

Sítování želatinových hydrogelů

Daniel Krybus

Bakalářská práce
2017

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství polymerů

akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Daniel Krybus**
Osobní číslo: **T15646**
Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Polymerní materiály a technologie**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Síťování želatinových hydrogelů.**

Zásady pro vypracování:

1. Zpracujte literární studii na zadané téma a zhodnoťte ji s ohledem na praktickou část práce.
2. V praktické části posuďte možnosti síťování želatinových hydrogelů, studujte vliv vybraných technologických podmínek.
3. Výsledky zpracujte tabulárně, graficky, proveďte diskusi.
4. Pokuste se navrhnout optimální podmínky síťování.



Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

R. Schrieber, H. Gareis: *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2007.

(345) Kanth SV et al.: Dialdehyde alginic acid a novel biopolymeric tanning agent. *Journal of American Leather Chemists Association*, 2007, 102, 11, 353-361.

(346) Schacht E et al.: Some aspects of the crosslinking of gelatin by dextran dialdehydes. *Polymer Gels and Networks*, 1993, 1, 4, 213-224.

(351) Mů Ch et al.: Preparation and properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films. *Food Hydrocolloids*, 2012, 27, 1, 22-29.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. Pavel Mokrejš, Ph.D.

Ústav inženýrství polymerů

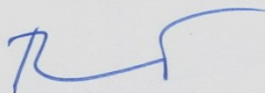
Datum zadání bakalářské práce:

2. ledna 2017

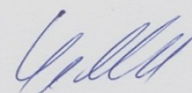
Termín odevzdání bakalářské práce:

17. května 2017

Ve Zlíně dne 1. března 2017



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



doc. Ing. Tomáš Sedláček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Krybas Daniel

Obor: Ch3PA

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/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. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/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);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/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.

Ve Zlíně 28.4.2014

..... Daniel Krybas

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ 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, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ 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, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídá k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalářská práce pojednává o přípravě a síťování hydrogelů na bázi klišu a želatiny pomocí oxidovaného polysacharidu dialdehydu karboxymethylcelulosity (DCMC). Teoretická část popisuje hydrogely, jejich použití a vlastnosti. Dále je zde popsáno fyzikální i chemické síťování hydrogelů. Stručně je zde popsána výroba, vlastnosti a použití želatiny. V experimentální části je popsána příprava síťovadla DCMC a vyzkoušení síťujících účinků na vepřové želatině a klišu. Síťující účinek byl zjišťován změnami pevnosti gelu, jak u želatiny, tak u klišu. Vyhodnocení experimentu bylo provedeno faktorovými schématy a navrhly se optimální podmínky pro síťování.

Klíčová slova: kliš, želatina, hydrogel, síťování, DCMC, optimální podmínky, pevnost gelu

ABSTRACT

Bachelor thesis deals with preparation and crosslinking of hydrogel based on glue and gelatin using oxidized polysaccharide dialdehyde carboxymethylcellulose (DCMC). In the theoretical part describes of hydrogels, their uses and properties. The work describes of physical and chemical crosslinking hydrogels. The production, properties and use of gelatine is describes as well. The experimental part describes the preparation of a DCMC crosslinking and the testing of crosslinking effects on gelatin and glue. The crosslinking effect was determined by changes in gel strength, both in gelatin and glue. The evaluation of the experiment was performed by factorial schemes and optimal conditions for crosslinking by suggested.

Keywords: glue, gelatin, hydrogel, crosslinking, DCMC, optimal conditions, gel strenght

Rád bych poděkoval doc. Ing. Pavlovi Mokrejšovi Ph.D. za pomoc, cenné rady a hlavně za trpělivost, kterou mi věnoval k napsání této bakalářské práce.

Dále bych rád poděkoval paní Miroslavě Žaludkové za odbornou pomoc v laboratoři.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 HYDROGELY	11
1.1 ROZDĚLENÍ HYDROGELŮ	12
1.1.1 Podle původu.....	12
1.1.2 Podle přípravy	12
1.1.3 Podle charakteru iontového náboje	13
1.1.4 Podle druhu zasítení	13
1.1.5 Podle biodegradability	13
1.2 HYDROGELY NA BÁZI PŘÍRODNÍCH POLYMERŮ	14
1.2.1 Želatina.....	14
1.2.2 Algináty.....	14
1.2.3 Kyselina hyaluronová.....	14
1.2.4 Chitosan.....	15
2 SÍŤOVÁNÍ HYDROGELŮ	16
2.1 FYZIKÁLNÍ SÍŤOVÁNÍ.....	16
2.2 CHEMICKÉ SÍŤOVÁNÍ	17
3 ŽELATINA	19
3.1 VÝROBA	19
3.1.1 Výroba želatiny alkalickým způsobem	19
3.1.2 Výroba želatiny kyselým způsobem	20
3.2 VLASTNOSTI.....	21
3.3 POUŽITÍ	22
3.3.1 Použití ve farmaceutickém průmyslu.....	22
3.3.2 Použití v potravinářském průmyslu	22
3.3.3 Použití v technické oblasti	23
II PRAKTICKÁ ČÁST	24
4 CÍL PRÁCE	25
5 PŘÍSTROJE, MATERIÁLY A METODY	26
5.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE	26
5.2 POUŽITÉ MATERIÁLY A CHEMIKÁLIE	26
5.3 METODA MĚŘENÍ PEVNOSTI GELU	27
5.4 METODA STANOVENÍ OBSAHU SUŠINY.....	27
5.5 METODA STANOVENÍ OBSAHU POPELOVIN	28
6 POSTUP PRÁCE	29
6.1 PŘÍPRAVA SÍŤOVADLA	29
6.2 SÍŤOVÁNÍ GELŮ	31
7 VÝSLEDKY A DISKUZE	32

7.1	SÍŤOVÁNÍ PŘI POKOJOVÉ TEPLOTĚ	32
7.1.1	Výsledky pevnosti gelu klihu a želatiny bez síťovadla.....	32
7.1.2	Výsledky síťující reakce za pokojové teploty u vzorku klihu.....	32
7.1.3	Výsledky síťující reakce za pokojové teploty u vzorku želatiny	34
7.2	SÍŤOVÁNÍ PŘI ZVÝŠENÉ TEPLOTĚ	36
7.2.1	Výsledky síťující reakce za zvýšené teploty u vzorku klihu.....	36
7.2.2	Výsledky síťující reakce za zvýšené teploty u vzorku želatiny	38
7.3	SÍŤOVÁNÍ PŘI CHLAZENÍ	40
7.3.1	Výsledky síťující reakce za snížené teploty u vzorku klihu.....	40
7.3.2	Výsledky síťující reakce za snížené teploty u vzorku želatiny	42
7.4	MĚŘENÍ PH GELŮ	45
7.4.1	Postup při měření pH	45
7.4.2	Výsledky pH gelu klihu	45
7.4.3	Výsledky pH gelu želatiny	45
8	ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ A NÁVRH OPTIMÁLNÍCH PODMÍNEK K SÍŤOVÁNÍ GELŮ	47
	ZÁVĚR	50
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	52
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	56
	SEZNAM OBRÁZKŮ	57
	SEZNAM TABULEK.....	59

ÚVOD

Hydrogely jsou přírodními látkami, které mají trojrozměrnou strukturu sítě. Mají značnou tendenci botnat. Využití je velice pestré. Používají se v biomedicínských, tak i ve farmaceutických aplikacích, kde slouží jako nosič pro podávání léků s řízeným uvolňováním. Dále mají využití k aplikaci na povrch těla pacienta, jako jsou například obvazy na popáleniny či náplast na podávání léčiv. Využívají se ve tkáňovém inženýrství jako scaffoldy pro růst buněk. Možnosti použití také nacházejí v zemědělství k zachytávání vody a zvlhčování půd v okolí kořenů rostlin.

V dnešní době je nejlepší alternativa na místo klasických obvazů aplikovat na hojení ran hydrogelové obvazy. Lépe hojí ránu a to na základě udržování stálé vlhkosti a uvolňování léčivé látky. Dále zamezují infekci, která by mohla vzniknout při kontaktu s vnějším prostředím. Pacient není obvazem nijak omezen a jeho komfort je lepší jak u standardního obvazu. Hydrogelový obvaz zmírňuje bolest a teplotu v okolí poškozené tkáně.

Hydrogely lze připravit síťováním polymerů a to fyzikálním nebo chemickým způsobem, ale je možné provedení síťování i kombinovaným způsobem. Dají se síťovat přírodní tak i syntetické polymery,

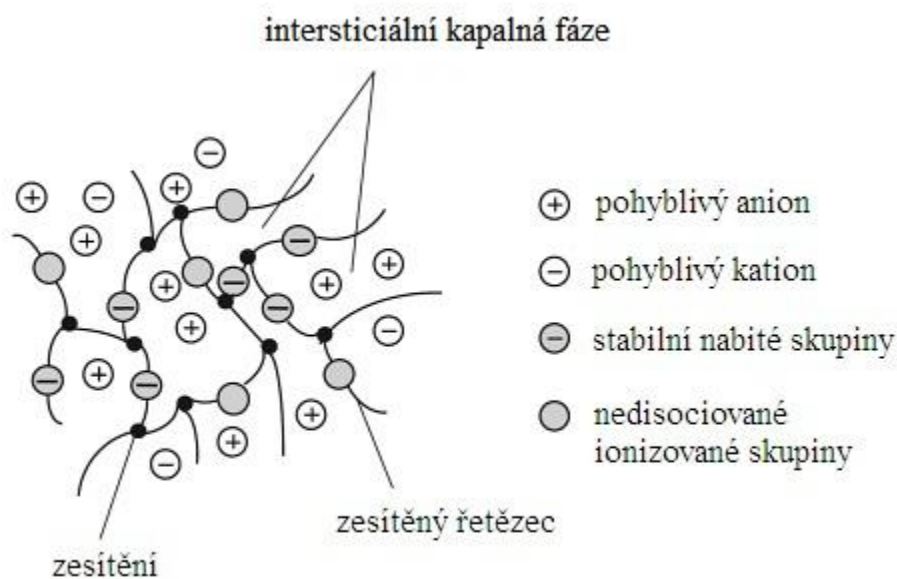
Cílem bakalářské práce bude posoudit možnosti síťování želatinových hydrogelů z želatiny a klišu oxidovaným polysacharidem DCMC. Modulace a vyhodnocení experimentu bude provedeno faktorovými schémata. Bude se sledovat přídavek síťovadla, doba reakce a vliv teploty na pevnost gelu. Následně budou navrženy optimální podmínky k síťování gelu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 HYDROGELY

Hydrogely neboli gely lze klasifikovat jako troj rozměrné makromolekulární systémy, které bobtnají, až do rovnovážného stavu, aniž by nastalo jejich rozpuštění. Mají schopnost absorbovat velké množství biologických tekutin nebo vody. Proto našly velké uplatnění ve farmacii a medicíně při hojení ran. Mají velmi dobré mechanické, fyzikální i chemické vlastnosti v nabotnalé fázi. Pro vznik samotného hydrogelu jsou potřeba, aby vznikly v jeho struktuře intramolekulární vazby. [1]

Hydrogel lze považovat za materiál ten, který je složený z hydrofilní vícefázové polymerní směsi. Směs může mít vlastnosti jak kapalně látky, tak i pevné látky. Struktury jsou nejčastěji trojrozměrné sítě polymerních řetězců, které kompletně spojují tři odlišné fáze. Jednotlivými fázemi jsou kapilární voda (voda v meziprostoru), pevné polymerní sítě matrix a určité druhy iontů. Mikroskopická struktura hydrogelu je popsána ve schématu na obrázku č. 1. [2]

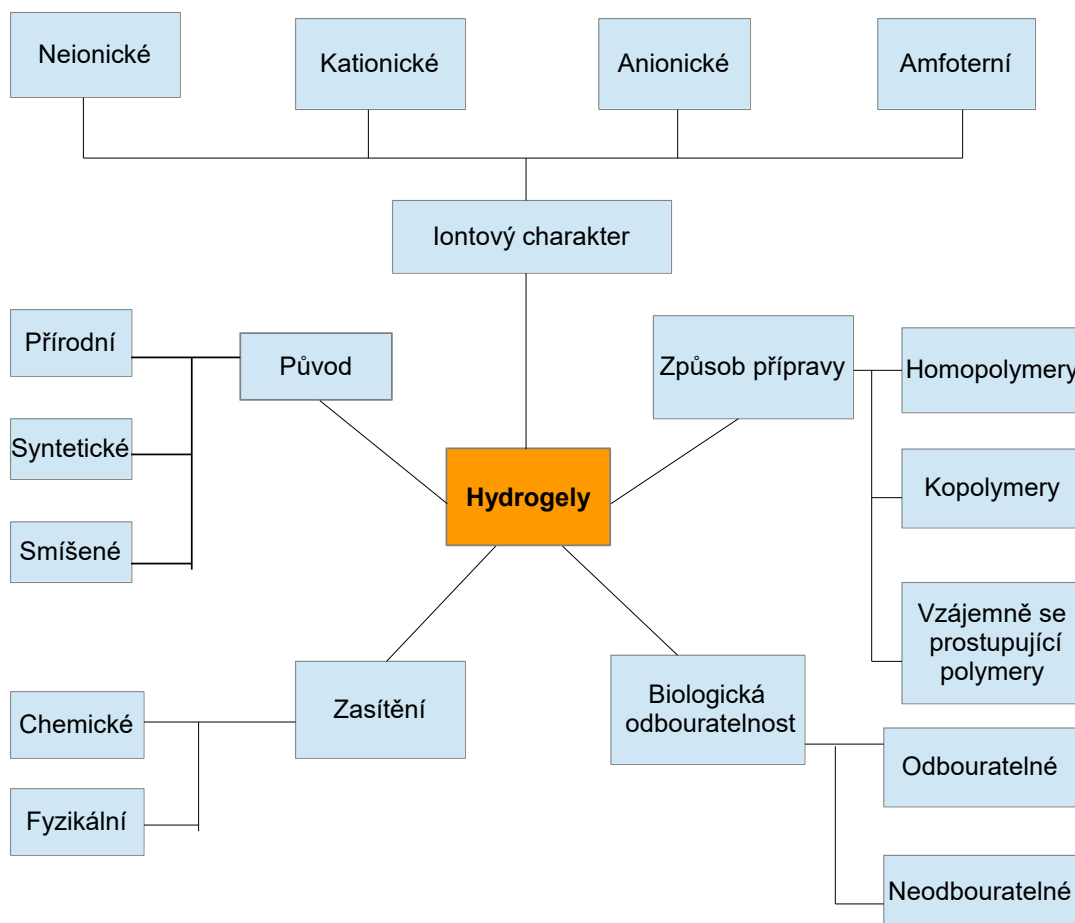


Obrázek č. 1: Schéma mikroskopické struktury nabitého řetězce hydrogelu [2]

Hydrogely jsou látky, které mají schopnost značně bobtnat díky hydrofilnosti ve své molekule. Nabotnává až do určitého stupně, který je pro něj maximální, což se nazývá nabotnání do rovnovážného stavu. Lze jej dosáhnout vložením hydrogelu do vodného nebo fyziologického roztoku po definovanou dobu působení. Na struktuře se to projev proniknutím kapaliny mezi jednotlivé řetězce hydrogelu, které kapalinu zadržují. [3]

1.1 Rozdělení hydrogelů

Lze je rozdělit do několika skupin a klasifikovat podle mnoha hledisek, které je znázorněno na obrázku č. 2.



Obrázek č. 2: Rozdělení hydrogelů na základě různých parametrů [4]

1.1.1 Podle původu

Nejzákladnější rozdělení vůbec je podle původu jejich složek. Dělíme je na přírodní hydrogely, jejichž základní složky jsou přírodní polymery (chitosan, kolagen) a syntetické hydrogely, které jsou tvořeny syntetickou částí (polyethylen, poly-hydroxy-1-ethylen). Dále jsou zde smíšené hydrogely, které jsou kombinací přírodních a syntetických látek. [5]

1.1.2 Podle přípravy

Podle metody přípravy lze hydrogely rozdělit na homopolymery, kopolymery a vzájemně se prostupující polymery. Homopolymer vzniká polymerací jednoho druhu hydrofilního monomeru, závisí na povaze monomerní jednotky a na použité polymerační technice. Hyd-

rogely sestávajících z kopolymerů, jsou složeny ze dvou či více druhů monomerů. Alespoň jeden, by však měl mít hydrofilní část. Monomery, které tvoří kopolymer, mohou být uspořádány v alternující nebo statistické konfiguraci. Vzájemně se prostupující polymery vznikají složením dvou či více polymerních jednotek. Polymerní jednotka může být složena jak homopolymerní, tak i kopolymerní části. Jednotky se mezi sebou prolínají a alespoň jedna je síťována nebo syntetizována v blízkosti ostatních polymerních jednotek. [6, 7]

1.1.3 Podle charakteru iontového náboje

Hydrogely lze rozdělit na základě charakteru vedlejších skupin iontového náboje na neionické (neutrální) a ionické (iontové), které se dále dělí na kationické, anionické a amfoter-ní. Za následek botnání u neutrálních hydrogelů může termodynamické mísení vody s elastickým polymerem. Při této reakci se uvolňuje energie. Botnání u iontových polymerů je ve značné míře ovlivněno také iontovou interakcí mezi volnými ionty a nabitými polymery. Obsahují iontové skupiny, jako jsou například karboxylové kyseliny, které díky své hydrofilnosti absorbují větší množství vody. [8, 9]

1.1.4 Podle druhu zasítení

Hydrogely dále můžeme na základě jejich zasítení rozdělit na chemické hydrogely, které jsou zasíťovány kovalentními vazbami a na fyzikální hydrogely, někdy taky označované jako reverzibilní hydrogely. Fyzikální hydrogely jsou drženy pospolu slabými sekundárními vazbami (van der Waalsovy síly, elektrostatické interakce), nebo pomocí molekulových spleťů či vodíkovými vazbami. Tyto všechny interakce jsou reverzibilní a mohou být vážně narušeny jen nepatrnou změnou fyzikálních podmínek. [8, 9]

1.1.5 Podle biodegradability

Z hlediska biodegradability se hydrogely dají rozdělit na odbouratelné (rozložitelné) a neodbouratelné (nerozložitelné). Závisí na druhu výchozích látek, které byly použity při přípravě hydrogelu. Syntetické látky jsou většinou nerozložitelné nebo velice špatně rozložitelné. Přírodní látky jsou převážně dobře rozložitelné, proto této vlastnosti se hojně využívá při aplikaci v medicínské oblasti. Takto rozložitelné hydrogely nemusí být pacientovi vyjmuty z těla a rozloží se samy za působení okolního prostředí. [10]

1.2 Hydrogely na bázi přírodních polymerů

Biopolymery jsou označovány přírodní látky, které se nachází v živých organismech a mikroorganismech v přírodě. Jedny z příkladů přírodních polymerů mohou být například algináty, želatina, kyselina hyaluronová, kolagen, chitosan a další. Přírodní polymery lze kombinovat se syntetickými polymery, jakými jsou například polyvinylalkohol, polyvinylpyrolidin, polyethylenglykol. Biopolymery mají velmi přesné prostorové uspořádání a jsou jasně definované základními stavebními jednotkami. [11,12]

1.2.1 Želatina

Želatina je označována za jeden z biopolymerů. Je průhledná, až lehce nažloutlá pevná látka. Nevykazuje se žádnou chutí ani zápachem. Obsahuje 19 aminokyselin, které jsou mezi sebou spojovány peptidovou vazbou. Výroba se provádí alkalickou nebo kyselou hydrolyzou kolagenu. Želatina botná ve vodných prostředích a utváří gely již při pokojových teplotách. Vodíkové můstky v molekule dávají možnosti želatině utvářet právě tyto gely. [13, 14]

Je nekarcinogenní, netoxická a lze ji biologicky degradovat. Tyto vlastnosti ji právem zařadily do biomedicínské a farmaceutické oblasti, kde našla široké uplatnění. [11]

1.2.2 Algináty

Algináty jsou kopolymery α -L-guluronové kyseliny a β -D-mannurové, které jsou spojeny β -(1,4)-glykosidickými vazbami. Nachází se v přírodě v hnědých mořských řasách, nazývané chaluhy, kde plní strukturní funkci v pevné stěně. Alginát však lze získat i z bakterií rodu *Pseudomonas* a *Azobacter* ve formě extracelulárních polysacharidů, kde plní funkci ochranné vrstvy spor. [13]

Mají také schopnost vytvářet termostabilní filmy a gely. Tvorba gelu je způsobena reakcí dvojmocných kationtů a karboxylových skupin v molekule. Alginátové gely našly uplatnění v řadě aplikací, jakými jsou například farmacie, biotechnologie, medicína a jiné. [14]

1.2.3 Kyselina hyaluronová

Je jedna z hlavních intracelulárních látek pojivových tkání, kde plní funkci lubrikaci kloubů, růst buněk či diferenciaci buněk. Kyselina hyaluronová je signální molekula, protože se účastní imunologických procesů. Jedna z výhod je, že umí na sebe navázat velké množství

vody, tudíž velmi dobře hydratuje tkáň. Má velmi dobrou antioxidační schopnost. Molekula kyseliny hyaluronové je složena z β -N-acetyl-glukosaminu a β -D-glukuronové kyseliny, které jsou mezi sebou vázány β -(1,3)-glykosidickou vazbou. Molekula nevykazuje rozvětvený charakter. [13, 15]

Postup přípravy kyseliny hyaluronové lze provést enzymatickou syntézou enzymu *hyaluronsynthasa*. Další ze způsobů přípravy je z kohoutích hřebínků nebo pupeční šňůry. Postup je takový, že se materiál zmrazí a naseká na jemné kousky, následně se extrahuje ethanolem s přídavkem vody, chloroformu a cetylpyridinium chloridu. Na konec se získaný materiál podrobí úpravě pH. [16]

Využití kyseliny hyaluronové je velice pestré. Využití našla při síťování gelů, které jsou velmi elastické. Další uplatnění našla v medicínské a farmaceutické oblasti, například jako nosič látek, které mají řízené uvolňování. [17]

1.2.4 Chitosan

Chitosan je netoxický, má velice dobré biologické vlastnosti. Je biokompatibilní a biodegradabilní. Chitosan je hlavní derivát chitinu, který je lineární semikrystalický polysacharid. Je sestaven z *N*-acetyl- β -D-glukosaminem, který je spojen β -(1,4)-glykosidickou vazbou. [13, 18]

Nejčastěji se vyrábí alkalickou deacetylací chitinu pomocí hydroxidem sodným. Další výroba je enzymatickým působením *N* – deacetylasy. [18]

Na základě jeho vlastností si našel uplatnění ve farmaceutickém a medicínském průmyslu, kde slouží jako látka na transport léčiv s cíleným uvolňováním. Další využití našel chitosan při konzervaci potravin a kosmetice. Má také uplatnění při impregnaci textilu a čištění vod. [15, 18]

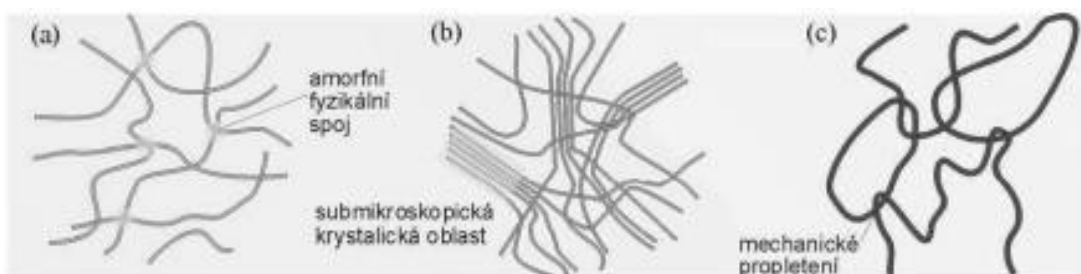
2 SÍŤOVÁNÍ HYDROGELŮ

Hydrogely jsou polymerní látky, které mají ve své molekule polymerní stěny s hydrofilními vlastnostmi. Je však možné k těmto hydrogelům přidat složku s hydrofobním polymerem. Po přidání této složky se zlepší jak jeho vlastnosti, tak i samotná polymerní síť je stabilnější a to zejména ve vodném prostředí. Takové síťování lze provádět fyzikálním nebo chemickým způsobem. [19]

Během síťování mění polymerní řetězec molekulovou hmotnost a modifikuje své vlastnosti. Při větší molekulové hmotnosti má polymerní síť lepší fyzikální i chemickou odolnost, je více mechanicky houževnatý a má vyšší bod tání. Pro síťování jsou zapotřebí, aby řetězec měl chemicky aktivní skupiny, jakými jsou například aniontové ($-\text{NH}_2$), hydroxylové skupiny ($-\text{OH}$), nebo karboxylové ($-\text{COOH}$), které jsou schopny reagovat s daným síťovadlem. [9]

2.1 Fyzikální síťování

K fyzikálnímu síťování není potřeba žádné síťovací činidlo či síťující látka. Síťování probíhá působením vnějších podmínek, jako jsou například chlazení či ohřev. Mezi velké výhody fyzikálního síťování patří skutečnost, že se obejdou bez síťovacího činidla, které mohou být i v některých případech toxického charakteru, nebo mohou mít vliv na integraci určitých látek. V případě, když by mělo síťovadlo tento charakter, muselo by se z hydrogelu vymývat. Vazby uplatňující se při fyzikálním síťování jsou například van der Waalsovi síly, hydrofobní vazby, elektrostatické síly a vodíkové můstky, které jsou díky vazebné energii nejsilnější. Velká nevýhoda je však ta, že tyto sekundární vazby nemají velkou vazebnou energii, což má za následek zhoršenou mechanickou odolnost. [3, 20]

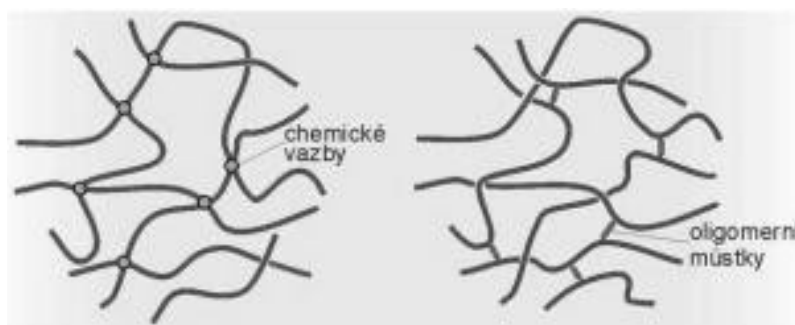


Obrázek č. 3: Síťované gely; (a) silný gel, (b) gel se submikroskopickými krystalickými oblastmi, (c) gel tvořený spleteninami řetězce [21]

Dělení na základě intenzity a struktury fyzikální sítě můžeme rozdělit gely na silné a slabé. Silné gely bývají spojeny v takzvaných uzlových bodech napevno a jsou pružné. Slabší gely jsou pružné a elastické jen při malých hodnotách mechanického napětí. Nevratná deformace nastane, pokud dosáhnou statické meze toku. [4, 22]

2.2 Chemické síťování

U hydrogelů síťovaného chemickou cestou vznikají kovalentní a dokonce i iontové vazby. Provádí se polymerací funkčních skupin hlavního polymerního řetězce radikálovou polymerací. Lze provést i síťování pomocí chemické reakce, jako je například kondenzace. Dále je možno provést síťování pomocí síťovacího činidla, u kterého se mění parametr koncentrace síťovadla a různé nastavování doby síťování v závislosti na daném stupni síťující reakce. [23]



Obrázek č. 4: Znárodnění kovalentního zasíťování [21]

Je mnoho způsobů chemického síťování. Mezi některé metody patří zesítnění příčnými vazbami, při které se využívá radikálové polymerace monomeru s nízkou molekulovou hmotností nebo rozvětvených homopolymerů nebo kopolymerů v přítomnosti síťujícího činidla. Tento typ reakce se provádí v roztoku určené především pro medicínské a biologické aplikace. [8]

Další metoda je kopolymerační reakce, která se využívá k produkci gelů na bázi polymeru. V reakcích se využívá anionické i radikální iniciátory. Například takovými iniciátory můžou být benzoyl peroxid, azobisisobutyronitril. Tímto postupem se vyrábí mnoho gelů. [8]

Jedna z nejnovějších metod je síťování za použití enzymů. Jde o syntézu hydrogelu polyethylenglykolu (PEG) pomocí enzymu. Enzym katalyzuje reakci a následně vytvoří amidovou vazbu mezi jednotlivými polymery. Výsledné vlastnosti tak vzniklého gelu lze regulovat změnou poměru enzymu (lysinu) a PEG. [8]

Metoda zasíťení pomocí vysoko energického záření, je taková metoda, při níž se využívá gama záření a záření elektronových paprsků pro polymeraci nenasycených sloučenin. Polymery, které jsou rozpuštěné ve vodě a derivatizované vinylovými skupinami se dají převést na hydrogely za použití vysoko energického záření. Mohou však být síťovány i polymery bez vinylových skupin. Působením paprsků na roztoky polymeru se tvoří radikály. Rekombinací těchto radikálů vede ke vzniku kovalentních vazeb, které mají za následek zesíťování gelu. Nevýhoda při této metodě je však poškození daného prostředí. [8]

3 ŽELATINA

Želatina je modifikovaný kolagen, který není příliš odolný proti proteázám (skupina enzymů štěpící proteiny). Má také nižší stupeň uspořádání. V technické praxi se zavádí pojem želatina jen pro rozpustné produkty a složky, které mají světlejší zbarvení a vysokou viskozitu. [24]

3.1 Výroba

Želatina je kolagen z částečně hydrolyzovaných kůží, pojiv, vazovic a kostí zvířat. V dnešní době jsou však pro výrobu použity výhradně vepřové a hovězí kůže a kosti. Při výrobě želatiny se v praxi využívá kyselý nebo alkalický způsob, nebo jejich vzájemná kombinace. [24]

Výrobní postup pro získání želatiny se skládá z následujících kroků:

- předpírání surovin
- nařezání surovin
- korekce surovin vápněním a působením kyselin
- praní a vaření
- filtrace
- zahuštění želatinových vod
- naformování želatiny
- sušení želatiny [24]

3.1.1 Výroba želatiny alkalickým způsobem

Tento způsob je vhodný ke zpracování hovězí kůže a jiných zdrojů kolagenu, kdy jateční zvířata byla poměrně stará. Při procesu jsou hovězí kůže nakrájené na malé kousky a dostatečně povápněné, proprány a pravidelně máčeny ve vápenném mléce. Kůže se v koupeli, které má pH mezi 12–13 uchovává po dobu 2 až 4 měsíců. Tato úprava zničí rohovinu kůže a zmýdelní tukové částice. Fáze vápnění spočívá v tom, že struktura kolagenu se uvolní při botnání, což má za následek snadnější vniknutí roztoku dovnitř systému a za působení horké vody se snáze převede kolagen do roztoku. Díky vysokému pH se surovina současně konzervuje. Kolagen se dále propírá a okyselí na požadované pH, které má vliv na výsledné vlastnosti produktu. Při vypírání se kolagen zbaví vázaného vápna, nečistot a uvolněných nebo odbouraných součástí bílkovin. Kolagen se dále zahřívá od 50 °C k bodu varu,

aby došlo k následné solubilizaci a denaturaci. Získají se roztoky o různé koncentraci a kvalitě. Alkalickým způsobem se získá produkt nazývaný želatina typu B. [25]

3.1.2 Výroba želatiny kyselým způsobem

Pomocí kyselého způsobu se zpracovávají rybí a vepřové kůže, ale dají se použít i při výrobě želatiny z kostí. Kůže se po rozřezání a oprání vloží po dobu 24 až 48 hodin do kyselé lázně, která má pH hodnotu přibližně 1,5. Po vyndání z kyselé lázně se kůže opláchnou čistou vodou. Dále se vloží do varných kádí z nerez oceli, kde proběhnou horkovodní extrakce. Nejčastěji bývají tři extrakce. Surovina je dále zahřívána od 50 °C k bodu varu, jak tomu bylo u alkalického způsobu. Znovu se získají roztoky o různé kvalitě. Takovýmto způsobem se získá želatina typu A. [25]

3.2 Vlastnosti

Želatina je průhledná, křehká, pevná látka, světle žluté barvy, bez chuti a bez zápachu. Po vložení do studené vody, hydratuje a vznikají oddělené nabobtnalé částice. Je amfoterního charakteru, což znamená, že se podle pH ve vodném roztoku chová jako zásada nebo jako kyselina. [26]

Je čistá, lehce stravitelná bílkovina. Je složena z 18 aminokyselin, které jsou vyobrazeny v tabulce č. 1. Aminokyseliny jsou základní stavební kameny různých druhů proteinů (bílkovin). Aminokyseliny se spojují dále do řetězců. Lidský organismus dokáže z proteinů vytvořit všechny potřebné aminokyseliny, které jsou nezbytné pro život. Pro člověka je životně důležité přijímat 10 esenciálních aminokyselin. Želatina obsahuje všechny esenciální aminokyseliny, kromě tryptofanu. [24]

Aminokyseliny	g aminokyseliny ve 100 g želatiny	Aminokyseliny	g aminokyseliny ve 100 g želatiny
Glycin	22,3	Leucin	2,8
Prolin	13,6	Valin	2,4
Hydroxyprolin	11,4	Fenylalanin	2,2
Kys. glutamová	9,6	Threonin	1,9
Alanin	9,1	Isoleucin	1,2
Arginin	7,7	Histidin	0,9
Kys. asparagová	5,7	Hydroxylisin	0,9
Lysin	3,5	Methionin	0,8
Serin	3,5	Tyrosin	0,5

Tabulka č. 1: Jednotlivé zastoupení aminokyselin ve 100 g želatiny [24]

Tvorba teplotně reverzibilních gelů ve vodném roztoku je jedna z předních vlastností želatiny. Sílu želatinového gelu vyjadřuje Bloom hodnota. Měření pevnosti gelu se provádí pomocí přístroje, který se nazývá Bloomův gelometr. [26]

3.3 Použití

Využití želatiny je velice pestré a dělí se typy želatiny na použití v určité praxi. Jedny z nejvýznamnějších oblastí, kde lze želatinu použít je potravinářský průmysl (využívá jedlou želatinu), farmaceutický průmysl (farmaceutická želatina), fotografický průmysl (fotografická želatina) a technické aplikace (technická želatina). Želatina jde dále upravovat a různě modifikovat podle konkrétní aplikace a dá se připravit takřka na míru, kde bude použita. [27]

3.3.1 Použití ve farmaceutickém průmyslu

Želatina použita ve farmaceutické oblasti je podobná želatině používané v potravinářství. Využívá se například při výrobě tvrdých (HGC) a měkkých (SGC) želatinových kapslí na léky nebo jako pojivo či nosič farmaceutických tabletových látek. Využití také našla při zastavení vnitřního krvácení po úrazech a také na povrchové vytvrzení obvazů na zlomeniny a rány. [27]

Želatinové tobolky jsou různého tvaru a nabývají různých velikostí. Například perorální tobolky jsou naplněny jednou léčivou látkou a jsou určeny ke vstřebávání v traktu pacienta. Základními stavebními složkami takovýchto tobolek je želatina, sorbitol nebo glycerol, barviva a voda. Sorbitol nebo glycerol plní funkci změkčovadla, želatina je polymerní nosič a voda funguje jako rozpouštědlo. Tobolka musí být sestavena tak, aby nedocházelo k reakci obsahu tobolky se stěnou, která by se mohla narušit. Dále je velice nutné, aby se stěna tobolky rozpustila až v gastrointestinálních šťávách a obsah léčivé složky se mohl lehce uvolnit. Tobolky se dále dělí na měkké, tvrdé enterosolventní a s řízeným uvolňováním. [26, 28]

Další využití želatiny ve farmaceutickém průmyslu je v podobě čípků, expandérů plazmy, želatiny v emulzi, zdravotních bonbonů nebo tablet, vnější aplikace léků a roztoky na uchování semene pro oplodnění dobytka. [26, 27, 28]

3.3.2 Použití v potravinářském průmyslu

V potravinářském průmyslu se využívá jedlá želatina, která je jedna z nejkvalitnějších želatin. V poslední době je právě potravinářský průmysl, kdo je největším spotřebitelem želatiny. Při její výrobě se musí dbát na dodržování čistoty a pečlivě provádět kontrolu kvality, jinak by znehodnocená želatina byla označovaná jako technická želatina. [27]

Oblasti použití potravinářské želatiny jsou cukrovinky, kde ji můžeme nalézt v želatinových bonbonech, maršmelou, lékořice a karamely. Dále je můžeme objevit v rybích a masných výrobcích, jakožto při výrobě šunek, aspiků a dekoračního želé. Používá se i jako zahušřovadlo nízkotučných výrobků a jako stabilizátor do krémů na dezerty. Využití našla i v cukrářství jako stabilizátor nášlehu, zamezení tvorby ledových krystalů a pojivo. Želatina dodává pocit plnosti v ústech a požadovanou konzistenci. [25]

3.3.3 Použití v technické oblasti

Na technickou želatinu nejsou kladeny tak vysoké nároky na čistotu a kvalitu, jak tomu je u potravinářské a farmaceutické želatiny. Uplatnění této želatiny je velice pestré. Mají hnědé až světle nažloutlé zbarvení. Dodávají se ve formě perliček, zrn či šupin. [27]

Technická želatina našla uplatnění při výrobě papíru a jeho potahování, fotografickým papírům, dále při úpravě povrchu a velikosti tkanin z vláken acetátového a umělého hedvábí, nebo úprava slaměných klobouků. Uplatnění našla také v kosmetice jako stabilizátor krémů. Lze ji použít i jako adhezivum, které lze využít při výrobě otisků, výrobě známek a etiket. [26, 29]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem této bakalářské práce bylo posoudit vliv účinků síťování dialdehydu karboxymethylcelulosou (DCMC) vzorky hydrogelů z kostního klihu a vepřové želatiny typu A. Modulace a vyhodnocení experimentu bylo provedeno faktorovými pokusy. Účinky síťování byly sledovány změnou pevnosti gelu, podle standardní metodiky ASTM. Vyhodnotily se optimální podmínky pro síťování želatinového a klihového gelu.

5 PŘÍSTROJE, MATERIÁLY A METODY

5.1 Použité přístroje

- Stevens - LFRA texture analyser
- Magnetické míchadlo IKA C-MAG HS 7
- Další drobní laboratorní vybavení, kádinky, odměrné válce, muflová pec exsikátor, váhy, vývěva, Petriho miska.



Obrázek č. 5: Stevens - LFRA texture analyser



Obrázek č. 6: Magnetické míchadlo IKA C-1

5.2 Použité materiály a chemikálie

- Karboxymethylceluosa (CMC, E466, Penta Chrudim)
- Destilovaná voda
- Kostní klič
- Želatina (z vepřové kůže, typ A, Sigma-Aldrich)

- Jodistan sodný NaIO_4 ($M_r = 213,89$ g/mol, Penta Chrudim)
- Kyselina sírová H_2SO_4 ($M_r = 98,08$ g/mol, Penta Chrudim)
- Ethanol $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ($M_r = 46,08$ g/mol, Penta Chrudim)

5.3 Metoda měření pevnosti gelu

Do standardisované nádoby na měření pevnosti gelu se navážilo $7,50 \pm 0,01$ g želatiny a přidalo se $105 \pm 0,2$ g destilované vody při 25 ± 2 °C, za neustálého míchání skleněnou tyčinkou. Nádobka se vzorkem se vložila do horké vodní lázně o teplotě 50–60 °C za neustálého míchání na magnetickém míchadle. Po rozpuštění vzorku se nádobka nechala stát při pokojové teplotě 10–15 minut, aby se teplota vytemperovala. Nádobka se vzorkem byla poté inkubována při teplotě $10,0 \pm 0,1$ °C po dobu 16–18 hodin.

Měření pevnosti gelu vyžadovalo předčasné zahřátí měřícího stroje LFRA, který je znázorněn na obrázku č. 5. Vzorek se po inkubaci okamžitě umístil co nejbližší pod měřící píst přístroj a spustilo se měření tlačítkem start.

Gelová pevnost želatiny je hlavním měřítkem tuhosti gelu vytvořeného z 6,67 % roztoku připraveného podle určitých předem stanovených podmínek. Bloom hodnota je měřítko síly (váhy), požadované pro stlačení předepsané plochy. Povrch vzorku želatiny je ve vzdálenosti 4 mm. Měření pevnosti gelu bylo provedeno podle metodiky GMIA. [30]

5.4 Metoda stanovení obsahu sušiny

Stanovení obsahu bylo provedeno nepřímou metodou a to tak, že se vzorek sušil při teplotě 103 ± 1 °C do konstantní hmotnosti. Každé stanovení bylo provedeno 3×, ze kterého se brala průměrná hodnota.

Výpočet pro obsah sušiny:

$$S = \frac{m_1}{m_2} \times 100 \quad (1)$$

kde: S – obsah sušiny ve vzorku [%]

m_1 – hmotnost vzorku po sušení [g]

m_2 – hmotnost vzorku před sušením [g]

5.5 Metoda stanovení obsahu popelovin

Stanovení obsahu popelovin bylo prováděno tak, že navážka vzorku byla umístěna do porcelánového kelímku, který se pomalu spaloval nad kahanem do úplného zuhelnatění. Poté byl vzorek žihán 120 minut v muflové peci při 650 ± 4 °C.

Výpočet pro obsah popelovin:

$$P = \frac{m_1}{m_2} \times 100 \quad (2)$$

kde: P – obsah popelovin ve vzorku [%]

m_1 – hmotnost vzorku po žihání [g]

m_2 – hmotnost vzorku před žiháním [g]

6 POSTUP PRÁCE

6.1 Příprava síťovadla

Nejprve bylo naváženo 10 g karboxymethylceluosu (CMC), které se smísilo s 200 ml vody v Erlenmayerově baňce o objemu jednoho litru. CMC se rozpouštěla velice špatně, ale postupným mícháním se rozpustila a vytvořila velice hustý gel, který se částečně rozrazil ručním mícháním skleněnou tyčinkou. Gel nebylo možno zahřívat pro ulehčení postupu práce.

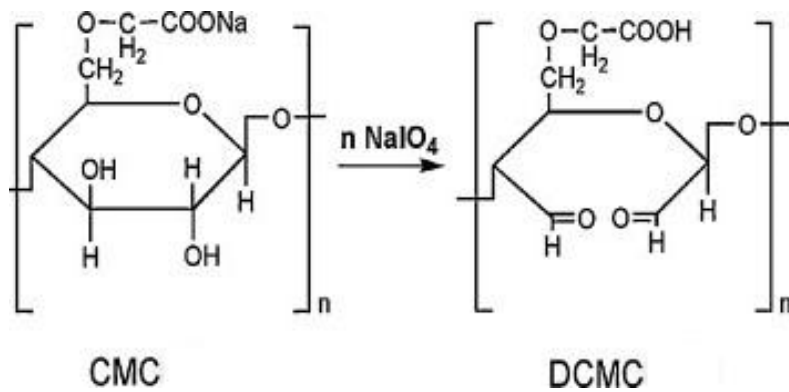
Ke gelovité směsi bylo postupně přilito 100 ml 11 % - tního roztoku NaIO_4 . Ten byl připraven navážením 11 g NaIO_4 do 100 ml baňky. Baňka se poté doplnila destilovanou vodou po rysku. Nádoba se směsí se obalila alobalem, neboť reakce s NaIO_4 probíhá ve tmě. Obsah baňky se musel míchat ručně tyčinkou, protože viskozita směsi je značně veliká. Dále bylo upraveno pH směsi na hodnotu $3,3 \pm 0,2$. Pro úpravu pH se použila 3 M H_2SO_4 . Spotřeba činila 2 ml.

Po upravení směsi se zlehka uzavřela baňka zátkou a umístila na třepačku do inkubátoru po dobu 4 h při $35\text{ }^\circ\text{C}$. Po proběhnutí reakce vznikl roztok s velmi malým množstvím nerozloženého podílu. Dále se směs po oxidaci přefiltrovala přes filtrační papír nejnižší hustoty na Buchnerově nálevce.

Dialdehyd karboxymethylceluosu (DCMC) byl získal tak, že se směs postupně vlévala do 500 ml ethanolu za neustálého míchání na magnetickém míchadle. Vznikla tak sraženina DCMC, která se odfiltrovala na velkém fritovém kelímku S1 nejprve za atmosférického tlaku a poté pomocí odsávačky. Následně byla z fritového kelímku DCMC vybrána lžičkou do velké kádinky. Poté se kádinka zalila ethanolem, důkladně promíchala a nechala chvíli stát. Posléze bylo potřeba, ještě jednou promíchat kádinku a přefiltrovat přes fritu S1. Stejný postup proplachování ethanolem byl následovně použit ještě třikrát. Třetí propláchnutí DCMC bylo prováděno přímo na fritě.

Nyní bylo potřeba, vysušit DCMC. To bylo provedeno tak, že se DCMC rozetřela v tenké vrstvě na Petriho misku a následovalo sušení 24 h při $35\text{ }^\circ\text{C}$ v sušárně s mírnou cirkulací vzduchu. Vysušená DCMC byla poté rozetřena na prášek pomocí třecí misky. Množství získané DCMC činilo 10,5 g. Následně byla DCMC uchována v příslušné nádobce a uložena na místo zamezující kontaktu se světlem.

Příprava DCMC se prováděla podle přípravy LI, Hongli, Bo WU, Changdao MU a Wei LIN. [31] Reakční schéma je uvedeno na obrázku č. 7.



Obrázek č. 7: Schéma reakce oxidace karboxymethylceluosity (CMC) s jodistanem sodným (NaIO_4) za vzniku dialdehydu karboxymethylceluosity (DCMC) [32]

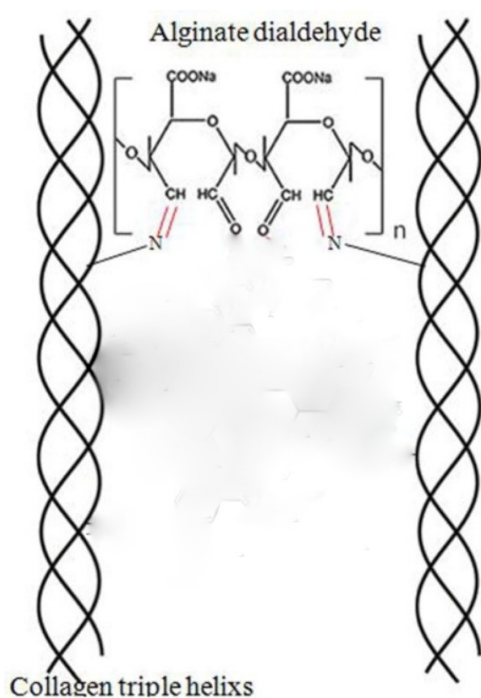
6.2 Síťování gelů

Do standardizované nádoby na měření pevnosti gelu bylo naváženo $7,50 \pm 0,01$ g vzorku želatiny a postupně přidáno $105 \pm 0,2$ g studené destilované vody. Poté se systém začal zahřívat ve vodní lázni na teplotu $50 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu, než se kliš či želatina zcela nerozpustila. Rozpuštění trvalo přibližně 15 minut u vzorku klišu a 20 minut u vzorku želatiny.

Následně se ke směsi přisypalo síťovadlo v množství podle Faktoru A a pokračovalo se v míchání při stejné teplotě lázně do kompletního rozpuštění síťovadla. Nádobka se poté nechala stát při pokojové teplotě k proběhnutí síťující reakce po dobu podle Faktoru B. Po uplynutí síťující reakce byla nádobka vložena do lednice na inkubační dobu předepsanou pro měření pevnosti gelu, která byla 18 hodin. Nakonec byla změřena pevnost gelu.

Pevnost gelu se nejdříve měřila bez přídavku síťovadla za laboratorní teploty a poté s minimy a maximy sledovaných parametrů. Po jejich vyhodnocení následovala úprava faktorů a pokračovalo se v hledání optimálních podmínek pro síťování gelů za pokojové teploty ($24 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$). Po vyhodnocení experimentu za pokojové teploty, byl přídavek síťovadla u klišu stanoven na 20 % a u želatiny na 15 %.

Další experimenty vyžadovaly úpravu Faktoru B, což znamená, že síťující reakce probíhala za zvýšené a snížené teploty, než byla pokojová teplota. Přídavek síťovadla u klišu byl 20 % a u želatiny 20 %. Faktor A byl upraven na dobu síťující reakce na 30, 63 a 96 h.



Obrázek č. 8: Schéma zapojení dialdehydové skupiny do kolagenového řetězce [33]

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Síťování při pokojové teplotě

7.1.1 Výsledky pevnosti gelu klišu a želatiny bez síťovadla

Nejprve byla změřena pevnost gelu u želatiny i klišu bez přídavku síťovadla tj. Faktor A za pokojové teploty (24 ± 1 °C). Zjistilo se, že pevnost gelu u klišu bez přídavku síťovadla činí 30 Bloom a pevnost želatiny bez přídavku síťovadla 121 Bloom.

Byly tak stanoveny základní pevnosti gelu k porovnání s gely obsahující síťovadlo DCMC. Základní pevnosti gelu klišu a želatiny jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Vzorek	Faktor A Přídavek síťovadla (%)	Faktor B Doba reakce (h)	Pevnost gelu (Bloom)
Kliš	-	24	30
Želatina	-	24	121

Tabulka č. 2: Pevnosti gelu klišu a želatiny bez přídavku Faktoru A za pokojové teploty (24 ± 1 °C)

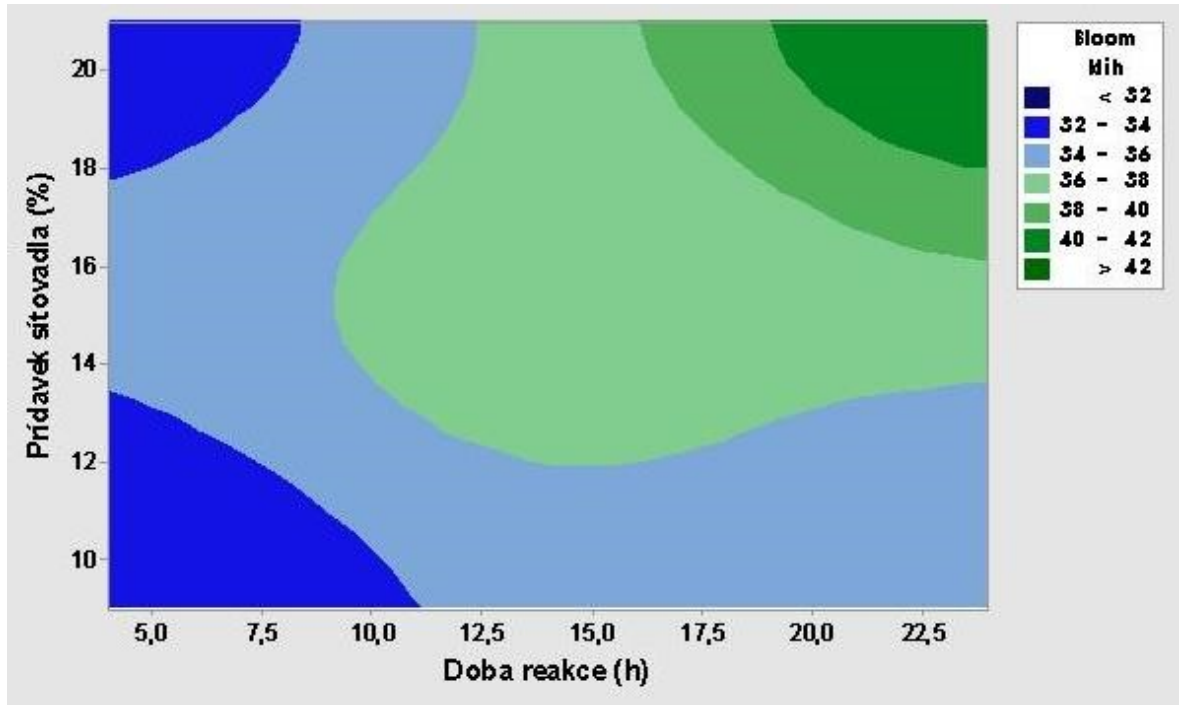
7.1.2 Výsledky síťující reakce za pokojové teploty u vzorku klišu

V tabulce č. 3 lze vyčíst, že maximum pevnosti gelu u vzorku klišu, bylo při 21 % přídavku síťovadla a době síťující reakce 24 h. Naopak nejhorší síťující reakce byla při přídavku síťovadla 9 % a době síťující reakce pouhé 4 h. Střední procentuální přídavek síťovadla měl také pozitivní vliv na zvýšení pevnosti gelu u vzorku klišu, ale nebyl tak účinný, jako při vyšším zastoupení síťovadla. Vzorek číslo 6 neobsahoval přídavek síťovadla (Faktor A), což se projevilo nejhorší pevností gelu.

Číslo vzorku	Faktor A Přídavek síťovadla (%)	Faktor B Doba reakce (h)	Pevnost klišového gelu (Bloom)
1.	9	4	32
2.	9	24	34
3.	21	4	33
4.	21	24	42
5.	15	14	37
6.	-	24	30

Tabulka č. 3: Podmínky síťování pro kliš za pokojové teploty (24 ± 1 °C)

V obrázku č. 9 je možné pozorovat oblast pro optimální síťování vzorku klišu za laboratorní teploty. Optimální oblast v tomto případě byla nejlepší při přidavku síťovadla 21 % a době síťující reakce 24 h.



Obrázek č. 9: Vliv doby reakce a přidavku síťovadla na celkové pevnosti gelu u vzorku klišu

Z vypočítaných maxim a minim v obrázku č. 9, byl navrhnout optimální přidavek síťovadla pro další experimenty za snížené a zvýšené teploty. Faktor A byl nahrazen dobou síťující reakce a Faktor B byl nahrazen teplotou při inkubaci. Hmotnostní procentuální přidavek síťovadla pro síťující reakci u vzorku klišu, byl stanoven na 20 %.

Z měření bylo patrné, že na pevnosti gelu se projevuje jak Faktor A, což je hmotnostní procentuální přidavek síťovadla stanovený na navážku vzorku, tak i Faktor B, kterým byla doba síťující reakce. Střední procentuální přidavek síťovadla nebyl tak účinný, protože na základě navržených parametrů byl časový průběh u této síťující reakce omezen na pouhých 15 hodin.

Proto bylo v následujících experimentech za zvýšené a snížené teploty doba síťující reakce prodloužena až na 96 hodin. Faktor doby síťování se tak mohl více projevit v celkové pevnosti gelu.

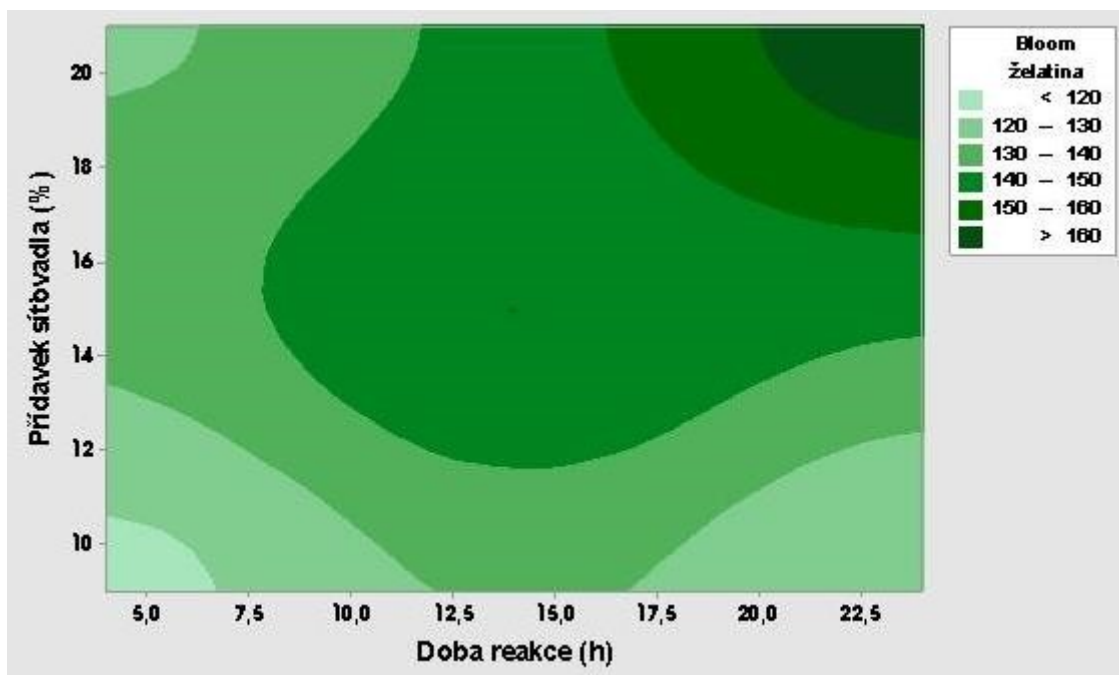
7.1.3 Výsledky síťující reakce za pokojové teploty u vzorku želatiny

V tabulce č. 4 jde vidět, že nejlepší síťující reakce želatiny nastala při 21 % přidavku síťovadla DCMC a době síťující reakce 24 h měla hodnotu 166 Bloom. Střední experiment vyšel taky velice pozitivně, ale pevnost želatinového gelu byla o 16 bloom horší jak u maxima. Minimální pevnost gelu nastala při přidání 9 % síťovadla a doba síťující reakce byla pouhých 4 h. Vzorek č. 6 bez přidavku síťovadla neměl překvapivě nejhorší pevnost želatinového gelu.

Číslo vzorku	Faktor A Přídavek síťovadla (%)	Faktor B Doba reakce (h)	Pevnost želatinového gelu (Bloom)
1.	9	4	118
2.	9	24	120
3.	21	4	129
4.	21	24	166
5.	15	14	150
6.	-	24	121

Tabulka č. 4: Podmínky síťování pro želatinu za pokojové teploty (24 ± 1 °C)

Z obrázku č. 10 lze vyčíst, že vzorek želatiny síťovaný DCMC při pokojové teplotě vykazuje zlepšení pevnosti gelu již při době reakce 12 h a 15 % přídavku síťovadla. Maximum pevnosti gelu (166 Bloom), při době síťující reakce 24 h a 21 % síťovadla. Naopak minimální pevnost gelu byla 118 Bloom při době síťování 4 h a 9 % síťovadla.



Obrázek č. 10: Vliv doby reakce a přídavku síťovadla na celkové pevnosti gelu u vzorku želatiny

Lze vyvodit závěr, že na celkové pevnosti gelu má vliv, jak procentuální přídavek síťovadla, tak i doba síťování a vzájemná kombinace obou faktorů. Nicméně Faktor A, což je přídavek síťovadla, má o něco větší vliv v tomto případě, jak u vzorku klihu, který bylo možné vidět v obrázku č. 9.

Na základě těchto výsledků bylo potřeba ověřit, jak se bude vzorek klihu síťovat DCMC za snížené a zvýšené teploty. Další část práce se věnuje možnosti síťování za zvýšené teploty.

7.2 Síťování při zvýšené teplotě

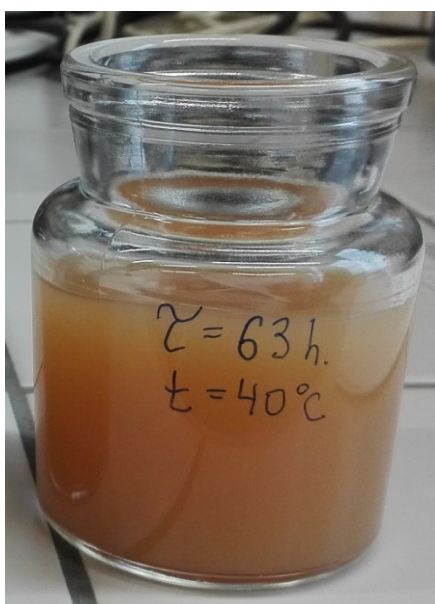
Po vyhodnocení výsledků při pokojové teplotě, byl stanoven neoptimálnější přídavek síťovadla DCMC u klihu 20 % a u želatiny 15 %. Následně byly upraveny faktory. Faktor A byl nahrazen dobou síťující reakce na 30, 63 a 96 h. Faktor B byl upraven na teplotu síťující reakce na 30, 40 a 50±0,1 °C.

7.2.1 Výsledky síťující reakce za zvýšené teploty u vzorku klihu

V tabulce č. 5 vykazuje nejlepší pevnost klihového gelu vzorek č. 1 při teplotě 30 °C a době síťující reakce 30 h. Naopak minimální pevnost gelu nastala u vzorku č. 4 při teplotě 15 °C a době síťující reakce 96 h. Uvedený vzorek č. 6 je zde přidán, jako základní pevnost gelu ke srovnání. Z uvedených hodnot lze vyčíst, že zvýšení teploty má negativní vliv na síťující reakci.

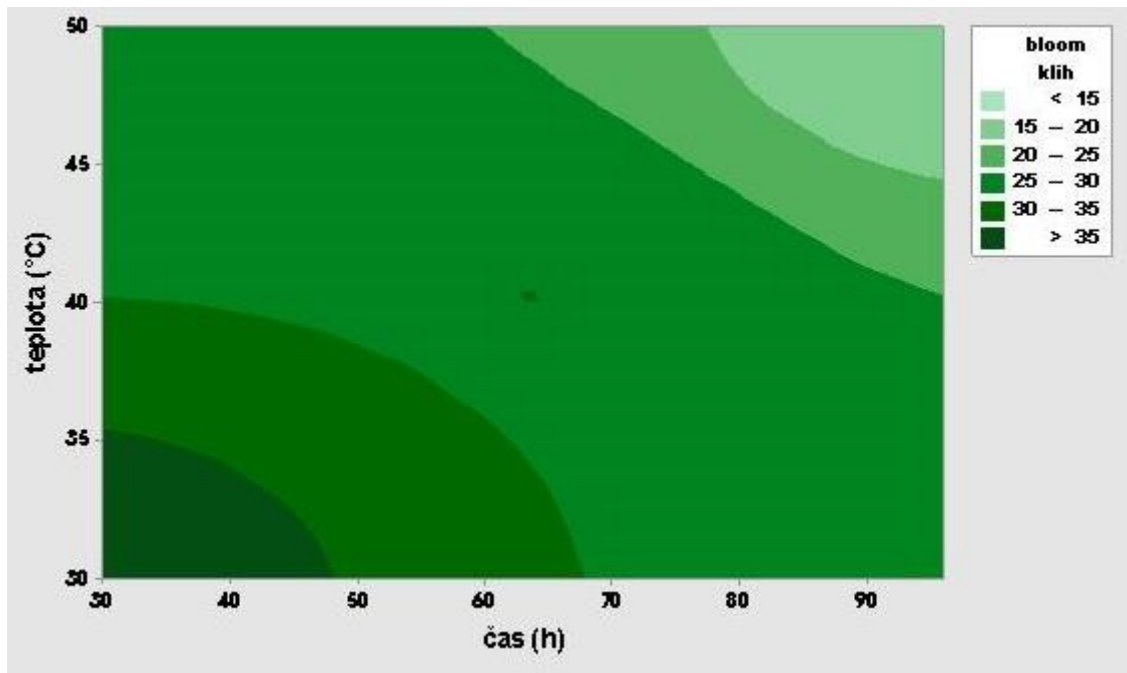
Číslo vzorku	Faktor A Doba reakce (h)	Faktor B Teplota (°C)	Pevnost klihového gelu (Bloom)
1.	30	30	39
2.	30	50	25
3.	96	30	28
4.	96	50	15
5.	63	40	30
6.	24	24	30

Tabulka č. 5: Podmínky síťování pro klih za zvýšené teploty s 20 % síťovadla



Obrázek č. 11: Barva vzorku klihu pro dobu síťující reakce 63 h při teplotě 40 °C

V obrázku č. 12 je zobrazeno, jak doba síťující reakce a teplota inkubace ovlivňují výslednou pevnost gelu. Síťující reakci vůbec nesvědčí vyšší teploty při inkubaci vzorku. Nejlepší oblast pro síťování gelu se nachází v nižších teplotách při inkubaci a doba síťovací reakce okolo 40 h. Pevnost gelu u vzorku klihu byla dokonce u některých experimentů horší, než pevnost gelu klihu bez přidání DCMC síťovadla při inkubaci za pokojové teploty, jak je uvedeno v tabulce č. 3.



Obrázek č. 12: Vliv doby reakce a teploty na celkové pevnosti gelu u vzorku klihu

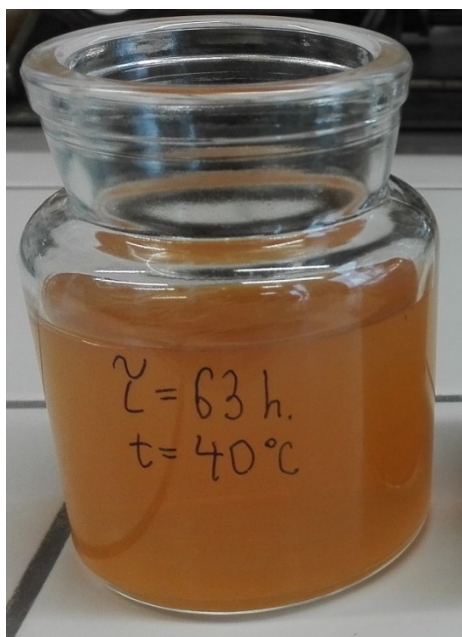
Vlivy jednotlivých faktorů je takový, že teplota má větší vliv na celkovou pevnost gelu, než je tomu u časového průběhu reakce. Vzájemná kombinace obou faktorů nemá až takový vliv na celkovou pevnost gelu, jak tomu bylo v případě síťování za pokojové teploty.

7.2.2 Výsledky síťující reakce za zvýšené teploty u vzorku želatiny

Navrhnuté podmínky a výsledná pevnost gelu jsou vyobrazeny v tabulce č. 6. Obsah DCMC síťovačla byl stanoven na 15 % přídatek. Vzorek č. 6 je zde uveden jako základní pevnost želatinového gelu bez přídatku síťovačla, inkubovaný za pokojové teploty. Vzorek č. 1 vykazoval maximální pevnost gelu a jeho hodnota byla 147 Bloom při 30 °C a době reakce 30 h. Naopak minimální pevnost gelu nastala u vzorku č. 4 inkubovaný při teplotě 50 °C a době reakce 96 h.

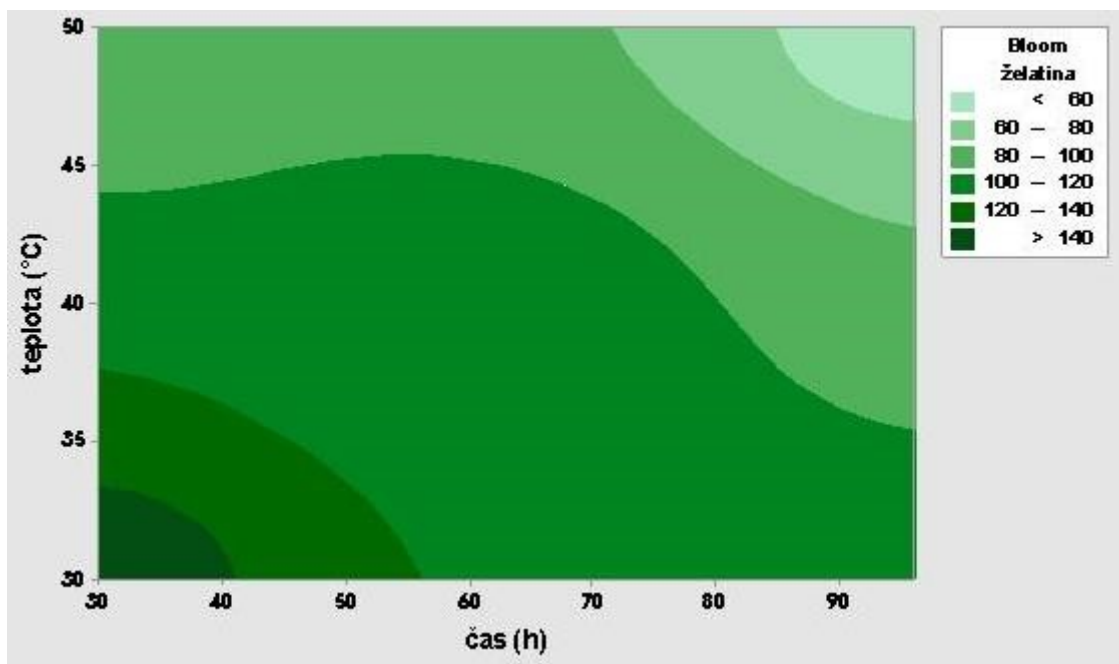
Číslo vzorku	Faktor A Doba reakce (h)	Faktor B Teplota (°C)	Pevnost želatinového gelu (Bloom)
1.	30	30	147
2.	30	50	93
3.	96	30	102
4.	96	50	52
5.	63	40	107
6.	24	24	121

Tabulka č. 6: Podmínky síťování pro želatinu za zvýšené teploty s 15 % síťovačl



Obrázek č. 13: Barva vzorku želatiny pro dobu síťující reakce 63 h při teplotě 40 °C

Na obrázku č. 14 jsou ještě patrnější rozdíly pro podmínky síťující reakce, než tomu bylo u vzorku klišu za zvýšené teploty, které jsou vidět v obrázku č. 12. Nejvhodnější oblast pro síťování pomocí DCMC za zvýšené teploty u vzorku želatiny, se nachází v oblasti nižších hodnot teplot i době síťující reakce v inkubátoru. Chování želatinového gelu za vyšších teplot nemělo pozitivní vliv na síťující reakci, ba naopak měla spíše negativní účinek. Pevnost gelu, byla téměř ve všech případech nižší, jak pevnost želatinového gelu bez síťovadla inkubovaného za pokojové teploty.



Obrázek č. 14: Vliv doby reakce a teploty na celkové pevnosti gelu u vzorku želatiny

Vliv jednotlivých faktorů u vzorku želatiny je velice podobný, jak u vzorku s klišem. Faktor B, což je teplota, má o něco větší vliv na celkovou pevnost gelu, než Faktor A, což je doba při inkubaci želatinového gelu v inkubátoru. Vzájemný vliv obou faktorů na celkovou pevnost gelu je minimální.

Z vyhodnocených výsledků, které nebyly uspokojivé, bylo třeba znovu upravit Faktor B a pokračovat v experimentech.

V další části bakalářské práce se věnuji síťování klišového a želatinového gelu pomocí DCMC za snížené teploty.

7.3 Síťování při chlazení

Zvýšená teplota má negativní vliv na síťující reakci a celkovou pevnost gelu, jak u vzorku klihu, tak u vzorku želatiny. Proto bylo třeba otestovat reakci za nižších teplot, než pokojové (24 ± 1 °C).

Inkubace vzorků probíhala při teplotách 10, 14 a $18 \pm 0,1$ °C. Doba síťující reakce zůstala zachována, jak při zvýšené teplotě a to na 30, 63 a 96 h.

7.3.1 Výsledky síťující reakce za snížené teploty u vzorku klihu

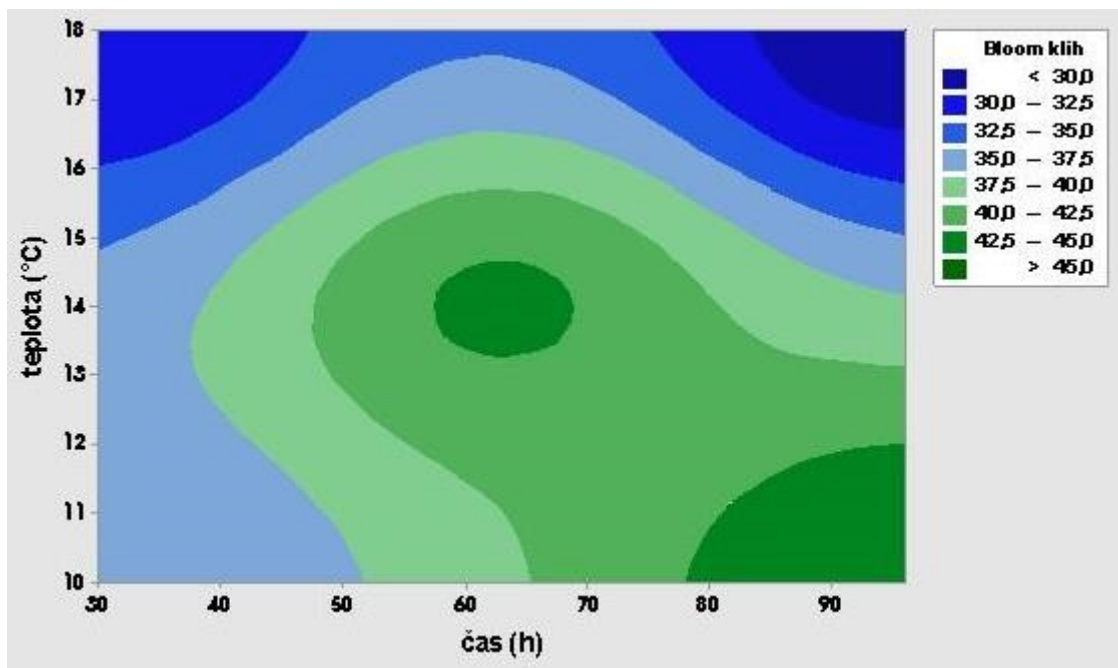
Procentuální přírůstek síťovačů zůstal zachován, tedy 20 % DCMC a Faktor A (doba síťující reakce) zůstala také stejná, jak v případě za zvýšené teploty.

Výsledná pevnost gelu a navrhnuté podmínky jsou vyobrazeny v tabulce č. 7. Minimální pevnost gelu vykazoval vzorek č. 4, který měl téměř shodnou pevnost gelu jako základní vzorek č. 6 síťovaný při teplotě 24 °C. Středový experiment při teplotě 14 °C a době reakce 63 h měl pevnost gelu 43 Bloom, což je druhá nejvyšší pevnost klišového gelu z celého měření. Nejvyšší pevnost klišového gelu byla 45 Bloom u vzorku č. 3 inkubovaný při teplotě 10 °C a době síťující reakce 96 h.

Číslo vzorku	Faktor A Doba reakce (h)	Faktor B Teplota (°C)	Pevnost klišového gelu (Bloom)
1.	30	10	35
2.	30	18	30
3.	96	10	45
4.	96	18	28
5.	63	14	43
6.	24	24	30

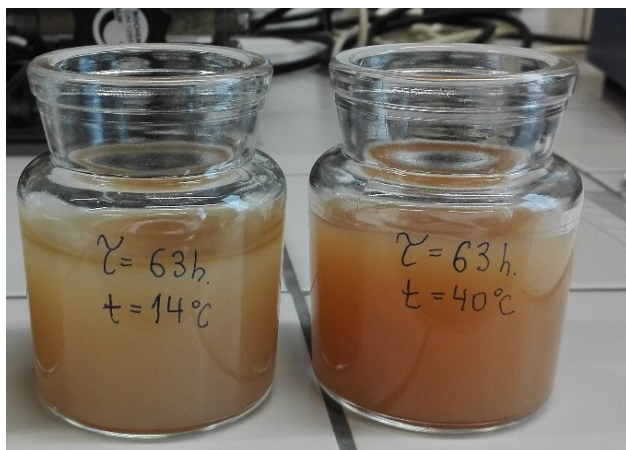
Tabulka č. 7: Podmínky síťování pro klih za snížené teploty s 20 % síťovačů

Z obrázku č. 15 je vyobrazena neoptimálnější oblast pro síťování vzorku klišu za snížené teploty. Vzorek klišu síťovaný DCMC vykazoval zvýšenou pevnost gelu v rozmezí teplot 10–14 °C a době síťující reakce 60–96 h.



Obrázek č. 15: Vliv doby reakce a teploty na celkové pevnosti gelu u klišu

Na obrázku č. 16 lze pozorovat barevné změny po síťující reakci u vzorku klišu při různých teplotách inkubace a stejné době síťující reakce. Největší pevnost vykazoval vzorek klišu inkubovaný při teplotě 10 °C a době síťující reakce 96 h, který je zobrazen na obrázku č. 17. Pevnost tohoto klišového gelu byla 45 Bloom.



Obrázek č. 16: Změny barvy vzorku klišu pro dobu síťující reakce 63 h a teplotu inkubace 14 °C a 40 °C



Obrázek č. 17: Barva vzorku klišu pro dobu síťující reakce 96 h při teplotě 10 °C

7.3.2 Výsledky síťující reakce za snížené teploty u vzorku želatiny

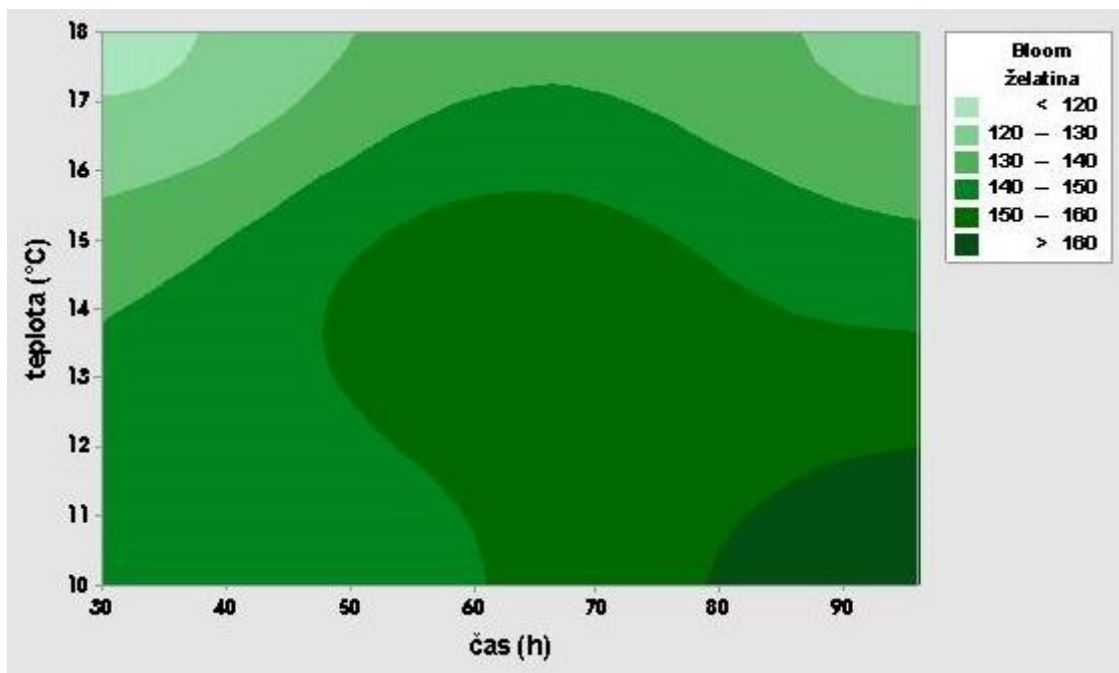
Procentuální přídavek síťovadla zůstal zachován, tedy 15 % DCMC a Faktor A (doba síťující reakce) zůstala taktéž stejná, jak v případě za zvýšené teploty. Upraven byl Faktor B (teplota), protože pevnost želatinového gelu za zvýšených teplot se projevila negativně.

V tabulce č. 8 jsou uvedeny pevnosti želatinového gelu při změně teplot. Maximální hodnota pevnosti želatinového gelu nastala u vzorku č. 3, která měla hodnotu 167 Bloom, při teplotě 10 °C a době inkubace 96 h. Vzorek č. 3 měl dokonce nejlepší pevnost gelu z celého experimentálního měření. Naopak minimální pevnost želatinového gelu nastala u vzorku č. 2, který měl pevnost pouhých 118 Bloom. Vzorek č. 6 je zde uveden jako základní pevnost gelu při pokojové teplotě 24 °C.

Číslo vzorku	Faktor A Doba reakce (h)	Faktor B Teplota (°C)	Pevnost želatinového gelu (Bloom)
1.	30	10	140
2.	30	18	118
3.	96	10	167
4.	96	18	128
5.	63	14	157
6.	24	24	121

Tabulka č. 8: Podmínky síťování pro želatinu za zvýšené teploty s 15 % síťovadla

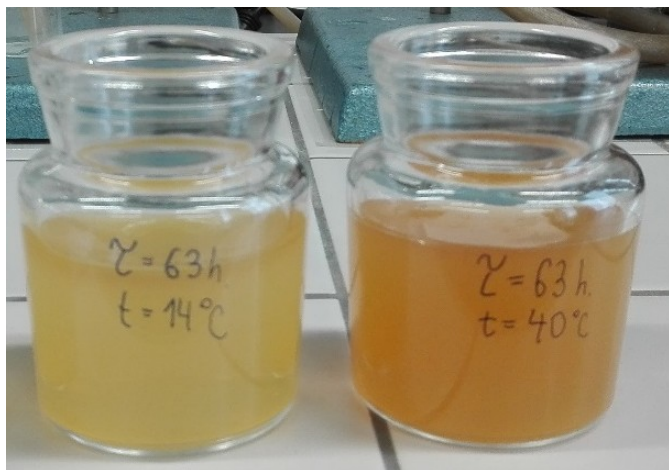
V Obrázku č. 18 lze vidět, že chování želatinového gelu, při síťování pomocí DCMC za nižších teplot, než je pokojová teplota (24 °C) má velmi dobré výsledky v celkové pevnosti gelu. Dále je patrné, že pevnost gelu narůstá již při kratší době síťující reakce za nižších teplot (10–13 °C), avšak maximální pevnost želatinového gelu byla v oblasti 90 h síťující reakce a 10–11 °C při inkubaci vzorku.



Obrázek č. 18: Vliv doby reakce a teploty na celkové pevnosti gelu u želatiny

Největší vliv na celkovou pevnost gelu má Faktor B (teplota), jak tomu bylo i v případě vzorku klišu za snížené teploty. Vliv doby inkubace (Faktor A) má taky značný vliv, ale ne tak velký, jako teplota inkubace vzorku. Vzájemný vliv obou těchto faktorů, má na celkovou pevnost gelu nejmenší účinek, ale není nulový.

Na obrázku č. 19 jsou patrné barevné změny vzorky želatiny po síťující reakci při čase 63 hodin a teplotách 14 °C a 40 °C. Vzorek při 40 °C měl i výraznější zápach a barvu, než vzorky inkubované při nižších teplotách. Pro srovnání je na obrázku č. 20 vyobrazen želatinový gel, jehož síťovací reakce byla 96 h při teplotě 10 °C. Světlejší vzorky u klihu i želatiny vykazovaly mnohem lepší pevnost gelu, než tmavší vzorky, které bylo možné pozorovat i na obrázcích č. 16, 17.



Obrázek č. 19: Změny barvy vzorku želatiny pro čas síťující reakce 63 h a teplotu inkubace 14 °C a 40 °C



Obrázek č. 20: Barva vzorku želatinového gelu po síťující reakci 96 h a teplotě inkubace 10 °C

7.4 Měření pH gelů

K závěru práce bylo přidáno i měření pH roztoků gelů klihu i želatiny pro dobu síťující reakce 63 h, při teplotě 14 °C.

7.4.1 Postup při měření pH

Nejprve se rozpustila navážka vzorku v destilované vodě, která se zahřívala ve vodní lázni na magnetickém míchadle. Následně se změřilo pH roztoku. Dále byl roztok umístěn zpět na míchadlo, přisypalo se síťovadlo. Ke vzorku klihu se přidalo 20 % síťovadla a vzorku želatiny 15 % síťovadla. Následně se oba vzorky zahřívaly a to až k úplnému rozpuštění síťovadla. Po následném rozpuštění síťovadla se znovu změřilo pH směsi a vzorek se umístil na předepsanou inkubační dobu 63 h a teplotě 14 °C do inkubátoru. Po proběhnutí síťující reakce a následném měření pevnosti gelu byl vzorek znovu rozpuštěn ve vodní lázni a následovalo poslední měření pH směsi.

7.4.2 Výsledky pH gelu klihu

Doba měření pH	pH
Po rozpuštění vzorku bez síťovadla	5,15
Po rozpuštění vzorku se síťovadlem	5,02
Po síťovací reakci	4,43

Tabulka č. 9: Měření pH roztoku pro klih

7.4.3 Výsledky pH gelu želatiny

Doba měření pH	pH
Po rozpuštění vzorku bez síťovadla	4,77
Po rozpuštění vzorku se síťovadlem	4,68
Po síťovací reakci	4,36

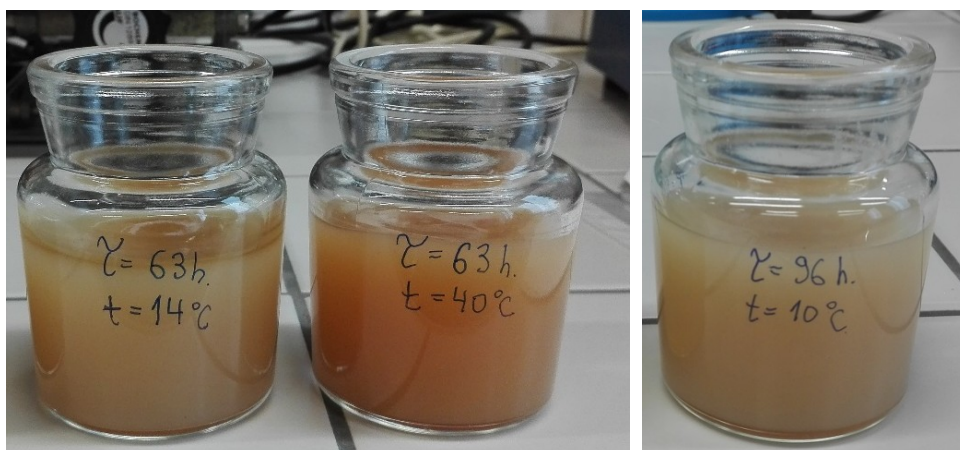
Tabulka č. 10: Měření pH roztoku pro želatinu

Z tabulky č. 9 a tabulky č. 10 lze vyvodit závěr, že pH může mít také vliv na síťující reakci a také na výslednou pevnost gelu. Měření bylo jen orientační a nebylo mým cílem toto měření již více zkoumat v této experimentální práci.

8 ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ A NÁVRH OPTIMÁLNÍCH PODMÍNEK K SÍŤOVÁNÍ GELŮ

Nejlepší pevnost gelu vykazoval vzorek klihu síťovaný 20 % síťovadla při teplotě 10 °C a době síťující reakce 96 h. Pevnost vzniklého klihového gelu za těchto podmínek byla 45 Bloom, což je o 15 Bloom vyšší hodnota jak u klihového gelu vzniklého bez přídavku síťovadla za pokojové teploty. Minimální pevnost gelu u vzorku klihu nastala při teplotě inkubace 50 °C a době síťující reakce 96 h. Z uvedených výsledků pro systém vzorku klihu navrhuji optimální podmínky pro síťování, kde obsah síťovadla je stanoven na 20 %, doba síťující reakce 90–100 h a teplota inkubace 10–12 °C.

Na obrázku č. 21 lze pozorovat barevné změny po síťující reakci u vzorku klihu při různých teplotách inkubace a stejné době síťující reakce. Největší pevnost vykazoval vzorek klihu inkubovaný při teplotě 10 °C a době síťující reakce 96 h, který je zobrazen na obrázku č. 22. Pevnost tohoto klihového gelu byla 45 Bloom.



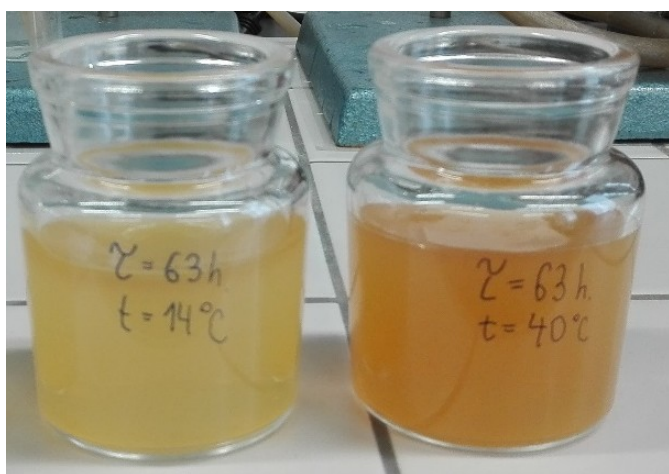
Obrázek č. 21: Změny barvy vzorku klihu pro dobu síťující reakce 63 h a teplotu inkubace 14 °C a 40 °C

Obrázek č. 22: Barva vzorku klihu pro dobu síťující reakce 96 h při teplotě 10 °C

U želatinového vzorku vykazoval nejlepší pevnost gelu vzorek síťovaný 15 % síťovadla při teplotě 10 °C a době síťující reakce 96 h, jak tomu bylo u vzorku klihu. Výsledná pevnost vzniklého želatinového gelu za těchto podmínek byla 167 Bloom, což je o 46 Bloom větší hodnota, než měl želatinový gel, vzniklý za pokojové teploty bez přídavku síťovadla, který určoval základní pevnost gelu. Minimální pevnost želatinového gelu nastala při teplotě inkubace 50 °C a době síťující reakce 96 h. Takto vzniklý želatinový gel měl pevnost

pouhých 52 Bloom. Na základě uvedených výsledků navrhuji pro systém vzorku želatiny optimální podmínky pro síťování, kde obsah síťovadla je stanoven na 15 %, teplota inkubace vzorku 10–12 °C a doba síťující reakce 90–100 h.

Na obrázku č. 23 jsou patrné barevné změny vzorky želatiny po síťující reakci při čase 63 hodin a teplotách 14 °C a 40 °C. Vzorek při 40 °C měl i výraznější zápach a barvu, než vzorky inkubované při nižších teplotách. Pro srovnání je na obrázku č. 24 vyobrazen želatinový gel, jehož síťovací reakce byla 96 h při teplotě 10 °C. Světlejší vzorky u klihu i želatiny vykazovaly mnohem lepší pevnost gelu, než tmavší vzorky, které bylo možné pozorovat i na obrázcích č. 21, 22.

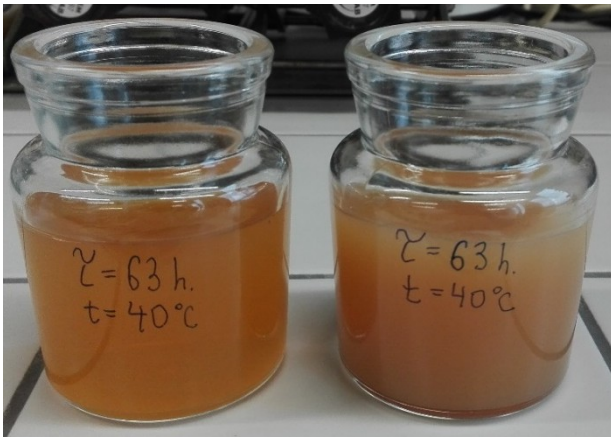


Obrázek č. 23: Změny barvy vzorku želatiny pro čas síťující reakce 63 h a teplotu inkubace 14 °C a 40 °C



Obrázek č. 24: Barva vzorku želatinového gelu po síťující reakci 96 h a teplotě inkubace 10 °C

Na obrázku č. 25 můžeme spatřit výraznou barevnou změnu, která proběhla jak u vzorku želatiny, tak i u vzorku klihu. Tento experiment měl parametry Faktor A (doba reakce) 63 h inkubace a Faktor B (teplota) při 40 °C. Tento experiment neměl vůbec dobré výstupní hodnoty, nýbrž měl dokonce druhé nejhorší výsledky z celého měření. Vůbec nejhorší výsledek měl experiment prováděný při teplotě 50 °C a době reakce 96 h. Pevnost tohoto želatinového gelu byla pouhých 52 Bloom.



Obrázek č. 25: Barevná změna želatiny (vlevo) a klihu (vpravo) při teplotě 40°C a době reakce 63 h

Navrhnuté optimální podmínky k síťování želatinového i klihového jsou shodné, protože na základě výsledků z měření, gely vykazovaly nejlepší pevnost v takto určených podmínkách. Optimální podmínky jsou při teplotě inkubace $10\text{--}12^\circ\text{C}$ a době síťující reakce $90\text{--}100$ h, kdy přídavek síťovadla u klihu byl 20 % a u želatiny 15 %. Tyto optimální podmínky lze vyčíst z obrázků č. 15 a obrázku č. 18.

ZÁVĚR

Bakalářská práce je rozdělena do dvou částí a to na teoretickou část a praktickou část.

V teoretické části bakalářské práce bylo popsáno rozdělení hydrogelů podle původu, způsobu přípravy, charakteru iontového náboje, druhu zasítní a biodegradability. Dále v teoretické části byly popsány hydrogely na bázi přírodních polymeru, jimiž jsou algináty, želatina, kyselina hyaluronová a chitosan. Dále zde bylo popsáno síťování hydrogelů fyzikálním i chemickým způsobem. Ke konci teoretické části byly popsány vlastnosti, výroba a využití želatiny.

Cílem praktické části této bakalářské práce bylo posoudit možnosti síťování želatinových hydrogelů oxidovaným polysacharidem dialdehydu karboxymethylcelulosou (DCMC). Metodika této práce byla založena na faktorových pokusech typu 2^2 , což znamenalo dvě úrovně a dvě sledované veličiny (faktory).

V praktické části bakalářské práce byla popsána výroba síťovadla DCMC z karboxymethylcelosy (CMC) za použití NaIO_4 a následného vysrážení do ethanolu. Byly testovány účinky síťovadla v přídávku 9–21 % síťovadla a době síťující reakce 4–24 h při pokojové teplotě (24 ± 1 °C). Následně byly naměřeny pevnosti klišového a želatinového gelu.

Po vyhodnocení výsledků při pokojové teplotě byl přírůstek síťovadla upraven na 20 % pro kliš a 15% pro želatinu. Následně bylo třeba otestovat, jak se projeví na celkové pevnosti gelu změna teploty při inkubaci vzorku. Při zvýšené teplotě inkubace (30, 40 a 50 °C) a době síťující reakce (30, 63 a 96 h) byly zjištěny snížené pevnosti gelu jak u vzorku klišu, tak i u vzorku želatiny. Naopak při snížených teplotách inkubace (10, 14 a 18°C) a době síťující reakce (30, 63 a 96 h) bylo u vzorků klišu i želatiny zjištěno zvýšení pevnosti gelu. V takto zvolených podmínkách pevnost klišového gelu narostla o 17–50 % a pevnost želatinového gelu narostla o 16–38 %.

Optimální podmínky pro síťování vzorků klišu a želatiny jsou: přírůstek síťovadla pro kliš 20 % a pro želatinu 15 %, teplota inkubace 10–12 °C, doba síťující reakce 90–100 h. Za těchto podmínek došlo k 50 % nárůstu pevnosti klišového gelu a 38 % nárůstu pevnosti u želatinového gelu. Navrhnuté optimální podmínky k síťování želatinového i klišového jsou shodné, protože na základě výsledků z měření, gely vykazovaly nejlepší pevnost v takto určených podmínkách.

Byly potvrzeny síťující účinky DCMC na křehké a želatinové hydrogely. DCMC může být vhodnou alternativou k glutaraldehydu (GA), který uvolňuje toxické látky a depolymerizuje příčné vazby a může být použit ve farmaceutické a medicínské oblasti.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] OTTEMBRITE, R. M. a K. PARK. *Biomedical applications of hydrogels handbook* [online]. 1. vyd. New York: Springer, 2010 [cit. 2017-03-11]. ISBN 978-144-1959-195.
- [2] LI, H., *Smart hydrogel modelling* [online]. Heidelberg: Springer, 2009 [cit. 2017-03-12]. ISBN 978-3-642-02367-5.
- [3] PARK, K., a kol. *Biodegradable hydrogels for drug delivery*. Switzerland: Techno-mic Publ.Comp, 1993. ISBN 978-1566760041.
- [4] SAARAI, A.. *Hydrogels for biomedical applications: Hydrogely pro použití v biomedicině: doctoral thesis summary* [online]. 1. vyd. Zlín: Tomas Bata Uni-versity in Zlín, 2012, 55 s. [cit. 2017-03-11]. ISBN 978-80-7454-240-4.
- [5] AHMED, E., M. a HU, R. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. *Journal of Advanced Research* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2013. [cit. 2017-03-11]. DOI: 10.1016/j.jare.2013.07.006.
- [6] SPERLING, L., H., a HU, R. Interpenetrating Polymer Networks. *Polymer Blends Handbook* [online]. Netherlands. Dordrecht: Springer, 2003, 417-447 s [cit. 2017-03-11]. DOI: 10.1007/0-306-48244-4_6
Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/0-306-48244-4_6
- [7] ZHANG, X., WU, D., CHU, C., C. Synthesis and characterization of partially biodegradable, temperature and pH sensitive Dex-MA/PNIPAAmhydrogels. *Biomaterials* [online]. 2004, roč. 25, 4719-4730 s. [cit. 2017-03-11].
Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15120518>
- [8] DATTA, A. *Characterization of Polyethylene Glycol Hydrogels for Biomedical Applications*. A Thesis. The Department of Chemical Engineering. August, 2007
- [9] BARBUCCI, R. *Hydrogels: Biological properties and applications*. Milan: Springer, 2009, ISBN 978-88-470-110-8.

- [10] GAREIS, R., SCHRIEBER, H. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. 3 vyd. Amsterdam: Elsevier, 2013. 1519 s. ISBN 978-0-12-374626-9.
- [11] MOKREJŠ, P., F., LANGMAIER, *Aplikace přírodních polymerů*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008, 90s. ISBN 978-80-7318-6
- [12] KLÁSEK, A., *Nauka o polymerech II: biopolymery*. Vyd. 1. Praha: SNTL, 1980, 115 s
- [13] Inovace.cz - Alginát – organické zlato. *Inovace.cz* [online]. [cit. 2017-03-11]. Dostupné z: <http://www.inovace.cz/novinky/542-alginat--organicke-zlato>
- [14] SELL, S., P., S., WOLFE, a kol., *The use of natural polymers in tissue engineering: A focus on electrospun extracellular matrix analogues polymers*[online]. 2010, roč 2, č.4 ,522-553 s [cit. 2017-03-11]. DOI:10.1016/S0266-3538(03)00275-6.
- [15] TRUNKÁTOVÁ, A., *Polymerní nosiče léčiv*, Bakalářská práce, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009
- [16] LAPČÍK, L. Jr., BOHDANECKÝ, M., LAPČÍK L., BAKOŠ, D., Kyselina hyaluronová – příprava, struktura, vlastnosti, aplikácia. *Chemické Listy* 85, 1991, 281-299 s.
- [17] HASCALL, C. V., LAURENT, C. T. *Hyaluronan: Structure and Physical Properties* [online]. [cit. 2017-03-11]. Dostupné z: <http://glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan/HA01/HA01E.html>.
- [18] VAVŘÍKOVÁ, E., J., VINŠOVÁ. CHITOSAN A JEHO FARMACEUTICKÉ APLIKACE. *Chemické listy* [online]. 2009, č. 1, 56-65 s [cit. 2017-0-13]
- [19] H. GULREZ, S. K., S. AL-ASSAF., Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications. *Progress in Molecular and Environmental Bio-engineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications* [online]. InTech, 2011 [cit. 2017-03-14]. DOI: 10.5772/24553. Dostupné
- [20] YOUNG, S., a kol. Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules. *Journal of Controlled Release* [online]. 2005, roč. 109, č.

- 1-3, 256-274 s. [cit. 2017-03-16]. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365905004979>
- [21] Pouchlý J., *Fyzikální chemeie makromolekulárních a koloidních soustav*, VŠCHT Praha, Praha 1998
- [22] STOKLASA, K., *Makromolekulární chemie I*, UTB Zlín, 2005, s 106
- [23] GARCHA, L., AGUILAR, M., R., ROMAN, J., S. *Biodegradable Hydrogels for Con-trolled Drug Release* [online]. New York: Springer, 2010. 147-156 s. [cit. 2017-04-07] ISBN: 978-1-4419-5919-5 Dostupné z: http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-1-4419-5919-5_8
- [24] BLAŽEJ, A., a kol. *Technologie kuže a kožešin*. 1. vyd. Praha 1 : Nakladatelství technické literatury, n.p., 1984. 456 s.
- [25] Hages pro Ceskou republiku, *Želatina* [online]. 2005 [cit. 2017-04-07]. Dostupný z WWW: <<http://www.hages.cz/katalogy/zelatina.pdf>>.
- [26] Gelatin manufacturers institute of America, inc.. *Gelatin*. 1st edition. New York: Gelatin manufacturesrs institute of America, inc., 1973. 5 – 24 s.
- [27] MLÁDEK, M., a kol. *Zpracování opadu kožedelného prumyslu*. 1. vyd. Praha 1 Nakladatelství technické literatury, n.p., 1971. 324 s.
- [28] KOMÁREK, P., RABIŠOVÁ, M. *Technologie léku*. 3. prepracované a doplnené vyd. Praha 5 : Galén, 2006. 399 s. ISBN 80 7262 432 7.
- [29] LANGMAIER, F. *Adhese a adhesiva*. 1. vyd. Zlín : VUT v Brne, Fakulta technologická ve Zlíne, 1999. 106 s. ISBN 80-214-1373-5.
- [30] Gelatin manufacturers institute of America, *Standard testing methods for edible gelatin* [online], 2013 [cit. 2017-04-27]. Dostupné z:http://www.gelatin-gmia.com/images/GMIA_Official_Methods_of_Gelatin_Revised_2013.pdf
- [31] LI, Hongli, Bo WU, Changdao MU a Wei LIN. *Concomitant degradation in periodate oxidation of carboxymethyl cellulose*. Carbohydrate Polymers [online]. Elsevier, 2011, 881-886 s [cit. 2017-04-27]. DOI:10.1016/j.carbpol.2010.12.026. ISSN 01448617.
- [32] LI, Hongli, Bo WU, Changdao MU a Wei LIN. *Concomitant degradation in periodate oxidation of carboxymethyl cellulose*. Carbohydrate Polymers [onli-

ne]. Elsevier, 2011, 84(3), 881-886 s [cit. 2017-04-27]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.12.026. ISSN 01448617.

- [33] MU, Changdao, Jimin GUO, Xinying LI, Wei LIN a Defu LI. *Preparation and properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films*. Food Hydrocolloids [online]. Elsevier Sci, 2012, 27(1), 22-29 s [cit. 2017-04-24]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2011.09.005. ISSN 0268005X.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PEG	polyethylenglykol
DCMC	dialdehyd karboxymethylceluosa
CMC	karboxymethylceluosa
HGC	tvrdé želatinové tobolky
SGC	měkké želatinové tobolky
GA	glutaraldehyd

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Schéma mikroskopické struktury nabitého řetězce hydrogelu [2].....	11
Obrázek č. 2: Rozdělení hydrogelů na základě různých parametrů [4].....	12
Obrázek č. 3: Síťované gely; (a) silný gel, (b) gel se submikroskopickými krystalickými oblastmi, (c) gel tvořený spleteninami řetězce [21].....	16
Obrázek č. 4: Znárodnění kovalentního zasíťování [21].....	17
Obrázek č. 5: Stevens - LFRA texture analyser.....	26
Obrázek č. 6: Magnetické míchadlo IKA C- 2.....	26
Obrázek č. 7: Schéma reakce oxidace karboxymethylceluosu (CMC) s jodistanem sodným (NaIO_4) za vzniku dialdehydu karboxymethylceluosu (DCMC) [32].....	30
Obrázek č. 8: Schéma zapojení dialdehydové skupiny do kolagenového řetězce [33].....	31
Obrázek č. 9: Vliv doby reakce a přídavku síťovačla na celkové pevnosti gelu u vzorku klihu.....	33
Obrázek č. 10: Vliv doby reakce a přídavku síťovačla na celkové pevnosti gelu u vzorku želatiny.....	35
Obrázek č. 11: Barva vzorku klihu pro dobu síťující reakce 63 h při teplotě 40 °C.....	36
Obrázek č. 12: Vliv doby reakce a teploty na celkové pevnosti gelu u vzorku klihu.....	37
Obrázek č. 13: Barva vzorku želatiny pro dobu síťující reakce 63 h při teplotě 40 °C.....	38
Obrázek č. 14: Vliv doby reakce a teploty na celkové pevnosti gelu u vzorku želatiny.....	39
Obrázek č. 15: Vliv doby reakce a teploty na celkové pevnosti gelu u klihu.....	41
Obrázek č. 16: Změny barvy vzorku klihu pro dobu síťující reakce 63 h a teplotu inkubace 14 °C a 40 °C.....	41
Obrázek č. 17: Barva vzorku klihu pro dobu síťující reakce 96 h při teplotě 10 °C.....	41
Obrázek č. 18: Vliv doby reakce a teploty na celkové pevnosti gelu u želatiny.....	43
Obrázek č. 19: Změny barvy vzorku želatiny pro čas síťující reakce 63 h a teplotu inkubace 14 °C a 40 °C.....	44
Obrázek č. 20: Barva vzorku želatinového gelu po síťující reakci 96 h a teplotě inkubace	

10 °C 45.....	44
Obrázek č. 21: Změny barvy vzorku klišu pro dobu síťující reakce 63 h a teplotu inkubace 14 °C a 40 °C.....	47
Obrázek č. 22: Barva vzorku klišu pro dobu síťující reakce 96 h při teplotě 10 °C.....	47
Obrázek č. 23: Změny barvy vzorku želatiny pro čas síťující reakce 63 h a teplotu inkubace 14 °C a 40 °C.....	48
Obrázek č. 24: Barva vzorku želatinového gelu po síťující reakci 96 h a teplotě inkubace 10 °C.....	48
Obrázek č. 24: Barevná změna želatiny (vlevo) a klišu (vpravo) při teplotě 40 °C a době reakce 63 h.....	49

SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: Jednotlivé zastoupení aminokyselin ve 100 g želatiny [24].....	21
Tabulka č. 2: Pevnosti gelu klišu a želatiny bez přídavku Faktoru A za pokojové teploty (24 ± 1 °C).....	32
Tabulka č. 3: Podmínky síťování pro kliš za pokojové teploty (24 ± 1 °C).....	32
Tabulka č. 4: Podmínky síťování pro želatinu za pokojové teploty (24 ± 1 °C).....	34
Tabulka č. 5: Podmínky síťování pro kliš za zvýšené teploty s 20 % síťovadla.....	36
Tabulka č. 6: Podmínky síťování pro želatinu za zvýšené teploty s 15 % síťovadla.....	38
Tabulka č. 7: Podmínky síťování pro kliš za snížené teploty s 20 % síťovadla.....	40
Tabulka č. 8: Podmínky síťování pro želatinu za zvýšené teploty s 15 % síťovadla.....	42
Tabulka č. 9: Měření pH roztoku pro kliš.....	45
Tabulka č. 10: Měření pH roztoku pro želatinu.....	45