

Nanorészecske rendszerek vizsgálata víz/levegő határfelületen

Szakdolgozat

Anyagtudomány MSc

Orosz János

Témavezető: Gyulai Gergő, tudományos munkatárs



Eötvös Loránd Tudományegyetem

Természettudományi Kar

Kémiai Intézet

Fizikai Kémiai Tanszék

Budapest, 2018

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek Dr. Gyulai Gergőnek, aki időt és energiát nem kímélve nagy szerepet vállalt a munkám tervezésében és kivitelezésében. Köszönöm a nagylelkű segítségét, célravezető szakmai tanácsait és támogatását.

Köszönet illeti Dr. Kiss Évát, hogy az ELTE Határfelületi és Nanoszerkezetek Laboratóriumában biztosított lehetőséget, helyet és készüléket a munkám elvégzéséhez.

Köszönöm Hórvölgyi Zoltánné Pető Idának az önzetlen segítségét, tanácsait és mindenkori jelenlétét.

Köszönöm családomnak, barátnőmnek és barátaimnak a sok bátorítást és türelmet.

Tartalom

1.	Bevezetés.....	4
2.	Irodalmi áttekintés.....	5
2.1.	Pluronic-kal stabilizált PLGA nanorészecskék jellemzése és előállítása nanoprecipitációs technikával.....	5
2.2.	Határrétegek főbb tulajdonságai	6
2.3.	Langmuir-mérleg	7
2.4.	Langmuir-Blodgett- (LB) és Langmuir-Schaefer-film (LS)	11
2.5.	Réteg oszcillációs technika.....	12
2.6.	Atomi erő mikroszkópia (AFM) rövid ismertetése	13
3.	Célkitűzés.....	16
4.	Kísérleti rész.....	17
4.1.	Felhasznált anyagok.....	17
4.2.	Minta előkészítés	17
4.3.	PLGA-F127 részecskék jellemzése	18
4.3.1.	PLGA-F127 nanorészecskék átlagos hidrodinamikai átmérőjének meghatározása DLS módszerrel	18
4.3.2.	Részecskék zeta-potenciáljának meghatározása.....	18
4.4.	PLGA-F127 NP film kialakítása és mérése.....	19
4.4.1.	PLGA-F127 NP film izoterma és oszcillációs görbe felvétele	19
4.4.2.	Filmhúzás	21
4.5.	Tárolás hatásának vizsgálata a PLGA-F127 NP rendszerre	21
5.	Kísérleti eredmények értelmezése.....	22
5.1.	PLGA-F127 nanorészecskék jellemzése DLS és zeta-potenciál mérés alapján.....	22
5.2.	A PLGA-F127 NP viselkedése a víz/levegő határrétegben.....	23
5.2.1.	A film izotermájának és oszcillációs görbéjének értelmezése	23

5.2.2.	PLGA-F127 NP film átvitele szubsztrátra	25
5.3.	A PLGA-F127 NP viselkedése tárolás hatására	29
5.3.1.	A tárolás hatása az izotermára	29
5.3.2.	Felületi réteg szerkezetének hőmérsékletfüggése	35
5.3.3.	Az ionerősség hatása a határrétegre	37
6.	Összefoglalás.....	43
7.	Summary	44
8.	Irodalomjegyzék.....	44

1. Bevezetés

Az elmúlt néhány évtizedben a diszperz rendszerek kutatása és előállítása jelentősen megnövekedett. Az egyre növekvő fizikai-kémiai ismeret és korszerű technológiák nagymértékben előidéztek a kutatások előrehaladását a nanométeres mérettartományban is. Az új felfedezések új célokat és alkalmazási lehetőségeket tesznek lehetővé, melyek a hétköznapi életben is teret nyernek. Ilyen terület a gyógyszerkutatás, ahol a nanotechnológia térhódítása meglepően előrehaladt. Az új mechanizmusú hatóanyag bevitel, a szabályozható célba jutás és felszívódás új lehetőségeket biztosít a hatékony használatra. Kutatási szempontból a biodegradábilis polimerek keltették fel számos kutató figyelmét, ezen belül a poli-tejsav (PLA) és poli-glikolsav (PGA), illetve ezek kopolimerje (PLGA) [1]. Ezen polimerek kedvező biokompatibilitása és biodegradábilis tulajdonsága, a lebomlásának és hatóanyag-koncentrációjának hangolhatósága teszi lehetővé a gyógyszerhatóanyag transzportot és annak szabályozott leadását [2,3].

A nanorészecskék kolloidális rendszert alkotnak, ezért stabilizálásuk fontos tényező az aggregáció, a méret és célba jutás szempontjából. A stabilitást általában a nanorészecske felületen adszorbeálódott polimer réteggel érik el úgy, hogy az sztérikusan vagy elektrosztatikusan gátolja az aggregációt [2]. Ilyen polimer lehet a polietilén-glikol (PEG), polipropilén-glikol (PPG) és ezek különböző összetételű kopolimerje, melyek nagy előnye lehet, hogy biokompatibilisek.

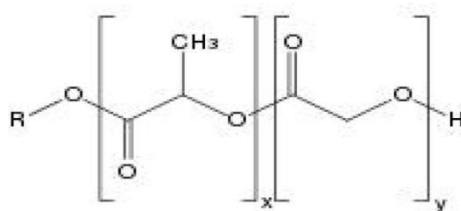
A nanorészecskék folyadék vagy szilárd felszínnel való érintkezése jelentősen megváltoztatja azok fizikai és kémiai tulajdonságait, melyek a különböző technológiák esetén számottevő hatást gyakorolhatnak [4]. A folyékony felületeken történő nanorészecske adszorpciót használják emulziók és habok stabilizálására a kozmetikai, gyógyszerészeti, kohászati területeken. Az ún. Pickering emulziók stabilizátoraként kielégítő eredményt mutattak a szilícium-dioxid nanorészecskék és a különféle tulajdonságú polimer mikrogélek [5-7]. A gyógyszerészeti és orvosi eljárásokban a biológiailag lebontható nanorészecskék jelentős hatékonysággal voltak alkalmazhatók a gyógyászati emulziók stabilizátoraként [8].

A PLGA nanorészecskék célba jutása, és irányított hatóanyag leadása sok lépésből álló folyamat, amely során a szervezetben folyadék és szilárd felszínekkel érintkezve, ezekkel kialakuló kölcsönhatásuk nagyban meghatározza a funkciójukat.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Pluronic-kal stabilizált PLGA nanorészecskék jellemzése és előállítása nanoprecipitációs technikával

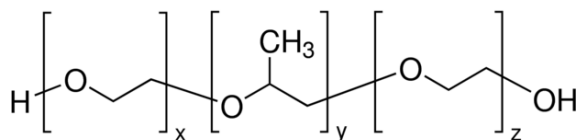
A polimer nanorészecskék (NP) előállítására használható nanoprecipitációs technikát Fessi és munkatársai fejlesztették ki először hatóanyag kapszulázás céljából [11]. Az eljárás elve, hogy a polimert és a hatóanyagot vízzel elegyedő szerves oldószerben oldják fel, majd lassú adagolással a stabilizátort tartalmazó vízzel elegyítik folyamatos kevertetés mellett. A szerves oldószerként legáltalánosabban acetont használnak, mivel könnyen elpárologtatható a rendszerből. Az aceton elegyedésével oldószercsere valósul meg, a polimer kicsapódik, és a hatóanyag a kialakult polimer nanorészecske mátrixban csapódódik. A keletkezett részecskék szűk méreteloszlásúak, és jól reprodukálhatóak. A vizes fázisban oldott stabilizátor, illetve a polimer és oldószer megfelelő megválasztásával szabályozható a részecske mérete. A leggyakrabban használt polimerek biológiailag lebomló poliészterek, ilyenek pl. a poli-tejsav (PLA), poli-glikolsav (PGA), polikaprolakton (PCL), valamint a tejsav és glikolsav különböző arányú kopolimerjei (PLGA) (1. ábra) [12]. Az utóbbi években számos kutatás épült a PLGA alapú gyógyszerhordozó nanorészecskék tulajdonságainak a vizsgálatára. Nagy előnye, hogy az elvárt biokompatibilitás mellett biodegradábilis polimer, melynek a bomlástermékei nem toxikusak [2, 3, 26]. Emellett a szabályozható méret és méreteloszlás tette lehetővé az orvosi területen történő alkalmazhatóságát.



1. ábra A PLGA szerkezeti képlete [3]

Stabilizátorként olyan molekulát használnak, amely a részecske felületéhez nagy affinitással adszorbeálódik, és sztérikus és/vagy elektrosztatikus taszítás útján megakadályozza a nanorészecskék aggregációját. Az egyik gyakran használt felületmódosító stabilizátor a poli(etilén-oxid)-poli(propilén-oxid)-poli(etilén-oxid) (PEO-PPO-PEO) vízoldható blokk-kopolimer, amely amfipatikus szerkezetének köszönhetően felületaktív (nem ionos tenzid) polimer molekula [13]. A kereskedelemben Poloxamer

vagy Pluronic márkaneven fordul elő. A PEO és PPO blokkok lánchosszúságával lehet szabályozni a polimer hidrofilitását, amely különböző tulajdonságú blokk-kopolimert eredményez (2. ábra).



2. ábra A Pluronic-ok szerkezeti képlete

A Pluronic adszorpciós réteg hidrofilitása az etilén-oxid monomerek mennyiségétől függ. Kutatás bizonyítja, hogy különböző összetételű polimerekből kialakított rétegek esetén a legnagyobb hidrofilitás nem a legnagyobb poli(etilén-oxid) tartalom mellett jelenik meg [14]. A polimer a hidrofób felületekhez a PPO egységeket tartalmazó részével kötődik, míg a PEO láncok a vizes tömbfázis felé orientálódnak. A hidrofób lánchossz növekedésével növekszik a felülettel való kölcsönhatás, ezért a megfelelő felületi adszorpció kialakításához szükséges a PPO és PEO tartalom megfelelő megválasztása.

A nanoprecipitáció során kialakított PLGA nanorészecskék felületén irreverzibilis adszorpciós mechanizmussal kötődik meg a Pluronic, amely során a részecske sztérikusan stabilizált kolloid rendszert alkot. A NP felszíne a felhalmozódott PEO láncegység miatt hidrofíl. Rendkívül előnyös tulajdonsága, hogy a fehérje adszorpció jelentősen lecsökken a PEO-módosított felületeken, emiatt a PLGA-Pluronic NP rendszerek a szervezetben nem váltanak ki immunválaszt, amivel hozzájárul a hosszabb tartózkodási idő eléréséhez.

2.2. Határrétegek főbb tulajdonságai

A határréteg olyan térbeli képződmény, amely két homogén fázis között kialakult térbeli átmeneti réteg. Tulajdonságaiban (pl. sűrűség, összetétel, elektromos potenciál) különbözik az őt alkotó fázisok tömbfázisbeli tulajdonságaitól. A fázishatáron kialakult réteg vastagsága elhanyagolható a tömbfázishoz képest, akár egy, vagy néhány molekula, illetve részecske kiterjedésű lehet. A kolloidkémiaiban és a nanotechnológiában a határréteg kettő vagy több fázisú rendszerek esetén nem elhanyagolható. Ilyenkor a rendszert alkotó részecskék jelentős része a határrétegben helyezkedhet el, ami eltérő tulajdonságokat eredményezhet a tömbfázishoz képest, és ezáltal az egész rendszerre nézve változhatnak a fizikai-kémiai jellemzők. A kolloid tartományban a részecskék átmérője néhány nm-től pár

száz nm-ig terjed. A méretcsökkenéssel növekszik a határfelület a rendszerben. Ezen a területen a határrétegek tanulmányozása és kutatása segít modellezni a rendszer viselkedését és megérteni az esetlegesen fellépő tulajdonság változás okát. A határfelületek az azokat létrehozó fázisok alapján csoportosíthatók, amelyek a következők: szilárd/gáz, szilárd/folyadék, szilárd/szilárd, folyadék/gáz és folyadék/folyadék [21].

A határfelület jelenléte többletenergiával jár mindegyik fázisátmenet esetén. A többletenergia eredménye, hogy a határréteg síkjában a felületre összehúzó erő hat, amelynek az egységnyi hosszúságra vonatkoztatott értékét felületi feszültségnek nevezzük. A többletenergia jelenlétének másik következménye, hogy a határfelületi réteg összetétele eltérhet a tömbfázisokétól, azaz egyes molekulákban dúsulhat, illetve elszegényedhet a határréteg az alkotó fázisokhoz képest. Ha a rétegben bizonyos molekulák dúsulása figyelhető meg, akkor pozitív adszorpcióról, ha elszegényedés, akkor negatív adszorpcióról beszélünk [19, 21]. A továbbiakban a folyadék/levegő határfelület tárgyalásával foglalkozom.

A határréteg kialakításának két módját különböztethetjük meg. Az egyik, ha direkt módon helyezünk el molekulákat, vagy részecskéket a határfelületen. A másik lehetőség a vizsgálandó komponensnek a fluid fázisban történő oldása, diszpergálása, majd adszorpciós úton a határfelületre jutása. Sok esetben az utóbbi technika, bár egyensúlyi kiindulási feltételekhez vezet, nem célravezető, mert az egyensúly beállása sok esetben rendkívül időigényes és nem ismert a határrétegben felhalmozódott molekulák pontos mennyisége sem. Az első módszer alkalmazásával ugyan nem egyensúlyi folyamattal alakítjuk ki a réteget, de az összetételt és a felvitt anyagmennyiségeket jó lehet kontrollálni. Az így kialakított határréteget Langmuir-filmnek nevezzük.

2.3. Langmuir-mérleg

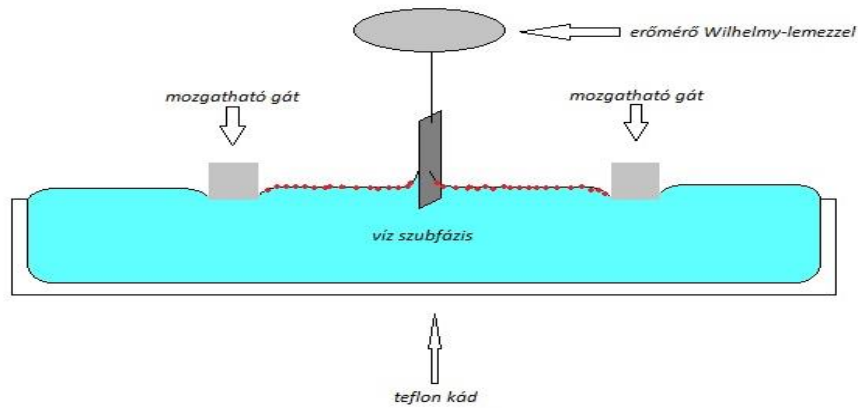
Irving Langmuir 1917-ben fejlesztette ki a módszert és készüléket, amely segítségével folyadék szubsztráton szétterülő egyrétegű, monomolekuláris film hozható létre. Általánosságban a szubfázis víz vagy valamilyen só vizes oldata, amelynek a felszínén úgy hoznak létre monoréteget, hogy a filmréteget képző molekulából híg oldatot készítenek megfelelően megválasztott illékony oldószerben, amelyet kis cseppekben juttatnak a felszínre. Az illékony oldószer és a célmolekulák egyenletesen szétterülnek a szubfázis felszínén, ahonnan az oldószer elpárolgása után visszamaradt célmolekulák egyrétegű filmet képeznek. Legáltalánosabban amfipatikus molekulákból képeznek

filmréteget, amelyben a poláris fejcsoport a vízben helyezkedik el, az apoláris szénlánc pedig a levegő felé orientálódik. A felületben lévő szabadenergia minimumát a molekularendeződés biztosítja. A levegő felé orientált szénláncok között a Van der Waals kölcsönhatások, míg a poláris fejcsoportok között a szubfázis és az egymás közti dipól-dipól kölcsönhatások dominálnak. A módszer lehetőséget ad minden olyan molekulával (részecskével) filmet képezni, amelyek felületaktivitással rendelkeznek, vagy apoláris tulajdonságúak, és ez által nem oldódik be a tömbfázisba. A módszer lehetőséget biztosít ugyanakkor nanorészecskék, nanogömbök egyrétegű filmképzésére is, amelyet ma széles körben alkalmaznak nanotechnológiai területeken [24, 34].

A filmréteg kialakulásával a folyadék felületi feszültsége csökken, a folyadék-levegő határrétegben jelenlévő felületaktív molekulák miatt. A felületi feszültség kísérletben mérhető értéke ad információt a filmréteg állapotáról. Gyakorlatban az úgynevezett oldalnyomással jellemezzük az állapotot, amely a filmréteg által kifejtett kétdimenziós kiterjedésű expanziós nyomás:

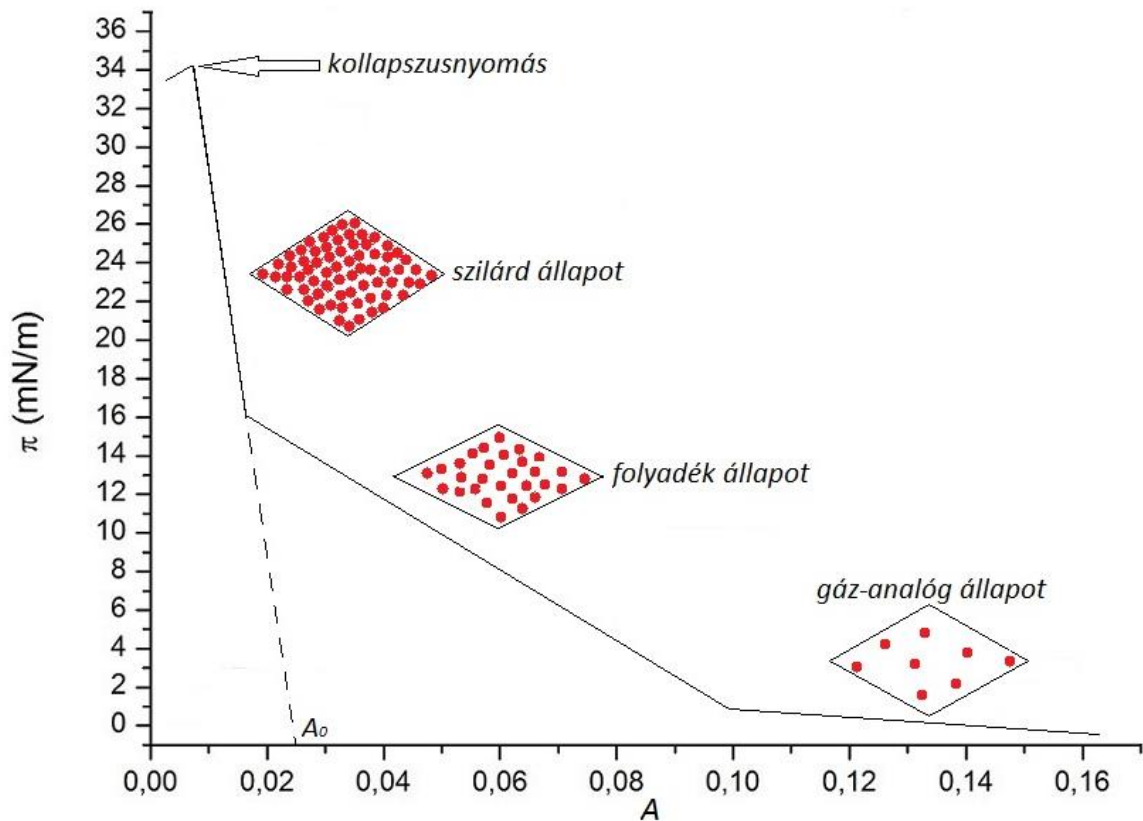
$$\pi = \gamma_0 - \gamma \quad (1)$$

ahol γ_0 - a víz felületi feszültsége, γ - a film jelenlétében mért felületi feszültség. A felületi feszültség mérése tenziometrikusan történik, Wilhelmy-lemezes módszerrel. Az érzékeny erőmérőre felfüggesztett lemezre (pl. platina, előkészített szűrőpapír, üveg) lefelé a felületi feszültség és a gravitációs erő, míg felfelé a felhajtóerő hat [19]. A lemezparaméterek (peremszög, peremvonal hossz) és erők ismeretében fejezhető ki a felületi feszültség értéke, amely jellemző a filmréteg egész területére. A Langmuir-technika sajátossága, hogy a kialakított filmrétegben lévő molekulákat tudjuk tömöríteni. A folyadék felszínén mozgatható egy, vagy két gát segítségével a filmréteg komprimálható, aminek a hatására a filmet alkotó komponensek tömörítése érhető el. A komprimálás eredményeként növekszik az oldalnyomás. A felvitt részecskék mennyiségének ismeretében kiszámítható, hogy az adott állapotban szétterülő egyrétegű filmben a részecskék átlagosan milyen helyigénnyel rendelkeznek. Az oldalnyomás és a számolt helyigény ismeretében elkészíthető az oldalnyomás és az egy molekulára eső helyigény izotermája. Az izoterma felvételéhez szükséges készüléket Langmuir-mérlegnek nevezzük, és sematikus képét a 3. ábrán szemléltetem.



3. ábra Langmuir-mérleg sematikus képe

A gátak mozgatásával komprimálható a filmréteg, miközben folyamatos felületi feszültség mérés történik, és így az oldalnyomás kiszámolható. Az izoterma lefutását a filmréteget alkotó molekulák tulajdonságai befolyásolják. A filmréteg fizikai állapota szerint három jellemző szakaszra lehet bontani az izotermát, amely a 0 oldalnyomástól a kollapszusig terjed. A kollapszus az a pont, amikor túlnyomás hatására az egyrétegű filmréteg nem tud tovább tömörödni és emiatt összegyűrődik, elveszítve egymolekulás jellegét. A kollapszus során oldalnyomásesés következik be, mivel a részecskék a tömbfázisba hatolnak, illetve többrétegű kontrollálatlan hálózatuk alakul ki. Tipikus izoterma az alábbi 4. ábrán látható.



4. ábra Az oldalnyomás (π) és az egy molekula helyigénye (A) közti összefüggés sematikus izotermája

A 4. ábrán látható izotermát három különböző meredekségű szakaszra tudjuk felbontani. A nulla oldalnyomástól kiindulva a filmréteg kompressziója valósul meg, amely során a részecskék egymáshoz közeledve tömörödnek. Kezdetben a részecskék olyan távol vannak egymástól, hogy nem lép fel közöttük számottevő kölcsönhatás. Ekkor kétdimenziós gáz-analóg állapotról beszélünk. A gátak további mozgásával csökkentjük a területet, aminek a következtében megnövekszik az izoterma meredeksége, azaz megjelenik egy másik fizikai állapot. Ez a szakasz a folyadék állapotnak felel meg, amikor a részecskék már kölcsön hatnak egymással, de még rendezetlenség figyelhető meg a rétegben. További komprimálás esetén elérjük a szilárd állapotot, amikor a részecskék rendeződése megindul, és a lehető legtömörebb kétdimenziós szerkezetet éri el a szakasz végére. A további összenyomás esetén kollapszus lép fel, ami oldalnyomás csökkenéssel jár [19]. A 4. ábrán látható A_0 érték a szilárd szakasz zéró oldalnyomásra extrapolált értéke, amely információt ad a szilárd filmrétegben lévő részecske helyigényéről, és ez által a filmréteg rendezettségéről.

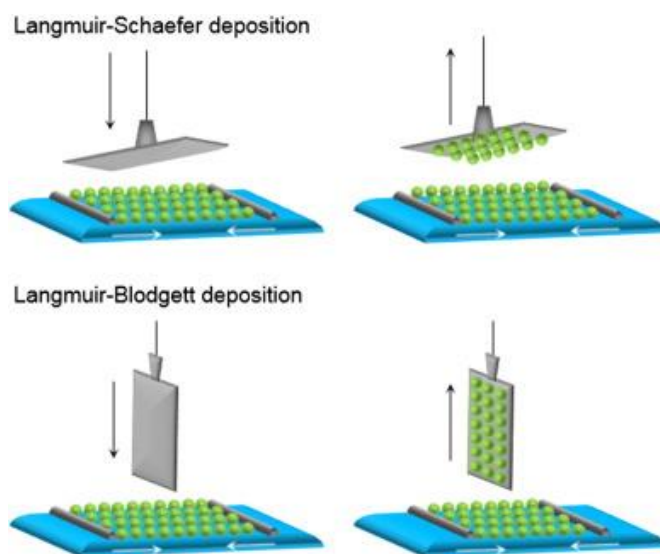
2.4. Langmuir-Blodgett- (LB) és Langmuir-Schaefer-film (LS)

A folyadék felszínén kialakított filmréteg vizsgálatára különböző technikákat dolgoztak ki. Két féle lehetőségünk van a filmréteg morfológiájának vizsgálatára. Az első megközelítés a direkt módon történő vizsgálat, amely során a folyadék felszínén kialakított réteget tanulmányozzuk különböző technikákkal. Ilyen vizsgálati módszerek például a Brewster-szög mikroszkópia, vékonyréteg reflektometria [23]. A másik vizsgálati eljárás, hogy a filmréteget szilárd hordozóra visszük át úgy, hogy a beszáradás után a hordozón kialakított réteg jól reprezentálja az eredeti filmet. A rögzített filmet ezt követően egyéb vizsgálati módszerekkel tanulmányozhatjuk, mint az atomi erő mikroszkópia, vagy elektron mikroszkópia. A filmek átvitelére két technikát dolgoztak ki, ezek a Langmuir-Blodgett- (LB) és a Langmuir-Schaefer-filmhúzás (LS). A szubsztrát, azaz a szilárd hordozó felülete lehet hidrofil és hidrofób. Tipikus hidrofil felületi tulajdonságú szubsztrát a csiszolt szilícium lapka, hasított csillám lemez, savazott üveg. A réteg kialakítása előtt a felületeket fizikai vagy kémiai úton módosíthatják.

Az LB-filmhúzás során a hordozó a rétegre merőleges pozícióban helyezkedik el. Tipikusan a részecskék felvitele előtt már a szubfázisba merül. A film létrehozása után meghatározott oldalnyomás mellett állandó sebességgel emelik ki a szubsztrátot, miközben az oldalnyomást a kiválasztott szinten tartja a készülék, folyamatos gát-pozíció korrigálással. Így tetszőleges oldalnyomás mellett vihetők át a részecskék a szubsztrát felszínére. Az LB-filmhúzás előnye, hogy egy szubsztrátra több állapotban lévő filmet is fel tudunk vinni. A kis oldalnyomástól felfelé haladva a kezelő által kiválasztott több oldalnyomás mellett is húzható film, ugyanabból a rétegből. Hátránya lehet, hogy az állandó sebességgel kihúzódó szilárd hordozón a menizkus végig fut, amely gyenge részecske és szubsztrát közti affinitás esetén megváltoztathatja a réteg morfológiáját. A hordozó felületének megfelelő kialakítása kulcsfontosságú, hogy a részecskék valós, filmbeli pozíciójukban rögzüljenek.

Az LS-film kialakítása hasonlóan jól képzett felületű hordozót igényel, amely biztosítja a részecskék megfelelő affinitását. A film a szubfázisról a szubsztrátra egy felületi érintéssel mozdulattal vihető át. A hordozó teljes felületét enyhén ferdén (jellemzően $<10^\circ$) vagy a folyadék felszínnel párhuzamos pozícióban érintik a szubfázis felületéhez, a vizsgálni kívánt határréteg oldalnyomásának beállása után. Hátránya ennek a módszernek, hogy egy kialakított filmből a filmre jellemző tetszőleges oldalnyomás mellett csak egy LS-húzás lehetséges. A folyadék felszínben lévő réteg a húzást követően

sérül, ami miatt további filmhúzás vagy mérés nem lehetséges. Ezt követően LS-filmhúzás csak tisztítás és új filmréteg kialakítása után készíthető más oldalnyomás mellett. Az LB- és LS-film húzásának sematikus rajza az alábbi ábrán látható [22].



5. ábra Az LB- és LS-film készítésének sematikus ábrája [22]

2.5. Réteg oszcillációs technika

A Langmuir-mérleggel a filmréteg reológiai tulajdonságainak a vizsgálata is megvalósítható. A gátak segítségével a kezelő által megválasztott oldalnyomás mellett a rendelkezésre álló terület nagyságát periodikusan változtathatjuk. A gátak szinuszos oszcillálása a részecskék által elfoglalt terület változását eredményezi beállított frekvencia és terület amplitúdó mellett. A filmréteget reológiai tulajdonságainak ismeretében következtetni lehet a réteg szerkezeti tulajdonságaira is.

Ha a felületi réteg harmonikus deformációja elég kicsi, akkor az oldalnyomás oszcillálása szinusz görbét ír le [23]. Ha tetszőleges oldalnyomás mellett a gátakat elkezdjük valamilyen frekvenciával mozgatni, akkor a terület és oldalnyomás azonos frekvenciájú, de eltérő amplitúdójú és fázisszögű oszcillációt fog mutatni. A fázisszögek és amplitúdók ismeretében meghatározható a komplex dilatációs modulusz.

$$|\varepsilon| = \frac{\Delta\pi}{\Delta A} \cdot A_0 \quad (2)$$

ahol $|\varepsilon|$ - a komplex dilatációs modulusz abszolút értéke, $\Delta\pi$ és ΔA – az oldalnyomás és felület változás amplitúdója, A_0 - a mérés kezdetén a felület nagysága.

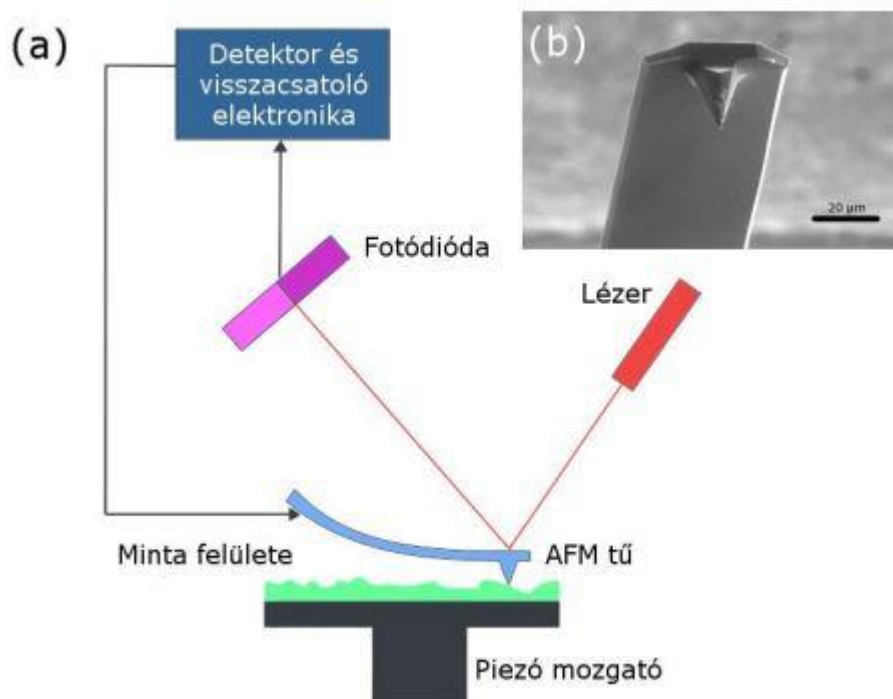
Abban az esetben, ha az oldalnyomás szinuszosan oszcillál, amely tipikusan néhány százalékos területváltozásnál lép fel, akkor a réteg komplex dilatációs modulusza felbontható az elasztikus és viszkózus moduluszokra az alábbi összefüggés alapján:

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon' + i \cdot \varepsilon'' = |\varepsilon| \cdot e^{i\omega} = |\varepsilon| \cdot (\cos\omega + i \cdot \sin\omega) \quad (3)$$

ahol ε' - a réteg elasztikus modulusza, ε'' - a réteg viszkózus modulusza, ω - a terület és az oldalnyomás fázisszöge közötti eltérés [23, 24].

2.6. Atomi erő mikroszkópia (AFM) rövid ismertetése

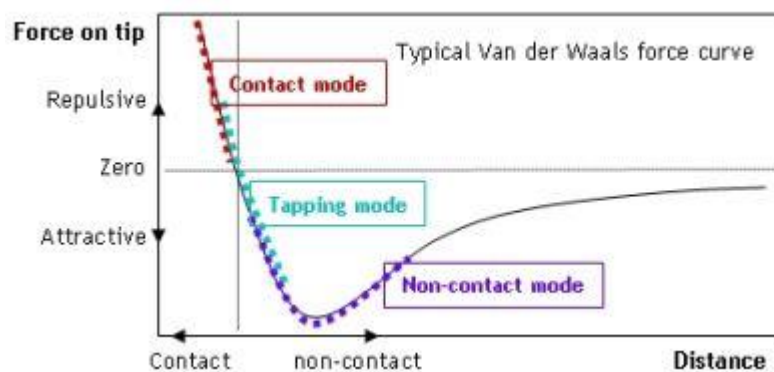
Az atomi erő mikroszkópot (AFM) napjainkban a felületi morfológia nagy felbontású leképezésére használják. A nanotechnológia modern szerkezetkutató módszerei közül széles körben alkalmazott pásztázó tűszondás mikroszkóp. A pásztázás elve egy hegyes tű és a minta kölcsönhatásán alapszik, amelyek direkt mozgásával pontról pontra feltérképezhető a minta felszíne. Az AFM nagy előnye, hogy a felületnek és a tűnek nem kell elektromosan vezetőnek lennie. A tű anyaga alapesetben szilícium (Si) vagy szilícium-nitrid (SiN), de készítenek más összetételű tűket is a mérés speciális igényeihez mérten. Ilyen lehet az egy- vagy többfalú szén nanocsőből álló tűhegy. A tű hegyének görbületi sugara 1-10 nm-es tartományba esik. A tű az úgynevezett laprugóhoz van rögzítve, amelyet egyszerre állítanak elő nanolitográfias technológiával (6. ábra) [16].



6. ábra (a) az AFM vázlatos rajza, (b) a laprugó és tű elektronmikroszkópos képe [16]

A tűre a felület közelében vonzó és taszító kölcsönhatások hatnak, amelyek a laprugó deformációját okozzák. A tűheggyel ellentétes laprugó részt infravörös lézerekkel világítják meg, amelyet a mérés elején tükrökkel pozícionálnak a laprugó felületére. A laprugó elhajlása esetén a lézernyaláb a hosszú fényút (néhány cm) miatt már makroszkopikusan mérhető pozíció-változást eredményez, amelyet egy négy szegmensre osztott fotodióda detektál. A tű vagy a minta mozgásával lehet elérni, hogy a kiválasztott felületi tartományt végig pásztázzuk. Ilyen nanométeres léptékű mozgatósi lehetőséget a piezoelektromos kristályok biztosítanak, amelyekkel elektromos feszültség hatására szabályozható méretváltozást lehet elérni [16].

A minta és tű anyagától függően sokféle kölcsönhatás felléphet, amelyek a készülék pásztázási beállításában nagy szerepet játszanak. Vonzó és taszító kölcsönhatások jelennek meg a tű hegye és a minta felszíne között, a távolság függvényében. Alapvetően van der Waals típusú erők lépnek fel, amelyek három mérési üzemmódot tesznek lehetővé (7. ábra).



7. ábra Az AFM tűje és a minta között fellépő eredő erő sematikus ábrázolása a minta-tű távolság függvényében (Forrás: <https://en.wikibooks.org/wiki/Nanotechnology/AFM>)

A kontakt-módban a tűt a felszínhez érintve állandó értéken tartjuk a laprugó meghajlását, miközben a felület mentén (x, y irány) pásztázzuk a felszínt, és ez által a felületre merőleges (z) elmozdulást pontonként detektáljuk, kirajzolva a minta felszínének morfológiáját [16]. Az adatokat számítógép rögzíti, amelyből a kiértékelő szoftverben színskóddal vagy más grafikus ábrázolással tudunk topográfiai képet készíteni a letapogatott területről [20].

A kontakt-mód hátránya, hogy az esetlegesen puha mintába a tű benyomódik, illetve a tű-minta kölcsönhatásnál nagy súrlódási erő léphet fel, ami minta- és tűkárosodást okozhat. Kifejlesztették az ún. non-kontakt és tapping üzemmódokat, amely során a

laprugót egy piezokerámia nagyfrekvenciás rezgésre kényszerít a laprugó rezonancia frekvenciájához közel [16]. Az amplitúdó ilyenkor néhány nm. A mérési paraméterek az amplitúdó változáson vagy a fáziskésésen alapszanak. Állandóra állítva ezeket az értékeket pásztázzuk a felületet, és a mért kényszerrezgések ismeretében készíti el a topográfiát a szoftver. Az AFM készülékkel lehetőség adódik a szilárd hordozón kialakított egy- vagy többrétegű filmek vizsgálatára.

3. Célkitűzés

A kísérleti munka során Pluronic F127-tel stabilizált PLGA nanorészecskék víz/levegő határfelületen kialakított filmjének vizsgálatát tűztük ki célul. A részecskék előállításához a nanoprecipitációs eljárást terveztük felhasználni, melynek segítségével különböző mérettartományban, kis polidiszperzitás mellett hozhatók létre a nanorészecskék.

A munka első fő célkitűzése a megfelelő módszer kidolgozása, melynek segítségével a stabil részecske filmek reprodukálhatóan kialakíthatók a víz-levegő határfelületen. A nanorészecske rétegeket Langmuir-mérlegben terveztük létrehozni, ahol ezt követően meghatározhatók a terület-oldalnyomás izotermák. Ezen kísérletekkel a részecskék között kialakuló kölcsönhatásokat lehet tanulmányozni. A Langmuir-mérlegben lehetőség adódik a filmek határfelületi reológiai vizsgálatára is, mely segítségével információt nyerhetünk a határfelület szerkezetéről. Módszert tervezünk kidolgozni a részecske filmek változás mentes átvitelére a folyadék-levegő határfelületről szilárd hordozóra. A kialakuló rögzített rétegekről atomi erő mikroszkópia segítségével tervezünk nagy felbontású képet alkotni, hogy tanulmányozhassuk a réteg morfológiáját, szerkezetét.

További vizsgálat tárgyát képezi a hosszú távú tárolás hatása a részecske rendszerekre és ezzel párhuzamosan a belőlük kialakuló határfelületi rétegekre.

4. Kísérleti rész

4.1. Felhasznált anyagok

PLGA (50:50) – tejsav/glikolsav 50 - 50 arányú kopolimere, $M = 30000 - 60000$ Da (Sigma-Aldrich)

Pluronic F127 – triblokk-kopolimer, PEO_a - PPO_b - PEO_a (monomer egységek száma átlagosan: $a = 97$, $b = 63$), $M_w = 12200$ g/mol [34]

Aceton – CH_3COCH_3 , CAS-szám 67-64-1, $M = 58,09$ g/mol

Nátrium-klorid – NaCl, CAS-szám 7647-14-5, $M = 58,44$ g/mol

2-propanol – C_3H_8O , CAS-szám 67-63-0, $M = 60,10$ g/mol

3-aminopropil-trietoxi-szilán (APTES) – $C_9H_{23}NO_3Si$, CAS-szám 919-30-2, $M = 221,37$ g/mol

2x desztillált víz – < 5 μ S vezetőképességű víz

4.2. Minta előkészítés

A munkánk legelső szakaszában Pluronic F127-tel stabilizált PLGA nanorészecskéket készítettünk nanoprecipitációs módszerrel az alábbi beállítások mellett [9]. Első lépésben 10 g/L-es PLGA 50:50 (továbbiakban: PLGA) oldatot készítettünk acetonban feloldva (**A** oldat). Majd 2 g/L-es koncentrációjú Pluronic F127 (továbbiakban: F127) 2x desztillált vizes oldatát készítettük el (**B** oldat). Ezután 5 mL **A** oldatot adagoltuk 50 mL **B** oldathoz automata Hamilton-fecskendővel, folyamatos kevertetés mellett. Az adagolás sebessége 3 μ L/s volt. Az **A** oldat teljes mennyiségének hozzáadása után tovább kevertettük a rendszert 30 percig. Az aceton kiűzése után az enyhén opálos, nanorészecskéket tartalmazó szolt tisztítottuk. A tisztítási lépésben centrifugát használtunk. Az oldatot 2 mL-es centrifugacsövekbe szétosztva 20 percig centrifugáltuk 12000g mellett. Majd a felülúszót eltávolítva a leülepedett nanorészecskéket tartalmazó fázist rediszpergáltuk 2 mL kétszer desztillált vízben. Ezt követően négyszer megismételtük a centrifugálást, felülúszó eltávolítását, és a rediszpergálást. Az ötödik centrifugálás után a centrifugacsövek aljára kiült fázist 200 μ L kétszer desztillált vízben rediszpergáltuk, majd az így keletkezett oldatokat egyesítettük. A nanorészecskéket tartalmazó szol koncentrációjának meghatározása céljából szárazanyag-tartalom mérést végeztünk el gravimetriás módszerrel. A mintát a kísérlet alatt hűtőben tároltuk 2-8 °C-on.

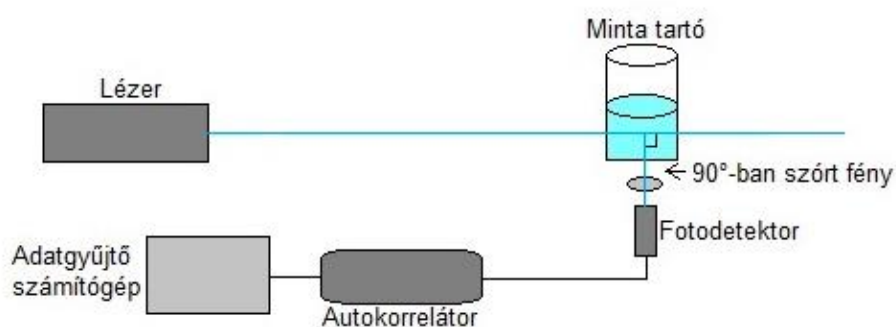
4.3. PLGA-F127 részecskék jellemzése

Ahhoz, hogy meghatározzuk a részecskék átlagos hidrodinamikai méretét és polidiszperzitását, célszerű volt dinamikus fényszórás technikával (DLS) megmérni a részecskéket tartalmazó vizes oldatot. Elvégeztük az elektrokinetikai potenciál mérését is, hogy információt kapjunk a vizes oldatban stabilizált részecskék felszíni állapotáról.

4.3.1. PLGA-F127 nanorészecskék átlagos hidrodinamikai átmérőjének meghatározása DLS módszerrel

A részecskék átlagos hidrodinamikai méretét és polidiszperzitását dinamikus fényszórás méréssel határoztuk meg, melyhez Brookhaven készüléket használtunk. A mérő készülékben fényforrásként 488 nm-es hullámhosszon működő és függőlegesen polarizált koherens fényt kibocsátó lézerdióda-rendszert használtunk. A méréseket 90° -os detektálási szögben és $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ hőmérsékletre termosztált mintatérben végeztük el, kétszer desztillált vízben hígított mintákkal.

A mérés elve a részecskék mozgásán alapul, amelyen a lézerfény a Doppler-effektus hatására frekvenciaváltozást szenved. A megvilágított térrészben a részecskék állandó mozgása a szórt fény intenzitásának fluktuációját eredményezi, ami egy autokorrelációs függvény illesztésével írható le. Három párhuzamos mérést végeztünk. A rögzített autokorrelációs függvényeket a második rendű kumuláns expanzióval és a Contin-módszerrel elemeztük, feltételezve, hogy a részecskék gömb alakúak [17]. A DLS készülék sematikus felépítése az alábbi ábrán látható.



8. ábra A DLS készülék sematikus felépítése

4.3.2. Részecskék zeta-potenciáljának meghatározása

A nanorészecskék elektroforetikus mobilitásának meghatározását Malvern Zetasizer Nano Z készülékkel végeztük el $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ -on. A mérések összehasonlíthatóságához

állandó ionerősséget szükséges biztosítani. Ebből a célból 2 mM koncentrációjú NaCl oldatot használtunk a mérés során közegként.

Az elektrokinetikai potenciál (ζ) vagy más néven zeta-potenciál meghatározásához a Henry-egyenletet használtuk fel a Smoluchowski-közelítés alkalmazása mellett, amely azt feltételezi, hogy a vizsgált rendszer stacionárius állapotát a viszkozus és elektromos erők együttesen tartják fenn:

$$\zeta = \frac{|u_E| \cdot \eta}{\varepsilon} \quad (4)$$

ahol u_E – a részecskére jellemző elektroforetikus mobilitás, η – a közeg viszkozitása, ε – a közeg permittivitása. A elektroforetikus mobilitás a részecske mozgási sebessége egységnyi elektromos térerősségre vonatkoztatva:

$$|u_E| = \frac{|v|}{|E|} \quad (5)$$

A részecske mozgása akkor valósul meg egy homogén eloszlású ismert térerősséggel rendelkező elektromos térben, ha a részecskére ható elektromos erő ($|F_e| = q \cdot |E|$) nagysága megegyezik a közeg által létrehozott súrlódási erővel ($|F_s| = 6\pi \cdot \eta \cdot r \cdot |v|$), ahol q – a részecskére jellemző nettó-töltés, r – a részecske hidrodinamikai átmérőjének a fele, $|v|$ - a részecske mozgási sebessége.

A részecske mozgási sebességét interferometrikus elven működő eljárással határozzuk meg. A lézerrel megvilágított részecskén a fény frekvenciája megváltozik a Doppler-effektus következtében, amit egy koherens fénynyaláb segítségével meg tudunk mérni. Az így bekövetkezett változásból számolható ki a részecskék átlagos sebessége, amelyet felhasználunk az elektroforetikus mozgékonyság meghatározására [17,18].

4.4. PLGA-F127 NP film kialakítása és mérése

4.4.1. PLGA-F127 NP film izoterma és oszcillációs görbe felvétele

Az nanorészecske rétegek izotermáit egy KSV MiniMicro készülékkel vettük fel. A készülék egy termosztálható sekély teflonkádából áll ($5 \times 20 \times 0,6 \text{ cm}^3$), amelyen két mozgó teflonból készült gát van elhelyezve, amely szimmetrikus filmtömörítést biztosít. A teflonkád közepén található a felületi feszültség mérésére szolgáló Wilhelmy-lemez, amely erőmérőre van felfüggesztve. Az erőmérővel függőlegesen és vízszintesen manuálisan állítható pozíciókat lehet felvenni. Az erőmérő csatlakozik egy számítógéphez, amely on-

line rögzíti a kísérleti adatokat. A Wilhelmy-lemez a kísérlet során egy meghatározott méretre vágott, egyszer használatos kromatográfiás papír volt (Whatman® 1 Chr), amelyet előzőleg kétszer desztillált vízben kiáztattunk, és levegőn szárítottunk.

A kísérleti mérés ultratiszta körülményeket igényel, mivel az esetleges szennyeződések a határrétegben dúsulva megváltoztathatják az eredményeket. A szennyeződés elkerülése végett a készülék kádját és gátjait minden mérés előtt és után diklórmetánnal tisztítottuk. A készülék egy plexi dobozban került elhelyezésre, hogy a környezettől, az esetleges légáramlatoktól elzártan történjen a mérés.

Első lépésben a mosást követően feltöltöttük a kádat kétszer desztillált vízzel, majd bekapcsoltuk a termosztátot. A kád falán található furaton keresztül egy hőmérőt tettünk a szubfázisba, amellyel nyomon követhettük a szubfázis hőmérsékletét. A hőmérséklet beállása után a Wilhelmy-lemezt a szubfázisba engedték úgy, hogy az éppen csak érintkezzen a felszínnel. A Wilhelmy-lemez nedvesítésére tipikusan 15 percet vártunk.

A részecske réteg kialakítását a víz szubfázis felületén ismert mennyiségű és koncentrációjú oldattal készítettük. A nanorészecskéket tartalmazó szolt 1:1 arányban elegyítettük 2-propanollal. Apró cseppekben vittük fel a felszín különböző pontjaira ismert térfogatú mennyiséget, majd megvártuk, hogy a 2-propanol elpárologjon és a film egyensúlyi állapotba kerüljön. A várakozási idő tipikusan 30 perc volt. A filmréteg kialakulását követően az izotermákat 32 mm/min gátsebesség mellett vettük fel. A maximális gát pozíció elérése után azonnal visszaindultak a gátak a kezdeti pozíciójukba az összenyomással megegyező sebességgel. Az izoterma ez által egy kompressziós és egy expansziós szakaszból állt.

A reológiai vizsgálat első lépésében ismét kialakítottuk a filmréteget. Ekkor az oldalnyomás 12 mN/m-ről indult. Az oszcillálás beállításai a következők voltak. A gát sebessége a kiválasztott oldalnyomások eléréséig 32 mm/min volt. Az oszcillálás frekvenciája 50 mHz volt, és a terület relatív változása $\pm 2\%$. A legkisebb oldalnyomás elérése után hagytuk relaxálódni a réteget kb. 5 percig, majd elindítottuk az oszcillálást. Szinuszos függvény jelent meg mind a terület, mind az oldalnyomás esetén. Legalább 5 periódus lefutása után leállítottuk a mérést. Tovább komprimáltuk a réteget, majd felvettük több oldalnyomás mellett is az oszcillációs grafikont az előző beállításokkal.

4.4.2. Filmhúzás

A film morfológiai vizsgálatához atomi erő mikroszkóp által készített felületi képeket rögzítettünk. Ebből a célból a részecskefilmeket szilárd hordozóra vittük át. Az előkísérletben az LB-filmhúzás üveglappal történt. A szennyeződések eltávolítása miatt az üveglapot 2:1 térfogatarányú cc $\text{H}_2\text{SO}_4:\text{H}_2\text{O}_2$ (30 m/m%) elegyében áztattuk 1 órán keresztül, majd kétszer desztillált vízzel öblítettük le. Az üveglapot a szubfázisba merítettük, majd felvittük a részecskéket a szubfázis felszínére. A film kialakulása után különböző oldalnyomásokon állandó sebességgel húztuk ki az üveglapot. Megjelöltük az üvegen az adott oldalnyomáshoz tartozó tartományokat.

Következő lépésben frissen savazott üveglap felületének APTES-sel történő funkcionálizálását végeztük el gázfázisú filmleválasztással. Az exszikkátort vízlégszivattyú felhasználásával levegőmentesítettük, majd szárítószekrényben $140\text{ }^\circ\text{C}$ -ra felfűtöttük. 1 mL APTES-t tartalmazó gömblombikot csatlakoztattunk az exszikkátorhoz, majd elindítottuk az áramlást. 2 óra elteltével az exszikkátort kivettük, majd szobahőmérsékletre való hűlés után kivettük az üveglapokat és mostuk étterrel, etanollal, majd kétszer desztillált vízzel [40]. A mérések során APTES-sel kemiszorbeált szubsztrátra történt a réteg átvitel LS-filmhúzási technikával.

4.5. Tárolás hatásának vizsgálata a PLGA-F127 NP rendszerre

A tárolás $2\text{-}8\text{ }^\circ\text{C}$ fokon történt zárható üvegben és polipropilénből készült edényben. A 7 napos tárolás után ismét felvettük a részecskék izotermáját és oszcillációs görbét. A méréseket az előző fejezetben tárgyalt műveletekkel végeztük. A kísérlet során az alábbi paraméterek változásának hatását vizsgáltuk az izoterma és reológia mérések kapcsán:

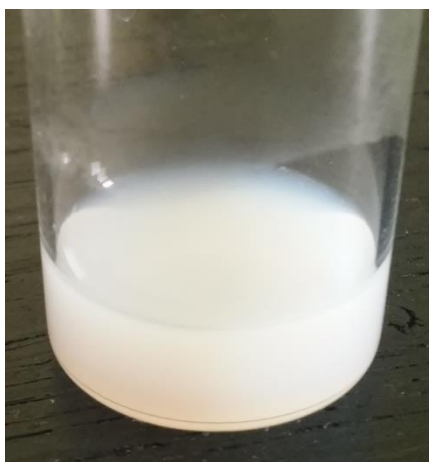
- Gátsebesség: 12, 32 és 52 mm/min
- Hőmérséklet: 23, 37 és $50\text{ }^\circ\text{C}$
- Ionerősség: 0,1 M-os NaCl-oldat
- Oszcillációs frekvencia: 10, 50 és 100 mHz
- Reológiai tulajdonságok vizsgálata különböző oldalnyomáson: 10 és 20 mN/m

Az egyes mérések során kialakított rétegekből LB- vagy LS-filmet húztunk, APTES-sel kemiszorbeált üvegfelületre.

5. Kísérleti eredmények értelmezése

5.1. PLGA-F127 nanorészecskék jellemzése DLS és zeta-potenciál mérés alapján

A nanoprecipitáció útján előállított, majd centrifugálással több lépésben tisztított nanorészecske szolt a következő kép szemléleti.



9. ábra PLGA-F127 nanorészecske oldat

Látható, hogy a gravimetriásan meghatározott, ismert, nagy koncentrációjú nanorészecskéket tartalmazó vizes rendszer opálos. Ez arra enged következtetni, hogy kolloid oldatot kaptunk, ahol a részecskék átmérője tipikusan mikronos, vagy annál kisebb tartományban található. Fontos megfigyelés volt, hogy a részecskék hetek alatt sem ülepedtek, ami szintén a kis méretre enged következtetni.

A részecskék méretét dinamikus fényszóródás (DLS) technikával vizsgáltuk, amely során jól reprodukálható átlagos hidrodinamikai átmérőt és polidiszperzitást mértünk. A részecskék átlagos hidrodinamikai átmérője (104 ± 2) nm volt. A DLS mérés során a polidiszperzitás átlagos értéke $0,071 \pm 0,008$ volt, ami szűk méreteloszlású részecske rendszernek felel meg. Ezért a további számítások során monodiszperzként kezeljük a NP rendszert, és a továbbiakban az általunk mért hidrodinamikai átmérő értékével végezzük el a szükséges számításokat.

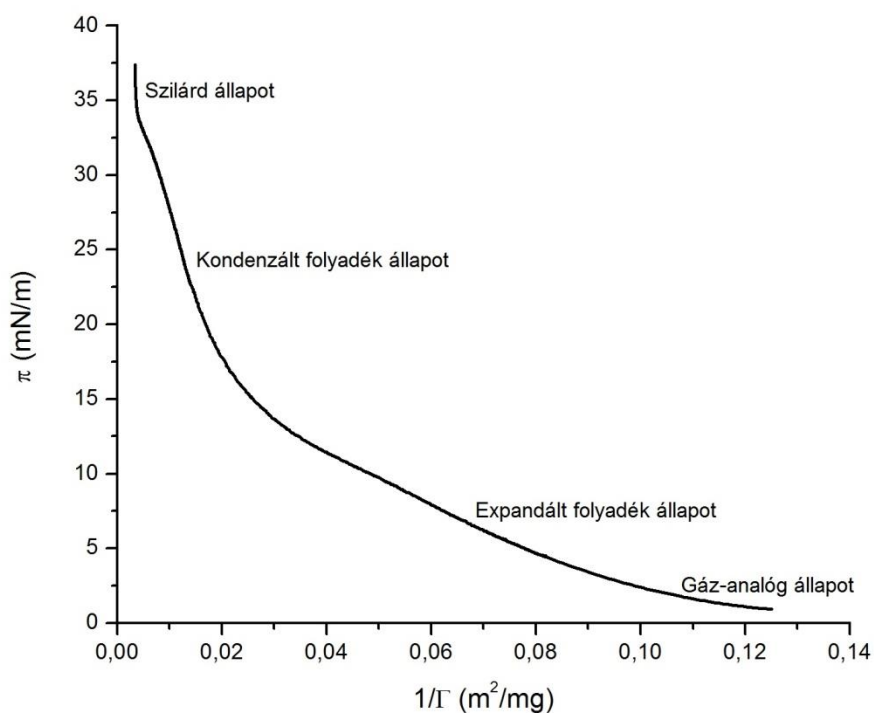
Következő lépésben megvizsgáltuk a PLGA-F127 nanorészecskék felületi töltését elektroforetikus mobilitás méréssel. A zeta-potenciál értéke $-21,0$ mV-nak adódott $1,4$ mV szórással. A módosítatlan PLGA nanorészecske irodalomban is megtalálható elektrokinetikai potenciálja $(-43,1 \pm 0,3)$ mV [25]. A negatív töltést a felületi karboxilcsoportok jelenléte okozza. A Pluronic F127-tel stabilizált nanorészecske zeta-potenciálja

szintén negatív, de csökkent értékű a tiszta PLGA-hoz képest, ami azzal magyarázható, hogy a hasadási sík a felületen megkötött polimer réteg miatt kitolódik.

5.2. A PLGA-F127 NP viselkedése a víz/levegő határrétegben

5.2.1. A film izotermájának és oszcillációs görbéjének értelmezése

A PLGA-F127 részecskék felületen történő szétterülését a 2-propanol hozzáadásával értük el. A 23 °C-ra termosztált, víz szubfázison kialakított réteg izotermáját három részletben vettük fel, amelyet a kiértékelés során egymásra illesztettünk. Az illesztés során átfedés volt az egyes szakaszok között, amelyből a réteg kialakulás reprodukálhatósága bizonyítható, ami a különböző kezdeti paraméterek esetén is fennáll. Az izoterma az egyes szakaszok elnevezésével az 10. ábrán látható.



10. ábra A PLGA-F127 NP film izotermája víz szubfázison, 23 °C-on

Négy különböző meredekségű szakasz különíthető el az izotermán. Az első kis oldalnyomású szakasz a kétdimenziós gáz-analóg állapot, amelynél a részecskék még olyan távolságra vannak egymástól, hogy nem lép fel köztük jelentős mértékű kölcsönhatás, hasonlóan az ideális gáz elméletéhez. A részecskék távoli erőhatások útján

sem érzékelik egymást. Ezen a szakaszon a kompresszió növekedésével csak kis mértékben növekedett az oldalnyomás. A gát további összenyomásával a részecskék közti távolság csökken, és kb. 3 mN/m-től a réteg a kétdimenziós expandált folyadék állapotot éri el. Itt a részecskék olyan közel kerültek egymáshoz, ahol a hosszútávú kölcsönhatások már megjelentek, ezért az izoterma meredekebbé vált. A határrétegben a részecskék még nem rendezettek. További kompresszió hatására a részecskék egyre közelebb kerültek egymáshoz, ami folytán a részecske-részecske közti elektrosztatikus taszító kölcsönhatás egyre nagyobb mértékűvé válik. A harmadik kondenzált folyadék szakaszban a rendeződés folyamatát figyelhetjük meg, ahol a réteg a legtömörebb állapot elérésére törekszik. Ebben a tartományban jelentőssé válnak a rövidtávú szterikus taszító kölcsönhatások a részecskék felületén elhelyezkedő Pluronic rétegek között. A részecskék rendeződése után a film felveszi a lehető legtömörebb szerkezetet, amely a kétdimenziós szilárd állapotnak felel meg. A szilárd állapotot követően kollapszus lép fel. Ezt az oldalnyomás értéket nem volt célunk elérni, mivel a kollapszust követően a részecskék a tömbfázisba kerülnek és a kád falán kenődnek fel, elszennyezve a teflon kád és a gát felszínét, aminek a tisztítása ez után rendkívül időigényes. A részecskék jól összenyomható felületi réteget alkotnak.

Ezek után a réteg különböző állapotaiban végeztünk oszcillációs reológiai méréseket több oldalnyomás mellett. A kondenzált folyadék és szilárd állapotban a réteget alkotó részecskék közti taszítás eredményezi az oszcillálás során fellépő válaszreakciót, amelyből a 2. képlet alapján számolt rugalmassági modulusz abszolút értéke, és abból a 3. összefüggés felhasználásával az elasztikus és viszkózus modulusz kiszámítható. A számolt értékeket az alábbi táblázatban foglaljuk össze:

π (mN/m)	$ \varepsilon $	ε'	ε''
15	8,4	8,1	2,2
30	19,2	19,1	2,2
35	37,1	37,0	3,5
40	148,5	148,1	10,7

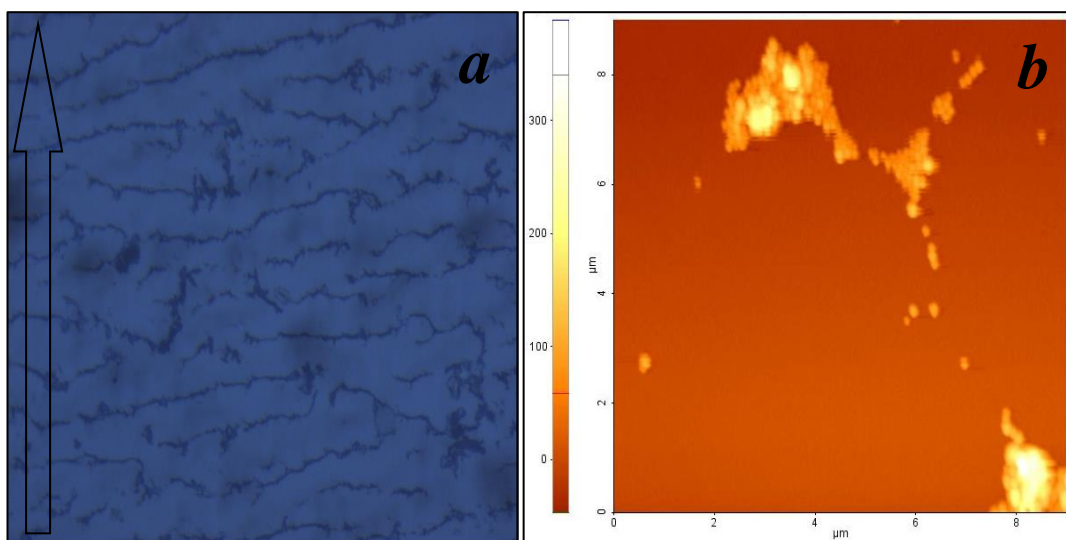
1. táblázat PLGA-F127 határréteg komplex dilatációs, elasztikus és viszkózus moduluszai különböző oldalnyomás mellett

A mérés során felvettük a 40 mN/m oldalnyomásnál kialakult réteg oszcillációját, amely a kollapszus előtti tömör réteg állapota. A mért értékekből leolvasható egy növekvő tendencia, amelyből következtetünk a réteg tulajdonságaira. Megfigyelhető, hogy az

elasztikus modulusz minden mért állapotban nagyobb a viszkózus modulusztól. Ezekből arra következtetünk, hogy a filmet alkotó PLGA-F127 részecskék rugalmasan viselkednek a határrétegben, ami arra utal, hogy a részecskék egymástól szeparálva, aggregáció mentesen helyezkednek el. Látható az is, hogy a 40 mN/m oldalnyomás mellett mért elastikus modulusz értéke 18-szorosára növekedett a 15 mN/m-nél mért értékhez képest, amíg a viszkózus modulusz csak kis mértékben változott. Ezekből arra következtetünk, hogy a film tömör, összenyomott állapotban is rugalmasan viselkedik. Ebből következik, hogy a részecskék nagy oldalnyomás mellett is a rétegben maradnak, nem hatolnak a szubfázisba és nem aggregálódnak, tehát stabil határreteget alkotnak.

5.2.2. PLGA-F127 NP film átvitele szubsztrátra

A következő lépésben a réteg morfológiáját vizsgáltuk meg AFM segítségével. Az előkísérletben Langmuir-Blodgett filmet húztunk víz szubfázisból, 23 °C-on, savazott üveglap felületére. A húzást több oldalnyomás mellett végeztük el: 5, 10 és 20 mN/m. A 20 mN/m-es oldalnyomásnál mért képeket mutatjuk be az alábbi ábrán.

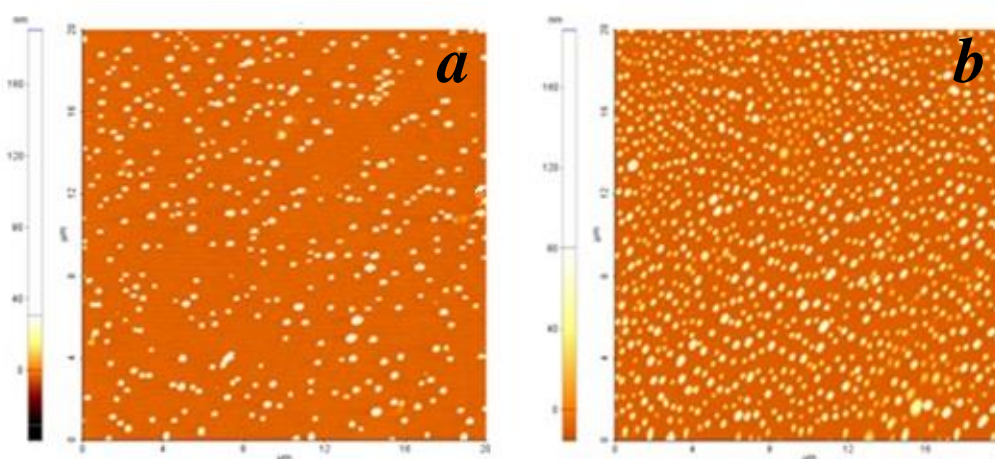


11. ábra PLGA-F127 Langmuir-Blodgett film mikroszkóp (a) és AFM (b) képe savazott üveglapon víz szubfázisról

Az AFM mikroszkóp képében (a) látható, hogy nincs homogén felületi borítottság. Ami érthető, mivel a negatív töltésekkel rendelkező üveglap felületéhez kis adhézióval tud hozzátapadni a szintén negatív töltéssel rendelkező PLGA-F127 NP. A mikroszkóp képen (a) nyíllal jelöltük a húzás irányát, amely által érthető, hogy a sávos borítottság a kihúzás miatt az üvegfelületen végigfutó meniszkusz hatására alakult ki. Szükséges tehát az üveglap felszínét pozitív töltésre módosítani, hogy az üveglap felszín és részecske közti

adhézió az elektrosztatikus vonzás miatt megnövekedjen. Ilyen módosítás volt az APTES-sel kemiszorbeált üveglap.

A kétdimenziós expandált folyadék állapotban (10 mN/m) és a kondenzált állapotban (30 mN/m) lévő filmeket APTES-sel funkcionalizált szubsztrátra vittük át Langmuir-Schaefer technika segítségével. Azért választottuk a Langmuir-Schaefer technikát, mert ezzel kizárható a meniszkusz által esetlegesen létrejövő filmorientációt. Az így elkészített LS-filmek AFM képei az 12. ábrán láthatóak.



12. ábra A PLGA-F127 egyrétegű film APTES-sel borított üveg szubsztráton 10 mN/m (a) és 30 mN/m (b) oldalnyomásnál húzott Lagmuir-Schaefer-filmje

Az izoterma és a reológiai eredményeket támasztják alá a fenti AFM képek, ahol látható a részecskék tömörödése nagy oldalnyomásnál, és azok rendeződésének mértéke. Megfigyelhető, hogy a NP-k a nagy oldalnyomás mellett sem aggregálódnak, hanem egyedi részecskéként rendeződnek a határrétegben.

A fluid réteg stabilitása a részecske – részecske közti taszító kölcsönhatások nagyságától függ. A taszítást a hosszú távú elektromos kettősréteg jelenléte (U_{EDL}) és a rövidtávú szterikus gátlás (U_{St}), míg a vonzó kölcsönhatást a két részecske közt fellépő Van der Waals-féle erő (U_{VdW}) eredményezi [31]. A taszító és vonzó potenciálok összege eredményezi a teljes energiát, amelyet a következő összefüggés ír le:

$$U_{Tot} = U_{EDL} + U_{St} + U_{VdW} \quad (6)$$

A negatív felületi potenciál a részecske felületén lévő karboxil-csoportok töltése miatt van jelen, amelynek az értékét a zetapotenciál mérésnél megmértük. A részecske körül kialakult elektromos kettősréteg potenciálja a Poisson-Boltzmann-egyenlet lineáris

szuperpozíció közelítésével írható le, amely két síkban elhelyezkedő egyenletes töltéseloszlású gömb részecske között az alábbi összefüggéssel számolható [30, 31]:

$$U_{EDL} = 32\pi\varepsilon_r\varepsilon_0r \left(\frac{k_B T}{ze}\right) \tanh^2\left(\frac{ze\Psi_{NP}}{4k_B T}\right) e^{-\kappa h} \quad (7)$$

ahol ε_r – a közeg relatív permittivitása, ε_0 – a vákuum permittivitás, r – a részecske sugara, Ψ_{NP} – a részecske felületi potenciálja, κ^{-1} – a Debye-hossz, h – a részecskék közti távolság.

A sztérikus stabilitást a felületen adszorbeált Pluronic hidratált PEO lánc okozza. Az ütközés során a részecskék felületi PEO láncainak átfedésével taszítás ébred a részecskék között, amely meggátolja az aggregációt. A Pluronic sztérikus potenciálját az alábbi közelítő összefüggéssel számítjuk ki [31, 32]:

$$U_{St} = \tilde{\Gamma}k_B T \left[\frac{\pi^2 L^2}{3h^2} - \ln\left(\frac{8\pi L^2}{3h^2}\right) \right], \text{ ha } h \leq L^2\sqrt{3} \quad (8)$$

$$U_{St} = 4\tilde{\Gamma}k_B T \exp\left(-\frac{3h^2}{2L^2}\right), \text{ ha } h > L^2\sqrt{3} \quad (9)$$

ahol $\tilde{\Gamma}$ – dimenzió nélküli felületi borítottság, h – a részecskék közti távolság, L – az adszorbeált egyrétegű polimer vastagsága a PLGA felszínen, amely a következő közelítéssel számítható $L \approx l\sqrt{N}$, ahol l – a PEO lánc hossza a Pluronic-ban, 3,7 Å [33], N – a Pluronic F127 molekulában lévő monomerek mennyisége, ami átlagosan 257 [34].

$$\tilde{\Gamma} = \frac{\Gamma N v m}{N_A l} \quad (10)$$

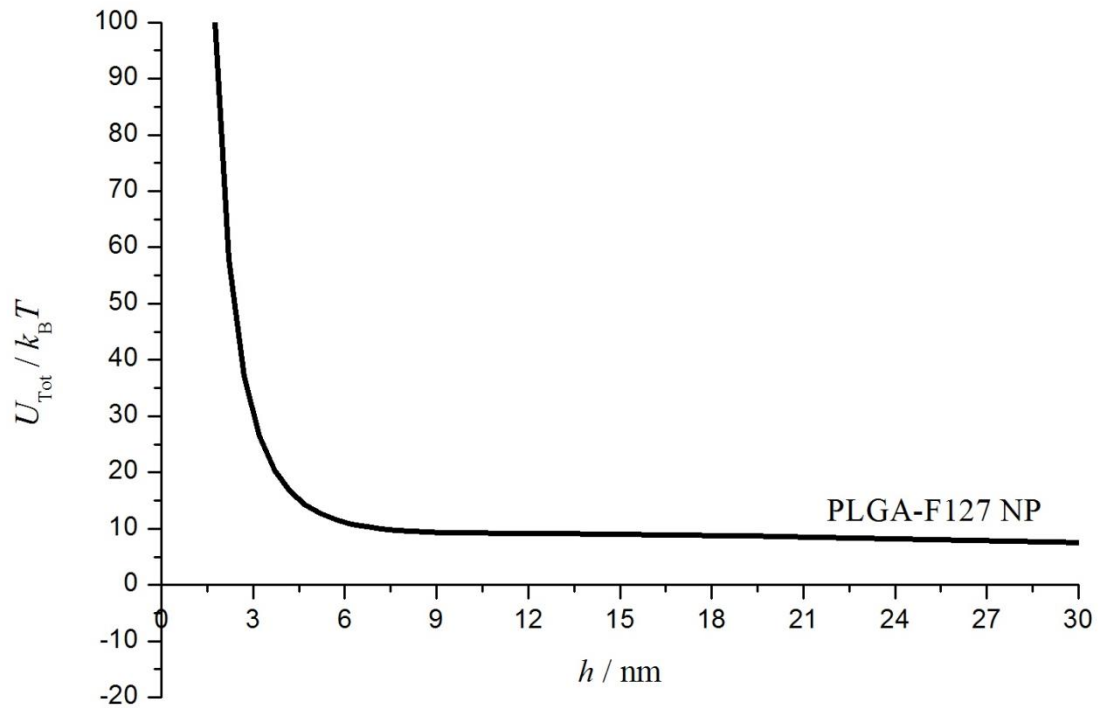
ahol Γ – a PLGA felszínén a Pluronic felületi borítottsága, 20 nm² [35], m – az átlagos molekula tömeg, v – a PEO és PPO szegmensek átlagos specifikus térfogata, $v_{PEO} = 0,84$ cm³/g, $v_{PPO} = 0,92$ cm³/g [31, 36].

A van der Waals-féle kölcsönhatás két gömb alakú, határrétegben elhelyezkedő részecske között az alábbi összefüggéssel írható le:

$$U_{vdW} = -\frac{A_{INT}}{6} \left[\frac{2r^2}{h^2+4rh} + \frac{2r^2}{(h+2r)^2} + \ln\left(1 - \frac{4r^2}{(h+2r)^2}\right) \right] \quad (11)$$

ahol h – a részecskék közti távolság, r – a részecske átmérő fele, A_{INT} – Hamaker-állandó [31].

Két részecske közötti teljes energia – távolság függése a fenti modellek szerint az alábbi ábrán látható:



13. ábra A részecskék közti teljes energia a távolság függvényében

Látható, hogy a részecskék közti kölcsönhatás minden esetben a hőenergia fölött van, ami a stabilitás előfeltétele. A nagy távolságok esetén az elektrosztatikus kölcsönhatás dominál, ami kis értékű, mivel a Pluronic csökkenti a részecske felületi töltését, kitolva a hasadási síkot. A kis távolságok esetén a sztérikus taszítás dominál, és ez eredményezi a meredekség megnövekedését.

5.3. A PLGA-F127 NP viselkedése tárolás hatására

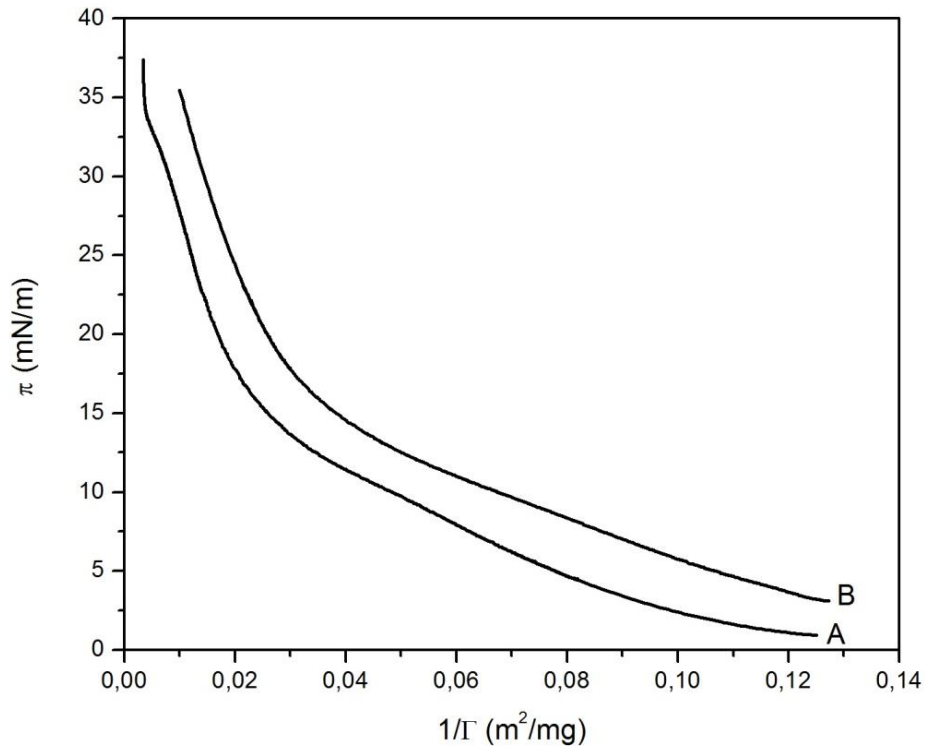
A stabilizált PLGA nanorészecskéket több szempontból előnyösen használják főként orvosi és gyógyászati célokra. Ilyen például a rendkívül hidrofób hatóanyag kapszulázása és szervezetbe juttatása, e mellett az időben elnyújtott hatóanyag leadás megvalósítását is lehetővé teszi. A hatóanyag felszabadulása a szervezetben a folyamatos bomlás és diffúzió kioldódás következménye. A szervezetbe jutástól számítva több napon keresztül (akár egy hét) megtalálható a véráramban, miközben a hatóanyag leadás folyamatosságát biztosítja. Ilyen folyamatos hatóanyag leadásra van szükség például kemoterápiás kezelés során [27].

A részecskéket az előállítás után célszerű oldatfázisban tárolni, mivel a liofilizálás után a szárított részecskék a tárolási hőmérséklettől függően jelentős mértékben aggregálódhatnak, illetve a részecske méret csökkenésével növekszik az aggregációs hajlam [28]. Az oldatfázisként használt részecskék a tárolás alatt a tároló edény falával érintkeznek, amely tulajdonságainak változását okozhatják az anyagi minőségtől függően. Műanyag tároló edény esetén például a műanyagban található különböző stabilizátor, antioxidáns, színezék, lágyító oldódhat be. A különböző polimer gyártási technikák során használt amfipatikus molekulák szintén kidiffundálnak a felszínre, ahol érintkezve a nanorészecske rendszerrel beoldódnak. Egyéb lehetőség még a műanyag fröccsöntése során a felületen visszamaradt kenőanyag. A nyomnyi szennyezők a határretegben dúsulva a film tulajdonságainak változását okozhatják.

A további munkánk során kétféle tárolási körülményt vizsgáltunk meg. Az egyik esetben perkénsavval tisztított zárható üvegedényt használtunk, a másik esetben a kereskedelemben kapható polipropilénből készített műanyag edényt. A mintákat a mérések előtt 7 napig hűtőben tároltuk.

5.3.1. A tárolás hatása az izotermára

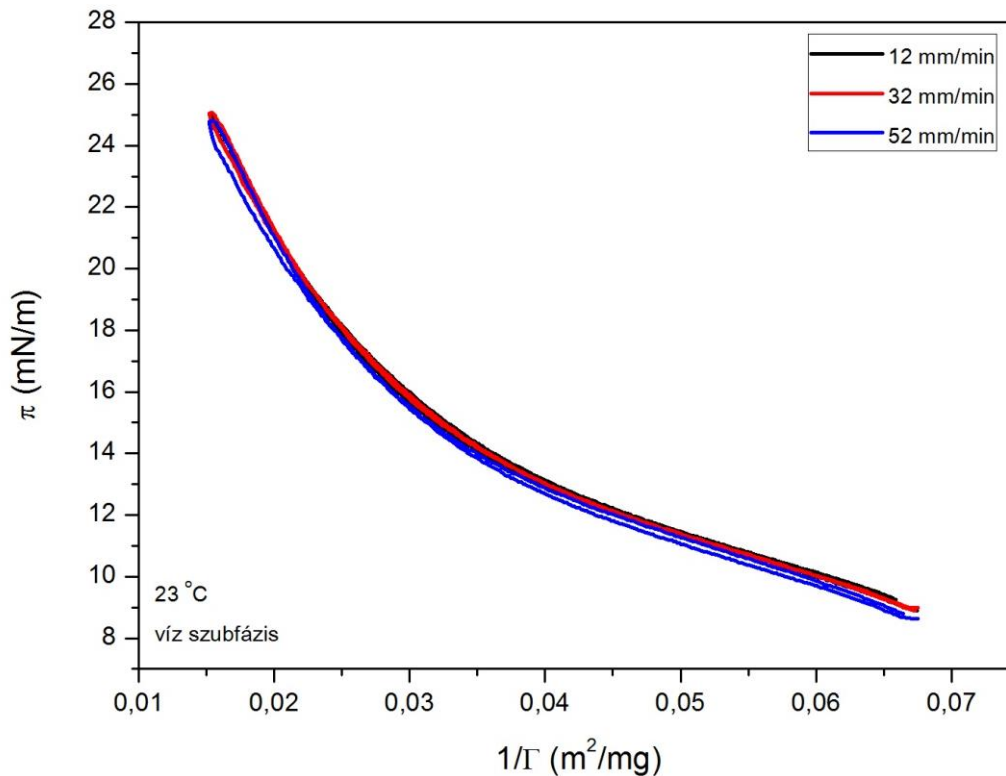
Elkészítettük az üveg és műanyag edényben tárolt PLGA-F127 NP-k izotermáját, a nulla időpontban alkalmazott készülék beállítások mellett. Az üvegedényben történő tárolás hatására nem lehetett megfigyelni változásokat a réteg izotermájában. Ezzel szemben a műanyag edényben való tárolás az izotermák változását eredményezte. A műanyag edényben tárolt részecskék (továbbiakban: PLGA-F127-T) izotermáját az 14. ábrán mutatjuk be, összehasonlítva a nulla időpontú izotermával.



14. ábra A PLGA-F127 NP film nulla időpontban (**A**) és tárolás után (**B**) felvett izotermája

A két izoterma összehasonlításából látható, hogy tetszőleges összenyomás esetén a **B** izotermán minden esetben nagyobb oldalnyomást mértünk, mint az **A** izoterma azonos állapotaiban. Ebből arra következtetünk, hogy a **B** izotermához tartozó filmrétegben az egy részecskére vonatkoztatott helyigény nagyobb, mint az **A** film esetén. Ez annak lehet a jele, hogy a filmben jelenlévő anyagmennyiség megnőtt, ami lehet a részecskék bomlásából eredő méretcsökkenés, vagy új komponens megjelenésének a jele. A részecskeméretet DLS méréssel ellenőriztük és megállapítottuk, hogy nem következett be kimutatható változás a hidrodinamikai átmérőben és polidiszperzításban.

Első lépésben a gátsebesség izotermára gyakorolt hatását vizsgáltuk meg. A különböző gátsebességek mellett felvett, 23 °C-on, víz szubfázison létrehozott PLGA-F127-T határreteg izotermája a 15. ábrán látható. A mérés során felvettük a kompressziós és expanziós szakaszt.



15. ábra PLGA-F127-T határréteg izotermája 23 °C-on 12, 32, és 52 mm/min gátsebességnél víz szubfázis esetén

Látható, hogy nincs jelentős eltérés a különböző gátsebességű izotermák között. Illetve a kompresszió és expanzió során a réteg közel azonosan viselkedik. Amiből arra következtetünk, hogy a réteg minden esetben stabilnak mutatkozik, feltehetően nem következik be anyagtranszport a felület és a tömbfázis között.

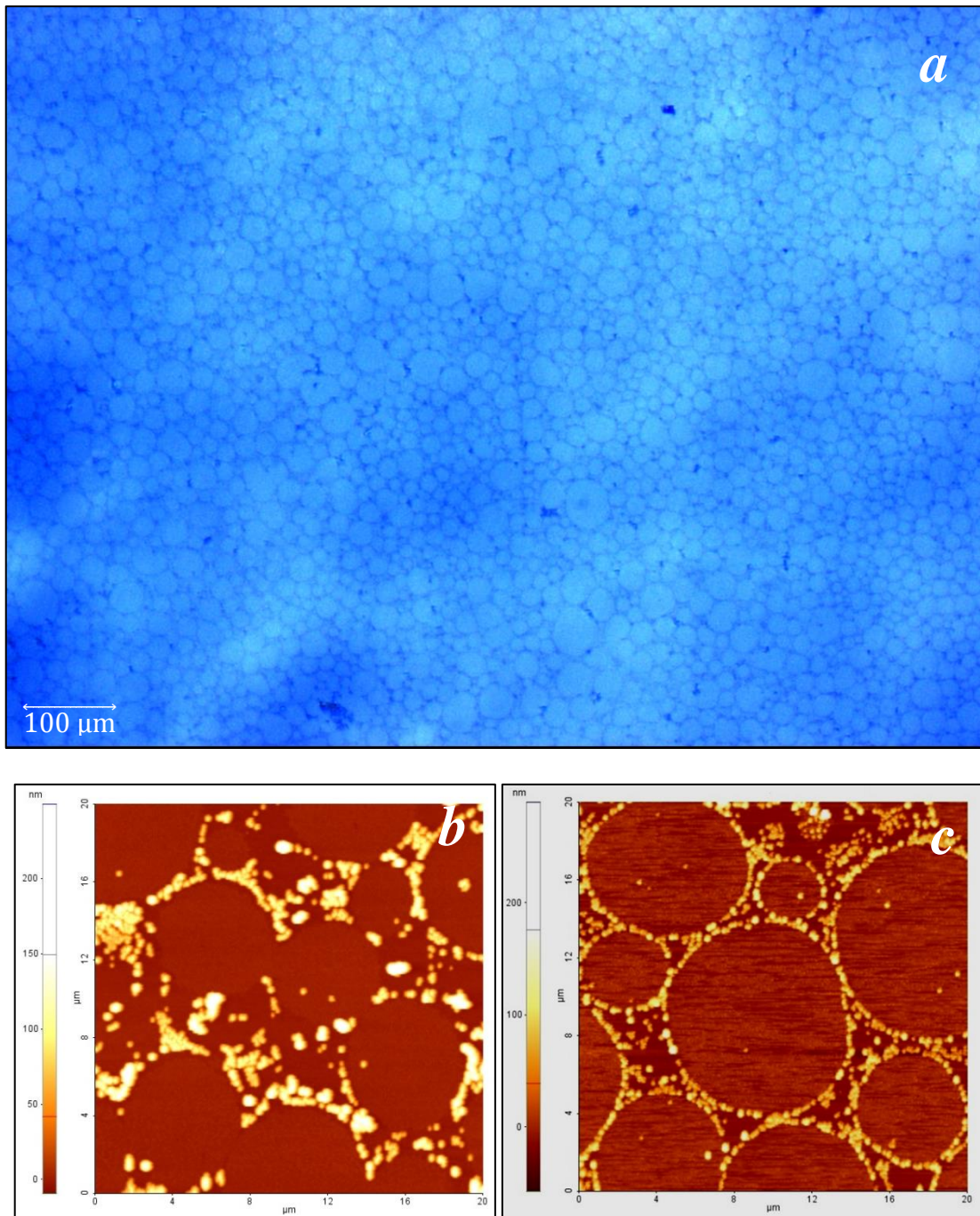
A kialakított filmeknek megvizsgáltuk a reológiai tulajdonságait gátoszillációs mérésekkel. Az oszcillációs görbék felvétele 10, 50 és 100 mHz gátfrekvencia mellett történt. Az oszcillálást 20 mN/m oldalnyomás mellett végeztük el, ahol az izoterma meredek szakaszba lépett. Ebben az állapotban a részecskék olyan távolságra vannak egymástól, hogy már jelentős részecske-részecske kölcsönhatások lépnek fel közöttük. A komplex dilatációs modulusz és az abból számolt elasztikus és viszkozus modulusz értékeit a következő táblázatban foglaljuk össze.

π (mN/m)	f / mHz	$ \varepsilon $	ε'	ε''
20	10	16,2	16,1	1,7
20	50	15,5	15,1	3,5
20	100	13,3	10,4	8,3

2. táblázat 23 °C-on, víz szubfázison kialakított PLGA-F127-T film reológiai moduluszai különböző oszcillációs frekvencia mellett

A táblázatból látható, hogy a rétegek elsősorban elasztikus viselkedést mutatnak. Az oszcillációs frekvencia növelése hatására, ugyanakkor a réteg elasztikus modulusza csökken, míg a viszkozitása növekszik. Ez azzal magyarázható, hogy a frekvencia-növekedés hatására a réteg nem tud rugalmasan válaszolni a gát kényszerítő harmonikus oszcillációjára, ezért felületi viszkózus folyadékként kezd viselkedni. Ez alátámasztja azt a feltételezést, hogy a réteg inhomogén szerkezetű, vagy aggregátumokat tartalmaz.

A következő lépésben LB-filmhúzást végeztünk APTES-sel kemisorbeált üveglappal. A filmről AFM képeket készítettünk, amelyből a részecske struktúra látható. A filmről készített mikroszkóp és AFM képek a 16. ábrán láthatóak.



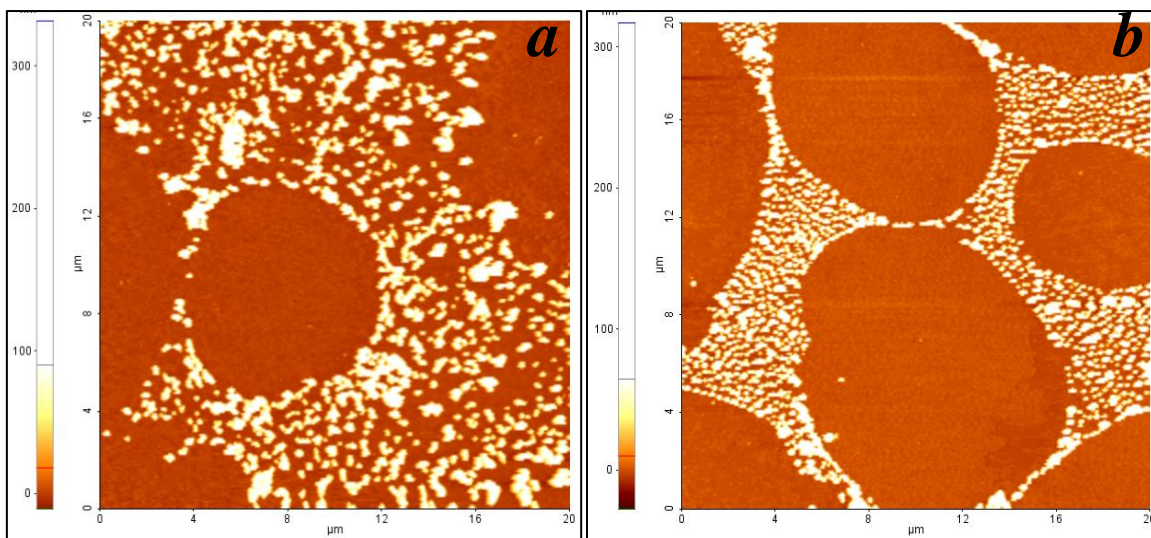
16. ábra PLGA-F127-T LB-film mikroszkóp (*a*) és AFM (*b* és *c*) képei víz szubfázison, 23 °C mellett APTES-sel borított üveglapon 20 mN/m oldalnyomásnál

A filmben a PLGA-F127 NP-k inhomogén eloszlásúak és jellemzően kör alakú szigetek közt rendeződnek. Az AFM fázisképen az is megfigyelhető, hogy a szigetek eltérő fázist alkotnak, amelyekbe nem hatolnak be nanorészecskék. Illetve az is megfigyelhető volt, hogy a szigetekben lévő molekularéteg vastagsága 1-2 nm. Az új fázis a műanyag edényben való tárolás után jelent meg. Ez arra enged következtetni, hogy a tárolás hatására a műanyagból valamilyen vízben kevésbé oldódó felületaktív anyag oldódik ki és a filmben

dúsulva molekuláris réteget alkot. Ez könnyen előfordulhat, hiszen a műanyag készítés során felhasznált adalékanyagok pl. lágyító, antioxidáns, hőálló és emulgeáló szer, illetve a fröccsöntés során használt tapadás gátló anyagok közül bármelyik vagy mindegyik alkothatja a szennyező fázist, amely képes dúsulni a víz/levegő határretegben. A vizsgálat során nem volt célunk kivizsgálni, hogy mi a szennyező molekula. A mérésekből jól láthatóvá vált, hogy olyan szennyezőről van szó, amely a felületben dúsulva jelentősen módosítja a filmréteg tulajdonságait és morfológiáját. Az AFM képen az is látható, hogy a szennyező fázis és nanorészecske jól elkülönül egymástól, nem hatolnak egymásba, illetve a fázis összefüggő szigeteket alkot. A felületét tekintve negatív töltésű nanorészecskék nem tudnak behatolni a szigetekbe.

A szennyező jelenlétének bizonyítása után pontosabban tudjuk értelmezni a 14. ábrát, ahol a kezdeti időpontban felvett és a műanyag edényben tárolt részecskék izotermáját hasonlítottuk össze. A PLGA-F127-T filmben a részecskék helyigénye azért nagyobb, mert a szennyező fázis is hozzájárul a felületi borítottsághoz.

Következő lépésben megnéztük a filmhúzás hatását. A Langmuir-Schaefer technikára azért volt szükség, hogy ellenőrizzük a filmhúzás reprodukálhatóságát másféle módszer esetén is. A húzott LB- és LS-filmek APTES-sel borított üveglapon a 17. ábrán láthatóak.



17. ábra PLGA-F127-T LB- (a) és LS-filmek (b) AFM képei víz szubfázison, 23 °C-on APTES-sel borított üveglapon

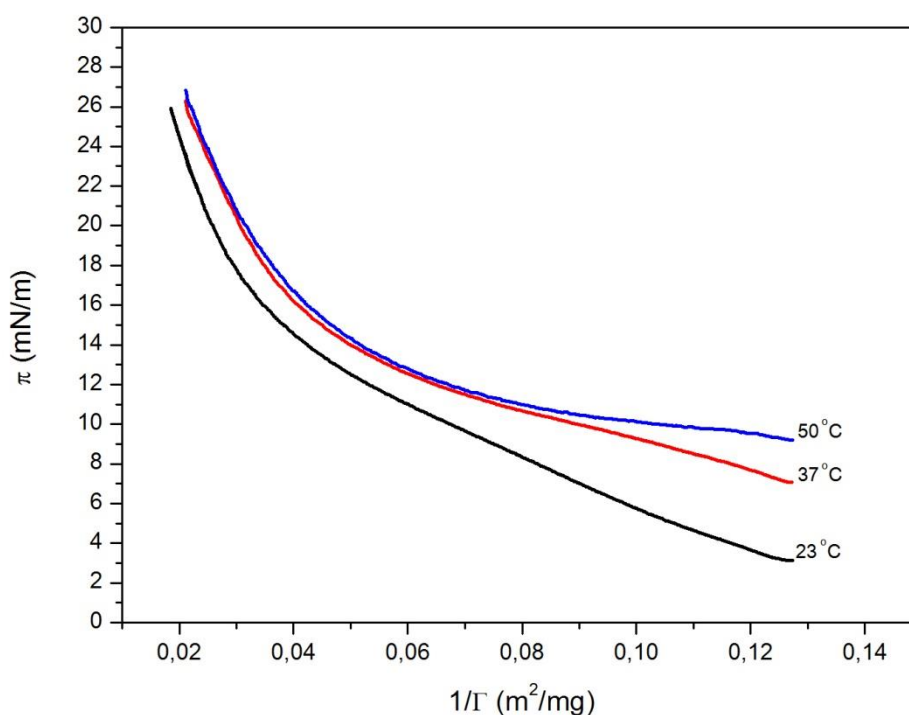
Az LS-filmhúzás esetén a nanorészecskék homogénebb eloszlásban kerülnek el. Jelentős eltérés nem volt tapasztalható a két filmhúzási technika között, így eredményesen

alkalmazható mindkettő a fluid felszínen kialakult film szubsztrátra való átviteléhez. Az is láthatóvá vált, hogy megfelelő felületi tulajdonságokkal rendelkező szubsztrát esetén a húzási technika nem befolyásolja jelentős mértékben a film átvitelét.

További lehetőségként felmerül, hogy ezek a „kompozit” filmek felhasználhatók felületi mintázatok kialakítására. A következő lépésekben megvizsgáltuk a hőmérséklet és az ionerősség hatását a filmszerkezetre.

5.3.2. Felületi réteg szerkezetének hőmérsékletfüggése

A réteg szerkezetének kialakulását befolyásoló tényezők közül vizsgáltuk a hőmérséklet hatását. Ehhez a szobahőmérsékletű, 23 °C-os mérések mellett elvégeztük a korábbi kísérleteket 37, illetve 50 °C-on is. Minden körülmény mellett azonos kezdeti mennyiséggel hoztuk létre a filmet. A mért izotermákat a következő ábrán foglaljuk össze.



18. ábra PLGA-F127-T határréteg izotermája különböző hőmérsékleten víz szubfázison

A hőmérséklet növekedésével növekszik az izotermák kezdeti oldalnyomása, ami a rétegben lévő szennyező anyag expandáltabb állapota, illetve a szabadon mozgó részecskék megnövekedett hőmozgása miatt következhet be. Az előzőekben már láttuk, hogy ebben a kezdeti izoterma szakaszban a részecskék még távol vannak egymástól, ezért

a köztük lévő kölcsönhatás nem számottevő, így a filmréteg eltérő viselkedését a szennyező anyag hatása okozhatja a kis tömörítés mellett. A nagy oldalnyomásnál kezdenek összeérni az izotermák, amiből arra következtetünk, hogy a borítottságot végül a nanorészecske - nanorészecske kölcsönhatás fogja meghatározni.

Vizsgáltuk a hőmérséklet hatását a filmréteg reológiájára, illetve meghatároztuk a film rugalmassági tulajdonságait két különböző állapotban. A réteg oszcillálását három hőmérsékleten vettük fel, víz szubfázison, 10 mN/m és 20 mN/m oldalnyomás mellett. Az oszcillálást 50 mHz gátfrekvencia mellett készítettük. A dilatációs moduluszokra számolt értékek a 3. táblázatban láthatóak.

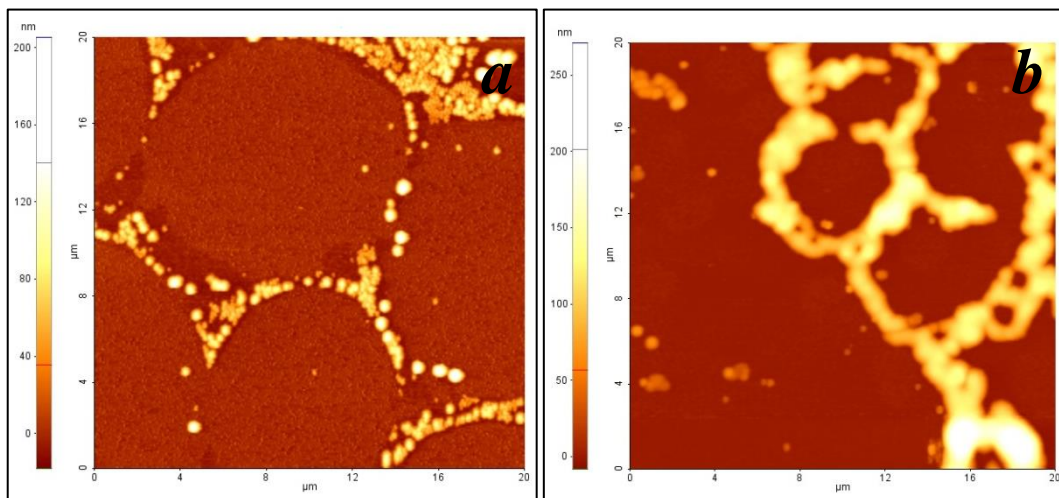
π (mN/m)	$T/^\circ\text{C}$	$ \varepsilon $	ε'	ε''
10	23	8,3	7,8	3,1
	37	6,4	6,1	1,7
	50	4,8	4,7	1,2
20	23	15,5	15,1	3,5
	37	17,8	17,3	4,3
	50	13,9	13,4	3,4

3. táblázat A PLGA-F127-T filmréteg reológiájának hőmérsékletfüggése

Az táblázatból látható, hogy az oldalnyomás növekedésével növekszik a határréteg rugalmassági moduluszának abszolút értéke, és ez által az elasztikus modulusz is nagyobb. A vizskózus modulusz kis értékű és nem figyelhető meg egyértelmű változás a hőmérséklet hatására. A komplex dilatációs modulusz és elasztikus modulusz növekedése azzal magyarázható, hogy a részecskék közti távolság csökkenésével megnövekszik a taszítás a részecskék között.

A hőmérséklet növekedésével a Pluronic F127 polimerben lévő PEO láncok hidratációja csökken, azaz apolárisabbá válnak [29]. A PLGA NP felületén adszorbeált Pluronic ezáltal a hőmérséklet emelkedésével egyre kompaktabb réteget képez és a részecskék között fellépő szterikus taszító kölcsönhatások mértéke csökken, illetve rövidebb hatótávolságúvá válik. A reológiai mérések ezt a jelenséget alátámasztják, mivel a kis elasztikus modulusz érték annak a jele, hogy a részecskék között elsősorban hosszútávú, jelen esetben elektrosztatikus kölcsönhatások lépnek fel.

Következő lépésben elkészítettük 37 °C-on és 50 °C-on az LB-filmhúzást, ahol az alábbi topográfiák figyelhetők meg.

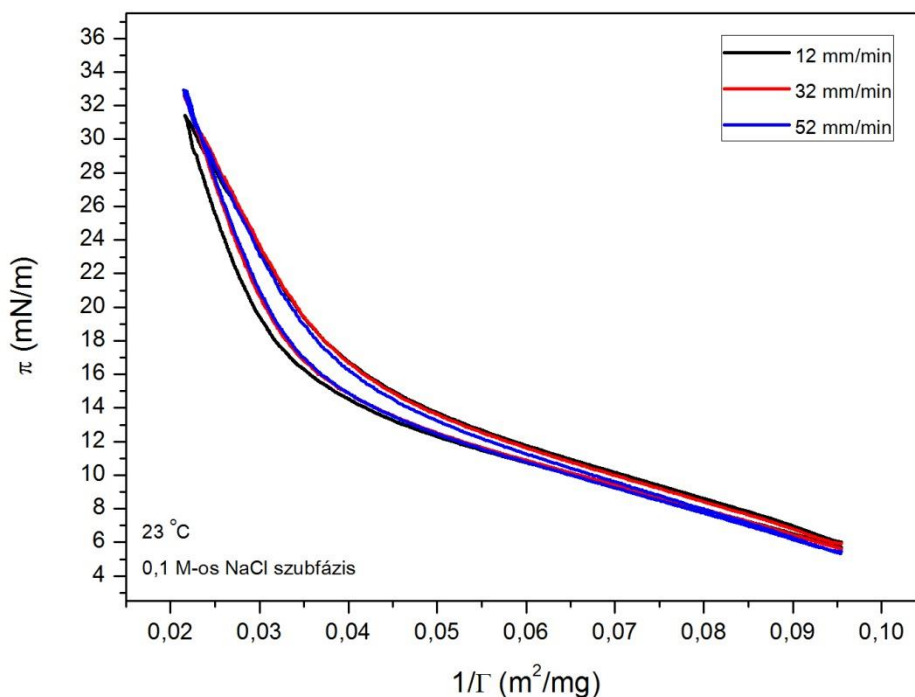


19. PLGA-F127-T LB-film AFM képei víz szubfázison, 37 °C-on (*a*) és 50 °C-on (*b*) APTES-sel borított üveglapon

A 37 °C hőmérsékleten a korábbiakhoz hasonló morfológia jelent meg. Ugyanakkor 50 °C-on a réteg morfológiája jelentősen megváltozik. Úgy tűnik, hogy a részecskék részlegesen aggregálódtak. Ez annak lehet az eredménye, hogy bár a PLGA 50:50 tömbfázisbeli olvadáspontja alatt vagyunk, viszont a polimerek olvadáspontja csökkenhet a részecskeméret csökkenésével [38], illetve a PLGA NP aggregációja függ a hőmérséklettől és a részecske méretétől [28]. Ezáltal a felületen elfoglalt helyigényük is növekszik, mivel a részecskék elveszítik gömb szerkezetüket, szétterülnek a felszínen. Ez adhat magyarázatot arra, hogy kis elméleti felületi borítottság mellett is nagy oldalnyomás jelentkezik. Feltehetően valami hasonló bekövetkezik már a 37 °C-nál is, bár jóval kisebb mértékben.

5.3.3. Az ionerősség hatása a határrétegre

Megvizsgáltuk az ionerősség hatását a kialakuló részecske filmek szerkezetére. Ebből a célból szubfázisként 0,1 M-os NaCl oldatot használtunk. Az filmek izotermáit különböző gátsebesség mellett rögzítettük, ezeket a következő ábrán mutatjuk be.



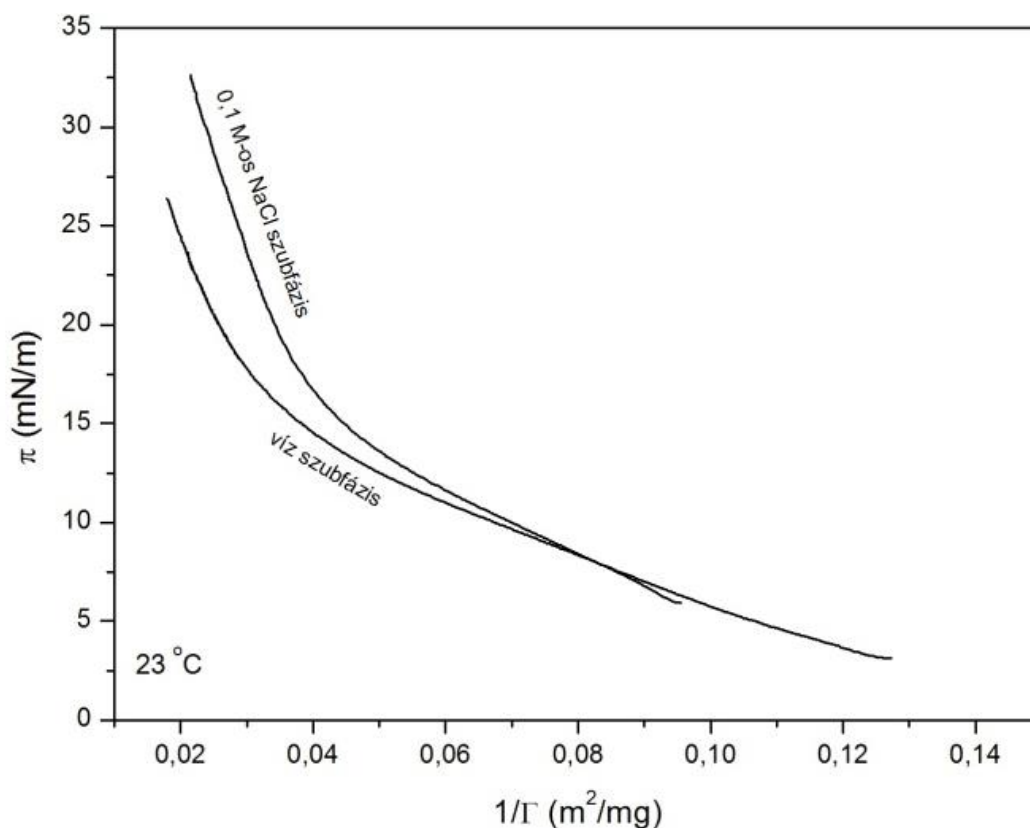
20. ábra PLGA-F127-T határréteg izotermája 23 °C-on 12, 32, és 52 mm/min gátsebességnél 0,1 M-os NaCl-oldat esetén

A NaCl-oldat szubfázison mért izotermáknál a gátsebesség növekedésével az izotermák kis mértékben nagyobb oldalnyomás értékek felé csúsztak el, illetve az izotermák enyhén meredekebbekké váltak. Ez azzal magyarázható, hogy a réteg lassú összenyomás hatására képes relaxálódni, ami az oldalnyomás csökkenését eredményezi, míg nagyobb sebességek esetén erre nincs lehetőség. Látható még, hogy jelentősebb hiszterézis jelenik meg a kompressziós és expanziós izotermák között, mint a vizes szubfázis esetén, amiből arra következtetünk, hogy a határrétegben valami gátolja a rendeződést, majd az expanziónál a kiterjedés gyorsaságát. Megfigyelhető még a két izoterma összehasonlításából (víz és sós szubfázis), hogy a tömör filmállapotban adott $1/\Gamma$ értéknél az oldalnyomás a sós szubfázis esetén a vizes szubfázison mért oldalnyomás értékétől nagyobb.

Az ionerősség növekedés hatására a részecske felületének az elektrosztatikus töltöttsége csökken az ellenion árnyékolása miatt. Így a részecske-részecske közti elektrosztatikus taszítás is csökken, aminek köszönhetően közelebb kerülhetnek egymáshoz, azaz csökken az effektív átmérőjük. Ez által a részecskék helyigénye a fentiek

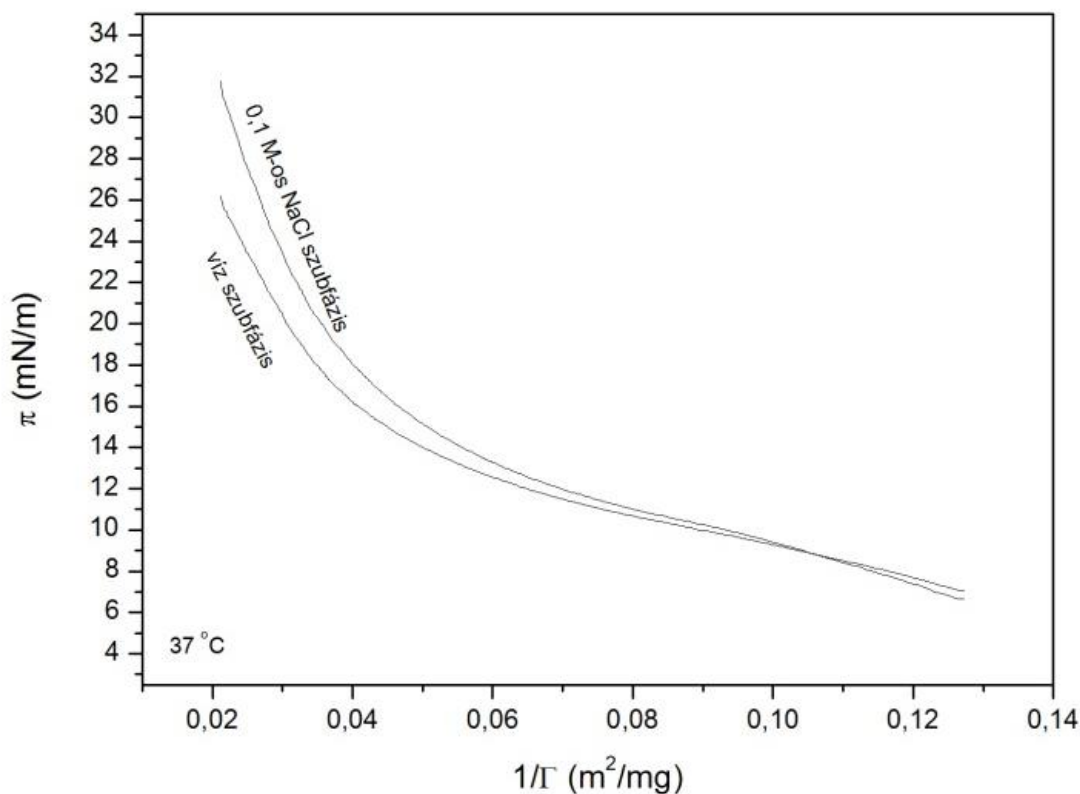
értelmében lecsökken, és ez által az izoterma meredekségének a kisebb helyigények irányába kellene eltolódnia.

A 0,1 M-os NaCl-oldat szubfázison kialakított PLGA-F127-T NP filmréteg izotermája az előzőekben leírtakkal ellentétesen viselkedik. A víz és sós szubfázison létrehozott határretek izotermája a következő ábrán látható.



21. ábra PLGA-F127-T határretek izotermája 23 °C-on víz és 0,1 M-os NaCl szubfázison

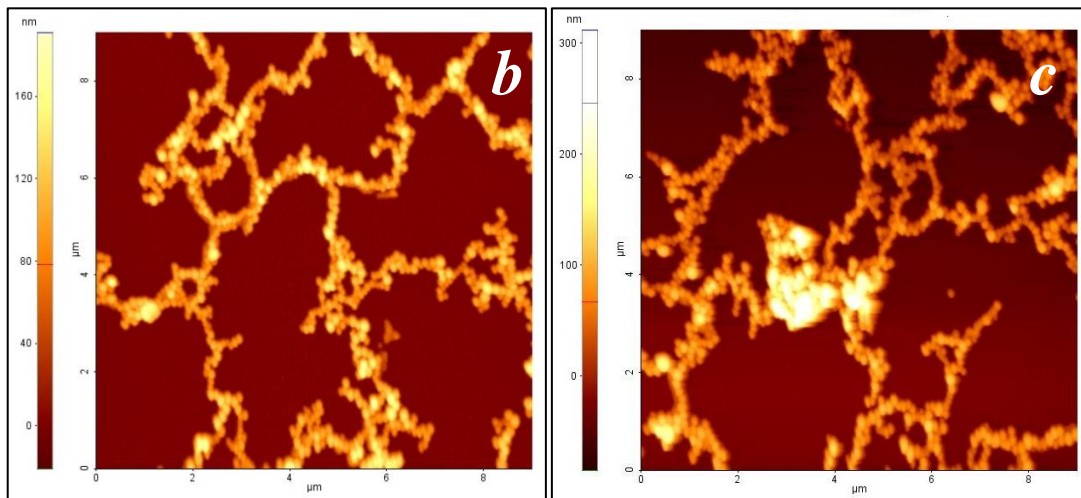
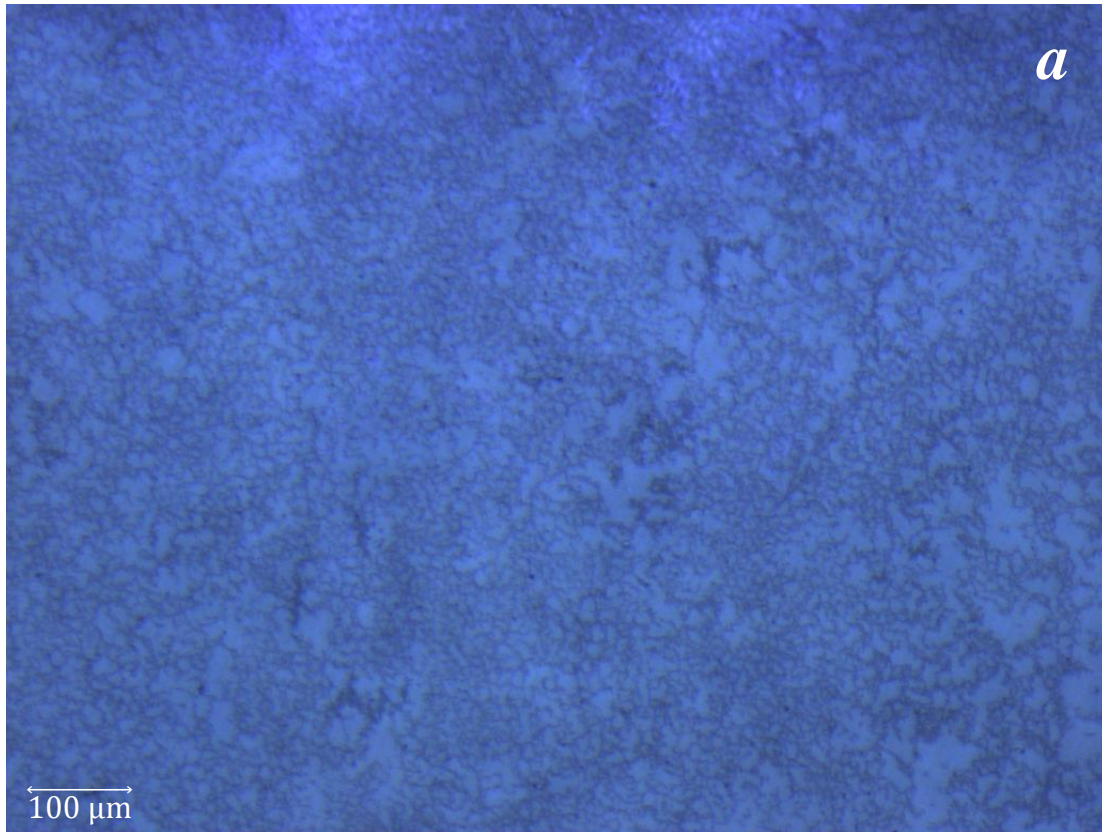
A nagy oldalnyomás mellett sós szubfázison felvett izoterma a vizes szubfázishoz tartozó izoterma fölött megy, ami eltér a tiszta PLGA-F127 nanorészecske elméleti viselkedésétől. A kis oldalnyomás esetén az izotermák közel azonos viselkedést mutatnak, ami érthető, mivel a részecskék olyan távol vannak egymástól, ahol még nincs jelentős részecske-részecske kölcsönhatás és az oldalnyomás csak a részecskék által a felületen elfoglalt területből adódik. Viszont az összenyomás növekedésével meredekebben növekszik a sós szubfázisra felvitt réteg izotermája. Ugyanez a jelenség megfigyelhető a 37 °C-on mért rendszerek esetén is, lásd 22. ábra.



22. ábra PLGA-F127-T határréteg izotermája 37 °C-on víz és 0,1 M-os NaCl szubfázison

A két hőmérsékleten felvett és két rendszer összehasonlításából látható, hogy adott oldalnyomás mellett az egy részecskére jutó felület kisebb a vizes szubfázis esetén. Az izoterma együttes képet ad a létrehozott felületi kompozit rétegről. Mivel az előzőekben tárgyaltuk, hogy a részecske effektív mérete ionerősség hatására lecsökken, ezért várhatóan a megnövekedett $1/\Gamma$ értéket a szennyező anyag jelenléte okozza. A hiszterézis kapcsán tárgyaltuk, hogy a magyarázat a megjelent effektusra az lehet, ha agglomerátumok jelennek meg a felületen az ionerősség növekedés hatására, viszont ebben az esetben nem helytálló a feltételezés, mivel akkor csökkennie kellene az egy részecskére jutó felületnek.

LB-filmet készítettünk 20 mN/m oldalnyomásnál 23 °C-on 0,1 M-os NaCl-oldat szubfázison APTES-sel funkcionizált szubsztrát felhasználásával. A mért mikroszkóp és AFM képek a 23. ábrán láthatók. A réteg AFM vizsgálata megmutatta, hogy a filmben több folyamat játszódott le.



23. ábra PLGA-F127-T Langmuir-Blodgett film mikroszkóp (*a*) és AFM (*b* és *c*) képei 0,1 M-os NaCl-oldat szubfázison, 23 °C-on 20 mN/m oldalnyomásnál

Egyrészt a szennyező jelenléte miatt itt is megfigyelhető a réteg inhomogenitás, a pórusos szerkezet. Emellett a részecskék a köztes területeket nem egyenletesen töltik ki, hanem elágazó szálas szerkezetben aggregálódnak. Ez abból a szempontból is érdekes, hogy a hasonló szerkezetű részecskék tömbfázisban stabilak 1 M-os NaCl-oldattal szemben is [39]. Ez azt jelenti, hogy a részecskék felület indukált aggregáción esnek át, feltehetően akkor, amikor az izotermák felvételekor összenyomódnak. A hálószerű

szerkezet eredményezheti a réteg nagyfokú stabilitását, részben a részecskék a csökkent elektrosztatikus kölcsönhatás miatt hidrofóbabbak, kisózódnak a felületre, másrészt az aggregált jelleg miatt jóval nagyobb energia kell a felületről történő leszorításukhoz is.

Láthattuk, hogy a részecskék tárolásának módja egy kritikus tényező a részecske rendszerek hosszú távú megőrzésében. Ugyanakkor a felületaktív anyagokkal való keveréssel és a kísérleti körülmények változtatásával izgalmas felületi formációk hozhatók létre, amelyeknek lehet haszna pl. felületi mintázatok, templátok kialakításában. Ennek érdekében célszerű lenne a jövőben különböző minőségű felületaktív anyagok és olyan kísérleti paraméterek, mint a felületaktív anyag koncentráció, a hőmérséklet, a pH, ionerősség hatásait megvizsgálni, hogy ezek miként változtatják a film struktúráját. Ezek által újszerű és tetszőleges struktúrájú film kialakítását téve lehetővé.

6. Összefoglalás

Nanorészecske rendszerek vizsgálata víz/levegő határfelületen

Orosz János, Anyagtudomány MSc

ELTE TTK Kémiai Intézet, Fizikai Kémiai Tanszék

Témavezető: **dr. Gyulai Gergő**

A munka során biokompatibilis Pluronic F127-tel stabilizált PLGA nanorészecskék víz/levegő határfelületen létrehozott filmjének tulajdonságait vizsgáltuk. A nanoprecipitációs módszerrel készített nanorészecskék hidrodinamikai átmérőjét dinamikus fényszórás méréssel határoztuk meg. A felületen kötött Pluronic jelenlétét zeta-potenciál méréssel igazoltuk. Víz szubfázison létrehozott filmek tulajdonságait terület-oldalnyomás izoterma, határfelületi dilatációs reológia és AFM mérések segítségével tanulmányoztuk.

Az izoterma értelmezésével képet kaptunk a határréteg viselkedéséről a külső kényszerítő erő hatására, amely során különböző szakaszokat, film-állapotokat figyelhettünk meg. A mérések eredményeiből megállapítottuk, hogy homogén eloszlású, egyrétegű részecske film hozható létre, amely jelentős felületi összenyomás mellett is stabil marad. A határréteg reológiai tulajdonságainak tanulmányozása segített értelmezni a filmet alkotó részecskék közti kölcsönhatásokat. A tömör részecskefilm kialakulásával a film elasztikus modulusza nagymértékben növekedett, amíg a viszkózus modulusz alig változott. Ebből arra lehetett következtetni, hogy a PLGA-F127 NP-k nem aggregálódnak a határrétegben és nem hatolnak a tömbfázisba. A réteg struktúráról AFM készülék segítségével kaptunk nagyfelbontású képeket, melyek bizonyították, hogy a NP-k homogén eloszlásúak a víz/levegő határfelületi rétegben.

Megvizsgáltuk a műanyag és üveg edényben történő tárolás hatását a részecskékre. A műanyag edényből a tárolás során felületaktív szennyező oldódott ki, amely a részecskefilm izotermájának a változását eredményezte. A szennyező főként kör alakú szigetekbe rendeződött, amelyek között a NP-k felhalmozódtak. A filmréteg szerkezetének és tulajdonságainak a változását megnövekedett hőmérséklet és ionerősség mellett vizsgáltuk. A hőmérséklet, illetve az ionerősség növelése hatására a réteg morfológiája jelentősen megváltozott, a részecskék részleges aggregációt mutattak.

Ezen tapasztalatok alapján a felületaktív anyag - részecske kétdimenziós „kompozit” rendszere alkalmas lehet felületi mintázatok kialakítására is, melynek szerkezete a kísérleti körülményekkel (pl. ionerősség, hőmérséklet, pH) nagy mértékben befolyásolható.

7. Summary

Investigation of nanoparticle systems at the air/water interface

János Orosz, Materials Science M. S.

ELTE TTK Institute of Chemistry, Department of Physical Chemistry

Supervisor: **dr. Gergő Gyulai**

In our work we investigated the properties of biocompatible Pluronic F127 stabilized PLGA nanoparticles at the air/water interface. Nanoparticles were prepared by the nanoprecipitation method. The hydrodynamic diameter of the particles was determined using dynamic light scattering. The presence of Pluronic was verified by zeta-potential measurement. The properties of particle layers at air/water interface were investigated by surface pressure - area isotherms, interfacial dilational rheology and atomic force microscopy.

Analyzing the isotherms of the nanoparticle layers distinct film states could be differentiated. We concluded that the particles form a homogeneous monolayer that also remains stable under significant surface compression. Studying the rheological properties of the layer helped us to understand interparticle interactions. In the compressed film the elastic modulus has increased significantly while the layer viscosity barely changed. From this it was concluded that the PLGA-F127 NPs do not aggregated at the interface and are not expelled into the subphase. High-resolution images were recorded of the films using AFM which proved that the NPs are homogeneously distributed in the interfacial layer.

We have investigated the effect of storage in plastic and glass containers. Leaching of surfactants from the plastic containers during storage resulted in a significant change in the isotherms. At the interface the surfactant arranged in circular islands around which the NPs accumulated. The structure and properties of these “composite” layers were investigated at different temperatures and subphase ionic strength. It was found that the morphology of the film can change significantly due these experimental parameters, resulting also in partial aggregation of the particles.

We concluded that the two dimensional “composite” system of nanoparticles and surfactants can be used to create surface patterns, the structure of which could be altered by experimental conditions, like temperature, ionic strength, pH.

8. Irodalomjegyzék

- [1] Dobrádi A. *Gyógyszerhordozó nanorészecskék előállítása és vizsgálata*, Tudományos Diákköri Dolgozat, ELTE Kémiai Intézet, Budapest, 2012.
- [2] Kiss É. *Gyógyszerhordozó nanorészecskék*, Fizikai Szemle, 2011/2012; 413-417.
- [3] H. K. Makadia and S. J. Siegel, *Poly LacticcoGlycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier*, Polymers (Basel). 2011 Sep 1; 3(3): 1377–1397., doi: 10.3390/polym3031377
- [4] L. Nyström, M. Malmsten, *Surface-bound microgels — From physicochemical properties to biomedical applications*, Adv. Colloid Interfac. 238 (2016) 88-104., doi: 10.1016/j.cis.2016.11.003
- [5] O. Zech, M.E. Haase, D.G. Shchukin, T. Zemb, *Froth flotation via microparticle stabilized foams*, Colloid. Surface. A 413 (2012) 2-6., doi: 10.1016/j.colsurfa.2012.04.024
- [6] B.P. Binks, D. Yin, *Pickering emulsions stabilized by hydrophilic nanoparticles: in situ surface modification by oil*, Soft Matter 12 (2016) 6858-6867., doi: 10.1039/C6SM01214K
- [7] M. Destribats, M. Eyharts, V. Lapeyre, E. Sellier, I. Varga, V. Ravaine, V. Schmitt, *Impact of pNIPAM Microgel Size on Its Ability To Stabilize Pickering Emulsions*, Langmuir 30 (2014) 1768-1777., doi: 10.1021/la4044396
- [8] F. Qi, J. Wu, G. Sun, F. Nan, T. Ngai, G. Ma, *Systematic studies of Pickering emulsions stabilized by uniform-sized PLGA particles: preparation and stabilization mechanism*, J. Mater. Chem. B 2 (2014) 7605-7611., doi: 10.1039/c4tb01165a
- [9] G. Gyulai, C.B. Péntes, M. Mohai, F. Csempesz, É. Kiss, *Influence of surface properties of polymeric drug delivery nanoparticles on their membrane affinity*, Eur. Polym. J. 49 (2013) 2495-2503., doi: 10.1016/j.eurpolymj.2013.02.024
- [10] G. Gyulai, A. Magyar, J. Rohonczy, J. Orosz, M. Yamasaki, S. Bősze, É. Kiss, *Preparation and characterization of cationic Pluronic for surface modification and functionalization of polymeric drug delivery nanoparticles*, Express Polym. Lett. 10 (2016) 216-226., doi: 10.3144/expresspolymlett.2016.20
- [11] Fessi H., Puisieux F., Devissaguet J.-P., Ammoury N., Benita S., *Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement*, Int. J. Pharmaceutics 55 (1989) R1–R4., doi: 10.1016/0378-5173(89)90281-0

- [12] K. S. Soppimath , T. M. Aminabhavi , A. R. Kulkarni , W. E. Rudzinski, *Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices*, Journal of Controlled Release 70 (2001) 1–20 (2000),
doi: 10.1016/S0168-3659(00)00339-4
- [13] Gyulai G. *Felületmódosítás hatása biodegradábilis polimer fehérjeadszorpciós képességére*, Tudományos Diákköri Dolgozat, ELTE Fizikai Kémiai Tanszék, Budapest, 2009
- [14] É Kiss, K. Erdélyi, I. Szendrő, E. I. Vargha-Butler, *Adsorption and wetting properties of Pluronic block copolymers on hydrophobic surfaces studied by optical waveguide lightmode spectroscopy and dynamic tensiometric method*, Journal of Adhesion 80 (9) (2004) 815-829
- [15] K.G. Marinova, R.G. Alargova, N.D. Denkov, O.D. Velev, D.N. Petsev, I.B. Ivanov, R.P. Borwankar, *Charging of Oil-Water Interfaces Due to Spontaneous Adsorption of Hydroxyl Ions*, Langmuir 12 (1996) 2045-2051., doi: 10.1021/la950928i
- [16] G. Dobrik, *Szén alapú nanoarchitektúrák kialakítása és jellemzése pásztázószondás módszerekkel*, Doktori értekezés, ELTE Fizika Doktori Iskola, Budapest, 2014
- [17] A. Borsos, *Elektromosan töltött polimer nanogél részecskék vizsgálata*, Tudományos Diákköri Dolgozat, Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi Kar, Budapest, 2007
- [18] G. Gyulai, *Polimer tartalmú felületi nanostruktúrák előállítása és jellemzése, valamint gyógyszerhordozóként való alkalmazási lehetősége*, Doktori Értekezés, ELTE TTK Kémia Doktori Iskola, Budapest, 2014
- [19] K. Hill, *Biológiailag aktív molekulák határfelületi viselkedése*, Doktori Értekezés, ELTE TTK Kémia Doktori Iskola, Budapest, 2009
- [20] E. Pári, *Gyógyszerhordozó nanorészecskék kölcsönhatása lipid monoréteggel*, ELTE TTK, Fizikai Kémiai Tanszék, Budapest, 2014
- [21] T. Gilányi, *Kolloidkémia: nanorendszerek és határfelületek*, egyetemi jegyzet, ELTE Kolloidkémiai és Kolloidtechnológiai Tanszék, Budapest, 2005
- [22] E. Niinivaara, B. P. Wilson, A. W. T. King, E. Kontturi, *Parameters affecting monolayer organisation of substituted polysaccharides on solid substrates upon Langmuir–Schaefer deposition*, Reactive and Functional polymers, Volume 99, Pages 100-106 (2016)

doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2015.12.010

[23] A. G. Bykov, B. A. Noskov, G. Loglio, V. V. Lyadinskaya and R. Miller, *Dilational surface elasticity of spread monolayers of polystyrene microparticles*, *Soft Matter*, 2014, 10, 6499–6505, doi: 10.1039/c4sm00782d

[24] T. Kobayashi, M. Kawaguchi, *Surface dilational moduli of latex particle monolayers spread at air–water interface*, *Journal of Colloid and Interface Science* 390 (2013) 147–150, doi: 10.1016/j.jcis.2012.09.050

[25] A. Lopalco, H. Ali, N. Denora, E. Rytting, Oxcarbazepine-loaded polymeric nanoparticles: development and permeability studies across in vitro models of the blood–brain barrier and human placental trophoblast, Volume 2015:10(1) Pages 1985—1996 (2015), doi: 10.2147/IJN.S77498

[26] E. Locatelli, M. C. Franchini, *Biodegradable PLGA-b-PEG polymeric nanoparticles: synthesis, properties, and nanomedical applications as drug delivery system*, *J. Nanopart. Res.* (2012) 14: 1316., doi: 10.1007/s11051-012-1316-4

[27] H. S. Yoo, K. H. Lee, J. E. Oh, T. G. Park, *In vitro and in vivo anti-tumor activities of nanoparticles based on doxorubicin–PLGA conjugates*, *Journal of Controlled Release* 68 (2000) 419–431, doi: 10.1016/S0168-3659(00)00280-7

[28] S. De, D. H. Robinson, *Particle Size and Temperature Effect on the Physical Stability of PLGA Nanospheres and Microspheres Containing Bodipy*, *AAPS PharmSciTech* 2004; 5 (4) Article 53

[29] M. Bohorquez, C. Koch, T. Trygstad, N. Pandit, *A Study of the Temperature-Dependent Micellization of Pluronic F127*, *Journal of Colloid and Interface Science* 216, 34–40 (1999), doi: 10.1006/jcis.1999.6273

[30] J.-P. Minier, J. Pozorski, *Particles in Wall-Bounded Turbulent Flows: Deposition, Re-Suspension and Agglomeration*, *CISM International Centre for Mechanical Sciences* 571 (2017), doi: 10.1007/978-3-319-41567-3

[31] G. Gyulai, É. Kiss, *Interaction of poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles at fluid interfaces*, *Journal of Colloid and Interface Science* Volume 500, 15 August 2017, Pages 9–19, doi: 10.1016/j.jcis.2017.03.114

[32] P. Kralchevsky, K. Nagayama, *Particles at fluid interfaces and membranes*, New York: Elsevier Science (2001)

- [33] H. Lee, R.M. Venable, A.D. MacKerell, R.W. Pastor, *Molecular Dynamics Studies of Polyethylene Oxide and Polyethylene Glycol: Hydrodynamic Radius and Shape Anisotropy*, *Biophys. J.* 95 (2008) 1590-1599., doi: 10.1529/biophysj.108.133025
- [34] E. Kiss, K. Dravetzky, K. Hill, E. Kutnyanszky, A. Varga, *Protein interaction with a Pluronic-modified poly(lactic acid) Langmuir monolayer*, *Journal of Colloid and Interface Science* 325 (2008) 337–345, doi:10.1016/j.jcis.2008.05.057
- [35] H. M. Redhead, S. S. Davis, L. Illum, *Drug delivery in poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles surface modified with poloxamer 407 and poloxamine 908: in vitro characterisation and in vivo evaluation*, *Journal of Controlled Release* 70 (2001) 353–363, doi: 10.1016/S0168-3659(00)00367-9
- [36] É. Kiss, G. Gyulai, C.B. Péntzes, M. Idei, K. Horváti, B. Bacsa, S. Bösze, *Tuneable surface modification of PLGA nanoparticles carrying new antitubercular drug candidate*, *Colloid. Surface. A* 458 (2014) 178-186., doi: 10.1016/j.colsurfa.2014.05.048
- [37] C. Sommer, J.S. Pedersen, P.C. Stein, *Apparent Specific Volume Measurements of Poly(ethylene oxide), Poly(butylene oxide), Poly(propylene oxide), and Octadecyl Chains in the Micellar State as a Function of Temperature*, *J. Phys. Chem. B* 108 (2004) 6242-6249., doi: 10.1021/jp036963c
- [38] Q. Jiang, C. C. Yang, J. C. Li, *Size-Dependent Melting Temperature of Polymers*, *Macromol. Theory Simul.* 2003, 12, 57–60, doi: 10.1002/mats.200390003
- [39] M. J. Santander-Ortega , A. B. Jódar-Reyes , N. Csaba , D. Bastos-González , J. L. Ortega-Vinuesa, *Colloidal stability of Pluronic F68-coated PLGA nanoparticles: A variety of stabilisation mechanisms*, *Journal of Colloid and Interface Science* 302 (2006) 522–529, doi: 10.1016/j.jcis.2006.07.031
- [40] Cs. B. Péntzes, *Membránalkotók, gyógyszerhatóanyagok, biopolimerek összetett struktúráinak vizsgálata felületjellemzési módszerekkel*, Doktori értekezés, Fizikai Kémiai Intézet (2016)

NYILATKOZAT

Név: Orosz János

ELTE Természettudományi Kar, szak: Anyagtudomány MSc

NEPTUN azonosító: GEBWT6

Diplomamunka címe: Nanorészecske rendszerek vizsgálata víz/levegő határfelületen

A **diplomamunka** szerzőjeként fegyelmi felelősségem tudatában kijelentem, hogy a dolgozatom önálló munkám eredménye, saját szellemi termékem, abban a hivatkozások és idézések standard szabályait következetesen alkalmaztam, mások által írt részeket a megfelelő idézés nélkül nem használtam fel.

Budapest, 2018. január 08.

a hallgató aláírása