УДК 544
МРНТИ 31.25.15

ВЛИЯНИЕ pH СРЕДЫ НА МОРФОЛОГИЮ ПОВЕРХНОСТИ И ДИНАМИКУ РОСТА ПЛЕНОК НА ОСНОВЕ ХИТОЗАН/NA-КМЦ

САВДЕНБЕКОВА Б.Е., ОСПАНОВА А.К., ТІЛДАН Ж.Ж., КУБАШЕВА Ж.Б.

Казахский Национальный университет им. аль-Фараби

Аннотация: *pH среды сильно влияет на морфологию поверхности и рост нанопленок. С помощью метода наслаивание (LBL) противоположно заряженных полиэлектролитов были получены покрытия на поверхности кремниевых и стеклянных пластинок. В качестве поликатиона был использован хитозан, а роль полианиона играет карбоксиметилцеллюлоза натрия. Выбор обеих полиэлектролитов связан с их совметимостью и биоразлагаемостью. Методом АСМ была оценена адгезия поверхности подложек, исследована шероховатость поверхности нанопленок и установлены этапы формирования пленок. Методом эллипсометрии была определена зависимость толщины от pH-системы. Пленки, полученные при pH=5, характеризуются более низкой скоростью роста толщины по сравнению с пленками, полученными при pH=3,4 и 6, что связано с природой конформации полиэлектролитов. Контролируя плотность заряда полиэлектролитов можно создать антибактериальные покрытия для имплантируемых систем.*

Ключевые слова: *хитозан, Na-карбоксиметилцеллюлоза, рост пленок, шероховатость поверхности, мультислои*

THE INFLUENCE OF THE pH OF THE MEDIUM ON THE SURFACE MORPHOLOGY AND FILM GROWTH DYNAMICS

Abstract: *The research investigated the effect of pH on the surface morphology and film growth. Using the method of layering (LBL) of oppositely charged polyelectrolytes, a coating was obtained on the surface of silicon and glass wafers. Chitosan was used as a polycation, and sodium carboxymethylcellulose plays the role of a polyanion. The choice of both polyelectrolytes is related to their compatibility and biodegradability. The adhesion of the substrate surface was evaluated by an atomic force microscope (AFM). As a result, glass wafers form thin, smooth films due to low adhesion. And also the roughness of different bilayers was investigated and the stages of film formation were shown. The method of ellipsometry was used to determine the dependence of the thickness on the pH of the system. Films collected at pH = 5 are characterized by a lower thickness growth rate compared to films obtained at pH = 3, 4, and 6, since this is due to the conformation of polyelectrolytes. Thus, by controlling the charge density of polyelectrolytes, you can create an antibacterial coating for implantable systems.*

Key words: *Chitosan, Na-carboxymethylcellulose, film growth, surface roughness, multilayers*

ХИТОЗАН/NA-КМЦ НЕГІЗІНДЕ ЖАБЫНДАРДЫҢ ӨСУ ДИНАМИКАСЫНА ЖӘНЕ БЕТІНІҢ МОРФОЛОГИЯСЫНА pH ОРТАНЫҢ ӘСЕРІ

Аңдатпа: *Ортаның pH-ы жабынның өсуіне және бетінің морфологиясына айтарлықтай әсер етеді. Жинақтау әдісі (LBL) көмегімен қарсы зарядталған полиэлектролиттер негізінде кремнийлі және шыны төсеніштердің бетіне жабындар алынды. Поликатион және полианион ретінде сәйкесінше*

хитозан мен натрий карбоксиметилцеллюлоза қолданылды. Полиэлектролиттерді таңдау олардың биоыдырауы мен үйлесімділігіне негізделген. Атомдық-күштік микроскоптың (АСМ) көмегімен төсеніш бетінің адгезиясы бағаланды, нәтижелер кремний төсеніштерімен салыстырғанда шыны пластиналардың бетінде адгезияның төмендігінен жұқа тегіс жабындар пайда болатынын байқатты. Сонымен қатар биқабаттардың кедір-бұдырлығы зерттеліп, жабынның қалыптасу кезеңдері көрсетілді. Хитозан/Na-КМЦ негізінде алынған жабын қалыңдығының pH-қа тәуелділігі эллипсиометрия әдісімен анықталды. pH = 3,4 және 6 кезінде алынған жабындарменен салыстырғанда pH = 5 кезінде жиналған жабын қалыңдығының өсу жылдамдығының баяулығы бақыланды, бұл полиэлектролиттердің конформациясымен түсіндіріледі. Осылайша, полиэлектролиттердің заряд тығыздығын бақылай отырып, имплантацияланатын жүйелер үшін бактерияға қарсы жабындарды жасауға болатыны дәлелденді.

Түйінді сөздер: *хитозан, Na-карбоксиметилцеллюлоза, пленкалардың өсуі, беттің кедір-бұдырлығы, мультиқабаттар*

Введение

Во время эндопротезирования на поверхности имплантатов за счет адгезии появляются колонии бактерий, что приводит к сложным инфекционным заболеваниям и необходимости длительного дорогостоящего лечения, либо удалению и повторному протезированию, что является довольно трудоемким и очень болезненным процессом [1, 2, 3]. Кроме того, такое сложное лечение связано с высокой резистентностью бактерий к антибиотикам и поэтому необходимо имплантируемые изделия предварительно защищать различным антибактериальными активными покрытиями [4]. Поэтому в последние 30 лет интенсивно проводятся исследования, связанные с получением антибактериальных покрытий раличными методами [5, 6]. Самый распространенный способ функционализации поверхности является метод LbL (layer by layer), основанный на электростатическом взаимодействии противоположно заряженных полиэлектролитов с образованием тонких нанопленок, содержащих антибактериальные агенты.

Выбор хитозана (Хит) и карбоксиметилцеллюлозы натрия (Na-КМЦ) в качестве полимерных матриц для получения нанопленок, связан с их биосовместимостью и биоразлагаемостью. Из литературы известно, что хитозан, имеющий разнообразные физико-химические свойства, был использован в паре с различными полимерами, такими как Хит/ПАК [7], Хит/КМЦ [8], Хит/Гиалуроновая кислота [9] для создания многослойных покрытий. Используя сильные гидрофильные свойства КМЦ [10] авторами были разработаны самовосстанавливающиеся пищевые покрытия на основе Хит/КМЦ [8].

Морфология и состав поверхности влияют на возможности внедрения в объем покрытий активных препаратов или иммобилизации биомолекул [11]. Физико-химические методы анализа, такие как УФ-Vis-спектроскопия поглощения [12], эллипсометрия [7], микробаланс кварцевых кристаллов [13] были использованы при исследовании процесса сборки и оценке структуры поверхности. Авторами в работе [7] многослойные материалы используются в качестве системы хранения и доставки лекарств. Система, состоящая из Хит/ПАК и полученная при различных pH, была оценена с помощью диссипативного микробаланса кристаллов кварца (D-QCM) и эллипсометрии. Данные анализы дали возможность определить не линейный рост пленок и рассчитать содержание воды в пленке. Как уже известно, pH-система влияет не только на морфологию поверхности, но и на набухание и смачивающие свойства. Такие закономерности наблюдаются в работе, где были получены гидрогели методом LbL, состоящие из четырех поли- (2-алкилакриловых кислот) [14]. Установлено, что набухание гидрогелей растет с увеличением pH из-за появления от-

рицательных зарядов в цепях полимера. При этом наблюдается меньшее набухание и более высокие углы контакта при низких pH, вызванной дегидратированием и разрушением цепи. Следовательно, антибактериальная активность pH-чувствительных гидрогелей обуславливается переходом из гидрофильной формы в гидрофобную.

Авторами в работе [15] было показано влияние pH-системы гиалуроновая кислота/Хит на их физико-химические и антибактериальные свойства. Как и следовало ожидать, лучший антибактериальный эффект проявляется при pH=3 из-за высокой концентрации свободных протонированных аммониевых групп ($NH3^{+}$). Так как, ионизация при pH=4,5 составляла около 100% для обоих молекул, то значения шероховатости, толщина и угол смачивания заметно отличались от соответствующих значений для пленки, собранной при pH=3.

Вонг и его коллеги также продемонстрировали важность значения pH в процессе сборки, особенно если используется слабый полиэлектролит. Установлено, что бактерицидная активность пленок N,N-додецил, метил-поли(этиленимин)/ПАК против S.aureus возрастает по мере снижения pH раствора ПАК. Полианион слабо отрицательно заряжен при низком pH и за счет этого положительный заряд адсорбированного поликатиона доступен для взаимодействия с мембранами бактериальных клеток. Изменяя длину алкильных цепей поликатиону, можно придать гидрофобные свойства, которые являются основной причиной разрушения бактериальной мембраны при контакте с пленкой [16].

В данной статье приводятся результаты исследования роста пленок на основе Хит/Na-КМЦ и влияние pH-системы на морфологию поверхности полученных пленок.

Материалы и методы

В работе использованы следующие прекурсоры, которые были приобретены в компании Sigma Aldrich: поли(этиленимин) линейный (ПЭИ; Mw=10kDa), хитозан низкомолекулярный (Mw=50-190kDa) со степенью деацетилирования (СД) 75-85%, Na-карбоксиметилцеллюлоза (Na-КМЦ, Mw=700 kDa), пероксид водорода 37,4%, соляная кислота, гидроксид натрия, глутаральдегид 50% (Mw=100,11 kDa).

Кремниевые пластинки, полированные с одной стороны (<100>), N-типа с оксидным слоем ~2 нм и стеклянные пластинки использовались в качестве подложек.

Обработка поверхностей стеклянных и кремниевых пластинок

Природа выбранных носителей различается друг от друга, поэтому для каждого типа подложек были использованы различные методы химической обработки.

Как известно, стекло является сложной многокомпонентной аморфной системой и большое число микропор на ее поверхности, за счет долгого хранения на открытом воздухе, заполняются водой и различными газами. Если полностью не удалить продукты гидролиза с поверхности стекла, то это может привести в дальнейшем к отслаиванию пленок, что сильно влияет на механическую прочность. Процесс химической обработки состоит из двух этапов: обработка "хромовой смесью" и травление концентрированной серной кислотой. После каждого этапа стеклянные пластинки необходимо промывать большим количеством дистиллированной воды. Хромовая смесь используется для удаления загрязнений с поверхности подложек, а травление концентрированной кислотой приводит к удалению жиров и некоторых видов оксидов, тем самым увеличивая, предположительно, адгезионную способность к полиэлектролитам.

Очистка кремниевых пластинок осуществляется с использованием раствора "пиранья" (серная кислота с пероксидом водорода). В результате такой обработки с поверхности удаляются загрязнения, и она приобретает гидрофильные свойства.

Получение тонких пленок на поверхности стекла и кремниевых пластинок

Наслаивание на поверхности подложек проводили с помощью полуавтоматического метода "dip-coating". Данный метод широко используется для получения пленок путем погружения подложек в раствор. Метод является безотходным, отличается относительно низкой стоимостью и обеспечивает хороший контроль над толщиной.

Получение тонких пленок на подложке методом dip-coating зависит от концентрации раствора, скорости погрузки/вынимания. Если использовать вязкий раствор и скорость погрузки/вынимания будет больше 30 см/мин, тогда раствор не будет адсорбироваться на поверхности, а стекаться с поверхности, и тем самым влияя на качество образуемых пленок.

Таким образом, в данных опытах использовали растворы полиэлектролитов с концентрацией 0,01 М, а скорость погрузки/вынимания составила 6 см/мин. Для создания мостика между подложкой и пленкой перед получением полиэлектролитных мультислоев (ПЭМС) поверхность была обработана 0,01 М раствором ПЭИ. Получение пленок начинали с погрузки подложек в раствор Na-КМЦ с последующей сушкой для закрепления адсорбированных частиц полимера при 80°С и промывки дистиллированной водой для удаления неадсорбированных частиц. Адсорбцию хитозана проводили в аналогичной последовательности. Таким путем получали нужное количество бислоев. Исследования проводили в интервале pH=3-6, и значение pH растворов хитозана и Na-КМЦ доводили до желаемого уровня с помощью 0,1 М растворов HCl или NaOH.

Морфология поверхности

Структуру и среднюю квадратическую шероховатость пленок определяли с использованием атомно-силового микроскопа (АСМ) NT-MDT. Все изображения были сделаны с разрешением 1024 пикселей для области 20×20 мкм, и, по меньшей мере, пять различных точек были обследованы с образца и несколько сканирований на данной площади поверхности.

Эллипсометрия

Эллипсометрические исследования проводили на спектральном эллипсометре "ЭЛЛИПС-1891-САГ". Измерения спектральных зависимостей эллипсометрических углов Ψ и Δ проводили в диапазоне длин волн 250-1100 нм. Спектральное разрешение прибора составляет 2 нм, время записи одного спектра не превышает 20 сек, угол падения луча света на образец составляет 70°С. Использовалась четырехзонная методика измерений с последующим усреднением по всем четырем зонам.

Результаты и обсуждения

На основании метода "dip-coating" были получены полислои с толщиной 5 бислоев на основе Хит/КМЦ и проведена оценка адгезии разных подложек из стекла и кремниевых пластинок. С использованием АСМ проведено сканирование морфологии поверхности подложек с слоями, а также определены значения средней квадратической шероховатости.

На рисунке 1 показана эволюция рельефа поверхности пленок, собранных на стекле (рисунок 1, *a* и *b*) и кремниевых пластинках (рисунок 1, *c* и *d*) при pH=4. Сравнивая трехмерные изображения АСМ (рисунок 1, *b* и *d*) можно заметить, что для поверхностей наблюдаются различия как по высоте пиков, так и по формам и природе распределения пиков на их поверхности. Это связано с индивидуальными характеристиками поверхностей, что и приводит к образованию неоднородных слоев, и развитию морфологии в виде островков, случайно сформированных при росте первых бислоев. Для стекляных пластинок можно наблюдать образование монослоев из отдельных глобулярных частиц.

Средняя квадратическая шероховатость пленок на стекле и кремниевых пластинках составила 3,582 и 15,024 нм соответственно. Это доказывает то, что кремниевые подложки

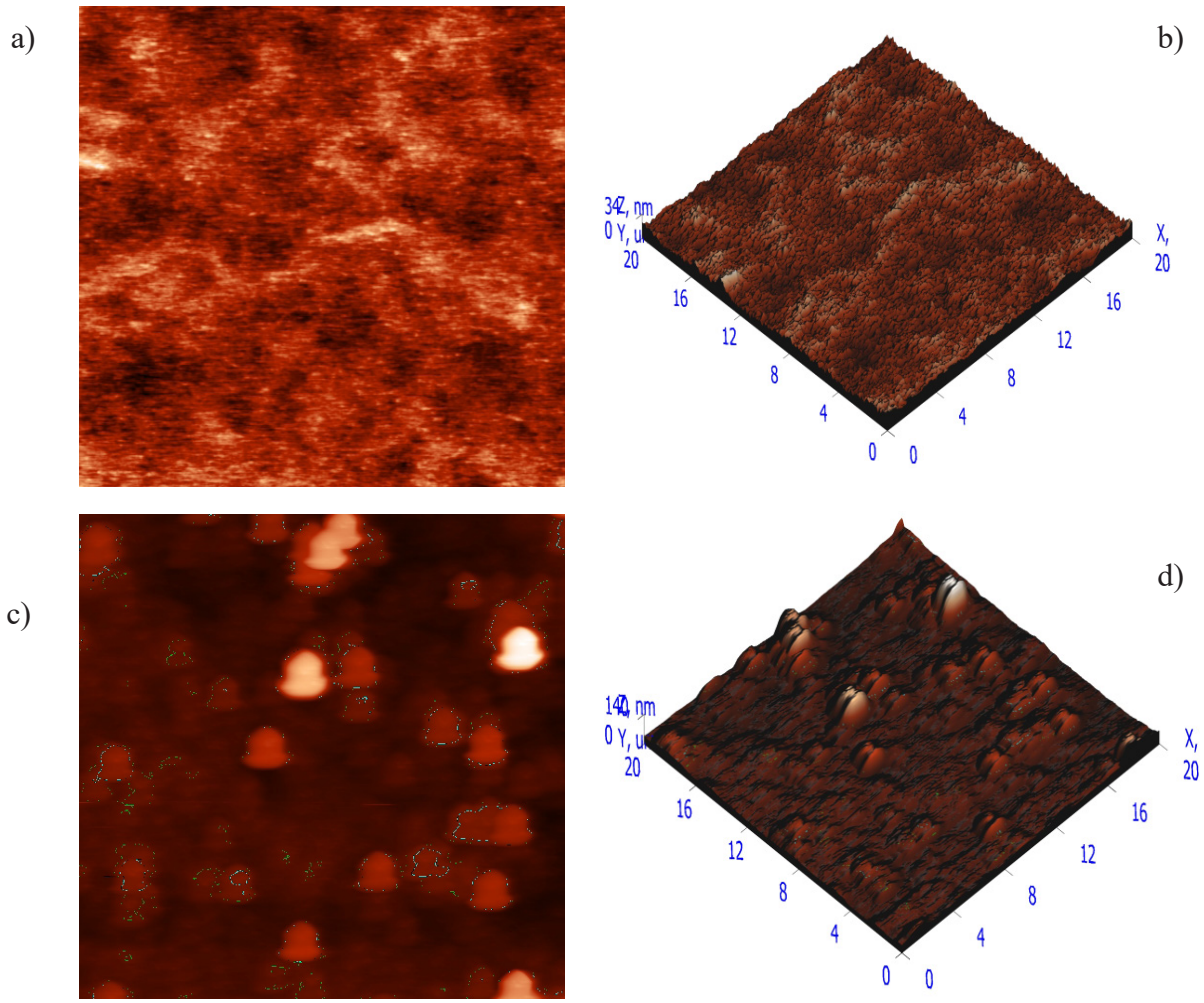

Рис. 1 – Снимки АСМ (ПЭМС, собранные при pH-4)

имеют лучшую адгезию по сравнению со стеклом.

Так как кремниевые пластины имеют большее количество активных центров для адсорбции, то при получении первого монослоя поверхность притягивает больше заряженных груп, тем самым предоставляя активные центры для следующего слоя и создавая один толстый бислой. Однако, нужно иметь в виду, что адсорбция полиэлектролитов на поверхности кремниевых пластинок не идет равномерно, но несмотря на это, для различных целей можно использовать эти подложки, которые могут отличаться друг от друга различной адгезионной способностью. Например, авторами в работе [17] показана важность природы подложки при нанесении на ее поверхность квартернизированую поли (4-винилпиридин) и карбоксиметилцеллюлозу (Q-ПВП/КМЦ). При этом, в зависимости от вида подложки, адсорбированный первый слой имеет разные конформации. Биоцидная активность пленок построенных на гидрофобных поверхностях слабее, чем наблюдаемая для пленок, нанесенных на гидрофильные подложки.

Далее, было интересно показать, как морфология поверхности пленок развивается по мере увеличения числа бислоев. Для этого на поверхности стеклянных пластин были выращены от 1 до 5 бислоев. На рисунке 2 показаны изображения АСМ чистого модифицированного стекла (рисунок 2, *a* и *b*), одного бислоя (рисунок 2, *c* и *d*) и пяти бислоев на стеклянной подложке (рисунок 2, *e* и *f*).

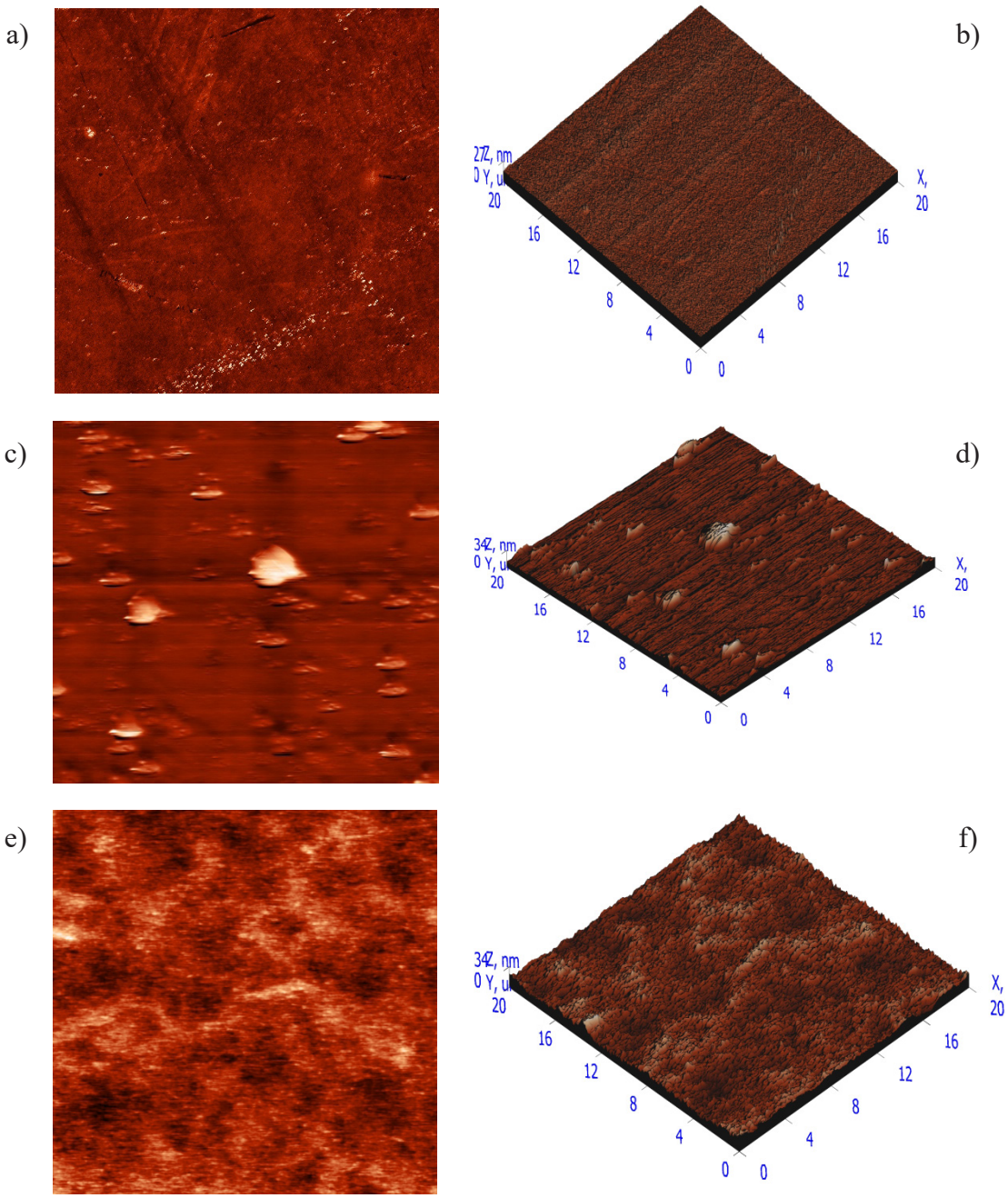

Рис. 2 – Изображения АСМ при pH=4

Средняя квадратическая шероховатость поверхности модифицированной стеклянной подложки из 1 и 5 бислоев составляет 0.340, 2.783 и 3.582 нм соответственно. Изображения АСМ чистого стекла 2 a,b были получены полуконтактным методом, а для съемки одного и пяти бислоев использовался контактный метод. Изображения АСМ чистого стекла используются как контрольный снимок для сравнения и оценки морфологии поверхности нанесенных образцов. После осаждения полиэлектролита на поверхности стекла наблюдали значительное изменение морфологии по мере увеличения числа бислоев, а также этапы формирования покрытий. Из рисунка 2 (*c*, *d*) следует, что распределение первого бислоя было неравномерным, наблюдался послойно-островковый вид роста. Как уже говорилось выше, после осаждения ПЭИ на него адсорбируется Na-КМЦ, который не

покрывает полностью поверхность, так как на этот процесс сильно влияет pH раствора, от которого зависит форма нахождения функциональных групп обоих полиэлектролитов. Наложение следующего монослоя в результате приводит к образованию больших островков, а последующее увеличение бислоев заполняет пространство между островками, и при этом уже не наблюдается резкого перепада пиков (2 *e, f*).

Как уже известно, оба полимера являются слабыми полиэлектролитами и с помощью изменения pH-системы можно контролировать плотность заряда полимерных цепей, тем самым придавая пленкам во время сборки определенные свойства. Из-за нестабильности хитозана при pH>6,5 исследование роста пленок проводили в интервале pH=3-6. Покрытия были нанесены на поверхность кремниевых пластинок. Толщина покрытий, несмотря на одинаковое количество слоев могут быть различными в зависимости от pH-системы. Результаты были получены с помощью эллипсометрического метода анализа.

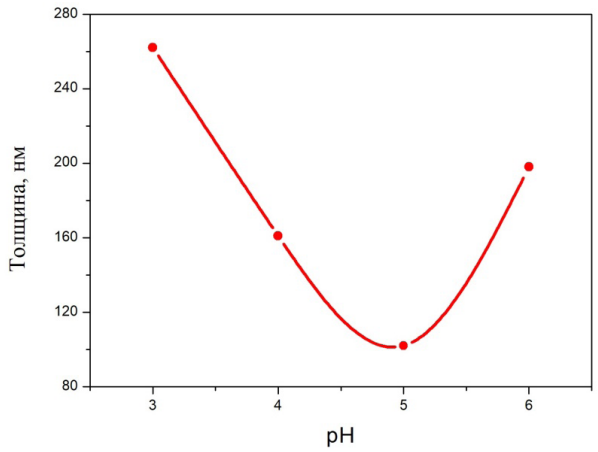

Рис. 3 – Зависимость толщины 10 бислоев от pH среды

Как видно из рисунка 3 пленки, собранные при pH=5, характеризуются более низкой скоростью роста толщины пленок по сравнению с пленками, полученными при pH=3, 4 и 6. Такое поведение роста пленок связано с pKa полиэлектролитов (для хитозана значение pKa=6, для Na-КМЦ pKa=2,0-4,0). При pH=5 толщина пленки меньше, чем при других pH из-за того, что в этой области функциональные группы обоих полиэлектролитов в ионнизированных состояниях, т.е. полностью заряжены. В этих условиях они проявляют свои кислотно-основные свойства и при этом наблюдается сильное электростатистическое взаимодействие с образованием тонких полислоев с характерным линейным ростом мультислоев, поскольку в этих условиях хитозан и Na-КМЦ ведут себя как сильные полиэлектролиты. При других pH форма нахождения функциональных групп полиэлектролитов будет другая.

В более кислой области pH функциональные группы хитозана протонированы полностью, Na-КМЦ протонируется частично и электростатическое взаимодействие ослабевает, функциональные группы карбоксметилцеллюлозы образуют петлистые формы и могут проникать вовнутрь ПЭМС, тем самым увеличивая толщину пленок. Такая же картина наблюдается и при pH=6, но в этих условиях уже функциональные группы хитозана менее заряжены за счет депротонизации, электростатическое взаимодействие также ослабевает, петлистую форму и проникновение вовнутрь ПЭМС уже идет за счет функциональных групп хитозана, рисунок 4.

При низких значениях pH-системы, где цепочки могут проникать вовнутрь ПЭМС, наблюдается экспоненциальный рост слоев и образование толстых пленок. Полученые результаты хорошо согласуются с работой [18], в которой авторы показывают асимметричный и симметричный рост системы ПАК/ПСС в ходе пяти различных режимов.

Как сообщалось ранее, в работе [19] для этой же системы, но полученные другим методом, из-за меньшего сегмента Na-КМЦ относительно при высоких pH, пленки имеют спиральную, петлистую конформацию. Увеличение pH-системы до 5 за счет доступных зарядов для межмолекулярных взаимодействий, создает относительно ровные, высокосшитые пленки и имеют линейную конформацию, как показано на рисунке 4b. Однако, степень ионизации слабого полиэлектролита в состоянии раствора отличается от степени ионизации полимера в многослой-

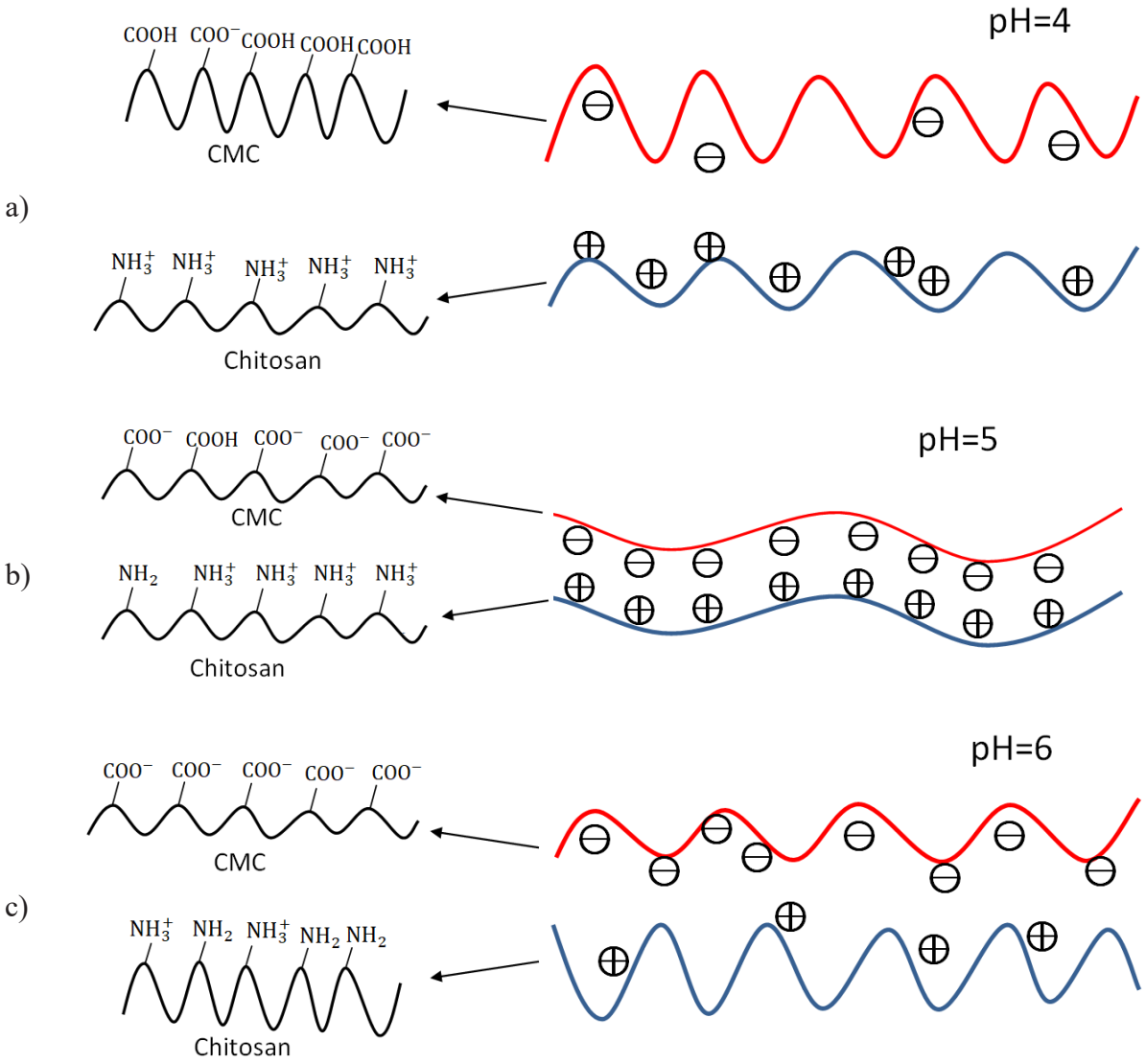

Рис. 4 – Пленки хит./Na-КМЦ, нанесенные при различных значениях pH

ной пленке [20]. Полученные данные хорошо согласуются с работой Marcelle [21], где результаты, полученные с помощью АСМ, показывают зависимость шероховатости и морфологии поверхности для Na-КМЦ/Хит от pH-системы, которая оказывает большее влияние на характеристики материала, влияя при этом на клеточную, бактериальную и биомолекулярную адгезию.

Полученные экспериментальные данные можно использовать при получении антибактериальных и противовоспалительных покрытий для медико-биологических изделий, упаковочных материалов либо микрокапсул для доставки лекарственных препаратов (ЛП).

Заключение

Таким образом, при исследовании системы Хит/Na-КМЦ были получены следующие результаты.

• Обоснована адгезия кремниевых и стеклянных пластинок.

• Изучен рост пленок на основе хитозан/карбоксиметилцеллюлоза при различных значениях pH с использованием спектральной эллипсометрии и установлено влияние pH на толщину нанопленок.

• Установлена структура и средняя квадратическая шероховатость тонких пленок при pH=4, определенных с помощью атомно-силового микроскопа.

Результаты этой работы указывают на то, что важным моментом при подготовке антибактериальных покрытий для различных типов имплантатов необходимо учитывать влияние pH на природу получаемых нанопокрытий.

Благодарность

Исследования были проведены в рамках проекта ГФ МОН РК «Физико-химические основы получения многофункциональных биомедицинских материалов (нанопленок) с антибактериальными и противовоспалительными свойствами», ИРН AP05131647 в ЦФХМА при КазНУ им. аль-Фараби.

REFERENCES

1. Traba, C. and Liang, J.F. (2015) 'Bacteria responsive antibacterial surfaces for indwelling device infections', Journal of Controlled Release. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.11.025.
2. Wang, B.L. et al. (2015) 'Bio-inspired terpolymers containing dopamine, cations and MPC: a versatile platform to construct a recycle antibacterial and antifouling surface', Journal of Materials Chemistry B. doi: 10.1039/c5tb00597c.
3. Wu, H. X. et al. (2015) 'Highly efficient antibacterial surface grafted with a triclosan-decorated poly (N-hydroxyethylacrylamide) brush', ACS Applied Materials and Interfaces. doi: 10.1021/acsami.5b01210.
4. Jian L., Lomovskaya O. (2002) Bacterial resistance to antimicrobials: mechanisms, genetics, medical practice and public healt. Biot Let, vol. 24, no. 10, pp. 801-805.
5. Schaaf, P. et al. (2012) 'Spray-assisted polyelectrolyte multilayer buildup: From step-by-step to single-step polyelectrolyte film constructions', Advanced Materials. doi: 10.1002/adma.201104227.
6. Lee, S.S. et al. (2001) 'Layer-by-layer deposited multilayer assemblies of ionene-type polyelectrolytes based on the spin-coating method [2]', Macromolecules. doi: 10.1021/ma0022304.
7. Guzmán, E. et al. (2011) 'PH-induced changes in the fabrication of multilayers of poly(acrylic acid) and chitosan: Fabrication, properties, and tests as a drug storage and delivery system', Langmuir. doi: 10.1021/la200522r.
8. Liu, X. et al. (2017) 'Characterization and preservation effect of polyelectrolyte multilayer coating fabricated by carboxymethyl cellulose and chitosan', Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. doi: 10.1016/j.colsurfa.2017.06.079.
9. Zhong X., Song Y., Yang P., Wang Y., Jiang S., Zhang X., Li C. (2016) Titanium surface priming with phase-transited lysozyme to establish a silver nanoparticle-loaded chitosan/hyaluronic acid antibacterial multilayer via layer-by-layer self-assembly. PLoS One, vol. 11, no. 1, e0146957. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146957
10. Martins, T. D. et al. (2015) 'Surface modification of polyelectrolyte multilayers by high radio frequency air plasma treatment', Applied Surface Science. doi: 10.1016/j.apsusc.2014.12.010.
11. Chang, B. et al. (2015) 'Dynamic biointerfaces: From recognition to function', Small. doi: 10.1002/smll.201402038.
12. Gauczinski, J. et al. (2010) 'Mechanism of surface molecular imprinting in polyelectrolyte multilayers', Langmuir. doi: 10.1021/la1002447.
13. Fukao, N. et al. (2011) 'Automatic spray-LBL machine based on in-situ QCM monitoring', Macromolecules. doi: 10.1021/ma200024w.

14. Lu, Y. et al. (2015) 'Self-defensive antibacterial layer-by-layer hydrogel coatings with pH-triggered hydrophobicity', Biomaterials. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.12.048.
15. Hernández-Montelongo J., Nascimento V., Murillo D., Taketa T., Sahoo P., de Souza A., Cotta M. (2016) 'Nanofilms of hyaluronan/chitosan assembled layer-by-layer: An antibacterial surface for Xylella fastidiosa', Carbohydr Polym. vol. 136, pp. 1-11. doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.076
16. Wong, S. Y. et al. (2010) 'Bactericidal and virucidal ultrathin films assembled layer by layer from polycationic N-alkylated polyethylenimines and polyanions', Biomaterials. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.119.
17. Amim, J. et al. (2012) 'Structural aspects of polyanion and hydrophobically modified polycation multilayers on hydrophilic or hydrophobic surfaces', Soft Matter. doi: 10.1039/c2sm25658d.
18. Schönhoff, M. and Bieker, P. (2010) 'Linear and exponential growth regimes of multilayers of weak polyelectrolytes in dependence on pH', Macromolecules. doi: 10.1021/ma1007489.
19. Zhang, S. et al. (2013) 'Buildup mechanism of carboxymethyl cellulose and chitosan self-assembled films', Cellulose. doi: 10.1007/s10570-013-9895-5.
20. Choi, J. and Rubner, M. F. (2005) 'Influence of the degree of ionization on weak polyelectrolyte multilayer assembly', Macromolecules. doi: 10.1021/ma048596o.
21. Spera M., Taketa T., Beppu M. (2017) 'Roughness dynamic in surface growth: Layer-by-layer thin films of carboxymethyl cellulose/chitosan for biomedical applications', Biointerphases. vol. 12, no. 4, pp. https://doi.org/10.1116/1.4986057.