

**Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta**

Katedra fyzikální a makromolekulární chemie

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie v přírodních vědách



Katarína Šomšáková

Nanočástice na bázi komplexů blokových polyelektrolytů s novými gemini surfaktanty

Nanoparticles based on complexes of hydrophilic block polyelectrolytes and new gemini ionic surfactants

Bakalářská práce

Školitel: Ing. Mariusz Marcin Uchman, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Pavel Matějček, Ph.D.

Praha 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze 28. 8. 2015

.....

Katarína Šomšáková

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat mému školiteli, Mariuszovi Uchmanovi, za osobní přístup a nekonečnou trpělivost při vedení práce, Pavlovi Matějčkovu za cenné rady při psaní této práce, svojí rodině za neustálou podporu, rodině Pimek za vytvoření jedinečného studijního prostředí, Blance Dobruské za vytrvalé povzbuzování a svému příteli, Ondřejovi Dobruskému, který mi byl po celou dobu nenahraditelnou oporou.

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá přípravou a studiem vodných roztoků komplexů blokového polyelektrolytu poly(2-vinylpyridín)-*b*-poly(ethylen oxid), P2VP-PEO s gemini surfaktanty 6,6'-(ethan-1,2-diylbis(oxy)) bis(3-dodecylbenzensulfonová kyselina), 6,6'-(butan-1,4-diylbis(oxy)) bis(3-dodecylbenzensulfonová kyselina) a 6,6'-(hexan-1,6-diylbis(oxy)) bis(3-dodecylbenzen sulfonová kyselina) a komplexu P2VP-PEO s dodecylsulfátem sodným, SDS a vzájemným porovnáním jejich fyzikálně-chemických vlastností. Částice byly charakterizovány pomocí statického a dynamického rozptylu světla, zeta potenciálu, izotermální titrační kalorimetrie a kryo-transmisní elektronové mikroskopie. Byly připraveny stabilní nanočástice v 0.1 M HCl, přičemž již malý přídavek surfaktantu zapříčiňuje vznik micel s PEO obalem a jádrem, tvořeným komplexem P2VP se surfaktantem. Byl studován vliv délky hydrofobního můstku v molekule gemini surfaktantu a také poměru surfaktant/polymer na velikost a morfologii vzniklých nanočástic.

Abstract

This bachelor thesis deals with preparation and study of the aqueous solutions of block polyelectrolyte poly(2-vinylpyridine)-*b*-poly(ethylene oxide), P2VP-PEO with gemini surfactants 6,6'-(ethane-1,2-diylbis(oxy)) bis(3-dodecylbenzenesulfonate acid), 6,6'-(butane-1,4-diylbis(oxy)) bis(3-dodecylbenzenesulfonate acid) and 6,6'-(hexane-1,6-diylbis(oxy)) bis(3-dodecylbenzenesulfonate acid) complexes and with P2VP-PEO and sodium dodecylsulfate, SDS, complexes, and compares their physico-chemical properties. Formed particles were characterized by static and dynamic light scattering, zeta potential, isothermal titration calorimetry and transmission cryo-electron microscopy. Even small amount of surfactant leads to coassembly of P2VP-PEO with surfactants, formed by PEO shell and P2VP/surfactant core. The nanoparticles of block polyelectrolyte and gemini surfactants in 0.1M HCl are stable and their size depends on the spacer length and the surfactant/polymer ratio.

Obsah

1. Úvod a cíl práce	6
2. Přehled literatury	7
2.1. Amfifilní blokové kopolymery	7
2.1.1. Micelizace amfifilních blokových kopolymerů	7
2.1.2. Tvary micel amfifilních blokových kopolymerů	8
2.1.3. Dvojitě hydrofilní blokové kopolymery	10
2.2. Surfactanty.....	11
2.2.1. Micelizace surfaktantů	12
2.2.2. Tvary micel surfaktantů	15
2.2.3. Komplexy blokových polyelektrolytů s iontovými surfaktanty	15
2.2.4. Gemini surfaktanty.....	18
2.2.5. Micelizace gemini surfaktantů	19
2.2.6. Komplexy gemini surfaktantů s blokovými polyelektrolyty	20
2.3. Rozptyl světla	21
2.3.1. Statický rozptyl světla (SLS)	21
2.3.2. Dynamický rozptyl světla	22
2.4. Zeta potenciál	23
2.5. Izotermální titrační kalorimetrie	25
2.6. Kryo-transmisní elektronová mikroskopie	26
3. Materiál a metody	27
3.1. Chemikálie.....	27
3.2. Metody	28
4. Výsledky a diskuse	30
4.1. Charakterizace částic pomocí rozptylu světla.....	30
4.2. Charakterizace částic pomocí ζ-potenciálu	35
4.3. Charakterizace částic pomocí izotermální titrační kalorimetrie	35
4.4. Charakterizace částic pomocí kryo-transmisní elektronové mikroskopie.....	38
5. Závěr.....	40
Literatura.....	41

1. Úvod a cíl práce

V posledních letech je zájmem laboratoří po celém světě studium komplexů blokových kopolymerů se surfaktantmi, zkoumání jejich vlastností a tvaru, ale hlavně jejich využití pro různé odvětví průmyslu. V současnosti mají tyto komplexy široké uplatnění při výrobě různých čisticích prostředků, ve farmaceutickém nebo kosmetickém průmyslu, ale především se hledá jejich využití v medicíně.

V současnosti je zvýšená pozornost věnována novým gemini surfaktantům a jejich komplexům s blokovými kopolymery. Cílem těchto studií je hledání nových komplexů s výhodnějšími vlastnostmi pro využití v běžném životě v porovnání s již známými komplexy polymer/surfaktant. Díky schopnosti blokových polyelektrolytů tvořit se surfaktanty struktury o velikosti několik desítek až stovek nm je velice slibné jejich využití v oblasti nanotechnologií, např. k přípravě nanočástic pro uplatnění v elektronice nebo pro cílený transport léčiv.

Cílem mé bakalářské práce je příprava a charakterizace nanočástic vzniklých na základě interakce blokového polyelektrolytu poly(2-vinylpyridin)-*b*-poly(ethylen oxid), P2VP-PEO, s gemini surfaktanty 6,6'-*(ethan-1,2-diylbis(oxy)) bis(3-dodecylbenzensulfonová kyselina)*, 6,6'-*(butan-1,4-diylbis(oxy)) bis(3-dodecylbenzensulfonová kyselina)* a 6,6'-*(hexan-1,6-diylbis(oxy)) bis(3-dodecylbenzen sulfonová kyselina)* s různou délkou můstku. Tyto systémy byly porovnány s nanočásticemi tvořenými P2VP-PEO a klasickým surfaktantem dodecylsulfátem sodným, SDS. Studován je vliv můstku na velikost a tvar nanočástic. Dalším důležitým parametrem je nábojový poměr, tj. poměr koncentrace surfaktantu ku počtu nabitých polymerních segmentů, *Z*. K charakterizaci nanočástice jsem použila následující metody: statický a dynamický rozptyl světla (SLS a DLS), zeta potenciál, izotermální titrační kalorimetrii (ITC), a kryo-transmisní elektronovou mikroskopii (cryo-TEM).

2. Přehled literatury

2.1. Amfifilní blokové kopolymery

Amfifilní blokové kopolymery jsou polymery složené ze dvou a více homopolymerních bloků navzájem spojených chemickou vazbou. Nejjednodušším typem blokových kopolymerů jsou lineární dvoublokové struktury AB.

2.1.1. Micelizace amfifilních blokových kopolymerů

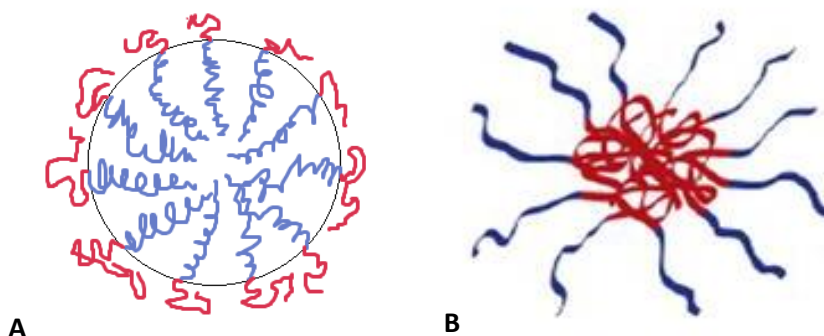
K micelizaci amfifilních blokových kopolymerů dochází rozpuštěním kopolymeru v dobrém rozpouštědle obou bloků, a následnou změnou podmínek, za kterých dochází k micelizaci (teplota, složení rozpouštědla apod.). Toho se například dosáhne postupným přidáváním srážedla jednoho z bloků, čímž vzniká selektivní rozpouštědlo. Selektivní rozpouštědlo je takové, které jeden blok rozpouští a druhý sráží. Často užívanou alternativou je technika dialýzy, pomocí které je společné rozpouštědlo postupně nahrazené selektivním rozpouštědlem.¹ Méně doporučovanou metodou micelizace je technika, při které je kopolymer v pevném skupenství přímo rozpuštěn v selektivním rozpouštědle.² U obou technik micelizace není nutně dosaženo rovnovážného stavu, a to hlavně v případě, kdy má polymer formující jádro micely vysokou teplotu skelného přechodu. V takovém případě dochází k formování tzv. „zamrzlých micel“. Kineticky zamrzlé micely vznikají kvůli pomalé výměně unimerů mezi agregáty v porovnání s experimentální časovou škálou.³ Tyto micely jsou natolik stabilní, že jejich strukturu není možné ovlivnit změnou rozpouštědla, teploty nebo koncentrace. Energie potřebná na uvolnění unimeru z této micely je vysoká, avšak lze ji snížit přidáním nízkomolekulárního surfaktantu, což má za následek rozpuštění micely.⁴

K micelizaci amfifilních blokových kopolymerů dochází při koncentraci v roztoku vyšší než kritická micelární koncentrace (CMC – Critical Micelle Concentration). Kopolymer o nižší koncentraci, než je CMC, je v roztoku pouze ve formě unimerů. Při koncentraci kopolymeru vyšší, než je CMC, se v roztoku nachází micely a unimery v rovnováze.¹ Hodnota CMC je pro každý kopolymer specifická a závisí na více faktorech, např. na délce a struktuře polymerního řetězce, přítomnosti další látky v roztoku, teplotě a tlaku okolního prostředí apod.

Micelární systém je také charakterizován molekulovou hmotností micel M^n , agregačním (asociačním) číslem N^{agg} , tj. číslem udávajícím počet polymerních řetězců tvořících micelu, gyračním poloměrem R_G , který vyjadřuje vzdálenost od osy rotace, kde by byla soustředěna veškerá hmotnost částice tak, aby měla stejný moment setrvačnosti jako skutečná částice⁵, hydrodynamickým poloměrem R_H , tedy poloměrem koule, jejíž difúzní koeficient je za dané teploty ve stejném disperzním prostředí stejný jako difúzní koeficient sledované částice.⁶ Tyto veličiny je možné studovat pomocí různých metod, nejčastěji rozptylovými metodami. Gyrační poloměr a molekulová hmotnost se získávají ze statického rozptylu světla (SLS – Static Light Scattering), SAXS nebo SANS, hydrodynamický poloměr z dynamického rozptylu světla (DLS – Dynamic Light Scattering). Tvar a velikost je možné zjistit pomocí kryo-transmisní elektronové mikroskopie (cryo-TEM).

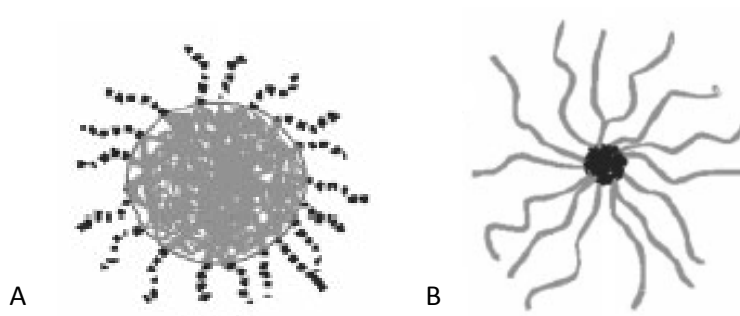
2.1.2. Tvary micel amfifilních blokových kopolymerů

Micely lineárních amfifilních blokových kopolymerů mají nejčastěji tvar sférický. Jejich tvar a stavba jsou ovlivněny délkou bloků a interakčními parametry. Rozdíl mezi stavbou micel rozpuštěných ve dvou různých typech selektivního rozpouštědla je zobrazen na Obr. 2.1. Micela B znázorňuje agregaci unimerů kopolymeru ve vodném prostředí, kde hydrofobní bloky (červené) tvoří jádro micely a hydrofilní blok (modrý) tvoří micelární slupku. Opačným případem je takzvaná reversní micela A, kde hydrofilní bloky stabilizují nanokapku vody rozptýlené v organické fázi.



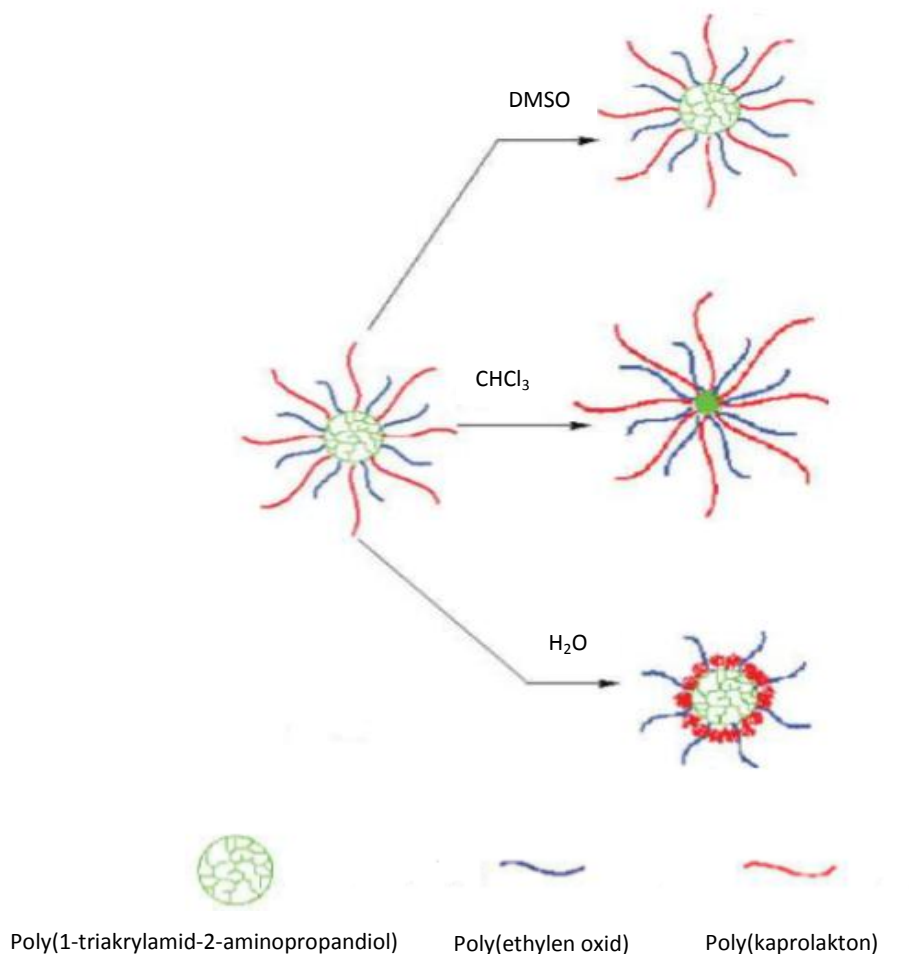
Obr. 2.1. Sférické micely amfifilních blokových kopolymerů: A – reversní micela v olejové fázi (jádro tvořené hydrofilními bloky, slupka hydrofobními bloky). B – Micela ve vodném prostředí (jádro tvořené hydrofobními bloky, hydrofilní bloky tvoří slupku).

Změny tvaru micely mohou být také způsobeny změnou podmínek. Na Obr. 2.2.⁷ jsou zobrazeny tvary micel kopolymeru poly(akrylová kyselina)₄₅-*b*-poly(diethylakrylamid)₃₆₀ ve vodném prostředí při různém pH a teplotě. V alkalickém prostředí při teplotě nad 32 °C vytváří kopolymer micelární strukturu tzv. crew-cut, v kyselém prostředí při teplotě pod 32 °C hvězdicovitou micelu.



Obr. 2.2. A – crew-cut micela; B – hvězdicovitá micela

Na Obr. 2.3.⁸ je znázorněn vliv odlišných rozpouštědel na stejnou polymerní nanočástici. Zde je viditelná selektivita rozpouštědel pro jednotlivé bloky kopolymeru. V dimetylsulfoxidu (DMSO) se nesráží žádný z bloků, chloroform (CHCl_3) sráží poly(1-triakrylamid-2 aminopropandiol) a voda zase poly(ϵ -kapolakton).



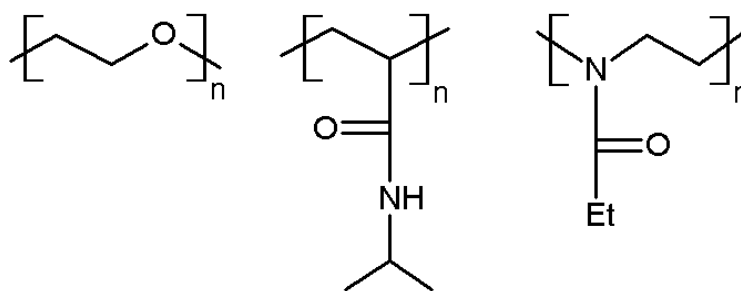
Obr. 2.3. Vliv různých selektivních rozpouštědel na stejnou micelu

2.1.3. Dvojitě hydrofilní blokové kopolymery

Dvojitě hydrofilní blokové kopolymery se skládají ze dvou hydrofilních, ve vodě rozpustných, bloků s rozdílnými chemickými vlastnostmi. Ve vodných roztocích se chovají jako homopolymery, zatímco jejich amfifilní vlastnosti (micelizace, povrchové napětí apod.) se projevují až při vhodných podmínkách, jako je vhodná teplota nebo pH. Micelizace může být také vyvolána vytvořením komplexu jednoho z bloků kopolymeru elektrostatickou interakcí s opačně nabitým polymerem, hydrofobní interakcí se surfaktantem nebo nerozpustností jednoho z bloků v přítomnosti kationtů kovů. Většina studovaných dvojitě hydrofilních blokových kopolymerů obsahuje alespoň jeden neiontový blok. Jedná se převážně o poly(ethylenoxid), (PEO), poly(*N*-isopropylakrylamid), (PNIPAM), nebo poly(2-ethyl oxazolin) (PEOX) (Obr. 2.4.). PEO (někdy také poly(ethylen glykol), (PEG)) je nejčastěji používaným hydrofilním polymerem v blokových kopolymerech hlavně díky dostupnosti a také biokompatibilitě. Kopolymery

s jedním PNIPAM blokem slouží k přípravě teplotně citlivých micel. PNIPAM je ve vodném prostředí až do teploty 32 °C hydrofilní polymer. Při více než 32 °C má schopnost přechodu do jádra micely.⁹ Tato schopnost je zapříčiněná dehydratací PNIPAM slupky, nejedná se o změnu charakteru na hydrofobní.¹⁰ Kopolymery s teplotně senzitivním blokem PNIPAM jsou často využívány hlavně v oblasti medicíny pro transport léčiv.¹¹ Polymery derivátů oxazolinu mají široké uplatnění v technologických oblastech, především pak jako nosiče léčiv díky jejich schopnosti reagovat na malé změny v okolí (teplota nebo pH)^{12,13}, nebo jako antimikrobiální materiály.¹⁴

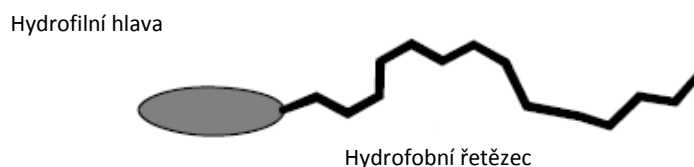
V případě, že jsou oba bloky kopolymeru neiontové, dochází k micelizaci většinou změnou teploty. Pro kopolymery s neiontovým a iontovým blokem je micelizace možná změnou pH nebo přidáním iontového surfaktantu. Vzhledem k povaze iontového bloku může být blokovaný polyelektrolyt aniontový (PEO-PMAA v alkalickém prostředí) nebo kationový (PEO-P2VP v kyselém prostředí).



Obr. 2.4. Struktury polymerů; zleva: PEO, PNIPAM, PEOX

2.2. Surfaktanty

Surfaktant je povrchově aktivní látka charakteristická svou tendencí adsorpce na povrchu nebo mezifází. Surfaktanty jsou amfifilní a skládají se alespoň ze dvou částí, jedna je rozpustná v daném rozpouštědle, druhá nikoli. Jestliže jde o vodné roztoky, jedná se o hydrofobní řetězec a hydrofilní část (hlava) (Obr. 2.5).¹⁵ Hydrofobní část může být rozvětvená nebo lineární. Hydrofilní hlavní skupina může být neiontová nebo iontová a je obvykle vázaná na jeden konec alkylového řetězce.



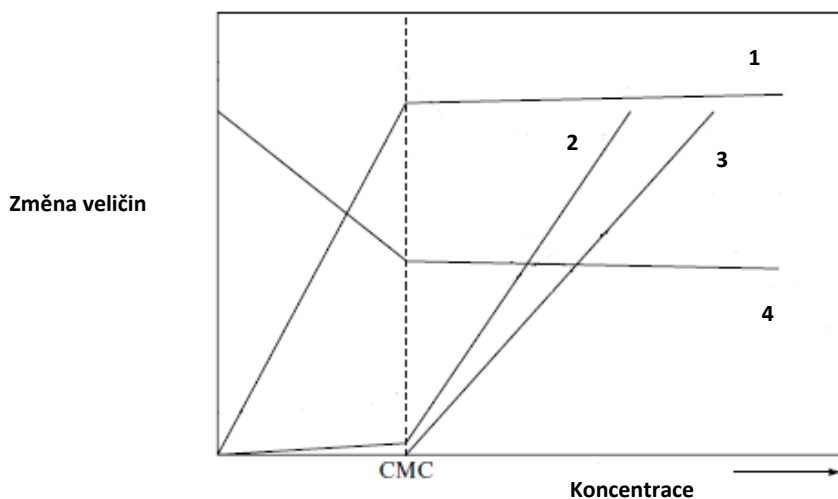
Obr. 2.5. Schematické zobrazení amfifilního surfaktantu

2.2.1. Micelizace surfaktantů

Surfaktanty ve vodném prostředí mají tendenci tvořit agregáty – micely. Micelizace se v tomto případě vysvětluje minimalizací kontaktu hydrofobní části s molekulami vody. Změna struktury vody v okolí surfaktantních molekul tak vede ke zvýšení entropie. Tento entropický efekt se nazývá hydrofobní efekt. Micely vznikají už při velmi nízkých koncentracích surfaktantů ve vodě, tzv. kritických micelárních koncentracích (CMC). Surfaktant o nižší koncentraci než CMC, je v roztoku rozpuštěn ve formě unimerů. Při koncentraci surfaktantu vyšší, než je CMC, se v roztoku nachází micely a unimery v rovnováze. Hodnoty CMC je možné stanovit pomocí měření povrchového napětí v závislosti na koncentraci surfaktantu, nebo pomocí izotermální titrační kalorimetrie (ITC).

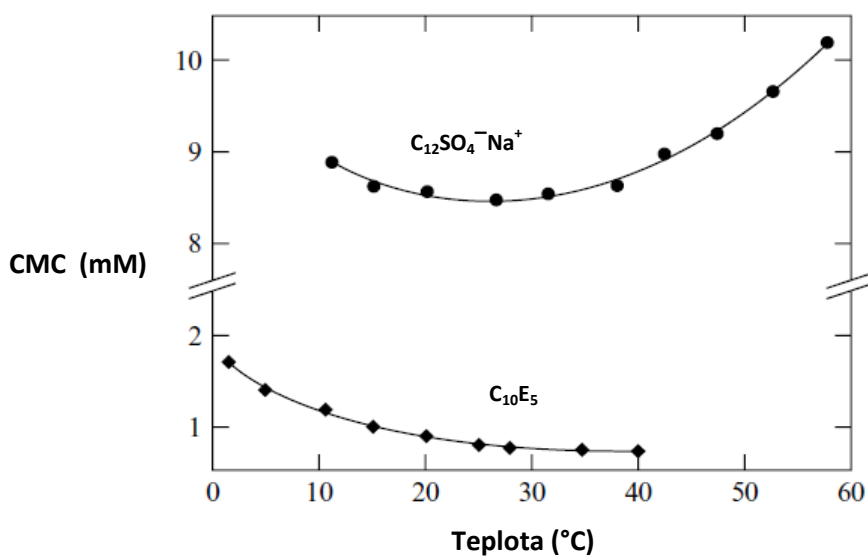
Obr. 2.6.¹⁵ znázorňuje změny některých veličin a vlastností po dosažení CMC. Hodnota CMC závisí na více faktorech, jedním z nich je struktura surfaktantů.¹⁵ Hodnota CMC je tím nižší, čím delší je alkylový řetězec surfaktantu. V případě různých typů surfaktantů se stejnou délkou hydrofobního řetězce jsou rozdíly mezi CMC následující:

- CMC je mnohem nižší u neiontových surfaktantů než u iontových,
- vlivem hydrofilní hlavy mají, v porovnání s aniontovými surfaktanty, kationové surfaktanty vyšší hodnotu CMC.



Obr. 2.6. Změna veličin po dosažení CMC. 1 – osmotický tlak, 2 – turbidita, 3 – schopnost solubilizace, 4 – povrchové napětí

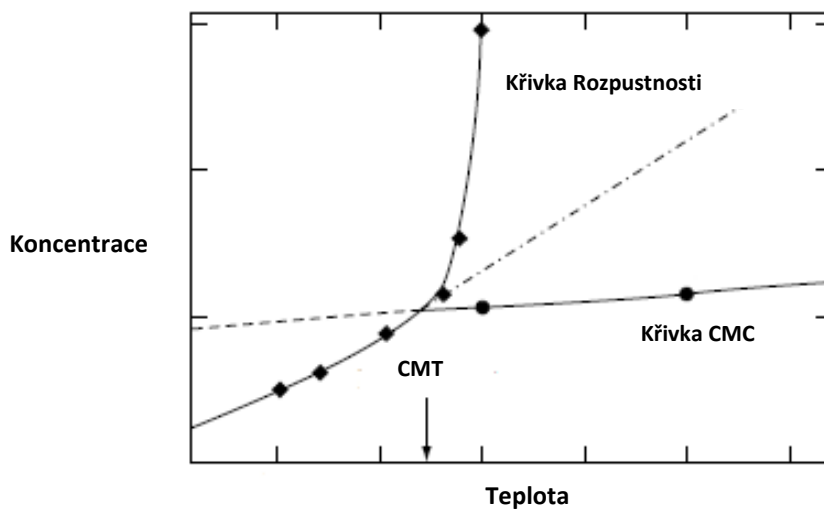
Hodnota CMC pro jednotlivé surfaktanty závisí na teplotě. Obr. 2.7.¹⁵ ukazuje závislost CMC dodecylsulfátu sodného (SDS) a penta(etylen glykol)monodecyl etheru na teplotě.



Obr. 2.7. Vliv teploty (°C) na CMC (mM) SDS a poly(etylen glykol)monodecyl etheru

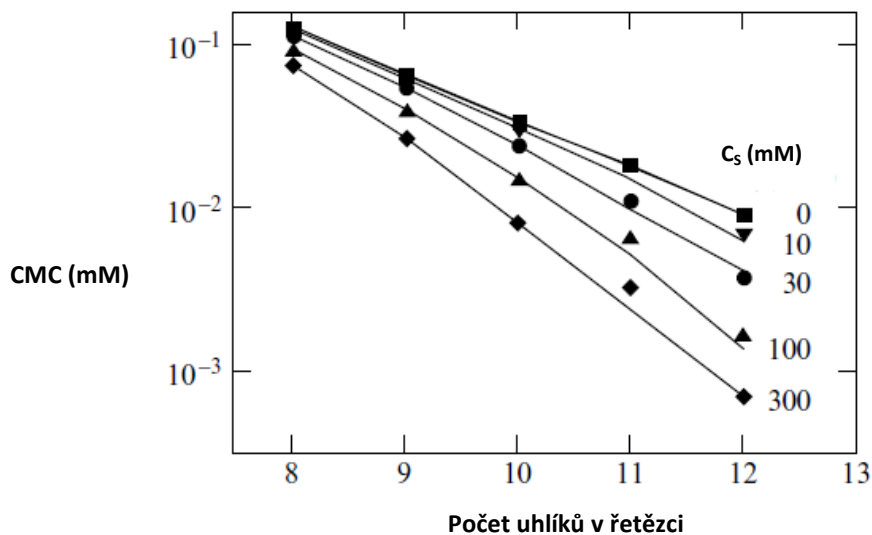
Kritické micelární koncentrace je možné dosáhnout změnou teploty systému. Po dosažení určité teploty dochází v systému k prudkému nárůstu rozpustnosti surfaktantu,

tudíž k tvorbě micel (Obr. 2.8.).¹⁵ Tato teplota se nazývá Krafftova teplota, neboli kritická micelární teplota (CMT – Critical micellar temperature).



Obr. 2.8. Závislost rozpustnosti surfaktantu na teplotě kolem Krafftovy teploty

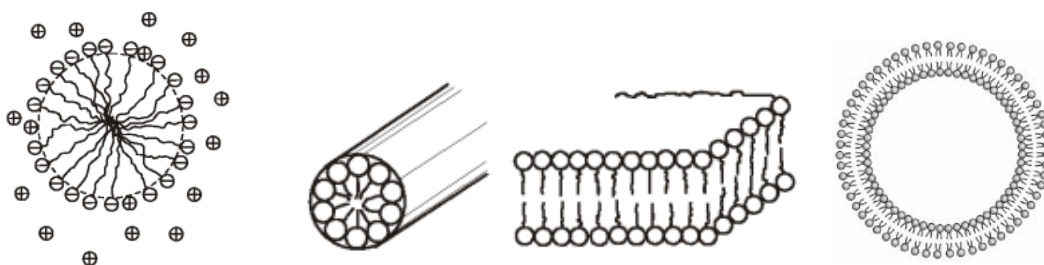
Tvorbu micel lze ovlivnit také přidávkem elektrolytu do roztoku surfaktantu. Tím dochází ke snížení CMC. U surfaktantů s krátkým alkylovým řetězcem je snížení hodnoty CMC mírnější než u surfaktantů s delším řetězcem (Obr. 2.9.¹⁵).



Obr. 2.9. Pokles CMC v závislosti na délce alkylového řetězce surfaktantu po přidání elektrolytu o různých koncentracích soli (C_s)

2.2.2. Tvary micel surfaktantů

Micely surfaktantů mají obvykle tvar sférický, avšak mohou mít také tvar cylindrický ve tvaru válce s kruhovým průřezem, lamelární, kde jsou hydrofobní řetězce orientovány dovnitř dvouvrstvy a hydrofilní hlavy jsou v kontaktu s vodou. Speciálním případem je tvar vesikuly, která je složená z dvouvrstvy ve tvaru duté koule (Obr. 2.10.).¹⁶



Obr. 2.10. Tvary micel (zleva): sférický, cylindrický, lamelární, vesikula

2.2.3. Komplexy blokových polyelektrolytů s iontovými surfaktanty

Interakce mezi polymery a surfaktanty ve vodných roztocích jsou dlouhodobým cílem zájmu díky aplikaci vzniklých systémů polymer – surfaktant – v různých odvětvích průmyslu, např. ve farmacii, medicíně nebo kosmetickém průmyslu.

Ve vodných roztocích blokových polyelektrolytů dochází k tvorbě surfaktantních micel už při nízkých koncentracích přidaného surfaktantu. Tato koncentrace se nazývá kritická agregační koncentrace (CAC – Critical Aggregation Concentration). Obecně platí, že CMC je větší než CAC. Surfaktant je tak navázaný na polymer ve formě micel. Parametry, které to mohou ovlivňovat, jsou nábojová hustota, struktura surfaktantu nebo iontová síla. Výsledkem je vznik široké škály nanostruktur.

V minulosti byla většina výzkumů zaměřených na studium komplexů surfaktantu s homopolymerními polyelektrolyty. V současnosti se pozornost soustřeďuje na blokové polyelektrolyty.

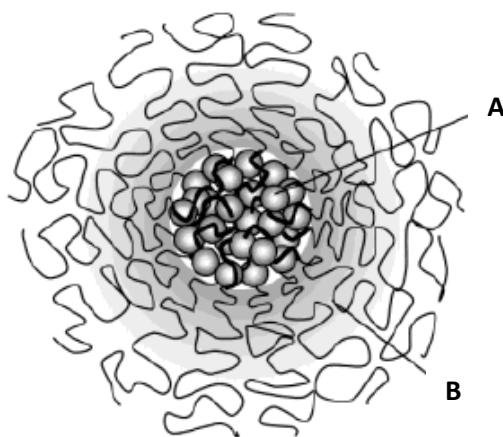
V případě neiontových homopolymerů dochází při koncentraci surfaktantu vyšší než CAC ke snížení povrchového napětí tvorbou micel, ve kterých jsou jen slabé vazby mezi polymerem a molekulami nebo agregáty surfaktantu.¹⁷ U polyelektrolytů jsou asociace mezi surfaktantem a opačně nabitým polyelektrolytem ve vodním prostředí řízené elektrostatickými a hydrofobními interakcemi. Při koncentraci surfaktantu nad CAC

dochází ke dvěma efektům s opačným vlivem na velikost komplexu. Prvním je částečné svinutí řetězce polyelektrolytu, které zapříčiňuje zmenšení velikosti, druhým je vytvoření komplexu podobnému micelle, kdy se velikost komplexu zvětšuje.¹⁸

U blokových polyelektrolytů závisí tvar a velikost komplexů, podobně jako u polyelektrolytů, na poměru surfaktant/polyelektrolyt (Z) v roztoku.^{19,20} Při velmi nízkém Z dochází k navázání jednotlivých molekul surfaktantu na iontový blok kopolymeru, při vyšším Z pak k tvorbě surfaktantních micel vázaných na polymerní řetězec. Při $Z = 1$, kdy dochází ke kompenzaci náboje, vznikají kompaktní nanočástice s jádrem tvořeným komplexem polyelektrolyt – surfaktant. Kolaps polyelektrolytového bloku má za následek snížení velikosti nanočástice. Při Z vyšších než 1 existují micely současně s volnými molekulami surfaktantu, které mohou nad CMC vytvářet volné surfaktantní micely.

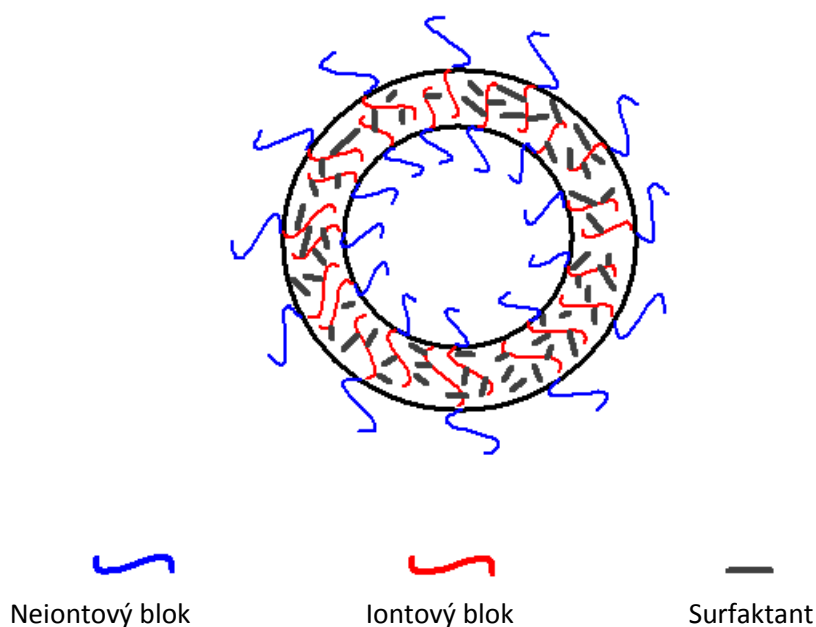
V případě tvorby komplexu dvojité hydrofilního blokového kopolymeru s jedním iontovým blokem, s opačně nabitým surfaktantem dochází ke vzniku micel²¹ nebo vezikul.^{22, 23, 24}

U micel komplexů byla pozorována struktura core-shell, kde jádro tvoří micely surfaktantu vázané na polyelektrolytový blok kopolymeru a slupku tvoří neiontový blok kopolymeru. Surfaktantní micely v jádru nejsou obvykle uspořádané (Obr. 2.11.).²⁵ Byly však pozorovány také uspořádané struktury (kubické, hexagonální apod.) obsahující bloky polyelektrolytů obsahující systém organizovaných surfaktantních micel.²¹



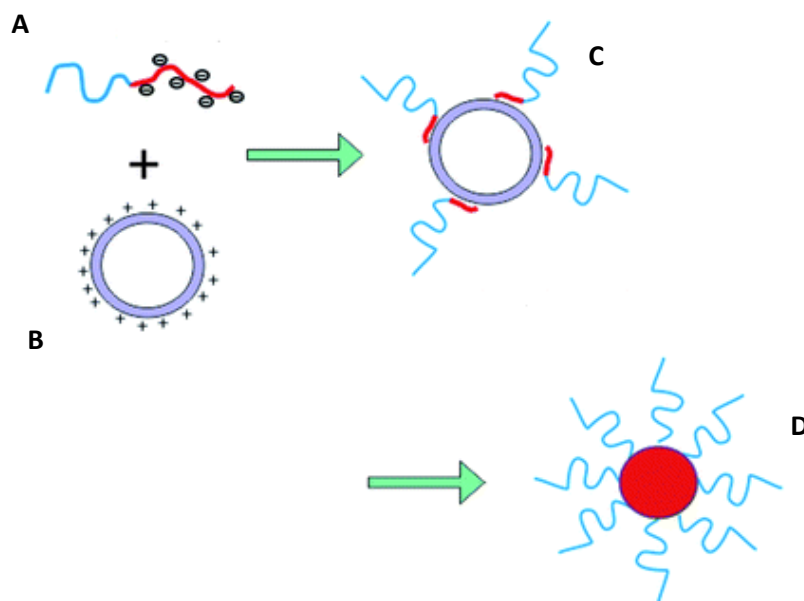
Obr. 2.11. Struktura core-shell komplexu blokového polyelektrolytu a surfaktantu. A – jádro, složené z bloku polyelektrolytu a surfaktantních micel; B – ve vodě rozpustná slupka z neiontového bloku, stabilizující nanočástici

Tvar vezikuly je znázorněn na Obr. 2.12. Vezikula má tvar duté, uzavřené koule, kde hydrofobní část tvořená surfaktantem a iontovým blokem polyelektrolytu je uvnitř membrány a hydrofilní část komplexu – neiontový blok – je na obou vnějších stranách membrány.



Obr. 2.12. Vezikula

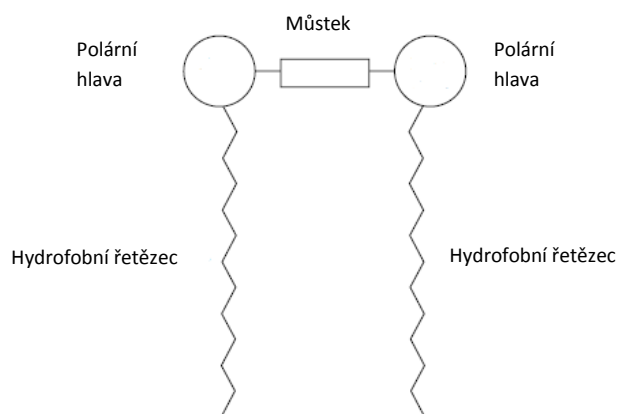
Ne vždy jsou komplexy ve tvaru vezikuly stabilní. Byly pozorovány interakce blokových polyelektrolytů a surfaktantů tvořících vezikuly (didodecylmethylamonium bromid, DDAB), kde při nízkých koncentracích polyelektrolytu vznikají komplexy vezikul surfaktantů, na které jsou elektrostaticky navázány polyelektrolyty. Při zvýšení koncentrace polyelektrolytu ale dochází k transformaci vezikuly na stabilnější útvary, což jsou micely s jádrem tvořeným polyelektrolytem a surfaktantem. Slupku tvoří neiontový blok kopolymeru (Obr. 2.13.).²³



Obr. 2.13. Vznik komplexu blokového polyelektrolytu (A) se surfaktantem (B) ve tvaru vezikuly s navázaným polyelektrolytem a transformace struktury vezikuly (C) na micelu (D)

2.2.4. Gemini surfaktanty

Klasické surfaktanty obvykle obsahují jenom jednu polární skupinu. Gemini surfaktanty jsou dimerové surfaktanty obsahující dva hydrofobní řetězce a dvě hlavní hydrofilní skupiny společně propojené „můstkem“, jak je schematicky znázorněno na Obr. 2.14.¹⁵ Většina gemini surfaktantů vznikne ze dvou stejných surfaktantů propojených můstkem, který může mít různou délku.



Obr. 2.14. Schematické znázornění struktury gemini surfaktantu

Některé gemini surfaktanty, obzvláště symetrické kationové, je možné připravit z lehkých dostupných materiálů přímou syntézou. Gemini surfaktant typu *N*-alkandiyl 1,2-ethan bis(dimethylamonium bromid) je možné připravit reakcí *N,N,N',N'*-tetramethyl-

ethylendiamin s příslušným alkylbromidem v čistém etanolu refluxováním po dobu 24 hodin.²⁶

Syntéza aniontových a neiontových gemini surfaktantů je často prováděná otevřením cyklů bisepoxidu za vzniku meziprojektu bishydroxyetheru¹⁵, nebo syntézou na bázi dodecylfenolu nebo nonylfenolu.²⁷

2.2.5. Micelizace gemini surfaktantů

Podobně jako u klasických surfaktantů, i gemini surfaktanty začínají tvořit micely ve vodním prostředí při kritické micelární koncentraci. V porovnání s klasickými mají gemini surfaktanty vysokou účinnost při snižování povrchového napětí a mnohem nižší hodnoty CMC, které závisí na délce alkylového řetězce nebo na charakteru a délce můstku.¹⁵

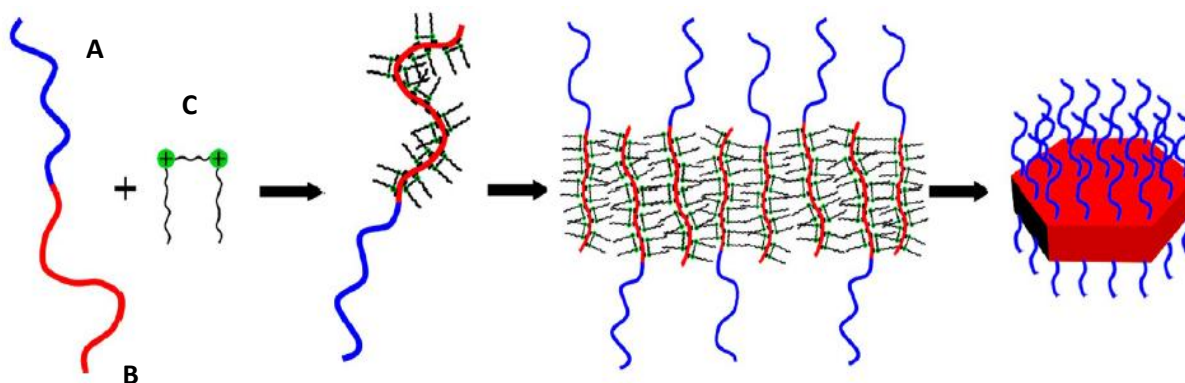
Dimerické surfaktanty tvoří po dosažení CMC micelární struktury. CMC dimerických surfaktantů je podstatně nižší než jim odpovídající monomerní surfaktanty.²⁸ Ještě větší rozdíly CMC byly pozorovány u gemini surfaktantů s hydrofilním (flexibilním) můstkem.²⁹ Obecně platí, že čím delší mají surfaktanty se stejnou délkou můstku alkylový řetězec, tím nižší mají hodnotu CMC. CMC gemini surfaktantů se s rostoucí délkou hydrofobního (pevného) můstku snižuje, protože dochází k pronikání methylových skupin můstku do hydrofobního jádra micely.³⁰

V některých případech mají gemini surfaktanty dvě hodnoty CMC, první je následkem párování iontů hydrofilní hlavy a opačně nabitého iontu, tedy nedochází ke vzniku micel, ale menších agregátů. K micelizaci dochází až po dosažení druhé, vyšší hodnoty CMC.³¹ Délka můstku a také alkylového řetězce surfaktantu ovlivňuje také tvar micel. U jednoho typu surfaktantů se stejnou délkou alkylového řetězce, ale rozdílnou délkou můstku, byly pozorovány rozdíly ve tvaru micel, a to s rostoucí délkou můstku od protáhlých přes sférické až po vezikuly, u druhého zase od vezikul a protáhlých micel přes čistě protáhlé micely po sférické micely.³² U některých gemini surfaktantů dochází ke vzniku tzv. multivezikulární struktury.³³

2.2.6. Komplexy gemini surfaktantů s blokovými polyelektrolyty

Díky vlastnostem a širokému využití komplexů polyelektrolyt/surfaktant u monomerních surfaktantů byl zájem zaměřen na tvoření komplexů polyelektrolytů s novými gemini surfaktanty. Díky můstku, který má velký vliv na vlastnosti samotného surfaktantu, byly na rozdíl od komplexů klasických surfaktantů očekávány také rozdílné vlastnosti u komplexů s polyelektrolytem.

V případě zkoumání vlivu můstku na tvar nanočástic bylo zjištěno, že změnou délky můstku je možné docílit požadovaného tvaru nanočástice. Na Obr. 2.15. je zobrazeno navázání gemini surfaktantu na iontový blok polyelektrolytu poly(etylen oxid)-*b*-poly(glutamát sodný).³⁴ Hydrofilní hlavy surfaktantu jsou elektrostatičtými silami navázány na blok PGlu, řetězce surfaktantu jsou spojené hydrofobními interakcemi a tvoří jádro nanočástice. Povrch nanočástice pak tvoří řetězce PEO. Výběrem délky můstku je možné korigovat tvar a rozměr nanočástice, v případě Obr. 2.15. je výsledná nanočástice s hexagonální strukturou.



Obr. 2.15. Vznik nanočástice gemini surfaktantu s PEO-Glu; A – PEO, B – PGlu, C – gemini surfaktant

Při změně nábojového poměru surfaktant/polyelektrolyt (Z) dochází ke změnám elektrostatických interakcí mezi iontovým blokem a surfaktantem. Při nízkém poměru, resp. před dosažením nábojové neutralizace, jsou interakce elektrostaticky přitažlivé, u vyšších Z dochází k hydrofobním interakcím. Klíčové jsou ale hydrofilní segmenty polyelektrolytu a hydrofobní interakce řetězců surfaktantu, které rozhodují o konformaci polyelektrolytu ve vodném prostředí.³⁵

2.3. Rozptyl světla

Prochází-li světlo látkou, indukuje elektrické pole světelné vlny v molekulách oscilující dipólové momenty, které působí jako zdroje rozptýleného světelného záření. Rozptyl světla má v kapalinách v různých místech různou intenzitu díky fluktuacím polarizovatelnosti vyvolanými především koncentračními fluktuacemi. Mezi silně rozptylující patří roztoky koloidních částic, protože jejich velikost již není zanedbatelná proti vlnové délce světla. Intenzitu rozptýleného záření měříme v závislosti na velikosti rozptylového vektoru q , který je daný vztahem

$$q = \frac{4\pi n_0}{\lambda} \cdot \sin \frac{\theta}{2} \quad (1)$$

kde n_0 je index lomu rozpouštědla, λ je vlnová délka záření a θ je rozptylový úhel, tedy úhel mezi směrem primárního a rozptýleného paprsku.

Rozptyl světla je často používanou metodou zjišťování vlastností makromolekul v roztoku. Tato metoda se dělí na statický rozptyl světla (SLS – Static Light Scattering) a dynamický rozptyl světla (DLS – Dynamic Light Scattering).

2.3.1. Statický rozptyl světla (SLS)

Pomocí SLS je možné stanovit gyrační poloměr R_g , hmotově váženou molární hmotnost M_w a druhý viriální koeficient A_2 .

Metoda je založená na měření časově zprůměrované intenzity rozptýleného světla. Molární hmotnost se stanovuje měřením vzorku o různých koncentracích s použitím Rayleighovy rovnice, jež popisuje intenzitu světla rozptýleného částicemi v roztoku:

$$\frac{KC}{R_\theta} = \left(\frac{1}{M_w} + 2A_2C \right) P(\theta) \quad (2)$$

kde R_θ je Rayleighův poměr, tedy poměr rozptýleného světla a primárního paprsku, C je koncentrace rozptylující částice, $P(\theta)$ je úhlová závislost intenzity rozptylu vzorkem (částicový faktor), která v případě velmi malých částic v roztoku nabude hodnoty $P(\theta) = 1$, tudíž intenzita rozptylu nezávisí na úhlovém vektoru (1). Úhlová závislost je daná konstruktivní a destruktivní interferencí rozptýleného světla.

K z rovnice (2) představuje optickou konstantu definovanou vztahem

$$K = \frac{2\pi^2}{\lambda_0^4 N_A} \left(n_0 \frac{dn}{dc} \right)^2 \quad (3)$$

kde λ_0 je vlnová délka laseru, N_A Avogadrova konstanta a $\frac{dn}{dc}$ je inkrement indexu lomu. Jde o změnu indexu lomu v závislosti na změně koncentrace rozptylujících částic. Tento přírůstek je možné změřit s použitím refraktometru.

Standardním postupem pro měření molární hmotnosti je změření intenzity analyzovaného vzorku k intenzitě standardní kapaliny se známým Rayleighovým poměrem. Nejběžnější standard je toluen. Pro výpočet Rayleighova poměru vzorku se používá vztah:

$$R_\theta = \frac{I_A n_0^2}{I_T n_T^2} R_T \quad (4)$$

kde I_A je intenzita rozptylu analyzovaného vzorku, I_T je intenzita rozptylu toluenu, n_T index lomu toluenu a R_T Rayleighův poměr toluenu.

Pro závislost Rayleighova poměru na velikosti rozptylového vektoru q (1) a koncentraci částic c platí Zimmova rovnice.³⁶

$$\frac{KC}{R_\theta} = \frac{1}{M_w} \left(1 + \frac{1}{3} R_g^2 q^2 \right) + 2A_2 C \quad (5)$$

Pro větší částice ($R_g > 50$ nm) je více vyhovující Berryho rovnice.

$$\sqrt{\frac{KC}{R_\theta}} = \sqrt{\frac{1}{M_w} \left(1 + \frac{1}{6} R_g^2 q^2 \right) + 2A_2 C} \quad (6)$$

2.3.2. Dynamický rozptyl světla

Díky hustotním, teplotním nebo koncentračním fluktuacím částic vzorku dochází k náhodné oscilaci okamžité časové intenzity rozptýleného záření $i(q, t)$ kolem časové střední hodnoty $I(q)$. Tyto fluktuace souvisí s interferenčním zeslabováním a zesilováním

světla rozptýleného na částicích podléhajících Brownovu pohybu. Výsledkem měření je normalizována autokorelační funkce intenzity $g_2(q, \tau)$ daná vztahem³⁷

$$g_2(q, \tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{\int_0^T i(q, t) i(q, t + \tau) dt}{\int_0^T i^2(t) dt} \quad (7)$$

Hodnota této funkce popisuje průměrnou míru korelace mezi velikostmi fluktuací oddělených od sebe časovým intervalem τ . Čím více se fluktuace intenzity rozptýleného záření mění, tím rychleji s časem klesá autokorelační funkce (7). Pro monodisperzní systém má autokorelační funkce tvar³⁸

$$g_2(q, \tau) = e^{-\frac{\tau}{\tau_c}} \quad (8)$$

kde τ_c je relaxační čas, který je charakterizován jako doba potřebná k návratu fluktuace k průměrné hodnotě intenzity rozptýleného světla. Hodnota relaxačního času úzce souvisí s difúzním koeficientem rozptylujících částic D podle vztahu

$$\tau_c = \frac{1}{Dq^2} \quad (9)$$

Z hodnot difúzních koeficientů extrapolovaných na nulový úhel je možné získat hodnoty hydrodynamického poloměru R_H pomocí Einsteinova-Stokesova vztahu

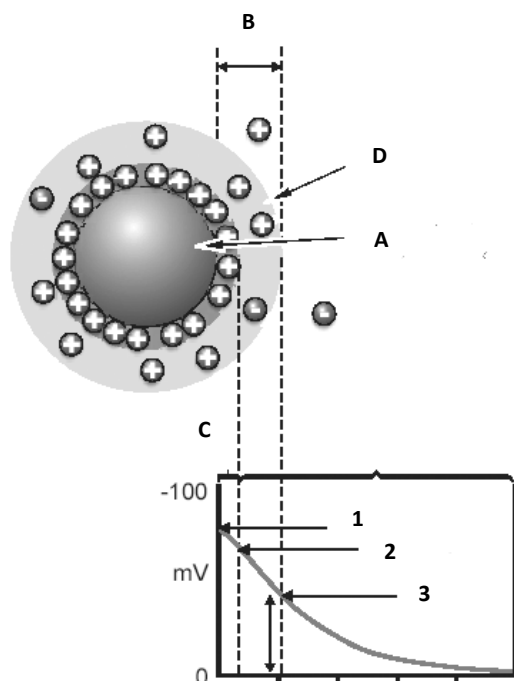
$$R_H = \frac{k_B T}{6\pi\eta_0 D} \quad (10)$$

kde k_B je Boltzmannova konstanta, T teplota a η_0 viskozita rozpouštědla.

2.4. Zeta potenciál

Zeta potenciál (také ζ -potenciál) je výraz pro elektrokinetický potenciál v koloidních disperzních systémech. Přítomnost povrchového náboje ovlivňuje distribuci iontů v okolí částice, což vede ke zvýšení koncentrace opačně nabitých iontů těsně u povrchu, tedy k vytvoření elektrické dvouvrstvy kolem částice (Obr. 2.16.)³⁹. Vnitřní oblast, nazývaná Sternova vrstva, obsahuje ionty silně vázané na povrch částice, a vnější oblast, tzv. difúzní vrstva, obsahuje ionty slaběji vázané k povrchu. Uvnitř difúzní vrstvy existuje hranice, při které ionty a částice tvoří stabilní útvar, tzn. v případě pohybu částice

ionty uvnitř této hranice putují společně s částicí, ionty za hranicí už nikoli. A právě potenciál na této hranici (rovina skluzu) odpovídá ζ -potenciálu.



Obr. 2.16. Zobrazení vrstev iontů kolem částice: A – částice se záporným povrchovým nábojem, B – elektrická dvouvrstva, C – Sternova vrstva, D – rovina skluzu. Potenciály povrchový (1), Sternův (2) a zeta
Vzdálenost od povrchu částice

Velikost ζ -potenciálu udává potenciální stabilitu koloidního systému. Faktory ovlivňující hodnoty ζ -potenciálu jsou především pH, iontová síla roztoku atd. Obecně dělicí hodnoty potenciálu mezi stabilním a nestabilním systémem jsou +30 mV a -30 mV. Částice s ζ -potenciálem nad +30 mV nebo pod -30 mV jsou považovány za stabilní.

Nabitě částice vykazují pod vlivem elektrického pole tzv. elektrokinetické efekty. Jedná se o elektroforézu a elektroosmózu. V případě elektroosmózy je ve vnějším elektrickém poli pozorován pohyb kapaliny vzhledem ke stacionárnímu nabitému povrchu. Při elektroforéze se částice vystavené vnějšímu elektrickému poli pohybují vzhledem ke kapalině, ve které jsou suspendovány. Částice se pohybují směrem k elektrodě s opačným nábojem. Rychlost pohybu částice je závislá na síle elektrického pole, dielektrické konstantě ϵ a viskozitě η rozpouštědla a ζ -potenciálu.

Tato závislost rychlosti částice v elektrickém poli, nazývané elektroforetická pohyblivost U_E , je vyjádřena pomocí Henryho rovnice:

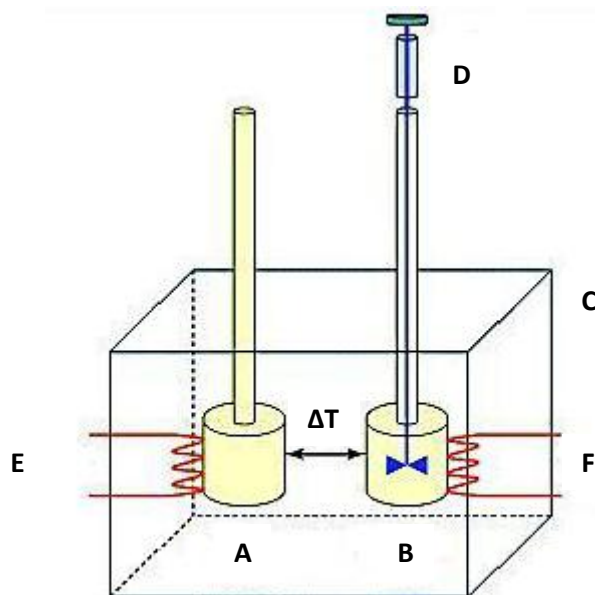
$$U_E = \frac{2\varepsilon \zeta f(ka)}{3\eta} \quad (11)$$

kde $f(ka)$ je Henryho funkce. Pro nízké koncentrace elektrolytu ve vodném prostředí se obvykle používá Smoluchowského aproximace, tj. $f(ka) = 1.5$.

2.5. Izotermální titrační kalorimetrie

Izotermální titrační kalorimetrie (ITC – Isothermal Titration Calorimetry) je často používanou metodou zkoumání průběhu procesů asociace amfifilních sloučenin v roztoku. Tato metoda je využívána ke stanovení CMC a entalpii tvorby micel, agregaci v přítomnosti polymeru nebo interakci s ostatními agregáty. Obecně je princip ITC založen na měření tepla, které je generováno, příp. absorbováno v průběhu interakce mezi dvěma molekulami⁴⁰.

Jak plyne z názvu, ITC experimenty jsou prováděny za konstantní teploty. Kalorimetrie jsou obvykle vysoce citlivé na malé změny teplotních efektů. Kalorimetr (Obr. 2.17.)⁴¹ se skládá ze dvou cel – první je měřicí, druhá referenční. Je vyrobený z účinně tepelně vodivého materiálu, který je na povrchu krytý adiabatickým obalem. Polymer v měřicí cele je titrován surfaktantem ze stříkačky. Teplotní rozdíl mezi referenční a měřicí celou je monitorován a posléze je teplota obou cel vyrovnána zpětnou vazbou.



Obr. 2.17. ITC kalorimetr. A – referenční cela, B – měřící cela, C – adiabatický obal, D – stříkačka, E – obvod napojený na referenční celu, na kterou je dodávána konstantní energie, F – obvod napojený na měřící celu, kde je monitorován ΔT a zpětnou vazbou vyrovnány teploty obou cel

2.6. Kryo-transmisní elektronová mikroskopie

Kryo-transmisní elektronová mikroskopie (cryo-TEM – Transmission Cryo-Electron Microscopy) je technika používaná při vizualizaci částic ve vzorku a studiu jejich velikosti, tvaru nebo vnitřní struktury. Při cryo-TEM je vzorek, po prudkém zmražení, přímo vizualizovaný v zamrzlém hydratovaném stavu, který je velmi podobný stavu vzorku za běžných podmínek. Příprava vzorku na měření spočívá v tom, že malá mřížka vyrobená z mědi, případně pokrytá vrstvou uhlíku, se vloží do držáku, který je v komoře systému na zmražení vzorku, a pipetou se na ni nanese vzorek. Nadbytek vzorku se rychle a opatrně odstraní filtračním papírem. Vzorek vytvoří na otvorech v mřížce a uhlíkové membráně tenký film. Následně je mřížka okamžitě ponořena do mrazicí kapaliny (nejčastěji tekutý ethan ochlazený na teplotu tekutého dusíku). Aby se předešlo krystalizaci vody, je potřebné používat co nejvíce ochlazenou kapalinu. Nadbytek chladicí kapaliny je odstraněn filtračním papírem a mřížka je rychle přesunuta do tekutého dusíku a vložena do držáku, který je neustále chlazený. Držák se vzorkem je následně rychle vložen do elektronového mikroskopu a měřen⁴².

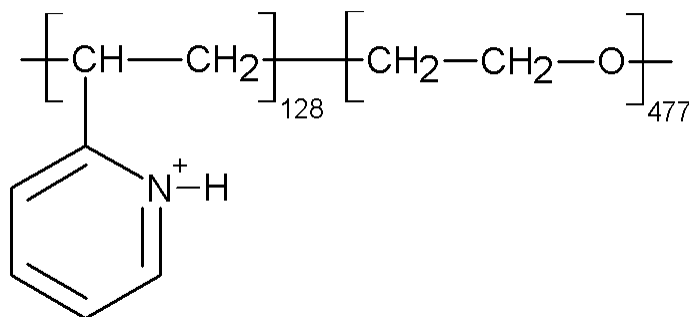
3. Materiál a metody

3.1. Chemikálie

Použitý blokový polyelektrolyt poly(2-vinylpyridín)-*b*-poly(ethylen oxid), označen jako P2VP-PEO, byl zakoupen od Polymer Source, Inc., Dorval, Quebec, Kanada. Jeho charakterizace je v Tab. 3.1., struktura na Obr. 3.1.

Tab. 3.1. Charakterizace blokového polyelektrolytu

Označení	M_n	M_w/M_n
P2VP-PEO	P2VP (13500) - PEO (21000)	1.1

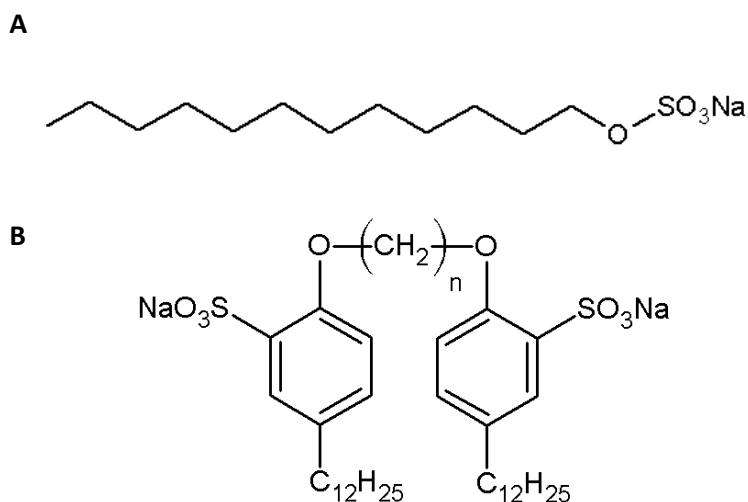


Obr. 3.1. Struktura P2VP-PEO v kyselém prostředí. Dolní indexy udávají stupeň polymerizace, pro P2VP je to 128, pro PEO 477

Byly použité čtyři druhy surfaktantů: dodecylsulfát sodný, označený jako SDS, a tři dimerické surfaktanty, 6,6'-(ethan-1,2-diylbis(oxy)) bis(3-dodecylbenzensulfonová kyselina), označená jako G110, 6,6'-(butan-1,4-diylbis(oxy)) bis(3-dodecylbenzensulfonová kyselina), označená jako G111 a 6,6'-(hexan-1,6-diylbis(oxy)) bis(3-dodecylbenzensulfonová kyselina), označená jako G112. SDS byl zakoupen od firmy Sigma Aldrich Co. LLC. Vzorky gemini surfaktantů byly připravené Dr. Zofia Hordyjewicz-Baran (Institute of Heavy Organic Synthesis "Blachownia", Kędzierzyn-Koźle, Polsko). Jejich charakterizace je v Tab. 3.2., struktury na Obr. 3.2. Hodnoty CMC byly zjištěny Dr. Zofia Hordyjewicz-Baran pomocí měření povrchového napětí, viskozity a hustoty.

Tab. 3.2. Charakterizace surfaktantů

Označení	M_w ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)	CMC (mM)
SDS	288.38	8.3
G110	754.99	0.19
G111	783.04	0.14
G112	811.09	0.05



Obr. 3.2. Struktura A - SDS a B - gemini surfaktantu, kde $n = 2, 4$ a 6 pro G110, G111 a G112

Byly připravené zásobní roztoky 1g/l P2VP-PEO v 0.1M HCl, 0.1M SDS v 0.1M HCl a zásobní roztoky třech gemini surfaktantů o koncentraci 25mM v 0.1M HCl. Z těchto zásobních roztoků byly následně připravené čtyři sady vzorků komplexů SDS, G110, G111 a G112 s P2VP-PEO v různých nábojových poměrech $Z = [\text{surfaktant}]/[\text{P2VP}]$. Množství kopolymeru bylo ve všech případech stejné, a to 1 ml.

3.2. Metody

Rozptyl světla

Statický a dynamický rozptyl světla byl měřen na aparatuře ALV, Langen, Německo. Přístroj je vybaven 22 mW He-Ne laserem o vlnové délce 632.8 nm, detektorem ALC High QE APD, goniometrem ALV CGS/8F a autokorelátorem ALV 5000/EPP. V ose goniometru je umístěná lázeň obsahující toluen, do které se umísťuje cylindrická kvjeta

se vzorkem, očištěná od mastnoty a nečistot. Měření bylo provedeno v krocích po 5° pro úhly v intervalu od 30° do 150° při teplotě 25 °C.

Zeta potenciál

Měření ζ -potenciálu bylo provedeno na aparatuře Nano-ZS zetasizer (Malvern Instruments, U.K.) při teplotě 25 °C. Hodnoty ζ -potenciálu byly vypočítané z elektroforetické pohyblivosti (průměr z 5 měření pro každý vzorek) použitím Henryho rovnice a Smoluchowského aproximace.

Izotermální titrační kalorimetrie

Metoda izotermální titrační kalorimetrie byla provedena na přístroji Nano ITC isothermal titration calorimeter (TA Instruments-Waters LLC, New Castle, DE). Měření byla prováděna při teplotě 25 °C.

Kryo-transmisní elektronová mikroskopie

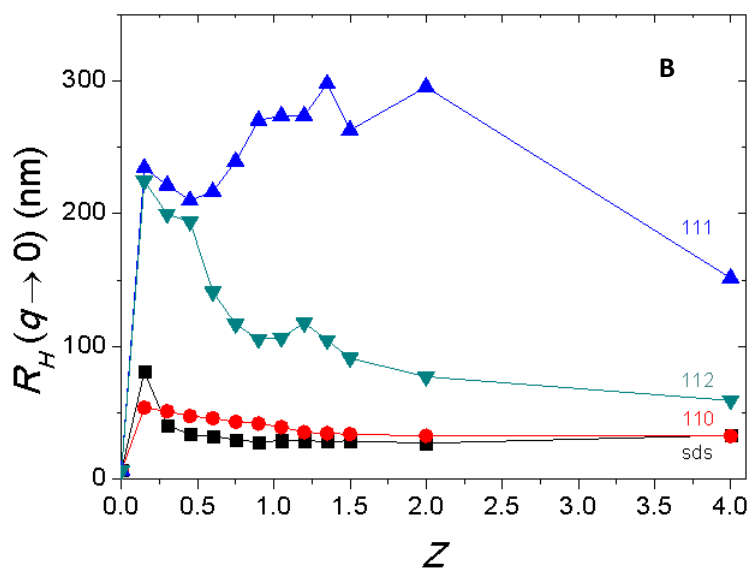
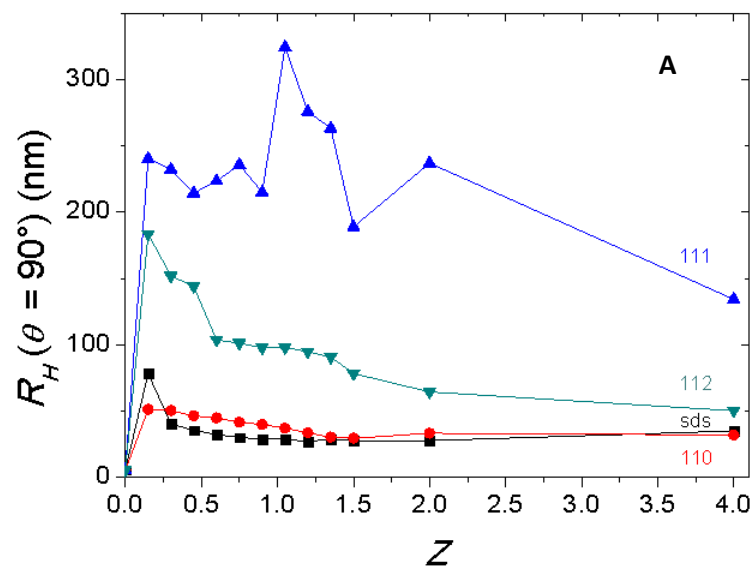
Kryo-transmisní elektronovou mikroskopií byly vizualizovány tvary agregátů ve vzorku. Vzorek byl nanesen na mřížku pokrytou uhlíkem (C-flat, 2/2-2C, Electron Microscopy Science). Nadbytek vzorku byl odstraněn filtračním papírem (Whatman no. 1) a následně byla mřížka ponořena do tekutého ethanu při -183 °C. Vzorek byl přenesen do Tecnai Sphera G20 elektronového mikroskopu s použitím držáku Gatan 626. Obrázky byly pořízeny kamerou Gatan UltraScan 1000 slow scan CCD. Měření provedl Ing. Lubomír Kováčik, Ph.D. z Ústavu buněčné biologie a patologie, 1. Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

4. Výsledky a diskuse

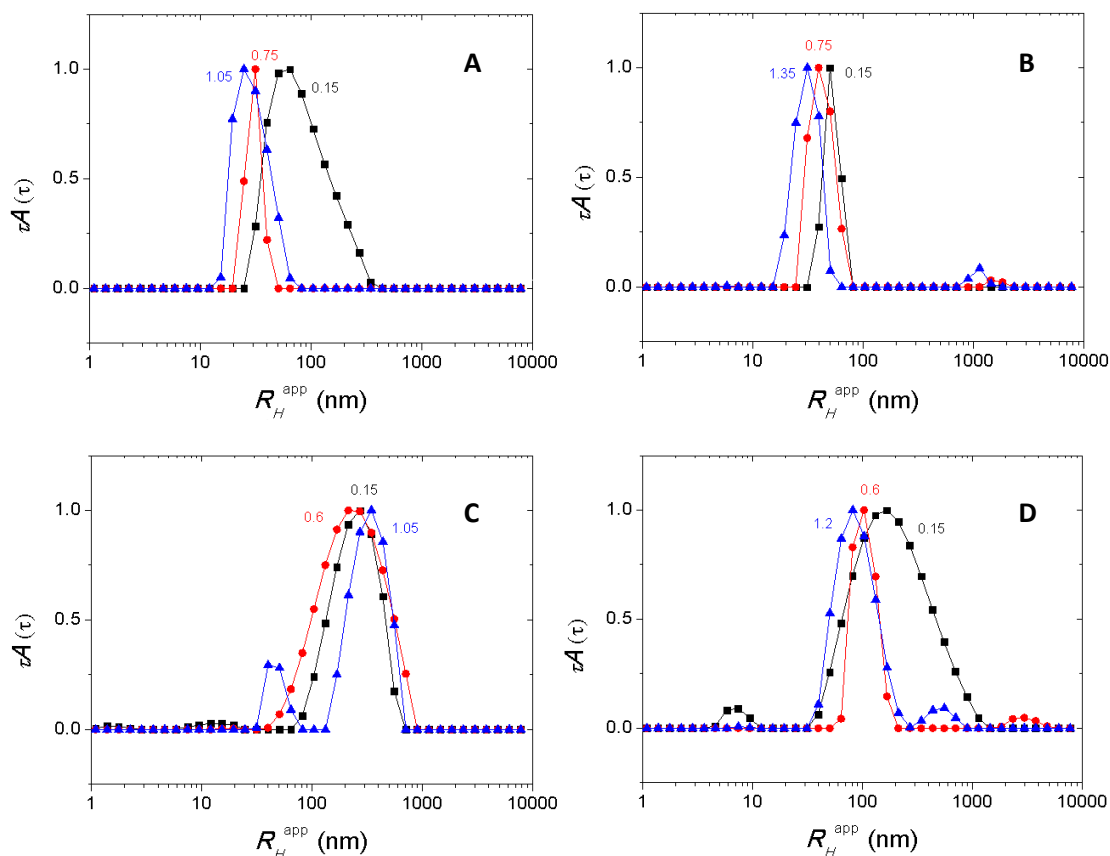
4.1. Charakterizace částic pomocí rozptylu světla

Chování komplexů blokový polyelektrolyt/surfaktant připravených ve vodných roztocích bylo studováno pomocí metod statického a dynamického rozptylu světla. Z měření dynamického rozptylu byly získány hodnoty hydrodynamického poloměru R_H pro různá Z (Obr. 4.1.) pro komplexy 0.1M SDS, 25mM G110, 25 mM G111 a 25mM G112 v 1 ml 1 g/l P2VP-PEO. Zobrazeny jsou výsledky hodnot R_H naměřených při úhlu 90° a údajů získaných extrapolací na nulový úhel. Při porovnání Obr. 4.1. A a B je zřejmé, že oba typy závislostí jsou značně podobné. Zásobní roztoky surfaktantů měly všechny koncentraci nad CMC, tudíž se k polyelektrolytu přidávaly ve formě micel. V obou případech dochází po přidání nejmenšího přídávku surfaktantu ($Z = 0.15$), jak u monomerního SDS, tak u gemini surfaktantů, k okamžitému nárůstu R_H , který se následně s každým dalším přídávkem surfaktantu zmenšuje. Prudký nárůst při nízkých koncentracích surfaktantu se u částic vyskytuje proto, že dlouhý PEO blok polyelektrolytu stabilizuje nanočástice již při nízkých koncentracích. Podle očekávání je tento trend způsoben postupnou asociací polyelektrolytu se surfaktantem a následným sbalením komplexu do agregátu. R_H gemini surfaktantů je větší než u SDS vlivem hydrofobního můstku v molekulové struktuře. Předpokladem bylo zvětšování R_H u komplexů s gemini surfaktanty s narůstající délkou můstku. Tenhle předpoklad byl splněn, výjimku tvoří komplex P2VP-PEO/G111.

Obr. 4.2. ukazuje distribuci zdánlivých hydrodynamických poloměrů naměřených metodou DLS při úhlu $\theta = 90^\circ$ pro vybrané hodnoty Z komplexů všech surfaktantů s polyelektrolytem.



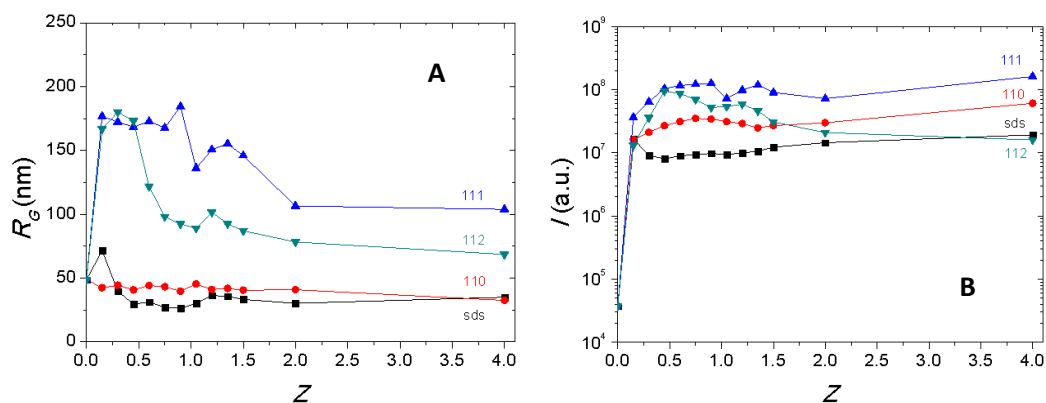
Obr. 4.1. Změna velikosti hydrodynamického poloměru v závislosti na změně poměru Z pro A – $R_H(\theta = 90^\circ)$ při 90° a B – $R_H(q \rightarrow 0)$ získané extrapolací



Obr. 4.2. DLS distribuce zdánlivých hydrodynamických poloměrů částic při úhlu $\theta = 90^\circ$, tvořených A – SDS, B – G110, C – G111, D – G112 v P2VP-PEO. Hodnoty jsou zobrazeny pro různá Z , které jsou označeny nad příslušnou křivkou

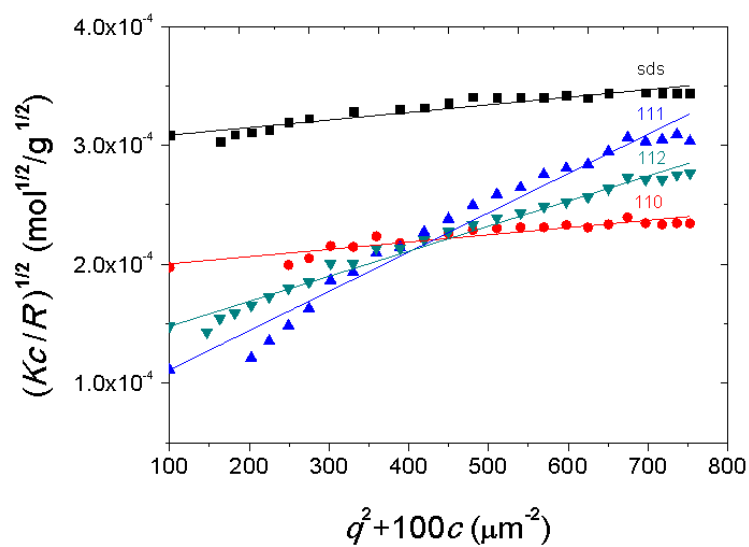
Ve všech případech, kromě částice P2VP-PEO/G111, bylo podle předpokladu pozorováno zmenšování hydrodynamického poloměru s rostoucím Z . Roztoky P2VP-PEO/SDS vytvářejí monodisperzní micely. Roztoky gemini surfaktantů tvoří, při určitých Z , polydisperzní micely. V případě roztoků P2VP-PEO/G111 a P2VP-PEO/G112 byly pozorovány i menší částice. Vzhledem k faktu, že menší částice rozptylují světlo podstatně méně než větší, je možné, že jejich množství není zanedbatelné.

Metodou SLS byly zjištěny hodnoty gyračního poloměru částic a jejich intenzit rozptýleného světla při úhlu $\theta = 90^\circ$ v závislosti na Z (Obr. 4.3.). Již při $Z = 0.15$ dochází k prudkému zvýšení hodnoty R_G v případě G111 a G112 s delším můstkem oproti SDS, což je způsobeno zvýšením agregačního čísla. U G110 není nárůst R_G pozorován. Rozdíl mezi SDS a G110 je malý, což je pravděpodobně zapříčiněno krátkým můstkem gemini surfaktantu. Následně pak hodnoty gyračních poloměrů nanočástic začínají klesat, protože při $Z = 0.15$, díky nízkému CAC, dochází k tvorbě micelárních agregátů. Prudký nárůst intenzity ve všech případech dokazuje zvýšení agregačního čísla již při nejnižším Z .



Obr. 4.3. A - Gyrační poloměr R_G a B – intenzita I rozptýleného světla měřená při úhlu $\theta = 90^\circ$ částic P2VP-PEO s příslušnými surfaktanty (popsané v grafu nad křivkou)

Z měření statického rozptylu světla byly Berryho metodou a extrapolací na nulový úhel získány zdánlivé molární hmotnosti M_w^{app} komplexů (Obr. 4.4.). Jejich hodnoty jsou zobrazeny v Tab. 4.1. Pro absolutní M_w by bylo potřebné znát hodnoty inkrementu indexu lomu, který se mění s každým přidavkem surfaktantu a několik koncentrací měřeného komplexu. M_w se následně získá extrapolací na nulový úhel a koncentraci.

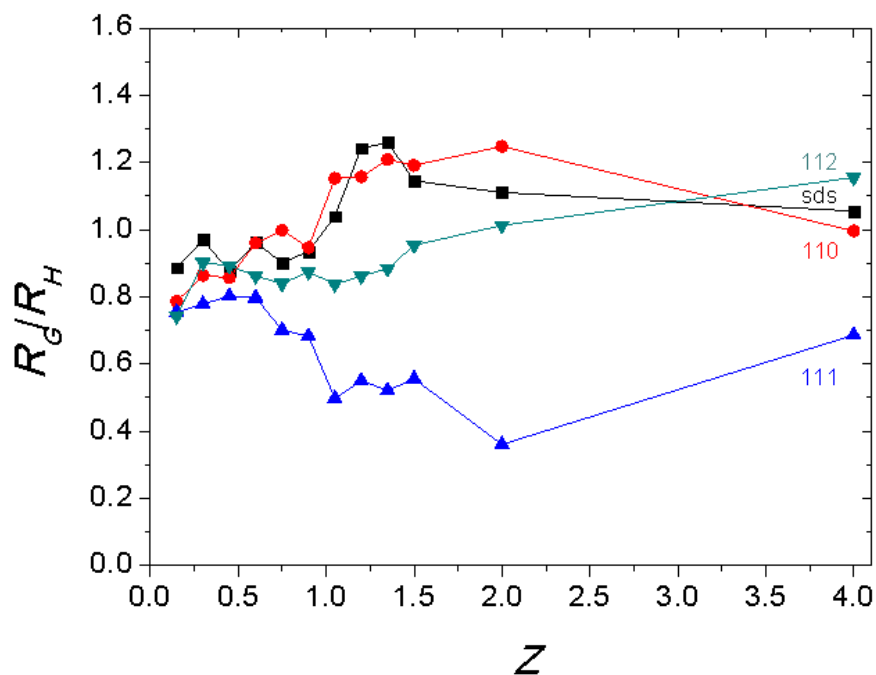


Obr. 4.4. Statický Berryho diagram pro komplexy P2VP-PEO s příslušnými surfaktanty při $Z = 1.35$. Extrapolací na nulový úhel byly získány zdánlivé molární hmotnosti všech komplexů.

Tab. 4.1. Zdánlivé molární hmotnosti komplexů P2VP-PEO s jednotlivými surfaktantami

Surfaktant	$(Kc/R)^{1/2}$ ($\text{mol}^{1/2} \cdot \text{g}^{-1/2}$)	$M_w^{\text{app}} \cdot 10^{-7}$ ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$)
SDS	$3.1 \cdot 10^{-4}$	1.1
G110	$2.0 \cdot 10^{-4}$	2.5
G111	$1.1 \cdot 10^{-4}$	8.1
G112	$1.5 \cdot 10^{-4}$	4.6

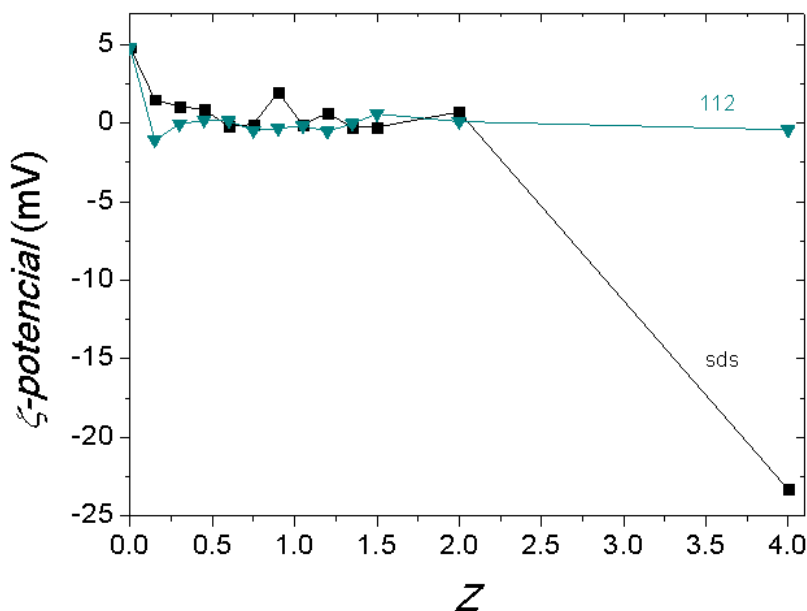
Poměr R_G/R_H , vyjadřující tvar agregátu, je znázorněn na Obr. 4.5. Při $Z = 0.15$ mají agregáty všech typů částic hodnotu R_G/R_H přibližně 0.8, což je typické pro kompaktní sférické částice. S dalším přidáním surfaktantu byl u komplexu s G111 pozorován pokles na 0.36. U ostatních komplexů byl pozorován nárůst těchto hodnot nad 1.0, zřejmě se vytvářely protáhlé micely nebo složitější agregáty. Při vysokých koncentracích přidaného surfaktantu došlo u částice P2VP-PEO/G110 k dosažení hodnoty $R_G/R_H = 1$, což naznačuje, že částice v roztoku by mohly být ve tvaru vezikul.



Obr. 4.5. Poměr R_G/R_H vyjadřující tvar nanočástic.

4.2. Charakterizace částic pomocí ζ -potenciálu

Měření ζ -potenciálu bylo provedeno pouze u komplexů P2VP-PEO/SDS a P2VP-PEO/G112. U čistých surfaktantů byly zjištěny hodnoty ζ -potenciálu -39.7 mV pro SDS a -39 mV pro G112, hodnota pro čistý P2VP-PEO byla 4.8 mV. Při prvním přidavku surfaktantu byl pozorován mírný pokles hodnot ζ -potenciálu jak u vzorku s SDS, tak u G112 (Obr. 4.6.). Po celou dobu měření se hodnoty u obou komplexů pohybovaly okolo nulové hodnoty. Nanočástice jsou přesto stabilní, protože komplexy jsou stabilizovány elektroneutrálním blokem PEO, který má polymerizační stupeň podstatně vyšší než P2VP blok. V případě komplexu s SDS došlo při vysoké koncentraci surfaktantu v roztoku ($Z = 4$) k výraznému poklesu ζ -potenciálu na hodnotu -23.3 mV. Důvodem je vznik micel surfaktantu, které již nepronikají dovnitř, ale zůstávají vně komplexu.

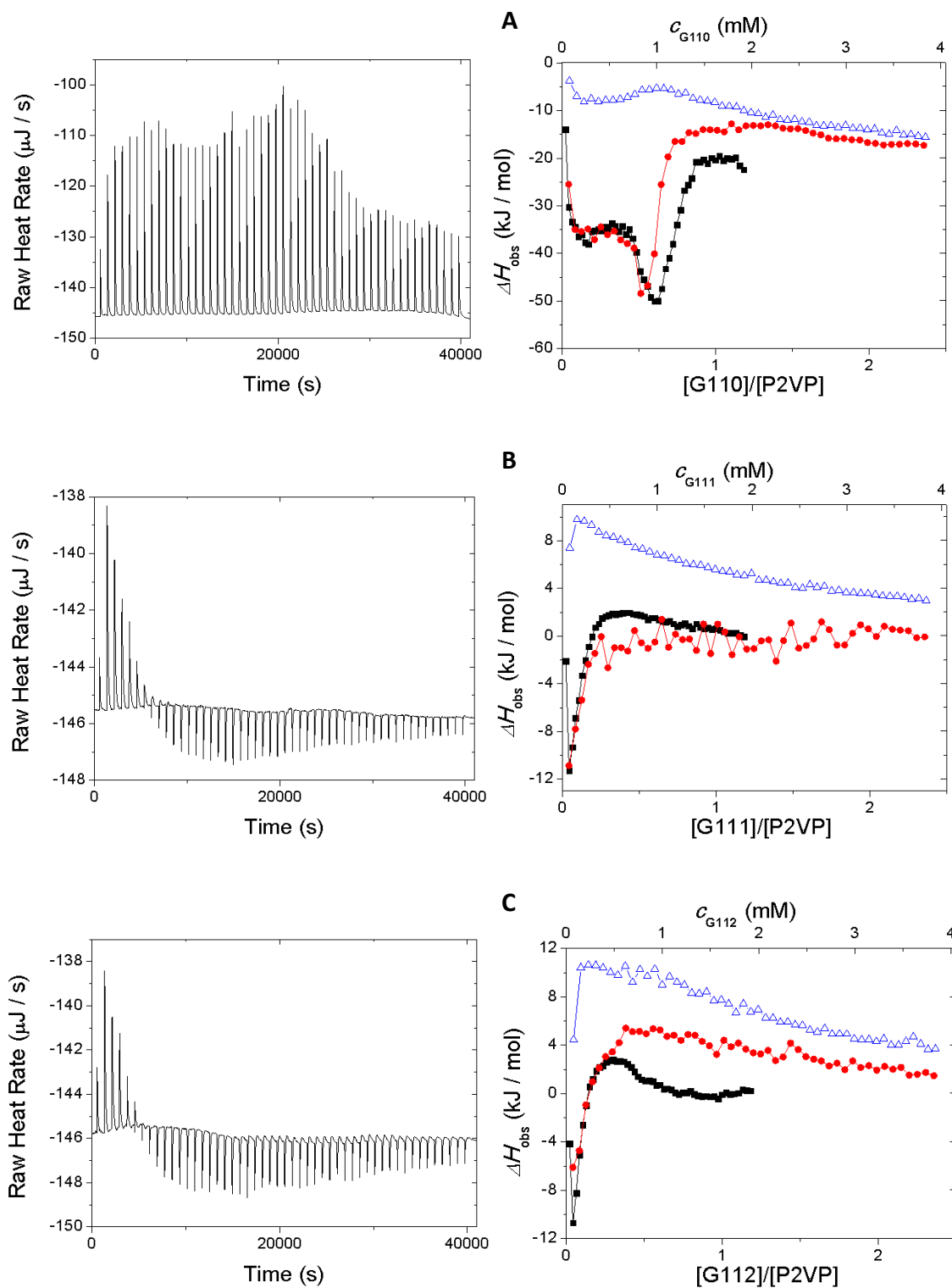


Obr. 4.6. Hodnoty ζ -potenciálu pro komplexy P2VP-PEO/SDS a P2VP-PEO/G112

4.3. Charakterizace částic pomocí izotermální titrační kalorimetrie

Metodou ITC byly naměřeny změny entalpie během interakce polymeru se surfaktantem, pomocí kterých je možné sledovat interakce při vzniku částic. Na Obr. 4.7. jsou zobrazeny průběhy tepelných toků během titrace (tzv. raw heat rate) z ITC experimentu pro vzorek 1 ml P2VP-PEO o koncentraci 1 g/l titrovaný 15mM G110, G111 a G112 a zdánlivé změny entalpie ΔH_{obs} při titraci 1 ml PVP-PEO o koncentraci 1 a 0.5 g/l

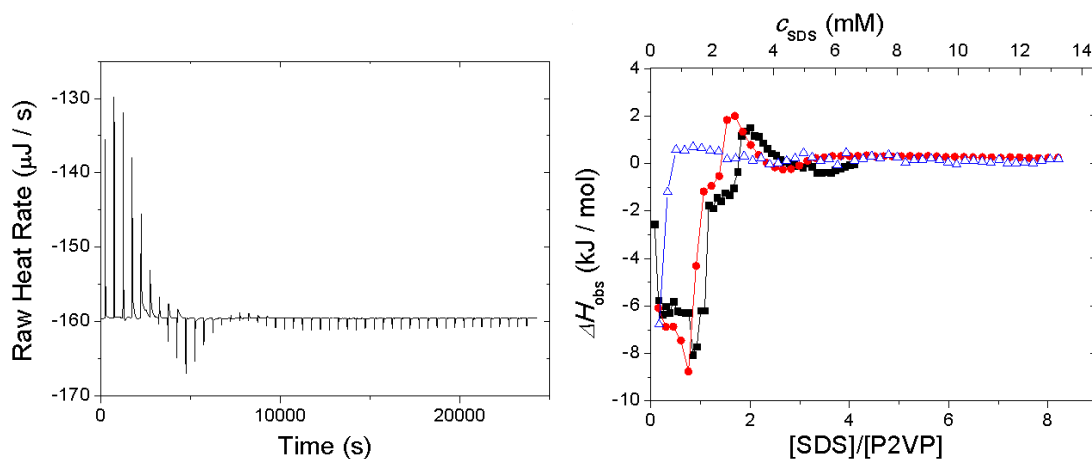
roztokem 250 μl 15mM gemini surfaktantů G110, G111 a G112. Tepelné toky při titraci P2VP-PEO roztokem SDS a ΔH_{obs} při titraci 200 μl 1g/l P2VP-PEO roztokem 50 μl 50mM a 100mM SDS jsou vyobrazeny na Obr. 4.8.



Obr. 4.7. Tepelné toky pro titraci roztoku 1 ml P2VP-PEO o koncentraci 1 g/l a zdánlivé změny entalpie ΔH_{obs} pro titraci roztoku 1 ml P2VP-PEO o koncentraci \bullet – 0.5 g/l, \blacksquare – 1 g/l a \triangle - titrace 1 ml 10mM HCl roztokem 15mM A – G110, B – G111 a C – G112.

Již při malých přídavcích surfaktantu dochází ve všech případech titrace 1 g/l P2VP-PEO k prudké exotermické reakci. P2VP-PEO o koncentraci 0.5 g/l vykazují podobné trendy. Prudký nárůst entalpie je zapříčiněn uvolněním protiiontů a navázáním jednotlivých molekul surfaktantu na polyelektrolyt. Po prudkém vzrůstu se v případě surfaktantů G111 a G112 hodnoty entalpie příliš nemění. Dochází zde ke vzniku stabilních komplexů, což potvrzují také výsledky získané z rozptylu světla. V případě surfaktantu G110 je průběh změn entalpie v závislosti na poměru koncentrace surfaktantu a polyelektrolytu odlišný. V průběhu titrace dochází ke dvěma prudkým exotermickým reakcím. První je u obou roztoků P2VP-PEO hned na začátku titrace. Ke druhé dochází v případě 0.5 g/l P2VP-PEO při poměru koncentrace surfaktantu G110 a bloků P2VP přibližně 0.4, v případě 1 g/l P2VP-PEO při poměru cca 0.5, což pro gemini surfaktanty představuje stav, kde se vykompenzuje náboj. Mezi těmito reakcemi jsou hodnoty ΔH_{obs} téměř konstantní. Pokles hodnot ΔH_{obs} je zapříčiněn vytvořením kompaktní „core-shell“ struktury (struktura s hydrofobním jádrem a hydrofilní slupkou) a disociací micel surfaktantu v roztoku, které se nepodílí na tvorbě komplexu, na unimery. Dalším přídavkem surfaktantu dochází k jeho micelizaci vně nanočástic, což má za následek nárůst ΔH_{obs} .

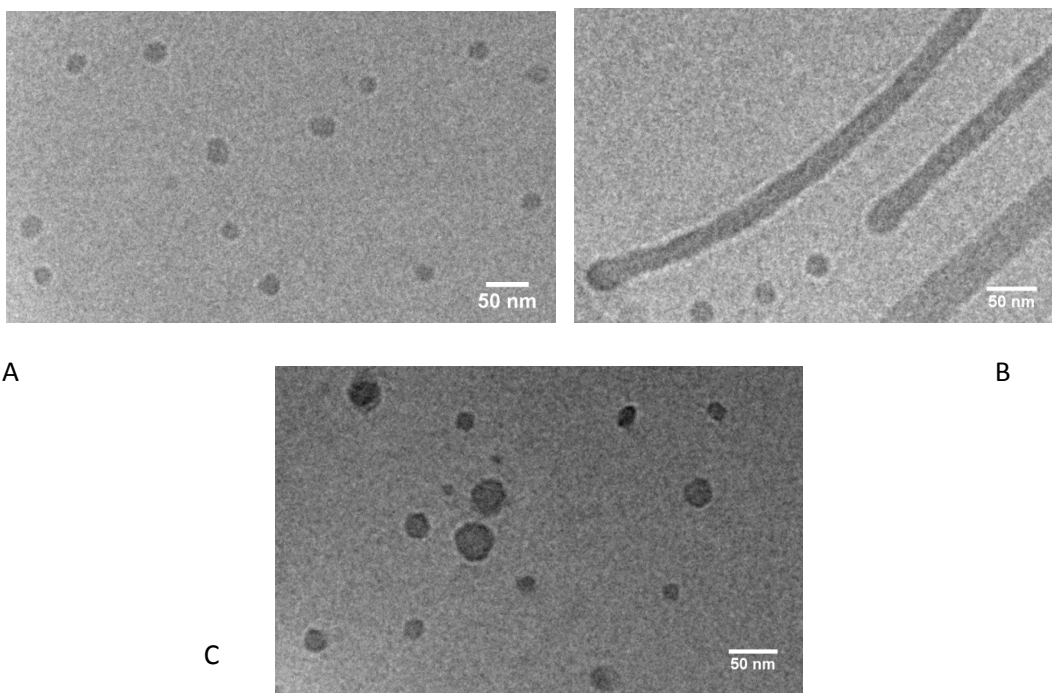
Tepelné toky při titraci P2VP-PEO roztokem SDS a ΔH_{obs} při titraci 200 μl 1g/l P2VP-PEO roztokem 50 μl 50mM a 100mM SDS na Obr. 4.7 zobrazují, že průběh titrace vykazuje jak exotermní, tak endotermní efekt. Při titraci roztoku bez polymeru je na začátku titrace viditelný nárůst ΔH_{obs} , což představuje vznik micel surfaktantu při nízkých koncentracích. Po celou dobu titrace se pak hodnoty ΔH_{obs} nemění – micely jsou stabilní. Při titraci roztoku P2VP-PEO dochází na začátku k prudké exotermické reakci, podobně jako u gemini surfaktantů. Průběh ΔH_{obs} je podobný křivce pro surfaktant G110. Na rozdíl od gemini surfaktantů tvoří P2VP-PEO s SDS stabilní částice při vyšším poměru Z (u SDS je to přibližně 1.1, u gemini menší než 0.5).



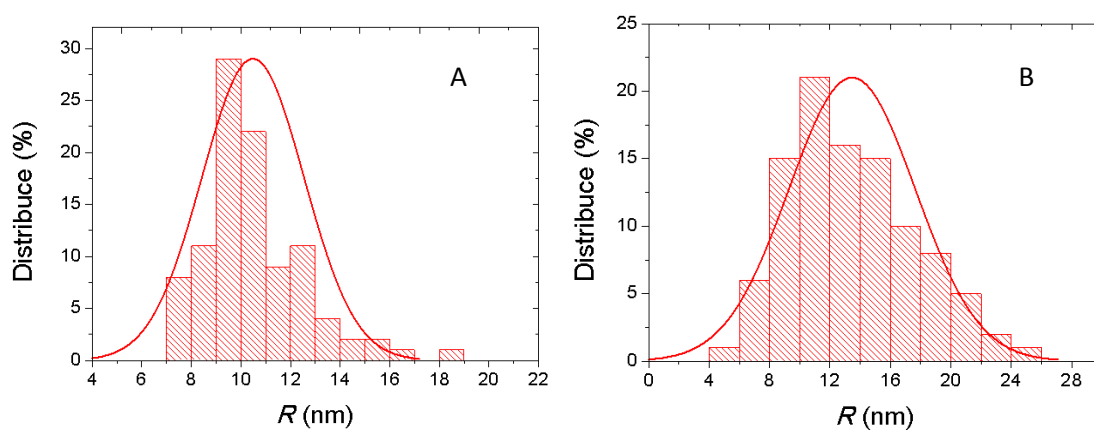
Obr. 4.8. Tepelné toky pro titraci roztoku 200 μl P2VP-PEO o koncentraci 1 g/l roztokem 50 μl 100mM SDS a ΔH_{obs} pro titraci roztoku 200 μl P2VP-PEO o koncentraci 1 g/l roztokem 50 μl SDS o koncentraci \bullet – 100mM, \blacksquare – 50mM a \triangle – titrace 1 ml 10mM HCl roztokem 50 μl 50mM SDS

4.4. Charakterizace částic pomocí kryo-transmisní elektronové mikroskopie

Metodou cryo-TEM byly získané snímky struktur připravených komplexů. Tato metoda byla provedena pouze pro komplexy P2VP-PEO a surfaktantů SDS a G110 při $Z = 1$. Analýza distribuce částic byla provedena na základě změřených průměrů částic ze snímků v programu ImageJ 1.49. Pro každý komplex bylo změřených sto částic. U obou komplexů došlo ke vzniku sférických částic (Obr. 4.9.), jak už bylo zmíněno v diskusi k Obr. 4.5. U komplexů s SDS došlo také ke vzniku dlouhých, tzv. „worm“ struktur. Tyto struktury pravděpodobně vznikly spojením sférických micel kvůli mobilitě SDS, jak je vidět na Obr. 4.9.B. Na Obr. 4.10. jsou znázorněny procentuální distribuce částic podle poloměru R , získaného ze snímků pořízených elektronovým mikroskopem. U částic s SDS nebyly protáhlé „worm“ struktury analyzovány. V případě částic tvořených SDS má největší počet částic ve vzorku poloměr přibližně 10 nm. V porovnání s částicemi tvořenými G110 mají tyto částice poloměr menší. U komplexů s G110 převládají částice s poloměrem cca 12 nm. Tento rozdíl mezi velikostmi byl popsán taktéž u Obr. 4.3. s R_G získanými ze statického rozptylu světla. Velikost poloměru částice, získaná metodou cryo-TEM, je obecně menší než R_G z rozptylu světla. Elektronovým mikroskopem je možné vidět pouze jádro struktury, které, na rozdíl od slupky, tvořené pouze PEO bloky, odráží více elektronů z primárního elektronového paprsku.



Obr. 4.9. Sférické částice komplexu P2VP-PEO s A – SDS a C – G110. B - prodloužené „worm“ struktury P2VP-PEO s SDS



Obr. 4.10. Procentuální distribuce částic komplexu P2VP-PEO s A – SDS a B – G110 podle poloměru R

5. Závěr

V předložené bakalářské práci byly připraveny nanočástice založené na interakci blokového polykationtu P2VP-PEO v kyselém prostředí s opačně nabitými gemini surfaktanty (G110, G111 a G112) a analogickým monomerním SDS. Morfologie a velikost takto připravených nanočástic byla studována pomocí rozptylu světla, zeta potenciálu a cryoTEM. Metoda ITC byla použita k popisu interakcí mezi jednotlivými složkami. Cílem práce bylo objasnit vliv délky můstku v molekule gemini surfaktantu na vzniklé nanočástice. Důležitým ukazatelem byla dále závislost struktury nanočástic na nábojovém poměru Z .

Bylo zjištěno, že velikost můstku má zásadní vliv na velikost nanočástic. Částice s gemini surfaktanty s delším můstkem jsou prokazatelně větší. Velikosti částic se surfaktanty SDS a G110 však byly podobné vzhledem ke krátkému můstku u G110. Všechny surfaktanty vytvářely s P2VP-PEO stabilní sférické (u SDS také prodloužené – viz cryoTEM snímky) micely se strukturou „core-shell“. Hodnoty ζ -potenciálu se pohybovaly kolem 0, což prokazuje stabilizační efekt neutrálního PEO bloku, v micelární slupce.

Výsledky ITC naznačují, že interakce mezi polyelektrolytem a surfaktanty a mechanismus vzniku komplexních nanostruktur je u G110 a SDS prakticky podobný. Rozdíly pro gemini surfaktanty s delším můstkem jsou způsobeny výrazným hydrofobním efektem. Z termogramů lze dále určit, při kterých hodnotách Z dochází ke strukturním změnám.

Literatura

1. Riess, G., *Micellization of block copolymers*, Progress in Polymer science, 28, **2003**, str. 1107 – 1170
2. Munk, P., *Equilibrium and nonequilibrium polymer micelles*, In: Webber SE, Munk, P., Tuzar Z., editors. *Solvents and selforganization of polymer*. NATO ASI series, serie E: applied sciences, vol. 327. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher; 1996. p. 19–32.
3. Nicolai, T.; Colombani, O.; Chassenieux, Ch., *Soft Matter*, **2010**, 6, 3111 – 3118
4. Jacquin, M.; Muller, P.; Cottet, H.; Crooks, R.; Théodoly, O., *Langmuir* **2007**, 23, 9939 – 9948
5. http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/gyracni_polomer.html
6. http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/hydrodynamicky_polomer.html
7. André, X.; Zhang, M.; Müller, A. H. E., *Macromolecular Rapid Communications*, **2005**, 26, 558 – 563
8. Wang, H. B.; Chen, X. S.; Pan, C. Y., *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, **2008**, 46, 1388 – 1401
9. Kohori, F.; Sakai, K.; Aoyagi, T.; Yokoyama, M.; Sakurai, Y.; Okano, T., *Journal of Controlled Release*, **1998**, 55, 87 – 98
10. Pelton, R., *Journal of Colloid and Interface Science*, **2010**, 348, 673 – 674
11. Chung, J. E.; Yokoyama, M.; Yamato, M.; Aoyagi, T.; Sakurai, Y.; Okano, T., *Journal of Controlled Release*, **1999**, 62, 115 – 127
12. Adams, N.; Schubert, U. S., *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2007**, 59, 1504 – 1520
13. Schmaljohann, D., *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2006**, 58, 1655 – 1670
14. Waschinski, Ch. J.; Tiller, J. C., *Biomacromolecules*, **2005**, 6, 235 – 243
15. Holmberg, K.; Jönsson, B.; Kronberg, B.; Lindman, B., *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, John Wiley & Sons, **2002**
16. Pouchlý, J., *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha **2008**
17. Goddard, E. D., *Colloids and Surfaces*, **1986**, 19, 255 – 300
18. Langevin, D., *Advances in Colloid and Interface Science*, **2009**, 147 – 148, 170 – 177
19. Uchman, M.; Štěpánek, M.; Prévost, S.; Angelov, B.; Bednár, J.; Appavou, M. S.; Gradzielski, M.; Procházka, K. *Macromolecules* **2012**, 45, 6471 – 6480
20. Uchman, M.; Gradzielski, M.; Angelov, B.; Tošner, Z.; Oh, J.; Chang, T.; Štěpánek, M.; Procházka, K., *Macromolecules*, **2013**, 46, 2172 – 2181

21. Bronich, T. K.; Popov, A. M.; Eisenbeg, A.; Kabanov, V. A.; Kabanov, A. V. *Langmuir* **2000**, *16*, 481
22. Pispas, S. *Soft Matter*, **2011**, *7*, 474 – 482
23. Pispas, S. *Soft Matter*, **2011**, *7*, 8697 – 8701
24. Kabanov, A. V.; Bronich, T. K.; Kabanov, V. A.; Yu, K.; Eisenberg, A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 9941 – 9942
25. Berret, J. F.; Vigolo, B.; Eng, R.; Hervé, P., *Macromolecules*, **2004**, *37*, 4922 – 4930
26. El Achouri, M.; Infante, M. R.; Izquiedro, F.; Kertit, S.; Goultaya, H. M.; Nciri, B., *Corrosion Science*, **2001**, *43*, 19 – 35
27. Yang, J.; Xie, J.; Chen, G.; Chen, X., *Langmuir*, **2009**, *25(11)*, 6100 – 6105
28. Menger, F. M.; Littau, C. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 10083 – 10090
29. Song, L. D.; Rosen, M. J., *Langmuir*, **1996**, *12*, 1149 – 1153
30. Zana, R.; Benrraou, M.; Rueff, R., *Langmuir*, **1991**, *7*, 1072 – 1075
31. Frindi, M.; Michels, B.; Levy, H.; Zana, R., *Langmuir*, **1994**, *10*, 1140 – 1145
32. Danino, D.; Talmon, Y.; Zana, R., *Langmuir*, **1995**, *11*, 1448 – 1456
33. Hordyjewicz-Baran, Z.; Woch, J.; Kuliszewska, E.; Zimoch, J.; Libera, M.; Dworak, A.; Trzebicka, B., *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **2015**, doi:10.1016/j.colsurfa.2015.08.012
34. Han, Y.; Wang, W.; Tang, Y.; Zhang, S.; Li, Z.; Wang, Y., *Langmuir*, **2013**, *29*, 9316 – 9323
35. Kang, H.; Peng, B.; Liang, Y.; Han, X.; Liu, H., *Journal of Colloid and Interface Science*, **2009**, *333*, 135 – 140
36. Kratochvíl, P., *Classical Light Scattering from Polymer Solutions*, *Polymer Science Library 5*, Jenkinns, A. D., Elsevier, Amsterdam, **1987**
37. Berne, B.; Pecora, R., *Dynamic Light Scattering*, J. Wiley Interscience: New York, **1976**
38. Ševčíková, P.; Kašpárková, V.; Krejčí, J.; Vltavská, P., *Chemické Listy*, **2014**, *108*, 479 – 482
39. <http://www.xray.cz/kfkl-osa/eng/zetasizer/zeta.htm>
40. Olofsson, G.; Loh, W., *J. Braz. Chem. Soc.*, **2009**, *20*, 577 – 593
41. Nunez, S.; Venhorst, J.; Kruse, C. G., *Drug Discov. Today*, **2012**, *17*, 10 – 22
42. Kuntsche, J.; Horst, J. C.; Bunjes, H., *International Journal of Pharmaceutics*, **2011**, *417*, 120 – 137