



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE MATERIÁLŮ

INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE

**STUDIUM RELAXAČNÍCH VLASTNOSTÍ HYDROGELŮ S
VYUŽITÍM REOLOGICKÝCH TECHNIK**

STUDY ON RELAXATION PROPERTIES OF HYDROGELS USING RHEOLOGICAL TECHNIQUES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Pavel Lorenc

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Jiří Smilek, Ph.D.

BRNO 2020

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1477/2019 Akademický rok: 2019/20
Ústav: Ústav chemie materiálů
Student: **Pavel Lorenc**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie, technologie a vlastnosti materiálů
Vedoucí práce: **Ing. Jiří Smilek, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Studium relaxačních vlastností hydrogelů s využitím reologických technik

Zadání bakalářské práce:

- 1) provést studium současného stavu řešené problematiky na téma stanovení relaxačních vlastností hydrogelů po mechanickém namáhání
- 2) na základě literární rešerše navrhnout vhodné experimenty na reometru
- 3) optimalizovat metody stanovení relaxačních vlastností hydrogelových systémů
- 4) ověřit použitelnost těchto metod na různých typech hydrogelů
- 5) diskutovat naměřené výsledky a použitelnost optimalizovaných metod

Termín odevzdání bakalářské práce: 31.7.2020:

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

Pavel Lorenc
student(ka)

Ing. Jiří Smilek, Ph.D.
vedoucí práce

doc. Ing. František Šoukal, Ph.D.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Předložená bakalářská práce se zabývá studiem relaxace a časového namáhání viskoelastických látek (hydrogelů) pomocí vybraných reologických technik především s ohledem na oscilační testy. Byly připraveny a při měření porovnány vlastnosti hydrogelů s různým typem síťování. Agaróзовé hydrogely (fyzikálně), alginátové hydrogely (fyzikálně-chemicky), hydrogely kyseliny hyaluronové (iontově) a polyvinylalkoholové hydrogely (chemicky). V této bakalářské práci jsou navrženy a následně i aplikovány metody měření relaxačních vlastností těchto hydrogelů za použití reometru. Pomocí časově závislých testů, jež zkoumaly změny amplitudy v čase, byly zkoumány relaxační vlastnosti hydrogelů. Proveden byl test, který měl 3 intervaly, kdy změnami amplitud deformace v závislosti na čase byla sledována odezva hydrogelů na tyto změny. Sledovány byly relaxační vlastnosti těchto hydrogelů, jež prokázaly značné rozdíly v chování hydrogelů při měřeních. Těmito metodami bylo zjištěno, že struktura hydrogelů a koncentrace mají vliv na jejich relaxační vlastnosti. Z naměřených výsledků bylo prokázáno, že nejlepší relaxační vlastnosti má chemicky síťovaný polyvinylalkoholový hydrogel, nejnižší schopnost relaxace pak vykazoval fyzikálně-chemicky síťovaný alginátový hydrogel. Výsledky z naměřených dat byly nakonec porovnány, posouzeny a komentovány rozdíly mezi jednotlivými hydrogely.

ABSTRACT

Submitted bachelor's thesis deals with the study of relaxation and time stress of viscoelastic substances (hydrogels) using selected rheological techniques, especially with regard to oscillation tests. Hydrogels with different types of crosslinking were prepared and their properties were compared during the measurement. Agarose hydrogels (physically), alginate hydrogels (physicochemically), polyvinyl alcohol hydrogels (chemically) and hyaluronic acid hydrogels (ionically). In this bachelor's thesis, methods for measuring the relaxation properties of these hydrogels using a rheometer were designed and subsequently applied. We examined the relaxation properties of hydrogels using time-dependent tests that examined changes in amplitude over time. We performed a test that had 3 intervals, in which we monitored the response of hydrogels to the changes by changing the amplitudes of deformation with time. The relaxation properties of these hydrogels were studied, which showed significant differences in the behavior of hydrogels in measurements. By these methods, it was found that the structure of hydrogels and concentrations have an influence on relaxation. From the measured results, it was shown that the best relaxing properties have chemically crosslinked polyvinyl alcohol hydrogel, the lowest ability to relax was shown by physico-chemically crosslinked alginate hydrogel. The results from the measured data were finally compared, assessed and commented on the differences between the individual hydrogels.

KLÍČOVÁ SLOVA

hydrogely, reologie, reometrie, tixotropie, relaxace, oscilační testy, agaróza, polyvinylalkohol, alginát, hyaluronan

KEYWORDS

hydrogels, rheology, rheometry, thixotropy, relaxation, oscillation tests, agarose, polyvinyl alcohol, alginate, hyaluronan

CITACE

LORENC, Pavel. *Studium relaxačních vlastností hydrogelů s využitím reologických technik* [online]. Brno, 2020 [cit. 2020-07-28]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/123913>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie materiálů. Vedoucí práce Jiří Smilek.

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 práce a děkana FCH VUT.

.....
Pavel Lorenc

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval především vedoucímu mé bakalářské práce, Ing. Jiřímu Smilkovi, Ph.D., za jeho odborné vedení, cenné rady a čas, který mi věnoval při konzultacích. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Richardu Hegerovi za cenné rady v oblasti reometrických měření a za čas a pomoc při přípravě vzorků na měření a také Ing. Monice Trudičové za cenné rady v oblasti PVA hydrogelů a přípravu vzorků, které byly v této bakalářské práci zpracovány.

OBSAH

1	ÚVOD	6
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	7
2.1	Hydrogely	7
2.1.1	Vlastnosti gelových soustav	7
2.2	Polysacharidy.....	9
2.2.1	Hyaluronan sodný	9
2.2.2	Agaróza	9
2.2.3	Alginát sodný	10
2.3	Polyvinylalkoholový hydrogel	11
2.4	Reologie.....	11
2.5	Tokové vlastnosti.....	12
2.5.1	Newtonské látky	12
2.5.2	Nenewtonské látky	13
2.5.3	Časově viskózně závislé látky	15
2.6	Oscilační vlastnosti.....	16
2.6.1	Viskózní látky	16
2.6.2	Elastické látky	16
2.6.3	Viskoelastické látky	16
2.7	Reometrie.....	18
2.7.1	Reometr	18
2.7.2	Typy měřících geometrií	18
2.7.3	Problémy při měření.....	20
2.7.4	Reologické testy	20
3	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	24
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	30
4.1	Použité chemikálie.....	30
4.2	Použité přístroje.....	30
4.3	Příprava hydrogelů	31
4.3.1	Příprava agarózových hydrogelů.....	31
4.3.2.	Příprava alginátových hydrogelů.....	31
4.3.3.	Příprava PVA hydrogelů	31
4.3.4.	Příprava hydrogelů z hyaluronanu sodného	32

4.4	Reologické testy	32
4.4.1	Amplitudový test	32
4.4.2	Frekvenční test	32
4.4.3	Tříintervalové tixotropní testy v oscilačním módu (3 ITT)	33
4.4.4	Problémy	33
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	34
5.1	Příprava hydrogelů	34
5.1.1	Agaróza	34
5.1.2	Alginát sodný	34
5.1.3	Polyvinylalkohol	34
5.1.4	Hyaluronan sodný	34
5.2	Oscilační měření	34
5.2.1	Amplitudový test	34
5.2.2	Frekvenční test	41
5.2.3	3 ITT test	45
6	ZÁVĚR.....	55
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	56
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	60
8.1	Použité zkratky	60
8.2	Použité symboly	60

1 ÚVOD

Svým reologickým chováním spadají hydrogely do skupiny viskoelastických materiálů, protože jejich vlastnosti spojují vlastnosti viskózních i elastických materiálů. Jejich trojrozměrná síť má hydrofilní charakter a je tvořena disperzními částicemi a disperzním prostředím, přičemž disperzní prostředí, které tvoří voda, může tvořit až 99 hm. %.

V současné době se oblast výzkumu hydrogelů značně rozrůstá, přičemž důvodem tohoto rozmachu je, že množstvím disperzního podílu lze dobře modulovat transportní, mechanické, resp. viskoelastické vlastnosti hydrogelových systémů. Tyto materiály díky svým jedinečným biologickým, mechanickým a chemickým vlastnostem nacházejí široké uplatnění v mnoha oborech vědy, nově hlavně v biomedicínských aplikacích a tkáňovém inženýrství. Dalo by se tedy říct, že hydrogely jsou a budou jedním z materiálů budoucnosti.

Stanovit relaxační vlastnosti hydrogelových systémů je však poměrně složité. Mnohdy již existující metody nedosahují požadovaných výsledků z hlediska reprodukovatelnosti. Cílem této bakalářské práce bylo připravit a změřit relaxační vlastnosti různých typů hydrogelových materiálů za pomoci reologických technik. V teoretické části byla vypracována rešerše se zaměřením na měření relaxačních a viskoelastických vlastností hydrogelových materiálů pomocí reologických technik a uvedení do problematiky měření na reometru. Byly navrženy a vyzkoušeny metody měření mechanických vlastností gelů při jejich mechanickém namáhání, pomocí oscilačních testů, jež se pro výzkum v této oblasti používají. Při měření rovněž došlo k optimalizaci použitých testovacích metod, vzhledem k vlastnostem daných gelů a byly hodnoceny relaxační vlastnosti hydrogelů v závislosti na odezvu mechanického namáhání.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Hydrogely

Z obecné definice je hydrogel disperzní koloidní systém, kde jsou disperzní částice spojeny do trojrozměrné sítě, která je propletena celým disperzním prostředím. Velikost dispergovaných částic je mezi 1 nm a 1000 nm. Koloidní systém není pravý roztok (např. roztok chloridu sodného ve vodě), ale nejedná se ani o suspenzi (např. směs vody a písku), neboť nedochází k usazování dispergované fáze. Hydrogely obsahují ve své struktuře velké množství vody coby disperzního podílu, chovají se jako viskoelastické látky s převahou elastické složky, kdy pevná fáze tvoří nepatrné množství z celkového objemu hydrogelu. Ačkoliv obsahují vysoké procento vody, jsou schopny držet svůj tvar, což je charakteristické pro pevné látky. Pokud se k vytvoření sítě využije látka hydrofilní povahy, struktura bude obsahovat právě vodu. Přirozeně se hydrogely vyskytují jako polymerní sítě (kolagen, želatina) nebo se uměle syntetizují (hydrogely vyrobené z kyseliny akrylové) [1].

Hydrogely mohou měnit svůj objem v závislosti na změně prostředí, kdy tuto změnu může způsobit změna teploty, pH nebo iontové síly. Pokud nedojde k nevratným chemickým změnám, zvýšení teploty obvykle zabraňuje vzniku gelu, protože roste intenzita tepelného pohybu jednotlivých částí a v důsledku toho klesá i počet a doba trvání vazeb mezi makromolekulami. Naproti tomu snížení teploty zpravidla podporuje tvorbu gelu. Vzrůst koncentrace napomáhá gelaci vysokomolekulárních roztoků vlivem zvýšení četnosti srážek makromolekul nebo jejich částí a zvětšuje se počet vazeb, které se vytvářejí. Pokud je tvar makromolekul protáhlý, může docházet k tvorbě gelu i ve velmi zředěných roztocích. Na gelační schopnost vodných roztoků amfoterních vysokomolekulárních elektrolytů (např. bílkovin) má výrazný vliv pH roztoku. Gelace probíhá nejlépe při hodnotě pH odpovídající izoelektrickému bodu [1, 2].

Díky dobré biokompatibilitě a jedinečným biologickým vlastnostem jsou hydrogely hojně používány v medicíně. Nejčastější zaměření je na biologicky odbouratelné hydrogely, které se v současné době používají jako tzv. „*skafoldy*“ v tkáňovém inženýrství. Při aplikacích se využívá možnosti řízené biodegradability těchto materiálů. Aktuálně se hydrogely používají v biomedicíně pro výrobu kontaktních čoček, v tkáňovém inženýrství pro umělé chrupavky či kosti nebo jako nosiče léčiv s řízeným uvolňováním [3].

2.1.1 Vlastnosti gelových soustav

Ačkoliv je disperzní prostředí hydrogelů kapalné, díky svému uspořádání vykazují hydrogely řadu mechanických vlastností, které jsou charakteristické pro tuhý stav. Až do určité hodnoty smykového napětí (hodnota kritického napětí) se gel chová jako tuhé elastické těleso a napětí odolává. Tato hodnota závisí na koncentraci a pevnosti uzlů v zesíťované struktuře hydrogelu. Řetězce fyzikálních hydrogelů nejsou síťovány kovalentními vazbami, v důsledku čehož vykazují nižší komplexní viskozitu než hydrogely chemicky zesíťované. Komplexní viskozita zahrnuje elastickou i viskózní složku do jednoho parametru, přičemž její absolutní hodnota vyjadřuje odolnost studovaného materiálu. Extrémně vysokou komplexní viskozitu můžeme pozorovat u plně síťovaných hydrogelů (alginátové hydrogely).

$$\eta^* = \frac{[G'^2 \cdot G''^2]^{\frac{1}{2}}}{\omega} \quad (1)$$

Kde η^* je komplexní viskozita, G' je paměťový modul a G'' je ztrátový modul a ω značí úhlovou frekvenci [1, 2].

Obecně platí, že s rostoucí délkou řetězců a zvyšující se koncentrací u hydrogelu roste i jeho viskozita, což může způsobit potíže při přípravě, manipulaci a zpracovatelnosti takového materiálu. Hydrogely s kovalentními vazbami, které obsahují v jednotce objemu malý počet vazeb, jsou obvykle velmi elastické. Čím více je vazeb ve struktuře, tím menší je možnost změny tvaru makromolekuly a tím rigidnější je vzniklá prostorová síť [1].

2.1.1.1 Reverzibilní hydrogely

Reverzibilní hydrogely jsou hydrogely, které při vysoušení zmenšují svůj objem a vytvářejí kompaktní suché sítě (xerogely). Tyto xerogely ale mají schopnost přecházet do původního stavu hydrogelu po přidání disperzního prostředí. Tento proces se nazývá botnání [1, 2].

2.1.1.2 Ireverzibilní hydrogely

Ireverzibilní hydrogely oproti reverzibilním ve vysušeném stavu mají přibližně stejný objem jako původní gely. Struktura je pak schopna absorbovat pouze omezené množství disperzního prostředí. Vysoušení těchto hydrogelů je tedy nevratný proces. Ireverzibilní gely nejčastěji vznikají gelací lyofobních solů [1, 2].

2.1.1.3 Synereze

Synereze, jinak také stárnutí hydrogelu, probíhá především u nově připravených gelů (reverzibilních i ireverzibilních). Smršťováním síťovité struktury gelu dochází k samovolnému vytékání disperzního prostředí z hydrogelu, což zapříčiňuje rostoucí počet styčných bodů v síti hydrogelu. Struktura hydrogelu se smršťuje a dochází k vytlačování přebytečné kapaliny (disperzního prostředí), která nebyla do struktury gelu zabudována. Zvýšení teploty a u některých gelů i přidavek elektrolytu ovlivňuje synerezi [4].

2.1.1.4 Anizotropie gelů

Nerovnoměrná deformace (při tvorbě) nebo nerovnoměrná objemová kontrakce (při vysoušení) patří k hlavním příčinám anizotropie uměle připravených hydrogelů. Výsledné vlastnosti způsobené smršťováním při sušení, roztažností při botnání, ale také optické a mechanické vlastnosti jsou v různých směrech různé. Anizotropie je dána podmínkami tvorby hydrogelů a vykazuje ji i většina hydrogelů vyskytujících se v živočišných tělech nebo rostlinách [1, 4].

2.1.1.5 Tixotropie

Hydrogely s fyzikálními vazbami (reverzibilní i ireverzibilní) se často vyznačují tixotropními vlastnostmi. Principem tohoto jevu je obnovování původních struktur, což vede ke snížení viskozity. Jestliže se původní částice disperzního prostředí do síťované struktury vážou pomocí velmi slabých sil, je možné hydrogel vlivem namáhání převést opět do stavu solu. Mechanickými účinky dojde ke zrušení slabých vazeb mezi částicemi. Necháme-li stát tekutý sol v klidu, začnou se vazby mezi částicemi obnovovat, a dojde opět ke zgelování tohoto

systému. Viskozita tedy klesá a roste elasticita (probíhá relaxace) [1, 5].

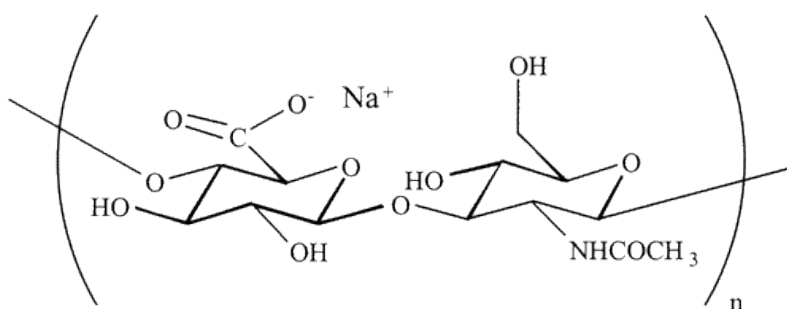
2.1.1.6 Reopexie

Jedná se o opačný proces k tixotropii. Při stálé smykové rychlosti se zvyšuje zdánlivá viskozita. Tento průběh toku je také reverzibilní a po nějaké době ponechání v klidu dojde k obnovení původní viskozity. Sledování reopektických vlastností je méně časté než tixotropie [1].

2.2 Polysacharidy

2.2.1 Hyaluronan sodný

Kyselina hyaluronová je polysacharid složený z opakujících se disacharidových jednotek, tvořených kyselinou D-glukuronovou a N-acetyl-D-glukosaminem, spojených střídajícími se β -1,4 a β -1,3 glykosidickými vazbami. Běžně se v těle vyskytuje ve formě sodné nebo draselné soli (hyaluronanu). Je to tělu vlastní látka, která se nachází v synoviální tekutině, mezibuněčné hmotě nebo v kůži. V pevném stavu se vyskytuje ve formě bílého prášku a má schopnost vytvářet viskózní roztoky [6].

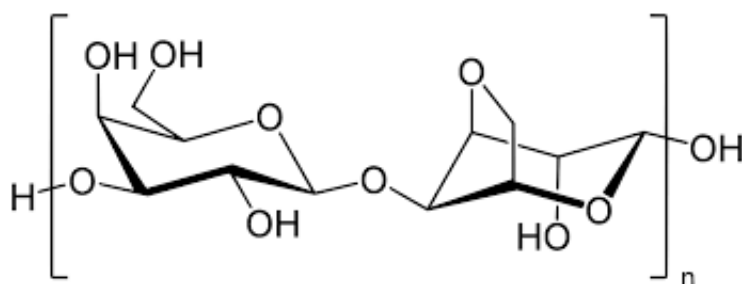


Obr. č. 1: Struktura hyaluronanu sodného **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.** [7]

Po reakci se síťovacím činidlem tvoří hyaluronan sodný hygroscopické hydrogely. V roztoku jsou lineární polymerní řetězce kyseliny hyaluronové běžně uspořádané do tvaru klubka, což vede k jejím neobvyklým vlastnostem. Z hlediska reologie se vodný roztok hyaluronanu sodného chová jako pseudoplastický materiál, kdy viskozita klesá s rychlostí deformace. Vzhledem k tomu, že kyselina hyaluronová vykazuje hygroscopické vlastnosti a je to tělu vlastní látka (chrupavky, kůže, oční sklivec) má velmi široké uplatnění [8]. V kosmetickém průmyslu, se používá jako součást hydratačních krémů a také krémů na vyhlazování vrásek. V medicíně se používá jako látka podporující hojení ran, jako lubrikant a zvlhčovač oka nebo přípravek pro cílenou distribuci léčiv pro léčbu rakovinotvorných buněk [9].

2.2.2 Agaróza

Agaróza je lineární polysacharid získávaný z červených a hnědých mořských řas, jehož základní strukturní jednotku tvoří D-Galaktóza a 3,6-anhydro-L-galaktóza. Agaróza nemá náboj, díky čemuž se využívá jako inertní nereaktivní nosič pro další látky. Za laboratorní teploty je agaróza ve vodě nerozpustná a při změně teploty v určitém rozsahu vykazuje hysterezi (rozdílná teplota bodu gelace a bodu tání), jde tedy o tzv. termoreverzibilní polysacharid [10].



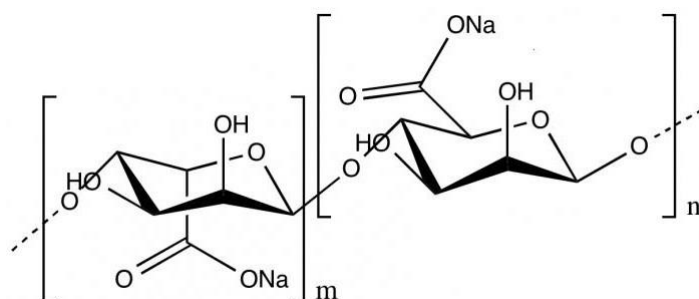
Obr. č. 2: Struktura agarózy [11]

Další důležitou vlastností všech hydrogelů je pórovitost. Struktura agarózy se skládá z řetězců a mezer, tzv. pórů. U agarózy ji lze jednoduše ovlivnit koncentrací disperzního podílu (pevného podílu). Čím vyšší je disperzní podíl, tím nižší je pak pórovitost. Velikost, tvar a uspořádání pórů ovlivňuje fyzikální a chemické vlastnosti těchto gelů.

Pórovitost agarózových gelů pak určuje, množství specifického léčiva, které může být nanášeno hydrogelem, nebo odolnost gelu spojenou s mechanickou zátěží. Své uplatnění agaróza nachází v analytické chemii jako stacionární fáze v gelové permeační chromatografii nebo jako nosič elektricky nabitých molekul u gelové elektroforézy. Studium agarózy se také zabývá fyzikální chemie, protože agaróza má velmi nízkou afinitu k interakcím se studovanými materiály, lze s její pomocí studovat látky obsažené ve struktuře hydrogelu. Svou podobností s živou tkání a extracelulární matricí usnadňuje aplikaci agarózového hydrogelu v nových biomedicínských technologiích. Agarózové gely se používají například k zapouzdření léčiv a k simulaci tkání [12 – 14].

2.2.3 Alginát sodný

Alginát sodný, je polysacharid, který je získáván z buněčných stěn hnědých řas. Alginát je ve vodě rozpustná látka tvořící hydrogely. Skládá se z kyseliny β -D-manuronové (M) a kyseliny α -L-guluronové (G). Bloky v řetězci tvořené těmito monomery mohou být uspořádány buďto jako homopolymerní bloky (MM, GG) nebo střídající se bloky M a G, poměr M/G pak určuje výsledné vlastnosti hydrogelu. Alginátové hydrogely se připravují různými způsoby síťování molekul. Iontové zesíťování, kdy se do připraveného roztoku přidává například kation Ca^{2+} nebo Al^{3+} a tvoří se tak struktura gelu. Kovalentní zesíťování (chemické) za použití poly(ethylenglykol) diaminu, kdy výsledné gely jsou elastičtější než při fyzikálním síťování [15].



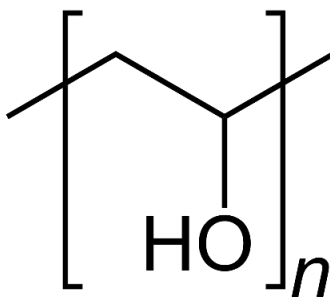
Obr. č. 3 Struktura alginátu sodného [16]

Zvýšení molekulové hmotnosti alginátu může zlepšit mechanické vlastnosti výsledných hydrogelů. Kdy vlivem většího zesíťování výsledný hydrogel vykazuje větší tuhost. Hydrogely alginátu se využívají ve farmaceutickém průmyslu jako nosiče léčiv pro uvolňování léků

a proteinů a v tkáňovém inženýrství jako tzv. „scaffoldy“ pro regeneraci chrupavek, kostí a měkkých tkání. Velké využití nachází díky svým příznivým vlastnostem, jako jsou biokompatibilita, malá toxicita a snadnost tvorby gelové struktury. Používá se k zapouzdřování látek do struktury (nosiče léčiv), které se následně vlivem mechanického namáhání nebo stárnutí gelu uvolňují ze struktury spolu s disperzním prostředím [17].

2.3 Polyvinylalkoholový hydrogel

Polyvinylalkohol (PVA) je syntetický, biokompatibilní, ve vodě rozpustný polymer, který díky svým dobrým fyzikálním vlastnostem (elasticita, relaxační vlastnosti) nachází široké uplatnění ve farmaceutických a biomedicínských aplikacích. Pro biomedicínské aplikace se využívá fyzikální zesíťování (metodou zmrazování a rozmrazování), které má výhodu v tom, že nezanechává zbytkové množství toxických zesíťujících činidel. Dosahuje také vyšších a laditelnějších mechanických vlastností než polyvinylalkoholové hydrogely zesíťené chemickými nebo fotochemicky. Polyvinylalkohol je hydrofilní polymer, který může být přeměněn na pevný hydrogel fyzikálním zesíťováním pomocí nízkoteplotního tepelného cyklování, kdy jakožto polymerní materiál vykazuje výsledný hydrogel izotropní vlastnosti, oproti měkkým tkáním, které mají vlastnosti anizotropní [18, 19].



Obr. č. 4: Struktura polyvinylalkoholu [20]

Polyvinylalkoholový hydrogel se využívá jako materiál pro výrobu různých systémů pro distribuci léčiv, jako jsou kontaktní čočky, oční filmy, nanočástice, cílené dodávání léčiva, a teplotně citlivá léčiva. Také se používá v biomedicínském oboru pro výrobu různých tkáňových štěpů, jako je kardiovaskulární štěp, kostní tkáňové scaffoldy, umělá kůže, umělé kloubní chrupavky, rekonstrukce hlasivek nebo buněčné scaffoldy. PVA se také používá v biomedicínských aplikacích, jako jsou umělé svaly, membrány citlivé na pH, umělý meniskus a umělé membrány pro difúzní studie [19, 21].

2.4 Reologie

Reologie je multidisciplinární vědní obor, který se zabývá studiem toku a deformací materiálu působením vnějších sil. Jde tedy o studium toku a deformace hmoty, která popisuje vztah mezi silou, deformací a časem.

Pokud ovšem vycházíme z definice, nesledujeme pouze deformaci pevných materiálů nebo tok tekutých materiálů, ale můžeme sledovat také chování komplexních viskoelastických materiálů (např. hydrogely). Viskoelastické materiály, které reagují na vnější sílu, deformaci nebo změnu času mohou vykazovat jak vlastnosti pevných látek, tak kapalin.

Podle mechanických vlastností materiálů rozlišujeme tři základní skupenství, pevné, kapalné a plynné. Ideálními příklady jsou v tomto případě nevazký plyn, nestlačitelná vazká newtonská

kapalina a izotropní pružné těleso. Limitními případy jsou ideální (newtonská) kapalina s nulovou viskozitou a ideální tuhé těleso s nekonečně velkým modulem pružnosti. Tyto limitní případy jsou však pouze ideálními případy a žádný z reálných materiálů se nechová ideálně [1, 5].

Reálné materiály v sobě kombinují všechny předešlé případy, obsahují tedy jak elastickou, tak viskózní složku. Charakter materiálu tedy určuje, zda převládá elastická nebo viskózní složka. Jestliže deformace, nastalá účinkem vnější síly, zcela vymizí po jejím odstranění, jde o elastické chování látky (tuhé látky). Energie použitá na deformaci je uložena do struktury látky a po odstranění vnější síly (relaxaci) je vynaložena ve formě práce na uvedení látky do původního stavu. Pokud se tečení, způsobené vlivem vnější síly, po odstranění vnější síly zastaví, jde o viskózní chování charakteristické pro jednoduché tekutiny. Energie vynaložená na deformaci se disipuje ve formě tepla [24].

Chování reálných systémů v závislosti na odezvě na napětí spojuje elastickou i viskózní složku, přičemž převažující charakter záleží na době a intenzitě působící síly. Můžeme tedy mluvit o systémech viskoelastických, což jsou koloidně disperzní systémy, jako například gely. Pro měření viskoelastických vlastností pak používáme přístroj reometr [22].

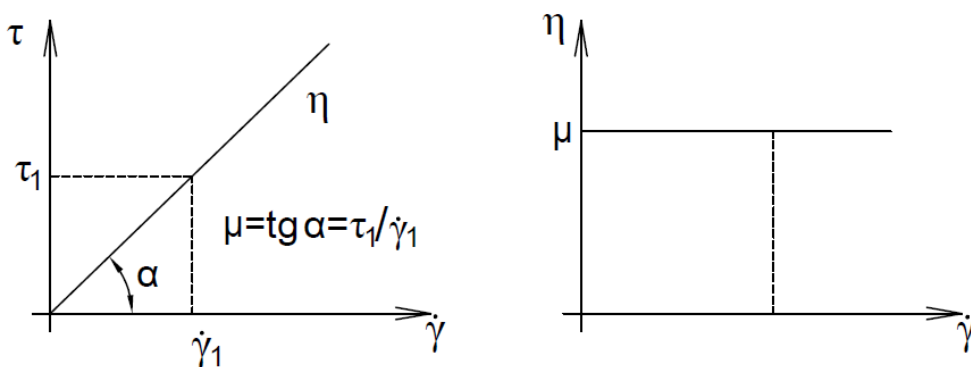
V současnosti se reologie využívá ve výzkumu biomateriálů při deformaci tkáňových a orgánových struktur a jejich průběhu v čase, aby se zjistily odezvy na vnější mechanické zatížení. Tyto informace o reologických vlastnostech se pak mohou aplikovat při vývoji nových biomateriálů [23].

2.5 Tokové vlastnosti

2.5.1 Newtonské látky

Kapaliny, u nichž platí Newtonův zákon, označujeme jako newtonské kapaliny. Tyto kapaliny se za stálé teploty a tlaku chovají tak, že viskozita je nezávislá na smykové rychlosti. S rostoucí smykovou rychlostí roste i smykové napětí, přičemž viskozita je směrnice růstu této závislosti, kde viskozita je časově nezávislá [1].

Graficky můžeme newtonovské kapaliny vyjádřit pomocí tokové křivky, kdy průběh je lineární a narůstá pod úhlem α nebo pomocí viskozitní křivky, která znázorňuje konstantní hodnotu viskozity nezávislou na aplikované smykové rychlosti [24].



Obr. č. 5 Toková a viskozitní křivka newtonské kapaliny [25]

V případě ideálně viskózní kapaliny platí pro smykové napětí klasický Newtonův zákon.

$$\tau = \eta \cdot \frac{du}{dx} = \eta \cdot \dot{\gamma} \quad (2)$$

kde τ je smykové napětí, du je vzájemná rychlost pohybu smykových rovin vzdálených o dx a smyková rychlost $\dot{\gamma}$ (s^{-1}), která charakterizuje tvarové změny v proudící tekutině. Součinitel η (Pa·s) udává dynamickou viskozitu, která charakterizuje vnitřní tření newtonské kapaliny.

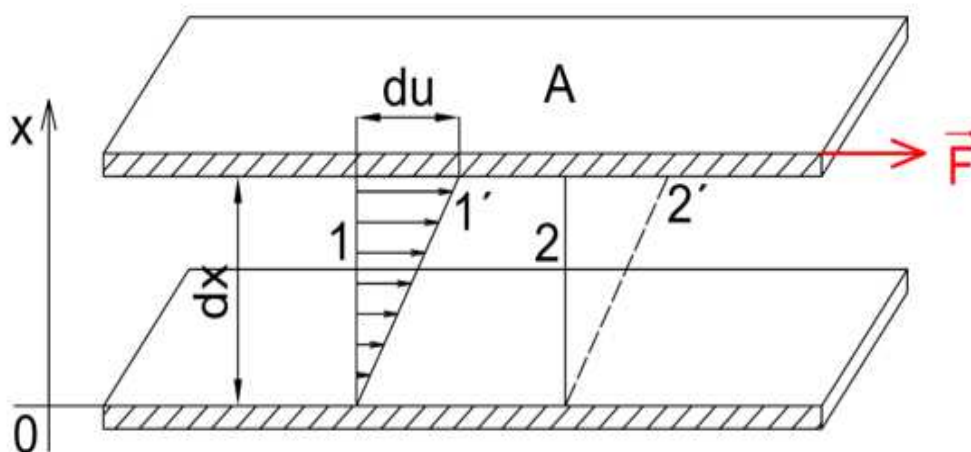
Odpor materiálu vůči deformaci se vyjadřuje jako smykové napětí:

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

Smykové napětí τ (Pa), které vzniká v důsledku posouvající síly F po jednotkové ploše S konstantní rychlostí. Odpověď na toto smykové napětí je relativní deformace γ (s^{-1}):

$$\gamma = \frac{du}{dx} \quad (4)$$

kde du je délka vychýlení horní desky vůči spodní a dx je vzdálenost mezi deskami [1, 24].



Obr. č. 6 Model dvou paralelních desek pro smykovou deformaci [24]

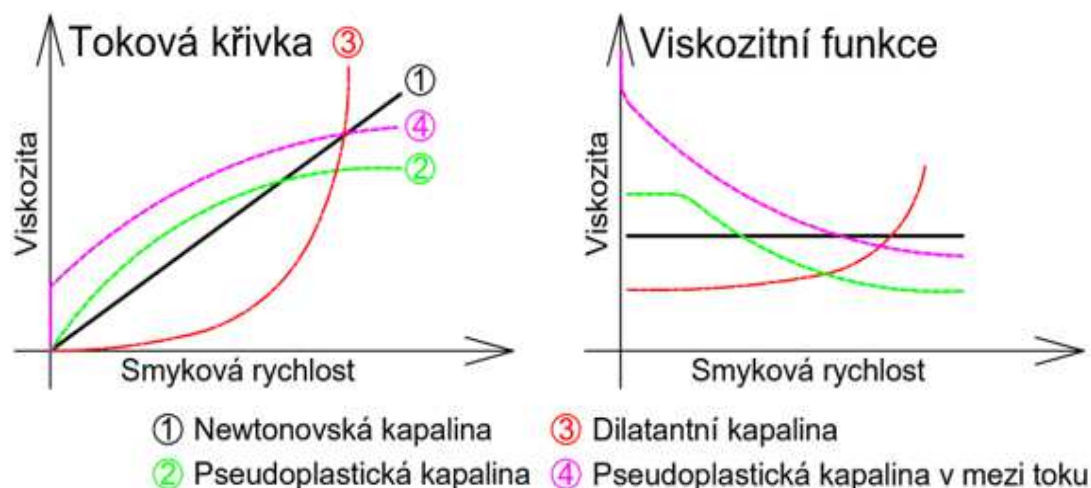
2.5.2 Nenewtonské látky

Tyto látky jsou reologicky složitější a neřídí se Newtonovým zákonem. Platí pro ně analogicky s Newtonovým zákonem rovnice:

$$\tau = \eta_0 \cdot \dot{\gamma}$$

kde η_0 je tzv. zdánlivá viskozita, která není látkovou konstantou, ale závisí na tečném napětí τ a na smykové rychlosti $\dot{\gamma}$

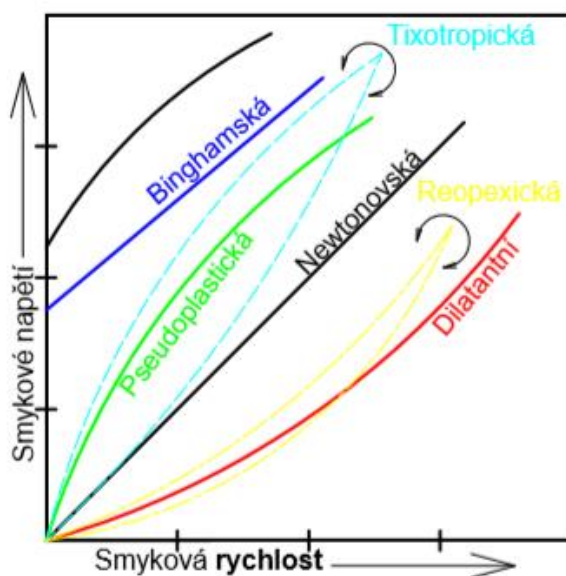
Tokové a viskozitní křivky znázorňují změnu viskozity (toku) na deformaci. Přehled vybraných tokových a viskozitních křivek zobrazuje Obr. č. 7.



Obr. č. 7: Tokové křivky a viskozitní funkce vybraných kapalin [5]

Pro nenewtonské tekutiny není zdánlivá viskozita konstantou, ale proměnnou veličinou. Také zdánlivá, ani diferenciální viskozita nejsou pro nenewtonské tekutiny konstantní, a proto se pro fyzikální hodnocení těchto tekutin používají závislosti smykového napětí na gradientu rychlosti, které jsou vyjádřeny pomocí tzv. reologických modelů.

Na dalším obrázku pak můžeme vidět ukázky reogramů a závislostí smykového napětí na gradientu smykové rychlosti některých nenewtonských tekutin [24].



Obr. č. 8: Základní typy reologických modelů látek jako závislost smykové rychlosti a smykového napětí.[5]

2.5.2.1 Pseudoplastické kapaliny

Jsou to kapaliny, jejichž zdánlivá viskozita klesá s rostoucím gradientem rychlosti $\dot{\gamma}$. Můžeme je dále dělit na pravé pseudoplastické kapaliny (viskozita je závislá na $\dot{\gamma}$ v celém rozsahu) a strukturně viskózní kapaliny, které mají dvě limitní hodnoty zdánlivé viskozity. Využití klesající viskozity s rostoucím gradientem se dá využít například při přepravě, kdy se viskózní přepravovaná látka míchá za účelem snížení viskozity a tím pádem menší energetické náročnosti transportu [1, 24].

Hypotéza pseudoplastického chování předpokládá, že změna struktury nastane okamžitě, jakmile začne působit smykové napětí. To je způsobeno existencí asociačních struktur, což je přechod ke spojitě síti hydrogelu. Jde vlastně o to, že při ponechání v klidu tyto látky mají tendenci ke gelovatění. Asociační struktury vlivem tepelného pohybu opakovaně vznikají a zanikají, proto pseudoplastické tekutiny tečou, aplikujeme-li napětí. Se vzrůstajícím smykovým napětím se tyto struktury rozbíjejí a v roztoku se zmenšuje počet přechodných asociačních spojů, což zapříčiňuje snížení viskozity roztoku. Oproti newtonským kapalinám to potvrzuje i rychlejší pokles viskozity s teplotou, způsobený tím, že se vzrůstající smykovou rychlostí klesá počet asociačních spojů. Jedná se např. o roztoky a taveniny polymerů, mýdel a detergentů [5, 24].

2.5.2.2 Dilatantní kapaliny

Dilatantní kapaliny, jsou kapaliny, u kterých zdánlivá viskozita roste v závislosti na rostoucím gradientu smykové rychlosti $\dot{\gamma}$. Při malém napětí se chovají jako newtonské kapaliny, při zvýšení působící síly dojde ke zvýšení viskozity, gradient rychlosti se již při dalším zvyšování prakticky nemění. Dilatace je nežádoucí proces, snažíme se ji, pokud možno, potlačit. Dilatantní chování vykazují například rozpouštědla barev a koncentrované škrobové suspenze [5, 24].

2.5.2.3 Binghamské kapaliny

Kapaliny, které tečou až při dosažení určité meze toku působením napětí. Tyto kapaliny vykazují určitou mez toku τ_0 . Po přidání malého napětí se látky chovají jako tuhá tělesa a deformují se jen elasticky (nedochází k toku). K rozrušení struktury dojde po překročení prahového smykového napětí tzv. meze toku (kluzu). Rychlostní gradient roste nejprve pomalu, kdy křivka dosáhne bodu zlomu a poté již rychle stoupající přímkové části. Binghamské kapaliny mají plastickou složku deformace. Jedná se např. o průmyslové kaly nebo olejové barvy [5, 24].

2.5.3 Časově viskózně závislé látky

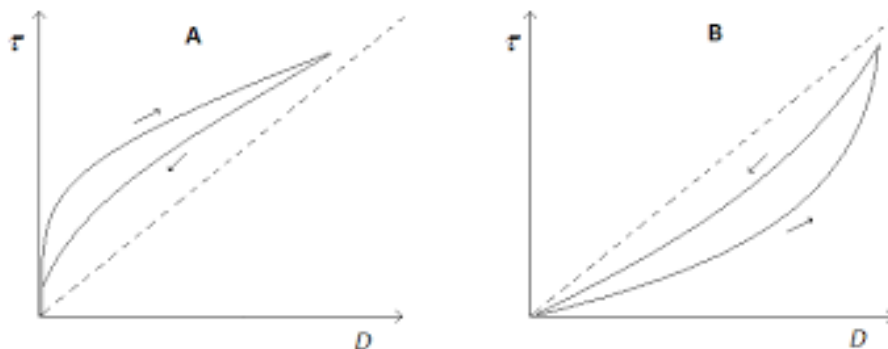
2.5.3.1 Tixotropní látky

Látky, které jeví zpočátku vysokou zdánlivou viskozitu, která s prodlužující se dobou, po kterou jsou vystavovány napětí klesá. Pokud je látka ponechána v klidu, většinou dochází k obnovení původní struktury (pokud není látka namáhána příliš velkou silou) a viskozita tixotropní látky se značně přibližuje k hodnotě viskozity před vystavením napětí. Tyto látky vykazují hysterezní chování, což znamená, že průběh tokové křivky naměřené při postupném zvyšování napětí nemá stejný průběh jako při jeho postupném snižování [1, 24].

Využití tixotropních látek z hlediska jejich relaxace je ve velké míře využíváno při používání barev a laků, kdy tixotropie popisuje jejich roztékání. Barvy s vysokou tixotropií (malá tekutost) volně stékají a relativně rychle se utrhnout, naopak barvy s nízkou tixotropií mají vysokou tažnost a netrhají se. Hlavním požadavkem v tomto případě je, aby barva při natírání byla tekutá a po nanesení rychle ztuhla. Další použití tixotropie je v biomedicínských aplikacích, kdy se vyvíjejí látky např. pro výrobu kostních chrupavek, které budou schopny relaxace po namáhání [22, 26].

2.5.3.2 Reopektické látky

Látky, jejichž zdánlivá viskozita při smykovém namáhání s prodlužující se dobou roste, se nazývají reopektické látky. Pokud je látka ponechána v klidu, tak viskozita postupně opět klesá k původní hodnotě. Toto chování vykazují některé druhy plastů využívané ve stavebnictví, nebo třeba sádra. V porovnání s tixotropií můžeme reopektické chování pozorovat jen velmi omezeně [1, 24].



Obr. č. 9: Tokové křivky pro tixotropní (A) a reopektický (B) systém ve srovnání s newtonskou kapalinou (čárkovaná přímka) [1]

2.6 Oscilační vlastnosti

2.6.1 Viskózní látky

Viskozita je fyzikální vlastnost kapalin, jež udává poměr mezi tečným napětím a změnou rychlosti v závislosti na vzdálenosti mezi sousedními vrstvami proudící kapaliny (viz. rovnice (2)). Viskozita je mírou vnitřního tření při proudění a závisí hlavně na přitažlivých silách mezi částicemi. Ideální kapaliny pak mají hodnotu viskozity nulovou. Dynamická viskozita je látkovou charakteristikou a její hodnota závisí na teplotě a tlaku. U plynů s teplotou roste, u kapalin naopak klesá. Kinematická viskozita je definována jako podíl dynamické viskozity a hustoty. V čistě viskózním materiálu je energie vždy disipována a materiál se tak nevrátí do svého původního tvaru [24, 27].

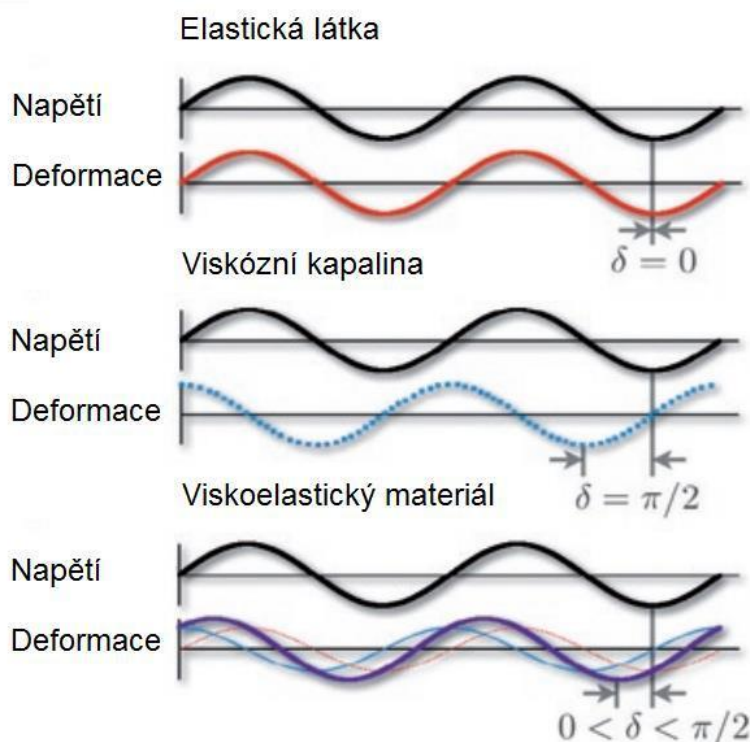
2.6.2 Elastické látky

Elasticita materiálu udává míru náchylnosti pevné látky k návratu do původního stavu po deformaci způsobené vnějším tlakem. U elastického materiálu působením vnějšího napětí dojde k okamžité deformaci. Při udržování zatížení deformace přetrvává, ale po ukončení působení vnějšího napětí se materiál vrací do původního stavu. Elastická deformace se označuje jako vratná deformace. Pokud je materiál pouze viskózní do původního stavu se nikdy nenavrací [24, 27].

2.6.3 Viskoelastické látky

Za viskoelastické látky jsou považovány např. velmi koncentrované suspenze nebo roztoky makromolekul. Viskoelastické látky se za určitých podmínek mohou chovat jako vazké kapaliny za jiných podmínek jako pružná tělesa. Po ukončení namáhání se částečně vrací do původního stavu. U viskoelastických materiálů existuje časová závislost na použitém tlaku, ta ale nemusí být lineární jako u viskózních materiálů nebo konstantní jako u elastických

materiálů.



Obr. č. 10: Závislosti odezvy deformace na napětí u elastických, viskózních a viskoelastických látek [24]

Jak je vidět na obrázku, elastické látky vykazují okamžitou odpověď na působení vnější síly, kdežto látky viskózní reagují s určitým zpožděním. Viskoelastické látky jsou látky, jejichž odpověď na působení vnějších sil je kombinací elastických a viskózních projevů. Reálné systémy, jako jsou například gely, mají komplikované viskoelastické vlastnosti.

Pro sledování viskoelastických vlastností gelů, se nejčastěji používají oscilační testy, tedy test frekvenční a amplitudový. Při amplitudovém testu je nastavená stejná frekvence oscilace senzoru a mění se amplituda deformace. Hlavním úkolem tohoto testu je zjistit, při jaké amplitudě deformace dochází k nevratnému poškození sledovaných vzorků, tedy k nevratnému poškození vazeb tvořících strukturu gelu. Výstupem amplitudového testu je závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace.

Druhým zmiňovaným testem je test frekvenční. Při tomto testu senzor osciluje s definovanou frekvencí, postupně od nejmenší hodnoty po největší, při konstantní amplitudě deformace. Zaznamenávána je závislost viskoelastických modulů na frekvenci oscilace.

$$\operatorname{tg} \delta = \frac{G''}{G'} \quad (5)$$

kde G' označuje elastický modul (paměťový), jež udává schopnost materiálu k návratu do původního stavu, G'' značí viskózní modul (ztrátový), který udává schopnost látky k tečení a $\operatorname{tg} \delta$ je míra vnitřního tření v materiálu (ztrátový úhel). Pokud je výsledný ztrátový úhel větší než 1, lze říct, že vzorek je viskózní (tendence k tečení). Pokud je však podíl modulů menší než 1, převažují elastické vlastnosti (tuhá látka). Reologické vlastnosti můžeme tedy určit z deformace sledovaného vzorku pomocí reometru [27, 28, 30].

2.7 Reometrie

Reometrické měření charakterizují, jak moc je gel „tekutý“ nebo naopak „tuhý“, lépe řečeno, zda struktura viskoelastického gelu vykazuje spíše elastický nebo viskózní charakter. Projevem elasticity je pak zvýšení tzv. elastického (paměťového) modulu G' nad tzv. viskózní (ztrátový) modul G'' , který nám dává informaci o viskózním charakteru chování látky. Prakticky každý reálný materiál je totiž alespoň do určité míry viskoelastický a poměr těchto dvou modulů pak určuje míru převahy elastického charakteru a jeho deformačního chování.

Při popisu reologického chování látek hraje poměrně důležitou roli také bod překřížení modulů tzv. „*cross-over*“. Měřením elastického a viskózního modulu v závislosti na frekvenci oscilací lze stanovit bod překřížení. Jedná se o bod, kdy dochází k protnutí křivek elastického a viskózního modulu, kdy v tomto bodě jsou oba moduly v rovnováze ($G'' = G'$) [22, 29].

2.7.1 Reometr

Reometr je přístroj, který se používá na měření reologických vlastností celé řady materiálů. Pomocí reometru je měřený vzorek deformován buď otáčením rotujícího senzoru, který má tvar např. válce, kuželu, desky nebo oscilačními pohyby senzoru. Rotací senzoru dostáváme informace především o viskozitě a tokových vlastnostech daného vzorku, zatímco o míře elasticity vzorku dostáváme informace oscilací senzoru.

Výsledkem rotačních testů je záznam viskozity v závislosti na smykové rychlosti měřícího senzoru (tzv. viskozitní křivka), přičemž tekutiny, u nichž se viskozita s rostoucí smykovou rychlostí nemění, mají newtonský charakter (viskozita je materiálová konstanta a je neměnná s rostoucí smykovou rychlostí). Řada látek však vykazuje chování nenewtonské, kdy viskozita je zprvu konstantní a vysoká při velmi malých zatíženích. Po zvýšení mechanického napětí pak viskozita velmi rychle klesá (pseudoplastické látky). Nenewtonské látky ovšem mohou vykazovat také zcela opačný charakter, kdy při zvýšení mechanického napětí dochází k nárůstu viskozity (dilatantní látky). Z reologického hlediska jsou gely typickým příkladem tzv. viskoelastických materiálů [22, 29].

2.7.2 Typy měřících geometrií

2.7.2.1 Deska-deska

Systém měření deska-deska se skládá ze dvou paralelních desek. Horní deska je obvykle rotor, a proto je pohyblivá část měřící geometrie („měřící deska“) a spodní deska upevněna na stojanu reometru, která je u většiny reometrů temperována Peltierovou deskou. Geometrie je určena poloměrem desky r (obvykle 25-50 mm). Nevýhodou této geometrie je, že i při konstantních otáčkách se rychlost deformace, při pohledu na celou mezeru desky není konstantní, ale závisí na vzdálenosti r ke středu desky.

To znamená, že existuje rozložení smykové rychlosti závislé na poloměru. Tyto nerovnoměrné, nekonstantní smykové podmínky jsou pro vědecky pracující reology považovány za nevýhodu, zejména při provádění výhradně rotačních experimentů. Tyto experimenty by měly být provedeny s geometrií kuželových desek kvůli výše uvedeným důvodům.

Tato nevýhoda je však při určování konstant lineární viskoelasticity (tj. G' , G'' a η^*) malá, pokud je vzorek analyzován při různých teplotách nebo pokud je vzorek naplněn částicemi

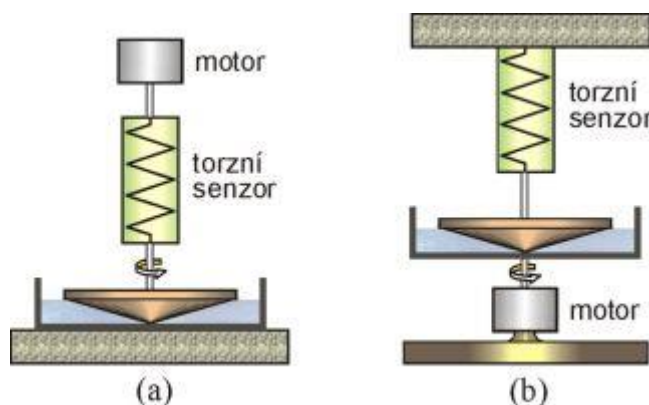
(např. naplněné polymerní taveniny nebo disperze s relativně velkými částicemi). Geometrie ploché desky umožňuje větší mezeru mezi deskami, takže je možné minimalizovat jevy, které negativně ovlivňují naměřené hodnoty, jako je tepelná roztažnost měřicích nástrojů nebo účinky tření v důsledku zabudovaných částic v naplněných systémech [22, 30].



Obr. č. 11: Geometrie používané při měření typu deska-deska [22]

2.7.2.2 Kužel-deska

Měřicí systém s kuželovou deskou se skládá z kulatého měřicího tělesa s mírně nakloněným povrchem (pouze několik stupňů) ve tvaru kužele a pevnou deskou. Obvykle je kuželem rotor, a proto je horní, pohyblivá část měřicí geometrie a spodní deska nepohyblivě upevněna na Peltierově desce, což je deska, která zajišťuje vhodnou teplotu vzorku. Rozměry kuželové plochy jsou určeny poloměrem r kužele a úhlem kužele α . Při tomto geometrickém uspořádání jsou tedy rychlost smykové deformace, a stejně tak smykové napětí, nezávislé na pozici mezi kuželem a deskou [22].

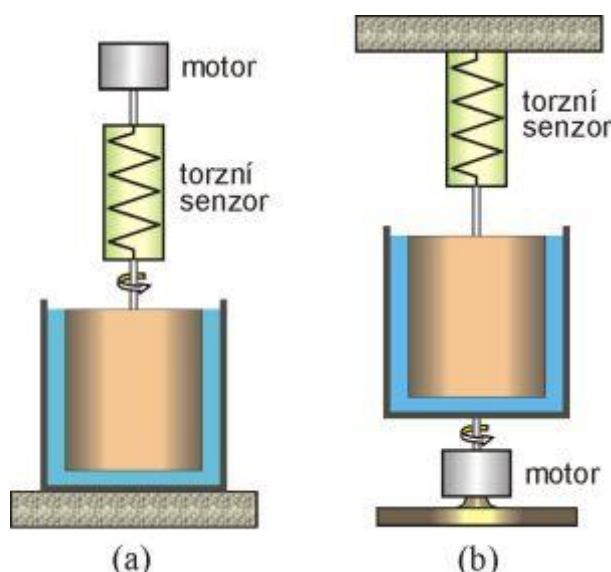


Obr. č. 12: Schéma měřicího systému kužel deska [1]

2.7.2.3 Koaxiální rotační systém

Koaxiální měřicí systémy válců se skládají z měřicího tělesa (vnitřního válce) a odměrky (vnějšího válce). Koaxiální znamená, že obě válcové komponenty jsou umístěny podél jedné identické rotačně symetrické osy, když je systém v pracovní poloze. Tyto měřicí systémy se používají zejména pro studium nízkoviskózních kapalin. V systému Couette se vnější válec

otáčí, zatímco v systému Searle se otáčí vnitřní válec [22, 30].



Obr. č. 13: Schéma koaxiálního rotačního měření, vpravo systém Searle a vlevo systém Couette [1]

2.7.3 Problémy při měření

2.7.3.1 Prokluzování

Během tokových měření mohou mít materiály, jako jsou gely, koncentrované suspenze, či polymerní roztoky tendenci ke skluzu na stěně. Dochází při tom ke změně rychlostního profilu. V této situaci je tedy nezbytné korigovat hodnoty smykové deformace ještě na skluzovou rychlost. Můžeme tak učinit kvantifikací pomocí takzvané Mooneyho metody. Při použití této metody provedeme měření například kapilárním reometrem pro nejméně 3 kapiláry, které mají různý průměr, ale mají stejný poměr L/D (délky a průměru). Látky, které mají pouze jednu tokovou křivku, nevykazují skluz na stěně, látky vykazující tok na stěně dávají různé tokové křivky [22, 31].

2.7.3.2 Disipační teplo

Smykové namáhání může produkovat disipační teplo. Disipační teplo způsobuje zvyšování teploty ve vzorku čili ztrátu energie, která by jinak byla využita na regeneraci. Pochopení mechanismu rozptylu energie během deformace je zásadní pro návrh a použití gelových materiálů. Organické a polymerní materiály mají nízkou teplotní vodivost, což znamená, že snadno dochází ke zvyšování teploty. Zároveň při zvyšování teploty viskozita klesá exponenciálně, což způsobí pokles smykového napětí. Proto je výhodné pokusit se předejít těmto změnám použitím chlazení [32].

2.7.4 Reologické testy

2.7.4.1 Rotační experimenty

Rotační experimenty nabízejí více možností buď přednastavené deformace, nebo deformační rychlosti. V experimentu řízeném deformací je výsledná rychlost deformace přijímána jako odpověď systému, v experimentech řízených deformací se získá výsledné napětí. Rotační experimenty se obvykle provádějí s kuželovou nebo deskovou geometrií. Experimenty se provádějí za účelem zaznamenání tokových křivek (graf τ proti $\dot{\gamma}$) nebo křivek viskozity (graf

η proti γ) [22, 29].

2.7.4.2 Deformace

Deformace tělesa je vlastně změna jeho tvaru působením vnější síly. Přičemž každá látka má schopnost odolávat deformacím. Síly působící na těleso lze rozlišovat podle druhu napětí, které vyvolávají na tahové, tlakové, smykové, ohybové nebo torzní. Mez pevnosti materiálu je zatížení, které po jeho překročení způsobuje destrukci materiálu. Elasticita je schopnost materiálu vrátit se po ukončení namáhání do původního tvaru, naopak plasticita je schopnost materiálu uchovat deformace i po ukončení namáhání.

Působení mechanických sil způsobuje mechanické napětí, které na základě velikosti síly vyvolá dle mechanických vlastností látky příslušnou deformaci. Mez pružnosti pak tvoří hraniční hodnotu napětí, která je přechodem mezi deformacemi vratnými a nevratnými.

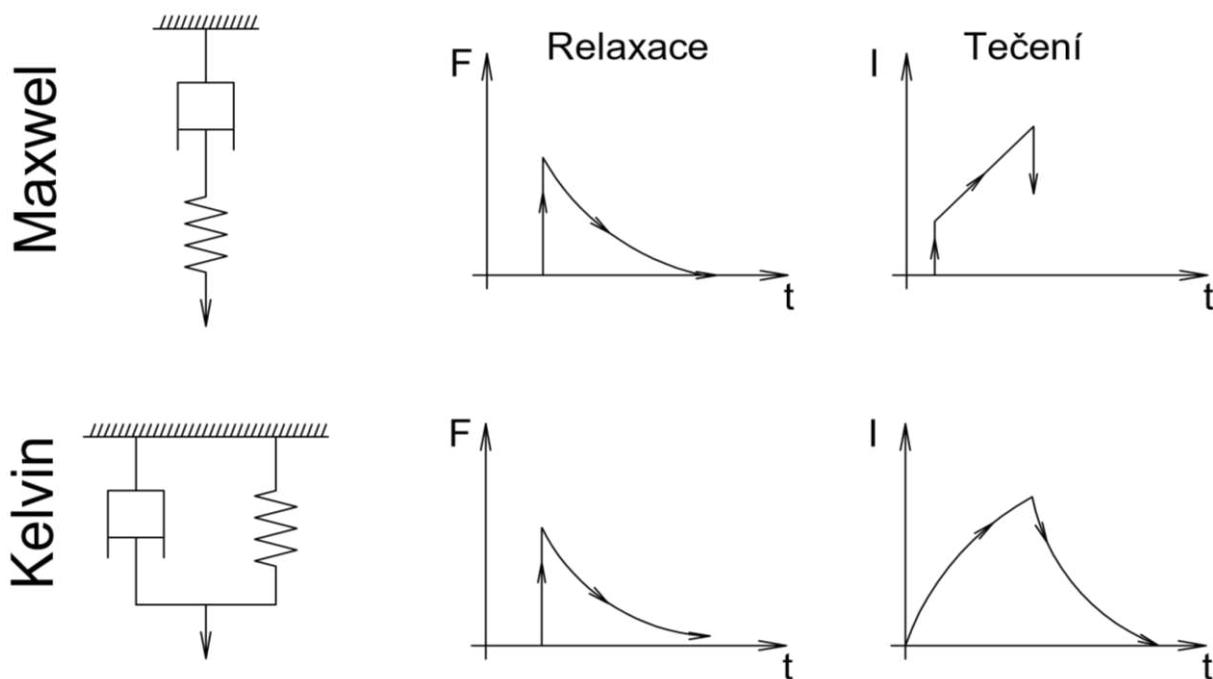
V případě hydrogelu jde vlastně o jakési narušování struktury hydrogelu vnější silou, kdy po ukončení namáhání dochází v gelu k návratu struktur do původní podoby, buďto částečně nebo úplně. Snižování meze pevnosti opakovaným působením vnější zátěže nazýváme mez únavy. Jde o hodnotu mechanického napětí, do kterého je možné materiál zatěžovat neomezeným počtem opakování [22, 29].

2.7.4.3 Relaxační test

Relaxací označujeme pokles potřebné zátěžné síly k udržení vyvolané neměnné deformace materiálu. Popisujeme ji Maxwellovým mechanickým modelem, který tvoří hookovská pružina s elastickým modulem G' a pístem s viskózní kapalinou o viskozitě η . Tento model funguje na principu deformace zatížením, kdy se pružina okamžitě protáhne do rovnovážného stavu a zůstává v něm, se zatížením se začne pohybovat také píst, kdy po určité době je deformace úměrná zatížení. Pružina v tomto případě představuje elasticitu polymeru odpovídající vratné deformaci polymeru. Po ukončení zatížení se píst nevrací, což značí částečnou deformaci sledovaného vzorku, kdežto pružina se vrací okamžitě po ukončení zatížení. Ve struktuře hydrogelu jde právě o již zmiňovaný návrat do původní podoby, ať už částečný nebo celkový. Celková deformace je dána součtem pružné deformace (vratná část deformace) a nepružné (nevratná část deformace). Modelovat tyto projevy můžeme na reologických modelech [22].

2.7.4.4 Creepova poddajnost

Vzorek zatížíme konstantním napětím po delší dobu a následně sledujeme změny ve struktuře hydrogelu. Jedná se o dlouhodobou odezvu viskoelastických materiálů. Aplikujeme vnější sílu, kdy dochází k pozvolné deformaci a změně tvaru hydrogelu. Pozvolný nárůst v průběhu času a trvalá změna tvaru při nezměněných vnějších podmínkách se nazývá tečení neboli „*creep*“. V každé látce se nachází jak pružná, tak viskózní deformace, rozdíly vznikají pouze v rychlosti trvalé deformace. Tekutiny tečou rychleji než pevné látky, sledujeme změnu deformace v závislosti na čase při konstantním napětí [22].



Obr. č. 14: Dva základní modely viskoelastických materiálů – Maxwellův (sériový) Kelvinův (paralelní). Simulace odezvy materiálu (tečení a relaxace) na jednotkovou tlakovou nebo tahovou sílu [34]

2.7.4.5 Frekvenční test

V rámci kmitočtového testu se mění radiální frekvence ω , zatímco amplituda deformace γ_0 se udržuje konstantní, v případě experimentů s řízenou deformací se kmitání řízených deformací a amplituda deformace τ_0 se udržuje konstantní. Co se týče optimálního poměru signálu k šumu, z reogramů dříve provedených amplitudových testů, které jsou právě v lineární viskoelastické oblasti, je zvolena nejvyšší možná deformace nebo amplituda deformace.

Obvykle se měří paměťový modul G' (Pa), ztrátový modul G'' (Pa) a absolutní hodnota komplexní viskozity η^* ve vztahu k radiální frekvenci ω ve dvojitém logaritmickém referenčním rámci, protože funkce reologických hodnot materiálu má oproti radiální frekvenci hodnotu jinou o několik řádů [22, 29].

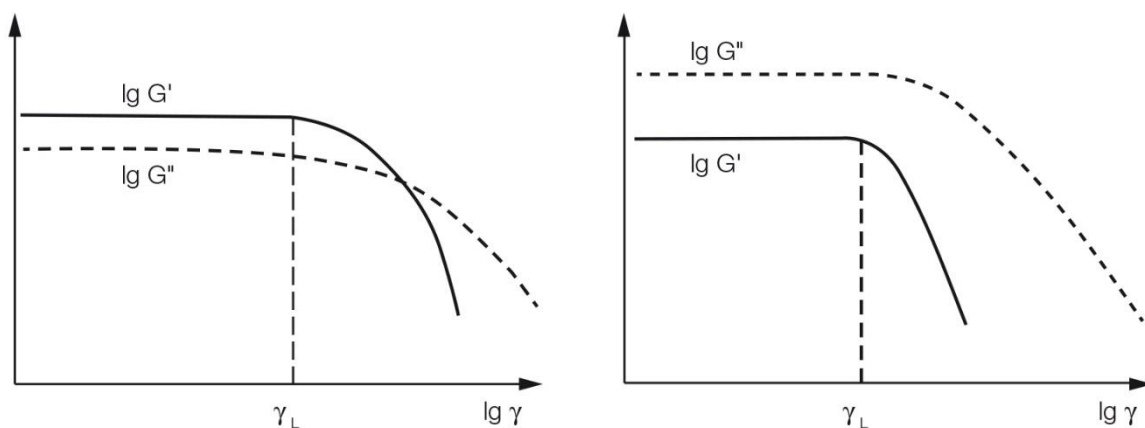
2.7.4.6 Amplitudový test

Během testu amplitudy se udržuje konstantní frekvence a mění se amplituda deformačního signálu nebo signálu napětí, podle toho, jaké provádíme měření. Je zde řízená deformace, či napětí, pokud amplituda není příliš vysoká, funkce reologické materiálové hodnoty (tj. $G'(\omega)$ a $G''(\omega)$) nevykazují žádnou závislost na amplitudě (hodnoty modulů jsou konstantní). Tento rozsah měření se nazývá oblast lineární viskoelastivity (LVO). Jde tedy o oblast, kde je dostatečně malé napětí, aby nedocházelo ke změnám ve vzorku. V tomto rozsahu není klidový stav vzorku narušen.

Počínaje specifickou hodnotou amplitudy, reologické materiálové funkce $G'(\omega)$ a $G''(\omega)$ se snižují s rostoucí amplitudou. V tomto rozsahu platí zákony nelineární viskoelastivity; je narušen klidový stav vzorku. Pro roztoky a taveniny polymerů dochází k rozptýlení spletených molekulárních řetězců.

Pokud je $G' > G''$, tak převažuje elastická složka, což je typické pro pevné, polotuhé a gelovité materiály. Jestliže je $G' < G''$, pak převažuje viskózní složka, což je typické pro

kapaliny, netvořící chemickou ani fyzikální síť. Pokud $G' = G''$, tak to značí, že oba moduly mají stejnou hodnotu a materiál je v bodě gelace, což znamená, že materiál se nachází přesně na pomezí chování kapalina/pevná látka [1, 22, 29].



Obr. č. 15: Přímký modulů G' a G'' , vlevo chování viskoelastické pevné látky, vpravo viskoelastické kapaliny [22]

2.7.4.7 Časový test

Doba cyklu se provádí při konstantní amplitudě γ_0 (smyková deformace) nebo τ_0 (prahové smykové napětí), v daném pořadí a konstantní smykové rychlosti $\dot{\gamma}$. Je pozorováno časově závislé chování funkcí reologické materiálové hodnoty. Změny ve vlastnostech materiálu v průběhu času lze tedy zaznamenat pomocí reologie. Jedním z příkladů je proces zahušťování při výrobě gelů nebo stabilita roztoků polymerů proti gelaci [22].

2.7.4.8 Teplotní test

Aplikuje se teplotní závislost při konstantní úhlové frekvenci a deformaci. Měření závislé na teplotě je znázorněno semilogaritmickým diagramem paměťového a ztrátového modulu jako funkcí teploty. Pomocí teplotního rozmítání může být například stanovena teplota skelného přechodu a teplota krystalizace polymerů. Tato technika se často nazývá dynamická mechanická tepelná analýza (DMTA) [22].

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Zkoumáním chování agarózových hydrogelů se zabýval *Caccavo D a kol. [34]*, který zkoumal hydrogely kvůli jejich zvláštnímu chování, které spojuje hromadný transport rozpouštědla s mechanikou systému a vykazuje viskoelastické a poroelastické vlastnosti (velikost a tvar pórů). Roztoky agarózy byly připraveny přidáním požadovaného množství agarózy do vody, která byla zahřátá na 80 °C, a nepřetržitě míchána, aby se usnadnila disperze práškového agarózy. Roztoky, zpočátku neprůhledné, byly udržovány při teplotě 90 °C po dobu asi 1 hodiny, dokud nebyly zcela čiré. Byly zkoumány různé koncentrace polymeru, až do 4,5 hm % agarózy. Tyto vzorky byly charakterizovány stresově relaxačními testy spojenými s gravimetrickými analýzami, aby se stanovila mechanická odezva spolu s transportem vody a polymeru.

Mechanické zkoušky byly prováděny při pokojové teplotě za použití analyzátoru textury (TA.XT Stable Micro System, UK) vybaveného 5 kg zátěžovou buňkou. Pro zajištění pokrytí celého povrchu gelu byla vybrána hliníková válcová sonda (průměr 30 mm). Počáteční poloha texturové sondy je 15 mm od dna petriho misky. Provedené testy můžeme rozdělit do tří stupňů. První fáze před testem (relaxační a temperační krok), druhá fáze komprese vzorku a třetí fáze relaxace.

Za účelem ověření koncentrace polymerů ve vzorcích gelu, které se mohou lišit od počáteční koncentrace roztoku, byla provedena gravimetrická analýza na různých vzorcích, které byly po jejich výrobě zváženy a sušeny v peci přes noc při 105 °C, aby došlo k úplnému odpaření vody. Potom byly vzorky znovu zváženy a byl vypočten poměr mezi jejich suchou hmotou a jejich počáteční hmotností.

Zkoumáno pak bylo množství vody, které se vlivem aplikovaného napětí uvolnilo ze struktury hydrogelu a také deformační vlastnosti hydrogelu pomocí stresově relaxačních testů. Se zvyšující se koncentrací polymeru se systém stával tužším a reagoval na stejnou deformaci hodnotami napětí, které bylo vyšší až o 10 %. Tento výsledek byl očekávaný, protože zvyšující se množství polymeru v agarózovém hydrogelu (fyzikální hydrogel), může vytvářet více zesíťovaných struktur (vodíkových vazeb), které zpevňují strukturu hydrogelu. Relaxační doba systému, má také tendenci se zvyšovat spolu s koncentrací polymeru, protože hydrogely s více vazbami uvolňují stres pomaleji než gely s méně vazbami.

Bylo prokázáno, že fyzikální hydrogely jsou velmi citlivé na změnu koncentrace, mění stupeň zesíťování, a tedy oba moduly a dobu relaxace struktury. V této práci byl zkoumán hromadný transport vody spojený s mechanikou agarózových hydrogelů experimentálními a modelovacími postupy na základě předpokladů chování hydrogelů. V experimentálním stavu byly ztráty vody a absorpce vody zanedbatelné.

Zjištěná stresová relaxace, která nebyla doprovázena správným uvolňováním vody, byla připisována viskoelastickým jevům. Hydrogely také vykazovaly zvýšení tuhosti a doby relaxace spolu s koncentrací polymeru, což bylo přičítáno přítomnosti vyššího počtu zesíťování ve více polymerech koncentrovaných hydrogelech. Některé z experimentálních výsledků byly použity k odhadu parametrů (elastických modulů a relaxační doby). Kromě toho byly tyto parametry zobecněny a úspěšně použity čistě k predikci chování dalších hydrogelů. Zátěžový relaxační test se ukázal jako jednoduchý a efektivní test charakterizující chování hydrogelů. Tato studie by mohla být použita k popisu chování hydrogelu vystaveného různým podnětům

a stát se užitečným prediktivním nástrojem při navrhování systémů na bázi hydrogelů.

Úplné pochopení tohoto chování je pak zásadní pro správné navrhování takovýchto složitých systémů. V této studii byly agarózové hydrogely zkoumány experimentálními stresově-relaxačními testy a pomocí 3D modelu. Ve zkoumaných experimentálních podmínkách vykazovaly vzorky agarózových hydrogelů převládající viskoelastické chování, které odhalovalo omezený transport vody a zvýšení tuhosti i relaxační doby spolu s koncentrací polymeru. Zátěžové relaxační testy spojené s matematickým modelováním se ukázaly jako dobrý nástroj ke studiu chování hydrogelů a predikci jejich chování.

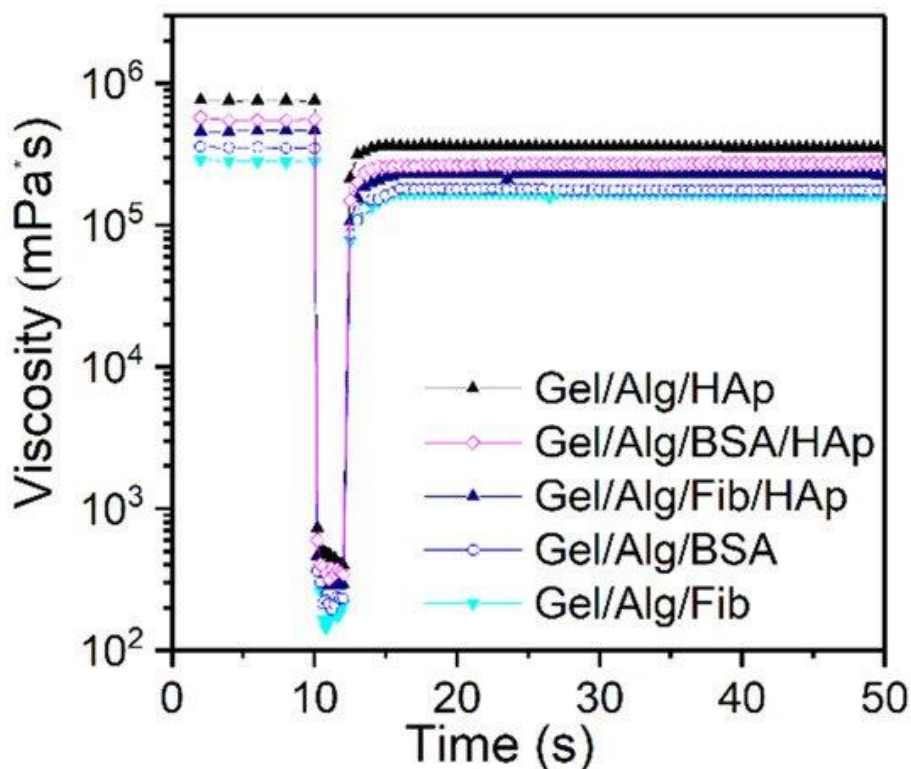
Studie od **Zuidema J. a kol. [35]** nastiňuje přímý postup k přesnému stanovení rovnovážného stavu modulů hydrogelu a času gelace pomocí řady reologických testů. Byly proměřeny hydrogelové systémy používané v tkáňovém inženýrství, agaróza, kolagen, fibrin, Matrigel™ a methylcelulóza. Reologická charakterizace byla provedena na všech vzorcích hydrogelů pomocí reometru TA Instruments AR-G2. Posuzovány byly lineární viskoelastické vlastnosti hydrogelů pomocí oscilačního smykového napětí s malou amplitudou deformace. Popsaný postup by měl poskytnout standardizovaný přístup pro správnou analýzu reologických vlastností hydrogelu.

Prvním krokem byl časový test s libovolnými možnostmi deformace a frekvence. Tento první test poskytoval představu o kinetice gelace pro systém a zajišťoval, že následné testy budou provedeny na plně zgelovatěných vzorcích. Po časovém testu následoval test napětí při amplitudách deformace od 0,1 % do 100 % pro stanovení lineárního viskoelastického limitu a frekvenční test ke stanovení frekvence, která přiměřeně odráží rovnovážný gelový modul. Moduly G'' a G' byly stanoveny při frekvenci od 0,01 Hz do 100 Hz. Nakonec se opakoval časový test s příslušnými hodnotami napětí a frekvence. Poslední časové namáhání tedy vhodně odráželo růst síly a struktury gelu v průběhu tvorby hydrogelu. Ke stanovení nelineárního chování vzorků a pevnosti v lomu mohou být provedeny následné nelineární zkoušky. Časové testy formujícího se hydrogelu je snadné provést, jakmile jsou identifikovány příslušné hodnoty napětí a frekvence, jak je uvedeno výše. Časové testy byly prováděny po dobu 30 minut při 37 °C pro všechny hydrogely s výjimkou agarózy, u které byly prováděny při 10 °C

Dodržením uvedeného postupu jsou zajištěny přesné výsledky při vykazování rovnovážného modulu hydrogelu a doby gelace hydrogelu. Tyto dva rysy jsou nedílnou součástí tkáňového inženýrství, protože implantovaný materiál se musí nejen mechanicky dobře propojit s okolní tkání (moduly hydrogelu v rovnováze), ale musí tak učinit také klinicky relevantním způsobem (doba gelace). Vědci v tkáňovém inženýrství mohou považovat tento postup za užitečný jako první krok ve vývoji hydrogelů s vhodnými mechanickými vlastnostmi pro použití v biomedicínských aplikacích.

Skupina **Rial R. a kol. [36]** za účelem testování tixotropní povahy hydrogelů provedla tři intervalové testy tixotropie (3-ITT). Byly navrženy a charakterizovány různé vícesložkové hydrogely složené ze želatiny, alginátu, hydroxyapatitu a proteinu (BSA a fibrinogen). Test zahrnoval měření materiálové odezvy na změny smykové rychlosti. Nejprve byla po dobu 10 s aplikována konstantní smyková rychlost 0,25 Hz. Poté byla smyková rychlost, po dobu 5 s zvýšena na 1000 Hz. V posledním kroku se smyková rychlost nastavila ještě jednou na 0,25 Hz a udržovala se po dobu 50 s, až do konce zkoušky. Rozdíly ve viskozitě mezi kroky poskytují důležité informace o časově závislém rozpadu struktury a regeneraci vzorků a následně o jejich

tixotropním chování.



Obr. č. 16: Graf závislosti času a viskozity u vzorků hydrogelů (3-ITT test) [36]

Všechna reologická měření byla prováděna na reometru Anton Paar MCR 302. Jako geometrie pro provádění testů byl vybrán systém rovnoběžných desek o průměru 25 mm. Vlhkostní komora a Peltierova deska byly taktéž použity, aby se zabránilo nežádoucímu odvlhčování, respektive ke kontrole teploty. Vzdálenost mezi deskami byla udržována konstantní ve všech experimentech na 0,5 mm. Nakonec, aby se minimalizovaly rozdíly v teplotě a pevnosti, byla před zahájením testu nastavena doba ekvilibrace 5 minut. Následně byla provedena FT-IR analýza pro charakterizaci, stanovení interakcí a strukturálních změn různých složek v gelu.

Analýzou výsledků měření frekvenčního testu lze najít vztah mezi viskoelastickými vlastnostmi filmů a frekvencí. Při teplotě 25 °C vykazují filmy gelové chování, protože paměťový modul je větší než modul ztrátový. Tato podmínka je stejná pro všechny vzorky ve studované frekvenční oblasti. Lze také učinit závěr, že ztrátový a paměťový modul jsou závislé na frekvenci.

Výsledky ukázaly, že k degradaci filmů a uvolňování došlo již ve velmi krátkém časovém období, které má degradaci vyšší než 80 % během prvních 5 hodin, a více než 90 % během jednoho dne u všech pěti vzorků. Tato uvedená degradace byla důsledkem zředění proteinu v médiu, a jelikož koncentrace proteinu v těchto gelech je relativně nízká, dochází k jejich degradaci rychle. Jedním způsobem zpomoždění uvolňování je podpora interakce proteinových ligandů za vzniku supramolekulárních agregátů. Vzorky obsahující jak nanočástice HAp (hydroxyapatit), tak proteiny měly účinek na zpomalení procesu. Tento synergický účinek byl způsoben tvorbou nových vazeb mezi nanočásticemi a proteiny, což mělo za následek zmenšení velikosti pórů zesílení. Navíc, jak se délka pórů zmenšovala, uvolňování proteinu bylo také zpomožděno kvůli nižším rychlostem difúze.

V této studii byly vyvinuty následující mechanicky robustní hydrogelové systémy,

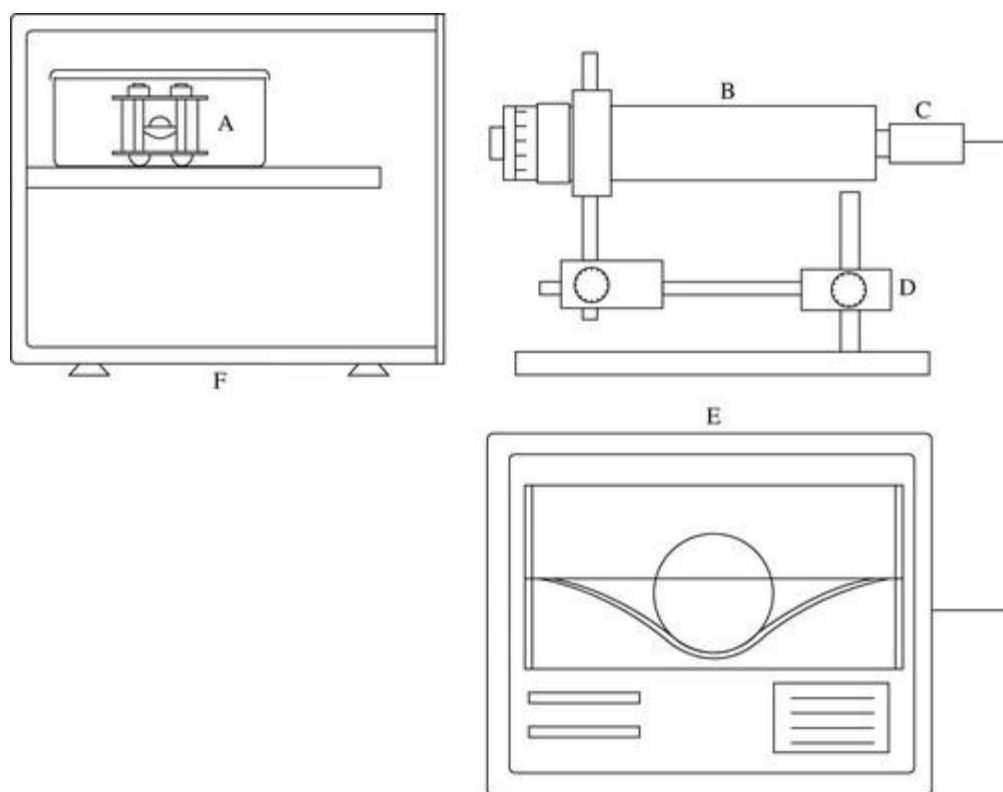
Želatina Alginát HAp	Želatina Alginát Fibrinogen	Želatina Alginát BSA	Želatina Alginát Fibrinogen HAp	Želatina Alginát BSA HAp
----------------------------	-----------------------------------	----------------------------	--	-----------------------------------

Všechny vykazovaly vysoce propojenou síťovou strukturu, což potvrdila FT-IR analýza. Konfokální Ramanova mikroskopie odhalila, že oba proteiny jsou začleněny do struktury, při zachování jeho nativní konformace. Kromě toho přítomnost proteinů přispívá k lepší distribuci alginátu v matrici, což naznačuje, že došlo k další optimalizaci struktury. Přítomnost hydroxyapatitu způsobuje různé morfologické vzorce, zatímco fibrinogenové gely udržují počáteční distribuci, přítomnost BSA homogenizuje mnohem lépe všechny složky (alginát, hydroxyapatit a BSA). Tato skutečnost je přičítána větší flexibilitě BSA, která umožňuje více stupňů volnosti struktury, aby se minimalizovala energie tvorby hydrogelu. Kromě toho hydrogel želatina/Alginát/BSA/HAp vykazoval v průběhu času lepší degradaci a botnění, a to díky lepší distribuci HAp, která díky svým vlastnostem přispívá ke zvýšení absorpce vody.

Reologická analýza odhalila, že chování materiálů odpovídalo materiálům z měkkého skla. Creepova analýza prokázala, že zahrnutí nanočástic posilovalo strukturu gelů, což následně potvrdilo, že po přidání BSA vykazuje lepší reologické chování. Nakonec bylo demonstrováno, že morfologické a mechanické vlastnosti hydrogelů lze snadno ovlivnit zahrnutím několika složek, a tím zajistit lepší vlastnosti v aplikacích inženýrství měkkých tkání.

V předložené studii se *Ahearne M. a kol. [37]* zabývají novou odsazovací metodou pro charakterizaci viskoelastických vlastností alginátových a agarózových hydrogelů, které se často používají jako modelový systém měkkých biologických tkání. Citlivý mikroskop s dlouhou pracovní vzdáleností byl použit pro měření časově závislé deformace tenkých kruhových hydrogelových membrán při konstantním zatížení. Deformace hydrogelů pak byla měřena laterálně. Elastický modul jako funkci času lze určit velkou deformační teorií založenou na pružnosti Mooney – Rivlin. Pro korelaci časově závislé deformace konstruktů s různými koncentracemi gelu byla použita viskoelastická teorie, Zenerův model, a proto lze kvantitativně odhadnout parametry tečení. Ukázalo se, že hodnota Youngova modulu roste úměrně s koncentrací gelu. Výsledky také ukázaly velkou schopnost použití této techniky k měření gelů s inkorporovanými stromálními buňkami rohovky. Studie demonstruje novou techniku měření mechanických vlastností hydrogelu nedestruktivním způsobem v reálném čase. Tato nová technika se tak může stát cenným nástrojem pro inženýrství měkkých tkání.

Tento systém má řadu výhod oproti standardním technikám mechanické charakterizace. Jednou z hlavních výhod je, že tento systém je schopen pracovat v biologickém prostředí. Celé zařízení pro uchovávání vzorků může být autoklávováno a měření může být prováděno za sterilních podmínek. Bylo také ukázáno, že systém může být provozován za fyziologických podmínek (37 °C, 5 % CO₂) a testování hydrogelů může být prováděno za ponoření do kultivačního média. Tyto vlastnosti prostředí jsou mimořádně důležité při měření mechanických vlastností hydrogelu, protože změny v prostředí mohou významně ovlivnit mechanické vlastnosti hydrogelových konstrukcí.



Obr. č. 17: Schéma přístrojového systému použitého k měření deformace a creepového chování hydrogelů. A) držák vzorku a míček; B) mikroskop s velkou pracovní vzdáleností; C) CCD kamera; d) stupeň přesnosti překladač $X-Y$; E) systém analýzy obrazu; F) inkubátor při 37°C , $5\%\text{CO}_2$ [37]

Studie **Roberts J. J. a kol. [38]** se zabývá srovnávacím výzkumem rozdílů v mechanických vlastnostech mezi dvěma hydrogely agarózou a poly(ethylenglykolem) (PEG), které se používají v tkáňovém inženýrství chrupavky. Tyto gely jsou ovšem vytvářeny prostřednictvím výrazně odlišných mechanismů zesílení (fyzikální a kovalentní). Byly zkoumány účinky hydrogelové chemie, koncentrace prekursoru, typu desky (neporézní a porézní), které byly použité v kompresních bioreaktorech. Zvýšení koncentrace prekursoru mělo za následek snížení rovnovážného poměru nabotnutí hmoty, ale vedlo k zvýšení rovnovážných modulů a paměťových modulů pro oba hydrogely.

Agaróza vykazovala velké uvolnění napětí uvolňováním vody z hydrogelu. Rozpad relativních slabých fyzických příčných vazeb a jejich následné opětovné utváření a také frekvenční závislost naznačující jeho viskoelastické vlastnosti. Naproti tomu PEG hydrogely vykazovaly do značné míry elastické chování s minimální relaxací napětí. U iontového zesílení dominovala relaxace napětí rozpadem a následným přetvořením iontových zesílení, zatímco u kovalentních zesíťování dominovala relaxace napětí migrací vody. U biologicky rozložitelných PEG hydrogelů bylo během degradace zachováno převážně elastické chování. Typ desky neovlivňoval statické mechanické vlastnosti, ale porézní desky vedly ke sníženému paměťovému modulu pro oba hydrogely, což implikovalo tok tekutiny. Souhrnně lze tedy říct, že agaróza a PEG vykazují výrazně odlišné mechanické chování, z velké části připisované rozdílům v jejich chemické struktuře a pohybu tekutin. Dohromady budou tyto vlastnosti (chemické, struktura hydrogelu, podmínky plnění) pravděpodobně mít výrazný vliv na výsledek využití v tkáňovém inženýrství.

Celkově tato studie ukazuje, že statické a dynamické mechanické vlastnosti jsou silně

ovlivněny typem materiálu, koncentrací prekursoru materiálu a typem desky, což naznačuje, že jak pevná polymerní matrice, tak tekutina přispívají k celkovému mechanickému chování. Agaróza, fyzikálně zesítený hydrogel, vykazuje velkou relaxaci stresu a frekvenční závislost, což ukazuje na jeho viskoelastické vlastnosti. Oproti tomu PEG, kovalentně zesítený hydrogel, má do značné míry elastické chování s minimální relaxací stresu a frekvenční závislostí.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité chemikálie

Pro přípravu hydrogelů byly použity tyto látky:

Agaróza (C ₁₂ H ₁₈ O ₉) _n	Condalab, cat. 8100 CAS: 9012-36-6
Poly(vinylalkohol) (C ₂ H ₄ O) _n	Sigma-Aldrich Co., CAS: 9002-89-5 min. 99 % hydrolyzovaný
Dekahydrát tetraboritanu sodného Na ₂ B ₄ O ₇ · 10 H ₂ O	Sigma-Aldrich Co., CAS: 1303-96-4 čistota min. 99,5 %
Hyaluronan sodný LMW	Contipro Biotech s. r. o 250-450 kDa č.š. 120218 - E1
Hyaluronan sodný HMW	Contipro Biotech s. r. o 1500-1750 kDa č.š. 160218 - E1
Karbetopendeciniumbromid (Septonex) C ₂₁ H ₄₄ BrNO ₂	GNB chem CAS: 10567-02-9
Alginát sodný (C ₁₈ H ₂₃ O ₁₉) _n Na	Sigma-Aldrich Co., CAS: 9005-38-3
Chlorid vápenatý CaCl ₂	Lach-Ner, s.r.o., CAS: 10043-52-4 čistota min. 96 %

4.2 Použité přístroje

Pro přípravu vzorků byly použity tyto přístroje:

Analytické váhy	Ohaus® Pioneer Analytical PA214CM/2
Míchačka s teplotním čidlem	Heidolph MR Hei-Standard
Třepačka	IKA MS2 S9 Minishaker Vortexer

Pro měření vzorků byly použity tyto přístroje:

Reometr

AR-G2 Rheometer,
TA Instruments Ltd.

Reometr

MCR 92, Anton Paar

4.3 Příprava hydrogelů

4.3.1 Příprava agarózových hydrogelů

Nejprve bylo na analytických vahách naváženo 0,5 g respektive 1 g agarózy na přípravu 1 hm. % a 2 hm. % roztoků. Poté se navážené množství agarózy smíchalo s demineralizovanou vodou tak, aby finální koncentrace odpovídala 1 hm %, respektive 2 hm. %. Po smíchání se výsledný roztok za stálého míchání zahříval na teplotu přibližně 85 °C až do úplného rozpuštění (z roztoku zmizel zákal a již nebyly viditelné pevné částičky agarózy). Výsledný sol se poté nechal zchladnout (přibližný bod gelace 40 °C) za laboratorní teploty a následně se po 24 hodinách relaxace proměřoval na reometru.

4.3.2. Příprava alginátových hydrogelů

Byl připraven zásobní roztok alginátu sodného 2 hm. %, rozpuštěním v demineralizované vodě. Ten se nechal míchat na magnetické míchačce (150 rpm) po dobu 24 hodin při laboratorní teplotě, aby byl alginát důkladně rozpuštěn. Z důvodu urychlení práce jsme ovšem použili hřídelovou míchačku, kde jsme nastavili vhodné otáčky (100 rpm), aby se v míchaném roztoku netvořily bublinky. Hřídelová míchačka pak roztok alginátu sodného rozmíchala během 3-4 hodin. Dále byl připraven zásobní roztok síťovacího činidla CaCl_2 , který byl připraven rozpuštěním požadovaného množství ve vodě. Tyto 2 roztoky se poté smíchaly v poměru 2:1, tedy 2 ml vodného roztoku alginátu sodného na 1 ml vodného roztoku chloridu vápenatého. Gel se začal tvořit okamžitě, následně se nechal asi na 30 minut odstát a nadbytečné množství roztoku bylo odlito.

4.3.3. Příprava PVA hydrogelů

Připraven byl 4 hm. % zásobní roztok PVA, který byl připraven rozmícháním 4 g PVA ve 100 ml vody. Protože celá navážka se musí rozpustit v požadovaném objemu demineralizované vody, nejprve musíme roztok neustále míchat (150 rpm) 30 minut při laboratorní teplotě, následně připravený roztok necháme 3 hodiny na vodní lázni a udržujeme roztok za stálého míchání při teplotě 95 °C do úplného rozpuštění.

Připraven byl také 4 hm. % zásobní roztok dekahydrát tetraboritanu sodného (borax) úplným rozpuštěním navážky 0,4 g dekahydrátu tetraboritanu sodného v 10 ml demineralizované vody za stálého míchání při mírně zvýšené teplotě (30 až 35 °C).

Nakonec byly oba tyto roztoky smíchány v poměru 10:1 (PVA: borax) za stálého míchání tyčinkou. K tvorbě PVA hydrogelu dochází v přítomnosti boraxu jako síťovacího činidla takřka okamžitě, takže roztok boraxu musel být přidán až po smíchání všech vstupních látek. Po zesíťování byly hydrogely uloženy alespoň na 24 hodin v lednici nebo v exsikátoru ke ztuhnutí.

4.3.4. Příprava hydrogelů z hyaluronanu sodného

Pro přípravu hydrogelů na bázi sodné soli kyseliny hyaluronové byly použity dva typy hyaluronanu sodného lišící se svou molekulovou hmotností, vysokomolekulární (HMW) a nízkomolekulární (LMW). V případě HMW byla použita molekulová hmotnost 1500-1750 kDa, u LMW pak molekulární hmotnost 250-450 kDa. Bylo naváženo 120 mg hyaluronanu sodného, které bylo rozpuštěno v 12 ml demineralizované vody, kdy výsledná koncentrace byla 2 hm. %. Dále bylo naváženo 507 mg 200 mM síťovadla Septonexu, které následně bylo za laboratorní teploty smícháno s připraveným roztokem kyseliny hyaluronové (poměr 4,225:1). Výsledné roztoky kyseliny hyaluronové byly 2 hm. %. Vytvořený roztok byl poté protřepán na vibrační třepačce (vortex). Po protřepání byl výsledný roztok vložen do lednice, kde byl ponechán 24 hodin, aby zgelovatěl.

4.4 Reologické testy

Hlavním úkolem experimentální části v předložené bakalářské práci bylo studium relaxačních vlastností hydrogelů. Relaxační vlastnosti byly studovány pomocí měření na reometru AR-G2 (TA Instruments) s ocelovým senzorem o průměru 25 mm o konfiguraci deska/deska, kde spodní deska je temperovaná na požadovanou teplotu, v našem případě na 25 °C. Nicméně následně se naskytla možnost měřit také na reometru MCR-92 (Anton Paar) se zoubkovaným senzorem o průměru 25 mm se stejnou konfigurací. Tato změna byla učiněna z důvodů prokluzování gelů při měření na ploché desce, viz. kapitola 2.4.4.1.

4.4.1 Amplitudový test

První oscilační test, který byl proveden, byl amplitudový test při konstantní frekvenci 1 Hz, rozsah amplitudy deformace 0,01–1000 %, teplota 25 °C, normálová síla při stlačování vzorku byla nastavena na maximálně 10 N. Z tohoto testu byly určeny hodnoty amplitud deformace pro další měření. Konkrétně se jednalo o amplitudy:

- a) bod z lineární viskoelastické oblasti (oblast konstantních hodnot, které jsou nezávislé na aplikované amplitudě deformace)
- b) bod křížení modulů G' , G'' tzv. „*crosspoint*“
- c) bod za LVO kde jsou oba moduly již v nelineární oblasti deformace

4.4.2 Frekvenční test

Vlastnosti všech typů hydrogelů byly stanovovány frekvenčním testem ve třech krocích. V prvním kroku docházelo k postupnému zvyšování frekvence v rozsahu 0,01–20 Hz, amplituda deformace byla 1 %, logaritmický mód, 6 bodů na dekádu, maximální hodnota normálové síly 10 N při stlačování, teplota 25 °C. Druhý krok probíhal stejně jako první krok, jen s tím rozdílem, že amplituda deformace byla nastavena na 100 % (0,01–20 Hz, 10 N, 25 °C). Nastavení u posledního třetího kroku se ve všech ohledech shodovalo s prvním krokem (0,01–20 Hz, 1 %, 10 N, 25 °C). Před zahájením samotného testu byl však ještě proveden relaxační krok tzv. „*conditioning*“, kdy byl vzorek po stlačení na odpovídající vzdálenost senzoru od spodní desky (1 mm) ponechán 3 minuty v klidovém stavu při požadované teplotě. Účelem tohoto kroku byla nejen relaxace měřeného systému před samotným měřením, ale také temperace.

4.4.3 Tříintervalové tixotropní testy v oscilačním módu (3 ITT)

Časový test, jinak taky „three interval thixotrophy test“, probíhal opět ve třech krocích, při konstantní frekvenci oscilací 1 Hz, teplotě 25 °C a logaritmickém módu, 6 bodů na dekádu. Délka prvních dvou časových intervalů byla zvolena na 5 minut, aby byla vidět časová závislost odezvy na amplitudy deformace. Poslední krok pak byl delší (10 minut), jelikož zde probíhala relaxace vzorku, kterou jsme sledovali a zaznamenávali. Proběhly celkem 3 testy při různých amplitudách deformace:

Testování v oblasti lineární viskoelastické oblasti

- a) relaxační krok 3 minuty při 25 °C
- b) amplituda deformace z oblasti LVO (1 %), doba trvání 5 minut
- c) amplituda deformace z oblasti za LVO (500 %), doba trvání 5 minut
- d) stejná amplituda deformace jako v prvním kroku doba trvání 10 minut

Testování v oblasti křížení viskoelastických modulů („crossing point“)

- a) relaxační krok 3 minuty při 25 °C
- b) amplituda deformace odpovídající rovnosti hodnot modulů G' a G'' , doba trvání 5 minut
- c) amplituda deformace z oblasti za LVO (500 %), doba trvání 5 minut
- d) stejná amplituda deformace jako v prvním kroku doba trvání 10 minut

Testování v oblasti nelineární deformace

- a) relaxační krok 3 minuty při 25 °C
- b) amplituda deformace odpovídající hodnotám za LVO a maximem G'' , doba trvání 5 minut
- c) amplituda deformace z oblasti za LVO (500 %), doba trvání 5 minut
- d) stejná amplituda deformace jako v prvním kroku doba trvání 10 minut

4.4.4 Problémy

U alginátových hydrogelů nastal problém při měření na zoubkované desce, kdy se moduly ani po několika pokusech při měření amplitudového testu neprotnuly, tato skutečnost byla nejspíše způsobena velkým namáháním vzorku, z kterého začala vytékat voda, navíc zoubkovaná deska i částečně trhala strukturu alginátu.

Problémem byla taktéž opakovatelnost měření, protože hydrogely nejsou termodynamicky stálé. Vlivem rychlého síťování alginátu po nástřiku síťovacího činidla docházelo k nerovnoměrnému síťování, což mělo za následek, že měřené vzorky při opakování měření neměly stejné vlastnosti, a tudíž i opakovatelnost měření nebyla jednoduchá.

U PVA hydrogelů docházelo při měření o vyšších amplitudách deformace k vyklouzávání hydrogelu z prostoru mezi deskami, tento problém byl řešen nejprve lepením brusného papíru na plochou desku reometru, následně byly PVA hydrogely měřeny na zoubkované geometrii reometru Anton Paar.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Příprava hydrogelů

5.1.1 Agaróza

Agarózový hydrogel se ukázal jako použitelný pro testování všemi aplikovanými metodami měření. Nespornou výhodou agarózového hydrogelu byla jeho příprava, která byla jednoduchá a výsledné hydrogely byly transparentní z hlediska optických vlastností. Jediným problémem bylo dávkování vzorků ze vzniklého gelu, nicméně to nebylo překážkou k úspěšnému měření. Byly vytvořeny 2 agarózové hydrogely (1 hm. % a 2 hm. %), které byly podrobeny měřením.

5.1.2 Alginát sodný

Příprava alginátového gelu se ukázala jako problematická, protože při míchání se síťovacím činidlem, vznikl beztvářý a celkově nekompaktní gel. Tento problém byl vyřešen tak, že se při smíchání alginátu a síťovacího činidla roztok nemíchal, ale síťovadlo bylo nastříkáno pomocí rozprašovače a poté se nechal hydrogel nejméně hodinu v klidu, aby zesíťoval co nejvíce. Bylo také obtížné dávkovat vzorky pro měření na reometru, jelikož alginátový hydrogel byl velmi tuhý a docházelo k trhání jeho sítě, tudíž bylo potřeba vzít větší vzorek a následně přetoky odstranit skalpelem.

5.1.3 Polyvinylalkohol

Při vizuálním pozorování vzorků na měření byly znatelné vlastnosti PVA hydrogelu jako velká elasticita, odolnost proti deformaci. Připravený gel byl před měřením ponechán v klidu aspoň 10 minut při laboratorní teplotě, aby proběhla temperace materiálu, a pak byl podroben měření.

5.1.4 Hyaluronan sodný

Při přípravě hydrogelů z hyaluronanu sodného nastal první problém při zgelování výsledných hydrogelů, kdy i při dodržení postupu popsaného v kapitole 4.3.4. výsledné vzorky špatně gelovatěly. Dalším problémem byly nároky na množství vzorku, kdy vzhledem k množství potřebných vzorků na měření na reometru nebylo jednoduché připravit dostatečné množství potřebného hydrogelu na měření. Vzhledem k tomuto faktu vzorky kyseliny hyaluronové po úvodních měřeních již nebyly dále měřeny.

5.2 Oscilační měření

5.2.1 Amplitudový test

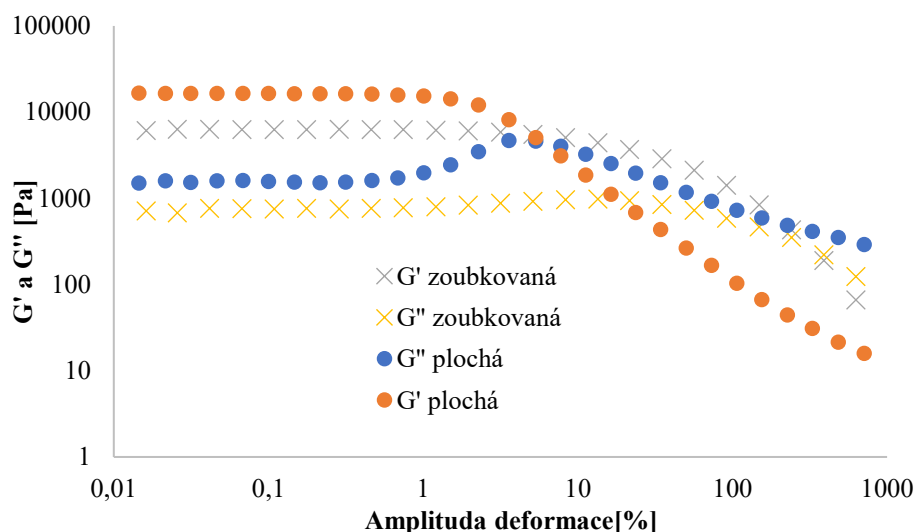
Kde G' je elastický modul (paměťový), G'' značí viskózní modul (ztrátový) a $\tan \delta$ tangens ztrátového úhlu (míra tlumící schopnosti materiálu). Při měření amplitudových testů byly zjištěny a porovnány body protnutí G' a G'' tzv. „*crossing points*“. Tato data následně byla využita při měření časových a frekvenčních testů.

5.2.1.1 Agarózové hydrogely

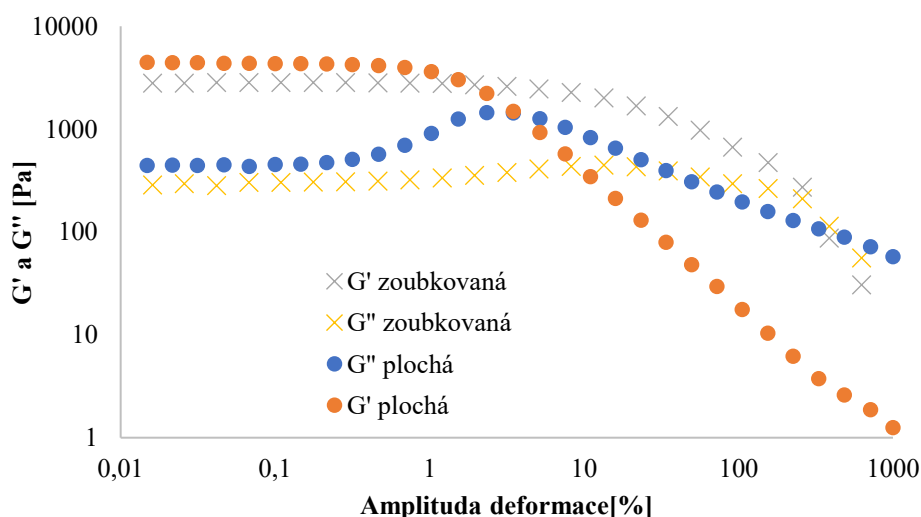
Při měření testů amplitudy u agarózových hydrogelů měl delší oblast LVO koncentrovanější vzorek, tato skutečnost je způsobena větším zesíťováním vzorku. Vzorek tak lépe odolává deformaci a prodlužuje tak svou LVO. V případě měření na ploché 25 mm desce se hodnoty protnutí modulů pohybovaly u 1 hm. % agarózového hydrogelu kolem hodnoty 3,5 %,

u 2 hm. % agarózového hydrogelu kolem hodnoty 5,4 %. Při měření na zoubkované 25 mm desce pak hodnoty u 1 hm. % agarózového hydrogelu nabývaly hodnot 288 %, u 2 hm. % agarózového hydrogelu 340 %. Tento rozdíl byl způsoben rozdílným zkosením geometrie. Díky zkosení geometrie by nemělo docházet k prokluzu materiálu, což může být jeden z důvodů, proč se prodlužuje jak LVO, tak také bod průtnutí obou modulů.

U obou hydrogelů v případě porovnání typu desky je vidět, že při měření na zoubkované desce jsou oba moduly nižší, což je nejspíše způsobeno tím, že z agarózových hydrogelů neunikalo tolik vody, jako při měření na ploché desce.

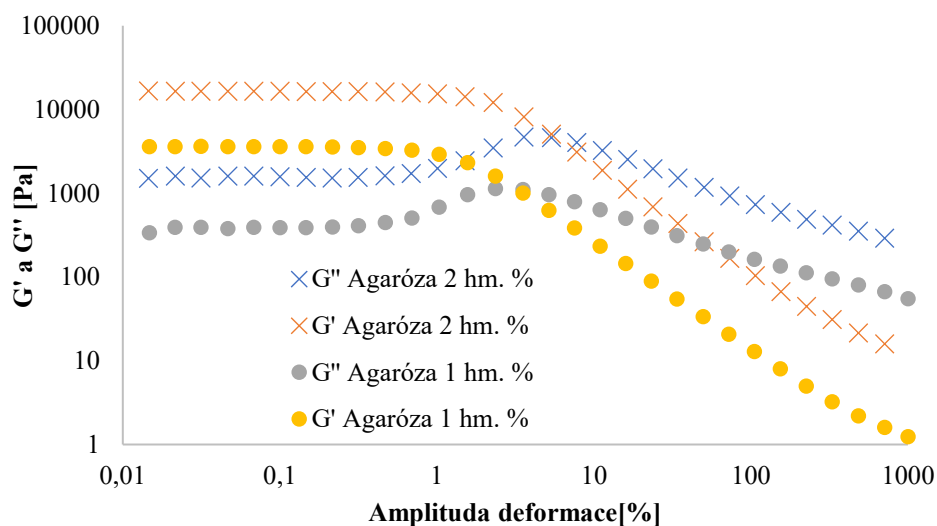


Obr. č. 18: Amplitudový test 2 hm. % agarózového hydrogelu při měření na ploché a zoubkované desce

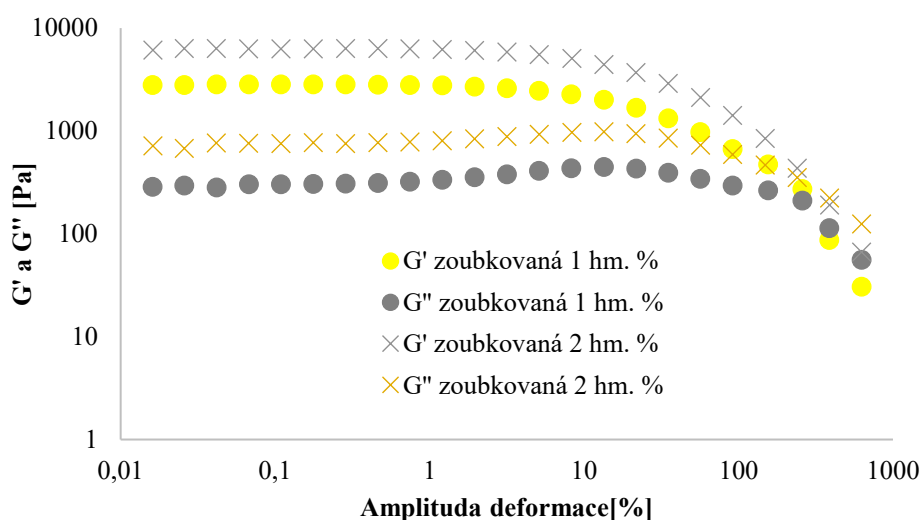


Obr. č. 19: Amplitudový test 1 hm. % agarózového hydrogelu při měření na ploché a zoubkované desce

Jak je vidět na Obr. č. 20, hodnoty modulů při měření na ploché desce u koncentrovanějšího vzorku nabývaly vyšších hodnot vlivem více vazeb ve struktuře hydrogelu. Hydrogel proto lépe odolával deformaci a jeho LVO byla delší. Stejně tak tomu bylo i v případě měření na zoubkované desce jak je vidět na Obr. č. 21.

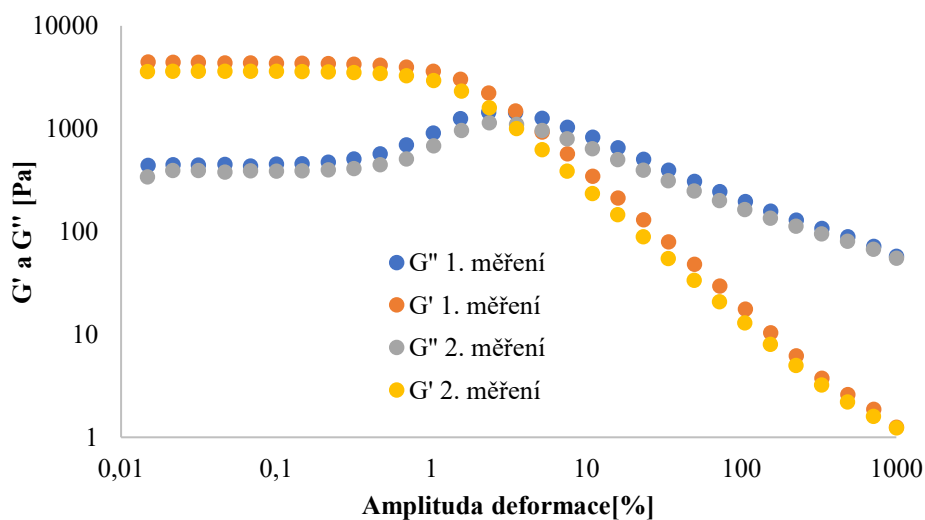


Obr. č. 20: Amplitudový test vzorků agarózových hydrogelů při měření na ploché desce

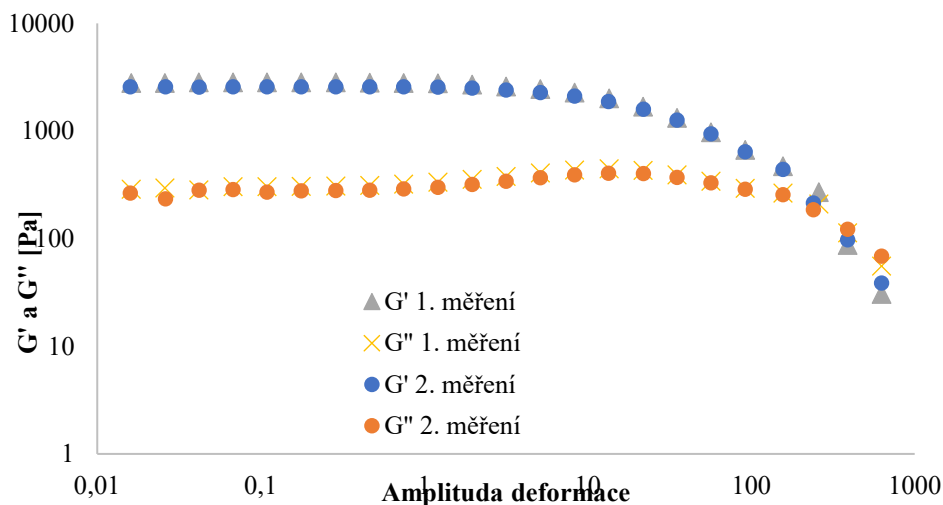


Obr. č. 21: Amplitudový test vzorků agarózových hydrogelů při měření na zoubkované desce

Opakovatelnost měření v případě agarózových hydrogelů byla u obou vzorků a typů desek vcelku dobrá, moduly se protínaly přibližně ve stejných hodnotách amplitudy deformace. Na Obr. č. 22 a Obr. č. 23 pak je znázorněna opakovatelnost měření pro 1 hm. % agarózový hydrogel.



Obr. č. 22: Opakovatelnost měření vzorků 1 hm. % agaróзовého hydrogelu při opakování měření testu amplitudy na ploché desce

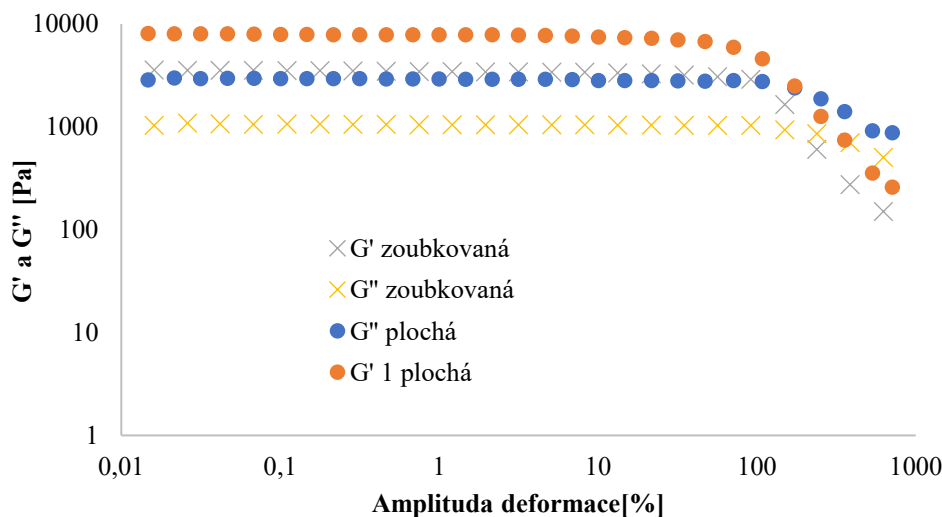


Obr. č. 23: Opakovatelnost měření vzorků 1 hm. % agaróзовého hydrogelu při opakování měření testu amplitudy na zoubkované desce

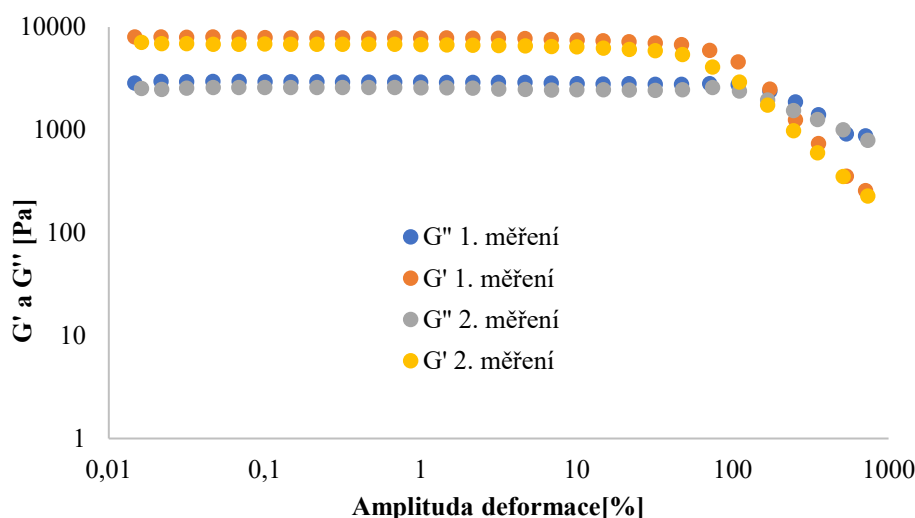
5.2.1.2 PVA hydrogely

V případě PVA hydrogelů při měření na zoubkované desce došlo ke zvýšení amplitudu deformace, kdy došlo k protnutí modulůze G' a G'' , ze 170 % na 210 %, což je vidět na Obr. č. 24. Díky jeho chemickému zesíťování neměla změna desky tak velký vliv na změnu amplitudy jako v případě vzorků agarózy. Problém při měření ovšem nastal vlivem nízké přilnavosti, hydrogel vypadal z měřicí desky při zvyšování napětí. Tento problém se nejprve řešil zvyšováním drsnosti ploché 25 mm desky reometru AR-G2 přilepením brusného papíru a následně měřením na zoubkované 25 mm desce reometru Anton Paar. Opět je zde patrné jako u agarózových hydrogelů, že při měření na zoubkované desce došlo k poklesu obou modulů, jak viskózního, tak elastického, tato skutečnost byla nejspíše způsobena vlivem částečného potrhání struktury zoubkovanou deskou.

Opakovatelnost měření pak opět byla dobrá, moduly nabývaly stejných hodnot jak je vidět na Obr. č. 25



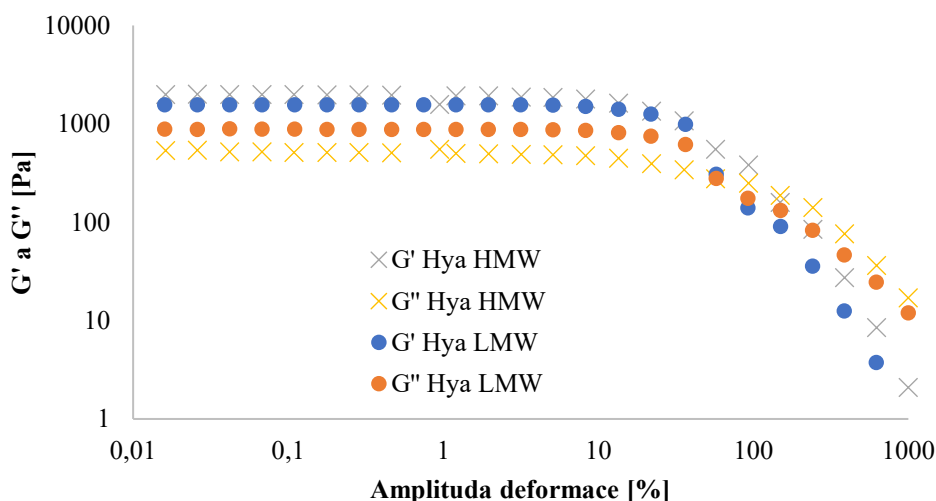
Obr. č. 24: Amplitudový test PVA hydrogelu při měření na ploché a zoubkované desce



Obr. č. 25: Opakovatelnost měření vzorků PVA hydrogelů při měření testu amplitudy na ploché desce

5.2.1.3 Hydrogely hyaluronanu sodného

Jak je vidět na Obr. č. 26, tak HMW hydrogel kyseliny hyaluronové měl vyšší modul paměťový a nižší modul ztrátový v porovnání s LMW hydrogelem kyseliny hyaluronové. Tato skutečnost je způsobena vyšší molekulovou hmotností HMW hydrogelu, který tak logicky má více vazeb a interakcí ve struktuře hydrogelu, a proto také vykazuje i delší LVO. Hydrogely kyseliny hyaluronové byly proměřovány pouze na zoubkované desce, v případě ploché desky docházelo k prokluzování, navíc vzhledem k velké náročnosti na množství připravených vzorků a vysoké ceny potřebných surovin bylo rozhodnuto v měření těchto vzorků nepokračovat.

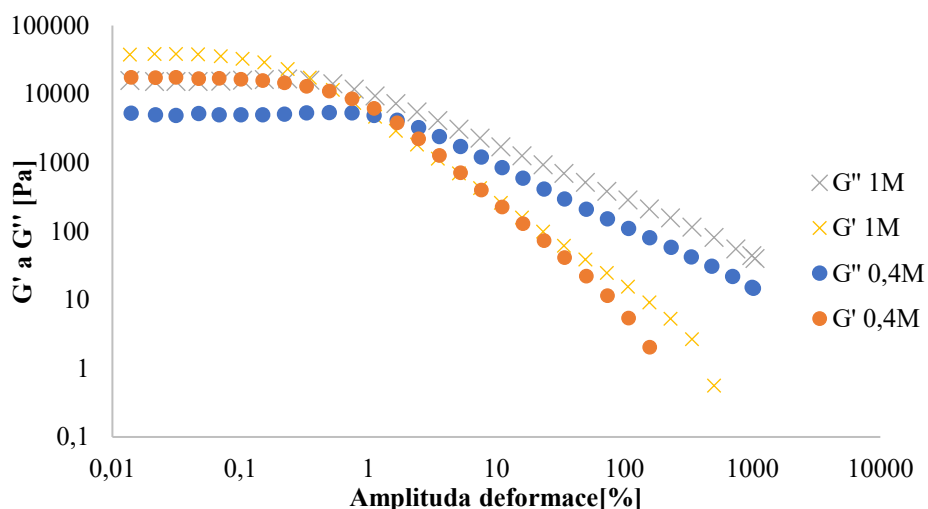


Obr. č. 26: Amplitudový test porovnání vzorků LMW a HMW hydrogelů kyseliny hyaluronové při měření na ploché desce

5.2.1.4 Alginátové hydrogely

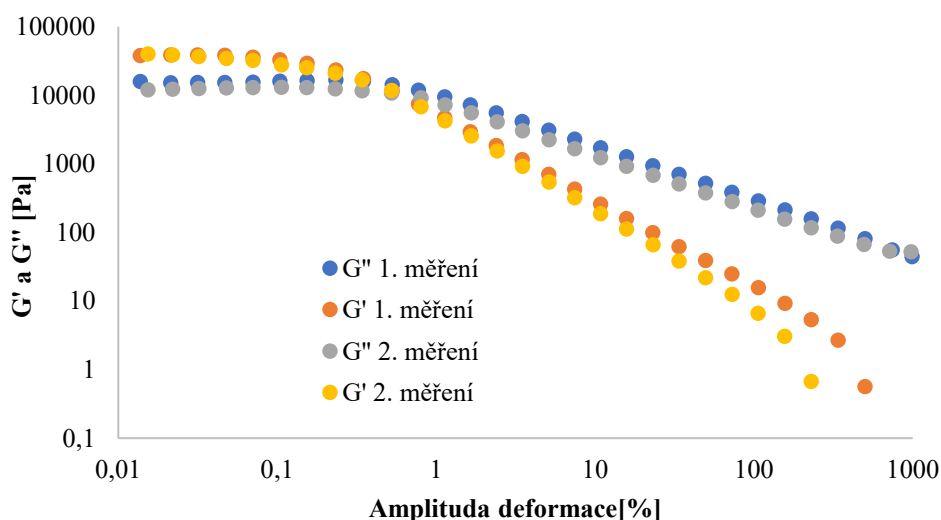
V případě měření na ploché desce měl delší oblast LVO 0,4 M alginátový hydrogel, kdy se moduly protnulý při hodnotě přibližně 1,5 %, kdežto u 1 M alginátového hydrogelu se moduly protnulý už při hodnotě amplitudy 0,5 %. Tato skutečnost byla nejspíše způsobena vlivem koncentrace a tím pádem i struktury u 1M alginátového hydrogelu, jehož síť rychleji podlehlá zvyšující se amplitudě deformace a také vodou která vytekla z jeho struktury a způsobila, že

ztrátový modul převýšil modul paměťový dříve. Z Obr. č. 27 je vidět, že koncentrovanější vzorek alginátového hydrogelu vykazoval vyšší hodnoty modulů, a to až dvojnásobně. Nicméně oproti očekávání, kdy se dalo čekat, že vzorek o vyšší koncentraci bude vykazovat delší oblast LVO vykazoval delší oblast LVO 0,4 M alginátový hydrogel což nejspíše způsobilo velmi rychlé nerovnoměrné síťování při přípravě 1 M alginátového hydrogelu.

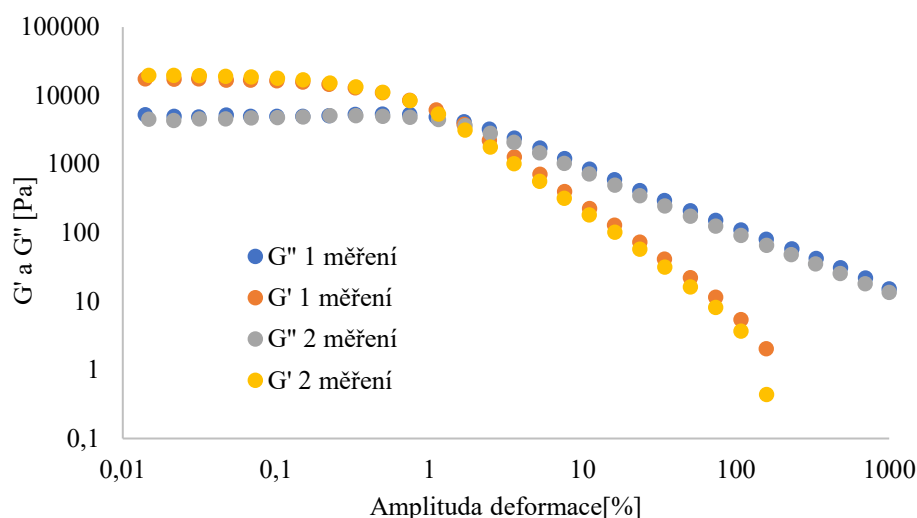


Obr. č. 27: Amplitudový test porovnání vzorků 0,4 M a 1 M hydrogelů alginátu při měření na ploché desce

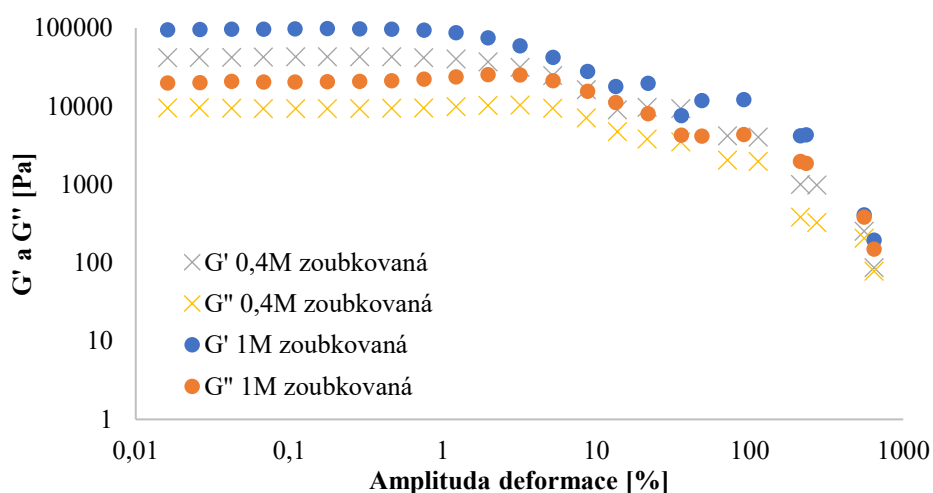
Opakovatelnost měření byla v obou případech u 0,4 M i 1 M alginátu vcelku dobrá, jak je vidět na Obr. č. 28 a Obr. č. 29. Při měření amplitudového testu alginátových vzorků na zoubkované geometrii nedošlo k proutnutí modulů, pouze k jejich výraznému poklesu a přiblížení se, což bylo způsobeno vytečením vody a potrháním struktury za udržení si charakteru pevné látky, což je vidět na Obr. č. 30.



Obr. č. 28: Opakovatelnost měření vzorků 1 M alginátu při měření testu amplitudy na ploché desce



Obr. č. 29: Opakovatelnost měření vzorků 0,4 M alginátu při měření testu amplitudy na ploché desce



Obr. č. 30: Amplitudový test porovnání vzorků 0,4 M a 1 M hydrogelů alginátu při měření na zoubkované desce

5.2.1.5 Shrnutí

Na závěr pak byly vytvořeny tabulky Tab. č. 1 a Tab. č. 2, v kterých jsou shrnuty a porovnány výsledky všech provedených měření při měření amplitudových testů. Jak je vidět, nejdelších oblastí LVO při měření na zoubkované desce dosahovali vzorky PVA hydrogelu, nejmenší oblasti LVO pak dosahoval alginátový hydrogel. U vzorků alginátových hydrogelů se bohužel nepodařilo změřit body křížení paměťového a ztrátového modulu, jelikož došlo k velké deformaci, vytékání vody ze struktury a moduly se tedy neprotnuly.

V případě měření na ploché desce pak dosahoval nejvyšších hodnot LVO PVA hydrogel, nejnižších pak alginátový hydrogel, nicméně tyto hodnoty mohly být značně zkresleny, protože jak již bylo zmíněno, docházelo k prokluzování vzorků. Hydrogely kyseliny hyaluronové v tomto případě nebyly měřeny.

Tab. č. 1: Výsledky měření amplitudového testu na zoubkované geometrii

Zoubkovaná geometrie					
Hydrogel	Sít'ování	rozsah LVO (%)	G'(Pa)	G''(Pa)	G'/G''
Hyaluronan sodný HMW	iontové	5,11	1960	500	3,92
Hyaluronan sodný LMW	iontové	5,11	1560	880	1,77
Alginát 0,4 M	chemické	1,22	43000	9400	4,57
Alginát 1 M	chemické	1,22	97000	21000	4,62
Agaróza 1 hm. %	fyzikální	1,96	2800	330	8,49
Agaróza 2 hm. %	fyzikální	1,96	6300	800	7,88
PVA	fyzikálně-chemické	91,7	3400	1050	3,24

Tab. č. 2: Výsledky měření amplitudového testu na ploché geometrii

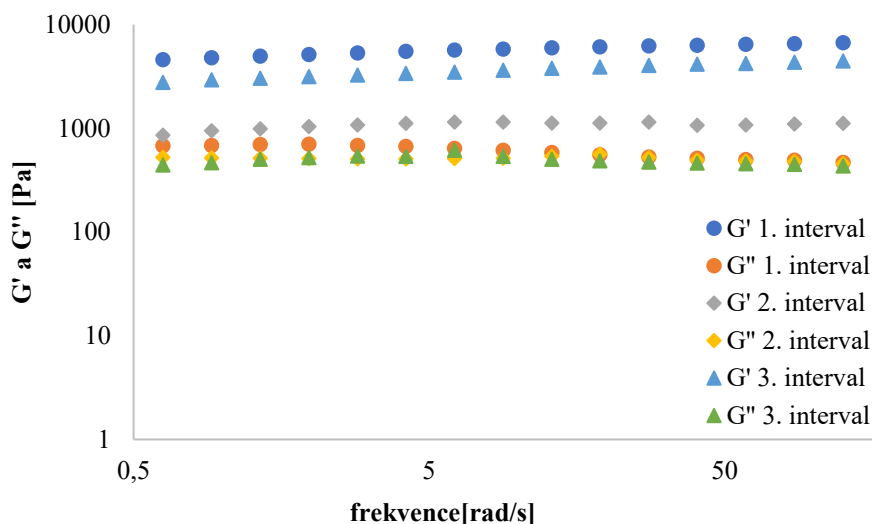
Plochá geometrie					
Hydrogel	Sít'ování	rozsah LVO (%)	G'(Pa)	G''(Pa)	G'/G''
Hyaluronan sodný HMW	iontové	—	—	—	—
Hyaluronan sodný LMW	iontové	—	—	—	—
Alginát 0,4 M	chemické	0,15	19000	4800	3,96
Alginát 1 M	chemické	0,075	37000	13000	2,85
Agaróza 1 hm. %	fyzikální	0,47	3600	390	9,23
Agaróza 2 hm. %	fyzikální	1	16500	1550	10,65
PVA	fyzikálně-chemické	47,1	7800	2900	2,69

Z tabulek je vidět, že při měření na zoubkované desce docházelo k prodloužení LVO u všech měřených vzorků, což bylo nejspíše způsobeno tím, že bylo zabráněno prokluzování při měření na zoubkované desce, stejně tak došlo k posunům protnutí modulů $G' = G''$, jak již bylo komentováno dříve.

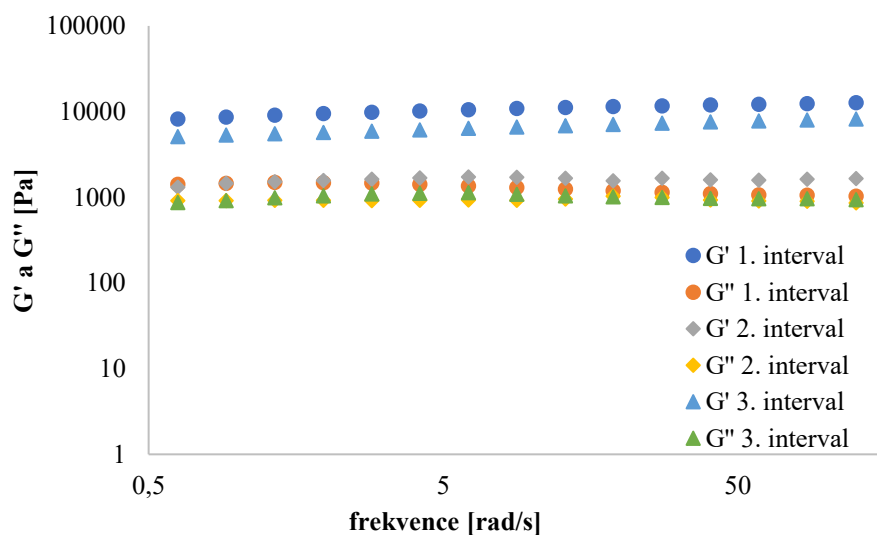
5.2.2 Frekvenční test

5.2.2.1 Agarózové hydrogely

U agarózových hydrogelů došlo v prvním kroku, při amplitudě deformace 1 % k růstu paměťového modulu a k mírnému poklesu ztrátového modulu. Ve druhém kroku byla amplituda deformace zvýšena na 100 %, došlo k velkému poklesu paměťového modulu s následnou tendencí k růstu se zvyšující se frekvencí, u ztrátového modulu je tendence stejná jako v prvním kroku, kdy ztrátový modul v porovnání s paměťovým poklesne jen nepatrně. Při posledním kroku byla amplituda deformace opět snížena na 1 % a paměťový modul se opět zvyšoval, kdy ztrátový modul zůstal takřka konstantní s mírnými výchyly. Jediný rozdíl mezi vzorky byl v tom, že vyšší koncentrace agarózy (2 hm. %) si držela vyšší hodnoty obou modulů, což bylo způsobeno vyšším počtem vazeb v hydrogelu, nicméně tendence ke ztrátě elasticity byly jinak stejné.



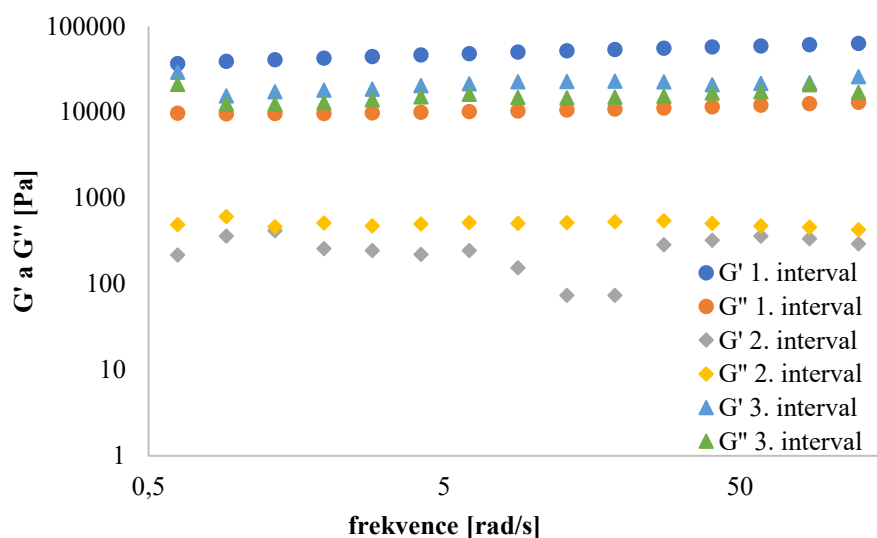
Obr. č. 31: Frekvenční test 1 hm. % agarózového hydrogelu



Obr. č. 32 Frekvenční test 2 hm. % agarózového hydrogelu

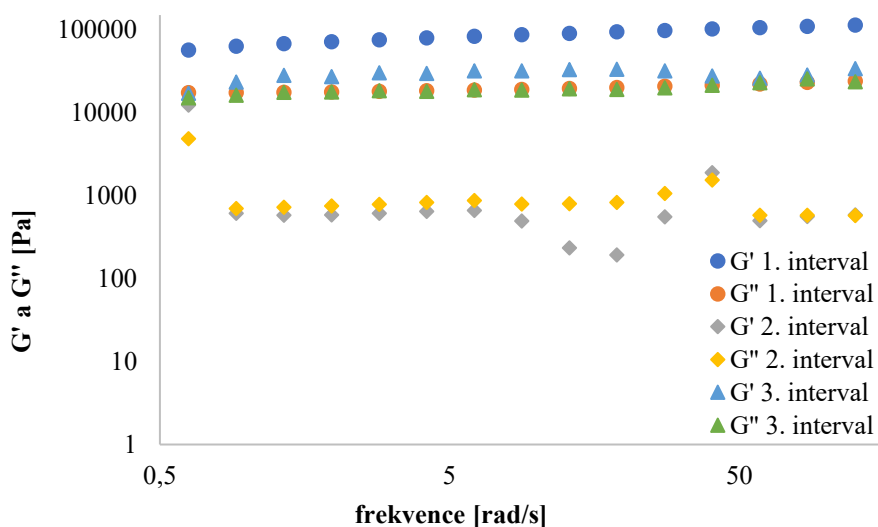
5.2.2.2 Alginátové hydrogely

V případě 0,4 M alginátového hydrogelu v prvním kroku dochází ke zvyšování obou modulů spolu s frekvencí oscilací, v druhém kroku po přidání amplitudy deformace 100 % jsou nejprve oba moduly lineární, kdy při frekvenci 10 rad/s dojde k mírnému poklesu s následným zvýšením okolo hodnoty 40 rad/s, s následným opětovným poklesem obou modulů. V posledním kroku dochází opět k relaxaci po odebrání vyšší amplitudy deformace, nicméně vzhledem ke struktuře gelu dojde pouze k velmi malé relaxaci v porovnání s ostatními vzorky, přičemž ztrátový modul se vrací takřka do původního stavu tzn., že moduly se značně přiblíží, kdy elastická odezva je jen velmi malá.



Obr. č. 33: Frekvenční test 0,4 M alginátového hydrogelu

Při měření 1 M alginátového hydrogelu v druhém kroku oba moduly klesají s následným růstem od hodnoty 2 rad/s, následuje další pokles, kdy dojde k překřížení modulů, kdy ztrátový modul převyší paměťový modul, poté opět malý vzrůst hodnot s následným poklesem do konečné hodnoty.

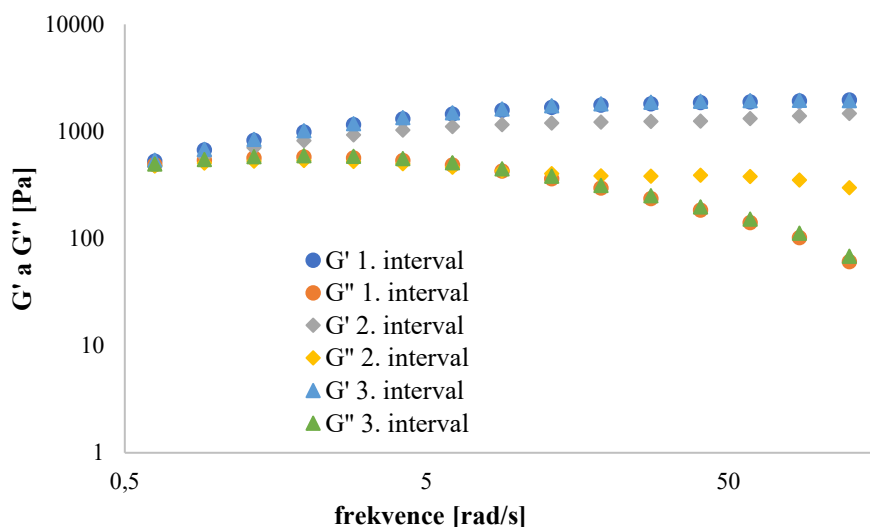


Obr. č. 34: Frekvenční test 1 M alginátového hydrogelu

Toto chování mohlo být způsobeno anizotropními vlastnostmi připravených hydrogelů nebo uvolňováním vody ze struktury hydrogelů, kdy mohlo následně dojít k prokluzu vzorku při měření nebo částečné deformaci struktury.

5.2.2.3 PVA hydrogely

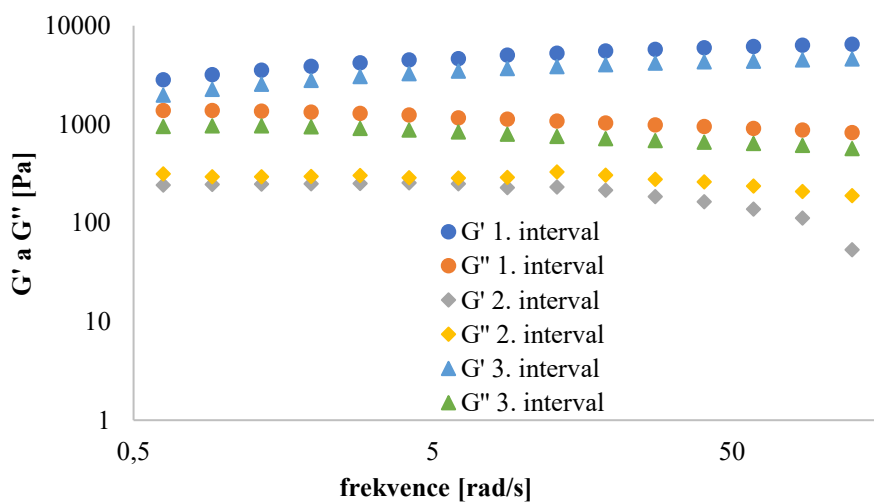
U hydrogelů z PVA dochází v prvním kroku k růstu paměťového a klesání ztrátového modulu, při zvýšení smykového napětí na 100 % dochází k ustálení hodnot ztrátového modulu a mírnému růstu paměťového modulu, po vrácení amplitudy deformace na 1 % se hydrogel vrací do původního stavu (relaxuje), kdy je vidět na Obr. č. 35 velmi dobrá schopnost relaxace.



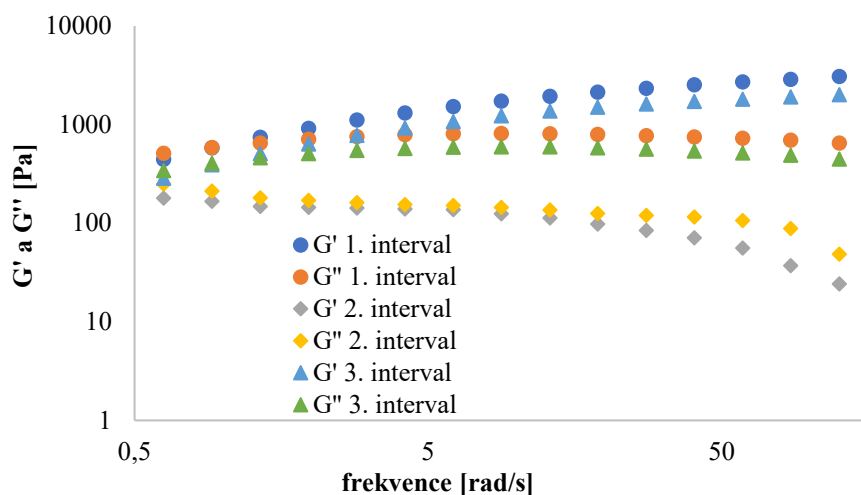
Obr. č. 35: Frekvenční test PVA hydrogelu

5.2.2.4 Hydrogely hyaluronanu sodného

U hydrogelů kyseliny hyaluronové dochází v prvním kroku k růstu paměťového modulu a k mírnému poklesu ztrátového modulu u vysokomolekulární a k mírnému vzrůstu a následně poklesu u nízkomolekulární, v druhém kroku, kdy je smykové napětí 100 %, dojde k velkému poklesu paměťového i ztrátového modulu s následnou klesající tendencí obou modulů při zvyšování frekvence, kdy ztrátový modul převyšuje paměťový (dochází k tečení), v posledním kroku se v obou případech hydrogely relaxují takřka do původního stavu



Obr. č. 36: Frekvenční test HMW hydrogelu kyseliny hyaluronové



Obr. č. 37: Frekvenční test LMW hydrogelu kyseliny hyaluronové

5.2.2.5 Shrnutí

Na závěr pak byla vytvořena tabulka Tab. č. 1, v které jsou shrnuty a porovnány výsledky všech provedených měření při měření frekvenčních testů. Jak je vidět, největší schopnost relaxace při frekvenčních testech prokázal PVA hydrogel následovaný hydrogely kyseliny hyaluronové a agarózy, nejmenší schopnost relaxace jsme pak pozorovali u hydrogelů alginátových.

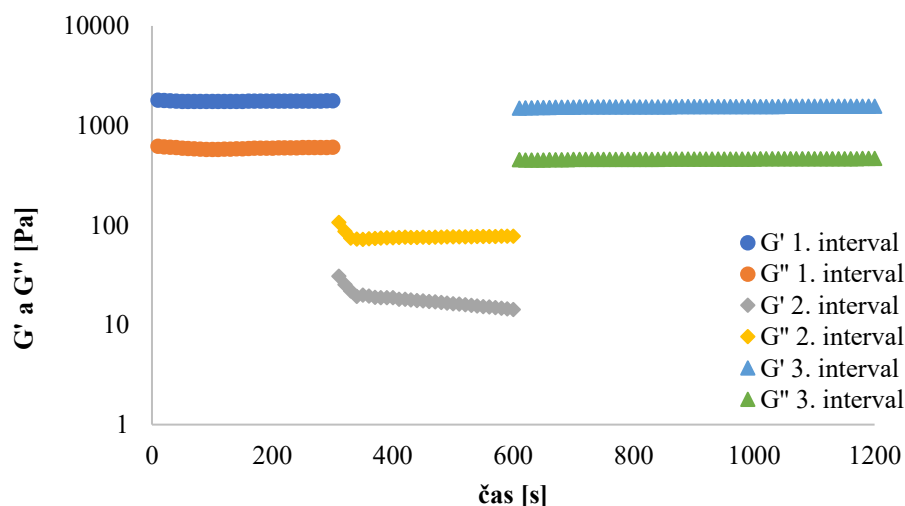
Tab. č. 3: Výsledky měření frekvenčních testů

Hydrogel	Sít'ování	G' 1 [Pa]	G' 3 [Pa]	G'3/G'1[%]
Hyaluronan sodný HMW	iontové	6500	4600	71
Hyaluronan sodný LMW	iontové	3050	2000	66
Alginát 0,4 M	chemické	96000	28000	29
Alginát 1 M	chemické	114000	34000	30
Agaróza 1 hm. %	fyzikální	6700	4500	66
Agaróza 2 hm. %	fyzikální	12700	8150	64
PVA	fyzikálně-chemické	1850	1480	80

5.2.3 3 ITT test

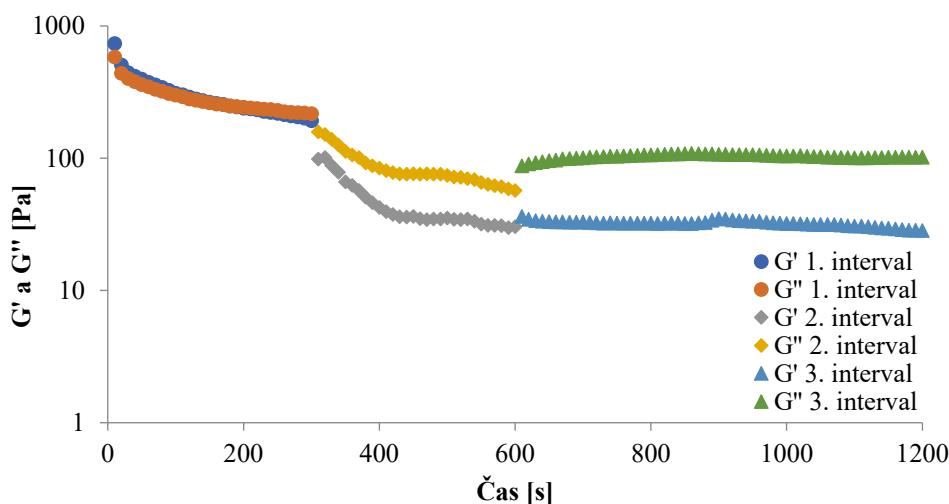
5.2.3.1 PVA hydrogely

U PVA hydrogelů byla nejvyšší schopnost relaxace v porovnání s ostatními gely. Gel už od počátku vykazoval nízký paměťový a ztrátový modul. Při měření v lineární viskoelastické oblasti a následném namožení amplitudou deformace 500 % moduly gelu skokovitě poklesly, což se dalo předpokládat vzhledem k velké změně amplitudy. Po ukončení namáhání gel začal pomalu relaxovat, kdy na konci testu hodnoty odpovídaly přibližně 86 % původních hodnot. Paměťový modul převyšoval ztrátový, z čehož plyne, že hydrogel vykazoval elastické vlastnosti což je vidět na Obr. č. 38.



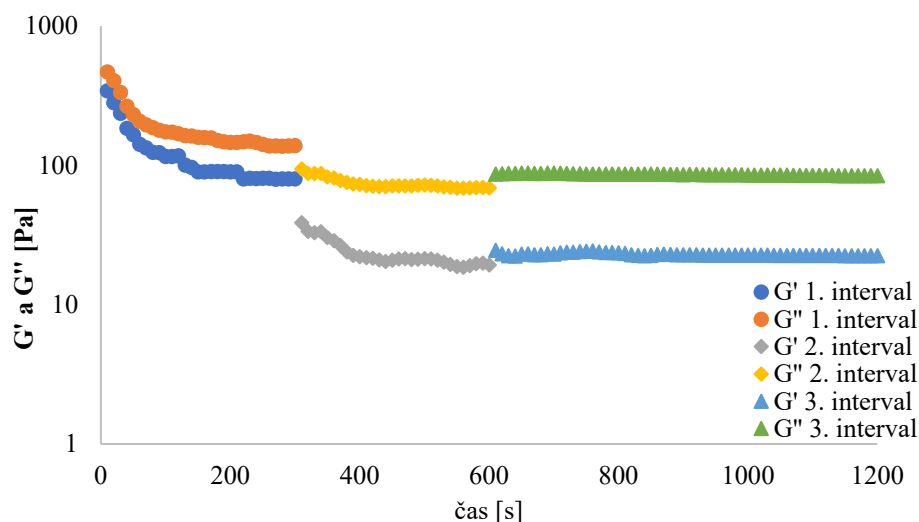
Obr. č. 38: 3-ITT test při měření PVA hydrogelu s amplitudou deformace vybranou z LVO

Následovně byl gel proměřen také při amplitudě přibližně odpovídající rovnosti paměťového a ztrátového modulu, v tomto případě již docházelo ke klesající tendenci modulů, pokles již nebyl skokový. Z toho je patrné, že již při této amplitudě docházelo k porušování struktury hydrogelu. Tato amplituda v prvním kroku udržovala oba moduly přibližně při stejných hodnotách, nicméně po namáhání hodnotou amplitudy deformace 500 % a následném snížení na původní hodnotu při rovnosti modulů, již ztrátový modul převyšoval paměťový asi 3 ×, což značí, že hydrogel byl nenávratně zdeformován. Je tedy patrné, že prodloužením doby, kdy je PVA hydrogel vystaven vyšším amplitudám deformace se snižuje jeho schopnost zrelaxovat.



Obr. č. 39: 3-ITT test při měření PVA hydrogelu s amplitudou deformace při rovnosti modulů G' a G''

Stejně tak se hydrogel choval i při měření v nelineární viskoelastické oblasti, tendence gelu k deformaci byla stejná, nicméně od samotného počátku měření ztrátový modul převyšoval paměťový, což se dalo očekávat, vzhledem k velmi vysoké amplitudě deformace, která zapříčinila zvýšení ztrátového modulu.

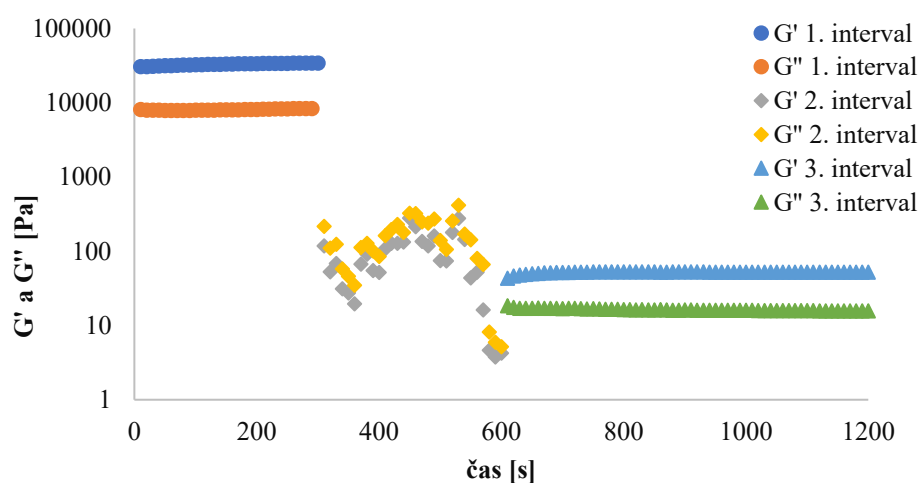


Obr. č. 40: 3-ITT test při měření PVA hydrogelu s amplitudou deformace z nelineární viskoelastické oblasti

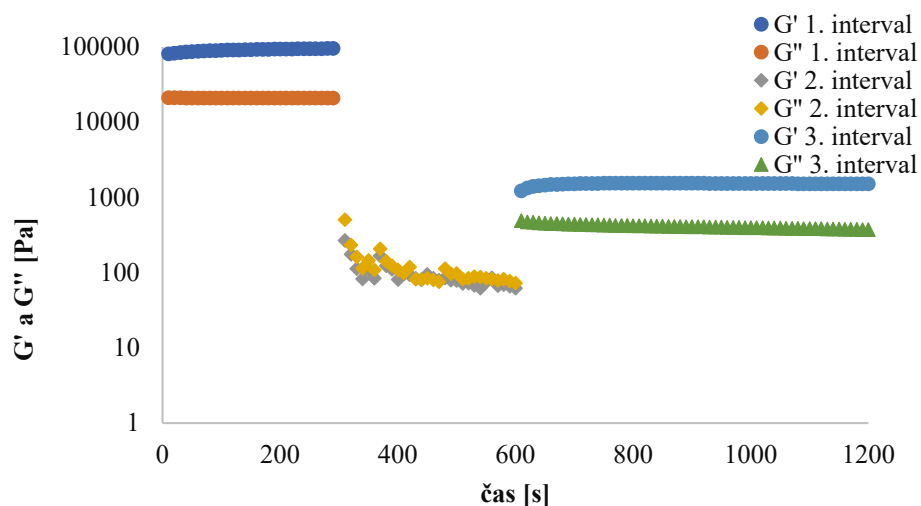
5.2.3.2 Alginátové hydrogely

U obou alginátových hydrogelů byly oba moduly velmi vysoké, kdy paměťový modul značně převyšoval modul ztrátový (tuhá struktura). Paměťový modul má stoupající charakter a zároveň vysokou hodnotu, což dokazuje vysoký stupeň zesílení hydrogelu. Alginátové hydrogely při nízkých amplitudách deformace odolávaly deformaci velmi dobře a paměťové moduly značně převyšovaly moduly ztrátové. Ovšem při prodloužení doby, kdy byly hydrogely vystaveny vyšším amplitudám deformace, hydrogely podléhaly nevratné deformaci snadněji, při zatížení vytékalo velké množství vody, a proto značně klesaly oba dva moduly a taktéž schopnost relaxace hydrogelů.

Schopnost relaxace u těchto hydrogelů tedy byla nejmenší z námi pozorovaných. Relaxace probíhala o něco málo lépe u 1 M alginátového hydrogelu, nejspíše vzhledem k tomu, že vlivem vyšší koncentrace obsahuje více vazeb, které mohou zrelaxovat, je tedy více zesíťovaný. Při amplitudě deformace vybrané z LVO a následném namáhání sice následně paměťový modul opět převýšil ztrátový, nicméně zanedbatelně.

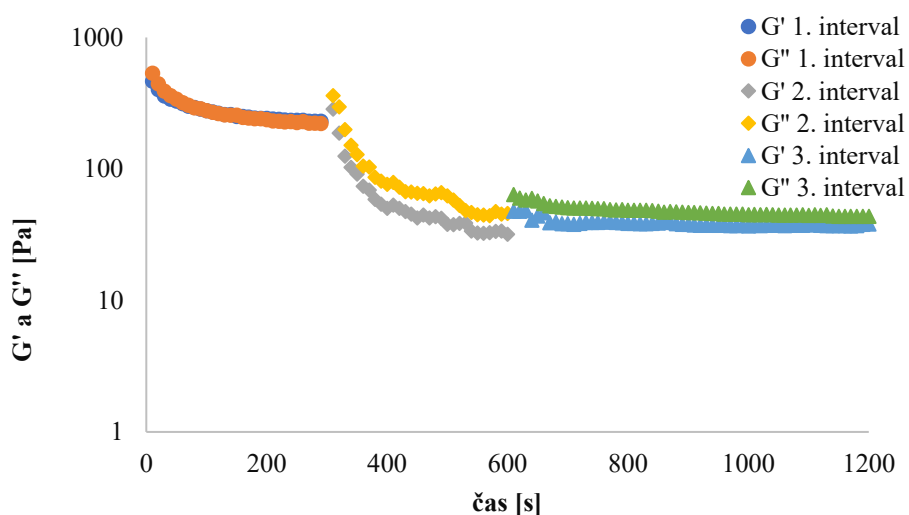


Obr. č. 41: 3-ITT test při měření 0,4 M alginátového hydrogelu s amplitudou deformace vybranou z LVO

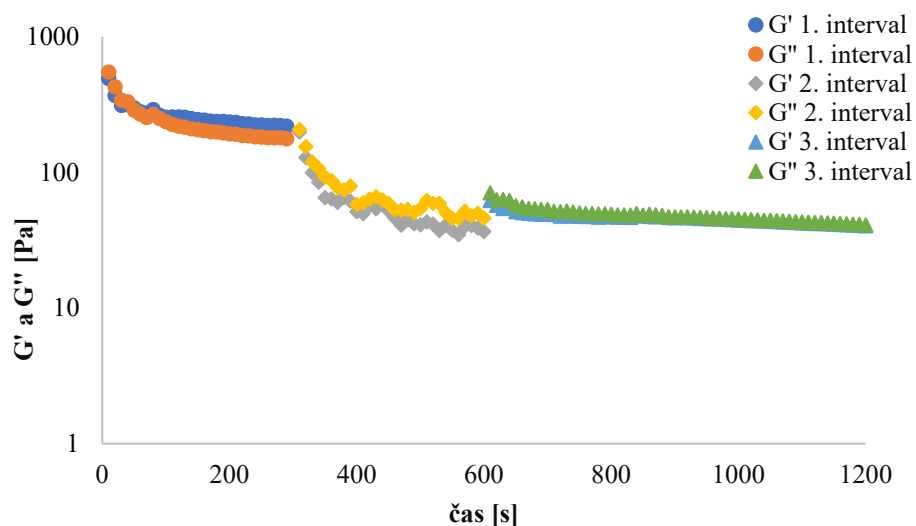


Obr. č. 42: 3-ITT test při měření 1 M alginátového hydrogelu s amplitudou deformace vybranou z LVO

Měřením při amplitudě deformace při rovnosti modulů $G' = G''$ oba dva hydrogely vykazovaly pokles obou modulů. Docházelo k velkému uvolňování vody ze struktury hydrogelu. Ztrátový modul pak převyšoval paměťový po celou dobu měření. Došlo tedy k nevratné deformaci.

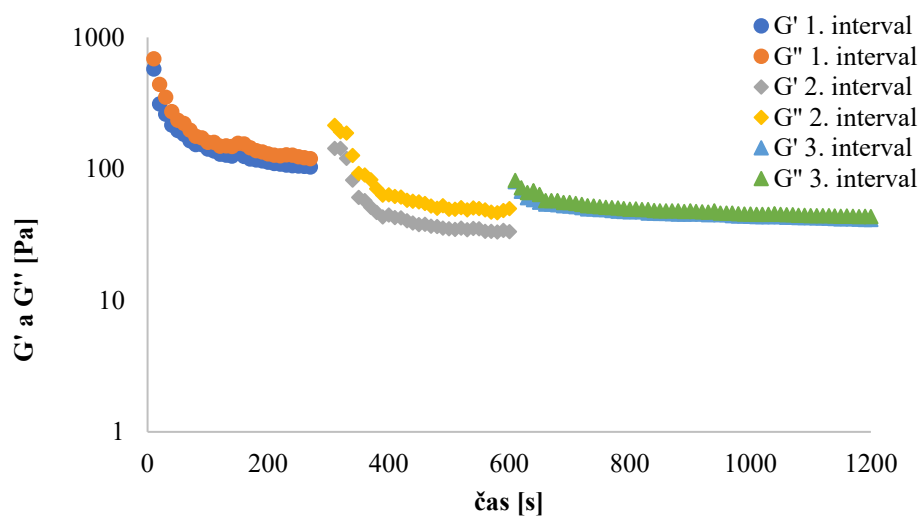


Obr. č. 43: 3-ITT test při měření 0,4 M alginátového hydrogelu s amplitudou deformace při rovnosti modulů G' a G''

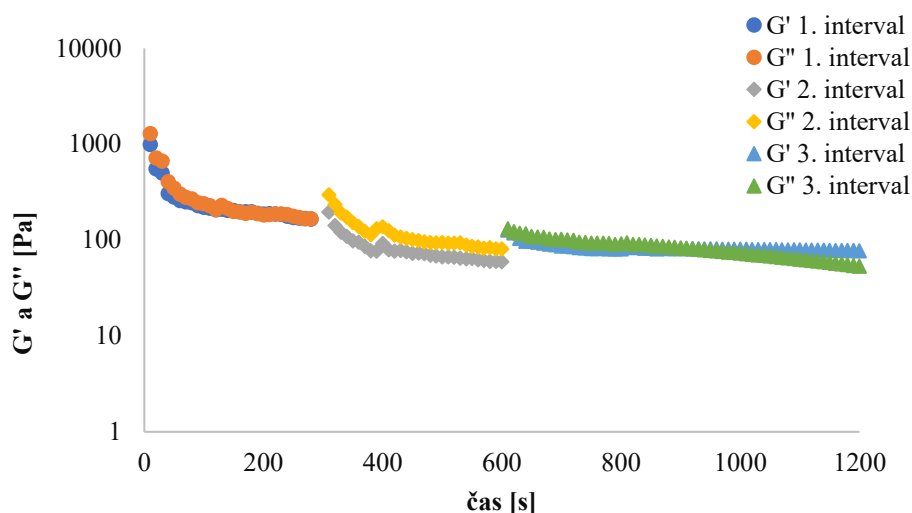


Obr. č. 44: 3-ITT test při měření 1 M alginátového hydrogelu s amplitudou deformace při rovnosti modulů G' a G''

Při měření v nelineární viskoelastické oblasti v případě alginátových hydrogelů už k velkým změnám nedocházelo, jelikož již měřením při rovnosti modulů byla amplituda deformace tak vysoká, že docházelo k nevratné deformaci tak velké, že algináty již skoro vůbec nerelaxovali. U obou hydrogelů při měření v nelineární viskoelastické oblasti docházelo k velkému uvolnění vody ze struktury hydrogelu a významnému poklesu obou modulů.



Obr. č. 45: 3-ITT test při měření 0,4 M alginátového hydrogelu s amplitudou deformace z nelineární viskoelastické oblasti

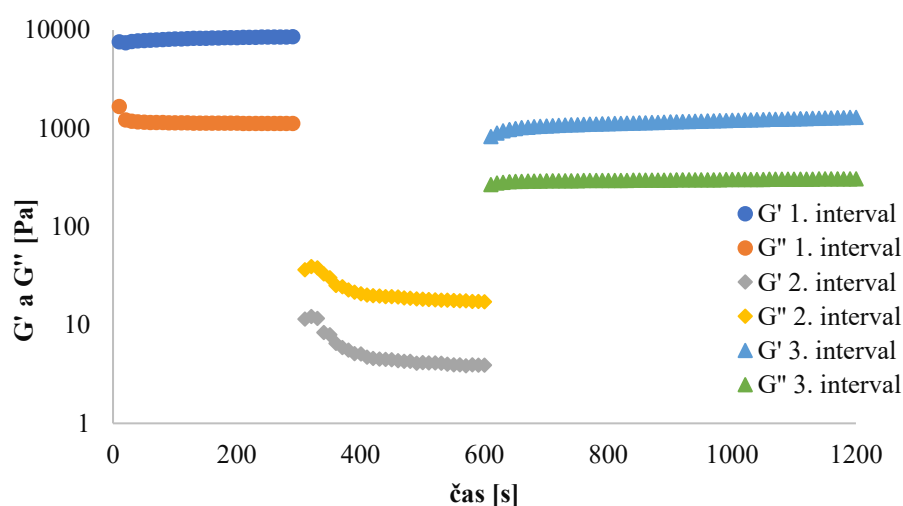


Obr. č. 46: 3-ITT test při měření 1 M alginátového hydrogelu s amplitudou deformace z nelineární viskoelastické oblasti

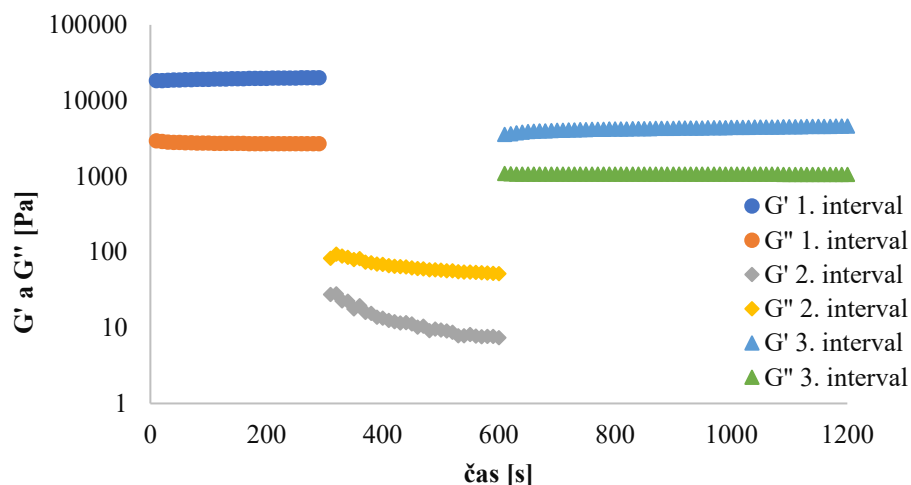
5.2.3.3 Agarózové hydrogely

U agarózových hydrogelů hrála velkou roli koncentrace a tím i množství vazeb propojujících síť hydrogelu. Při větším namáhání docházelo k vytékání vody, stejně jako u alginátu, nicméně fyzikálně zesítněná agaróza relaxovala daleko lépe nežli alginát.

Oba moduly byly značně vyšší u 2 hm. % agarózového hydrogelu, což značilo vyšší zesítnění vzorku, který následně i lépe relaxoval, přibližně $2\times$ lépe v případě měření v LVO ve srovnání s 1 hm. % agarózovým hydrogelem. Při měření s nízkou amplitudou deformace z LVO se 2 hm. % agarózový hydrogel vrátil přibližně na čtvrtinu své původní hodnoty, 1 hm. % hydrogel přibližně na 12 %, s tím, že paměťový modul na konci testu převyšoval ztrátový (elastické vlastnosti).

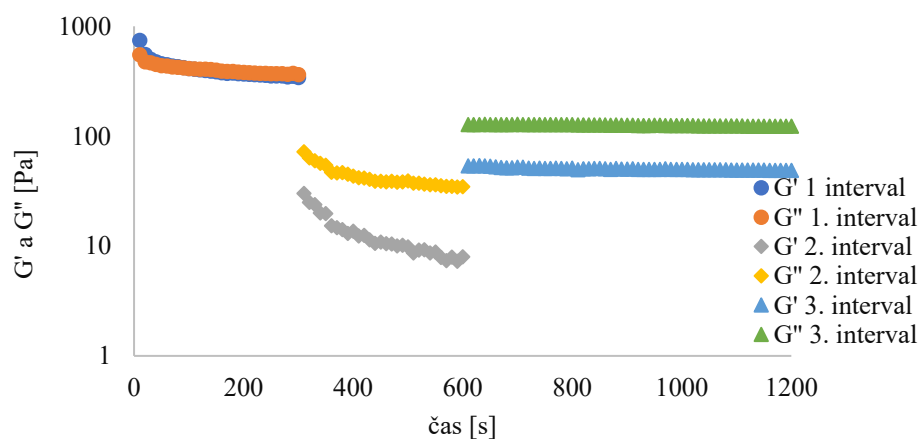


Obr. č. 47: 3-ITT test při měření 1 hm. % agarózového hydrogelu s amplitudou deformace vybranou z LVO

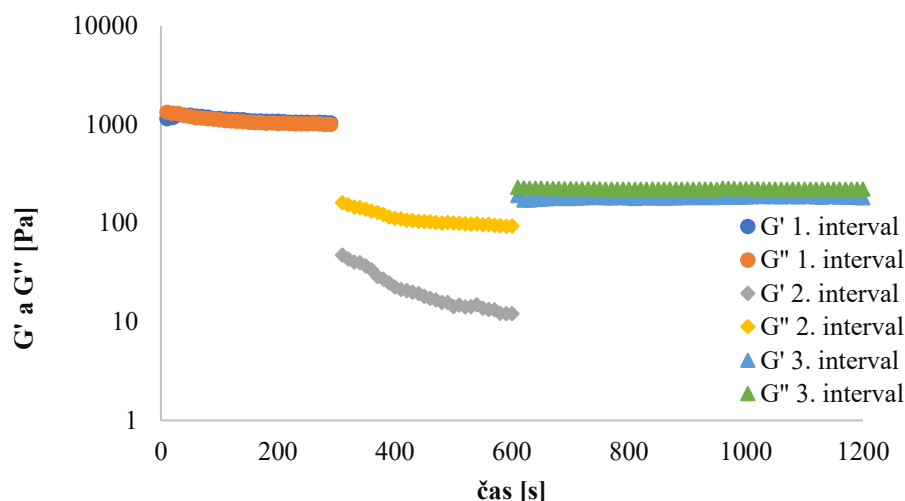


Obr. č. 48: 3-ITT test při měření 2 hm. % agaróзовého hydrogelu s amplitudou deformace vybranou z LVO

Při měření s amplitudou deformace $G' = G''$ došlo u obou hydrogelů stejně jako u PVA hydrogelu, k nevratné deformaci a převýšení paměťového modulu modulem ztrátovým. Po navrácení amplitudy deformace na hodnotu $G' = G''$, hodnoty ztrátového modulu již zůstaly vyšší než u paměťového modulu, došlo tedy k nevratné deformaci a hydrogel již nezrelaxoval.

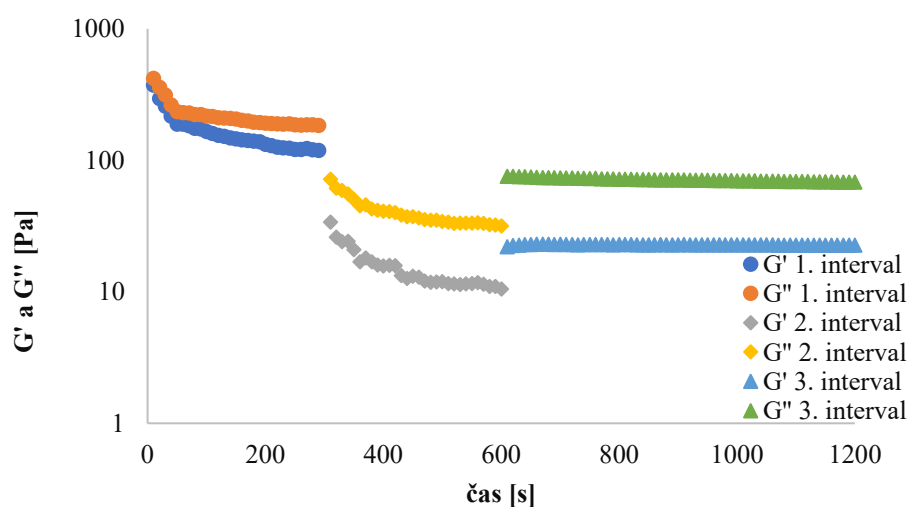


Obr. č. 49: 3-ITT test při měření 1 hm. % agaróзовého hydrogelu s amplitudou deformace při rovnosti modulů G' a G''

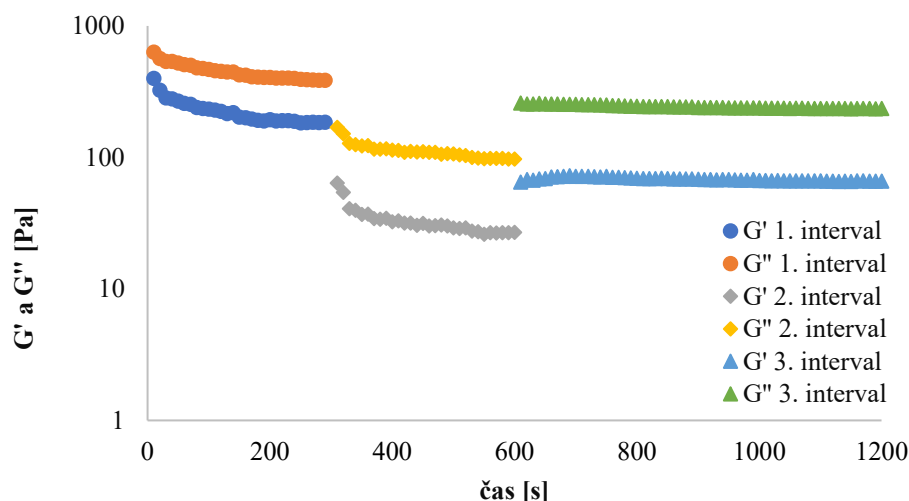


Obr. č. 50: 3-ITT test při měření 2 hm. % agarózového hydrogelu s amplitudou deformace při rovnosti modulů G' a G''

Měření při amplitudě deformace vybrané z nelineární oblasti modulů ukázala, že při prodloužené době, kdy je gel vystavován větší amplitudě deformace dojde ke snížení hodnot obou modulů, což jen prohloubí nevratnou deformaci struktury. U 1 hm. % agarózového hydrogelu pak ztrátový modul v posledním intervalu převyšoval modul paměťový $3 \times$, u 2 hm. % agarózového hydrogelu pak byly oba dva moduly o něco vyšší a ztrátový modul převyšoval paměťový také přibližně $3 \times$.



Obr. č. 51: 3-ITT test při měření 1 hm. % agarózového hydrogelu s amplitudou deformace z nelineární viskoelastické oblasti



Obr. č. 52: 3-ITT test při měření 2 hm. % agaróзовého hydrogelu s amplitudou deformace z nelineární viskoelastické oblasti

5.2.3.4 Shrnutí

Pro určení relaxace byly vybrány hodnoty průměru bodů paměťového modulu G' z konce prvního úseku měření při vícero opakováních. Tento modul byl vybrán právě proto že určuje schopnost hydrogelu vrátit se do původního stavu. Následně byly tyto hodnoty porovnány s přibližnou hodnotou bodů paměťového modulu G' na konci třetího úseku měření.

Tab. č. 4: Výsledky měření 3-ITT testu

	LVO			Bod křížení			za LVO		
	$G' 1$ (Pa)	$G' 3$ (Pa)	$G' 3/G' 1$ (%)	$G' 1$ (Pa)	$G' 3$ (Pa)	$G' 3/G' 1$ (%)	$G' 1$ (Pa)	$G' 3$ (Pa)	$G' 3/G' 1$ (%)
Alginát 0,4 M	31000	400	1,3	220	50	22,7	100	30	30,0
Alginát 1 M	97000	1600	1,7	190	45	23,7	160	75	46,9
Agaróza 1 hm. %	8500	1050	12,4	340	50	14,7	105	23	21,9
Agaróza 2 hm. %	19800	4800	24,2	980	200	20,2	175	50	28,6
PVA	1780	1530	86,0	220	100	45,5	90	20	22,2

Jak je vidět na tabulce, při měření v lineární viskoelastické oblasti měl největší schopnost relaxace PVA hydrogel, který díky svému chemickému síťování nejlépe odolával deformaci. V případě měření v lineární viskoelastické oblasti hydrogel zrelaxoval na 86 % původního stavu. Následovaly jej agaróзовé hydrogely, kdy koncentrovanější vzorek (2 hm. %) zrelaxoval a odolával deformaci přibližně 2× lépe nežli vzorek méně koncentrovaný. Nejmenší schopnost relaxace v tomto případě prokázaly gely alginátové, které zrelaxovaly pouze na 1,3 % u 0,4 M, potažmo 1,7 % u 1 M alginátového hydrogelu.

Při měření s amplitudou deformace vybranou v bodě křížení ztrátového a paměťového modulu $G' = G''$ došlo již u všech gelů k nevratné deformaci, kdy ztrátový modul převýšil modul paměťový. Nejvíce zrelaxoval PVA hydrogel, který zrelaxoval na 45,5 % původního stavu elastického modulu. Následovaly jej alginátové gely, které v tomto případě vykazovaly hodnoty relaxace 22,7 % respektive 23,7 %, nicméně vzhledem k měření hodnot v oblasti LVO, a tomu, že alginátové gely měly původně velmi vysoké hodnoty obou modulů, může být tato informace zavádějící. Nejmenší schopnost relaxace v tomto případě prokázaly agaróзовé

hydrogely. Překvapivé v tomto případě bylo, že procentuální hodnota relaxace koncentrovanějšího vzorku klesla ve srovnání s měřením v LVO, ale u méně koncentrovaného naopak stoupla. To mohlo být zapříčiněno již dostatečně velkou amplitudou deformace, kdy se větší množství vazeb u koncentrovanějšího vzorku již nevrátilo do původního stavu a také uvolněním vody ze struktury agarózového hydrogelu.

V nelineární viskoelastické oblasti, kdy hydrogely musely odolávat nejvyšším hodnotám amplitud po nejdelší dobu dominoval 1 M alginátový hydrogel. Nicméně tuto informaci musíme brát s rezervou, vzhledem k tomu, že výsledky mohly být částečně zkresleny vlivem velké amplitudy deformace a delšího času po který byly vzorky těmito vyššími amplitudám deformace vystaveny. Zároveň jak již bylo uvedeno, alginátové hydrogely prokazovaly na začátku, při měření s hodnotou amplitudy vybranou z LVO vysoké hodnoty viskoelastických modulů, které se zvýšením amplitudy razantně poklesly. Při namáhání vytékalo z jejich struktury velké množství vody a na měřícím senzoru zůstávala pouze pevná složka hydrogelu. Proto by se jako vypovídající měly uvažovat měření s amplitudami deformace v bodě křížení modulů a v lineární viskoelastické oblasti.

Celkově můžeme říct, že se zvyšujícími se hodnotami amplitud deformace docházelo k destrukci struktury hydrogelů rychleji a hydrogely již nebyly schopné relaxovat jako při nižších amplitudách deformace. V případě alginátových a agarózových hydrogelů byla vidět vzestupná tendence, nicméně vzhledem k jejich vysokým hodnotám viskoelastických modulů při měření v LVO musíme tyto výsledky brát s rezervou, protože se zvyšující se amplitudou deformace dochází k větší destrukci vzorků, a tím pádem i k zhoršení schopnosti relaxace vzorků, ne naopak. Nejlépe lze vidět tendenci ke schopnosti relaxace u PVA hydrogelu, kde se zvyšující se amplitudou deformace docházelo k postupnému poklesu schopnosti vzorků relaxovat.

6 ZÁVĚR

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo změřit relaxační vlastnosti různých typů hydrogelových systémů s odlišným způsobem síťování, při různých reologických měřeních. Byly navrženy, a proměřeny reologické testy na reometru, které byly zaměřeny právě na relaxaci a odezvu hydrogelů na různé typy namáhání. Pro měření těchto metod byly vybrány 4 modelové systémy, fyzikálně síťovaný hydrogel vodného roztoku agarózy, hydrogel vytvořený z hyaluronanu sodného síťovaný iontově pomocí Septonexu, alginát sodný, síťovaný pomocí CaCl_2 fyzikálně-chemicky a polyvinylalkoholový hydrogel, který byl síťovaný pomocí síťovacího činidla dekahydrátu tetraboritanu sodného jako chemicky síťovaný hydrogel.

Na základě amplitudových testů byly získány grafy závislosti paměťového a ztrátového modulu na amplitudě deformace. Dále byly z těchto grafů stanoveny hodnoty amplitud deformace pro body vybrané z LVO, a také body křížení $G' = G''$ u studovaných hydrogelů. Tyto hodnoty pak byly použity při testech frekvenčních a časových. Následně byly diskutovány rozdíly mezi jednotlivými hydrogely týkající se jejich viskoelastických vlastností a odezvy na amplitudu deformace. Zjistili jsme, že nejdelší lineární viskoelastickou oblast mají chemicky síťované PVA hydrogely, naopak nejmenší rozsah byl pozorován u fyzikálně-chemicky síťovaných hydrogelů alginátových. Vliv na délku měla také koncentrace, kdy se LVO se zvyšující se koncentrací u agarózových hydrogelů prodloužila, naopak u alginátových gelů byla LVO větší u hydrogelu s menší koncentrací.

Dále byly hydrogely proměřeny při frekvenčním testu. Měření probíhalo ve třech intervalech, kdy byly získány grafy závislosti ztrátového a paměťového modulu na frekvenci oscilací. Byly pozorovány změny v chování hydrogelů při zvyšování frekvence a amplitudy deformace, která byla v prvním kroku 1 %, ve druhém kroku 100 % a v posledním kroku opět 1 % a změně frekvence oscilací. Z grafů bylo zjištěno, že nejlépe probíhá relaxace do původního stavu u PVA hydrogelů, dále pak u hydrogelů kyseliny hyaluronové, agarózových hydrogelů a nejmenší relaxace proběhla v tomto případě u hydrogelů alginátových. Z těchto poznatků tedy plyne, že chemické síťování PVA hydrogelů nejlépe odolává amplitudě deformace, naopak fyzikálně-chemicky síťované alginátové hydrogely relaxují jen velmi málo.

V poslední části měření proběhl 3 ITT test, kde jsme ve třech krocích měřili časovou závislost obou viskoelastických modulů, při různých amplitudách deformace. Při měření tixotropních vlastností hydrogelů se ukázalo, že i přes nízké paměťové i ztrátové moduly nejlepší relaxační vlastnosti v porovnání s ostatními hydrogely prokazuje chemicky síťovaný PVA hydrogel. Nejmenší schopnost relaxace naopak po celou dobu měření prokazoval alginátový hydrogel, u kterého docházelo při namáhání k vytékání vody ze struktury hydrogelu a k nevratné deformaci již při nízkých amplitudách deformace. Opakovatelnost měření těchto testů pak nebyla vůbec snadná, vzhledem k nehomogenní struktuře hydrogelů.

Motivací pro studium relaxačních vlastností hydrogelů je následné využití získaných poznatků pro využití v biomedicínských aplikacích. Byly provedeny reologické testy, díky kterým jsme určili viskoelastické a relaxační vlastnosti, které byly těmito testy prokázány a porovnány. Získané poznatky pak mohou posunout výzkum relaxačních vlastností hydrogelů k využití v praxi. Vhodnou volbou koncentrace a výběrem hydrogelu by pak mohlo být možné modelovat potřebné vlastnosti hydrogelů. Všechny studované hydrogely mají obrovský potenciál uplatnit se v biomedicínských aplikacích, který stojí za to dále zkoumat.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ, 2005. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vyd. 5., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 80-7080-579x.
- [2] POUCHLÝ, Julius, 2008. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. Vyd. 3. Praha: Vydavatelství VŠCHT. ISBN 978-80-7080-674-6.
- [3] ROSIAK, J.M. a F. YOSHII. Hydrogels and their medical applications. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms [online]. 1999, č. 151 [cit. 2020-05-13]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168583X99001184>
- [4] BRUMMER, Rüdiger. *Rheology essentials of cosmetic and food emulsions*. New York: Springer, c2006. Springer laboratory. ISBN 35-402-5553-2.
- [5] JANALÍK, J.: Viskozita tekutin a její měření. 2010, VŠBTU, fakulta strojní Ostrava
- [6] KOGAN, Grigorij, Ladislav ŠOLTÉS, Robert STERN a Peter GEMEINER, 2006. Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnology Letters* [online]. 29(1), 17-25 [cit. 2020-07-28]. DOI: 10.1007/s10529-006-9219-z. ISSN 0141-5492. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10529-006-9219-z>
- [7] KRAUSE, Wendy E., Enrico G. BELLOMO a Ralph H. COLBY, 2001. Rheology of Sodium Hyaluronate under Physiological Conditions. *Biomacromolecules* [online]. 2(1), 65-69 [cit. 2020-06-25]. DOI: 10.1021/bm0055798. ISSN 1525-7797. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bm0055798>
- [8] LAURENT, Torvard C. a J. Robert E. FRASER, 1992. Hyaluronan 1. The FASEB Journal [online]. 6(7), 2397-2404 [cit. 2020-06-25]. DOI: 10.1096/fasebj.6.7.1563592. ISSN 0892-6638. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fasebj.6.7.1563592>
- [9] ZHU, Zhu, Yin-Min WANG, Jun YANG a Xu-Song LUO, 2017. Hyaluronic acid: a versatile biomaterial in tissue engineering. *Plastic and Aesthetic Research* [online]. 4(12), 219-27 [cit. 2020-07-18]. DOI: 10.20517/2347-9264.2017.71. ISSN 2349-6150. Dostupné z: <http://parjournal.net/article/view/2342>
- [10] STELLWAGEN, John a Nancy STELLWAGEN. Internal structure of the agarose gel matrix. *The Journal of Physical Chemistry*. 1995, vol. 99, no. 12, pp. 4247-4251. ISSN 1089-5639.
- [11] VEN, Seow a Abdul RANI, 2012. Discriminatory Power of Agarose Gel Electrophoresis in DNA Fragments Analysis. MAGDELDIN, Sameh, ed. *Gel Electrophoresis - Principles and Basics*. InTech, 2012-04-04. ISBN 978-953-51-0458-2.
- [12] ROBERTS, J.J. a P.J. MARTENS, 2016. Engineering biosynthetic cell encapsulation systems. *Biosynthetic Polymers for Medical Applications* [online]. Elsevier, 2016, s. 205-239 [cit. 2020-06-20]. DOI: 10.1016/B978-1-78242-105-4.00009-2. ISBN

- [13] RENN, Donald W. Agar and agarose: indispensable partners in biotechnology. *Industrial & Engineering Chemistry Product Research and Development* [online]. 1984, vol. 23, issue 1, s. 17-21 [cit. 2020-05-20]. DOI: 10.1021/i300013a004.
- [14] XIONG, Jun-Ying, Janaky NARAYANAN, Xiang-Yang LIU, Tan Kok CHONG, Shing Bor CHEN a Tai-Shung CHUNG. Topology Evolution and Gelation Mechanism of Agarose Gel. *The Journal of Physical Chemistry B* [online]. 2005, 109(12), 5638-5643 [cit. 2020-06-20]. DOI: 10.1021/jp044473u. ISSN 1520-6106.
- [15] LEE, Kuen Yong a David J. MOONEY. Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science* [online]. 2012, 37(1), 106-126 [cit. 2020-6-16]. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003. ISSN 00796700. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670011000918>
- [16] FOROUGHI, Javad, Azadeh MIRABEDINI a Holly WARREN, 2018. Hydrogels Fibers. HAIDER, Sajjad a Adnan HAIDER, ed. *Hydrogels* [online]. InTech, 2018-08-01 [cit. 2020-06-25]. DOI: 10.5772/intechopen.74188. ISBN 978-1-78923-368-1. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/hydrogels/hydrogels-fibers>
- [17] VLUGT-WENSINK, Karin D.F., Thijs J.H. VLUGT, Wim JISKOOT, Daan J.A. CROMMELIN, Ruud VERRIJK a Wim E. HENNINK. Modeling the release of proteins from degrading crosslinked dextran microspheres using kinetic Monte Carlo simulations. *Journal of Controlled Release* [online]. 2006, 111(1-2), 117-127 [cit. 2020-05-20]. DOI: 10.1016/j.jconrel.2005.11.021.
- [18] HASSAN, Christie M. a Nikolaos A. PEPPAS, 2000. Structure and Applications of Poly(vinyl alcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods. *Biopolymers · PVA Hydrogels, Anionic Polymerisation Nanocomposites* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, s. 37-65 [cit. 2020-07-28]. *Advances in Polymer Science*. DOI: 10.1007/3-540-46414-X_2. ISBN 978-3-540-67313-2. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/3-540-46414-X_2
- [19] MUPPALANENI, Srinath, 2013. Polyvinyl Alcohol in Medicine and Pharmacy: A Perspective. *Journal of Developing Drugs* [online]. 02(03) [cit. 2020-06-20]. DOI: 10.4172/2329-6631.1000112. ISSN 23296631. Dostupné z: <http://www.omicsgroup.org/journals/polyvinyl-alcohol-in-medicine-and-pharmacy-a-perspective-2329-6631.1000112.php?aid=21700>
- [20] KAMOUN, Elbadawy A., El-Refaie S. KENAWY, Tamer M. TAMER, Mahmoud A. ELMELIGY a Mohamed S. MOHY ELDIN, 2015. Poly (vinyl alcohol)-alginate physically crosslinked hydrogel membranes for wound dressing applications: Characterization and bio-evaluation. *Arabian Journal of Chemistry*. 8(1), 38-47
- [21] WAN, Wankei, A. Dawn BANNERMAN, Lifang YANG a Helium MAK, 2014. Poly(Vinyl Alcohol) Cryogels for Biomedical Applications. OKAY, Oguz, ed. *Polymeric Cryogels* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2014-5-10, s. 283-321 [cit.

- 2020-07-18]. *Advances in Polymer Science*. DOI: 10.1007/978-3-319-05846-7_8. ISBN 978-3-319-05845-0. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-05846-7_8
- [22] MEZGER, Thomas. *Applied rheology: with Joe Flow on rheology road*. 5st edition. Graz: Anton Paar, 2015. ISBN 39-504-0160-1.
- [23] BUSBY, Grahame A., M. Helen GRANT, Simon P. MACKAY a Philip E. RICHES, 2013. Confined compression of collagen hydrogels. *Journal of Biomechanics* [online]. **46**(4), 837-840 [cit. 2020-07-28]. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2012.11.048. ISSN 00219290. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021929012007002>
- [24] HOLUBOVÁ, Renata, 2014. *Základy reologie a reometrie kapalin*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. ISBN 978-80-244-4178-8
- [25] RHA, Chokyun, 1975. *Theories and Principles of Viscosity*. RHA, Chokyun, ed. Theory, Determination and Control of Physical Properties of Food Materials [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 1975, s. 7-24 [cit. 2020-07-28]. DOI: 10.1007/978-94-010-1731-2_3. ISBN 978-94-010-1733-6. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978-94-010-1731-2_3
- [26] YAMAOKA, Hisayo, Hirotaka ASATO, Toru OGASAWARA, et al., 2006. Cartilage tissue engineering using human auricular chondrocytes embedded in different hydrogel materials. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. **78A**(1), 1-11 [cit. 2020-07-25]. DOI: 10.1002/jbm.a.30655. ISSN 1549-3296. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbm.a.30655>
- [27] MEISSNER, Bohumil a Václav ZILVAR. *Fyzika polymerů: struktura a vlastnosti polymerních materiálů: celostátní vysokoškolská učebnice pro studenty vysokých škol chemicko-technologických*. 1. vyd. Praha: Bratislava: SNTL
- [28] WEITZ, David, Hans WYSS a Ryan LARSEN. Oscillatory Rheology: Measuring the Viscoelastic Behaviour of Soft Materials. *G.I.T Laboratory Journal*. 2007, 3(4), 68-70.
- [29] MACOSKO, Christopher W., 1994. *Rheology: principles, Measurements, and Applications*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag. ISBN 978-0-471-18575-8.
- [30] MEZGER, Thomas. *The Rheology Handbook: For users of rotational and oscillatory rheometers*. Hannover: Curt R. Vincentz Verlag. 2002. ISBN: 3878707452.
- [31] MOONEY, Melvin, 1931. Explicit Formulas for Slip and Fluidity. *Journal of Rheology* [online]. 2(2), 210-222 [cit. 2020-06-27]. DOI: 10.1122/1.2116364. ISSN 0097-0360. Dostupné z: <http://sor.scitation.org/doi/10.1122/1.2116364>
- [32] SUN, Tao Lin, Feng LUO, Wei HONG, et al. Bulk Energy Dissipation Mechanism for the Fracture of Tough and Self-Healing Hydrogels. *Macromolecules* [online]. 2017, **50**(7), 2923-2931 [cit. 2020-07-17]. DOI: 10.1021/acs.macromol.7b00162. ISSN 0024-9297. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.macromol.7b00162>
- [33] WRÓBEL, Jacek K., Ricardo CORTEZ a Lisa FAUCI, 2014. Modeling viscoelastic networks in Stokes flow. *Physics of Fluids* [online]. **26**(11) [cit. 2020-06-20]. DOI:

10.1063/1.4900941. ISSN 1070-6631. Dostupné z:
<http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.4900941>

- [34] CACCAVO, Diego, Sara CASCONI, Serena POTO, Gaetano LAMBERTI a Anna Angela BARBA, 2017. Mechanics and transport phenomena in agarose-based hydrogels studied by compression-relaxation tests. *Carbohydrate Polymers* [online]. **167**, 136-144 [cit. 2020-06-22]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.03.027. ISSN 01448617. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861717302837>
- [35] ZUIDEMA, Jonathan M., Christopher J. RIVET, Ryan J. GILBERT a Faith A. MORRISON, 2014. A protocol for rheological characterization of hydrogels for tissue engineering strategies. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* [online]. **102**(5), 1063-1073 [cit. 2020-07-02]. DOI: 10.1002/jbm.b.33088. ISSN 15524973. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbm.b.33088>
- [36] RIAL, Ramón, Zhen LIU a Juan M. RUSSO, 2020. Soft Actuated Hybrid Hydrogel with Bioinspired Complexity to Control Mechanical Flexure Behavior for Tissue Engineering. *Nanomaterials* [online]. **10**(7) [cit. 2020-06-24]. DOI: 10.3390/nano10071302. ISSN 2079-4991. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2079-4991/10/7/1302>
- [37] AHEARNE, Mark, Ying YANG, Alicia J EL HAJ, Kong Y THEN a Kuo-Kang LIU, 2005. Characterizing the viscoelastic properties of thin hydrogel-based constructs for tissue engineering applications. *Journal of The Royal Society Interface* [online]. **2**(5), 455-463 [cit. 2020-06-19]. DOI: 10.1098/rsif.2005.0065. ISSN 1742-5689. Dostupné z: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsif.2005.0065>
- [38] ROBERTS, Justine J., Audrey EARNSHAW, Virginia L. FERGUSON a Stephanie J. BRYANT, 2011. Comparative study of the viscoelastic mechanical behavior of agarose and poly(ethylene glycol) hydrogels. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* [online]. **99B**(1), 158-169 [cit. 2020-06-28]. DOI: 10.1002/jbm.b.31883. ISSN 15524973. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbm.b.31883>

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

8.1 Použité zkratky

PVA	poly(vinylalkohol)
LVO	lineární viskoelastická oblast
DMTA	dynamická mechanická tepelná analýza
3 D	trojdimenzionální
3-ITT	tříintevalový tixotropní test
HAp	hydroxyapatit
BSA	hovězí sérový albumin
PEG	poly(ethylenglykol)
LMW	light molecular weight
HMW	high molecular weight
Rpm	otáčky za minutu (rounds per minute)

8.2 Použité symboly

η^*	komplexní viskozita
G'	paměťový modul
G''	ztrátový modul
τ	smykové napětí
du	vzájemná rychlost pohybu smykových rovin
dx	vzdálenost smykových rovin
$\dot{\gamma}$	smyková rychlost
η	dynamická viskozita
F	síla
S	plocha
γ	relativní smyková deformace
τ_0	mez toku
δ	ztrátový úhel
r	poloměr
α	úhel kužele
L	délka
D	průměr
ω	radiální frekvence
γ_0	smyková deformace
τ_0	prahové smykové napětí