



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

**„SUCHÉ“ FORMY GELŮ – AEROGELY, XEROGELY –
METODY PŘÍPRAVY, VLASTNOSTI A MOŽNÉ APLIKACE**

DRY GEL FORMS - AEROGELS, XEROGELS - PREPARATION, PROPERTIES AND POTENTIAL USE.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Marian Sedlář

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Petr Sedláček, Ph.D.

BRNO 2019

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1404/2018 Akademický rok: 2018/19
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student: **Marian Sedlář**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Petr Sedláček, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

„Suché“ formy gelů – aerogely, xerogely – metody přípravy, vlastnosti a možné aplikace

Zadání bakalářské práce:

1. Vypracovat literární rešerši na téma bakalářské práce.
2. Na modelovém hydrogelovém systému otestovat vliv různých způsobů sušení na strukturu a vlastnosti připravených suchých forem gelů.

Termín odevzdání bakalářské práce: 24.5.2019:

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

Marian Sedlář
student(ka)

Ing. Petr Sedláček, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

Abstrakt

Náplní této bakalářské práce bylo zjistit jaký, vliv má sušení hydrogelu na jeho vnitřní strukturu na vhodném modelovém hydrogelovém systému. V teoretické části této práce byly popsány vybrané metody strukturní analýzy se používají pro charakterizaci gelů v původním hydratovaném stavu a následně i v suchém stavu. V praktické části byly jako modelový hydrogelový systém zvoleny hydrogely na bázi agarózy o různé koncentraci a s různými přísadky polyelektrolytů. Na strukturní analýzu hydrogelů byla zvolena metoda kryo-skenovací elektronová mikroskopie a turbidimetrie. Pro suché formy gelů, byla zvolena skenovací elektronová mikroskopie a rtuťová porozimetrie. Získaná data a výsledky, získané pro modelový gelový systém, mohou následně posloužit při zkoumání vnitřní struktury dalších hydrogelových systému a jejich suchých forem.

Abstract

The content of this bachelor thesis was to find out what influence has the drying of hydrogel on its internal structure on an appropriate model hydrogel system. In the theoretical part of this thesis selected methods of structural analysis that are commonly used for characterization on gels in their original hydrated state and in dry state were described. In the practical part, agarose based hydrogels with different concentrations and with various additions of polyelectrolytes were chosen as the model hydrogel system. Cryo-scanning electron microscopy and turbidimetry were used for the structural analysis of hydrogels. For the dry gels, scanning microscopy and mercury porosimetry were used. The obtained data and results for our model system can be use in analyse of other hydrogel systems and their dry forms.

Klíčová slova

aerogely, xerogely, hydrogely, agaróza, alginát, elektronová mikroskopie, rtuťová porozimetrie, turbidimetrie, reologie

Keywords

aerogels, xerogels, hydrogels, agarose, alginate, electron microscopy, mercury porosimetry, turbidimetry, rheology

Citace

SEDLÁŘ, M. „*Suché“ formy gelů – aerogely, xerogely – metody přípravy, vlastnosti a možné aplikace*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2019, 48 stran, Vedoucí bakalářské práce Ing. Petr Sedláček, Ph.D.

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.

.....
Marian Sedlář
24.5.2019

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval vedoucímu práce Ing. Petru Sedláčkovi Ph.D. za jeho cenné rady, vedení, ohromnou trpělivost a jeho přístup při řešení této práce. Dále bych velmi rád poděkoval své konzultantce Ing. Monice Trudičové, která mi poskytovala odbornou pomoc při řešení všech aspektů této práce a měla pochopení pro mé časté otázky, na které mi vždy s nadšením odpovídala. V neposlední řadě bych rád poděkoval své přítelkyni a rodině za podporu kterou mi poskytovali, jak při psaní bakalářské práce, tak i při celém studiu.

Obsah

1	ÚVOD.....	6
2	TEORETICKÁ ČÁST	7
	2.1 Gely.....	7
	2.1.1 Hydrogely	7
	2.1.2 Aerogely	8
	2.1.3 Xerogely	9
	2.2 Polymery.....	10
	2.2.1 Agaróza.....	10
	2.2.2 Alginát	11
	2.2.3 Polystyren-sulfonát sodný	11
	2.3 Metody strukturní analýzy.....	12
	2.3.1 Přímé zobrazovací metody	12
	2.3.2 Nepřímé metody	13
3	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	15
	3.1 Aerogely	15
	3.2 Xerogely	16
4	PRAKTICKÁ ČÁST	18
	4.1 Chemikálie.....	18
	4.2 Přístroje.....	18
	4.3 Agarózové gely.....	18
	4.3.1 Agarózové gely bez přídavku polyelektrolytu.....	18
	4.3.2 Agarózové gely s přídavkem polyelektrolytu.....	18
	4.4 Strukturní analýza agarózových gelů	19
	4.4.1 Přímé metody.....	19
	4.4.2 Nepřímé metody	20
	4.5 Alginátové gely.....	21
	4.5.1 Reologie.....	21
	4.5.2 Strukturní analýza.....	22
5	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	23
	5.1 Struktura gelů na bázi agarózy	23
	5.1.1 Kryo-skenovací elektronová mikroskopie	23
	5.1.2 Turbidimetrie	27
	5.1.3 Skenovací elektronová mikroskopie.....	28
	5.1.4 Rtuťová porozimetrie.....	33
	5.2 Alginátové gely.....	35
	5.2.1 Reologie.....	35
	5.2.2 Strukturní analýza alginátových gelů	38
6	ZÁVĚR.....	40
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	42
8	POUŽITÉ ZKRATKY.....	46
9	PŘÍLOHY	47

1 ÚVOD

Hydrogely získávají v poslední době zvýšenou pozornost ve všech různých oblastech průmyslu a výzkumu, od tkáňového inženýrství, kde se používají k tvorbě scaffoldů, farmakologie, ve které slouží jako nosiče léků, medicíny, kde se využívají ke krytí ran jako vlhké náplasti, obvazy, anebo v potravinářství či biosenzorice. Jsou tvořeny trojrozměrnou prostorovou strukturou sesíťovaného polymeru s vodou. Mohou být tvořeny přírodními polymery jako je například agaróza nebo alginát, ale i syntetickými makromolekulárními sítěmi, jaké představují například polyakryláty, které nachází své využití v pěstování plodin a jejich závlaze. Jedná se o látky, které jsou schopné ve své vnitřní struktuře zadržovat velké množství vody, díky čemuž mají jako materiál různé unikátní vlastnosti. Jedná se například o zajímavé mechanické vlastnosti, jako pružnost nebo tažnost. Hydrogely byly a jsou v hledáčku mnoha výzkumných týmů po celém světě, a ačkoliv už nyní mají širokou škálu využití, stále se hledají nové možnosti jejich aplikace, a to ať už ve formě hydratované či vysušené.

Suché formy hydrogelů se rozdělují na xerogely a aerogely. Xerogel vznikne, pokud se hydrogel zbaví veškeré vody a zůstane pouze zesíťovaná struktura polymeru a dochází ke zborcení a znehodnocení původní vnitřní struktury gelu. Aerogel je gel, ve kterém se voda vázaná ve struktuře hydrogelu nahradí vzduchem, či jiným plynem a dochází pouze k minimálnímu poškození a znehodnocení vnitřní struktury. Hlavním cíle teoretické části práce bylo získat znalosti a ucelit informace o suchých formách hydrogelu, polymerech, které se používají k tvorbě hydrogelu jako je agaróza, alginát a polystyren-sulfonát sodný, a metodách strukturní analýzy, které se následně využívaly v experimentální části, například elektronová mikroskopie nebo rtuťová porozimetrie.

Snahou mé experimentální práce bylo porovnat možné přípravy suchých forem gelů, s ohledem na zachování co nejvěrnější podoby vnitřní struktury hydrogelu pomocí mražení. Vzorky vytvořených gelů bylo za tímto účelem nutné podrobit strukturní analýze přímé i nepřímé. Jako přímá metoda, která umožňuje vizualizaci vnitřní struktury, byla využita skenovací elektronová mikroskopie (SEM) pro suché vzorky, které byly získány pomocí lyofilizace, respektive kryo-skenovací elektronová mikroskopie (kryo-SEM), která byla použita pro původní gely v hydratovaném stavu. Mezi použité metody nepřímé strukturní analýzy patří rtuťová porozimetrie (suché – lyofilizované vzorky) a turbidimetrie (hydratované vzorky). Výhody a nevýhody jednotlivých metod jsou popsány dále v práci a jejich kombinací se podařilo získat uspokojivé výsledky, které jsou shrnuty v závěru práce.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Gely

Želé neboli gel, který se vytvoří v hrnci po zchladnutí pomalu vařeného vývaru z masa a kostí nebo z ovocných šťáv s cukrem, je měkký a polopevný materiál, který je používán v domácnostech po celém světě již dlouhá staletí. Od počátku 19. století byla známa celá řada jiných organických a anorganických systémů, které byly schopny vytvářet gely [1].

Na otázku: „Co je to gel?“ není jednoznačná odpověď. Slovy Jordan Lloyd: „*The colloidal condition, the 'gel', is one which it is easier to recognize than to define.*“. Tedy koloidní stav gelu je jeden z případů, který se snáze pozná, než definuje [1]. Gely se zabývalo mnoho autorů a mnoho z nich definovalo gely podle různých kritérií od typu struktury, složení, reologických vlastností, až po velikost pórů.

Gely se mohou rozlišovat podle struktury na dva základní typy – tepelně vratné a tepelně nevratné. Tepelně vratné gely jsou takové gely, které se při zahřívání roztékají a při chladnutí tuhnou. Příkladem těchto gelů jsou gely tvořeny například želatinou či agarem ve vodě. Tepelně nevratné gely, jsou na druhou stranu takové, u kterých důsledkem zvyšování teploty nedochází k roztékání. Mezi tyto gely patří oxid křemičitý ve vodě nebo sulfidy kovů ve vodě [2].

Gely se mohou klasifikovat podle Paula Floryho, který se na gely díval ze strukturního hlediska, do následujících kategorií [3]:

1. Dobře uspořádaná lamelární struktura, včetně gelových mezofází.
2. Zcela neuspořádaná kovalentní polymerní síť.
3. Polymerní síť zformovaná pomocí agregace, převážně neuspořádaná ale s oblastmi uspořádanými.
4. Neuspořádaná částicová struktura [3].

Další pohled na dělení gelů představuje klasifikace dle Almdala, který se na problematiku definice gelu, zaměřil spíše z pohledu reologie a jeho myšlenky jsou [4]:

1. Gely, které jsou spíše podobné kapalinám (*liquid-like*), u kterých z reologického hlediska převládá viskózní modul G'' nad elastickým modulem G' .
2. Gely, které jsou spíše podobné pevným látkám (*solid-like*), u kterých z reologického hlediska převládá elastický modul G' nad viskózním modulem G'' .

2.1.1 Hydrogely

Za nejpoužívanější definici hydrogelu je považována ta, která představuje hydrogel jako vodou nabobtnalou a zesíťovanou polymerní síť, která vzniká jednoduchou reakcí jednoho či více monomerů. Další možná definice považuje hydrogel za polymerní materiál, který vykazuje vlastnost bobtnat a uchovat velké množství vody ve své struktuře, přičemž ve vodě zůstane nerozpustný [5,6].

Hydrogely nalézají uplatnění v celé řadě všemožných průmyslových a technologických aplikacích, jako například v tkáňovém inženýrství, ve farmacii jako nosiče léků, v biosenzorice, v ochranných pomůckách, v zemědělství, v desinfekčních či čistících přípravcích, v medicíně nebo v potravinářství [6-9].

Stejně jako gely obecně, tak ani hydrogely není snadné klasifikovat. Opět je můžeme dělit dle několika různých vlastností a měřítek [5], například:

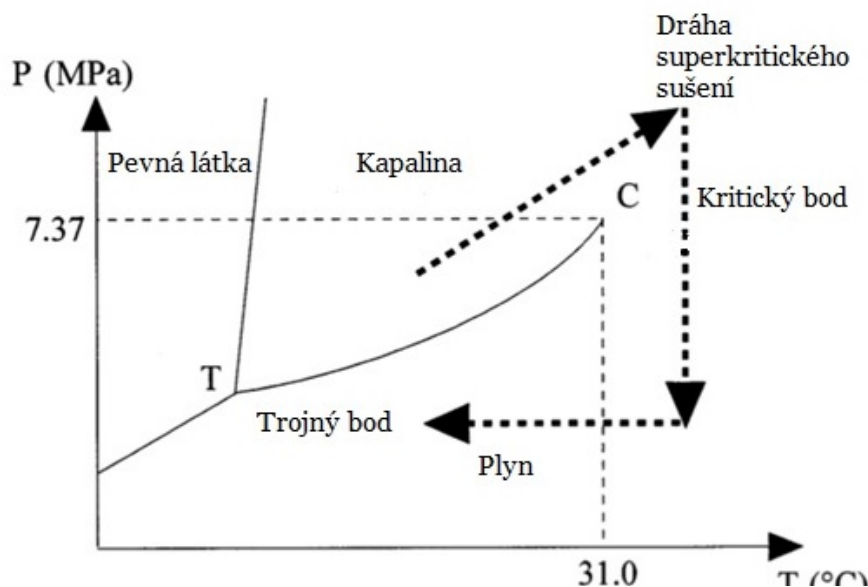
- a) Podle původu se hydrogely mohou rozdělovat na základě původu gelotvorného polymeru na přírodní, jako je třeba agar či na syntetické, například polyakrylát [10].
- b) Podle fyzikální struktury a chemického složení můžeme hydrogely dělit na amorfní, semikrystalické a krystalické [5].
- c) Podle druhu propojení hydrogelové sítě je rozdělujeme na chemicky síťované, kdy se jedná o pevné permanentní vazby a fyzikálně síťované, kdy dochází ke vzniku sítě na základě slabších fyzikálních interakcí, jako jsou například iontové interakce, vodíkové můstky nebo hydrofobní interakce, které nejsou tak pevné a odolné [11].
- d) Klasifikací na základě náboje můžeme hydrogely rozdělit na neutrální, iontové, amfoterní a zwitteriontové [5].

2.1.2 Aerogely

Aerogely jsou unikátní mezi tuhými materiály. Mají extrémně nízkou hustotu, velké póry a velkou vnitřní plochu povrchu. Až 95 % jejich objemu zaujímá vzduch. Tato struktura zajišťují zajímavé fyzikální vlastnosti, například velmi nízkou tepelnou vodivost, nízký přenos zvuku a velkou optickou průhlednost [12].

Příprava aerogelu může být různá. Jeden ze způsobů přípravy je takový, že se připravený hydrogel vystaví sušení mrazem při tlaku nižším než 5 Pa, kdy dojde k sublimaci tekutiny a k zachování vnitřní struktury [13]. Dalším využívaným způsobem je technika superkritického sušení (viz Obr. 1), která pracuje na principu, kdy se tekutina v pórech přivede na superkritickou teplotu pomocí zvyšování teploty a tlaku a takto zahřátá tekutina se odpaří [14].

Využití aerogelů je velmi široké. Patří mezi nejuniverzálnější materiály dostupné pro technické aplikace. Používají se, anebo se jejich použití zvažuje, v mnoha moderních oblastech, jako například v laserových experimentech, senzorice, při detekci částic, v tepelné izolaci (od kryogenní izolace až po vysokoteplotní izolaci), v oblasti nakládání s odpady (absorpce plynů, uchovávání jaderného odpadu), ukládání energie, v katalýze či při výzkumu a analýze výbušnin [15].

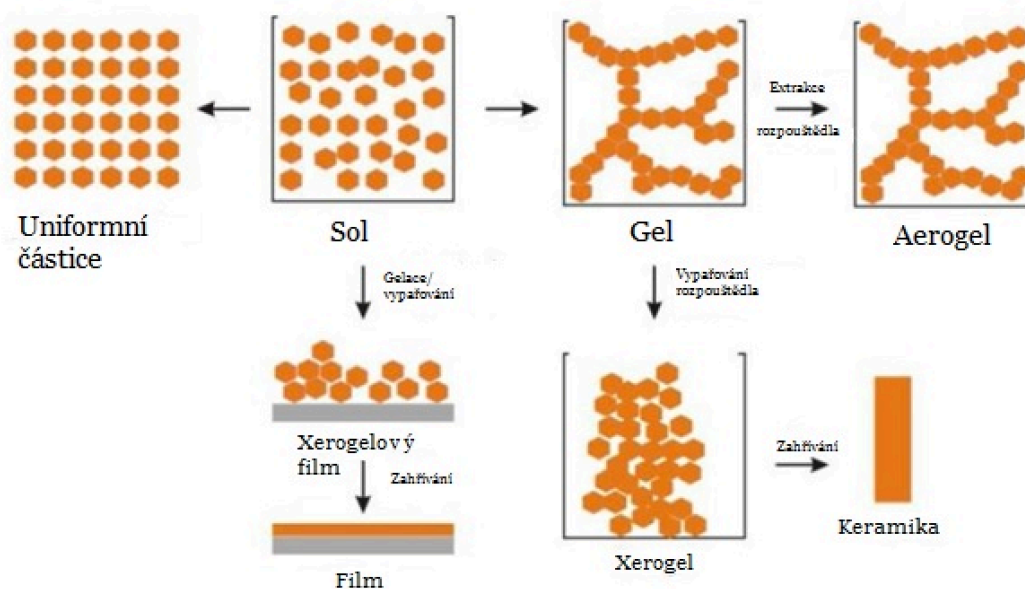


Obr. 1 : Příklad možného postupu superkritického sušení zobrazeného pomocí fázového diagramu pro CO_2 [14]

2.1.3 Xerogely

Xerogel je suchý gel (*xero* znamená v řečtině suchý), který je připraven odpařením kapaliny z pórů na základě okolních podmínek. Struktura polymerní sítě hydrogelu je drasticky pozměněna během procesu vysoušení, kdy jsou póry poničeny vypařující se vodou nebo krystaly, které se vytvoří během mražení [17].

Xerogely mají oproti hydrogelu, ze kterého byly sušením vytvořeny, poničenou vnitřní strukturu. Mají také vysokou pórovitost a velký vnitřní povrch, a proto jsou užitečné jako substráty pro katalýzu, výrobu filtrů či v senzorice [18].



Obr. 2 : Schéma přípravy aerogelu a xerogelu s viditelným rozdílem ve struktuře výsledného produktu [19]

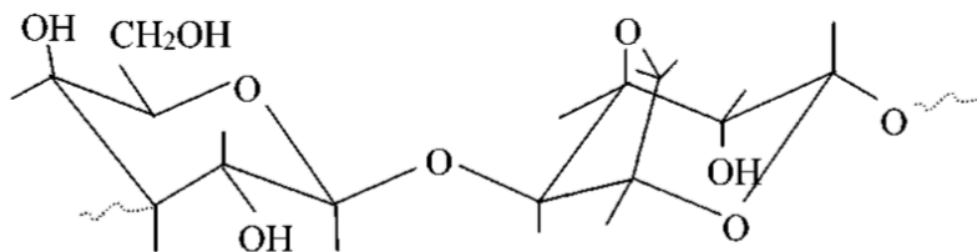
2.2 Polymery

Termín polymer pochází ze spojení slov *poly*, které znamená hodně a *mer*, které znamená část – hodně částí. Během posledních padesáti let systematického zkoumání se podařilo položit základy vysvětlení vztahů mezi strukturou a vlastnostmi polymerních materiálů, díky kterým je možné například předpovídat jejich fyzikální vlastnosti na základě znalosti chemické struktury opakující se monomerní jednotky a molární hmotnosti materiálu [20]. V následujícím textu jsou představeny polymery, se kterými bylo pracováno v rámci experimentální části této bakalářské práce.

2.2.1 Agaróza

Jedná se o přírodní lineární polysacharid, který ve své struktuře obsahuje D-galaktózu a 3,6-L-galaktózu. Tyto dvě stavební jednotky se ve struktuře agarózy střídavě opakují. Agaróza se získává z agaru, který se extrahuje z červených (*Rhodophyta*) nebo hnědých (*Phaeophyta*) mořských řas, přičemž největším producentem agaru jsou státy jako Japonsko, Korea nebo Taiwan [21].

Fyzikální a chemické vlastnosti agarózy záleží na zdrojové mořské řase, lokaci, kde byla řasa získána, na fázi růstového cyklu řasy a na procesu izolace agarózy. Kvůli zajištění ekvivalence mezi jednotlivými agarózami byly definovány charakteristické parametry a metody kvantifikace, jako jsou například síla gelu, jeho elektrické vlastnosti a teplota gelace či tání [22]. Schopnost gelovatění a rozpustnost agaru je zakotvena v relativní hydrofobicitě základní opakující se jednotky, kterou tvoří 1,3-β-D-galaktopyranóza a 1-4 spojená 3,6-α-L-galaktopyranóza [23].



Obr. 3 : Základní stavební jednotka agarózy [24]

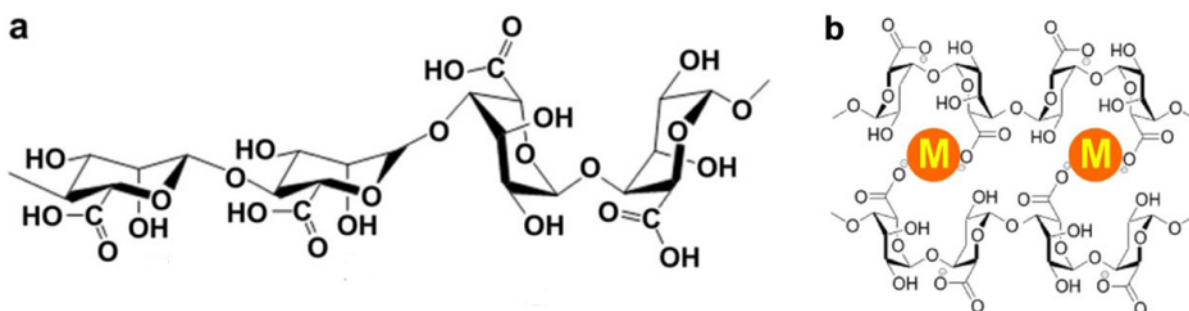
Agarózové gely vznikají, když se homogenní roztok zchladí z teploty přes 90°C na teplotu, která musí být nižší než teplota než teplota strukturního přechodu řetězců ze spirály do šroubovice, a jejíž hodnota je 35 °C pro normální agarózu. Tento proces se nazývá gelace a funguje na principu, kdy se jednotlivé koloidní částice spojují v roztoku do jednoho celku. Gel je zformován, když je vytvořena třídimenzionální síť z agarózových vláken, vytvořených ze vzniklých šroubovic tvořených řetězcí agarózy [24].

Agaróza nachází své uplatnění v celé řadě průmyslových a technologických odvětví. Její speciální vlastnosti, jako například výborná biokompatibilita, termoreverzibilní gelace a výhodné fyzikálně-chemické (např. transportní) vlastnosti, ji podporují při použití a využití jako živné médium pro růst buněk, nosiče léků, v gelové permeační chromatografii, kde slouží jako stacionární fáze, jako gel v gelové elektroforéze při separaci DNA či v potravinářství [25].

2.2.2 Alginát

Kyselina alginová, také nazývané algin, je polysacharid, který se nachází v buněčných stěnách hnědých mořských řas, které se vyskytují v chladných vodách severní polokoule, kde v hydratovaném stavu vytváří s vodou velmi viskózní gumu. Při reakci s kationty kovů, jako například sodnými či vápenatými, vytváří soli, které jsou známe pod názvem alginát [26, 27].

Alginát sodný, nebo pouze alginát, je lineární heteropolysacharid, který se skládá ze zbytků β -D-manurové kyseliny a α -L-gulonové kyseliny spojené vazbou (1-4) v různých poměrech (Obr. 4). Zastoupení jednotlivých zbytků je závislé na zdroji a způsobu získávání kyseliny alginové z buněčné stěny hnědých řas. Monomery jsou uspořádány blokově v řetězci buď jako homopolymerní bloky – MM a GG, anebo jako heteropolymerní bloky – MG nebo GM [27, 28].



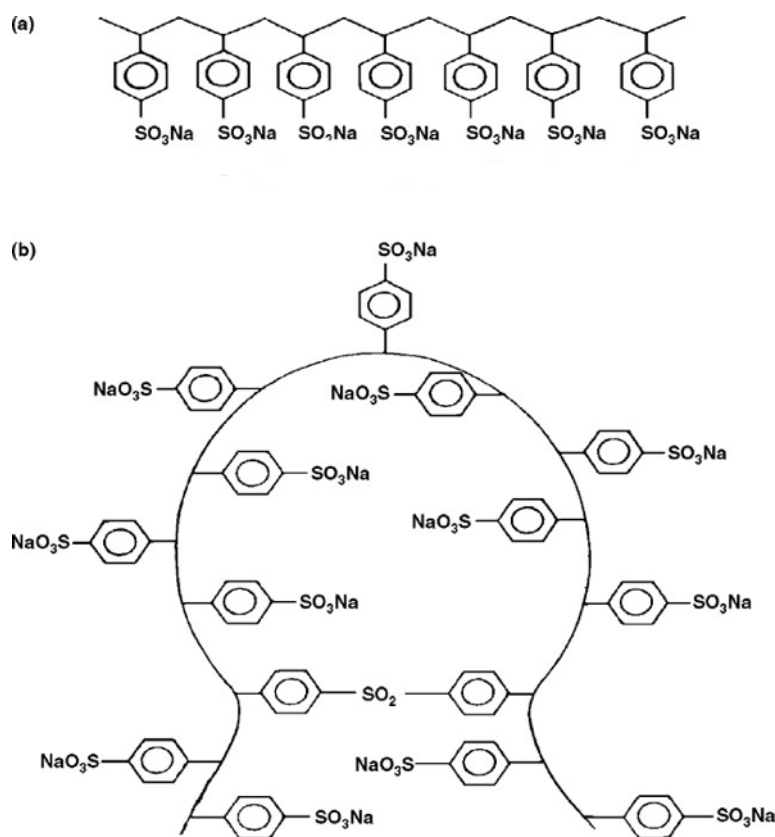
Obr. 4 : a) chemická struktura alginátu; b) mechanismus iontové interakce mezi alginátem a dvojmocným kationtem [30]

Alginát patří mezi nejuniverzálnější biopolymery zejména díky jeho výborné biokompatibilitě a biodegradabilitě. Jeho využití je široké, od nosičových systémů na přenos léků, výroby scaffoldů, krytí ran, tkáňového inženýrství až po kostní a chrupavkovou regeneraci [29, 30].

2.2.3 Polystyren-sulfonát sodný

Polystyren-sulfonát sodný je kationtový iontoměnič. Po chemické stránce se jedná o polymerní kyselinu polystyren-sulfátovou (Obr. 5), která se z důvodu uchování a reaktivnosti připravuje ve formě sodných či vápenatých solí. Polystyren sulfonát sodný (NaPSS) je možné syntetizovat dvěma způsoby. Jedním je volná radikálová polymerizace monomerů a druhým je sulfonace polystyrenu. Vlastnosti takto připravených polymerů jsou rozdílné, více využíváný je způsob sulfonace polystyrenu [31].

Jeho hlavní využití je v medicíně, kde se používá při léčbě hyperkalémie, což je zvýšená hladina draslíku v krvi. Draslík se podílí na funkci svalových a nervových buněk, a proto je udržování jeho rovnováhy v organismu klíčové. Použití v medicíně je ovšem nyní ohroženo, kvůli podezření, že způsobuje nekrózu tlustého střeva a další závažné nežádoucí vedlejší účinky v trávicím traktu [32, 33].



Obr. 5 : a) lineární řetězec polystyren-sulfonátu sodného; b) řetězec polystyrensulfonátu sodného spojený sulfonovými vazbami [31]

2.3 Metody strukturní analýzy

2.3.1 Přímé zobrazovací metody

Metody přímé strukturní analýzy poskytují přímý pohled na strukturu vzorku a jejich vyhodnocení probíhá na základě pořízení jejich snímků. Z metod použitých při řešení problematiky této bakalářské práce, patří mezi přímé strukturní metody elektronová skenovací mikroskopie a kryo-elektronová skenovací mikroskopie.

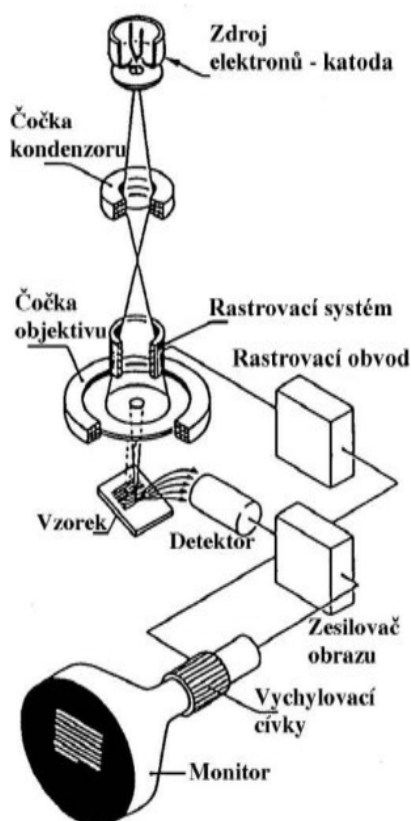
2.3.1.1 Elektronová mikroskopie

Elektronový mikroskop je pozorovací zařízení, které bylo vyvinuto jako vylepšení dlouho používaného světelného optického mikroskopu, který využívá průchodu nebo odrazu fotonů od vzorku a jejich pozorování. Nutnost vylepšení nastala z důvodu potřeby pozorovat vzorky pomocí většího zvětšení, protože maximální zvětšení u světelného mikroskopu je $1500\times$, a to z důvodu omezení daného rozsahem vlnových délek světelných vln. Proto byl vyvinut elektronový mikroskop, kde jsou fotony nahrazeny za elektrony a skleněné čočky za elektromagnetické čočky, které jsou ve své podstatě magnetickými cívkami. Tímto se podařilo dosáhnout zvětšení až $1\,000\,000\times$ [34, 35].

2.3.1.2 Elektronová skenovací mikroskopie

Tento druh elektronové mikroskopie (viz schéma na Obr. 6) funguje na principu, kdy je urychlený paprsek elektronů emitovaný z katody zaostřen pomocí elektromagnetických čoček, a který následně dopadá postupně na celý povrch zkoumaného vzorku. U skenovací elektronové

mikroskopie nás nezajímají prošlé elektrony, ale elektrony, které se od vzorku odrazí – sekundární elektrony a zpětně odražené elektrony [36]. Sekundární elektrony jsou elektrony, které jsou vyraženy z elektronového obalu atomu zkoumaného vzorku a poskytují nám především informace o topografii. Zpětně odražené elektrony jsou ty, které se od vzorku odrazí a vracejí se zpět a poskytují nám informaci o topografii a složení [37].



Obr. 6 : Schéma skenovacího elektronového mikroskopu [46]

2.3.1.3 Kryo-elektronová skenovací mikroskopie

Kryo skenovací elektronová mikroskopie je druh skenovací elektronové mikroskopie, který umožňuje zobrazování vzorků, které obsahují vlhkost, bez potřeby vzorky vysoušet. Tím se zabráňuje vzniku artefaktů s vysoušením spojených [38].

Pozorování probíhá tak, že je vlhký vzorek kryogenicky fixovaný v kryogenické komoře mikroskopu. Fixace probíhá mrazem, a to nejčastěji pomocí tekutého dusíku, který díky velmi nízké teplotě, až $-195\text{ }^{\circ}\text{C}$, rychle zmrazí vzorek a tím zabrání tvorbě artefaktů, které by znehodnocovaly výsledné snímky. Pozorování pomocí kryo-SEM je vhodné pro biologické materiály a materiály s vysokým přirozeným obsahem vlhkosti [39].

2.3.2 Nepřímé metody

Nepřímé metody strukturní analýzy jsou takové metody, které nám poskytují výsledek, který nevznikl přímým pozorováním, ale který představuje materiálový nebo fyzikálně-chemický parametr, který je na vnitřní struktuře definovaným způsobem závislý.

2.3.2.1 Rtuťová porozimetrie

Rtuťová porozimetrie je velmi užitečná technika, která slouží k charakterizaci pórovitých materiálů. Limity této metody jsou póry menší než 500 μm a větší než 3,5 nm. Výsledkem měření pomocí rtuťové porozimetrie je distribuce velikosti pórů, celkový objem pórů, pórovitost či plocha specifického povrchu [40].

Velikost pórů ve zkoumaném vzorku se stanovuje podle Washburnovy rovnice (1), kde p je působící tlak rtuti, γ je povrchové napětí rtuti, θ je smáčivý úhel a d je průměr pórů [40, 41].

$$d = \frac{-4 \cdot \gamma \cdot \cos\theta}{p} \quad (1.)$$

Vlastní měření na rtuťovém porozimetru probíhá tak, že se do penometru vloží analyzovaný vzorek a následně se do něj pod tlakem vtlačuje rtuť ve formě kapaliny. Kapalná rtuť nesmáčí materiál a je působením tlaku vtlačována do pórů, nejdříve malým tlakem do velkých pórů a postupně se zvyšujícím se tlakem do menších pórů. Přístroj snímá potřebný tlak a objem zatlačené rtuti a z těchto hodnot se následně vypočítá velikost pórů.

2.3.2.2 Brunauer-Emmett-Teller metoda

BET metoda je způsob, kterým se běžně v laboratoři zjišťuje plocha specifického povrchu pevného porézního vzorku. Teorie BET je založena na principu vícevrstvé adsorpce plynu na povrch vzorku a má své základy opřené o Langmuirovu teorii, kterou rozšiřuje [42, 43].

Plocha specifického povrchu se stanovuje pomocí fyzikální adsorpce plynu na povrch pevné látky a poté se pomocí výpočtu stanoví množství adsorbovaného plynu, které odpovídá monomolekulární vrstvě na povrchu látky. Fyzikální adsorpce je výsledkem slabých van der Waalsových sil, které působí mezi molekulami adsorbovaného plynu a povrchu látky [44]. Velikost vnitřního povrchu vzorku se následně určuje podle objemu plynu, který se nasorbuje při daném tlaku.

2.3.2.3 Turbidimetrie

Turbidimetrie je nespektrální optická metoda, která funguje na principu měření turbidity(zákalu) vzorku. Paprsek světla o známé vlnové délce prochází kyvetou se vzorkem a interaguje s ním. Část paprsku se rozptýlí do okolí po nárazu do částic, které ho odkloní z původního směru. Část paprsku může vzorek absorbovat a část projde vzorkem a dopadne na detektor. Po dopadu na detektor přístroj změří intenzitu dopadeného světla a vypočítá turbiditu [45]. Souvislost mezi turbiditou a vnitřní strukturou je taková, že hustota zesíťení mění míru rozptylu světla. Proto je možné turbidimetrii použít k nepřímému stanovení velikosti pórů.

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Hlavním cílem a snahou této práce bylo získat a utřídit informace o metodách přípravy suchých forem gelů, jejich možných využitích a o jejich charakteristických (především strukturních) vlastnostech. Z hlediska strukturních parametrů je hlavní pozornost věnována velikosti pórů v závislosti na podmínkách přípravy (tj. na koncentraci síťovacího činidla, obsahu elektrolytů a typu sušení). Suché formy hydrogelu nacházejí v dnešní době čím dál širší okruh uplatnění. Proto je velmi důležité porozumět tomu, jakým způsobem se mění struktura gelů při jejich sušení a jaké míry lze strukturu výsledných materiálů ovlivnit změnami ve složení zdrojového hydrogelu.

3.1 Aerogely

Aerogely jsou definovány jako hydrogely, u kterých byla kapalina nahrazena plynem takovým způsobem, aby byla co nejvěrněji zachována vnitřní struktura původního lyogelu. Nyní se aerogely využívají jako nosiče jiných látek či jako izolanty, a proto je velmi důležité, znát jejich vnitřní strukturu, ze které se potom mohou odvozovat vlastnosti daného aerogelu.

Švýcarský tým z materiálového centra se zaměřil na zhodnocení různých cest, které vedou k zisku aerogelu z různých typů biopolymerů [47]. Autoři došli k závěru, že nejsnadnější cesta vedoucí od hydrogelu k zisku aerogelu je pomocí odpaření kapaliny za pomoci sníženého tlaku nebo za zvýšené teploty. Během sušení hydrogelu za normálních podmínek může docházet kvůli kapilárním jevům spojeným s vysokým povrchovým napětím vody a její silné adhezi kapaliny k povrchu především v malých pórech, k drastickému poničení původní vnitřní struktury, což má za následek kolaps původní struktury a potrhání pórů. Aby k těmto jevům nedocházelo během sušení, lze využít trojného bodu, kde dochází k sušení pomocí mrazové sublimace a tím i k eliminaci kapilárních sil. I tak ale může docházet k poškození vnitřní struktury expanzí vody při její krystalizaci, čemuž lze částečně zabránit rychlým zmrazením vzorku anebo nahrazením původního rozpouštědla rozpouštědlem těkavějším. Druhým, autory testovaným způsobem přípravy aerogelu s co nejvíce zachovanou vnitřní strukturou, je využití sušení za vysoké teploty a vysokého tlaku – superkritické sušení. Jedná se o nejefektivnější způsob získání aerogelu na bázi biopolymerů s minimálním poničením vnitřní struktury gelu. Vnitřní struktura gelu byla tímto švýcarským týmem pozorována pomocí SEM nebo rentgenové tomografie. Velikost pórů byla určována pomocí BET analýzy a rtuťové porozimetrie.

Ochrana životního prostředí je nyní problém, který tíží většinu vyspělého světa. Různé chemikálie, které se dostávají do přírody, jí velmi škodí a jsou těžko odbouratelné. Jednou z těchto látek je i methylenová modř, která má využití v medicíně při léčbě methemoglobinémie a je také důležitým organickým barvivem, které nachází uplatnění v textilním, barvicím, tiskařském a papírenském průmyslu nebo při produkci pesticidů. Problém ale zůstává s jeho toxicitou, která je způsobena aromatickým kruhem v jeho struktuře, a proto je nutné jej z odpadních vod odstranit před vypuštěním. K tomuto účelu se snažil výzkumný tým v práci [48] použít kompozitní aerogel složený z grafenu a agarózy (AGO). Tento aerogel je vytvořen tak, že byl agar rozmíchán v horké vodě a do tohoto roztoku byly vloženy grafenové pláty. Poté byl roztok homogenizován a gelatinizován volným chlazením. Po gelaci byl vzniklý hydrogel podroben lyofilizaci ve vakuu a tím byl připraven aerogel. Jeho struktura byla zkoumána pomocí skenovací elektronové mikroskopie, transmisní elektronové mikroskopie, BET analýzy a termogravimetrie. Vnitřní struktura a pórovitost je velmi důležitá při snaze čistit znečištěné

vody, a proto je na ni kladen velký důraz. Z výsledků práce vyplývá, že specifický vnitřní povrch kompozitního aerogelu, je až 32,38 m²/g, přičemž u čistého agarózového 4% gelu je tato hodnota pouze 8,18 m²/g.

Odstraňováním toxických barev porézními sorbenty na bázi aerogelů se také zabývá tým Wentao Zhanga z Číny v práci [49], který uvádí, že se každoročně se celosvětově vypustí přes 50 000 tun barev do odpadních vod. Proto se autoři zaměřili na zlepšení použití adsorbentů na bázi zeolitické imidazolátové struktury (ZIF), které jsou slibné pro regeneraci znečištěného prostředí, avšak mají mnoho nevýhod jako například velikost krystalů či křehkost. Možné řešení tohoto problému je využití organo-kovových sloučenin integrovaných do agarózového aerogelu, se kterým vytvoří ohebný a účinný absorbent s fotokatalytickou aktivitou. Agarózový aerogel byl vytvářen ve 0,4% koncentraci a vytvořený hydrogel byl 2 hodiny ponechán při -80 °C a poté byl lyofilizován. Struktura vzniklého aerogelu byla pozorována pomocí SEM a TEM, které potvrdili, že se v aerogelu nachází množství ZIF, které byly rozloženy v celém objemu.

O aerogelech se taktéž mluví ve spojitosti s využitím v medicíně, kde mohou sloužit jako nosiče aktivních látek. Velikost pórů je v tomto případě velmi důležitým kritériem, které nám pomáhá určit jaké aktivní látky a v jakém množství je možno na aerogel adsorbovat a jaké bude jeho chování při uvolňování léčivé látky. V práci Petéra Verese a spol. [50] se autoři zaměřili na použití Fe(III)-alginátového aerogelu jako nosiče pro ibuprofen, který se používá jako protizánětlivá substance či pro tlumení bolesti. Alginátový gel zesíťovaný pomocí železitých kationtů byl připraven z 2% vodného roztoku alginátu, který byl kapán do 0,05M roztoku chloridu železitého. Po gelaci byl gel přemístěn do čistého 0,05M roztoku FeCl₃ po dobu 24 hodin. Poté byl gel vkládán do roztoků o zvyšující se koncentraci ethanolu, dokud nebyla koncentrace ethanolu v gelu minimálně 98,5%. Následně byl gel vysušen pomocí superkritického sušení oxidem uhličitým při teplotě 45 °C a tlaku 140 barů za použití kontinuálního průtoku ve vysokotlakém autoklávu. Charakterizace aerogelu probíhala pomocí mnoha technik. Pro měření specifické plochy povrchu, objemu pórů a distribuce velikosti pórů byla použita N₂ adsorpční-desorpční porozimetrie. Mezi další použité metody patří skenovací elektronová mikroskopie, infračervená spektroskopie, maloúhlový RTG rozptyl či rentgenová difrakce. Z výsledků jejich práce vyplývá, že vzniklé póry byly větší než 200 nm a specifický vnitřní povrch měl velikost až 440 m²/g a připravený aerogel může sloužit k řízenému uvolňování Ibuprofenu.

3.2 Xerogely

Jedná se o pevné porézní látky, které vzniknou z hydrogelu po odpaření rozpouštědla takovým způsobem, že dochází k narušení či zničení vnitřní struktury původního gelu. Jejich hlavní význam je využití při filtraci a čištění, například vod.

Při využívání uhlíkových nanovláken jako adsorbentů při čištění odpadní vody dochází k jejich postupné pomalé degradaci, kdy se malé části částice dostávají do vody a dochází k její kontaminaci, která může do budoucna znamenat riziko pro lidi, kteří by s touto vodou přicházeli do styku. Z toho důvodu se práce Yanhui Li a spol. [51] zabývá inkorporací uhlíkových nanovláken do alginátového gelu za účelem přípravy účinného adsorbentu, který bude zároveň šetrný k životnímu prostředí a nebude docházet ke kontaminaci vody. Ve své práci připravili 1,5 % roztok alginátu sodného, do kterého byl po rozpuštění po kapkách přidáván roztok

obsahující uhlíkové nanovlákná. Následně byl vzniklý roztok vstříknut do 3% roztoku dihydrátu chloridu vápenatého, kde byl vzniklý gel ponechán po dobu 12 hodin. Poté byl gel několikrát řádně promyt deionizovanou vodou a vysušen v lyofilizátoru při -50 °C. Získaný gel byl charakterizován pomocí SEM, BET analýzy, infračervené spektroskopie a Boehmovy titrace. Z výsledků jejich práce vyplývá, že ve srovnání s lyofilizací dochází při sušení pomocí zvýšené teploty k výraznému smršťování či tvrdnutí materiálu.

Silica-chitosanový xerogel, který by byl nosičem vancomycinu a nacházel by své využití například při závažných ortopedických operacích se stal zájmem týmu kolem Eun-Jung Leea v práci [52]. Tento xerogel slouží jako nosič účinné látky vancomycinu, kterou postupně uvolňuje. Postup přípravy gelu byl následující. Chitosan ve formě prášku byl rozpuštěn v 1% kyselině octové na 2% koncentraci. Po úplném rozpuštění byl roztok přefiltrován kvůli vyčištění a byl do něj vmíchán již připravený silica xerogel, který byl připraven podle postupu již dříve popsaneho jinými autory v článku [53]. Po homogenizaci roztoku, byl přidán vancomycin. Takto připravený roztok byl ponechán k inkubaci po dobu 3 dnů při 37 °C a následně byl produkt čtyři dny sušen. Získaný xerogel byl pozorován pomocí TEM. Velikost jeho povrchu a velikost pórů byla zjištěna pomocí BET metody. Podle výsledků získaných týmem má tento druh xerogelu potenciální možnost využití jako náhrada kostní tkáně, která by uvolňovala léčivo.

4 PRAKTICKÁ ČÁST

4.1 Chemikálie

Agaróza, Sigma-Aldrich, low EEO, CAS:9012-36-6

Polystyren-sulfonát sodný, Sigma-Aldrich, CAS: 25704-18-1

Alginát sodný, CAS: 9005-38-3

Chlorid vápenatý, CAS:10043.52-4

4.2 Přístroje

analytické váhy Sealtec SBS 31

PURELAB® ClassicUltrapure Water Purification Systems

ultrazvuková lázeň UCC 1 Ultrasonic Compaq Cleaner powersonic

lyofilizátoru VirTis BenchTop K (Biotrade)

high pressure freezer Leica EM ice

skenovací elektronový mikroskop ZEISS EVO LS 10

kryo-skenovací elektronový mikroskop Magellan 400

UV-VIS spektrometr Hitachi U-3900H

Rtuťový porozimetr PoreMaster 33

sušárna Venticell

4.3 Agarózové gely

V rámci této práce byla provedena strukturní analýza agarózových hydrogelů, u kterých je známo, že se zvyšující se koncentrací se zmenšují velikosti pórů. Cílem této práce byla snaha vysušit hydrogel způsobem, díky kterému by si zachoval svou původní vnitřní strukturu i ve formě suchého gelu. Následně byly porovnány výsledky jak z přímé, tak i nepřímé charakterizace, a to jak pro vysušené vzorky, tak i pro vzorky v původním, tj. hydratovaném stavu.

4.3.1 Agarózové gely bez přídavku polyelektrolytu

Byly připraveny agarózové gely o koncentraci agarózy: 0,5; 1; 2 a 4 hmotnostních %. Gely byly připraveny podle následujícího postupu. Vypočítané množství agarózy bylo naváženo s přesností na 4 desetinná místa a vysypáno do 10 ml deionizované vody. Kádinka s vodou a naváženou agarózou byla postavena na elektrickou plotýnku a za stálého míchání byl roztok přiveden na teplotu 80 °C. Po dosažení teploty 80 °C byla kádinka vložena do předehřáté ultrazvukové lázně na 80 °C, kde zůstala po dobu 1 minuty kvůli odplynění roztoku. Odplyněný roztok byl ponechán v kádince při laboratorní teplotě do doby, než došlo k procesu gelování. Pokud vzorky směřovaly na měření turbidimetrie, tak byl horký roztok nalit do plastových kyvet, ve kterých došlo k odplynění a ztuhnutí gelu.

Takto připravené vzorky byly poté podrobeny analýze v hydratovaném stavu anebo byly zmrazeny pomocí tekutého dusíku, následně lyofilizovány a analyzovány v suchém stavu.

4.3.2 Agarózové gely s přídavkem polyelektrolytu

Byly připraveny agarózové gely s přídavkem elektrolytu. Elektrolyty, alginát sodný a polystyrensulfonát sodný, byly připraveny ve formě roztoků o koncentraci 1 g/l a poté byly

gely připraveny podle Tabulka 1 a postupu, který byl shodný s postupem pro Agarózové gely bez přídavku polyelektrolytu.

Tabulka 1: Navážky a objemy pro přípravu agarózových gelů s polyelektrolyty

Koncentrace elektrolytu [%]	Koncentrace agarózy [%]	Navážka agarózy [g]	Objem roztoku elektrolytu [ml]	Objem deionizované vody [ml]
0,002	1	0,1	0,2	9,8
0,005	1	0,1	0,5	9,5
0,01	1	0,1	1	9
0,1	1	0,1	10	0

4.4 Strukturní analýza agarózových gelů

Vytvořené gely byly podrobeny důkladné strukturní analýze v obou formách – ve formě hydratovaných i suchých gelů. Cílem bylo získat detailní informace o vnitřní struktuře vybraných gelů a následně získané údaje pomocí různých technik porovnat jak v rámci různých kompozic gelu, tak i mezi vlhkou a suchou formou gelu.

Hydratované i suché formy gelů byly zkoumány pomocí přímých vizualizačních metod. Mezi ty byly do této práce zvoleny skenovací elektronová mikroskopie, kterou byly pozorovány gely v suché formě, a kryo-skenovací elektronová mikroskopie, která umožňuje pozorovat vzorky v hydratovaném stavu po jejich fixaci mrazem. Jako nepřímá metoda použitá pro suché vzorky, byla zvolena rtuťová porozimetrie. Pro nepřímou strukturní analýzu hydratovaných vzorků byla použita turbidimetrie.

4.4.1 Přímé metody

Pro pozorování suchých forem gelů byl využíván skenovací elektronový mikroskop ZEISS EVO LS 10, který se nachází na fakultě chemické VUT a pro pozorování hydratovaných forem gelů byl využit kryo-skenovací elektronový mikroskop Magellan 400 nacházející se Ústavu přístrojové techniky Akademie věd v Brně.

4.4.1.1 Skenovací elektronová mikroskopie

Pro získání snímků pomocí skenovací elektronové mikroskopie, byly hydrogelové vzorky vysušeny. Tento proces probíhal ponořením vytvořeného hydrogelu do tekutého dusíku, kde byl ponechán několik minut a následně byl zmražený vzorek co nejrychleji přesunut do lyofilizátoru. Po sublimaci vzorku v lyofilizátoru byla část suchého gelu vyříznuta a tato část byla pokovována a pozorována pod mikroskopem.

4.4.1.2 Kryo-skenovací elektronová mikroskopie

Kryo-skenovací elektronová mikroskopie umožňuje pozorování hydratovaných vzorků na základě jejich kryogenních fixací, čímž by nemělo docházet k takovému poškození vzorků, ke kterým dochází při sušení a následnému vzniku strukturních artefaktů. Příprava vzorků probíhala vysokotlakým mražením a následným pozorováním na Ústavu přístrojové techniky Akademie věd v Brně. Gel byl připraven podle postupu uvedeného v kapitole 4.3.1 a 4.3.2 a následně byl horký agarózový roztok nalit na terčíky. Terčíky s gelem byly vloženy do vysokotlakého chladiče Leica EM ice, kde byly vzorky zafixovány. Následně se již takto

připravené vzorky po celou dobu až do pozorování uchovávaly při teplotě tekutého dusíku. Kde se terčíky otevřely, povrch gelu byl upraven skalpelem a vzorek byl přesunut do kryoskenovacího elektronového mikroskopu, kde došlo k samotnému pozorování a fotografování.

4.4.2 Nepřímé metody

Jako použité nepřímé metody byly již výše uvedeny turbidimetrie (pro strukturní analýzu hydratovaných vzorků) respektive rtuťová porozimetrie (analýza suchých vzorků).

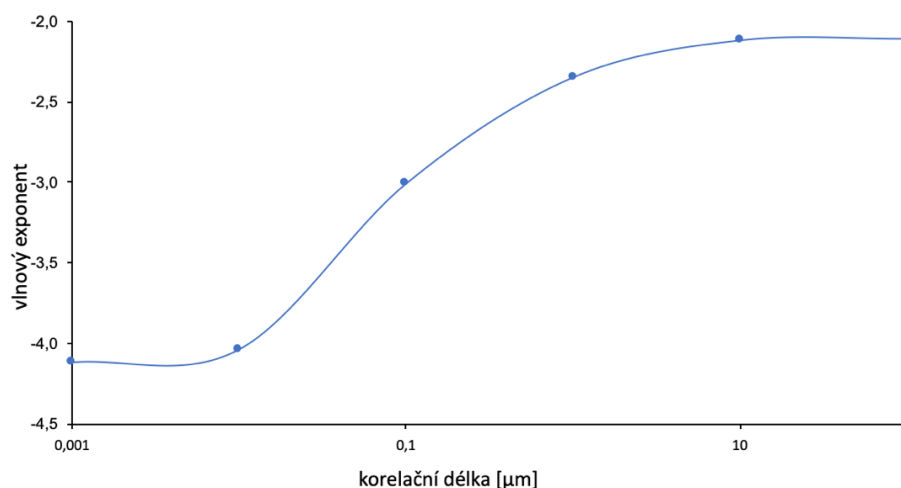
4.4.2.1 Turbidimetrie

Při měření pomocí turbidimetrie bylo změřeno, jaká část paprsku prošla vzorkem a jaká část byla rozptýlena. Podle článku od Aymadra a spol. existuje závislost mezi vlnovým exponentem a korelační délkou, která je přímo úměrná velikosti pórů [54].

Připravené horké agarózové roztoky byly nality do plastových kyvet, kde byly gely odplyněny a po jejich zatuhnutí byla určena jejich turbidita přepočtem z absorpčního spektra v rozsahu vlnových délek 700–800 nm na UV-VIS spektrofotometru Hitachi.

Pro výpočet turbidity z naměřené absorbance byl použit vzorec (2.). Poté byla vynesena závislost logaritmu turbidity na dekadickém logaritmu vlnové délky a ze směrnice této závislosti byla získána hodnota vlnového exponentu. Z hodnot vlnového exponentu byla nakonec vypočtena korelační délka na základě závislosti uvedené na Obr. 7. Korelační délka je přímo úměrná velikosti pórů.

$$\tau(\lambda) = \frac{2.3 \cdot (\lambda)}{L} \quad (2.)$$



Obr. 7 : Graf závislosti vlnového exponentu na korelační délce dle Aymarda [54]

4.4.2.2 Rtuťová porozimetrie

Pomocí rtuťové porozimetrie byla analyzována velikost pórů v suchém stavu. Gely byly připraveny podle postupu v kapitole 4.3.1 a 4.3.2. Lyofilizovaný vzorek byl vložen do měřicí cely. Z měřicí cely byl evakuací odstraněn vzduch a zbytková vlhkost a byl vytvořen velmi nízký tlak, díky kterému byly z pórovitého materiálu vypuzeny vzduchové bublinky, které by narušovaly měření. Poté se cela, stále se sníženým tlakem, obsahující vzorek zcela naplnila

rtutí. Následně byl pomalu zvyšován tlak a tímto způsobem se rtuť dostávala do pórů, kam byla tlačena tlakem. Z aplikovaného tlaku a objemu rtuti byla následně sestrojena distribuční křivka velikosti pórů ve struktuře vzorku.

4.5 Alginátové gely

Dalším typem hydrogelů, kterými se tato práce zabývala (ve spolupráci s Akademií věd ČR) byly gely na bázi alginátu. Tyto gely byly připravovány za různých podmínek se snahou změnit jejich pórovitost. Jednoduchými metodami byl zjišťován rozdíl ve struktuře gelů připravovaných za různých podmínek.

Alginátové gely byly připraveny podle následujícího postupu. Bylo rozpuštěno potřebné množství alginátu sodného v deionizované vodě pro vytvoření 2% roztoku. Dále byl připraven 1% roztok chloridu vápenatého v deionizované vodě. Alginátový gel byl vytvořen přilitím 25 ml roztoku chloridu vápenatého k 25 ml roztoku alginátu sodného. Smíchané roztoky se ponechaly 20 minut stát při pokojové teplotě, aby proces gelace proběhl v celém objemu.

Pro studium vlivu pH a iontové síly na strukturu vzniklého gelu byla následně připravena série vzorků dle Tabulka 2. Podmínky pro různé pH byly upraveny pomocí roztoku HCl a roztoku NaOH pomocí nichž byla upravena hodnota pH v roztoku alginátu a roztoku CaCl_2 na danou hodnotu. Pro různou iontovou sílu bylo do roztoků před smícháním přidáno vypočítané množství NaCl a rozmícháno do úplného rozpuštění.

Takto připravené vzorky poté byly podrobeny analýze v hydratovaném stavu anebo byly zmrazeny pomocí tekutého dusíku a následně lyofilizovány a analyzovány v suchém stavu.

Tabulka 2 : Podmínky zvolené při tvorbě alginátového gelu

pH	4
	7
	9
iontová síla	0,1 M
	0,15 M
	0,3 M

4.5.1 Reologie

Metoda reologie byla použita na stanovení mechanických vlastností pouze u alginátových hydrogelů, protože v případě agarózových hydrogelů byla podobná reologická studie realizována v předchozí práci [55]. V našem případě byla použita metoda deska-deska. Přístroj byl nastaven a vzorek byl nadávkován na stacionární desku a na něj byl přiložen senzor. Poté byl vzorek upraven, aby nevyčníval z měřicího senzoru, a tím nedocházelo k ovlivňování měření nedeformovanými částmi vzorku. Následně se vzorek zakápl silikonovým olejem, aby nedošlo k vysoušení v průběhu měření. Byl přiložen měřící nástavec (*solvent trap*) a měření bylo zahájeno. Před každým měřením probíhal conditioning step při kterém došlo k uklidnění vzorku. Poté jako první probíhal amplitudní test, ze kterého byla zjištěna lineárně viskoelastická oblast. Následně byla z této oblasti vybrána hodnota (v našem případě 0,1%) a proběhlo frekvenční měření.

4.5.2 Strukturní analýza

Ke strukturní analýze alginátových gelů byla jako první metoda vybrána metoda skenovací elektronové mikroskopie, z důvodu přímé vizualizace vzorků a snadnější dostupnosti techniky na fakultě. Vzorek pro SEM je nutno mít ve vysušeném stavu. Před samotným pozorováním byl tedy nejprve určen obsah sušiny.

Stanovení obsahu sušiny ve vzorku je jeden ze základních charakterizačních postupů. Při stanovování sušiny alginátových gelů byl vytvořený alginátový hydrogel ponechán při laboratorní teplotě. Po vysušení byl povrch Petriho misky a vysušeného gelu pokryt bílou filmovou vrstvou s viditelnými krystaly, které s největší pravděpodobností vypovídaly o přebytečné soli. Z toho důvodu bylo provedeno i odsolení hydrogelu a jeho následné vysušení. Odsolování probíhalo louhováním hydrogelu v deionizové vodě. Voda byla měněna každý den a při každé výměně byla měřena její vodivost. Poté co vodivost klesla na hodnotu vodivosti deionizované vody, bylo odsolování ukončeno.

Neodsolený i odsolený hydrogel byl následně pozorován pomocí SEM, příprava vzorku na SEM spočívala v rychlém zmražení vzorku v tekutém dusíku a následné lyofilizaci.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Struktura gelů na bázi agarózy

5.1.1 Kryo-skenovací elektronová mikroskopie

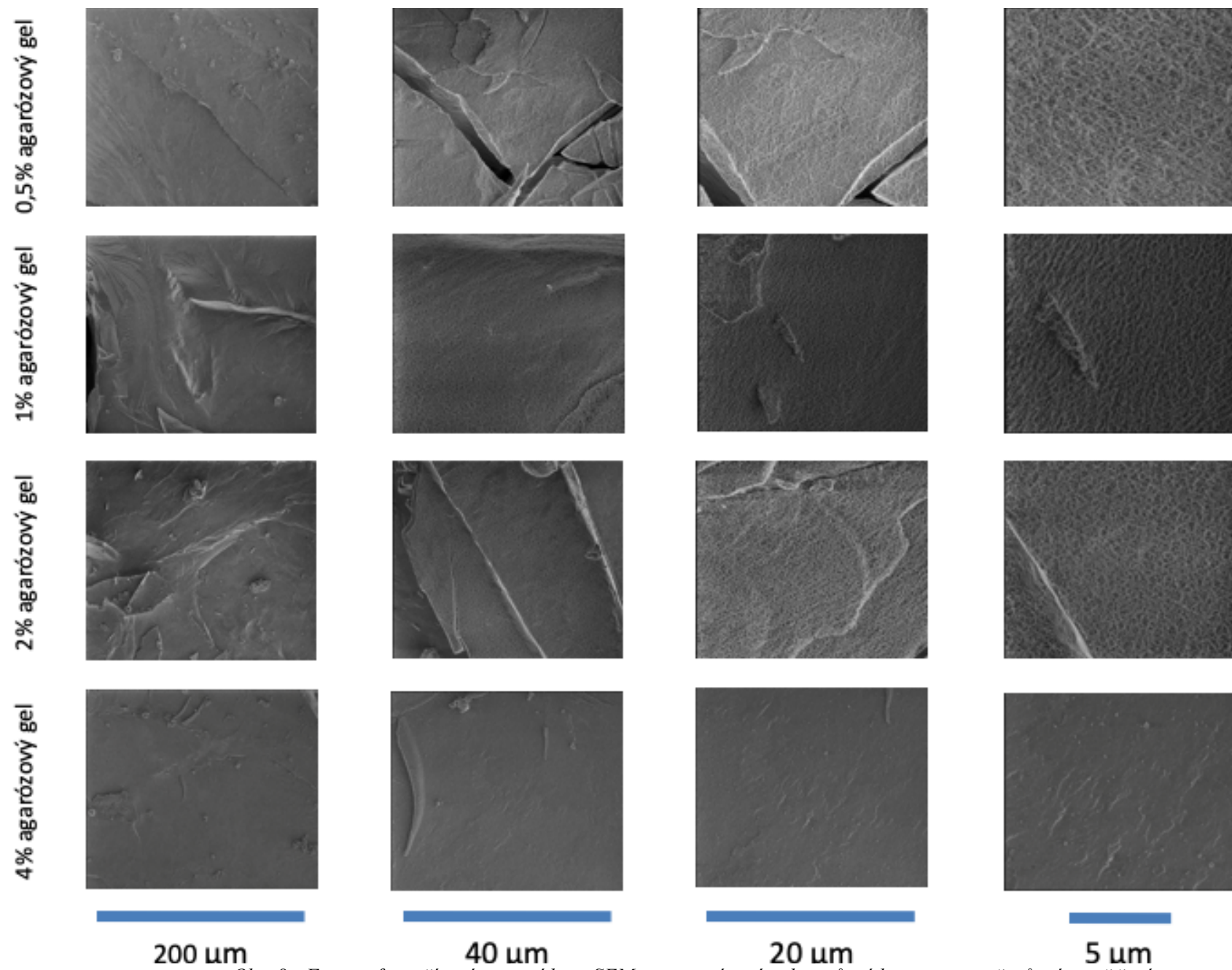
Na fotografiích Obr. 8, Obr. 9 a Obr. 10 jsou vzorky agarózových hydrogelů bez i s přidavkem polyelektrolytů, které byly vysokotlaci zmrazeny a pozorovány pomocí kryo-skenovacího elektronového mikroskopu Magellan 400 na ÚPT Akademie věd ČR v Brně.

Při porovnání fotografií gelů připravených z různě koncentrovaných roztoků agarózy na Obr. 8 se při nejmenším přiblížení povrch hydrogelu jeví jako celistvá hladká plocha bez pórů, která je narušena pouze nerovnostmi povrchu hydrogelu. Při větším přiblížení se u 0,5% a 1% gelu začínají objevovat drobné obrysy pórů, ovšem u 2% a 4% je stále vidět pouze celistvá plocha bez jakýkoliv náznaků pórů. Po dalším zvětšení se póry začínají objevovat i u 2% gelu, ale u 4% nadále není možné pozorovat žádné póry. Při největším zvětšení je u 0,5% a 1% gelu zcela jasně viditelná struktura pórů. U 2% je možno trochu vidět póry ale u 4% je nadále vidět pouze celistvý a hladký povrch. Z těchto snímků vyplývá, že se zvyšující se koncentrací agarózy dochází ke vzniku menších pórů. To potvrzuje očekávání, protože vyšší koncentrace gelotvorné složky je spojena s vyšší hustotou síťování.

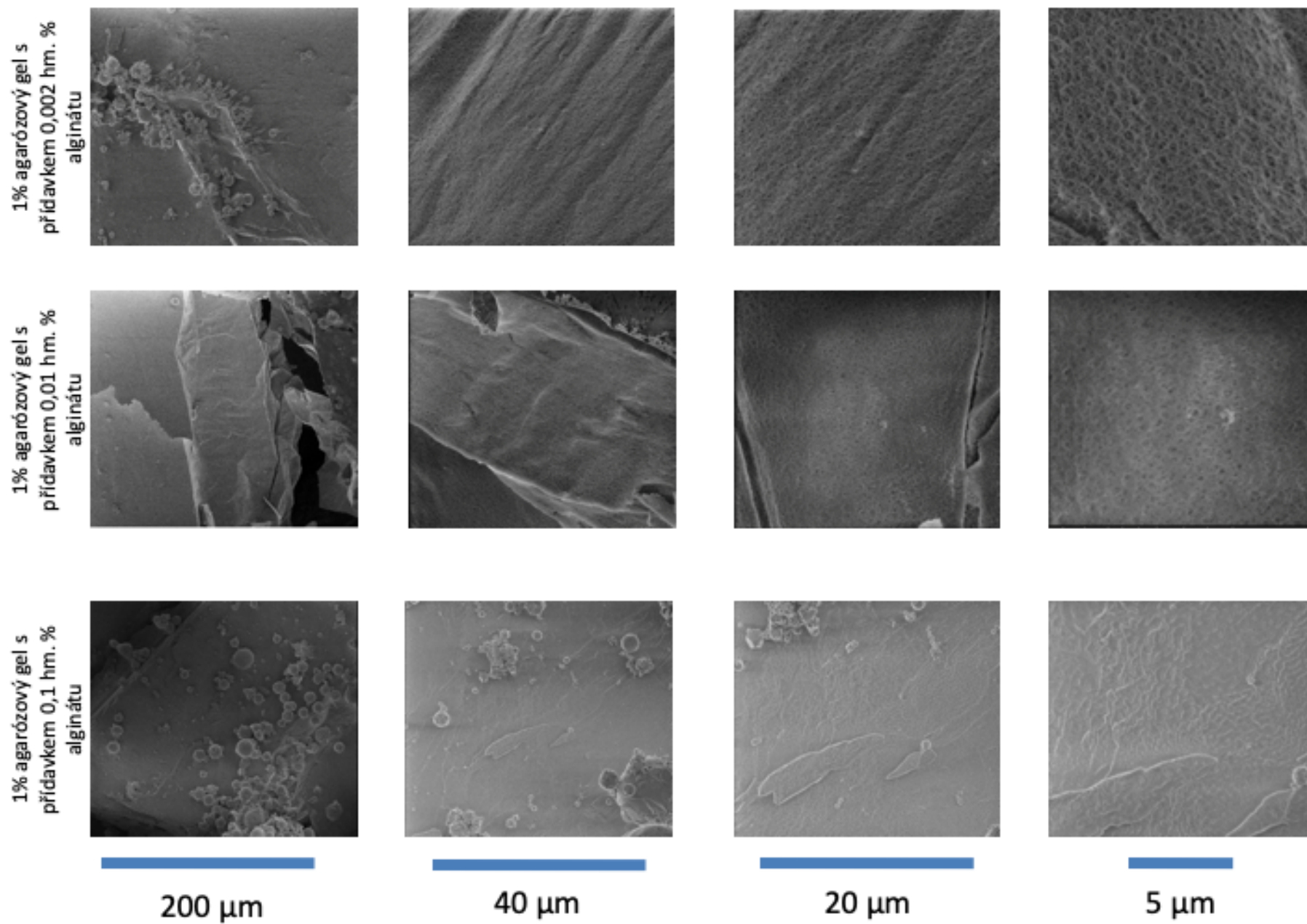
Pokud porovnáme fotografie agarózových gelů s různými přidavky alginátu na Obr. 9, tak při nejmenším přiblížení můžeme vidět u všech přidavků alginátu, že došlo k poměrně velkému vzniku artefaktů (tvořených pravděpodobně krystalky oddělené vody) a povrch se jeví jako hladký, bez pórů či jejich obrysů. Při přiblížení jsou póry viditelné jako malé, nevýrazné tečky, ale pouze u nejmenšího přidavku alginátu. Po dalším zvětšení je možné vidět póry jak u 0,005 hm. % tak i 0,01 hm. %. A ani největší zvětšení nám neumožňuje vidět póry u 0,1 hm. % přidavku alginátu. Z těchto mikrofotografií lze vyvozovat, že při přidávání většího množství alginátu dochází k tvorbě menších pórů. Při porovnání agarózového gelu s alginátem a čistého agarózového gelu o stejné koncentraci (Obr. 8) je taktéž vidět, že přidavek polyelektrolytu mírně ovlivňuje velikost pórů, v tomto případě se může jednat o artefakt použité metody.

Na fotografiích agarózových gelů s přidavky PSS, které jsou na Obr. 10, můžeme vidět, že při nejmenším přiblížení není možno vidět žádné detaily struktury gelu, a lze pouze vidět různé nerovnosti a artefakty, které se vytvořily na gelu, během procesu vysokotlakého mražení. Při dalším přiblížení se povrch stále jeví jako hladký. Tento trend zůstává až do maximálního přiblížení, kde jsou póry viditelné pouze u gelu s přidavkem 0,001 hm. % PSS. Na rozdíl od Obr. 9, kde byla velikost pórů největší při nejmenším přidavku alginátu, i v tomto případě se může jednat o artefakt metody či nedostatečný čas sublimace.

Při pozorování pomocí metody kryo-SEM se potvrdilo, že je možné s její pomocí vizualizovat vnitřní strukturu gelu bez potřeby jeho vysušení. Taktéž se ukázalo, že strukturu u studovaných materiálů daleko více ovlivňuje koncentrace gelotvorné složky než minoritní přidavek polyelektrolytů. Vliv polyelektrolytů na strukturu gelu se začal projevovat až při nejvyšší použité koncentraci.

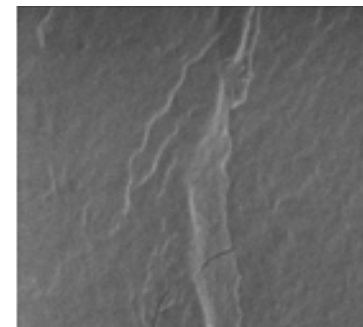
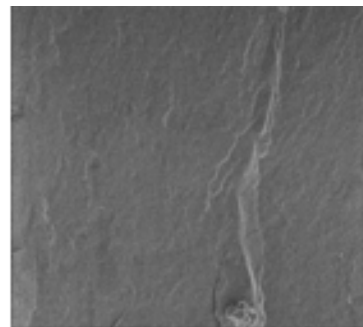
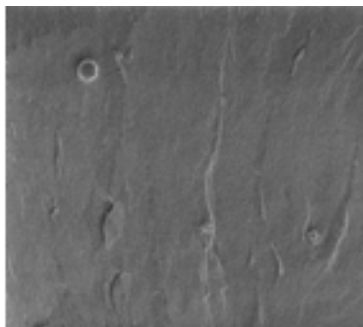
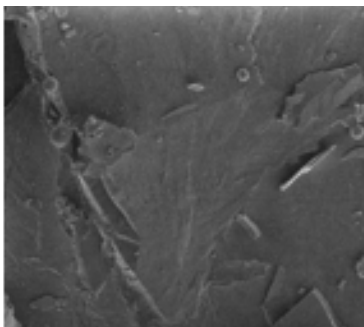


Obr. 8 : Fotografie pořízené pomocí kryo SEM pro agarózové gely o různé koncentraci při různém zvětšení

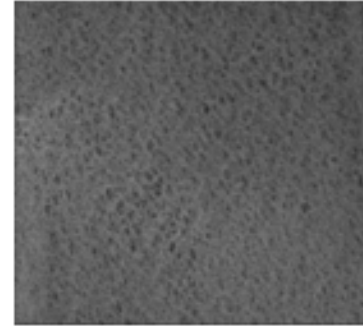
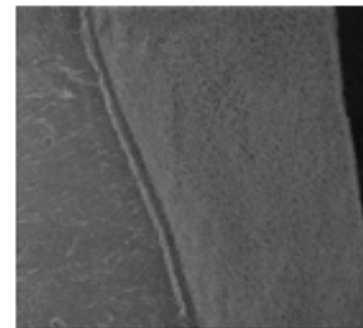
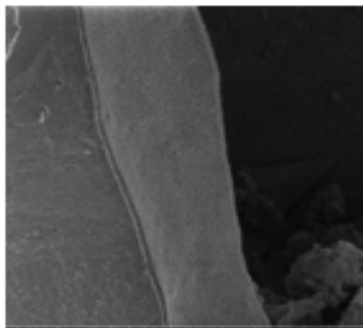
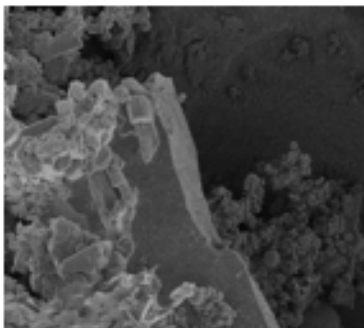


Obr. 9 : Fotografie pořízené pomocí kryo SEM pro agarózové gely s různou koncentrací alginátu při různém zvětšení

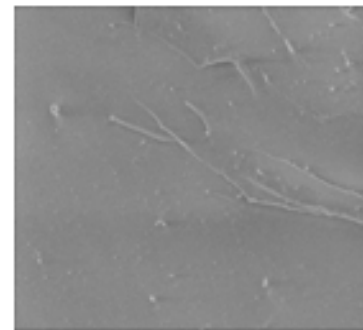
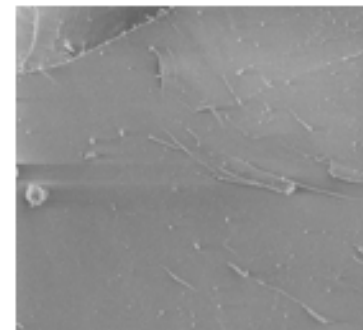
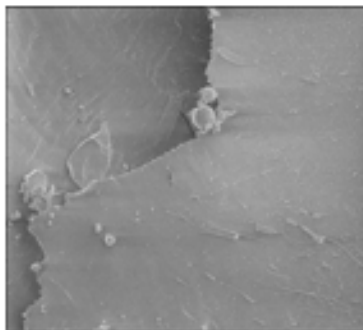
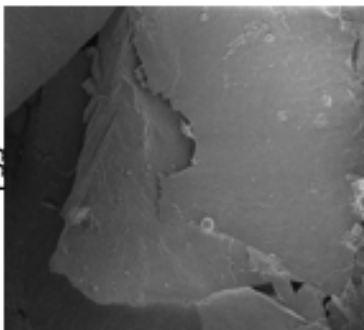
1% agarózový gel s
přídavkem 0,002 hm. %
PSS



1% agarózový gel s
přídavkem 0,01 hm. %
PSS



1% agarózový gel s
přídavkem 0,1 hm. %
PSS



200 μm

40 μm

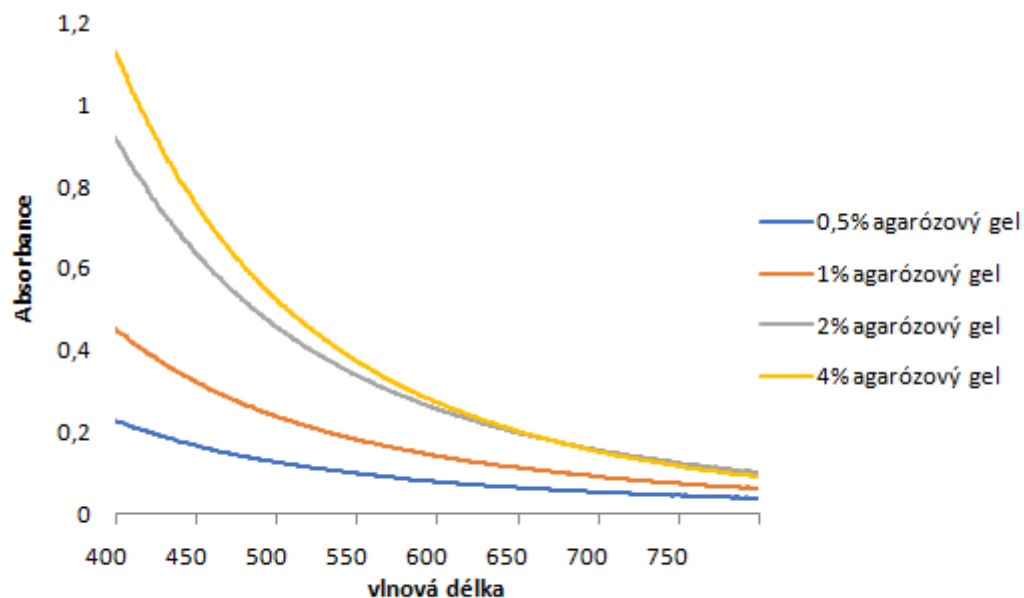
20 μm

5 μm

Obr. 10 : Fotografie pořízené pomocí kryo SEM pro agarózové gely s různou koncentrací PSS při různém zvětšení

5.1.2 Turbidimetrie

U připravených hydrogelů bylo změřeno adsorpční spektrum v rozsahu 400–800 nm (Obr. 11). Podle postupu popsaného v kapitole 2.3.2.3, byla následně dopočítána velikost pórů



Obr. 11 : Adsorpční spektrum agarózových gelů o různé koncentraci

Tabulka 3 : Hodnoty vlnového exponentu a velikosti pórů pro agarózové gely o různé koncentraci

Vzorek	Vlnový exponent	Velikost pórů [μm]
0,5 hm.% agaróza	-2,651	0,295
1 hm.% agaróza	-2,8557	0,152
2 hm.% agaróza	-3,3158	0,045
4 hm.% agaróza	-3,7936	0,016

Při pohledu na velikost pórů (Tabulka 3) u agarózových gelů o různé koncentraci lze vidět výrazný vliv koncentrace na velikosti pórů. Tuto skutečnost podporují i snímky z kryo-SEM, na kterých je také vidět zmenšování pórů s rostoucí koncentrací.

Tabulka 4 : Hodnoty vlnového exponentu a velikosti pórů pro agarózové gely s různými přísadami polyelektrolytů

Vzorek	Vlnový exponent	Velikost pórů [μm]
1 hm.% aga + 0,002 hm.% PSS	-2,620	0,330
1 hm.% aga + 0,005 hm.% PSS	-2,545	0,436
1 hm.% aga + 0,01 hm.% PSS	-2,677	0,269
1 hm.% aga + 0,1 hm.% PSS	-2,657	0,289
1 hm.% aga + 0,002 hm.% alg	-2,674	0,272
1 hm.% aga + 0,005 hm.% alg	-2,720	0,233
1 hm.% aga + 0,01 hm.% alg	-2,642	0,304
1 hm.% aga + 0,1 hm.% alg	-2,699	0,249

Velikost pórů pro agarózové gely s přísadami polyelektrolytů (Tabulka 4) kolísá a při porovnání s fotografiemi získanými pomocí kryo-SEM je velikost pórů větší. Možným vysvětlením je, že se světlo dopadajícího paprsku při měření rozptyluje nejen od agarózových řetězců tvořících póry, ale také od řetězců polyelektrolytů, které jsou mezi nimi propleteny. Tím je způsobena změna tvaru absorpčního spektra

5.1.3 Skenovací elektronová mikroskopie

Na fotografiích na Obr. 12, Obr. 13 a Obr. 14 jsou vzorky vysušených agarózových hydrogelů bez i s přísadou polyelektrolytů. Vytvořené agarózové hydrogely byly ponořeny do tekutého dusíku na několik minut, dokud nedošlo k plnému zmrznutí a poté byly mrazově vysušeny pomocí lyofilizátoru VirTis BenchTop K na fakultě chemické VUT. Poté byly pokovovány a pozorovány pomocí skenovacího elektronového mikroskopu ZEISS EVO LS 10 na fakultě chemické VUT.

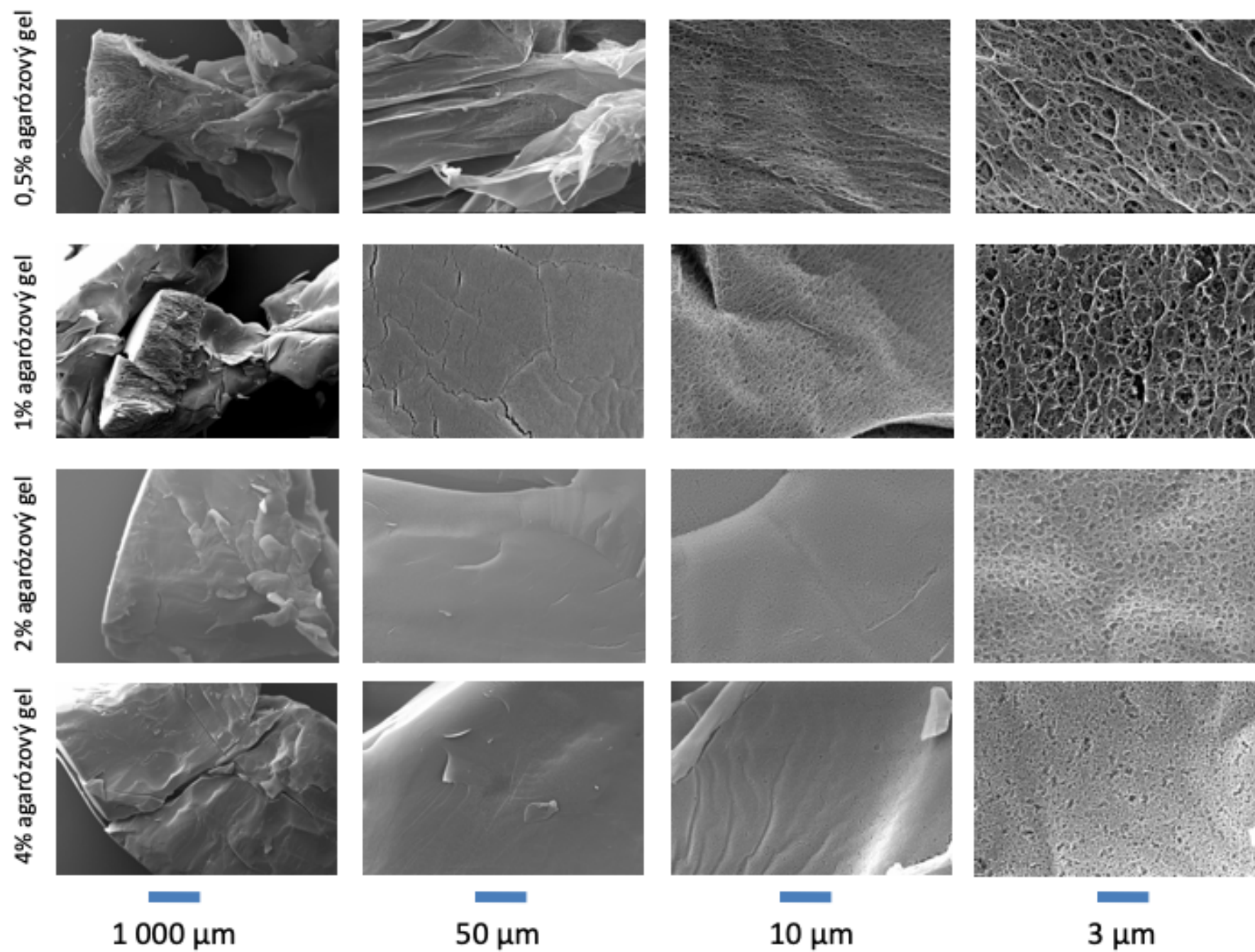
Při porovnání fotografií na Obr. 12, které zachycují vysušené gely připravené z různých koncentrovaných roztoků agarózy je patrné, že struktura gelu není homogenní a liší se podle místa, ze kterého je část gelu odebrána na pozorování. U 0,5% a 1% gelu lze vidět velké množství artefaktů, ve formě potrhane struktury, což může být způsobené tím, že se tato část gelu nacházela na okraji a při přesunu mimo tekutý dusík došlo k rozmrznutí a poté k následnému pomalému mrznutí. Při dalším přiblížení je u 0,5% vidět zblízka artefakt, u 1% se začínají objevovat drobné póry. U 2% a 4% se povrch jeví zcela hladký bez náznaků pórů. Při dalším zvětšení se u 0,5% a 1% ukazuje zcela jasná a hustá pórovitá síť a u 2% a 4% je při detailním pohledu možné vidět malé póry. Při největším přiblížení jsou u 0,5% a 1% jasně vidět póry, které mají velikost zhruba v jednotkách μm na rozdíl od 2% a 4% kde mají viditelné póry velikost v desetinách μm. Při porovnání fotografií, získaných pomocí kryo-SEM a SEM lze konstatovat, že u vysušeného gelu jsou póry větší než v hydratovaném stavu.

Na Obr. 13, na kterém jsou uvedeny fotografie agarózových gelů s různými přísadami alginátu, je při nejmenším přiblížení jasně vidět hladký povrch, který je místy narušen malými artefakty. Na dalším přiblížení je u 0,002 hm. % vidět hladký povrch, u 0,01 hm. % se na povrchu vyskytují velké póry, které zřejmě vznikly potrháním menších pórů během přechodu z hydrogelu na suchý gel. Také je u 0,01 a 0,1 hm. % vidět dvojce vytlačených prohlubin, které pravděpodobně vznikly při přenášení vzorku pomocí pinzety. Při dalším přiblížení se u všech

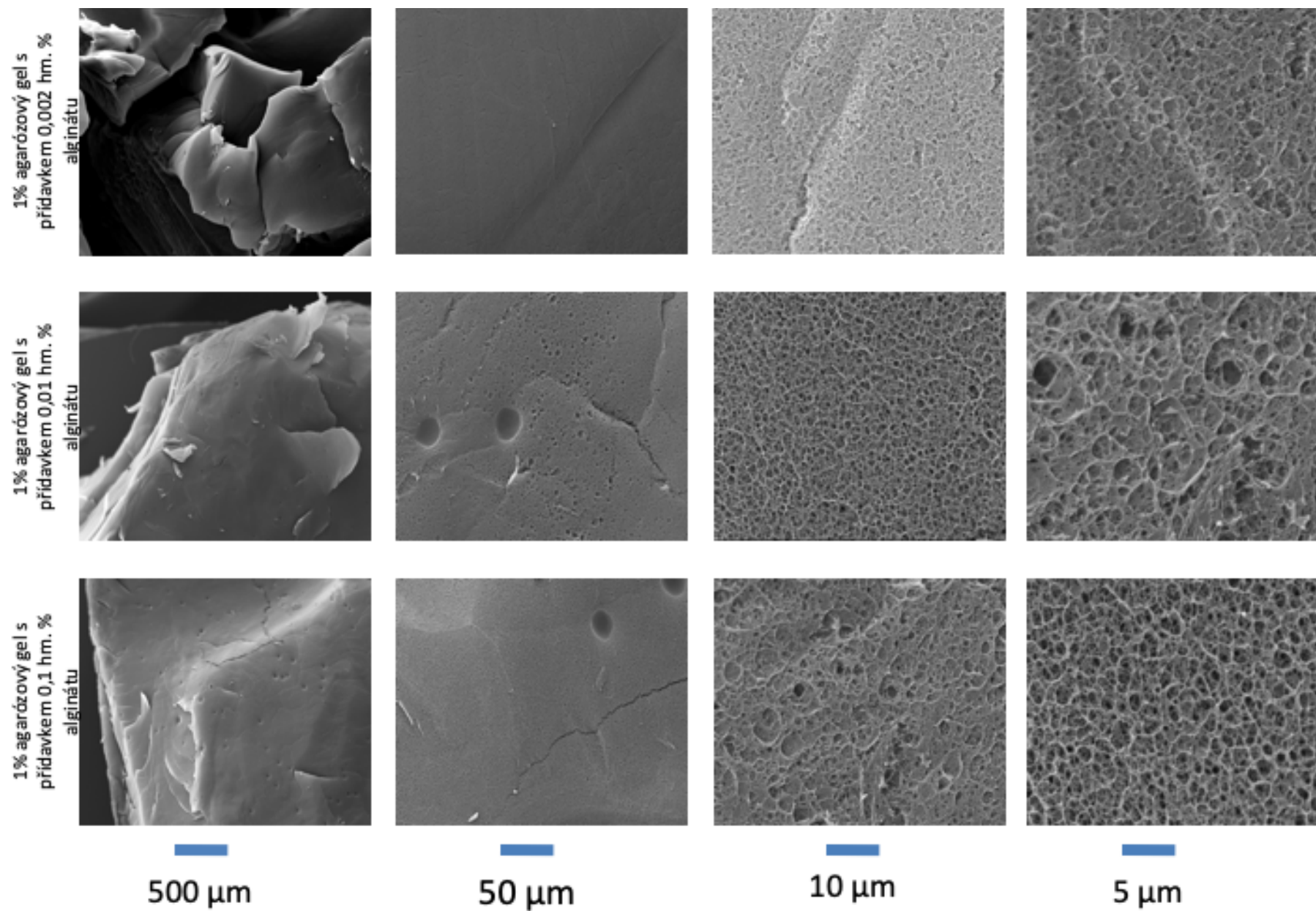
koncentrací alginátu objevila hustá pórovitá síť, která vykazuje trend, že se zvyšující se koncentrací polyelektrolytů se póry zvětšují. Po největším zvětšení se ovšem tento poznatek nepotvrzuje a dle snímků se póry jeví jako přibližně stejně velké. Velikost a distribuce pórů je srovnatelná s čistým 1% agarózovým gelem, který je zobrazen na Obr. 12. Pokud porovnáme velikost pórů viditelných pomocí kryo-SEM a SEM tak je na první pohled zřejmé, že v suchém stavu je velikost pórů větší než v hydratovaném.

Při porovnání fotografií na Obr. 14, na kterých je vidět agarózový gel s různými přísadami PSS, je opět vidět, jak je pozorování vzorků gelů závislé na místě, ze kterého je část určena k pozorování, odejmuta. U nejnižšího obsahu PSS můžeme vidět hladký povrch bez artefaktů, naproti tomu u nejvyššího obsahu PSS se nachází artefakty, které porušují strukturu povrchu. Při přiblížení se povrch u všech obsahů PSS jeví jako hladký a celistvý. Prohlubeň u 0,1 hm. % PSS zřejmě vznikla poničením pomocí vypálení paprskem elektronů, a tudíž se jedná o artefakt použité metody pozorování. Po dalším přiblížení je na všech snímcích vidět síť pórů, které se zvětšují se zvyšujícím se obsahem PSS. Při nejdetailnějším přiblížení jsou póry jasně vidět a znovu je vidět trend zvětšujících se pórů se zvyšujícím se obsahem polyelektrolytů, v tomto případě PSS. Po porovnání fotografií gelů získaných kryo-SEM a SEM, lze konstatovat, že póry viditelné na snímcích SEM jsou řádově větší než ty na snímcích kryo-SEM.

Po porovnání získaných snímků se ukázalo, že rychlým mražením pomocí tekutého dusíku, jsme schopni se dopracovat ke struktuře, která je poměrně věrnou ilustrací toho, jak vypadá vnitřní struktura gelu. Musíme dbát na to, kterou část suché formy gelu pozorujeme (artefakty) a např. vliv transferu z tekutého dusíku do lyofilizátoru, kdy dochází k rozmrazání a znovu mrznutí gelu a tím ke vzniku dalších artefaktů (největší vliv na nejméně hustou síť agarózy).

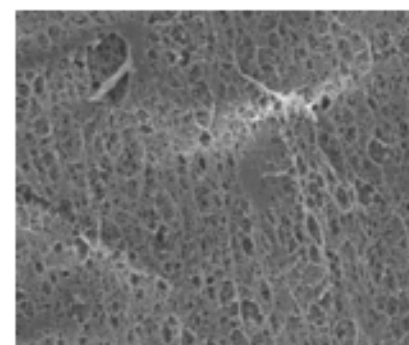
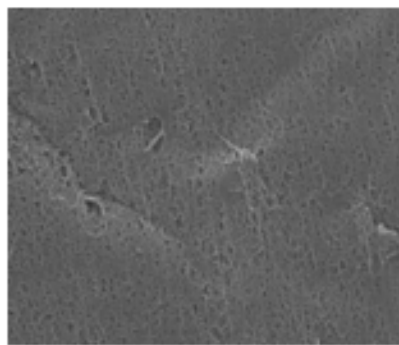
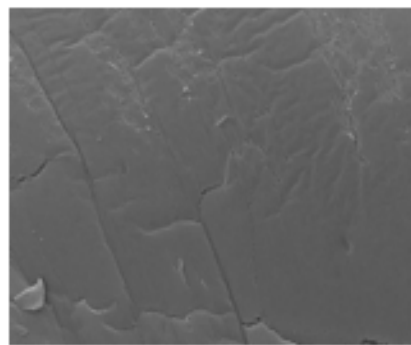
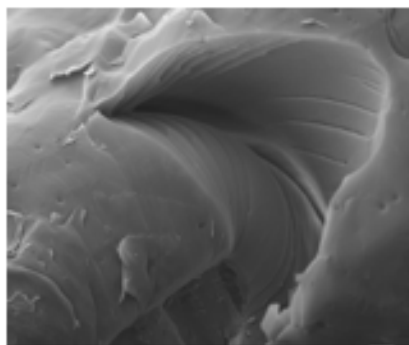


Obr. 12 : Fotografie pořízené pomocí SEM pro agarózové gely o různé koncentraci při různém zvětšení

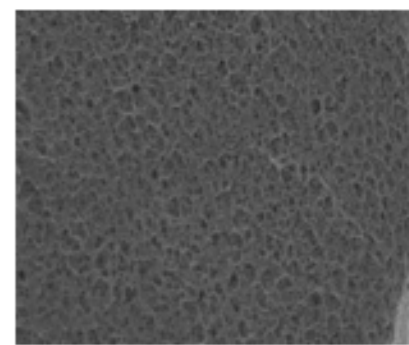
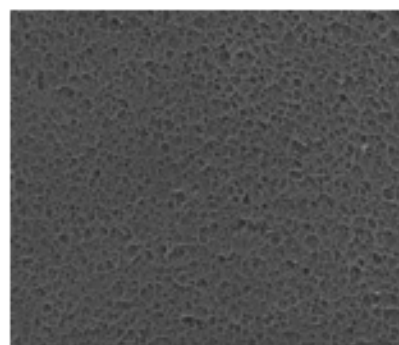
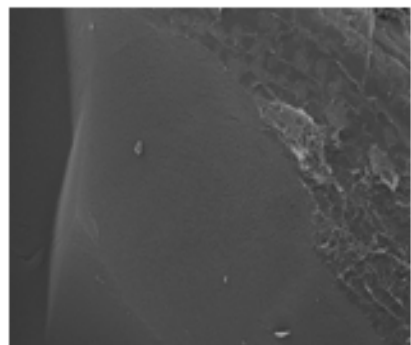
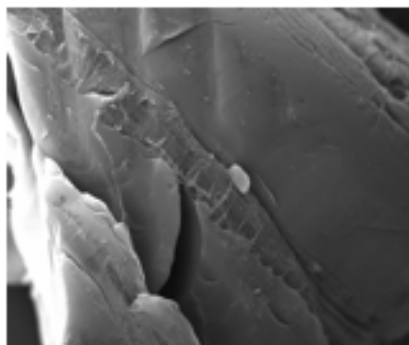


Obr. 13: Fotografie pořízené pomocí SEM pro agarózové gely s různou koncentrací alginátu při různém zvětšení

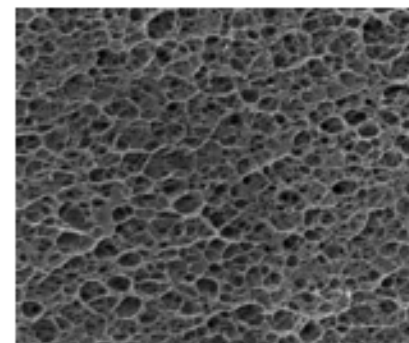
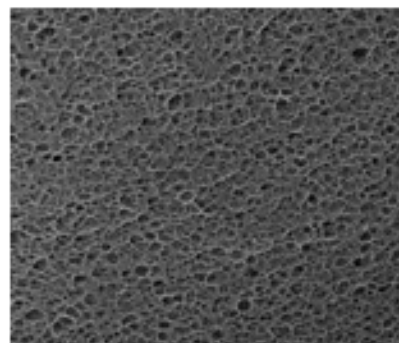
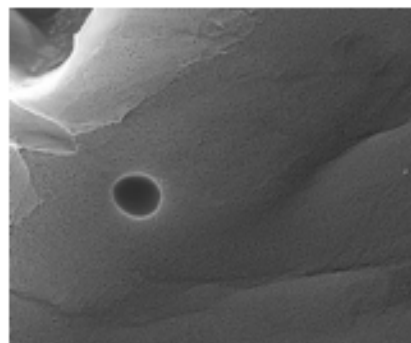
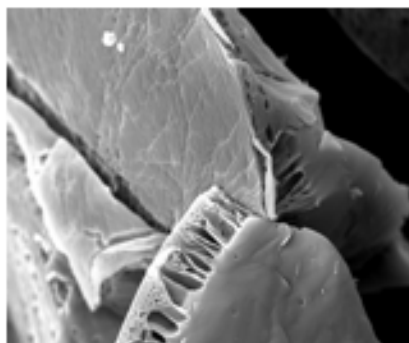
1% agarózový gel s
přídavkem 0,002 hm. % PSS



1% agarózový gel s
přídavkem 0,01 hm. % PSS



1% agarózový gel s
přídavkem 0,1 hm. % PSS



500 μm

50 μm

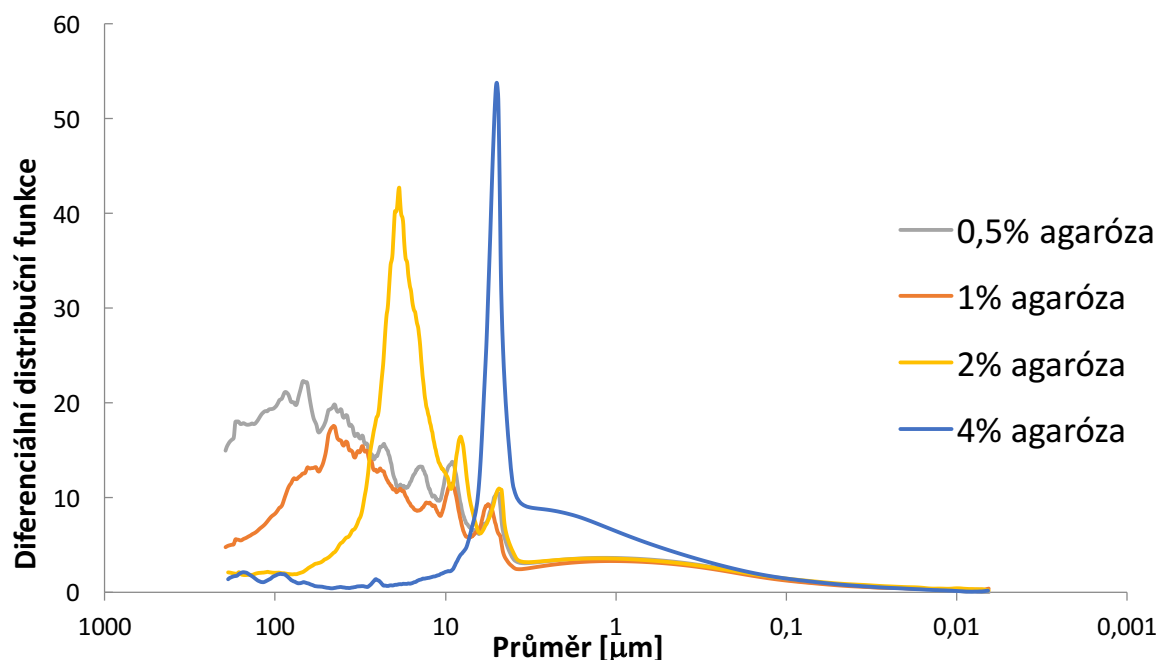
10 μm

5 μm

Obr. 14 : Fotografie pořízené pomocí SEM pro agarózové gely o různé koncentraci PSS při různém zvětšení

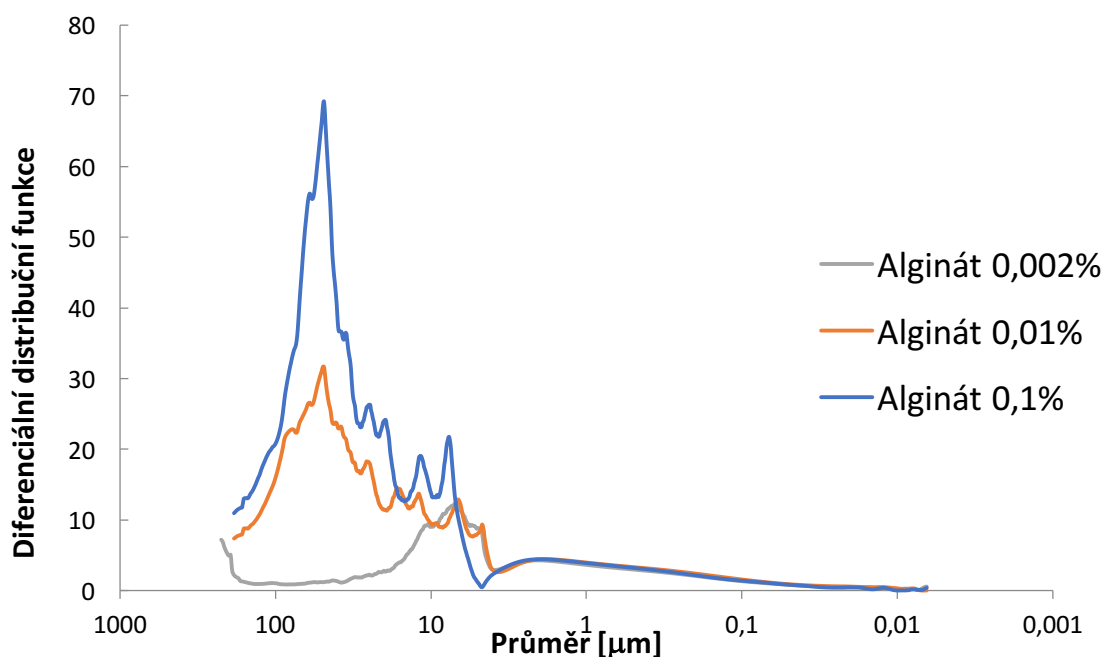
5.1.4 Rtuťová porozimetrie

Hlavní výhodou zisku suché formy gelu, jehož struktura dle fotografií ze SEM dobře ilustruje strukturu původního hydratovaného gelu, je to, že můžeme následně tyto suché vzorky podrobit nepřímým porozimetrickým metodám, např. rtuťové porozimetrie.



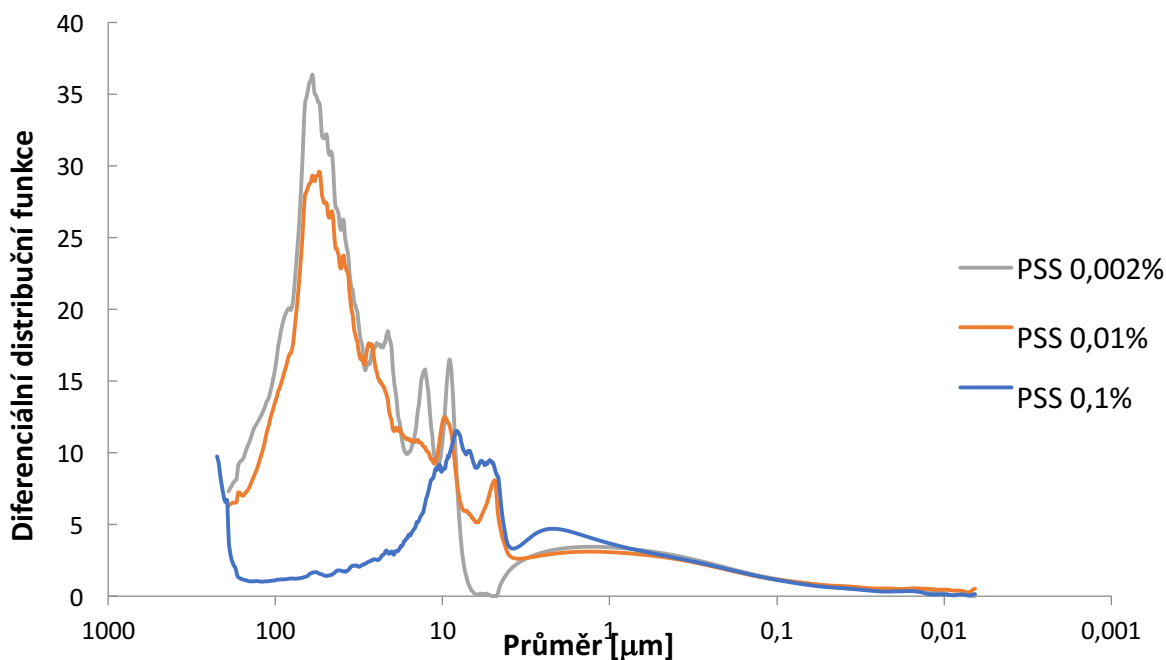
Obr. 15 : Distribuční křivka průměrů pórů pro různé koncentrace agarózy

Z grafu získaného pomocí rtuťové porozimetrie (Obr. 16) vyplývá, že se u 0,5 a 1% agarózového gelu se nachází množství pórů s velikostí v desítkách μm a se snižující se velikostí pórů roste i jejich zastoupení ve struktuře gelu. Naproti tomu z grafu vyplývá, že u 2% a 4% agarózového gelu by se mělo nacházet velké množství menších pórů, ovšem tyto píky spíše znamenají zborcení vnitřní struktury gelu způsobené tlakem rtuť. Největší póry, které jsou nejvíce vidět u 0,5% a 1% agarózy, budou s největší pravděpodobností odpovídat artefaktům – souhlasí s výsledky, které jsme získali pomocí SEM.



Obr. 16 : Distribuční křivka průměrů pórů pro 1% agarózový gel s různými přídávky alginátu

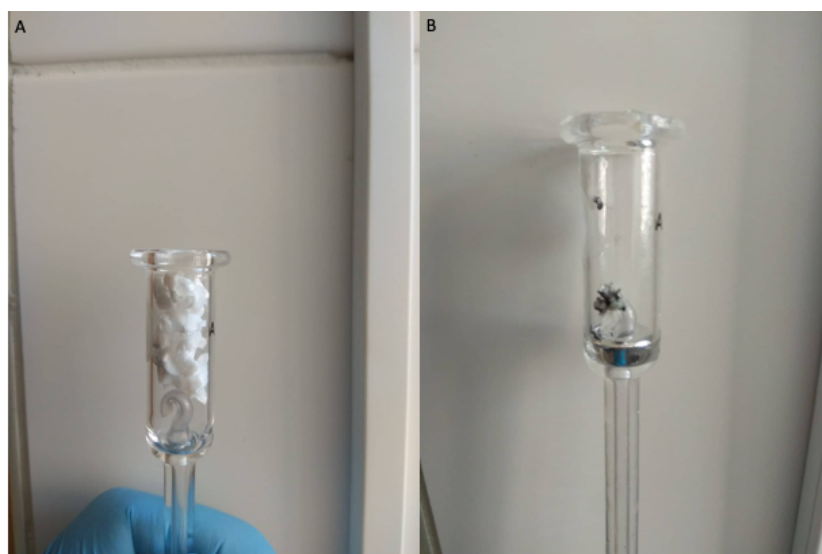
Při porovnání výsledků pro agarózový gel s různými přídávky alginátu (Obr. 16), se výsledky pro přídávky 0,01 a 0,1 hm. % jeví jako správné a vyplývá z nich, že se v suchém gelu nachází nejvyšší množství pórů s velikostí v řádech desítek μm. Pro přídavek 0,002 hm. % distribuční křivka vypovídá, že se v gelu póry s velikostí desítek μm skoro nevyskytují, ale nachází se v něm póry menší.



Obr. 17 : Distribuční křivka průměrů pórů pro 1% agarózový gel s různými přídávky PSS

Distribuční křivka (Obr. 17) pro přidavek PSS 0,1 hm. % zjevně podlehla chybě měření, či mohl být na měření použit nevhodný kousek suchého gelu, který mohl být zatížen poničením struktury způsobené mražením hydrogelu podle porovnání s fotkami z kryo SEM a SEM a s distribučními křivkami pro alginát. Distribuční křivky pro zbylé dva přídavky PSS udávají největší zastoupení pórů s velikostmi v řádech desítek μm .

Všechny měření pomocí rtuťové porozimetrie mohou být zatíženy chybou měření, a to z důvodu deformace vzorku během měření, kdy se vnitřní struktura gelu vlivem tlaku rtuti bortí a znehodnocuje (viz Obr. 18). Tato metoda je tedy použitelná spíše pro co nejhušší a nejméně křehké sítě (v našem případě 4% agaróza), nebo pouze pro charakterizaci největších pórů. Struktura gelů na bázi alginátu



Obr. 18 : Vzorek suchého gelu A) před měřením B) po měření pomocí rtuťové porozimetrie

5.2 Alginátové gely

Vyzkoušeli jsme metodiku analyzování vnitřní struktury na agarózovém typu gelu, a našim dalším cílem bylo vyzkoušet, zda to, co jsme zjistili se dá přenést na úplně jiný typ gelu – alginátový. V této práci jsme se zaměřili na různé obměny postupu (vliv pH, iontové síly) a na to, jak tyto obměny ovlivňují strukturu a další vlastnosti (např. mechanické), které s touto strukturou souvisí.

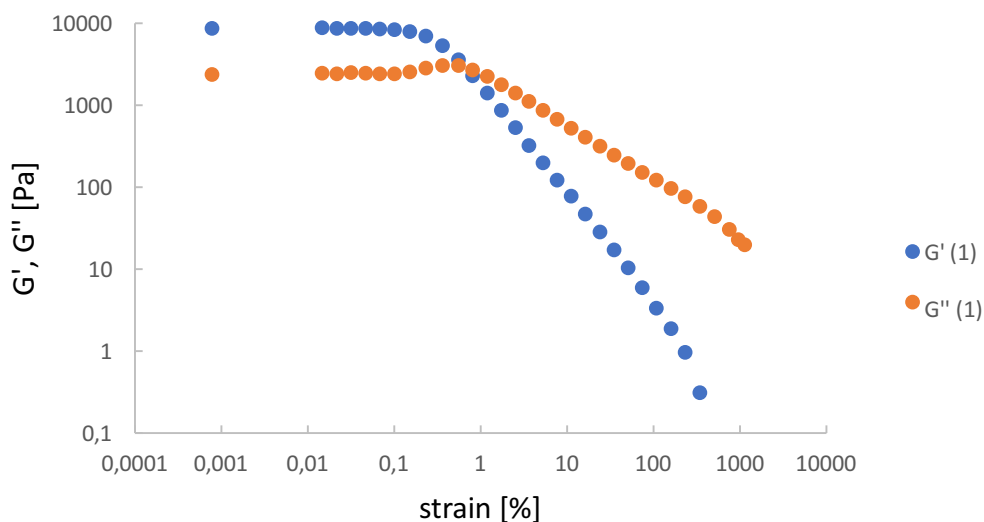
5.2.1 Reologie

Alginátové gely, které byly připraveny za různých podmínek (viz Tabulka 2), byly zkoumány pomocí reologie, aby bylo zjištěno, jak se mění jejich mechanické vlastnosti v závislosti na podmínkách přípravy. Byly provedeny amplitudové (*strain sweep*) (Obr. 19) a frekvenční (*frequency sweep*) (Obr. 20) testy. Z obou měření byl zjištěn jejich viskózní modul G'' a elastický modul G' a následně i komplexní modul $|G^*|$.

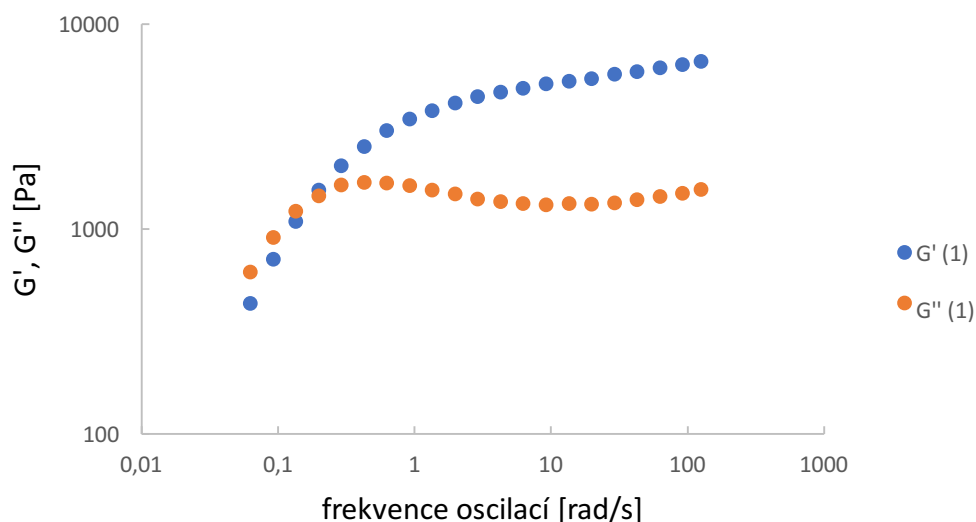
Amplitudový test je závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace při konstantní frekvenci oscilací senzoru. Z grafu pro alginátový hydrogel připravený za normálních podmínek (Obr. 19) je vidět, že oblast LVO (lineárně viskoelastická oblast) je přibližně do hodnoty 1 % a v této oblasti převládá elastický modul. Tento trend byl pozorován

u všech vzorků a pro tuto oblast byly pro jednotlivé vzorky následně vypočteny a porovnány hodnoty komplexního modulu $|G^*|$.

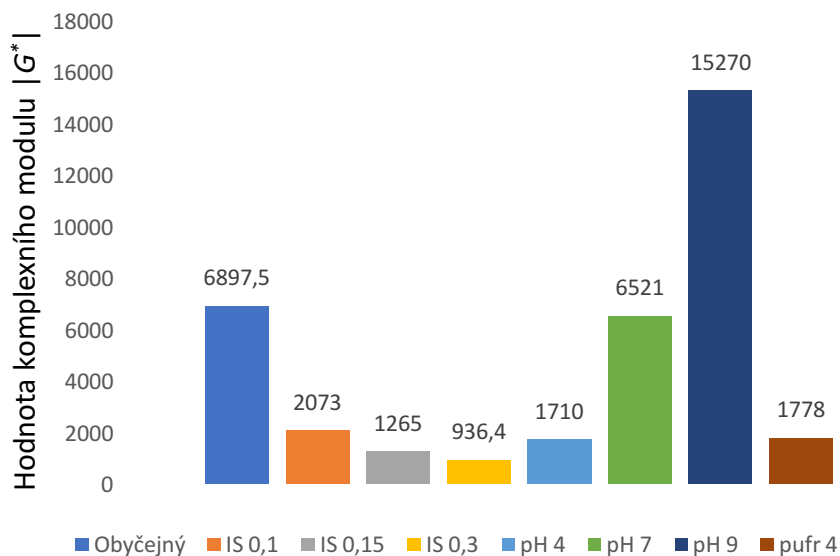
Frekvenční test zobrazuje závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilací senzoru při konstantní amplitudě deformace (zvolená na základě amplitudového testu). Na modelovém příkladě pro alginátový gel za normálních podmínek (Obr. 20) můžeme vidět typický průběh pro gely. Při nízkých (zde velmi nízkých) frekvencích oscilace se projevuje viskózní charakter, se zvyšující se frekvencí dochází k tzv. *cross-overu*, kdy se křivky protnou a následně při vyšší frekvenci už převládá elastický modul. Tento trend byl pozorován u všech vzorků. Pro bod *cross-overu* byly následně vypočteny a porovnány hodnoty komplexního modulu $|G^*|$.



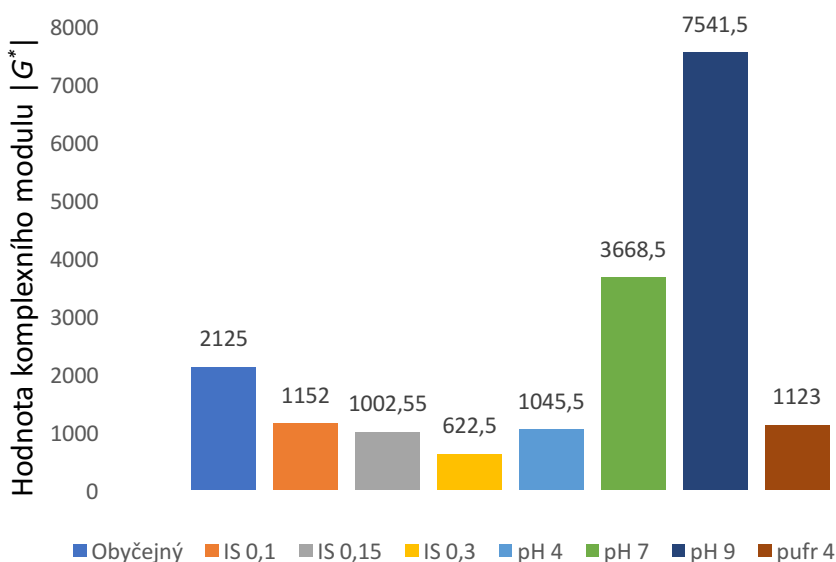
Obr. 19 : Graf výsledků Strain sweep měření pro alginátový gel



Obr. 20 : Graf výsledků frequency sweep pro alginátový gel



Obr. 21 : Graf hodnot komplexních modulů $|G^*|$ stanovených jako průměr hodnot v LVO pro Strain sweep



Obr. 22 : Graf hodnot komplexních modulů $|G^*|$ pro Frequency sweep v bodě cross-overu

Při porovnání komplexního modulu $|G^*|$ u alginátových gelů na Obr. 21 a Obr. 22, připravených za různých podmínek podle Tabulka 2. Podle získaných hodnot můžeme určit, který ze získaných gelů je nejrigidnější. Z porovnání vykazuje nejvyšší tuhost alginátový gel připravený v roztocích o pH 9, kdy je hodnota jeho komplexní modul více než dvojnásobná oproti druhému nejstabilnějšímu gelu. Na základě těchto výsledků lze usoudit, že v závislosti na jejich rozdílných mechanických vlastnostech se bude lišit i jejich vnitřní struktura.

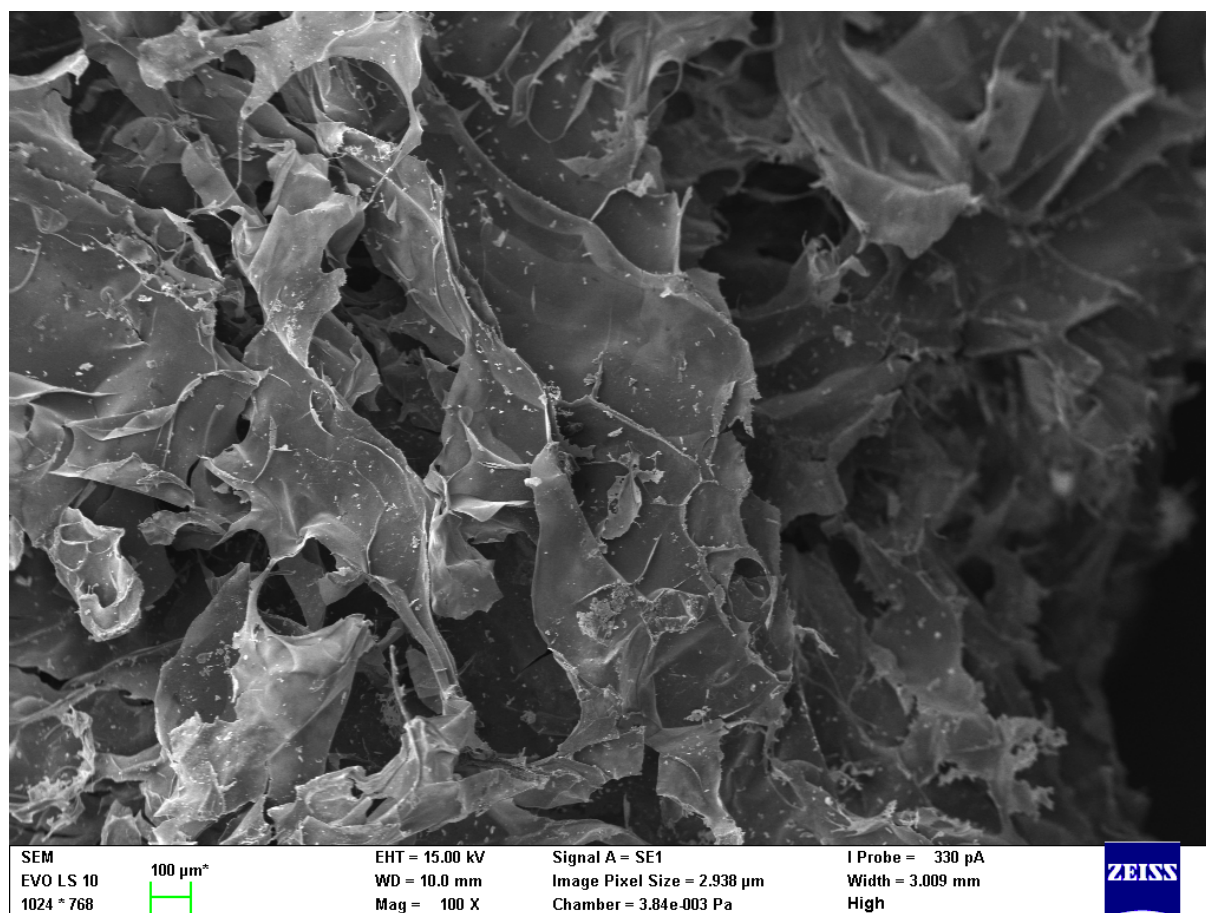
5.2.2 Strukturní analýza alginátových gelů

U gelů na bázi alginátu byla zjišťována také sušina (viz Tabulka 5) pro vzorek s obsahem soli i pro vzorek, který byl odsolen podle postupu v kapitole 4.5.2.

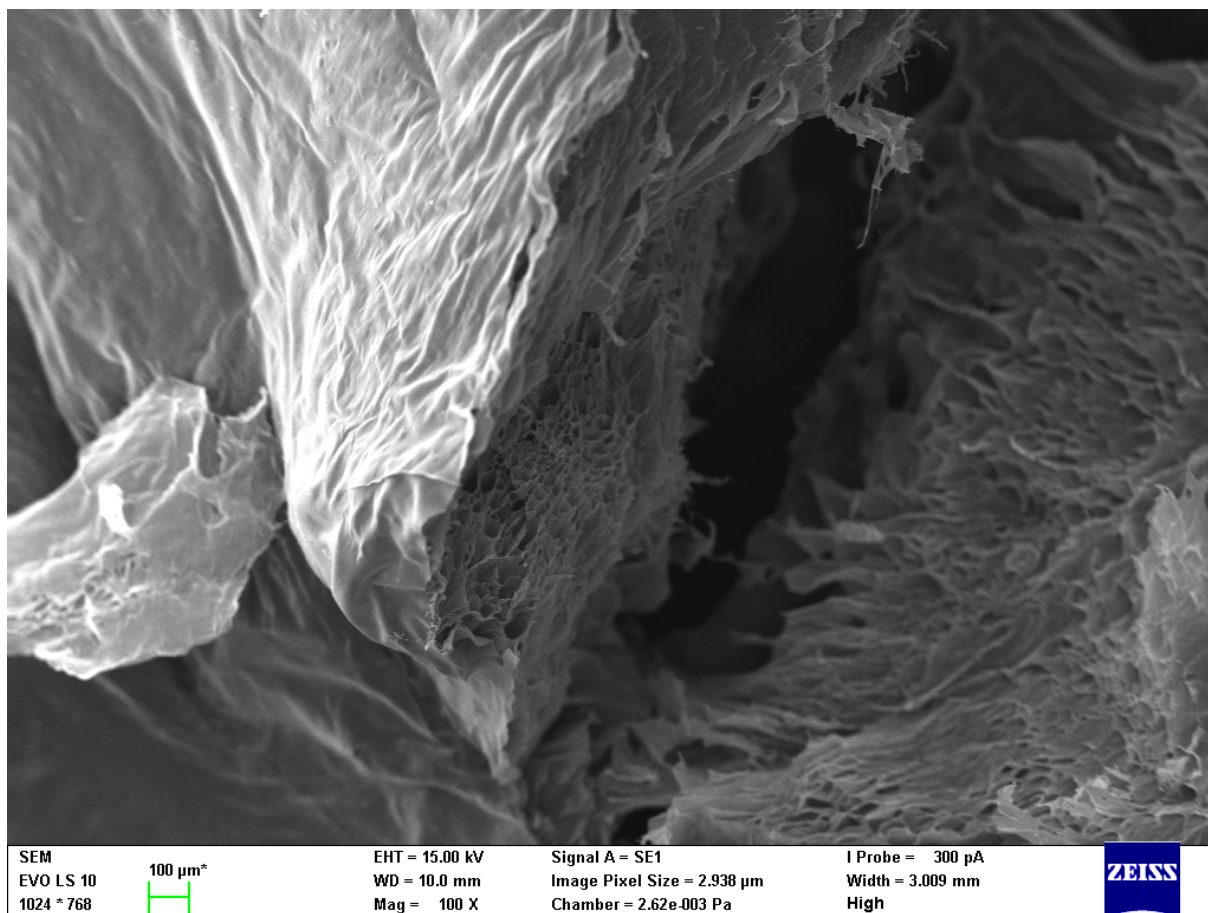
Tabulka 5 : hmotnosti gelů a procentuální zastoupení sušiny

	hydrogel [g]	Suchý gel [g]	Sušina [%]
Se solí a)	11,652	0,257	2,21
Se solí b)	11,5	0,245	2,13
Bez soli a)	2,6315	0,0181	0,69
Bez soli b)	1,7853	0,0149	0,89

Při porovnání získaných hodnot sušiny, kdy byl pozorován velký rozdíl v obsahu sušiny ve vzorku, bylo provedeno pozorování pomocí SEM. Na Obr. 23 můžeme pozorovat alginátový gel, který nebyl nijak upravován. Na snímku nemůžeme pozorovat jeho vnitřní strukturu a nejsou vidět ani žádné obrysy pórů. Pokud se ovšem podíváme na Obr. 24, na kterém je alginátový gel, který byl odsolen, tak již můžeme pozorovat póry a vnitřní strukturu gelu.



Obr. 23 : Fotografie neodsoleného alginátového gelu pořízená pomocí SEM



Obr. 24 : Fotografie odsoleného alginátového gelu pořízená pomocí SEM

6 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo vyzkoušet na modelovém gelovém systému, zda při sušení hydrogelu dochází, a pokud ano, tak k jakým změnám, které ovlivňují vnitřní strukturu gelové systému. Jako modelový hydrogelový systém, který se následně sušil, byly zvoleny agarózové gely s různou koncentrací a rovněž agarózové gely s různými přísadami polyelektrolytů. Pro charakterizaci vnitřní struktury byly využity techniky přímé strukturní analýzy (SEM a kryo-SEM) a nepřímé strukturní analýzy (rtuťová porozimetrie, turbidimetrie). Struktura vzorků byla zkoumána ve formě hydrogelu (kryo-SEM, turbidimetrie) a suché formy gelu (SEM, rtuťová porozimetrie).

Struktura agarózových hydrogelů, bez přísady i s přísadou polyelektrolytů, byla pozorována pomocí techniky kryo-SEM. Při porovnání snímků čisté agarózy o různé koncentraci byla potvrzena teorie, že se zvyšující se koncentrací agarózy se zmenšuje velikost pórů. Při porovnání agarózových gelů s přísadami různých koncentrací polyelektrolytů docházelo k jevu, kdy v gelech s vyšším obsahem polyelektrolytů docházelo ke vzniku menších pórů. Může jednat o artefakty metody, a nebo také o trend, který se při vyšších koncentracích polyelektrolytů objevuje.

Při pozorování struktury suchých forem agarózových gelů, bez i s přísadou polyelektrolytů, byla využita technika SEM. Po porovnání jednotlivých fotek agarózových gelů s různou koncentrací byla také potvrzena teorie, že se zvyšující se koncentrací agarózy se snižuje velikost pórů. Po porovnání fotek agarózových gelů s přísadami polyelektrolytů se u alginátu potvrdilo, že přidávání polyelektrolytů do gelu nemá vliv na jeho vnitřní strukturu. Ovšem u PSS se póry u největší koncentrace PSS jeví jako větší. Možným vysvětlením je vznik artefaktů při sušení gelu, kdy může dojít k narušení vnitřní struktury.

Při porovnání fotografií agarózových gelů získaných technikou kryo-SEM a SEM je jasné vidět, že při sušení hydrogelu dochází k určitému poškození vnitřní struktury gelu, a póry jsou ve vysušeném stavu větší, než byly v původním hydrogelu. K zamezení poškození vnitřní struktury gelu, je zapotřebí optimalizovat způsob sušení, aby nedocházelo ke zvětšování pórů.

Pokud porovnáme hodnoty velikosti pórů u agarózových hydrogelů získané pomocí kryo-SEM a turbidimetrie, tak zjistíme, že obě metody vykazují velikost pórů ve stovkách nm. Obě tyto metody spolu vzájemně korelují. Metoda zjišťování velikosti pórů pomocí turbidimetrie není zcela přesná, ale pro zjištění velikosti pórů řádově je dostačená. Pro detailnější ověření velikosti pórů je technika kryo-SEM přesnější, ale ovšem méně dostupná.

Pro agarózové gely v suchém stavu byla použita technika SEM a rtuťová porozimetrie. Při porovnání výsledků z obou metod, jsme došli k závěru, že se obě metody řádově shodují, ovšem při zjišťování velikosti pórů pomocí rtuťové porozimetrie dochází k destrukci vzorku, a působením tlaku se bortí vnitřní struktura gelu již během měření, a proto některé výsledky mohou být zatíženy touto chybou.

Při charakterizaci mechanických vlastností alginátových gelů pomocí reologie, bylo zjištěno, že gely, které byly připraveny v kyselém prostředí, jsou nejrigidnější a z těchto výsledků se dá odvozovat, že při rozdílných mechanických vlastnostech, se bude lišit i vnitřní struktura gelů připravených za různých podmínek. Díky poznatkům získaných pomocí sušiny a následného pozorování pomocí SEM bylo zjištěno, že pokud bychom chtěli do budoucna

pozorovat vnitřní strukturu alginátových gelů, budeme muset nejdříve přistoupit k odsolení hydrogelu.

Znalost vnitřní struktury gelu a velikosti pórů u hydratovaných gelů, tak i u suchých forem gelů, bude do budoucna velmi ceněna, a to z důvodu, že gely ve všech svých formách nacházejí více a více možností využití ve všech možných aplikacích.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] ALMDAL, K., J. DYRE, S. HVIDT a O. KRAMER. Towards a phenomenological definition of the term 'gel'. *Polymer Gels and Networks*. 1993, **1**(1), 5-17. DOI: 10.1016/0966-7822(93)90020-I. ISSN 09667822. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/096678229390020I>
- [2] NISHINARI, Katsuyoshi. Some thoughts on the definition of gel. In: *Progress in colloid and polymer science*. Berlin: Springer, Berlin, Heidelberg, 2009. DOI: 10.1007/2882_2009_12. ISBN 978-3-642-00865-8. ISSN 1437-8027.
- [3] *Polymer gels and networks*. New York: Marcel Dekker, 2002. ISBN 9780824706692.
- [4] ALMDAL, Kristoffer, Jeppe DYRE, Søren HVIDT a Ole KRAMER. What is a 'gel'?. *Makromolekulare Chemie. Macromolecular Symposia*. 1993, **76**(1), 49-51. DOI: 10.1002/masy.19930760107. ISSN 02580322. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/masy.19930760107>
- [5] 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 20901232. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2090123213000969>
- [6] TAIRA, Noriko, Kosuke INO, Jordan ROBERT a Hitoshi SHIKU. Electrochemical printing of calcium alginate/gelatin hydrogel. *Electrochimica Acta*. 2018, **281**, 429-436. DOI: 10.1016/j.electacta.2018.05.124. ISSN 00134686. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013468618311691>
- [7] RUDOLPH, Kevin A. a Kelly H. RUDOLPH. Mask with gel seal. USA. US6082360A. Uděleno 4.7.2000.
- [8] HOARE, Todd R. a Daniel S. KOHANE. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer*. 2008, **49**(8), 1993-2007. DOI: 10.1016/j.polymer.2008.01.027. ISSN 00323861. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032386108000487>
- [9] LI, Lanlan, Yaqu WANG, Lijia PAN, Ye SHI, Wen CHENG, Yi SHI a Guihua YU. A Nanostructured Conductive Hydrogels-Based Biosensor Platform for Human Metabolite Detection. *Nano Letters*. 2015, **15**(2), 1146-1151. DOI: 10.1021/nl504217p. ISSN 1530-6984. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/nl504217p>
- [10] ZHAO, Wen, Xing JIN, Yang CONG, Yuying LIU a Jun 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 02682575. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jctb.3970>
- [11] Chapter 33 - Synthetic Polymers. HACKER, Michael C., Jan KRIEGHOFF a Antonios G. MIKOS. *Principles of regenerative medicine*. 3rd edition. San Diego, CA: Elsevier, 2018, s. 559-590. ISBN 9780128098806
- [12] HÜSING, N. a U. SCHUBERT. Aerogels—Airy Materials: Chemistry, Structure, and Properties. *Angewandte Chemie International Edition*. 1998, (37), 22-45. DOI: 10.1002/(SICI)1521-3773(19980202)37:1/2<22::AID-ANIE22>3.0.CO;2-I.
- [13] CHEN, Long, Yanhui LI, Qiuju DU, Zonghua WANG, Yanzhi XIA, Emily YEDINAK, Jun LOU a Lijie CI. High performance agar/graphene oxide composite aerogel for methylene blue removal. *Carbohydrate Polymers*. 2017, **155**, 345-353. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.08.047. ISSN 01448617. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861716309821>
- [14] TSOTSAS, Evangelos a Arun S. MUJUMDAR, ed. *Drying Technology, Volume 3: Product Quality and Formulation*. John Wiley & Sons., 2011. ISBN 978-3-527-31558-1.
- [15] HRUBESH, Lawrence W. Aerogel applications. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 1998, **225**, 335-342. DOI: 10.1016/S0022-3093(98)00135-5. ISSN 00223093. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022309398001355>

- [16]PIERRE, Alain C. a Gérard M. PAJONK. Chemistry of Aerogels and Their Applications. *Chemical Reviews*. 2002, **102**(11), 4243-4266. DOI: 10.1021/cr0101306. ISSN 0009-2665. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr0101306>
- [17]SCHERER, G.W. Xerogels. *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*. Elsevier, 2001, 2001, , 9797-9799. DOI: 10.1016/B0-08-043152-6/01777-0. ISBN 9780080431529. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B0080431526017770>
- [18]BRINKER, C. Jeffrey a George W. SCHERER. *Sol-gel science: the physics and chemistry of sol-gel processing*. Boston: Academic Press, c1990. ISBN 01-213-4970-5.
- [19]MELDE, Brian, Brandy JOHNSON a Paul CHARLES. Mesoporous Silicate Materials in Sensing. *Sensors*. 2008, **8**(8), 5202-5228. DOI: 10.3390/s8085202. ISSN 1424-8220. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1424-8220/8/8/5202>
- [20]*Characterization analysis of polymers*. Hoboken: Wiley-Interscience, 2008. ISBN 978-047-0233-009.
- [21]CLARK, Allan H. a Simon B. ROSS-MURPHY. Structural and mechanical properties of biopolymer gels. *Biopolymers*. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, 1987, , 57-192. Advances in Polymer Science. DOI: 10.1007/BFb0023332. ISBN 3-540-17779-5. Dostupné také z: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/BFb0023332>
- [22]STENGEL, Dagmar B., Solène CONNAN a Zoë A. POPPER. Algal chemodiversity and bioactivity: Sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnology Advances*. 2011, **29**(5), 483-501. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2011.05.016. ISSN 07349750. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0734975011000711>
- [23]LAHAYE, Marc a Cyrille ROCHAS. Chemical structure and physico-chemical properties of agar. *International Workshop on Gelidium*. Dordrecht: Springer Netherlands, 1991, 1991, , 137-148. DOI: 10.1007/978-94-011-3610-5_13. ISBN 978-94-010-5601-4. Dostupné také z: http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-94-011-3610-5_13
- [24]NORMAND, Valéry, Didier L. LOOTENS, Eleonora AMICI, Kevin P. PLUCKNETT a Pierre AYMARD. New Insight into Agarose Gel Mechanical Properties. *Biomacromolecules*. 2000, **1**(4), 730-738. DOI: 10.1021/bm005583j. ISSN 1525-7797. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bm005583j>
- [25]ZARRINTAJ, Payam, Saeed MANOUCHEHRI, Zahed AHMADI, Mohammad Reza SAEB, Aleksandra M. URBANSKA, David L. KAPLAN a Masoud MOZAFARI. Agarose-based biomaterials for tissue engineering. *Carbohydrate Polymers*. 2018, **187**, 66-84. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.01.060. ISSN 01448617. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014486171830078X>
- [26]DAVIES, Jane C. Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis: pathogenesis and persistence. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2002, **3**(2), 128-134. DOI: 10.1016/S1526-0550(02)00003-3. ISSN 15260542. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1526055002000033>
- [27]LEE, Kuen Yong a David J. MOONEY. Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*. 2012, **37**(1), 106-126. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003. ISSN 00796700. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670011000918>
- [28]SMIDSRØD, Olav. Molecular basis for some physical properties of alginates in the gel state. *Faraday Discuss. Chem. Soc.* 1974, **57**, 263-274. DOI: 10.1039/DC9745700263. ISSN 0301-7249. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=DC9745700263>
- [29]TØNNESSEN, Hanne Hjorth a Jan KARLSEN. Alginate in Drug Delivery Systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2002, **28**(6), 621-630. DOI: 10.1081/DDC-120003853. ISSN 0363-9045. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1081/DDC-120003853>
- [30]SUN, Jinchen a Huaping TAN. Alginate-Based Biomaterials for Regenerative Medicine Applications. *Materials*. 2013, **6**(4), 1285-1309. DOI: 10.3390/ma6041285. ISSN 1996-1944. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1996-1944/6/4/1285>
- [31]SEN, Akhil Kumar, Sandip ROY a Vinay A JUVEKAR. Effect of structure on solution and interfacial properties of sodium polystyrene sulfonate (NaPSS). *Polymer International*. 2007, **56**(2), 167-174. DOI: 10.1002/pi.2154. ISSN 09598103. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/pi.2154>

- [32] High potassium (hyperkalemia). *Mayoclinic* [online]. [cit. 2019-04-09]. Dostupné z: <https://www.mayoclinic.org/symptoms/hyperkalemia/basics/definition/sym-20050776>
- [33] HAREL, Ziv, Shai HAREL, Prakesh S. SHAH, Ron WALD, Jeffrey PERL a Chaim M. BELL. Gastrointestinal Adverse Events with Sodium Polystyrene Sulfonate (Kayexalate) Use: A Systematic Review. *The American Journal of Medicine*. 2013, **126**(3), 264.e9-264.e24. DOI: 10.1016/j.amjmed.2012.08.016. ISSN 00029343. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002934312008698>
- [34] HAWKES, P. W a John C. H SPENCE. *Science of microscopy*. New York: Springer, c2007. ISBN 03-872-5296-7.
- [35] OFFICE FOR LEARNING AND TEACHING. MyScope: training for advanced re- search [online]. 2013, 2014 [cit. 2018-10-15]. Dostupné z: <http://www.ammrf.org.au/myscope/>.
- [36] REICHEL, Rudolf. *Scanning Electron Microscopy. Science of Microscopy*. New York, NY: Springer New York, 2007, , 133-272. DOI: 10.1007/978-0-387-49762-4_3. ISBN 978-0-387-25296-4. Dostupné také z: http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-49762-4_3
- [37] Elektronová mikroskopie transmisní a rastrovací. *Společná laboratoř optiky Univerzity Palackého v Olomouci a Fyzikálního ústavu Akademie věd ČR* [online]. [cit. 2019-04-11]. Dostupné z: http://jointlab.upol.cz/~soubusta/OSYS/El_mikr/El_mikr.html
- [38] DOKLAND, Terje. *Techniques in microscopy for biomedical applications*. Singapore: World Scientific, c2006. *Manuals in biomedical research*, v. 2. ISBN 98-125-6434-9.
- [39] Introducing Cryo Scanning Electron Microscopy. *JEOL* [online]. [cit. 2019-04-14]. Dostupné z: https://www.jeol.co.jp/en/applications/pdf/sm/469_en.pdf
- [40] GIESCHE, Herbert. *Mercury Porosimetry: A General (Practical) Overview*. 2006, **23**(1), 9-19. DOI: 10.1002/ppsc.200601009. ISSN 09340866. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ppsc.200601009>
- [41] DUDÁK, Michal a Marek VÁCLAVÍK. Rtuťová porozimetrie. *Fakulta chemicko-inženýrská VŠCHT* [online]. [cit. 2019-04-17]. Dostupné z: <https://fchi.vscht.cz/files/uzel/0010367/RP.pdf?redirected>
- [42] HAUL, R. S. J. Gregg, K. S. W. Sing: Adsorption, Surface Area and Porosity. 2. Auflage, Academic Press, London 1982. 303 Seiten, Preis. *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie*. 1982, **86**(10), 957-957. DOI: 10.1002/bbpc.19820861019. ISSN 00059021. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/bbpc.19820861019>
- [43] Stanovení měrného povrchu vybraných adsorbentů metodou BET a metodou DFT. 2015, **2015**(4).
- [44] BET. *Particle Analytical* [online]. Word Press [cit. 2019-04-29]. Dostupné z: <https://particle.dk/methods-analytical-laboratory/surface-area-bet-2/>
- [45] HAVEN, Mary C., Gregory A. TETRAULT a Jerald R. SCHENKEN. *Laboratory Instrumentation*. 4th Edition. New York, United States: John Wiley, 1995. ISBN 9780471285724.
- [46] Petr Wandrol, Ústav přístrojové techniky AV ČR Rastrovací elektronový mikroskop v biologickém použití (prezentace); Podzimní škola základů elektronové mikroskopie, České Budějovice 2006
- [47] ZHAO, Shanyu, Wim J. MALFAIT, Natalia GUERRERO-ALBURQUERQUE, Matthias M. KOEBEL a Gustav NYSTRÖM. Biopolymer Aerogels and Foams: Chemistry, Properties, and Applications. *Angewandte Chemie International Edition*. 2018, **57**(26). DOI: 10.1002/anie.201709014. ISSN 14337851. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.201709014>
- [48] CHEN, Long, Yanhui LI, Qiuju DU, Zonghua WANG, Yanzhi XIA, Emily YEDINAK, Jun LOU a Lijie CI. High performance agar/graphene oxide composite aerogel for methylene blue removal. *Carbohydrate Polymers*. 2017, **155**, 345-353. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.08.047. ISSN 01448617. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861716309821>
- [49] ZHANG, Wentao, Shuo SHI, Wenxin ZHU, Lunjie HUANG a YANG. 2017, **5**(10). DOI: 10.1021/acssuschemeng.7b02376. ISSN 2168-0485. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acssuschemeng.7b02376>

- [50] VERES, Péter, Dániel SEBŐK, Imre DÉKÁNY, Pavel GURIKOV, Irina SMIRNOVA, István FÁBIÁN a József KALMÁR. A redox strategy to tailor the release properties of Fe(III)-alginate aerogels for oral drug delivery. *Carbohydrate Polymers*. 2018, **188**, 159-167. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.01.098. ISSN 01448617. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861718301243>
- [51] LI, Yanhui, Fuqiang LIU, Bing XIA, Qiuju DU, Pan ZHANG, Dechang WANG, Zonghua WANG a Yanzhi XIA. Removal of copper from aqueous solution by carbon nanotube/calcium alginate composites. *Journal of Hazardous Materials*. 2010, **177**(1-3), 876-880. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.12.114. ISSN 03043894. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389410000129>
- [52] LEE, Eun-Jung, Shin-Hee JUN a Hyoun-Ee KIM. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2010, **21**(1). DOI: 10.1007/s10856-009-3835-9. ISSN 0957-4530. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10856-009-3835-9>
- [53] LAURENCIN, C. Poly(lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite delivery of BMP-2-producing cells: a regional gene therapy approach to bone regeneration. *Biomaterials*. **22**(11), 1271-1277. DOI: 10.1016/S0142-9612(00)00279-9. ISSN 01429612. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961200002799>
- [54] AYMARD, P., M. A. K. WILLIAMS, A. H. CLARK a I. T. NORTON. A Turbidimetric Study of Phase Separating Biopolymer Mixtures during Thermal Ramping. *Langmuir*. 2000, **16**(19), 7383-7391. DOI: 10.1021/la000549b. ISSN 0743-7463. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la000549b>
- [55] SMILEK, J. Nové metody studia reaktivity biokoloidů. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 166 s. (přílohy 65 s.). Vedoucí dizertační práce: prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.

8 POUŽITÉ ZKRATKY

Kryo-SEM – kryo skenovací elektronová mikroskopie

SEM – skenovací elektronová mikroskopie

TEM – transmisní elektronová mikroskopie

BET analýza – Brunauer–Emmett–Teller analýza

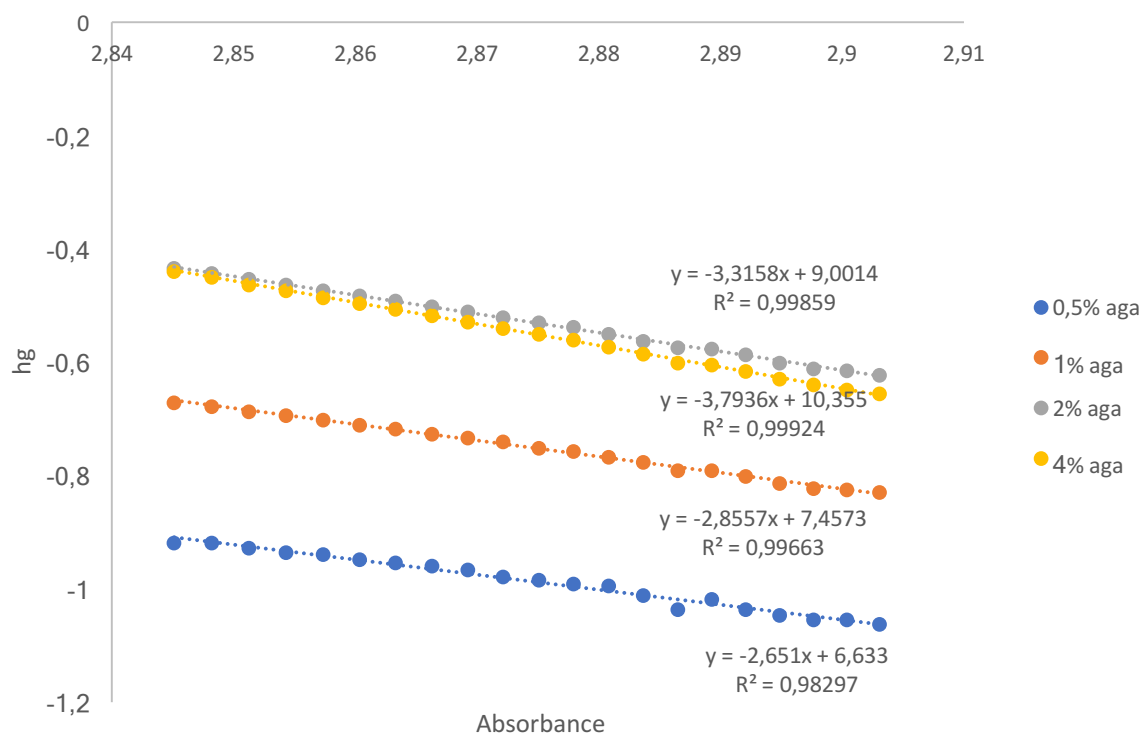
ÚPT AV – Ústav přístrojové techniky akademie věd

PSS – polystyren-sulfonát sodný

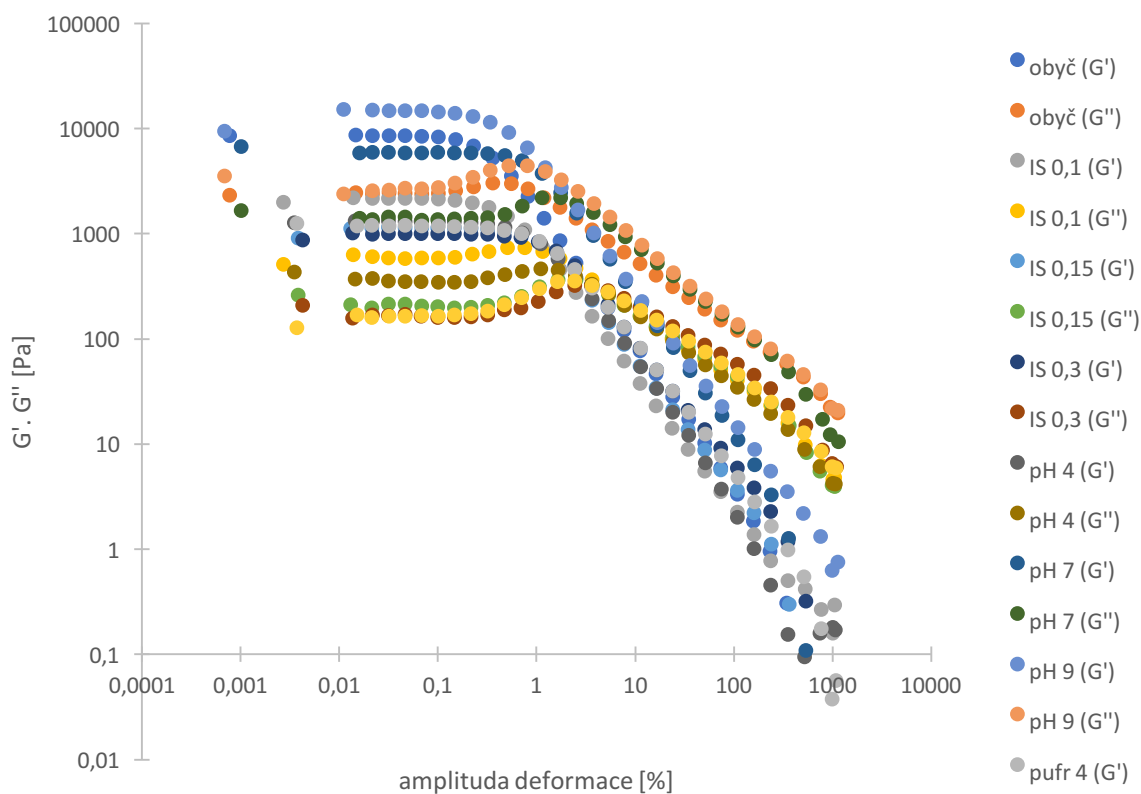
ZIF – zeolitické imidazolátové struktury

LVO – lineárně viskoelastická oblast

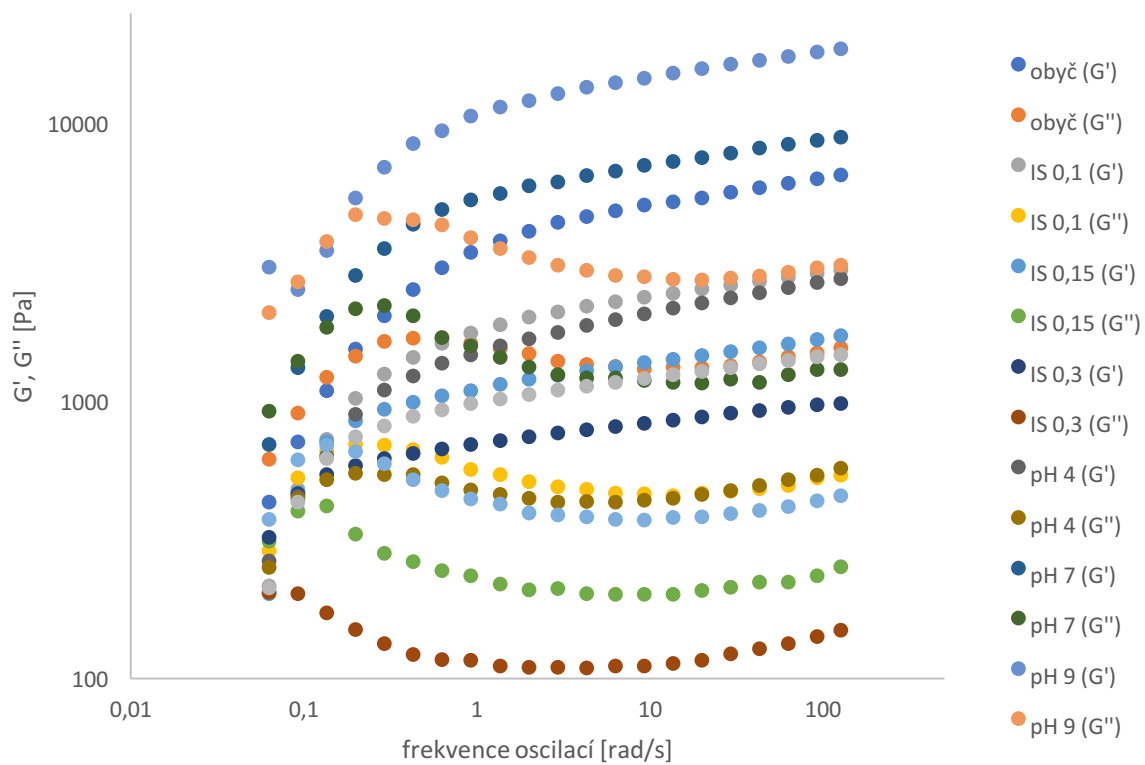
9 PŘÍLOHY



Obr. 25 : Linearizovaná absorpční spektra pro agarózové gely o různé koncentraci



Obr. 26 : Graf výsledků Strain sweep měření pro alginátové gely připravené za různých podmínek



Obr. 27 : Graf výsledků frequency sweep pro alginátové gely připravené za různých podmínek