

Studium síťovacího procesu želatiny pomocí reologie

Karolína Procházková

Bakalářská práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Karolína Procházková
Osobní číslo: T22483
Studijní program: B0711A130009 Materiály a technologie
Specializace: Biomateriály a kosmetika
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Studium síťovacího procesu želatiny pomocí reologie

Zásady pro vypracování

Želatina je vhodný materiál pro přípravu strukturovaných povrchů s využitím v tkáňovém inženýrství. Tyto struktury se připravují pomocí aditivních technik včetně 3D tisku. Aby bylo možné želatinu tisknout a obdržet výtisk v požadovaném tvaru, je nutné správně zvolit celou řadu parametrů tak, aby síťovací systém vykazoval zpracovatelské okno, viskozita síťovaného roztoku umožnila zpracování tiskem a výtisk udržel požadovaný tvar. Tyto požadavky je možné odvodit pomocí reologických vlastností roztoků želatiny.

Student zpracuje literární rešerši na dané téma. V rámci experimentální části student připraví roztoky želatiny a vybraného síťovacího systému o různých koncentracích. Kinetiku síťování bude sledovat a charakterizovat pomocí rotačního reometru.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

1. J. M. Townsend, E. C. Beck, S. H. Gehrke, C. J. Berkland, M. S. Detamore. Flow behavior prior to crosslinking: The need for precursor rheology for placement of hydrogels in medical applications and for 3D bioprinting. *Progress in Polymer Science* 91 (2019) 126–140. doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2019.01.003
2. A.B. Bello, D. Kim, D. Kim, H. Park, S.H. Lee. Engineering and Functionalization of Gelatin Biomaterials: From Cell Culture to Medical Applications. *Tissue Eng Part B Rev.* 2020 Apr;26(2):164–180. doi: 10.1089/ten.TEB.2019.0256.
3. Dominique Hellio, Madeleine Djabourov. Physically and Chemically Crosslinked Gelatin Gels. *Macromol. Symp.* 2006, 241, 23–27. DOI: 10.1002/masy.200650904.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Markéta Ilčíková, Ph.D.**
Ústav fyziky a mater. inženýrství

Datum zadání bakalářské práce: **17. února 2025**
Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení bakalářské práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – bakalářskou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji, že

- jsem na bakalářské práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....
podpis autora

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá studiem kinetiky síťování želatiny a charakterizací jejích viskoelastických vlastností pomocí rotační reometrie. V teoretické části jsou shrnuty základní poznatky o biomateriálech, se zaměřením na želatinu jako přírodní biopolymer. Popsána je její struktura, funkční vlastnosti a způsoby síťování, včetně přehledu typů síťovacích činidel a reologických metod využívaných ke sledování procesu gelace.

Experimentální část se věnuje přípravě hydrogelů s různými hmotnostními poměry želatiny a síťovadla a jejich následné analýze pomocí reometru. Prováděná měření sledovala zejména bod gelace a závislost viskoelastických modulů G' (soufázového) a G'' (ztrátového) na frekvenci a deformaci při teplotách 25 °C a 37 °C. Získané výsledky ukázaly, že vyšší koncentrace síťovadla vede ke zkrácení doby gelace a ke zvýšení mechanické stability vzniklého gelu. Zjištěné poznatky mohou přispět k optimalizaci návrhu hydrogelových systémů pro využití v biomedicíně, farmacii a tkáňovém inženýrství.

Klíčová slova: želatina, síťování, reologie, viskoelasticita, hydrogel, rotační reometr, gelace, mechanické vlastnosti

ABSTRACT

This bachelor thesis focuses on the study of gelatin crosslinking kinetics and the characterization of its viscoelastic properties using rotational rheometry. The theoretical part summarizes the fundamental principles of biomaterials, with an emphasis on gelatin as a natural biopolymer. Its structure, functional properties, and crosslinking methods are discussed, along with an overview of crosslinking agents and rheological techniques employed to monitor the gelation process.

The experimental section involves the preparation of hydrogels with various weight ratios of gelatin to crosslinker and their subsequent rheological analysis. Measurements focused primarily on the gelation point and the dependence of viscoelastic moduli G' (storage modulus) and G'' (loss modulus) on strain and frequency at temperatures of 25 °C and 37 °C. The results demonstrated that higher crosslinker concentrations shorten the gelation time and enhance the mechanical strength of the hydrogels. These findings can support the design of functional hydrogel systems for applications in biomedicine, pharmaceuticals, and tissue engineering.

Keywords: gelatin, crosslinking, rheology, viscoelasticity, hydrogel, rotational rheometer, gelation, mechanical properties.

Na tomto místě bych ráda poděkovala všem, kteří mě podporovali a pomáhali mi při psaní této bakalářské práce. Především děkuji Ing. Markétě Ilčíkové, Ph.D. a Ing. Miroslavu Mrlíkovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, trpělivost a vstřícný přístup během celého procesu zpracování této práce. Mé poděkování patří také Bc. Tereze Ďurčové za její ochotu a pomoc při laboratorních pracích. Zvláštní poděkování si zaslouží i má kamarádka Veronika Sehnalová, která mě provázela celým studiem a její přátelství a podpora pro mě byly velkou oporou. V neposlední řadě děkuji své rodině za jejich trpělivost, povzbuzení a neustálou podporu po celou dobu mého studia a při psaní této práce.

„Každá branka má gólmana, ale i tak padají góly“.

OBSAH

ÚVOD.....	13
I TEORETICKÁ ČÁST.....	15
1 BIOMATERIÁLY.....	16
1.1 HISTORIE A VÝVOJ BIOMATERIÁLŮ.....	16
1.2 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA.....	17
1.3 ROZDĚLENÍ PODLE PŮVODU.....	18
1.3.1 Přírodní biomateriály	18
1.3.2 Syntetické biomateriály.....	19
1.4 ROZDĚLENÍ NA ZÁKLADĚ TYPU MATERIÁLU	20
1.4.1 Kovy.....	21
1.4.2 Keramika	21
1.4.3 Polymery	21
1.4.4 Kompozity.....	21
1.5 ŽELATINA.....	22
1.5.1 Struktura.....	22
1.5.2 Vlastnosti.....	23
1.5.3 Využití.....	24
2 SÍŤOVÁNÍ.....	25
2.1 FYZIKÁLNÍ SÍŤOVÁNÍ.....	25
2.2 CHEMICKÉ SÍŤOVÁNÍ.....	26
2.3 SÍŤOVADLA	26
2.3.1 Přírodní síťovací činidla.....	27
2.3.2 Syntetická síťovací činidla.....	28
3 STUDIUM KINETIKY SÍŤOVÁNÍ.....	29
3.1 METODY MĚŘENÍ KINETIKY SÍŤOVÁNÍ.....	29
3.2 REOLOGIE	29
3.2.1 Viskoelasticita	30
3.2.2 Bod gelace.....	30
3.2.3 Měření	31
4 APLIKACE.....	33
4.1 APLIKACE BIOMATERIÁLŮ.....	33
4.2 APLIKACE ŽELATINY	33
4.3 APLIKACE SÍŤOVADEL	35
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	36
5 HLAVNÍ CÍLE BAKALÁŘSKÉ PRÁCE	37
6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	38

6.1	PŘÍPRAVA MATERIÁLŮ.....	38
6.1.1	Příprava zásobního roztoku	38
6.1.2	Příprava vzorků	39
6.2	METODY CHARAKTERIZACE	40
6.2.1	Měření kinetiky síťování	42
6.2.2	Měření viskoelastických vlastností	42
6.2.3	Závislost modulů G' a G'' na deformaci	43
6.2.4	Závislost modulů G' a G'' na úhlové frekvenci	43
7	VÝSLEDKY A DISKUZE	44
7.1	KINETIKA SÍŤOVÁNÍ.....	44
7.2	MĚŘENÍ VISKOELASTICKÝCH VLASTNOSTÍ	47
7.2.1	Závislost modulů G' a G'' na deformaci – amplitudový test	47
7.2.2	Závislost modulů G' a G'' na úhlové frekvenci – frekvenční test.....	49
	ZÁVĚR.....	51
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	52
	SEZNAM OBRÁZKŮ	58
	SEZNAM TABULEK.....	59
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	60

ÚVOD

Želatina pochází z latinského slova *gelare*, což v překladu znamená zmrazit. Jedná se o přírodní biopolymer, který má velmi dlouhou historii. První zmínky o želatině se objevují již ve starověkém Egyptě, kde ji lidé získávali vařením živočišných tkání, zejména kůží a kostí zvířat. Pomocí této metody se získalo lepidlo, které se používalo například k výrobě oděvů. Jako lepidlo byla poprvé použita již v roce 6000 před naším letopočtem. Skutečný průlom v historii želatiny nastal na počátku 19. století, kdy se začala průmyslově vyrábět. V roce 1845 byl patentován proces extrakce želatiny, což vedlo k rozšíření její komerční výroby. Od poloviny 19. století se želatina začala vyrábět a nabízet ve formě prášku, což usnadnilo její dostupnost a použití. Díky tomu se stala oblíbeným želírovacím činidlem v potravinářství a její uplatnění se postupně rozšířilo také do farmaceutického a kosmetického průmyslu [1]. V dnešní době je želatina považována za důležitý biopolymer. Jako hlavní surovina se pro výrobu používá pojivová tkáň, která je obsažená v kůži, kosti a šlachách převážně prasat, skotu a ryb. Její formy se používají při výrobě velké řady produktů. Stala se běžnou součástí mnoha potravinářských výrobků. Nachází uplatnění také v kosmetice, biomedicině a lékařských oblastech [2].

Reologie je věda zaměřená na studium deformací a toku materiálů. Její kořeny sahají až do starověku, kdy filozof Hérakleitos svou známou větou „*panta rhei*“ (všechno teče) položil základy pozdějšího vývoje této disciplíny. Termín „reologie“ poprvé použil v roce 1929 americký chemik Eugene Bingham, který ji definoval jako vědu o deformaci a toku materiálů. Již v roce 1678 formuloval Robert Hooke zákon, který popisuje vztah mezi napětím a deformací, a o devět let později Isaac Newton vyvinul teorii viskozity. V 19. století Wilhelm Weber zkoumal viskoelastické chování materiálů a James Clerk Maxwell formuloval rovnici pro viskoelasticitu, která se stala základem pro studium materiálů mezi pevnými látkami a kapalinami. Maxwellův a Kelvinův model jsou dnes klíčové pro porozumění viskoelasticitě a proudění materiálů [3].

Cílem této práce je podrobně analyzovat kinetiku síťování želatiny a charakterizovat její viskoelastické vlastnosti za použití rotačního reometru. V teoretické části jsou představeny základní charakteristiky biomateriálů a jejich klasifikace. Dále se práce zaměřuje na přehled metod studia kinetiky síťování a představuje různé typy síťování želatiny. Závěr teoretické části je věnován aplikacím želatiny, včetně oblastí, v nichž se běžně využívá. Praktická část zahrnuje přípravu vzorků želatiny o různých koncentracích síťovacího činidla a jejich následných reologických měření, s cílem sledovat a popsat

kinetiku síťování. Znalost kinetiky síťování a viskoelastických vlastností umožňuje lépe pochopit, jak se želatina chová při různých podmínkách, což je zásadní pro jejich zpracování, ale také pro optimalizaci jejich funkcí v konkrétních aplikacích.

I. TEORETICKÁ ČÁST

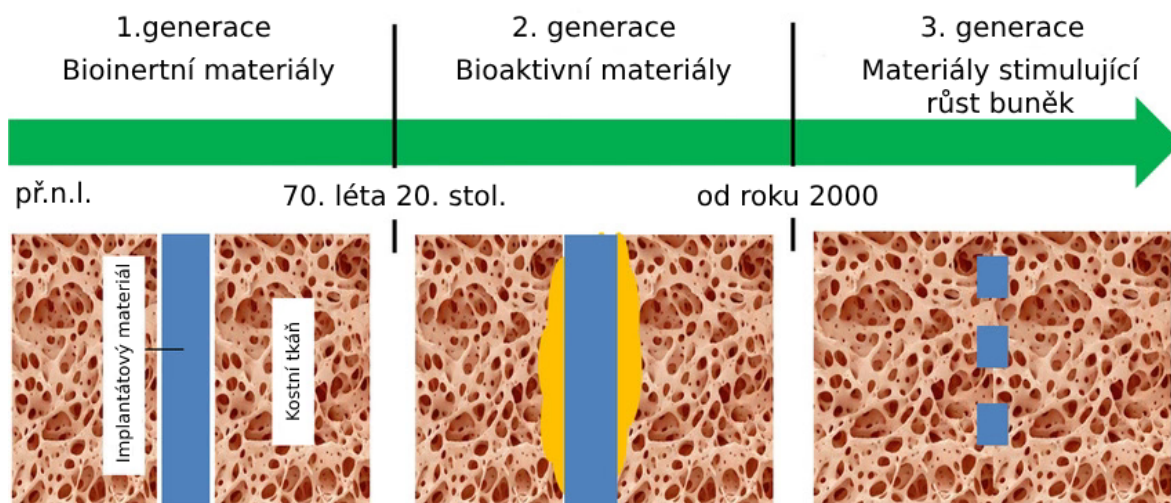
1 BIOMATERIÁLY

1.1 Historie a vývoj biomateriálů

Historie biomateriálů sahá až do starověku, kdy lidé využívali různé exogenní materiály k léčbě onemocnění a poranění. V Egyptě v roce 2000 př. n. l. byly například zvířecí šlachy používány jako stehy, slonovina k nahrazení ztracených zubů a dřevo k obnově chybějících kostí. V tomto období se pro náhradu kostních částí lidského těla experimentovalo i s mědí, ale implantáty, které z ní byly vyrobené selhávaly kvůli toxickým účinkům iontů mědi. Od 1. století př.n.l. se v Řecku a Indii začaly provádět první plastické operace na vojácích [4, 5].

Pokrok ve využití biomateriálů nastal až v moderní době. V roce 1891 proběhla v Německu první chirurgická operace náhrady kyčelního kloubu slonovinou. Od 19. století se běžně používaly kostní dlahy a ortézy, které sloužily k fixaci zlomenin po chirurgických zákrocích. V 50. letech 20. století byly vyvinuty první umělé srdeční chlopně, což vedlo k dalšímu pokroku ve tkáňovém inženýrství a regenerativní medicíně. Tento vývoj přinesl nové možnosti ve využití biomateriálů pro pokročilé zdravotnické aplikace [4, 5].

Vývoj biomateriálů zahrnoval 3 generace (Obrázek 1), z nichž každá přinesla významný pokrok a posun. První generace (50. až 80. léta 20. století) se zaměřovala na biologicky inertní materiály jako jsou sádra, kovy a bavlna. Tyto materiály se vyznačovaly snahou minimalizovat reakce s tělními tkáněmi, i když často vedly k problémům s kompatibilitou. Ve druhé generaci (80. a 90. léta 20. století) přišel posun k bioaktivním materiálům, které mohly interagovat s biologickými procesy, jako je například regenerace tkání. Mezi hlavní materiály patřily hydroxyapatit, kolagen a fibrin. Třetí generace (od 90. let 20. století až dodnes) zahrnuje biomateriály, které jsou navrženy tak, aby zlepšily přirozené a regenerační schopnosti těla [6].



Obrázek 1 Vývoj biomateriálů

(zdroj: upraveno dle – FARAG, Mohammad M. Recent trends on biomaterials for tissue regeneration applications: review. Online. Journal of Materials Science. 2023. ISSN 0022-2461. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10853-022-08102-x>. [cit. 2025-02-05].)

1.2 Obecná charakteristika

Biomateriály hrají důležitou roli v oblasti moderní medicíny, protože pomáhají obnovovat funkce a podporovat hojení při zranění nebo nemoci. Jedná se o materiály, které se využívají v lékařství k podpoře, posílení nebo nahrazení poškozených tkání nebo biologických funkcí. Mohou být buď přírodní nebo syntetické a při jejich výrobě se využívá různorodé množství materiálů jako jsou například kovy, keramika, plasty, sklo nebo živé buňky a tkáně. Materiály mohou být následně předělány do různých forem, které se následně využívají v biomedicínských produktech jako jsou zubní implantáty, kontaktní čočky nebo srdeční chlopně. Většina biomateriálů je vytvořena tak, aby byly biologicky odbouratelné, ale existují i takové, které jsou biologicky vstřebatelné, což znamená, že se postupně a přirozeně rozkládají v těle a následně jsou z těla vyloučeny. Biomateriály se vyznačují svou schopností přizpůsobovat se na různé medicínské aplikace, od dočasných struktur, které pomáhají k regeneraci tkání až po dlouhodobé implantáty zajišťující strukturální podporu. Tato přizpůsobivost je neustále zdokonalována díky pokrokům ve výzkumu jako je objevování nových materiálů a pokročilých výrobních technologií [7].

V současné době mají biomateriály stále větší význam a nacházejí uplatnění v různých oblastech. Důvodem je neustále se vyvíjející oblast medicíny a zpracování materiálů. Jsou široce využívány v mnoha oborech jako je například ortopedie, stomatologie, tkáňové

inženýrství, dodávání léků atd. Mohou být využity buď samostatně nebo jsou součástí biokompatibilního systému spolu s lidskými tkáněmi a orgány [4].

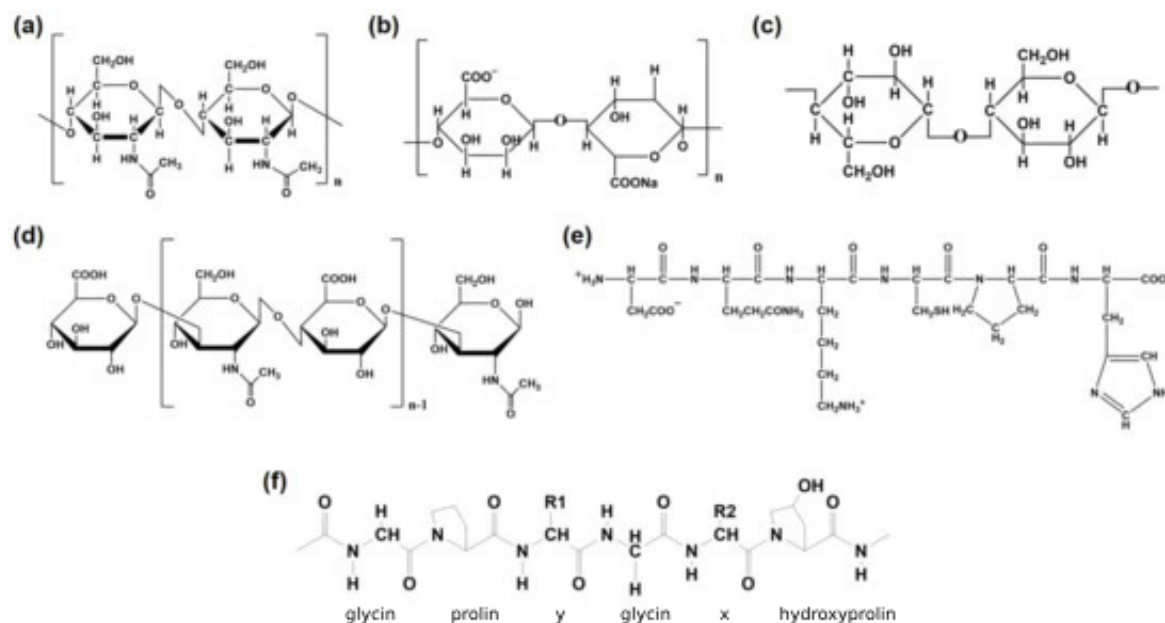
Biomateriály lze klasifikovat na základě několika kritérií. Můžeme je rozdělit podle původu, a to na přírodní nebo syntetické. Dále se dělí na základě typu materiálu, ze kterého jsou vyrobeny. Rozeznáváme 4 základní skupiny: kovy (nerezová ocel, titan), polymery (PLLA, PDS, nylon), keramika (oxid hlinitý), biokompozity. Dále existují dvě hlavní skupiny biomateriálů: biologicky odbouratelné a biologicky neodbouratelné. Co se týká reakce s živou tkání jsou biomateriály buď biologicky neaktivní, které mají jen minimální nebo žádnou interakci s okolními tkáněmi, zatímco biologicky aktivní materiály tuto interakci podporují. V oblasti tkáňového inženýrství můžeme biomateriály rozdělit podle využití, a to na dvě základní skupiny: pro tvrdé tkáně (kosti, zuby, chrupavky) a pro měkké tkáně (kůže, vazivo). Nakonec lze biomateriály klasifikovat podle jejich funkce na trvalé nebo dočasné implantáty, což závisí na délce jejich plánovaného použití po chirurgickém zákroku [4].

1.3 Rozdělení podle původu

Biomateriály lze rozdělit podle původu na dvě hlavní kategorie: přírodní a syntetické.

1.3.1 Přírodní biomateriály

Přírodní biomateriály jsou organické sloučeniny, získávány z různých zdrojů včetně rostlin, zvířat, hub, bakterií a řas. Dělí se do 4 skupin: materiály na bázi proteinů, polysacharidů, glykosaminglykanů a extracelulární matrice. Tyto materiály nacházejí uplatnění při obnově nebo náhradě poškozených tkání či orgánů, podpoře regenerace tkání, jako systém pro dodávání léčiv nebo k vývoji kostních lešení. Jejich hlavními výhodami jsou biokompatibilita, snadná dostupnost, obnovitelnost, nízká cena, a také nízké imunogenní vlastnosti. Využívají se hlavně v aplikacích tkáňového inženýrství. Přestože mají mnoho výhod, mají také nějaká omezení kvůli jejich rychlé degradaci. Někteří lidé na ně mohou mít také alergie, protože se získávají z různých živočišných zdrojů. Někteří významní zástupci přírodních biomateriálů jsou uvedeni na Obrázek 2 [5, 8, 9].

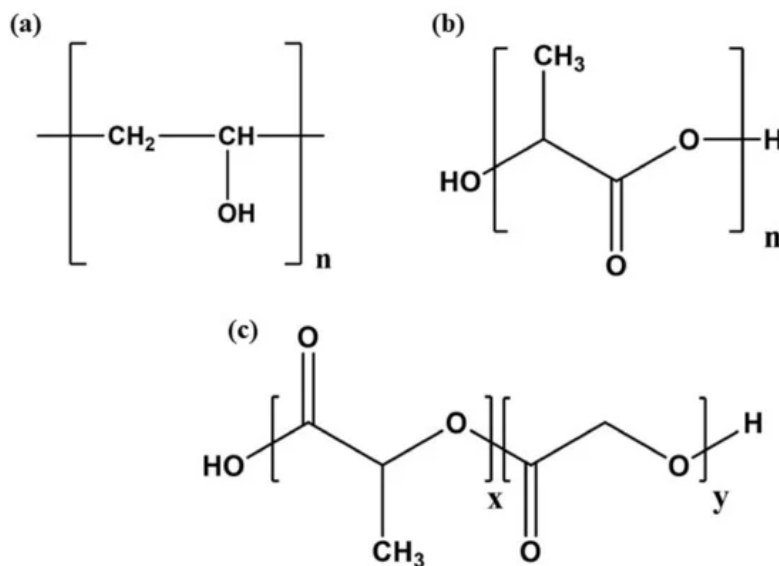


Obrázek 2 Chemická struktura přírodních polymerů (a) Chitin, (b) alginát sodný, (c) celulóza, (d) kyselina hyaluronová, (e) želatina a (f) kolagen.

(zdroj: upraveno dle – KALIRAJAN, Cheirmadurai; DUKLE, Amey; NATHANAEL, Arputharaj Joseph; OH, Tae-Hwan a MANIVASAGAM, Geetha. *A Critical Review on Polymeric Biomaterials for Biomedical Applications*. Online. *Polymers*. 2021. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym13173015>. [cit. 2025-02-04].)

1.3.2 Syntetické biomateriály

Jedná se o takové biomateriály, které jsou biokompatibilní a jejich vlastnosti lze přizpůsobit typu požadované aplikace. Vyrábí se z různých organických i anorganických materiálů a jejich kombinací. Hlavní rozdíl mezi syntetickými a přírodními biomateriály spočívá v tom, že syntetické mohou být vyráběny a upravovány kontrolovaným způsobem, což umožňuje dosáhnout specifických vlastností a stability. Oproti přírodním biomateriálům nabízejí mnoho výhod, mezi které patří například možnost standardizace, kontrola mechanických a chemických vlastností, úprava rychlosti degradace a vedlejších produktů. Mají také delší skladovatelnost a vyšší flexibilitu při tvarování. Schopnost buněk přichytit se na syntetické materiály může být ale méně účinná než u přírodních materiálů. Mezi zástupce patří například kyselina polymléčná (PLA), polyvinylalkohol (PVA), polykaprolakton (PCL), kyselina polyglykolová (PGA) nebo polyuretan (PU). Na Obrázek 3 jsou znázorněny chemické struktury nejčastěji používaných syntetických biomateriálů [8-10].

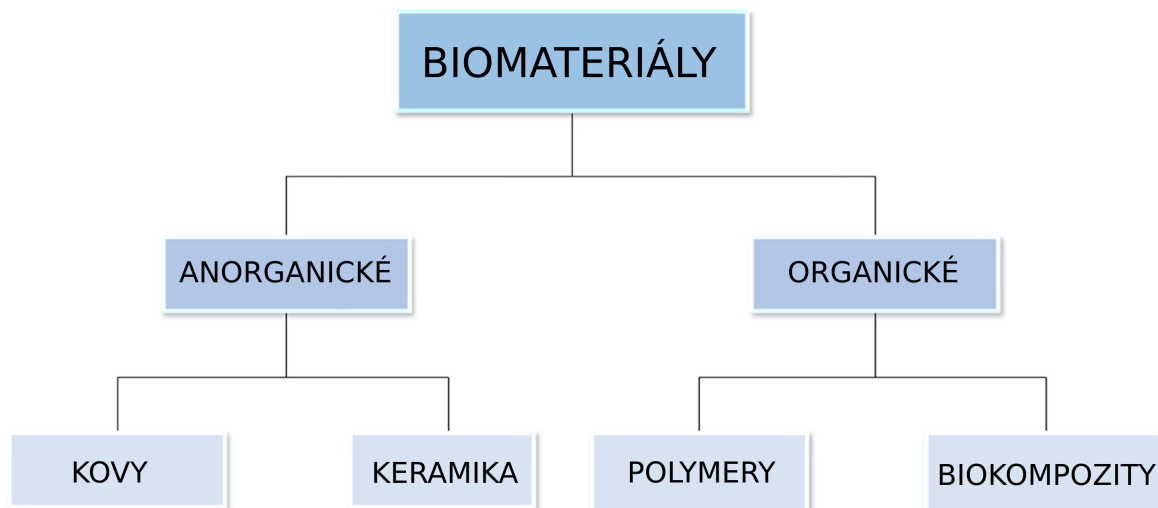


Obrázek 3 Chemická struktura syntetických polymerů (a) polyvinylalkohol (PVA), (b) kyselina polymléčná (PLA) a (c) kyselina poly(mléčná-ko-glykolová) (PLGA).

(zdroj: KALIRAJAN, Cheirmadurai; DUKLE, Amey; NATHANAEL, Arputharaj Joseph; OH, Tae-Hwan a MANIVASAGAM, Geetha. *A Critical Review on Polymeric Biomaterials for Biomedical Applications*. Online. Polymers. 2021. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym13173015>. [cit. 2025-02-04].)

1.4 Rozdělení na základě typu materiálu

Podle toho, z jakého materiálu jsou biomateriály vyrobeny rozeznáváme 4 hlavní kategorie, které jsou znázorněny na Obrázek 4.



Obrázek 4 Rozdělení biomateriálů na základě typu materiálu

(zdroj: upraveno dle – AJMAL, Sidra Ajmal; ATHAR HASHMI, Farzan a IMRAN, Iffat. *Recent progress in development and applications of biomaterials* Author links open

overlay panel. Online. In: ScienceDirect. 2022. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.04.233>. [cit. 2025-02-04].)

1.4.1 Kovy

Kovy patří mezi nejrozšířenější skupinu biomateriálů, díky svým výborným mechanickým vlastnostem. Jsou primárně určeny k náhradě poškozených tvrdých tkání jako jsou kosti, kolena nebo zubní implantáty. Nejpoužívanějšími kovovými biomateriály jsou slitiny železa jako je například nerezová ocel, slitiny titanu a molybdenu. Své využití nachází v ortopedii, stomatologii nebo chirurgii. Jako příklad biomateriálu vyrobeného z kovu jsou kostní dlahy, šrouby, steny, ortodontické dráty. Všechny lékařské implantáty musí mít vysokou biokompatibilitu a odolnost vůči opotřebení [4, 11].

1.4.2 Keramika

Keramické materiály se vyznačují nízkou tepelnou a elektrickou vodivostí. Jedním z příkladů biokeramiky je hydroxyapatit, který má vysokou tuhost a využívá se hlavně v zubních implantátech. I přes to, že má biokeramika nízkou pevnost v tahu, tak naopak její silnou stránkou je pevnost v tlaku, proto je vhodná pro specifické aplikace v medicíně. Využívá se zejména v oblasti osteoartrózy a stomatologie v mnoha aplikacích jako dentální náhrady, klouby, kostní náhrady [11].

1.4.3 Polymery

Polymery jsou považovány za nejvhodnější typ biomateriálů pro biomedicínské aplikace. Rozeznáváme dva typy polymerů: syntetické a přírodní. Mezi přírodní patří například kyselina hyaluronová, kolagen nebo želatina. Syntetické polymery se používají například při výrobě systémů pro dodávání léků, jednorázových lékařských potřeb a dentálních materiálech. Oproti keramice a kovovým slitinám mají řadu výhod, jako je flexibilita, nákladová efektivita a snadná úprava mechanických vlastností. Výhodou je také biokompatibilita, lehkost a schopnost biodegradace [4, 11].

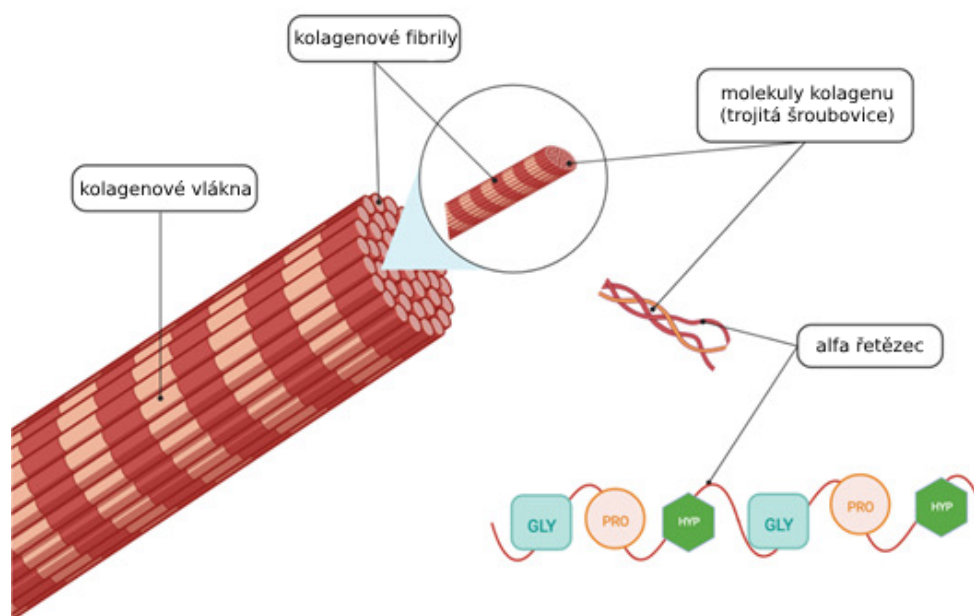
1.4.4 Kompozity

Posledním typem biomateriálů jsou kompozity. Jedná se o materiály, které vznikají kombinací dvou a více biologicky významných složek. Umožňují vytvářet materiály s vylepšenými mechanickými, chemickými a fyzikálními vlastnostmi. Používají se v mnoha odvětvích od průmyslových aplikací až po medicínu [11].

1.5 Želatina

Želatina pochází z latinského slova *gelare*, což v překladu znamená zmrazený nebo tuhý. Jedná se o přirozeně se vyskytující polymer, který se získává částečnou hydrolyzou kolagenu. Je obvykle dostupná ve formě tablet, granulí nebo prášku a před použitím často vyžaduje rozpuštění ve vodě [12].

Kolagen (Obrázek 5), hlavní zdroj želatiny se vyskytuje ve velkém množství v kůži, kostech, šlachách a vazech lidí a zvířat. Hlavními zdroji, ze kterých se želatina získává je kůže, kosti, šlachy a vazy, přičemž se získává především z prasat, skotu a ryb. Existují dva typy želatiny: typ A, který se vyrábí kyselou hydrolyzou například z vepřové kůže a typ B, získaný alkalickou hydrolyzou z kůže hovězí [2].



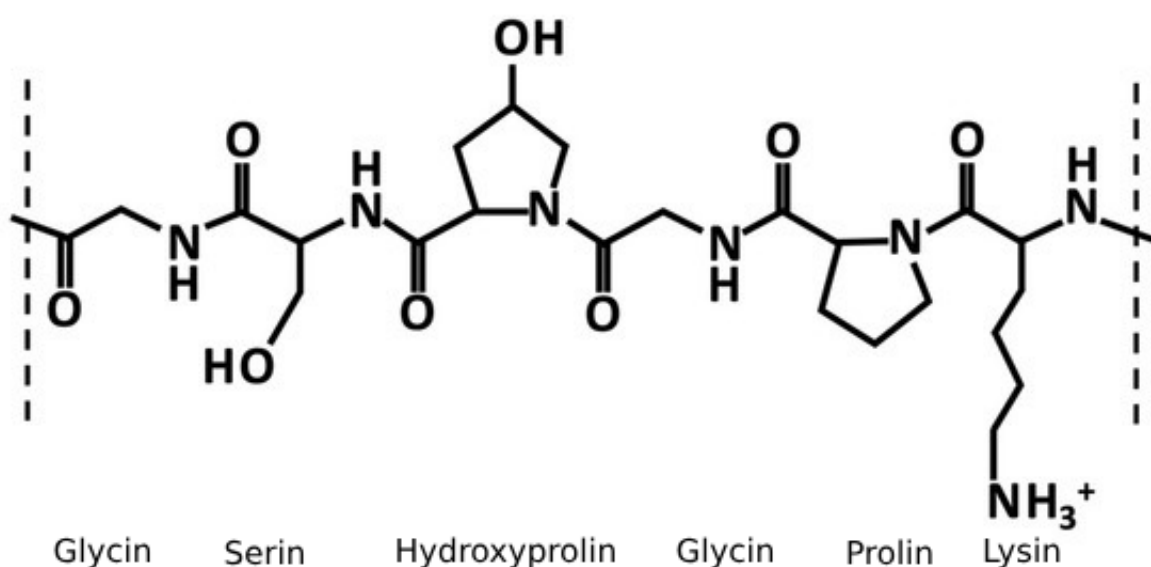
Obrázek 5 Struktura kolagenu

(zdroj: upraveno dle – AMBLI, Mouna; DERACINOIS, Barbara; RAVALLEC, Rozenn; CUDENNEC, Benoit a FLAHAUT., Christophe. *Gelatine, present use and future applications: Decryption of a high-value multi-purpose by-product of the agro-food industry*. Online. *Journal of Food Science and Nutrition Research*. 2023, roč. 06, č. 04. ISSN 26421100. Dostupné z: <https://doi.org/10.26502/jfsnr.2642-110000144>. [cit. 2025-05-14].)

1.5.1 Struktura

Želatina obsahuje 18 aminokyselin, ty nejběžnější jsou glycin, prolin a hydroxyprolin. Jedna třetina řetězce je tvořena glycinem, zatímco další třetinu tvoří prolin nebo hydroxyprolin. Želatina má strukturu podobnou kolagenu, která je charakterizována opakováním tripletu

(Gly-XY), kde X a Y jsou většinou prolin, respektive hydroxyprolin (Obrázek 6). Molekuly se skládají ze tří polypeptidových řetězců, kdy dva z nich jsou obvykle téměř stejné v souboru a sekvenci aminokyselin a třetí se od ostatních liší. Řetězce se navzájem ovíjejí a tvoří pravotočivou trojšroubovici. Želatina obsahuje přibližně stejný poměr kationtových, aniontových a hydrofobních skupin. Asi 13 % jejího polypeptidového řetězce tvoří kladně nabitě aminokyseliny jako je například lysin. Záporně nabitě aminokyseliny jako kyselina glutamová a asparagová představují zhruba 12 % a hydrofobní aminokyseliny jako leucin, isoleucin, methionin, valin tvoří asi 11 % [1, 13].



Obrázek 6 Chemická struktura fragmentu želatinového α -řetězce charakterizovaného opakováním tripletu (Gly-XY)

(zdroj: upraveno dle – MILANO, Francesca; MASI, Annalia; MADAGHIELE, Marta; SANNINO, Alessandro; SALVATORE, Luca et al. *Current Trends in Gelatin-Based Drug Delivery Systems: Properties, sources, process, applications, and commercialisation*. Online. *Pharmaceutics*. 2023. ISSN 1999-4923. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15051499>. [cit. 2025-02-04].)

1.5.2 Vlastnosti

Vlastnosti želatiny závisí na zdroji extrakce (koně, skot, prasata, ryby) a tkáni (kůže, šlachy, kosti, šupiny), věku zvířete a metodě hydrolýzy. Savčí želatina, která se získává z kostí, kůže má vysoký bod varu a pevnost gelu. Její molekulová hmotnost zajišťuje vysokou viskozitu a stabilitu gelu. Mezi vlastnosti hovězí želatiny patří gelotvornost, pevnost gelu a dobré filmotvorné vlastnosti. Nižší bod tání a gelovatění má rybí želatina, je pružná a transparentní. Často jsou nutné chemické nebo fyzikální úpravy k posílení její pevnosti [14].

Reologické vlastnosti želatiny jsou velmi důležité při výrobě různých produktů v potravinářství, lékařském a biomedicinském průmyslu. Mezi tyto vlastnosti patří teplota tání, teplota gelovatění, síla gelu a viskozita. Želatina se může roztavit při určité teplotě, její bod tání je blízký teplotě lidského těla. Reologické vlastnosti je možné měřit pomocí DSC (diferenciální skenovací kalorimetrie) nebo reometru, které určují teplotu tání a gelovatění. Důležitou vlastností je také viskozita, která společně s pevností gelu ovlivňuje její strukturu a využití [14].

Želatina vytváří termoreverzibilní gely s teplotou nižší než 37 °C, to dává potravinářským výrobkům kvalitu rozplývající se v ústech. Má také vlastnosti zadržující vodu, což ji pomáhá absorbovat vodu a udržovat strukturu gelu. Díky těmto schopnostem přispívá k prodloužení čerstvosti potravin, tím že omezuje vysychání a zlepšuje texturu výrobků [14].

1.5.3 Využití

Želatina má mnoho výhod například nízká cena, snadná dostupnost biologická odbouratelnost, je biokompatibilní a bioaktivní. Široce se využívá jako substrát pro výrobu velkého množství aplikací v biomedicíně, farmacii, kosmetice a potravinářství [13].

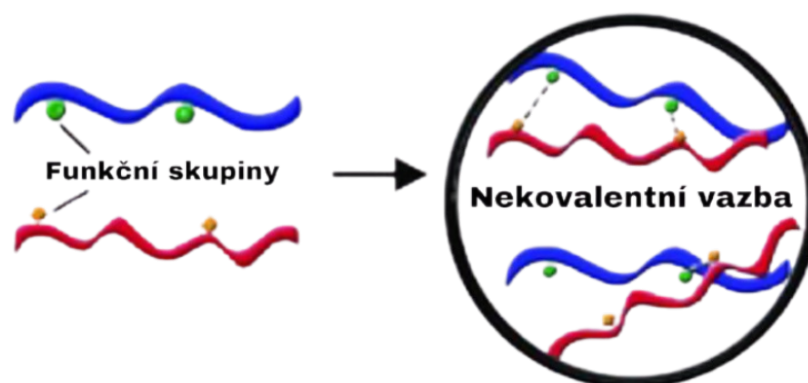
V potravinářství se využívá jako zahušťovadlo, emulgátor nebo stabilizátor. V kosmetickém průmyslu nachází uplatnění v různých produktech díky svému hydratačnímu účinku. Většinu využití má však ve farmacii, a to především jako pojivo při výrobě léků, materiál pro vývoj kapslí nebo jako matrice implantátů a obvazů na rány. V biomedicíně se používá jako biomateriál pro vývoj systémů dodávání léčiv a v tkáňovém inženýrství [13].

2 SÍŤOVÁNÍ

Síťování želatinových řetězců je důležitý krok pro přípravu hydrogelů. Jedná se o proces, při kterém se spojují dva polymerní řetězce za vzniku stabilní struktury. Dochází ke vzniku příčných vazeb, které ovlivňují strukturní vlastnosti hydrogelu. Při nižším stupni zesíťení se hydrogel stává pružnějším, při vyšším se zvyšuje jeho tuhost. Síťování zlepšuje pevnost, teplotu skelného přechodu a houževnatost, ale snižuje bod tání a viskozitu materiálu. Síťování také ale mění reologii polymerů, což může vést k problémům při zpracování. Rozeznáváme dva typy síťování: fyzikální a chemické [15].

2.1 Fyzikální síťování

Fyzikální síťování (Obrázek 7) zahrnuje vytváření nekovalentních vazeb mezi polymerními řetězci jako jsou van der Waalsovy síly, vodíkové vazby, hydrofobní interakce nebo elektrostatické interakce. Tyto vazby jsou krátkodobé, ale stačí k tomu, aby vytvořily nerozpustné hydrogely ve vodném prostředí. Vazby jsou však citlivé na zvýšenou teplotu, takže může dojít k rozpuštění gelu a někdy je potřeba použít chemické síťování. Hlavní výhodou fyzikálního síťování je, že při tomto typu síťování se nepoužívají žádné chemická síťovací činidla. Tyto hydrogely jsou proto efektivnější v použití v biomedicině, protože zabraňují riziku cytotoxicity. Fyzikální gely se nazývají jako termoplastické gely, protože je můžeme považovat za tepelně reverzibilní a viskoelastické pevné látky. Mají dlouhou dobu gelovatění. Nepřítomnost chemického zesíťování může být výhodná pro aplikace při pokojové teplotě [16-18].

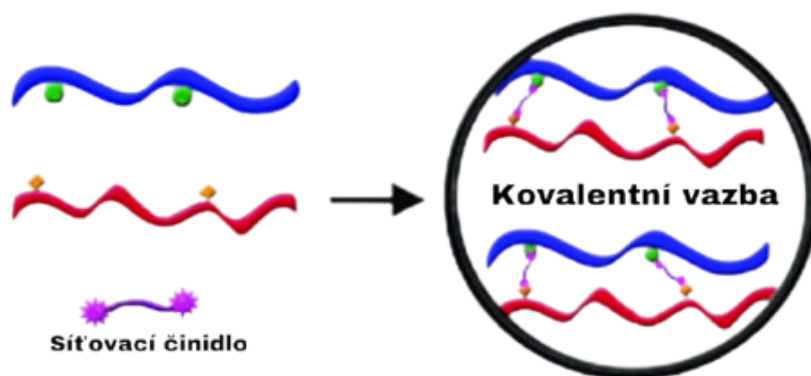


Obrázek 7 Fyzikální síťování

(zdroj: upraveno dle – RAMACHANDRAN, Roshini; JUNG, Dahee a M. SPOKOYNY, Alexander. Cross-linking dots on metal oxides. Online. In: NPG Asia Materials. 2019. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41427-019-0119-9>. [cit. 2025-02-04].)

2.2 Chemické síťování

Chemické síťování (Obrázek 8) patří mezi nejdůležitější a nejvíce používanou metodu při přípravě hydrogelů. Při chemickém síťování dochází k tvorbě kovalentních vazeb mezi polymerními řetězci. Oproti fyzikálnímu síťování se jedná o vazby, které jsou přirozeně silné a trvalé. Chemicky zesíťované hydrogely vznikají pomocí nevratných kovalentních vazeb s alespoň jedním síťovacím činidlem. Zesíťování kovalentních vazeb pomáhá hydrogelům udržovat dobrou stabilitu ve fyziologickém prostředí. Toto zesíťování se používá k přípravě přírodních a syntetických polymerních hydrogelů. Výhodou těchto hydrogelů je mechanická pevnost, odolnost proti ředění a omezená difuze ve srovnání s gely, které vzniknou při fyzikálním síťování [17-19].



Obrázek 8 Chemické síťování

(zdroj: upraveno dle – RAMACHANDRAN, Roshini; JUNG, Dahee a M. SPOKOYNY, Alexander. Cross-linking dots on metal oxides. Online. In: NPG Asia Materials. 2019. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41427-019-0119-9>. [cit. 2025-02-04].)

2.3 Síťovadla

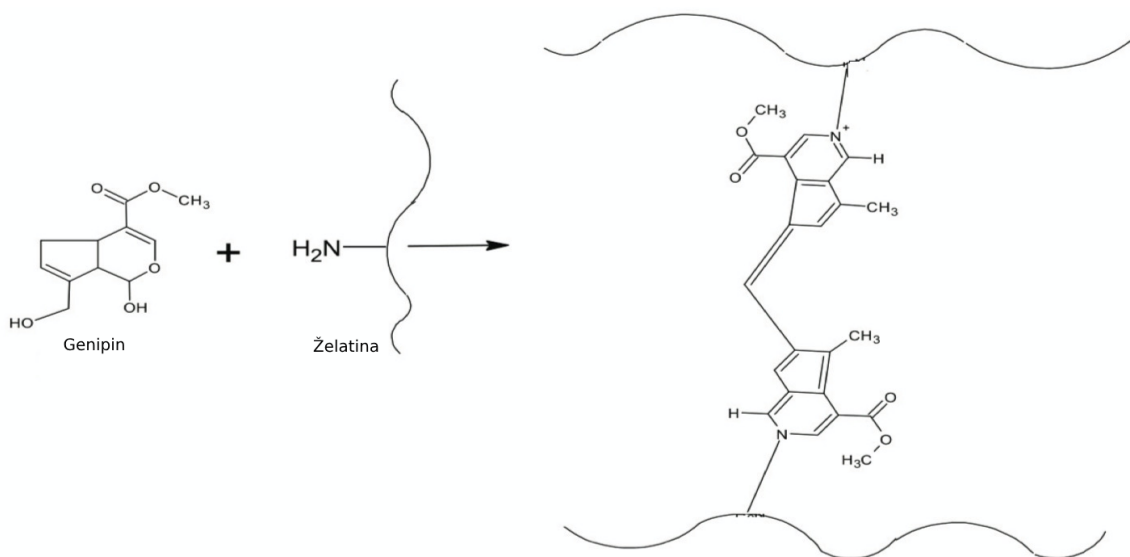
Vlastností síťovacích činidel je, propojování molekul, zvýšení molekulové hmotnosti a tím pádem poskytnutí vyšší mechanické pevnosti a stability. Jejich hlavní výhodou je schopnost zpevnit materiál. Díky tomu se materiály méně deformují a lépe odolávají jak vnějším, tak vnitřním silám a mají delší životnost. Další výhodou síťovacích činidel je jejich schopnost měnit vlastnosti materiálu. Podle toho, jaký typ síťovacího činidla je použit mohou být vlastnosti materiálu posíleny nebo potlačeny. Pro úpravu vlastností se používá řada síťovacích činidel, většina z nich je ale drahá a toxická, což vyžaduje zvláštní postupy při manipulaci. Výběr síťovacího činidla závisí na typu polymeru, požadovaných vlastnostech a aplikacích [20-22].

Nejčastěji používaná chemická síťovadla jako jsou glutaraldehyd, glyoxal, polyethylenglykol, karmoimidy, síťují polymery a ovlivňují pozitivně jejich vlastnosti. Nicméně některá chemická síťovadla jsou nebezpečná pro buňky v lidském těle, což vyžaduje složité procesy čištění pro odstranění nezreagovaných toxických sloučenin. Přírodní síťovadla mají stále větší význam, mají nižší cytotoxicitu nebo jsou úplně necytotoxická. Tvoří stabilní chemický zesíťované hydrogelové materiály s vysokou biokompatibilitou [23].

2.3.1 Přírodní síťovací činidla

Chemické sloučeniny nebo síťovadla pocházející z přírodních zdrojů, jako jsou rostliny, se označují jako přírodní síťovadla. Mezi nejčastěji používané patří genipin, kyselina citrónová, kyselina třísllová a vanilin [24].

Genipin je derivát glykosidů, které se používají k síťování proteinů a polysacharidů (Obrázek 9). Reaguje pouze s primárními aminoskupinami. Účinnost síťování je téměř podobná s účinností aldehydů, ale na rozdíl od glutaraldehydu je genipin netoxický. Hydrogely, které vzniknou při síťování s genipinem mají lepší mechanické vlastnosti a biokompatibilitu oproti těm co jsou zesíťované syntetickými síťovadly [23].



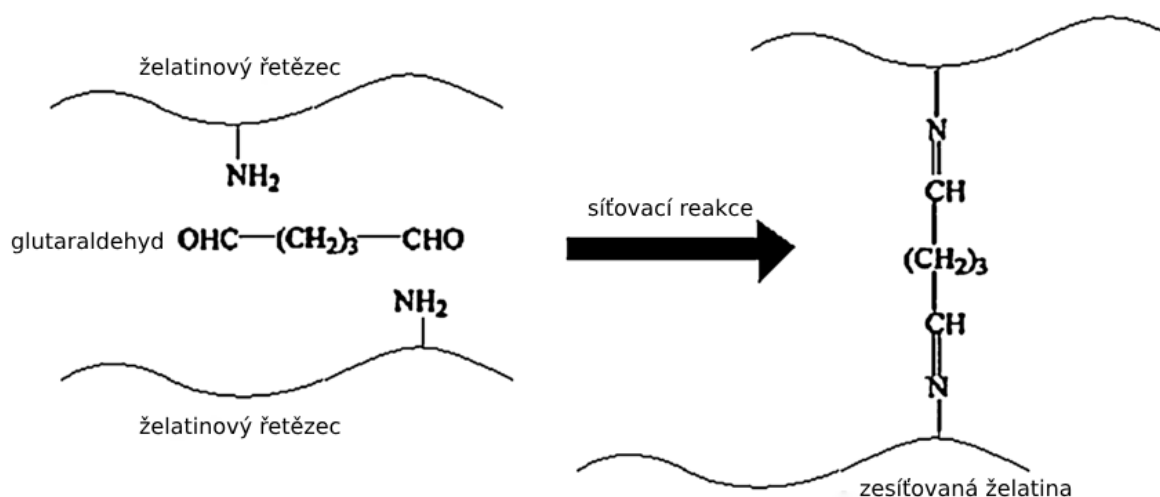
Obrázek 9 Síťovací reakce želatiny s genipinem

(zdroj: upraveno dle – ERGAN, Dermet; N. KOC, Serkan; OKSUZOMER, M. Faruk a YALCINTEPE, Leman. Synergistic effect of selenium and genipin triggers viability of 3T3 cells on PVA/Gelatin scaffolds. Online. In: Acta of Bioengineering and Biomechanics. 2022. Dostupné z: <https://doi.org/10.37190/abb-01944-2021-04>. [cit. 2025-02-04].)

2.3.2 Syntetická síťovací činidla

Syntetické síťovací činidla jsou považována za škodlivé jak pro člověka, tak i životní prostředí. Použití některých syntetických síťovacích činidel někdy vyžaduje další čisticí kroky v technologickém procesu [23].

Úplně nejčastěji používaným síťovacím činidlem je glutaraldehyd (Obrázek 10). Je rozpustný ve vodě a v organických rozpouštědlech. Výhodou je snadná dostupnost, nízká cena a vysoká reaktivita. Reaguje s hydroxylovými a aminovými skupinami v proteinech a polysacharidech. Biomedicínské materiály získané z jeho použití vykazují vysokou pevnost v tahu a dobré mechanické vlastnosti. Přítomnost aldehydových skupin v konečném produktu může být toxická pro buňky vedoucí k zánětu v organismu. Pro zmírnění těchto účinků jsou nezbytné čisticí procesy, například promývání hydrogelů roztoky aminokyselin. Maximální koncentrace glutaraldehydu by neměla překročit 8 % w/v, aby se efektivně eliminovaly [23].



Obrázek 10 Síťovací reakce želatiny s glutaraldehydem

(zdroj: upraveno dle – IMANI, Rana; RAFIENIA, Mohammad a HOJJATI EMAMI, Shahriar. *Synthesis and characterization of glutaraldehyde-based crosslinked gelatin as a local hemostat sponge in surgery: An in vitro study*. Online. In: *Bio-medical Materials and Engineering*. 2013. Dostupné z: <https://doi.org/10.3233/BME-130745>. [cit. 2025-02-04].)

3 STUDIUM KINETIKY SÍŤOVÁNÍ

Kinetika síťování je velmi důležitá při výrobě hydrogelů, protože určuje jak rychle a efektivně se tvoří příčné vazby mezi polymerními řetězci. Studium kinetiky síťování slouží k pochopení, jak se v průběhu reakce vyvíjí síťovací struktura a jak různé faktory ovlivňují finální vlastnosti daných hydrogelů. Ke studování tohoto procesu se používá řada různých metod.

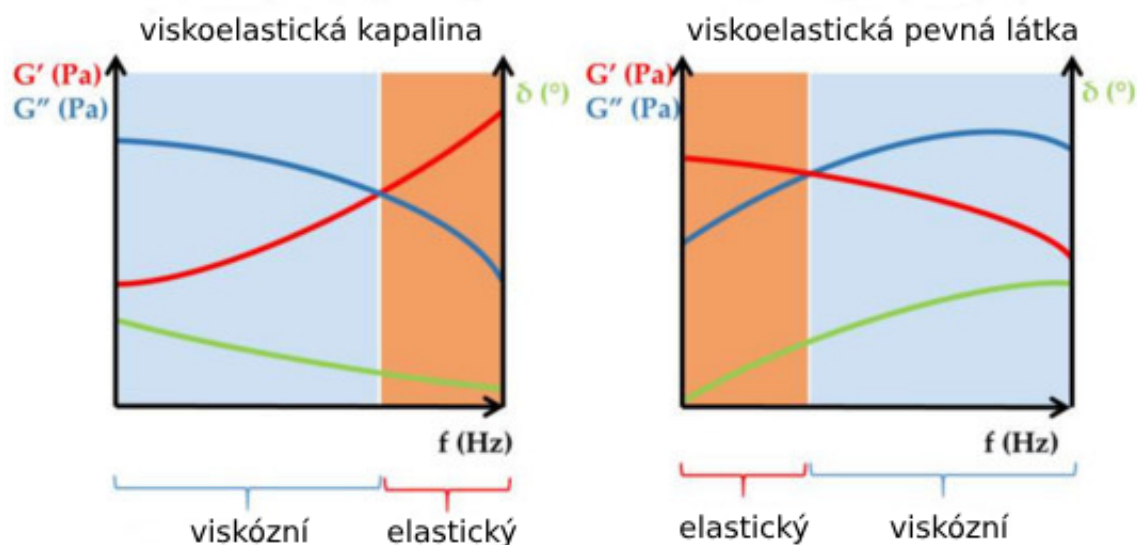
3.1 Metody měření kinetiky síťování

V dnešní době existuje řada metod, pomocí kterých lze měřit kinetiku síťování, včetně želatiny. Tyto metody sledují změny ve struktuře a vlastnostech materiálu během procesu síťování. Mezi ty, které se nejvíce používají patří reologické metody.

3.2 Reologie

Reologie je věda, která pochází z řeckého slova rheos, což v překladu znamená proudit nebo téct. Jedná se tedy o vědní obor zabývající se studium toku a deformace látek pod vlivem působení vnějších sil [25].

Důležitými veličinami v reologii jsou viskozita a elasticita. Pokud látky vykazují elastické chování znamená to, že po odeznění deformace způsobené vnější silou se vrátí zpět do původního tvaru. Toto chování je typické pro pevné látky. Viskózní chování se naopak vyskytuje u kapalin, u nichž po uvolnění vnější síly nedojde k obnově původní struktury. Látky, obsahující kombinaci těchto vlastností se nazývají viskoelastické (Obrázek 11) a jejich reakce na aplikovanou zátěž závisí na délce působení vnější síly [26].



Obrázek 11 Viskózní a elastický charakter viskoelastických materiálů

(zdroj: upraveno dle – BUDAI, Livia; BUDAI, Marianna; FÜLÖPNÉ PÁPAY, Zsófia Edit; VILIMI, Zsófia a ANTAL, István. *Rheological Considerations of Pharmaceutical Formulations: Focus on Viscoelasticity*. Online. Gels. 2023, roč. 9, č. 6. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/gels9060469>. [cit. 2025-03-12].)

Viskozitu želatiny ovlivňuje několik faktorů jako jsou koncentrace, pH a teplota. Při vysokých frekvencích převládá u želatinového gelu pružnost, naopak při nízkých frekvencích viskozita, chová se tedy jako kapalina [27].

3.2.1 Viscoelasticita

Viskoelastické vlastnosti zahrnují elastické a viskózní chování mají tedy tu schopnost, že mohou přecházet z viskózního charakteru na elastický a naopak [27].

Při měření viskoelastických vlastností se zaměřujeme na několik klíčových parametrů. Patří mezi ně souřadový modul (G'), který slouží k popisu elasticity a ztrátový modul (G'') k popisu viskozity. Celkové chování materiálu, které závisí jak na elasticitě, tak na viskozitě vyjadřuje komplexní viskozita (η^*). Poměr G''/G' je definován jako ztrátový faktor nebo ztrátová tangenta ($\tan \delta$) a poskytuje informaci o tom, zda se daný materiál chová jako pevná látka nebo kapalina. Bod, ve kterém se moduly protínají ($G'' = G'$), určuje teplotu přechodu a změny ve struktuře gelu [28, 29].

3.2.2 Bod gelace

Jednou z nejdůležitějších informací, kterou lze získat z reologických měření kinetiky síťování, je určení bodu gelace. Želatina během tohoto procesu přechází z formy sol na gel

přes kritický bod nazývaný bod gelace (GP). Při přechodu sol-gel dochází k fázové změně, kdy se síťující polymer mění z kapalného stavu do pevného [30].

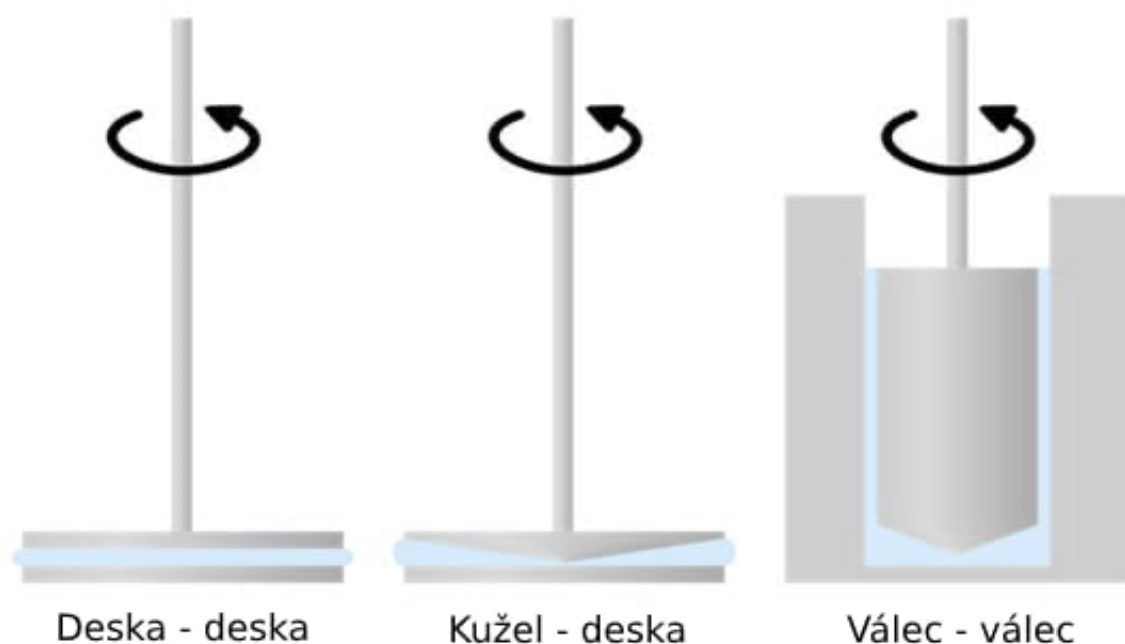
U želatiny je GP důležitý, představuje rovnováhu mezi měkkou deformací a mechanickou pružností. Teplota gelace označuje proces přechodu želatiny z náhodně svinuté struktury do stabilní trojšroubovicové formy [30].

Mezi nejběžnější způsoby, jak stanovit GP patří reologické měření [30].

3.2.3 Měření

Měření reologie můžeme provádět pomocí různých typů reometrů, které se však liší podle veličiny, kterou sledujeme, rozsahu měření nebo také podle složitosti a přesnosti samotného měření. Používají se výtokové pohárky, kuličkové viskozimetry, nízkotlaké a vysokotlaké kapilární viskozimetry nebo rotační reometry [31].

Rotační reometry slouží k analýze reologických vlastností různých materiálů. Umožňují měřit viskozitu, smykové napětí, rychlost smykové deformace nebo viskoelastické moduly. Jsou tvořeny dvěma částmi geometrie – rotorem, což je pohyblivá část a statorem část statická. Mezi těmito dvěma částmi je umístěn vzorek. Rozlišujeme 3 základní typy geometrií: deska-deska, kužel-deska, válec-válec (Obrázek 12). Každá je vhodná pro specifické typy materiálů a měření. Měření často probíhá ve dvou hlavních režimech, a to buď řízené smykové napětí nebo řízená rychlost smykové deformace. Ještě se mohou dělit podle pohyblivé část na Couettův (otáčí se vnější válec či dolní deska) a častější Searlův systém (rotační je vnitřní válec nebo horní deska) [31].



Obrázek 12 Základní typy geometrií

(zdroj: upraveno dle – HERRADA-MANCHÓN, Helena; FERNÁNDEZ, Manuel Alejandro a AGUILAR, Enrique. *Essential Guide to Hydrogel Rheology in Extrusion 3D Printing: How to Measure It and Why It Matters?* Online. *Gels*. 2023, roč. 9, č. 7. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/gels9070517>. [cit. 2025-03-12].)

4 APLIKACE

V této kapitole se zaměříme na využití různých typů biomateriálů, specificky na aplikace želatiny jako jednoho z významných biopolymerů a sít'ovadel, která umožňují modifikaci vlastností biomateriálů pro konkrétní medicínské účely.

4.1 Aplikace biomateriálů

Biomateriály nacházejí uplatnění v mnoha oblastech. Používají se zejména ve zdravotnictví, farmacii a technických vědách. V medicíně se vyskytují ve formě různých typů implantátů, umělých orgánů nebo jejich komponent, nosičů léků nebo jako prostředky pro spojování a regeneraci tkání. Jejich výhodou je schopnost fungovat v přímém kontaktu s biologickým prostředím bez vyvolání závažné imunitní reakce. Nejvýznamnějšími aplikacemi jsou tkáňové inženýrství, vývoj systému pro řízené uvolňování léčiv, chirurgické implantáty, zubní náhrady a různé nosné struktury [11, 32, 33].

Tkáňové inženýrství je významnou oblastí využití biomateriálů. Zde se využívají biomateriály jako tzv. scaffoldy neboli nosné struktury, které pomáhají růstu buněk a regeneraci poškozených tkání. Umožňují buněčnou adhezi, proliferaci i diferenciaci [5, 6].

Systémy řízeného uvolňování léčiv využívají biomateriály k vytvoření nosiče, který uvolňuje léčivou látku kontrolovaně v místě účinku. Nejčastěji se používají přírodní hydrogely díky své schopnosti absorbovat vodu a nabobtnat [8,13].

Biomateriály se také uplatňují ve výrobě implantátů, například umělých kloubů, cévních náhrad nebo šlachových vaziv. Stále více se rozvíjí také oblast 3D biotisku, kde se biomateriály používají jako tzv. bioinkousty pro výrobu živých tkáňových struktur [11, 13].

4.2 Aplikace želatiny

Díky svým unikátním vlastnostem jako je biokompatibilita, schopnost biologického rozkladu, nízká toxicita nachází uplatnění v mnoha různých průmyslových odvětvích (Obrázek 13) [12].

Největší oblastní využití želatiny je potravinářství, kde se využívá jako stabilizátor, zahuš'ovadlo a želírovací látka, která zlepšuje texturu a konzistenci výrobků. V cukrářství se využívá při výrobě želé, pěn, tvarohových krémů a ovocných salátů. Přidává se také do zmrzliny pro zlepšení její konzistence. V masných výrobcích jako jsou klobásy a šunky váže tekutiny a zajišťuje lepší tepelný přenos při vaření. Slouží také jako emulgátor v

cukrovinkách, stabilizátor mléčných a pekařských produktů a rafinační činidlo v ovocnářství [2, 34, 35].

V kosmetickém průmyslu je želatina ceněna pro své hydratační a filmotvorné vlastnosti. Používá se v krémech, šamponech a dalších produktech pro péči o pleť a vlasy. Díky své schopnosti vytvářet ochranný film na pokožce a vlasech želatina přispívá k jejich hydrataci a ochraně před vnějšími vlivy [2, 34].

Ve farmacii a medicíně se želatina využívá k potahování tablet, kapslí a doplňků stravy. Díky své biologické odbouratelnosti, biokompatibilitě a nízké antigenicitě je považována za vhodný materiál pro aplikace při hojení ran a regeneraci tkání [35, 36].

Želatina se také používá ve vzduchových filtrech k zachycení, detekci a analýze mikroorganismů přenášených vzduchem způsobujících alergické reakce. Tyto filtry lze sterilizovat a rozpustit ve vodě, což z nich činí vhodný nástroj pro mikrobiologický monitoring vzduchu [2, 37].



Obrázek 13: Aplikace želatiny

(zdroj: upraveno dle – JULIE CHANDRA, C. S.; SASI, Sreesh a BINDU SHARMILA, T. K. *Material Applications of Gelatin*. Online. *Handbook of Biopolymers*. 2023, s. 749-782. ISBN 978-981-19-0709-8. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-981-19-0710-4_28. [cit. 2025-05-7].)

4.3 Aplikace síťovadel

Síťovadla jsou chemické látky, které umožňují vytvoření trojrozměrné struktury polymerních materiálů. Tento proces je důležitý pro zlepšení mechanických, chemických a biologických vlastností materiálů, což má široké využití v různých průmyslových odvětvích.

V potravinářském průmyslu se síťovadla používají k úpravě textury a stability produktů, jako jsou želatiny a gely. Například při výrobě želatiny síťování polymerů zajišťuje požadovanou pevnost a stabilitu textury, což je důležité pro zajištění kvalitního výrobku, který si udržuje požadovanou konzistenci i po delší dobu [38].

Síťovadla mají významnou roli také v oblasti farmaceutického průmyslu, především při výrobě hydrogelů pro řízené uvolňování léčiv. Pomocí síťovacích činidel se vytvářejí stabilní a biokompatibilní polymerní sítě, které umožňují postupné a kontrolované uvolňování aktivních látek [39].

V biomedicínských aplikacích, jako je tkáňové inženýrství, se síťovadla používají pro vytváření materiálů, které podporují růst buněk a regeneraci tkání. Síťování polymerních materiálů zajišťuje jejich biologickou kompatibilitu a stabilitu, důležitou pro jejich použití v medicíně. Například genipin, přírodní síťovadlo, je široce využíván pro výrobu biokompatibilních materiálů, které mohou být použity jako náhrady tkání nebo pro cílené dodávání léčiv do organismu [40].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 HLAVNÍ CÍLE BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Cílem této bakalářské práce bylo připravit a charakterizovat želatinové hydrogely s přídavkem síťovadla v různých hmotnostních poměrech a následně sledovat, jak tyto změny ve složení ovlivňují jejich reologických vlastnosti. Hlavní pozornost byla zaměřena na to, jak souvisí množství použitého síťovadla s mechanickou stabilitou výsledných gelů.

V první části práce byly připraveny vzorky želatiny se síťovadlem ve čtyřech různých hmotnostních poměrech (1:1, 1:2, 1:4 a 1:8). Po jejich přípravě následovalo sledování kinetiky síťování, tedy časového průběhu gelace, pomocí reologických měření, která umožňují sledovat změny mechanických vlastností vzorků v čase.

Další část práce se zaměřila na detailní studium viskoelastického chování připravených hydrogelů. Pomocí reometrických měření byly stanoveny hodnoty soufázového modulu (G') a ztrátového modulu (G'') v závislosti na velikosti deformace (oscilace) a úhlové frekvenci. Tato měření byla provedena jak při laboratorní teplotě (25 °C), tak při teplotě blízké fyziologickým podmínkám (37 °C), aby bylo možné porovnat chování vzorků v odlišných tepelných podmínkách.

Výsledky získané v průběhu experimentální části byly následně vyhodnoceny a porovnány s cílem posoudit, jak koncentrace síťovadla ovlivňuje mechanické a reologické vlastnosti želatinových hydrogelů. Práce tak přispívá k lepšímu pochopení chování těchto materiálů a jejich potenciálnímu využití například v oblasti tkáňového inženýrství, 3D tisku nebo k přípravě biomedicínských materiálů.

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Příprava materiálů

Želatinové hydrogely byly připraveny smícháním želatiny (typ A, z vepřové kůže, prášková forma, ~300 Bloom; Sigma-Aldrich, USA), destilované vody připravené pomocí systému Milli-Q® Simplicity UV (Millipore, nyní Merck, USA) a roztoku síťovadla obsahující funkční skupiny pro efektivní reakci s funkčními skupinami želatiny. Cílem bylo získat materiály s odlišnou strukturou a fyzikálně-chemickými vlastnostmi v závislosti na stupni zesíťování.

6.1.1 Příprava zásobního roztoku

V první fázi experimentu byl připraven zásobní roztok želatiny. K přípravě bylo použito přesně 2,1 g želatiny a 11,4 g destilované vody. Želatina byla navážena na analytických vahách (VWR TA Professional, model: TA 614i, hmotnostní rozsah: 610 g, čitelnost: 0,1 mg, průměr velikosti plošiny: 80 mm, linearita: $\pm 0,6$ mg, přesnost na 4 desetinná místa). Poté byla přenesena do Erlenmeyerovy baňky se zábrusem o objemu 100 ml.

Následně byla do baňky s želatinou automatickou pipetou přidána destilovaná voda v požadovaném množství. Do baňky bylo vloženo magnetické míchadlo, které umožnilo rovnoměrné promíchávání roztoku. Erlenmeyerova baňka byla následně potřena mazadlem na zábrus, aby se zajistila vzduchotěsnost, a uzavřena skleněnou zátkou.

Poté byla baňka umístěna do olejové lázně na magnetickém míchadle s funkcí ohřevu (Hei-Tech (Heidolph Instruments, Německo) s připojeným teplotním senzorem PT1000). Teplota olejové lázně byla nastavena na 70 °C. Roztok byl zahříván na tuto stanovenou teplotu, přičemž bylo pečlivě sledováno, aby teplota v baňce dosáhla a stabilizovala se na hodnotě 70 °C. Jakmile byla teplota stabilizována, bylo zahájeno míchání. Míchání probíhalo po dobu 1 hodiny a 30 minut, což umožnilo důkladné a rovnoměrné rozpuštění želatiny a vytvoření homogenního roztoku.

Po důkladném promíchání byl roztok ochlazen na laboratorní teplotu. Takto připravený zásobní roztok želatiny byl dále použit pro přípravu jednotlivých vzorků určených k měření kinetiky síťování a viskoelastických vlastností.

6.1.2 Příprava vzorků

V rámci experimentální části byly připraveny dvě skupiny vzorků – první pro sledování průběhu síťování v čase a druhá pro stanovení viskoelastických vlastností po úplném vytvoření gelu (Obrázek 14). V obou případech byly vzorky připravovány za použití různých hmotnostních poměrů želatiny a síťovadla, a to 1:1, 1:2, 1:4 a 1:8. Příprava probíhala za kontrolovaných podmínek s důrazem na přesnost dávkování a homogenizaci směsí, aby bylo zajištěno srovnatelné chování jednotlivých vzorků.

Pro studium kinetiky síťování byly připraveny vzorky želatiny se síťovadlem v různých hmotnostních poměrech. Z připraveného roztoku želatiny bylo automatickou pipetou odebráno vždy 1,35 g do předem označených vialek. Do každé vialky bylo následně přidáno odpovídající množství síťovadla rozpuštěného ve vodě (viz Tabulka 1), tak aby bylo dosaženo požadovaného poměru mezi želatinou a síťovadlem (1:1, 1:2, 1:4, 1:8).

Tabulka 1 Množství síťovadla a destilované vody při různých poměrech síťovadlo/želatina

Poměr síťovadlo/želatina	Želatinový roztok [g]	Množství síťovadla [μl]	Destilovaná voda [μl]
1:1	1,35	665	x
1:2	1,35	335	317,5
1:4	1,35	166	483,75
1:8	1,35	83	566,875

(zdroj: vlastní)

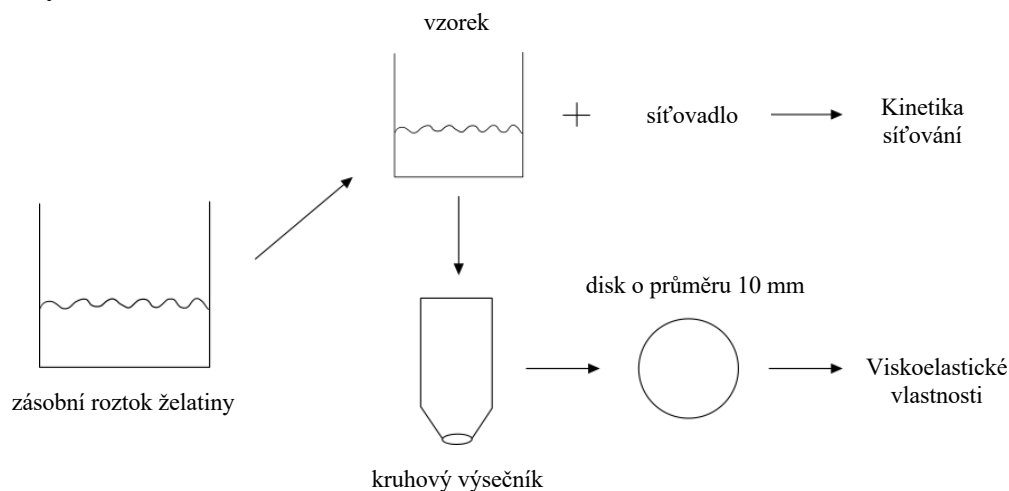
Pro zajištění stejné celkové hmotnosti všech vzorků byla každá směs doplněna destilovanou vodou v určitém množství (viz Tabulka 1) do celkové hmotnosti 2 g. Tím bylo dosaženo konzistentních podmínek pro srovnání výsledků mezi jednotlivými variantami vzorků.

Po přidání síťovadla a doplnění vody byly do vialek vloženy malé magnetické míchačky a vzorky byly umístěny na magnetické míchadlo s ohřevem. Homogenizace probíhala při teplotě 35 °C po dobu 5 minut, což zajistilo rovnoměrné rozptýlení síťovadla v celém objemu roztoku. Tento krok byl důležitý pro správný průběh síťovacích reakcí a následné spolehlivé měření kinetiky síťování.

Vzorky určené k měření viskoelastických vlastností byly připravovány stejným způsobem jako vzorky použité při měření kinetiky síťování, tedy mícháním želatinového roztoku se síťovadlem v různých hmotnostních poměrech (1:1, 1:2, 1:4, 1:8).

Po ukončení homogenizace byly všechny vzorky ponechány stát při laboratorní teplotě po dobu 24 hodin, aby proběhla úplná síťovací reakce a vzorky mohly vytvořit stabilní gelovou strukturu.

Následující den byl z každého vzorku vyřezán disk o průměru 10 mm za použití kruhového výsečníku. Připravené disky byly následně umístěny na měřicí geometrii reometru, kde probíhalo samotné měření viskoelastických vlastností. Měření byla prováděna při dvou teplotách – 25 °C a 37 °C – za účelem posouzení teplotní závislosti mechanického chování gelů. Během měření byly sledovány klíčové reologické parametry: soufázový modul (G'), který popisuje elastické (pevnostní) vlastnosti materiálu, a ztrátový modul (G''), který vyjadřuje viskózní (tekuté) chování. Tyto parametry poskytují souhrnný pohled na mechanické chování gelů a umožňují porovnání mezi jednotlivými vzorky v závislosti na poměru želatiny a síťovadla.



Obrázek 14 Schéma přípravy vzorků

(zdroj: vlastní)

6.2 Metody charakterizace

Tato část popisuje experimentální postupy použité ke sledování kinetiky síťování a stanovení viskoelastických vlastností připravených želatinových vzorků. Zahrnuje rovněž specifikaci měřicího přístroje a parametry jednotlivých měření.

Obě měření se uskutečnily na přístroji zvaném rotační reometr Anton Paar MCR-502 (Obrázek 15). Měření probíhalo na spodní desce přístroje známé jako Peltierova cela, která zajišťuje přesnou regulaci teploty vzorku během měření. Pro měření byla zvolena geometrie měření deska-deska s horní geometrií PP50 o průměru 50 mm v případě kinetiky síťování a PP10 o průměru 10 mm pro měření viskoelastických vlastností.



Obrázek 15 Rotační reometr Anton Paar MCR-502

(zdroj: vlastní)

Měřenými reologickými parametry byly:

- Soufázový modul G' (storage modulus) – popisuje elastické vlastnosti materiálu
- Ztrátový modul G'' (loss modulus) – charakterizuje viskózní vlastnosti materiálu
- Komplexní viskozita η^* – popisuje kombinaci viskózního a elastického chování.

V obou typech měření byla sledována teplotní závislost těchto parametrů s cílem vyhodnotit, jak různé hmotnostní poměry síťovadla a želatiny ovlivňují mechanické chování výsledného gelu.

6.2.1 Měření kinetiky síťování

Pro měření kinetiky síťování byly připraveny vzorky želatinového roztoku s různými hmotnostními poměry síťovacího činidla ku želatině, a to konkrétně v poměru 1:1, 1:2, 1:4, 1:8. Každý vzorek byl ihned po smíchání přenesen injekční stříkačkou (množství 1,8 ml) na reometr, kde bylo zahájeno měření. Měření probíhalo při konstantní teplotě 30 °C a bylo zaznamenáváno po dobu několika hodin. Každý ze vzorků byl změřen 2x.

Vzorky byly měřeny pomocí horní měřicí geometrie PP50 o průměru 50 mm. Po umístění vzorku na spodní desku přístroje byla aplikována malá oscilace s cílem sledovat časový vývoj G' a G'' . Tento postup nám poté umožnil určit bod gelace, tedy okamžik, kdy se soufázový a ztrátový modul protínají ($G' = G''$). Tento bod označuje přechod systému z kapalného stavu do pevné gelové struktury, tedy samotný proces tvorby gelu.

6.2.2 Měření viskoelastických vlastností

Pro hodnocení viskoelastických vlastností byly připraveny vzorky obsahující želatinu a síťovadlo v různých hmotnostních poměrech 1:1, 1:2, 1:4, 1:8. Po ukončení síťovací reakce, která probíhala při pokojové teplotě po dobu 24 hodin, byly z každého vzorku vyříznuty disky o průměru 10 mm pomocí kruhového výsečníku. Tyto disky byly následně použity pro měření viskoelastických vlastností na rotačním reometru.

Měření probíhalo pomocí geometrie deska-deska s horní deskou o průměru 10 mm (PP10), která je vhodná pro analýzu malých vzorků a umožňuje přesné měření v malém rozsahu deformace. Vzorky byly umístěny na spodní měřicí desku. Po upnutí vzorku mezi měřicí desky byla provedena kalibrace a následně zahájeno měření.

Během měření byly sledovány dva typy závislostí:

- Závislost soufázového a ztrátového modulu na deformaci (amplitudový test)
- Závislost soufázového a ztrátového modulu na úhlové frekvenci (frekvenční test)

Byly provedeny amplitudové a frekvenční testy při dvou teplotách – 25 °C a 37 °C. Testy byly aplikovány na vzorky připravené s různými hmotnostními poměry síťovadla a želatiny (1:1, 1:2, 1:4, 1:8), přičemž každý vzorek byl měřen dvakrát. Výsledky ukazují závislosti reologických parametrů (G' a G'') na amplitudě deformace a na úhlové frekvenci.

6.2.3 Závislost modulů G' a G'' na deformaci

Cílem tohoto testu bylo stanovit lineární viskoelastickou oblast (LVE) – tedy rozsah deformací, ve kterém si materiál zachovává své mechanické vlastnosti a jeho struktura není narušena. V této oblasti zůstávají hodnoty G' a G'' konstantní, nezávislé na velikosti deformace.

Určení této oblasti je klíčové pro následná měření (zejména frekvenční analýzu), která musí být prováděna právě v rámci LVE, aby výsledky odpovídaly skutečným vlastnostem vzorku.

6.2.4 Závislost modulů G' a G'' na úhlové frekvenci

Ve druhé sérii reologických měření byla hodnocena frekvenční závislost soufázového modulu (G') a ztrátového modulu (G'') v rozsahu úhlových frekvencí od 0,1 do 100 $\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}$. Měření byla prováděna u všech čtyř připravených vzorků s různými poměry želatiny a síťovadla (1:1, 1:2, 1:4 a 1:8) při teplotách 25 °C a 37 °C.

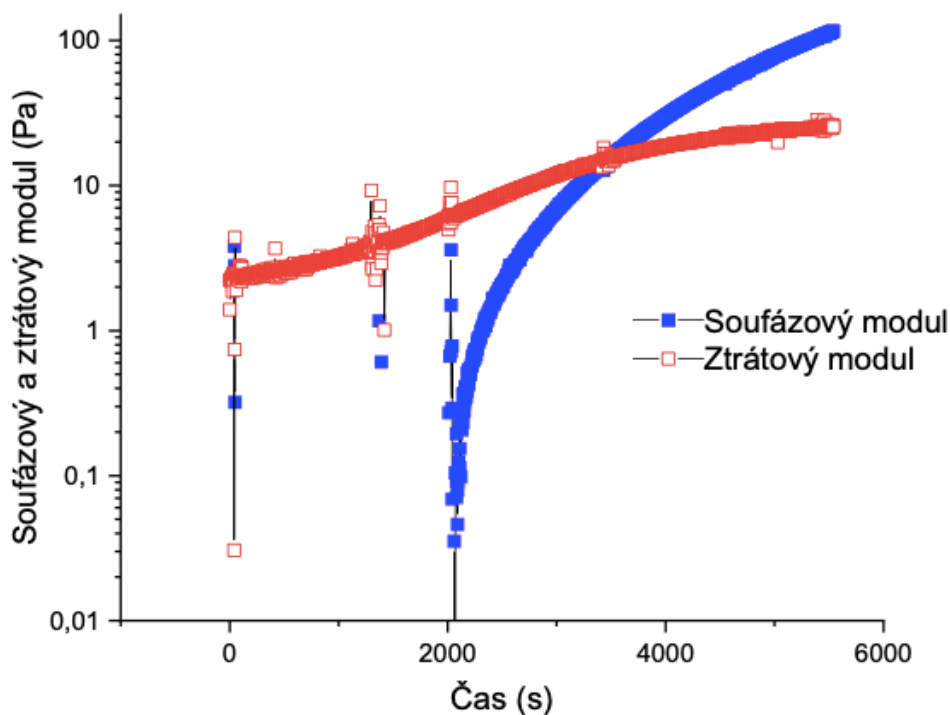
Frekvenční analýza poskytuje informace o časově závislém chování gelu – jak se materiál chová při rychlejších či pomalejších deformacích, což je důležité například při aplikaci v oblasti biomedicíny (např. vstřebatelné hydrogely, nosiče léčiv apod.).

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato kapitola shrnuje výsledky reologických měření a jejich vyhodnocení. Výsledky jsou rozděleny do dvou hlavních částí podle typu provedeního experimentu. Nejprve jsou vyhodnoceny data týkající se kinetiky síťování a následně viskoelastické vlastnosti vzorků při různých podmínkách.

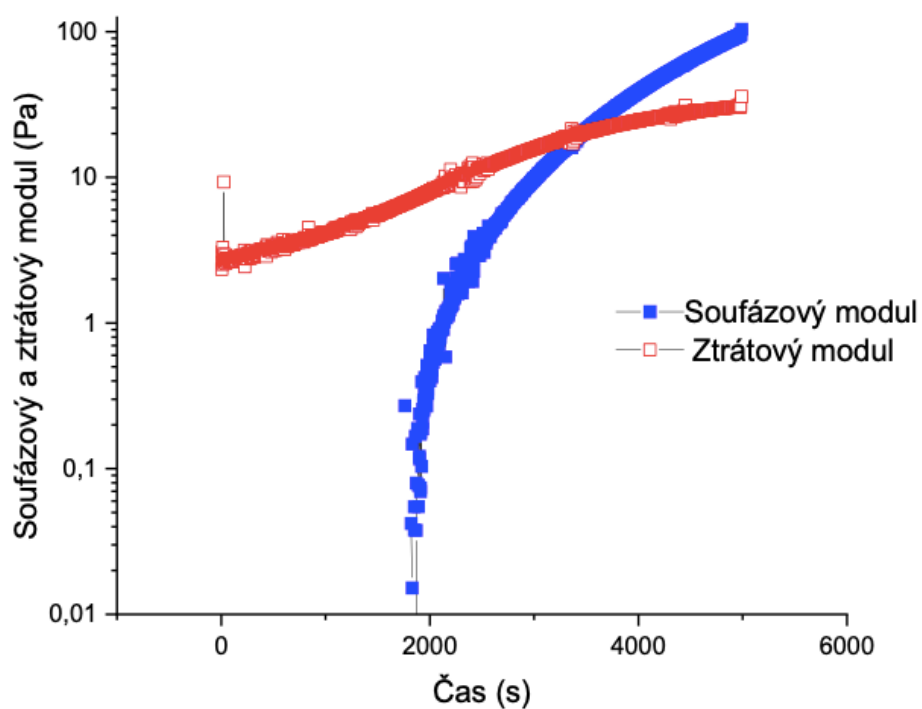
7.1 Kinetika síťování

První série měření byla zaměřena na sledování časového vývoje soufázového modulu (G') a ztrátového modulu (G''). Z obrázků 16–19 je patrné, že na počátku měření převažuje viskózní chování vzorků – ztrátový modul G'' je vyšší než skladovací modul G' ($G'' > G'$), což odpovídá kapalnému stavu. V průběhu času dochází k postupnému nárůstu obou modulů v důsledku probíhající síťovací reakce. S růstem modulů dochází v určitém bodě k překřížení hodnot G' a G'' – tento moment je označován jako bod gelace a znamená přechod z viskózního do elastického chování. Od tohoto bodu převažuje elastická složka ($G' > G''$) a materiál přechází do gelového stavu.



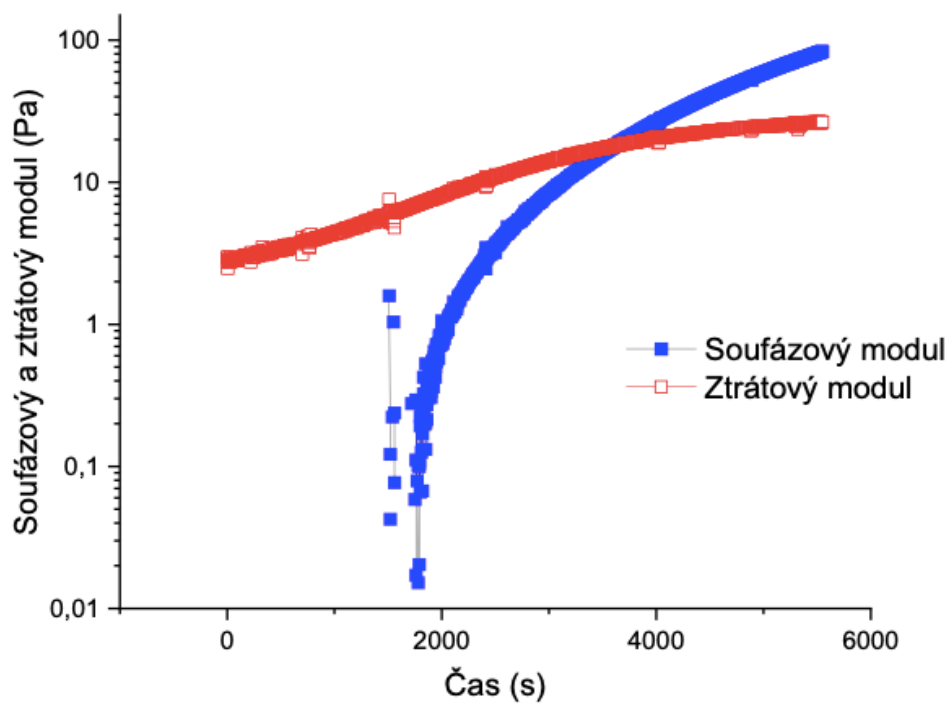
Obrázek 16 Časový vývoj modulů G' a G'' pro vzorek s poměrem síťovadlo/želatina 1:1

(zdroj: vlastní)



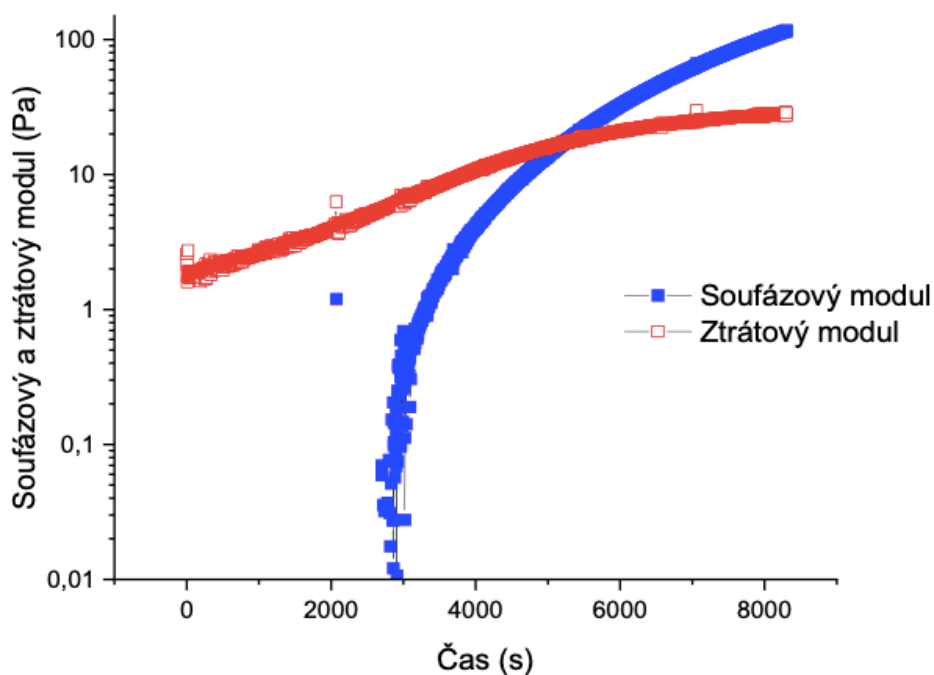
Obrázek 17 Časový vývoj modulů G' a G'' pro vzorek s poměrem
sít'ovadlo/želatina 1:2

(zdroj: vlastní)



Obrázek 18 Časový vývoj modulů G' a G'' pro vzorek s poměrem
sít'ovadlo/želatina 1:4

(zdroj: vlastní)



Obrázek 19 Časový vývoj modulů G' a G'' pro vzorek s poměrem síťovadlo/želatina 1:8

(zdroj: vlastní)

Časy, při kterých došlo ke křížení modulů, tedy k bodu gelace, jsou uvedeny v následující tabulce:

Tabulka 2 Vliv poměru síťovadlo/želatina na bod gelace

Poměr síťovadlo/želatina	Bod gelace (min)
1:1	57
1:2	58
1:4	60
1:6	87

(zdroj: vlastní)

Tabulka 2 ukazuje závislost mezi poměrem síťovadlo/želatina a bodem gelace v minutách. Z výsledku vyplývá, že vyšší množství síťovadla urychluje gelaci. Nejrychlejší síťování bylo pozorováno u vzorku s nejvyšším podílem síťovadla (1:1), kde k bodu gelace

došlo již v 57 minutách. Naopak nejpomalejší průběh byl zaznamenán u vzorku s poměrem 1:8, kde se křížení modulů objevilo až po 87 minutách. Zaznamenané hodnoty ukazují, že množství síťovacího činidla významně ovlivňuje rychlost tvorby prostorové sítě v gelu a významně tak může ovlivnit chování během zamýšleného 3D tisku.

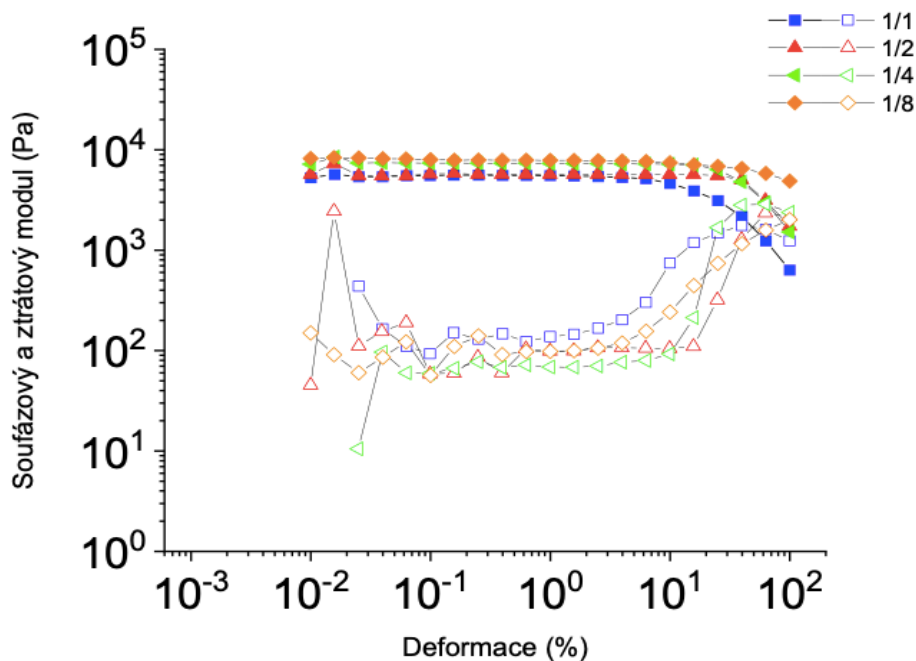
7.2 Měření viskoelastických vlastností

V této části jsou prezentovány výsledky reologických testů zaměřených na charakterizaci mechanických vlastností připravených gelů.

7.2.1 Závislost modulů G' a G'' na deformaci – amplitudový test

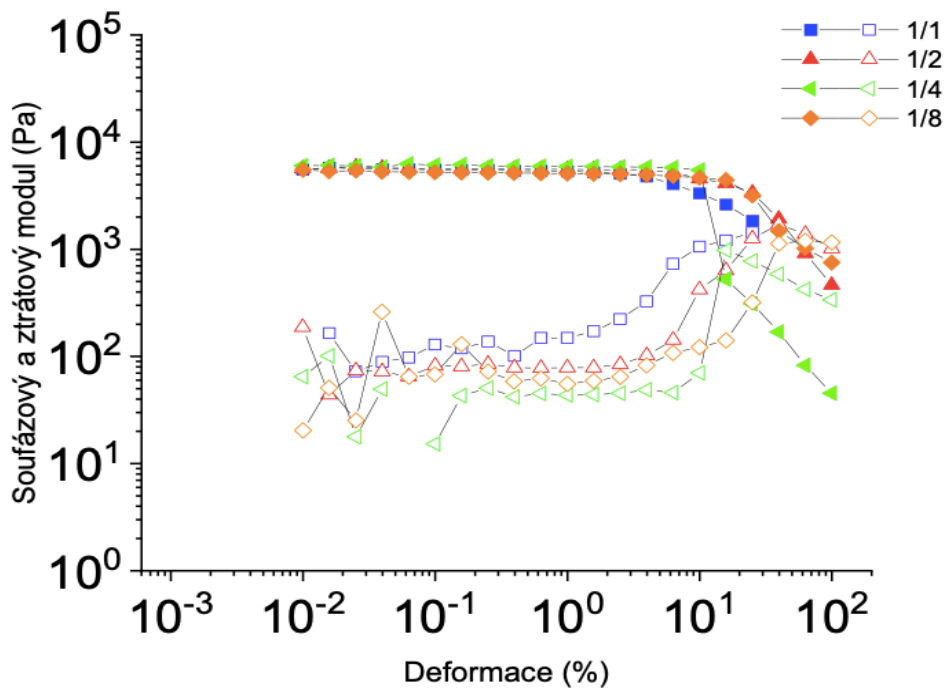
Z obrázků 20 a 21 je patrné, že u všech vzorků je v oblastech nízkých deformací (lineární viskoelastické oblasti – LVE) G' výrazně vyšší než G'' , což představuje elastické chování materiálu. Tento rozdíl mezi moduly se snižuje s rostoucí deformací, až dochází k překřížení G' a G'' a to značí narušení gelové struktury sítě a přechod do viskózního chování, čímž může dojít k významnému porušení zesíťované struktury.

Při porovnání výsledků měření při teplotách 25 °C a 37 °C je patrné, že se s vyšší teplotou snižují hodnoty modulu G' i G'' , zejména u vzorků s vyšším obsahem síťovadla (poměry 1:1 a 1:2). Toto je způsobené tím, že fyzikální síť u vzorků želatiny je již nefunkční a materiál je celistvý pouze díky chemickému síťovadlu. Naopak vzorky s nižším podílem síťovadla (1:4 a 1:8) vykazují mezi oběma teplotami pouze malé rozdíly, což naznačuje vyšší tepelnou stabilitu díky pevněji vytvořeným polymerním sítím.



Obrázek 20 Závislost modulů G' a G'' na deformaci při 25 °C

(zdroj: vlastní)

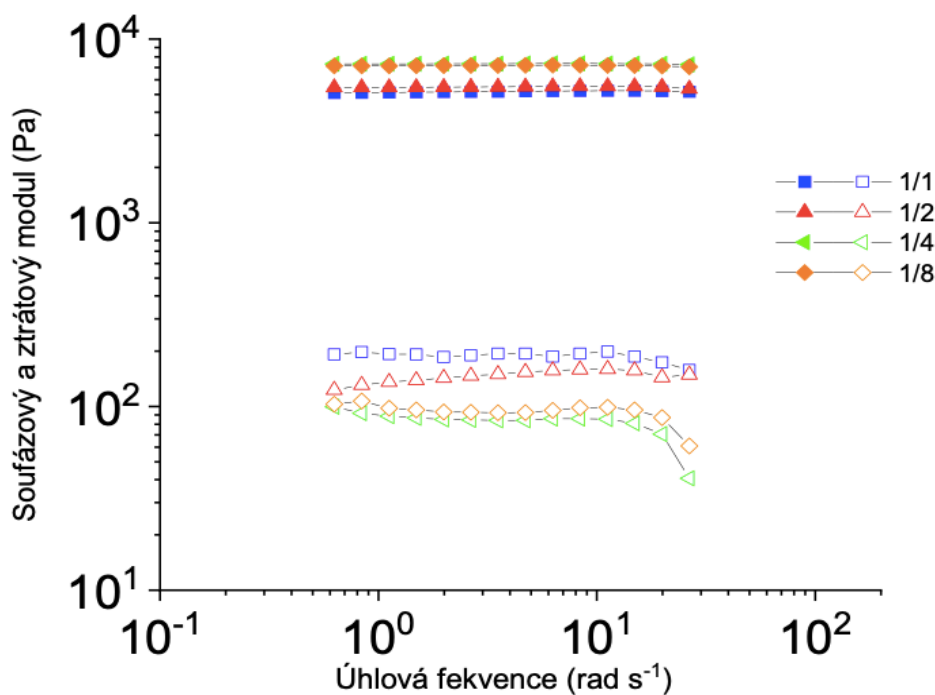


Obrázek 21 Závislost modulů G' a G'' na deformaci při 37 °C

(zdroj: vlastní)

7.2.2 Závislost modulů G' a G'' na úhlové frekvenci – frekvenční test

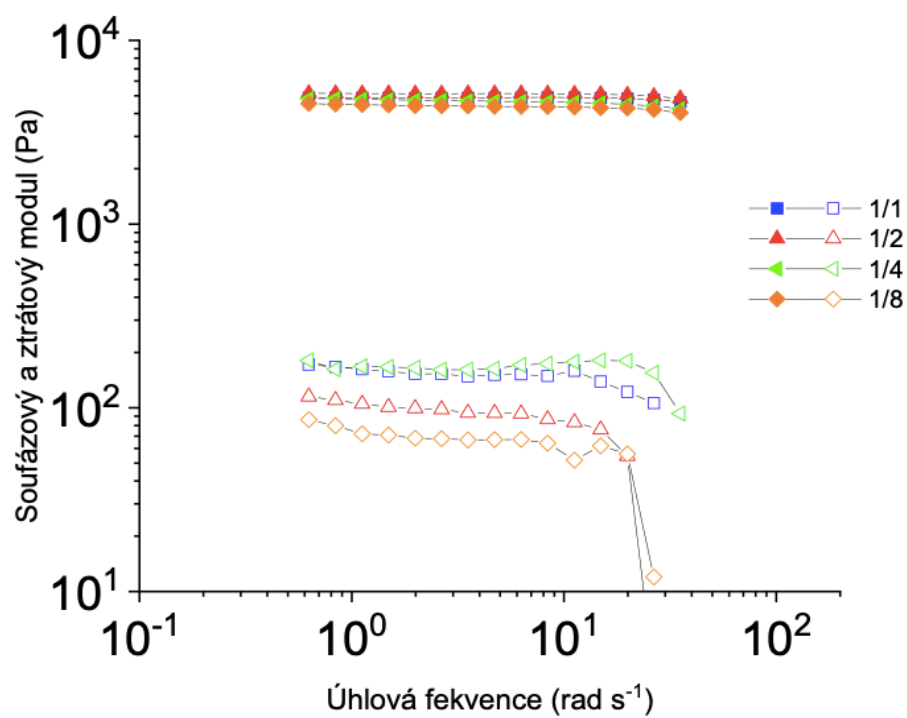
Z Obrázek 22 je patrné, že pro všechny vzorky platí: G' je vyšší než G'' , což potvrzuje pevně gelovou strukturu systému – převažuje elastické chování nad viskózním. Modul G' je v širokém rozsahu frekvencí téměř konstantní, což naznačuje stabilitu sítě. U vzorků s vyšším podílem síťovadla (1:1 a 1:2) jsou hodnoty obou modulů výrazně vyšší, což odpovídá vyššímu stupni zesíťování a rigidnější struktuře. S klesajícím podílem síťovadla (poměry 1:4 a 1:8) dochází k mírnému poklesu hodnot G' i G'' , což značí měkčí a méně tuhou síť. Obecně lze říct, že oba moduly jsou nezávislé na frekvenci a tím pádem je zřejmé, že vytvořená síť je dostatečně pevná.



Obrázek 22 Závislost modulů G' a G'' na úhlové frekvenci při 25 °C

(zdroj: vlastní)

Při zvýšení teploty na 37 °C (Obrázek 23) dochází ke snížení hodnot obou modulů, přičemž tento pokles je nejvýraznější u vzorků s vyšším obsahem síťovadla (1:1, 1:2). Tyto vzorky vykazují výraznou teplotní citlivost, což může být způsobeno v důsledku teplotního rozpadu fyzikální sítě, která přestává být při vyšších teplotách funkční. U vzorků s nižším podílem síťovadla (1:4 a 1:8) je pokles G' i G'' méně výrazný, což naznačuje vyšší tepelnou stabilitu jejich sítě.



Obrázek 23 Závislost modulů G' a G'' na úhlové frekvenci při teplotě 37 °C

(zdroj: vlastní)

ZÁVĚR

Tato bakalářská práce byla zaměřena na studium kinetiky síťování želatiny a charakterizaci viskoelastických vlastností připravených hydrogelů pomocí rotačního reometru. V rámci experimentální části byly připraveny vzorky želatiny se síťovadlem v různých hmotnostních poměrech (1:1, 1:2, 1:4 a 1:8) a následně provedena série reologických měření.

Z výsledků sledování kinetiky síťování vyplývá, že koncentrace síťovacího činidla významně ovlivňuje rychlost gelace. U vzorku s nejvyšším podílem síťovadla (poměr 1:1) došlo k bodu gelace již po 57 minutách, zatímco u vzorku s nejnižším podílem síťovadla (poměr 1:8) byl bod gelace zaznamenán až po 87 minutách. Tato zjištění potvrzují, že množství síťovacího činidla je klíčovým faktorem pro řízení rychlosti tvorby trojrozměrné síťové struktury.

Při charakterizaci viskoelastických vlastností pomocí amplitudových testů bylo zjištěno, že všechny připravené hydrogely vykazují ve své lineární viskoelastické oblasti výrazně vyšší hodnoty soufázového modulu (G') než modulu ztrátového (G''), což potvrzuje jejich gelový charakter s převažujícím elastickým chováním. S rostoucí deformací dochází k narušení gelové struktury a přechodu do viskózního stavu a může dojít k nevratnému rozrušení sítě, které vede ke ztrátě původních mechanických vlastností materiálu.

Frekvenční testy ukázaly, že vzorky s vyšším obsahem síťovadla (poměry 1:1 a 1:2) mají výrazně vyšší hodnoty obou modulů, což odpovídá vyššímu stupni zesíťování a rigidnější struktuře. Zvýšení teploty z 25 °C na 37 °C vedlo ke snížení hodnot obou modulů, přičemž tento pokles byl nejvýraznější u vzorků s vyšším obsahem síťovadla. Naopak vzorky s nižším podílem síťovadla (1:4 a 1:8) vykazovaly mezi oběma teplotami pouze malé rozdíly, které jsou způsobené tím, že při vyšších teplotách přestává být fyzikální síť funkční a materiál je v tomto stavu udržován pouze chemickým síťováním.

Tato práce poskytuje souhrnný pohled na to, jak různé poměry síťovadla a želatiny ovlivňují vznik a vlastnosti výsledných gelů. Výsledky také potvrdily, že reologické metody jsou vhodným a efektivním nástrojem pro sledování procesu síťování. Získané výsledky mohou sloužit jako základ pro další vývoj biomateriálů, které najdou uplatnění ve farmaceutickém průmyslu, lékařství nebo tkáňovém inženýrství.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MIKHAILOV, Oleg V.; MASI, Annalia; MADAGHIELE, Marta; SANNINO, Alessandro; SALVATORE, Luca et al. Gelatin as It Is: History and Modernity. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023, roč. 24, č. 4, s. 240-250. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms24043583>. [cit. 2024-10-21].
- [2] ALIPAL, J.; MOHD PU'AD, N.A.S.; LEE, T.C.; NAYAN, N.H.M; SAHARI, N. et al. A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialisation. Online. *Materials Today: Proceedings*. 2021, roč. 42, s. 240-250. ISSN 22147853. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.922>. [cit. 2024-10-21].
- [3] TANNER, R.I. a WALTERS, K. *Rheology: An Historical Perspective*. ELSEVIER, 1998. ISBN 0 444 82945 8.
- [4] AL-SHALAWI, Faisal Dakhelallah; MOHAMED ARIFF, Azmah Hanim; JUNG, Dong-Won; MOHD ARIFFIN, Mohd Khairul Anuar; SENG KIM, Collin Looi et al. Biomaterials as Implants in the Orthopedic Field for Regenerative Medicine: Metal versus Synthetic Polymers. Online. *Polymers*. 2023, roč. 15, č. 12. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym15122601>. [cit. 2024-10-09].
- [5] CHELU, Mariana a MUSUC, Adina Magdalena. Advanced Biomedical Applications of Multifunctional Natural and Synthetic Biomaterials. Online. *Processes*. 2023, roč. 11, č. 9. ISSN 2227-9717. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/pr11092696>. [cit. 2024-10-10].
- [6] SONG, Peiran; ZHOU, Dongyang; WANG, Fuxiao; LI, Guangfeng; BAI, Long et al. Programmable Biomaterials for Bone Regeneration. Online. *Materials Today Bio*. 2024. ISSN 25900064. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2024.101296>. [cit. 2024-10-11].
- [7] SUHAG, Deepa. Handbook of Biomaterials for Medical Applications, Volume 2. Online. In: *Handbook of Biomaterials for Medical Applications, Volume 2*. S. 1-20. Dostupné z: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-97-5906-4_1#citeas. [cit. 2024-10-09].

- [8] KALIRAJAN, Cheirmadurai; DUKLE, Amey; NATHANAEL, Arputharaj Joseph; OH, Tae-Hwan a MANIVASAGAM, Geetha. A Critical Review on Polymeric Biomaterials for Biomedical Applications. Online. *Polymers*. 2021, roč. 13, č. 17. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym13173015>. [cit. 2024-10-11].
- [9] PRETE, Sabrina; DATTILO, Marco; PATITUCCI, Francesco; PEZZI, Giuseppe; PARISI, Ortensia Ilaria et al. Natural and Synthetic Polymeric Biomaterials for Application in Wound Management. Online. *Journal of Functional Biomaterials*. 2023, roč. 14, č. 9. ISSN 2079-4983. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/jfb14090455>. [cit. 2024-10-21].
- [10] NUGUD, Ahmed; ALGHFELI, Latifa; ELMASRY, Moustafa; EL-SERAFI, Ibrahim a EL-SERAFI, Ahmed T. Biomaterials as a Vital Frontier for Stem Cell-Based Tissue Regeneration. Online. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2022, roč. 10. ISSN 2296-634X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.713934>. [cit. 2024-10-21].
- [11] AJMAL, Sidra; ATHAR HASHMI, Farzan a IMRAN, Iffat. Recent progress in development and applications of biomaterials. Online. *Materials Today: Proceedings*. 2022, roč. 62, s. 385-391. ISSN 22147853. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.04.233>. [cit. 2024-10-11].
- [12] YARAHMADI, Aref; DOUSTI, Behrooz; KARAMI-KHORRAMABADI, Mahdi; AFKHAMI, Hamed; LIU, Chang et al. Materials based on biodegradable polymers chitosan/gelatin: a review of potential applications. Online. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2024, roč. 12, č. 38, s. 20705-20721. ISSN 2296-4185. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1397668>. [cit. 2024-10-28].
- [13] MILANO, Francesca; MASI, Annalia; MADAGHIELE, Marta; SANNINO, Alessandro; SALVATORE, Luca et al. Current Trends in Gelatin-Based Drug Delivery Systems: Properties, sources, process, applications, and commercialisation. Online. *Pharmaceutics*. 2023, roč. 15, č. 5, s. 240-250. ISSN 1999-4923. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15051499>. [cit. 2024-10-21].

- [14]ZHANG, Wanting; LI, Meng; CHEN, Jinjing; CHEN, Yiming; LIU, Chang et al. A Review of Modified Gelatin: Physicochemical Properties, Modification Methods, and Applications in the Food Field. Online. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2024, roč. 72, č. 38, s. 20705-20721. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c03194>. [cit. 2024-10-28].
- [15]MUSHTAQ, Farwa; RAZA, Zulfiqar Ali; BATOOL, Syeda Rubab; ZAHID, Muhammad; ONDER, Ozgun Can et al. Preparation, properties, and applications of gelatin-based hydrogels (GHs) in the environmental, technological, and biomedical sectors. Online. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022, roč. 218, s. 601-633. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.07.168>. [cit. 2024-11-04].
- [16]MOHAMMADI, Masoud Aman; ALIZADEH, Adel Mirza; MOUSAVI, Malihe; HASHEMPOUR-BALTORK, Fataneh; KOOKI, Safa et al. Advances and applications of crosslinked electrospun biomacromolecular nanofibers. Online. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024, roč. 271. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132743>. [cit. 2024-11-04].
- [17]MOHANTO, Sourav; NARAYANA, Soumya; MERAI, Khushboo Paresh; KUMAR, Jahanvee Ashok; BHUNIA, Adrija et al. Advancements in gelatin-based hydrogel systems for biomedical applications: A state-of-the-art review. Online. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023, roč. 253. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127143>. [cit. 2024-11-04].
- [18]SOOD, Ankur; JI, Seong Min; KUMAR, Anuj; HAN, Sung Soo; BHUNIA, Adrija et al. Enzyme-Triggered Crosslinked Hybrid Hydrogels for Bone Tissue Engineering: A state-of-the-art review. Online. *Materials*. 2022, roč. 15, č. 18. ISSN 1996-1944. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ma15186383>. [cit. 2024-11-04].
- [19]KONG, Yan; XU, Jiawei; GUAN, Wenchao; SUN, Shaolan; YANG, Yumin et al. Tailoring the elasticity of nerve implants for regulating peripheral nerve regeneration. Online. *Smart Materials in Medicine*. 2023, roč. 4, s. 266-285. ISSN 25901834. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.smaim.2022.11.004>. [cit. 2024-11-04].

- [20] REDDY, Narendra; REDDY, Roopa; JIANG, Qiuran; SUN, Shaolan; YANG, Yumin et al. Crosslinking biopolymers for biomedical applications. Online. *Trends in Biotechnology*. 2015, roč. 33, č. 6, s. 362-369. ISSN 01677799. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.03.008>. [cit. 2024-11-04].
- [21] *Jaká je funkce síťovacího činidla*. Online. Jaká je funkce síťovacího činidla. 2024. Dostupné z: <https://cz.couplingagentsru.com/news/what-is-the-function-of-a-crosslinking-agent-77838597.html>. [cit. 2024-11-04].
- [22] MAITI, Sabyasachi; MAJI, Biswajit a YADAV, Harsh. Progress on green crosslinking of polysaccharide hydrogels for drug delivery and tissue engineering applications. Online. *Carbohydrate Polymers*. 2024, roč. 326. ISSN 01448617. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121584>. [cit. 2024-11-04].
- [23] SAPUŁA, Paulina; BIALIK-WAŚ, Katarzyna a MALARZ, Katarzyna. Are Natural Compounds a Promising Alternative to Synthetic Cross-Linking Agents in the Preparation of Hydrogels? Online. *Pharmaceutics*. 2023, roč. 15, č. 1. ISSN 1999-4923. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010253>. [cit. 2024-11-04].
- [24] TANNER, R.I. a WALTERS, K. *Rheology: An Historical Perspective*. ELSEVIER, 1998. ISBN 0 444 82945 8.
- [25] KAVANAGH, Gaynor M. a ROSS-MURPHY, Simon B. Rheological characterisation of polymer gels. Online. *Progress in Polymer Science*. 1998, roč. 23, č. 3, s. 533-562. ISSN 00796700. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(97\)00047-6](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(97)00047-6). [cit. 2025-03-06].
- [26] *Hydrogely modifikované amfifilními strukturami*. Dizertační práce. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2023.
- [27] BUDAI, Livia; BUDAI, Marianna; FÜLÖPNÉ PÁPAY, Zsófia Edit; VILIMI, Zsófia a ANTAL, István. Rheological Considerations of Pharmaceutical Formulations: Focus on Viscoelasticity. Online. *Gels*. 2023, roč. 9, č. 6. ISSN 2310-2861. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/gels9060469>. [cit. 2025-03-06].
- [28] FAN, Zhiping; CHENG, Ping; ZHANG, Pan; ZHANG, Guangming a HAN, Jun. Rheological insight of polysaccharide/protein based hydrogels in recent food and biomedical fields: A review. Online. *International Journal of Biological*

- Macromolecules*. 2022, roč. 222, s. 1642-1664. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jbiomac.2022.10.082>. [cit. 2025-03-07].
- [29] HERRADA-MANCHÓN, Helena; FERNÁNDEZ, Manuel Alejandro a AGUILAR, Enrique. Essential Guide to Hydrogel Rheology in Extrusion 3D Printing: How to Measure It and Why It Matters? Online. *Gels*. 2023, roč. 9, č. 7. ISSN 2310-2861. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/gels9070517>. [cit. 2025-03-07].
- [30] AHMED, J. Rheological Properties of Gelatin and Advances in Measurement. Online. *Advances in Food Rheology and Its Applications*. 2017, s. 377-404. ISBN 9780081004319. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100431-9.00015-2>. [cit. 2025-03-07].
- [31] ÚSTAV FYZIKY MATERIÁLŮ A INŽENÝRSTVÍ. Reologie [online]. [cit. 2025-03-12]. Dostupné z: https://ufmi.ft.utb.cz/texty/kzm/KZM_03.pdf
- [32] OLEKSY, Małgorzata; DYNAROWICZ, Klaudia a AEBISHER, David. Advances in Biodegradable Polymers and Biomaterials for Medical Applications—A Review. Online. *Molecules*. 2023, roč. 28, č. 17, s. 385-391. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules28176213>. [cit. 2025-04-18].
- [33] RUIKAR, Aditya; BONIN, Chase; KUMBAR, Gauri S.; BANASAVADI-SIDDEGOWDA, Yeshavanth Kumar a KUMBAR, Sangamesh G. Biomaterials Application: Implants. Online. *Biomaterials and Biopolymers*. AAPS Introductions in the Pharmaceutical Sciences. 2023, s. 159-182. ISBN 978-3-031-36134-0. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-3-031-36135-7_8. [cit. 2025-04-18].
- [34] AL-NIMRY, Suhair; DAYAH, Alaa Abu; HASAN, Inas a DAGHMASH, Rawand. Cosmetic, Biomedical and Pharmaceutical Applications of Fish Gelatin/Hydrolysates. Online. *Marine Drugs*. 2021, roč. 19, č. 3. ISSN 1660-3397. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/md19030145>. [cit. 2025-04-18].
- [35] RATHER, Jahangir A.; AKHTER, Najmeenah; ASHRAF, Qazi Showkat; MIR, Shabir A.; MAKROO, Hilal A. et al. A comprehensive review on gelatin: Understanding impact of the sources, extraction methods, and modifications on potential packaging applications. Online. *Food Packaging and Shelf Life*. 2022, roč. 34. ISSN 22142894. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100945>. [cit. 2025-04-18].

- [36] AHMADY, Amina; ABU SAMAH, Nor Hayati; ASHRAF, Qazi Showkat; MIR, Shabir A.; MAKROO, Hilal A. et al. A review: Gelatine as a bioadhesive material for medical and pharmaceutical applications. Online. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021, roč. 608, č. 3, s. 240-250. ISSN 03785173. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121037>. [cit. 2025-05-07].
- [37] LIU, Dasong; NIKOO, Mehdi; BORAN, Gökhan; ZHOU, Peng; REGENSTEIN, Joe M. et al. Collagen and Gelatin: Gelatine as a bioadhesive material for medical and pharmaceutical applications. Online. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2015, roč. 6, č. 1, s. 527-557. ISSN 1941-1413. Dostupné z: <https://doi.org/10.1146/annurev-food-031414-111800>. [cit. 2025-05-07].
- [38] BHATIA, Saurabh; AL-HARRASI, Ahmed; AL-AZRI, Mohammed Said; ULLAH, Sana; MAKEEN, Hafiz A. et al. Gallic Acid Crosslinked Gelatin and Casein Based Composite Films for Food Packaging Applications. Online. *Polymers*. 2022, roč. 14, č. 19. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym14194065>. [cit. 2025-05-07].
- [39] PARHI, Rabinarayan. Cross-Linked Hydrogel for Pharmaceutical Applications: A Review. Online. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2017, roč. 7, č. 4, s. 515-530. ISSN 2228-5881. Dostupné z: <https://doi.org/10.15171/apb.2017.064>. [cit. 2025-05-07].
- [40] SÁNCHEZ-CID, Pablo; ALONSO-GONZÁLEZ, María; JIMÉNEZ-ROSADO, Mercedes; BENHNIA, Mohammed Rafii-El-Idrissi; RUIZ-MATEOS, E. et al. Effect of different crosslinking agents on hybrid chitosan/collagen hydrogels for potential tissue engineering applications. Online. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024, roč. 263. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129858>. [cit. 2025-05-07].

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Vývoj biomateriálů.....	17
Obrázek 2 Chemická struktura přírodních polymerů (a) Chitin, (b) alginát sodný, (c) celulóza, (d) kyselina hyaluronová, (e) želatina a (f) kolagen.	19
Obrázek 3 Chemická struktura syntetických polymerů (a) polyvinylalkohol (PVA), (b) kyselina polymléčná (PLA) a (c) kyselina poly(mléčná-ko-glykolová) (PLGA).....	20
Obrázek 4 Rozdělení biomateriálů na základě typu materiálu	20
Obrázek 5 Struktura kolagenu.....	22
Obrázek 6 Chemická struktura fragmentu želatinového a-řetězce charakterizovaného opakováním tripletu (Gly-XY).....	23
Obrázek 7 Fyzikální síťování.....	25
Obrázek 8 Chemické síťování.....	26
Obrázek 9 Síťovací reakce želatiny s genipinem.....	27
Obrázek 10 Síťovací reakce želatiny s glutaraldehydem.....	28
Obrázek 11 Viskózní a elastický charakter viskoelastických materiálů	30
Obrázek 12 Základní typy geometrií	32
Obrázek 13: Aplikace želatiny	34
Obrázek 14 Schéma přípravy vzorků.....	40
Obrázek 15 Rotační reometr Anton Paar MCR-502.....	41
Obrázek 16 Časový vývoj modulů G' a G'' pro vzorek s poměrem síťovadlo/želatina 1:1.....	44
Obrázek 17 Časový vývoj modulů G' a G'' pro vzorek s poměrem síťovadlo/želatina 1:2.....	45
Obrázek 18 Časový vývoj modulů G' a G'' pro vzorek s poměrem síťovadlo/želatina 1:4.....	45
Obrázek 19 Časový vývoj modulů G' a G'' pro vzorek s poměrem síťovadlo/želatina 1:8.....	46
Obrázek 20 Závislost modulů G' a G'' na deformaci při 25 °C	48
Obrázek 21 Závislost modulů G' a G'' na deformaci při 37 °C	48
Obrázek 22 Závislost modulů G' a G'' na úhlové frekvenci při 25 °C.....	49
Obrázek 23 Závislost modulů G' a G'' na úhlové frekvenci při teplotě 37 °C.....	50

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Množství síťovadla a destilované vody při různých poměrech síťovadlo/želatina	39
Tabulka 2 Vliv poměru síťovadlo/želatina na bod gelace	46

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

DSC	diferenciální skenovací kalorimetrie (Differential Scanning Calorimetry)
G'	souřázový modul – modul elasticity (storage modulus)
G''	ztrátový modul – modul viskozity (loss modulus)
GP	bod gelace (gelation point)
LVE	lineární viskoelastická oblast (Linear Viscoelastic Region)
PCL	polykaprolakton
PDS	polydioxanon
PGA	kyselina polyglykolová
pH	potenciál vodíku
PLA	kyselina polymléčná
PLGA	kyselina poly(mléčná-ko-glykolová)
PLLA	poly (L – mléčná kyselina)
PP10	horní deska měřicí geometrie s průměrem 10 mm
PP50	horní deska měřicí geometrie s průměrem 50 mm
PU	polyuretan
PVA	polyvinylalkohol
$\tan \delta$	ztrátový faktor
w/v	váha/objem - způsob vyjádření koncentrace (weight/volume)
η^*	komplexní viskozita