



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

TRANSPORTNÍ CHARAKTERISTIKY PVA HYDROGELŮ

TRANSPORT PROPERTIES OF PVA HYDROGELS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Filip Nádvorník

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Michal Kalina, Ph.D.

BRNO 2023

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1770/2022 Akademický rok: 2022/23
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student: **Filip Nádvorník**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **Ing. Michal Kalina, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Transportní charakteristiky PVA hydrogelů

Zadání bakalářské práce:

- 1) Literární rešerše na téma přípravy PVA hydrogelů metodou mražení–tání (freeze–thaw) a modifikaci mechanických a transportních vlastností PVA hydrogelů interpenetrací vhodných biokompatibilních aditiv (semi–IPN).
- 2) Na základě literární rešerše a zkušeností pracoviště definovat postup přípravy nosné matrice PVA, potenciální aditiva pro řízenou modifikaci mechanických (plastifikátory) a transportních vlastností (polyelektrolyty) a aplikačně zajímavé aktivní látky pro následně transportní experimenty.
- 3) Realizace vlastních laboratorních experimentů za účelem posouzení mechanických a transportních vlastností zvolených zástupců PVA hydrogelů.
- 4) Vzájemná korelace dat z jednotlivých analýz a vyvození závěrů s ohledem na potenciální aplikace připravených hydrogelových matic.

Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2023:

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

Filip Nádvorník
student

Ing. Michal Kalina, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce je zaměřena na studium transportních charakteristik PVA hydrogelů. Pomocí reologických testů a na základě vizuálního pozorování byla optimalizována příprava PVA hydrogelů. Využitým postupem gelace PVA byla metoda mražení – tání (freeze – thawing). Během přípravy byly do PVA hydrogelů začleněny sondy nesoucí ve vodném prostředí náboj na funkčních skupinách, konkrétně methylenová modř, eosin a riboflavin. Mechanické vlastnosti těchto hydrogelů byly porovnávány s vlastnostmi čistých PVA hydrogelů. Následně byly provedeny difúzní testy, kdy bylo pomocí UV – VIS spektroskopie sledováno uvolňování daného barviva z hydrogelu do okolního prostředí. Ze získaných výsledků bylo zjištěno, že hydrogel obsahující sondu s kladným parciálním nábojem (methylenová modř) vykazuje největší ochotu uvolňovat barvivo. Oproti tomu hydrogel obsahující sondu bez náboje (riboflavin) je do okolního prostředí uvolňován minimálně.

ABSTRACT

This bachelor thesis focuses on the study of transport properties of PVA hydrogels. The preparation of PVA hydrogels was optimized using rheological tests and visual observation. The freeze – thawing method was used for the PVA gelation process. Probes carrying a charge on functional groups in aqueous media, namely methylene blue, eosin and riboflavin, were incorporated into PVA hydrogels during the preparation. The mechanical properties of these hydrogels were compared with those of pure PVA hydrogels. Diffusion tests were then carried out where the given dye was monitored from the hydrogel into the surrounding environment using UV-VIS spectroscopy. The obtained results showed that the hydrogel containing the probe with a positive partial charge (methylene blue) showed the greatest willingness to release the dye, while the hydrogel containing the probe without the charge (riboflavin) was released into the environment minimally.

KLÍČOVÁ SLOVA

transportní charakteristiky, difúze, PVA hydrogely, methylenová modř, eosin, riboflavin

KEYWORDS

Transport characteristics, diffusion, PVA hydrogels, methylene blue, eosin, riboflavin

NÁDVORNÍK, Filip. *Transportní charakteristiky PVA hydrogelů*. Brno, 2023. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/148809>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Michal Kalina.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Michalu Kalinovi, Ph.D. za odborné vedení, inspiraci při studiu a velkou trpělivost. Mé poděkování patří též kolegovi Bc. Jiřímu Příbylovi za ochotu a pomoc v laboratoři a s organizací a uskutečněním experimentů. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat i své partnerce, rodině a nejbližším, kteří při mně stáli a podporovali mě během celého studia.

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1. Gely	8
2.1.1. Klasifikace gelů	8
2.1.2. Vlastnosti gelů	9
2.1.3. Charakteristika gelové struktury	10
2.1.4. Vznik gelů	11
2.1.5. Vznik kovalentních gelů.....	12
2.1.6. Botnání kovalentních gelů.....	13
2.1.7. Vznik fyzikálně síťovaných gelů	14
2.1.8. Freeze – thawing.....	14
2.2. Difúze	14
2.2.1. Fickovy zákony.....	15
2.2.2. Difúze v gelech	16
2.2.3. Faktory ovlivňující difúzi v gelech.....	17
2.2.4. Mechanismus uvolňování látek z gelu	17
2.3. Reologie.....	17
2.3.1. Newtonské kapaliny	18
2.3.2. Nenewtonské kapaliny	18
2.3.3. Hookův zákon.....	19
2.3.4. Reometrie	20
2.4. UV – VIS spektroskopie.....	20
2.4.1. Absorbance	21
2.4.2. Lambert-Beerův zákon.....	21
2.4.3. Absorpční křivky	22
2.5. Polyvinylalkohol	22
2.5.1. Využití PVA	22
3. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	24
4. CÍLE EXPERIMENTÁLNÍ ČÁSTI	26
5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	27
5.1. Použité chemikálie	27
5.2. Použité přístroje	27

5.3.	Pracovní postup přípravy hydrogelů	27
5.4.	PVA hydrogely s různými počty cyklů mražení – tání	27
5.5.	PVA hydrogely s různými koncentracemi a molekulovou hmotností PVA.....	27
5.6.	Příprava zásobních roztoků a koncentračních řad.....	28
5.7.	Nastavení přístrojů a popis použitých metod.....	29
5.7.1.	Reometr	29
5.7.2.	Transportní charakteristiky.....	29
5.7.3.	UV – VIS spektrometr	29
6.	VÝSLEDKY A DISKUZE	30
6.1.	Optimalizace přípravy PVA hydrogelů	30
6.2.	Reologická měření.....	31
6.2.1.	Srovnání mechanických vlastností PVA hydrogelů o různé molekulové hmotnosti	31
6.2.2.	Porovnání mechanických vlastností PVA hydrogelů o různé koncentraci	31
6.2.3.	Ovlivnění mechanických vlastností PVA hydrogelů přidáním barviv	32
6.3.	Transportní charakteristiky	36
6.3.1.	Kalibrační křivky použitých barviv	36
6.3.2.	Difúzní testy	37
7.	ZÁVĚR	43
8.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	44
9.	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	48
9.1.	Použité zkratky.....	48
9.2.	Použité symboly	48

1. ÚVOD

Tématem této bakalářské práce jsou transportní charakteristiky PVA hydrogelů. Polyvinylalkohol je syntetický polymer, který lze různými způsoby síťovat do formy hydrogelu. PVA hydrogely nachází díky svým charakteristickým vlastnostem, jako jsou biokompatibilita, netoxičita či odolnost vůči organickým rozpouštědlům, různorodá uplatnění v mnoha průmyslových odvětvích. Právě kvůli širokým možnostem využití PVA hydrogelů je důležitá optimalizace měření jejich vlastností, a to např. mechanických či transportních, které byly zkoumány v této bakalářské práci.

Hlavním cílem této práce bylo charakterizovat transportní vlastnosti PVA hydrogelů, k jejichž fyzikálnímu zesílení byla zvolena metoda přípravy freeze – thawing. Posouzení optimalizace mechanických vlastností bylo uskutečněno pomocí měření na reometru. K naplnění hlavního cíle byly pomocí UV – VIS spektroskopie provedeny difúzní testy, ve kterých byla použita barviva methylenová modř, eosin a riboflavin. Tato barviva byla zvolena kvůli rozdílným parciálním nábojům ve vodném roztoku, jejichž vliv na mechanické a transportní vlastnosti PVA hydrogelů byl také zkoumanou problematikou.

Tato bakalářská práce je rozdělena do více částí, které jsou následně rozčleněny na jednotlivé podkapitoly. Největší část této práce je tvořena částí teoretickou, jež je zaměřena na přiblížení charakteru gelů, konkrétně na jejich klasifikaci, vlastnosti a vznik. Mimo jiné se teoretická část věnuje také detailní charakteristice jednotlivých metod, které byly využity v rámci experimentální části. Tato práce se věnuje také současnému stavu řešené problematiky, přičemž v rámci této kapitoly byly shrnuty různé úhly pohledu na danou problematiku. Druhou největší část této práce tvoří část experimentální, v jejímž rámci bylo popsáno, jak probíhala optimalizace přípravy PVA hydrogelů a jak byly posuzovány jejich transportní charakteristiky. Velmi důležitou část této práce tvoří také kapitola Výsledky a diskuze, kde jsou okomentována výsledná data z jednotlivých měření.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Gely

Gely společně s procesem gelace hrají velmi významnou roli v široké škále oborů. Jsou nedílnou součástí lékařství, biologie, ale také potravinářského průmyslu. Gely patří mezi disperze, ve kterých jsou částice tuhé látky rovnoměrně rozptýleny v kapalném prostředí. Struktura gelů je odlišná od struktury suspenzí a solů. Odlišuje se tím, že částice tuhé látky nejsou nijak izolovány, nýbrž jsou vzájemně propojeny a vytváří trojrozměrnou síť, která vyplňuje celou soustavu. Od ostatních disperzních soustav se tedy liší tím, že disperzní prostředí je spojitě společně s disperzním podílem. Disperzní částice jsou poutány adhezními silami, což jim zabraňuje vykonávat v disperzním prostředí nezávislý pohyb. Jediné pohyby, které jsou tyto částice schopny vykonávat, jsou pohyby vibrační. Z toho vyplývá, že ačkoliv je disperzní prostředí kapalného charakteru, gely vykazují mechanické vlastnosti specifické pro tuhý stav [1, 2].

2.1.1. Klasifikace gelů

Existuje několik různých způsobů a kritérií, dle kterých lze gely rozčlenit do jednotlivých skupin, ve kterých si jsou gely svými vlastnostmi podobné. Nejčastějším způsobem klasifikace gelů je klasifikace dle jejich chování ve vysušeném stavu. Na základě tohoto kritéria se gely dělí na reverzibilní a ireverzibilní [1, 2].

Reverzibilní gely se vyznačují tím, že při vysoušení zmenšují svůj objem. Po úplném vysušení, tedy po odstranění disperzního prostředí, tvoří reverzibilní gely kompaktní xerogely, které obsahují pouze disperzní podíl. Přijímáním kapalného prostředí se mohou tyto gely navrátit do původního stavu, přičemž takový proces se nazývá botnání [2].

Pro ireverzibilní gely je typické, že při vysoušení zůstává jejich objem neměnný. V případě, že dojde k úplnému vysušení, vzniká porézní xerogel. Ačkoliv je takový xerogel schopen přijmout určité množství disperzního kapalného prostředí, není schopen se vrátit do původního stavu [2].

Dalším způsobem dělení gelů je dělení dle povahy sil, které jsou zodpovědné za stabilizaci síťové struktury. Dle tohoto kritéria lze gely dělit na fyzikálně síťované gely a gely s kovalentními vazbami [2, 3].

Fyzikálně síťované gely mají síťovou strukturu stabilizovanou pomocí nekovalentních vazeb. Takovými vazbami jsou např. Van der Waalsovy interakce či vodíkové můstky. Fyzikálně

síťované gely vznikají změnou fyzikálních podmínek a mohou být opět uvedeny do tekutého stavu, a to stejnou změnou, avšak v opačném směru [1, 3].

U gelů s kovalentními vazbami je zpětné převedení do tekutého stavu nemožné, jelikož jsou tvořeny trojrozměrnou polymerní sítí. Při zpětné reakci by tedy došlo k porušení kovalentních vazeb [2, 3].

Kromě výše zmíněných způsobů klasifikace existuje mnoho dalších kritérií, dle kterých se dají gely dělit. Dle složení disperzního prostředí lze gely dělit na hydrogely, jejichž disperzní prostředí je tvořeno vodou, a organogely, jejichž disperzní prostředí je tvořeno organickou kapalinou. Dle náboje se gely dělí na neutrální a iontové. Na základě chemického složení disperzního podílu můžeme gely dělit na anorganické a organické [1, 2, 3, 4].

2.1.2. Vlastnosti gelů

Ihned po vzniku gelu dochází v jeho struktuře k několika spontánním jevům, které jsou souhrnně nazývány jako stárnutí gelu. Takové jevy jsou zapříčiněny tím, že se systém nenachází v termodynamické rovnováze. S časem se ve vnitřní síťovité struktuře nachází vyšší počet styčných bodů, čímž se samotný gel smršťuje. Kapalina, která je v gelu nadbytečná, je vytlačována a odpuzena od gelu. Tento jev se nazývá synereze a je katalyzován vyšší teplotou či přidávkem elektrolytu [2, 3].

Jak bylo zmíněno již v úvodu této kapitoly, gely vykazují takové mechanické vlastnosti, které jsou typické pro tuhý stav. Jednou z vlastností, kterou se gely vyznačují, je jejich elasticita. Tuto elasticitu lze změřit za pomoci tečného napětí, přičemž gel se chová jako elastické tuhé těleso pouze do určité hodnoty této veličiny. Tato hodnota je označována jako kritické napětí. Hodnota tohoto napětí je závislá na dvou proměnných, a to na počtu uzlů v objemu gelu a na pevnosti těchto uzlů [2, 3].

Některé gely vykazují tzv. tixotropní vlastnosti. V případě, že jsou disperzní částice do struktury gelu poutány slabě, gel je možné přeměnit na sol méně či více prudkým protřepáním. Tento jev ukazuje, že slabé mezičásticové vazby je možné zničit mechanickými účinky. Jedná se o vratný děj, takže pokud je tekutý sol ponechán v klidu, začne probíhat nový proces gelace a vazby jsou pomalu obnovovány. Existují však i gely, které vykazují opačnou vlastnost, tedy reopexii, přičemž v takovém případě je gelace podporována mechanickým namáháním. Příkladem takových gelů jsou gely vznikající ze silně anizometrických částic [1, 2, 3].

Co se týče elektrické vodivosti a difuzivity gelů, tak ty zůstávají téměř identické jako v původním solu, ze kterého gel vznikl. To, že jsou tyto vlastnosti téměř neměnné, je zapříčiněno tím, že v disperzním prostředí gelu se vyskytují disociované nízkomolekulární elektrolyty. Difuzivitu částic nelze přeměnit působením proudění či tepelných konvekci, přičemž tato neovlivnitelnost je způsobena síťovitou strukturou gelu [5].

Oproti tomu celková makroskopická viskozita soustavy nezůstává při gelaci neměnná, nýbrž prudce stoupá. Tato změna viskozity soustavy je způsobena tím, že dochází k vytvoření trojrozměrné sítě gelu. Nízkomolekulární rozpuštěné látky se stejně jako v solu pohybují se stejně jako v solu pohybují v disperzním prostředí a jejich difúzní koeficient má tedy podobnou hodnotu jako v čistém disperzním prostředí [5].

2.1.3. Charakteristika gelové struktury

Základní struktura gelů je tvořena trojrozměrnou sítí, která je propojena fyzikálními či chemickými vazbami. Místa propojení nazýváme uzly a vlákno mezi dvěma uzly nazýváme řetězcem. Základní vlastnost, pomocí již uzly popisujeme, je funkčnost uzlu. Ta udává počet řetězců, které z uzlu vycházejí. Známe-li funkčnost uzlů a počet uzlů sítě, můžeme určit počet řetězců v síti [1, 6].

$$N = \frac{f}{2} \cdot N_u \quad (1)$$

kde N je počet řetězců v síti, f je funkčnost a N_u je počet uzlů.

Dalším způsobem, jak je možné definovat gelovou strukturu, je pomocí objemové koncentrace řetězců sítě.

$$v = \frac{N}{N_A \cdot V^0} = \frac{f}{2} \cdot \frac{N_u}{N_A \cdot V^0} \quad (2)$$

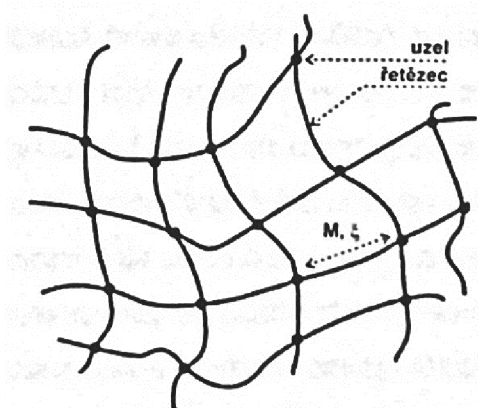
kde N_A je Avogadrova konstanta a V^0 je objem sítě ve stavu xerogelu.

Dále je možné určit průměrnou molární hmotnost řetězce.

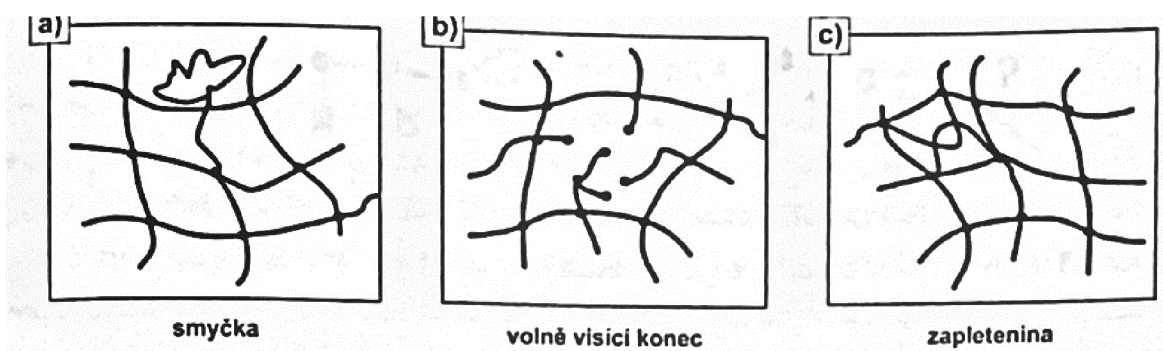
$$M = \frac{\rho}{v} \quad (3)$$

kde ρ je hustota.

Z výše uvedených vztahů tedy vyplývá, že hustota trojrozměrné sítě tvořící gel roste s koncentrací řetězců a uzlů a klesá s přibývajícím vzdáleností mezi uzly. Tyto vztahy ovšem předpokládají idealizovanou síťovou strukturu (viz obrázek 1). V takové struktuře je vzdálenost mezi uzly stejná, řetězce jsou tedy stejně dlouhé, na obou koncích jsou zachycené v uzlu a každý uzel má stejnou funkčnost. Tohoto stavu je sice možné dosáhnout, avšak pravděpodobnější je vznik struktury neideální. Reálná síťovitá struktura obsahuje různé defekty (viz obrázek 2) jako např. volně visící koncové řetězce, smyčky, zapleteniny. Tyto defekty mohou ovlivnit vlastnosti vzniklého gelu [1, 6].



Obrázek 1: Struktura ideální gelové sítě [1].



Obrázek 2: Defekty skutečné gelové sítě [1].

2.1.4. Vznik gelů

Dalším způsobem, jak jednotlivé gely rozlišit, je rozdělení podle jejich vzniku. Ke vzniku gelů může docházet třemi způsoby v závislosti na jejich chemické struktuře: změnou fyzikálního stavu gelu, chemickou reakcí nebo botnáním xerogelu po přidání kapalného prostředí. V průběhu vzniku gelu materiál ztrácí rysy viskózní kapaliny a nabývá vlastností odpovídající elastické pevné látce. Samotný proces vzniku gelu se nazývá gelace či gelatinizace [2, 4, 6].

Bod gelace je definován jako moment, kdy se v systému objeví nekonečná trojrozměrná síť. Pomocí bodu gelace je možné stanovit viskoelastické vlastnosti konkrétních materiálů [1, 2, 3].

2.1.5. Vznik kovalentních gelů

Kovalentní gely jsou tvořeny nekonečnou trojrozměrnou síťovitou strukturou, která je stabilní pomocí chemických valencí. Trojrozměrné polymerní sítě vznikají jedním z následujících procesů, které jsou naznačeny na obrázku 3 [4, 6]:

Postupnými reakcemi vícefunkčních nízkomolekulárních látek.

Mechanismem polyadice či polykondenzace nízkomolekulárních prekurzorů vznikají například fenolformaldehydové nebo epoxidové pryskyřice. V tomto případě vzniká polymerní síť až ve finálním kroku reakce. Tento krok se nazývá vytvrzovací.

Síťovací polymerací.

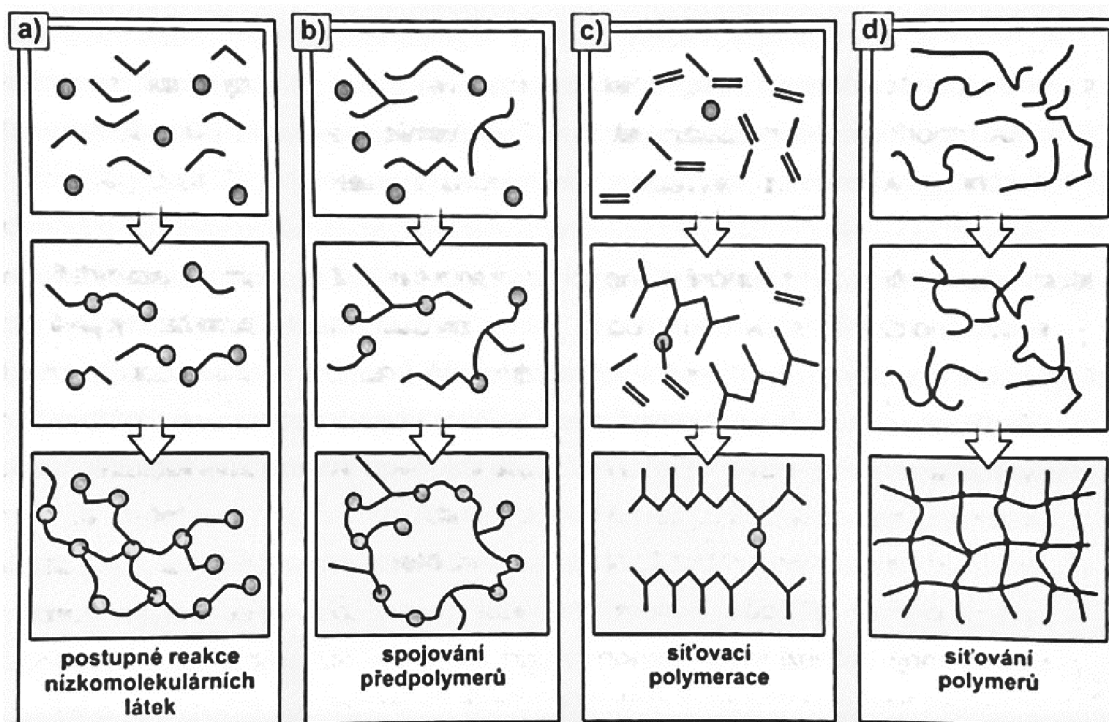
Základem je řetězová kopolymerační reakce dvojfunkčního či vícefunkčního monomeru, který představuje síťovací činidlo neboli síťovadlo.

Spojováním reaktivních konců předpolymerů.

Princip vzniku trojrozměrné sítě je obdobný jako v prvním případě, chemické reakci však nepodléhají reaktanty monomerního typu, nýbrž nízkomolekulární polymery. Takto vznikají polyuretanové materiály či materiály kaučukového charakteru.

Síťováním lineárních polymerů.

V tomto případě vzniká polymerní síť zavedením příčných vazeb do vysokomolekulárních polymerů. Typickým příkladem tohoto mechanismu je vulkanizace kaučuku, kde jsou molekuly polybutadienu spojovány pomocí polysulfidu sulfidickými můstky za vzniku pryže [7].



Obrázek 3: Chemické mechanismy vzniku polymerní sítě [1].

2.1.6. Botnání kovalentních gelů

Botnání je samovolný proces, při kterém reverzibilní gel absorbuje rozpouštědlo. Strukturální síť při tomto procesu zvyšuje svou hmotnost i objem. Botnáním vzniká lyogel, ve kterém absorbované rozpouštědlo tvoří disperzní prostředí [1, 3].

Botnání můžeme rozdělit na dva typy – botnání omezené a neomezené. O tom, jaký typ botnání proběhne, rozhoduje více faktorů. Hlavními faktory jsou afinita polymeru k rozpouštědlu a struktura gelu. Kromě těchto dvou hlavních faktorů jsou rozhodující ale také fyzikální podmínky (teplota, tlak, přítomnost jiných rozpuštěných látek), při jejichž změně mohou látky, tvořící gelovou strukturu, přecházet z jednoho typu do druhého a naopak [1].

V případě, že v rovnovážném stavu není absorbována další kapalina, se jedná o omezené botnání, ke kterému dochází, když je polymer a dané rozpouštědlo pouze omezeně mísitelné. V soustavě po botnání vznikají dvě fáze – nasycený roztok polymeru v rozpouštědle (přebytečná kapalina) a nasycený roztok rozpouštědla v polymeru (nabotnalý gel) [1, 2].

Jestliže jsou polymer a rozpouštědlo mísitelné ve všech poměrech, hovoříme o botnání neomezeném. V takovém případě se botnání nezastaví ve fázi lyogelu, ale za přítomnosti

nadbytku rozpouštědla dochází k zániku uzlů a jednotlivé makromolekuly přecházejí do stavu roztoku, který je možné dále ředit [1, 2, 3].

2.1.7. *Vznik fyzikálně síťovaných gelů*

Fyzikálně síťované gely mohou vznikat z roztoku polymeru. Při tomto procesu se makromolekulární řetězce kumulují pomocí fyzikálních sil do útvarů, které simulují funkci uzlů. Tyto útvary označujeme jako uzlové či spojné oblasti. V porovnání s kovalentními uzly jsou rozměrnější v jednom až třech směrech. Díky svým rozměrům mohou být makromolekuly součástí více uzlových oblastí. Pevnost a životnost uzlových oblastí společně se strukturou a velikostí definují stabilitu polymerních fyzikálně síťovaných gelů. Jestliže má gel pevné spoje, tak se vlastnostmi podobá gelům kovalentním. Pokud jsou však uzlové oblasti slabé, mohou se působením větších napětí rozpadat a celý systém se začne chovat jako viskózní kapalina. Tento děj je však vratný, pokud tedy ponecháme daný systém v klidu, vazby se začnou obnovovat a opět vzniká gel [1, 4, 8].

2.1.8. *Freeze – thawing*

Fyzikálního zesíťování lze dosáhnout metodou zvanou freeze – thawing, při které dochází k opakovaným cyklům, při kterých se střídá mražení a tání. Tato metoda přípravy byla vyvinuta, aby se zabránilo procesům, které potenciálně mohou vést k uvolňování toxických látek. Během procesu zmrazování se v polymerních sítích hydrogelu vytvářejí mezimolekulární a intramolekulární vodíkové vazby a také krystaly, v nichž se řetězce hydrogelu shlukují s krystalky ledu. Tyto hydrogely jsou vzájemně propojeny vodíkovou vazbou, vykazují poréznější, houbovitě, gumovité a vyšší elastické vlastnosti než hydrogely připravené jinými metodami. V současné době se takto připravené gelové matrice široce uplatňují v biotechnologických oborech, zejména k imobilizaci buněk. Mezi oblíbené příklady gelů připravené touto metodou patří gely na bázi poly(vinylalkoholu) (PVA) [9, 10, 11, 12].

2.2. *Difúze*

Jedná se o transportní děj, který vede k vyrovnání chemických potenciálů ve všech místech směsi. Difúze probíhá na molekulární úrovni v soustavách s koncentračním gradientem. Molekuly se pohybují nahodile na základě Brownova pohybu. Látka nacházející se v místě s vyšší koncentrací proudí do místa s koncentrací nižší. Po ustanovení rovnováhy dochází ke stejné koncentraci ve všech místech směsi. Difúzi popisuje difúzní tok j_i , který je definován jako tok látkového množství složky i za jednotku času jednotkovým průřezem.

$$j_i = \frac{1}{A} \cdot \frac{dn_i}{d\tau} \quad (4)$$

kde A je průřez, dn_i látkové množství a $d\tau$ čas [5].

2.2.1. Fickovy zákony

Německý vědec Alfred Fick si všimnul, že difúze stejně jako vedení tepla kondukcí je založeno na neuspořádaném pohybu částic. Ve své práci následně uvedl, že difúze je založena na stejném principu jako vedení tepla ve vodiči, či vedení elektřiny. Na základě této analogie mezi Fourierovým zákonem pro vedení tepla a Ohmovým zákonem pro vedení elektřiny definoval dva zákony, které shrnují matematický popis pro difúzní procesy [13, 14].

1. Fickův zákon

První Fickův zákon je definován pro stacionární difúzi, která nastává v případě, že se koncentrační gradient v libovolném místě soustavy s časem nemění. To znamená, že difúzní tok je ustálený. Jednorozměrný difúzní tok J_i byl Fickem definován jako [14]:

$$J_i = A j_i = -AD \cdot \frac{\partial c_i}{\partial x} \quad (5)$$

Kde A je velikost plochy, přes kterou látka difunduje, j_i je tok látky i přes jednotkovou plochu, c_i je koncentrace látky i a x je vzdálenost. Koeficientem D rozumíme difúzní koeficient a má rozměr $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Difúzní koeficient udává počet molů dané složky, který projde jednotkovou plochou za jednotku času při jednotkovém spádu koncentrace složky [13, 14].

Obecně lze první Fickův zákon zapsat také jako:

$$J_i = -D \cdot \text{grad } c_i \quad (6)$$

V tomto případě má difúzní tok charakter vektorové veličiny a rozměr $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Záporné znaménko, které je na pravé straně rovnice, je způsobeno tím, že difúze probíhá proti koncentračnímu gradientu (tedy z více koncentrovaného místa do méně koncentrovaného).

Jestliže probíhá difúze pouze ve směru jedné osy (např. ve směru osy x), je možné rovnici zjednodušit do tvaru [15]:

$$J_i = -D \cdot \frac{\partial c_i}{\partial x} \quad (7)$$

2. Fickův zákon

Druhý Fickův zákon byl odvozen paralelně k Fourierovu zákonu vedení tepla. Tento zákon platí při nestacionární difúzi, ke které dochází v případě, že se koncentrační gradient s časem mění a difúzní tok se mění s polohou. Pro difúzi ve všech směrech lze druhý Fickův zákon vyjádřit jako [14, 15]:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = \text{div}(D \cdot \text{grad } c_i) = D \cdot \text{div grad } c_i \quad (8)$$

Pokud $D \neq D(c)$.

Tato rovnice není závislá na souřadnicovém systému [15].

Stejně jako u prvního Fickova zákona, jestliže difúze probíhá pouze v jednom směru osy, je možné rovnici zjednodušit jako [15]:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D \cdot \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} \quad (9)$$

2.2.2. Difúze v gelech

Díky své struktuře a vlastnostem jsou gely obecně zajímavým prostředím pro experimentální výzkum. Právě proto, že dominantní složkou je kapalné disperzní prostředí, jsou gely podrobovány difúzním experimentům. Difúze v gelech má řadu aplikací jako např. nosičové systémy ve farmacii či kosmetické gelové produkty. Díky kapalnému disperznímu prostředí vykazují gely prakticky stejnou rychlost difúze jako v čistě kapalných roztocích, narozdíl od kterých nedochází ke komplikacím, které jsou spojeny např. s teplotně či mechanicky vyvolanému míchání. Další výhodou aplikace difúze u gelů je to, že gel je možné tvarem či rozměrem přizpůsobit požadavkům experimentu. I přes to, že se kinetika uvolňování látek z gelů řídí obecnými zákonitostmi přenosu hmoty, existuje spousta faktorů, které mohou kinetiku ovlivňovat. Těmito faktory mohou být hydrolýza polymerní sítě či mechanismus botnání xerogelu. Aby transport nízkomolekulárních látek v gelové síti probíhal bez komplikací, je potřeba adaptovat přípravu specifického gelu dle kinetických požadavků experimentu [1, 5].

2.2.3. Faktory ovlivňující difúzi v gelech

Kinetika uvolňování látek z gelů může být ovlivněna celou řadou parametrů. Hlavními parametry ovlivňující difúzi jsou síťovitá struktura gelů a jejich morfologie. Mezi další proměnné patří velikost pórů, obsah vody a chemické složení polymeru. Uvolňování látek z gelu však neovlivňuje pouze gel samotný, ale také struktura a velikost molekul difundující látky [1].

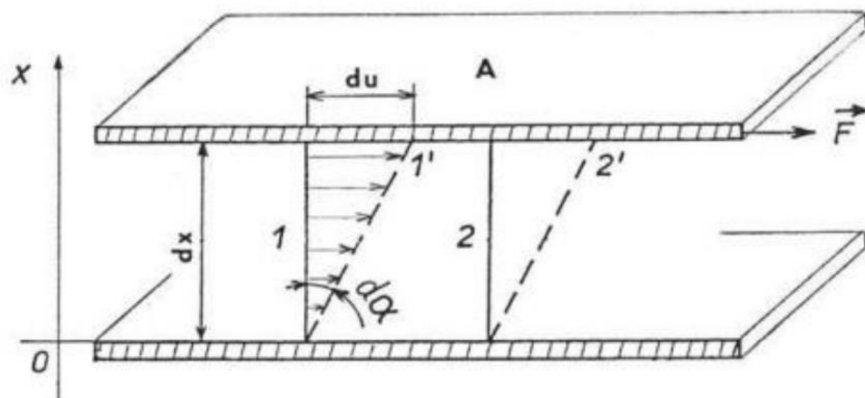
2.2.4. Mechanismus uvolňování látek z gelu

Vzhledem k mechanismu uvolňování aktivních látek do okolního prostředí můžeme hydrogelové systémy rozdělit do několika kategorií: systémy řízené chemicky, difúzně, botnáním nebo systémy řízené okolním prostředím. Nejrozšířenější kategorií jsou systémy řízené difúzně [1].

2.3. Reologie

Reologie je oborem fyzikální chemie. Termín „reologie“ pochází z řeckých slov „rhein“, což znamená proudit, a „logos“ neboli věda. Reologie je tedy doslova věda o proudění. Kromě tokového chápání kapalin se však tato vědní disciplína zabývá také studiem deformací materiálů, které jsou způsobeny vnějšími silami. Termín reologie byl spolu s popisem působnosti jako studium deformace a toku materiálů poprvé zaveden fyzikem E. C. Binghamem v roce 1929. Skutečné materiály jsou visko-elastické, čímž rozumíme to, že reologické vlastnosti reálných materiálů jsou na pomezí ideálně viskózní kapaliny a ideálně elastického tělesa [1, 16, 17, 18].

Nejjednodušším reologickým modelem je model paralelních desek (viz obrázek 4), přičemž jedna (vrchní) se díky působící síle F pohybuje konstantní rychlostí a druhá (spodní) je nehybná. Mezi deskami je měřený vzorek. Vzdálenost mezi deskami dx se nazývá rozteč a při samotném měření zůstává konstantní. Při měření dochází vlivem síly F k posunu vrchní desky o vzdálenost du . Tím se mění geometrie měřeného vzorku. Síla F působící na plochu desky A se nazývá tečné či smykové napětí σ [1].



Obrázek 4: Model paralelních desek [7].

Z reologického hlediska jsou gely viskoelastický materiál. Při reometrickém měření definujeme, jak je gel tuhý, či naopak tekutý [1].

2.3.1. Newtonské kapaliny

Newtonské kapaliny charakterizujeme pomocí míry odporu kapaliny vůči toku neboli viskozitou, která je pro ně látkovou konstantou. Při toku Newtonských kapalin je rychlost růstu deformace lineární funkcí síly působící na kapalinu. Tato závislost je definována Newtonovým zákonem viskozity:

$$\tau = \eta \cdot \frac{du}{dx} = \eta \cdot D_v \quad (10)$$

kde η je dynamická viskozita, du je vzájemná rychlost pohybu smykových rovin o dx a D_v je gradient rychlosti. Dynamická viskozita charakterizuje vnitřní tření newtonské kapaliny. Gradient rychlosti charakterizuje tvarové změny v proudící kapalině.

Mezi newtonské kapaliny patří čisté kapaliny a roztoky nízkomolekulárních látek. V těchto tekutinách totiž dochází pouze k nepatrným intermolekulárním interakcím [17, 18].

2.3.2. Nenewtonské kapaliny

Pokud v kapalině neplatí newtonův zákon, označujeme ji jako nenewtonská. Tyto látky vykazují specifické mechanické vlastnosti, díky kterým pro ně nelze stanovit jednu hodnotu viskozity [18].

Nenewtonské kapaliny můžeme rozdělit na několik typů kapalin [19]:

- *Pseudoplastické*, které jsou specifické tím, že se zvyšující se smykovou rychlostí snižují zdánlivou viskozitu. Tato vlastnost se projevuje sníženou energetickou náročností míchání a toku těchto látek. Mezi pseudoplastické kapaliny patří např. nátěrové hmoty, roztoky detergentů, taveniny polymerů.
- *Dilatantní*, které naopak od pseudoplastických mají se zvyšující se smykovou rychlostí vyšší zdánlivou viskozitu. Tato vlastnost zvyšuje energetickou náročnost, a proto jsou tyto kapaliny nevhodné pro technologické procesy. Do této skupiny nenewtonských látek patří např. vysoce koncentrované škrobové suspenze.
- *Plastické*, které se vyznačují tím, že k toku dochází, až po překročení meze toku. Patří sem kašovitá suspenze jako např. vápno ve vodě.
- *Tixotropní*, u kterých s prodlužující se dobou působení napětí klesá zdánlivá viskozita. Této vlastnosti se hojně využívá např. u nátěrových hmot.
- *Reopektické*, u nichž zdánlivá viskozita roste s prodlužující se dobou smykového namáhání. S reopektickými kapalinami se můžeme setkat poměrně ojediněle, např. u suspenzí bentonitu.

2.3.3. *Hookův zákon*

Jelikož jsou hydrogely viskoelastické materiály, je nutno je definovat z pohledů dvou extrémů. Prvním extrémem jsou ideálně viskózní látky, který jsme definovali v předchozích kapitolách. Druhým extrémem jsou ideálně elastické látky. Stejně jako Newtonův zákon platí pro ideálně viskózní kapaliny, tak pro ideálně elastická tělesa platí Hookův zákon. Ten říká, že ideálně elastické těleso je takové, které se po odnětí mechanické síly navrátí do původního stavu bez ohledu na velikost deformační vzdálenosti. Matematicky je Hookův zákon vyjádřen jako [1, 20]:

$$F_S = k \cdot x \quad (11)$$

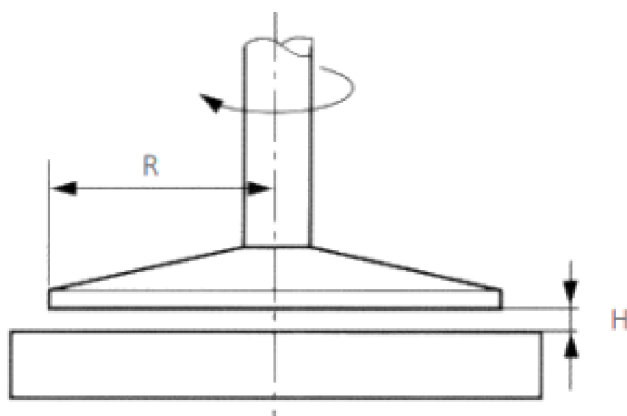
Kde F_S je působící síla, k je charakteristika materiálu a x je vzdálenost deformace.

U polymerních látek (hydrogely) se elasticita projevuje napínáním polymerních řetězců.

2.3.4. Reometrie

Reometrie spočívá v experimentálním stanovení reologických vlastností, konkrétně stanovení závislosti mezi tečným napětím a gradientem rychlosti, tzn. závislosti zdánlivé viskozity na tečném napětí nebo gradientu rychlosti [19].

K definování reologických vlastností se využívá více typů viskozimetrů, např. průtokové, pádové či rotační. Rotační viskozimetr neboli reometr se skládá ze dvou částí – rotor a stator. Rotor je schopen pomocí rotujícího senzoru deformovat měřený vzorek mechanicky, různou rychlostí a různou silou. Experimenty využívající rotaci senzoru jsou získávány data popisující viskózní a tokové vlastnosti měřeného vzorku. Na vzorek je též možné působit oscilačním pohybem. V tomto případě jsou získávány informace o elasticitě vzorku. Při vyhodnocování dat je poté možné pomocí poměru elastického modulu G' a viskózního modulu G'' vyhodnotit, zda je měřený vzorek spíše elastického, či viskózního charakteru [16, 18].



Obrázek 5: Rotační viskozimetr, typ deska/deska [19].

2.4. UV – VIS spektroskopie

Jedná se o jednu z nejstarších, ale zároveň nejvyužívanějších fyzikálně-chemickou metodu, jejíž principem je měření transmitance neboli intenzity neabsorbovaného záření. Vyniká zejména svou přesností a citlivostí. Dalším důvodem, proč je tato metoda stále tolik využívána, je rychlost a nenáročnost měření. Tato metoda je hojně používána při studiu barevných sloučenin [21, 22].

Principem spektrofotometrie v ultrafialové a viditelné oblasti je měření množství absorbovaného ultrafialového (UV) a viditelného (VIS) záření. Díky této metodě je tedy zjišťováno, které vlnové délky jsou roztokem pohlcovány a do jaké míry [22].

2.4.1. Absorbance

Absorbance je definována jako dekadický logaritmus hodnoty transmitance. Jestliže je absorpce roztoku nulová, tak je nulová i absorbance, a naopak transmitance je jednotková.

$$A = -\log T = \log \frac{\Phi_0}{\Phi} \quad (12)$$

Jedná se o veličinu aditivní, tzn. absorbuje-li světlo v roztoku více složek, je konečná absorbance rovna součtu jednotlivých absorbancí [22].

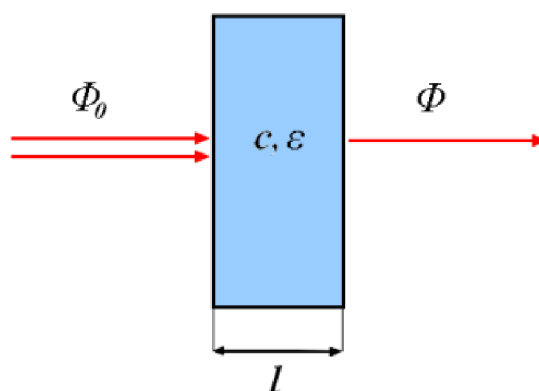
2.4.2. Lambert-Beerův zákon

Tento zákon říká, že absorbance roztoku je přímo úměrná koncentraci absorbující látky ve vzorku a tloušťce absorbující vrstvy. Matematicky ho lze vyjádřit jako:

$$A = \varepsilon_\lambda \cdot c \cdot l \quad (13)$$

kde c představuje látkovou koncentraci, l tloušťku vrstvy a ε_λ je molární absorpční koeficient. Absorpční koeficient je veličina charakteristická pro danou látku v daném prostředí. Je závislá na vlnové délce, při které měření probíhá [22].

Jedná se o zákon limitní zákon, platí tedy pouze za určitých podmínek. Platí pouze pro zředěné roztoky do koncentrace zhruba 10^{-2} M, pro monochromatické záření a v roztoku musí být přítomna pouze jedna absorbující složka [22, 23].



Obrázek 6: Znárodnění absorpce při průchodu záření kvyetou se vzorkem [22].

2.4.3. Absorpční křivky

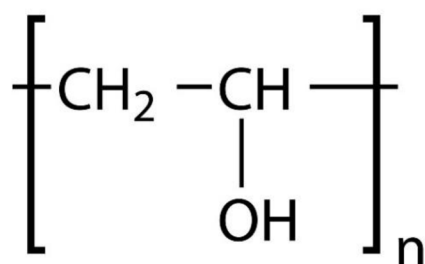
Jedná se o kvalitativní charakteristiku látky nebo směsi látek, která je znázorněna závislostí absorpční na vlnové délce.

Absorpční křivky jsou ovlivňovány různými faktory. Vliv teploty je patrný hlavně ve zředěných roztocích. Vlivem iontové síly roztoku může být ovlivněn tvar absorpční křivky. Působením rozpouštědla může docházet k bathochromnímu nebo hypsochromnímu efektu. Bathochromní efekt se projevuje posunem vlnové délky absorpčního signálu směrem k vyšším vlnovým délkám. U hypsochromního efektu dochází k posunu směrem k nižším vlnovým délkám [24].

2.5. Polyvinylalkohol

Jedná se o lineární syntetický polymer, který se získává z polyvinylacetátu buďto úplnou, či pouze částečnou hydroxylací. Monomer, vinylalkohol, neexistuje ve stabilní formě. Míra hydroxylace určuje fyzikální a chemické vlastnosti. Čím vyšší je stupeň hydroxylace a polymerace PVA, tím nižší je rozpustnost výsledného polymeru ve vodě či jiných rozpouštědlech [8, 9, 11].

Tento syntetický polymer, jehož struktura je znázorněna na obrázku 7, lze různými způsoby síťovat do formy hydrogelu. Síťování, ať už fyzikální či chemické, zajišťuje strukturní stabilitu výsledného materiálu (hydrogelu). Stupeň zesíťování určuje míru absorpce tekutiny a tím i fyzikální, chemické a difúzní vlastnosti hydrogelu [11, 12, 25].



Obrázek 7: Chemická struktura polyvinylalkoholu [25].

2.5.1. Využití PVA

Odolnost PVA vůči organickým rozpouštědlům a jeho rozpustnost ve vodě jej předurčuje k mnoha aplikacím. Ač nejsou polyvinylalkoholy na předních místech světového žebříčku, co se produkce polymerů týče, žádná jiná skupina polymerů nenachází tolik rozmanitých aplikací. PVA se běžně používá v textilním průmyslu, při výrobě papírových výrobků, v potravinářském

obalovém průmyslu a ve zdravotnictví. Dalším důvodem hojného využití je nízký dopad na životní prostředí, který zahrnuje jeho vysokou chemickou odolnost, rozpustnost ve vodě a biologickou rozložitelnost. Ve zdravotnických zařízeních se PVA používá jako biomateriál díky své biokompatibilitě, netoxičnosti, nekarcinogenitě, bobtnavosti a bioadhezivním vlastnostem. Mezi nejčastější lékařská využití PVA patří např. u měkkých kontaktních čoček, u očních kapek, u implantátů či u umělých orgánů. V současné době jsou hydrogely využívány jako složka u obvazů na rány. Díky porézní struktuře hydrogelů jsou schopny udržovat přísun kyslíku a tím udržovat hladinu vlhkosti. Na druhé straně hydrofilnost polymeru způsobuje, že přitahují molekuly vody. Proto jsou schopny absorbovat exsudát z rány. Tím, že se do hydrogelů vkládají bioaktivní sloučeniny, mohou kompozitní hydrogely dále urychlit proces hojení rány a zabránit infekci rány. Zároveň se zvyšuje stabilita sloučenin, což znamená, že sloučeniny se snadno nerozloží, protože mezi sloučeninami a matricí bude docházet k molekulární interakci. PVA hydrogely získaly též široké využití ve farmacii, kde se využívají jako matrice pro podávání léčiv. Jelikož je PVA lineární polymer, k podávání léčiv musí být zesíťován do hydrogelu [3, 12, 25, 26, 27].

3. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

V dnešní době mají hydrogely významnou roli v mnoha odvětvích. Milníkem byla průkopnická práce Wichterleho a Lima z roku 1960 o zesíťovaných hydrogelech HEMA [28]. Důvodů, proč hydrogely obecně získávají v posledních letech tolik pozornosti, je hned několik [29]:

- nízká cena a snadná dostupnost,
- biokompatibilita,
- schopnost absorbovat velké množství vody,
- netoxičita atd.

Hydrogely se široce využívají v řadě medicínských aplikacích, kde se mimo jiné uplatňují jako matrice pro řízenou distribuci léčiv nebo pro opravu a regeneraci široké škály tkání a orgánů nebo jako protézy či jiné zdravotní pomůcky. Dále se s hydrogely můžeme setkat v kosmetickém a potravinářském průmyslu či v zemědělství [28].

PVA hydrogely disponují širokým využitím v medicínských aplikacích díky svým vlastnostem jako biokompatibilita a nízká adsorpce proteinů. Tato konkrétní vlastnost vede k nízké adhezi buněk ve srovnání s jinými hydrogely. Dále PVA vykazuje oproti jiným hydrogelům (jako např. polyhydroxyethylmethakrylát) vyšší pevnost v tahu a tím i prodloužení doby před zlomením. To činí PVA vhodným hydrogelem pro měkké kontaktní čočky. Dále se můžeme s PVA hydrogely setkat v náhradách slinivky břišní, syntetického sklivce, či tkání chrupavky a menisku. PVA se také používá v kombinaci s polyethylenglykolem a hydroxypropylmethylcelulózou, což zvyšuje obsah využití pro lékařské aplikace, jako jsou umělé slzy. Kromě jeho použití v neimplantovaných lékařských aplikacích se PVA používá v několika zdravotních zařízeních, které jsou implantovány do těla. Částicový PVA se používá k léčbě vaskulárních embolií. Tato různorodá použití PVA v lékařství ukazují, že je bezpečný pro použití u lidí v medicínských aplikacích [30, 31].

Jak již bylo zmíněno výše, PVA hydrogely mají širokou škálu využití. Proto je důležité zvolit správnou metodu přípravy, aby výsledný hydrogel dosáhl požadovaných vlastností. Jednou z nejčastějších metod přípravy PVA hydrogelů je metoda freeze-thaw (F-T, metoda mražení-tání), avšak existuje více postupů a modifikací této přípravy. V publikaci **Freeze/thawed polyvinyl alcohol hydrogels: Present, past and future. European Polymer Journal** [32] byl připraven homogenní roztok PVA zmrazen na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a ponechán v tomto stavu několik hodin. Následně byl rozmrazen při pokojové teplotě. Tento cyklus byl opakován několikrát (3 až 6krát), aby se zajistilo dosažení silného a stabilního gelu. Dále byla v této publikaci

měněna délka jednotlivých cyklů, aby bylo možné diskutovat vliv tohoto faktoru. Jelikož jsou doba a teplota zmrazovacích a rozmrazovacích kroků důležitými parametry, byla tato studie zaměřena právě na ně. Bylo zjištěno, že při použití nižší teploty než $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a delší doby jednotlivých cyklů se zvyšuje krystalinita hydrogelu a pevnost a tuhost.

V publikaci od autorů **Hassan, C. M., & Peppas, N. A.** [33] byla zkoumána struktura a morfologie PVA hydrogelů připravených opakovanými cykly 8 hodin zmrazování při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a 4 hodiny rozmrazování při $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dlouhodobé morfologické změny těchto gelů byly stanoveny při bobtnání ve vodě při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 6 měsíců. Podmínky přípravy byly zkoumány změnou takových parametrů, jako je počet cyklů zmrazování a rozmrazování, koncentrace vodného roztoku a molekulová hmotnost PVA. Zvýšení počtu cyklů zmrazování a rozmrazování posloužilo k posílení existujících krystalů ve struktuře. Zvýšené počáteční koncentrace vodných roztoků PVA vedly k hydrogelům, které zpočátku obsahovaly vyšší krystalinitu a zvýšenou stabilitu při bobtnání. Zvýšení molekulové hmotnosti PVA vedlo ke krystalům s vyšší tloušťkou lamel a rozšíření distribuce velikosti krystalů v důsledku zvýšení délky řetězce PVA. Celkově PVA hydrogely připravené metodou F-T vykazovaly zvýšenou stabilitu během bobtnání při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 6 měsíců, což prokázalo jejich vhodnost pro dlouhodobé použití v biomedicínských aplikacích.

Pizano a kol. [34] ve své publikaci zaměřili na hydrogel Chitosan – PVA. Při přípravě postupovali tak, že chitosan byl rozpuštěn v $0,1\text{ M}$ roztoku kyseliny octové při laboratorní teplotě, aby se získal 2% roztok. PVA byl rozpuštěn v destilované vodě a míchán po dobu 1 hodiny při $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ za získání 10% roztoku. Oba roztoky byly poté míchány při laboratorní teplotě po dobu 1 hodiny v různých poměrech CS-PVA. Poté byly vzorky zmrazeny při různých teplotách po dobu 20 hodin, ve 4, 5 nebo 6 cyklech. Následně se prokázalo, že nižší teplota zmrazování či delší krok zmrazování v hydrogelech chitosan – PVA vedly k vyššímu počtu pórů, ale za to k jejich menším rozměrům.

Transportní charakterizaci PVA hydrogelů se ve své publikaci věnovali **Kazimierska-Drobny, K., & Kaczmarek, M.** [35], kteří ve své práci využili systém obsahující difúzní komoru s hydrogelem a zásobníkovou kapalinou, konduktometr (konkrétně Elmetron CPC-551), který nepřetržitě měří vodivost a teplotu roztoku v zásobníku, regulovaný elektromotor, který otáčí míchadlem umístěným v zásobníku a termostat (HAAKE DC 30/DL30), který během testu stabilizuje teplotu. Všechna měření byla prováděna při $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Bylo pozorováno, že počáteční koncentrace polymeru podstatně neovlivňuje intenzitu pronikání solí, které byly pro difúzní testy využity.

4. CÍLE EXPERIMENTÁLNÍ ČÁSTI

Cílem této bakalářské práce bylo sledovat problematiku transportních vlastností hydrogelu. Pro řešení této problematiky byly stanoveny tyto cíle, které byly postupně naplněny řešením experimentální části práce:

- 1) Literární rešerše na téma přípravy PVA hydrogelů metodou mražení-tání (freeze-thaw) a modifikaci mechanických a transportních vlastností PVA hydrogelů interpenetrací vhodných biokompatibilních aditiv (semi-IPN).
- 2) Na základě literární rešerše a zkušeností pracoviště definovat postup přípravy nosné matrice PVA, potenciální aditiva pro řízenou modifikaci mechanických (plastifikátory) a transportních vlastností (polyelektrolyty) a aplikačně zajímavé aktivní látky pro následně transportní experimenty.
- 3) Realizace vlastních laboratorních experimentů za účelem posouzení mechanických a transportních vlastností zvolených zástupců PVA hydrogelů.
- 4) Vzájemná korelace dat z jednotlivých analýz a vyvození závěrů s ohledem na potenciální aplikace připravených hydrogelových matic.

5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1. Použité chemikálie

- Polyvinylalkohol – (PVA), společnost Sigma – Aldrich, CAS: 9002-810-5
 - o $M_w = 130$ kDa
 - o $M_w = 110$ kDa
- Methylenová modř hydrát – (MM), společnost Penta, CAS: 122965-43-9
- Eosin B – (Eo), společnost Sigma – Aldrich, CAS: 548-24-3
- Riboflavin – (Rf), společnost Sigma – Aldrich, CAS:83-88-5
- Ultračistá demineralizovaná voda

5.2. Použité přístroje

Pro přípravu hydrogelů byla použita následující zařízení:

- Analytické váhy (Denver Instrument)
- Magnetická míchačka s ohřevem MR Hei-Standard (Heidolph)

Pro měření experimentálních dat byly použity přístroje:

- Reometr Discovery HR-2 (TA Instruments Ltd.)
- UV – VIS spektrometr U-3900H (HITACHI)

5.3. Pracovní postup přípravy hydrogelů

Cílem této práce bylo studium problematiky transportních vlastností PVA hydrogelů. Pro následující difúzní testy bylo třeba stanovit optimální přípravu homogenních PVA hydrogelů. Pro přípravu byla využita metoda mražení a rozmražení. Sledovaly se různé faktory jako např. koncentrace PVA či počet cyklů mražení a rozmražení.

5.4. PVA hydrogely s různými počty cyklů mražení – tání

Rozpuštěním 1 g PVA v 10 ml ultračisté vody za stálého míchání při 90 °C byly připraveny 10 hm. % roztoky PVA. Následně byly vzniklé roztoky přelity do uzavíratelných plastových nádob. Tyto nádoby byly poté podrobeny různým počtům cyklů mražení a rozmražení (konkrétně 1, 2 a 3). V jednom cyklu byly vzorky mrazeny po 1 hodinu při –5 °C a rozmrazeny v sušárně při 37 °C.

5.5. PVA hydrogely s různými koncentracemi a molekulovou hmotností PVA

Při optimalizaci přípravy byly připraveny také vzorky PVA hydrogelů o různých koncentracích a různých molekulových hmotnostech, konkrétně byly porovnávány hydrogely s koncentrací 5 a 10 hm. % PVA a molekulové hmotnosti 110 a 130 kDa. Při přípravě se odpovídající

množství PVA (1 a 0,5 g) rozpustilo v 10 ml ultračisté vody za stálého míchání při 90 °C. Takto vzniklé vzorky byly následně podrobeny 3 cyklům mražení a rozmražení, přičemž mražení probíhalo při -5 °C po dobu jedné hodiny a rozmražení probíhalo v sušárně při 37 °C.

5.6. Příprava zásobních roztoků a koncentračních řad

Cílem této práce bylo studium transportních charakteristik PVA hydrogelů. K těmto účelům a následnému porovnání transportní charakteristiky byly využity tři barviva – methylenová modř, eosin a riboflavin. Tato barviva byla zvolena kvůli své podobné molární hmotnosti (methylenová modř – 319,85 g/mol, eosin – 691,86 g/mol, riboflavin – 376,36 g/mol). Dalším důvodem, proč byla zvolena právě tato barviva, byl jejich rozdílný náboj, kdy eosin nese ve vodném roztoku parciální záporný náboj, methylenová modř nese parciální kladný náboj a riboflavin je bez náboje. Nejdříve byly připraveny zásobní roztoky barviv. Smícháním 0,01 g jednotlivých barviv se 100 ml ultračisté vody byly připraveny zásobní roztoky o koncentraci 0,1 g/dm³. Z takto připravených zásobních roztoků byly připraveny 10 ml vzorky o různých koncentracích (viz tabulka 1), jejichž absorbance byla následně změřena na UV – VIS spektrometru a z výsledných dat byly pomocí MS Excel vyhotoveny kalibrační řady pro následný přepočítání naměřených absorbancí na koncentrace během studia uvolňování barviv z hydrogelů.

Tabulka 1: Koncentrační řady.

Sonda					
MM		Eo		Rf	
c [g/l]	c [mol/l]	c [g/l]	c [mol/l]	c [g/l]	c [mol/l]
0,0003125	$9,77 \cdot 10^{-7}$	0,0005	$7,23 \cdot 10^{-7}$	0,0005	$1,33 \cdot 10^{-6}$
0,000625	$1,95 \cdot 10^{-6}$	0,001	$1,45 \cdot 10^{-6}$	0,001	$2,66 \cdot 10^{-6}$
0,00125	$3,91 \cdot 10^{-6}$	0,005	$7,23 \cdot 10^{-6}$	0,005	1,33E-05
0,0025	$7,82 \cdot 10^{-6}$	0,01	$1,45 \cdot 10^{-5}$	0,01	$2,66 \cdot 10^{-5}$
0,005	$1,56 \cdot 10^{-5}$	0,025	$3,61 \cdot 10^{-5}$	0,025	$6,64 \cdot 10^{-5}$
0,01	$3,13 \cdot 10^{-5}$	0,05	$7,23 \cdot 10^{-5}$	0,05	$1,33 \cdot 10^{-4}$
				0,1	$2,66 \cdot 10^{-4}$

5.7. Nastavení přístrojů a popis použitých metod

5.7.1. Reometr

Kromě difúzních testů je tato práce zaměřena na reologická měření. Tato měření byla prováděna na reometru HR-2 od společnosti TA Instruments Ltd. V této části experimentální části byly pomocí oscilačních testů zkoumány a následně porovnávány viskoelastické vlastnosti připravených PVA hydrogelů. Pro reologická měření byl využit ocelový senzor typu deska/deska o průměru 20 mm. Jednotlivé vzorky byly podrobeny amplitudovému testu, kdy normálová síla při stlačení vzorku byla pod hraniční hodnotou 5 N, teplota měření byla 25 °C, frekvence oscilace byla nastavena na 1 Hz a rozsah amplitudy deformace byl nastaven na 0,1–8000 %. Před samotným měřením bylo dále nastaven relaxační krok, který představuje dobu relaxace vzorku po stlačení na zvolenou vzdálenost mezi deskami. Relaxační krok byl nastaven na 120 s a vzdálenost mezi deskami na 1 mm.

5.7.2. Transportní charakteristiky

Difúzní testy představovaly stěžejní část experimentální části. Prvním krokem byla extrakce části připraveného PVA hydrogelu pomocí korkovrtu o vnitřním průměru 1,1 mm, čímž byl zajištěn stejný objem hydrogelu ve všech vzorcích. Tato část hydrogelu byla poté umístěna do šroubovací vialky a zalita 10 ml ultračisté vody. Vzniklý roztok byl následně po různých časových úsecích (4, 6, 8, 10, 23, 46, 69 a 140 hodin) proměřen na UV – VIS spektrometru. V době mezi jednotlivými měřeními byly vzorky uchovávány za laboratorní teploty v exsikátoru.

5.7.3. UV – VIS spektrometr

K difúzním testům byl použit UV – VIS spektrometr U-3900H od společnosti HITACHI. Po spuštění příslušného programu na PC bylo nastaveno rozmezí vlnových délek, ve kterém bude měřeno. Toto rozmezí bylo nastaveno na 300–800 nm. Před samotným měřením byla nastavena korekce baseline, kde bylo využito ultračisté vody. Po ukončení měření byla data vyexportována a zpracovávána v MS Excel. Z dat byly odečteny maximální hodnoty absorbancí pro jednotlivá barviva a byly vytvořeny grafické závislosti těchto absorbancí na čase. Následně byly pomocí kalibračních řad určeny koncentrace jednotlivých barviv v roztocích vzorků. Dále byly určeny závislosti koncentrací na čase.

6. VÝSLEDKY A DISKUZE

Jedním z cílů této práce byla optimalizace přípravy homogenních PVA hydrogelů, jejichž transportní a mechanické vlastnosti se laboratorně zkoumaly. K této optimalizaci byly použity jednak PVA hydrogely s různou koncentrací PVA, připravené s PVA o různé molekulové hmotnosti a dále PVA hydrogely s odlišným počtem cyklů mražení – tání. U takto připravených hydrogelů byly posuzovány vizuální odlišnosti a změny v mechanických či transportních vlastnostech. Požadovaným výsledkem přípravy optimálního PVA hydrogelu byla homogenita a ideální tuhost, aby bylo možné s nimi dále pracovat a studovat jejich transportní vlastnosti, které jsou nezbytné pro další potenciální využití těchto materiálů zejména v oblasti nosičových systémů.

6.1. Optimalizace přípravy PVA hydrogelů

Dvěma hlavními faktory, které byly při optimalizaci přípravy PVA hydrogelů studovány, byly počet cyklů mražení – tání a koncentrace PVA. Co se týče koncentrace PVA, byly porovnávány vlastnosti dvou rozdílných koncentrací, konkrétně 5 a 10 hm. %. Různě koncentrované roztoky PVA byly následně podrobeny odlišnému počtu cyklů mražení – tání (1, 2 a 3 cykly). U takto vzniklých hydrogelů byly následně pozorovány morfologické vlastnosti, které jsou shrnuty v tabulce 2.

Tabulka 2: Vlastnosti PVA hydrogelů na základě počtu cyklů F - T a koncentrace PVA.

Počet cyklů F - T [-]	Koncentrace [hm. %]	Vlastnosti
1	5	čirý, tekutý roztok
2		čirý, viskózní roztok
3		čirý gel držící tvar, po čase došlo k degradaci
1	10	jemně zakalený, řídký gel, nedrží tvar
2		jemně zakalený, tužší gel
3		jemně zakalený, velice tuhý, pevný gel

Na základě vlastností, které jsou uvedené v Tabulce 2 byly pro další experimenty využity vzorky o koncentraci 10 hm. % PVA, které byly podrobeny třem cyklům mražení – tání, jelikož právě tyto vzorky vykazovaly pro následné experimenty ideální mechanické vlastnosti jako tuhost, dostatečnou stálost a homogenitu. Dalším faktorem, proč byly tyto vzorky vybrány, byla nejvhodnější a zároveň nejsnadnější mechanická manipulace. Pro další studium v rámci transportních charakteristik byly také vybrány vzorky o koncentraci 5 hm. % a třech cyklech

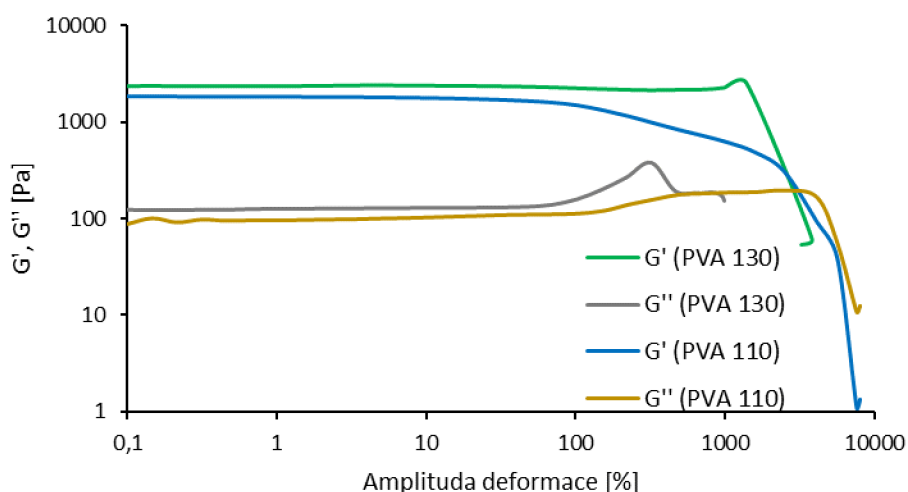
mražení – tání. S těmito vzorky však bylo potřebné, aby experimenty proběhly co nejdříve po jejich přípravě.

6.2. Reologická měření

Po dokončení optimalizace přípravy hydrogelů byly pomocí reologických měření sledovány jejich mechanické, konkrétně viskoelastické vlastnosti. Mezi sledované vlastnosti patřily: elastické a viskózní moduly, ztrátové úhly a amplitudy deformací. Podrobné nastavení reometru HR-2 od společnosti TA Instruments Ltd. je uvedeno v kapitole 5.7. *Nastavení přístrojů a popis použitých metod* v sekci *Reometr*.

6.2.1. Srovnání mechanických vlastností PVA hydrogelů o různé molekulové hmotnosti

V první fázi měření byly porovnávány viskoelastické moduly PVA hydrogelů, připravených z PVA o různých molekulových hmotnostech. Na obrázku 8 jsou vyobrazeny závislosti viskoelastických modulů na amplitudě deformace pro hydrogely tvořené z PVA o molekulových hmotnostech 110 a 130 kDa.

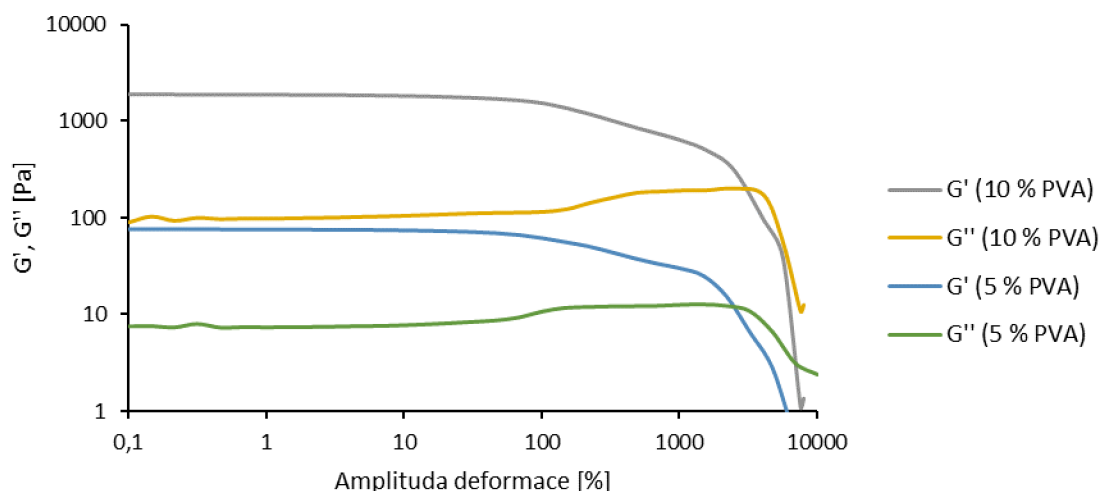


Obrázek 8: Srovnání amplitudových testů PVA hydrogelů o molekulových hmotnostech 110 a 130 kDa

Ze závislosti vyplývá, že hydrogely tvořené polyvinylalkoholem o vyšší molekulární hmotnosti dosahují nepatrně vyšších hodnot jak elastických, tak viskózních modulů, ale lze konstatovat, že oba vzorky hydrogelů připravené z jednotlivých PVA vykazovaly obdobné viskoelastické charakteristiky.

6.2.2. Porovnání mechanických vlastností PVA hydrogelů o různé koncentraci

Dále byly měřeny a následně porovnávány viskoelastické moduly PVA hydrogelů o různých koncentracích PVA. Pro měření byly zvoleny hmotnostní koncentrace 5 a 10 %. Na obrázku 9 jsou graficky zobrazeny výsledné amplitudové testy.

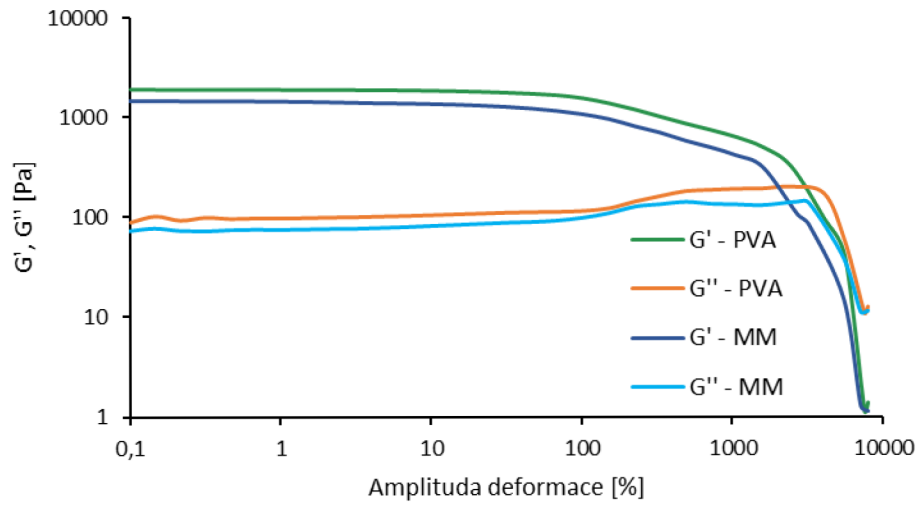


Obrázek 9: Srovnání amplitudových testů PVA hydrogelů o koncentracích 5 a 10 hm. %.

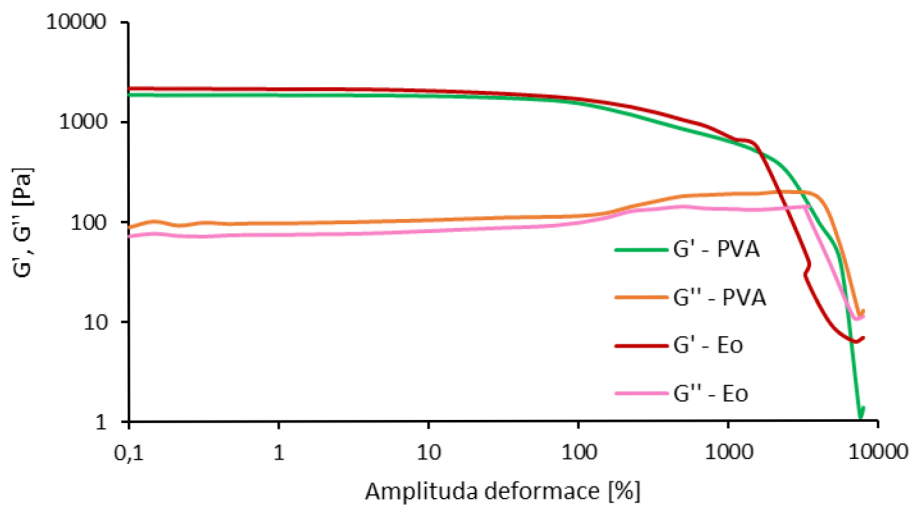
Z výsledků je zřejmé, že koncentrace PVA ovlivňuje mechanické vlastnosti ve značné míře. 10procentní hydrogel dosahuje v rámci obou modulů více než desetinásobných hodnot, což naznačuje větší míru zesíťování tohoto hydrogelu v porovnání s hydrogelem tvořeným 5 % PVA. Z výsledků lze konstatovat, že hydrogely připravené z PVA o vyšší koncentraci biopolymeru jsou odolnější vůči vnějším tlakům a jejich struktura je pevnější. Tyto výsledky se shodují s výsledky vizuálního pozorování, v kapitole 6.1. *Optimalizace přípravy PVA hydrogelů*.

6.2.3. Ovlivnění mechanických vlastností PVA hydrogelů přidáním barviv

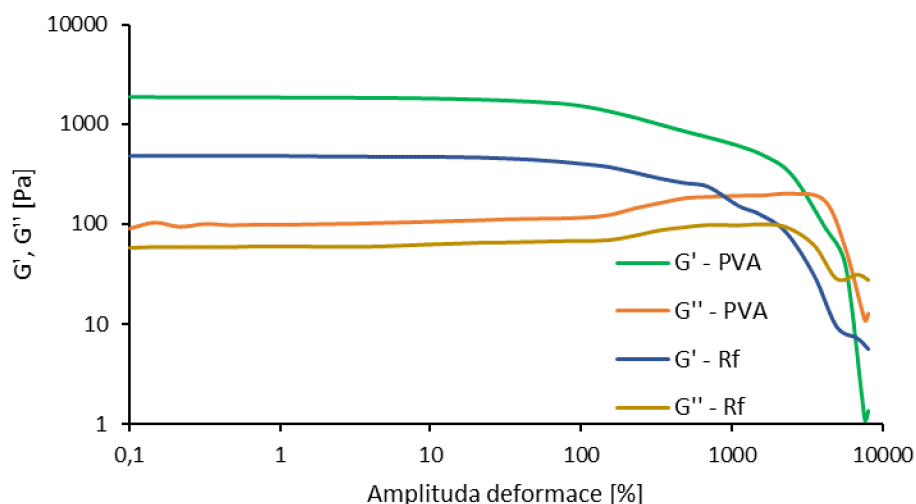
V další fázi reologických měření bylo zjišťováno, zda hydrogely obsahující barviva nevykazují odlišné viskoelastické charakteristiky od hydrogelu připraveného rozpuštěním PVA v ultračisté vodě (tj. bez přítomnosti barviv). V následujících třech grafech na obrázcích 10, 11 a 12 jsou znázorněny srovnání amplitudových testů čistého PVA hydrogelu s hydrogely obsahující barviva.



Obrázek 10: Závislost elastického a viskózního modulu PVA hydrogelů (bez a s MM) na amplitudě deformace.

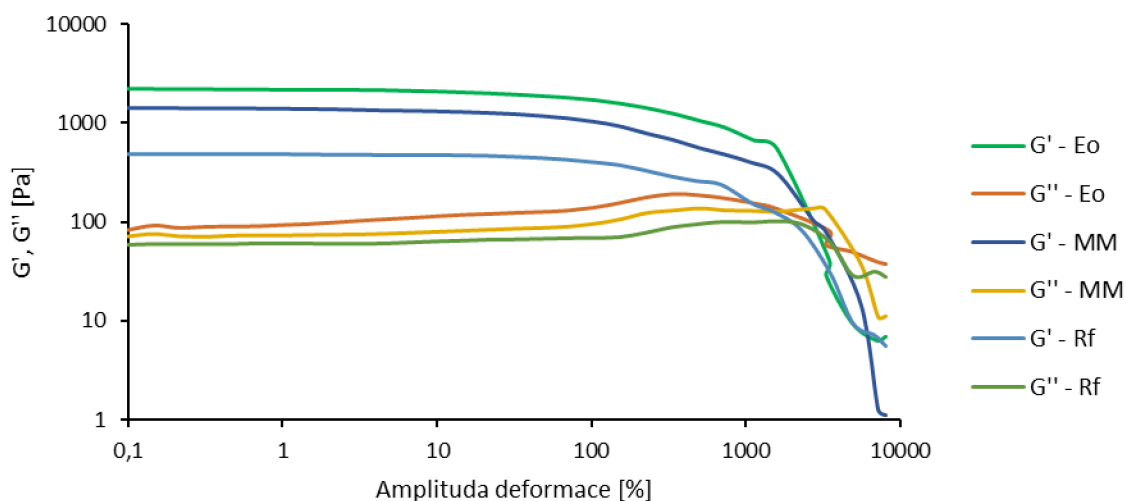


Obrázek 11: Závislost elastického a viskózního modulu PVA hydrogelů (bez a s eosinem) na amplitudě deformace.



Obrázek 12: Závislost elastického a viskózního modulu PVA hydrogelů (bez a s riboflavinem) na amplitudě deformace.

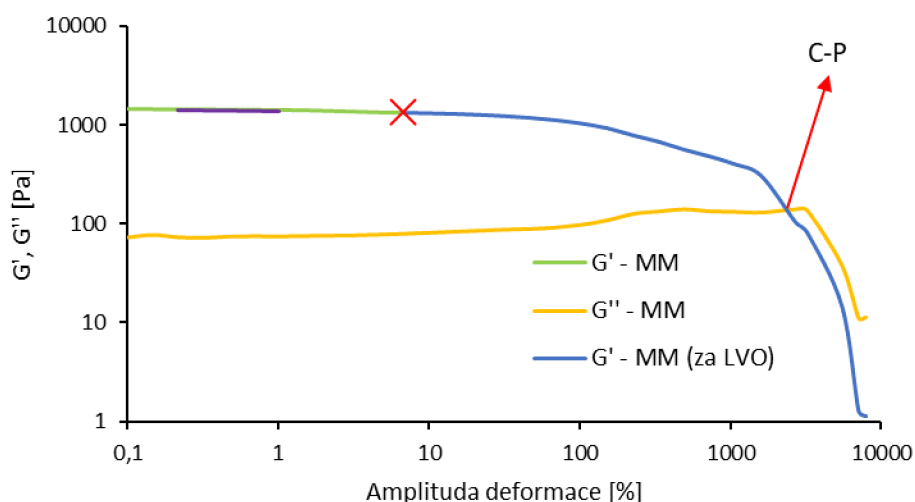
Ze závislostí vyplývá, že nejvyšších hodnot viskoelastických modulů dosahuje hydrogel obsahující eosin, který se i na základě pozorování jevil jako nejvíce tuhý. Zároveň se jedná o jediný hydrogel, který přesáhl hodnoty viskoelastických modulů čistého PVA. Naopak nejnižších hodnot viskoelastických modulů dosahuje hydrogel obsahující riboflavin. Pro bližší srovnání jsou viskoelastické moduly PVA hydrogelů obsahující barviva znázorněny v grafu na obrázku 13.



Obrázek 13: Grafické srovnání amplitudových testů PVA hydrogelů obsahující barviva

Dalším faktorem, který lze v grafech pozorovat, je amplituda deformace při specifických hodnotách viskoelastických modulů. Ta nám interpretuje schopnost materiálu odolávat působení vnějšího napětí a graficky odpovídá konci lineární viskoelastické oblasti (neboli LVO). Konec této oblasti je v následujícím grafu (viz obrázek 14) znázorněn červeným

křížkem. LVO je oblast, ve které je hydrogel ideálně zesíťovaný. Za touto oblastí ovšem dochází k degradaci gelu vlivem vnějšího napětí, až dojde k úplnému zhroucení vnitřní struktury gelu, tzv. cross – point (v grafu vyznačen šipkou C - P).



Obrázek 14: Amplitudový test PVA hydrogelu obsahujícího MM (vyznačené LVO, konec LVO a C - P). Na obrázku 14 je znázorněn amplitudový test pro PVA hydrogel obsahující methylenovou modř. Fialová část elastického modulu označuje hodnoty, se kterými bylo dále počítáno. Z této části LVO byla stanovena průměrná hodnota elastického modulu, který charakterizuje míru zesíťení hydrogelů. Dále byla určena amplituda deformace při konci LVO (červený křížek na obrázku 14) a také amplituda deformace odpovídající C – P. Výsledky pro všechny vzorky hydrogelů obsahující barviva byly pro větší přehlednost zaznamenány do tabulky 3.

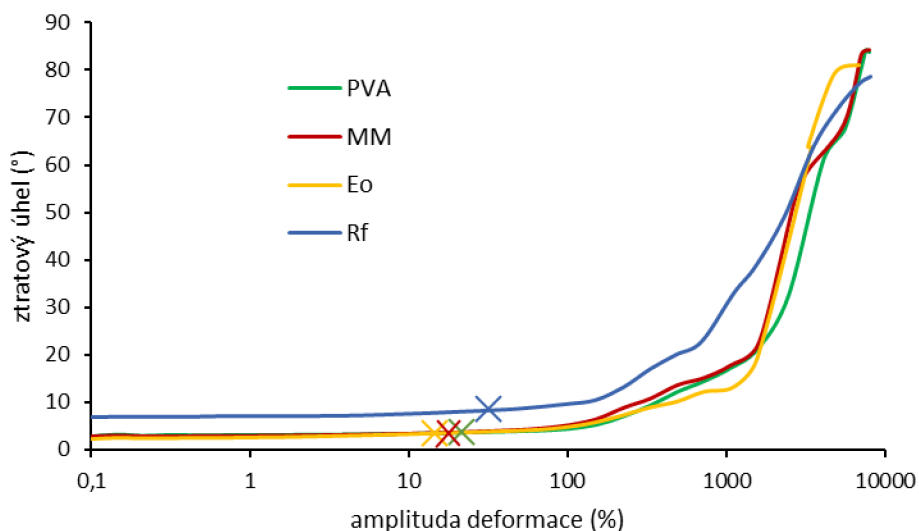
Tabulka 3: Výsledky amplitudových testů pro jednotlivé hydrogely

Sonda	G'_{LVO} [Pa]	Ztrátový úhel [°]	LVO [%]	CP [%]
PVA	1751,73 ± 119,12	2,82 ± 0,24	21,72 ± 0,06	4112,3
MM	1420,20 ± 52,18	3,29 ± 0,50	13,30 ± 2,07	2723,91
Eo	2421,06 ± 181,36	2,39 ± 0,06	12,43 ± 3,35	3465,02
Rf	450,66 ± 29,23	8,26 ± 1,65	31,81 ± 0,13	2293,58

Nejvyšší hodnoty elastického modulu v oblasti LVO dosahuje hydrogel obsahující eosin, nejnižší naopak opět hydrogel obsahující riboflavin. Z toho lze usoudit, že vzorek hydrogelu s eosinem dosáhl většího zesíťení než vzorek čistě z PVA. V případě hodnoty amplitudy deformace odpovídající konci LVO vykazoval nejnižší hodnotu hydrogel obsahující eosin,

a naopak nejvyšší hydrogely obsahující riboflavin. To značí, že hydrogel obsahující riboflavin měl ve své struktuře nejpevnější vazby.

Druhou vyhodnocovanou charakteristikou byly závislosti ztrátových úhlů na amplitudě deformace. V rámci tohoto vyhodnocování nás opět zajímaly oblasti po konec LVO, které jsou v grafu na obrázku 15 znázorněny křížky. Jedná se o oblast, ve které hydrogely vykazují svou typickou makroskopickou tuhost. Za touto hodnotou LVO je vlivem vnějšího napětí struktura materiálu zničena.



Obrázek 15: Graf závislosti ztrátového úhlu na amplitudě deformace

Co se ztrátového úhlu týče, hydrogely obsahující eosin a methylenovou modř dosahují téměř identických hodnot s čistými PVA hydrogely. Odlišnost vykazuje pouze hydrogel obsahující riboflavin, čímž se výsledek shoduje s ostatními.

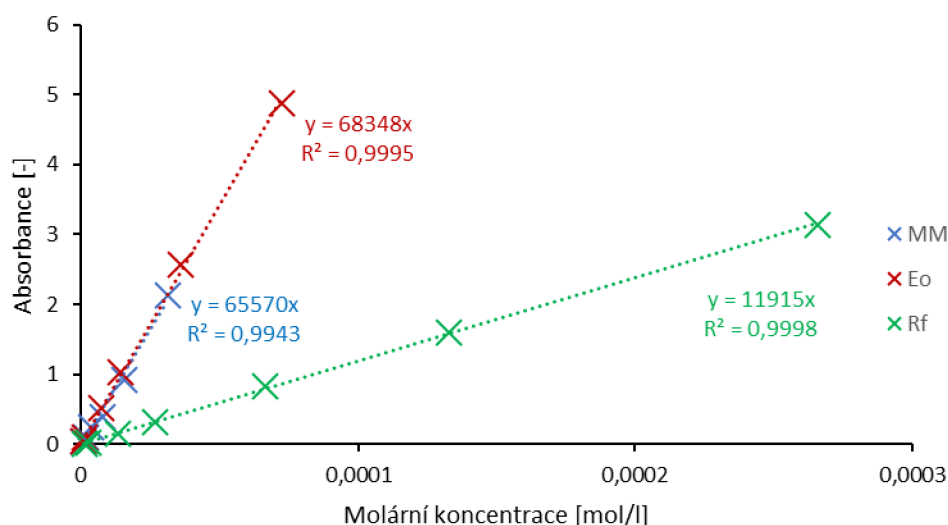
Obecně lze však říci, že dle výsledků z reologického měření nevykazují hydrogely obsahující methylenovou modř a eosin výrazné odlišnosti od hydrogelů čistě z PVA a lze očekávat obdobnou odolnost vůči namáhání vnější silou. Výraznější odlišnosti na základě vyhodnocení vykazuje pouze hydrogel obsahující riboflavin. To se však už po přípravě vzorků očekávalo, jelikož tyto vzorky nebyly ideálně tuhé.

6.3. Transportní charakteristiky

6.3.1. Kalibrační křivky použitých barviv

Před zahájením samotných měření transportních charakteristik bylo třeba proměřit absorpční spektra jednotlivých barviv a následně pomocí výsledných dat sestrojít kalibrační přímky. Ty jsou graficky znázorněny v grafu na obrázku 16. Kalibrační křivky byly dále spolu s hodnotami

absorpčních koeficientů (viz Tabulka 4), využity pro přepočet absorbancí barviv v roztoku na molární koncentrace.



Obrázek 16: Kalibrační křivky pro jednotlivá barviva.

Tabulka 4: Hodnoty absorpčních koeficientů, hodnoty spolehlivosti.

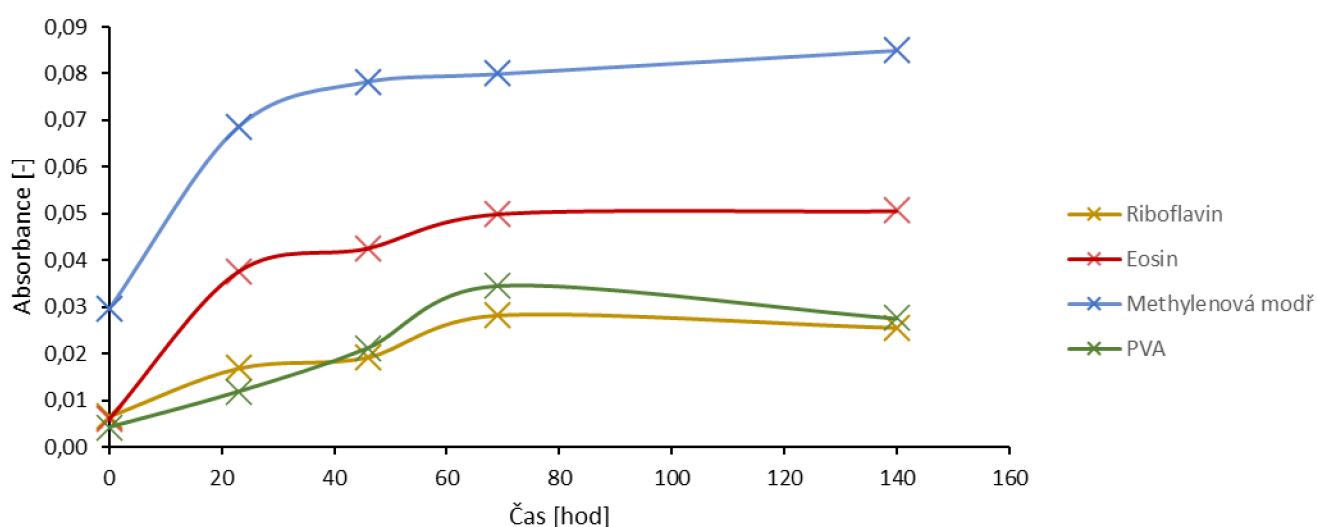
Sonda	ϵ [$\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]	R^2
MM	65570 ± 2212	0,9943
Eo	68348 ± 660	0,9995
Rf	11915 ± 76	0,9998

6.3.2. Difúzní testy

Stěžejní částí této práce byly difúzní testy, jelikož právě díky nim bylo možné definovat transportní charakteristiky v PVA hydrogelech. V rámci zvoleného uspořádání experimentu bylo sledováno uvolňování zvolených barviv (MM, Eo a Rf) z hydrogelu obsahujícího barvivo do okolní ultračisté destilované vody. Zároveň se jednalo o časově nejnáročnější část kvůli době, po kterou se barvivo uvolnilo do gelu.

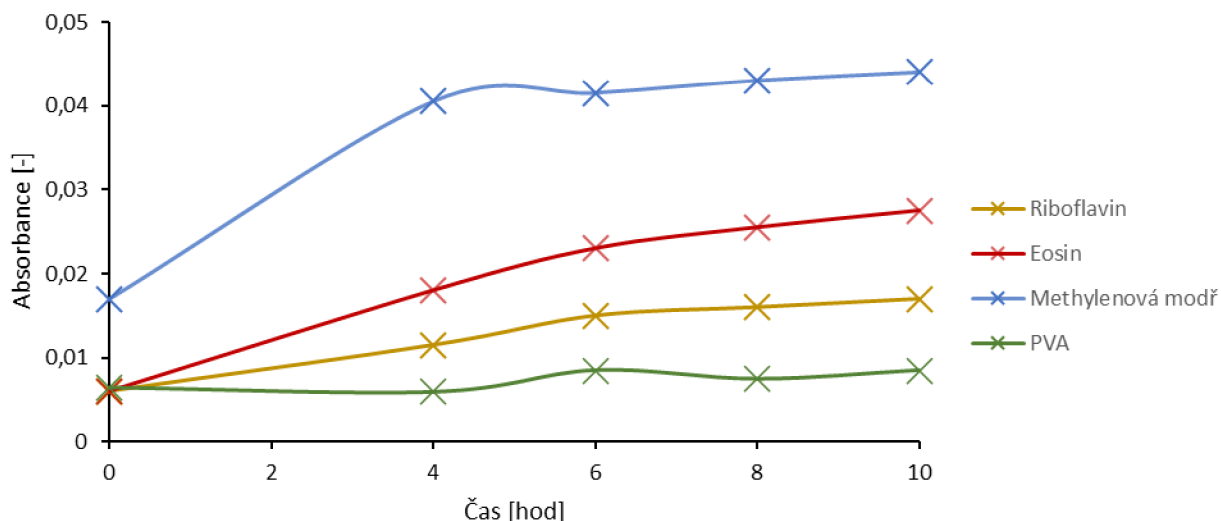
V první fázi byly pro difúzní testy zvoleny mezi jednotlivými měřeními delší časové úseky (řádově dny), aby bylo možné určit potřebný čas k dosažení maximální koncentrace barviva uvolněného z hydrogelu do okolního prostředí. K ustálení absorbance došlo u všech vzorků při 4. měření (tj. po 69 hodinách), jelikož při následujícím měření, které proběhlo po 140 hodinách, byly hodnoty absorbance téměř totožné s předchozími. Ze závislosti absorbance na čase v obrázku 17 je dále zjevné, že vzorky obsahující eosin a methylenovou modř vykazují stejný průběh uvolňování barviva, pouze v jiných hodnotách absorbancí. Nejvyšších hodnot

absorbance dosahuje vzorek obsahující methylenovou modř, jehož hodnoty absorbance byly již při prvním měření vyšší, než byly maximální hodnoty u vzorků obsahující riboflavin. U vzorků obsahujících riboflavin docházelo až do ustálení k rovnoměrnému nárůstu hodnot absorbance. Oproti tomu u vzorků obsahujících methylenovou modř a eosin došlo k největšímu nárůstu absorbance již mezi prvními dvěma měřeními a poté se růst křivky znatelně zpomalil, lze tedy říci, že v případě těchto dvou vzorků došlo k dosažení rovnováhy v systému. Odlišný průběh křivky měly vzorky obsahující čistě PVA připraveného bez přidání barviva. Mezi posledními dvěma měřeními došlo k poklesu absorbance, což mohlo být zapříčiněno postupnou degradací hydrogelu ve vodném prostředí a částečným uvolňováním řetězců PVA do vody. Tím rostla turbidita vzorku, což bylo detekováno pomocí UV-VIS na základě nárůstu absorbance.



Obrázek 17: Graf závislosti absorbance na čase.

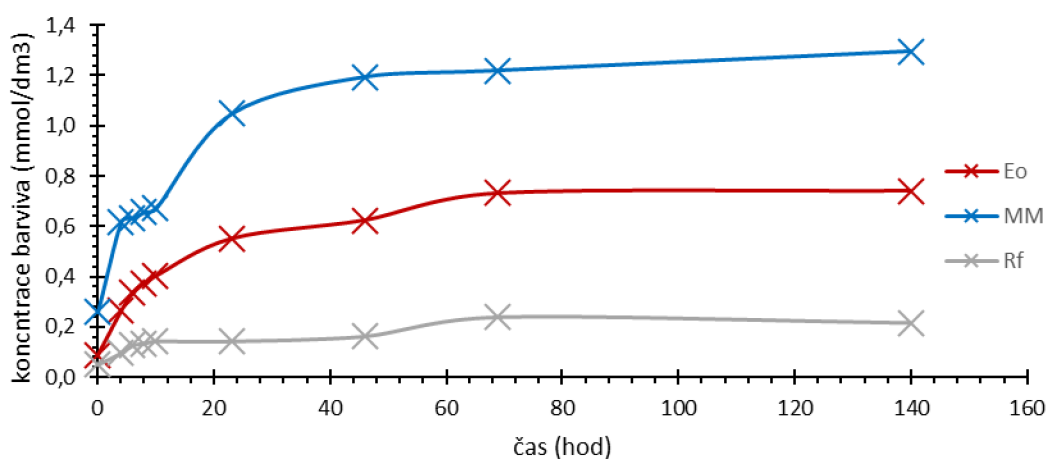
Jelikož k největšímu nárůstu absorbance došlo u všech vzorků obsahující barviva během prvních 24 hodin, ve druhé fázi měření byly zvoleny kratší časové úseky mezi jednotlivými měřeními (řádově hodiny). Výsledky z této fáze měření jsou znázorněny v grafu na obrázku 18.



Obrázek 18: Graf závislosti absorbance na čase (kratší časové úseky).

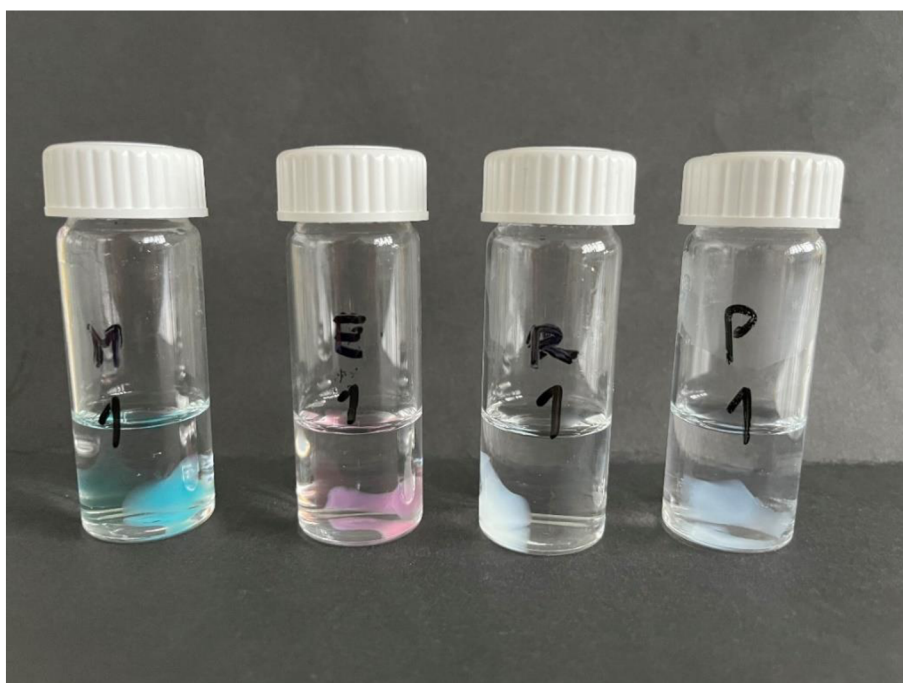
Stejně jako v předchozí fázi měření vykazovaly vzorky obsahující methylenovou modř vyšší hodnoty absorbance oproti všem ostatním vzorkům již při prvotním měření. Odlišností oproti předchozímu měření je podobnost průběhu křivek mezi vzorky obsahující eosin a riboflavin, u kterých během prvních deseti hodin, ve kterých měření probíhalo, docházelo k rovnovážnému nárůstu křivky. Kdežto u vzorků obsahující methylenovou modř došlo k nejvýraznějšímu nárůstu již mezi prvním a druhým měřením, resp. v prvních čtyřech hodinách. U vzorků obsahující pouze PVA dle očekávání nedocházelo k výraznému nárůstu absorbance. Jak již bylo zmíněno výše, k nárůstu, i když minimálnímu, pravděpodobně došlo vlivem degradace samotného hydrogelu.

Data získaná z UV – VIS měření byla následně pomocí kalibračních křivek přepočítána na molární koncentrace jednotlivých barviv a ty byly vyneseny v závislosti na čase (viz obrázek 19).

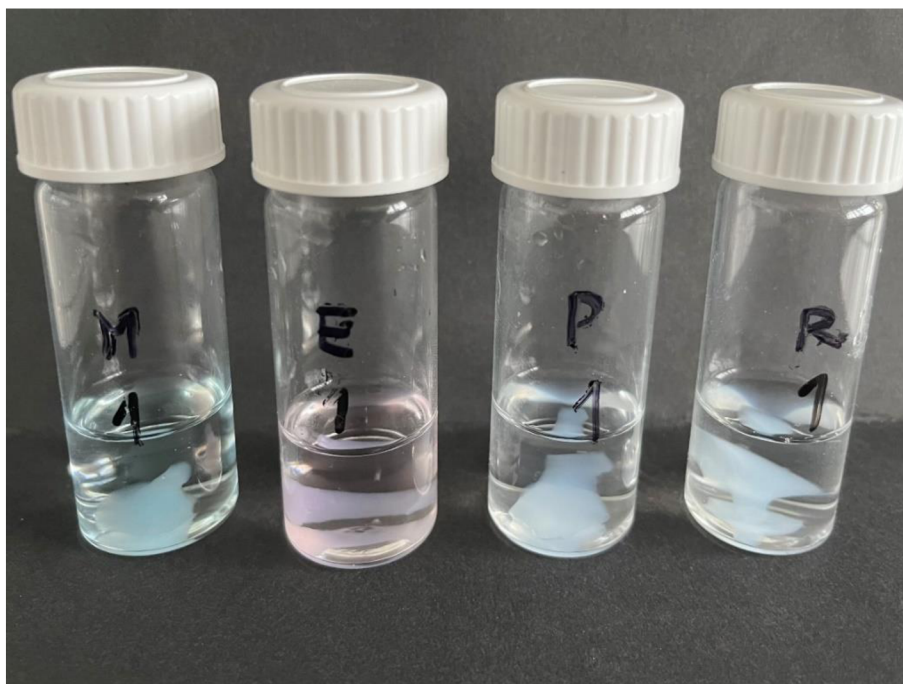


Obrázek 19: Graf závislosti molární koncentrace barviva na čase.

Stejně jako tomu bylo u měření absorbancí, k největšímu nárůstu molární koncentrace dochází již během prvních 20 hodin. Dále je nárůst koncentrací pozvolný. U vzorků obsahující methylenovou modř je pozorovatelný nejstrmější nárůst mezi prvními dvěma měřeními. Vzorky s eosinem a riboflavinem vykazují pozvolný nárůst molární koncentrace. Dále je z výsledků patrné, že k uvolňování barviv do roztoku dochází prakticky okamžitě.



Obrázek 20: Vzorky v čase $t = 0$ hod.



Obrázek 21: Vzorky v čase $t = 10$ hod.

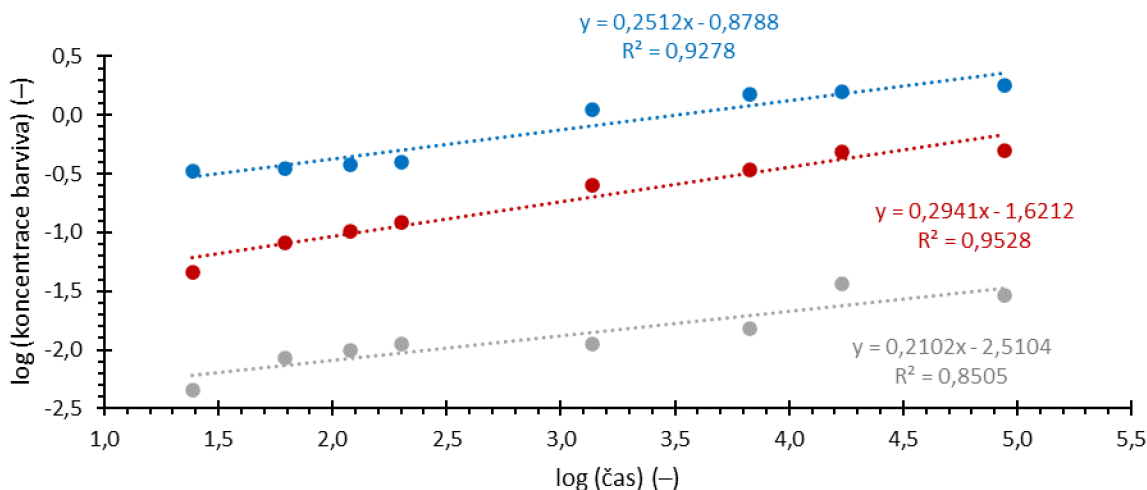
Na obrázcích 20 a 21 jsou pro vizuální porovnání vzorky zachycené před prvním měřením v čase $t = 0$ a vzorky po posledním měření v čase $t = 10$ hod.

Srovnáním výsledných dat molárních koncentrací se potvrzuje, že nejvíce barviva je uvolňováno ze vzorků hydrogelů obsahujících methylenovou modř. Naopak nejméně se uvolňujícím barvivem je riboflavin, jehož roztok ani po ustálení molární koncentrace nedosáhl hodnot, kterých vzorky s methylenovou modří dosáhly během prvního měření.

Poté, co se pomocí kalibračních křivek určily molární koncentrace jednotlivých barviv, byl sestrojen model uvolňování barviva v čase podle modelu Korsmeyer – Peppas [36]. Po sestrojení závislosti zlogaritmované koncentrace na zlogaritmovaném čase, byla rovnice 14 využita na proložení dat a na určení hodnot k a n , jejichž výsledné hodnoty jsou shrnuty v tabulce 5.

$$\frac{c_t}{c^\infty} = kt^n \quad (14)$$

kde c_t/c^∞ je stanovená koncentrace barviva ve vzorku, k je míra kinetiky a n je exponent uvolňování.



Obrázek 22: Graf závislosti zlogaritované koncentrace na zlogaritvaném čase.

Tabulka 5: Hodnoty k , n a R^2 pro jednotlivá barviva.

Sonda	k	n	R^2
MM	0,415	0,251	0,928
Eo	0,198	0,294	0,953
Rf	0,081	0,210	0,851

Z výsledků, které jsou shrnuty v tabulce 5, je zjevné, že nejvyšší míru kinetiky k dosahuje methylenová modř. Tato veličina udává rychlost uvolňování barviva do okolního prostředí. Nejnižší hodnotu míry kinetiky vykazuje riboflavin a k jeho uvolňování do okolního prostředí dochází více než $4\times$ pomaleji než u methylenové modři. Dále jsou v tabulce 5 shrnuty hodnoty exponentu uvolňování n . Tato hodnota definuje, o jaký typ uvolňování se jedná. Jelikož jsou hodnoty n pro všechna barviva menší než 0,45, jedná se o uvolňování, které odpovídá difúzně řízenému uvolňování v souladu s 1. Fickovým zákonem.

Z výsledků reologických testů je patrné, že mechanické vlastnosti hydrogelů obsahující barviva jsou do jisté míry stejné, tudíž struktura gelu nemá na uvolňování barviva do okolního roztoku vliv. Na míru uvolňování barviva do okolního prostředí má tedy vliv struktura barviva, kdy riboflavin mohl interagovat s polymerními řetězci PVA hydrogelu skrze vodíkové můstky. Další parametr, který je nutno brát v potaz, je parciální náboj, který barviva nesou ve vodném roztoku. Z výsledků je patrné, že barviva s nábojem mají větší tendenci k uvolňování se z gelu do okolního prostředí. Naopak barvivo bez náboje má tendenci minimální.

7. ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo definovat transportní charakteristiky PVA hydrogelů. Prvním krokem byla optimalizace přípravy PVA hydrogelů, které byly následně použity pro studium daných charakteristik. Při přípravě byla využita metoda freeze – thawing, která vede k fyzikálnímu zesíťování hydrogelů. Při optimalizaci přípravy se vycházelo z předchozích zkušeností pracoviště. V rámci optimalizace byly porovnávány mechanické vlastnosti PVA hydrogelů, na jejichž přípravu byly zvoleny různé molekulové hmotnosti, konkrétně 110 a 130 kDa. Bylo prokázáno, že molekulová hmotnost výrazně neovlivňuje mechanické vlastnosti hydrogelů. Poté byl posuzován vliv koncentrace PVA a počet cyklů mražení – tání. Bylo zjištěno, že koncentrace použitého PVA má výrazný vliv na mechanické vlastnosti hydrogelů. Hydrogely připraveného z 10 hm. % PVA měly výrazně lepší viskoelastické vlastnosti než hydrogely, na jejichž přípravu byl použit PVA o koncentraci 5 hm. %. Stejně tak jako koncentrace PVA, i počet cyklů mražení – tání značně ovlivňuje mechanické vlastnosti hydrogelů. Při srovnání hydrogelů s 1, 2 a 3 cykly mražení – tání, vykazovaly nejlepší viskoelastické vlastnosti hydrogely se třemi cykly.

Pro další experimenty byly tedy zvoleny PVA hydrogely o koncentraci 10 hm. % a byly podrobeny třem cyklům mražení – tání. Dále byly připraveny PVA hydrogely obsahující různá barviva, a to konkrétně methylenovou modř, eosin a riboflavin. Tyto hydrogely byly pomocí reologických testů porovnávány s čistými PVA hydrogely (tj. neobsahující barviva). Obecně lze říci, že hydrogely obsahující methylenovou modř a eosin dosahují téměř identických hodnot s čistými PVA hydrogely. Svými hodnotami se odlišovaly pouze hydrogely obsahující riboflavin, který vykazoval nižší hodnoty viskoelastických modulů. Reologické testy potvrdily výsledky, které byly predikovány na základě vizuálního pozorování připravených hydrogelů.

Zásadní částí této práce byly difúzní testy, které sloužily pro studium vlivu náboje na transportní charakteristiky PVA hydrogelů. Trend byl takový, že hydrogely obsahující methylenovou modř, která má ve vodném roztoku kladný náboj, uvolňovaly do okolního prostředí barvivo nejochotněji a zároveň nejrychleji. Naopak hydrogely obsahující riboflavin, který nenesl žádný náboj, měly minimální tendenci k uvolňování barviva. Dále bylo prokázáno, že v případě všech přidávaných barviv dochází k uvolňování, které se řídí 1. Fickovým zákonem.

Závěrem lze říci, že přidání látky, která má ve vodném prostředí parciální náboj, žádným způsobem neovlivňuje mechanické vlastnosti PVA hydrogelů. Co se týče transportních vlastností, ty jsou naopak parciálním nábojem ovlivněny výrazně.

8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BUFFA, R.; PRAVDA, M.; SEDLÁČEK, P.; CHYTIL, M. Hydrogely. 1. 1. MediaBros s.r.o., 2015. 114 s. ISBN: 978-80-260-7866-1.
- [2] AHMED, Enas M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. *Journal of Advanced Research* [online]. 2015, 6(2), 105-121. ISSN 20901232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jare.2013.07.006
- [3] PEPPAS, Nikolaos A., ed. *Hydrogels in Medicine and Pharmacy* [online]. CRC Press, 2019. ISBN 9780429285097. Dostupné z: doi:10.1201/9780429285097
- [4] VARAPRASAD, Kokkarachedu, Gownolla Malegowd RAGHAVENDRA, Tippabattini JAYARAMUDU, Murali Mohan YALLAPU a Rotimi SADIKU. A mini review on hydrogels classification and recent developments in miscellaneous applications. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2017, 79, 958-971. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2017.05.096
- [5] NOVÁK, Josef P., Lidmila BARTOVSKÁ, Michal BUREŠ, Pavel CHUCHVALEC, Stanislav LABÍK, Anatol MALIJEVSKÝ, Jaroslav MATOUŠ a Ivan SAMHÝL. *Fyzikální chemie II*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2001. ISBN 80-7080-436-x.
- [6] POUCHLÝ, Julius. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. Vyd. 3. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. ISBN 978-80-7080-674-6.
- [7] MEISSNER, Bohumil. *Fyzika polymerů: struktura a vlastnosti polymerních materiálů*. Praha: SNTL-Nakladatelství technické literatury, 1967.
- [8] THANOO, B C, M C SUNNY a A JAYAKRISHNAN. Controlled Release of Oral Drugs from Cross-linked Polyvinyl Alcohol Microspheres. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* [online]. 1993, 45(1), 16-20. ISSN 2042-7158. Dostupné z: doi:10.1111/j.2042-7158.1993.tb03671.x
- [9] HASSAN, Christie M. a Nikolaos A. PEPPAS. Structure and Applications of Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods. In: *Biopolymers · PVA Hydrogels, Anionic Polymerisation Nanocomposites* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2000, s. 37-65. *Advances in Polymer Science*. ISBN 978-3-540-67313-2. Dostupné z: doi:10.1007/3-540-46414-X_2
- [10] WARESINDO, William Xaveriano, Halida Rahmi LUTHFIANTI, Dhewa EDIKRESNHA, Tri SUCIATI, Fatimah Arofiati NOOR a Khairurrijal

- KHAIRURRIJAL. A freeze–thaw PVA hydrogel loaded with guava leaf extract: physical and antibacterial properties. *RSC Advances* [online]. 2021, 11(48), 30156-30171. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/D1RA04092H
- [11] YOKOYAMA, F., I. MASADA, K. SHIMAMURA, T. IKAWA a K. MONOBE. Morphology and structure of highly elastic poly(vinyl alcohol) hydrogel prepared by repeated freezing-and-melting. *Colloid & Polymer Science* [online]. 1986, 264(7), 595-601. ISSN 0303-402X. Dostupné z: doi:10.1007/BF01412597
- [12] LI, Jia Kui, Nuo WANG a Xue Shen WU. Poly(vinyl alcohol) nanoparticles prepared by freezing–thawing process for protein/peptide drug delivery. *Journal of Controlled Release* [online]. 1998, 56(1-3), 117-126. ISSN 01683659. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-3659(98)00089-3
- [13] MEHRER, H., STOLWIJK, N. A.: *Heroes and Highlights in History of Diffusion*. Institut für Materialphysik, Universität Münster, Germany 2009.
- [14] CUSSLER, E.: *Diffusion: mass transfer in fluid systems*. 3rd ed. New York: Cambridge University Press, 2009. ISBN 978–0–521–87121–2.
- [15] BARTOVSKÁ, L., ŠIŠKOVÁ, M.: *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav. VŠCHT v Praze*, 1999. ISBN 80-7080-337-1.
- [16] WEIN, Ondřej. *Úvod do reologie*. Brno: Malé Centrum, 1996. ISBN 80-238-0928-8.
- [17] PEKAŘ, M., M. KLUČÁKOVÁ, M. VESELÝ a M. ČEPAN. *Fyzikální chemie a fotochemie*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. 2003. ISBN: 80-214-2470-2.
- [18] MEZGER, Thomas. *The rheology handbook: for users of rotational and oscillatory rheometers*. 4th edition. Hannover: Vincentz Network, 2014. European coatings tech files. ISBN 978-3-86630-842-8.
- [19] HOLUBOVÁ, Renata. *Základy reologie a reometrie kapalin*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2014. ISBN 9788024441788.
- [20] UGURAL, Ansel C. a Saul K. FENSTER. *Advanced strength and applied elasticity*. 4th ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2003. ISBN 0-13-047392-8.
- [21] GEDDES, Chris D., ed. *Reviews in Fluorescence 2016* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2017. *Reviews in Fluorescence*. ISBN 978-3-319-48259-0. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-48260-6
- [22] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. Třetí, upravené vydání. Ostrava: Pavel Klouda - nakladatelství Pavko, 2016. ISBN 978-80-86369-22-8.

- [23] SINICA A.: Spektrofotometrie ve viditelné oblasti spektra [online]. 2010, [cit. 2023-05-14]. Dostupné z: <https://docplayer.cz/105823641-Spektrofotometrie-ve-viditelne-oblasti-spektra.html>
- [24] SOMMER, Lumír. Analytická spektrometrie I. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1986.
- [25] SCHILDKNECHT, C. E. Polyvinyl alcohol, properties and applications, C. A. Finch, Wiley, New York, 1973. 622 pp. Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition [online]. 12(2), 105-106. ISSN 03606384. Dostupné z: doi:10.1002/pol.1974.130120212
- [26] LI, Jia Kui, Nuo WANG a Xue Shen WU. Poly(vinyl alcohol) nanoparticles prepared by freezing–thawing process for protein/peptide drug delivery. Journal of Controlled Release [online]. 1998, 56(1-3), 117-126. ISSN 01683659. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-3659(98)00089-3
- [27] LUTHFIANTI, Halida Rahmi, William Xaveriano WARESINDO, Dhewa EDIKRESNHA, Agus CHAHYADI, Tri SUCIATI, Fatimah Arofiati NOOR a Khairurrijal KHAIRURRIJAL. Physicochemical Characteristics and Antibacterial Activities of Freeze-Thawed Polyvinyl Alcohol/Andrographolide Hydrogels. ACS Omega [online]. ISSN 2470-1343. Dostupné z: doi:10.1021/acsomega.2c05110
- [28] HOFFMAN, A. S. (2012). Hydrogels for biomedical applications. Advanced Drug Delivery Reviews, 64, 18–23. doi:10.1016/j.addr.2012.09.010
- [29] REZAIE, J., AKBARI, A., RAHIMKHOEI, V., LIGHVANI, Z. M., & JAFARI, H. (2021). Halloysite nanotubes/carbohydrate-based hydrogels for biomedical applications: from drug delivery to tissue engineering. Polymer Bulletin. doi:10.1007/s00289-021-03784-w
- [30] BAKER, M. I., WALSH, S. P., SCHWARTZ, Z., & BOYAN, B. D. (2012). A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic applications. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 100B(5), 1451–1457. doi:10.1002/jbm.b.32694
- [31] JIANG, S., LIU, S., & FENG, W. (2011). PVA hydrogel properties for biomedical application. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 4(7), 1228–1233. doi:10.1016/j.jmbbm.2011.04.005
- [32] ADELNIA, Hossein, Reza ENSANDOOST, shehzahdi shebbrin MOONSHI, Jaber GAVGANI, Emad Izadi VASAFI a Hang Thu TA. Freeze/thawed polyvinyl alcohol

- hydrogels: Present, past and future. *European Polymer Journal*. 2022, 2022(164). ISSN 0014-3057. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110974>
- [33] HASSAN, C. M., & PEPPAS, N. A. (2000). Structure and Morphology of Freeze/Thawed PVA Hydrogels. *Macromolecules*, 33(7), 2472–2479. doi:10.1021/ma9907587
- [34] FIGUEROA-PIZANO, M. D., VÉLAZ, I., PEÑAS, F. J., ZAVALA-RIVERA, P., ROSAS-DURAZO, A. J., MALDONADO-ARCE, A. D., & MARTÍNEZ-BARBOSA, M. E. (2018). Effect of freeze-thawing conditions for preparation of chitosan-poly (vinyl alcohol) hydrogels and drug release studies. *Carbohydrate Polymers*, 195, 476–485. doi:10.1016/j.carbpol.2018.05.004
- [35] KAZIMIERSKA-DROBNY, K., & KACZMAREK, M. (2013). Identification of diffusive transport properties of poly(vinyl alcohol) hydrogels from reservoir test. *Materials Science and Engineering: C*, 33(8), 4533–4538. doi:10.1016/j.msec.2013.07.004
- [36] PERMANADEWI, I., KUMORO, A. C., WARDHANI, D. H., & ARYANTI, N. (2019). Modelling of controlled drug release in gastrointestinal tract simulation. *Journal of Physics: Conference Series*, 1295, 012063. doi:10.1088/1742-6596/1295/1/012063

9. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

9.1. Použité zkratky

PVA	polyvinylalkohol
MM	methylenová modř
Eo	eosin
Rf	riboflavin
UV	ultrafialová oblast
VIS	viditelná oblast
LVO	lineární viskoelastická oblast
HEMA	hydroxyethylmethakrylát
F – T	freeze – thawing

9.2. Použité symboly

N	počet řetězců v síti
f	funkčnost
N_u	počet uzlů
v	objemová koncentrace řetězců sítě
N_A	Avogadrova konstanta
V^0	objem sítě ve stavu xerogelu
M	molární hmotnost řetězce
ρ	hustota
j_i	difúzní tok
n	látkové množství
τ	čas
J_i	jednorozměrný difúzní tok
x	vzdálenost
c	molární koncentrace
D	difúzní koeficient
F	síla
σ	smykové napětí
η	dynamická viskozita
du	vzájemná rychlost pohybu smykových rovin
D_v	gradient rychlosti
T	transmitance

A	absorbance
ϕ_0	původní zářivý tok dopadajícího paprsku
ϕ	snížený zářivý tok dopadajícího paprsku
l	tloušťku vrstvy
ε_λ	molární absorpční koeficient
M_w	molekulová hmotnost
k	míra kinetiky
n	exponent uvolňování