

# PŘÍPRAVA A MODIFIKACE VLASTNOSTÍ FILMŮ NA BÁZI CHITOSAN/ŽELATINA

Rostislav Vlasák

---

Bakalářská práce  
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická  
Ústav inženýrství polymerů

Akademický rok: 2023/2024

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Rostislav Vlasák
Osobní číslo:	T21078
Studijní program:	B0711A130009 Materiály a technologie
Specializace:	Polymerní materiály a technologie
Forma studia:	Prezenční
Téma práce:	Příprava a modifikace vlastností filmů na bázi chitosan/želatina

## Zásady pro vypracování

Teoretická část práce bude literární rešerší, která bude shrnovat nejdůležitější informace o chitosan-želatinových filmech, jejich přípravě, modifikacích a použití.

V praktické části budou připraveny filmy s různým poměrem chitosan/želatina, které budou modifikovány různými metodami. Následně budou studovány vlastnosti připravených filmů.

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

Seznam doporučené literatury:

DUTTA, Pradip Kumar, Joydeep DUTTA a V. S. TRIPATHI, 2004. *Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. Journal of Scientific & Industrial Research*. 20-31. ISSN 0975-1084.

HAUG, I.J. a K.I. DRAGET. Gelatin. *Handbook of Hydrocolloids* [online]. Elsevier, 2009, 2009, s. 142-163. ISBN 9781845694142.

PEREDA, M., A.G. PONCE, N.E. MARCOVICH, R.A. RUSECKAITE a J.F. MARTUCCI. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids* [online]. 2011, 25(5), 1372-1381. ISSN 0268005X.

Další odborné publikace z databázi WoS, ScienceDirect, Scopus, Knovel, apod.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Ondřej Krejčí, Ph.D.**  
Ústav inženýrství polymerů

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2024**

Termín odevzdání bakalářské práce: **17. května 2024**

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D. v.r.**  
děkan

L.S.

**Ing. Jana Navrátilová, Ph.D. v.r.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 4. března 2024

## **PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- 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 autorského zákona mohu užit 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, považuji 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 samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta



## **ABSTRAKT**

Tato práce se zabývá přípravou kompozitních filmů na bázi chitosan/želatina a následnou modifikací jejich vlastností síťováním pomocí glutaraldehydu a UV záření. V první sérii bylo zjištěno, že dodatečný ohřev filmů při 60 °C má velký vliv na jejich vlastnosti. Ve druhé sérii byly poté vzorky ozařovány UV, čímž také došlo k zesíťování filmů a snížení jejich bobtnání. Nejnižších hodnot bobtnání (248 %) bylo dosaženo u filmu s 5 wt% glutaraldehydu a ozařovaných 6 hodin.

Klíčová slova: chitosan, želatina, kompozitní filmy, síťování, biopolymer

## **ABSTRACT**

This thesis deals with the preparation of composite films based on chitosan/gelatin and subsequent modification of their properties by cross-linking using glutaraldehyde and UV radiation. In the first series, it was found that additional heating of the films at 60 °C has a great effect on their properties. In the second series, the samples were then irradiated with UV, which also led to cross-linking of the films and reduction of their swelling. The lowest swelling values (248 %) were achieved for the film with 5 wt% glutaraldehyde and irradiated for 6 hours.

Keywords: chitosan, gelatine, composite films, cross-linking, biopolymer

Tímto bych chtěl poděkovat Ing. Ondřeji Krejčímu, Ph.D. za cenné rady, usměrnění a pomoc při psaní této bakalářské práce. Zároveň si velmi vážím možnosti výzkumné práce v laboratořích pod jeho vedením na letních stážích.

Dále bych chtěl poděkovat svojí přítelkyni za neutuchající podporu a pomoc, když jsem si nevěděl rady.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>9</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>10</b>
<b>1 MATERIÁLY</b> .....	<b>11</b>
1.1 CHITOSAN .....	11
1.2 ŽELATINA.....	12
<b>2 HYDROGELY</b> .....	<b>13</b>
2.1 POUŽITÍ HYDROGELŮ.....	13
2.2 HYDROGELY Z CHITOSANU.....	14
2.3 HYDROGELY Z ŽELATINY .....	16
Síťování glutaraldehydem .....	16
2.4 HYDROGELY Z CHITOSAN/ŽELATINY .....	17
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>19</b>
<b>3 CÍLE PRÁCE</b> .....	<b>20</b>
<b>4 MATERIÁLY A METODY</b> .....	<b>21</b>
4.1 MATERIÁLY .....	21
4.1.1 Chitosan.....	21
4.1.2 Želatina.....	22
4.1.3 Glutaraldehyd.....	22
4.2 METODY .....	22
4.2.1 Příprava vzorků .....	22
4.2.2 Tahová zkouška.....	25
4.2.3 Botnání .....	26
<b>5 VÝSLEDKY A DISKUSE</b> .....	<b>27</b>
5.1 TAHOVÁ ZKOUŠKA .....	28
5.2 BOTNÁNÍ.....	32
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>39</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>41</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>44</b>
<b>SEZNAM TABULEK</b> .....	<b>45</b>



## ÚVOD

Hledání udržitelných a ekologických materiálů vedlo v posledních letech k nárůstu zájmu a výzkumu zaměřeného na biopolymery. Tyto biologicky odbouratelné polymery odvozené z přírodních zdrojů nabízejí slibnou alternativu ke konvenčním plastům na bázi ropy. Čímž řeší kritické problémy znečištění životního prostředí a vyčerpávání zdrojů. Jejich jedinečné vlastnosti, rozmanité aplikace a šetrnost k životnímu prostředí vyvolaly značnou pozornost napříč různými průmyslovými odvětvími, včetně obalů, biomedicíny, zemědělství a dalších.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 MATERIÁLY

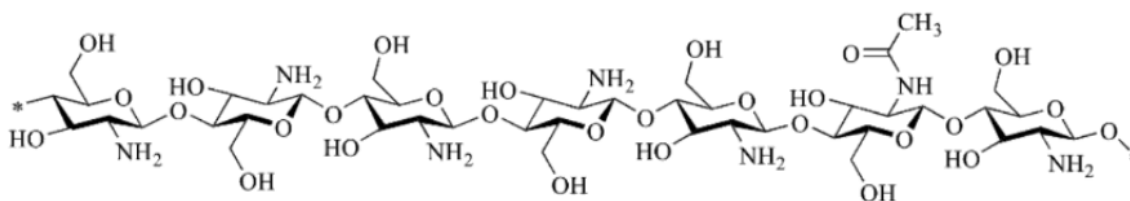
Hydrogely jsou polymery se schopností vázat na sebe obrovské množství vody – jsou velmi hydrofilní. Patří mezi ně jak syntetické polymery, tak přírodní proteiny a polysacharidy živočišného i rostlinného původu. Mezi ně patří i chitosan a želatina. [1]

### 1.1 Chitosan

Chitosan je přírodní lineární polymer získávaný deacetylací chitinu (kopolymer složený z D-glukosaminu a N-acetyl D-glukosaminu spojený  $\beta$ -1,4 glykosidickou vazbou), což je stavební jednotka vnější kostry hmyzu, korýšů a buněčných stěn hub [2]

Při deacetylaci chitinu se acetylové skupiny ( $-\text{CO}-\text{CH}_3$ ) mění na hydroxylové ( $-\text{OH}$ ) a amino ( $-\text{NH}_2$ ) skupiny. Ta se provádí buď chemicky nebo enzymaticky. Vlastnosti výsledného chitosanu se liší podle stupně deacetylace, což značí molární zlomek deacetylovaných jednotek chitinu – dále DD, kde nad 50 % DD je rozpustný v roztocích kyselin. Většina komerčně dostupných chitosanů se pohybuje od 60 do 90 % DD [3]

Chitosan je oproti ostatním polysacharidům unikátní svou kationtovou povahou. Díky tomu je možné z něj vyrábět kompozity s ostatními negativně nabitými polysacharidy či proteiny, jako jsou tkáň, pokožka, vlasy a kosti. Tato vlastnost je velmi ceněná v biomedicínských aplikacích. Stejně tak jsou důležité biodegradabilita, biokompatibilita a zdravotní nezávadnost. Díky možnosti upravování hydrofobních skupin lze vytvářet různé deriváty. Např. N-alkylovaný chitosan (NACS) dokáže účinně zastavovat krvácení díky rychlému gelování krve. Naopak sulfátový chitosan má vlastnosti podobné heparinu. Chitosan a jeho deriváty se tak rozšířil do farmaceutického průmyslu, biomedicíny, úpravy vod apod. [4]



Obrázek 1 – strukturní vzorec chitosanu [5]

## 1.2 Želatina

Želatina je jedním z nejvíce všestranných biopolymerů. Ročně je celosvětově vyprodukováno více než 300 000 metrických tun želatiny. Použití nachází od kuchyní v domácnostech přes kosmetiku po farmacii a medicínu. Želatina se získává destrukcí sekundárních a vyšších struktur kolagenu, který se nachází jako hlavní složka v pojivových tkáních, jako jsou svaly, chrupavky, šlachy apod. Zatímco proporční rozdělení aminokyselin zůstává u želatiny stejné jako u kolagenu, vlastnosti se diametrálně liší. Příkladem je rozpustnost ve vodě, kdy kolagen je nerozpustný, zatímco želatina se jednoduše rozpouští při teplotách nad denurací kolagenu. Vlastnosti želatiny se liší podle zdroje kolagenu, ze kterého je vyrobena. To je dáno rozdílným složením aminokyselin. Složení želatiny podle jednotlivých aminokyselin je popsáno na obrázku 2. [1]

Amino acid	Type I collagen (bovine) <sup>a</sup>	Type A gelatin <sup>a</sup>	Type B gelatin <sup>a</sup>	Cold water fish gelatin <sup>b</sup>	Warm water fish gelatin <sup>c</sup>
Alanine	114	112	117	112	123
Arginine	51	49	48	49	47
Asparagine	16	16			
Aspartic acid	29	29	46	48	48
Glutamine	48	48			
Glutamic acid	25	25	72	72	69
Glycine	332	330	335	347	347
Histidine	4	4	4	11	6
4-Hydroxyproline	104	91	93	60	79
Hydroxylysine	5	6	4	5	8
Isoleucine	11	10	11	11	8
Leucine	24	24	24	21	23
Lysine	28	27	28	28	25
Methionine	6	4	4	3	9
Phenylalanine	13	14	14	13	13
Proline	115	132	124	96	119
Serine	35	35	33	63	35
Threonine	17	18	18	24	24
Tyrosine	4	3	1	9	2
Valine	22	26	22	18	15

<sup>a</sup> Babel (1996).

<sup>b</sup> Product information from Norland Products Inc. – cod, pollack and haddock.

<sup>c</sup> Sarabia *et al.* (2000).

Obrázek 2 – obsah aminokyselin v kolagenu a čtyřech typech želatiny [1]

## 2 HYDROGELY

Termín hydrogel byl poprvé použit v roce 1894 pro vysvětlení koloidních gelů. Poprvé pak byly použity Wichterlem v oblasti biomedicíny v 60. letech minulého století. Tyto gely obsahují jak pevnou, tak kapalnou fázi a zároveň si udržují vlastnosti obou fází. Obsahují hydrofilní funkční skupiny jako je hydroxylová (-OH), karboxylová (-COOH), amidová (-CONH-) nebo sulfonická (-SO<sub>3</sub>H). Tyto skupiny mají možnost síťování, čímž vznikne 3D struktura, která má pozitivní vliv na elasticnost těchto materiálů. Schopnost vázat vodu také závisí na stupni sesíťování. Hydrogely lze dělit podle různých kategorií, např. zdroje (přírodní, syntetické a hybridní), kompozice (homopolymery, kopolymery) apod. Vyrábí se z různých přírodních či syntetických polymerů použitím různých technik polymerace (bloková, v roztoku, suspenzi) a síťování probíhá fyzikálně (vodíkové můstky) nebo chemicky (síťovací činidla). [6]

Ideální hydrogel by měl mít vysokou možnost absorpce vody, dobrou poréznost, fotostabilitu, neutrální pH a nesmí být toxický. Existují různé hydrogely reagující na vnější podněty, jako je teplota (termogely), pH, elektrické pole, koncentrace soli apod. [7]

### 2.1 Použití hydrogelů

Jak bylo zmíněno, hydrogely se používají od 60. let minulého století, kdy je poprvé použil Otto Wichterle v oblasti biomedicíny pro výrobu gelových měkkých kontaktních čoček. Jednalo se o poly-hydroxyethyl-methakrylátový gel (HEMA gel). Od té doby hydrogely začaly pronikat do dalších průmyslových odvětví a v dnešní době se trh s hydrogely pohybuje v miliardách amerických dolarů (4,4 miliardy v roce 2009), s 2-3% ročním růstem. Díky jejich unikátním vlastnostem se začaly používat v separačních metodách pro oddělování barviv, sloučenin kovů a biomolekul rozpustných ve vodě. V 90. letech minulého století se prováděly výzkumy pro vznik komplexů hydrogelů s těžkými kovy, kdy vznikl akrylamidový gel pro absorpci uranu, železa a mědi. Proto se začaly hydrogely využívat v oblasti čištění odpadních vod především u textilního průmyslu, kde vzniká enormní množství znečištěné vody barvivy, která jsou nebezpečná pro člověka a životní prostředí. Hydrogely reagující na vnější podněty začaly být populární v biomedicině, protože díky této vlastnosti dokážou napodobovat funkce orgánů a tkání, které taktéž reagují na změny pH, teploty, elektrického pole apod. Takto začaly vznikat umělé ledviny, svalové formace, biosenzory, bioadheziva, materiál pro umělou kůži,

hlavky či jako obvazový materiál pro krytí zranění. V letech 2014 a 2015 byl proveden výzkum hybridních hydrogelů využívaných při léčení rakoviny prsu. [6]

Ve farmacii jsou hydrogely využívány již delší dobu pro udržení tabletek v konstantním tvaru. Zároveň snižují rychlost degradace účinných látek a mají důležitou úlohu při rychlosti uvolňování obsahu xenobiotik do organismu. [8]

Supersavé hydrogely nachází použití v zemědělství a zahradnictví. Ovlivňují propustnost půdy, předchází erozi, zlepšují odvodnění, mikrobiální chování a zvyšují držení vody. Spousta takových polysacharidů, jako je pektin nebo chitosan se používají jako součást hnojiv. Použitím některých hydrogelů jako těchto hnojiv lze snížit spotřebu vody v zemědělství na pětinu [9]

## 2.2 Hydrogely z chitosanu

Chitosan má jedinečnou konstituci mezi přírodními polymery. Jedná se o jediný polysacharid kationtové povahy, která vzniká díky reakci vodíkových atomů s amino skupinou ( $-\text{NH}_2$ ), čímž vznikají ionty ( $-\text{NH}_3^+$ ) přímo na makromolekule. Tato elektrostatická schopnost podněcuje i antibakteriální vlastnosti hydrogelu, kdy kladně nabitě ionty úspěšně narušují bakteriální buňky a jejich membrány. Tyto úžasné vlastnosti jsou ovšem limitovány špatnou rozpustností. Pro vyřešení tohoto problému začaly vznikat chemicky upravované hydrogely, které tento problém částečně řeší. U některých však vyvstává problém cytotoxicity, která může být způsobena polykationtovým působením chitosanu na lipidové membrány). [10]

Hydrogely na bázi chitosanu mohou vznikat několika druhy síťování, jako je fyzikální přes vodíkové můstky, nebo jako reakce Schiffovýchází s jiným polymerem. Tyto hydrogely lze klasifikovat na reverzibilní (síťovány fyzikálně) nebo permanentní (síťovány chemicky). [11]

Fyzikálně síťované hydrogely jsou reverzibilní. Mají výborné mechanické vlastnosti, sníženou toxicitu a mají schopnost obrátit proces gelovatění. Oproti chemicky síťovaným hydrogelům mají mnohem lepší biokompatibilitu a menší zátěž na životní prostředí. Ve vodě mohou být jak ve fázi roztoku, tak gelu díky nekovalentním interakcím jako jsou van der Waalsovy síly nebo vodíkové můstky. [12]

Vysoce stabilní struktury mohou vznikat pomocí iontových intermolekulárních interakcí. Touto metodou je možné regulovat porézní morfologii a vlastnosti povrchu těchto hydrogelů. Mitsuhashi v roce 2019 dokázal syntetizovat hydrogel se schopností interagovat s ionty kovů ( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ), kdy tyto ionty reagovaly s hydroxy a amino skupinami a vytvořily 3D strukturu. Tyto hydrogely mají nízkou cytotoxicitu, dobrou strukturní stabilitu, mechanické vlastnosti a vhodnou rychlost degradace. [13]

Díky vodíkovým můstkům, které vznikají mezi pozitivně nabitým atomem vodíku a negativně nabitými atomy, jako je dusík, kyslík nebo fluor, vznikají síťované struktury schopné reagovat na vnější podněty, mezi kterými je změna pH nebo změna teploty. Díky možnosti takto reagovat můžou fyzikálně síťované hydrogely fungovat jako biosenzory v potravinářském průmyslu či biomedicíně. Díky své hydrofilní povaze může samotný chitosan fungovat jako senzor v kyselém prostředí do pH 6,2, pomáhá přenášet kladně nabitý vodík  $\text{H}^+$ , stejně tak záporně nabitou hydroxidovou skupinu  $-\text{OH}^-$ , či protonovat aminovou skupinu  $-\text{NH}_2$ . Navíc tyto hydrogely mohou při určitých hodnotách pH vypouštět aktivní sloučeniny. Zároveň může fungovat jako efektivní nástroj pro kontrolování teploty během chemických reakcí. Tato schopnost je ideální v případě opravování tkání a při dopravě a efektivním vypouštění léčiv do organismu. [14]

Chemickou metodou vznikají ireverzibilní či permanentní hydrogely. Nukleofilní adiční kondenzační reakcí mezi aminoskupinou chitosanu a aldehydovou skupinou síťovacího činidla vzniká Schiffovou bází síťovaný hydrogel. Výsledkem jsou hydrogely s výbornými mechanickými vlastnostmi a možností přesné kontroly nad rychlostí a mechanismem vypouštění léčiv. Tyto hydrogely jsou výbornými kandidáty pro obalový průmysl, kde mohou upravovat vlhkost uvnitř vícevrstvých obalů a zároveň fungovat jako antioxidant a bakteriostatikum. V potravinářském průmyslu může figurovat i jako adsorbent potravinářských barviv v odpadních vodách. Pro tyto účely byl vyvinut hydrogel aktivovaný oxidem uhličitým, čímž vznikly na řetězci tři aktivní skupiny – protonovaná amino skupina  $-\text{NH}_3^+$ , karbamátová a hydrogenuhličitanová skupina. [15; 16]

## 2.3 Hydrogely z želatiny

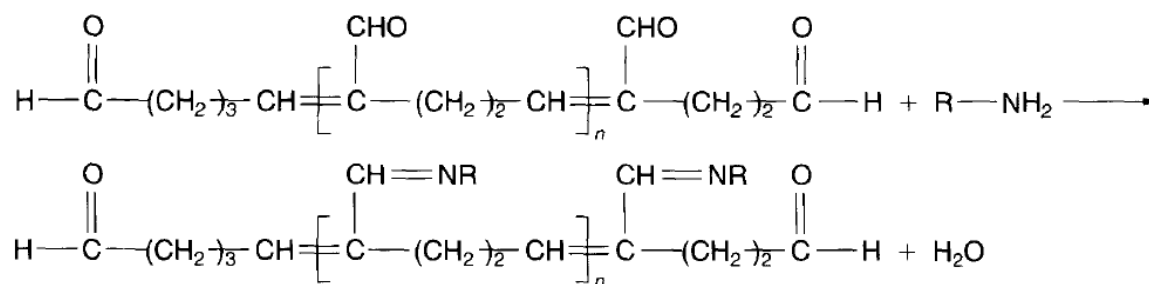
Hydrogely z želatiny jsou používány již spousta let díky svým specifickým strukturním, fyzikálně-chemickým a biochemickým vlastnostem. Ty zlepšují jak nutriční hodnoty, tak stabilitu a konzistenci jídel. Kromě dobrých bariérových vlastností u jídel dokonce mohou upravovat sensorické vlastnosti. V nedávné době se začaly rozšiřovat i do zemědělství pro jejich vysokou navlhavost, do biomedicíny a farmacie pro jejich biodegradabilitu, vysokou biokompatibilitu či schopnost síťování. [17]

Špatná odolnost vůči vodě a nízká mechanická pevnost želatiny limituje její použití např. při výrobě obalových materiálů. Proto bylo provedeno několik výzkumů zabývajících se zlepšením těchto nevýhod. Mezi ně patří chemické síťování, které tyto vlastnosti výrazně ovlivňuje vytvořením stabilních kovalentních vazeb mezi reaktivními skupinami na želatinových řetězcích. [1]

### Síťování glutaraldehydem

Často užívaným síťovacím činidlem je glutaraldehyd, který je velmi efektivní a poměrně levný. Síťování probíhá intra- a intermolekulárně vznikem kovalentních vazeb. Ty mohou vzniknout dvěma způsoby:

- Vznikem Schiffových bází. Jde o reakci aldehydové skupiny s aminoskupinou lysinu či hydroxylysínu, kdy se nejedná o stabilní vazbu. Také může reagovat kondenzací dvou aldehydů, kdy produkt aldolové kondenzace je stabilní. Glutaraldehyd nemusí reagovat pouze s aminoskupinou, ale i s karboxylovou a amidovou skupinou.
- Stabilnější vazby se vytváří více při polymerovaném glutaraldehydu, který vzniká ve vodném prostředí při  $\text{pH} < 5$ . V tomto případě dochází k reakci aldehydových skupin s amidovými za vzniku stabilních iminových vazeb. [18]



Obrázek 3 - reakce polymerovaného glutaraldehydu s primárními aminy [18]



Jeho nevýhodou je toxicita, proto se dále zkoušely i jiné materiály jako karbodiimidy, epoxidové sloučeniny či genipin. Tyto sloučeniny sice mají menší toxicitu, ale nejsou zdaleka tak efektivní jako glutaraldehyd. Aby se tedy zabránilo toxicitě želatiny síťované glutaraldehydem, musí se koncentrace glutaraldehydu snížit z běžně používaných až 20wt% na maximálně 5wt%. Zároveň ovšem nesmí dojít k razantním změnám vlastností.[19]

## 2.4 Hydrogely z chitosan/želatiny

Samotné proteinové nebo polysacharidové hydrogely jsou pro specifické použití limitovány svými vlastnostmi. Upravování jejich vlastností chemicky nebo fyzikálně je možné, ale častokrát vede k razantnímu zhoršení jiných důležitých vlastností či dokonce k toxicitě. Proto je veden důraz na přípravu vhodných směsí hydrogelů z různých zdrojů, které tyto nedostatky dokážou eliminovat. [20]

V případě chitosan/želatinových hydrogelů vznikají i nové vazby. Tyto kompozitní filmy mají lepší mechanické a fyzikální vlastnosti než čistě želatinové. Navíc díky unikátním vlastnostem chitosanu a silným interakcím mezi těmito biopolymery vzniká hned několik komplexů. V kyselém prostředí negativně nabitě karboxylové skupiny ( $\text{COO}^-$ ) želatiny iontově reagují s kladně nabitými aminovými skupinami ( $\text{NH}_3^+$ ) chitosanu. Navíc obrovské množství polárních skupin želatiny, jako jsou karboxylové ( $-\text{COOH}$ ), aminové ( $-\text{NH}_2$ ) nebo hydroxidové ( $-\text{OH}$ ), jsou schopny vytvářet vodíkové můstky s hydroxidovými a aminovými skupinami chitosanu. Tyto vazby zvyšují viskozitu stejně tak velikost disperzních částic. Jejich mísitelnost ovlivňuje výsledné fyzikální vlastnosti. Chitosan má navíc vliv na renaturaci želatiny (obnovení tropokolagení struktury molekuly) – čím větší koncentrace chitosanu, tím hůře želatina renaturuje. To je dáno mezimolekulárními interakcemi, které blokují vznik nukleačních zárodků a růst tropokolagení struktury želatiny, a tím snižují pevnost gelů. [21]

Oproti tomu Liu et al. v roce 2012 zjistil, že přidavek chitosanu zlepšuje vlastnosti výsledného hydrogelu včetně pevnosti gelů. [22]

Nejnovější poznatky indikují, že se hydrogelům na bázi chitosan/želatina při nízkých teplotách snižuje modul elasticity, zatímco při vysokých teplotách se modul elasticity snižuje pomaleji v důsledku vzniku komplexů – prodlužuje hranici vyššího

modulu elasticity při vyšších teplotách. To tedy znamená, že na jednu stranu díky vzniku komplexů a mezimolekulárních interakcí jsou hydrogely z chitosanu a želatiny velmi dobře mísitelné, na druhou stranu se ale snižuje pevnost gelu a celkově schopnost gelovatět. [23]

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

### 3 CÍLE PRÁCE

Snaha o udržitelný rozvoj v oblasti obalových materiálů přivedla myšlenku vytvářet obaly z odpadních materiálů a biopolymerů jako jsou proteiny a polysacharidy. Tato práce se zabývá modifikací kompozitních filmů na bázi chitosan/želatina a navazuje na práci, která se zabývala vlivem druhu želatiny a koncentrací chitosanu na výsledné mechanické vlastnosti a botnání. Zde jsme se zabývali vlivem koncentrace chemického síťovacího činidla – glutaraldehydu – a síťování na bázi UV záření na výsledných mechanických vlastnostech a botnání kompozitních filmů chitosan/želatina/glutaraldehyd. Primárním cílem bylo vyhotovit filmy na bázi chitosan/želatina, sekundárním cílem bylo úspěšně chemicky a fyzikálně sesíťovat vyhotovené filmy. Dále byly porovnány mechanické vlastnosti a botnání filmů.

## 4 MATERIÁLY A METODY

### 4.1 MATERIÁLY

Materiály byly vybrány na základě výsledků předchozí práce, kde bylo dosaženo nejlepších výsledků s použitím hovězí želatiny D529 a nízkomolekulárního chitosanu. K těmto základním materiálům byl přidán glycerol jako změkčovadlo a glutaraldehyd jako chemické síťovadlo.

#### 4.1.1 Chitosan

Nízkomolekulární chitosan byl získán od firmy Sigma-Aldrich s produkčním číslem 448869 (CAS 9012-76-4) ve formě prášku s molární hmotností 50-190 kDa se stupněm deacetylace  $\geq 75$  %.



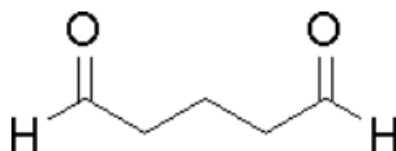
Obrázek 4 – chitosan

### 4.1.2 Želatina

Želatina hovězí typ A D529 s pevností gelu 260 bloom. Měřením vlastností v minulém roce byl stanoven obsah bílkovin na 79,75 %, obsah dusíku na 14,37 % a sušina na 86,25 %. Želatina slouží v tomto případě jako dobré pojivo vzniklého filmu pro zlepšení mechanických vlastností.

### 4.1.3 Glutaraldehyd

Vodný roztok glutaraldehydu (50wt%) byl získán od firmy Sigma-Aldrich s produkčním číslem 340855 (CAS 111-30-8) v kapalné formě s molární hmotností 100,12 g/mol. V tomto kompozitním filmu funguje jako chemické síťovadlo reagující s především s primárními aminoskupinami lysinu a hydroxylysinu v želatině.



Obrázek 5 - strukturní vzorec glutaraldehydu

## 4.2 METODY

### 4.2.1 Příprava vzorků

Základní roztok chitosanu byl připraven rozpuštěním 1 g chitosanu ve 100 ml 1% roztoku kyseliny octové za stálého míchání a následném třepání při laboratorní teplotě 24 °C po dobu 24 hodin. Současně byl připraven 1% roztok želatiny v demineralizované vodě, který byl společně s glycerolem a glutaraldehydem následně přidáván do roztoku chitosanu. Přídavek želatiny činil 3,75 % z hmotnosti chitosanu, přídavek glycerolu činil 10 % z hmotnosti chitosanu.

Procentuální přídavky glutaraldehydu do první série chitosanových roztoků shrnuje tabulka 1. Roztok se poté nechal důkladně rozmíchat při 1000 – 1500 ot./min po dobu 3 hodin. Takto smíchané roztoky byly uloženy do exsikátoru, ze kterého byl odsán vzduch, po dobu

24 hodin, aby došlo k odstranění bublin vzduchu vzniknutých při míchání na magnetickém míchadle. Nakonec byly roztoky vylity do silikonových forem 7x12,5 cm a vysušeny v sušárně po dobu 24 hodin při teplotě 35 °C.

Vysušené filmy byly popsány lihovým fixem a uloženy do exsikátoru při laboratorní teplotě k měření mechanických vlastností a botnání.

Tabulka 1 – přídavky glutaraldehydu v první sérii

n	GA [%]	dodatečné sušení [h]
1	0,5	0
2	0,5	2
3	5	0
4	5	2
5	2,75	1

Některé filmy se dodatečně zahřívaly pro lepší zreagování glutaraldehydu na 60 °C 2 hodiny a středový vzorek s přídavkem 2,75 % se dodatečně zahříval 1 hodinu. Tyto doby zahřívání taktéž popisuje tabulka 1. Na základě výsledků první série byl upraven postup sušení pro druhou sérii a každý její vzorek byl podroben dodatečnému zahřívání 2 hodiny na 60 °C. Navíc byly vzorky druhé série vystavené UV zářením po dobu 1 až 6 hodin. Přístroj byl nastaven na  $E = 60 \text{ W/m}^2$ , teplota komory CHT = 25 °C, BST = 50 °C, RH = 50 %, záření nastaveno na 300-400 nm. Receptury jednotlivých vzorků druhé série popisuje tabulka 2. Vzorky byly vyhotoveny tak, aby došlo ke kombinaci všech mezních hodnot obou faktorů a jeden vzorek, aby byl střední hodnotou obou faktorů.

Tabulka 2 – přídavek glutaraldehydu a doba UV záření v druhé sérii

n	GA [%]	UV [h]
1	0,5	1
2	5	1
3	0,5	6
4	5	6
5	2,75	3

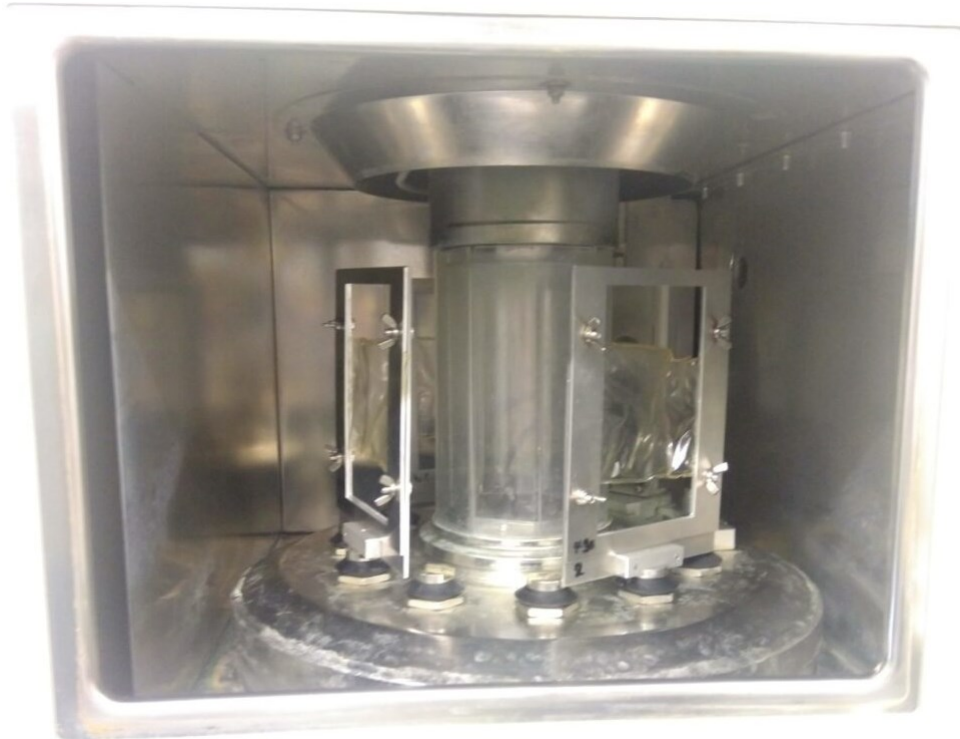


Obrázek 6 - vážení chitosanu



Obrázek 7 – třepání roztoků chitosanu v kyselině octové

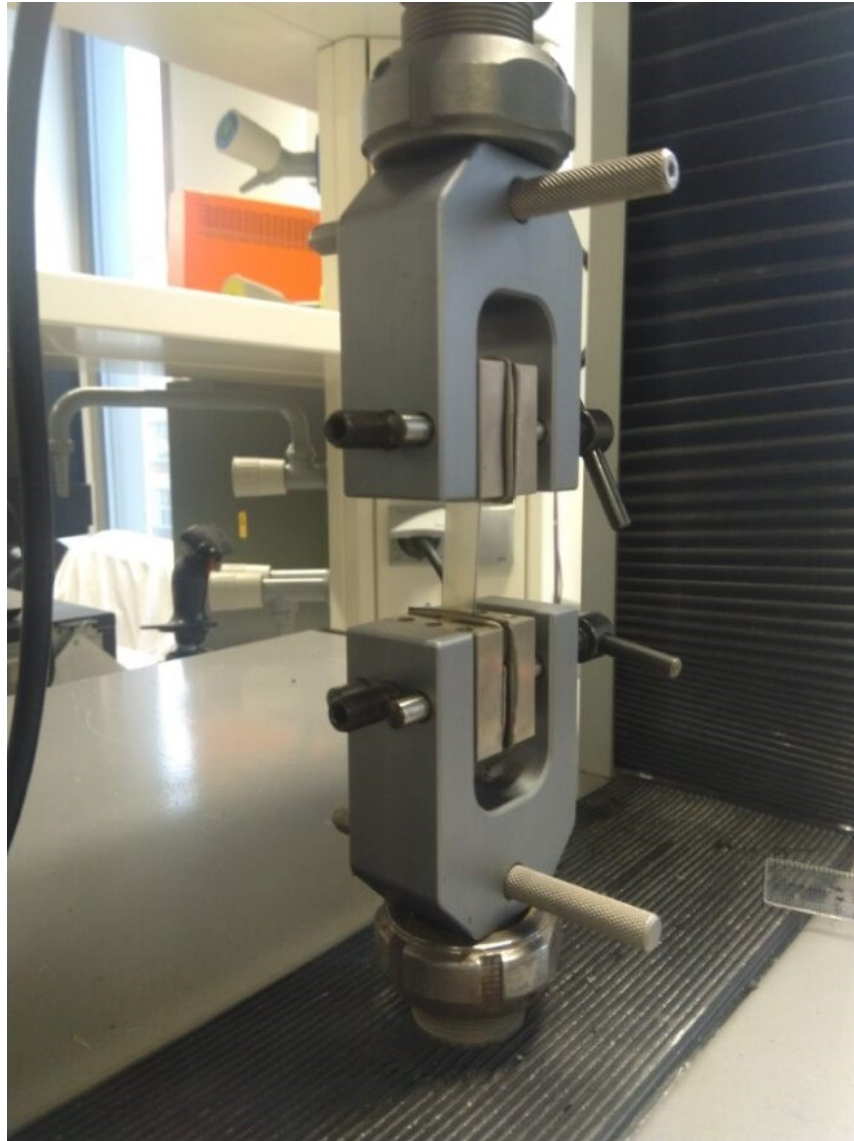




Obrázek 8 - ozařování filmů

#### 4.2.2 Tahová zkouška

Pro tahovou zkoušku na přístroji GALDABINI Quasar 25 byly připraveny vzorky 7x1 cm ve tvaru pásku s tloušťkou okolo 0,10 mm. Tloušťka byla změřena ručně na analogovém mikrometru. Vzdálenost čelistí byla nastavena na 30 mm a rychlost posuvu 10 mm/min. Experiment probíhal do přetržení vzorku.



Obrázek 9 – tahová zkouška

#### 4.2.3 Botnění

Filmy byly nastříhány na 15x15 mm a zváženy. Vyhotovené vzorky vážily od 0,01 do 0,03 gramů. Následně byly ponořeny do demineralizované vody na 10 minut, osušeny papírovým ubrouskem a znovu zváženy. Poté byly znovu zváženy a množství absorbované vody bylo vypočítáno podle vzorce:

$$W(\%) = 100 \cdot \frac{(m_1 - m_0)}{m_0} \quad (1)$$

Kde  $m_1$  je hmotnost vzorku po ponoření a  $m_0$  je hmotnost suchého vzorku.

## 5 VÝSLEDKY A DISKUSE

Byly vyhotoveny dvě série glutaraldehydem síťovaných filmů na bázi chitosan/želatina. V první sérii byl zjišťován vliv koncentrace glutaraldehydu na mechanické vlastnosti a botnání filmů. Zároveň bylo zjišťováno, jestli má vliv na síťování i ohřátí vyhotoveného filmu na vyšší teplotu. Všechny síťované filmy byly na první pohled pevnější a zabarvené do žluté, okrové až hnědé, což je typickým znakem při vzniku Schiffových bází, viz obrázky 10 a 11 [24]. Navíc byly méně zmačkané, pouze konce byly zohnuté dovnitř – to způsobil vnitřní větrák v sušárně pro cirkulaci vzduchu.



Obrázek 10 - kontrolní vzorek s 0,5wt% GA vzorky

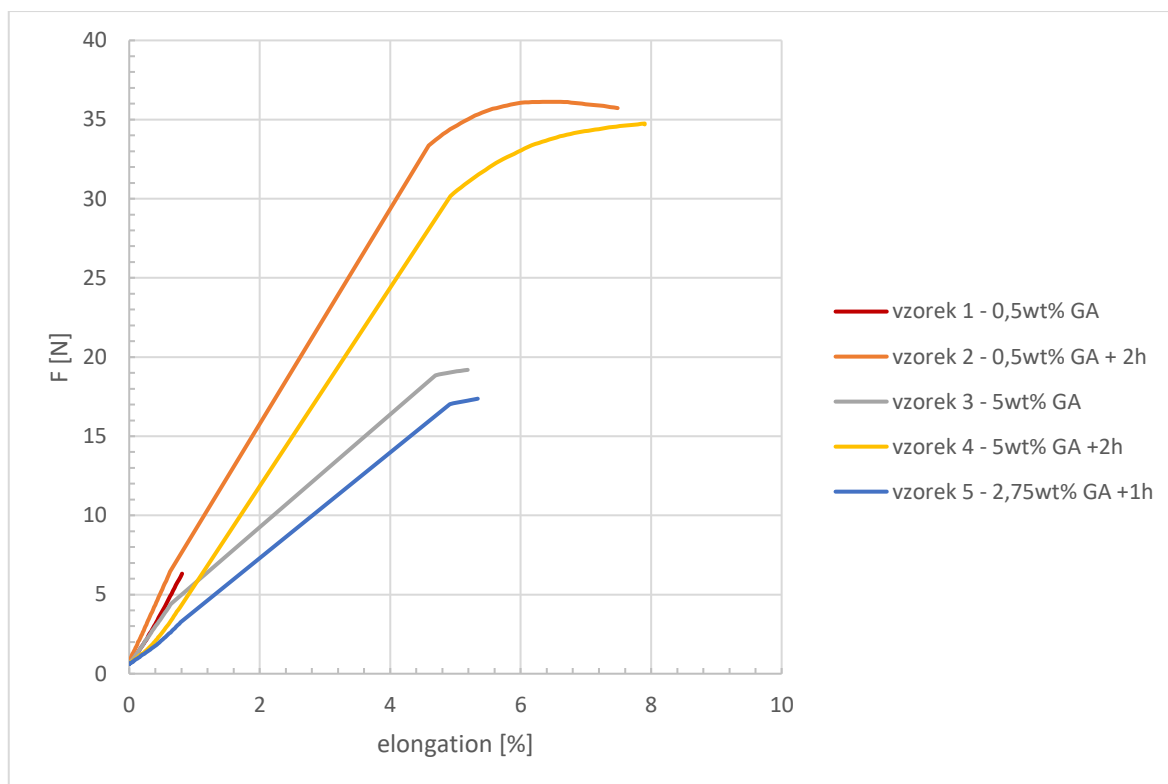


Obrázek 11 - kontrolní vzorek s 5wt% GA vzorky

V druhé sérii byl zjišťován vliv dodatečného ozařování UV zářením na mechanické vlastnosti a botnání. Filmy byly připraveny stejným způsobem jako v první sérii s dodatečným ohřátím, navíc byly sníženy otáčky větráku v sušárně, aby nedošlo k ohýbání rohů filmů. Při následném ozařování však došlo vlivem podmínek ozařování k pokroucení a potrhání vzorků, proto nebylo možné připravit vzorky pro tahovou zkoušku.

## 5.1 Tahová zkouška

Tahová zkouška pro první sérii ukázala, že přidavek glutaraldehydu má smysl už při 0,5wt%. Navíc dodatečné ohřívání na 60 °C po dobu 2 hodin razantně zlepšuje mechanické vlastnosti viz obrázek 12.



Obrázek 12 - graf tahové zkoušky pro první sérii

Měření bylo vždy provedeno alespoň 5x pro statistické zpracování. Výsledná tahová křivka na obrázku 12 je mediánem těchto měření. Výsledné hodnoty získané při měření byly uvedeny v tabulce 3.

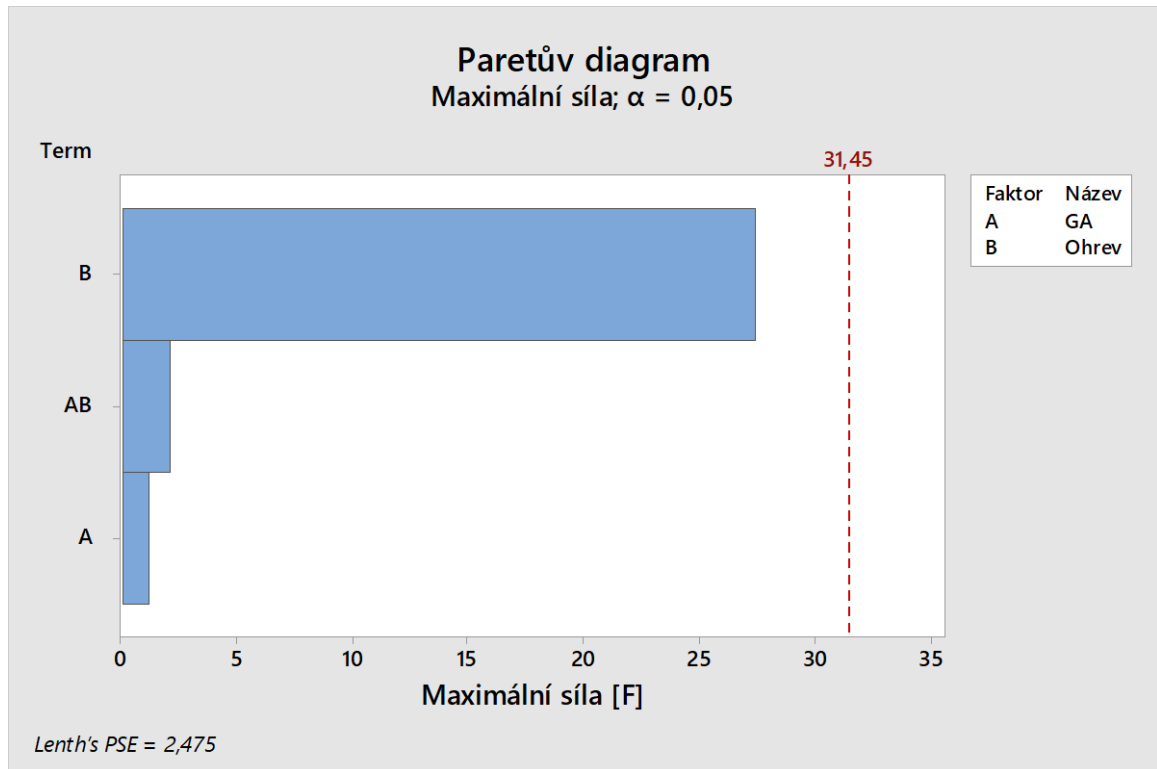
Tabulka 3 - hodnoty Fm, Rm a deformace z tahové zkoušky

veličina	0,5wt% GA	0,5wt%GA + 2h	5wt% GA	5wt% GA +2h	2,75wt% GA +1h
Fm (N)	6,3	35,9	9,6	34,9	3,3
Rm (MPa)	63,22	358,61	96,42	348,94	32,60
Def %(Fm) (%)	0,81	7,27	5,30	8,66	0,79

Bigi et al. v roce 2001 testoval vliv koncentrace glutaraldehydu na mechanické vlastnosti želatinových filmů. Došel k podobným výsledkům a to, že zvyšováním koncentrace se zvyšuje tuhost vzorku a zvyšuje se pevnost v tahu Rm. S jeho výsledky se rozcházíme v případě prodloužení, kdy jeho vzorky s narůstající koncentrací glutaraldehydu snižují prodloužení vzorku při přetržení. [24]

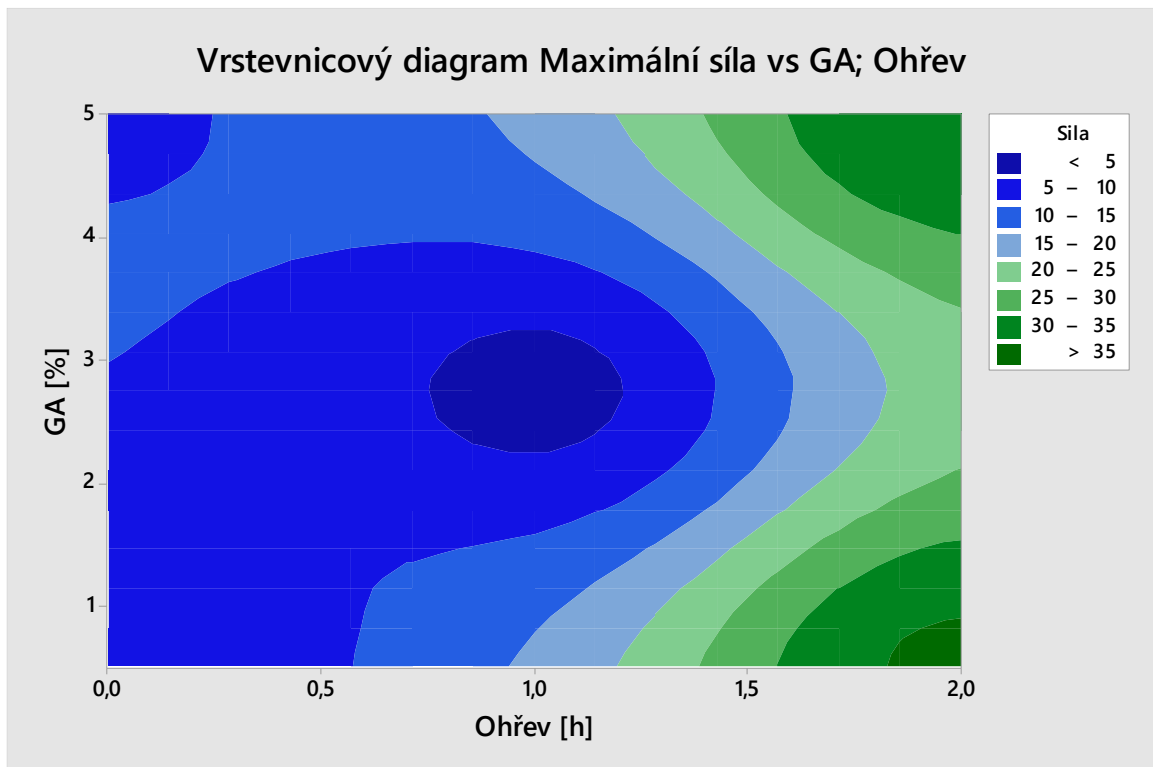
Z tabulky 3 je jasné, že dvouhodinové zahřívání vzorků zvyšuje hodnotu maximální síly působící při tahové zkoušce na vzorek až šestinásobně v případě 0,5wt% přídavku glutaraldehydu a téměř čtyřnásobně v případě 5wt% přídavku. Čistě zvýšení koncentrace z 0,5wt% na 5wt% glutaraldehydu pak zvyšuje tuto hodnotu o třetinu. Zajímavé je, že střední vzorek, který by měl být vlastnostmi někde spíše ke dvouhodinovému ohřevu, má všechny hodnoty z tahové zkoušky nejnižší. Nejpravděpodobnějším vysvětlením by bylo, že vzorek byl nejtenčí. Kontrolní filmy, které neobsahovaly žádný glutaraldehyd vykazovaly hodnoty Fm = 38,7 N při obdobné tloušťce jako síťované vzorky, deformaci při Fm = 18,3 %. To znamená, že se vzorky síťované glutaraldehydem přetrhávaly při nižších silách a menších deformacích. Síly se zahřátými vzorky jsou srovnatelné, odchylky mohou být způsobeny kondicionací vzorků, byť byly uchovávány stejným způsobem.

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny metodou faktorových pokusů  $2^2$  s jedním středovým pokusem (design of experiment – DOE) v programu Minitab verze 18. Statistické výsledky nám pak prezentuje Paretův diagram (obrázek 13) a vrstevnicový diagram (obrázek 14).



Obrázek 13 - Paretův diagram pro data z tahové zkoušky

Na obrázku 13 je Paretův diagram, který indikuje, že faktor B – doba ohřevu v hodinách, má mnohem větší vliv na maximální sílu působící při tahové zkoušce na vzorek než koncentrace glutaraldehydu na hladině významnosti 0,05. Výsledek ovšem nedosahuje statisticky významné hodnoty, kterou program vypočítal na 31,45 N. Při započítání kontrolního vzorku by mohlo dojít k posunutí hranice statistické významnosti.



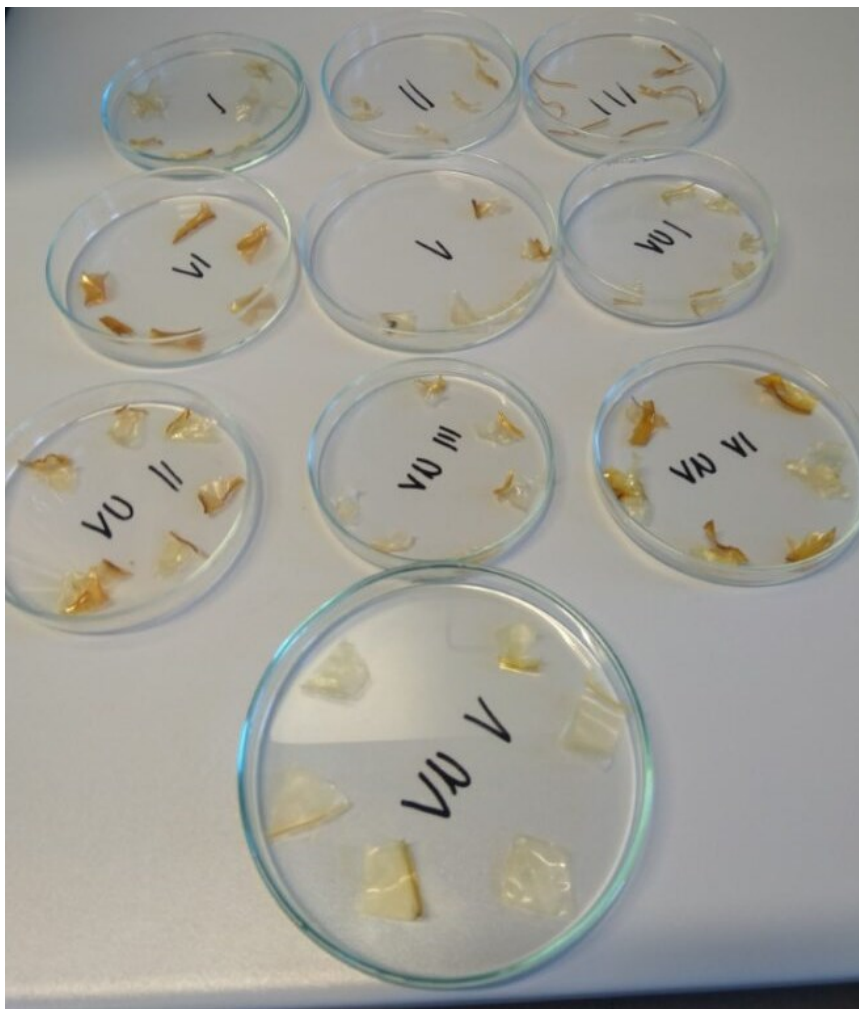
Obrázek 14 - Vrstevnicový diagram pro tahovou zkoušku

Obrázek 14 potvrzuje, že doba ohřevu je pro maximální sílu důležitější – zbarvení do tmavě zelené s dobou ohřevu kolem 2 hodin se vyskytuje jak u koncentrace 0,5, tak 5 hmotnostních procent glutaraldehydu.



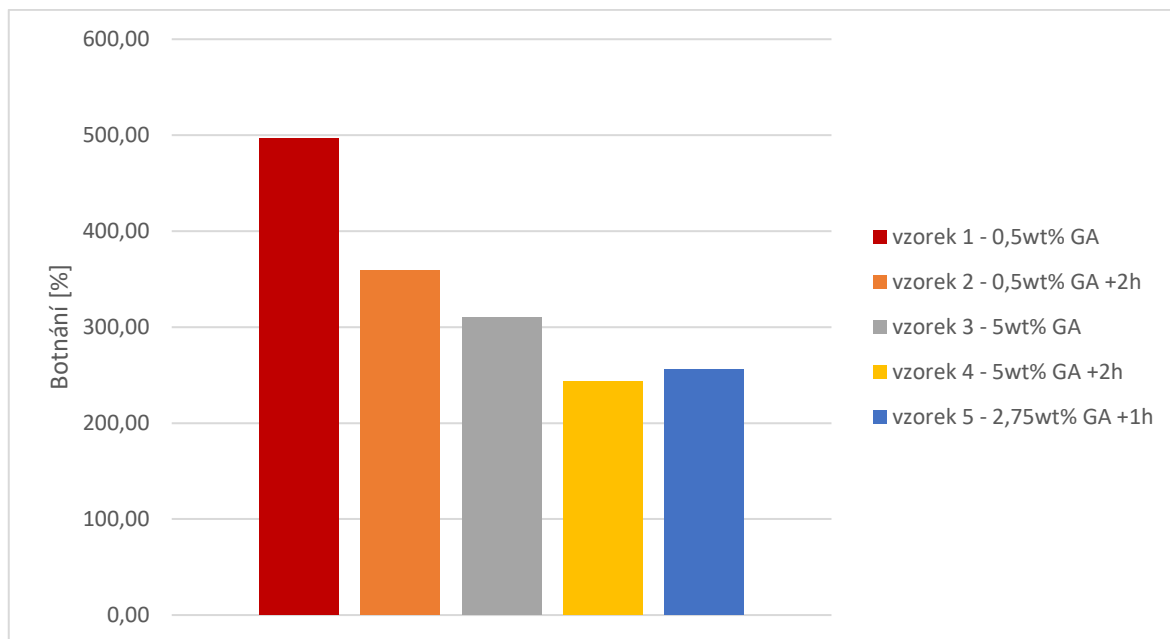
## 5.2 Botnání

Botnání první série potvrdilo vliv dodatečného ohřevu filmů na výsledné vlastnosti. Měření bylo prováděno na šesti vzorcích z každého filmu.



Obrázek 15 - botnání vzorků





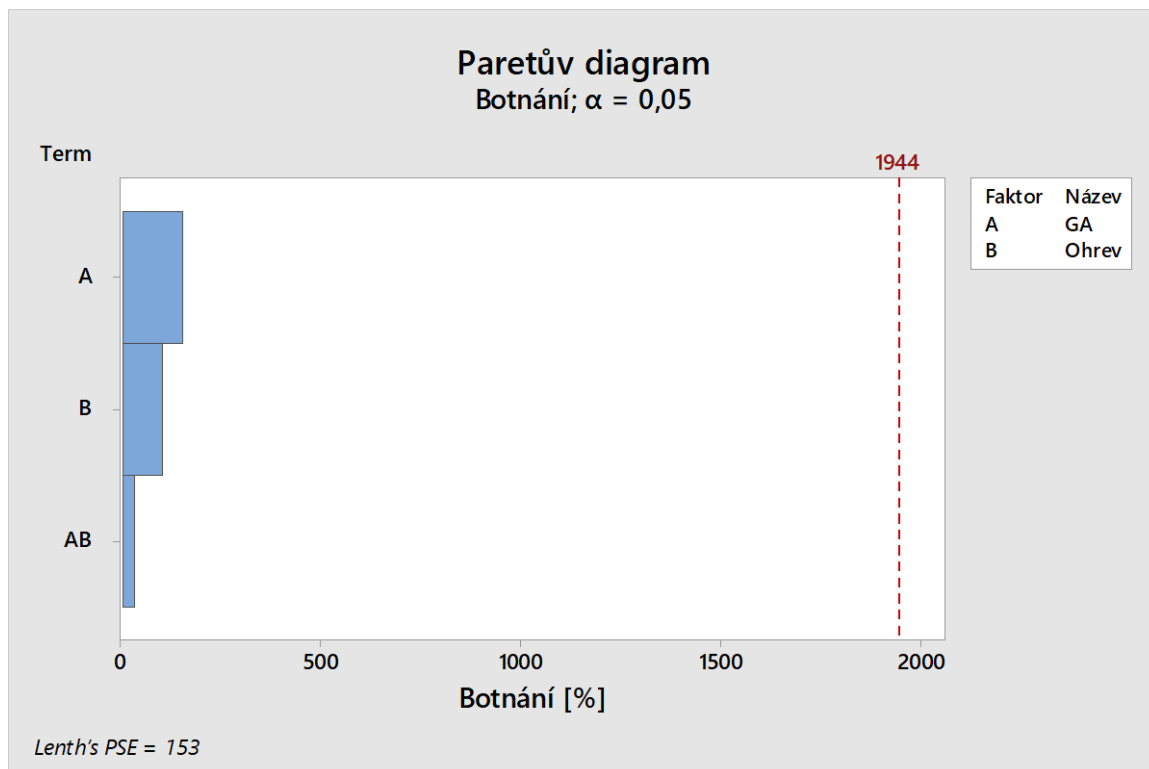
Obrázek 16 - hodnoty botnání první série

Již na první pohled na obrázek 16 jde vidět, že vyšší koncentrace glutaraldehydu mají nižší hodnotu botnání. Navíc každý vzorek dodatečně zahřátý na 60 °C po dobu 2 hodin má nižší hodnotu botnání než ten bez zahřátí. Hodnoty botnání byly vypočteny podle vzorce 1.

Hodnoty botnání první série na obrázku 16 indikují, že zvýšením koncentrace glutaraldehydu se razantně sníží schopnost filmu na sebe vázat vodu. Kontrolní vzorek dosahoval hodnoty botnání až na 7681 %. Při malém přídávku glutaraldehydu (0,5wt%) se hodnota botnání snížila na necelých 500 %. Při zvýšení koncentrace z 0,5wt% na 5wt% se sníží botnání o 40 %. Zahřátím filmu se taktéž sníží botnání a to o necelých 30 % pro 0,5wt% glutaraldehydu resp. o 20 % pro 5wt%. Z tabulky je jasné, že pokud by šlo o snížení toxicity filmů, dalo by se snížení koncentrace glutaraldehydu kompenzovat právě zahřátím. To dokazuje střední vzorek s koncentrací 2,75wt% a hodinou zahřátí na 60 °C, který má obdobné hodnoty botnání jako 5wt% vzorek se 2 hodinami zahřátí. Navíc byly kontrolní vzorky po 10 minutách ponoření v demineralizované vodě téměř nepoužitelné, jelikož nevykazovaly prakticky žádnou pevnost. Po 15 minutách už dokonce nešly ani vytáhnout v celku, ani s jistotou zvážit. Oproti nim vzorky síťované glutaraldehydem již při koncentracích 0,5wt% byly po 10 minutách pouze mírně zvětšené ve svém objemu, ale stále pevné jako před ponořením.

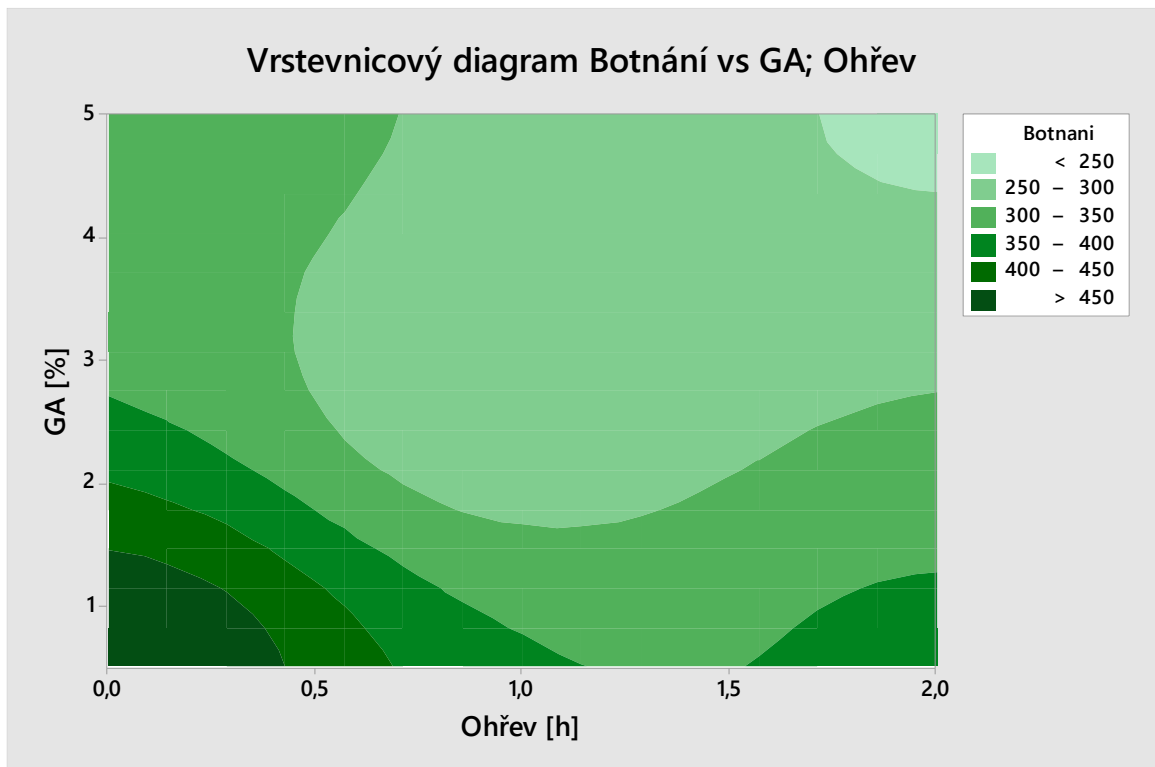
Bigi et al. v roce 2001 taktéž testoval botnání glutaraldehydem síťovaných želatinových filmů. Zde došel k totožnému závěru, že se zvyšující se koncentrací botnání výrazně klesá do 1wt% glutaraldehydu. Posléze nejsou rozdíly při vyšších koncentracích tak výrazné. [24]

Hodnoty botnání první série byly statisticky vyhodnoceny stejně jako data z tahové zkoušky.



Obrázek 17 - Paretův diagram pro botnání první série

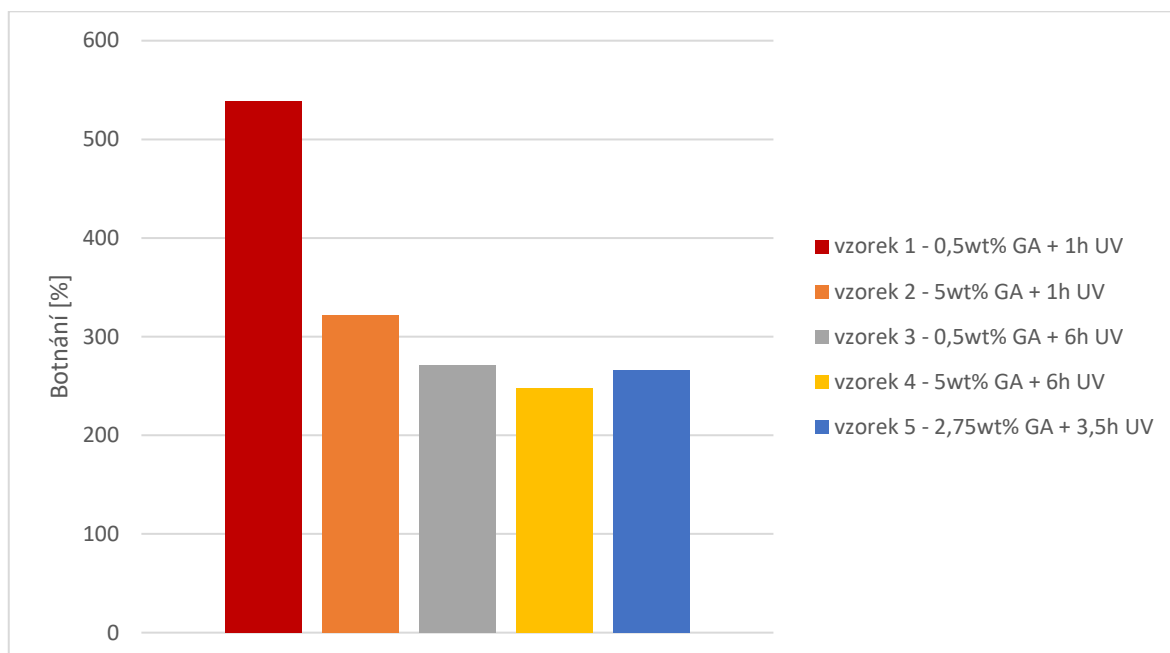
Paretův diagram pro botnání první série (obrázek 17) indikuje, že zde má větší vliv koncentrace glutaraldehydu než doba ozařování, což je opačný výsledek oproti tahové zkoušce. Navíc se zdaleka nepřibližuje hodnotě statistické významnosti, kterou vypočítal software na 1944 %. Tuto hodnotu bychom zřejmě překročili započítáním kontrolního nesíťovaného vzorku do statistického výběru, jelikož ten vykazoval mnohonásobně vyšší hodnoty botnání.



Obrázek 18 - Vrstevnicový diagram pro botnání první série

Vrstevnicový diagram potvrzuje, že větší vliv na botnání má koncentrace glutaraldehydu. Nejnižších hodnot botnání bylo dosaženo při koncentracích kolem 4,5 – 5 % GA a ohřevu kolem 2 hodin. Současně s tím je však patrné, že při této koncentraci bylo dosaženo relativně nízkého botnání i při kratší době ohřevu.

Druhá série byla testována stejně jako první s tím, že se zjišťoval vliv doby UV záření na výsledné botnění filmů.

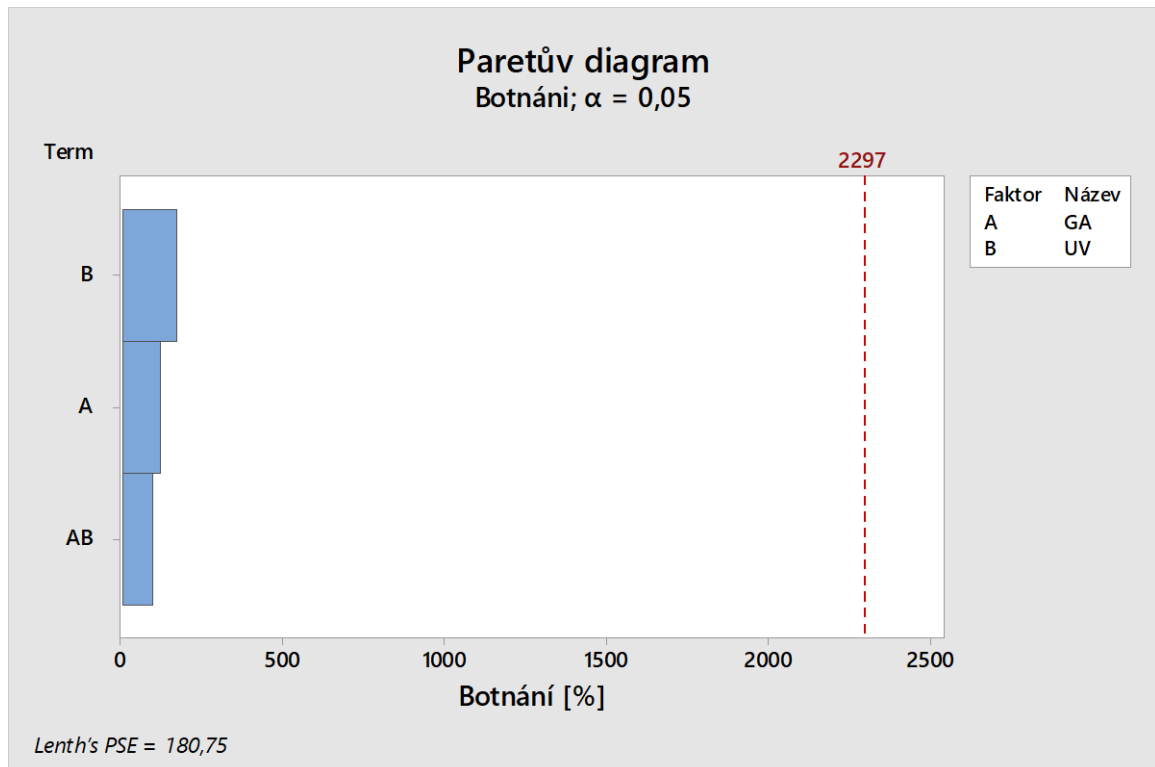


Obrázek 19 - hodnoty botnění druhé série

Z obrázku 19 je jasné, že délka doby UV záření na filmy má význam. Vzorky ozařované 6 hodin mají nižší hodnoty botnění než vzorky ozařované pouze jednu hodinu. U 0,5wt% koncentrace glutaraldehydu se mění botnění s přibývajícím dobou ozařování na polovinu. U 5wt% koncentrace o 20 %. Výsledky indikují stejný případ jako u první série a to takový, že snižující koncentraci glutaraldehydu lze kompenzovat dobou ozařování. Problémem je, že se filmy stávají příliš křehkými pro reálné použití, začínají se trhat při normální manipulaci.

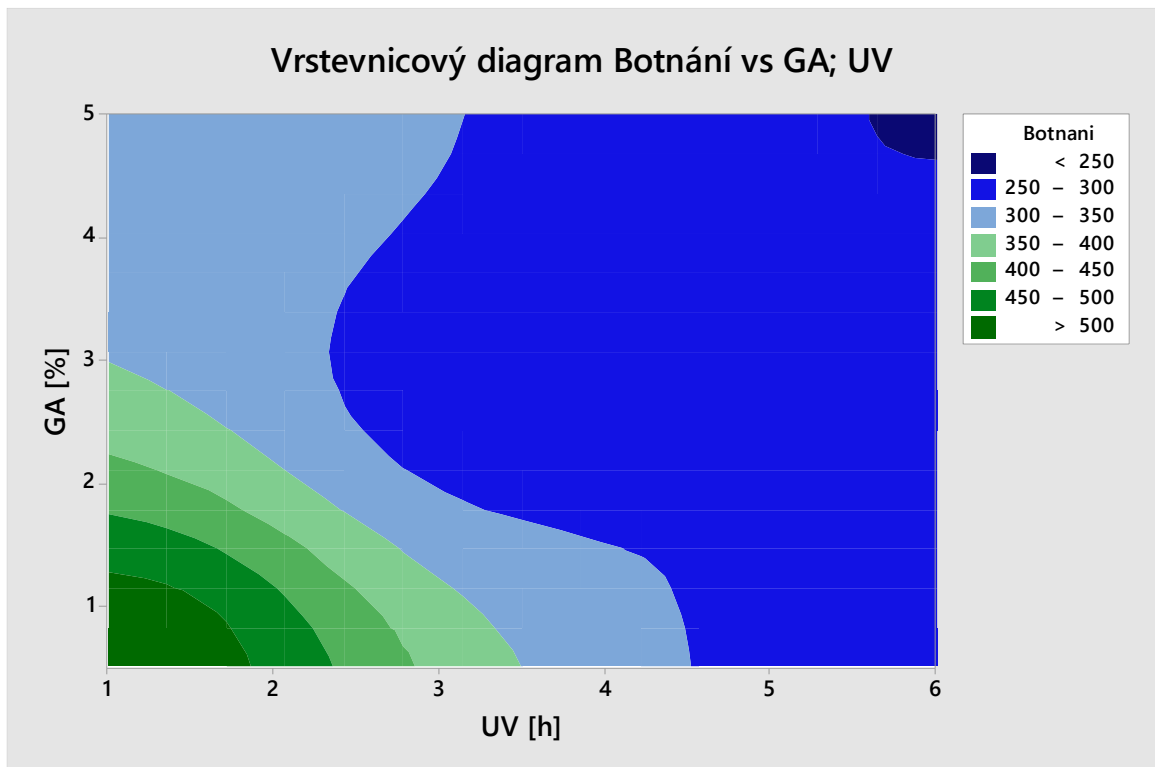
Stejně jako u první série kontrolní vzorek dosahoval hodnot botnění 7681 %. Nejlepší výsledek síťovaného filmu botnal na 248 % svojí původní hmotnosti. To znamená, že vzorek nabral pouze 3 % vody oproti nesíťovanému vzorku.

Hodnoty botnání druhé série byly opět zobrazeny v Paretově diagramu pro posouzení statistického vlivu obou faktorů, a to koncentrace glutaraldehydu a doby ozařování UV zářením.



Obrázek 20 - Paretův diagram pro botnání druhé série

Z Paretova diagramu na obrázku 20 je jasné, že faktor B – délka doby ozařování UV zářením má větší vliv na výsledné botnání materiálu. Zároveň ale nedosahuje statisticky významné hodnoty.



Obrázek 21 - Vrstevnicový diagram pro botnání druhé série

Vrstevnicový diagram na obrázku 21 potvrzuje větší vliv ozařování na botnání, než má koncentrace GA. I když bylo nejmenšího botnání dosaženo při maximech obou parametrů, je jasně patrné, že od doby ozařování delší než 3,5 hodiny nemá zvýšená koncentrace GA téměř žádný vliv.

## ZÁVĚR

Cílem práce bylo vyhotovit filmy na bázi chitosan/želatina a zkoumat vliv přidavku glutaraldehydu a ozařování UV zářením na výsledné vlastnosti tohoto materiálu. Příprava filmů byla rozdělena na dvě série po pěti vzorcích, naplánovaných faktorovými pokusy  $2^2$  s jedním středním bodem.

První série zkoumala vliv koncentrace glutaraldehydu a následného zahřátí na  $60\text{ }^\circ\text{C}$  po dobu 2 hodin. Na mechanické vlastnosti má větší vliv zahřátí filmů po jejich vyhotovení, kdy dochází k doreagování glutaraldehydu v materiálu. Tyto vzorky byly již na pohled tmavší než ostatní, což dokazuje vznik Schiffových bází, pro které je toto chování typické. Hodnoty maximální síly působící na vzorek při tahové zkoušce byly až šestkrát vyšší než u neohříváných vzorků. Také ze statistického vyhodnocení vyplývá, že ohřev má větší vliv, ač nebylo nedosaženo hranice statistické významnosti. Na botnání první série má naopak větší vliv vyšší koncentrace glutaraldehydu oproti době zahřátí. Při porovnání nezahřátých, resp. zahřátých vzorků mezi sebou, dosahujeme rozdílů v řádech desítek až stovek procent. Nejlépe vyšel vzorek s 5 wt% glutaraldehydu a dvěma hodinami dodatečného zahřívání, jehož mechanické vlastnosti zůstaly oproti kontrolnímu vzorku téměř totožné. Navíc botnání tohoto filmu bylo sníženo na 243 %. To znamená na 3 % oproti kontrolnímu vzorku.

Druhá série se zabývala možným vlivem UV záření na mechanické vlastnosti a botnání materiálů. Tahové zkoušce ovšem podrobena nebyla, neboť došlo k potrhání filmů při ozařování v xenotestu. Na botnání mělo větší vliv ozařování UV zářením, kde v případě 0,5 wt% přidavku glutaraldehydu při ozařování 6 hodin se dostáváme až na hodnoty poloviční oproti stejnému vzorku ozařovanému pouze 1 hodinu. U vzorku s 5 wt% glutaraldehydu tento rozdíl není tak razantní, ovšem stále dochází ke snížení botnání o desítky procent. Nejlépe vyšel vzorek s 5 wt% glutaraldehydu a 6 hodinami ozařování UV záření. Jeho botnání bylo pouze 248 %, ale byl natolik potrháný a křehký, že se s ním nedalo normálně manipulovat. Pro zachování alespoň nějakých mechanických vlastností lépe vycházely vzorky s pouze jednou hodinou ozařování.

Jako optimální film pro další výzkum se pak jeví ten s 5 wt% přidavkem glutaraldehydu, dodatečným ohřevem a ozařovaný 1 hodinu, který vykazuje dobré mechanické vlastnosti a relativně nízké botnání. Naopak, pro případné studium hydrogelů

by bylo možné použít film s 0,5 wt% glutaraldehydu, dodatečným ohřevem a ozařovaný 1 hodinu, který měl také dobré mechanické vlastnosti a botnání vyšší než 500 %.



**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] PHILLIPS, G. O. a P. A. WILLIAMS, 2009. *Handbook of Hydrocolloids*. 2. Elsevier. ISBN 1845695879.
- [2] SHAMSHINA, J. L., P. BERTON a R. D. ROGERS, 2019. *Advances in Functional Chitin Materials: A Review*. *ACS Sustainable Chem. Eng.* [online]. 2019(7), 6444–6457 [cit. 2024-05-13]. ISSN 2168-0485. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b06372>
- [3] PHILIPPOVA, O. E., et al., 2012. Aggregation of some water-soluble derivatives of chitin in aqueous solutions: Role of the degree of acetylation and effect of hydrogen bond breaker. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2012(87), 687-694 [cit. 2024-05-13]. ISSN 0144-8617. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.08.04>
- [4] THOMAS, S., A. PIUS a S. GOPI, 2020. *Handbook of Chitin and Chitosan: Volume 1: Preparation and Properties*. Elsevier. ISBN 9780128179710.
- [5] KURITA, K., 2006. Chitin and Chitosan: Functional Biopolymers from Marine Crustaceans. *Marine Biotechnology* [online]. 2006(8), 203–226 [cit. 2024-05-13]. ISSN 1436-2228. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1007/s10126-005-0097-5>
- [6] HURST, G.A. a K. NOVAKOVIC, 2013. A facile in situ morphological characterization of smart genipin-crosslinked chitosan–poly(vinyl pyrrolidone) hydrogels. *Journal of Materials Research* [online]. 2013(28), 1-8 [cit. 2024-05-14]. ISSN 2044-5326. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1557/jmr.2013.134>
- [7] THAKUR, V.K. a M.K. THAKUR, 2018. *Hydrogels: Recent Advances*. Springer. ISBN 9811060770.
- [8] YOSHIDA, R., 1993. Pulsatile drug delivery systems using hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 1993(11), 85-108 [cit. 2024-05-14]. ISSN 0169-409X. Dostupné z: doi: [https://doi.org/10.1016/0169-409X\(93\)90028-3](https://doi.org/10.1016/0169-409X(93)90028-3)
- [9] ROMERO, M.R., 2016. Smart valve: Polymer actuator to moisture soil control. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2016(234), 53-62 [cit. 2024-05-14]. ISSN 0925-4005. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.04.104>

- [10] HONG, F., 2024. Chitosan-based hydrogels: From preparation to applications, a review. *Food Chemistry: X* [online]. 2024(21) [cit. 2024-05-13]. ISSN 2590-1575. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.101095>
- [11] SHARIATINIA, Z. a A. M. JALALI, 2018. Chitosan-based hydrogels: Preparation, properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2018(115), 194-220 [cit. 2024-05-14]. ISSN 0141-8130. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.034>
- [12] OU, Y. a M. TIAN, 2021. Advances in multifunctional chitosan-based self-healing hydrogels for biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B* [online]. 2021(9), 7955-7971 [cit. 2024-05-14]. ISSN 2050-7518. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/D1TB01363G>
- [13] MITSUHASHI, K., 2019. Prevention of postoperative peritoneal adhesions in rats with sidewall defect-bowel abrasions using metal ion-crosslinked N-succinyl chitosan hydrogels. *Reactive and Functional Polymers* [online]. 2019(145), - [cit. 2024-05-14]. ISSN 1381-5148. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2019.104374>
- [14] LIU, T., 2018. Hydrogen-Bonded Polymer–Small Molecule Complexes with Tunable Mechanical Properties. *Macromolecular Rapid Communications* [online]. 2018(39), - [cit. 2024-05-14]. ISSN 1521-3927. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1002/marc.201800050>
- [15] TIAN, B., 2020. Chemical and physical chitosan hydrogels as prospective carriers for drug delivery: A review. *Journal of Materials Chemistry B* [online]. 2020(8), 10050-10064 [cit. 2024-05-14]. ISSN 2050-7518. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1039/D0TB01869D>
- [16] XIAO, M., 2023. Development of chitosan-based hydrogels for healthcare: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2023(244) [cit. 2024-05-13]. ISSN 0141-8130. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125333>
- [17] SCHRIEBER, R. a H. GAREIS, 2007. *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*. John Wiley. ISBN 3527315489.
- [18] JAYAKRISHNAN, A. a S.R. JAMEELA, 1996. Glutaraldehyde as a fixative in bioprostheses and drug delivery matrices. *Biomaterials* [online]. 1996(17), 471-484 [cit. 2024-05-13]. ISSN 0142-9612. Dostupné z: doi: [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(96\)82721-9](https://doi.org/10.1016/0142-9612(96)82721-9)

[19] MARTUCCI, J.F., R.A. RUSECKAITE a A. VÁZQUEZ, 2006. Creep of glutaraldehyde-crosslinked gelatin films. *Materials Science and Engineering: A* [online]. 2006(435-436), 681-686 [cit. 2024-05-13]. ISSN 0921-5093. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1016/j.msea.2006.07.097>

[20] DENAVI, G. A., 2009. Structural and functional properties of soy protein isolate and cod gelatin blend films. *Food Hydrocolloids* [online]. 2009(23), 2094-2101 [cit. 2024-05-14]. ISSN 0268-005X. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.03.007>

[21] GÓMEZ-ESTACA, J. et al., 2011. Effects of gelatin origin, bovine-hide and tuna-skin, on the properties of compound gelatin-chitosan films. *Food Hydrocolloids* [online]. 2011(25), 1461-1469 [cit. 2024-05-13]. ISSN 0268-005X. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.01.007>

[22] LIU, Z. et al., 2012. Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatine-based films. *Food Hydrocolloids* [online]. 2012(26), 311-317 [cit. 2024-05-13]. ISSN 0268-005X. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.06.008>

[23] QIAO, Congde et al., 2017. Molecular interactions in gelatin/chitosan composite films. *Food chemistry* [online]. 2017(235), 45-50 [cit. 2024-05-13]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.045>

[24] BIGI, A., 2001. Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking. *Biomaterials* [online]. 2001(22), 763-768 [cit. 2024-05-13]. ISSN 0142-9612. Dostupné z: doi: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00236-2](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00236-2)

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1 – strukturní vzorec chitosanu [5].....	11
Obrázek 2 – obsah aminokyselin v kolagenu a čtyřech typech želatiny [1].....	12
Obrázek 3 - reakce polymerovaného glutaraldehydu s primárními aminy [18].....	16
Obrázek 4 – chitosan.....	21
Obrázek 5 - strukturní vzorec glutaraldehydu .....	22
Obrázek 6 - vážení chitosanu.....	24
Obrázek 7 – třepání roztoků chitosanu v kyselině octové .....	24
Obrázek 8 - ozařování filmů .....	25
Obrázek 9 – tahová zkouška .....	26
Obrázek 10 - kontrolní vzorek s 0,5wt% GA vzorky .....	27
Obrázek 11 - kontrolní vzorek s 5wt% GA vzorky .....	27
Obrázek 12 - graf tahové zkoušky pro první sérii .....	28
Obrázek 13 - Paretův diagram pro data z tahové zkoušky .....	30
Obrázek 14 - Vrstevnicový diagram pro tahovou zkoušku .....	31
Obrázek 15 - botnání vzorků .....	32
Obrázek 16 - hodnoty botnání první série .....	33
Obrázek 17 - Paretův diagram pro botnání první série.....	34
Obrázek 18 - Vrstevnicový diagram pro botnání první série.....	35
Obrázek 19 - hodnoty botnání druhé série.....	36
Obrázek 20 - Paretův diagram pro botnání druhé série .....	37
Obrázek 21 - Vrstevnicový diagram pro botnání druhé série.....	38

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1 – přídavky glutaraldehydu v první sérii.....	23
Tabulka 2 – přídavek glutaraldehydu a doba UV záření v druhé sérii .....	23
Tabulka 3 - hodnoty $F_m$ , $R_m$ a deformace z tahové zkoušky .....	29

