

UNIVERSITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra fyzikální chemie



Studium biokompatibilních vrstev polymerů
kyseliny mléčné (PLA)

Bakalářská práce

Anna Vitásková

Vedoucí práce: doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.

Olomouc 2015

Prohlašuji, že jsem svou bakalářskou práci vypracovala samostatně a veškeré literární zdroje, které jsem použila, jsem řádně odcitovala a uvedla v použité literatuře.

..... v Olomouci

.....

podpis

Ráda bych poděkovala doc. RNDr. Kvítkovi CSc. za vedení mé bakalářské práce, za trpělivost a ochotu spolupracovat a Ing. Petře Bazgerové za pořízení snímků ze SEM.

Jen jedno miluji, jen v jediném mám cíl, a že to neznám, tak jsem si to vyvolil.

Angelus Silesius

Vysoká škola: Univerzita Palackého v Olomouci Fakulta: přírodovědecká
Katedra: Katedra fyzikální chemie Školní rok: 2014/2015

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Jméno: **ANNA VITÁSKOVÁ**
Studijní obor: Nanomateriálová chemie
Název práce: Studium biokompatibilních vrstev polymerů kyseliny mléčné (PLA).
česky: Study of biocompatible layers of polylactic acid (PLA).
anglicky:

Zásady pro vypracování:

1. Provedení literární rešerše na téma přípravy biokompatibilních vrstev polymerů kyseliny mléčné se zaměřením na kombinaci této látky s dalšími anorganickými materiály.
2. Experimentální studium vrstev na bázi polymerů kyseliny mléčné na povrchu vybraných substrátů a jejich modifikace anorganickými materiály (nanočástice stříbra) se zaměřením na vliv koncentrace a rozpouštědla na fyzikální parametry připravovaných vrstev.
3. Vyhodnocení a interpretace výsledků se zaměřením na zhodnocení vlivu podmínek přípravy vrstev na jejich fyzikální a biologické charakteristiky.
4. Vypracování bakalářské práce.
5. Příprava a prezentace multimediální prezentace bakalářské práce.

Rozsah grafických prací: podle potřeby

Rozsah původní zprávy: 30-50 stran

Seznam odborné literatury:

- A. Nather: Bone Grafts and Bone Substitutes, World Scientific, 2005
- N. N. Greenwood, A. Earnshaw: Chemie prvků, Informatorium, Praha 1993
- M. Takeo: Disperse systems, Wiley-VCH, Weinheim, 1999
- E. D. Ščukin: Koloidní chemie, Academia, Praha 1990
- P. J. van der Put: The Inorganic Chemistry of Materials, Plenum Press 1998
- původní časopisecká sdělení dle vlastní literární rešerše

Vedoucí bakalářské práce: Doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.

Datum zadání bakalářské práce: 22. 9. 2014

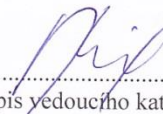
Termín odevzdání bakalářské práce: duben 2015



.....
podpis studenta



.....
podpis školitele



.....
podpis vedoucího katedry

Bibliografické údaje

Autor: Anna Vitásková
Název práce: Studium biokompatibilních vrstev polymerů kyseliny mléčné (PLA)
Vedoucí práce: doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.
Datum zadání: 22. 9. 2014
Datum odevzdání: 6. 5. 2015
Instituce: Universita Palackého v Olomouci, Katedra fyzikální chemie

Abstrakt: V této práci byl pomocí Langmuirova rovnovážného měření studován vliv podmínek na morfologii povrchu a stabilitu vrstev poly(L-laktidu) terminovaného aminem (PLLA-NH₂) na rozhraní voda-vzduch. Vrstvy PLLA-NH₂ byly nanášeny na skleněný substrát pomocí depoziční techniky Langmuir-Blodgettové. K charakterizaci vrstev bylo použito měření kontaktního úhlu a snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu. Získané výsledky ukazují, že složení subfáze má významný vliv na uspořádanost a stabilitu připravovaných vrstev. V případě, kdy byla jako subfáze použita disperze nanočástic stříbra, docházelo k zachycení nanočástic stříbra na povrchu připravovaných filmů.

Klíčová slova: filmy Langmuir-Blodgettové, nanočástice stříbra, II-A izoterma, biokompatibilní materiály, kyselina polyléčná, PLA

Počet stran: 43

Bibliographic identification

Author: Anna Vitásková
Title: Study of biocompatible layers of polylactic acid (PLA)
Supervisor: doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.
Date of task: 22. 9. 2014
Date of working-out: 6. 5. 2015
Institution: Palacký University Olomouc, Department of Physical Chemistry

Abstract: The influence of condition on surface morphology and stability of poly(L-lactide) amine terminated monolayers at the liquid-air interface was investigated by Langmuir balance measurement. Film of PLLA-NH₂ was deposited on the glass substrate with help Langmuir-Blodgett deposition technique. Contact angle measurement and scanning electron microscopy were used for characterization of the prepared film. It is proved that the type of subphase has significant influence on arrangement and stability of the prepared layers. The obtained results proved that the prepared PLLA-NH₂ film could be decorated by the silver nanoparticles when the film is deposited from the dispersion of silver nanoparticles.

Keywords: Langmuir-Blodgett films, silver nanoparticles, Π -A isotherm, biocompatible materials, polylactic acid, PLA, AgNPs

Number of pages: 43

Obsah

| | |
|---|----|
| Úvod..... | 10 |
| 1 Koloidní soustavy..... | 11 |
| 1.1 Nanočástice stříbra..... | 12 |
| 2 Povrchové filmy..... | 13 |
| 2.1 Teorie LB měření..... | 14 |
| 2.1.1 Povrchové napětí a povrchový tlak..... | 14 |
| 2.1.2 Závislost povrchového tlaku na ploše povrchu..... | 16 |
| 2.1.3 Depozice LB filmu..... | 17 |
| 3 Polymery kyseliny mléčné..... | 19 |
| 3.1 Vlastnosti kyseliny mléčné..... | 19 |
| 3.2 Polymerizace kyseliny mléčné..... | 20 |
| 3.3 Vlastnosti polymerů kyseliny mléčné..... | 21 |
| 3.3.1 Struktura..... | 22 |
| 3.3.2 Fyzikální vlastnosti..... | 23 |
| 3.3.3 Degradace..... | 24 |
| 3.3.4 Langmuirovy monovrstvy PLA na rozhraní kapalina-vzduch..... | 24 |
| 4 Experimentální část..... | 26 |
| 4.1 Materiály..... | 26 |
| 4.2 Metody..... | 26 |
| 5 Výsledky..... | 29 |
| 5.1 Měření izoterm..... | 29 |
| 5.2 Depozice LB filmů..... | 33 |
| 5.3 Měření kontaktního úhlu..... | 33 |
| 5.4 Skenovací elektronová mikroskopie..... | 35 |
| Diskuze..... | 37 |
| Závěr..... | 40 |
| Summary..... | 41 |
| Reference..... | 42 |

Úvod

Možnosti ladění vlastností a kontroly povrchové morfologie biokompatibilních a biodegradabilních polymerů, jako je kyselina polylactonová (PLA), je již delší dobu věnována pozornost, spojená s velkými očekáváními, především ve spojení s jejich využitím v cíleném transportu léčiv a tkáňovém inženýrství. Překážkou pro využití tohoto polymeru se nicméně jeví jeho krystalinita, která zpomaluje následnou degradaci PLA v organismu, což může vést i ke vzniku zánětlivých ložisek.

Užitečným nástrojem pro studium stavového chování pro amfifilní molekuly, vykazující duální charakter řetězce, jako je tomu v případě PLA, se jeví technika Langmuir-Blodgettové (LB), která podává unikátní náhled na chování monovrstev amfifilních molekul na rozhraní kapalina-vzduch a poskytuje tak informace o fázových přechodech realizovaných v systému. Zároveň tato technika poskytuje vítané zjednodušení v podobě redukce na dvoudimenzionální systém. Díky této technice je možno vytvářet vrstvy o žádané morfologii a stupni krystalinity.

V této práci je použita LB technika k charakterizaci monovrstev PLA na rozhraní kapalina-vzduch s ohledem na vyhodnocení vlivu podmínek na průběh Π -A izotermy a její následnou interpretaci, která je klíčová pro pochopení stavového chování dané polymerní monovrstvy. Tato technika je využita i k depozici monovrstvy z hladiny subfáze na předem zvolený substrát s cílem vyhodnotit stabilitu a povrchovou morfologii připravovaných vrstev. Připravované vrstvy jsou následně upraveny na základě včlenění zvoleného anorganického materiálu do struktury filmu, v tomto případě jsou využity nanočástice stříbra, připravované upravenou Tollensovou metodou.

1 Koloidní soustavy

Studium koloidních soustav a jevů vznikajících na fázovém rozhraní tvoří základ pro oblast, kterou v současnosti nazýváme nanotechnologie, zabývající se studiem nanostruktur, tj. objektů, jejichž velikost je alespoň v jednom rozměru menší než 100 nm. Materiály, jejichž strukturální jednotkami jsou nanostrukury, označujeme jako nanomateriály. Výjimečné postavení nanotechnologií spočívá v oblasti jejich zájmu, který spadá na rozhraní kvantové mechaniky, zabývající se chováním atomů, molekul, elementárních částic, a světa naší každodenní zkušenosti, popisovaného klasickou fyzikou.¹

Výše zmíněný obor koloidní chemie se z hlediska dimenze soustřeďuje na objekty o velikostech z intervalu několika nanometrů až několika desítek mikrometrů, pro jejichž popis byl vytvořen soubor fyzikálních zákonů, které mohou být s určitou efektivností použity pro popis jejich chování. Například z hlediska termodynamiky mohou být koloidní soustavy ve stavu termodynamické rovnováhy i nerovnováhy. Nicméně i tyto nerovnovážné stavy mohou existovat po dlouhý čas beze změny, takže je není možno od rovnovážného stavu prakticky rozeznat.²

Často zmiňovanou vlastností koloidních částic jsou jejich na velikosti závislé nelineární optické jevy. Typicky pak Tyndallův jev rozptylu světla, který můžeme běžně pozorovat na prachových částicích nebo u barevných kostelních vitráží, které světelný paprsek rozptylují v rozšiřující se kužel. Koloidním částicím ostatně vděčíme i za modré zbarvení oblohy, jelikož světlo se rozptyluje na krátkodobě se vytvářejících shlucích molekul vzduchu, které právě způsobují modré zbarvení oblohy.³

Dalším významným faktorem je velká plocha povrchu oproti vlastnímu objemu částice. Plocha povrchu pro částici o průměru 1 cm je $3,14 \text{ cm}^2$, zatímco stejné množství hmoty rozptýlené do částic o průměru $0,1 \mu\text{m}$ je plocha povrchu $314\,000 \text{ cm}^2$. Tento značný nepoměr mezi povrchem a vlastním objemem nachází své uplatnění například při čištění vod, kdy se molekuly organických barviv a polutantů adsorbují na koloidní částice, právě díky jejich velké ploše povrchu. S velkou plochou povrchu se samozřejmě pojí i vysoká hodnota povrchové energie, díky čemuž jsou koloidní částice často používány jako katalyzátory.^{1,4}

Stabilitu koloidních soustav neovlivňuje pouze jejich plocha povrchu, ale také jejich elektrický náboj. Proto, aby mohly být částice v nějaké suspenzi stabilní, musí

dojít ke kompenzaci přitažlivých van der Waalsovských interakcí. Jedna z metod stabilizace je založena právě na změně povrchového náboje částic, tak aby výsledná interakce mezi částicemi byla repulzivní. V roztocích elektrolytů jsou koloidní částice obklopeny ionty, čímž dochází ke kompenzaci jejich povrchového náboje. Distribuce iontů, nacházejících se v blízkém okolí nabitého povrchu částice, můžeme popsat pomocí Stern-Gouy-Chapmanovy teorie, podle níž se struktura vznikající elektrické dvojvrstvy dělí do dvou částí - kompaktní vnitřní vrstvy a difúzní vnější vrstvy. Dojde-li k překryvu difúzních vrstev při přiblížení dvou částic a výslednice repulzních sil převáží nad přitažlivou van der Waalsovskou interakcí, v takovém případě bude disperze stabilní. Distribuce iontů v difúzní vrstvě je závislá na koncentraci elektrolytu, formálním náboji iontů, rozpouštědle a vazebnému potenciálu mezi ionty v kompaktní vnitřní a difúzní vnější vrstvě. Potenciál na tomto rozhraní je pak vyjadřován jako zeta (ζ) potenciál, který je důležitým měřítkem stability kapalných disperzí koloidních částic.²

Na závěr je třeba zmínit, že mezi koloidní částice můžeme zařadit takové struktury, jako jsou nanočástice a vysokomolekulární látky, ale i asociáty malých molekul, jako jsou micely povrchově aktivních látek.³

1.1 Nanočástice stříbra

Stříbrné nanočástice přitahovaly pozornost vědců pro jejich dalekosáhlá využití v oblastech, jako jsou elektronika, senzory, či antibakteriálně upravené povrchy (filtry, textil, obvazy). Nanočástice stříbra jsou široce využívány jako antimikrobiální činidlo ve zdravotnictví, při uskladňování jídla či potahování textilií. Nanočástice stříbra vykazují značný antimikrobiální účinek například proti *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* a *P. aeruginosa*. Všeobecně, terapeutický účinek, který u nanočástice stříbra pozorujeme, závisí na mnoha důležitých aspektech, zahrnujících velikost částic, tvar, koncentraci a jejich náboj. V mnoha případech je, ale manipulace s nanočásticemi příliš obtížná nebo naopak praxe požaduje vhodnou (např. antibakteriální) úpravu materiálu použitého v dalších aplikacích. Tyto požadavky řeší kompozitní materiály, které získávají nejen vlastnosti svých komponent, ale mnohdy i nové vlastnosti, které látky, z nichž se skládají, samy o sobě nemají. Nanočástice stříbra se právě proto často využívají ve spojení s jinými materiály pro svou antimikrobiální aktivitu, kterou propůjčují i vzniklému kompozitu.⁵

2 Povrchové filmy

Monomolekulární vrstvy, tenké organické filmy o tloušťce jedné molekuly, jsou již po dlouhý čas předmětem velkých očekávání, jelikož se u nich předpokládá velký potenciál pro mnohá praktická a komerční využití. Tenké vrstvy mohou být nanášeny na pevný substrát mnoha rozmanitými způsoby. Mezi tyto techniky můžeme zahrnout například tepelné odpařování, pokovování, elektrodepozici, epitaxi z molekulárních svazků, adsorpci z roztoku, metodu Langmuir-Blodgettové a samouspořádání. Technika Langmuir-Blodgettové (LB) se jeví velice slibnou pro tvorbu tenkých vrstev hned z několika důvodů: precizní kontrola tloušťky vrstvy, homogenní depozice monomolekulární vrstvy přes velké plochy a možnost vytvářet vícevrstvé struktury s rozličným uspořádáním vrstev. Další výhodou LB techniky je možnost nanášet monovrstvu téměř na jakýkoliv pevný substrát.⁶

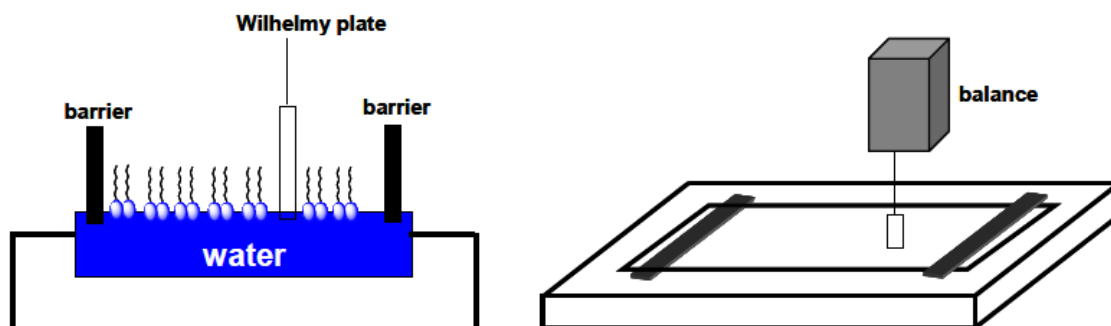
Pod termínem **filmy Langmuir-Blodgettové (LB)** se rozumí přenos monovrstev či multivrstev z rozhraní voda-vzduch (resp. rozhraní kapalina-plyn obecně) na pevný substrát. **Langmuirův film** je pak takový molekulární film, který „plove“ na rozhraní voda-vzduch, ale není přenášen na pevný substrát.⁷

První pozorování povrchových filmů na vodě provedl Benjamin Franklin, který se od roku 1765 po nějakou dobu zabýval studiem rozptylu olejových kapek po hladině vody na rybníčku v Clapham Common. Nicméně teprve v 19. století objevila Agnes Pockels a Lord Rayleigh, že některé látky se rozptylují po povrchu kapaliny a vytvářejí tak povrchové filmy na rozhraní voda-vzduch o tloušťce právě jedné molekuly. Systematičtější přístup pro studium plovoucích monomolekulárních vrstev na vodě vytvořil až Irving Langmuir v roce 1917, který měřil povrchový tlak, vytvářený filmy na kapalině. Schéma Langmuirova korýtka s dvěma bariérami a Wilhelmyho plátkem jako povrchovými vahami pro měření Π -A izoterem je ukázáno na obr. 1. První detailnější popis přenosu monovrstvy na pevný podklad podala o několik let později Katherin Blodgett, proto jsou filmy tohoto typu označovány právě jako Langmuir-Blodgettové.^{8,9}

2.1 Teorie LB měření

2.1.1 Povrchové napětí a povrchový tlak

Silové interakce mezi molekulami na rozhraní kapalina-plyn můžeme měřit jako **povrchové napětí** γ , které vzniká v důsledku nevykompenzovaných přitažlivých sil mezi molekulami na povrchu kapaliny oproti jejímu objemu, kde dochází ke kompenzaci přitažlivých sil ve všech směrech. Přebytná energie přítomná na povrchu se nazývá volná povrchová energie a vyjadřuje se jako hodnota energie na jednotku plochy a v případě pohyblivého rozhraní je rovna povrchovému napětí, které se vyjadřuje jako hodnota síly připadající na jednotku délky fázového rozhraní. Pro měření povrchového napětí se běžně užívá jednotky mN/m. U polárních kapalin, jako je například voda, existují silné mezimolekulové interakce, takže mají zároveň i vysoké povrchové napětí, to pro vodu činí při 20 °C 73 mN/m. Tato vysoká hodnota povrchového napětí dělá z vody vhodnou subfází pro studium monovrstev. Hodnotu povrchového napětí můžeme snížit nárůstem teploty či přítomností povrchově aktivních látek (PAL) neboli surfaktantů.¹⁰



Obr.1. Schéma Langmuirova koryítka s dvěma bariérami a Wilhelmyho plátkem.⁹

Všeobecně jsou surfaktanty molekuly obsahující **hydrofilní** (ve vodě rozpustnou) a **hydrofobní** (ve vodě nerozpustnou) část. Hydrofilní část obsahuje polární skupinu jako je např. $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, zatímco hydrofobní část se obvykle skládá z uhlovodíkového řetězce. Amfifilní charakter molekuly jim propůjčuje specifické vlastnosti, jako je tvorba dvojvrstev, micel, váčků a hlavně jejich hromadění (adsorpce) na rozhraní (vzduch-voda či olej-voda). Snaha PAL vytvářet asociáty vyplývá

z tendence systému ke snížení své volné energie. Kumulace amfifilu na rozhraní voda-vzduch je pak důsledkem jejich duální povahy, jelikož surfaktanty mají nižší volnou povrchovou energii než molekuly rozpustné v objemové fázi. Adsorpce amfifilu na rozhraní je spontánní proces a jeho výsledkem je snížení povrchového napětí.^{2,7,11}

Nerozpustné monovrstvy můžeme vytvořit rozpuštěním PAL v těkavém a ve vodě nerozpustném rozpouštědle, které nanese na vodní povrch, rozpouštědlo necháme odpařit a tímto vytvoříme monovrstvu na rozhraní voda-vzduch, tyto filmy nazýváme jako **Langmuirovy (L)**.⁴ Vrstva na rozhraní má pak tloušťku právě jedné molekuly, přičemž hydrofilní část (polární hlavička molekuly) je ponořena pod hladinou a hydrofobní (dlouhý uhlovodíkový řetězec) vyčnívá nad hladinu. Uhlovodíkový řetězec musí být dostatečně dlouhý, nejkratší možný řetězec, který ještě bude tvořit nerozpustnou monovrstvu je 12 uhlíkový řetězec. Molekuly s kratšími řetězci jsou sice také nerozpustné, ale mají tendenci seskupovat se do micel. Nicméně pokud je délka molekuly příliš velká, krystalizuje na povrchu vody a netvoří monovrstvu. Schopnost PAL tvořit monovrstvu závisí také od charakteru polární části molekuly.¹¹

Pokud je dostupná plocha při nanesení PAL na vodní povrch dostatečně velká, takže se molekuly monovrstvy ovlivňují jen slabými interakcemi, můžeme monovrstvu považovat za dvoudimenzionální plyn. V takovém stavu má monovrstva jen zanedbatelný efekt na povrchové napětí vody. Při zmenšování dostupné plochy pomocí kompresních bariér začnou molekuly na sebe navzájem působit odpudivými silami. Tato dvoudimenzionální obdoba tlaku se nazývá **povrchový tlak**, je to záporně vzatá hodnota rozdílu povrchového napětí, značí se Π , a můžeme jej vyjádřit vztahem:

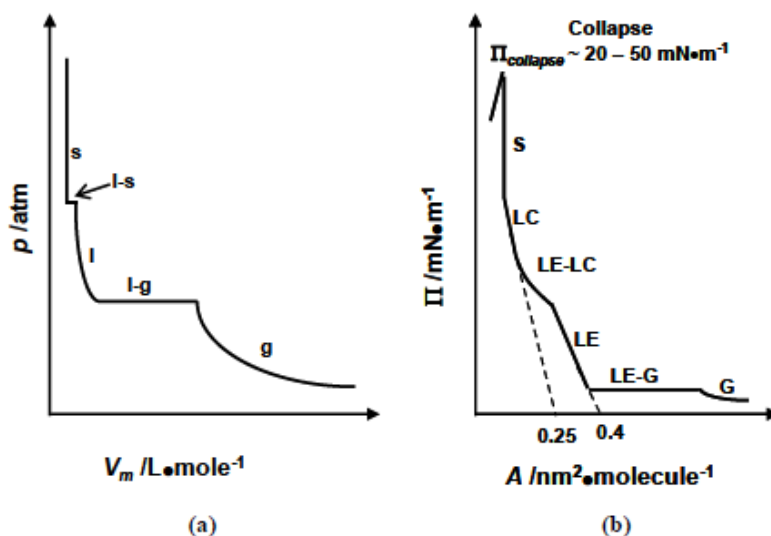
$$\Pi = -\Delta\gamma = \gamma_0 - \gamma$$

kde γ_0 je povrchové napětí čisté vody a γ je povrchové napětí s nanesenou monovrstvou.¹¹

Pro měření povrchového tlaku se používá Wilhelmyho plátek. Pomocí této metody je měřena síla vyvolaná povrchovým tlakem, která působí na plátek částečně ponořený do subfáze. Tato síla je pak přepočítávána na povrchový tlak přes rozměry plátku, tj. na určitou hmotnost plátku připadá jeden mN/m povrchového tlaku.¹⁰

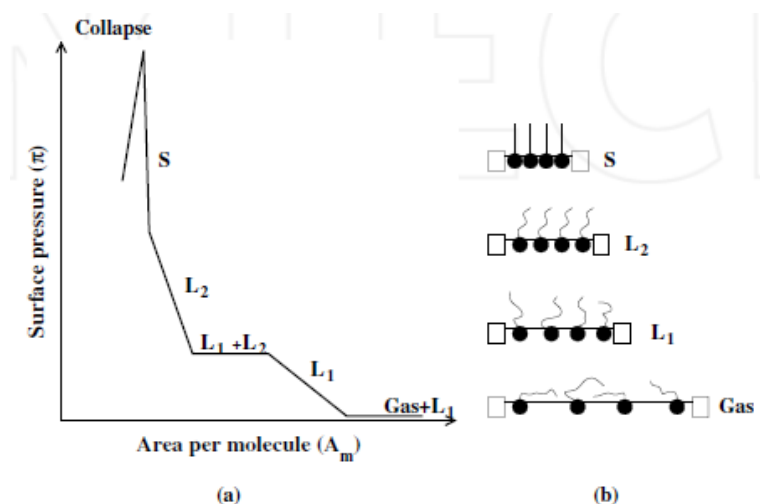
2.1.2 Závislost povrchového tlaku na ploše povrchu

Důležitou charakteristickou vlastností monovrstvy amfifilních molekul je změna povrchového tlaku se změnou plochy subfáze, která je dostupná pro každou molekulu. Tato závislost je pak vynášena za konstantní teploty a označuje se jako Π -A izoterma.¹¹ Počet fázových přechodů pozorovatelných na izotermě se odvíjí od použitého materiálu, ukázka izotermy pro n-pentadekanovou kyselinu je uvedena na obr. 2.



Obr. 2: Srovnání třídímní p-V izoterm CO_2 (a) a dvoudímní Π -A izoterm n-pentadekanové kyseliny (b).⁹

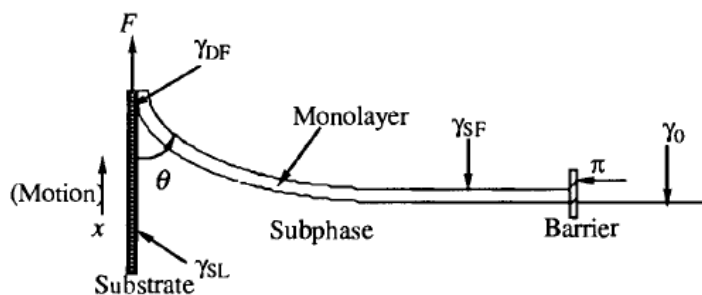
Během komprese prochází monovrstva různými fázovými přechody, které můžeme pozorovat jako nespojitosti na izotermě. Fázové přechody monovrstvy jsou podmíněny fyzikálně-chemickými vlastnostmi amfifilu, délkou uhlovodíkového řetězce, teplotou, přitažlivými a odpuzivými interakcemi mezi hydrofilními a hydrofobními částmi amfifilu. Na izotermě můžeme pozorovat různé stavové přechody, *plynný stav* (G), který může další kompresí přejít do *kapalného-expandovaného stavu* (LE). Dále pak *kapalný-kondenzovaný stav* (LC) následující za LE přechodem a při vyšších tlacích může monovrstva dojít až do *pevného stavu* (S). Po dosažení pevného stavu dochází k zhroucení dvoudímní struktury do třídímní, toto je běžně označováno jako „kolaps“. Kolaps můžeme pozorovat jako prudký pokles tlaku nebo jako horizontální zlom na izotermě v případě, že se monovrstva nachází v kapalném stavu (obr. 3).¹⁰



Obr. 3: Ukázka typické Π -A izotermy s různými fázovými prechody Langmuirovy monovrstvy (a) a molekulárního přeuspořádání během změny fázi (b).⁶

2.1.3 Depozice LB filmu

Během depozice LB filmu dochází k přenášení amfifilu z hladiny subfáze na povrch pevného substrátu jeho protahováním nahoru nebo dolů skrze monovrstvu. Tímto způsobem je tedy možno naadsorbovat plovoucí vrstvu na pevný substrát a vytvořit i vícevrstvé struktury.⁴



Obr. 4: Depozice LB filmu na pevný substrát.⁷

Běžně je LB depozice monovrstvy prováděna v pevné fázi, jelikož přitažlivé síly mezi molekulami jsou dostatečně silné, aby se monovrstva nerozpadla při přenosu na pevný substrát. Nicméně při nadměrně vysokých tlacích může nárůst povrchového tlaku, zapříčiněný pevným substrátem, vést ke zhroucení monovrstvy.⁴

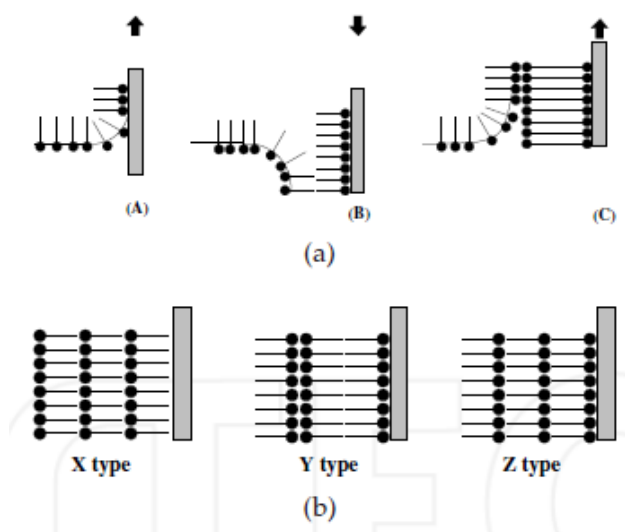
V případě, že máme hydrofobní substrát (silikon), je první monovrstva vytvářena depozicí ponořováním substrátu do subfáze, pro hydrofilní substrát (sklo) je depozice monovrstvy prováděna vynořováním substrátu ze subfáze.⁷

Důležitým měřítkem kvality i kvantity depozice monovrstvy na pevný substrát je přenosové číslo τ , které je definované jako úbytek plochy během depozice A_f ku ploše substrátu A_s ,

$$\tau = A_f / A_s$$

přičemž pro ideální případ je tato hodnota rovna jedné.⁹

V závislosti na způsobu depozice pak můžeme dostat filmy typu X, Y, Z nebo kombinovaný XY. Filmy typu X se nanášejí při ponořování do subfáze a filmy typu Z při vynořování substrátu ze subfáze. Filmy typu Y se nanášejí v obou směrech.⁷



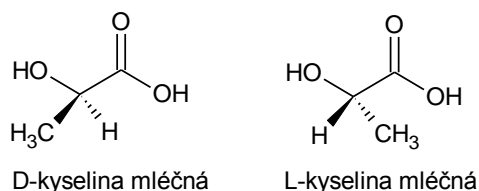
Obr. 5: Mechanismus tvorby LB filmu (a): (A) první vynořování, (B) první ponořování a (C) druhé vynořování. Ukázka různých typů filmů, X-, Y- a Z- typu, (b).⁶

Klasická depozice LB filmů je prováděna ve vertikálním směru, monovrstva se však může nanášet i v horizontálním směru Langmuir-Schaeferovou technikou (LS).⁷

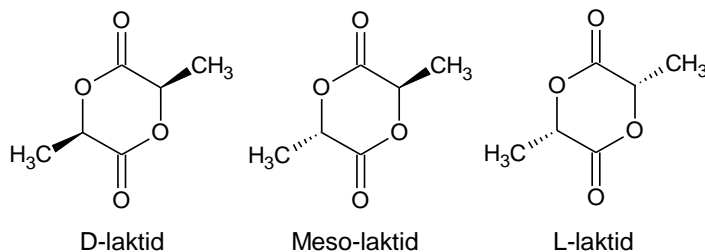
3 Polymery kyseliny mléčné

3.1 Vlastnosti kyseliny mléčné

Kyselina mléčná (2-hydroxypropionová kyselina, $\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$) je jednoduchá molekula, vyskytující se ve dvou optických aktivních formách, D-(R) a L-kyselina mléčná (S). Opticky neaktivní je D,L forma, tj. ekvimolární směs D(-) a L(+) kyseliny mléčné.¹²



Laktidy jsou cyklické dimery kyseliny mléčné, mohou se vyskytovat jako L,L nebo D,D enantiomery, souhrnně označované jako L-laktidy (S,S) nebo D-laktidy (R,R). *Meso*-laktid pak obsahuje (R,S) a racemická, resp. ekvimolární směs L- a D- enantiomerů se označuje jako *rac*-laktid neboli DL-laktid. V literatuře se někdy *meso*-laktid nesprávně označuje jako DL-laktid.^{13, 14}



Kyselina mléčná je přirozeně se vyskytující organická látka, které je produkována chemickou syntézou nebo fermentací. V současnosti je největší podíl kyseliny mléčné získáván pomocí fermentace. Je to zejména z důvodu nízkonákladovosti tohoto přístupu oproti chemické syntéze a navíc tento způsob přípravy neznamena takovou zátěž pro životní prostředí. Během fermentace je vhodný uhlovodík převáděn mikroorganismy na kyselinu mléčnou. K dnešnímu dni se nejvíce využívají bakterie rodu *Lactobacillus*, které produkují vysoká množství kyseliny mléčné, především pak její L- enantiomer. Biotechnologický postup navíc přináší opticky čisté izomery L-(+)- nebo D(-)-kyseliny mléčné. Naproti tomu chemická syntéza vychází z hydrolýzy laktonitrilu pomocí silné kyseliny, při tomto postupu získáváme výhradně racemickou směs D- a L-kyseliny mléčné.^{12, 14, 15}

Přítomnost hydroxylové a karboxylové funkční skupiny v molekule kyseliny mléčné implikuje intermolekulární a intramolekulární esterifikaci. V první fázi této kondenzační reakce vzniká lineární dimer kyseliny, laktyl-laktát, nicméně při odebrání vody mohou vznikat i vyšší oligomery. V malém množství vzniká i cyklický dimer, laktid, který může být připraven intramolekulární esterifikací laktyl-laktátu nebo rozpojením vyšších oligomerů. Všechny tyto reakce jsou rovnovážné. Díky těmto reakcím obsahuje roztok kyseliny mléčné v rovnováze směs monomeru kyseliny mléčné, dimerů a vyšších oligomerů kyseliny mléčné. Tyto kondenzační reakce jsou pak důvodem, proč je natolik obtížné obdržet čistý enantiomer kyseliny mléčné. Tohoto cíle lze dosáhnout pouze krystalizací.¹²

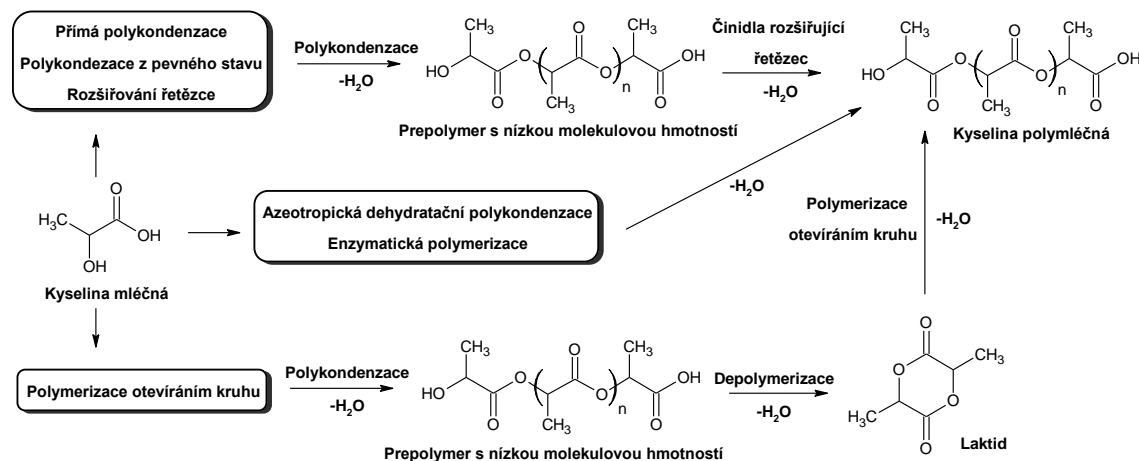
3.2 Polymerizace kyseliny mléčné

Polymery založené na kyselině mléčné je možné připravit **polykondenzací**, při níž dochází k reakci hydroxylové a karboxylové skupiny kyseliny mléčné za současného odštěpení vody. Nejčastěji se využívá *přímé polykondenzace*, tento způsob ovšem vede jen k nízkým molekulovým hmotnostem a malé výtěžnosti. Přímá kondenzace skýtá oproti polymerizaci otevíráním kruhu menší počet mezikroků a ve výsledku je tato metoda tudíž i ekonomičtější.¹⁶ Nízká výstupní hmotnost při tomto postupu polykondenzace je zcela zjevně důsledkem rovnováhy mezi vznikajícími oligomery, volnou kyselinou a vodou, vznikající během reakce. Oligomery tvořené polykondenzací mají průměrnou molekulovou hmotnost několik desítek tisíc. Mezi další polykondenzační postupy patří například *polykondenzace z pevné fáze* nebo *azeotropická dehydratace*.¹²

Dalším významným způsobem přípravy je **polymerizace otevíráním kruhu** (*ring opening polymerization*, ROP) laktidu. Všeobecně můžeme postupy použité pro ROP polylaktidů rozdělit do tří kroků, které zahrnují: polykondenzaci, výrobu laktidu a polymerizaci otevíráním kruhu. Laktid může být připraven například pomocí dekomprese, během níž je ze systému separována voda a následně se přidává vhodný katalyzátor, aby došlo k tvorbě laktidu. Celá tato procedura je pak zakončena právě rozpojením kruhu laktidu. Tato metoda je často upřednostňovaným způsobem přípravy vysokomolekulárních polylaktidů díky možnosti přesnější kontroly podmínek a tím preciznějšího vyladění vlastností výsledného polymeru. Možnost ovlivnění činí z ROP

metodu velice vhodnou pro velké množství využití. Touto metodou je možno dosáhnout až molekulové hmotnosti 300 tisíc.^{12, 15}

Mezi další přípravy polymerů kyseliny mléčné patří **rozšiřování řetězce** nebo **enzymatická polymerizace**.¹⁶



Obr. 6: Schéma přípravy polymerů kyseliny mléčné

3.3 Vlastnosti polymerů kyseliny mléčné

Kyselina polymléčná (*polylactic acid*, PLA) je vysoce všestranný, alifatický polyester, se slibnými biologickými vlastnostmi, jako jsou biodegradabilita a biokompatibilita, připravovaný ze 100% přírodních zdrojů.¹⁶ PLA je čistý, bezbarvý termoplast pouze, když je chlazený z taveniny a je v mnoha ohledech podobný polystyrenu. PLA může být převedena, jako většina termoplastů na vlákna a film.¹³ Pro využitelnost biopolymerů je důležité, aby vlastnosti daného materiálu byly laditelné pro jejich využití ve strojírenství. PLA má široké spektrum využití v medicíně, např. chirurgické nitě, materiál na fixaci kostí, přenos léčiv a tkáňové inženýrství.¹⁶

PLA byla poprvé objevena Carothersem (DuPont) roku 1932, který zahříval kyselinu mléčnou pod vakuem a obdržel polymer o nízké molekulové hmotnosti. 1954 firma DuPont připravila polymer s vyšší molekulovou hmotností a postup si nechala patentovat. První komerční využití našly polymery kyseliny mléčné jako resorbovatelné chirurgické nitě, později i jako prostatické náhrady. V současnosti se používá jako balicí materiál pro potraviny nebo pro chirurgické aplikace, jako je například řízené uvolnění léčiv¹⁵

3.3.1 Struktura

Nemodifikované polylaktidy jsou lineární makromolekuly, přičemž jejich molekulární uspořádání je určováno jejich stereochemickým složením. Opakující se jednotka PLA obsahuje jedno chirální centrum, které je buď v konfiguraci L(S) nebo D(R).¹²

Chemie PLA se odvíjí od způsobu přípravy a typu polymerizace monomeru kyseliny mléčné. Při polymerizaci otevíráním kruhu laktidu jsou opakující se jednotky do řetězce přidávány po dvou, jako dimer kyseliny mléčné nebo jsou připojovány do finálního řetězce polymeru jako monomerní jednotky kyseliny mléčné přímou kondenzační polymerizací.¹²

Jelikož má kyselina mléčná chirální centrum, tak i PLA má stereoizomery, tj. poly(L-lactid) (PLLA), poly(D-lactid) (PDLA) a poly(DL-lactid) (PDLLA). Pouze izotaktické a opticky aktivní PLLA a PDLA jsou krystalické, naproti tomu ataktický a opticky neaktivní PDLLA je amorfní. Z hlediska fyzikálně-chemických charakteristik jsou opticky aktivní PDLA a PLLA téměř stejné, zatímco racemická PLA má odlišné vlastnosti. L-isomer je běžně se vyskytujícím biologickým metabolitem a hlavní frakcí při získávání PLA z obnovitelných přírodních zdrojů, z toho důvodu je považován za biokompatibilnější než ostatní isomerní formy.¹³

V závislosti na výrobních podmínkách poly(L-lactid) krystalizuje ve třech formách (α , β a γ). Stabilní α -forma vykazuje velice dobře definovaný difrakční obrazec. Bylo zjištěno, že α -forma (3_1) se vyskytuje jako polymerická dvoušroubovice s pseudoorthorombickou základní buňkou. Druhá modifikace, β -forma (10_3), existuje jako šroubovice s orthorombickou základní buňkou, obsahující šest řetězců.¹²

Všeobecně jsou PLA produkty rozpustné v dioxanu, chloroformu (CHL), dichlormethanu (DCM), acetonitrilu, 1,1,2-trichlorethanu a v kyselině dichloroctové. Ethylbenzen, toluen, aceton (AC) a tetrahydrofuran (THF) rozpouští za studena polylaktidy jen částečně, ale při teplotě varu jsou plně rozpustné. Polymery odvozené od kyseliny mléčné jsou nerozpustné ve vodě, alkoholech jako je metanol, etanol a propylen glykol a nesubstituovaných uhlovodících (např. hexan a heptan). Krystalická PLLA není rozpustná v acetonu, ethylacetátu a THF. Krystalická PLA je rozpustná v chlorovaných rozpouštědlech a benzenu za zvýšené teploty. PLA může být krystalizována pomocí pomalého chlazení, žhání nad T_g nebo filtrační krystalizací.^{13, 16}

3.3.2 Fyzikální vlastnosti

Vlastnosti PLA závisí na přítomnosti jednotlivých isomerů, výrobní teplotě, době žíhání a molekulové hmotnosti. Prostorové uspořádání a teplotní závislost mají přímou souvislost s krystalicitou. PLA s obsahem PLLA 90 % má tendence ke krystalicitě, naproti tomu stereokopolymery s nižší optickou čistotou jsou již amorfni. Teplota tání (T_i) a teplota skelného přechodu (T_g) PLA narůstá s převládajícím obsahem PLLA nebo PDLA.¹⁵

PLLA má krystalinitu okolo 37 %, T_g mezi 50-80 °C a teplotu tání mezi 173-178 °C. Díky pravidelnému prostorovému uspořádání jednotlivých složek řetězce jsou opticky čisté enantiomery PLLA a PDLA semikrystalické. Schopnost polyaktidů krystalizovat v pravidelné krystalické mřížce narůstá se zvyšující se prostorovou pravidelností řetězce a je omezena na optickou čistotu vyšší 43 %, pod tuto hodnotu nejsou již schopny nadále vytvářet krystalickou strukturu.¹²

Fyzikální charakteristiky jako hustota, tepelná kapacita, mechanické a reologické vlastnosti PLA závisí na teplotě přechodu (T_s). Pro amorfni PLA je nejdůležitější charakteristikou teplota skelného přechodu (T_g), při níž dochází k významným změnám v mobilitě řetězce polymeru, k tomuto dochází jak při teplotě T_g tak i nad ní. Pro semikrystalickou PLA jsou T_g i T_i důležitým fyzikálním parametrem při předvídání vlastností PLA.¹⁵

Entalpie tání je odhadována pro opticky čistý izomer PLA se 100% krystalinitou (ΔH_m°) na 93 J/g; toto je v literatuře nejčastěji zmiňovaná hodnota, ačkoliv byly zaznamenány i vyšší hodnoty (nad 148 J/g). Teplota tání a stupeň krystalinity závisí na molární hmotnosti, tepelné historii a čistotě polymeru.¹³

Pro hustotu amorfni a krystalické PLLA se uvádí hodnoty na 1,248 g/ml a 1,290 g/ml. Jiné zdroje udávají pro pevný polyaktid hustotu 1,36 g/cm³ pro l-aktid, 1,33g/cm³ pro *meso*-aktid, 1,36 g/cm³ pro krystalický polyaktid a 1,25 g/cm³ pro amorfni polyaktid.¹³

3.3.3 Degradace

PLLA je věnována velká pozornost díky její biokompatibilitě a mechanickým vlastnostem. Nicméně její dlouhá doba degradace, která je spojená s vysokou krystalicitou jejích úlomků, může být příčinou zánětlivého onemocnění.¹⁶ V reakci na tuto obtíž se PLLA využívá v kombinaci L- a D,L- monomeru kyseliny mléčné pro získání materiálu, který se odbourává rychleji, aniž by během tohoto procesu docházelo k tvorbě krystalických center.¹⁵

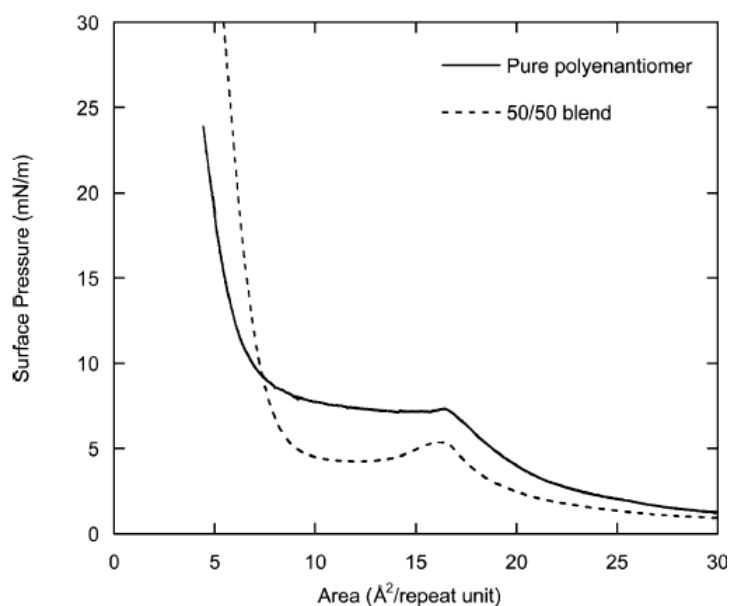
PLA degraduje především na základě hydrolyzy, pokud je po několik měsíců vystavena suchu. Polylaktid degraduje ve dvou stupních. Nejprve náhodné neenzymatické zkracování řetězce na esterových skupinách vede k redukci molekulové hmotnosti. V druhém kroku je pak molekulová hmotnost redukována až na kyselinu mléčnou a oligomery o nízké molekulové hmotnosti, které jsou přirozenými pochody metabolizovány za pomoci mikroorganismů na CO₂ a vodu.^{12, 14}

Molekulová hmotnost má značný vliv na vlastnosti daného polymeru, jako je degradace, mechanická pevnost a rozpustnost. PLA o vysoké molekulové hmotnosti (např. 106 000 g/mol) má dobu, za kterou se kompletně resorbuje, 2 až 8 let. Taková dlouhá životnost v živém organismu může vést v některých orgánech k zánětu a infekci. Z toho důvodu je žádoucí vyrábět PLA s nižší molekulovou hmotností, jelikož ji provází kratší doba degradace. Při studiu doby degradace u nízko molekulární PLLA (60 000 g/mol) bylo zjištěno, že implantáty byly schopné udržet svoje mechanické schopnosti, které odpovídaly běžné době, potřebné k zahojení fraktury kosti. Nízkomolekulární polylaktidy využívané na přenos léčiv vykazují nízkou retardační hranici. Degradují pomocí hydrolyzy vcelku rychle na kyselinu mléčnou, čímž se redukuje hrozba akumulace materiálu v tkáni.¹⁵ Nicméně dobu degradace PLLA lze zkrátit i na základě její funkcionalizace.¹⁶

3.3.4 Langmuirovy monovrstvy PLA na rozhraní kapalina-vzduch

Amfifilní polymery mohou vytvářet po nanesení na rozhraní voda-vzduch Langmuirovy monovrstvy a zaujmout podobné uspořádání jako amfifilní molekuly lipidů nebo mastných kyselin. Robustní amfifilní molekuly, jako jsou polymery, vykazují málo komplikovanou strukturu Π -A izotermy, většinou rozdělenou jen do tří

fází: plynné, kapalně a fáze podobné pevné. Polymerní monovrstvy můžeme klasifikovat buď jako „kondenzované“ nebo jako „expandované“, nicméně kondenzovaná a expandovaná fáze u polymerů se liší od kondenzované a expandované fáze mastných kyselin. Na Π -A izotermě polymerních monovrstev PLA můžeme vidět komplikovanější strukturu, jako je LE/LC přechod, který můžeme nalézt u malých molekul, ale pro polymerní monovrstvy nejsou příliš typické. S LE/LC přechodem se mimo PLLA můžeme setkat ještě u dvou polymerů.⁷ Ukázky izoterem pro monovrstvu PLA jsou vidět na obr. 7.



Obr. 7. Π -A izotermy nanosených monovrstev poly(L-laktidu) (plná čára) a ekvimolární směs (přerušovaná čára) poly(L-laktidu) a poly(D-laktidu) při 35 °C. Pro čistý polyenantiomers je možno rozlišit ostré koleno v rozmezí 16-17 $\text{\AA}^2/\text{monomer}$ a rovinu při tlaku 7 mN/m naproti tomu pro směs je oblast kolena širší a rovina se objevuje již při tlaku 4 mN/m.¹⁷

4 Experimentální část

4.1 Materiály

Poly(L-laktid) terminovaný aminem (Sigma-Aldrich) s průměrnou molekulovou hmotností (M_n) určenou výrobcem na $4 \cdot 10^3$ g/mol a s distribucí molekulové hmotnosti (polydisperzitou, $PDI (M_w/M_n) \leq 1,2$).

Rozpouštědla využívaná k nanášení polymeru na hladinu subfáze: chloroform (Lachema), dichlormethan (Penta, p. a.), tetrahydrofuran (Penta), aceton (Lach-Ner, p. a.) byla použita bez dalšího přečišťování.

Pro měření kontaktního úhlu byly použity dvě referenční kapaliny: destilovaná voda a etylen glykol (Lachema).

Jako substrát pro depozici LB filmů byla použita krycí mikroskopická skříčka o rozměru 24x30 mm. Skříčka byla vyčištěna ponořením do roztoku Piranha (směs H_2SO_4 (Lach-Ner, 96%) a H_2O_2 (Penta, 30%), v poměru 7:3) na 30 min, poté byla opláchnuta destilovanou vodou a z povrchu skříčka byla odsáta zachycená voda pomocí vakuové pumpy.

Disperze koloidního stříbra, která společně s deionizovanou vodou sloužila jako subfáze pro přípravu monovrstev polymeru, byla připravena upraveným Tollensovým postupem.¹⁸ Na jeho přípravu byl použit NaOH (Lach-Ner), $AgNO_3$ (Sigma-Aldrich, $\geq 99\%$), NH_4OH (Sigma Aldrich, 28-30% vodný roztok), D(+)-maltosa monohydrát (Sigma Aldrich). 25 ml roztoku bylo připraveno slitím reakčních komponent za stálého míchání v následujícím pořadí: 5 ml $5 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ $AgNO_3$, 1,25 ml $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ NH_4OH , 11,75 ml destilované vody, 2 ml $0,25 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ NaOH a 5 ml $0,05 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ maltózy. pH výsledné disperze činilo 11,4 s průměrnou velikostí částic 32,4 nm a PDI 0,206, takto připravená disperze byla následně 10x zředěna na výsledné pH 10,35 a takto upravená byla použita jako subfáze pro nanášení polymerní monovrstvy.

4.2 Metody

Rovnovážné měření Langmuirova filmu a depozice Langmuir-Blodgettové (LB) filmů. II-A izotermy byly pořízeny za použití KSV Minimicro film balance (KSV Instruments Ltd., Helsinki, Finland), vybaveného dvěma hydrofilními bariérami z polymerního materiálu Delrin a měřením povrchového tlaku pomocí Wilhelmyho plátku. Plocha hydrofobního teflonového korýtka je 170x50 mm (8500 mm²). Teplota

se během jednotlivých měření pohybovala v rozsahu 20-25 °C. Roztok polymeru určený k nanášení monovrstvy na hladinu subfáze měl konečnou koncentraci 0,5 mg/ml pro jedno z následujících rozpouštědel, chloroform, aceton, dichlormethan nebo tetrahydrofuran a byl v množství 4-23. µl nanášen na hladinu subfáze.

Před začátkem měření bylo korýtko a pohyblivé bariéry nejprve očištěny etanolem a destilovanou vodou. Následně bylo korýtko vyplněno subfází tak, že o několik milimetrů přesahovalo okraj korýtka. Bariéry byly staženy na minimální plochu, aby se vyčistila hladina subfáze odsátím nečistot pomocí vakuové pumpy. Tato procedura byla opakována 2-3x. Wilhelmyho plátek byl poté opláchnut etanolem a destilovanou vodou. Zavěšen na váhy a ponořen do subfáze. V případě, že se plátek kompletně nesmácel při ponoření do subfáze, bylo jej nutné vyžít. Pokud povrchový tlak nepřesáhl 0,3 mN/m, začal se nanášet roztok polymeru na hladinu subfáze pomocí mikropipety tak, že se na špičce jehly vytvořila malá kapka roztoku, která se opatrně rozptýlila po hladině. Tímto způsobem se naněs veškerý roztok a rozpouštědlo nechalo 15 min odpařit.

Cyklus komprese-expanze nanášené monovrstvy byl zahájen kompresí bariér k sobě za konstantní rychlosti komprese 14 mm/min nad tlak zhroucení monovrstvy. Po kompresi se čekalo 5 min, než začala expanze, rychlost expanze byla taktéž 14 mm/min. Cyklus komprese-expanze byl opakován celkově 2x.

Polymerní monovrstva byla přenášena z rozhraní vzduch-subfáze na hydrofilní substrát za užití tradiční vertikální depozice Langmuira-Blodgettové (LB), za konstantní rychlosti depozice 1 mm/min. Substrát byl ponořen 15 mm pod hladinu subfáze ještě před nanášením roztoku polymeru. Po dosažení tlaku 7,5 mN/m se nechala monovrstva přibližně na 45 min ustálit, poté byla zahájena depozice, doba sušení při nanášení více vrstev činila 30 min.

Měření kontaktního úhlu. Měření kontaktního úhlu na LB filmech bylo měřeno pomocí Surface Energy Evaluation System (SEE systém, Advex Instruments, Brno, Czech Republic). Aparatura je vybavena video kamerou pro pozorování obrazu kapky a nastavitelným horizontálním stolcem pro vzorky. SEE systém je vybaven softwarem pro uložení obrazu z kamery, analýzu profilu kapky a kontaktního úhlu, určení povrchové energie podle různých modelů. Měření kontaktního úhlu bylo prováděno okamžitě po nanášení kapky kapaliny na pevný povrch. Kapky vody a etylen glykolu byly nanášeny pomocí pipety. Zaznamenané hodnoty kontaktního úhlu byly získány minimálně z osmi měření.

Následně byla provedena regresní analýza (fitování křivky) a integrace plochy pod křivkou izotermy v intervalu 1,75-11,31 Å²/monomer pomocí programu Advanced Grapher (dostupné z: www.alentum.com/agrapher/)

Skenovací elektronová mikroskopie. K pozorování povrchové morfologie vytvořených LB filmů byl použit skenovací elektronový mikroskop vybavený Schottkyho zdrojem Hitachi SU-6600 (Hitachi Ltd., Tokyo, Japan). Chemické složení připravených vrstev bylo určeno za pomoci energiově disperzního analyzátoru Thermo Scientific NORAN Systém 7.

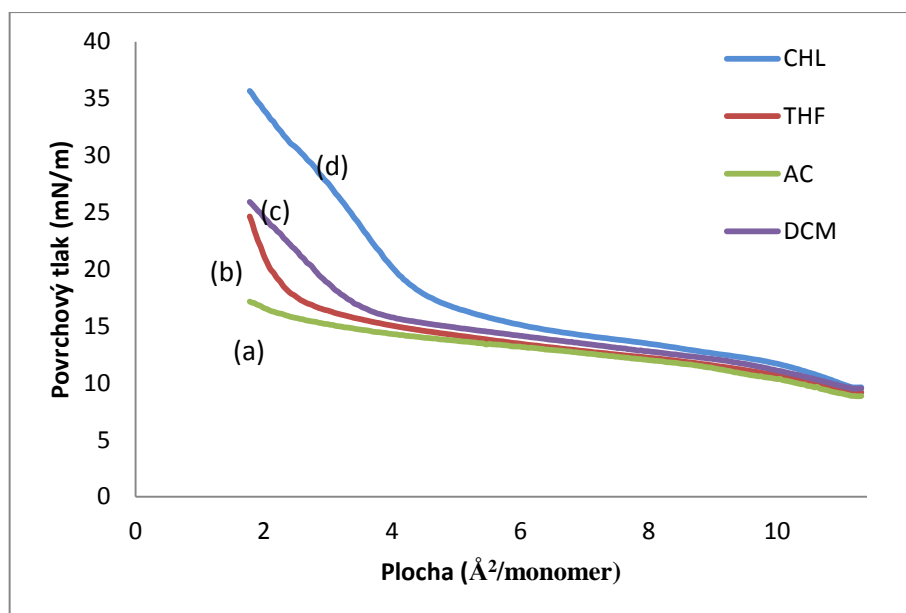
Dynamický rozptyl světla. K určení velikosti připravovaných nanočástic stříbra byl použit Zeta Potential Analyzer Zeta Plus (Brookhaven Instruments Corporation, USA).

5 Výsledky

5.1 Měření izoterm

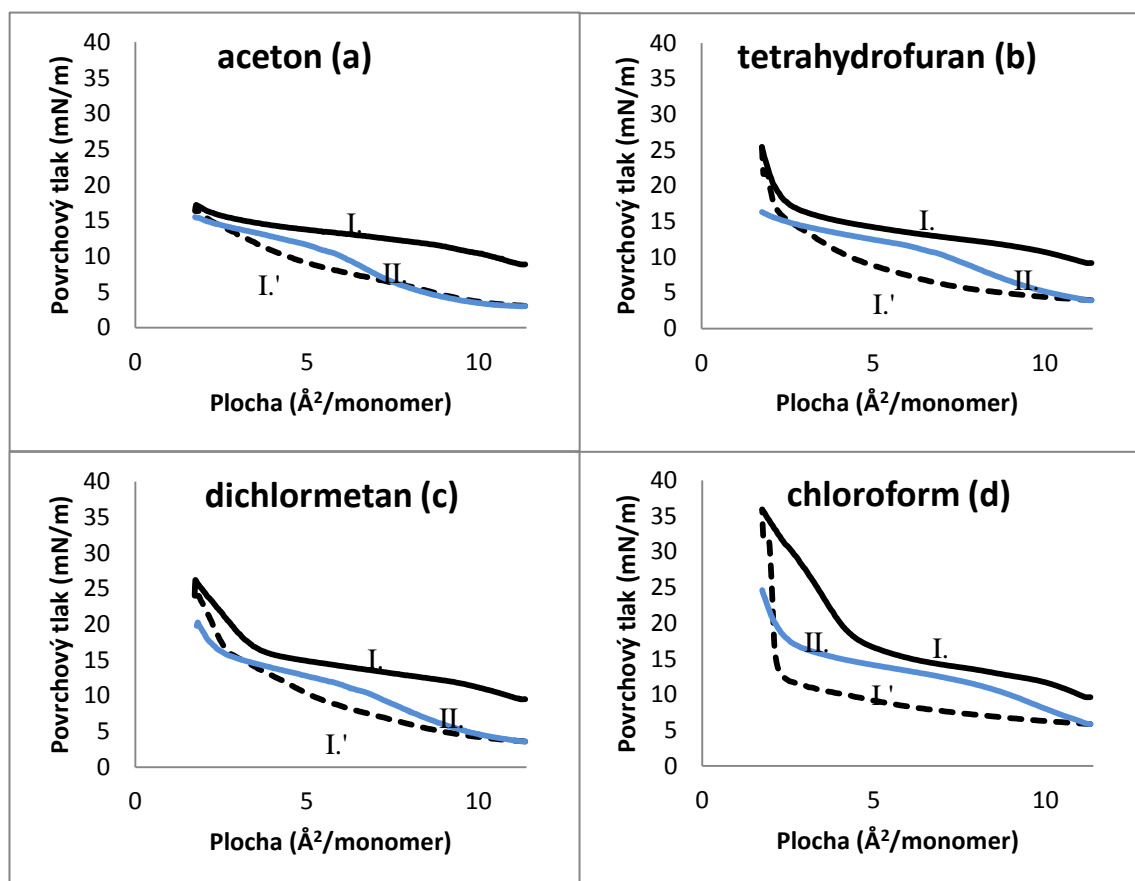
Π-A izotermy pro monovrstvy poly(L-laktidu) terminovaného aminem (PLLA-NH₂) při nanášení z různých organických rozpouštědel je uvedený na obr. 8. Ukazuje se, že použité rozpouštědlo má významný vliv na tvar izotermy. U tetrahydrofuranu (THF) a acetonu (AC) dochází k pozdějšímu nástupu nárůstu tlaku, charakteristického pro oblast existence multivrstvy, až při hodnotě plochy pod 2,5 Å²/monomer, zatímco pro dichlormethan (DCM) se tato hodnota pohybuje okolo 3,5 Å²/monomer a pro chloroform (CHL) se zlom na křivce objevuje již při 4,5 Å²/monomer.

Pro aceton nelze prakticky pozorovat oblast s prudkým nárůstem tlaku, zlom na křivce je viditelný až na samém konci zvoleného intervalu. U THF se objevuje prakticky vertikální zlom na křivce při 2,5 Å²/monomer, se zvýšením tlaku z 15,5 na 24,5 mN/m na velice úzké ploše. Dichlormethan má širší základnu, mezi 3,5 a 1,9 Å²/monomer, s navýšením tlaku z 16,5 na 24,7 mN/m. Chloroform dosahuje nejvyššího tlaku ze všech rozpouštědel a to na ploše mezi 4,5 a 1,9 Å²/monomer z tlaku 17,0 na 34,4 mN/m.



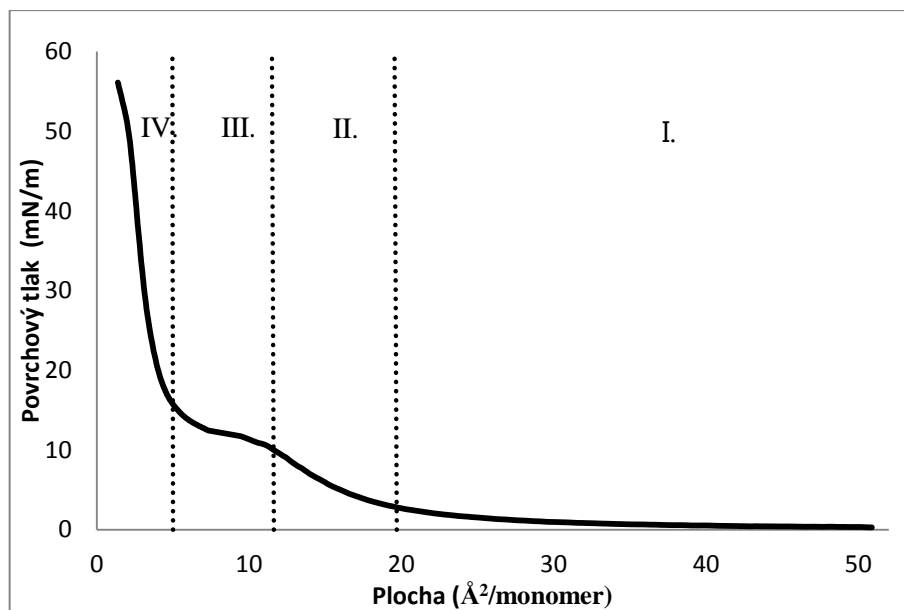
Obr. 8. Π-A izotermy pro monovrstvy poly(L-laktidu) terminovaného aminem při nanášení 9 µg polymeru na vodní subfázi z (a) acetonu, (b) THF, (c) dichlormethanu a (d) chloroformu. Měřeno při konstantní rychlosti komprese 14 mm/min.

Cykly komprese-expanze pro monovrstvy polymeru jsou ukázány na obr. 9. Výpočty plochy (tab. 1) mezi křivkou první komprese a první expanze ukazují na zmenšování plochy během cyklu komprese a expanze pro jednotlivá rozpouštědla v tomto pořadí $\text{CHL} > \text{DCM} > \text{THF} > \text{AC}$. Toto pořadí je shodné s velikostí zaujaté plochy během první i druhé komprese.



Obr. 9. Cykly komprese-expanze pro monovrstvy poly(L-laktidu) terminovaného aminem při nanesení 9 μg polymeru na vodní subfázi z (a) acetonu, (b) THF, (c) dichlormetanu a (d) chloroformu. (I.) první komprese, (II.) první expanze a (I.') pro druhou kompresi. Měřeno při konstantní rychlosti komprese a expanze 14 mm/min.

Na obr. 10. je uvedena Π -A izoterma pro monovrstvu poly(L-laktidu) terminovaného aminem o $M_n = 4 \cdot 10^3$ g/mol při teplotě 22,5 °C při nanášení z chloroformu. Rozeznatelné jsou různé regiony: (I.) oblast nízkého povrchového tlaku, vysoce stlačitelná monovrstva, odpovídající kapalně-expandované (LE) fázi; (II.) málo stlačitelná oblast, odpovídající kapalně-kondenzované (LC) fázi; (III.) plošina při $\Pi \approx 11,5$ mN/m; a (IV.) málo stlačitelná oblast, formace multivrstvy, odpovídající pevné fázi.



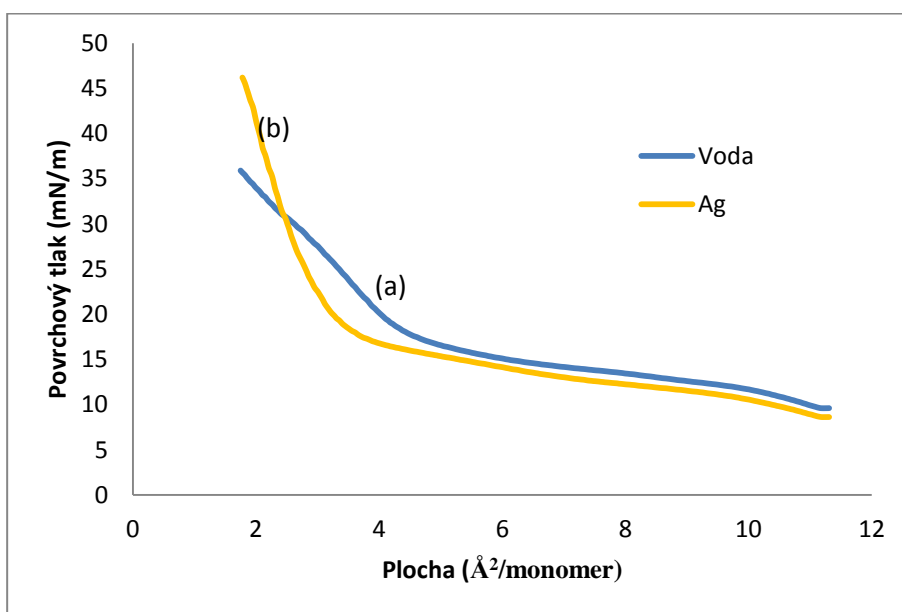
Obr. 10. Složená II-A izoterma pro Langmuirův film poly(L-laktidu) terminovaného aminem o $M_n = 4 \cdot 10^3$ g/mol na rozhraní voda-vzduch rozprostřený z chloroformu. při teplotě 22,5 °C a konstantní rychlosti komprese 14 mm/min. Je možno rozlišit čtyři regiony: (I.) oblast $> 19,5 \text{ \AA}^2/\text{monomer}$, existence LE fáze, (II.) 19,5 – 11,5 $\text{Å}^2/\text{monomer}$ vytvoření LC monovrstvy, (III.) 11,5 – 5 $\text{Å}^2/\text{monomer}$ plocha indikující zhroucení monovrstvy a (IV.) oblast $< 5 \text{ \AA}^2/\text{monomer}$, formace multivrstvy.

Tab. 1. Výpočty ploch u cyklů komprese-expanze pro jednotlivá rozpouštěla s horní mezí 11,31 $\text{Å}^2/\text{monomer}$ a dolní mezí 1,75 $\text{Å}^2/\text{monomer}$. Vše v jednotkách $\text{mN} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{Å}^2 \cdot \text{monomer}^{-1}$.

| rozpouštědlo/subfáze | I_{comp}^1 | I_{exp}^1 | I_{comp}^2 | ΔI_{c-e}^{1-1} | ΔI_{c-c}^{1-2} |
|----------------------|--------------|-------------|--------------|------------------------|------------------------|
| AC/V | 122.48 | 75.50 | 82.43 | 46.98 | 40.05 |
| THF/V | 129.83 | 78.75 | 97.27 | 51.08 | 32.56 |
| DCM/V | 139.41 | 88.30 | 98.31 | 51.11 | 41.11 |
| CHL/V | 164.49 | 86.59 | 121.07 | 77.97 | 43.42 |
| CHL/Ag | 151.64 | 89.02 | 114.60 | 62.62 | 37.04 |

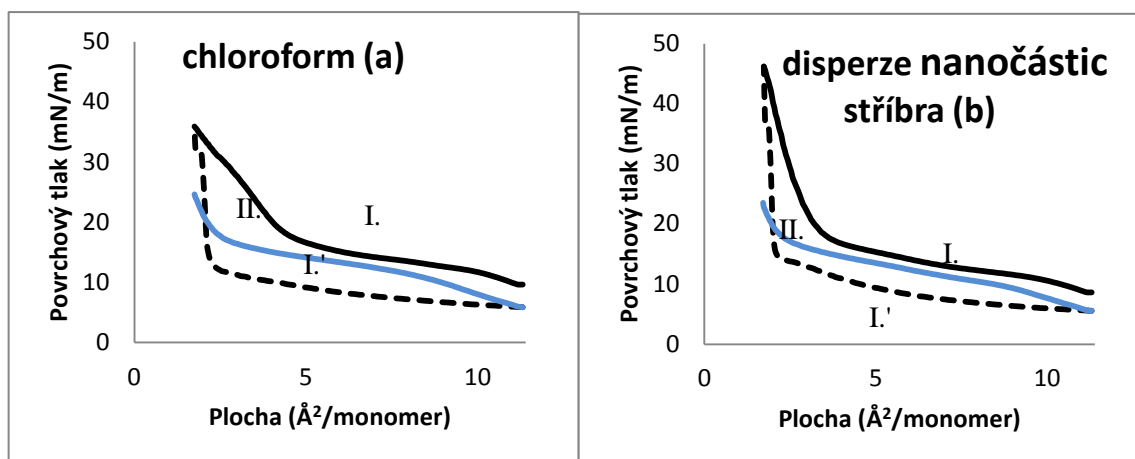
I_{exp}^1 první komprese, I_{exp}^1 první expanze, I_{comp}^2 druhá komprese, ΔI_{c-e}^{1-1} rozdíl plochy mezi první kompresí a expanzí a ΔI_{c-c}^{1-2} rozdíl plochy mezi první a druhou kompresí.

Π-A izotermy pro monovrstvy polymeru při nanášení z chloroformu na vodní subfázi a disperzi nanočástic stříbra o pH = 10,35 jsou uvedeny na obr. 11. Změna subfáze ovlivnila průběh izotermy, podobně jako při změně rozpouštědla. Pro vodní subfázi se zlom na křivce typický pro existenci multivrstvy objevuje již při 4,5 Å²/monomer, zatímco při použití disperze nanočástic stříbra až při 3,5 Å²/monomer. Izoterma pořizená na vodní subfázi vykazuje nárůst tlaku v širším intervalu a to v rozmezí plochy 4,5-1,9 Å²/monomer a změnou tlaku z 17,0 na 34,4 mN/m. Naproti tomu u izotermy pořizené na disperzi nanočástic stříbra se objevuje zlom s prudkým nárůstem tlaku z 17,2 na 45 mN/m na užším intervalu plochy z 3,7 Å²/monomer na 1,9 Å²/monomer.



Obr. 11. Π-A izotermy pro monovrstvy poly(L-laktidu) terminovaného aminem při nanesení 9 μg polymeru z chloroformu na vodní subfázi (a) a disperzi nanočástic stříbra (b) při konstantní rychlosti komprese 14 mm/min.

Cykly komprese-expanze pro monovrstvy poly(L-laktidu) terminovaného aminem pro různé subfáze jsou vidět na obr. 12. Ukazuje se, že dochází k redukci plochy pro disperze nanočástic stříbra mezi křivkou první komprese a první expanze oproti vodní subfázi (tab. 1.). Tento výsledek je shodný i pro velikost plochy zaujaté během první a druhé komprese, přičemž plocha pod křivkou je pro roztok koloidu stříbra menší než pro vodní subfázi.



Obr. 12. Cykly komprese-expanze pro monovrstvy poly(L-laktidu) terminovaného aminem při nanesení 9 μg polymeru z chloroformu na vodní subfázi (a) a disperzi nanočástic stříbra (b). (I.) první komprese, (II.) první expanze a (I.') pro druhou kompresi. Měřeno při konstantní rychlosti komprese a expanze 14 mm/min.

5.2 Depozice LB filmů

LB filmy se nanášely na skleněný substrát depozicí typu Z. Celkově byly vytvořeny dvě série vzorků; série typu *a* na vodní subfázi a série typu *b* na disperzi nanočástic stříbra. Série typu *a* čítala čtyři vzorky a série typu *b* jen tři vzorky. Čísla vzorků odpovídají počtu jejich ponoření a vynoření ze subfáze, přičemž v počáteční pozici byl substrát ponořen pod hladinu subfáze, tzn. vzorek s číslem dva byl jednou vynořen a ponořen.

5.3 Měření kontaktního úhlu

Měření kontaktního úhlu bylo prováděno na připravených vzorcích LB filmů na skleněném substrátu s dvěma referenčními kapalinami, kterými byly voda a etylen glykol. Následně byl prováděn výpočet volné povrchové energie polymerního filmu na základě OWRK modelu. V tab. 2. jsou uvedeny složky povrchového napětí referenčních kapalin použité k určení kontaktního úhlu na LB filmech. Výsledky jsou shrnuty v tab. 3. a tab. 4.

Tab. 2. Povrchová napětí referenčních kapalin využívaných pro měření kontaktního úhlu LB filmů (v jednotkách mJ/m^2) a jejich komponenty.

| kapalina | γ_l | γ_l^{AB} | γ_l^{LW} | γ_l^+ | γ_l^- |
|---------------|------------|------------------------|------------------------|--------------|--------------|
| voda | 72,8 | 51,0 | 21,8 | 25,5 | 25,5 |
| etylen glykol | 48,0 | 19,0 | 29,0 | 1,92 | 47,0 |

γ_l povrchové napětí kapaliny; γ_l^{LW} Lifshitz-van der Waalsova složka povrchového napětí kapaliny; γ_l^{AB} acido-bazická složka povrchového napětí; γ_l^+ elektron-akceptorová interakční komponenta γ_l^{AB} ; γ_l^- elektron-donorová interakční složka γ_l^{AB}

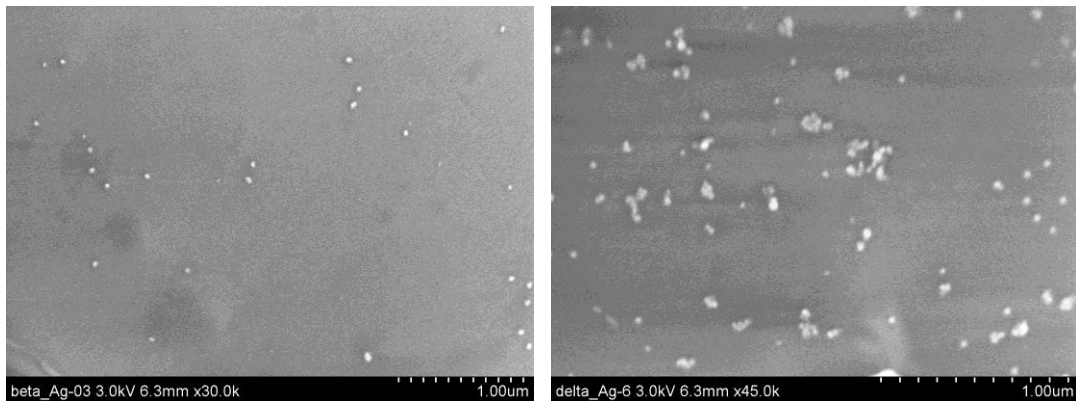
Tab. 3. Výsledky měření kontaktního úhlu (ve stupních) na LB filmech poly(L-laktidu) terminovaného aminem (uvedeny jsou průměrné hodnoty z celkem osmi jednotlivých měření).

| vzorek | voda | etylen glykol |
|--------|--------------|---------------|
| 1a | 36.21 ± 3.34 | 29.41 ± 2.93 |
| 2a | 39.34 ± 3.89 | 32.88 ± 4.18 |
| 3a | 35.45 ± 3.52 | 26.86 ± 2.37 |
| 4a | 39.58 ± 4.90 | 31.22 ± 3.77 |
| 1b | 21.84 ± 4.41 | 23.10 ± 4.02 |
| 2b | 26,96 ± 4,27 | 19,55 ± 3,31 |
| 3b | 22,95 ± 2,18 | 24,57 ± 4,13 |

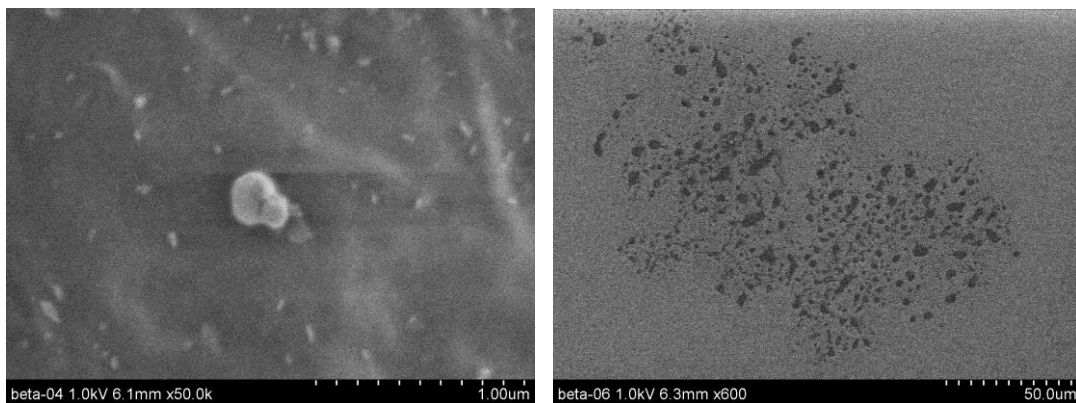
Tab. 4. Výpočty povrchové energie (v mJ/m^2) pro LB filmy poly(L-laktidu) terminovaného aminem.

| vzorek/složky | γ_s | γ_s^{LW} | γ_s^{AB} |
|---------------|------------|------------------------|------------------------|
| 1a | 67.23 | 3.53 | 63.70 |
| 2a | 64.56 | 3.52 | 61.05 |
| 3a | 67.01 | 4.04 | 62.97 |
| 4a | 63.30 | 4.18 | 59.13 |
| 1b | 82.52 | 1.63 | 80.90 |
| 2b | 74,77 | 3,29 | 71,48 |
| 3b | 82,77 | 1,54 | 80,61 |

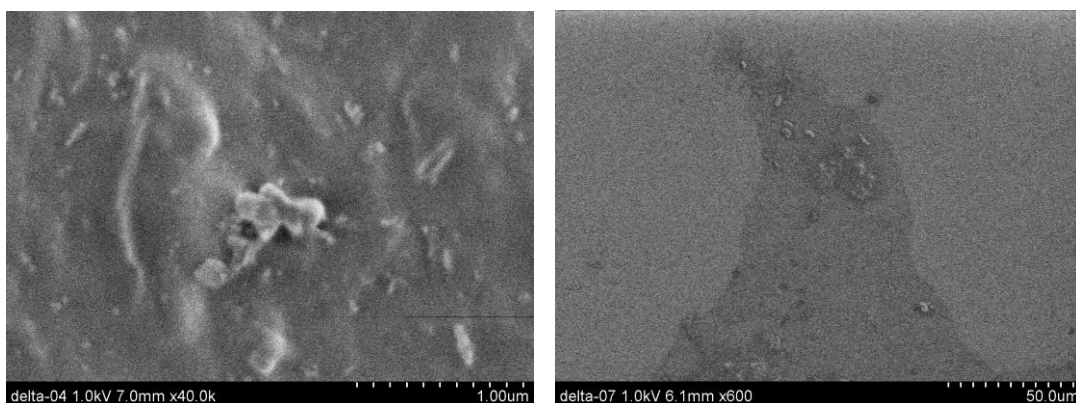
5.4 Skenovací elektronová mikroskopie



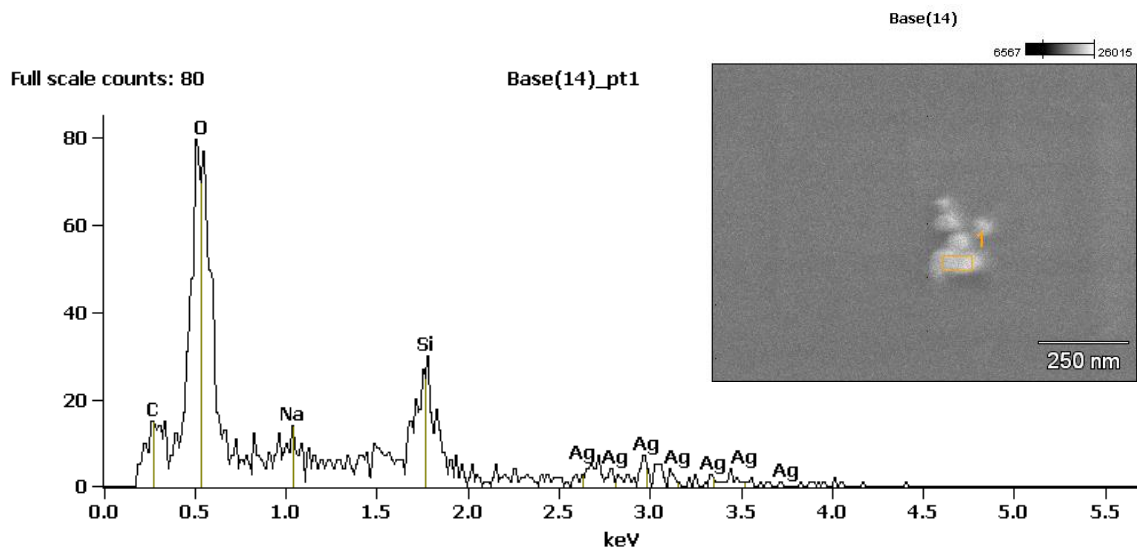
Obr. 13. SEM snímky LB filmů poly(L-laktidu) terminovaného aminem nanášených při tlaku 7,5 mN/m při použití disperze nanočástic stříbra jako subfáze pro vzorky 2b a 3b.



Obr. 14. SEM snímky LB filmů poly(L-laktidu) terminovaného aminem nanášených při tlaku 7,5 mN/m při použití vody jako subfáze pro vzorek 2a.



Obr. 15. SEM snímky LB filmů poly(L-laktidu) terminovaného aminem nanášených při tlaku 7,5 mN/m při použití vody jako subfáze pro vzorek 3a.



Obr. 16. Výsledky z EDS analýzy pro vzorek 1b.

Diskuze

Pro studium polymerních monovrstev na rozhraní voda-vzduch je pro jejich popis důležitá závislost povrchového tlaku na dostupné ploše povrchu. Na základě porovnání extrapolace plochy k nulovému tlaku z Π -A izotermy, lze získat informace o orientaci molekul a sbalení polymerní monovrstvy. Takové porovnání je možné jen v případě, že se molekuly polymeru během nanášení z organického rozpouštědla na vodní subfázi rozprostřou přes celou dostupnou oblast, tak aby vytvořily povrchovou vrstvu. V případě, že jsou kohezní síly mezi molekulami monovrstvy daleko vyšší v porovnání s její adhezí vůči vodní subfázi, zůstávají molekuly v třídímenzionálních klastrech při nanesení na rozhraní voda-vzduch a nedochází k jejich úplnému rozprostření. Naopak při vysoké adhezi vůči vodnímu povrchu a slabé kohezi mezi molekulami bude výsledná monovrstva nestabilní. Mezi těmito dvěma alternativami, může polymerní monovrstva existovat v závislosti na použitém polymeru, volbě subfáze nebo typu použitého rozpouštědla v různých uspořádáních.

Při porovnání Π -A izoterem pro různá rozpouštědla se ukazuje, že monovrstvy poly(L-laktidu) terminovaného aminem rozprostřené na vodní subfázi z acetonu, vykazují nízký tlak v širokém intervalu plochy, který je zcela zjevně důsledkem silných přitažlivých interakcí mezi jednotlivými částmi molekuly, což vede k sbalenějšímu uspořádání monovrstvy. Zdá se, že právě tyto silné přitažlivé interakce brání jednotlivým částem polymeru, aby se rozbalily z třídímenzionální struktury, kterou zaujímá při rozpuštění v acetonu nebo tetrahydrofuranu. Naopak při použití méně nepolárních rozpouštědel jako byl dichlormethan a chloroform, nebyla přitažlivá interakce mezi jednotlivými jednotkami polymeru natolik silná a polymer zaujímal rozbalenější strukturu, což se na Π -A izotermě projevovalo jako rychlejší zvýšení tlaku při větší mezimolekulové vzdálenosti. V tomto ohledu se jeví chloroform jako nejideálnější rozpouštědlo pro nanášení polymeru na vodní subfázi.

Porovnání efektu různých rozpouštědel na vliv rozprostření polymeru na vodní subfázi provedli například C. Ringard-Lefebvre a A. Baszkin¹⁹, kteří ve své práci studují vliv rozpouštědla na chování monovrstvy poly(D,L-kyseliny mléčné) na rozhraní voda-vzduch pro různá rozpouštědla. Přitom mimo měření izotermem pro různá rozpouštědla, měřili i kontaktní úhel pro vrstvy nanášené na hydrofilní a hydrofobní substrát z různých rozpouštědel. Z jejich měření vyplývá stejný závěr jako v této práci,

jelikož pro rodinu nepolárních rozpouštědel získali vyšší hodnoty kontaktního úhlu než pro skupinu polárních rozpouštědel. To odpovídá tomu, že při rozprostření polymeru z chloroformu jsou hydrofobní methylové skupiny laktidových jednotek orientovány směrem do vzduchu, přičemž pro aceton silné přitažlivé interakce mezi jednotkami řetězce brání vytočení laktidových jednotek ven.

Cykly komprese a expanze vykazují ireverzibilní chování pro všechna rozpouštědla. Pro křivky první expanze dochází na zvoleném intervalu k postupnému snížení až na hodnotu tlaku mezi 3-4 mN/m pro rozpouštědla dichlormethan, tetrahydrofuran a aceton, zatímco pro chloroform dochází po zahájení expanze okamžitě k prudkému poklesu tlaku na 11,5 mN/m a dále až na 6,0 mN/m. Při druhém cyklu komprese již nedocházelo k úplnému rozprostření filmu na dostupnou plochu pro žádné z použitých rozpouštědel, pravděpodobně kvůli ireverzibilním ztrátám. Ireverzibilní chování polymerní monovrstvy po kompresi bylo zaznamenáno například autory Masami Kawaguchi et al.²⁰ Hysterezní ztráty polymerního materiálu vysvětlují pomocí přesunu částí polymerů z povrchového filmu do vodní fáze. Nicméně je možné, že dochází k sbalení přebytečného materiálu polymerní monovrstvy do kapiček, které jsou pak chyceny na povrchu monovrstvy. Agregace polymerního řetězce do malých kapének již v LC fázi pro stereokomplex PLLA a PDLA byla zaznamenána autory Yogxin Duan et al.,²¹ kteří jejich tvorbu přičítají rychlému odpaření chloroformu během rozprostírání na hladinu vody. Tvorba sbalených segmentů PLLA v jinak pravidelné struktuře filmu je referována i jinými autory.⁹

Joy M. Klass a jeho spolupracovníci²² zjistili při studiu chování PLLA a směsi PDLA a PLLA, že cyklus vykazuje ireverzibilní chování v blízkosti kolena a nad ním, naproti tomu v oblastech pod kolenem je průběh izotermy reverzibilní. Ireverzibilitu cyklu spojují s pomalejší expanzí filmu oproti rychlosti expanze bariér. Strmost izotermy a pozici roviny za kolenem přičítají závislosti na rychlosti komprese, pro izotermu směsi PDLA a PLLA pak pozorovali snížení povrchového tlaku se snižující se rychlostí komprese. Koleno se na izotermách polymerů objevuje často a je spojováno s kinetickými jevy, pro něž je rychlost konverze vyšší než rychlost komprese. Existence roviny v izotermě se často spojuje s formací nové fáze. Přítomnost kolena následovaného rovinným regionem může ve svém důsledku znamenat vytvoření nové fáze, pro niž je rychlost konverze vyšší než rychlost komprese. Ukazuje se, že rovina za kolenem koresponduje s existencí 10_3 helixu, indukovaného kompresí, a který se pro čistý enantiomer (PLLA) při přerušení komprese destabilizuje.¹⁷

Při porovnávání vlivu subfáze na chování monovrstvy a průběh její izotermy vykazuje křivka získaná na disperzi nanočástic stříbra zaostávání nástupu strmé části křivky, odpovídající existenci pevné fáze oproti vodní subfázi. Nicméně na disperzi nanočástic stříbra má Π -A izoterma v části odpovídající multidimenzionální struktuře prudký nárůst na malém intervalu plochy při dosažení daleko většího povrchového tlaku, než tomu bylo v případě vodní subfáze. Pozorované rozdíly mohou plynout z vyšší organizace monovrstvy polymeru na subfázi disperze nanočástic stříbra, v důsledku interakce částic stříbra s přítomnou amino-skupinou v řetězci polymeru. Vyšší stabilita vrstev v přítomnosti dvoumocných kovových iontů pro mastné kyseliny je běžně referována v literatuře, jako možné vysvětlení se uvádí tvorba soli.⁷ Z cyklů komprese a expanze je zjevné, že pro vodní subfázi vykazuje cyklus vyšší ztrátovost než pro disperzi nanočástic. Komplexace amino skupiny se stříbrem indukují vyšší uspořádanost monovrstvy i její větší stabilitu nejen na rozhraní kapalina-vzduch, ale i při jejím přenášení na pevný substrát, což potvrzují i snímky ze SEM.

Na snímcích ze SEM je pozorovatelné, že docházelo k zachycení částic stříbra na vrstvě polymeru, což potvrzuje i EDS analýza připravovaných filmů. Rozdíly jsou pozorovatelné zejména v množství přítomných částic na povrchu, tato diference pravděpodobně vyplývá z doby dostupné pro vytvoření komplexu stříbra s amino skupinou.

Měření kontaktního úhlu pro obě referenční kapaliny vykazovalo periodický charakter pro série vzorků *a* i *b*, zapříčiněný částečnou desorpcí nanosené vrstvy²³, čemuž odpovídalo i záporné přenosové číslo při ponořování do subfáze. Pozorované rozdíly v měření kontaktního úhlu a s ním souvisejícími hodnotami povrchové energie pro připravované vrstvy ze série *a* a *b* zjevně plynou z přítomnosti částic stříbra, zachycených na povrchu filmu.

Závěr

Chování monovrstev poly(L-laktidu) terminovaného aminem na rozhraní kapalina-vzduch je silně závislé na volbě organického rozpouštědla, použitého k nanášení monovrstvy, a rovněž na typu použité subfáze. Ukazuje se, že nejlepším rozpouštědlem pro nanášení polymeru je chloroform, pro který docházelo k největšímu rozprostření molekul polymeru přes dostupnou plochu. Naproti tomu pro aceton, u něhož silné přitažlivé interakce mezi segmenty polymerního řetězce vedly ke sbalené struktuře polymeru, nedošlo k rozprostření molekul PLLA-NH₂ přes celou plochu subfáze. Zároveň chloroform vykazoval největší hysterezi pro cyklus komprese a expanze, což je charakteristické pro ireverzibilní kolaps. Ireverzibilita cyklu se nicméně odvíjí od zvoleného intervalu na izotermě, na kterém byl cyklus uskutečňován, protože pro část izotermie v oblasti pod kolenem je cyklus reverzibilní, zatímco pro oblast v blízkosti a nad kolenem je již ireverzibilní.

Porovnání chování monovrstev PLLA terminovaného aminem pro běžně využívanou vodní subfázi a disperzi nanočástic stříbra ukazuje, že částice stříbra přítomné v subfázi ovlivňují stabilitu a uspořádanost polymerní vrstvy na rozhraní. Pravděpodobným činitelem je tvorba komplexu stříbra s amino skupinou přítomnou v řetězci polymeru, čemuž napovídá i menší hystereze v cyklu komprese-expanze pro disperzi nanočástic stříbra oproti vodní subfázi. Toto tvrzení podporují i snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu, na nichž je pozorovatelný rozdíl v uspořádanosti nanášených vrstev z vodní subfáze a disperzi nanočástic stříbra. Rozdíly jsou viditelné i v množství zachycených částic stříbra na povrchu vrstev polymeru, pravděpodobně plynoucí z rozdílné doby, po kterou je monovrstva v kontaktu se subfází. Přítomnost stříbra ve struktuře filmu vedle EDS analýzy potvrzuje i měření kontaktního úhlu a výpočty povrchové energie.

Summary

The behavior of poly(L-lactide) amine terminated monolayers at the liquid-air interface is strongly dependent of the choice of organic solvents used for spreading and also on the type of used subphase. It is proved that the best solvent for spreading polymer is chloroform for which monolayer is spread over the widest available area. Opposite to this, spreading of polymer monolayer over the subphase area is prevented for acetone due to the strong attractive intersegment interaction of polymer chain which is reason for existence of folded structure of polymer at the water-air interface. Equally, chloroform displays the largest hysteresis for compression-expansion cycle, this is characteristic for irreversible collapse. However, cycle irreversibility result from the chosen isotherm interval, in which the cycle was carried out. The cycle is irreversible for the part of isotherm in area above the knee and reversible for area below the knee.

The comparison of behavior of PLLA amine terminated monolayers for commonly used water subphase and dispersion of silver nanoparticles proved that the presence of silver nanoparticles in solution affects the stability and arrangement of formed monolayer. Formation of silver complex with amino group presented in polymer chain is possible reason for the behavior. This hypothesis is supported by reduced hysteresis in compression-expansion cycle in the case of dispersion of silver nanoparticles opposite to water subphase. The other support for the hypothesis could be obtained from scanning electron microscopy. Difference in arrangement of prepared films on water subphase and dispersion of silver nanoparticles are clearly visible on SEM images. Observable differences in amount of silver nanoparticles attached on the surface of polymer films appear probably due to different time during which the monolayer is in contact with subphase. Presence of silver in the structure of film is confirmed by EDS measurements and also by contact angle measurement and computations of surface free energy.

Reference

1. POOLE, Charles P. a OWENS, Frank J. 2003. *Introduction to nanotechnology*. Hoboken, NJ: J. Wiley, ©2003. 388 s. ISBN: 9780471079354.
2. COSGROVE, Terence, ed. *Colloid science: principles, methods and applications*. 2nd ed. Chichester: Wiley, 2010. xviii, 375 s. ISBN 978-1-4443-2020-6.
3. ŠČUKIN, Evgenii D. et al. *Colloid and surface chemistry*. 1st ed. Amsterdam: Elsevier, 2001. Studies in interface science v. 12. ISBN 978-0-08-052936-3.
4. PASHLEY, Richard M. a KARAMAN, Marilyn E. *Applied colloid and surface chemistry*. Chichester, West Sussex, England; Hoboken, N. J.: J. Wiley, c2004. 188 s. ISBN: 978-0470-0147-0-7.
5. KORBKANDI, Hassan a IRAVANI, Siavash. Silver Nanoparticles. In: HASHIM, Abbass A., ed. *The Delivery of Nanoparticles*. InTech, 2012. s. 3-36. ISBN 978-953-51-0615-9.
6. GUPTA, Raj Kumar a MANJULADEVI, V. Molecular Interactions at Interfaces In: MEGHEA, Aurelia, ed. *Molecular Interaction*. InTech, 2012. s. 81-104. ISBN 978-953-51-0079-9.
7. ULMAN, Abraham. *An introduction to ultrathin organic films: from Langmuir-Blodgett to self-assembly*. Boston: Academic Press, ©1991. xxiii, 442 s. ISBN 0-12-708230-1.
8. ROBERTS, G. G. a PITT, C. W. *Langmuir-Blodgett Films*. Proceedings of the First International Conference on Langmuir-Blodgett Films. Durham, Gt. Britain, September 20-22, 1982. Burlington: Elsevier Science, 1983. 344 s. ISBN: 978-044-442-17-3.
9. NI, Suolong. *Poly(L-Lactic Acid) Langmuir Monolayers at the Air/Water Interface and Langmuir-Blodgett Films on Solid Substrates: Phase Behavior, Surface Morphology, and Crystallinity*. Blacksburg, Virginia, 2006. 287 s. Dissertation. Virginia Polytechnic Institute and State University.
10. ADAMSON, Arthur W. a GAST, Alice P. *Physical chemistry of surfaces*. 6th ed. New York: Wiley, c1997. 784 s. ISBN: 0-4711-4873-3.
11. MYERS, Drew. *Surfaces, interfaces, and colloids: principles and applications*. 2. ed. New York: Wiley-VCH, 1999. 519 s. ISBN 9780471234999.
12. AURAS, Rafael et al. *Poly(lactic acid): synthesis, structures, properties, processing, and applications*. Hoboken: Wiley, ©2010. xxiii, 499 s. Wiley series on polymer engineering and technology. ISBN 978-0-470-29366-9.

13. KHARAS, Gregory B., SANCHEZ-RIVERA, Fernando a SEVERSON, David, K. Polymers of Lactic Acid. In: KAPLAN, David. L. (ed.) *Biopolymers from renewable resources*. Berlin: Springer, 2010. 93-137. ISBN: 9783642083419.
14. PANDEY, Asutosh Kumar. Recent advancements of biodegradable polylactic acid/polylactide: A review on synthesis, characterization and applications. *Advanced Materials Letters*. 2013, **4**, 1-56. ISSN 0976-3961.
15. LOPESA, M. Savioli, JARDINIB, A. L. a FILHOA, R. Maciel. Poly (lactic acid) production for tissue engineering applications. *Procedia Engineering*. 2012, **42**, 1402 – 1413. ISSN: 1877-7058.
16. XIAO, Lin, WANG, Bo, YANG, Guang a GAUTHIER, Mario. Poly(Lactic Acid)-Based Biomaterials: Synthesis, Modification and Applications. In: DHANJOO N. Ghista. *Biomedical Science, Engineering and Technology*. InTech, 2012. s. 247-283. ISBN 978-953-307-471-9.
17. KLASS, Joy M, LENNOX, R. Bruce, a BROWN, G. Ronald. Enantiomeric Polylactides at the Air–Water Interface: π -A Isotherms and PM-IRRAS Studies of Enantiomers and their Blend. *Langmuir*. 2003, **19** (2), 333–340. ISSN: 0743-7463.
18. KVÍTEK, Libor, PRUCEK, Robert, PANÁČEK, Aleš, NOVOTNÝ, Radko, HRBÁČ, Jan a ZBOŘIL, Radek. The influence of complexing agent concentration on particle size in the process of SERS active silver colloid synthesis. *Journal of Materials Chemistry*. 2005,15(10), 1099-1105. ISSN: 0959-9428.
19. RINGARD-LEFEBVRE, Catherine a BASZKIN, Adam. Behavior of Poly(D,L-lactic acid) Monolayers at the Air-Water Interface. Effect of Spreading Solvents. *Langmuir*. 1994, **10**(7), 2376–2381. ISSN: 0743-7463.
20. KAWAGUCHI, Masami, TOHYAMA, Masahiro a TAKAHASHI, Akira. Ellipsometric Study of Polymer Monolayers Spread at the Air-Water Interface. 2. Adsorbed Amount of Polymers. *Langmuir*. 1988, **4**(2), 411-414. ISSN: 0743-7463.
21. DUAN, Yongxin, LIU, Jing, SATO, Hamuri, ZHANG, Jianming, TSUJI, Hideto, OZAKI, Yokihiro a YAN, Shouke. Molecular weight dependence of the poly(L-lactide)/poly(D-lactide) Stereocomplex at the air-water interface. *Biomacromolecules*. 2006, **7**(10), 2728-2735. ISSN: 1526-4602.
22. PELLETIER, Isabelle a PÉZOLET, Michel. Compression-Induced Stereocomplexation of Polylactides at the Air/Water Interface. *Macromolecules*. 2004, **37** (13), 4967–4973. ISSN: 0024-9297.
23. GUPTA, Raj Kumar a SURESH, Kathiresan. AFM studies on Langmuir-Blodgett films of cholesterol. *The European physical journal. E, Soft matter*. 2004, **14**(1),35-42. ISSN: 1292-8941.