

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**

**Přírodovědecká fakulta**

**Katedra fyzikální a makromolekulární chemie**

**Micelizace gradientového kopolymeru  
poly(akrylová kyselina)-*b*-poly(akrylová kyselina-*grad*-  
styren) ve vodných roztocích**

**Diplomová práce**

**Jana Dytrtová**

(Klinická a toxikologická analýza)

Praha 2007

Vedoucí a školitel diplomové práce: RNDr. Miroslav Štěpánek, PhD

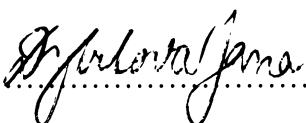
Ráda bych poděkovala školiteli RNDr. Miroslavu Štěpánkovi PhD.  
za odborné vedení, konzultace a pomoc při sepisování práce.

Tato práce byla vypracována během školních let 2005/2007 na katedře fyzikální a makromolekulární chemie PŘF UK v Praze.

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele RNDr. Miroslava Štěpánka, PhD., a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Universitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této university.

V Praze dne 22.4.2007

  
.....

# OBSAH

1. Úvod.....	5
2. Blokové a gradientové kopolymery.....	6
2.1 Amfifilní blokové kopolymery .....	7
2.2 Gradientové kopolymery .....	10
3. Použité metody.....	11
3.1 Rozptyl světla v roztocích polymeru.....	11
3.1.1 Statický rozptyl světla.....	11
3.1.2 Dynamický rozptyl světla.....	13
3.2 Fluorescenční měření.....	15
4. Cíl práce.....	17
5. Materiál .....	18
5.1 Chemikálie.....	18
5.2 Roztoky.....	18
5.3 Příprava vzorků.....	19
5.4 Metody.....	20
5.4.1 Rozptyl světla.....	20
5.4.2 Měření stacionární fluorescence.....	20
5.4.3 Měření vyhasínání fluorescence.....	20
5.4.4 Měření pH.....	21
6. Výsledky a diskuse.....	22
6.1 Příprava v zorků kopolymerů.....	22
6.2 Rozptyl světla.....	22
6.2.1 Určení molekulové hmotnosti.....	22
6.2.2 Závislost molekulové hmotnosti na změně pH.....	25
6.2.3 Autokorelační funkce obou kopolymerů.....	26
6.2.4 Distribuční funkce relaxačních časů.....	26
6.2.5 Závislost $R_h$ na změně pH .....	27
6.3 Fluorescenční měření.....	28
6.3.1 Měření závislosti intenzity fluorescence DAF na změně pH....	29
6.3.2 Měření emisních spekter pyrenu.....	31

<b>6.3.3 Měření doby života DAF.....</b>	<b>33</b>
<b>6.3.4 Zhášení fluorescence DAF pomocí NaI.....</b>	<b>34</b>
<b>7. Závěr.....</b>	<b>37</b>
<b>8. Literatura.....</b>	<b>38</b>
<b>9. Seznam zkratek a veličin.....</b>	<b>40</b>
<b>10. Klíčová a předmětová slova.....</b>	<b>41</b>

# 1. Úvod

V živé přírodě se téměř veškeré děje odehrávají ve specializovaných systémech a strukturách. Snahou člověka bylo již odedávna přírodu pochopit a porozumět jí, a to proto, aby ji mohl sám ovlivňovat a využívat pro své potřeby. Studium přírody jako celku je velmi náročné a nesnadné, z tohoto důvodu se jako ideální pro pochopení a následné ovlivnění přírodních systémů jevílo studium jednoduchých uspořádaných systémů. Mezi takto definované systémy lze zařadit i micely, které vznikají asociací makromolekul blokových kopolymerů v selektivních rozpouštědlech, tj rozpouštědlech právě jednoho z bloků.

Řetězce tvořící micelu jsou vždy charakteristicky orientovány, jejich nerozpustný blok tvoří jádro micely, zatímco rozpustný blok tvoří vnější slupku. Micely mají několik důležitých vlastností. Jednou z nich je schopnost solubilizace různých nízkomolekulárních látek. Zatímco solubilizace surfaktantní micelou není specifická a lze do ní sorbovat různé nepolární sloučeniny, micely blokových kopolymerů v organických rozpouštědlech selektivně sorbují právě ty nízkomolekulární sloučeniny, které jsou kompatibilní s blokem tvořícím jádro.

Micelami a jejich chováním se zabývá v dnešní době řada laboratoří po celém světě.<sup>1,2</sup> Rozpouštění nepolárních nízkomolekulárních sloučenin v nepolárních jádrech amfifilních micel ve vodném roztoku je studováno s ohledem na potenciální aplikace zaměřené na farmakologii (řízené uvolňování léčiv),<sup>3,4</sup> při ochraně životního prostředí (odstraňování polutantů z vody).<sup>5</sup>

Ke studiu těchto systémů lze s úspěchem využít mnoha metod. Mezi nejvyužívanější patří např. statický a dynamický rozptyl světla, rozptyl neutronů a rentgenového záření, spektroskopické metody, např. infračervená a NMR spektroskopie a mikroskopické metody jako mikroskopie atomárních sil nebo transmisní a rastrovací elektronová mikroskopie.<sup>6</sup>

## 2. Blokované a gradientové kopolymery

Makromolekuly typických polymerů mají jako své základní jednotky obvykle dvojjazné funkční skupiny nebo atomy, nazývané stavební jednotky nebo monomerní strukturní jednotky. Makromolekuly, které vzniknou z takovýchto jednotek, budou tedy mít řetězovitý charakter, a proto se nazývají makromolekulární řetězce. Podle způsobu uspořádání stavebních jednotek v makromolekulárním řetězci se rozlišují tyto typy kopolymerů. Kopolymer je polymer, který obsahuje 2 a více druhů stavebních jednotek zabudovaných do společných makromolekulárních řetězců.

a) alternující kopolymery- v jejich řetězcích se stavební jednotky pravidelně střídají.

b) blokované kopolymery- jejich makromolekulární řetězce se skládají z homopolymerních bloků, spojených chemickými vazbami.

c) statistické kopolymery- v jejich makromolekulárním řetězci je pořadí stavebních jednotek nahodilé.

d) roubované kopolymery- jejich makromolekuly mají základní řetězec tvořený homopolymerem jednoho druhu a na něj jsou jako rouby chemickými vazbami připojeny postranní řetězce.

Kopolymery se připravují z mnoha chemicky rozmanitých monomerů, je proto přirozené, že existuje mnoho typů kopolymeračních reakcí. Dvě základní skupiny polymeračních reakcí jsou polymerace řetězové a neřetězové. U řetězových polymerací narůstají makromolekuly připojováním jednotlivých monomerů k aktivním koncům rostoucích makromolekulárních řetězců. Při neřetězových polymeracích, nazývaných též stupňovité, krokové nebo postupné, se makromolekuly prodlužují i o více stavebních jednotek najednou.

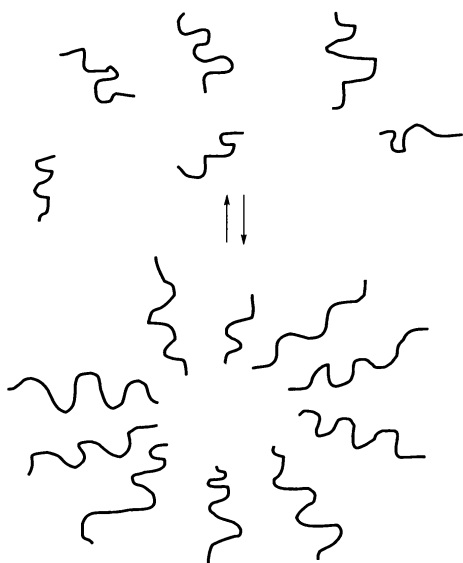
Řetězové polymerace lze dále dělit a to na radikálové, kationtové, aniontové, koordinační a polymerace s přenosem skupin. Neřetězové polymerace se dělí na polykondenzace, při nichž vznikají nízkomolekulární vedlejší produkty, a polyadice, při nichž se nízkomolekulární produkt zpravidla netvoří.<sup>7</sup>

## 2.1 Amfifilní blokové kopolymery

Blokové kopolymery podléhají v roztocích asociaci neboli self-asemblingu. Tento jev je závislý na chemickém složení sledovaného blokového kopolymeru, jeho molekulové hmotnosti a též jeho koncentraci, je-li blokový kopolymer v roztoku. Různé blokové kopolymery se vyznačují odlišnými optickými, mechanickými a dalšími fyzikálními vlastnostmi.<sup>8</sup>

Chování blokových kopolymerů a vznik micel je závislý na prostředí, ve kterém se kopolymer nachází. V selektivním rozpouštědle, tj v rozpouštědle jen jednoho z bloků, se micelizací projeví snaha minimalizovat nevhodné interakce nerozpustného kopolymeru s rozpouštědlem.

Vzniklá micela obsahuje velmi husté sférické jádro, které je tvořené nerozpustným blokem kopolymeru a difuzní vnější slupku neboli koronu, která je tvořena rozpustným blokem kopolymeru. Micely jsou obvykle monodisperzní ve své velikosti i hmotnosti.<sup>9</sup> Formování micel blokových kopolymerů je znázorněno na obrázku 1.



**Obr. 1.** Micelizace dvojblokového kopolymeru

Experimentální výsledky ukazují, že micelizace blokových kopolymerů může být popsána pomocí modelu předpokládajícího ustavení rovnováh mezi unimery a micelami obsahující  $n$  polymerních řetězců



s rovnovážnou konstantou

$$K_{\text{mic}} = \frac{[A_n]}{[A]^n} \quad (2)$$

kde  $[A]$  je koncentrace unimeru a  $[A_n]$  je koncentrace micel. Tento mechanismus se označuje jako uzavřená asociace, na rozdíl od tzv. otevřené asociace, při níž dochází k ustavování mnohonásobných rovnováh mezi unimery a micelami s různými agregačními čísly. Proto se micelizace blokových kopolymerů v mnoha aspektech podobá micelizaci nízkomolekulárních surfaktantů.<sup>10</sup>

Jestliže je asociací číslo velké ( $1/n \rightarrow 0$ ), potom  $K_{\text{mic}} \approx 1/[A]$ . Koncentrace unimeru nad kritickou micelární koncentrací (c.m.c.) je konstantní a rovná se (c.m.c.).

Pro standardní Gibbsovu energii micelizace platí vztah

$$\Delta_{\text{mic}}G^0 = -RT \ln K_{\text{mic}} \approx RT \ln(\text{c.m.c.}) \quad (3)$$

Rovnice 3 platí pro ideálně se chovající roztok blokového kopolymeru. Pro přesnější vyjádření je nutno nahradit koncentrace složek aktivitami.

Typická micela obsahuje kolem  $10^2$  asociovaných kopolymerních řetězců s bloky separovanými do kompaktního jádra, tvořeného nerozpustnými bloky, a ochranné difusní slupky, která je tvořena rozpustnými bloky. Micelizují obvykle dvojblokové a triblokové kopolymery; uzavřená asociace multiblokových kopolymerů je nepravděpodobná kvůli stérickým zábranám.



Gyrační poloměr micel blokových kopolymerů je obvykle 15 – 30 nm. Závislost mezi velikostí micel a délkou tvořících se bloků lze predikovat ze škálovací teorie.<sup>11</sup> Whitmore a Noolandi<sup>12</sup> našli na základě této teorie následující vztahy pro poloměr jádra  $R_c$ , a pro poloměr slupky  $R_s$ .

$$R_c \propto N_B^\alpha N_A^\beta \quad (4)$$

$$R_s \propto N_A^\gamma \quad (5)$$

kde  $N_A$  a  $N_B$  jsou počty segmentů rozpustného respektive nerozpustného bloku a  $\alpha = (0.67, 0.76)$ ,  $\beta = (-0.1, 0)$  a  $\gamma = (0.50, 0.86)$  jsou škálovací exponenty.

Jelikož nerozpustné bloky mohou v micelárních jádrech zaujímat vyšší počet konformací než ve špatném rozpouštědle, je snížení entropie díky asociaci řetězců téměř kompenzováno přechodem nerozpustných bloků do jádra a celková změna entropie je malá.<sup>13</sup>

Amfifilní blokové kopolymery obsahují hydrofobní blok, jako např. polystyren, a hydrofilní blok, např. blok tvořený kyselinou polymethakrylovou.

Vzhledem k tomu, že voda je pro hydrofobní blok amfifilních kopolymerů silným srážedlem, nelze micely amfifilních kopolymerů připravit přímým rozpuštěním. Pro přípravu kopolymeru je proto nutné využít dialýzy, ve které se postupně převádí micely vzniklé ve směsi organického rozpouštědla s vodou do vodného roztoku. Tím se připraví micely v kineticky zamrzlém stavu, kdy nedochází k výměně monomerů mezi roztokem a micelami.<sup>14</sup>

Je-li vnější slupka tvořena polyelektrolytem, je chování micel závislé na iontové síle a v případě slabých elektrolytů i na pH roztoku. Např. při nízké iontové síle jsou řetězce kvůli elektrostatické repulsi nataženy, zvýší-li se iontová síla, dojde k částečnému odstínění nábojů, a tím i k částečnému kolapsu řetězců a zmenšení hydrodynamického poloměru.<sup>15</sup>

## 2.2 Gradientové kopolymery

Gradientové kopolymery lze na základě jejich struktury rozřadit do dvou velkých skupin. Do první skupiny řadíme kopolymery, které jsou dvojsložkovými systémy s prostorově proměnným složením. Tato třída gradientových kopolymerů má velké praktické využití, např. jako optická vlákna a multifokální čočky. Strukturní, tepelné a mechanické vlastnosti gradientových kopolymerů jsou studovány zejména u systémů, které jsou tvořeny polystyrenem nebo polyetylenem.

Druhou skupinu tvoří gradientové kopolymery se složením měnícím se v rámci jediného řetězce. V tomto případě se může jednat buď o gradient v hustotě roubů, nebo o gradient v zastoupení monomerních jednotek, kdy postupně začne převládat jeden druh monomerní jednotky nad druhým, který byl majoritní na počátku.<sup>16</sup>

Speciálním typem gradientového kopolymeru je tzv. polymerní hřeben, v něm jsou strukturní jednotky uspořádány velmi specificky, jelikož dochází k naroubování každého homopolymeru jedním z jeho konců na druhý typ homopolymeru. Tímto způsobem dochází k tvorbě kartáčovitého útvaru. Báze hřebenu, neboli flexibilní polymerní páteř, je tvořena jedním typem kopolymeru, se zvětšující se vzdáleností od báze roste podíl druhého typu kopolymeru a tímto způsobem vzniká určitý typ gradientu.<sup>17</sup> Dalším typem gradientu je snižující se hustota naroubovaných kopolymerů. Hustota roubů je ovlivněna již při syntéze gradientového kopolymeru a to pomocí makroiniciátoru.<sup>18,19</sup>

### 3. Použité metody

#### 3.1 Rozptyl světla v roztocích polymerů

##### 3.1.1 *Statický rozptyl světla (SLS)*

Často používanou metodou studia struktury a dynamiky polymerních systémů je rozptyl záření ve viditelné oblasti spektra. Rozptyl záření je projevem jeho interakce s hmotnými částicemi. Prochází-li světelný paprsek látkou, indukuje elektrické pole světelné vlny v molekulách oscilující dipólové momenty, které působí jako zdroje rozptýleného světelného záření, jehož intenzita je nepřímo úměrná čtvrté mocnině vlnové délky  $\lambda$  dopadajícího světelného záření.

Zatímco v uspořádané krystalové mřížce toto rozptýlené záření zaniká vzájemnou negativní interferencí jednotlivých rozptylových center, v kapalinách je díky koncentračním fluktuacím rozptyl světla vždy pozorovatelný.

Obzvláště silně rozptylují světlo roztoky makromolekulárních látek o rozdílném indexu lomu, než má rozpouštědlo. Při měření rozptylu sledujeme úhlovou závislost časově průměrované intenzity záření rozptýleného roztokem polymeru, což umožňuje stanovení molární hmotnosti, popř. velikosti rozpuštěných částic a jejich interakcí s molekulami rozpouštědla.

Ve všech integrálních rozptylových metodách je z praktického hlediska důležitý poměr velikosti zkoumaných objektů k vlnové délce použitého záření. Relativně malé objekty (jejichž rozměry nepřesahují dvacetinu vlnové délky  $\lambda$  použitého světla) rozptylují záření jako bodové zdroje. Přesněji vyjádřeno, zdroj je možno považovat za bodový, je-li splněna podmínka

$$qR \ll 1 \tag{6}$$

kde  $R$  je velikost rozptylového zdroje a  $q$  je velikost rozptylového vektoru, definovaná vztahem

$$q = \frac{4\pi n_0}{\lambda} \sin \frac{\mathcal{G}}{2} \quad (7)$$

kde  $n_0$  je index lomu rozpouštědla,  $\lambda$  je vlnová délka rozptýleného záření a  $\mathcal{G}$  je rozptylový úhel, tj. úhel mezi směrem primárního paprsku a směrem pozorování.

Větší částice se chovají jako soubory dipólů. Úhlová závislost rozptýleného záření je pak ovlivněna interferencí, což umožňuje určení rozměrů, tvar rozptylujících útvarů (izolovaných makromolekulárních klubek, asociátů apod.). Čím kratší je vlnová délka použitého záření a čím větší je použité rozmezí úhlů, tím menší rozměry (případně rychlejší pohyby u dynamického rozptylu) mohou být sledovány.<sup>20</sup>

Veličinou charakterizující rozptyl světla v závislosti na hmotnostní koncentraci rozpuštěné rozptylující látky  $c$  a rozptylovém vektoru  $q$  je tzv. Rayleighův poměr  $R(q,c)$ , definovaný vztahem

$$R(q,c) = \frac{I(q,c)r^2}{I_0} \quad (8)$$

kde  $I(q,c)$  je intenzita rozptýleného světla ve vzdálenosti  $r$  od zdroje rozptylu vztažená na jednotku objemu a  $I_0$  je intenzita primárního paprsku. Pro závislost Rayleighova poměru na  $q$  a  $c$  platí přibližný vztah známý jako Zimmova rovnice<sup>20</sup>

$$\frac{Kc}{\Delta R(q,c)} = \frac{1}{M_w} \left( 1 + \frac{1}{3} R_g^2 q^2 \right) + 2A_2c \quad (9)$$

kde  $M_w$  je molekulová hmotnost rozpuštěné látky,  $R_g$  je gyrační poloměr,  $A_2$  je druhý viriální koeficient popisující interakci rozptylující látky s rozpouštědlem a konstanta  $K$  je definována vztahem

$$K = \frac{4\pi^2 n_0^2 (dn/dc)^2}{\lambda^4 N_A} \quad (10)$$

kde  $dn$  je přírůstek indexu lomu roztoku při zvýšení koncentrace rozpuštěné látky o  $dc$  (poměr  $dn/dc$  se nazývá inkrement indexu lomu) a  $N_A$  je Avogadrova konstanta. Pro větší ( $R_g > 50$  nm) či silně interagující částice někdy místo vztahu (9) lépe vyhovuje Berryho rovnice

$$\frac{Kc}{\Delta R(q,c)} = \frac{1}{M_w} \left( 1 + \frac{1}{6} R_g^2 q^2 \right)^2 + 2A_2c \quad (11)$$

Z předešlých rovnic plyne, že extrapolujeme-li naměřené hodnoty  $R(q,c)$  na nulovou koncentraci, obdržíme závislost  $R(q,0)$  na  $q$ , z jejíž směrnice lze určit gyrační poloměr částice. Naopak z extrapolace naměřených hodnot  $R(q,c)$  na nulový úhel obdržíme závislost  $R(0,c)$  na  $c$ , z jejíž směrnice určíme druhý viriální koeficient. Současná extrapolace hodnot  $R(q,c)$  na nulovou koncentraci a nulový úhel poskytne hodnotu  $1/M_w$  (resp.  $1/M_w^{1/2}$  u Berryho rovnice)

K určení  $M_w$  a 2. viriálního koeficientu z rovnic 9 a 11 je třeba vyčíslit konstantu  $K$ . Problematickou veličinou je inkrement indexu lomu  $dn/dc$ , neboť rozdíl indexu lomu málo koncentrovaného roztoku a indexu lomu čistého rozpouštědla nelze měřit běžnými refraktometry. Používají se buď speciální diferenciální refraktometry nebo interferometrické měření.

### 3.1.2 Dynamický rozptyl světla (DLS)

Díky neuspořádanému pohybu jednotlivých rozptylových center (např. makromolekul, ale třeba i jednotlivých částí jejich řetězců) pozorujeme v intenzitě rozptýleného záření  $I(t)$  časové fluktuace. Dynamický rozptyl světla (DLS) je experimentální metoda umožňující tyto odchylky od časové střední hodnoty registrovat. Výstupem měření DLS je normalizovaná časová autokorelační funkce intenzity, definovaná vztahem<sup>21</sup>

$$g_{(2)}(t) = \frac{\langle I(0)I(t) \rangle}{\langle I \rangle^2} \quad (12)$$

kde  $\langle I \rangle$  je časová střední hodnota intezity a

$$\langle I(0)I(t) \rangle = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T I(t')I(t'+t)dt' \quad (13)$$

Obdobně je definována normalizovaná autokorelační funkce intenzity elektrického pole  $\mathbf{E}(t)$

$$g_{(1)}(t) = \frac{\langle \mathbf{E}(0)\mathbf{E}^*(t) \rangle}{\langle \mathbf{E}^2(0) \rangle} \quad (14)$$

Mezi oběma autokorelačními funkcemi platí vztah známý jako Siegertova rovnice

$$g_{(2)}(t) = 1 + \beta |g_{(1)}(t)|^2 \quad (15)$$

kde  $\beta$  je konstanta vyjadřující odchylku od ideální korelace. Její velikost závisí na geometrii experimentálního uspořádání.

Hodnota autokorelační funkce se s časem snižuje tím rychleji, čím rychleji se ztrácí korelace mezi hodnotami funkce  $I(t)$  a téže funkce posunuté o  $t'$ . Pro  $t' \rightarrow \infty$  se fluktuující hodnoty mění již na sobě zcela nezávisle a hodnota  $g_{(2)}(t)$  konverguje k jedné, hodnota funkce  $g_{(1)}(t)$  k nule. Autokorelační funkci  $g_{(1)}(t)$  lze psát ve tvaru

$$g_{(1)}(t) = \int_0^{\infty} A(\tau) \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) d\tau \quad (16)$$

kde  $A(\tau)$  je distribuční funkce tzv. relaxačních časů  $\tau$ , které charakterizují dynamiku daného systému. V nejjednodušším případě, kdy je celý systém popsán jediným relaxačním časem, přechází vztah 16 do tvaru

$$g_{(1)}(t) = \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) \quad (17)$$

Relaxační časy obecně závisejí na rozptylovém úhlu, přičemž z této závislosti lze usuzovat na to, jakému typu pohybu v rozptylujícím systému příslušný relaxační čas odpovídá. Translační difuzi rozptylujících částic, charakterizované difúzním koeficientem  $D$ , přísluší relaxační čas

$$\tau = \frac{1}{Dq^2} \quad (18)$$

kde  $q$  je velikost rozptylového vektoru.

## 3.2 Fluorescenční měření

Většina molekul látek, které absorbují energii v ultrafialové nebo viditelné oblasti, ji předává při kolizích ostatním částicím. Řada látek takto ale ztrácí jen část získané energie a zbytek emituje jako tzv. luminiscenční záření.

Důležitá je tzv. fotoluminiscence, která se na základě délky dosvitu dělí na fluorescenci a fosforescenci, mezi nimi je rozdíl ve spinu částice, v případě fosforescence se spin mění.<sup>22,23</sup>

Absorpcí energie přejde fluorofor na vyšší vibrační hladinu, do prvního excitovaného elektronového singletového stavu. Odtud přejde excitovaná molekula na základní vibrační hladinu složitěji, tj. nezářivým přechodem, zvaným vibrační relaxace se molekula nejprve dostane na nejnižší vibrační hladinu singletového

excitovaného stavu, a teprve poté dojde k emisi fotonu, tj. zářivému přechodu do základního elektronového stavu, v ultrafialové nebo viditelné oblasti spektra tj. k fluorescenci, při které se elektrony vracejí do různých hladin základního stavu.<sup>22,23</sup>

Silnou fluorescenci pozorujeme u organických sloučenin, zejména u polykondenzovaných aromatických sloučenin a jejich derivátů. Skupiny v molekule, na kterých dochází k absorpci a emisi se nazývají fluorofory.

U některých látek má na fluorescenci velký vliv pH roztoku, neboť se změnou náboje iontu při disociaci dochází ke změně struktury molekuly a tím i vymizení fluorescence.<sup>23</sup> Vzhledem k tomu, že doba života singletového excitovaného stavu je poměrně dlouhá ( $10^{-8}$  s), jsou fluorescenční emisní spektra, mnohem více ovlivněna interakcí fluoroforu s okolím, než je tomu u spekter absorpčních. Proto se fluorescenční spektroskopie využívá jako metoda ke zjišťování různých fyzikálněchemických vlastností v bezprostředním okolí (do několika mm) od fluoreskující molekuly. Mezimolekulové interakce ovlivňují i dobu života fluoroforu. Proto má význam i měření vyhasínání fluorescence a doby života fluoroforu.<sup>23</sup>



## 4. Cíl práce

Cílem této diplomové práce bylo prostudování chování gradientového kopolymeru poly(akrylová kyselina)-*b*-poly(akrylová kyselina-*grad*-styren) pomocí statického i dynamického rozptylu světla a fluorescenčních měření a následné srovnání tohoto kopolymeru s analogickým blokovým kopolymerem poly(akrylová kyselina)-*b*-polystyren. Práce byla motivována snahou získat informace o gradientovém kopolymeru, neboť tento druh kopolymerů je obecně daleko méně studován než kopolymery blokové.

## 5. Materiál

### 5.1 Chemikálie

Blokový kopolymer: poly(akrylová kyselina)-*b*-polystyren

Gradientový kopolymer: poly(akrylová kyselina)-*b*-poly(akrylová kyselina-*grad*-styren)

Oba kopolymery byly vyrobeny aniontovou polymerizací ve skupině profesora Laurenta Billona na universitě v Pau, Francie<sup>24</sup>

Dioxan, Aldrich, St. Louis, Missouri, USA

DAF = 5-(N-dodekanoyl)aminofluorescein, Molecular Probes, Oregon, USA

Pyren, Aldrich, St. Louis, Missouri, USA

Ostatní chemikálie ( všechny od Lachema Brno, čistota p. a.):

hydroxid sodný, NaOH

kyselina trihydrogenfosforečná, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>

tetraboritan sodný, Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>

IUPAC pufry, pH 9,18, 7,00, 4,005 , Radiometer, Francie

### 5.2 Roztoky

Použité roztoky: 80% dioxan dialýza

60% dioxan dialýza

40% dioxan dialýza

20% dioxan dialýza

Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>, 0,05 M dialýza

kyselina fosforečná 8,5 % měření fluorescence,

rozptyl světla, titrace

hydroxid sodný 2 M, měření fluorescence,

rozptyl světla, titrace

jodid sodný, 4M, měření dohasínání fluorescence

### 5.3 Příprava vzorků

Pro přípravu vzorku blokového kopolymeru se využila dialýza. Nejprve se vzorek převedl do 80% 10 ml vodného roztoku dioxanu. Po rozpuštění vzorku se roztokem naplnilo dialyzační trubice, která se poté vložilo do kádinky s 60% vodným roztikem dioxanu. Po dvou hodinách se lázeň v kádince vyměnila za roztok dioxanu s nižší koncentrací, nejprve 40% dioxan, poté 20% dioxan v 0,05 M  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ . Nakonec se jako lázeň použil 0,05M  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ .

Příprava vzorku gradientového kopolymeru probíhala takto: Vzorek se rozpustil přímo v 0,05 M  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  nebo v methanolu. Další možností bylo převedení vzorku do 0,05 M boraxového pufru a poté rozpuštění v methanolu s následným přidáváním boraxového pufru, dialýza byla prováděna proti 0,05 M  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ .

U měření závislosti intenzity fluorescence na změně pH byla výchozí koncentrace u gradientového kopolymeru 8,05 g/l a u blokového 4,52 g/l. Měřený roztok obsahoval 0,05M  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ , určité množství kopolymeru a konstantní přídavek fluoroforu, buď 5-(N-dodekanoyl)aminofluorescein (DAF), nebo pyren, přičemž koncentrace obou fluoroforů byla 1  $\mu\text{mol/l}$ . K takto připravenému vzorku se přidal 2 M hydroxid sodný, pro úpravu pH na hodnotu kolem 10, a poté se přidávala 8,5 % kyselina fosforečná pro postupné snižování pH. Koncentrace zásobních roztoků fluoroforů v metanolu byla 1mmol/l v případě DAF a 5 mmol/l v případě pyrenu. U měření emisních spekter byla koncentrace gradientového kopolymeru 2 g/l a blokového kopolymeru 4,52 g/l. Při měření doby života DAF byla koncentrace gradientového kopolymeru 2 g/l, blokového kopolymeru 2,26 g/l, tytéž koncentrace byly použity při měření zhášení fluoresceinu pomocí NaI. Roztok jodidu sodného obsahoval malé množství thiosíranu sodného, aby nedocházelo k oxidaci jodidu na jod.

## **5.4 Metody**

### ***5.4.1 Rozptyl světla***

Rozptyl světla byl měřen pomocí fotometru ALV (Langen, SRN). Zařízení je složeno z He-Ne laserového zdroje (633 nm, 22 mW), goniometru ALV CGS/8F, detektoru (lavinové fotodiody) ALV High QE APD, a autokorelátoru ALV 5000/EPP. Roztoky před vlastním měřením byly filtrovány přes membránové mikrofiltry o velikosti pórů 0,45  $\mu\text{m}$ . Měření bylo prováděno při různých koncentracích polymerů a při úhlech 30-150 stupňů. Pro měření byly využity cylindrické kyvety o průměru 10 mm.

### ***5.4.2 Měření stacionární fluorescence***

Měření fluorescenčních spekter bylo provedeno pomocí fluorometru Fluorolog 3-11 (SPEX, USA). Měření se provádělo v křemenných kyvetách o optické dráze 1 cm.

### ***5.4.3 Měření vyhasínání fluorescence***

Měření vyhasínání fluorescence fluoresceinu bylo prováděno technikou časově korelovaného čítání fotonů pomocí přístroje ED 299 T (Edinburgh Instruments, Velká Británie), vybavenému jednoduchým excitačním a dvojitým emisním monochromátorem. Zdrojem záření byla pulsní LED dioda. NanoLED (IBH, Velká Británie), s emisním maximem 496 nm, s repetiční frekvencí 1 MHz a pološířkou pulsu 1 ns. Vzhledem k tomu, že doba trvání pulsu není zanedbatelná ve srovnání s dobou života excitovaného stavu fluoresceinu, je naměřená závislost

intenzity fluorescence na čase  $I_{\text{exp}}(t)$  dána konvolucí vlastního vyhasínání  $I(t)$  s profilem pulsu  $P(t)$ :

$$I_{\text{exp}}(t) = \int_0^t P(t') I(t-t') dt' \quad (19)$$

Profil pulsu byl změřen pomocí látky rozptylující světlo při nastavení emisní vlnové délky shodné s excitační vlnovou délkou. Při zpracování dat byl použit dvouexponenciální model vyhasínání fluorescence, takže naměřená data byla proložena rovnicí:

$$I_{\text{exp}}(t) = \int_0^t P(t') \left[ \alpha_1 \exp\left(-\frac{t-t'}{\tau_1}\right) + \alpha_2 \exp\left(-\frac{t-t'}{\tau_2}\right) \right] dt' \quad (20)$$

Z dob života  $\tau_1$ ,  $\tau_2$  a amplitud  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  je možné vypočítat frakce celkové intenzity fluorescence  $F_1$  a  $F_2 = 1 - F_1$  připadající na jednotlivé komponenty s dobami života  $\tau_1$ ,  $\tau_2$ .

$$F_1 = \frac{\alpha_1 \tau_1}{\alpha_1 \tau_1 + \alpha_2 \tau_2} \quad (21)$$

#### 5.4.4 Měření pH

Pro měření pH byl využit pH metr Radiometer PHM 93, s kombinovanou skleněnou elektrodou. Jako kalibrační pufrů byly využity IUPAC pufrů, Radiometer, Francie.<sup>1</sup>

## 6. Výsledky a diskuse

### 6.1. Příprava vzorků kopolymerů

Příprava gradientového a blokového kopolymeru je odlišná. Hlavním důvodem je skutečnost, že blokový polymer obsahuje dlouhé polystyrenové bloky, na které voda působí jako srážedlo. Z tohoto důvodu by se blokový kopolymer nebyl schopen ve vodě rozpustit. Proto musí být tento typ kopolymeru připravován pomocí dialýzy, tedy postupným převedením vzorku z vysoce koncentrovaného roztoku dioxanu do 0,05 M roztoku tetraboritanu sodného.<sup>15</sup>

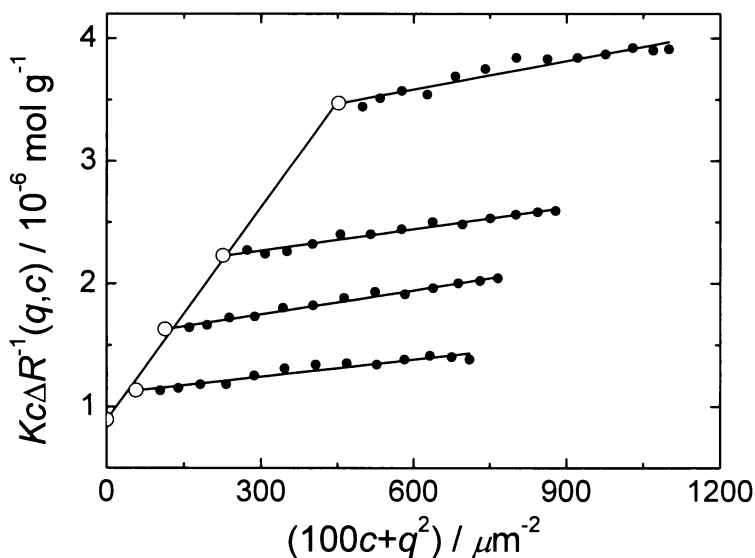
V případě gradientového kopolymeru, který je tvořen úseky s gradientem polystyrenu a úseky kyseliny polyakrylové je možné rozpustit kopolymer přímo v 0,05 M  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ . V tomto případě totiž dojde ke vzniku micely s jádrem, které je zhotováno rozpouštědlem.

### 6.2. Rozptyl světla

#### 6.2.1. Určení molekulové hmotnosti

Jak již bylo zmíněno, tato diplomová práce se má zabývat prostudováním chování gradientového kopolymeru, poly(akrylová kyselina)-*b*-poly(akrylová kyselina-*grad*-styren). Tento kopolymer je porovnáván s analogickým blokovým kopolymerem poly(akrylová kyselina)-*b*-polystyren. Jako vhodné metody pro studium byly zvoleny rozptyl světla a fluorescenční měření. Při měření rozptylu světla se pozornost věnovala určení molekulové hmotnosti u obou kopolymerů pomocí extrapolace naměřených hodnot na nulový úhel a na nulovou koncentraci. U gradientového kopolymeru se pro vyhodnocení měření použil Zimmův diagram (obrázek 2). U blokového kopolymeru byl využit pro vyhodnocení Berryho

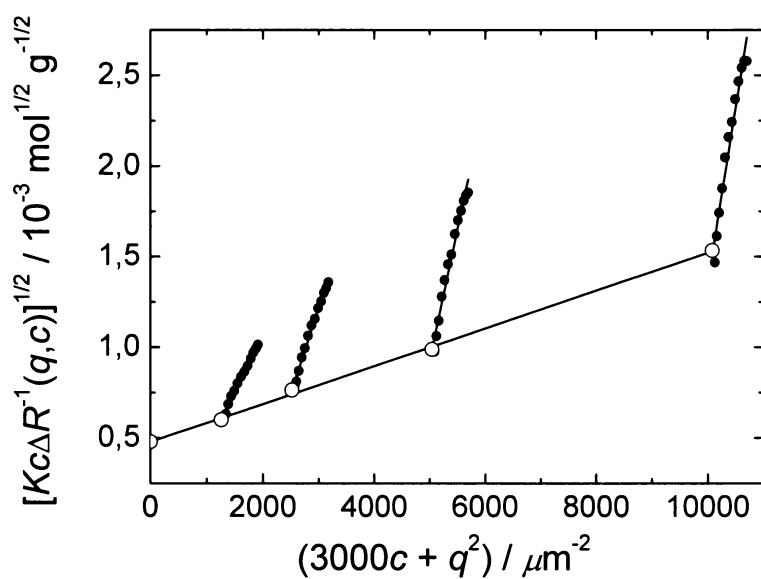
diagram (obrázek 3). Tato měření poskytla i informace o gyračním poloměru částic a o druhém viriálním koeficientu, který charakterizuje interakci sledované látky s rozpouštědlem.



Obr. 2 Zimmův diagram pro blokový kopolymer

Při extrapolaci naměřených hodnot na nulovou koncentraci a na nulový úhel byla získána molekulová hmotnost  $M_w$ . Dále byl určen gyrační poloměr sledovaných kopolymerů a druhý viriální koeficient, tabulka 1. Molekulová hmotnost gradientového kopolymeru je  $4,38 \times 10^6$  g/mol a gyrační poloměr je 86,7 nm. Pro blokový kopolymer byla naměřena molekulová hmotnost  $1,12 \times 10^6$  g/mol a gyrační poloměr byl 40,1 nm.

Molekulová hmotnost i gyrační poloměr jsou větší u gradientového kopolymeru.



Obr. 3 Berryho diagram pro gradientový kopolymer.

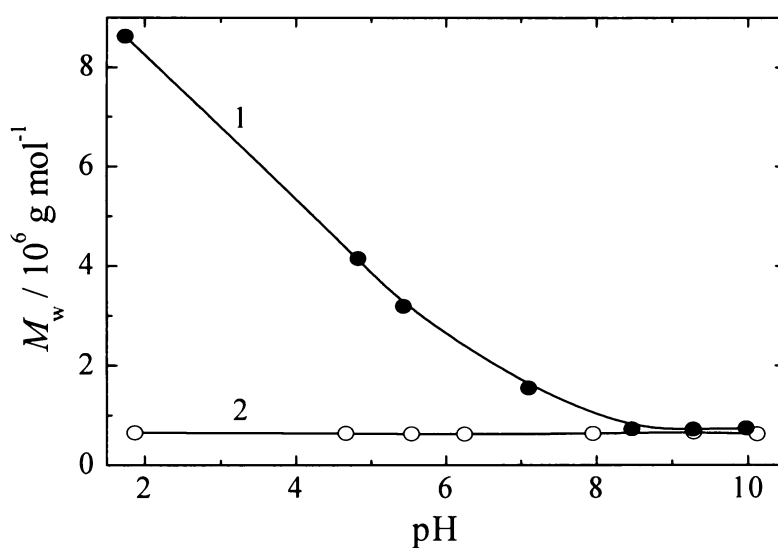
	Blokový kopolymer	Gradientový kopolymer
$M_w$	$1,12 \times 10^6$ g/mol	$4,38 \times 10^6$ g/mol
$A_2$	$2,88 \times 10^7$ mol l/g <sup>2</sup>	$1,49 \times 10^7$ mol l/g <sup>2</sup>
$R_g$	40,1 nm	86,7 nm

Tab.1 Charakteristika blokového a gradientového kopolymeru získaného ze statického rozptylu světla.



## 6.2.2. Závislost molekulové hmotnosti na změně pH

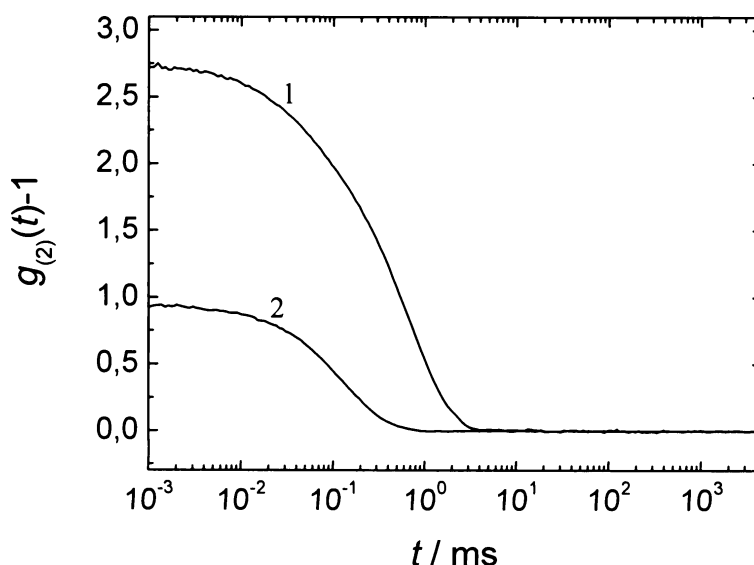
Při měření rozptylu světla byla měřena i závislost velikosti molekulové hmotnosti na změně pH. Při těchto měřeních se použily vzorky kopolymerů rozpuštěných v 0,05 M roztoku tetraboritanu sodného. K těmto roztokům se přidalo určité množství kyseliny fosforečné (8,5%) nebo hydroxidu sodného 2M, aby vznikla škála roztoků s kopolymerem o různém pH. Při měření blokovaného kopolymeru nedošlo ke změně molekulové hmotnosti. Gradientový kopolymer vykazoval změnu molekulové hmotnosti, od pH 6,5 – zde již lze sledovat počínající nárůst molekulové hmotnosti. Toto chování je důsledkem toho, že tyto micely nejsou v kineticky zamrzlém stavu a proto se při kyselém pH snižuje jejich rozpustnost z důvodu snížení ionizace polyakrylové kyseliny. Následně dochází ke zvýšení asociačního čísla micel. Měření bylo prováděno v oblasti pH 1,75-10,5 (obrázek 4).



Obr.4 Závislost molekulové hmotnosti na změně pH, gradientový kopolymer( č.1) blokovaný kopolymer ( č.2)

### 6.2.3. Autokorelační funkce u obou kopolymerů

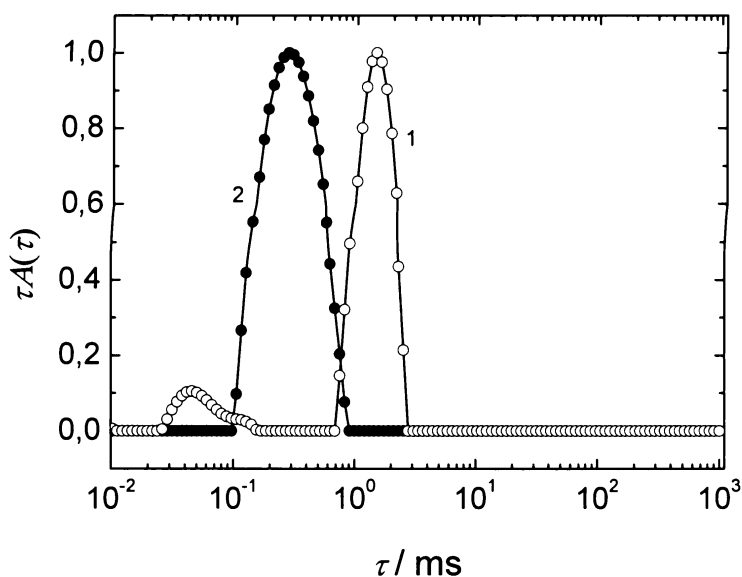
Měřením dynamického rozptylu světla byly získány následující autokorelační funkce pro oba typy kopolymerů. Obrázek 5 ukazuje typický průběh autokorelačních funkcí u obou kopolymerů.



Obr.5 Autokorelační funkce, křivky pro gradientový a blokový kopolymer, rozptylový úhel  $90^\circ$ . Křivka č. 1 pro gradientový kopolymer  $c=0,72\text{g/l}$ , křivka č.2 pro blokový kopolymer  $c=1,13\text{g/l}$ .

### 6.2.4 Distribuční funkce relaxačních časů

Obrázek 6 ukazuje typické vyhodnocení distribuční funkce relaxačních časů u gradientového a blokového kopolymeru. V případě gradientového kopolymeru se objevují dva módy, pravděpodobně v důsledku nemonodisperzního složení či délky řetězců, kdy dochází k jejich segregaci do různě velkých asociátů. U blokového kopolymeru je mód jen jeden, všechny řetězce mají přibližně stejné složení i délku.



Obr.6 Distribuční funkce relaxačních časů,  $\tau$ , u blokového (č.2) a gradientového kopolymeru (č.1), vyhodnocené z autokorelačních funkcí na obrázku 5.

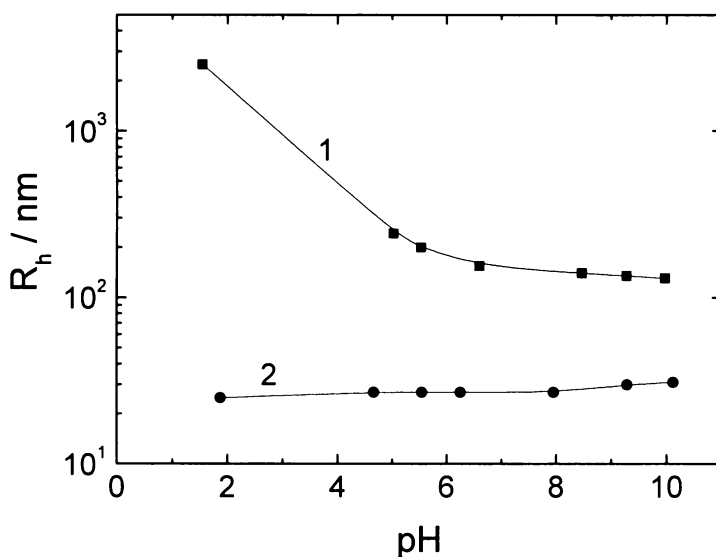
### 6.2.5. Závislost $R_h$ na změně pH

Chování gradientového a blokového kopolymeru se lišilo i v případě sledování závislosti hydrodynamického poloměru na pH. Hydrodynamický poloměr byl vypočten z difuzních koeficientů získaných z měření rozptylu světla (rovnice 18), pomocí Stokesova-Einsteinova vztahu

$$R_h = \frac{kT}{6\pi\eta_0 D} \quad (22)$$

kde  $k$  je Boltzmannova konstanta,  $T$  termodynamická teplota,  $\eta_0$  je viskozita rozpouštědla. Měření bylo prováděno za stejných podmínek jako u 6.2.2. U gradientového kopolymeru došlo v oblasti kyselého pH k nárůstu hydrodynamického poloměru, naproti tomu u blokového kopolymeru zůstal hydrodynamický poloměr mírně klesá v důsledku kontrakce slupky způsobené

neutralizací záporně nabitých karboxylových skupin. Důvodem nárůstu poloměru u gradientového kopolymeru je opět tvorba agregátů, neboť v kyselém pH se snižuje stupeň ionizace polyakrylové kyseliny. Z tohoto důvodu se stává hůře rozpustným celý kopolymer a dochází ke vzniku agregátů (obrázek 7). Velikost hydrodynamického poloměru byla vypočtena u gradientového kopolymeru z minoritního modu distribuční funkce relaxačních časů.



Obr. 7 Závislost hydrodynamického poloměru na změně pH, gradientový kopolymer ( č.1), blokový kopolymer ( č.2)

### 6.3 Fluorescenční měření

Pro další charakterizaci kopolymerů byla využita fluorescenční měření. Sledovalo se chování blokového i gradientového kopolymeru za přítomnosti dvou fluoroforů, a to buď pyrenu nebo DAF.

Měření byla prováděna v křemenných kyvetách o optické dráze 1 cm. Vzorky, ve kterých byl fluoroforem pyren, se měřily až po několika hodinách po

přidání pyrenu k roztoku kopolymerů, z důvodu pomalejšího průniku tohoto fluoroforu do struktury kopolymerů.

### ***6.3.1 Měření závislosti intenzity fluorescence***

#### ***DAF na změně pH***

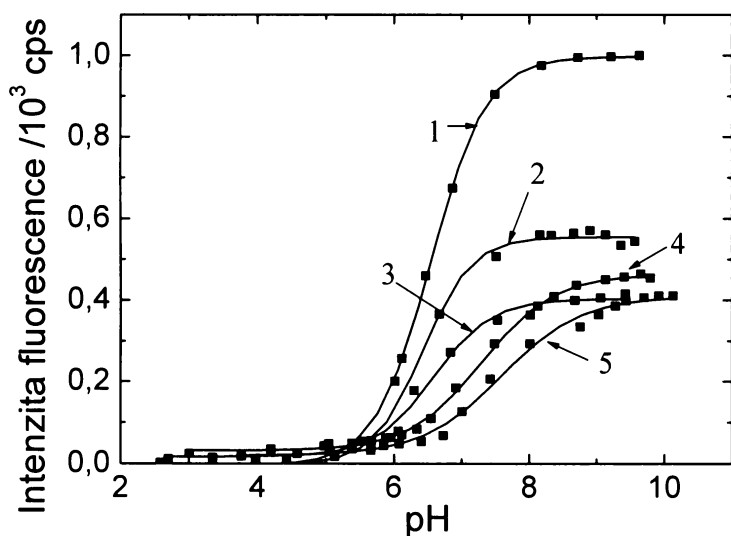
Při tomto měření se sledovala závislost intenzity fluorescence DAF na změně pH při různých výchozích koncentracích. Byla připravena škála koncentrací u blokového i gradientového kopolymeru. DAF je jakožto derivát fluoresceinu acidobazickým indikátorem s oblastí přechodu kolem pH 6,2.

V micelách se amfifilní molekula DAF nachází poblíž rozhraní mezi jádrem a slupkou. Kolem fluoresceinu se v bazickém prostředí nachází velký počet záporně nabitých karboxylátových iontů ze slupky. Proton z disociovaného fluoroforu je přitahován ke karboxylátovým aniontům, takže k tomu, aby byl proton schopen opustit slupku, je zapotřebí dodatková Gibbsova energie.<sup>25</sup> Z tohoto důvodu dochází k posunu inflexního bodu závislosti intenzity fluorescence na pH u koncentrovanějších roztoků do bazičtější oblasti. U méně koncentrovaných roztoků je přítomno menší množství micel, proto zůstává určitý podíl fluoresceinu ve vodném roztoku a inflexní bod u těchto roztoků je posunut směrem doleva na stupnici pH. Dalším důvodem pro posun inflexního bodu je nižší dielektrická permitivita mikrookolí fluoroforu: jsou zde proto silnější elektrostatické interakce, a z tohoto důvodu pro fluorofor obtížnější disociace. Fluorofor se chová jako slabší kyselina a je schopen disociovat až v alkaličtějším prostředí.

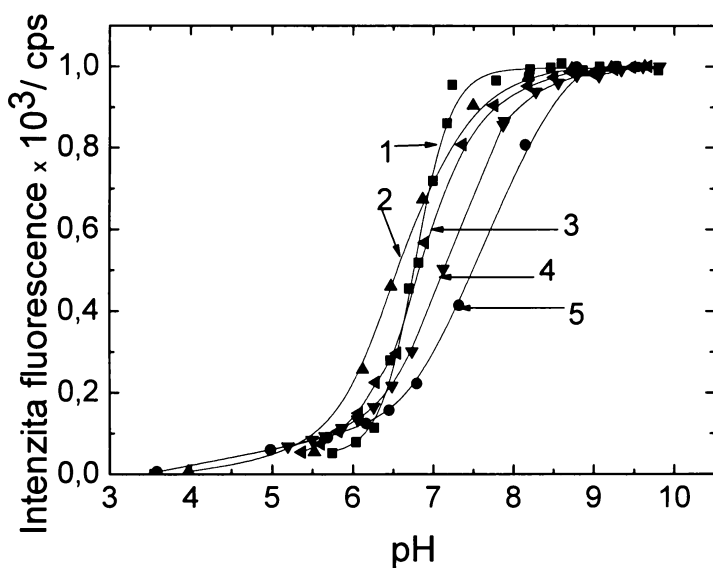
Ke vzájemnému porovnávání křivek intenzity sloužila hodnota inflexního bodu. Tato hodnota je minimální pro roztok fluoroforu s minimální koncentrací kopolymeru. Obrázky 8 a 9 ukazují intenzitu fluorescence v závislosti na změně pH při různých koncentracích.

Na křivkách nízkokoncentrovaných roztoků je patrný posun inflexního bodu směrem doleva tzn. do kyselejší oblasti, křivky odpovídající těmto roztokům jsou také strmější. U nízkokoncentrovaných roztoků kopolymerů je větší počet molekul

fluoroforu na jednu micelu, z tohoto důvodu se již molekuly začínají vázat i na další oblasti v micelle, váží se tedy i do polárnější oblasti shellu. Některé molekuly fluoroforu zůstávají ve formě unimerů také volně v roztoku, z těchto důvodů není u nízkokonzentrovaných roztoků patrný posun inflexního bodu do alkaličtější oblasti. Zde je inflexní bod v podobné oblasti jako v případě, kdy je fluorofor ve vodném roztoku bez přítomnosti kopolymerů.



Obr. 8 Křivky intenzity fluorescence u blokového kopolymeru, koncentrace kopolymeru je následující: č.1  $c=0$  g/l, č.2  $c=0,0065$ g/l, č.3  $c=0,28$ g/l, č.4  $c=2,26$ g/l, č.5  $c=4,52$ g



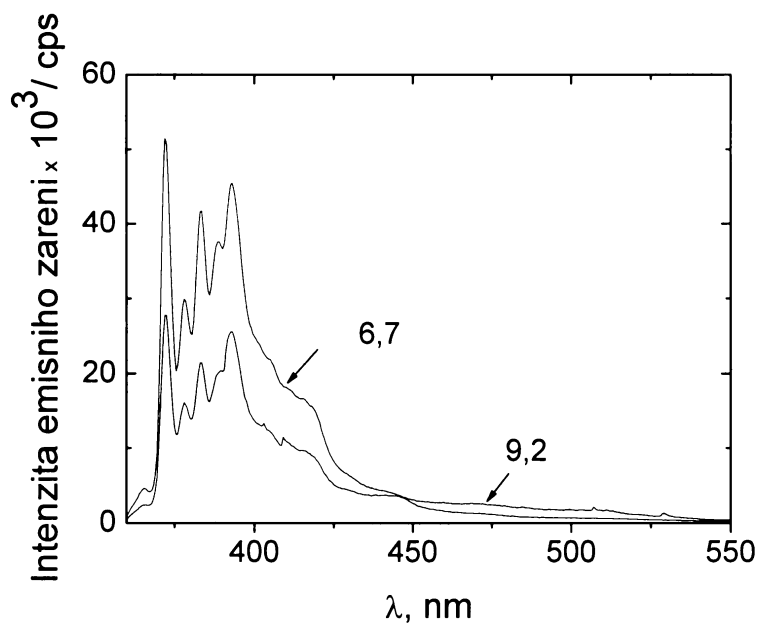
Obr. 9 Křivky intenzity fluorescence u gradientového kopolymeru, koncentrace kopolymeru jsou následující: č. 1  $c = 0,062$  g/l, č.2  $c = 0$  g/l, č.3  $c = 0,2$  g/l, č. 4  $c = 2$  g/l, č.5  $c = 8,05$  g/l.

### 6.3.2 Měření emisních spekter pyrenu

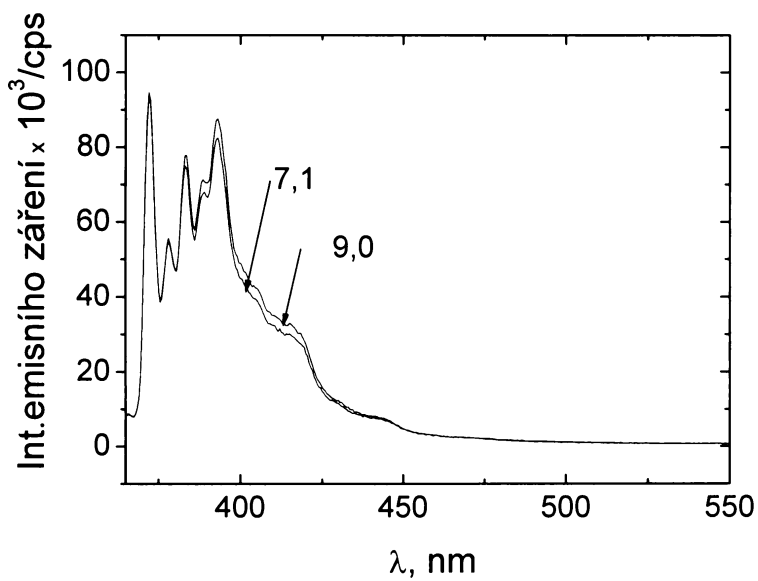
Měření emisních spekter bylo prováděno za přítomnosti pyrenu jako fluoroforu, pH se měnilo přidáváním kyseliny fosforečné. U pyrenu je přechod do nejnižšího vibronického stavu symetricky zakázaný, takže pás příslušející tomuto přechodu (372 nm) se objevuje pouze v důsledku silných interakcí s polárním rozpouštědlem. Jako veličina charakterizující polaritu rozpouštědla se používá poměr intenzit pásu při 372 nm ku vibronickému pásu při 383 nm, který přísluší symetricky povolenému přechodu, a jeho intenzita tudíž na polaritě rozpouštědla nezávisí. Čím je tento poměr ( $I_1/I_3$ ) větší, tím polárnější je rozpouštědlo.<sup>26</sup>

Emisní spektra pyrenu solubilizovaného v micelách gradientového a blokového kopolymeru při různých pH jsou na obr. 10 a 11. Obr. 12 ukazuje závislost  $I_1/I_3$  pro oba kopolymery.

Ve vodných roztocích amfifilních micel je pyren jakožto silně hydrofobní látka solubilizován v micelárních jádrech, takže poměr  $I_1/I_3$  je mírou polaritity jader. V oblasti kolem pH 7 začala postupně růst intenzita třetího píku. V kyselém pH je poměr menší než v oblasti bazického pH u gradientového kopolymeru, a to z důvodu protonizace karboxylátových skupin v kyselém pH, což vede k následnému zvýšení hydrofobicity a kopolymer se stává méně polárním. U gradientového kopolymeru je pyren lokalizován ve vodou zbotnalém jádře obsahujícím i akrylátové monomerní jednotky a je tudíž citlivý na změnu pH, naproti tomu u blokového kopolymeru je pyren v hydrofobním jádře z polystyrenu, takže není ovlivněn ionizací polyakrylové kyseliny ve slupce. U blokového kopolymeru je proto poměr  $I_1/I_3$  konstantní.

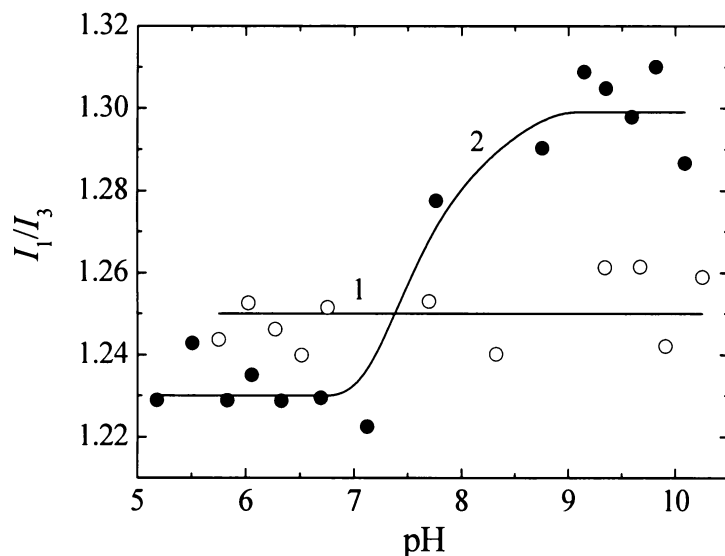


Obr. 10 Emisní spektra gradientového kopolymeru u pH 6,7 a 9,2.



Obr. 11 Emisní spektra blokového kopolymeru u pH 7,1 a 9,0.



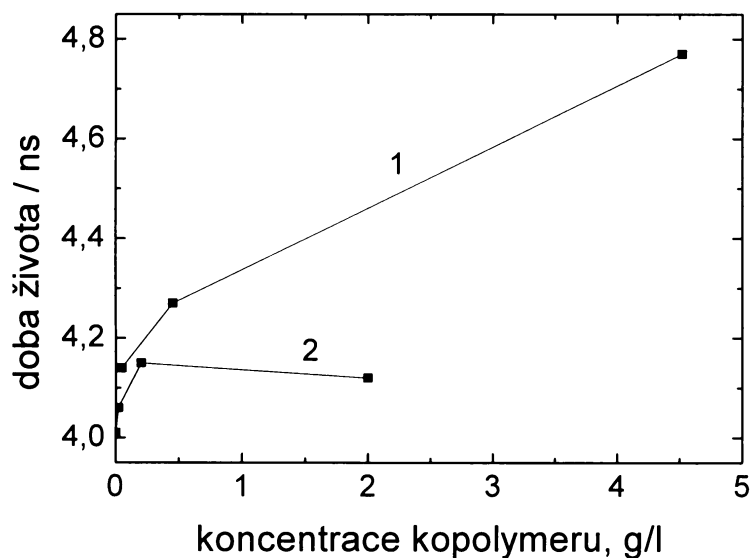


Obr. 12. Závislost poměru  $I_1/I_3$  na pH. Blokovaný kopolymer č.1, gradientový kopolymer č.2.

### 6.3.3 Měření doby života DAF

Při tomto měření se využil jako fluorofor DAF o koncentraci  $2 \mu\text{mol/l}$ . Měřila se doba života fluoroforu při různé koncentraci kopolymerů. Nejprve byla změřena doba života pro fluorofor v borátovém pufru, tato hodnota se pohybovala kolem 4 ns. Poté se provedlo měření v roztoku o koncentraci 2 g/l u gradientového, nebo 2,26 g/l u blokového kopolymeru. Přidávaný DAF se nejprve váže na mezifázi jádro-slupka, takže při dalším přidávání se začínají tvořit nefluoreskující H-dimery  $\text{DAF}^9$ , které jsou akceptory excitační energie a zháší tak fluorescenci unimerů DAF. Tento jev je dominantní jen dokud není fluoresceinu tolik, že se již začne volně vyskytovat také ve vodném roztoku, v tu dobu začne naměřená doba života narůstat. Tento trend je patrný u blokového kopolymeru. Ve vzorcích s výchozí koncentrací byla doba života vyšší, postupně se vzorky naředovaly a doba života fluoroforu měla klesat, neboť při ředění roztoku dochází k postupnému snižování počtu micel a narůstání počtu fluoroforů na jednu micelu. Z tohoto důvodu by se měla doba života fluoroforu postupně snižovat. U gradientového kopolymeru se tento trend nepotvrdil, můžeme se tedy domnívat, že tento jev byl

způsoben neexistencí ostrého rozhraní mezi jádrem a slupkou, v důsledku které nedošlo k tvorbě H-dimerů. Obrázek 13 ukazuje závislost doby života fluoroforu na změně koncentrace kopolymeru.



Obr. 13 Závislost doby života fluoroforu na koncentraci kopolymeru, blokový kopolymer č.1, gradientový kopolymer č.2.

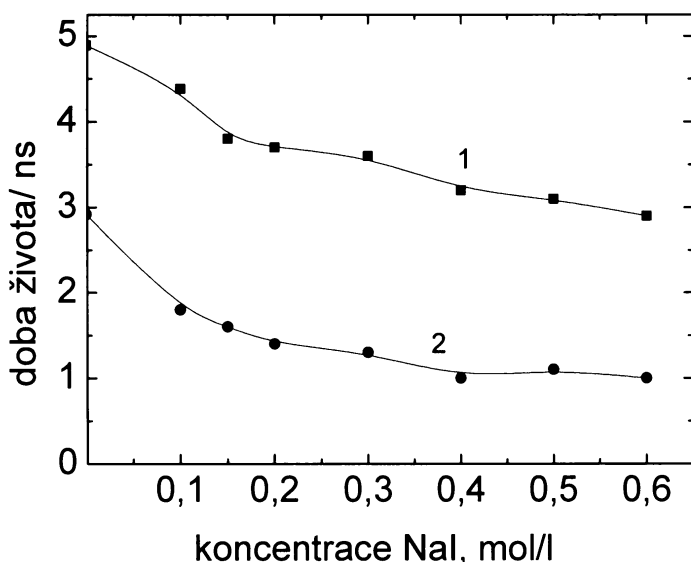
### 6.3.4 Zhášení fluorescence DAF pomocí NaI

Fluorescenci je možné tzv. zhášet pomocí jiných chemických látek. V našem případě byl zvolen jodid sodný. Následkem srážky fluoroforu s iontem  $I^-$  vzniká kolizní komplex, v němž v důsledku silné spinorbitální interakce dochází k přechodu fluoroforu do tripletového stavu. Dynamické zhášení fluorescence se projeví zkrácením doby života excitovaného stavu fluoroforu.

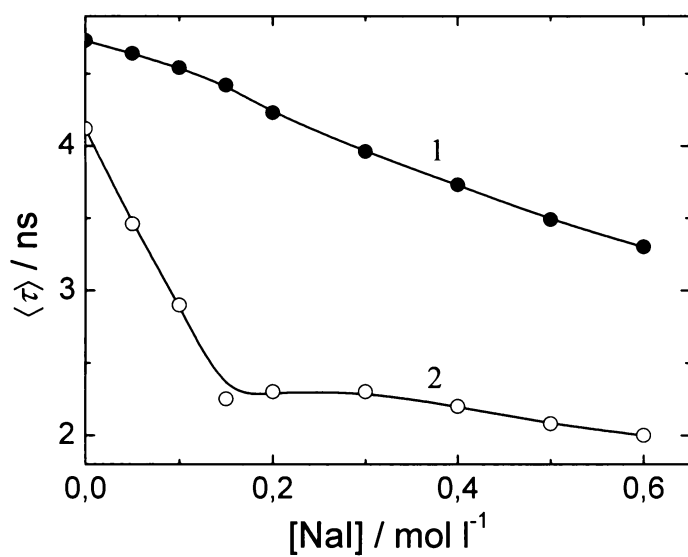
Koncentrace gradientového kopolymeru použitá při měření byla 2 g/l a koncentrace blokového kopolymeru byla 2,27 g/l. Jodid sodný byl přidáván v konstantních přídavicích. Sledovala se doba života excitovaného stavu DAF v závislosti na koncentraci NaI.

U obou kopolymerů lze pozorovat zkracování doby života DAF, s rostoucí koncentrací zhášeče. U gradientového kopolymeru bylo naměřené dohasínání dvouexponenciální, neboť zde není ostré rozhraní jádra a slupky, takže DAF se může vyskytovat v micelle v různých doménách, lišících se v dostupnosti pro zhášeč. Oblasti s horší dostupností pro zhášeč fluoroforu vykazují delší dobu života než oblasti snadněji přístupné. Na obr. 14 jsou vyneseny doby života obou složek v závislosti na koncentraci NaI. Procentuální zastoupení majoritní složky  $\tau_1$  je přibližně 65%, nezávisle na koncentraci zhášeče.

Na obr. 15 je vynesena střední doba života DAF v gradientovém i blokovém kopolymeru v závislosti na koncentraci NaI.



Obr. 14 Závislost dob života DAF v roztoku gradientového kopolymeru na množství přidaného NaI. Křivka č.1 doba života majoritní složky, křivka č. 2 doba života minoritní složky.



Obr. 15 Závislost doby života u blokového, č.1, a gradientového, č.2, kopolymeru na přidavku NaI.

U gradientového kopolymeru je vynesena průměrná hodnota  $\langle \tau \rangle = F_1 \tau_1 + F_2 \tau_2$  (rovnice 21)

## 7. Závěr

V této diplomové práci bylo hlavním cílem charakterizovat a vzájemně porovnat dva kopolymery. Jednalo se o blokový kopolymer poly(akrylová kyselina)-*b*-polystyren a gradientový kopolymer poly(akrylová kyselina)-*b*-poly(akrylová kyselina-*grad*-styren). Oba kopolymery byly vyrobeny aniontovou polymerizací. Jako vhodné metody pro experimentální měření byly vybrány: rozptyl světla a fluorescenční měření.

1) Byl vybrán nejvhodnější postup pro přípravu obou typů vzorků. Postup přípravy zohledňoval odlišné složení kopolymerů. Blokovaný kopolymer byl tedy připravován postupným převedením z vysoce koncentrovaného roztoku dioxanu do boraxového pufru. Gradientový kopolymer se rozpouštěl přímo v borátovém pufru.

2) Měření statického a dynamického rozptylu světla přineslo následující výsledky. Při měření závislosti molekulové hmotnosti na změně pH se molekulová hmotnost měnila jen u gradientového kopolymeru, u blokového kopolymeru zůstávala téměř konstantní. Dalším zajímavým jevem byla souvislost mezi změnou hydrodynamického poloměru v závislosti na změně pH. Nárůst molekulové hmotnosti i hydrodynamického poloměru byl zřetelný u gradientového kopolymeru, zde dochází k tvorbě agregátů, neboť v kyselém pH se snižuje stupeň ionizace polyakrylové kyseliny a celý kopolymer se proto stává hůře rozpustným.

3) Zajímavé výsledky byly získány i při měření zhášení fluorescence DAF pomocí NaI v obou kopolymerech. U gradientového kopolymeru bylo naměřené dohasínání dvouexponenciální, neboť zde není rozhraní ostré jádra a slupky. Fluorescein se tedy může vyskytovat v různých doménách kopolymeru, které jsou pro NaI lépe nebo hůře dostupné. Oblasti s horší dostupností pro zhášeč fluoroforu vykazují delší dobu života než oblasti snadněji přístupné.

## 8. Přehled literatury

1. Riess G., *Progress in Polymer Science*, 2003, 28, 1107-70
2. Quin S., Saget J., Pyun J., *Macromolecules*, 2003, 36, 8969-77
3. Hadjichristidis N., Pispas S., Floudas G. A., *Block Copolymers: Synthetic Strategies, Physical Properties and Applications*, Wiley-Interscience, Hoboken NJ, 2003
4. Harada A., Kataoka K., *Macromolecules* 1995, 28, 5294-99
5. Kwon G. S., Naito M., Yokoyama M., Okano T., Sakurai Y., Kataoka K., *Journal of Controlled Release*, 1993, 24, 119-32
6. Humpolíčková J., diplomová práce, Univerzita Karlova, Praha, 2002, 2-4
7. Vohlídal J., *Makromolekulární chemie*, Carolinum, Praha, 1986
8. Okabe S., Kanaoka A.S., Aoshima S., *Macromolecules*, 2006, 39, 1592-97
9. Štěpánek M., Podhájecká K., Procházka K., *Langmuir*, 1999, 15, 4185-93
10. Rosen M. J., *Surfactants and Interfacial Phenomena*, J. Willey, New York, 1989
11. De Gennes P. G., *Scaling Concepts in Polymer Physics*, Cornell University Press, Ithaca, 1979
12. Whitmore M. D., Noolandi J., *Macromolecules*, 1985, 18, 657-65
13. Atwood D., Florence A. T., *Surfactants Systems, Their Chemistry, Pharmacy and Biology*, Chapman and Hall, London, 1983
14. Tuzar Z., Webber S. E., Ramireddy C., Munk P., *Polymer Preparation*, American Chemical Society, Division of Polymer Chemistry, 1991, 32, 515-25
15. Akovali G., *Journal of Applied Polymer Science*, 1999, 73, 1721-25
16. Kryszewski M., *Polymers for Advanced Technologies*, 1997, 9, 244-59
17. Picket G. T., *Journal of Chemical Physics*, 2003, 118, 3898-03
18. Lord S. J., Sheiko S. S., La Rue I., Lee H. I., Matyjaszewski K., *Macromolecules*, 2004, 37, 4235-40
19. Matyjaszewski K., Ziegler J. M., Arehart V.S., Greszta D., Pakula T., *Journal of Physical Organic Chemistry*, 2000, 13, 775-86
20. Kratochvíl P., *Classical Light Scattering from Polymer Solutions*, Polymer Science Library 5, Jenkins, A.D., Elsevier, Amsterdam, 1987
21. Berne B., Pecora R., *Dynamic Light Scattering*, Wiley, New York, 1976

22. Němcová I., Čermáková L., Rychlovský P., Spektrometrické analytické metody, Karolinum 2004
23. Lakovicz J. R., Principles of Fluorescence Spectroscopy, Plenum Press, New York, 1983
24. Billon L., New Journal of Chemistry, 2006, 30, 698-04
25. Fernandez M. S., Fromherz P., Journal of Physical Chemistry, 1977, 81, 1755-61
26. Kalyanasundaram K., Thomas J. K., Journal of the American Society, 1977, 30, 2039-44

## 9. Seznam zkratek a veličin

$K_{mic}$	rovnovážná konstanta micelizace
$\Delta_{mic}G^0$	Gibbsova volná energie micelizace
$R$	univerzální plynová konstanta
$T$	teplota
$R_c$	poloměr jádra
$R_s$	poloměr slupky
SLS	statický rozptyl světla
DLS	dynamický rozptyl světla
$q$	velikost rozptylového vektoru
$n_0$	index lomu
$\lambda$	vlnová délka
$\vartheta$	rozptylový úhel
$R(q, c)$	Rayleighův poměr
$I(q, c)$	intenzita rozptýleného světla
$I_0$	intenzita primárního paprsku
$M_w$	molekulová hmotnost
$R_g$	gyrační poloměr
$A_2$	druhý viriální koeficient
$dn/dc$	inkrement indexu lomu
$N_A$	Avogadrova konstanta
$\mathbf{E}(t)$	intenzita elektrického pole
$g_{(2)}(t)$	normalizovaná časová autokorelační funkce $I$
$g_{(1)}(t)$	normalizovaná časová autokorelační funkce $\mathbf{E}$
$\tau$	relaxační čas
$D$	difuzní koeficient



## **10. Klíčová a předmětová slova**

Klíčová slova: blokový kopolymer, gradientový kopolymer, micelizace

Předmětová slova: statický a dynamický rozptyl světla, stacionární a časově rozlišená fluorescenční spektroskopie