UNIWERSYTET IM. ADAMA MICKIEWICZA W POZNANIU

Wydział Fizyki / Zakład Fizyki Eksperymentalnej Materii Skondensowanej.

Rodzaj pracy dyplomowej

Praca doktorska

Kierunek i specjalność studiów:

Kierunek: Fizyka, Specjalność: Nanotechnologia

Własności antybiotyku (ciprofloksacyny) uwięzionego w nanotubach węglowych. Właściwości antybakteryjne układu.

Properties of antibiotic (ciprofloxacin) confined in carbon nanotubes. Antimicrobial characteristics of the system.

Natalia Przybylska

Nr albumu: 395072

Promotor: prof. dr hab. Małgorzata Śliwińska – Bartkowiak

Promotor pomocniczy: dr Mikołaj Kościński

Poznań, 2024

Dziękuję każdemu kto w jakikolwiek sposób przyczynił się do powstania tej pracy.

Przede wszystkim dziękuję Pani Profesor Małgorzacie Śliwińskiej Bartkowiak, za jej ogromną cierpliwość, poszerzanie horyzontów wiedzy oraz liczne rozmowy pozwalające mi dobrze zrozumieć naturę wykonywanych badań. Ta praca nie ujrzałaby światła dziennego bez Jej wsparcia na każdym etapie jej tworzenia.

Dziękuje za wsparcie Panu Doktorowi Mikołajowi Kościńskiemu. Dziękuję za merytoryczną dyskusję wszystkim tym, którzy umożliwili mi wykonanie badań i rozpalili we mnie chęć do dalszego rozwoju.

Dziękuję najbliższym za wiarę we mnie do samego końca oraz przestrzeń na badania i przygotowanie tej pracy. Wreszcie dziękuję moim Rodzicom - bez nich nie byłabym tym, kim jestem dzisiaj.

Wsparcie finansowe: "Środowiskowe interdyscyplinarne studia doktoranckie w zakresie nanotechnologii" No. POWR.03.02.00-00-I032/16 Under the European Social Fund – Operational Programme Knowledge Education Development, Axis III Higher Education for Economy and Development, Action 3.2 PhD Programme.

SPIS TREŚCI

ABSTRAKT **6**

WYKAZ SKRÓTÓW **8**

WSTĘP **9**

CZĘŚĆ TEORETYCZNA **12**

1. PODSTAWOWE WŁASNOŚCI NANOCZĄSTEK 12

2. MATRYCE POROWATE 14

3. MATERIAŁY 15

3.1. CIPROFLOKSACYNA 15

3.2. NANOTUBY WĘGLOWE 17

3.2.1. OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA 17

3.2.2. ZASTOSOWANIE NANORUREK WĘGLOWYCH W MEDYCYNIE 20

3.3. MEZOPORY KRZEMIONKOWE 25

3.3.1. OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA 25

3.3.2. ZASTOSOWANIE MATERIAŁÓW OPARTYCH NA KRZEMIE W MEDYCYNIE 27

4. METODY BADAWCZE ZASTOSOWANE DO CHARAKTERYSTYKI ODDZIAŁYWAŃ ADSORBENT – ADSORBAT ANALIZOWANYCH UKŁADÓW 29

4.1. POMIAR KĄTA ZWILŻANIA 29

4.1.1. METODA KROPLI SIEDZĄCEJ 33

4.1.2. METODA WZNIESIENIA KAPILARNEGO 34

4.2. GĘSTOŚĆ I LEPKOŚĆ 38

4.3. IZOTERMA ADSORPCYJNA 40

4.4. SPEKTROSKOPIA RAMANA 43

4.5. SPEKTROSKOPIA PODCZERWIENI 47

4.6. SKANINGOWA KALORYMETRIA RÓŻNICOWA (DSC) 52

4.7. MIKROSKOP SIŁ ATOMOWYCH – AFM 55

4.8. TESTY MIKROBIOLOGICZNE 57

CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA **62**

5. WYNIKI BADAŃ 62

5.1. PRZYGOTOWANIE PRÓBEK 62

5.2. POMIARY GĘSTOŚCI I LEPKOŚCI W FUNKCJI TEMPERATURY 63

5.3. POMIARY KĄTA ZWILŻANIA 67

5.4. ANALIZA WYNIKÓW UZYSKANYCH METODĄ SPEKTROSKOPII RAMANA .. 78
5.5. ANALIZA WYNIKÓW UZYSKANYCH METODĄ SPEKTROSKOPII PODCZERWIENI 85
5.6. IZOTERMA ADSORPCYJNA 91
5.7. WYNIKI POMIARÓW KALORYMETRYCZNYCH 93
5.8. MIKROSKOPIA SIŁ ATOMOWYCH 97
5.9. TESTY NA BAKTERIACH E. COLI 108
6. WNIOSKI 112
7. BIBLIOGRAFIA 119
SPIS RYSUNKÓW ORAZ TABEL 134

ABSTRAKT

W niniejszej pracy dyplomowej przedstawiono właściwości wodnego roztworu ciprofloksacyny zaadsorbowanego w jednościennych nanorurkach węglowych. Zbadano wpływ rozmiaru nanorurek i ich struktury na oddziaływania z wodnym roztworem leku. Charakterystyka układu ciprofloksacyna – nanorurki węglowe pozwoliła na zbadanie ich wpływu na bakterie E. Coli.

Do charakterystyki nanorurek węglowych wykorzystano spektroskopię Ramana, dzięki której określono ich charakter metaliczny jako półprzewodnikowy, który wskazuje na wyższą amorficzność nanorurek węglowych. Badania izotermy adsorpcyjnej pozwoliły wyznaczyć dystrybucję rozmiarów i objętość porów, niezbędnych do późniejszej analizy mikrobiologicznej. Oddziaływanie roztworów ciprofloksacyny z nanorurkami węglowymi analizowano przy użyciu spektroskopii podczerwieni. Zbadano jakie wibracje grupy funkcyjnej w cząsteczce ciprofloksacyny zostały wygaszone przez zamknięcie jej w porach.

Energia oddziaływań adsorbat-adsorbent oraz adsorbat-adsorbat została oszacowana w oparciu o parametr α_w, który charakteryzuje zwilżanie w nanoskali. Eksperymentalnie mierzony kąt zwilżania jest funkcją mikroskopowego parametru zwilżania α_w i maleje wraz ze wzrostem α_w, niezależnie od podłoża.

Mikroskopia AFM w połączeniu z testami mikrobiologicznymi pozwoliła określić jakie zmiany występują w strukturze komórek bakterii E. Coli pod wpływem ciprofloksacyny zaadsorbowanej w nanorurkach węglowych. Działanie ciprofloksacyny zaadsorbowanej w nanorurkach węglowych jest wydłużone, a zmniejszenie się adhezji bakterii powoduje zwiększenie działania antybakteryjnego. Antybiotyk zaadsorbowany w nanorurkach węglowych działa na większą ilość bakterii E. Coli, gdyż SWCNTs odrywają bakterie tworzące biofilm umożliwiając jego skuteczniejsze działanie. W przypadku potraktowania bakterii nanorurkami z ciprofloksacyną proces destrukcji ścian komórkowych trwa dłużej, a jednościenne nanorurki węglowe aglomerują się wokół mikrobów.

Słowa kluczowe: celowe dostarczanie leków, zjawisko ograniczenia w układach nanoporowatych, ciprofloksacyna, nanotuby węglowe, testy mikrobiologiczne

ABSTRACT

This thesis presents the properties of an aqueous solution of ciprofloxacin adsorbed in single-walled carbon nanotubes. Ciprofloxacin is a well-known antibiotic used against Gram-positive and Gram-negative bacteria. The impact of carbon nanotube size and structure on interactions with an aqueous solution antibiotic was investigated. The characterization of the ciprofloxacin-carbon nanotubes system enabled the study of its effects on E. Coli bacteria.

Raman spectroscopy was used to characterize carbon nanotubes, which determined their metallic character as semiconducting, which indicates the higher amorphous nature of carbon nanotubes. The adsorption isotherm experiments enabled the measurement of pore size distribution and volume, which was crucial for microbiological analysis.

The interaction of ciprofloxacin solutions with carbon nanotubes was analyzed using infrared spectroscopy. It was investigated which vibrations of the functional group in the ciprofloxacin molecule were quenched by encapsulating it in the pores.

The energy of adsorbate-adsorbent and adsorbate-adsorbate interactions was estimated by approximating the parameter α_w that characterizes wetting at the nanoscale. The wetting angle is a function of the microscopic wetting parameter α_w and it decreases as α_w increases, regardless of the surface.

AFM microscopy in combination with microbiological tests allowed to determine what changes occur in E. Coli bacteria under the influence of ciprofloxacin adsorbed in carbon nanotubes. Ciprofloxacin adsorbed in carbon nanotubes has a longer-term effect, and the decreased bacterial adhesion leads to an increase in antibacterial activity. The antibiotic adsorbed in carbon nanotubes affects E. Coli, as SWCNTs detach biofilm-forming bacteria, allowing the antibiotic to kill bacteria more effectively. When microbes are treated with ciprofloxacin confined in nanotubes, the process of cell wall destruction is prolonged, and the single-walled carbon nanotubes agglomerate around the bacteria.

Keywords: drug delivery, confinement effect in porous materials, ciprofloxacin, carbon nanotubes, microbiological test

WYKAZ SKRÓTÓW

NPs (*z ang. Nanoparticles)* - nanocząstki
CNT (*z ang. carbon nanotubes*) – nanorurki węglowe
SWNT (*z ang. single wall carbon nanotubes*) – jednościennie nanorurki węglowe
DWNT (*z ang. double wall carbon nanotubes*) – dwuściennie nanorurki węglowe
MWNT (*z ang. multi wall carbon nanotubes*) – wielościennie nanorurki węglowe
CPX (*z ang. ciprofloxacin*) - ciprofloksacyna
FT-IR (*z ang. Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) – fourierowska spektroskopia podczerwieni
ATR (*z ang. attenuated total reflection mode*) - metoda spektroskopii adsorpcyjnej
RBM (*z ang. radial breathing mode*) - mod oddychania w kierunku promienia
FQ (*z ang. fluoroquinolone)* - fluorochinolon
SCID (*z ang. severe combined immunodeficiency*) - ciężki złożony niedobór odporności
PEG (*z ang. polyethylene glycol)* - politlenek etylenu
CVD (z ang. chemical vapor deposition) - chemiczne osadzanie z fazy gazowej
EPR (z ang. enhanced permeability and retention) - efekt zwiększonej przepuszczalności i retencji
ACA (*z ang. advancing contact angle*) - rosnący kąt zwilżania
RCA (*z ang. receding contact angle*) - malejący kąt zwilżania
WCR (*z ang. Washburn capillary rise*) - metoda wzrostu kapilarnego Washburna
DSC (*z ang. differential scaning calorymetry*) - skaningowa kalorymetria różnicowa
AFM (*z ang. atomic force microscopy*) - mikroskopia sił atomowych
MIC (*z ang. minimum inhibitory concentration*) – minimalne stężenie hamujące
MBC (*z ang. minimum bactericidal concentration*) - minimalne stężenie bakteriobójcze

WSTĘP

Nanotechnologia to szeroka dziedzina badań, która zajmuje się manipulacją materii na poziomie atomowym lub subatomowym. Jest ona wykorzystywana w takich dziedzinach jak medycyna, energetyka, inżynieria lotnicza i kosmiczna. Jednym z zastosowań nanotechnologii jest terapia celowana, która ma ułatwić precyzyjne dostarczanie leków. Jest to proces, w którym nanocząsteczki są wykorzystywane do przenoszenia i dostarczania leków do określonego obszaru w organizmie. Istnieje kilka zalet stosowania nanotechnologii w procesach dostarczania substancji terapeutycznych, w tym precyzyjne ukierunkowanie na określone komórki, zwiększona siła działania leku i obniżona toksyczność dla komórek, które nie są celem leczenia.

Nanotechnologia jest jedną z najszybciej rozwijających się dziedzin nauki, która swój początek miała w XX wieku. Pierwsza wzmianka o celowo tworzonych i stosowanych procesach i środkach technologicznych, które następnie nazwano nanotechnologią, wiąże się zwykle ze znanym wykładem R. Feynmana, wygłoszonym w 1959 r. na sesji Amerykańskiego Towarzystwa Fizycznego [1]. Słowo "nanotechnologia" zostało wprowadzone po raz pierwszy do świata nauki przez N. Taniguchi na międzynarodowej konferencji poświęconej produkcji przemysłowej w Tokio w 1974 r. w celu opisania supercienkiej obróbki materiałów z nanometrową dokładnością. Natomiast w 1990 roku firma Sigma-Tau Pharmaceuticals wypuściła na rynek Adagen - pierwszy nanolek wykorzystujący syntetyczne nanocząstki (PEG) do leczenia ciężkiego złożonego niedoboru odporności (SCID). Podstawowe obszary, w których stosujemy nanotechnologię to m.in. obrazowanie, inżynieria tkanek, nanosensory oraz dostarczanie leków *(ang. drug delivery)*.

Nanocząstki o różnych rozmiarach są wykorzystywane do rozmaitych zastosowań biomedycznych. Nanotechnologia jest powiązana z mechaniką kwantową oraz zachowaniem elektronów i fotonów w fizyce, i inżynierii elektrycznej. Profesor Whitesides zbadał i przeanalizował powiązania między nanotechnologią, chemią i biologią [2]. Nanotechnologia jest obecnie wykorzystywana jako narzędzie do badania najbardziej niejasnych obszarów nauk medycznych takich jak obrazowanie, wykrywanie najdrobniejszych zmian chorobowych i ukierunkowane dostarczanie leków. Nowoczesne leki to układy o rozmiarach rzędu nanometrów wykonane z polimerów, metali lub ceramiki, które mogą zarówno leczyć infekcje bakteryjne, wspomagać terapię onkologiczną, tworzyć nowoczesne protezy i diagnozować choroby [3]. Ukierunkowane

dostarczanie leków polega na dostarczaniu go do miejsca docelowego bez wpływu na inne tkanki organizmu [4]. Zainteresowanie metodami drug delivery znacznie wzrosło ze względu na jego potencjalne implikacje w leczeniu nowotworów i innych chorób przewlekłych [5-6]. Aby osiągnąć skuteczne i precyzyjne dostarczanie cząstek, zaprojektowany system musi omijać mechanizmy obronne gospodarza i dotrzeć w zamierzone miejsce działania. Przebadano wiele nośników leków, aby skutecznie celować w określone tkanki, w tym liposomy, czy nanożele. Niektóre badania wykazały, że nanocząsteczki mogą przyczyniać się do rozwoju nowotworów w obszarach niebędących celem terapii. Istnieją również rosnące obawy, że nanocząsteczki mogą mieć szkodliwy wpływ na środowisko. Pomimo tych potencjalnych wad, zastosowanie nanotechnologii w dostarczaniu leków jest nadal obiecującym obszarem przyszłych badań [7].

Nanomedycyna odnosi się do wykorzystania nanotechnologii w zapobieganiu, leczeniu, diagnozowaniu, monitorowaniu i kontrolowaniu chorób. Chociaż wykorzystanie nanotechnologii w medycynie wydaje się być stosunkowo nowym trendem, podstawowe metody wykorzystania nanotechnologii w medycynie sięgają wielu lat wstecz. Ze względu na szereg cech, w tym rozmiar zbliżony do biomolekuł, takich jak białka i kwasy polinukleinowe, nanocząstki mają specjalne właściwości i zastosowania [8]. Dodatkowo, do tworzenia nanocząstek można wykorzystywać metalowe i półprzewodnikowe materiały, nadając im cenne cechy, takie jak fluorescencja, aktywność magnetyczna, które są wykorzystywane do funkcjonalizacji powierzchni [9].

W swojej pracy doktorskiej skupiam się na zagadnieniach dostarczania antybiotyku za pomocą matryc porowatych. Dzięki rozwojowi nanotechnologii dysponujemy nowym narzędziem umożliwiającym aplikację farmaceutyków do konkretnych komórek za pomocą nanocząstek [10]. Celowane leczenie pozwala na ograniczenie skutków ubocznych, obniżenie ilości zużywanego leku oraz umożliwia zwiększenie jego efektywności w miejscu chorobotwórczym [11]. Nanocząstki stanowią niezwykle atrakcyjną platformę dla szerokiego zakresu zastosowań biologicznych. W przypadku pojedynczych i multimodalnych zastosowań, w tym rozpoznawania biomolekularnego, dostarczania leków, biosensingu i bioobrazowania, można modyfikować powierzchnię oraz podstawowe właściwości tych systemów.

W porównaniu z tradycyjnymi odpowiednikami leków, farmakokinetykę i działanie terapeutyczne związków można znacznie poprawić, łącząc je z nanocząstkami poprzez

fizyczną enkapsulację, adsorpcję lub reakcję chemiczną. Wykorzystanie ich do dostarczania leków przynosi wiele korzyści, w tym zwiększoną rozpuszczalność, wydłużony czas krążenia ogólnoustrojowego, trwałe i kontrolowane uwalnianie leków oraz celowane dostarczanie leków do tkanek [12-14]. Ponadto, w celu leczenia infekcji wewnątrzkomórkowych wywołanych przez mikroorganizmy, nanocząstki zawierające leki mogą przenikać do komórek gospodarza poprzez endocytozę, a następnie uwalniać ładunki farmaceutyku.

Związek chemiczny może być transportowany do miejsca docelowego za pomocą różnych strategii, procesów produkcyjnych, systemów przechowywania i technologii w celu uzyskania zamierzonego efektu terapeutycznego [15-16]. Aby zmaksymalizować skuteczność i bezpieczeństwo, stosuje się różne metody związane z produkcją leków, drogą podania oraz ukierunkowaniem na konkretne miejsce [17-18]. Aby poprawić wyniki leczenia, kładzie się dodatkowy nacisk na wydłużenie czasu działania leku i jego biodostępności [19]. Od czasu zatwierdzenia pierwszego preparatu o kontrolowanym uwalnianiu minęło 70 lat, a rozwój nowych systemów dostarczania leków wciąż postępuje. Badania nanotechnologiczne pozwalają na wykorzystanie znanych preparatów, ulepszanie ich skuteczności wraz z ograniczeniem działań niepożądanych. Natomiast opracowywanie całkowicie nowych leków to długi, kosztowny i ryzykowny proces trwający 10 – 15 lat. Przejście od odkrycia potencjalnego leku do jego wprowadzenia do powszechnego użytku wiąże się z ogromnymi nakładami finansowymi, a farmaceutyka boryka się z rosnącymi trudnościami w odkrywaniu nowych leków [20]. Głównych celem pracy doktorskiej była adsorpcja ciprofloksacyny w porach węglowych oraz krzemionkowych oraz charakteryzacja takiego układu i wpływu na bakterie E. Coli. Dla realizacji tego celu wykonano następujące badania:

I. Adsorpcja wodnych roztworów ciprofloksacyny przez układy nanoporowate - jednościenne nanorurki węglowe oraz mezopory krzemionkowe.
II. Zbadanie zjawisk zwilżania oraz oddziaływań adsorbat – adsorbent metodami spektroskopii Ramana i FT-IR roztworów w układach nanoporowatych.
III. Zbadanie wpływu jednościennych nanorurek węglowych wypełnionych roztworem ciprofloksacyny na zachowanie bakterii E. Coli oraz ich cytotoksyczność.

CZĘŚĆ TEORETYCZNA

1. Podstawowe własności nanocząstek

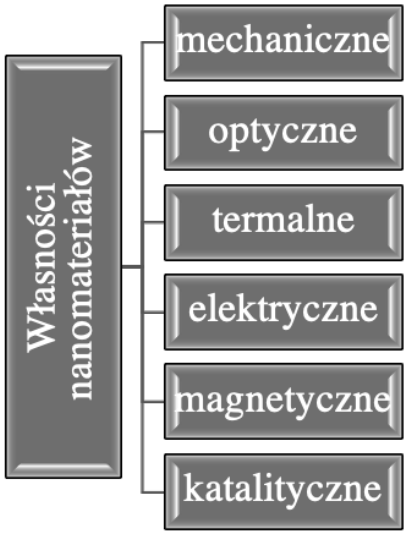
Nanocząstki to niewielkie cząstki materii o średnicy od jednego do stu nanometrów (nm) [21]. Właściwości materiału zmieniają się, gdy ich rozmiar zbliża się do skali atomowej. Wynika to ze wzrostu stosunku powierzchni do objętości, a atomy powierzchniowe materiału dominują nad jego właściwościami. Ze względu na bardzo mały rozmiar, nanocząstki mają bardzo duży stosunek powierzchni do objętości w porównaniu z materiałami masowymi np. proszkami. Ich mniejszy rozmiar wpływa na różne cechy fizyczne lub chemiczne (własności koloidalne, elektryczne lub ultraszybkie efekty optyczne), są wystarczająco małe, aby wywoływać efekty kwantowe [22]. Większość cząstek można znaleźć w bliskiej odległości od jej powierzchni, co powoduje, że właściwości warstwy wierzchniej przeważają nad właściwościami całego materiału. Istotne znaczenie mają także interakcje na granicy dwóch materiałów, a efekt ten jest szczególnie silny w przypadku nanocząstek umieszczonych w ośrodku o różnym składzie [23].

Nanocząstki są znacznie mniejsze niż długość fali światła widzialnego (400–700 nm), co uniemożliwia ich obserwację za pomocą standardowych mikroskopów optycznych. Do ich detekcji wykorzystuje się mikroskopy elektronowe lub mikroskopy laserowe [24]. Oddzielanie nanocząstek od cieczy wymaga unikalnych technik nanofiltracji, ponieważ łatwo przechodzą one przez zwykłe filtry [25].

Nanocząstki można podzielić na różne typy, w zależności od ich rozmiaru, kształtu i właściwości materiałowych. Niektóre klasyfikacje rozróżniają nanocząstki organiczne i nieorganiczne; pierwsza grupa obejmuje dendrymery, liposomy i nanocząstki polimerowe, podczas gdy druga obejmuje fulereny, kropki kwantowe czy nanocząstki złota. Inne klasyfikacje dzielą nanocząstki w zależności od tego, czy są one oparte na węglu, ceramiczne, półprzewodnikowe czy polimerowe. Sposób, w jaki nanocząstki są klasyfikowane, zazwyczaj zależy od ich zastosowania lub może być związany ze sposobem, w jaki zostały wyprodukowane [26]. Nanocząstki znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach, w tym w chemii, fizyce, geologii i biologii, gdyż występują w przyrodzie na dużą skalę. Często ujawniają cechy, które nie są widoczne w skali

makroskopowej takich materiałów, dzięki temu mogą być dowolnie modyfikowane poprzez zmiany w ich kształcie oraz rozmiarze [27].

Odmienne właściwości wynikają z przestrzennego zamknięcia cząstek subatomowych (tj. elektronów, protonów, fotonów) i pól elektrycznych wokół nich. Istotnym czynnikiem w tej skali jest również duży stosunek powierzchni do objętości [28]. Materiały masowe (o wielkości >100 nm) mają stałe właściwości fizyczne (takie jak przewodność cieplna i elektryczna, sztywność, gęstość i lepkość) niezależnie od ich wielkości. Jednak w przypadku nanocząstek warstwa powierzchniowa (o szerokości kilku średnic atomowych) staje się znaczącą częścią objętości cząstki; podczas gdy ułamek ten jest nieistotny dla cząstek o średnicy jednego mikrometra lub większej. Stosunek powierzchni do objętości ma większy wpływ na niektóre właściwości nanocząstek niż w przypadku cząstek masowych [29].



Rysunek 1 Własności nanomateriałów

Duża powierzchnia materiału umożliwia dyfuzję ciepła, cząsteczek i jonów do lub z cząstek z bardzo dużą szybkością. Z drugiej strony, mała średnica molekuł pozwala całemu materiałowi osiągnąć równowagę w bardzo krótkim czasie. W ten sposób wiele procesów zależnych od dyfuzji, może zachodzić w niższych temperaturach i w krótszych skalach czasowych.

Materiały nanostrukturalne mają wyższy udział atomów na powierzchni i na granicach ziaren niż wewnątrz (w porównaniu z materiałami objętościowymi), a liczba atomów powierzchniowych rośnie wraz ze spadkiem rozmiaru. Gdy amplituda drgań atomu przekracza długość jego wiązania, następuje topnienie substancji. Po przyłożeniu ciepła atomy na powierzchni i granicach ziaren wibrują łatwiej niż atomy we wnętrzu,

umożliwiając rozpoczęcie topnienia na powierzchni i rozprzestrzenianie się go do wnętrza. Ta cecha powoduje, że temperatura topnienia swobodnej substancji jest wyższa niż temperatura topnienia materiału objętościowego [30].

Właściwości elektryczne NPs zależą od ich rozmiaru, powierzchni, składu chemicznego i modyfikacji. Różne rodzaje zastosowanych monomerów ligandowych mogą mieć również wpływ na właściwości strukturalne wytworzonego materiału. Na zwiększoną absorpcję długości fal w półprzewodnikowych NPs ma wpływ kilka czynników, takich jak rozkład wielkości, kształt, rozmiary i rodzaj modyfikatorów. Na właściwości optyczne wpływa skład nanostruktur, domieszkowanie jonami metali i modyfikacja powierzchni. Właściwości optyczne, w szczególności współczynnik odbicia i zjawiska rozpraszania, zależą od wielkości cząstek. Współczynnik odbicia wzrasta wraz ze wzrostem wielkości cząstek i maleje wraz ze wzrostem współczynnika załamania światła.

Nanomateriały mają niższą przewodność cieplną i elektryczną niż materiały masowe. Klasyczna teoria swobodnych elektronów metali stwierdza, że ruch elektronów w metalicznym ciele stałym prowadzi do przewodnictwa elektrycznego. Nanomateriały mają wysoką gęstość granic ziaren, co sprawia, że rozpraszanie elektryczno-fononowe i fononowo-fononowe jest większe co zmniejsza ich przewodność [31].

2. Matryce porowate

W inżynierii materiałowej, porowate medium lub porowaty materiał to materiał zawierający pory (puste przestrzenie), a szkieletowa część materiału jest często nazywana "matrycą" [32]. Materiał szkieletowy jest zwykle ciałem stałym, ale struktury takie jak pianki są często również analizowane przy użyciu koncepcji mediów porowatych [33]. Porowatość ośrodka jest parametrem najbardziej charakterystycznym dla takich struktur. Inne właściwości ośrodka, takie jak przepuszczalność, wytrzymałość na rozciąganie czy przewodność elektryczna, można wywnioskować z właściwości jego składników (stałej matrycy i płynu), a także porowatości i struktury porów ośrodka. Zgodnie z klasyfikacją IUPAC materiały porowate dzieli się na trzy grupy [34], tj:

- mikroporowate – średnica porów < 2 nm;
- mezoporowate – średnica porów od 2 do 50 nm;
- makroporowate – średnica porów > 50 nm.

Ze względu na swoje intrygujące właściwości związane z transportem ciepła (izolatory), filtracją różnych mediów i chłonnością lub zdolnością do pochłaniania / przechowywania gazów i oparów, materiały porowate od wielu lat są badane pod kątem ich możliwych zastosowań. Własności porowatych mediów są wykorzystywane w wielu dziedzinach nauki tj. filtracji, mechanice, inżynierii (inżynierii naftowej, bioremediacji, inżynierii budowlanej), geonaukach, biologii i biofizyce, materiałoznawstwie. Dwa ważne obecnie obszary zastosowań materiałów porowatych to konwersja i magazynowanie energii, gdzie materiały porowate są niezbędne do budowy superkondensatorów, (foto)katalizy, ogniw paliwowych i baterii [35].

Całkowita powierzchnia ciała stałego, w tym powierzchnia wszystkich nieciągłości i powierzchnia porowatej struktury, znana jest jako powierzchnia właściwa. Powierzchnia mierzona jest w m^2/g. W niektórych sorbentach można znaleźć kilka tysięcy metrów kwadratowych powierzchni na gram. Kluczowym czynnikiem w określaniu właściwości fizykochemicznych ciał stałych jest ich powierzchnia właściwa. Określenie pola powierzchni materiału może pomóc przewidzieć sposób spalania, rozpuszczania lub interakcji chemicznej z innymi substancjami. Metoda adsorpcji/sorpcji gazu jest w stanie zapewnić najbardziej precyzyjną i powtarzalną wartość pola powierzchni [36].

Parametrami określającymi właściwości fizykochemiczne materiałów porowatych są porowatość i rozkład wielkości porów (dystrybucja porów). Stosunek objętości struktury porowatej (całkowita objętość porów) do objętości badanego materiału jest znany jako porowatość, podawana zazwyczaj w procentach. Ilościowy/objętościowy udział różnych frakcji porów obecnych w badanym materiale jest reprezentowany przez rozkład wielkości porów.

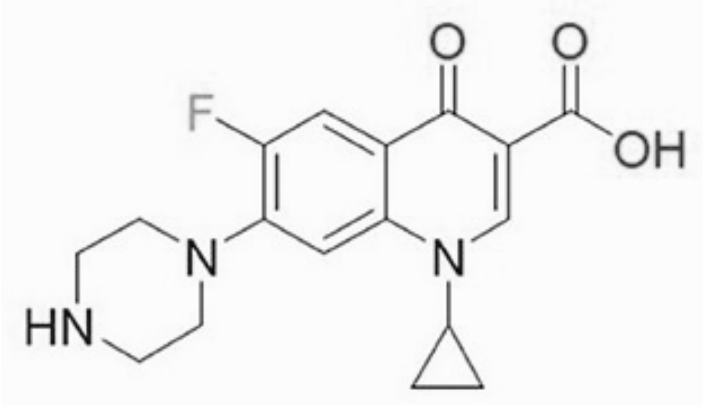
3. Materiały

3.1.Ciprofloksacyna

Należąca do rodziny antybiotyków fluorochinolonowych (FQ) ciprofloksacyna jest stosowana w leczeniu różnych chorób bakteryjnych. Należą do nich między innymi infekcje kości i stawów, jamy brzusznej, dróg oddechowych i skóry, dur brzuszny czy infekcje dróg moczowych [37]. Może być również stosowana w połączeniu z innymi

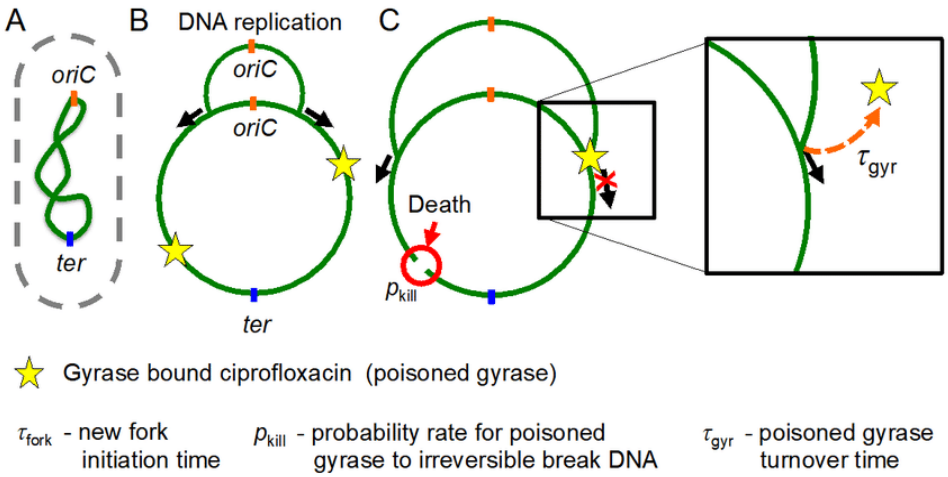
antybiotykami w przypadku niektórych chorób. Zazwyczaj jest podawana dożylnie, w postaci kropli do oczu, kropli do uszu lub doustnie [38].

Ciprofloksacyna wykorzystywana jest do leczenia szerokiego spektrum bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych. Na rysunku 2 przedstawiono strukturę chemiczną antybiotyku. Grupa fluorowa w pozycji C-6 i grupa piperazynowa powodują rozszerzenie spektrum przeciwdrobnoustrojowego cyprofloksacyny. Grupa piperazynowa, występująca w cefoperazonie i piperacylinie, zwiększa aktywność cyprofloksacyny wobec bakterii Pseudomonas. Grupa cyklopropylowa jest związana z wysoką aktywnością przeciwbakteryjną cyprofloksacyny. Ciprofloksacyna jest antybiotykiem o szerokim spektrum działania, który wpływa na komórki bakteryjne poprzez hamowanie gyrazy DNA (zawierającej dwie podjednostki A i B), znanej jako topoizomeraza II i topoizomeraza IV. Chinolony, takie jak ciprofloksacyna, zapobiegają ponownemu zamknięciu podwójnej nici DNA przez podjednostkę A, kontrolują bakteryjne skręcanie DNA, proces wymagany do replikacji, rekombinacji i naprawy DNA.



Rysunek 2 Struktura chemiczna ciprofloksacyny [39]

Wykazano również, że ciprofloksacyna, oprócz wpływu na gyrazę DNA, może powodować zmniejszenie ilości DNA, RNA i białka, a także fosfolipidów, galaktozy, arabinozy, glukozaminy i kwasu mykolowego ściany komórkowej bakterii [39 - 41].
Na rysunku 3 przedstawiono dokładny mechanizm działania ciprofloksacyny. (A). Nowo zsyntetyzowana nić DNA pozostaje połączona z chromosomem macierzystym, dopóki widełki nie osiągną ter (B). Inicjacja nowych widełek w oriC następuje średnio co jednostkę czasu. Gwiazdki reprezentują gyrazy zatrute ciprofloksacyną. Zatrute gyrazy są przeszkodami dla widełek replikacyjnych, indukując ich zatrzymanie, a także mogą powodować nieodwracalne uszkodzenia DNA z prawdopodobieństwem p_{kill} (C). Gdy zatruta gyraza zostanie usunięta z chromosomu, zablokowane widełki wznawiają replikację [42].



Rysunek 3 Model mechanizmu działania ciprofloksacyny. Nowe DNA jest syntetyzowane w widełkach replikacyjnych (czarne strzałki). Replikacja rozpoczyna się w punkcie początkowym (oriC) i kończy w punkcie

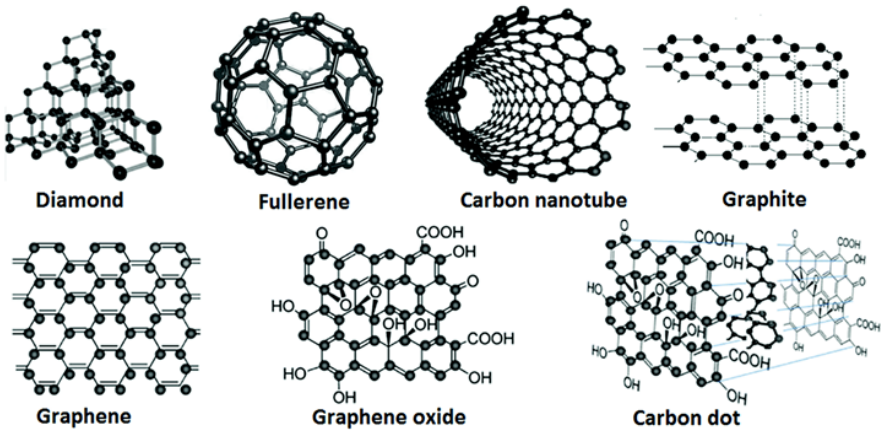
3.2.Nanotuby węglowe

3.2.1. Ogólna charakterystyka

Nanomateriały węglowe są obecnie badane pod kątem różnych zastosowań ze względu na ich wyjątkowe cechy. Niezwykłe właściwości nanowęgli wzbudziły duże zainteresowanie pod kątem ich wykorzystania w nowych technologiach i sprostania współczesnym wyzwaniom [43]. Rodzina nanomateriałów węglowych obejmuje nanorurki węglowe, fulereny, grafen, kropki kwantowe na bazie węgla i wielu innych. Nanorurki węglowe zostały zsyntetyzowane w 1991 roku przez S. Iijimę [44]. Po odkryciu CNT przeprowadzono szeroko zakrojone badania w celu zbadania ich właściwości. S. Iijima i Toshinari Ichihashi opisali jednościenne nanorurki węglowe o średnicy 1 nm [45]. Nanorurki węglowe to zwinięte arkusze jednowarstwowych zhybrydyzowanych atomów węgla sp^2. Nanorurki węglowe można podzielić w zależności od liczby zrolowanych arkuszy grafenu na jednościenne nanorurki węglowe, dwuścienne nanorurki węglowe i wielościenne nanorurki węglowe [46]. Przykłady materiałów węglowych i ich struktury zostały przedstawione na rys. 4.

Jednościenne nanorurki węglowe składają się z jednolitej warstwy grafitowej o grubości jednego atomu, w której atomy węgla są połączone silnymi wiązaniami kowalencyjnymi [47]. W wielościennych nanorurkach węglowych zwiniętych jest wiele arkuszy jednowarstwowego atomu węgla, mogą one składać się z jednej, dziesiątek lub

setek koncentrycznych powłok węglowych, a powłoki te są oddzielone od siebie na odległość ~0,34 nm [48]. Nanorurki węglowe mogą być syntetyzowane poprzez chemiczne osadzanie z fazy gazowej, ablację laserową, wyładowanie łukowe i wzrost katalityczny w fazie gazowej [49-52].

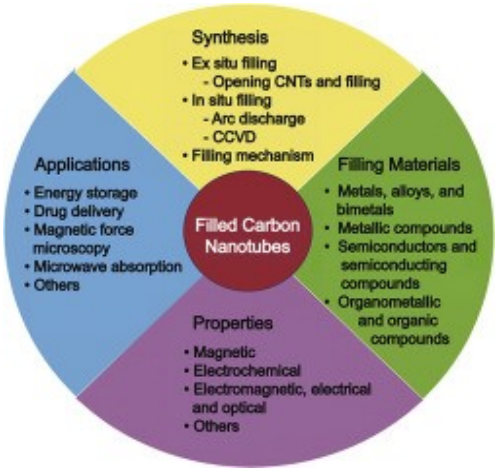


Rysunek 4 Schematy nanomateriałów węglowych [46]

Jednościenne nanorurki węglowe mają średnicę od 0,4 do 2 nm. Odległość między ściankami wewnętrznymi dwuściennych nanorurek węglowych wynosi od 0,33 do 0,42 nm. Średnice MWCNT zwykle mieszczą się w zakresie 2-100 nm, a odległość między ściankami wewnętrznymi wynosi około 0,34 nm. Przewodność elektryczna SWCNT i MWCNT wynosi odpowiednio około 102-106 $S*cm^{-1}$ i 103-105 $S*cm^{-1}$. SWCNT i MWCNT wykazują również doskonałą przewodność cieplną. CNT pozostają stabilne w powietrzu w temperaturach wyższych niż 600 °C. Średnica oraz heliakalność pierścieni grafenowych wpływa na rodzaj przewodności nanorurek [53]. Parametry strukturalne nanorurek węglowych określają, czy będą one miały charakter półprzewodnikowy czy metaliczny. Sposób w jaki zwijane są arkusze grafenu prowadzi do powstania trzech różnych typów CNT: chiralnych, ramienno-pierścieniowych i zygzakowatych.

Teoretyczne i eksperymentalne badania nanorurek węglowych ujawniły ich niezwykłe właściwości rozciągające. J. R. Xiao i inni wykorzystali analityczny model molekularnej mechaniki strukturalnej do przewidywania wytrzymałości SWCNT na rozciąganie wynoszącej 94,5 (nanorurki zygzakowate) i 126,2 (nanorurki ramieniowe) GPa [54]. W innych badaniach przeanalizowano moduł Younga i średnią wytrzymałość na rozciąganie wielościennych nanorurek węglowych o długości milimetra i stwierdzono, że wynoszą one odpowiednio 34,65 GPa i 0,85 GPa [55]. Nanorurki węglowe ze względu na wysoką wytrzymałość na rozciąganie są wykorzystywane do poprawy właściwości mechanicznych kompozytów.

Nanorurki węglowe są z natury lekkie więc wykorzystuje się je do produkcji biodegradowalnych pianek nanokompozytowych o niewielkiej masie [56-58]. Na rysunku 5 przedstawiono różne techniki syntezy materiałów węglowych, ich własności, możliwe ich sfunkcjonalizowanie oraz potencjalne aplikacje.

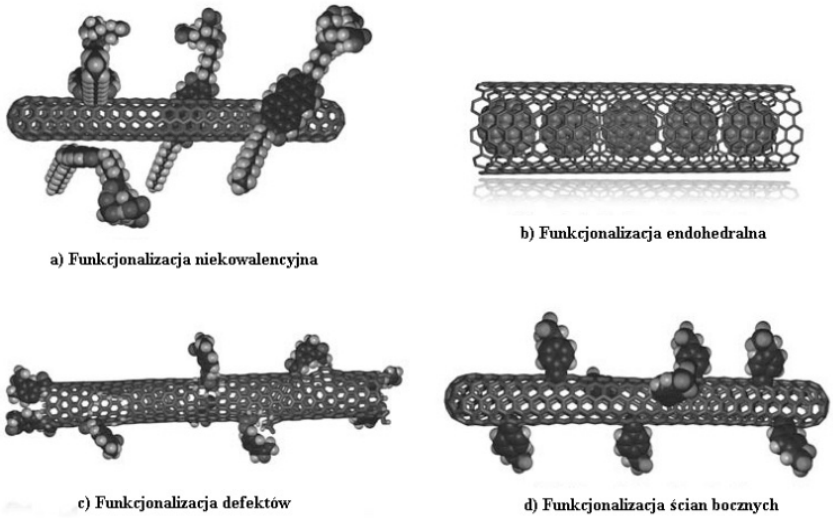


Rysunek 5 Schemat własności różnych nanokompozytów z węglowymi nanorurkami [59]

Jednym z głównych problemów związanych z nanorurkami węglowymi jest ich słaba dyspersja w środowisku wodnym ze względu na ich hydrofobowy charakter. Klastry CNT są tworzone z powodu przyciągania van der Waalsa, wiązań π i hydrofobowości. Agregacja CNT, ze względu na ich silne interakcje, utrudnia rozpuszczalność lub dyspersję w wodzie, nawet w systemach opartych na rozpuszczalnikach organicznych. Trudna dyspersja związana z CNT ograniczyła ich wykorzystanie do niektórych zastosowań, takich jak urządzenia biomedyczne, dostarczanie leków, czy biologia komórkowa [56].

Właściwości materiałów węglowych można dodatkowo modyfikować poprzez odpowiednią funkcjonalizację. Funkcjonalizację nanorurek można podzielić na dwie główne kategorie: funkcjonalizację kowalencyjną i niekowalencyjną. Jedną z najłatwiejszych do przeprowadzenia jest funkcjonalizacja niekowalencyjna (rysunek 6), w której substancje oddziałują z powierzchnią nanorurek za pomocą oddziaływań π-π lub siłom Van der Waalsa. W tym przypadku nanorurki węglowe najczęściej zostają owinięte przez długołańcuchowe polimery czy polipeptydy. Właściwość ta została wykorzystana do zwiększenia rozpuszczalności nanorurek w wodzie. W tym celu stosuje się związki powierzchniowo czynne, zawierające na swoich końcach grupy hydrofilowe obdarzone ładunkiem (np. dodecylosulfonian sodu). CNT ponadto chętnie oddziałują ze związkami zawierającymi w swojej strukturze pierścienie aromatyczne, co zostało wykorzystane

przy przyłączeniu do ich powierzchni pochodnych pirenu. Innym rodzajem funkcjonalizacji niekowalencyjnej jest wypełnianie nanorurek atomami lub cząsteczkami innych związków (rysunek 6b). Cechą wspólną funkcjonalizacji niekowalencyjnej jest zachowanie pierwotnej struktury elektronowej nanorurek.



Rysunek 6 Metody funkcjonalizacji nanorurek węglowych [61]

Funkcjonalizacja kowalencyjna może zachodzić na defektach nanorurek oraz na ich ścianach bocznych. W pierwszym przypadku (rysunek 6c) funkcjonalizacja zachodzi najczęściej na grupach karboksylowych (lub ich pochodnych), znajdujących się głównie na otwartych zakończeniach nanorurek oraz w miejscach defektów ścian bocznych, powstałych na skutek utleniania. Funkcjonalizacja ścian bocznych (rysunek 6d) zachodzi bezpośrednio na atomach węgla i polega na addycji do wiązań podwójnych, wywołując zmianę hybrydyzacji sp^2 na sp^3 atomów węgla, co powoduje znaczną zmianę właściwości elektronowych nanorurki [60].

3.2.2. Zastosowanie nanorurek węglowych w medycynie

Nanorurki są jednymi z konkurencyjnych nanomateriałów, które są szeroko stosowane do uzyskiwania powierzchni antybakteryjnych. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa nanorurek zależy od różnych czynników, w tym od ich składu i powierzchni, takich jak długość, rozmiar, liczba warstw grafenu i rozmieszczenie fizyczne (dyspersja lub agregacja). W tabeli 1 wymieniono kilka badań dotyczących przeciwdrobnoustrojowych właściwości SWCNT i MWCNT przeciwko różnym patogennym szczepom drobnoustrojów [62].

Do chwili obecnej zaproponowano różne mechanizmy służące ilościowemu określeniu toksyczności nanorurek CNT i ich bezpieczeństwa biologicznego. W 2007 roku Kang i wsp. po raz pierwszy donieśli, że jednościenne nanorurki CNT wykazywały silną aktywność przeciwdrobnoustrojową, co powodowało zniszczenie błony komórkowej w wyniku bezpośredniego kontaktu, a tym samym zmniejszenie żywotności komórek o 80% [63].

W 2008 r. inne badanie dotyczące analizy ekspresji genów wykazało, że głównym mechanizmem działania biobójczego CNT jest uszkodzenie błony komórkowej. Autorzy odkryli, że patogeny narażone na działanie nanorurek CNT wykazują stres oksydacyjny, któremu towarzyszy zniszczenie błon komórkowych i uwolnienie zawartości wewnątrzkomórkowej [64-65]. Nagai i Toyokuni również donieśli o występowaniu uszkodzenia błony komórkowej w wyniku bezpośredniego przekłucia powierzchni patogenu. Z drugiej strony donoszono, że długość nanorurek CNT odgrywa kluczową rolę w ich interakcjach z błoną komórkową, gdzie dłuższe rurki wykazują mniejszą toksyczność dla patogenu [66 - 68].

Jednym z przykładów działania antybakteryjnego nanorurek węglowych jest mechanizm pokazany na rysunku 7:

(1) przyłączanie CNT do powierzchni komórek drobnoustrojów w celu promowania transbłonowego transferu elektronów i wywoływania uszkodzenia ściany komórkowej i błony;

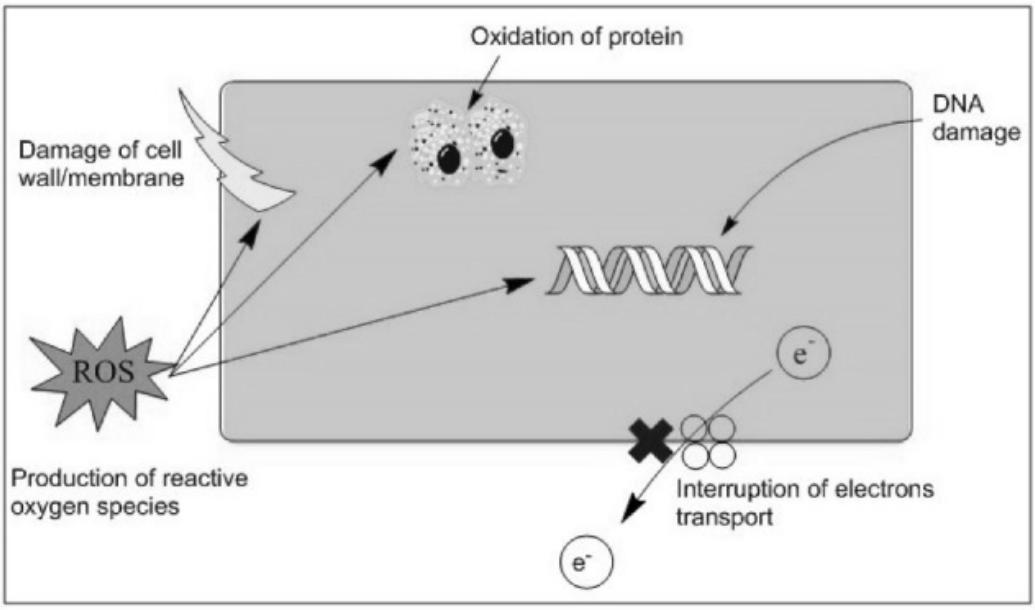
(2) dysfunkcja białek i uszkodzenie DNA, gdy CNT przenikają do komórek bakteryjnych;

(3) tworzenie produktów wtórnych, takich jak np. ROS (Reaktywne formy tlenu).

Mechanizm opisujący śmierć komórek bakteryjnych często zaczyna się od zniszczenia błon komórkowych, a następnie następuje uwolnienie materiałów wewnątrzkomórkowych. Przyleganie CNT zmienia strukturę komórkową, przepuszczalność i siłę napędową protonów błony komórkowej. W niektórych badaniach zaobserwowano, że CNT mają tendencję do zniekształcania morfologii komórek i integralności błony komórkowej w kontakcie z komórkami bakteryjnymi. W badaniu przeprowadzonym przez Kanga większość komórek bakteryjnych E. coli uległa spłaszczeniu po godzinnej inkubacji z SWCNT, ale pozostały nienaruszone po inkubacji z MWCNT [69].

Tabela 1 Skuteczność przeciwdrobnoustrojowa czystych nanorurek węglowych w różnych badaniach [62]

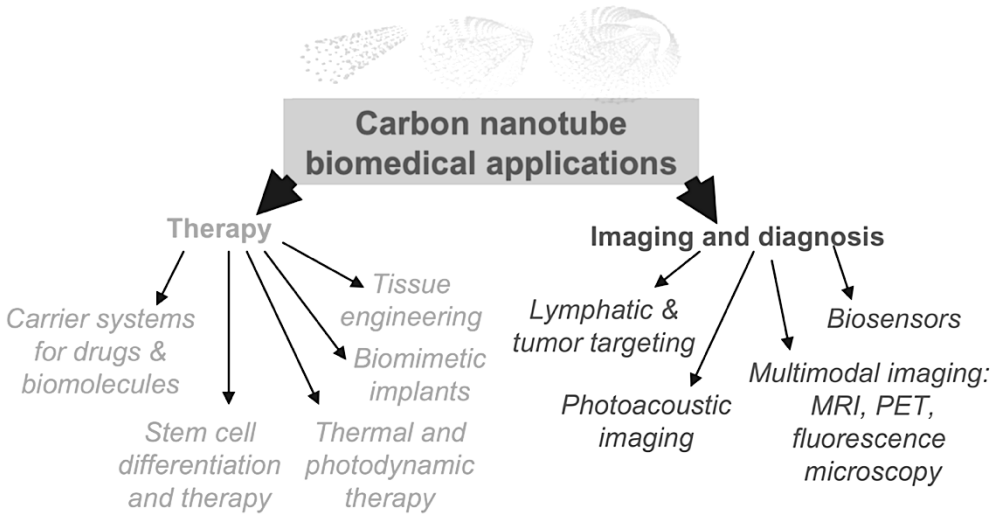
Rodzaje CNTs	**Stężenie**	**Gatunek bakterii**	**Główny mechanizm działania**
SWCNTs	5 μg/mL	*E. coli*	Uwolnienie zawartości wewnątrzkomórkowej z powodu nieodwracalnego uszkodzenia błony zewnętrznej. Komórki drobnoustrojów utraciły swoją integralność komórkową.
SWCNTs, MWCNT	20 μg/mL, 50 μg/mL, 100 μg/mL	*L.acidophilus*, *E. coli*, *B. adolescentis, E. faecalis*, *S. aureus*	Mechanizm przeciwdrobnoustrojowy jest związany z uszkodzeniem błony komórkowej drobnoustrojów i uwolnieniu zawartości wewnątrzkomórkowej.
MWCNT	1.5 – 100 mg/L	*E. coli, B. subtilis,* and *P.aeruginosa*	Wartości MIC MWNT były wysokie, co wskazuje na niską toksyczność mikrobiologiczną.
DWCNT, MWCNT	20 μg/mL – 100 μg/mL	*Staphylococcus aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*	MWNT wykazały wyższą aktywność przeciwdrobnoustrojową niż DWNT wobec wybranych patogenów.
MWCNT	20 mg/20 mL	*P. fluorescens*	Zaobserwowano, że MWNT wykazały znaczący wpływ na hamowanie adhezji drobnoustrojów ze względu na potencjał elektrochemiczny.
SWCNT, DWCNT, MWCNT	100 μg/mL	*Staphylococcus aureus, P. aeruginosa, C. albicans*	Śmierć drobnoustrojów indukowana przez agregację CNT, które zostały uwięzione na powierzchni komórek drobnoustrojów. Aktywowane laserowo CNT mogą potencjalnie kontrolować wzrost bakterii.



Rysunek 7 Mechanizm przeciwdrobnoustrojowy CNT: produkcja reaktywnych form tlenu, rozrywanie DNA, zablokowanie transportu elektronów, zniszczenie ściany komórkowej bakterii, utlenianie białek [62]

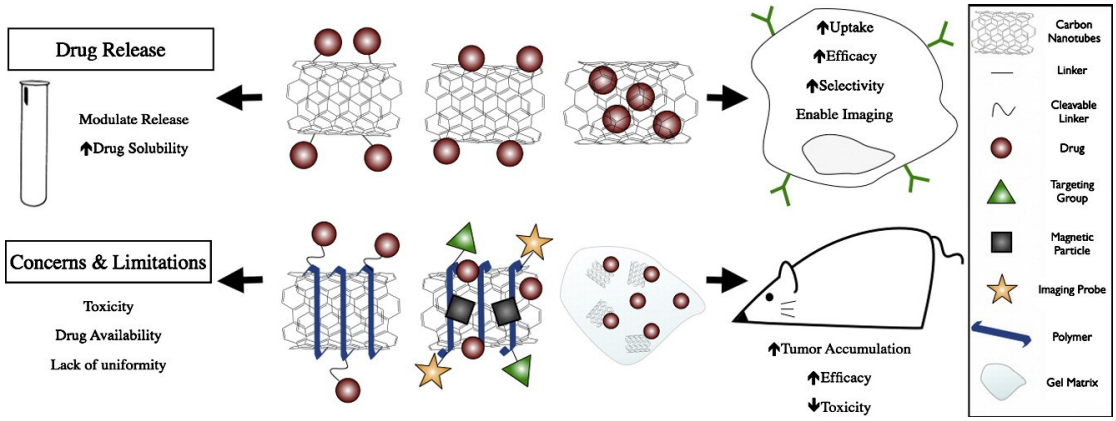
Nanorurki węglowe są skuteczne w walce z szeroką gamą mikroorganizmów, biorąc pod uwagę fakt, że ich działanie przeciwdrobnoustrojowe zostało prześledzone i potwierdzone na różnych szczepach drobnoustrojów, w tym S. aureus, E. coli, Enterococcus faecalis, Lactobacillus acidophilus i Bifidobacterium adolescentis [62]. Zastosowanie CNT w biomedycynie zostało przedstawione na rysunku 8, ich własności pozwalają na użycie ich w terapii oraz obrazowaniu i diagnostyce jednak wymaga to sprostania kilku wyzwaniom. Pierwsze z nich związane jest z bezpieczeństwem i zakłada wykorzystanie CNT o bardzo wysokiej czystości w celu ograniczenia potencjalnego uwalniania toksycznych jonów podczas pracy w dowolnym środowisku biologicznym. Jest to prawdziwe wyzwanie, ponieważ próbki CNT o wysokiej czystości zwykle nie mogą być przygotowywane na bardzo dużą skalę i często trzeba osiągnąć kompromis między jakością a ilością. Jednym z głównych wyzwań jest uzyskanie dobrej dyspersji CNT w rozpuszczalnikach, a zwłaszcza w wodzie. Silna hydrofobowość CNT sprawia, że nie tylko trudno je oddzielić/indywidualizować w rozpuszczalniku, ale także ustabilizować zawiesinę. Można to osiągnąć poprzez funkcjonalizację (na przykład kowalencyjnie poprzez utlenianie chemiczne lub najczęściej niekowalencyjnie poprzez dodanie środka dyspergującego lub środka powierzchniowo czynnego). Kolejnym wyzwaniem jest typowy wzrost lepkości związany z odpowiednią dyspersją CNT w cieczy, nawet przy niskim stężeniu [71], co

może utrudniać przygotowanie materiałów nanokompozytowych o wysokim udziale objętościowym dobrze zdyspergowanych CNT.



Rysunek 8 Najważniejsze biomedyczne zastosowania nanorurek węglowych [70]

Skuteczne podawanie leków jest prawdziwym wyzwaniem w medycynie. Niska selektywność i krótki okres półtrwania mogą prowadzić do wielokrotnego podawania leku, co skutkuje efektami wtórnymi. Ze względu na oczekiwaną biokompatybilność i odpowiedni rozmiar, CNT są szeroko badane jako nanonośniki do dostarczania leków i genów, a także do leczenia raka. Leki takie jak doksorubicyna (DOX) mogą być umieszczane na powierzchniach SWCNT sprzężonych z poli(glikolem etylenowym) (PEG) dzięki niekowalencyjnym wiązaniom i mogą dotrzeć do tkanki nowotworowej dzięki efektowi zwiększonej przepuszczalności i retencji (EPR). Zależność uwalniania od pH pozwoliłaby również na dostarczanie nanoleków do tkanek nowotworowych [72]. Przykład mechanizmu uwalniania się leków z nanorurek węglowych przestawiono na rysunku 9.



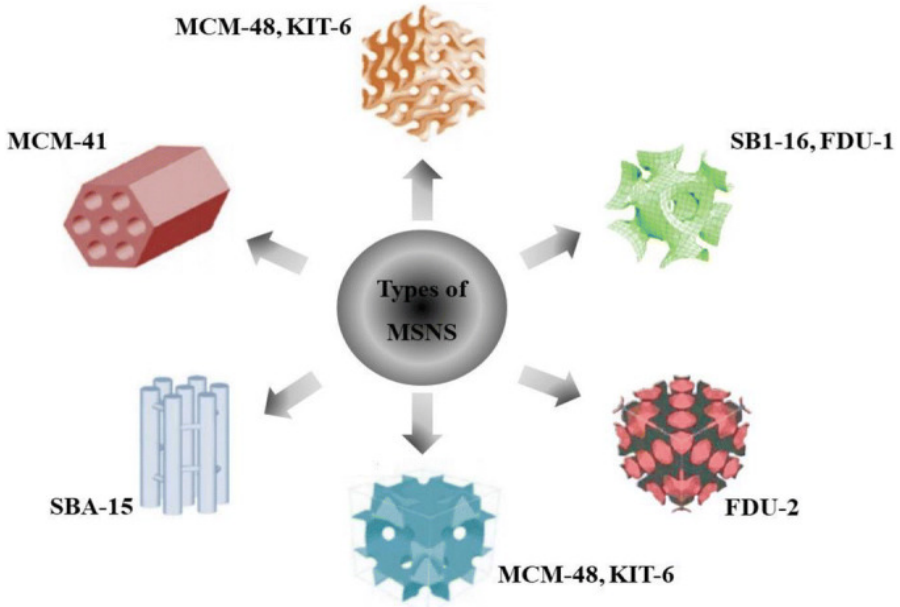
Rysunek 9 Schemat uwalniania substancji aktywnych z nanotub i ich różna funkcjonalizacja [72]

CNT mają również zdolność wnikania do komórek [73], niezależnie od grup funkcyjnych, które mogą mieć na powierzchni [74], umożliwiając wewnątrzkomórkowe dostarczanie leków, ale także genów i białek. Jest to szczególnie interesujące dla rozwoju terapii genowej, dzięki dostarczaniu krótkich nici RNA (siRNA) do cytoplazmy. CNT wykazały również obiecujący potencjał do wykorzystania jako nośniki lub dodatki do dostarczania takich leków jak środki przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, przeciwnadciśnieniowe i przeciwutleniające. Substancje oparte na CNT, mimo że są rzadziej stosowane, z powodzeniem zwiększają skuteczność terapeutyczną i modulują profil uwalniania różnych leków nienowotworowych [75 - 77].

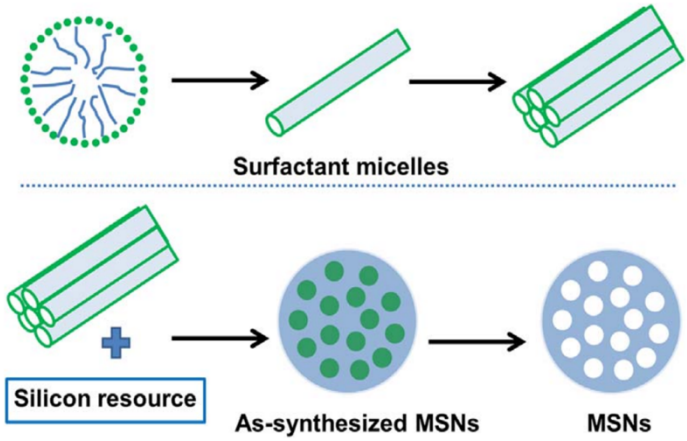
3.3.Mezopory krzemionkowe

3.3.1. Ogólna charakterystyka

Mezopory krzemionkowe o jednolitym wymiarze porów i uporządkowanej strukturze zostały po raz pierwszy wprowadzone przez naukowców korporacji Mobil w 1992 roku i oznaczono je jako (Mobil Crystalline Materials lub Mobil Composition of Matter) MCM-41 [78]. Natomiast na Uniwersytecie Kalifornijskim w Santa Barbara zsyntetyzował materiały amorficzne SBA (Santa Barbara), gdzie stosunek tlenku etylenu do tlenku propylenu był zmieniany w celu uzyskania pożądanej symetrii materiałów mezoporowatych (SBA-11 (sześcienny), SBA-12 (3-d sześciokątny), SBA-15 (sześciokątny) i SBA-16 (sześcienny o strukturze klatki). Mezopory krzemionkowe o różnorodnej strukturze zostały przedstawione na rysunku 10. Mezoporowate nanocząstki krzemionki (MSN) o unikalnych właściwościach cieszą się rosnącym zainteresowaniem w zastosowaniach biomedycznych. W szczególności, MSN wykazały duży potencjał w dostarczaniu słabo rozpuszczalnych leków, środków przeciwnowotworowych i genów terapeutycznych. Supramolekularne zespoły środków powierzchniowo czynnych są kluczowym czynnikiem w syntezie MSN. Ulega on samoczynnej agregacji w micele przy stężeniu wyższym niż krytyczne stężenie miceli (CMC). Następnie prekursory krzemionki mogą kondensować na powierzchni miceli, tworząc nieorganiczno-organiczny materiał hybrydowy. Na koniec, matrycowy środek powierzchniowo czynny można usunąć przez kalcynację lub ekstrakcję rozpuszczalnikiem w celu wytworzenia porów [79-80] (rysunek 11).



Rysunek 11 Schematyczne przedstawienie różnych typów MSN [79]



Rysunek 10 Schematyczny diagram przedstawiający przygotowanie mezoporowatych nanocząstek krzemionki (MSN) [81]

Powstałe mezoporowate matryce na bazie krzemionki mogą oferować następujące unikalne właściwości strukturalne i biomedyczne:

- MSN mają uporządkowaną porowatą strukturę dalekiego zasięgu bez wzajemnych połączeń między poszczególnymi porowatymi kanałami, co pozwala na precyzyjną kontrolę ładowania leku i kinetyki uwalniania.
- Duża objętość porów oraz powierzchnia MSN, która zwykle przekracza odpowiednio 1 cm^2/g i 700 m^2/g, stanowi wysoki potencjał do ładowania cząsteczek i poprawy rozpuszczania.

- Wielkość cząstek MSN można syntetyzować w zakresie od 50 do 300 nm, co umożliwia łatwą endocytozę przez żywe komórki. Rozmiar porów materiałów mezoporowatych można zmieniać i dostosowywać poprzez wybór zastosowanych środków powierzchniowo czynnych.
- MSN posiadają dwie funkcjonalne powierzchnie, a mianowicie cylindryczną powierzchnię porów i zewnętrzną powierzchnię cząstek. Te zawierające silanol powierzchnie mogą być selektywnie sfunkcjonalizowane w celu uzyskania lepszej kontroli nad ładowaniem i uwalnianiem leku. Co więcej, zewnętrzna powierzchnia może być sprzężona z ligandami docelowymi w celu skutecznego dostarczania leków specyficznych dla komórek.
- Krzemionka wykazuje dużą biokompatybilność i jest "uznawana za bezpieczną" przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (FDA). Niedawno nanocząstki krzemionki w postaci kropek Cornella (C dots) otrzymały zgodę FDA na I etap badań klinicznych na ludziach w celu ukierunkowanego obrazowania molekularnego. MSN wykazują trzystopniową degradację w symulowanym płynie ustrojowym, co sprawia, że MSN mogą ulegać degradacji po podaniu, co sprzyja uwalnianiu ładunku. Wyniki badań klinicznych, patologicznych, śmiertelności i wskaźników biochemicznych krwi wskazywały na niską toksyczność MSN in vivo. Stwierdzono również, że MSN były wydalane głównie z kałem i moczem po podaniu różnymi drogami [82-83].

3.3.2. Zastosowanie materiałów opartych na krzemie w medycynie

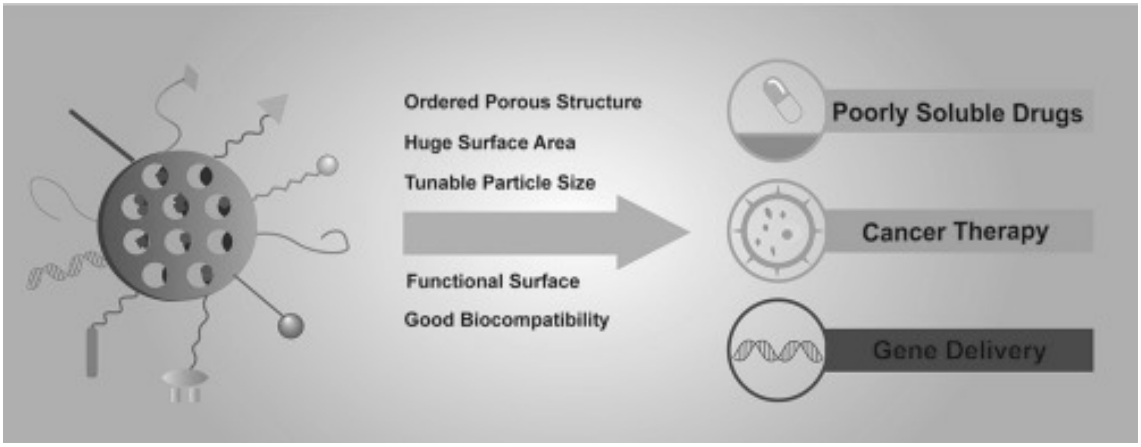
Unikalne cechy mezoporów krzemionkowych sprawiają, że są doskonałymi kandydatami na kontrolowane systemy dostarczania leków/genów. Od czasu pierwszego doniesienia o zastosowaniu MSN typu MCM-41 jako systemu dostarczania leków, badania nad biomedycznym zastosowaniem MSN stale rosły, a w ostatniej dekadzie nastąpił ich gwałtowny wzrost [84 - 85].

Dzięki dużej powierzchni i uporządkowanemu porowatemu wnętrzu, mezoporowata krzemionka może być stosowana jako doskonały nośnik do dostarczania leków w celu

poprawy rozpuszczalności słabo rozpuszczalnych w wodzie leków, a następnie zwiększenia ich biodostępności [86-87]. Zaadsorbowanie nierozpuszczalnych leków w mezoporowatej krzemionce zmniejsza krystalizację leku. Amorficzny charakter takiego układu zmniejsza energię sieci, co skutkuje lepszą szybkością wchłaniania i zwiększoną biodostępnością [88]. Duża, hydrofilowa powierzchnia mezoporowatej krzemionki ułatwia zwilżanie i dyspersję przechowywanego leku, co skutkuje łatwym rozpuszczaniem w wodzie [89].

Istnieje kilka czynników, które mogą wpływać na szybkość uwalniania leku z MSN. Rozmiar porów odgrywa ważną rolę, ponieważ uwalnianie leku jest kontrolowane głównie przez dyfuzję [90]. Podczas degradacji mezoporów, wysoce uporządkowana heksagonalna struktura jest zdegradowana do nieuporządkowanej sieci, w której ściany są częściowo zniszczone, co może wpływać na uwalnianie ładunku leku załadowanego do MSN [91]. Na rysunku 12 przedstawiono możliwe zastosowania matryc porowatych dla zastosowań biomedycznych. Wykazano, że MSN mogą poprawić szybkość rozpuszczania i biodostępność leków nierozpuszczalnych w wodzie w oparciu o następujące cechy:

- niekrystaliczny stan leku uwięzionego w mezoporach;
- wysoka dyspergowalność przy dużej powierzchni;
- zwiększenie zwilżalności przez hydrofilową powierzchnię MSN.



Rysunek 12 Mezoporowate nanocząstki krzemionki (MSN) o unikalnych właściwościach. W szczególności, MSN wykazały duży potencjał w dostarczaniu słabo rozpuszczalnych leków, środków przeciwnowotworowych i genów terapeutycznych [80]

Zewnętrzne powierzchnie MSN mogą być modyfikowane różnymi cząsteczkami rozpoznającymi specyficzne komórki i cząsteczkami reagującymi na bodźce w celu wzmocnienia efektu terapeutycznego leków [80].

4. Metody badawcze zastosowane do charakterystyki oddziaływań adsorbent – adsorbat analizowanych układów

4.1.Pomiar kąta zwilżania

Pomiary kąta zwilżania zostały wykonane w celu wyznaczenia mikroskopowego parametru zwilżania α_w i określenie przybliżonego charakteru oddziaływań adsorbat-adsorbent. Potencjał Lennarda – Jonesa określał oddziaływania między ściankami adsorbatu, a warstwą powierzchniową roztworu antybiotyku. Potencjał Lennarda-Jonesa, znany również jako potencjał L-J, jest modelem matematycznym stosowanym do opisu międzycząsteczkowej energii potencjalnej między dwoma neutralnymi atomami lub cząsteczkami w funkcji ich odległości od siebie. Ta funkcja energii potencjalnej jest często wykorzystywana w symulacjach dynamiki molekularnej i chemii obliczeniowej do modelowania interakcji między cząsteczkami [92]. Potencjał Lennarda-Jonesa jest zdefiniowany następującym równaniem:

$$V(x) = 4\varepsilon\left[\left(\frac{\sigma}{r}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r}\right)^{6}\right] \quad (1)$$

Gdzie:

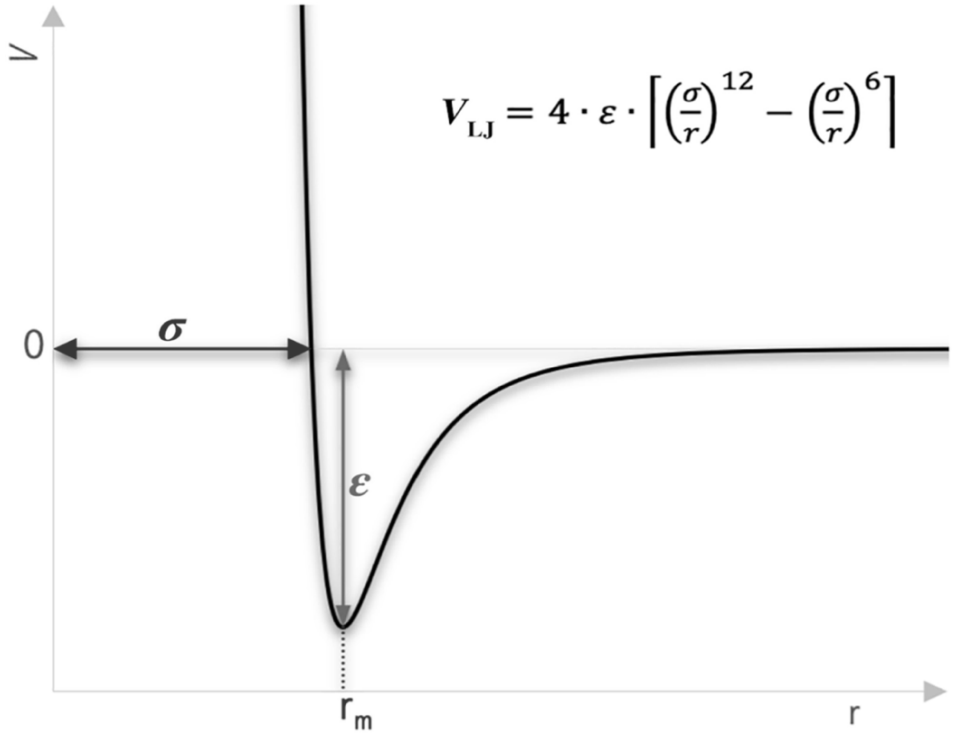
V(r) - to energia potencjalna w funkcji odległości "r" między dwiema cząstkami

ε - to głębokość studni energii potencjalnej, która reprezentuje siłę przyciągania między cząstkami

σ - jest odległością, przy której energia potencjalna wynosi zero i reprezentuje położenie, przy której cząstki nie przyciągają się ani nie odpychają

Pierwszy człon równania $\left(\frac{\sigma}{r}\right)^{12}$ reprezentuje potencjał odpychający i opisuje silne odpychanie między cząstkami, gdy zbliżają się one do siebie, powodując gwałtowny wzrost energii potencjalnej wraz ze spadkiem r. Drugi człon $\left(\frac{\sigma}{r}\right)^{6}$ reprezentuje potencjał przyciągający i opisuje przyciąganie między cząstkami, gdy zbliżają się do siebie, powodując spadek energii potencjalnej wraz ze spadkiem r [93]. Potencjał Lennarda-Jonesa (rysunek 13) składa się z dwóch części, z których jedna dominuje na małych odległościach (odpychanie), a druga na odległościach pośrednich (przyciąganie). Przy dużych odległościach energia potencjalna zbliża się do zera, wskazując, że cząstki nie oddziałują ze sobą. Potencjał Lennarda-Jonesa to szeroko stosowany model opisujący

interakcje między cząsteczkami, w zagadnieniach modelowania gazów, cieczy i ciał stałych [95].



Rysunek 13 Wykres funkcji potencjału Lennarda-Jonesa: Międzycząsteczkowa energia potencjalna V L-J w funkcji odległości pary cząstek [94]

Tendencja zwilżania absorbatu na stałym podłożu jest wynikiem konkurencji pomiędzy międzycząsteczkowymi siłami adsorbat-substrat oraz adsorbat-adsorbat w cieczy. Przy założeniu opisu oddziaływań międzymolekularnych z zastosowaniem potencjału Lennarda – Jonesa dla prostego modelu płynu będącego w kontakcie z podłożem stałym, obliczono molekularny parametr zwilżania α_w [96]. Określa on stosunek energii oddziaływań ścianka porów – ciecz do energii oddziaływań ciecz – ciecz (wzór (2)). Jak wykazały badania zarówno teoretyczne i doświadczalne wartość parametru α_w determinuje również temperaturę topnienia substancji ograniczonych w nanoporach [97 - 98].

$$\alpha_w = \frac{E_{pc}}{E_{cc}} \qquad (2)$$

E_{pc} – Energia oddziaływań ścianka porów – ciecz

E_{cc} – Energia oddziaływań ciecz - ciecz

Charakter oddziaływań substancji z powierzchnią opisuje równanie Younga. Jest to podstawowa zależność, która opisuje kąt kontaktu kropli cieczy z powierzchnią ciała stałego. Odnosi się ono do napięć powierzchniowych trzech faz: cieczy, ciała stałego i otaczającego gazu (lub innej niemieszającej się fazy). Równanie Younga jest wykorzystywane do zrozumienia i przewidywania zachowania zwilżania powierzchni. Równanie Younga jest zwykle zapisywane jako [99]:

$$cos\theta = \frac{(\gamma_{sg} - \gamma_{sl})}{\gamma_l} \quad (3)$$

Gdzie:

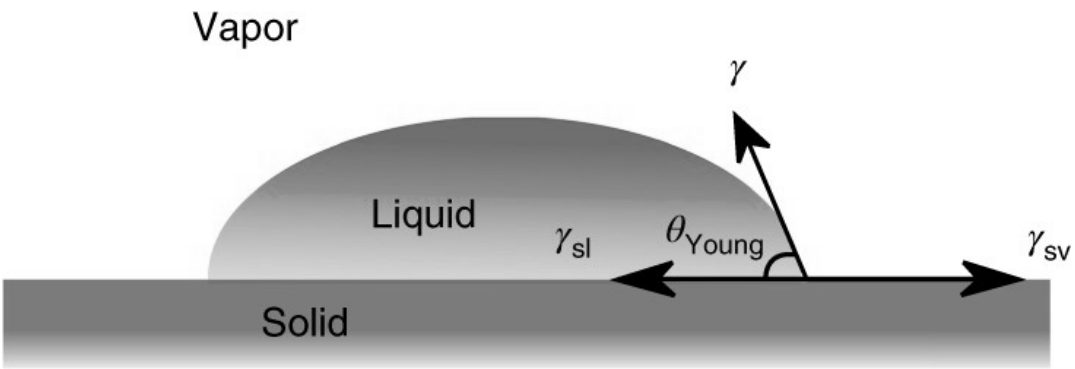
θ - to kąt zwilżania między cieczą a powierzchnią ciała stałego.

γ_{sg} - to napięcie międzyfazowe między fazą stałą i gazową.

γ_{sl} - to napięcie międzyfazowe między fazą stałą i ciekłą.

γ_l - to napięcie międzyfazowe między fazą ciekłą i gazową.

W równaniu (3) kąt θ jest związany z napięciami powierzchniowymi na granicy trzech faz - ciało stałe-ciecz-gaz. Gdy kąt zwilżania θ jest mniejszy niż 90 stopni, oznacza to, że ciecz skutecznie zwilża powierzchnię ciała stałego, natomiast większy niż 90 stopni, sugeruje to, że ciecz nie zwilża dobrze powierzchni. Równanie Younga jest podstawowym narzędziem do zrozumienia zjawisk zwilżania i adhezji i jest wykorzystywane w różnych zastosowaniach, takich jak projektowanie powłok, klejów i innych metod obróbki powierzchni. Zapewnia wgląd w to, jak różne ciecze zachowują się w kontakcie z powierzchniami stałymi i ma kluczowe znaczenie dla optymalizacji procesów przemysłowych i materiałów [101].



Rysunek 14 Schemat kropli cieczy przedstawiający kąt zwilżania na granicy trzech faz w równaniu Younga [100]

Kąt zwilżania jest to kąt, jaki tworzy styczna do powierzchni kropli pomiarowej osadzonej na powierzchni ciała stałego, w punkcie styku trzech faz stałej, ciekłej i gazowej. Określa on ilościowo stopień, w jakim ciecz zwilża powierzchnię. Na zwilżalność wpływają różne czynniki tj. energia powierzchniowa ciała stałego i cieczy oraz chropowatość powierzchni ciała stałego. Kąt zwilżania przyjmuje wartości w zakresie od 0° do 180° [102]:

- $\theta < 90°$: W tym przypadku kąt zwilżania jest mniejszy niż 90 stopni, co wskazuje, że ciecz skutecznie zwilża powierzchnię ciała stałego. Oznacza to, że ciecz rozprzestrzenia się po powierzchni i tworzy stabilną, dobrze rozprowadzoną warstwę.
- $\theta > 90°$: Gdy kąt zwilżania jest większy niż 90 stopni, oznacza to, że ciecz nie zwilża dobrze powierzchni ciała stałego. Ciecz ma tendencję do tworzenia dyskretnych kropelek lub niejednolitej, niezwilżalnej warstwy na powierzchni.
- $\theta = 0°$: Kąt zwilżania równy 0 stopni oznacza całkowite zwilżenie, gdzie ciecz tworzy idealnie płaską i stabilną warstwę, która pokrywa całą powierzchnię ciała stałego.

Większość powierzchni stałych wykazuje chropowatość, która występuje w skali makroskopowej lub mikroskopowej [103]. Często stosowane są dwa modele chropowatości: Wenzela [104] oraz Cassie-Baxtera [105], które zostały zilustrowane na rysunku 15. W modelu Wenzela (W) zakłada się, że ciecz podąża za nieregularnościami w powierzchni ciała stałego, penetrując wszelkie wgłębienia. Współczynnik chropowatości r jest zdefiniowany jako:

$$r = \frac{rzeczywisty\ obszar\ chropowatej\ powierzchni}{obszar\ równoważnej\ powierzchni\ geometrycznej} \tag{4}$$

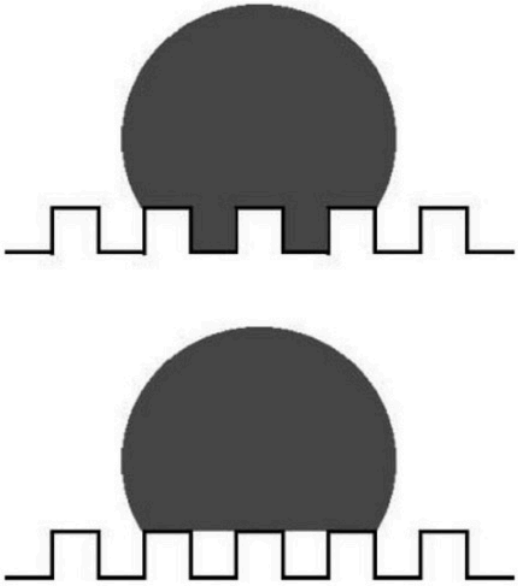
W modelu Wenzla równanie (3) można zastąpić przez:

$$r\gamma_{sg} - r\gamma_{sl} = rA = \gamma_{lg}cos\theta_c^W \tag{5}$$

gdzie θ_c^W jest pozornym kątem zwilżania według Wenzla. Porównanie tego równania z równaniem (3) daje

$$\cos\theta_c^W = r\cos\theta_c \qquad (6)$$

gdzie θ_c jest kątem zwilżania idealnej powierzchni zgodnie z równaniem Younga (3). Ponieważ $r > 1$, dla $\theta_c < 90$, chropowata powierzchnia jest bardziej hydrofilowa niż gładka płaska powierzchnia hydrofilowa, natomiast jeśli $\theta_c > 90$, kąt zwilżania Wenzela jest większy od kąta zwilżania, a chropowata powierzchnia jest bardziej hydrofobowa niż gładka płaska powierzchnia hydrofobowa. Efekty te zostają wzmocnione przez zwiększenie współczynnika chropowatości r [96].



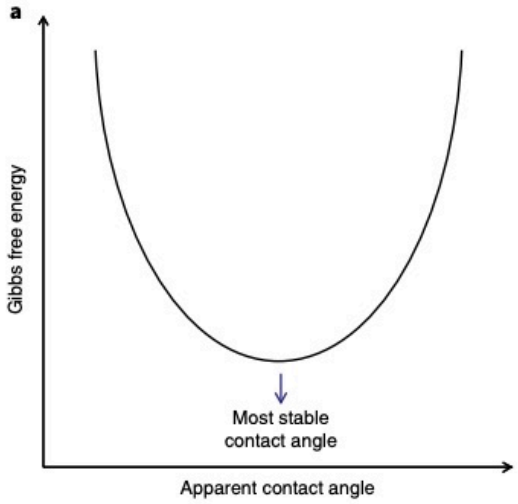
Rysunek 15 Model Wenzela (u góry), w którym ciecz całkowicie zwilża chropowatą powierzchnię, oraz model Cassie-Baxtera (u dołu), w którym ciecz nie penetruje wgłębień, lecz osiada na "słupkach" [96].

4.1.1. Metoda kropli siedzącej

Statyczny pomiar kąta zwilżania polega na umieszczeniu kropel o niewielkiej objętości na powierzchni próbki. Kąt utworzony na granicy kropli jest kątem zwilżania, który charakteryzuje zwilżalność powierzchni. Metoda pomiaru kątów zwilżania nazywa się goniometrią kropli siedzącej. Pomiar dokonuje się poprzez nagranie wideo kropli

wody na twardej powierzchni i określenie kąta zwilżania na podstawie obrazów wideo za pomocą procedury dopasowania [106 -107].

Podejście to zakłada, że osadzona kropla będzie znajdować się w globalnym minimum energetycznym, a zatem w stanie stabilnym, który odpowiada kątowi zwilżania Younga (Rysunek 16). Pomiary statycznego kąta zwilżania nie są powtarzalne, a pojedyncza wartość kąta zwilżania nie dostarcza ważnych informacji na temat interakcji ciało stałe–woda określonych na podstawie histerezy kąta zwilżania [108-109].

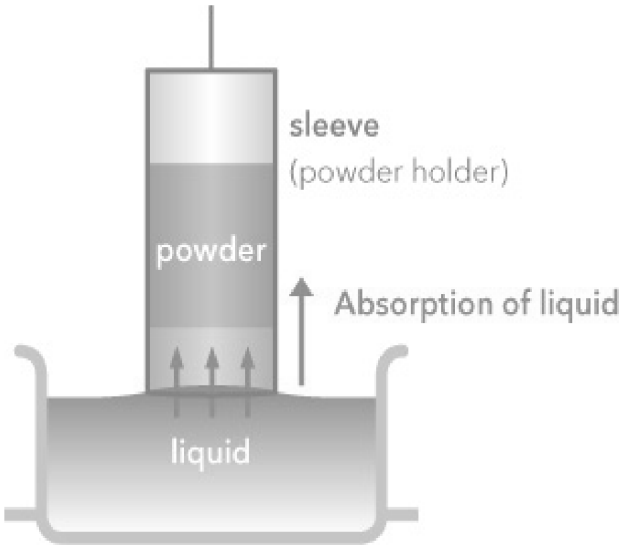


Rysunek 16 Szkic energii swobodnej Gibbsa idealnych i rzeczywistych układów zwilżających w funkcji pozornego kąta zwilżania. Energia swobodna układu zwilżającego pomiędzy idealną powierzchnią stałą, wodą i gazem [106]

4.1.2. Metoda wzniesienia kapilarnego

Do określenia zwilżalności wewnątrz ścianek porów stasuje się technikę wzniesienia kapilarnego, opartą na zjawisku włoskowatości, czyli wznoszenia się cieczy w kapilarze, wskutek napięcia powierzchniowego na granicy faz ciecz-gaz. Podobnie jak w przypadku kropli siedzącej, penetracja kropli następuje w matrycach. Metoda polega na wchłonięciu małej kropli płynu umieszczonej na wyprasce. Jednym z wariantów metody wzniesienia kapilarnego jest idea oparta na zmodyfikowanym równaniu Washburna, w której płyn penetruje pory i jest monitorowany w funkcji czasu, a kwadrat masy m^2 wykreśla się w funkcji czasu t w celu uzyskania informacji o kącie zwilżania [110].

Zaletami tej metody jest użycie niewielkiej ilości materiału, ponadto metoda ta pozwala uniknąć potencjalnego unoszenia się proszku i jest lepsza w przypadku cząstek niesferycznych i wielowymiarowych [111]. Do pomiaru wymagane jest określenie współczynnika geometrycznego wypełnienia przy użyciu referencyjnej cieczy dobrze zwilżającej np. alkany: heptan, oktan, nonan. Czas trwania pomiaru zależy od lepkości, ciecze o małej lepkości będą narastały krótko, podczas gdy ciecze o dużej lepkości będą rosły długo. Zestaw pomiarowy pokazano na rysunku 17. Uchwyt kapilary z małymi otworami jest zawieszony tak, aby była zanurzona w cieczy [112].



Rysunek 17 Schemat metody Washburna

Metoda wznoszenia kapilarnego opiera się na prawie Poiseuille'a związanym z przepływem cieczy przez kapilarę:

$$\nu = \frac{R_D^2}{8\eta}\frac{\Delta P}{l} \tag{7}$$

W równaniu (7), ν jest prędkością przepływu, R_D jest średnim promieniem hydrodynamicznym kapilary, η lepkością cieczy, l długością kapilary, a ΔP różnicą ciśnień. ΔP można wyrazić jako sumę ciśnienia kapilarnego i ciśnienia hydrostatycznego. W ten sposób równanie (7) może być zapisane jako:

$$\frac{dh}{dt} = \frac{R_D^2}{8\eta h}\left[\frac{2\gamma_l \cos\theta}{R_s} \pm \rho g h\right] \tag{8}$$

gdzie h jest wysokością słupa cieczy, g stałą grawitacyjną, R_s średnim statycznym promieniem kapilary, a ρ gęstością cieczy. Jeśli zaniedbamy ciśnienie hydrostatyczne i

przyjmiemy, że $r = R_d^2/R_s$, całkowanie równania (8) z warunkiem brzegowym h = 0, gdy t = 0 daje:

$$h^2 = \frac{r\gamma_l cos\theta}{2\eta} t \quad (9)$$

Równanie (9) nazywane jest równaniem Washburna. Materiał porowaty jest traktowany jako wiązka równoległych kapilar o stałym promieniu. Masa jest związana z wysokością w cylindrze przez równanie:

$$m = \varepsilon\rho\pi R^2 h \quad (10)$$

gdzie ε jest porowatością upakowanej kolumny proszkowej, ϱ gęstością cieczy, a R wewnętrznym promieniem rurki. Łącząc równania (9) i (10):

$$m^2 = (r\varepsilon^2(\pi R^2)^2)\frac{\rho^2\gamma_l cos\theta}{2\eta} t \quad (11)$$

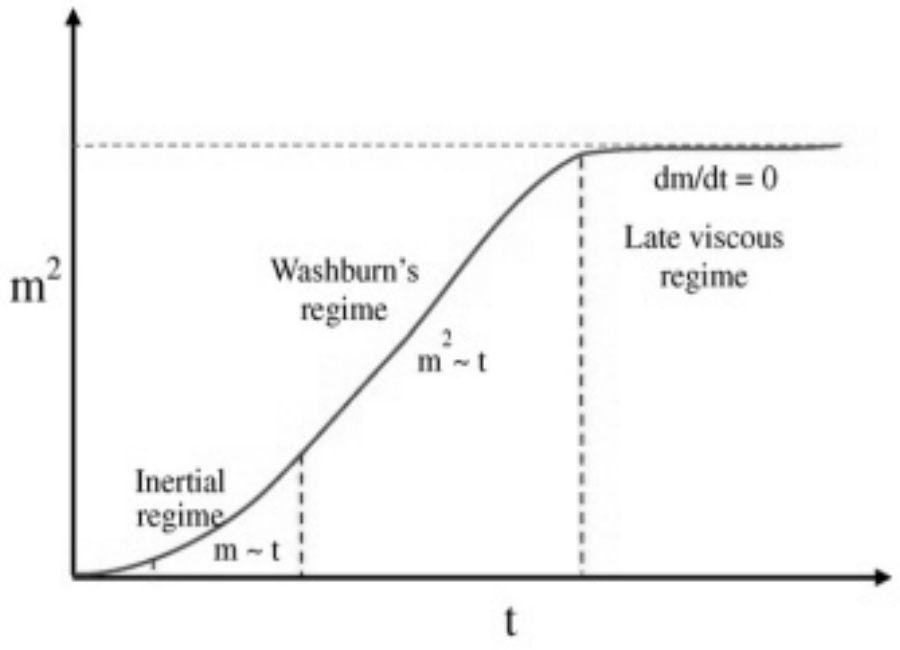
Które prowadzi do:

$$m^2 = c\frac{\rho^2\gamma_l cos\theta}{2\eta} \quad (12)$$

Równanie (12) jest często określane jako zmodyfikowane równanie Washburna. Wartość c jest współczynnikiem geometrycznym, który jest stały tak długo, jak upakowanie oraz rozmiar cząstek pozostają takie same [113]. Musi on być określony eksperymentalnie dla każdego rodzaju upakowania i materiału. Precyzyjne i dokładne określenie stałej c ma kluczowe znaczenie dla prawidłowego zastosowania równania Washburna. W praktyce, aby wyznaczyć stałą C, pomiar należy najpierw wykonać przy użyciu całkowicie zwilżającej cieczy, takiej jak heksan, heptan lub oktan. Kąt zwilżania można zatem przyjąć jako zero ($cos\theta = 1$), a stałą C można obliczyć, jeśli znane są właściwości cieczy. Po zdefiniowaniu stałej materiałowej można wykonać pomiar kąta zwilżania z cieczą będącą przedmiotem zainteresowania. Metoda pakowania matryc porowatych musi być powtarzalna i dokładnie kontrolowana, ponieważ nie jest możliwe zmierzenie

stałej materiałowej, a następnie ponowne użycie tego samego materiału do rzeczywistego pomiaru kąta zwilżania.

Na rysunku 18 przedstawiono typową krzywą zwilżalności matryc porowatych, czyli wykres kwadratu masy m^2 w funkcji czasu t. W eksperymencie obserwujemy trzy odrębne etapy: etap 1 jest zdominowany przez siły bezwładności i ma zależność $m^2 – t$; etap 2 to reżim Washburna pokazujący liniowy m^2 - t; oraz etap 3 lub późniejszy reżim lepkości, w którym dominują efekty grawitacyjne, a przyrost masy zbliża się do zera.



Rysunek 18 Krzywa m2 w funkcji t eksperymentu w wariancie Washburna [114]

Dwa główne wymagania WCR to:

- Matryce porowate powinny być pakowane w możliwie identyczny sposób w kilku tubach.
- Niezbędna jest ciecz zwilżająca, aby uzyskać współczynnik geometryczny upakowanego proszek. Jeśli upakowanie nie jest jednolite lub proszki nie mogą być prawidłowo upakowane, podczas penetracji cieczy może dojść do lokalnego tworzenia się kanałów lub zapadania się proszków, co prowadzi do nieuzasadnionych wartości kąta zwilżania. Podobnie nierównomierne upakowanie prowadziłoby do zmian efektywnej wielkości porów w różnych punktach złoża proszku, co utrudniałoby uzyskanie zamierzonych wartości kąta zwilżania. Ponadto metody nie można stosować w przypadku proszków, które

mają kąt zwilżania większy niż 90°, są one spęczniałe pod wpływem cieczy lub zawierają pory wewnętrzne.

4.2. Gęstość i lepkość

Pomiary gęstości i lepkości są niezbędne do określenia kąta zwilżania cieczy w nanoporach węglowych oraz krzemionkowych.

Gęstość (d) jest wielkością fizyczną, która określa jaka masa substancji (m) przypada na jednostkę objętości (V):

$$d = \frac{m}{V} \tag{13}$$

W przypadku cieczy gęstość jest mocno zależna od temperatury. W wyniku wzrostu temperatury zmienia się energia kinetyczna cząsteczek, a tym samym ich zdolność do przemieszczania się i przechodzenia do fazy gazowej lub stałej. Do pomiarów gęstości wykorzystano gęstościomierz oscylacyjny, który mierzy częstotliwość drgań oscylatora o stałej pojemności wypełnionego cieczą, lub oscylatora zanurzonego w tej cieczy. Metoda pomiaru gęstości polega na wzbudzeniu czujnika do jednoczesnej oscylacji z podstawową częstotliwością rezonansową i jej stałymi harmonicznymi. Mierzona jest charakterystyka oscylacji za pomocą zintegrowanego oscylatora wzorcowego. Oscylator wzorcowy jest umieszczony w pobliżu styku cieplnego oscylacyjnego czujnika w postaci U-rurki. Im większa masa próbki, tym niższa częstotliwość. Zmierzona wartość częstotliwości zostaje przekonwertowana w wartość gęstości.

Lepkość cieczy (lub gazu) określa się jako tarcie wewnętrzne między cząsteczkami; takie tarcie przeciwstawia się powstawaniu różnic prędkości w płynie. Lepkość jest ważną właściwością fizyczną płynu, która dostarcza informacji o interakcjach molekularnych zachowania płynu w warunkach przepływu. Do pomiaru jej służą lepkościomierze (wiskozymetry).

Wiskozymetr kapilarny wyznacza lepkość kinematyczną na podstawie prędkości przepływu cieczy przez kalibrowaną kapilarę w ściśle określonych warunkach pomiarowych. Napełniona badanym roztworem U-rurka zasysa ciecz do lewej części komory i mierzy czas przemieszczania się menisku między kreskami kapilary. Wartość lepkości kinematycznej otrzymuje się mnożąc czas przepływu t przez stałą kapilary K. Pomiar lepkości dynamicznej jest przeliczany automatycznie [115].

Metoda pomiaru oparta jest na prawie Poiseuille'a, zgodnie z którym objętość cieczy (V) przepływająca w czasie (t) przez kapilarę o promieniu (R) i długości (l) pod wpływem różnicy ciśnień (Δp) wynosi:

$$V = \frac{\Pi R^4 \Delta p t}{8 \eta l} \tag{14}$$

Zakłada się przy tym, że:

- badana ciecz jest nieściśliwa
- przepływ jest laminarny
- warstwa poruszająca się w osi kapilary ma prędkość największą, prędkość pozostałych warstw kapilary zmienia się malejąco do zera (dla warstwy przylegającej bezpośrednio do ścianki)
- poszczególne warstwy poruszają się ruchem jednostajnym
- przepływ cieczy następuje na skutek istnienia różnicy ciśnień na obu końcach kapilary.

W wiskozymetrze ciecz przepływa przez kapilarę pod wpływem różnicy ciśnień hydrostatycznych w obu ramionach U-rurki, czyli:

$$\Delta p = (h_1 - h_2) d g \tag{15}$$

(h_1-h_2) - różnica poziomów cieczy w obu ramionach, d - gęstość cieczy, g – przyspieszenie ziemskie [116-117].

Lepkość dynamiczna lub bezwzględna definiuje się jako naprężenie ścinające podzielone przez szybkość odkształcenia ścinającego. Jest ono stałe dla danego płynu w stałej temperaturze [118]. Temperaturową zależność lepkości wyraża energia aktywacji przepływu. Przybliżony model aktywności kinetycznej w chemii został opracowany w ogólnej formie przez Svante A. Arrheniusa, który wprowadził "stałą aktywacji" [119]. Zależność Arrheniusa w postaci funkcji dopasowania η(T) opisuje zmianę lepkości zarówno dla rosnących, jak i malejących temperatur. W określonej temperaturze energia aktywacji przepływu opisuje energię potrzebną cząsteczkom do wprawienia ich w ruch wbrew siłom tarcia sąsiednich cząsteczek. Wymaga to przekroczenia wewnętrznego

oporu przepływu, specyficznej dla materiału bariery energetycznej – energii aktywacji [120].

Przepływ cieczy to proces kinetyczny, który można rozważać jako mechanizm przemieszczania się cząsteczek cieczy. Każda cząsteczka cieczy zajmuje pewne położenie równowagi i nie może przejść do innego położenia równowagi, dopóki nie uzyska określonej energii tj. energii aktywacji lepkości. Cząsteczki, które mają energię większą od tej wartości, mogą się poruszać między cząsteczkami sąsiednimi. Liczba tych cząsteczek jest określona wzorem Maxwella–Boltzmanna. Przy założeniu takiego mechanizmu temperaturową zależność lepkości wyraża wzór [121]:

$$k = Ae^{-\frac{E_a}{RT}} \tag{16}$$

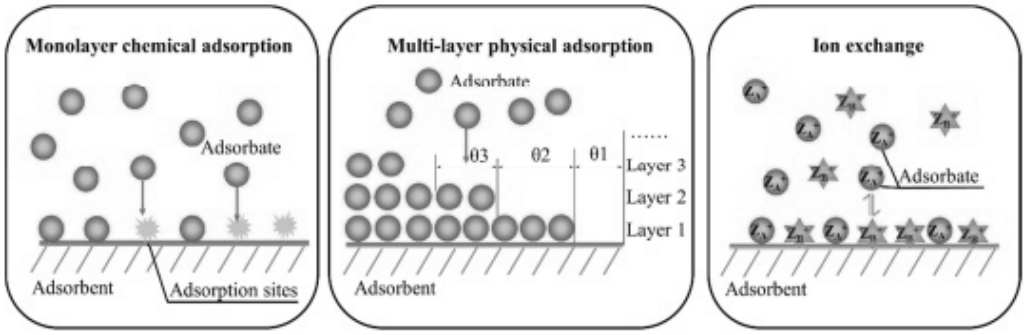
E_a– energia aktywacji lepkości;
R – stała gazowa;
T – temperatura;
K – stała szybkości reakcji;
A – stała dla danej reakcji.

4.3.Izoterma adsorpcyjna

Pomiary izotermy adsorpcyjnej zostały wykonane w celu wyznaczenia rozmiarów porów węglowych oraz ich objętości. Charakterystyka nanorurek węglowych jest niezbędna do wyliczenia ilości zaadsorbowanego roztworu antybiotyku w badaniach mikrobiologicznych.

Proces adsorpcji jest zjawiskiem powierzchniowym, podczas którego adsorbaty gromadzą się na powierzchni adsorbentu. Można wyróżnić różne rodzaje mechanizmów adsorpcyjnych tj. adsorpcja chemiczna, która jest związana z tworzeniem wiązań chemicznych, adsorpcję fizyczną związaną z siłą van der Waalsa oraz wymianę jonową przedstawionych na rysunku 19.

Podczas sorpcji cząsteczki gazu są wychwytywane przez pory adsorbentów. Klasyfikacja wyróżnia 3 rodzaje porów: makropory (>50 nm), mezopory (2–50 nm) i mikropory (<2 nm).

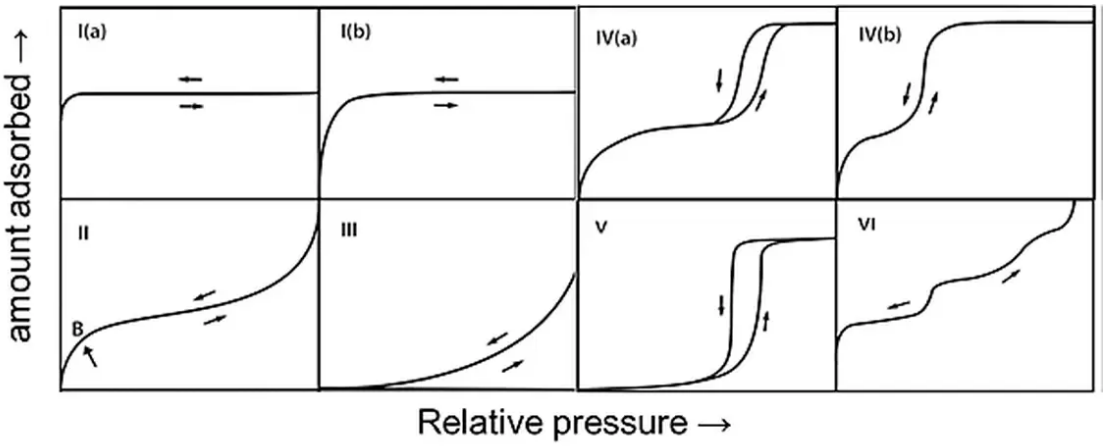


Rysunek 19 Możliwe mechanizmy adsorpcyjne: a) chemiczna adsorpcja na powierzchni, b) fizyczna adsorpcja na powierzchni, c) wymiana jonowa między adsorbatem, a adsorbentem [122]

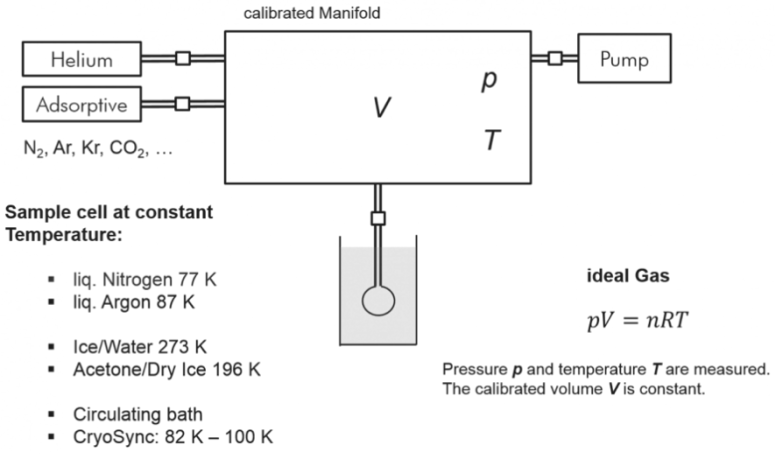
Takie pory występują naturalnie lub mogą być sfunkcjonalizowane chemicznie/termicznie w celu utworzenia pożądanych heterogenicznych powierzchni. Izotermy dostarczają danych projektowych potrzebnych do skonfigurowania cykli procesów opartych na sorpcji [122]. Izoterma adsorpcji określa zależność między ciśnieniem a ilością adsorbowanej substancji w stałej temperaturze (rysunek 20). Oś pozioma to ciśnienie względne (P/P0), które jest ciśnieniem równowagi podzielonym przez ciśnienie nasycenia. Ciśnienie względne może przyjmować wartości w zakresie od 0 do 1, dla $P/P_0 = 1$ zachodzi zjawisko kondensacji. W oparciu o kształty izoterm Międzynarodowa Unia Chemii Czystej i Stosowanej (IUPAC) podzieliła znane izotermy adsorpcji na sześć typów przedstawionych na rysunku 20. Rodzaj izotermy adsorpcji zależy od wielkości porów i charakteru powierzchni materiału [123].

Analiza adsorpcji gazu jest powszechną metodą określania charakterystyki powierzchni adsorbentów. Na tej podstawie można określić powierzchnię właściwą, rozkład kapilarny (z krzywej desorpcji), porowatość, rozkład wielkości porów i całkowitą objętość porów. Może być stosowana do charakterystyki porów o wielkości od około 0,3 do 500 nm. Określenie powierzchni właściwej układów porowatych i drobno zdyspergowanych ciał stałych jest możliwe dzięki wykorzystaniu metody adsorpcji gazu. Jeśli gaz wchodzi w kontakt z materiałem stałym, to część jego cząsteczek jest adsorbowana na powierzchni tego materiału, gdzie najmniejsze pory są najpierw wypełniane. Wraz ze wzrostem ciśnienia następuje sukcesywne wypełnianie większych porów. Ilość zaadsorbowanego gazu zależy od ciśnienia, temperatury, rodzaju i wielkości powierzchni. Po wybraniu gazu pomiarowego i temperatury, powierzchnię właściwą materiału stałego można obliczyć na podstawie izotermy adsorpcji. Ze względów

praktycznych jako metodę wyznaczania powierzchni właściwej przyjęto adsorpcję azotu w temperaturze 77 K (rysunek 21) [124].



Rysunek 20 I(a) : Materiały tylko mikroporowate (np. Zeolit), I(b) : Materiały mikroporowate (np. węgiel aktywny),), II: Materiały nieporowate (np. nieporowata krzemionka i proszek magnetyczny), III: Materiały nieporowate i materiały, które mają słabą interakcję między adsorbatem a adsorbentem (np. grafit/woda), IV(a) : Materiały mezoporowate (np. mezoporowata krzemionka i tlenek glinu), IV(b) : Materiały mezoporowate o średnicy porów mniejszej niż 4 nm (np. MCM-41), V: Materiały porowate i materiały o słabej interakcji między adsorbatem a adsorbentem (np. węgiel aktywny/woda), VI: Jednorodne materiały powierzchniowe (np. Grafit/Kr i NaCl/Kr) [123]



Rysunek 21 Schemat układu pomiarowego adsorpcji gazu

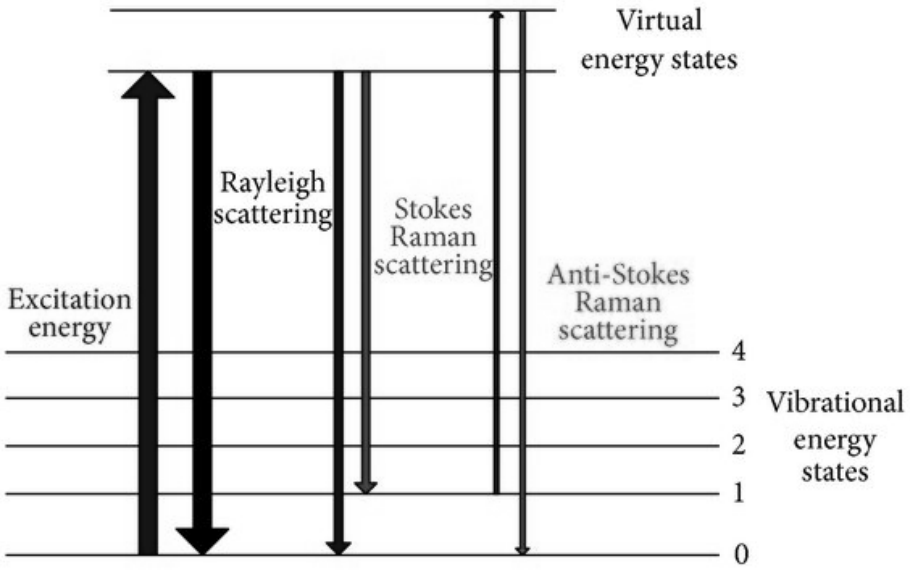
W oparciu o różne modele oceny wykonywane są obliczenia w celu określenia objętości porów lub rozkładu wielkości porów. Tradycyjne modele to np. metoda BJH do analizy mezoporów, reguła Gurvicha do obliczeń całkowitej objętości porów lub równania Dubinina do analizy mikroporów. Najnowocześniejsze modele to tak zwane modele DFT (teoria funkcjonalna gęstości) i symulacje Monte-Carlo [125 -126].

4.4.Spektroskopia Ramana

Spektroskopia Ramana pozwalała określić charakterystyki struktury porów węglowych, ich charakter elektronowy oraz wpływ na te cechy adsorpcji roztworu antybiotyku. Spektroskopia Ramana to technika analizy chemicznej, która dostarcza szczegółowych informacji na temat struktury chemicznej, fazy i polimorfii, krystaliczności oraz interakcji molekularnych. Jest to technika rozpraszania światła, w której cząsteczka rozprasza światło padające ze źródła światła laserowego o dużej intensywności. Większość rozproszonego światła ma tę samą długość fali co źródło lasera i jest nazywane rozproszeniem Rayleigha. W przypadku rozpraszania Rayleigha nie dochodzi do wymiany energii między cząsteczką a fotonem, foton rozpraszający ma taką samą częstotliwość jak światło lasera. Jednak niewielka ilość światła (zwykle 0,0000001%) jest rozpraszana przy różnych długościach fal. Rozpraszanie Ramana jest wynikiem nieelastycznego zderzenia cząsteczki z padającymi fotonami emitowanymi przez laser. Następuje wymiana energii między fotonem padającym, a fotonem rozpraszanym, który zmienia swoją częstotliwość. Jeśli padający foton lasera traci energię i rozprasza foton o niższej częstotliwości to jest to rozpraszanie Stokesa, natomiast jeśli zyskuje energię i rozprasza foton o wyższej częstotliwości nazywamy rozpraszaniem anty-Stokesa [127]. Na rysunku 22 przedstawiono schemat wymiany energii dla wyżej wspomnianego rozpraszania Rayleigha i Ramana. Grubość strzałki reprezentuje natężenie sygnału rozpraszania.

Mechanika kwantowa wykazała, że energia cząsteczki gazu nie jest ciągła, a poziom energii jest dyskretny. Podczas zderzenia fotonu i cząsteczki z wymianą energii, poziom energii wibracji i rotacji niektórych cząsteczek zmienia się, a energia cząsteczki jest równa różnicy energii między fotonem rozpraszającym a fotonem padającym. Ponieważ różne cząsteczki mają różny poziom energii wibracji i rotacji, przesunięcia częstotliwości rozpraszania Ramana są różne. To przesunięcie częstotliwości może być wykorzystane do identyfikacji różnych wiązań. Sygnał rozpraszania Ramana jest proporcjonalny do gęstości liczbowej zarejestrowanych wiązań. Widmo Ramana zawiera wiele pików, pokazujących intensywność i położenie długości fali rozproszonego światła Ramana. Każdy pik odpowiada konkretnym wibracjom wiązań molekularnych, w tym poszczególnym wiązaniom, takim jak C-C, C=C, N-O, C-H oraz grupom wiązań.

Spektroskopia Ramana bada strukturę chemiczną materiału i dostarcza informacji na temat struktury chemicznej, fazy i polimorfii, wewnętrznego stresu/odkształcenia oraz zanieczyszczenia.



Rysunek 22 Proces rozpraszania Rayleigha (światło padające na cząsteczkę nie zmienia długości fali) i Ramana. Linie Stokesa – padający foton traci energię i rozprasza foton o niższej częstotliwości. Linie Antystokesa – padający foton zyskuje energię i rozprasza foton o wyższej częstotliwości [128]

Zazwyczaj widmo Ramana jest wyraźnym chemicznym odciskiem palca dla konkretnej cząsteczki lub materiału i może być wykorzystane do bardzo szybkiej identyfikacji materiału lub odróżnienia go od innych [129]. W badaniach roztworów zwykle stosuje się procedurę kalibracji w celu określenia zależności pomiędzy intensywnością piku a stężeniem, a następnie można wykonać pomiary w celu analizy stężenia [130 - 131].

Widmo Ramana dostarcza ważnych informacji o jednościennych nanorurkach węglowych poprzez analizę pików. Rysunek 23 przedstawia widma Ramana kilku materiałów związanych z grafenem. Wszystkie te materiały mają wspólną strukturę atomową, złożone głównie z atomów węgla połączonych ze sobą wiązaniami sp^2. Typowe pasma nanorurek węglowych to RBM (Radial Breathing Mode), pasmo D i pasmo G, które informują o następujących właściwościach: średnica, liczba defektów, stopień funkcjonalizacji i rodzaj przewodnictwa badanego materiału [132-134].

Nanorurki węglowe mają unikalny obszar, który nie występuje w żadnej innej strukturze związanej z grafenem, jest to obszar RBM. Ten tryb wibracyjny obserwujemy

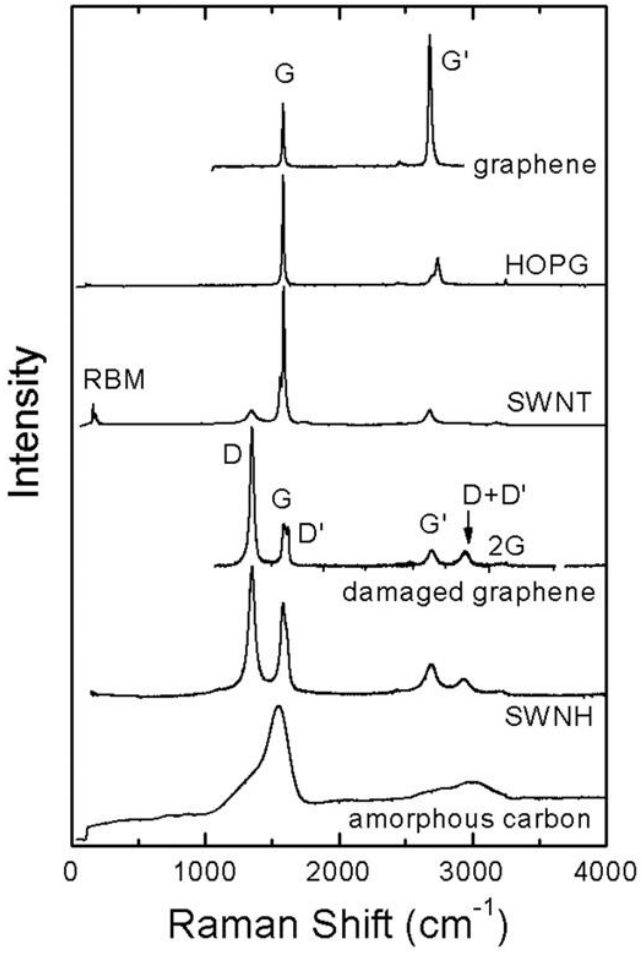
w widmie ze względu na cylindryczny kształt nanorurki, w którym promień nanorurki oscyluje (podobne do "oddychania" rurki). Analiza piku RBM pozwala obliczyć średnicę nanorurek w rezonansie z określoną energią lasera [136] z równania:

$$\omega_{RBM} = \frac{234}{d} \tag{17}$$

, gdzie:

ω jest częstotliwością piku RBM,

d jest średnicą nanorurek.

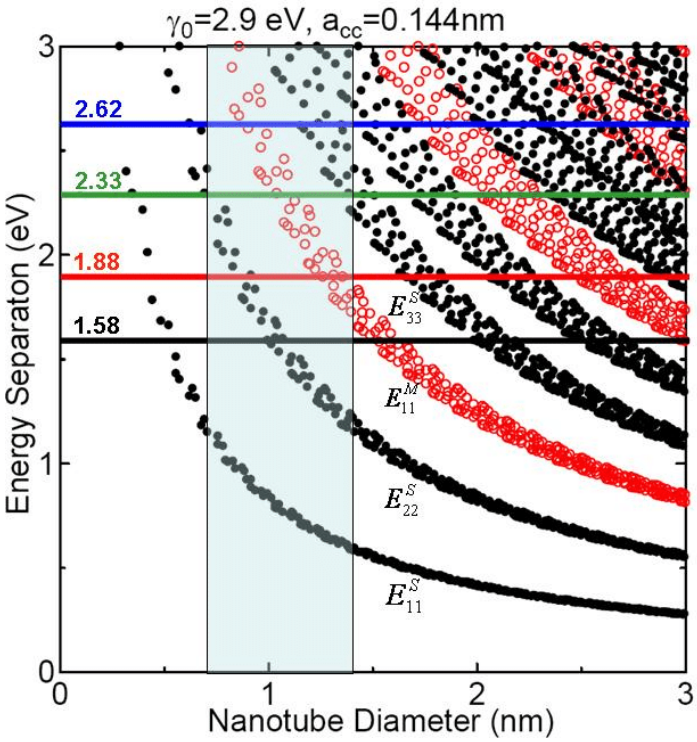


Rysunek 23 Przykładowe widma Ramana: a) czystego grafenu, b) wysoko zorientowanego grafitu pyrolitycznego (HOPG), c) jednościennych nanorurek węglowych (SWCNT), d) grafenu uszkodzonego, e) jednościennych nanorurek węglowych (SWNH) i f) amorficznego węgla [135]

Pasmo G jest efektem rozciągania wiązań C-C w sieci heksagonalnej (rys. 23). Pasmo G odpowiada stopniowi uporządkowania sieci węglowej nanorurek, występuje na widmie przy częstotliwości ~1580 cm^{-1}. W przypadku nanorurek jednościennych kształt

pasma G dostarcza dodatkowo informacji o charakterze przewodnictwa nanorurek, czyli pozwala stwierdzić czy dane nanorurki są metaliczne czy półprzewodnikowe.

Pasmo informujące o występowaniu defektów w sieci węglowej nanorurki to pasmo nieuporządkowania D (ang.: Disorder). Pasmo D odpowiada częstotliwości ω_D równej ~1350 cm^{-1} i charakteryzuje się większą intensywnością dla nanorurek wielościennych, niż jednościennych. Gdy struktura jest zbyt uszkodzona, tak jak w przypadku węgla amorficznego, pasma D i G nakładają się na siebie poprzez poszerzenie. W niektórych przypadkach widmo wykazuje wiele pików pochodzących od poszczególnych fononów, które są związane z procesami podwójnego rezonansu Ramana drugiego rzędu. Te dodatkowe piki są widoczne w widmie Ramana jako nadtony pochodzące od aktywnych modów podczerwonych (M) lub wynikające z podwójnego rezonansu (iTOLA) [137]. Do określenia struktury elektronowej oraz wibracyjnej nanorurek węglowych można wykorzystać wykres Kataury, który przedstawia zależność energii przerw pasmowych nanorurki w stosunku do jej średnicy. Na podstawie zależności Kataury można określić właściwości półprzewodnikowe (S) i metaliczne (M) SWCNT. Wykres Kataury pokazuje, że nanorurki węglowe mogą być półprzewodnikowe lub metaliczne w zależności od ich średnicy (rysunek 24) [138].



Rysunek 24 Wykres Kataura. Czarne punkty to nanorurki półprzewodnikowe, a czerwone punkty to nanorurki metaliczne. Cztery poziome linie odpowiadają energii leserów: 1,58 eV, 1,88 eV, 23,33 eV, 2,62 eV [138]

4.5.Spektroskopia podczerwieni

Adsorpcyjne oddziaływanie ciprofloksacyny z nanorurkami węglowymi badano za pomocą spektroskopii podczerwieni. Metoda ta pozwala analizować zmiany zachodzące w układach spowodowane zamknięciem w ściankach węglowych.

Spektroskopia w podczerwieni (IR) mierzy widmo wibracyjne próbki, przepuszczając przez nią promieniowanie podczerwone i rejestrując, które długości fal zostały zaabsorbowane i w jakim stopniu. Ilość pochłoniętej energii jest funkcją liczby obecnych cząsteczek, spektroskopia IR dostarcza zarówno informacji jakościowych, jak i ilościowych. Ponieważ widmo IR związku chemicznego jest jego najbardziej charakterystyczną właściwością fizyczną, spektroskopia IR znajduje szerokie zastosowanie w identyfikacji substancji i ich odpowiednich stężeń.

Promieniowanie podczerwone może być absorbowane tylko przez cząsteczki, których moment dipolowy ulega całkowitej zmianie podczas ruchów wibracyjnych i obrotowych. Cząsteczki takie jak O2, N2 lub Cl2, nie są aktywne w podczerwieni, ponieważ nie następuje żadna wypadkowa zmiana momentu dipolowego. Absorpcja promieniowania podczerwonego powoduje zmiany zarówno energii rotacyjnej jak i oscylacyjnej molekuły. Energia poziomu oscylacyjnego i rotacyjnego jest całkowitą energią cząsteczki, w efekcie obserwujemy różne rodzaje ruchów molekuły. Pierwszy z nich dotyczy sprężystego drgania atomów połączonych wiązaniami chemicznymi wokół położenia równowagi, drugi natomiast przejawia się wirowaniem molekuły wokół własnej osi. Aby doszło do zmiany energii rotacyjnej i/lub oscylacyjnej (wzbudzenia odpowiedniego poziomu energii) cząsteczka musi absorbować promieniowanie o odpowiedniej długości fali (energii kwantów). Absorpcja kwantu promieniowania z zakresu 4000 - 400 cm^{-1} skutkuje przejściem cząsteczki na wyższy poziom energii oscylacyjnej (jeżeli częstość promieniowania odpowiada różnicy energii między dwoma poziomami oscylacyjnymi), któremu równocześnie towarzyszy kilka zmian energii rotacyjnej. Takie wzbudzenie jest rejestrowane w postaci pasm widma oscylacyjno – rotacyjnego przez detektor spektroskopii podczerwieni [139].

Rodzaje drgań wykonywanych przez cząsteczkę klasyfikuje się w zależności od tego, czy w drganiu dominuje zmiana długości wiązań, czy też zmiana kątów między wiązaniami. Rozróżniamy drgania rozciągające i drgania zginające (deformacyjne). Na drgania deformacyjne składają się drgania wahadłowe, skręcające, kołyszące i nożycowe. Stosuje się także podział drgań na drgania w płaszczyźnie i poza płaszczyznę molekuły

lub grupy atomów. Ważną cechą drgań normalnych jest ich symetria. Kierując się tym kryterium drgania można podzielić na symetryczne i asymetryczne względem elementów symetrii cząsteczki lub grupy atomów. Drgania deformacyjne dotyczyć mogą nie tylko zmiany kątów pomiędzy wiązaniami ze wspólnym atomem, ale również przemieszczenia pewnej grupy atomów w stosunku do pozostałej części cząsteczki, na przykład drgania grupy metylenowej. Jeżeli pewna grupa atomów w cząsteczce wieloatomowej odznacza się wyraźnie większą amplitudą wychyleń w stosunku do pozostałych atomów, wówczas występuje drganie grupowe. Przy pomocy spektroskopii IR można ustalić jakie grupy funkcyjne obecne są w analizowanym związku [140]. Większość pików w spektrum podczerwieni jest charakterystyczna tylko dla danej cząsteczki, a ich położenie nie zależy od rodzaju grup funkcyjnych.

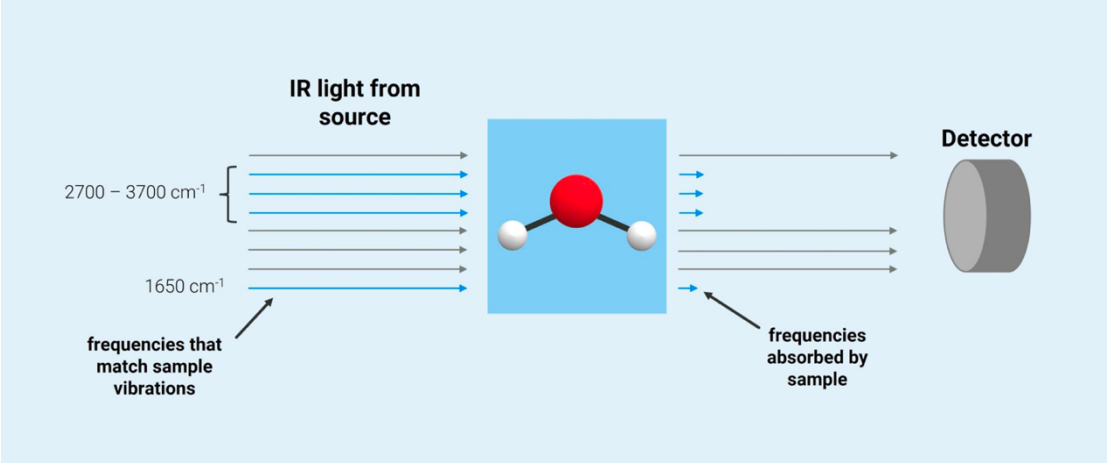
Różne rodzaje wibracji i rotacji absorbują przy różnych częstotliwościach w obszarze podczerwieni, co skutkuje unikalnymi właściwościami widmowymi dla różnych grup molekuł. Większość identyfikacji związków organicznych można przeprowadzić w zakresie średniej podczerwieni [141]. Na rysunku 25 przedstawiono podstawowe oprzyrządowanie do spektroskopii IR, które obejmuje źródło promieniowania, selektor długości fali, pojemnik na próbkę, przetwornik (detektor) i procesor sygnałowy.

Przyrządy FT-IR wykorzystują interferometr Michelsona do modulowania padającego promieniowania optycznego za pomocą dwóch prostopadłych do siebie zwierciadeł (jednego nieruchomego i jednego ruchomego) oraz rozdzielacza wiązki umieszczonego na drodze przychodzącego promieniowania. Wiązki najpierw rozdzielają się, a następnie ponownie łączą, ulegając w ten sposób interferencji zależnej od różnicy długości ścieżek. Otrzymany interferogram jest następnie dekodowany za pomocą transformaty Fouriera, tworząc w ten sposób widmo promieniowania docelowego [142].

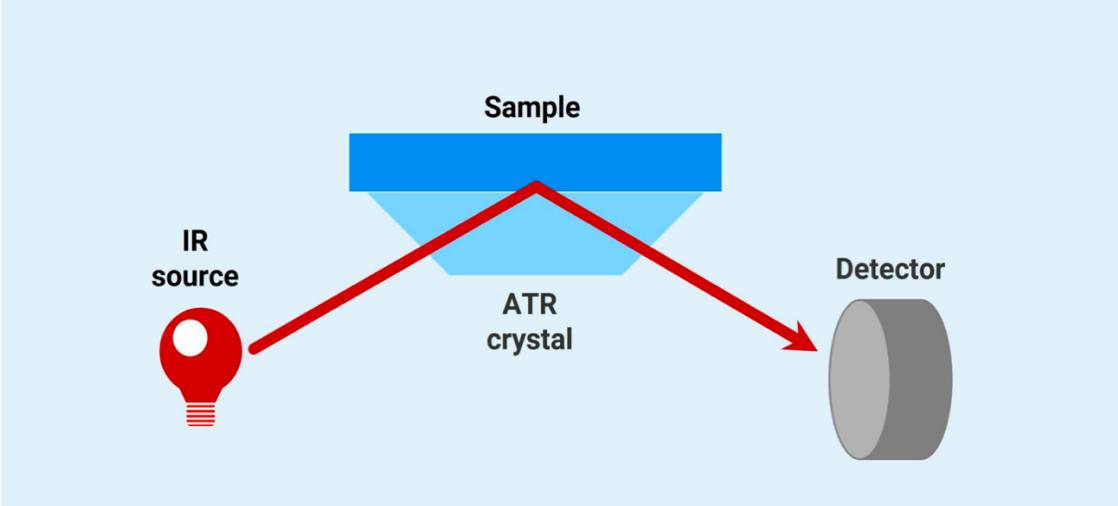
ATR (ang. Attenuated Total Reflectance) jest obecnie główną techniką pomiarową, która wytwarza widma o bardzo wysokiej jakości, niezależnie od analizowanej próbki. W eksperymencie ATR, próbka jest umieszczana na krysztale, światło podczerwone jest kierowane na kryształ, gdzie jest częściowo pochłaniane przez próbkę. Następnie światło podczerwone ponownie przechodzi przez kryształ i zostaje zarejestrowane przez układ pomiarowy. Światło oddziałuje tylko z pierwszymi warstwami w próbce o głębokości kilku mikronów. Ponieważ światło podczerwone nie przechodzi całkowicie przez próbkę, jak w przypadku metody transmisyjnej, do utworzenia widma IR za pomocą ATR wymagana jest niewielka ilość próbki. ATR i

metoda transmisyjna wytwarzają nieco inne widma ze względu na różnice między tymi dwiema technikami. Te różnice widmowe wynikają ze sposobu, w jaki różne długości fal światła podczerwonego oddziałują z próbką, gdy światło jest częściowo pochłaniane w metodzie ATR [143]. Powszechną metodą interpretacji widm IR jest uwzględnienie dwóch obszarów: obszaru częstotliwości grupy funkcyjnej (3600–1200 cm^{-1}) i obszaru tzw. „odcisku palca" molekuły (1200–600 cm^{-1}). Połączenie interpretacji regionu grupy funkcyjnej i porównanie obszaru odcisku palca znanego z bibliotek widmowych dostarcza w wielu przypadkach wystarczających dowodów do właściwej identyfikacji związku.

Obszar grupy funkcyjnej dostarcza informacji o grupach funkcyjnych w cząsteczce na podstawie częstotliwości absorbancji. Typowe grupy o charakterystycznych absorbancjach zostały przedstawione w tabeli 2 i obejmują



Rysunek 25 Zasada absorpcji w podczerwieni wyjaśniona na przykładzie cząsteczki wody [141]



Rysunek 26 Schemat działania FT-IR ATR [140]

aldehydy, ketony, estry, alkeny, alkiny, alkohole, aminy, amidy, kwasy karboksylowe, grupy nitrowe i nitryle [144].

Drgania, przypisane poszczególnym grupom funkcyjnym (charakterystyczne drgania grupowe widoczne w widmie) opisujemy matematycznie przy założeniu, że dwa związane atomy są prostymi oscylatorami harmonicznymi. Każdemu z nich odpowiada przypisanie częstości drgań wiązań, które jest obliczane za pomocą prawa Hooka [145]:

$$\nu = \frac{1}{2\pi}\sqrt{\frac{k}{\mu}} \tag{18}$$

Gdzie:

k – stała siły 5*10-5

μ – zredukowana masa

Wartości pików absorbowanych dla niektórych rodzajów wiązań przedstawione są w tabeli 2.

Tabela 2 Tablica przejść wibracyjnych cząsteczek stabilnych i przejściowych [144]

Wiązanie	**Rodzaj wiązania**	**Pik absorpcyjny (cm^{-1})**
C—H	alkylowe	1260, 1380, 2870, 2960, 1470, 2850, 2925, 3890
	winylowe	900, 2975, 3080, 3020, 900, 990, 670-700, 965, 800-840
	aromatyczne	3070, 700-750, 690-710, 750-800, 860-900, 800-860
	alkynowe	3300
	aldehydowe	2720, 2820

C═C	C═C	1600, 1650, 1645, 1655, 1660, 1675, 1670
	Z pierścieniem benzenowym	1625
	C═O	1600
	C═C (sp^2)	1640–1680
	aromatyczne C═C	1450, 1500, 1580, 1600
	C≡C	2100–2140, 2190–2260
C=O	aldehydowe/ketonowe	1720, 1685, 1750, 1775, 1725
	karboksylowe	1710, 1680-1690, 1735, 1760, 1820, 1800, 1650, 1550-1610
O─H	Alkohole, fenole	3610–3670, 3200–3400
	Kwasy karboksylowe	3500–3560, 3000
N─H	Aminy pierwszorzędowe	3400–3500, 1560–1640
	Aminy drugorzędowe	>3000
	Jony amonowe	2400–3200
C─O	Alkohole	1040–1060, ~1100, 1150–1200
	Fenole	1200
	Etery	1120, 1220–1260
	Kwasy karboksylowe	1250–1300

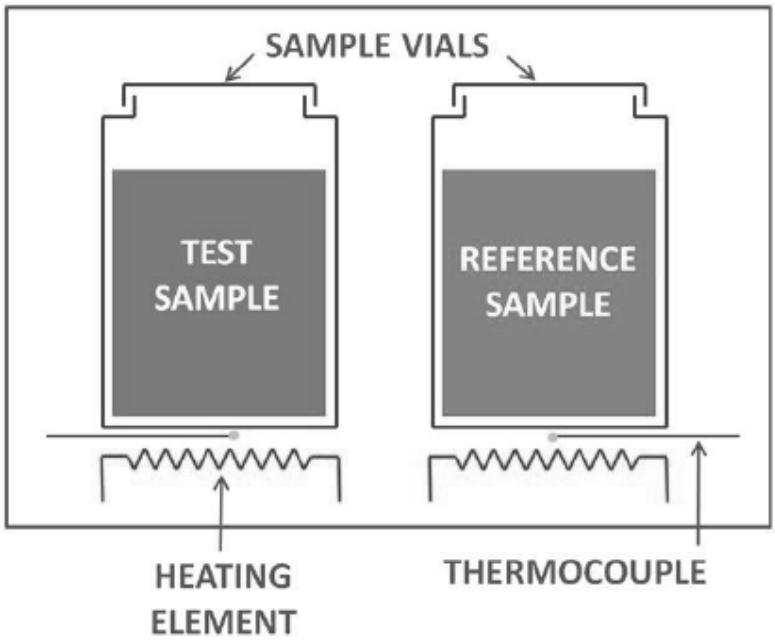
	Estry	1100–1300
C─N	Aminy alifatyczne	1020–1220
	C═N	1615–1700
	C≡N	2250
	R─N─C	2165–2110
	R─N═C═S	2140–1990
C─X	Fluoroalkany	1000–1100, 1100–1200
	Chloroalkany	540–760
	Bromoalkany	500–600
	Jodoalkany	500
N─O	Związki nitrowe	1540, 380, 1520, 1350
P─C	Związki fosfoorganiczne	1440-1460
P─O	Tlenek fosforu	1195-1250, 1250-1300

4.6.Skaningowa kalorymetria różnicowa (DSC)

Kalorymetria jest podstawową techniką pomiaru właściwości termicznych materiałów; pozwala bezpośrednio określić entalpię związaną z interesującym nas procesem termicznym [146 - [147]. Wśród różnych typów kalorymetrów popularny jest różnicowy kalorymetr skaningowy (DSC). Jest to urządzenie do analizy termicznej mierzące, jak zmieniają się właściwości fizyczne próbki wraz ze zmianą temperatury w funkcji czasu. Podczas zmiany temperatury DSC mierzy ilość ciepła, które jest

nadmiernie wydzielane lub pochłaniane przez próbkę w trakcie procesu na podstawie różnicy temperatur między próbką a materiałem kalibracyjnym. Kalorymetria jest szczególnie stosowana do monitorowania zmian przejść fazowych i reakcji biochemicznych [148].

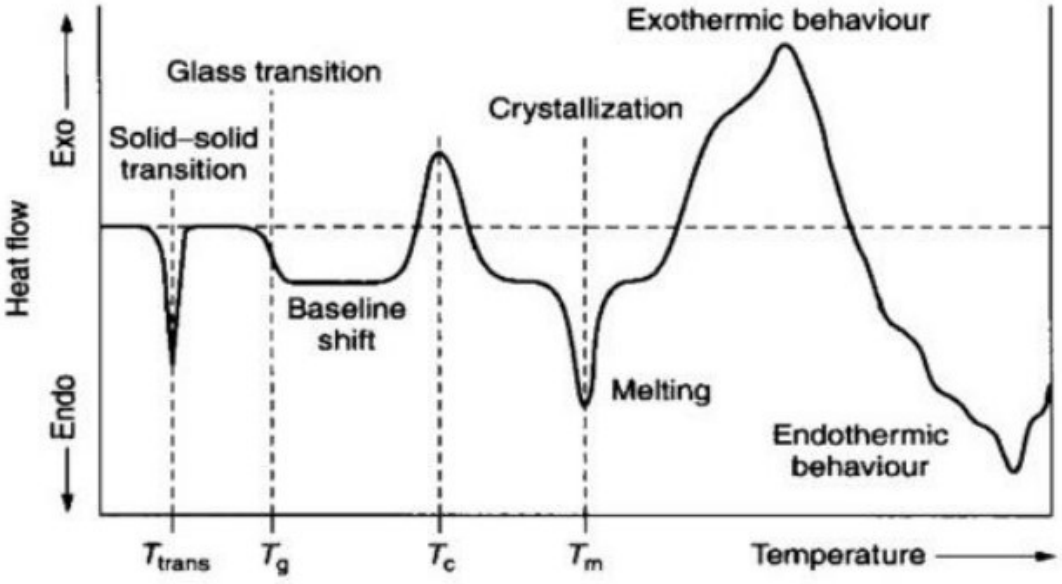
Podstawą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) jest pomiar różnicy strumienia cieplnego powstającego między cewką zawierającą badaną próbkę i cewką referencyjną w takich samych warunkach temperaturowych (rysunek 27). Urządzenie jest zaprojektowane tak, aby przy podgrzewaniu utrzymać obie próbki w tej samej temperaturze. Technika DSC opiera się na założeniu, że jeśli w badanym materiale zachodzą przemiany fizyczne podczas stopniowego ogrzewania, szybkość dostarczania ciepła do tej próbki będzie inna niż w przypadku materiału referencyjnego (w którym w danym zakresie temperatur nie będą zachodziły żadne przemiany). Jeżeli w badanej próbce zachodzą procesy egzotermiczne (np. krystalizacja), to szybkość dostarczania ciepła będzie mniejsza niż w materiale odniesienia. W przypadku reakcji endotermicznych (np. topnienie) szybkość ta będzie większa [149].



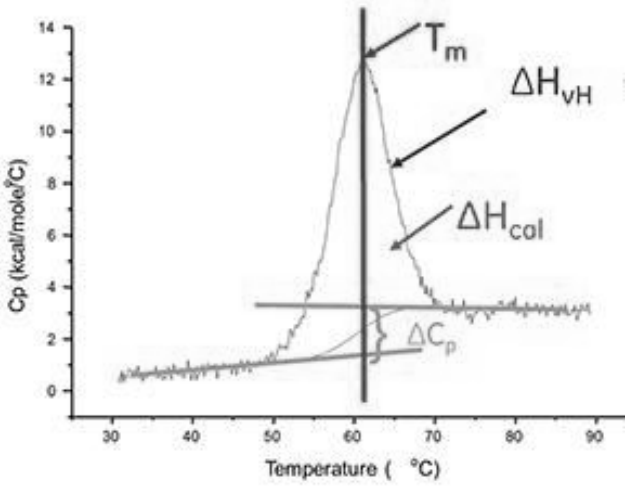
Rysunek 27 Schemat działania różnicowej kalorymetrii skaningowej [149]

W najprostszym przypadku różnicowa kalorymetria skaningowa umożliwia wyznaczenie temperatury przejścia fazowego (T_m), natomiast szczegółowa analiza danych pozwala na wyznaczenie wartości wielkości termodynamicznych charakteryzujących obserwowany proces, takich jak wartość pojemności cieplnej (ΔC_p) w funkcji temperatury, zmiana entalpii (ΔH), entropii (ΔS), czy energii swobodnej

Gibbsa (ΔG) [150-151]. Wynikiem pomiaru wykonanego za pomocą metody DSC jest termogram przedstawiający zależność mierzonej różnicy strumieni cieplnych od temperatury (rysunek 28 i 29). Ilość ciepła dostarczonego w celu wyrównania temperatury między próbkami obrazowana jest w postaci piku jako efekt cieplny danego procesu. Powierzchnia pod pikiem jest równa entalpii zachodzącej przemiany [152 - 153]. Rysunek 28 przedstawia procesy rejestrowane przez pomiar DSC tj. przejście ciało stałe - ciało stałe, krystalizację, topnienie, procesy endo- i egzotermiczne.



Rysunek 28 Skaningowa kalorymetria różnicowa. Przykładowa krzywa DSC dla różnych procesów termodynamicznych [153]

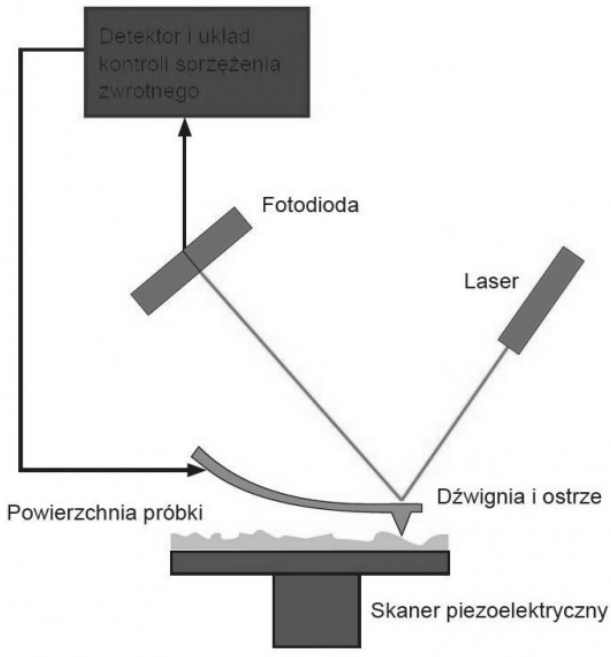


Rysunek 29 Analiza DSC. Wyznaczanie parametrów termodynamicznych z wykresu tj. temperatura przejścia fazowego (Tm), pojemność cieplna (ΔCp), zmiana entalpii (ΔH) [153]

4.7.Mikroskop sił atomowych – AFM

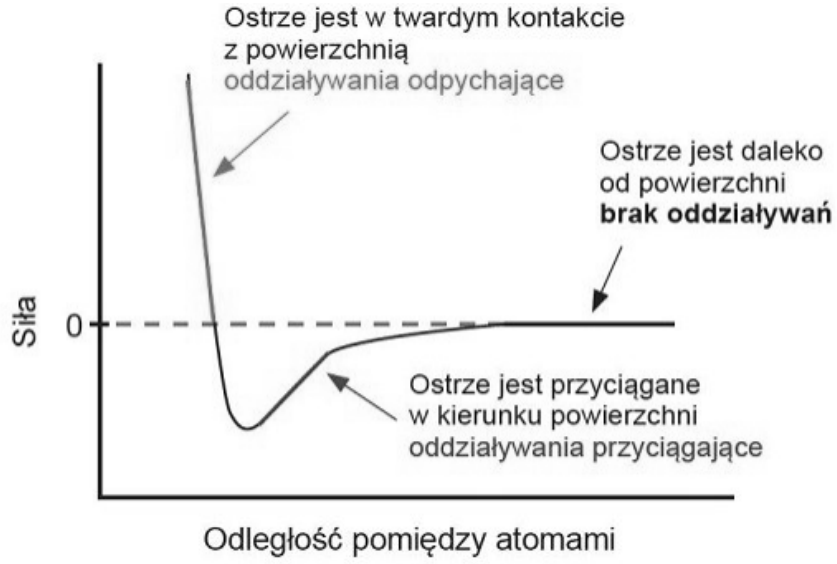
Mikroskop sił atomowych (AFM) jest potężnym narzędziem do badania właściwości powierzchni i struktury materiałów w skali nanometrycznej. AFM umożliwia pomiary morfologii geometrycznej, przyczepności, tarcia, zanieczyszczeń powierzchni, elastyczność, magnetyczność, czy też określa rozkład powierzchniowych ładunków elektrycznych [155].

Podstawą metody AFM (mikroskopii sił atomowych) jest pomiar ugięcia dźwigni sondy skanującej, na której końcu znajduje się ostrze pomiarowe (rysunek 30). Wygięcie belki jest przetwarzanie przez detektor (fotodiodę) na sygnał prądowy, który następnie służy do generacji obrazu próbki. Dlatego metodę AFM można stosować zarówno w badaniach powierzchni materiałów przewodzących prąd elektryczny, jak i nieprzewodzących. Obrazowana jest siła występująca między ostrzem, a atomami budującymi powierzchnię badanej próbki, która jest funkcją odległości między nimi. Obserwowane są siły przyciągania lub odpychania pomiędzy ostrzem a próbką, zależnie od trybu pracy mikroskopu. Mikroskopy sił atomowych umożliwiają obrazowanie powierzchni w trzech wymiarach z rozdzielczością sięgającą pojedynczych nanometrów [156]. Mikroskopia sił atomowych bada oddziaływania pomiędzy atomami badanej powierzchni, a atomami sondy (igły skanującej). Decydującą rolę w tych oddziaływaniach odgrywają siły culombowskie i van der Waalsa, które mają charakter

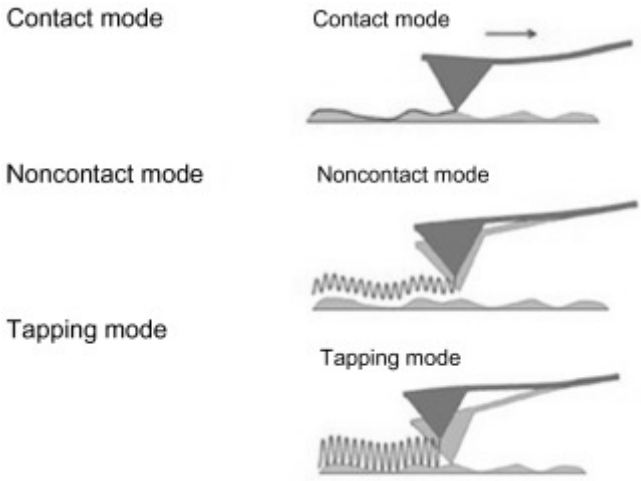


Rysunek 28 Schemat budowy mikroskopu sił atomowych [157]

przyciągający lub odpychający, zależnie od odległości (rysunek 31). Mikroskopy AFM badają próbkę za pomocą igły skanującej, która będąc w niedużej odległości od powierzchni materiału mierzy wybrane oddziaływanie, w zależności od trybu pracy. Siły przyciągania, które są siłami dalekiego zasięgu, mierzone są w trybie bezkontaktowym, natomiast siły odpychania – siły bliskiego zasięgu – w trybie kontaktowym (rysunek 32) [158].



Rysunek 31 Siła oddziaływania pomiędzy atomami igły skanującej a próbki w zależności od odległości [156]

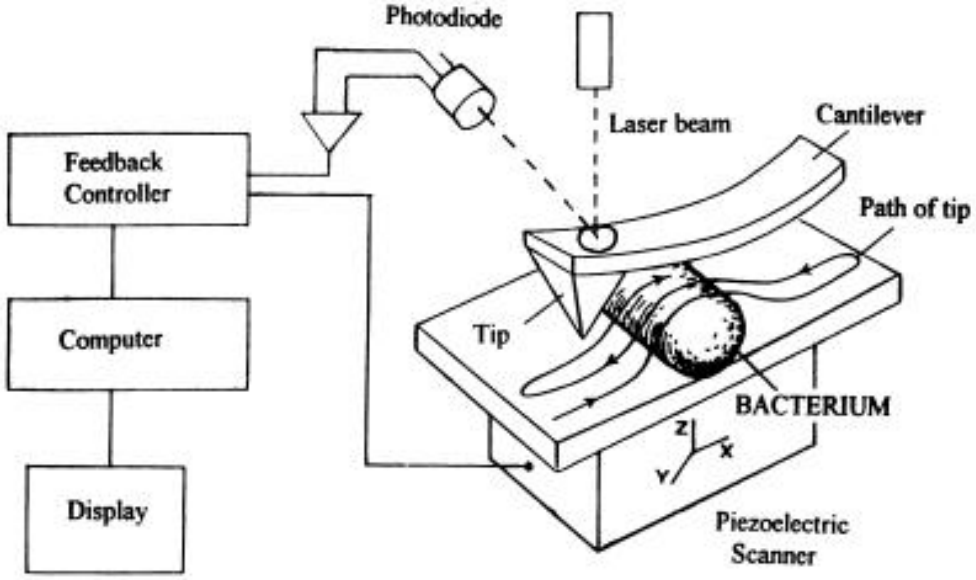


Rysunek 32 Trzy podstawowe tryby pracy AFM, w tym tryb kontaktowy, tryb bezkontaktowy i tryb przewywany (tapping) [159]

AFM idealnie nadaje się do badania właściwości powierzchni bakterii, w tym topografii, składu i adhezji [160]. Przygotowanie próbki AFM nie wymaga utrwalania i odwadniania, co pozwala na obrazowanie żywych komórek w stanie natywnym. W celu

skutecznego obrazowania AFM, komórki muszą być mocno przytwierdzone do podłoża, aby zapobiec ich przemieszczaniu przez siły boczne wywierane przez igłę skanującą.

AFM został wykorzystany do badania adhezji bakterii do innych drobnoustrojów, komórek i cząsteczek. Technika ta znalazła zastosowanie szczególnie w badaniu dynamiki i natury interakcji między receptorami powierzchniowymi drobnoustrojów a ligandami. AFM jest wykorzystywany do określania twardości, elastyczności i adhezji powierzchni komórek poprzez oddziaływane z końcówkami sondy (ang. tip). Moduł Younga komórek bakteryjnych jest obliczany na podstawie ugięcia wspornika (ang. Cantiliver) i jego ruchu. Badania nanoindentacyjne mogą być wykonywane w różnych warunkach, w tym wodnych i dostarczają szczegółowych informacji na temat nanomechanicznych właściwości komórek [161 - 163].



Rysunek 29 Schemat mikroskopu sił atomowych [160]

4.8.Testy mikrobiologiczne

Rosnąca oporność bakterii na antybiotyki i coraz częstsze przypadki nieskutecznych terapii zakażeń wymagają identyfikacji przyczyn tego problemu, a w dalszej kolejności poszukiwania sposobów jego ograniczenia i poprawy skuteczności terapii zakażeń. Jedną z uznanych przyczyn niepowodzeń terapii jest presja selekcyjna leków, zwłaszcza gdy są one źle dobrane i podawane w zbyt małych dawkach, co prowadzi do przetrwania opornej populacji bakterii lub indukuje mechanizmy oporności na antybiotyki [164]. Dlatego bardzo ważne jest stosowanie antybiotyków w zakażeniach

bakteryjnych w takich dawkach, aby zwiększyć prawdopodobieństwo skuteczności terapeutycznej [165].

Identyfikacja patogenu, czasami obejmująca również określenie jego ilości na 1 g lub ml próbki, w połączeniu z wynikami badań analitycznych i klinicznych, stanowi podstawę ostatecznej diagnozy zakażenia. Z drugiej strony, antybiogram sugeruje wybór leku, który ma być klinicznie skuteczny w infekcjach bakteryjnych. Zazwyczaj antybiogramy zawierają jakościową ocenę wrażliwości lub oporności szczepu na antybiotyki, a także informacje o wykrytych mechanizmach oporności [166].

Schemat eksperymentów badających skuteczność antybiotyku na bakterie przedstawiono na rysunku 34.

Wskaźniki laboratoryjne oceniające wrażliwości danego szczepu bakteryjnego na antybiotyk:

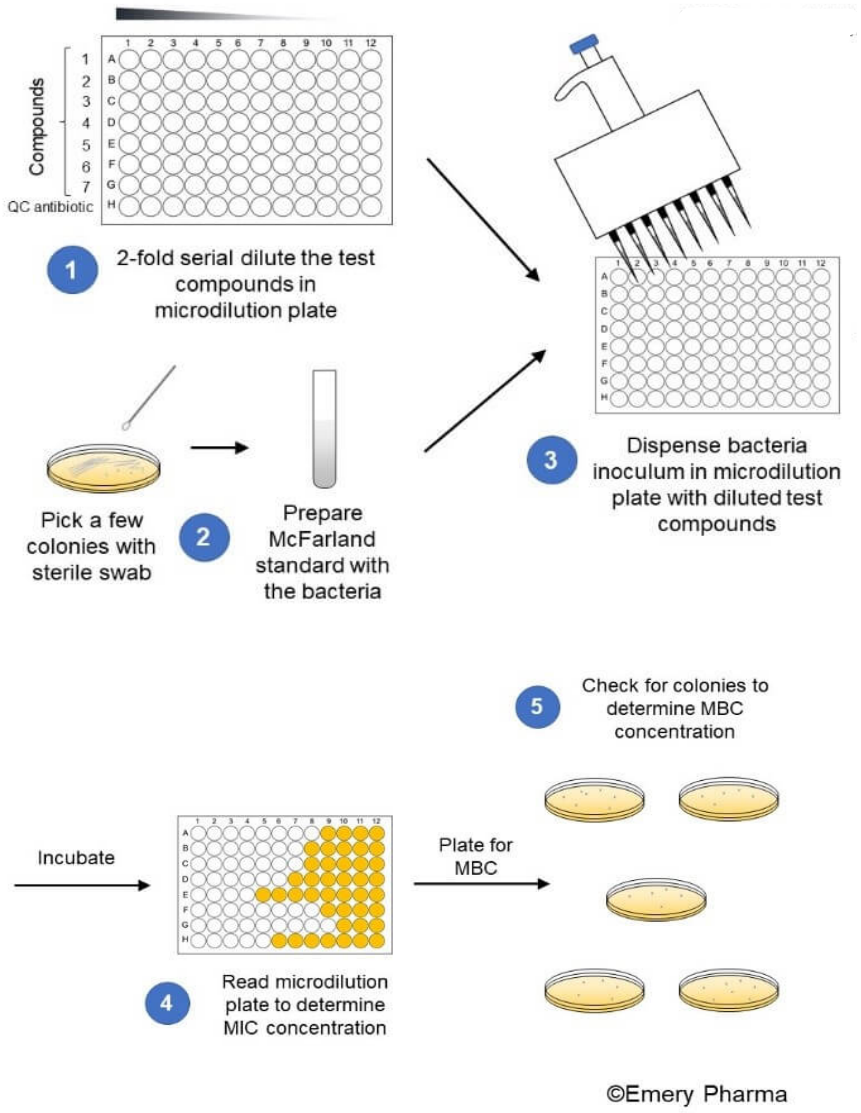
- W mikrobiologii minimalne stężenie hamujące (MIC) to test, który określa najniższe stężenie środka przeciwdrobnoustrojowego potrzebne do zahamowania widocznego wzrostu mikroorganizmu in vitro (MIC50 – 50% bakterii z zahamowanym wzrostem).
- MBC (minimal bactericidal concentration) – minimalne stężenie bakteriobójcze. To najmniejsze stężenie antybiotyku lub chemioterapeutyku, przy którym ginie 99,9% bakterii w warunkach in vitro. MBC jest wyrażane w mg/l lub μg/ml.
- MPC (mutant prevention concentration) – stężenie hamujące rozwój mutacji. To nowy wskaźnik oceniający skuteczność działania leków przeciwbakteryjnych. Określa on stężenie antybiotyku lub chemioterapeutyku, które hamuje rozwój mutacji bakteryjnych prowadzących do rozwoju antybiotykooporności. Zazwyczaj stężenie leku konieczne do osiągnięcia MPC jest ok. 7 razy wyższe niż w przypadku MIC90 [167 –168]

Oceny skuteczności działania antybiotyku można dokonać w warunkach laboratoryjnych, mierząc wrażliwości danego szczepu bakterii na badany antybiotyk in vitro oraz badając parametry farmakokinetyczno-farmakodynamiczne danego leku. Na rysunku 35 oraz 36 przedstawiono wskaźniki laboratoryjne oceniające wrażliwości danego szczepu bakteryjnego na antybiotyk.

Aby ustalić MIC, środek przeciwdrobnoustrojowy jest inkubowany w różnym zakresie rozcieńczeń z badanym mikroorganizmem. Wzrost mikroorganizmu jest określany na podstawie zmętnienia. Próbki testowe wykazujące brak aktywności przeciwdrobnoustrojowej będą mętne z powodu obecności mikroorganizmu, podczas gdy

brak zmętnienia wskazuje, że wzrost mikroorganizmu prowokującego został zahamowany. Po obliczeniu MIC środka przeciwdrobnoustrojowego mikroorganizmy są oznaczane jako wrażliwe i zależne od dawki (SSD), pośrednie lub oporne na środek przeciwdrobnoustrojowy [169 - 173]

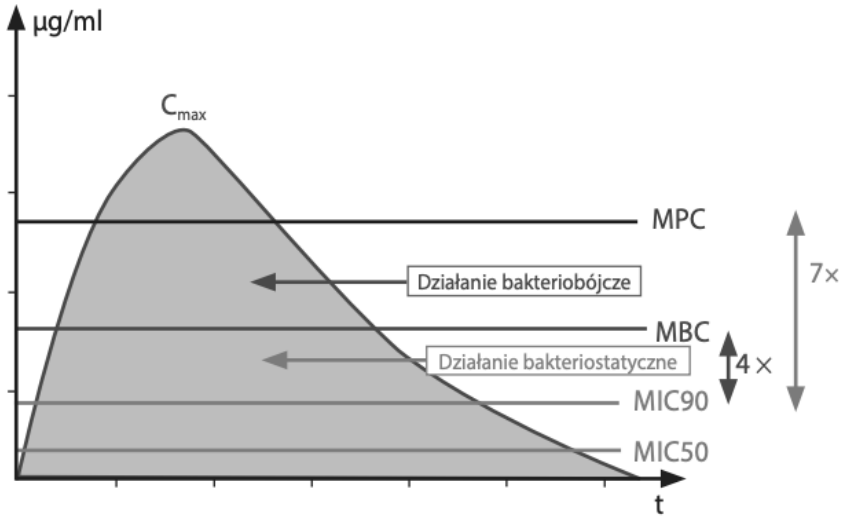
Do pomiaru wzrostu bakterii wykorzystano pomiar gęstości optycznej (OD), który jest użytecznym narzędziem do opisywania transmisji światła. OD definiuje się jako ujemny logarytm transmisji, gdzie transmisja waha się od 0 do 1 [174].



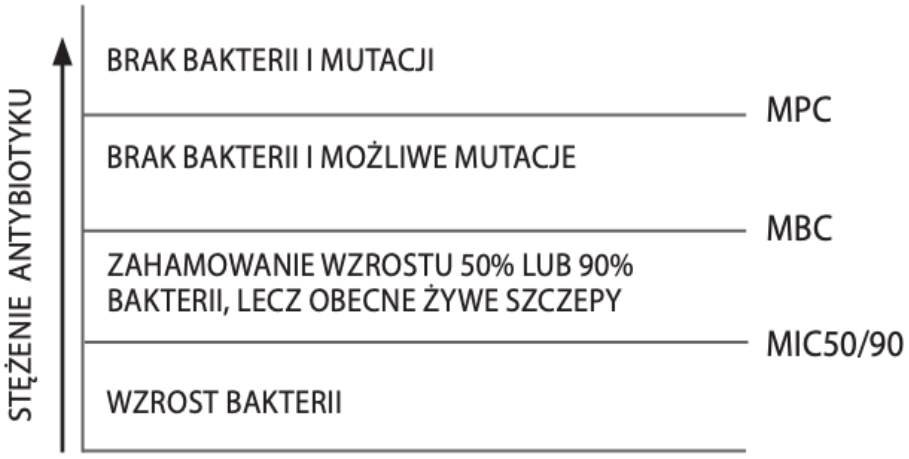
Rysunek 30 Testy MIC i MBC. (1) Przygotowanie seryjnych rozcieńczeń badanych związków i jednego antybiotyku kontroli jakości (QC) na płytce do mikrorozcieńczeń. (2) Utworzenie inokulum poprzez pobieranie kolonii z płytki agarowej. (3) Dozowanie inokulum do płytki mikrorozcieńczeniowej z seryjnie rozcieńczonymi badanymi związkami i inkubacja. (4) Odczytanie płytki do mikrorozcieńczeń w celu określenia wartości MIC. (5) Naniesienie części każdej studzienki na odpowiednie podłoże agarowe, inkubacja i sprawdzenie obecności kolonii w celu określenia MBC [166]

$$OD = -\log_{10} T \quad (19)$$

OD600 dostarcza informacji na temat wzrostu mikroorganizmów, takich jak bakterie i drożdże. Mówiąc dokładniej, wzrost mikroorganizmów koreluje z liczbą bakterii w populacji i informuje o tym, jak zmienia się ona w czasie. Informacje o wzroście drobnoustrojów są potrzebne w różnych obszarach badań biologicznych i medycznych. Podczas opracowywania reżimów antybakteryjnych, pomiary OD600 określają skuteczność antybiotyków poprzez ocenę hamowania wzrostu drobnoustrojów [175 – 176]. Monitorowanie zmian populacji drobnoustrojów w czasie skutkuje charakterystyczną krzywą (Rysunek 37) zwaną krzywą wzrostu. Składa się ona z czterech faz wzrostu:

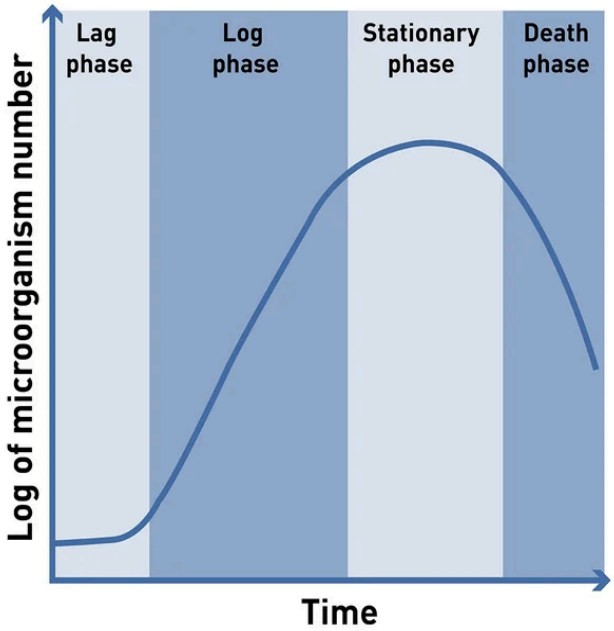


Rysunek 31 Wskaźniki laboratoryjne oceniające wrażliwości danego szczepu bakteryjnego na antybiotyk a krzywa stężenia antybiotyku we krwi w czasie



Rysunek 32 Znaczenie MIC, MBC, MPC

- Faza opóźnienia - Po rozpoczęciu hodowli poprzez umieszczenie kilku mikroorganizmów w pożywce (inokulacja), organizm musi przystosować się do nowego środowiska. W tym czasie nie dochodzi do podziału, a gęstość organizmów pozostaje taka sama.
- Faza logarytmiczna - Gdy mikroorganizm przystosuje się do nowego otoczenia, zaczyna się rozmnażać. Każda komórka podwaja się w określonym czasie, co prowadzi do wykładniczego wzrostu drobnoustrojów. Gdy logarytm wzrostu jest wykreślany względem czasu, ta faza wzrostu tworzy linię. Faza logarytmiczna to czas, w którym produkcja mikroorganizmów jest najbardziej efektywna. Służy ona również do obliczania parametrów wzrostu, takich jak czas podwojenia i tempo wzrostu.
- Faza stacjonarna - Rozmnażanie mikroorganizmów jest ograniczone przez składniki odżywcze obecne w podłożu hodowlanym. Gdy źródło węgla lub inne niezbędne składniki zostaną zużyte, organizmy przestają się dzielić. Ten etap krzywych wzrostu mikroorganizmów znajduje odzwierciedlenie w stabilnej gęstości mikroorganizmów na wysokim poziomie.
- Faza śmierci - Gdy warunki środowiskowe kultury drobnoustrojów pogarszają się z powodu braku składników odżywczych, soli, aminokwasów lub wzrostu szkodliwych produktów odpadowych, takich jak kwasy lub etanol, populacja zaczyna umierać. Objawia się to ogólnym spadkiem gęstości mikroorganizmów.



Rysunek 33 Krzywa wzrostu mikroorganizmów. Typowy przebieg liczby mikroorganizmów w hodowli okresowej [177]

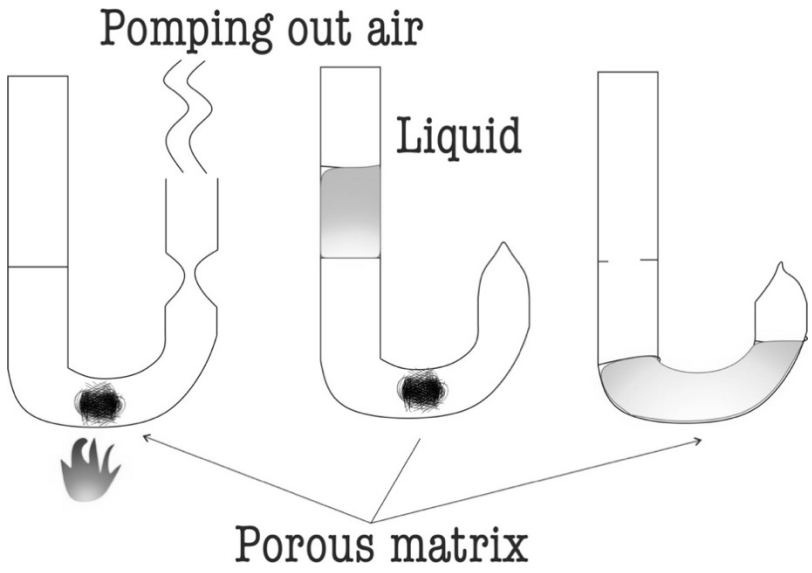
CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

5. Wyniki badań

5.1. Przygotowanie próbek

Jednościenne nanorurki węglowe użyte do badań (średnica 1,7 nm, czystość <90%) były produkcji firmy Carbon Solution, Inc USA; jednościenne nanorurki węglowe (średnica 30 nm +-1,5 nm) zostały zakupione w NanoLab Belgia. Ciprofloksacyna (czystość < 98%) została zakupiona w firmie Sigma Aldrich.

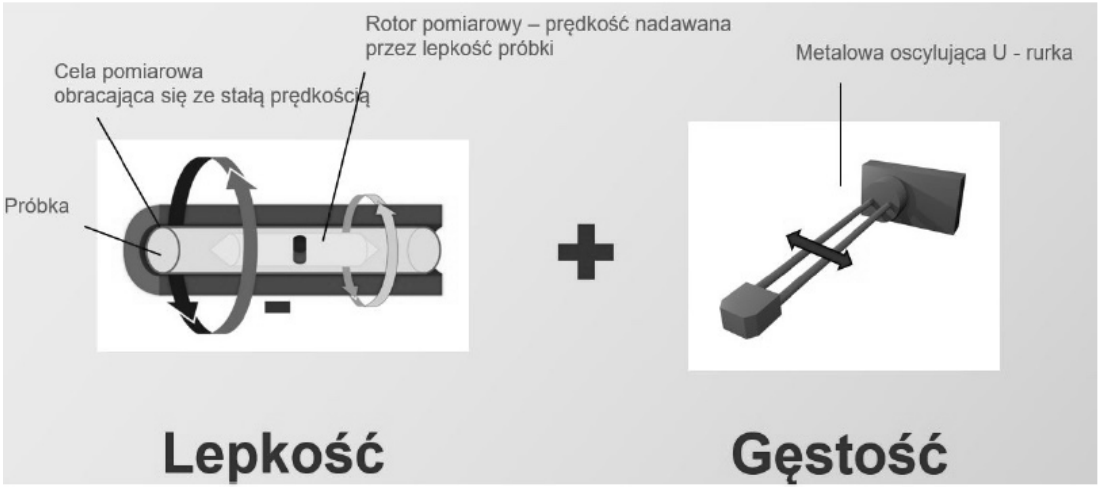
Wodne roztwory ciprofloksacyny przygotowano w stężeniach 1 mg / ml i 2 mg / ml z dodatkiem niewielkiej ilości kwasu solnego w celu poprawy rozpuszczania antybiotyku. Wybraliśmy stężenia wodnego roztworu ciprofloksacyny, typowe dla zastosowań klinicznych. Aby wprowadzić roztwór ciprofloksacyny do porów wysycono CNTs cząsteczkami badanej substancji po odgazowaniu ich w szklanej U-rurce (rys. 38). Dla zapewnienia maksymalnego nasycenia porów cząsteczkami badanej substancji, CNT poddano wygrzewaniu w próżni 10^{-4} Tr, w temperaturze 390K przez około 72 godziny. Podczas procesu odgazowywania i odwadniania, nanorurki znajdowały się w szklanej tubie, której konstrukcja umożliwiała zalanie porowatej matrycy badaną substancją w warunkach próżni.



Rysunek 34 Schemat wysycania próbki roztworem w szklanych U-rurkach

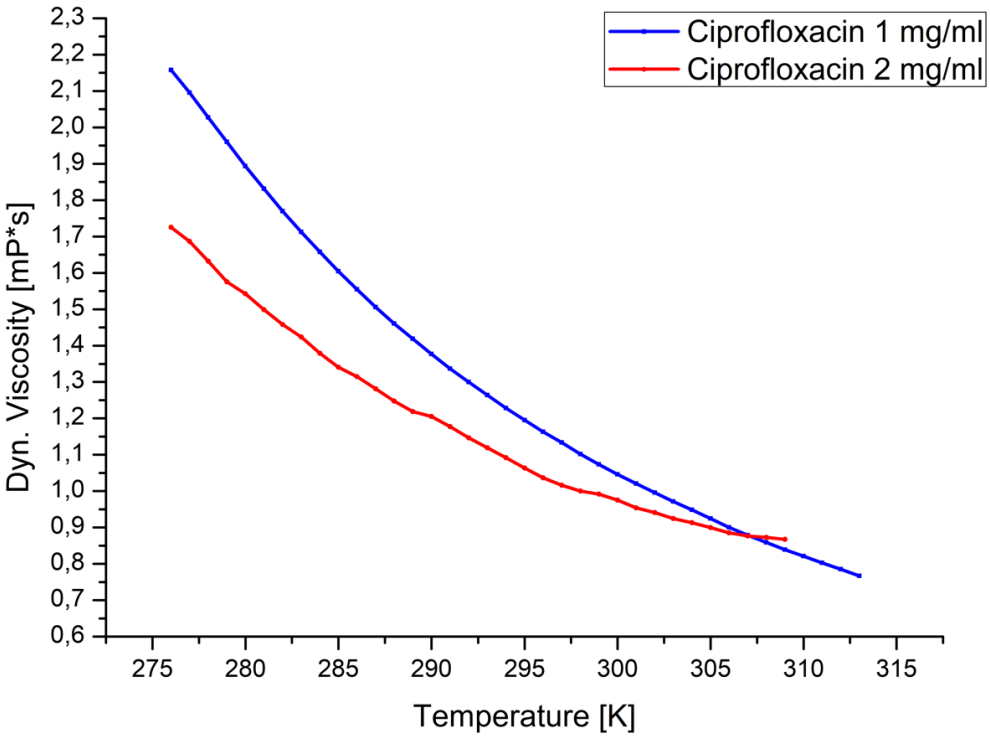
5.2.Pomiary gęstości i lepkości w funkcji temperatury

Do badań lepkości oraz gęstości roztworów ciprofloksacyny zastosowano densometr SVM™ 3001, który jest połączeniem lepkościomierza (ASTM D7042) i cyfrowego gęstościomierza (D4052, ISO 12185). Urządzenie to łączy ze sobą czujnik oscylacyjny w postaci U-rurki, zintegrowany oscylator referencyjny, termometry platynowe o wysokiej precyzji oraz pełnozakresową korekcję lepkości, aby zapewnić skuteczność pomiarów. Czujnik oscylacyjny (U-rurka) jest napełniany próbką o objętości 1,5 ml. Na rysunku 39 przedstawiono schemat działania wiskozymetru mierzącego lepkość oraz gęstość w funkcji temperatury.

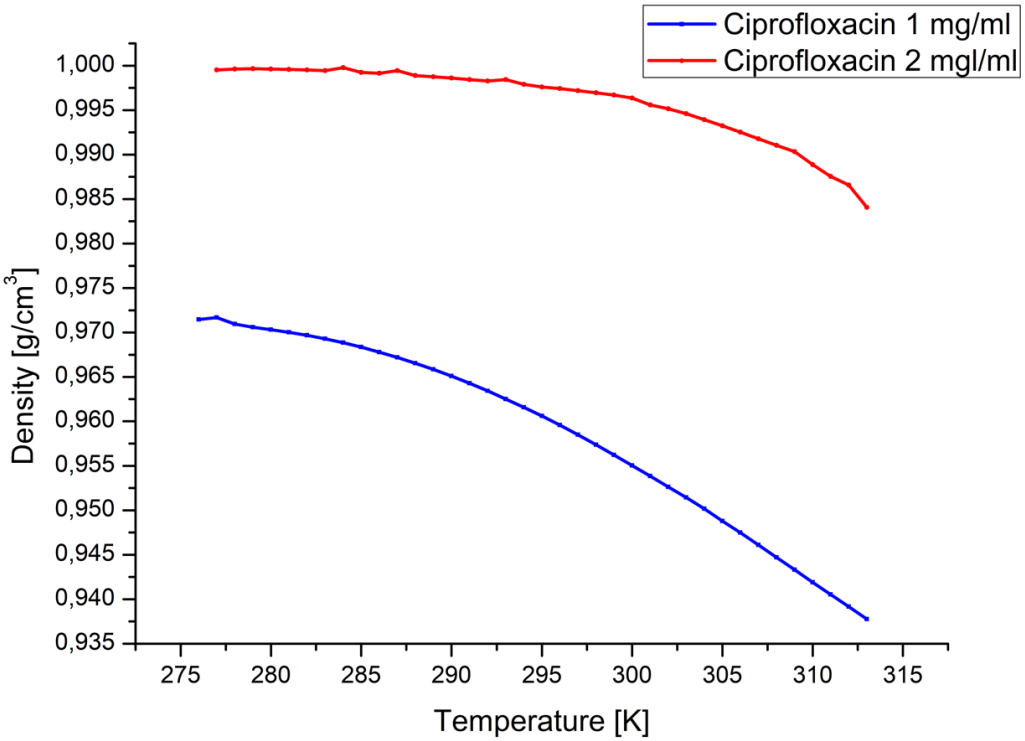


Rysunek 35 Schemat działania wiskozymetru

Przygotowane roztwory ciprofloksacyny umieszczono za pomocą strzykawki w urządzeniu pomiarowym SVM™ 3001. Następnie zmierzono gęstość oraz lepkość w funkcji temperatury w zakresie 275K – 315K. Z uzyskanych wyników sporządzono wykres zależności gęstości i lepkości w funkcji temperatury dla poszczególnych stężeń. Rysunek 40 przedstawia wykres zależności zmian gęstości w funkcji temperatury dla dwóch różnych stężeń ciprofloksacyny z wodą. Wraz ze wzrostem stężenia obserwujemy wzrost gęstości. Jest to związane ze zwiększeniem masy substancji z zadanej objętości przez rozpuszczanie większej ilości leku. Gęstość maleje wraz ze wzrostem temperatury z powodu zmiany objętości podczas grzania się roztworu, podczas gdy masa pozostaje taka sama niezależnie od temperatury.



Rysunek 40 Wykres zależności zmian lepkości w funkcji temperatury



Rysunek 41 Wykres zależności zmian gęstości w funkcji temperatury dla roztworu ciprofloksacyny z wodą w stężeniach 1mg/ml oraz 2 mg/ml

W wyniku działania sił międzycząsteczkowych, podczas ruchu poszczególnych warstw cieczy względem siebie występuje tarcie wewnętrzne – lepkość układu.

Wyniki pomiarów lepkości w funkcji temperatury dla roztworów ciprofloksacyny z wodą dla stężeń 1 mg/ml oraz 2 mg/ml zostały przedstawione na rysunku 41. Wraz ze wzrostem stężenia wzrasta lepkość w wyniku zwiększenia się gęstości badanych roztworów. Natomiast wzrost temperatury powoduje obniżenie lepkości, co jest związane z temperaturową zmianą gęstości układu.

Największe zmiany obserwujemy przy niższych temperaturach. W miarę wzrostu temperatury, w wyniku zwiększania się energii cieplnej (kT, gdzie k – stała Boltzmana; T – temperatura) cząsteczek, zmniejszają się siły przyciągania działające między cząsteczkami, efektem czego jest zmniejszanie się tarcia wewnętrznego. W związku z tym dla wysokich temperatur obserwujemy dużo niższe wartości lepkości. Wzrost temperatury powoduje zwiększenie energii kinetycznej cząsteczek. Cząsteczki o większej energii łatwiej pokonują siły przyciągania sąsiednich molekuł, dlatego wraz ze wzrostem temperatury, lepkość cieczy maleje (w przypadku gazów - wartość wzrasta). Lepkość maleje wykładniczo wraz z temperaturą, co opisuje równanie Arrheniusa – Guzmana:

$$\eta = Ae^{\frac{\Delta E_a}{RT}} \tag{20}$$

gdzie:

E_a - energia aktywacji przepływu lepkiego (bariera energetyczna, którą musi pokonać cząsteczka podczas ruchu pomiędzy cząsteczkami sąsiednimi),

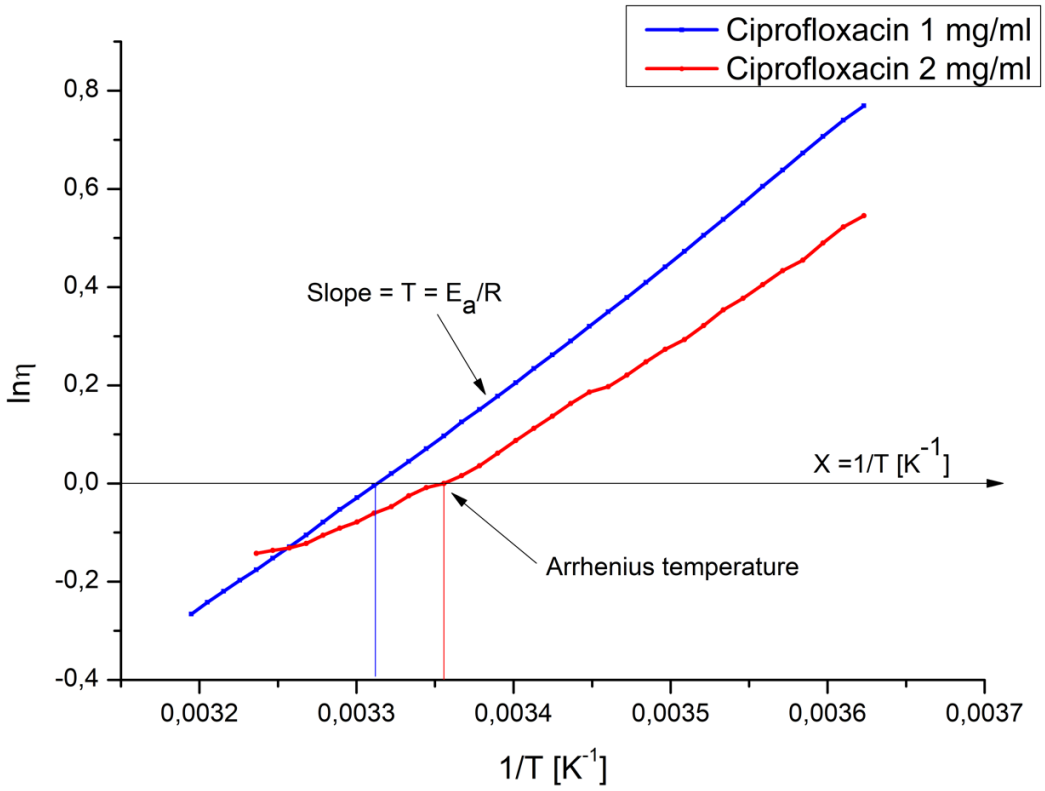
R - stała gazowa,

T - temperatura (wyrażana w Kelwinach),

A - stała charakterystyczną dla danej cieczy (zależna od masy i objętości molowej)

Jak wynika z rysunku 41 pomiary lepkości roztworów wodnych ciprofloksacyny wykazują wykładniczy spadek wraz ze wzrostem temperatury. Wykres Arrheniusa można uzyskać poprzez wyrażenie wzoru (20) jako logarytm lepkości dynamicznej η , względem odwrotności temperatury 1/T.

$$\ln \eta = \frac{E_a}{RT} + \ln A \tag{21}$$



Rysunek 36 Wykres zależności zmian lepkości w funkcji temperatury

Rysunek 42 przedstawia zależność logarytmu lepkości od odwrotności temperatury dla roztworów ciprofloksacyny w stężeniach 1 mg/ml oraz 2 mg/ml. Analiza wykresu pozwoliła wyznaczyć nachylenie krzywej, która wyniosła 2422,27 dla stężenia 1 mg/ml i 1836 dla stężenia 2 mg/ml. Zgodnie z równaniem (20) wyliczono energię aktywacji E_a = 20,2 kJ/mol oraz temperaturę Arrheniusa T_a = 301,5 K dla roztworu ciprofloksacyny 1 mg/ml; E_a = 15,3 kJ/mol i T_a = 298 K dla roztworu ciprofloksacyny 2 mg/ml. Im większa jest lepkość cieczy tym większa jest wymagana energia aktywacji. Z obliczeń wynika, że dla mniejszego stężenia ciprofloksacyny energia aktywacji i temperatura Arrheniusa jest większa, co świadczy o większej zależności szybkości reakcji od temperatury. Zwiększenie temperatury reakcji przyspiesza reakcję (zwiększa szybkość), ponieważ stała szybkości wzrasta zgodnie z równaniem Arrheniusa.

5.3.Pomiary kąta zwilżania

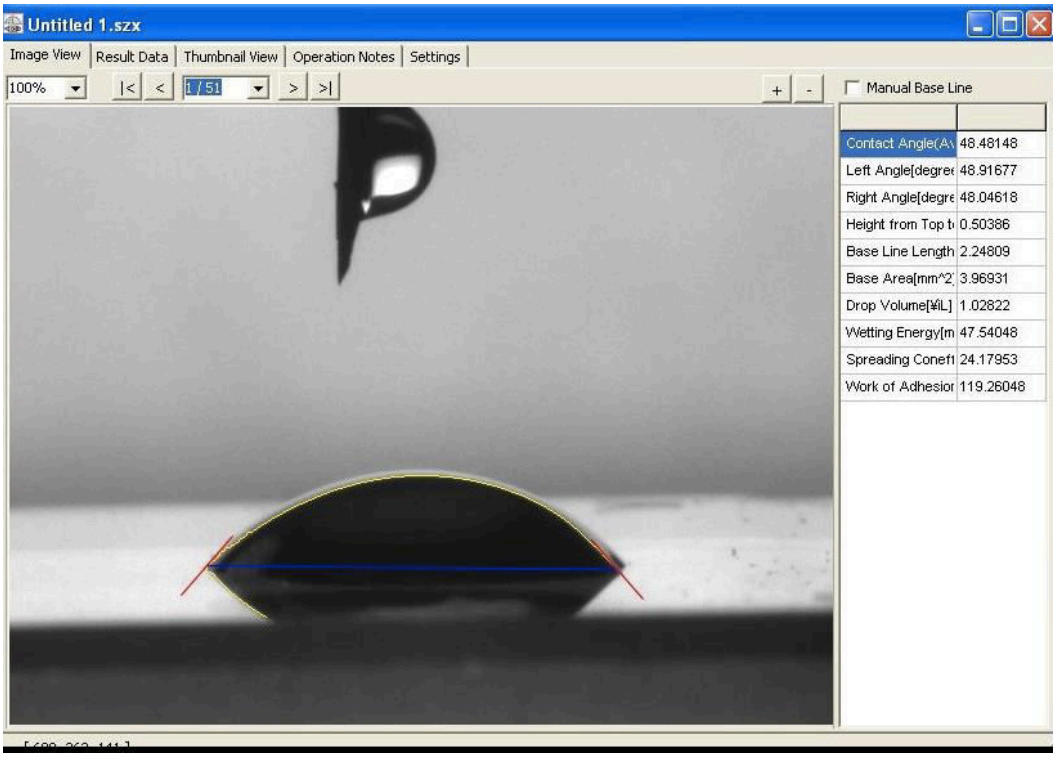
Kąty zwilżania roztworów ciprofloksacyny zmierzono na powierzchniach gładkich oraz porowatych materiałów krzemionkowych i węglowych. Do pomiaru kąta zwilżania metodą siedzącej kropli zastosowano tensjometr SEO Phoenix 300. Tensjometr umożliwił pomiary kształtu kropli, a następnie analizę i obliczenie kątów zwilżania oraz energii międzyfazowych ciało stałe-ciecz przy użyciu oprogramowania SEO Surfaceware7 w wersji 1.0. Krople cieczy formowano za pomocą ręcznego uchwytu na końcu strzykawki, a następnie nanoszono na powierzchnię. Dostosowując intensywność podświetlenia, odległość kamery od próbki oraz kąt pochylenia kamery, obserwowano wybrany fragment próbki. Mierzono średnie wartości kątów zwilżania prawej i lewej strony kropli. Kąty zwilżania obliczono na podstawie równania Younga (2), przy zastosowaniu standardowych wartości napięć powierzchniowych badanych cieczy (Tabela 3).

Tabela 3 Własności badanych cieczy istotne do określenia kąta zwilżania

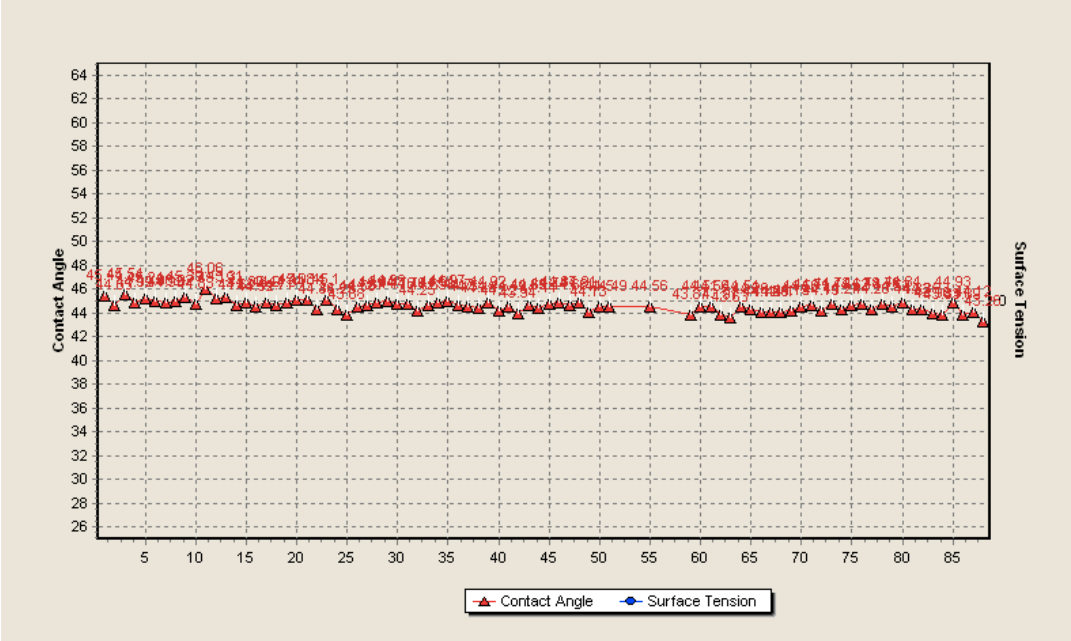
Ciecz	Gęstość (g/cm^3)	Lepkość (mPa*s)	Napięcie powierzchniowe (mN/m)
Woda	0,9986	1,002	72,8
Heptan	0,682	0,6	20,14
Nonan	0,7177	0,714	22,62
Dekan	0,7301	0,92	23,83

W pomiarach przyjmuje się założenie, że kropla to odcinek kuli i pomija się zniekształcenia wywołane siłą grawitacji. Aby pomiary były wiarygodne oraz nieobarczone dużym błędem pomiarowym, kropla musi być niewielka lub stosuje się duże przybliżenia jej obrazu. Rysunek 43 przedstawia przykład pomiaru kąta zwilżania dla wody na powierzchni szklanej i jej analiza wykonana przez oprogramowanie SEO Surfaceware7. Kamera cyfrowa wykonuje serię 50-100 zdjęć. Przerwa pomiędzy zdjęciami zależy od ustawionej wartości. W przeprowadzonych badaniach jest to zakres 50-100 mikrosekund. Każdy pomiar został zweryfikowany w programie i odrzucono te niepoprawne. Rysunek 44 przestawia przykładową sekwencję ok. 100 wykonanych

zdjęć. Jak widać z rysunku program przyjął tylko wartości, które w analizie wynosiły mniej niż 20% błędu statystycznego.

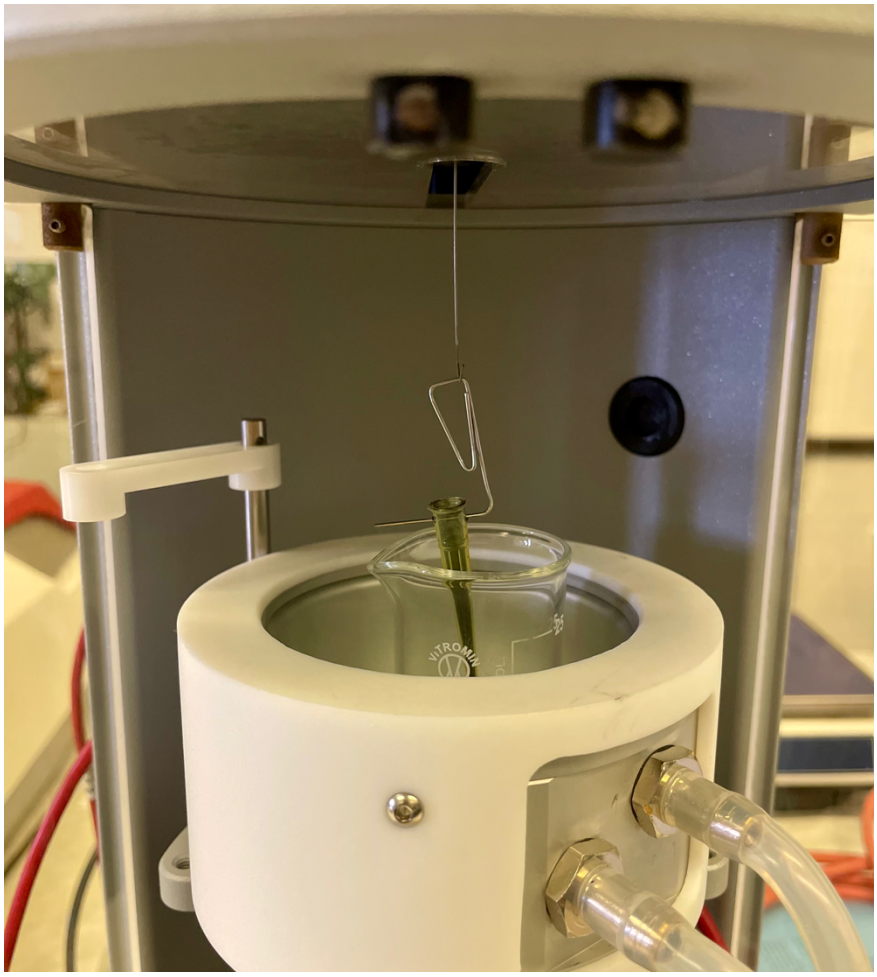


Rysunek 38 Metoda pomiaru kąta zwilżania (woda destylowana) na przykładowej powierzchni szklanej



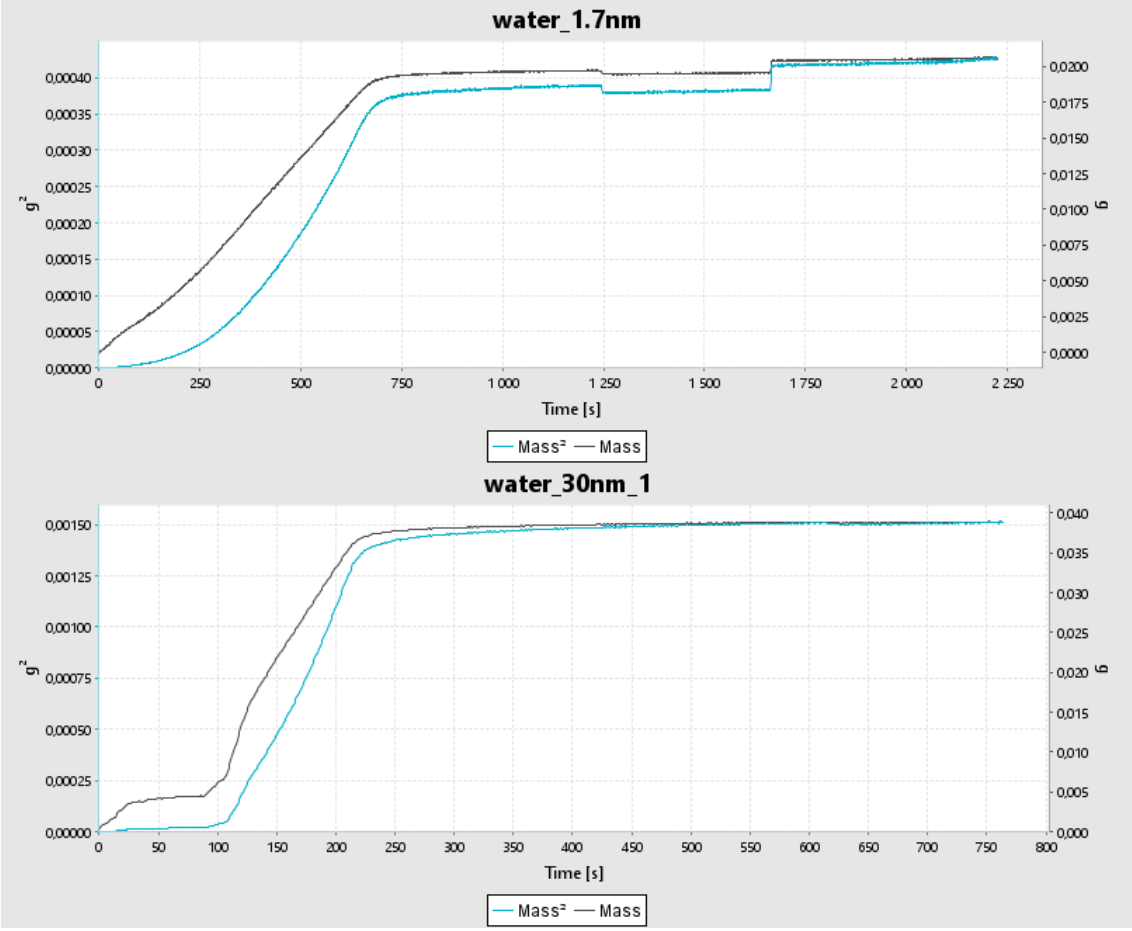
Rysunek 37 Romiar kąta zwilżania dla wody. Seria 90 zdjęć na podstawie których wyniki zostały uśrednione

Do pomiaru kątów zwilżania cieczy zaadsorbowanej w ciałach porowatych wykorzystano tensjometr Sigma 700/701 (rysunek 45). Składa się on z plastikowej rurki na próbkę o średnicy 3 mm, w której umieszczano badane nanopory oraz naczynia o średnicy 22 mm i maksymalnej objętości 10 ml, w którym znajduje się badana ciecz. Naczynie umieszcza się na ruchomym stoliku , a cienką końcówkę zawieszoną na wadze elektronicznej zanurza się w cieczy na żądaną wysokość. Głębokość zanurzenia końcówki z matrycami porowatymi w cieczy wynosiła 1 mm. Przed doświadczeniem matryce porowate suszono w suszarce w temperaturze 110°C przez 24 godziny. Aby uzyskać równomierne upakowanie próbki, końcówkę poddano wibrowaniu przez 60 s. Podczas doświadczenia probówkę i naczynie zawierające ciecze testowe utrzymywano w temperaturze 293 ± 0,5 K. Tensjometr kontrolowano za pomocą oprogramowania komputerowego (KSV Co., Finlandia).



Rysunek 39 Tensjometr Sigma 700/701

Eksperyment obejmował pomiar masy zaadsorbowanej cieczy w matrycach porowatych w funkcji czasu. Z równań (7 - 12), wykres kwadratu masy w funkcji czasu powinien dać linię prostą, której nachylenie wynosi $C\rho^2\gamma\cos\theta_c/\eta$. Ponieważ lepkość, gęstość i napięcie powierzchniowe są znane (Tabela 3), w tym wyrażeniu pozostają tylko dwie niewiadome, kąt zwilżania θ_c i stała materiałowa dla ciała stałego, C. Do wyznaczenia stałej C przeprowadzono eksperyment dla każdego z porowatych ciał stałych przy użyciu cieczy referencyjnej o bardzo niskim napięciu powierzchniowym, dla której można założyć, że kąt zwilżania jest bliski zeru. W naszym eksperymencie wykorzystano n-heptan, n-nonan i n-dekan. Stałą materiałową dla ciała stałego można następnie obliczyć z funkcji $m^2(t)$ (nachylenie wynosi - $C\rho^2\gamma/\eta$). Dla danego rodzaju matrycy porowatej zakładamy, że C jest stałe dla badanych cieczy. Przykład krzywej $m^2(t)$ dla wody penetrującej CNT o wymiarach porów 1.7 nm oraz 30 nm pokazano na rysunku 46. W naszym eksperymencie powtarzalność wyników została sprawdzona przez trzy do pięciu



Rysunek 40 Krzywa m2 w funkcji t pomiaru wody w nanorurkach węglowych 1.7nm oraz 30 nm

powtórzeń pomiaru. Pomiar został zakończony, gdy krzywa osiągała nasycenie, co obserwuje się jako plateau funkcji (rysunek 46).

W ujęciu makroskopowym zwilżanie danej powierzchni przez kroplę cieczy opisuje kąt zwilżania. Wielkość ta jest ściśle związana z wartością parametru α_w, zwanego parametrem zwilżania w nanoskali. Parametr α_w pozwala opisać zwilżalność powierzchni w nanoskali wyrażoną bezpośrednio przez stosunek oddziaływań molekularnych ciecz – ciecz (ε_{cc}) i ciecz – powierzchnia (ε_{cp}). Mierzy on względne interakcje sił przyciągania adsorbat – adsorbent oraz adsorbat – adsorbat jako efekt działania sił adhezji i kohezji w nanoskali. Parametr α_w jest ilościową miarą, która decyduje o strukturze i dynamice ograniczonych faz [97-98]; zdefiniowany jest poniższym wzorem [178]:

$$\alpha_w \equiv C\rho_s\sigma_{as}^2\Delta\left(\varepsilon_{cc}/\varepsilon_{cp}\right) \tag{22}$$

C – stała materiałowa

ρ_s – gęstość atomów na powierzchni adsorbentu

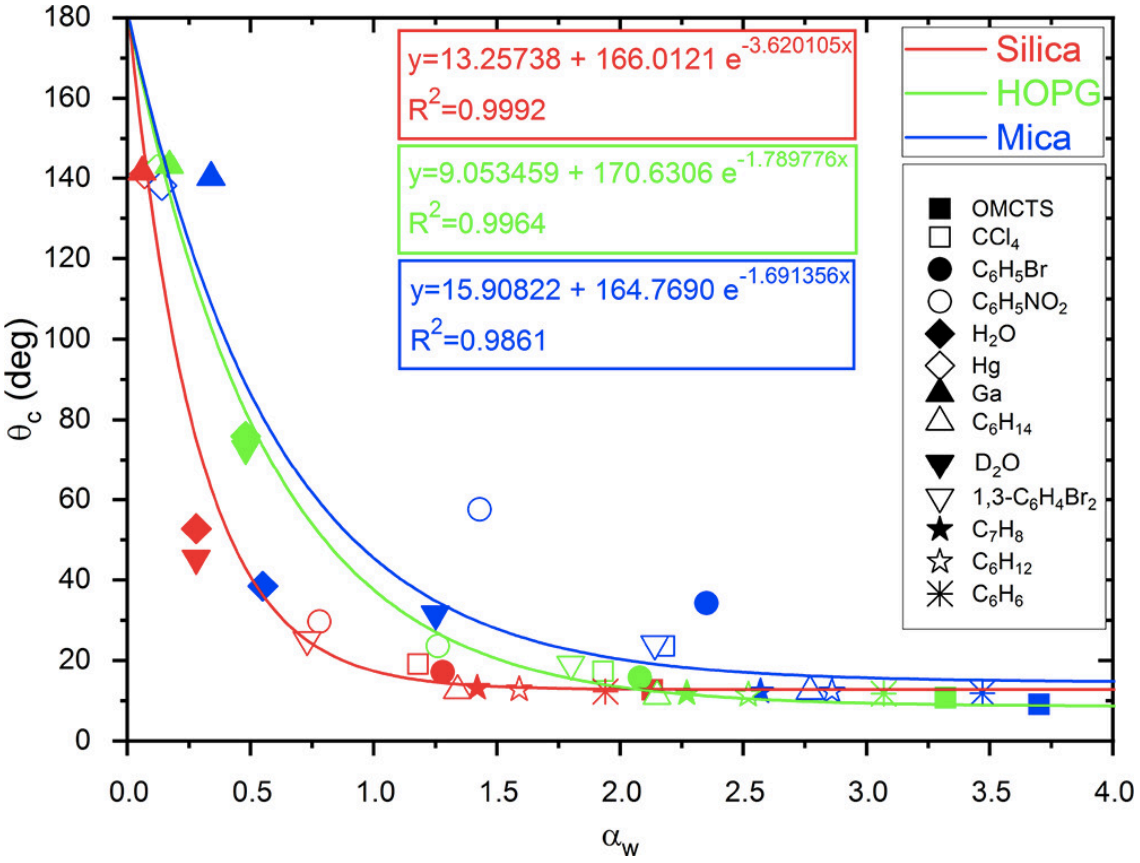
σ_{as}^2 – parametr potencjału Lennarda-Jonesa atomu adsorbentu i molekuły adsorbatu

Δ – odległość między płaszczyznami atomowymi adsorbentu

ε_{cc} – parametr oddziaływań energetycznych L-J adsorbentu z adsorbatem

ε_{cp} – parametr oddziaływań energetycznych L-J adsorbat – adsorbat

Rysunek 47 przedstawia eksperymentalne wartości kątów zwilżania w funkcji parametru α_w, zmierzone dla różnych cieczy (o charakterze silnie i słabo dipolowym) na trzech gładkich powierzchniach płaskich: krzemionce, graficie HOPG (Highly Oriented Pyrolitic Graphite) oraz na mice. Istnieje silna korelacja między makroskopowym kątem zwilżania, a parametrem zwilżania, jak sugeruje równanie (7). Korelacja nie jest idealna, ponieważ temperatura badań jest nieco inna dla różnych cieczy. Uwzględnienie szorstkości ścianek porów powoduje zmiany kąta zwilżania θ_p w stosunku do gładkich powierzchni i znacznie zmienia parametr α_w. Różnica między krzywymi dla gładkich i chropowatych powierzchni jest największa dla pośrednich wartości α_w. Wynika to z faktu, że obie krzywe muszą się spotkać, gdy $\alpha_w \to 0$ i $\alpha_w \to \infty$, ponieważ kąt zwilżania nie może być mniejszy niż 0◦ lub większy niż 180◦ (rysunek 47).



Rysunek 41 Kąt zwilżania jako funkcja nanoskalowego parametru zwilżania αw dla różnych cieczy na gładkich powierzchniach krzemionki, grafitu i miki. Krzywe są najlepiej dopasowane do danych eksperymentalnych [178]

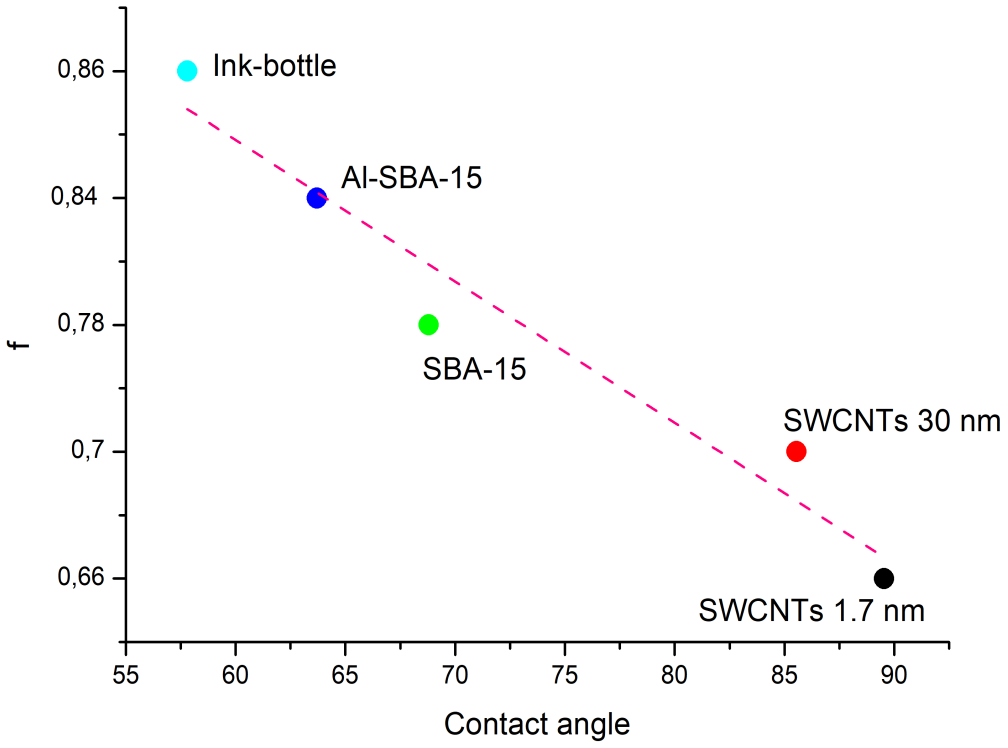
Jak widać na rys. 47, kąt zwilżania θ_c jest monotoniczną funkcją mikroskopowego parametru zwilżania α_ww dużym zakresie wartości tego parametru i maleje ekspotencjalnie wraz ze wzrostem α_w, niezależnie od podłoża. Dla cieczy o dużym α_w energia oddziaływań adsorbat-adsorbent jest większa od energii oddziaływań adsorbat-adsorbat i ciecz dobrze zwilża podłoże, co skutkuje małą wartością kąta zwilżania θ_c. W zakresie małych wartości α_w ciecz na każdym podłożu wykazuje charakter amfifilowy, co związane jest z niewielką energią oddziaływań ciecz – podłoże i większym kątem zwilżania [178].

Wyniki pomiarów kąta zwilżania wody w porach węglowych oraz krzemionkowych θ_p zostały przedstawione w tabeli 4. Obserwowana zmiana kąta zwilżania cieczy w porach w stosunku do jej kąta zwilżania powierzchni idealnie gładkich sugeruje, że mechanizm zwilżania ścianek porów opisuje model Cassie-Baxtera, gdy kontakt cieczy z powierzchnią stałą jest ograniczony wskutek szorstkości ścianek porów [96]. Stosując model zwilżania Cassie-Baxtera wyliczono również parametr f – czyli procentową

powierzchnię matryc, z jaką kontakt ma woda. Na rysunku 48 przestawiono zależność między współczynnikiem f, a kątem zwilżania.

Tabela 4 Kąty zwilżania oraz współczynnik f dla wody na różnych powierzchniach krzemionkowych oraz węglowych

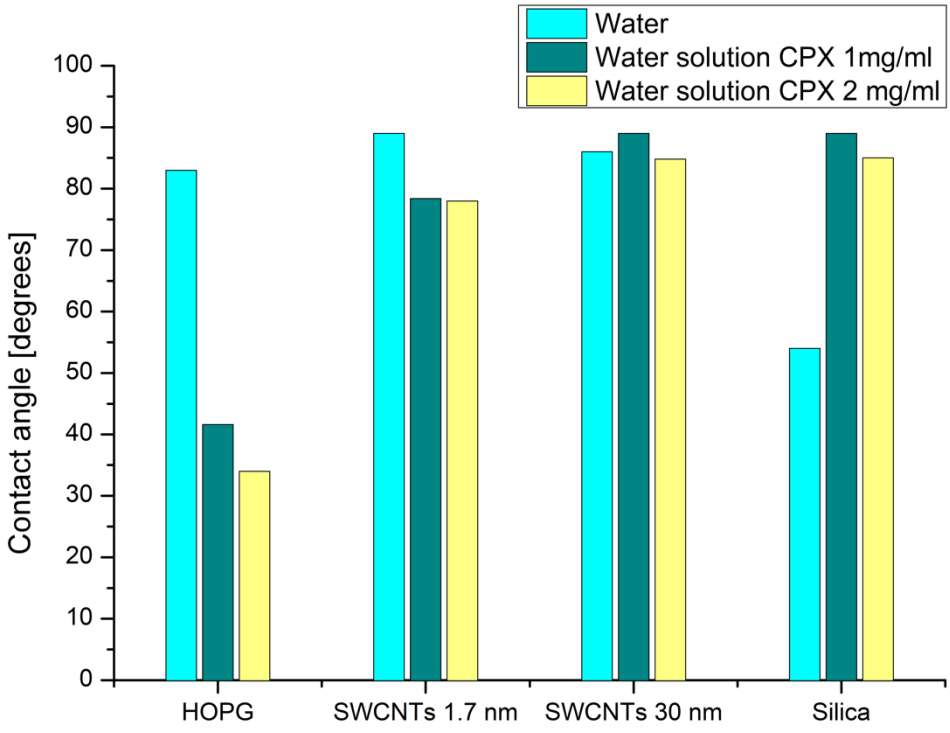
	Kąt zwilżania na idealnej powierzchni szklanej		**Al.-SBA-15**		**SBA-15**	
	$\theta_{bulk}(°)$	α_w	$\theta_p(°)$	F	$\theta_p(°)$	f
H_2O	52,8	0,28	63,7	0,84	68,8	0,78
	SWCNT 30nm		**SWCNT 1.7nm**		**Ink-bottle**	
	$\theta_p(°)$	f	$\theta_p(°)$	F	$\theta_p(°)$	f
H_2O	85, 55	0,70	89,54	0,66	57,8	0,86



Rysunek 42 Wykres zależności współczynnika f od kąta zwilżania dla wody

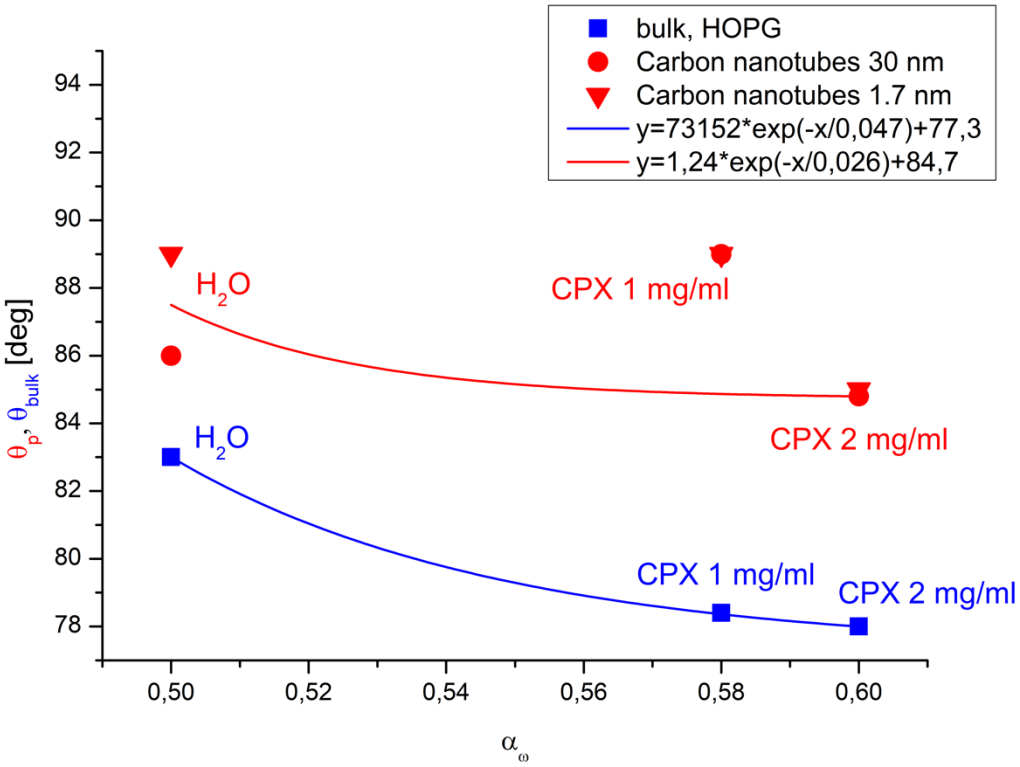
Wraz ze wzrostem kąta zwilżania maleje współczynnik f, oznacza to, że maleje powierzchnia styku roztworu z badaną powierzchnią. Dla dużych kątów zwilżania przeważają siły kohezji, a powierzchnie wykazują charakter silnie hydrofobowy. Obserwuje się wzrost kąta zwilżania cieczy w matrycach porowatych w stosunku do powierzchni gładkiej. Im mniejszy wymiar porów tym silniejszy efekt hydrofobowy. Dla wody zarówno na gładkich płaskich, jak i szorstkich mezoporowatych materiałach krzemionkowych i nanorurkach, zmierzone wartości są ściśle skorelowane z mikroskopowym parametrem zwilżania - α_w. Frakcja f wody w kontakcie ze stałym podłożem maleje monotonicznie wraz ze wzrostem kąta zwilżania, czego można oczekiwać w zmodyfikowanym modelu Cassie-Baxtera zwilżania na chropowatych powierzchniach (rysunek 48).

Na rysunku 49 przedstawiono kąty zwilżania dla wody, roztworów ciprofloksacyny o stężeniu 1 mg/ml i 2mg/ml na powierzchni HOPG, krzemionkowej oraz zmierzone wewnątrz porów węglowych o średnicy 1,7 nm oraz 30 nm. Dodanie nawet niewielkich ilości ciprofloksacyny powoduje zmniejszenie kąta zwilżania na gładkich powierzchniach, co może być spowodowane silniejszym oddziaływaniem powierzchnia-ciecz.



Rysunek 43 Kąty zwilżania dla powierzchni płaskich HOPG, krzmionek oraz dla nanorurek węglowych o średnicy 1,7 nm oraz 30 nm dla wody oraz roztworu ciprofloksacyny w stężeniu 1 mg/ml oraz 2 mg/ml.

Zmierzone kąty zwilżania są pokazane na Rysunku 50 jako funkcja mikroskopowego parametru zwilżania α_w, zarówno dla gładkiej płaskiej powierzchni węglowej, jak i dla materiałów porowatych CNT. Parametry α_w oznaczono według rys. 47 dla zmierzonych kątów zwilżania dla wody oraz wodnego roztworu ciprofloksacyny w CNT dla stężeń 1 mg/ml oraz 2 mg/ml.



Rysunek 44 Eksperymentalnie zmierzone kąty zwilżania dla różnych cieczy na gładkiej płaskiej powierzchni węglowej HOPG (θ_{bulk} , dolne niebieskie punkty i krzywa) oraz w nanorurkach węglowych (θ_p , górne czerwone punkty i krzywa)

Z wykresu 50 wynika, że wymiar stosowanych CNT ma niewielki wpływ na zmianę parametru α_w. Natomiast duży wpływ na parametr α_w ma rodzaj i stężenie roztworu, dla wyższego stężenia ciprofloksacyny 2 mg/ml α_w jest większe co świadczy o większym oddziaływaniu ścianek z roztworem. Wypływ szorstkości powierzchni wpływa na kąt zwilżania wody oraz roztworów ciprofloksacyny w nanotubach o różnych wymiarach. Jak wskazuje rysunek 50 obserwujemy wyższe kąty zwilżania dla roztworów w CNT w porównaniu z powierzchnią gładką – HOPG. Mały wymiar porów węglowych oraz szorstkość ich powierzchni wpływa na zmianę własności hydrofobowych i słabsze oddziaływanie ciecz – ścianka porów. Dla mezoporowatych matryc krzemionkowych

parametr α_w dla wody wynosi 0,3, natomiast dla nanorurek węglowych 0,5. Większy parametr α_w dla matryc węglowych świadczy o silniejszym wpływie oddziaływań ścianka – ciecz w porach węglowych niż w krzemionkowych.

To, jak silnie ciecz zwilża powierzchnię, zależy od różnych czynników, takich jak rodzaj cieczy, materiał powierzchni czy porowatość powierzchni. Zwilżalność jest bezpośrednio związana z napięciem powierzchniowym. Jeśli siła kohezji wewnątrz kropli wody jest mniejsza niż siła adhezji do powierzchni ciała stałego, kropla rozprzestrzenia się po powierzchni ciała stałego i ciało stałe jest całkowicie zwilżone. Z drugiej strony, jeśli siła kohezji jest większa niż siła adhezji, kropla wody przybiera kształt kulisty, a powierzchnia jest słabo zwilżona. Energia zwilżania określa ilościowo rozerwanie oddziaływań międzycząsteczkowych, które występuje, gdy tworzona jest powierzchnia. Energię zwilżania można zdefiniować jako pracę na jednostkę powierzchni wykonaną przez siłę, która tworzy nową powierzchnię [179].

Energia adhezji jest definiowana jako praca wymagana do oddzielenia dwóch faz od siebie. Gdy dwie fazy stykają się ze sobą, istnieje między nimi warstwa o określonej energii międzyfazowej. Praca wymagana do rozdzielenia dwóch faz to praca adhezji [180].

Dzięki zmierzonym kątom zwilżania została wyliczona energia zwilżania oraz adhezji z poniższych wzorów:

$$W_e = \gamma \cos\theta \tag{23}$$

$$\mathrm{W_a} = \gamma\,(\cos\theta + 1) \tag{24}$$

, gdzie:

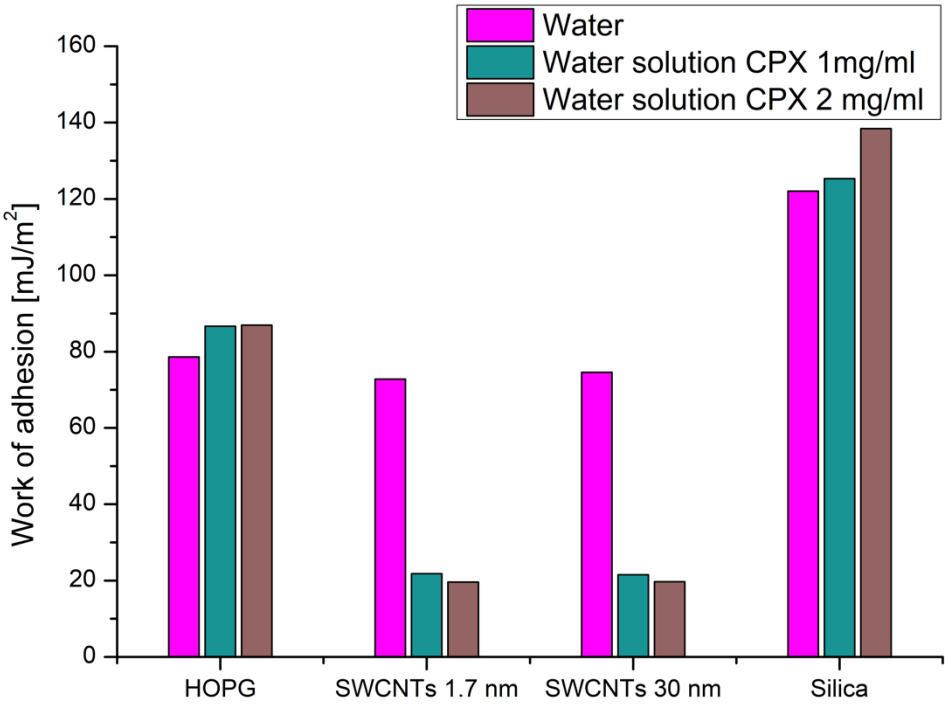
W_e – energia zwilżania

W_a – energia adhezji

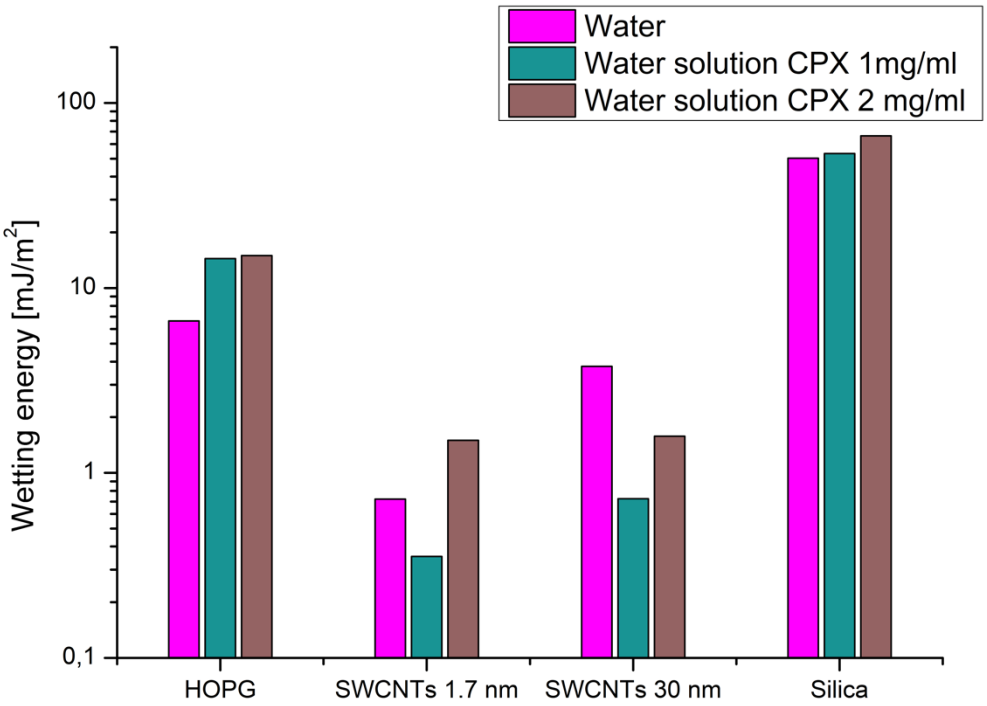
γ – napięcie powierzchniowe

θ – kąt zwilżania

Zebrane wyniki zestawiono na rysunku 51 oraz 52. W związku z hydrofobowym charakterem nanorurek węglowych obserwujemy niewielką energię zwilżania w tych układach. Związane jest to z silnymi oddziaływaniami ciecz-ciecz, które powodują małą zwilżalność powierzchni oraz niską adhezję.



Rysunek 45 Praca adhezji dla HOPG, krzemionki oraz nanorurek węglowych o średnicy 1.7 nm oraz 30 nm dla wody i wodnego roztworu ciprofloksacyny o stężeniu 1 mg/ml i 2 mg/ml



Rysunek 46 Energia zwilżania dla HOPG, krzemionki oraz nanorurek węglowych o średnicy 1.7 nm oraz 30 nm dla wody i wodnego roztworu ciprofloksacyny o stężeniu 1 mg/ml i 2 mg/ml

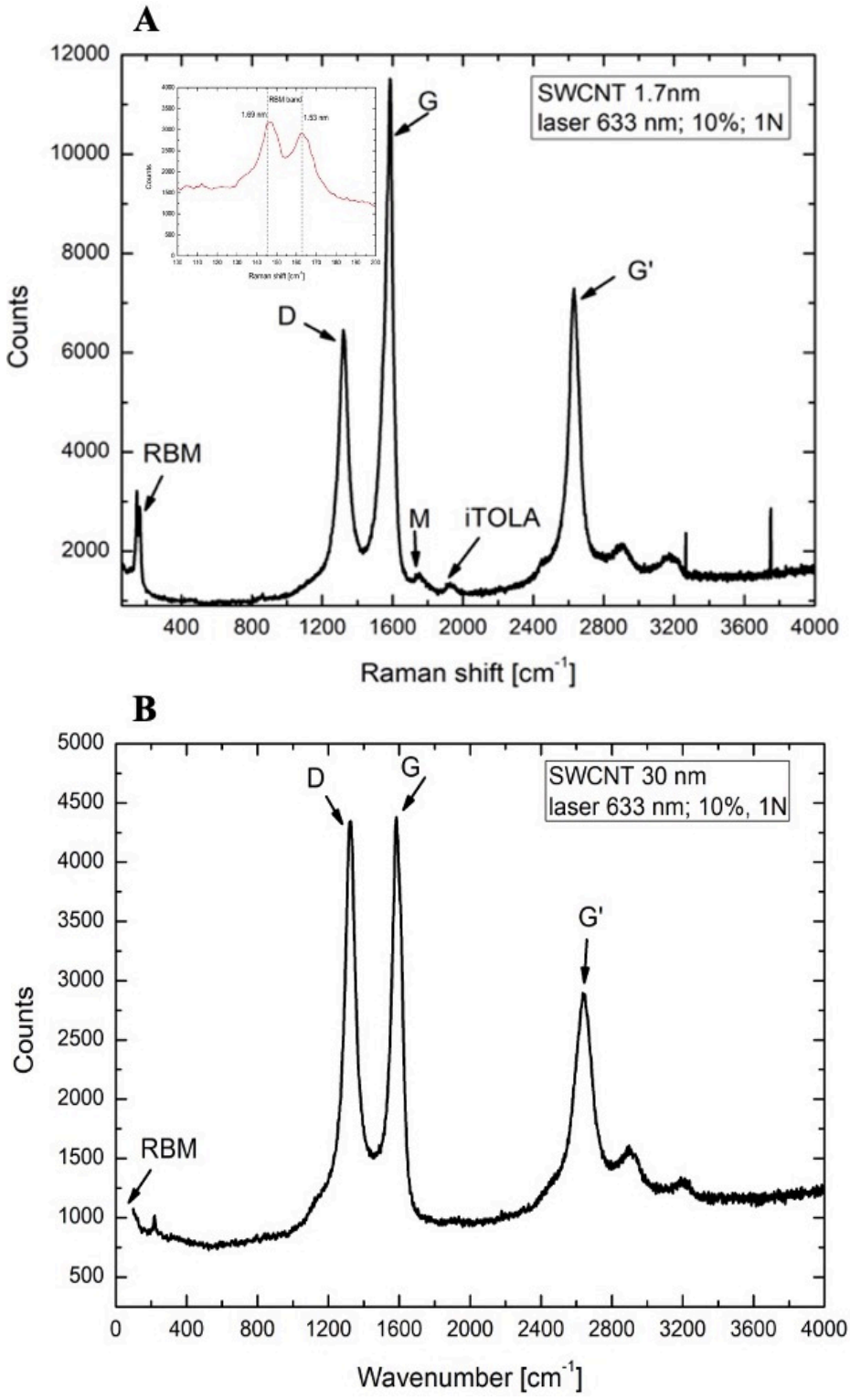
Przedstawiono eksperymentalne pomiary kąta zwilżania dla kilku cieczy zarówno na gładkich, jak i chropowatych mezoporowatych materiałach krzemionkowych oraz węglowych. Wykazano, że te zmierzone wartości są ściśle skorelowane z mikroskopowym parametrem zwilżania α_w, który mierzy zwilżalność w kategoriach podstawowych sił międzycząsteczkowych i jest najbardziej odpowiednią miarą w skali nano. Wartości kąta zwilżania zarówno dla mezoporowatych krzemionek jak i nanorurek węglowych są większe niż dla tej samej cieczy na gładkiej płaskiej powierzchni krzemionki dla wszystkich badanych przypadków. Zakładamy, że zwilżanie na chropowatych powierzchniach odbywa się za pomocą zmodyfikowanego mechanizmu Cassiego-Baxtera, w którym tylko część, f, frakcji cieczy jest w bezpośrednim kontakcie z ciałem stałym. Dla badanych mezoporowatych krzemionek przyjmuje ona wartości w zakresie: 0,78 - 0,86, natomiast dla materiałów węglowych 0,66 – 0,7. Parametr α_w wzrasta monotonicznie wraz ze wzrostem frakcji f, jak wynika ze zmodyfikowanego modelu zwilżania Cassiego-Baxtera na chropowatych powierzchniach.

5.4.Analiza wyników uzyskanych metodą spektroskopii Ramana

Mikrostrukturę SWCNT badano za pomocą spektroskopii Ramana przy użyciu konfokalnego mikroskopu Ramana InVia Renishaw. Widmo rozpraszania Ramana było wzbudzane laserem o długości fali 488 nm, 514 nm i 633 nm. Wiązka została skupiona na próbkach za pomocą obiektywu mikroskopowego 50 × z aperturą numeryczną 0,4. Próbki mierzono w geometrii rozpraszania wstecznego z rozdzielczością spektralną 1,0 cm^{-1}. Zastosowano moc lasera od 5% do 10%. Wszystkie pomiary wykonano w temperaturze pokojowej w warunkach ciśnienia normalnego. Próbki mierzono za pomocą spektroskopii Ramana przy trzech energiach lasera EL: 2,41, 1,96 i 1,58 eV. Dla trzech różnych energii wzbudzono nanorurki w próbce, które rezonują z energią lasera wzbudzającego.

Spektroskopia Ramana jest potężnym narzędziem do badania właściwości wibracyjnych i struktur elektronowych CNT, w szczególności do charakteryzowania średnic CNT i jakości próbek. Za pomocą spektroskopii Ramana można scharakteryzować różne materiały węglowe, w tym jednościenne (SWCNT).

Na rysunku 53 przedstawiono typowe widmo Ramana w temperaturze pokojowej dla SWCNTs (d = 1,7 nm) i SWCNTs (d = 30 nm) przy wzbudzeniu laserem He-Ne o energii wzbudzenia 1,96 eV (λ = 633 nm).



Rysunek 47 (a) Widmo Ramana jednościennych nanorurek węglowych o średnicy 1,7 nm, (b) Widma Ramana jednościennych nanorurek węglowych o średnicy 30 nm

Obserwujemy trzy najbardziej znaczące piki w widmie Ramana. Dla SWCNTS o średnicy 1,7 nm przedstawionego na rysunku 53(a), pierwsze pasmo występujące w obszarze 1 - 400 cm^{-1} jest modem RBM, który pochodzi z "ruchu oddechowego" nanorurki. Zależy on od średnicy rurki (d) zgodnie z równaniem (17). Większość wyników eksperymentalnych RBM w literaturze została dopasowana do tej zależności [181]. Aby obliczyć średnicę jednościennych nanorurek węglowych, należy przeanalizować tryb RBM dla kilku różnych energii lasera. Na rysunku 53 zaznaczono radialny tryb oddychania, który odpowiada rozszerzaniu i kurczeniu się średnicy nanorurek węglowych. Jak wynika z rysunku 53(a) dla SWCNTs (1.7nm), wartość RBM wynosi 146 cm^{-1} i 162 cm^{-1}; podstawiając te dane do wzoru (17), otrzymujemy odpowiednio średnice d = 1.69 nm i d = 1.53 nm. Wartości te są bardzo zbliżone do siebie, co świadczy o jednorodnej strukturze nanorurek węglowych użytych w eksperymencie. Ponadto ważne jest, że intensywność piku RBM jest funkcją energii wzbudzenia i dowodzi, że światło padające lub rozproszone jest w rezonansie z energiami przejścia optycznego SWCNTs. Na rysunku 53(b) przedstawiono widmo Ramana jednościennych nanorurek węglowych o średnicy 30 nm. Na podstawie tych danych nie możemy oszacować średnicy CNT, ponieważ mod RBM zwykle występuje w zakresie długości fali poniżej 10 cm^{-1} i nie jest widoczny na widmie.

Głównymi cechami widm ramana węgli są piki G występujące w zakresie 1480-1580 cm^{-1} oraz pasmo D, które występuje w zakresie 1320 - 1440 cm^{-1}. Pasmo D pochodzi z defektów strukturalnych nanorurek. Jest to sygnatura zaburzeń w materiałach węglowych z hybrydyzacją sp^2. Jest on widoczny w widmie Ramana jako proces podwójnego rezonansu Ramana wywołany zaburzeniami, który powoduje drgania oddechowe grafitu w płaszczyźnie (A_{1g} symetria). Na rysunku 53 intensywność piku D wzrasta wraz ze wzrostem uszkodzeń na powierzchni SWCNT i pozwala ocenić niedoskonałości strukturalne powierzchni. Pik G jest związany z rozciąganiem wiązania C-C (hybrydyzacja węgla sp^2) w płaszczyźnie grafitu (E_{2g} symetria). Intensywność tego piku określa stopień grafityzacji próbki. Pasmo G jest sygnaturą Ramana dla wszystkich materiałów węglowych sp^2 i jest obserwowane jako pik lub wiele pików w widmie Ramana. Pasmo G dla SWCNT ma bardziej złożony charakter widmowy ze względu na zwinięcie arkusza grafenu w SWCNT i efekty łamania symetrii związane z krzywizną nanorurek. W tym przypadku pasmo G dzieli się głównie na G_+ i G_-, które są związane z drganiami atomowymi wzdłuż (LO) i prostopadle (TO) do osi rurki (fałdowania).

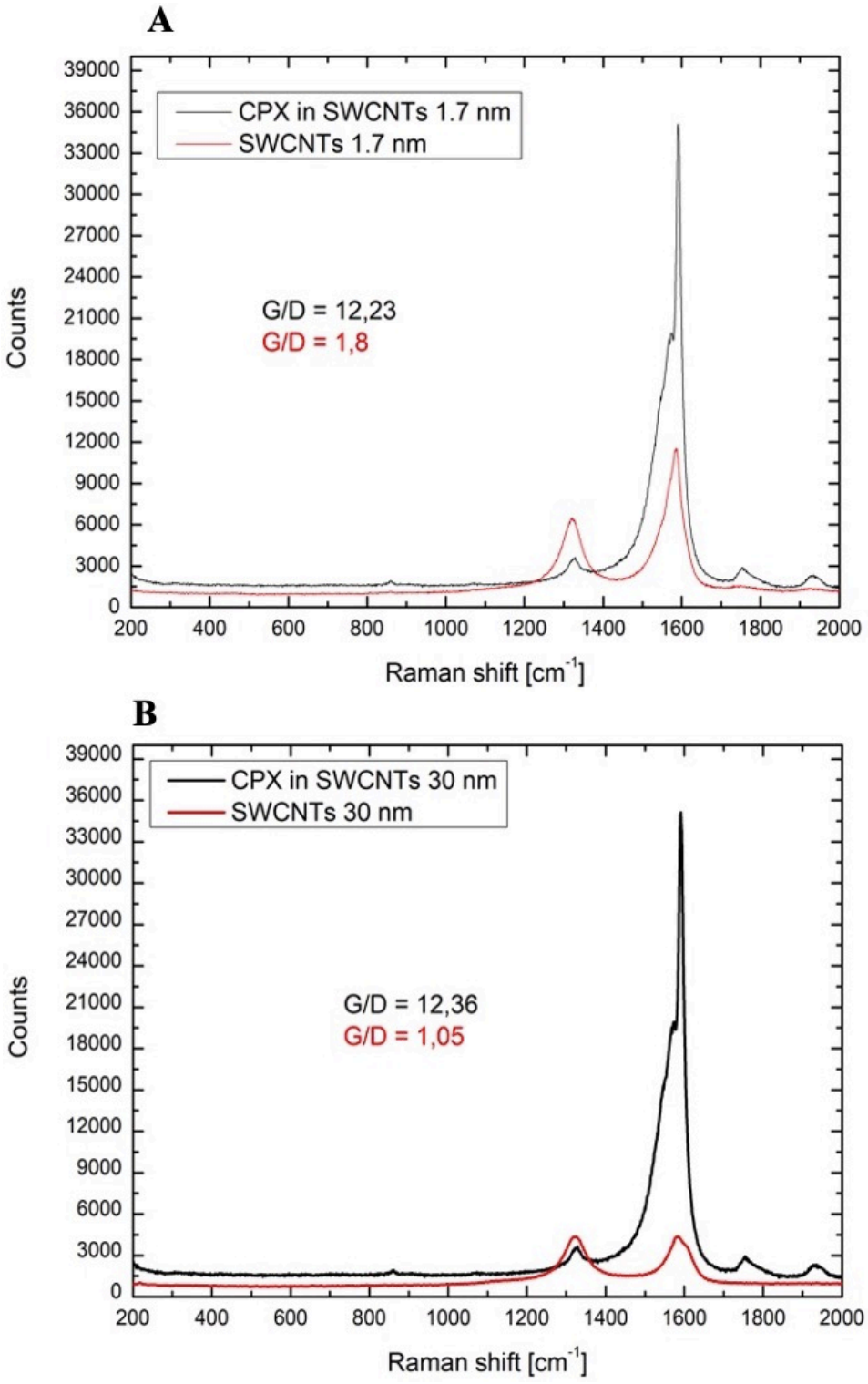
Stosunek intensywności pasma G do pasma D (stosunek G / D) wskazuje liczbę defektów w CNT. Jeśli stosunek G / D ma dużą wartość, można stwierdzić, że CNT mają tylko kilka defektów, a jeśli stosunek G/D jest mały – w strukturze występuje wiele defektów. Jak wynika z rysunku 53(a), dla SWCNTs o średnicy 1,7 nm pik pasma D wynosi 1350 cm^{-1}, a pik pasma G wynosi 1590 cm^{-1}, więc stosunek G/D wynosi 1,8. Stosunek ten jest duży (większy niż 1), więc zakładamy, że węglowe SWCNT (1,7 nm) mają wysoko uporządkowaną strukturę. Na rysunku 53(b) dla SWCNTs o średnicy 30 nm, zauważamy wysoką intensywność piku D, co wskazuje na wysoce zdefektowaną strukturę SWCNTs. Stosunek G/D wynosi 1,05, więc możemy założyć, że struktura jest bardziej amorficzna. Zatem SWCNTs (30 nm) są bardziej zdefektowane niż SWCNTs (1,7 nm).

Na podstawie wykresu Kataury możemy oszacować strukturę elektronową nanorurek węglowych, która determinuje ich właściwości optyczne. Istnieje kilka możliwości zwinięcia sieci grafenowej w zależności od ich struktury geometrycznej zdefiniowanej jako chiralność ze współczynnikiem (m, n), która może determinować właściwości elektroniczne nanorurek.

Analiza naszych pomiarów z trzema różnymi energiami lasera wskazuje, że SWCNT o średnicy 1,7 nm posiadają metaliczną strukturę elektronową. Można zauważyć, że dodatkowe pasma w widmach Ramana pochodzą od nadtonów. Mod G'(2D) to harmoniczna pochodna piku D występująca w okolicy liczby falowej 2650 cm^{-1} (nadton pasma D). Obecnie pik G' jest często używany do określenia liczby warstw w graficie. Dla SWCNTs (1.7nm) pik ten jest intensywny i ostry, wskazuje na istnienie niewielkiej liczby warstw grafenowych w układzie.

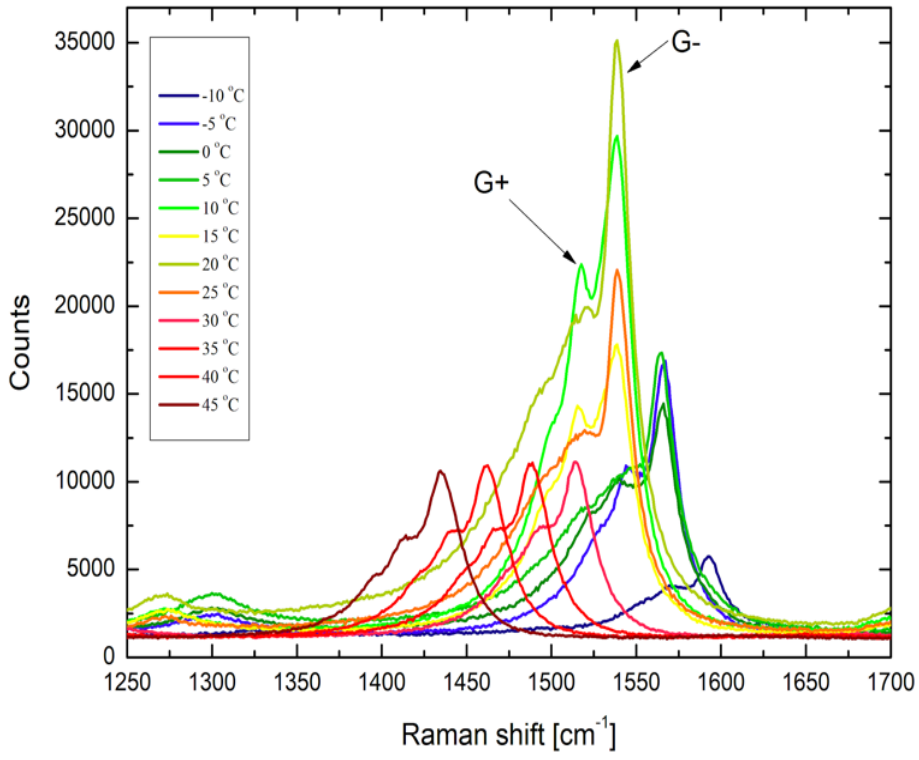
Na podstawie wykresu Kataury dla CNTs dla trzech różnych energii lasera możemy oszacować, że SWCNTs o średnicy 30 nm wykazują półprzewodzące właściwości elektryczne.

Przeprowadziliśmy również pomiary spektroskopii Ramana dla jednościennych nanorurek węglowych o średnicy 1,7 nm z wodnym roztworem ciprofloksacyny (1mg/ml) zaadsorbowanym w tych porach. Na Rysunku 54 przedstawiono widmo Ramana SWCNTs i widmo SWCNTs wypełnionych wodnym roztworem ciprofloksacyny (1mg/ml). Dla widma SWCNTs wypełnionych roztworem ciprofloksacyny obserwuje się dwa wyraźne piki pochodzące z pasm D i G. Obserwujemy ekstremalny wzrost intensywności pasma G dla układu CPX-SWCNTs i spadek intensywności dla pasma D.



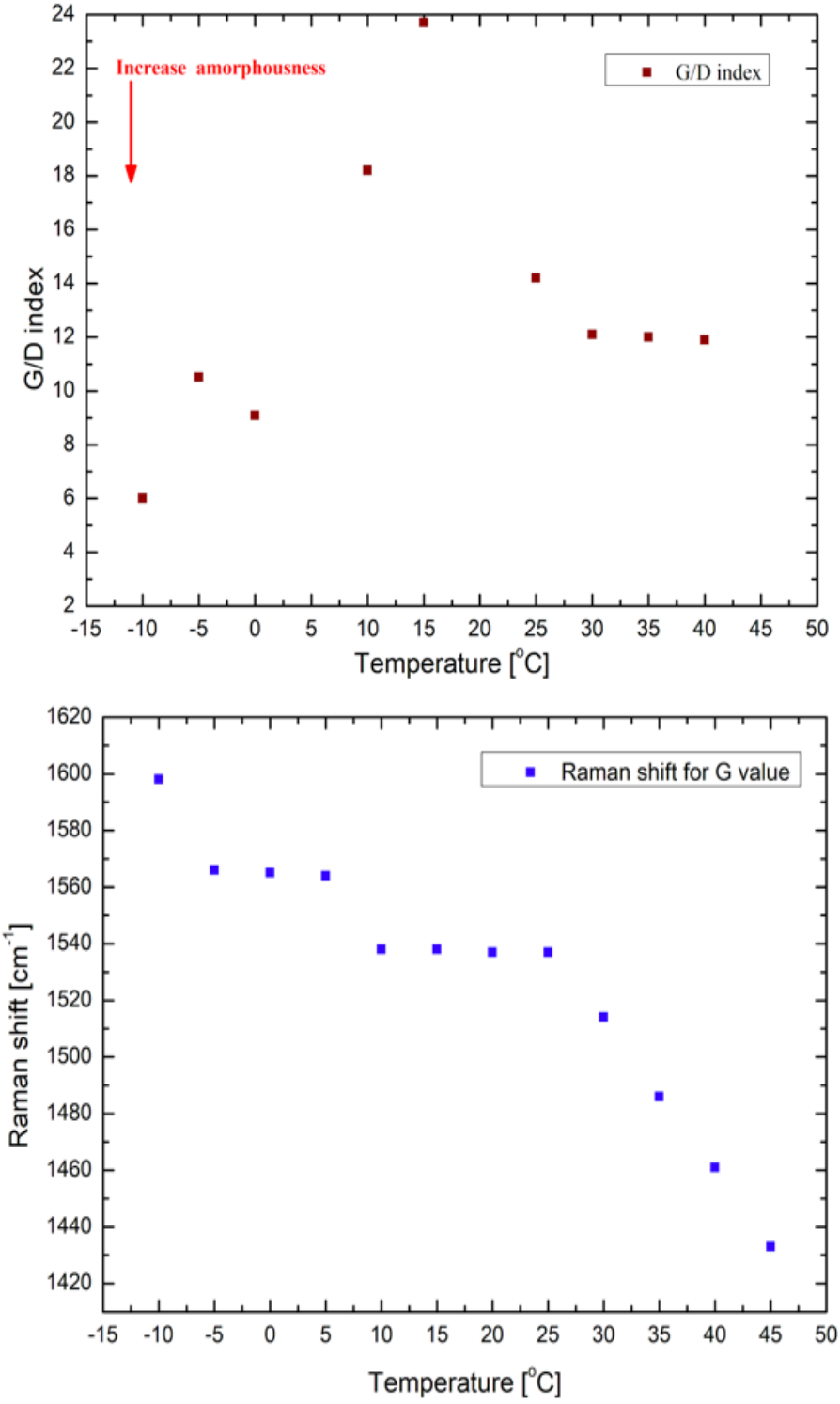
Rysunek 48 (a) Widma Ramana jednościennych nanorurek węglowych o średnicy 1,7 nm i nanorurek węglowych wypełnionych wodnym roztworem ciprofloksacyny w temperaturze pokojowej; (b) Widma Ramana jednościennych nanorurek węglowych o średnicy 30 nm i nanorurek węglowych wypełnionych wodnym roztworem ciprofloksacyny w temperaturze pokojowej.

Dla SWCNTS 1.7 nm wypełnionych antybiotykiem przedstawionych na rysunku 54(a) obliczony stosunek G/D wynosi 12,23 i jest prawie 7 razy większy niż dla czystych SWCNTs, gdzie obliczony stosunek G/D wynosi 1,8. Na podstawie tych pomiarów możemy założyć, że wodny roztwór ciprofloksacyny zamknięty w nanorurkach węglowych generuje uporządkowanie w układzie SWCNTs. Prowadzi to do wzmocnienia drgań występujących wewnątrz SWCNT. Podobny efekt zaobserwowano na podstawie widma Ramana SWCNTs (30nm) wypełnionych wodnym roztworem ciprofloksacyny przedstawionym na rysunku 54(b). Obserwujemy znaczny wzrost stosunku G/D dla tego układu, w porównaniu do czystych SWCNTs (30nm) jest on 12 razy większy. Wskazuje to na zmianę amorficznej natury układu. Możemy wnioskować, że dodanie wodnego roztworu CPX powoduje zmniejszenie amorficzności nanoporowatych matryc węglowych. Aby zbadać zależne od temperatury zachowanie pasma G w metalicznych SWCNTs, przeprowadziliśmy charakterystykę Ramana w różnych temperaturach, w zakresie od – 10°C do 40°C; wyniki przedstawiono na rysunku 55. Podczas wzrostu temperatury, pozycje pików przesuwają się w kierunku niższej częstotliwości z powodu zmiany drgań wiązania C-C.



Rysunek 49 Widma Ramana nanorurek węglowych (średnica 1,7 nm) wypełnionych wodnym roztworem ciprofloksacyny w zakresie temperatur -10 °C do 45 °C

Na rysunku 55 obserwujemy też rozdzielenie się piku G na G_- i G_+. Zgodnie z wyjaśnieniem dokonanym przez Fouquet et al. [182] pik G_+ jest efektem drgań podłużnych półprzewodnikowej nanorurki węglowej, a pik G_- jest efektem drgań



Rysunek 50 Zależność temperaturowa stosunku G/D w SWCNTs (średnica 1,7 nm) wypełnionych wodnym roztworem ciprofloksacyny; (b) Przesunięcie Ramana w funkcji temperatury dla SWCNTs (średnica 1,7 nm) wypełnionych wodnym roztworem ciprofloksacyny

podłużnych metalicznej nanorurki węglowej. Ewolucja temperaturowa trybu G^- wskazuje na siłę sprzężenia elektronowo-fononowego.

Obserwujemy przesunięcie Ramana pasma G w funkcji temperatury. W zakresie temperatur od – 10°C do 0°C szybkość przesunięcia Ramana jest mniejsza niż dla wyższych temperatur. Może to być związane ze zmianami geometrycznymi w strukturze nanorurek węglowych i wskazywać, że wpływ temperatury odgrywa coraz większą rolę. W literaturze [183] wykazano, że pod wpływem sił zewnętrznych zmienia się struktura geometryczna SWCNT, co dodatkowo wpływa na strukturę elektronową i właściwości fononowe SWCNT. Zmiana częstotliwości Ramana jest spowodowana wpływem różnych naprężeń, np. deformacji jednoosiowej, deformacji skrętnej, deformacji promieniowej i deformacji zginającej. Stwierdzono, że w zależności od różnych zmian strukturalnych, widma Ramana SWCNT mają różne reakcje na każdą z tych deformacji.

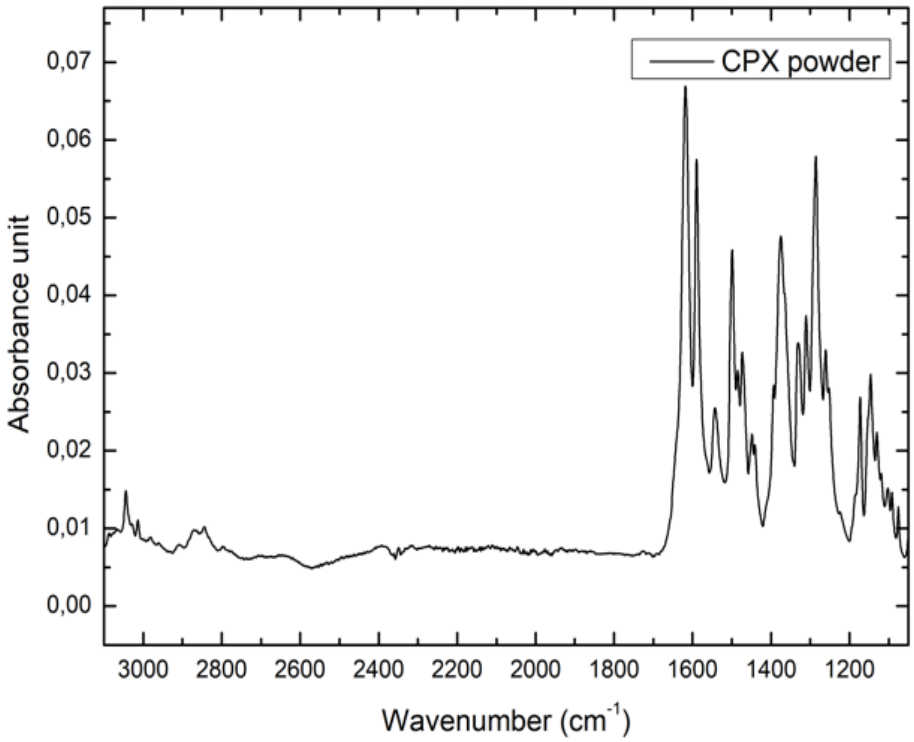
Na rysunku 56 (a) przedstawiono temperaturową zależność stosunku G/D w SWCNTs (średnica 1,7 nm) wypełnionych wodnym roztworem ciprofloksacyny. Najwyższa wartość stosunku G/D obserwowana jest w temperaturze w zakresie około 20°C – 30°C; sugeruje to, że w tym zakresie temperatur struktura układu jest najbardziej uporządkowana (stabilna). Powyżej 30°C niższy stosunek G/D wskazuje na wzrost amorficzności nanorurek węglowych, poprawiając w ten sposób ich zdolność do biokompatybilności. Jak widać na rysunku 56 (b), wpływ temperatury ma duże znaczenie dla zmiany struktury nanorurek wypełnionych wodnym roztworem CPX. Nawet stosunkowo niewielkie zmiany temperatury powodują zmianę struktury CNT, a co za tym idzie zmianę ich amorficzności.

5.5.Analiza wyników uzyskanych metodą spektroskopii podczerwieni

Analizę badanych układów metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR) przeprowadzono za pomocą spektrofotometru IFS-66 Bruker metodą ATR. Detektor został starannie oczyszczony etanolem w celu zwiększenia sygnału i zmniejszenia wilgoci. Widma zostały zebrane w zakresie od 400 cm^{-1} do 4000 cm^{-1} z rozdzielczością 2 cm^{-1}. Wszystkie pomiary wykonano w temperaturze pokojowej. Wynikowy sygnał w detektorze przedstawia widmo, zwykle od 4000 cm^{-1} do 400 cm^{-1}, reprezentując molekularny „odcisk palca” próbki, dzięki czemu analiza FT-IR jest doskonałym narzędziem do identyfikacji chemicznej substancji. Wiązka podczerwieni

powoduje oscylacyjne wzbudzenie kowalencyjnie związanej grupy atomów. Odpowiada ona przejściom między wibracyjnymi poziomami energii cząsteczki, obejmującymi rozciąganie lub zginanie jej wiązań. Typowy obszar długości fali dla FT-IR wynosi od 2,5 do 15 μm, co wyraża się jako zakres liczby falowej 4000 - 666 cm^{-1} i jest najbardziej odpowiedni do badania drgań molekularnych.

Analizę spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR) przeprowadzono dla wodnego roztworu ciprofloksacyny i wodnego roztworu ciprofloksacyny umieszczonego w jednościennych nanorurkach węglowych o średnicy 1,7 nm i 30 nm przy użyciu spektrofotometru IFS-66 Bruker.



Rysunek 51 Widmo FT-IR ciprofloksacyny w formie proszku

Korzystając ze wzoru (18), wyznaczono niektóre wiązania w molekule ciprofloksacyny. Zauważono również charakterystyczne piki, które występują w regionie tzw. fingerprints (odcisk palców). Porównanie pików obliczonych i eksperymentalnych przedstawiono w tabeli 5.

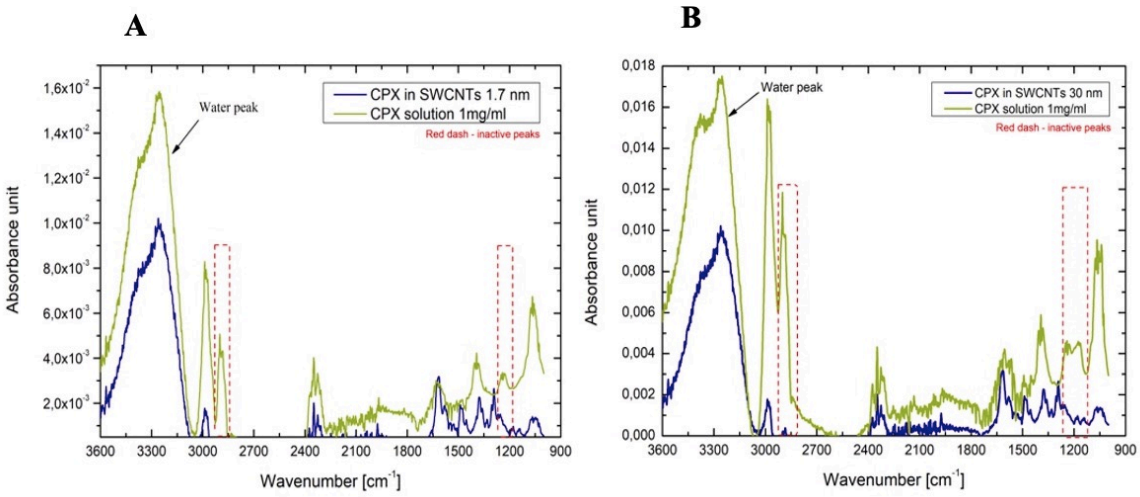
Na rysunku 58 przedstawiono widmo FT-IR dla wodnego roztworu ciprofloksacyny oraz roztwór ciprofloksacyny zaadsorbowany w nanorurkach węglowych o średnicy 1,7 nm i 30 nm.

Tabela 5 Porównanie pików zarejestrowanych w widmie spektroskopii podczerwieni ciprofloksacyny oraz obliczone z prawa Hooka (równanie 18) [145]

	Pik eksperymentalny [cm^{-1}]	**Pik z obliczeń [cm^{-1}]**
Stretching C(sp2)-H	3044	3032
Stretching C-O-H (carboxylic acid)	3011	3016
Stretching C(sp3)-H	2867	2900
$\boldsymbol{\delta}$N-H bending	1616	1621
Stretching C=O (carboxylic acid)	1589	1573
$\boldsymbol{\delta}$N-H bending	1499	1492
O-H bending (carboxylic acid)	1310	1300
Stretching C-O	1331	1313
Stretching C=C (aromatic)	1285	1268
Stretching C-C	1172	1189
Stretching N-C	1146	1146
Stretching C-F	1036	1074

W widmach FTIR wodnego roztworu ciprofloksacyny obserwujemy kilka charakterystycznych pików. Jeden szeroki pik w zakresie 3500 - 3450 cm^{-1} jest efektem drgań rozciągających O-H (międzycząsteczkowe wiązanie wodorowe). Kolejne pasmo w okolicy 3000-2950 cm^{-1} reprezentuje alkeny i aromatyczne wiązanie rozciągające C-H. Piki w zakresie 1750 - 1700 cm^{-1} reprezentują rozciągające karbonylowe wiązanie C=O,

podczas gdy pik 1650 - 1600 cm^{-1} odpowiada grupom chinolonowym. Pasma przy 1450 do 1400 cm^{-1} reprezentują drgania wiązania C-O, a przy 1300 - 1250 cm^{-1} drgania zginające grupy O-H, co wskazuje na obecność kwasu karboksylowego. Ponadto, silny pik absorpcji pomiędzy 1050, a 1000 cm^{-1} został przypisany grupie C-F.



Rysunek 52 (a) Porównanie widma wodnego roztworu CPX i CPX zaadsorbowanego w SWCNTs (1,7 nm); (b) Porównanie widma wodnego roztworu CPX i CPX zaadsorbowanego w SWCNTs (30 nm)

W widmach przedstawionych na rysunku 58(a) i (b) dla wodnego roztworu ciprofloksacyny zaadsorbowanego w SWCNTs o średnicy 1,7 nm i 30 nm, obserwujemy wygaszenie niektórych pików, wcześniej przypisanych wiązaniom dla wodnego roztworu ciprofloksacyny swobodnej. Piki te odpowiadają wiązaniom rozciągającym w rdzeniu cząsteczki, głównie C-C w pierścieniu aromatycznym. Obserwowane zjawisko może być spowodowane efektem ograniczenia wodnego roztworu CPX w nanorurkach węglowych, który dotyczy głównie wiązań w rdzeniu cząsteczki, np. wiązań C-C w pierścieniu aromatycznym. Porównanie pików, które występują w widmie spektroskopii podczerwieni dla ciprofloksacyny oraz jej roztworów umieszczonych w nanorurkach węglowych o średnicy 1.7 nm oraz 30 nm przedstawiono w tabeli 6.

Zgodnie z literaturą [98, 184-185], w małych porach o wymiarach nanometrów, ze względu na silny wpływ sił powierzchniowych w porach i zmniejszoną wymiarowość układu, zachowanie zamkniętego układu jest inne niż w makroskopowym układzie. W nanorurkach węglowych molekuła ustawia się w specyficzny sposób, tworząc warstwę kontaktową bezpośrednio przy ściankach porów oraz wewnątrz warstw porów, gdzie wpływ sił powierzchniowych jest znacznie mniejszy [186].

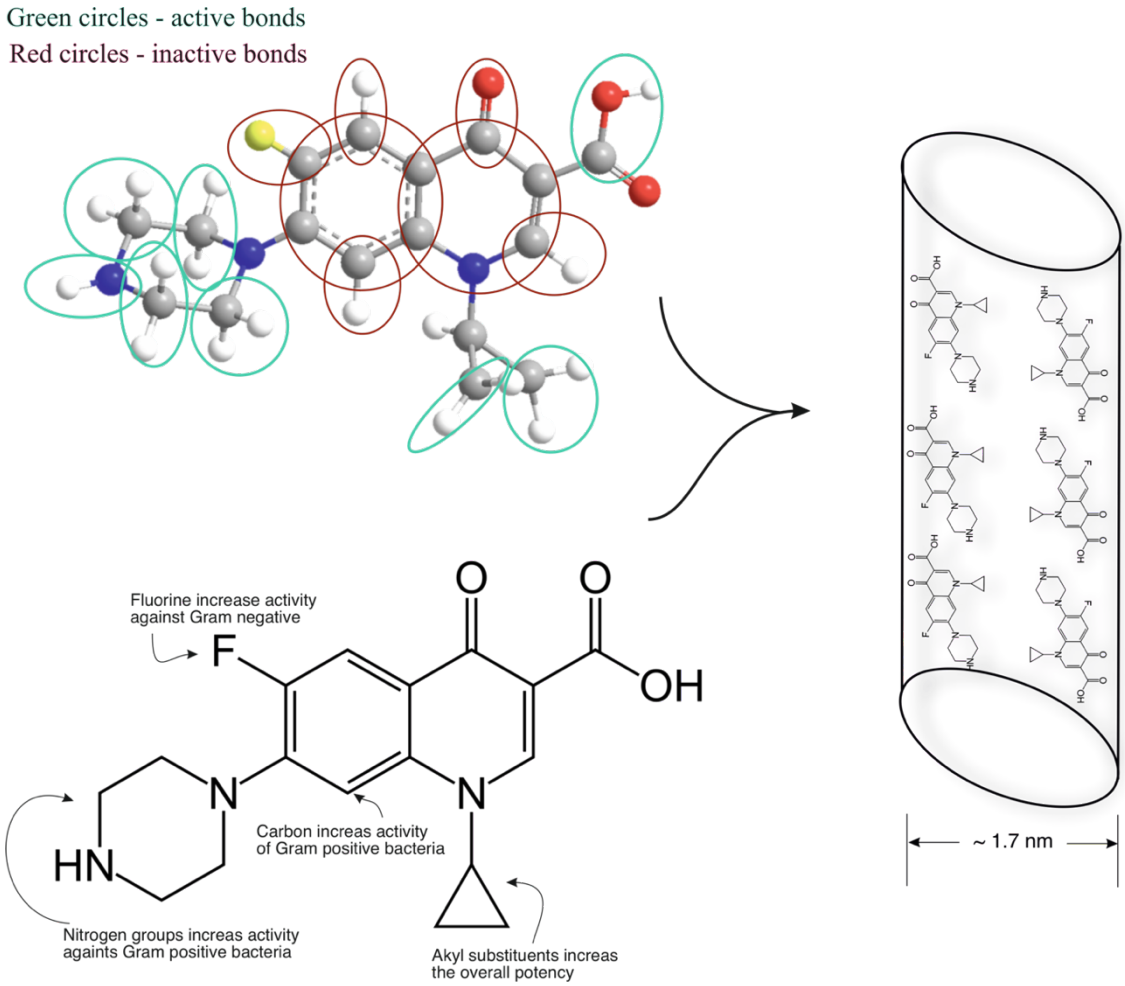
Tabela 6 Porównanie pików dla ciprofloksacyny oraz jej roztworów umieszczonych w nanorurkach węglowych o średnicy 1.7 nm oraz 30 nm

FT-IR peak [cm^{-1}]			Functional group assignment
CPX powder	CPX in 1.7 nm SWCNTs	CPX in 30 nm SWCNTs	
3044	-	-	Alkanes and aromatic C-H (sp^2) stretching
3011	2990	2990	Stretching C-O-H (carboxylic acid)
2867	2850	2850	C-H (sp^3) stretching
	2350	2350	
1616;1499	1640;1499	1640;1499	N-H bending vibration
1589	-	-	Stretching C=O (carboxylic acid)
1310	-	-	Bending O-H

Taka sytuacja może prowadzić do drastycznych zmian właściwości optycznych, przewodnictwa elektrycznego, struktury czy temperatury i charakteru przejść fazowych układów ograniczonych w stosunku do układów makroskopowych [187]. W badanym układzie istotną rolę odgrywają siły pomiędzy ściankami SWCNTs, a CPX. Na podstawie naszych eksperymentów FT-IR obserwujemy istnienie dwóch charakterystycznych zmian właściwości optycznych zaadsorbowanej ciprofloksacyny, tj. nieaktywnych wiązań C-C w rdzeniu CPX, co może być spowodowane silnym wpływem sił powierzchniowych ścianek nanorurek tworzących warstwę kontaktową w układzie zamkniętym. Druga zmiana dotyczy aktywnych wiązań, które mogą być zlokalizowane w wewnętrznej części nanorurki. Jak wynika z tabeli 6, wiązania aktywne zaobserwowane dla CPX w SWCNTs są tylko nieznacznie przesunięte w kierunku niższych częstotliwości w stosunku do CPX swobodnej, co może być spowodowane słabszym wpływem oddziaływań ścianek porów z tą częścią cząsteczki CPX.

Na podstawie naszych wyników FTIR możemy zaprojektować najbardziej prawdopodobne ułożenie cząsteczki ciprofloksacyny zamkniętej w jednościennych nanorurkach węglowych o średnicy 1,7 nm. Na rysunku 59 przedstawiono schemat, który został zaproponowany na podstawie analizy pomiarów spektroskopii Ramana oraz podczerwieni. W strukturze ciprofloksacyny zostały przedstawione wiązanie, które w widmie podczerwonym zostają wygaszone (czerwone okręgi na rys. 59). Natomiast

zaznaczone na zielono wiązana, które są najważniejsze w mechanizmie bakteriobójczym są widoczne w widmie i nie ulegają wygaszeniu.



Rysunek 53 Ograniczenie działania wodnego roztworu ciprofloksacyny badane metodą FT-IR powoduje powstawanie grup funkcyjnych o aktywności przeciwdrobnoustrojowej, które mogą tworzyć wewnętrzne warstwy w nanorurkach węglowych. Chociaż ich widmo FT-IR jest przesunięte w kierunku wyższych częstotliwości co dowodzi ich dużej aktywności biologicznej

Możemy zasugerować, że wiązania wygasające sąsiadują bezpośrednio ze ścianami nanorurek węglowych (warstwa kontaktowa), podczas gdy wiązania zewnętrzne w cząsteczce ciprofloksacyny ustawiają się w kierunku wnętrza nanorurki. Jak wynika z naszych wyników FTIR, wiązania aktywne, które są kluczowe dla właściwości przeciwbakteryjnych ciprofloksacyny, zachowują swój charakter w warunkach ograniczenia. W szczególności grupa akylowa, która zwiększa ogólną siłę działania oraz bardzo aktywne wiązania azotowe przeciwko bakteriom Gram-dodatnim. Co więcej, przesunięcie liczby falowej pików do niższych wartości powoduje wzrost długości wiązania, co może być związane ze zmianą elektroujemności sąsiednich atomów.

5.6.Izoterma adsorpcyjna

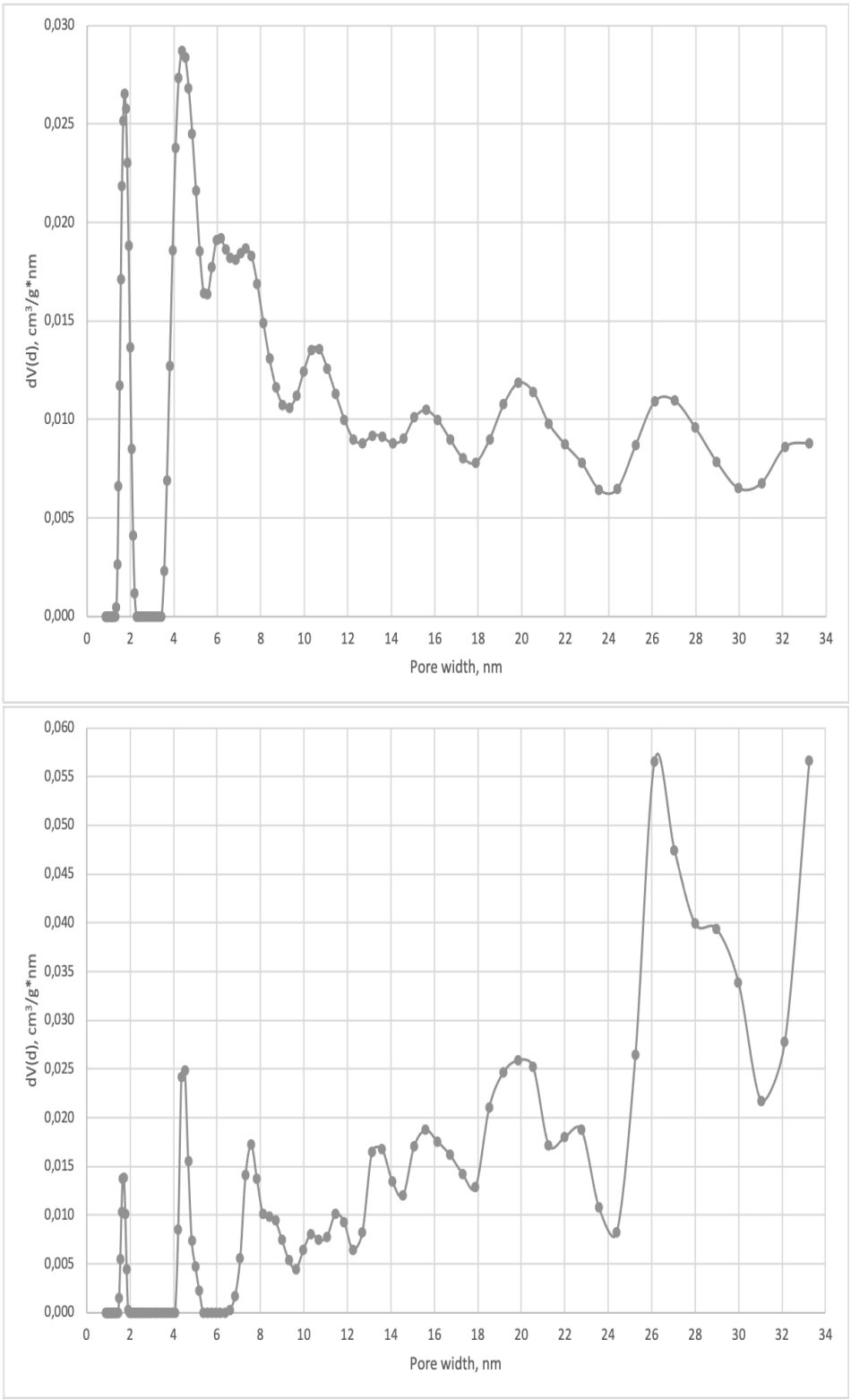
Pomiary izotermy adsorpcyjnej zostały wykonane w Zakładzie Chemii Stosowanej pod kierunkiem prof. dr hab. Izabeli Nowak. Pomiary niskotemperaturowej adsorpcji/desorpcji azotu przeprowadzono przy użyciu aparatu Quantachrome Autosorb iQ. Przed właściwym pomiarem próbki były odgazowywane w próżni w temperaturze 120 °C przez 24 godziny w celu usunięcia zanieczyszczeń zaadsorbowanych na powierzchni próbki. Izotermy sorpcji uzyskano w temperaturze ciekłego azotu (-196 °C), w zakresie ciśnienia względnego p/p_0 od 0,02 do 1,00.

Na rysunku 60 przedstawiono dystrybucję porów węglowych o średnicy podanej przez producenta 1,7 nm i 30 nm. Największy udział porów dla SWCNTs 1,7 nm jest w zakresie 1,5 – 1,7 nm oraz 4 – 4,5 nm. Natomiast dla porów 30 nm największy udział porów występuje w zakresie 26 – 30 nm oraz 33 nm.

Obliczenia powierzchni właściwej dokonano metodą BET (Brunauera-Emmetta-Tellera) w zakresie ciśnienia względnego p/p_0 od 0,1 do 0,30. Rozkład wielkości porów obliczony został z wykorzystaniem metody BJH oraz DFT:

I. Pomiar BJH (*Barrett-Joyner-Halenda*) - opiera się na równaniu Kelvina i uwzględnia dwa podstawowe założenia: po pierwsze kształt porów jest cylindryczny, a po drugie ilość zaadsorbowanego gazu wynika zarówno z fizycznej adsorpcji na ścianach porów, jak i kondensacji kapilarnej zachodzącej w mezoporach. Jednakże metoda ta nie opisuje w sposób właściwy materiałów typowo mikroporowatych, jak i tych o dużej ilości porów z pogranicza mikro- i mezoporów.
II. Pomiar DFT (*Density Functional Theory*) - metoda oparta o obliczenia kwantowo-mechaniczne, służąca do modelowania rozkładu i wielkości porów. Jest uważana za bardziej realistyczne i elastyczne podejście do obliczania rozkładu wielkości porów aniżeli stosowana do tej pory metoda BJH. W przypadku materiałów węglowych wariant NLDFT (*Non-Local Density Functional Theory*) zakłada pory bez dodatkowych połączeń tworzących sieć, ale z idealnymi ścianami grafitowymi. Z kolei wariant QSDFT (*Quenched Solid Density Functional Theory*) reprezentuje chropowatość i niejednorodność powierzchni ścian porów za pomocą jednego parametru. W przypadku

prowadzonych przez nas badań w ramach wariantu NLDFT wykorzystano model "N_2 at 77 K on carbon (NLDFT equilibrium model)" z kolei dla QSDFT - "N_2 at 77 K on carbon (QSDFT adsorption branch)".



Rysunek 54 Dystrybucja rozmiarów porów dla jednościennych nanorurek węglowych o wymiarach 1.7nm i 30 nm

Dla testów mikrobiologicznych najistotniejsze były pomiary objętościowe nanoporów węglowych. W tabeli 7 zestawiono porównanie analizy dla dwóch modeli QSDFT oraz QSDFT. W przypadku porów o wymiarach 1.7 nm różnica w objętości między dwoma modelami jest niewielka i wynosi 0,335 cc/g oraz 0,383 cc/g. Dla porów o średnicy 30 nm różnica dla dwóch modeli jest znacząca i wynosi odpowiednio 0,614 cc/g oraz 0,966 cc/g. Do badań użyto danych z modelu QSDFT, który zakłada, że pory są w kształcie cylindrów i reprezentuje chropowatość i niejednorodność powierzchni ścian porów za pomocą jednego parametru.

Tabela 7 Zestawienie powierzchni oraz objętości porów dla nanorurek węglowych o wymiarach 1.7nm oraz 30 nm.

	QSDFT	QSDFT equilibrium model
	CNT 1.7 nm	
Powierzchnia porów [m^2/g]	145,9	156,0
Objętość porów [cc/g]	0,335	0,383
	CNT 30 nm	
Powierzchnia porów [m^2/g]	145,0	147,5
Objętość porów [cc/g]	0,614	0,966

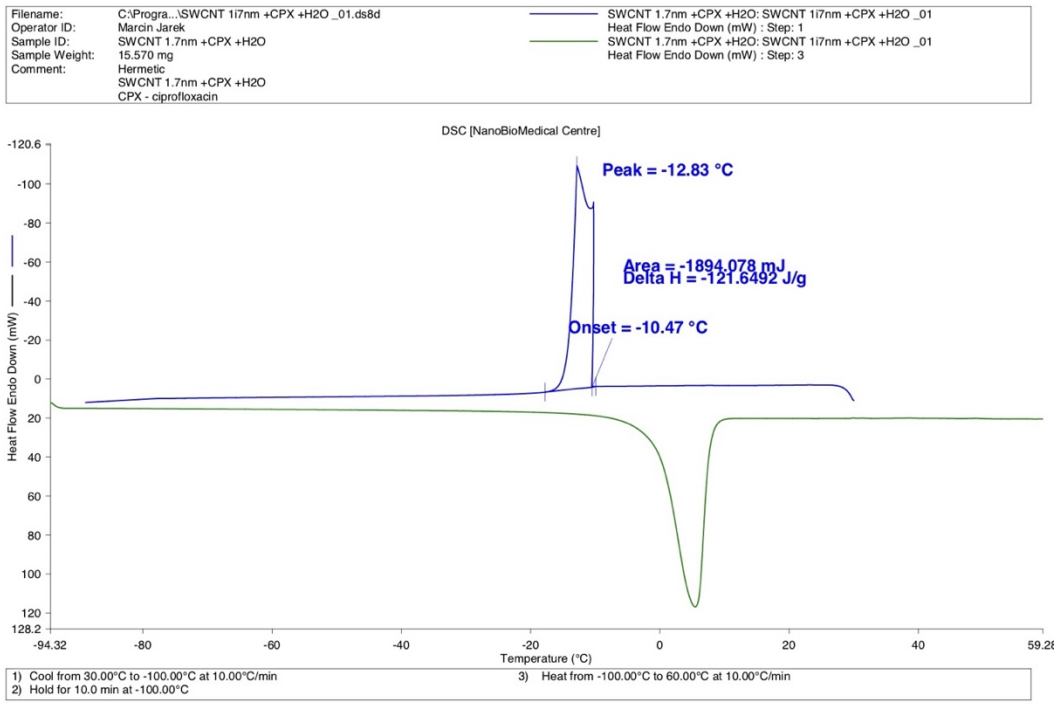
Określenie objętości porów było istotne dla oszacowania objętości leku umieszczonego w porach CNT. Oszacowanie zaadsorbowanej dawki leku do matryc porowatych jest niezbędne do porównania wpływu ograniczenia leku dla różnych matryc porowatych oraz wodnego roztworu ciprofloksacyny.

5.7. Wyniki pomiarów kalorymetrycznych

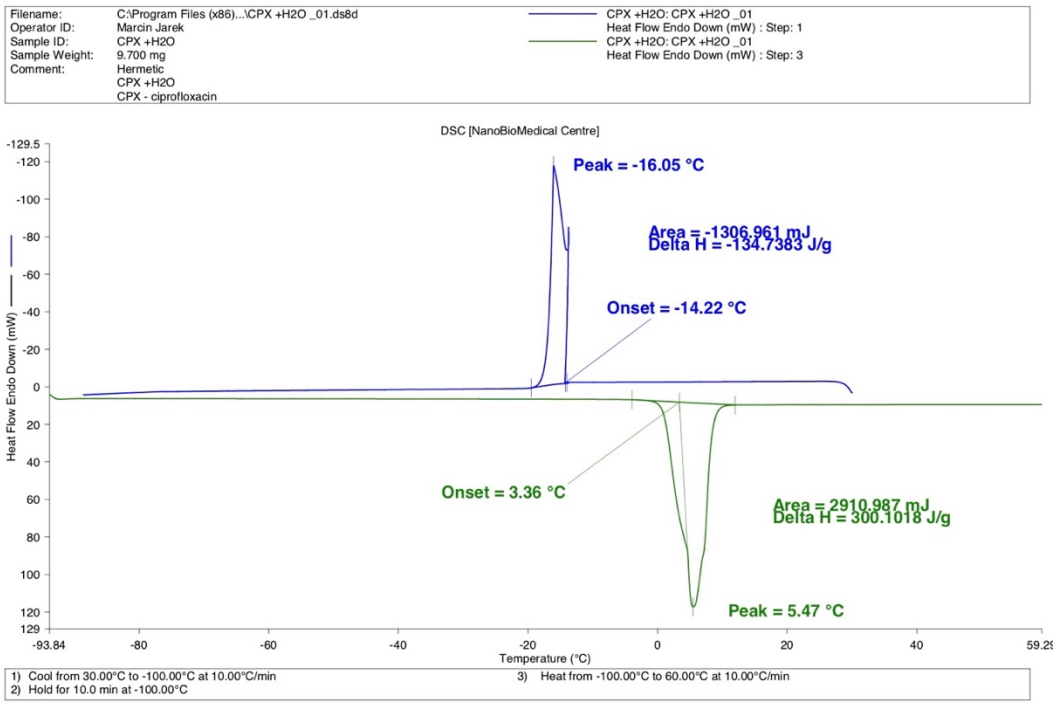
Analiza DSC została wykonana przy użyciu różnicowego kalorymetru skaningowego DSC 8000 (Perkin Elmer), gdzie precyzja pomiaru temperatury wynosiła 0,01°C. Próbki ciprofloksacyny zaadsorbowanej w porach węglowych oraz krzemionkowych dokładnie zważono oraz zamknięto w szczelnych pojemnikach. Po umieszczeniu kapsułek w urządzeniu pomiarowym rozpoczęto ich chłodzenie w zakresie temperatur 30°C - 100°C. Chłodzenie prowadzono w ten sposób, aby temperatury badanej

próbki i kontroli ciągle malały z szybkością 10°C/min. Następnie pomiar zatrzymano w temperaturze –100°C na 10 min. Po tym czasie rozpoczęto ogrzewanie w zakresie temperatur –100°C do 60°C. Ogrzewanie prowadzono w ten sposób, aby temperatury badanej próbki i kontroli ciągle rosły z szybkością 10 °C/min. Instrument mierzył różnicę w szybkości przepływu ciepła do badanej próbki w stosunku do próbki referencyjnej.

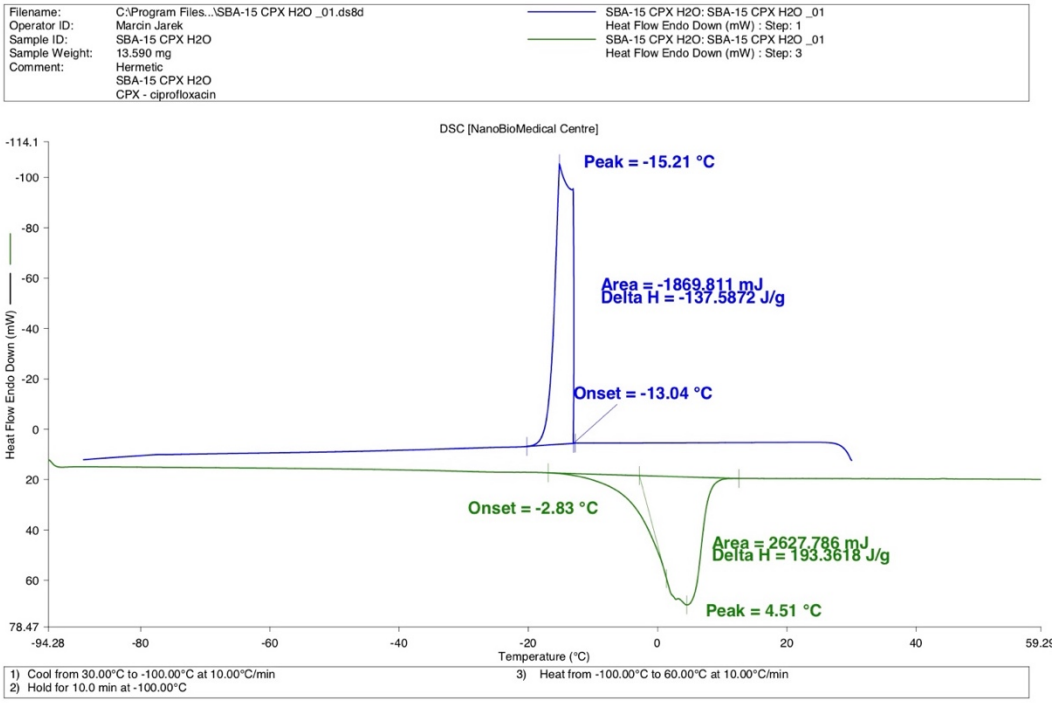
Na rysunkach 61–63 przedstawiono profile DSC dla roztworu ciprofloksacyny, roztworu ciprofloksacyny zaadsorbowanego w porach krzemionkowych SBA15 o wymiarach 5 nm oraz nanorukach węglowych o wymiarach 1,7 nm i 30 nm. Jak pokazano na profilach DSC badanych próbek pojawiają się dwa charakterystyczne piki. W trakcie procesu chłodzenia przy temperaturze w zakresie -16,05°C – 12,8°C obserwujemy egzotermiczny proces krystalizacji. Podczas grzania układu obserwujemy przemianę fazową w zakresie 4,5°C – 5,5°C, szybkość przepływu ciepła do próbki znacząco rośnie, co wskazuje na proces endotermiczny – proces topnienia.



Rysunek 55 Profil DSC dla wodnego roztworu ciprofloksacyny zaadsorbowanego w jednościennych nanorurkach węglowych o wymiarach 1,7 nm



Rysunek 56 Profil DSC dla wodnego roztworu ciprofloksacyny w stężeniu 1 mg/ml



Rysunek 57 Profil DSC dla wodnego roztworu ciprofloksacyny zaadsorbowanego w porach krzemionkowych SBA-15 o wymiarach 5 nm

Tabela 8 Zestawienie danych temperaturowych dla roztworu ciprofloksacyny oraz zaadsorbowanego roztworu ciprofloksacyny w porach krzemionkowych i węglowych

	Temperatura przejścia fazowego [°C]	Entalpia ΔH [J/g]	Powierzchnia piku [mJ]
Chłodzenie			
CPX+H20	-16.05	-134,7	1306,96
SWCNTs 1.7nm + CPX	-12.83	-121,65	-1894
SBA15 + CPX	-15.21	-137,59	-1869,81
Ogrzewanie			
CPX+H20	5,47	300,1	2910,99
SWCNTs 1.7nm + CPX	5	175	2800
SBA15 + CPX	4,51	193,36	2627,79

Pomiary DSC wykazały, że temperatura topnienia roztworu CPX w nanoporach ulega obniżeniu w porównaniu do substancji swobodnej. Wcześniejsze badania kąta zwilżania i parametru α_w wykazują, że im większa wartość parametru α_w tym większe obniżenie temperatury. Dla nanorurek węglowych 1,7 nm kąt zwilżania wynosi 89,5°, co odpowiada wartości parametru $\alpha_w = 0{,}5$. Natomiast dla krzemionki SBA15 kąt zwilżania wynosi 68,8°. a parametr $\alpha_w = 0{,}3$. Dla roztworów CPX zaadsorbowanych w matrycach porowatych następuje obniżenie temperatury topnienia ΔT w stosunku do cieczy swobodnych:

$$\Delta T = T_b - T_p \tag{25}$$

T_p – temperatura topnienia w porach

T_b – temperatura topnienia substancji swobodnej

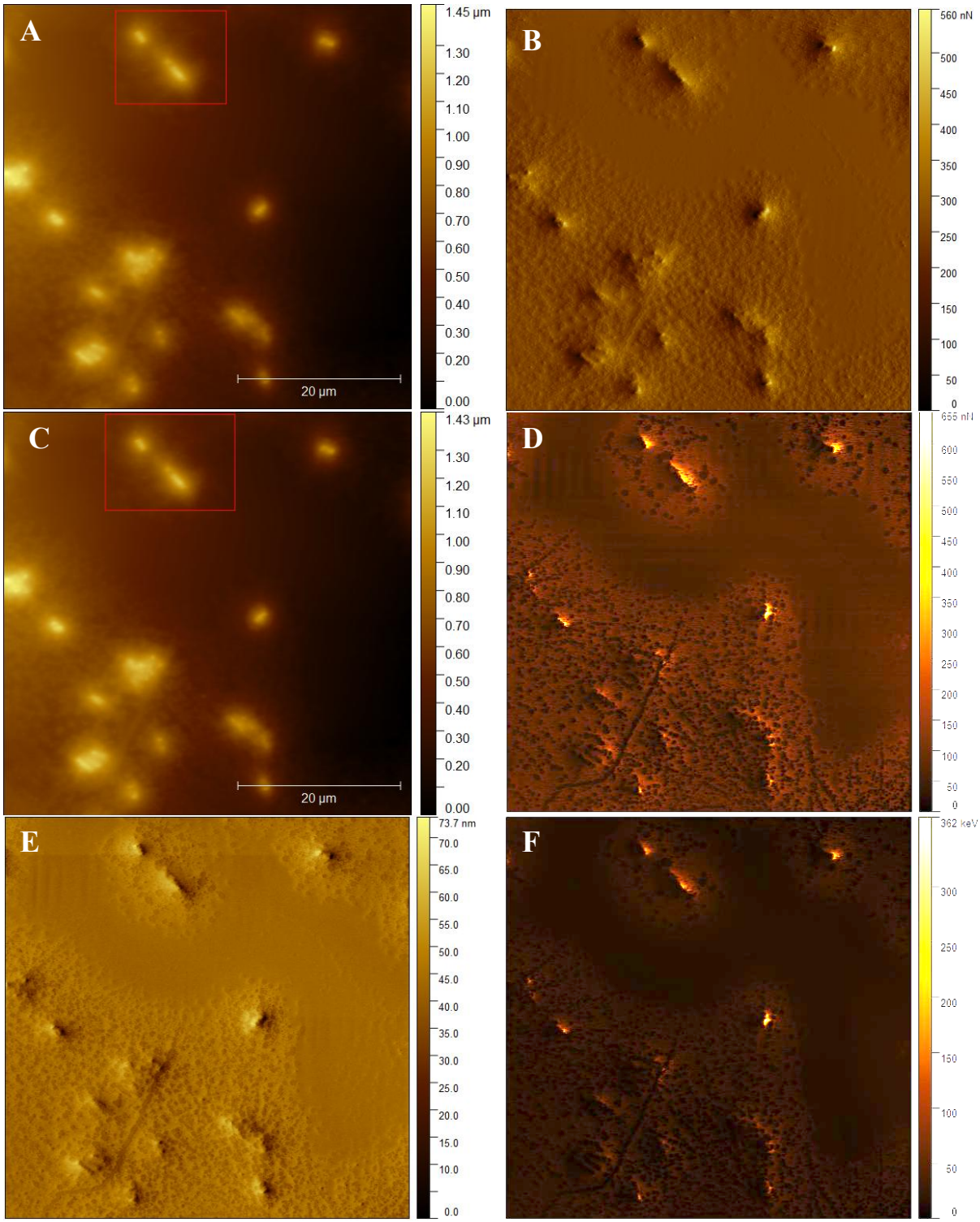
ΔT dla CPX w porach węglowych wynosi około 0,5°C, a w porach krzemionkowych około 1°C. Parametr α_w jest niższy dla SBA15, co skutkuje większym obniżeniem temperatury topnienia (o 1°C) w porach krzemionkowych. Natomiast dla porów węglowych parametr α_w jest wyższy, co skutkuje mniejszą zmianą temperatury topnienia

(0,5 °C) w stosunku do cieczy swobodnej. Większy parametr α_w dla matryc węglowych świadczy o silniejszym wpływie oddziaływań ścianka – ciecz na zjawisko przejścia fazowego w tych nanoporach.

5.8.Mikroskopia sił atomowych

Badania powierzchni przy użyciu mikroskopu sił atomowych zostały wykonane w Centrum Nanobiomedycznym w Poznaniu. Stosowany AFM miał zakres skanowania XY do 90 μm^2, Z do 11.6 μm, system optoelektryczny Closed-Loop stabilizujący pracę skanera przy utrzymaniu niskiego poziomu szumów, regulację temperatury od -10ºC do +250ºC. Dedykowany do pomiaru materiałów o dużej powierzchni. Zdjęcia AFM zostały procesowane oraz analizowane przy użyciu programu Gwyddion Version 2.65. Do badań wykorzystano sondy AFM scan asyst fluid o parametrach: wysokość tipa 2,5 – 8 μm, materiałem, z którego została wykonana igła był azotek krzemu, geometria trójkątna, grubość – 0,6 μm.

Celem badania było wykorzystanie możliwości oferowanych przez AFM w badaniu uszkodzeń morfologii bakterii wywołanych przez środek przeciwdrobnoustrojowy tj. jednościenne nanorurki węglowe oraz antybiotyk ciprofloksacyna. Przykład normalnej morfologii E. coli nie wystawionej na działanie żadnych substancji pokazano na rysunku 64. Na przedstawionych zdjęciach AFM w różnych modach widać gładką, nie uszkodzoną, bez deformacji strukturę bakterii E. Coli. Ciprofloksacyna indukuje śmierć E. coli, a rysunki 65 - 68 pokazują przykład zaobserwowanego rodzaju uszkodzenia prowadzącego do lizy bakterii. Drugi rodzaj uszkodzeń zaobserwowany w eksperymentach to spłaszczona pusta komórka z licznymi szorstkimi plamami na powierzchni, które są oznakami niewielkiej ilości cytoplazmy pozostałej po lizie i uwolnieniu większości zawartości wewnątrzkomórkowej. Można to uznać za kolejny krok w procesie uszkodzenia. Warto podkreślić fakt, że AFM ujawnia rzeczywistą chropowatość powierzchni otoczki bakteryjnej, którą inne rodzaje mikroskopii często pokazują jako stosunkowo gładką. Ponieważ obrazy AFM są pozyskiwane w formie cyfrowej, można je łatwo obracać w przestrzeni i obserwować z różnych punktów widzenia (od lewej do prawej strony w połączeniu z widokiem z góry i z dołu). Jest to przydatna funkcja, która umożliwia uzyskanie ogólnego obrazu i lepsze zrozumienie zmian, które inne techniki zazwyczaj pokazują tylko z jednej strony.



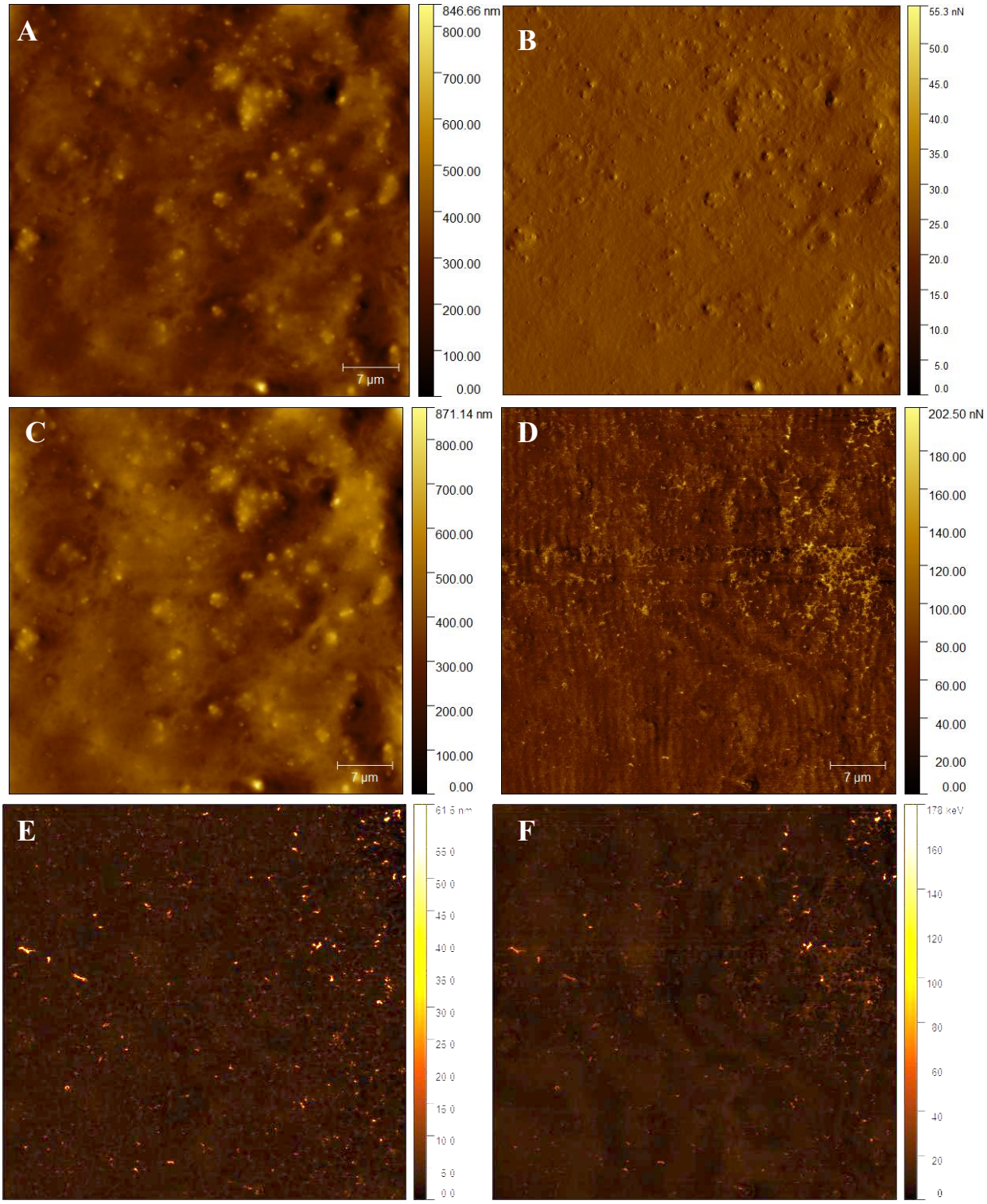
Rysunek 58 Obrazy AFM bakterii E. coli zdjęcie 2D A. Z-sensor mode B. Peak force error mode C. Height mode D. Adhesion mode E. Deformation F. Dissipation

Kolejnym wyjątkowym aspektem AFM jest fakt, że możliwe jest uzyskanie przekroju obrazu i precyzyjny pomiar wysokości i rozmiaru obserwowanych cech.

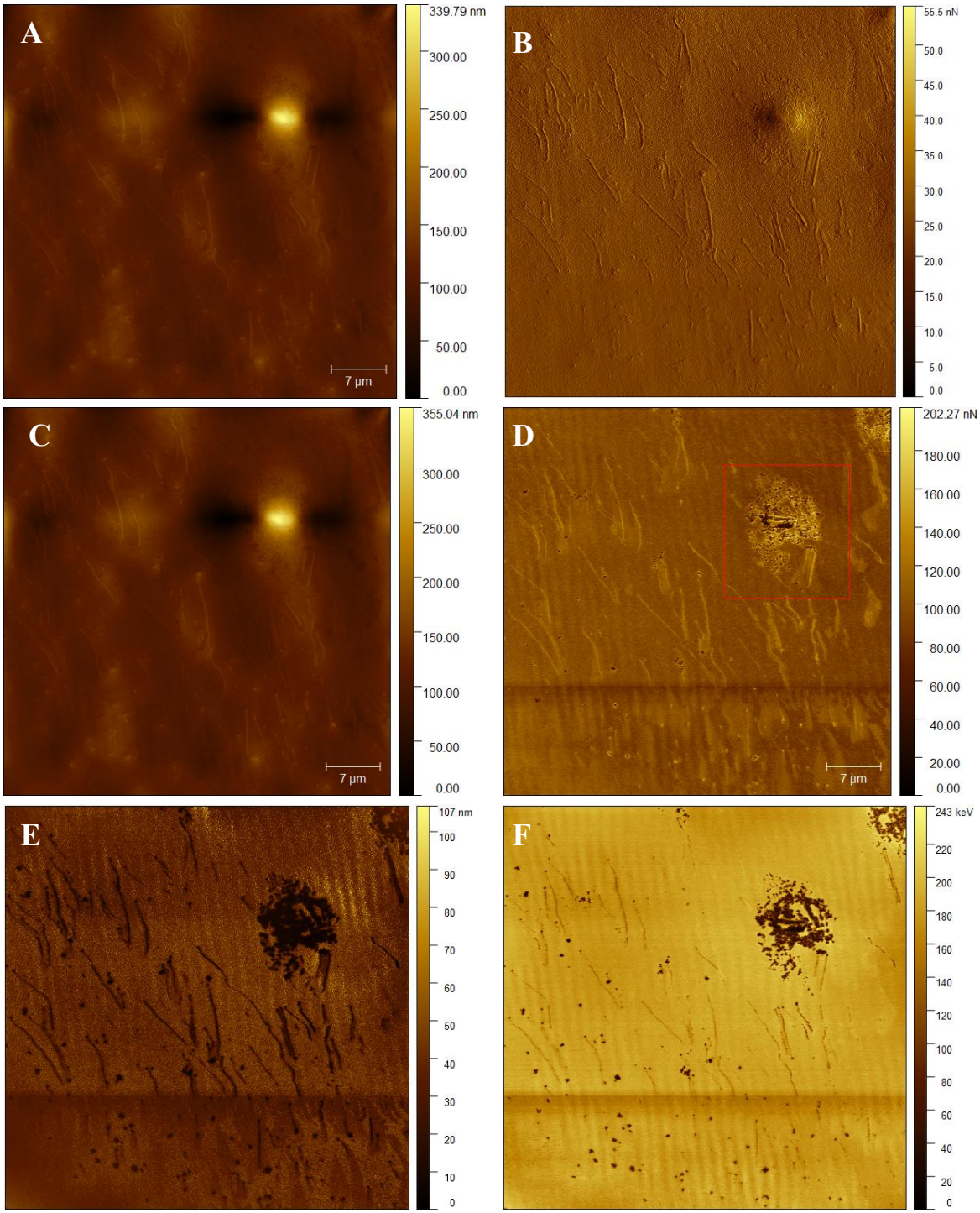
Na rysunku 65 – 66 przedstawiono strukturę bakterii E.coli w czasie 1 godziny oraz 3 godzin po zaaplikowaniu wodnego roztworu ciprofloksacyny. Powierzchnia komórek bakteryjnych stała się nierówna po inkubacji przez 60 minut. Ściana komórkowa zapadła się, a wysokość komórki zmniejszyła się, uwalniając cytoplazmę. Uszkodzenia komórki były bardziej widoczne i poważne po inkubacji komórki przez 180 minut; komórka była prawie spłaszczona, a cytoplazma znajdowała się wokół komórki.

Na rysunku 68 – 69 przedstawiono strukturę bakterii E.coli w czasie 1 godziny oraz 3 godziny po zaaplikowaniu wodnego roztworu ciprofloksacyny zaadsorbowanego w jednościennych nanorurkach węglowych o wymiarach porów 1,7 nm oraz 30 nm. Powierzchnia komórek bakteryjnych stała się nierówna po inkubacji przez 60 minut, jednak w przypadku umieszczenia ciprofloksacyny w nanorurkach węglowych proces destrukcji komórek bakteryjnych jest bardziej widoczny dopiero po 180 minutach ekspozycji. Jest to spowodowane wydłużonym działaniem leku oraz jego wolniejszym uwalnianiem z matryc porowatych. Obraz AFM potwierdził, że SWCNTs z zaadsorbowany lekiem mogą fragmentować błony bakteryjne, prowadząc do znacznego zmniejszenia ich objętości.

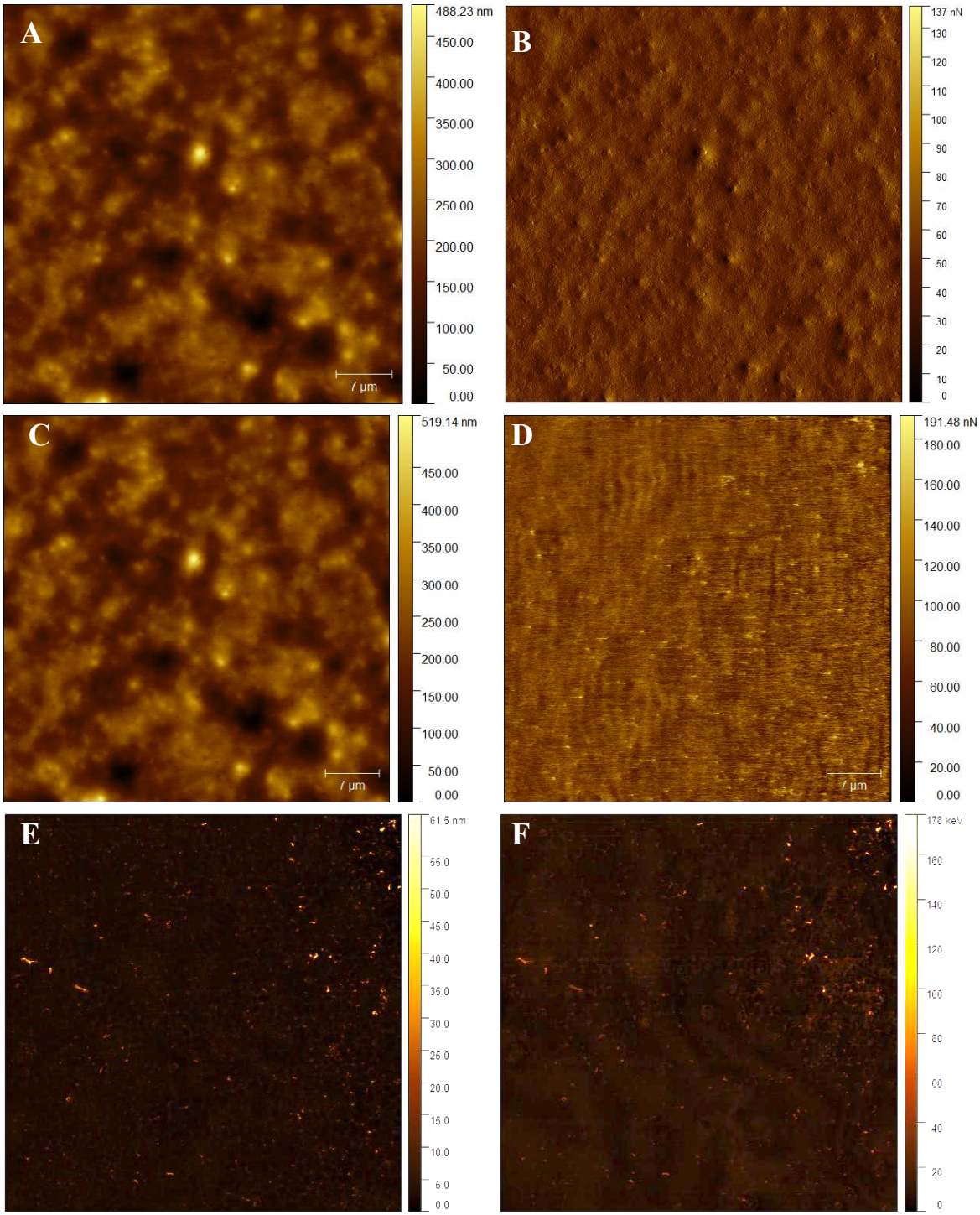
W tabeli 9 przedstawiono zestawienie wysokości oraz chropowatości komórek bakterii E. Coli niepotraktowanych środkiem antybakteryjnym oraz po aplikacji antybiotyku oraz antybiotyku umieszczonego w matrycach porowatych



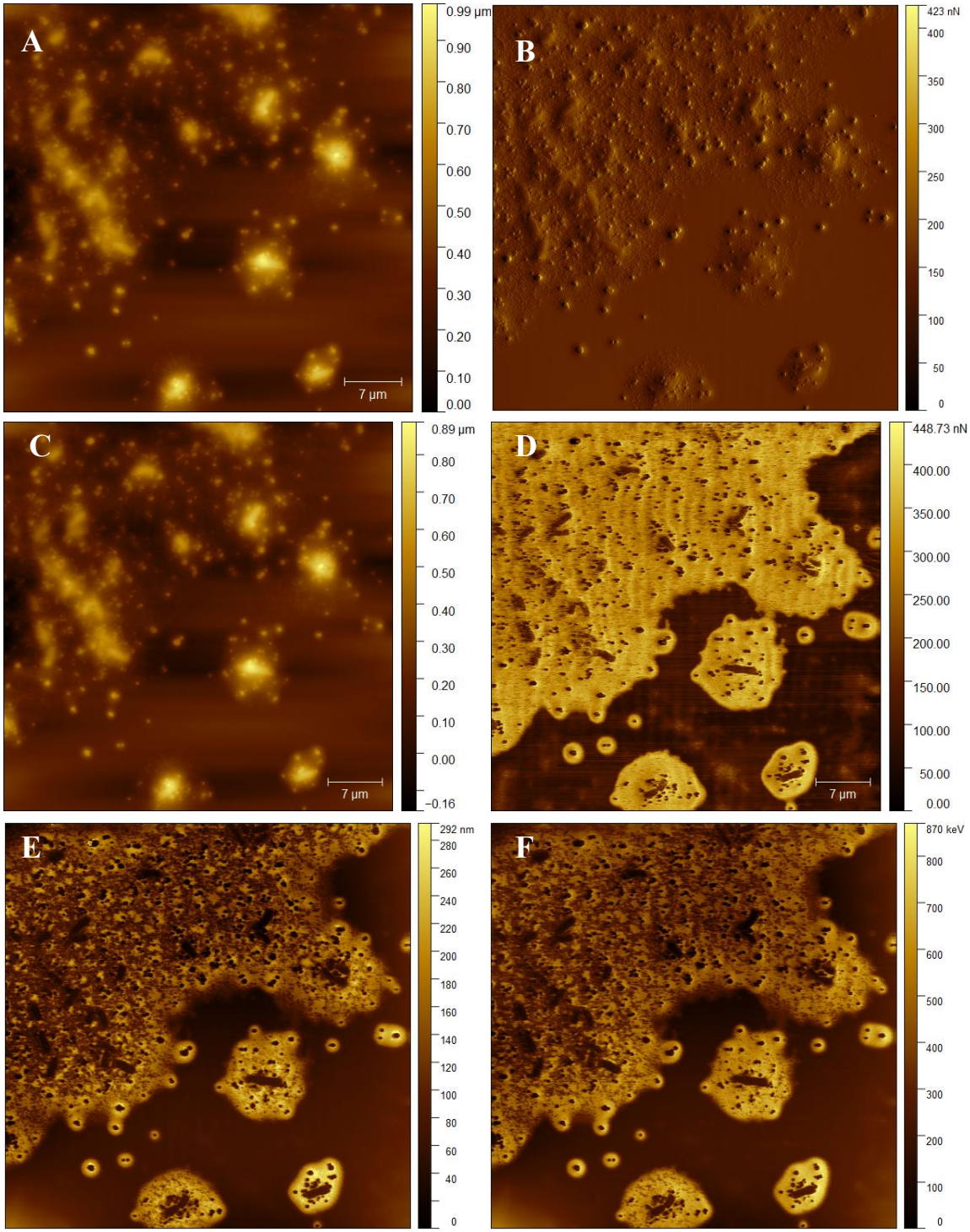
Rysunek 59 Obrazy AFM bakterii E. coli po zaaplikowaniu CPX - czas ok. 1h zdjęcie 2D A. Z-sensor mode B. Peak force error mode C. Height mode D. Adhesion mode E. Deformation F. Dissipation



Rysunek 60 Obrazy AFM bakterii E. coli po zaaplikowaniu CPX - czas ok. 3h zdjęcie 2D A. Z-sensor mode B. Peak force error mode C. Height mode D. Adhesion mode E. Deformation F. Dissipation



Rysunek 61 Obrazy AFM bakterii E. coli po zaaplikowaniu CPX z CNT- czas ok. 1h zdjęcie 2D A. Z-sensor mode B. Peak force error mode C. Height mode D. Adhesion mode E. Deformation F. Dissipation



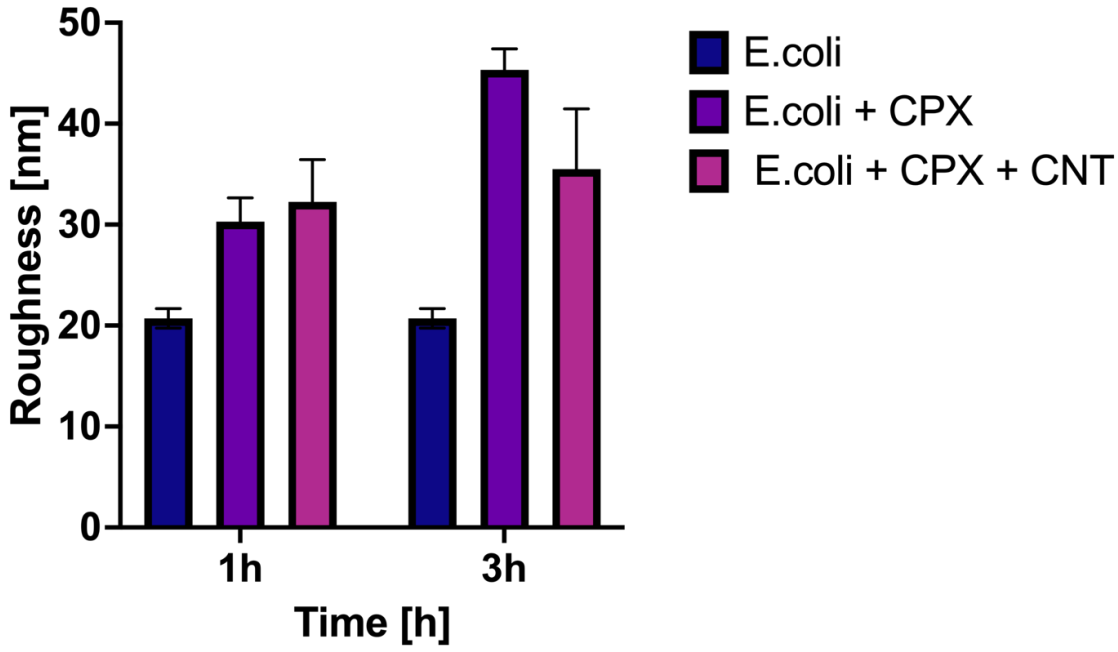
Rysunek 62 Obrazy AFM bakterii E. coli po zaaplikowaniu CPX z CNT- czas ok. 3h zdjęcie 2D A. Z-sensor mode B. Peak force error mode C. Height mode D. Adhesion mode E. Deformation F. Dissipation

Tabela 9 Zestawienie wysokości oraz chropowatości wyliczonych ze zdjęć AFM dla bakterii E.coli oraz po zaaplikowaniu ciprofloksacyny oraz ciprofloksacyny umieszczonej w jednościennych nanorurkach węglowych o średnicy 1,7 nm

	Z-sensor mode [nm]	**Adhesion mode [nN]**	**Height mode [nm]**
Bakterie E.coli			
Average value	-	103.869	-132,52
RMS roughness (Sq):	247.433	27.1643	249.102
Mean roughness (Sa):	207.672	17.5726	208.896
Maximum height (Sz):	1421,06	631.277	1423,65
Bakterie E.coli po zaaplikowaniu CPX ok. 1h			
Average value	311.188	59.745	369.634
RMS roughness (Sq):	58.5934	14.5542	72.0869
Mean roughness (Sa):	42.7805	10.1250	53.6991
Maximum height (Sz):	846.663	202.500	871.144
Bakterie E.coli po zaaplikowaniu CPX ok. 3h			
Average value	108.262	97.550	113.255
RMS roughness (Sq):	21.7758	10.0194	22.7898
Mean roughness (Sa):	13.6565	7.1501	14.2947
Maximum height (Sz):	339.790	202.269	355.044
Bakterie E.coli po zaaplikowaniu CPX z CNT ok. 1h			
Average value	184.741	87.515	198.582
RMS roughness (Sq):	49.0338	13.1579	52.0912
Mean roughness (Sa):	38.0641	9.9696	40.4188
Maximum height (Sz):	488.226	191.481	519.139
Bakterie E.coli po zaaplikowaniu CPX z CNT ok. 3h			
Average value	334.162	224.928	196,99
RMS roughness (Sq):	109.015	100.354	115.665
Mean roughness (Sa):	74.333	92.621	78.973
Maximum height (Sz):	987.693	448.726	1042,08

Na wykresie 69 oraz na rysunku 70 przedstawiono zestawienie pomiarów chropowatości dla pojedynczych komórek bakteryjnych oznaczonych numerami 1, 2, 3, 4. W przypadku analizy chropowatości dla pojedynczych komórek w odróżnieniu od

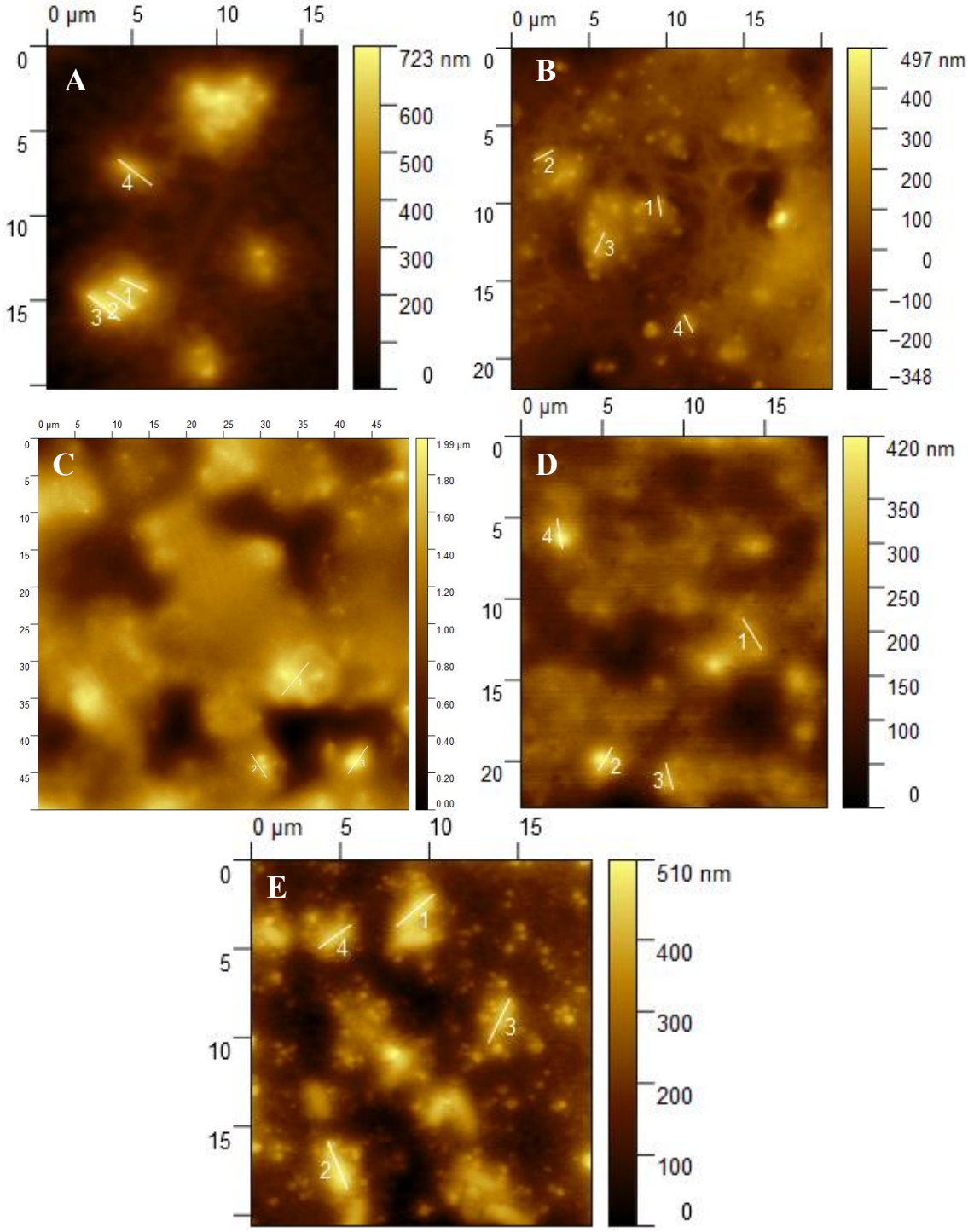
analizy całego obrazu AFM możemy zauważyć zwiększoną chropowatość po aplikacji ciprofloksacyny oraz ciprofloksacyny umieszczonej w SWCNTs. Im dłuższy czas działania antybiotyku tam chropowatość rośnie co jest związanie z degradacją ścian komórkowych bakterii oraz wypłynięciem cytoplazmy na zewnątrz. Monitorowano również chropowatość powierzchni błon bakteryjnych E. coli. po zaaplikowaniu SWCNT z ciprofloksacyną w porównaniu z samym lekiem. W przypadku ciprofloksacyny średnia chropowatość wzrasta szybciej niż w przypadku ciprofloksacyny umieszczonej w porach węglowych. Jest to związanie z wolniejszym uwalnianiem się leku, jednak dłuższym jego działaniem, gdyż bakterie są wystawione na jego działanie przed dłuższy czas.



Rysunek 63 Porównanie chropowatości bakterii E. Coli dla ciprofloksacyny i ciprofloksacyny zaadsorbowanej w jednościennych nanorurkach węglowych w czasie 1 godziny oraz 3 godzin

Adhezja to jeden z najważniejszych czynników wirulencji bakterii. Opiera się na dwóch podstawowych mechanizmach. Pierwszy z nich jest związany z nieswoistymi interakcjami międzycząsteczkowymi, spośród których najważniejszą rolę przypisuje się właściwościom hydrofobowym powierzchni komórek bakteryjnych. Grupy polarne aminokwasów wchodzących w skład struktur błony zewnętrznej bakterii Gram–ujemnych determinują hydrofilowy charakter ich powierzchni. Przewaga

natomiast polarnych grup hydrofobowych redukuje powinowactwo komórek do wody. Wynikiem tego jest tendencja do agregacji i adherencji drobnoustrojów. Do pozostałych nieswoistych czynników zalicza się siły van der Waalsa, wiązania wodorowe oraz jonowe. Drugi mechanizm obejmuje oddziaływania między bakteryjnymi strukturami o charakterze adhezyn, a błonowymi receptorami komórek eukariotycznych. Trwałe

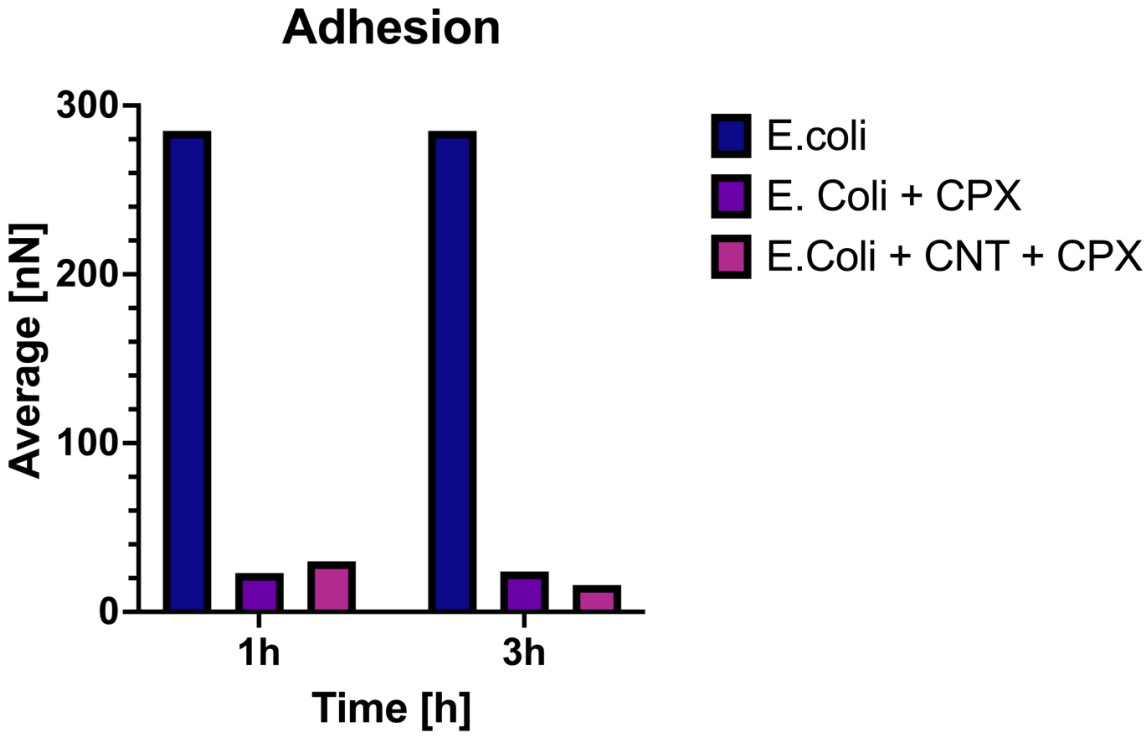


Rysunek 64 Pomiary parametru szorstkości dla: A. bakterii E.coli B. bakterii E.coli z CPX – 1h C. bakterii E.coli z CPX – 3h D. bakterii E.coli z CPX + CNT – 1h E. bakterii E.coli z CPX + CNT – 3h

związanie się z powierzchnią komórek gospodarza pozwala bakteriom przeciwstawić się mechanizmom obronnym makroorganizmu. Rezultatem końcowym adhezji jest agregacja bakterii i tworzenie mikrokolonii na powierzchni błon śluzowych lub biomateriałach [188 – 190].

Bakterie tworzące biofilm są oporne zarówno na działanie prawie wszystkich leków przeciwbakteryjnych, jak i na mechanizmy odpornościowe człowieka. Dzieje się tak, ponieważ po podaniu pacjentowi antybiotyku giną jedynie te komórki, które oderwały się od powierzchni i zaczęły rozprzestrzeniać po organizmie. Ich zabicie powoduje krótkotrwałe zniknięcie objawów chorobowych, jednak bakterie tworzące biofilm żyją nadal i szybko następuje nawrót choroby [191 – 192].

Analiza zdjęć AFM została przeprowadzona za pomocą programu Gwyddion (usunięcie szumów, wygładzenie tła, skalowanie zdjęć do punktu 0). Ze zdjęć odczytano wartości z 6-8 punktów pomiarowych dla wartości Δz [nN] i uśredniono wyniki. Na rysunku 71 przestawiono pomiary adhezji komórek bakteryjnych z których wynika, że adhezja jest zmniejszona po aplikacji ciprofloksacyny oraz ciprofloksacyny zaadsorbowanej w nanorurkach węglowych. Nanorurki węglowe uniemożliwiają



Rysunek 65 Porównanie adhezji bakterii E. Coli dla ciprofloksacyny i ciprofloksacyny zaadsorbowanej w jednościennych nanorurkach węglowych w czasie 1 godziny oraz 3 godzin

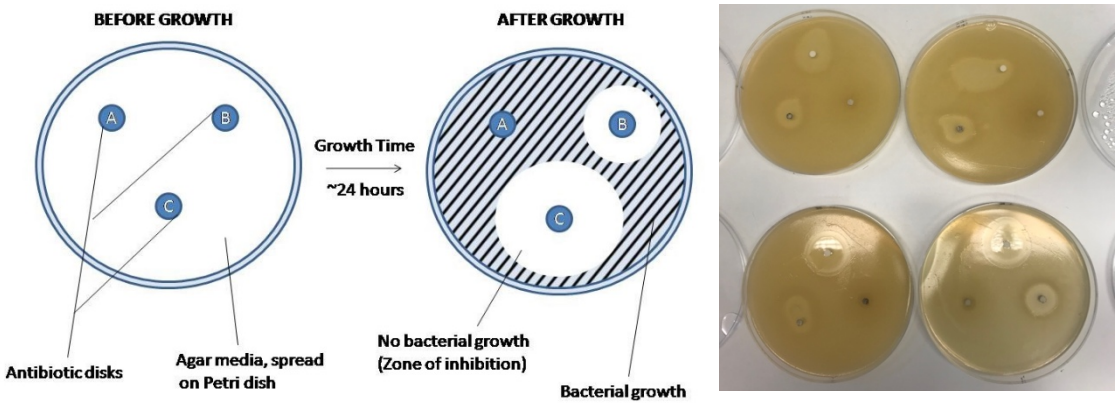
bakteriom utworzenie się biofilmu i w związku z tym związane komórki nie przylegają do powierzchni i antybiotyk może działać na większą ilość komórek.

Badania AFM wskazują na lizę komórek bakteryjnych E. Coli oraz zahamowanie ich wzrostu po aplikacji antybiotyku. W przypadku potraktowania bakterii nanorurkami z ciprofloksacyną proces destrukcji ścian komórkowych wydłuża się, a jednościenne nanorurki węglowe aglomerują się wokół mikrobów. W efekcie następuje wypływ cytoplazmy poza obszar komórek.

5.9.Testy na bakteriach E. Coli

Testy na bakteriach E. Coli zostały wykonane w Zakładzie Fizyki Makromolekularnej kierowanym przez prof. dr hab. Macieja Kozaka z pomocą mgr Darii Grobys. Najważniejszym etapem rutynowej diagnostyki mikrobiologicznej jest oznaczanie wrażliwości mikroorganizmów na leki. Podstawowym i najbardziej rozpowszechnionym testem w oznaczaniu wrażliwości na działanie leków i związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, jest opracowany na początku lat sześćdziesiątych test oparty o dyfuzję antybiotyku z krążka bibułowego w żelu agarowym. Metoda polega na umieszczeniu krążka bibułowego nasączonego badanym związkiem na odpowiednim podłożu agarowym zaszczepionym badanym szczepem drobnoustroju, którego wrażliwość na dany lek chcemy poznać. Związek umieszczony w odpowiedniej ilości na krążku dyfunduje w agarze. Stężenie związku jest najwyższe w pobliżu krążka i spada w miarę wzrostu odległości od jego środka. Miarą wrażliwości badanego szczepu jest wielkość średnicy strefy zahamowania wzrostu wokół krążka nasyconego antybiotykiem. Organizmy bardziej oporne na działanie leku są w stanie rosnąć w mniejszej odległości od krążka (w niektórych przypadkach w ogóle nie dając strefy zahamowania wzrostu), a te mniej oporne, wytrzymujące jedynie niższe stężenia, zaczynają rosnąc w nieco większej odległości od krążka niż organizmy oporne.

Często obserwowane jest zafałszowanie wyniku wynikające z niskiej rozpuszczalności związku w roztworach wodnych i niskiej szybkości dyfuzji w agarze. W takich przypadkach, od pewnej wartości krytycznej, zwiększanie ilości badanego związku na krążku nie przekłada się już na zwiększanie stref zahamowania wzrostu. Na rysunku 72 przestawiono schemat przeprowadzonego eksperymentu.



Rysunek 66 Schemat pomiaru strefy inhibicji

Przygotowano roztwór bakterii do zaszczepienia podłoża stałego. Do jałowej kolbki wlano podłoże płynne (agar) i dodano całonocną hodowlę bakterii E. Coli. Przy pomocy spektrofotometru ustalona została transmitancja (długości fali λ = 660 nm) uzyskanej zawiesiny komórek w przedziale 25-30% w odniesieniu do pożywki.

W łaźni wodnej rozgrzane zostało zestalone podłoże. Po upłynnieniu ostudzono do temperatury ok. 50ºC i dodano rozcieńczoną hodowlę E. Coli. Po zestaleniu, przy pomocy zdezynfekowanej pęsety, ułożono na powierzchni agaru krążki z przygotowanymi antybiotykami:

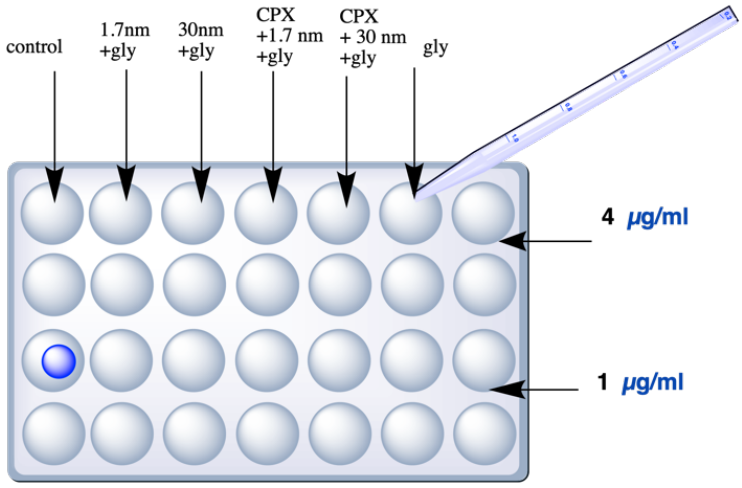
- CPX
- CPX + CNT ,1.7 nm
- CPX + CNT, 30 nm

Płytki inkubowano w 35ºC przez 18 godzin. Po upłynięciu czasu inkubacji dokonano odczytu powstałej strefy zahamowania wzrostu.

Tabela 10 Zestawienie pomiarów stref inhibicji wodnego roztworu antybiotyku oraz po zaadsorbowaniu go w porach węglowych o średnicy 30 nm oraz 1,7 nm

PROMIEŃ [cm]	CPX	CPX+1.7 nm	CPX	CPX+30nm
4 μg/ml	1,3	1,7	1,2	1
1 μg/ml	1,1	1,5	1,1	1,2

Kolejną z dość powszechnie stosowanych metod jest metoda rozcieńczeń w pożywce. Wykonywana może ona być w probówkach (metoda makrorozcieńczeń – minimalna objętość bulionu wynosi 2 ml) lub w płytkach filtracyjnych (metoda mikrorozcieńczeń - objętość pożywki w każdej studzience wynosi 100 lub 200 μl). Pożywka zawierająca antybiotyk o znanych malejących stężeniach (zazwyczaj stosuje się podwójne, seryjne rozcieńczenia) jest zaszczepiana określoną liczbą komórek bakteryjnych lub grzybowych. Celem tej metody jest określenie najmniejszego stężenia leku, hamującego wzrost organizmu (tzw. wartość MIC od ang. Minimal Inhibitory Concentration). Wartość MIC określa najmniejsze stężenie leku, wyrażone w mg/l, określone w warunkach in vitro, hamujące wzrost bakterii lub grzybów przy określonej gęstości inokulum i w określonym czasie. Odczyt polega na obserwacji zmętnienia podłoża po określonym czasie inkubacji i może być dokonywany wizualnie lub spektrometrycznie (z użyciem tzw. czytnika mikropłytek).

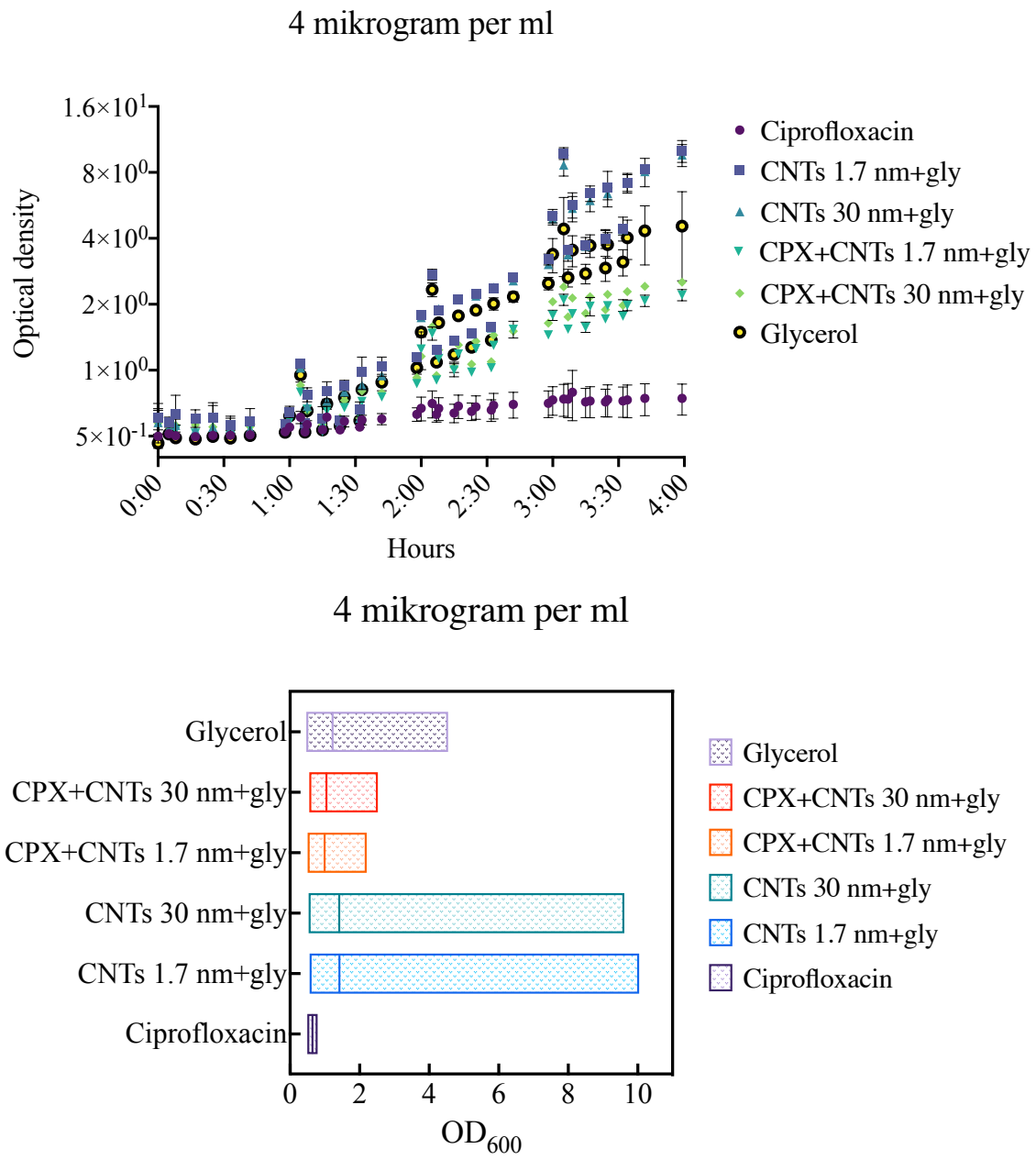


Rysunek 67 Schemat pomiaru testu MIC (mikrorozcieńczeń)

Do jałowej kolbki wlano podłoże płynne i dodano całonocną hodowlę E.coli. Otrzymaną w ten sposób zawiesinę komórek rozcieńczano do uzyskania gęstości optycznej OD660 = 0,1 (gęstość optyczna mierzona przy długości fali λ = 660 nm) co odpowiada 106 komórek na ml. Następnie uzyskaną zawiesinę o OD = 0,1 rozcieńczano co pół godziny. Wyniki przedstawiono poniżej na rysunku 74 – 75.

Wzrost komórek bakterii E. Coli został zahamowany dla wszystkich zaaplikowanych próbek. W przypadku czystego roztworu antybiotyku wzrost E. Coli ustał po 2 godzinach od zaaplikowania. Natomiast dla antybiotyku umieszczonego w nanotubach węglowych wzrost komórek E. Coli został spowolniony, jednak tempo

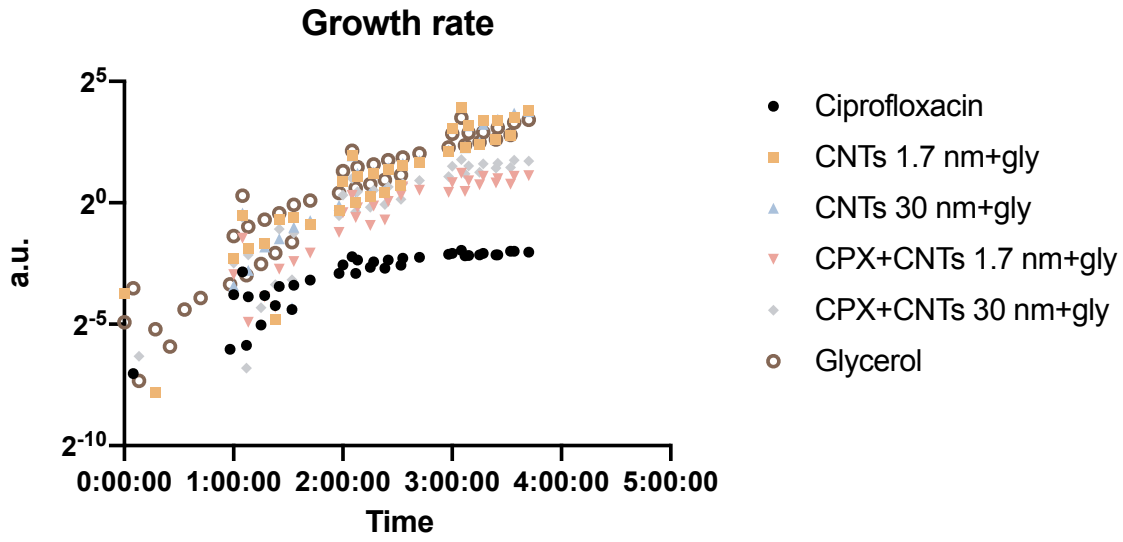
wzrostu było szybsze niż w przepadku samego antybiotyku. Jest to spowodowanie wolniejszym, lecz długotrwałym uwalnianiem się antybiotyku z porów.



Rysunek 68 Gęstość optyczna zmierzona w czasie dla grupy kontrolnej oraz po inkubacji bakterii z ciprofloksacyną i ciprofloksacyną zaadsorbowaną w nanorurkach węglowych

Jak wynika z badań AFM potraktowanie bakterii nanorurkami z ciprofloksacyną powoduje wydłużenie procesu destrukcji ścian komórkowych, a jednościenne nanorurki węglowe aglomerują się wokół mikrobów. Analiza zdjęć AFM pozwala stwierdzić, że nanorurki z zaadsorbowanym roztworem ciprofloksacyny powodują znaczny spadek adhezji bakterii, co wskazuje na możliwość skuteczniejszego działania antybiotyku. Zarówno badania AFM jak i testy mikrobiologiczne potwierdzają skuteczność działania

antybiotyku umieszczonego w porach węglowych, którego działanie rozpoczyna się po ok. 2 godzinach.



Rysunek 69 Szybkość wzrostu zmierzona w czasie dla grupy kontrolnej oraz po inkubacji bakterii z ciprofloksacyną, ciprofloksacyną zaadsorbowaną w nanorurkach węglowych

6. Wnioski

Celem pracy było zbadanie efektywności antybakteryjnej nanorurek węglowych wypełnionych antybiotykiem. Stężenia antybiotyku - ciprofloksacyny w wodzie badane w pracy, zostały ustalone zgodnie z powszechnie stosowanymi w medycynie dawkami tego antybiotyku odpowiednio 1 mg/ml oraz 2 mg/ml. Podstawowe własności fizykochemiczne roztworów ciprofloksacyny w wodzie tj. lepkość oraz gęstość roztworów zostały zbadane przy użyciu densometru; dzięki analizie danych wyznaczono energię aktywacji cząsteczek.

Do charakterystyki nanorurek węglowych wykorzystano spektroskopię Ramana, dzięki której określono charakter ich struktury elektronowej i stopień amorficzności. Ponadto badania izotermy adsorpcyjnej pozwoliły wyznaczyć dystrybucję rozmiarów porów i objętość porów, niezbędnych do późniejszej analizy mikrobiologicznej.

Oddziaływanie roztworów ciprofloksacyny z nanorurkami węglowymi analizowano przy użyciu metod spektroskopii podczerwieni, analizy kalorymetrycznej oraz pomiarów kąta zwilżania. W ostatnim etapie zaadsorbowane roztwory ciprofloksacyny w matrycach

porowatych poddano testom mikrobiologicznym oraz obrazowaniu mikroskopii sił atomowych.
Uzyskano następujące rezultaty:

1. Badania podstawowych własności fizykochemicznych roztworów wodnych ciprofloksacyny tj. gęstości i lepkości roztworów wykazały, jak można oczekiwać, że wraz ze wzrostem stężenia antybiotyku obserwujemy wzrost ich gęstości a gęstość maleje ze wzrostem temperatury. Wraz ze wzrostem stężenia maleje lepkość w wyniku zwiększenia się gęstości badanych roztworów. Wyznaczone wartości energii aktywacji lepkości dla roztworów ciprofloksacyny w stężeniach 1 mg/ml oraz 2 mg/ml wynosiły odpowiednio: E_a = 20,2 kJ/mol oraz E_a = 15,3 kJ/mol. Dla mniejszego stężenia ciprofloksacyny energia aktywacji jest większa, co świadczy o większej zależności szybkości reakcji od temperatury.

2. Badania nanorurek węglowych za pomocą spektroskopii Ramana pozwoliły scharakteryzować ich stopień amorficzności, a także charakter struktury elektronowej. Stwierdzono, że nanorurki węglowe o średnicy 1,7 nm wykazują uporządkowaną strukturę, gdyż stosunek pasma G/D wynosi 1,8 (wysoka wartość). Dla SWCNTs o wymiarach 30 nm zauważono wysoką intensywność piku D, co wskazuje na wysoce zdefektowaną strukturę. Stosunek G/D wynosi 1,05, więc możemy założyć, że struktura jest bardziej amorficzna. Na podstawie wykresu Kataury oszacowano strukturę elektronową nanorurek węglowych, która determinuje ich właściwości optyczne. Analiza naszych pomiarów dla trzech różnych energii lasera wskazuje, że SWCNT o średnicy 1,7 nm posiadają metaliczną strukturę elektronową, natomiast nanorurki o średnicy 30 nm wykazują półprzewodzące właściwości elektryczne.

3. Zaadsorbowanie wodnego roztworu CPX w zastosowanych nanorurkach węglowych powoduje zmiany w strukturze geometrycznej i ich stopniu amorficzności. Dla nanorurek wypełnionych roztworem ciprofloksacyny w stężeniu 1 mg/ml obserwuje się ekstremalny wzrost intensywności pasma G dla układu CPX-SWCNTs i spadek intensywności dla pasma D. Dla SWCNTS o średnicy 1.7 nm wypełnionych antybiotykiem obliczony stosunek G/D wynosi

12,23 i jest prawie 7 razy większy niż dla czystych SWCNTs. Natomiast dla nanorurek o wymiarze porów 30 nm jest on 12 razy większy. Wskazuje to na zmianę amorficznej natury układu. Możemy wnioskować, że zaadsorbowanie wodnego roztworu CPX powoduje duże zmniejszenie amorficzności nanoporowatych matryc węglowych.

4. Zaobserwowaliśmy również, że istotnym czynnikiem wpływającym na stopień amorficzności matryc porowatych jest temperatura, która może kontrolować wzrost lub spadek stosunku G / D nanorurek obserwowanym w widmie ramana. Jest to istotne szczególnie w najbardziej interesującym zakresie temperatur 36-38 C (temperatura ludzkiego ciała). Podczas wzrostu temperatury, pozycje pików przesuwają się w kierunku niższej częstotliwości z powodu zmiany drgań wiązania C-C. W zakresie temperatur 10 °C – 0 °C szybkość przesunięcia Ramana jest mniejsza niż dla wyższych temperatur. Może to być związane ze zmianami geometrycznymi w strukturze nanorurek węglowych i wskazywać, że wzrost temperatury odgrywa coraz większą rolę. Pod wpływem sił zewnętrznych zmienia się struktura geometryczna SWCNT, co dodatkowo wpływa na strukturę elektronową i właściwości fononowe SWCNT. Zmiana częstotliwości Ramana jest spowodowana wpływem różnych naprężeń, np. deformacji jednoosiowej, deformacji skrętnej, deformacji promieniowej i deformacji zginającej. W zależności od różnych zmian strukturalnych, widma Ramana SWCNT różnie reagują na każdą z tych deformacji. Przedstawione wyniki wskazują, że SWCNT o średnicy 30 nm wykazują wyższą amorficzność i półprzewodnikową strukturę elektronową niż SWCNTs o średnicy 1,7 nm i o metalicznej strukturze elektronowej. Amorficzne struktury nanorurek węglowych charakteryzuje większa biokompatybilność niż struktury uporządkowane, mogą być zatem bezpieczniej stosowane w badaniach biologicznych.

5. W widmach uzyskanych metodą spektroskopii w podczerwieni FT-IR dla wodnego roztworu ciprofloksacyny zaadsorbowanego w SWCNTs o średnicy 1,7 nm i 30 nm, obserwujemy wygaszenie niektórych pików w stosunku do układu swobodnego. Piki te odpowiadają wiązaniom rozciągającym w rdzeniu cząsteczki, głównie C-C w pierścieniu aromatycznym. Obserwowane zjawisko może być spowodowane efektem ograniczenia wodnego roztworu CPX w

nanorurkach węglowych, który dotyczy głównie wiązań w rdzeniu cząsteczki CPX, tj. wiązań C-C w pierścieniu aromatycznym. W małych porach o wymiarach nanometrów, ze względu na silny wpływ sił powierzchniowych i zmniejszoną wymiarowość układu, zachowanie układu jest inne niż w skali makroskopowej [186]. W nanorurkach węglowych molekuła ustawia się w specyficzny sposób, tworząc warstwę kontaktową bezpośrednio przy ściankach porów oraz warstwę wewnętrzną, gdzie wpływ sił powierzchniowych jest znacznie mniejszy. Taka sytuacja może prowadzić do drastycznych zmian właściwości optycznych, przewodnictwa elektrycznego, struktury czy temperatury i charakteru przejść fazowych układów ograniczonych w stosunku do układów makroskopowych. W badanym układzie istotną rolę odgrywają siły pomiędzy ściankami SWCNTs, a CPX. Na podstawie eksperymentów FT-IR obserwujemy istnienie dwóch charakterystycznych zmian właściwości optycznych zaadsorbowanej ciprofloksacyny, tj. nieaktywnych wiązań C-C w rdzeniu CPX, co może być spowodowane dużym wpływem sił powierzchniowych ścianek nanorurek na warstwę kontaktową CPX w porach. Druga zmiana dotyczy aktywnych wiązań, które mogą być zlokalizowane w wewnętrznej części nanorurki. Wiązania aktywne zaobserwowane dla CPX w SWCNTs są tylko nieznacznie przesunięte w kierunku niższych częstotliwości w stosunku do CPX swobodnej, co może być spowodowane słabszym wpływem oddziaływań ścianek porów z tą częścią cząsteczki CPX.

6. Na podstawie analizy wyników FT-IR możemy zaprojektować najbardziej prawdopodobne ułożenie cząsteczki ciprofloksacyny zamkniętej w jednościennych nanorurkach węglowych o średnicy 1,7 nm. Badania sugerują, że wiązania wygasające mogą sąsiadować bezpośrednio ze ścianami nanorurek węglowych (warstwa kontaktowa), podczas gdy wiązania zewnętrzne w cząsteczce ciprofloksacyny ustawiają się w kierunku wnętrza nanorurki. Jak wynika z naszych badań FT-IR, wiązania aktywne, które są kluczowe dla właściwości przeciwbakteryjnych ciprofloksacyny, zachowują swój charakter w warunkach ograniczenia. W szczególności grupa akylowa oraz bardzo aktywne wiązania azotowe, które zwiększają ogólną siłę działania antybiotyku przeciwko bakteriom Gram-dodatnim. Co więcej, przesunięcie

liczby falowej pików do niższych wartości powoduje wzrost długości wiązania, co może być związane ze zmianą elektroujemności sąsiednich atomów.

7. Wartości kąta zwilżania ścianek porów przez roztwory wodne CPX zbadane zarówno dla mezoporowatych krzemionek jak i nanorurek węglowych są większe niż dla tej cieczy zwilżającej gładką, płaską powierzchni szklistą czy idealną powierzchnię HOPG dla wszystkich badanych przypadków. Świadczy to, że zwilżanie na chropowatych powierzchniach ścianek porów może być opisane za pomocą zmodyfikowanego mechanizmu zwilżania Cassie-Baxtera, w którym tylko część f frakcji cieczy jest w bezpośrednim kontakcie z ciałem stałym. Wraz ze wzrostem kąta zwilżania maleje współczynnik f, co oznacza, że maleje powierzchnia kontaktu cieczy z badaną powierzchnią stałą. Stwierdzono, że dla badanych układów frakcja f cieczy w kontakcie ze stałym podłożem maleje monotonicznie wraz ze wzrostem kąta zwilżania, zgodnie z postulowanym przez Cassie-Baxtera modelem zwilżania na chropowatych powierzchniach. Dla dużych kątów zwilżania przeważają siły kohezji, a powierzchnie wykazują charakter silnie hydrofobowy.

8. Stwierdzono, że dla wody zwilżającej zarówno gładkie jak i szorstkie powierzchnie wewnątrz mezoporowatych materiałów krzemionkowych i nanorurek, zmierzone wartości kątów zwilżania są ściśle skorelowane z mikroskopowym parametrem zwilżania – α_w. Wymiar porów stosowanych CNT ma niewielki wpływ na zmianę parametru α_w. Natomiast duży wpływ na parametr α_w ma rodzaj i stężenie roztworu; dla wyższego stężenia ciprofloksacyny (2 mg/ml) α_w jest większe co świadczy o większym oddziaływaniu ścianek porów z tym roztworem. Stwierdzono, że szorstkość powierzchni wpływa na kąt zwilżania wody oraz roztworów ciprofloksacyny w nanotubach o różnych wymiarach. Dla węglowych matryc porowatych obserwujemy wyższe kąty zwilżania roztworów w porównaniu z powierzchnią gładką – HOPG. Mały wymiar porów węglowych wpływa na zmianę własności hydrofobowych i silniejsze oddziaływanie ciecz – ciecz. Dla matryc krzemionkowych parametr α_w dla wody wynosi 0,3, natomiast dla nanorurek węglowych 0,5. Większa wartość parametru α_w dla matryc węglowych świadczy o silniejszym wpływie oddziaływań ścianka – ciecz z roztworem CPX w porach węglowych niż w krzemionkowych [97 - 98].

9. Pomiary DSC wykazały, że temperatura topnienia roztworu CPX w nanoporach ulega obniżeniu w porównaniu do substancji swobodnej. Profile DSC roztworów CPX w mezoporach krzemionkowych SBA15 oraz nanorurkach węglowych wykazują, że podczas chłodzenia układów w zakresie temperatur -16,05^{o}C – 12,82^{o}C obserwujemy egzotermiczny proces krystalizacji. Dla drugiej przemiany obserwowanej w zakresie temperatur 4,5^{o}C – 5,5^{o}C w procesie grzania, szybkość przepływu ciepła do próbki znacząco rośnie, co wskazuje na proces endotermiczny – proces topnienia. Stwierdzono, że obniżenie temperatury topnienia roztworu CPX w porach w stosunku do substancji swobodnej wynosi $\Delta T = 0,5\ ^{o}C$ i $\Delta T = 1\ ^{o}C$ dla nanorurek węglowych i porów krzemionkowych odpowiednio. Szacowana wartość parametrów zwilżania α_w wynosi dla tych układów odpowiednio około 0.5 i 0,3. Parametr α_w ma niższą wartość dla CPX w porach SBA15, co zgodnie z dotychczasowymi badaniami przedstawianymi w literaturze skutkuje większym obniżeniem temperatury topnienia w stosunku do cieczy swobodnej; dla CPX w nanorurkach węglowych parametr α_w jest wyższy i obserwowane obniżenie temperatury topnienia w stosunku do czystej cieczy ma niższą wartość.

10. Badania AFM wskazują na lizę komórek bakteryjnych E.coli oraz zahamowanie ich wzrostu po aplikacji antybiotyku. W przypadku potraktowania bakterii nanorurkami z ciprofloksacyną proces destrukcji ścian komórkowych wydłuża się, a jednościenne nanorurki węglowe aglomerują się wokół mikrobów. W efekcie następuje wypływ cytoplazmy poza obszar komórek. Nanorurki węglowe poprzez aglomerowanie wokół mikrobów uniemożliwiają bakteriom utworzenie się biofilmu, w związku z czym komórki bakteryjne nie przylegają do siebie i antybiotyk może działać na większą ilość komórek.

11. Badania izotermy adsorpcyjnej pozwoliły ustalić objętość nanotub, co umożliwiło obliczenie dawki zaadsorbowanego antybiotyku, Wzrost komórek bakterii E. Coli został zahamowany dla wszystkich zaaplikowanych próbek. W przypadku czystego roztworu antybiotyku wzrost E. Coli ustał po 2 godzinach od zaaplikowania. Natomiast dla antybiotyku umieszczonego w nanotubach węglowych wzrost komórek E. Coli został spowolniony, jednak tempo wzrostu

było szybsze niż w przepadku samego antybiotyku. Jest to spowodowanie wolniejszym, lecz długotrwałym uwalnianiem się antybiotyku z porów. Jak wynika z badań AFM potraktowanie bakterii nanorurkami z ciprofloksacyną powoduje wydłużenie procesu destrukcji ścian komórkowych, a jednościenne nanorurki węglowe aglomerują się wokół mikrobów. Analiza zdjęć AFM pozwala stwierdzić, że nanorurki z zaadsorbowanym roztworem ciprofloksacyny powodują znaczny spadek adhezji bakterii, co wskazuje na możliwość skuteczniejszego działania antybiotyku. Zarówno badania AFM jak i testy mikrobiologiczne potwierdziły skuteczność działania antybiotyku umieszczonego w porach węglowych oraz pozwoliły określić czas śmierci bakterii, która rozpoczyna się po ok. 2 godzinach.

12. Jak wykazały badania AFM i testy mikrobiologiczne potraktowanie bakterii nanorurkami z ciprofloksacyną powoduje wydłużenie procesu destrukcji ścian komórkowych, a jednościenne nanorurki węglowe aglomerują się wokół mikrobów. Analiza zdjęć AFM pozwala stwierdzić, że nanorurki z zaadsorbowanym roztworem ciprofloksacyny powodują znaczny spadek adhezji bakterii, co wskazuje na możliwość skuteczniejszego działania antybiotyku. Wykonane badania potwierdzają skuteczność działania antybiotyku umieszczonego w porach węglowych, a działanie rozpoczyna się po ok. 2 godzinach od aplikacji.

W powyższej pracy głównym przedmiotem badań było zbadanie wpływu ograniczenia roztworu antybiotyku w porach węglowych. Analiza spektroskopii Ramana oraz FT-IR ukazała charakter elektronowy badanach nanorurek węglowych. Większa amorficzność nanorurek węglowych o wymiarach 30 nm w temperaturach 36^{o}C – 38^{o}C skutkuje lepszą biodostępnością. Badania FT-IR oraz pomiary kąta zwilżania pokazały, że struktura ciprofloksacyny nie ulega degradacji i może być dostarczania w celu zwalczania bakterii w nanorurkach węglowych. Mikroskopia AFM w połączeniu z testami mikrobiologicznymi pozwoliła określić jakie zmiany następują w bakteriach E. Coli pod wpływem ciprofloksacyny zaadsorbowanej w nanorurkach węglowych. Jasno stwierdzamy, że uwalnianie ciprofloksacyny z porów jest spowolnione i następuje po ok. 2 h. Jednak ich działanie jest wydłużone, a zmniejszenie się adhezji bakterii powoduje zwiększenie działania antybakteryjnego. Antybiotyk zaadsorbowany w nanorurkach

węglowych działa na większą ilość bakterii E. Coli, gdyż SWCNTs odrywają bakterie tworzące biofilmu umożliwiając skuteczniejsze działanie antybiotyku.

7. Bibliografia

[1] Sharon, M. (Ed.). (2019). *History of nanotechnology: from prehistoric to modern times*. John Wiley & Sons.

[2] Whitesides, G. M. (2005). Nanoscience, nanotechnology, and chemistry. *Small*, *1*(2), 172-179.

[3] Sondi, I., & Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of colloid and interface science*, *275*(1), 177-182.

[4] Rao, K. M., Rao, K. S. K., & Ha, C. S. (2018). Functional stimuli-responsive polymeric network nanogels as cargo systems for targeted drug delivery and gene delivery in cancer cells. In *Design of nanostructures for theranostics applications* (pp. 243-275). William Andrew Publishing.

[5] Patra, J. K., Das, G., Fraceto, L. F., Campos, E. V. R., Rodriguez-Torres, M. D. P., Acosta-Torres, L. S., Shin, H. S. (2018). Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *Journal of nanobiotechnology*, *16*(1), 1-33.

[6] Amidon, S., Brown, J. E., & Dave, V. S. (2015). Colon-targeted oral drug delivery systems: design trends and approaches. *Aaps Pharmscitech*, *16*, 731-741.

[7] Wang, J., Li, Y., & Nie, G. (2021). Multifunctional biomolecule nanostructures for cancer therapy. *Nature Reviews Materials*, *6*(9), 766-783.

[8] Ferrari, M. Cancer Nanotechnology: Opportunities and Challenges. *Nature Reviews Materials* 2005, 5, 161–171.

[9] Nasimi, P., & Haidari, M. (2013). Medical use of nanoparticles: Drug delivery and diagnosis diseases. *International Journal of green nanotechnology*, *1*, 1943089213506978.

[10] Barry, N. P., & Sadler, P. J. (2013). Challenges for metals in medicine: how nanotechnology may help to shape the future. *ACS nano*, *7*(7), 5654-5659.

[11] Nikolova, M., Slavchov, R., & Nikolova, G. (2020). Nanotechnology in medicine. *Drug discovery and evaluation: methods in clinical pharmacology*, 533-546.

[12] Peer, D., Karp, J. M., Hong, S., Farokhzad, O. C., Margalit, R., & Langer, R. (2020). Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nano-enabled medical applications*, 61-91.

[13] Wagner, V., Dullaart, A., Bock, A. K., & Zweck, A. (2006). The emerging nanomedicine landscape. *Nature biotechnology*, *24*(10), 1211-1217.

[14] Zhang, L., & Granick, S. (2006). How to stabilize phospholipid liposomes (using nanoparticles). *Nano letters*, *6*(4), 694-698.

[15] Rayaprolu, B. M., Strawser, J. J., & Anyarambhatla, G. (2018). Excipients in parenteral formulations: selection considerations and effective utilization with small molecules and biologics. *Drug development and industrial pharmacy*, *44*(10), 1565-1571.

[16] Tiwari, G., Tiwari, R., Sriwastawa, B., Bhati, L., Pandey, S., Pandey, P., & Bannerjee, S. K. (2012). Drug delivery systems: An updated review. *International journal of pharmaceutical investigation*, *2*(1), 2.

[17] Li, J., Zeng, M., Shan, H., & Tong, C. (2017). Microneedle patches as drug and vaccine delivery platform. *Current medicinal chemistry*, *24*(22), 2413-2422.

[18] Tekade, R. K. (2018). *Basic fundamentals of drug delivery*. Academic Press.

[19] Allen, T. M., & Cullis, P. R. (2004). Drug delivery systems: entering the mainstream. *Science*, *303*(5665), 1818-1822.

[20] Singh, A. P., Biswas, A., Shukla, A., & Maiti, P. (2019). Targeted therapy in chronic diseases using nanomaterial-based drug delivery vehicles. *Signal transduction and targeted therapy*, *4*(1), 33.

[21] Vert, M., Doi, Y., Hellwich, K. H., Hess, M., Hodge, P., Kubisa, P., ... & Schué, F. (2018). Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). In *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology* (pp. 885-900). CRC Press.

[22] Torres-Torres, C., López-Suárez, A., Can-Uc, B., Rangel-Rojo, R., Tamayo-Rivera, L., & Oliver, A. (2015). Collective optical Kerr effect exhibited by an integrated configuration of silicon quantum dots and gold nanoparticles embedded in ion-implanted silica. *Nanotechnology*, *26*(29), 295701.

[23] Cai, W., & Nix, W. D. (2016). *Imperfections in crystalline solids*. Cambridge University Press.

[24] Chae, S. Y., Park, M. K., Lee, S. K., Kim, T. Y., Kim, S. K., & Lee, W. I. (2003). Preparation of size-controlled TiO2 nanoparticles and derivation of optically transparent photocatalytic films. *Chemistry of Materials*, *15*(17), 3326-3331.

[25] Silvera Batista, C. A., Larson, R. G., & Kotov, N. A. (2015). Nonadditivity of nanoparticle interactions. *Science*, *350*(6257), 1242477.

[26] Dobson, P. , Jarvie, . Helen and King, . Stephen (2024, January 8). nanoparticle. Encyclopedia Britannica.

[27] Buzea, C., Pacheco, I. I., & Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*, *2*(4), MR17-MR71.

[28] Silvera Batista, C. A., Larson, R. G., & Kotov, N. A. (2015). Nonadditivity of nanoparticle interactions. *Science*, *350*(6257), 1242477.

[29] Al Rsheed, A., Aldawood, S., & Aldossary, O. M. (2021). The size and shape effects on the melting point of nanoparticles based on the lennard-jones potential function. *Nanomaterials*, *11*(11), 2916.

[30] Buffat, P., & Borel, J. P. (1976). Size effect on the melting temperature of gold particles. *Physical review A*, *13*(6), 2287.

[31] Tawfik A. Saleh, "Nanomaterials: Classification, Properties, and Environmental toxicities", Journal "Environmental Technology & Innovation", 20 (2020) 101067

[32] Mohammadizadeh, S., Moghaddam, M. A., & Talebbeydokhti, N. (2021). Analysis of flow in porous media using combined pressurized-free surface network. *Journal of Porous Media*, *24*(10).

[33] Su, B. L., Sanchez, C., & Yang, X. Y. (2012). Insights into hierarchically structured porous materials: from nanoscience to catalysis, separation, optics, energy, and life science. *Hierarchically Structured Porous Materials*, 1-27.

[34] Recommendations, I. U. P. A. C. (1985). Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity. *Pure Appl. Chem*, *57*(4), 603-619.

[35] Madanu, T. L., Mouchet, S. R., Deparis, O., Liu, J., Li, Y., & Su, B. L. (2023). Tuning and transferring slow photons from TiO2 photonic crystals to BiVO4 nanoparticles for unprecedented visible light photocatalysis. *Journal of Colloid and Interface Science*, *634*, 290-299.

[36] Gitis, V., & Rothenberg, G. (2020). *Handbook Of Porous Materials: Synthesis, Properties, Modeling And Key Applications (In 4 Volumes)* (Vol. 16). World Scientific.

[37] Hydrochloride, C. (2015). The American Society of Health-System Pharmacist. *Archived from the original on June*, *30*.

[38] Heidelbaugh, J. J. (2013). The perils of prescribing fluoroquinolones: these broad-spectrum antibiotics-notable for combatting pathogens resistant to other drugs-have a small but noteworthy potential for adverse effects. This review and patient handout highlight signs and symptoms to watch for. *Journal of Family Practice*, *62*(4), 191-198.

[39] Bush, N. G., Diez-Santos, I., Abbott, L. R., & Maxwell, A. (2020). Quinolones: mechanism, lethality and their contributions to antibiotic resistance. *Molecules*, *25*(23), 5662.

[40] Campoli-Richards, D. M., Monk, J. P., Price, A., Benfield, P., Todd, P. A., & Ward, A. (1988). Ciprofloxacin: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs*, *35*, 373-447.

[41] Knoll, K. E., Lindeque, Z., Adeniji, A. A., Oosthuizen, C. B., Lall, N., & Loots, D. T. (2021). Elucidating the antimycobacterial mechanism of action of ciprofloxacin using metabolomics. *Microorganisms*, *9*(6), 1158.

[42] Ojkic, N., Lilja, E., Direito, S., Dawson, A., Allen, R. J., & Waclaw, B. (2020). A roadblock-and-kill mechanism of action model for the DNA-targeting antibiotic ciprofloxacin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *64*(9), 10-1128.

[43] Chen, L., Zhao, S., Hasi, Q. M., Luo, X., Zhang, C., Li, H., & Li, A. (2020). Porous carbon nanofoam derived from pitch as solar receiver for efficient solar steam generation. *Global Challenges*, *4*(5), 1900098.

[44] Iijima, S. (1991). Helical microtubules of graphitic carbon. *nature*, *354*(6348), 56-58.

[45] Iijima, S., & Ichihashi, T. (1993). Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter. *nature*, *363*(6430), 603-605.

[46] Yan, Q. L., Gozin, M., Zhao, F. Q., Cohen, A., & Pang, S. P. (2016). Highly energetic compositions based on functionalized carbon nanomaterials. *Nanoscale*, *8*(9), 4799-4851.

[47] Li, X. Q., Hou, P. X., Liu, C., & Cheng, H. M. (2019). Preparation of metallic single-wall carbon nanotubes. *Carbon*, *147*, 187-198.

[48] Shen, C., Brozena, A. H., & Wang, Y. (2011). Double-walled carbon nanotubes: challenges and opportunities. *Nanoscale*, *3*(2), 503-518.

[49] Rinzler, A. G., Liu, J., Dai, H., Nikolaev, P., Huffman, C. B., Rodriguez-Macias, F. J., ... & Smalley, R. E. (1998). Large-scale purification of single-wall carbon nanotubes:

Process, product, and characterization. *Applied Physics A: Materials Science & Processing*, *67*(1).

[50] Nikolaev, P., Bronikowski, M. J., Bradley, R. K., Rohmund, F., Colbert, D. T., Smith, K. A., & Smalley, R. E. (1999). Gas-phase catalytic growth of single-walled carbon nanotubes from carbon monoxide. *Chemical physics letters*, *313*(1-2), 91-97.

[51] Baig, N., Sajid, M., & Saleh, T. A. (2019). Recent trends in nanomaterial-modified electrodes for electroanalytical applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *111*, 47-61.

[52] Liu, X. M., dong Huang, Z., woon Oh, S., Zhang, B., Ma, P. C., Yuen, M. M., & Kim, J. K. (2012). Carbon nanotube (CNT)-based composites as electrode material for rechargeable Li-ion batteries: A review. *Composites Science and Technology*, *72*(2), 121-144.

[53] Odom, T. W., Huang, J. L., Kim, P., & Lieber, C. M. (1998). Atomic structure and electronic properties of single-walled carbon nanotubes. *Nature*, *391*(6662), 62-64.

[54] Xiao, J. R., Gama, B. A., & Gillespie Jr, J. W. (2005). An analytical molecular structural mechanics model for the mechanical properties of carbon nanotubes. *International Journal of Solids and Structures*, *42*(11-12), 3075-3092.

[55] Lehman, J. H., Terrones, M., Mansfield, E., Hurst, K. E., & Meunier, V. (2011). Evaluating the characteristics of multiwall carbon nanotubes. *Carbon*, *49*(8), 2581-2602.

[56] Kuang, T., Chang, L., Chen, F., Sheng, Y., Fu, D., & Peng, X. (2016). Facile preparation of lightweight high-strength biodegradable polymer/multi-walled carbon nanotubes nanocomposite foams for electromagnetic interference shielding. *Carbon*, *105*, 305-313.

[57] Wei, Z., Kondratenko, M., Dao, L. H., & Perepichka, D. F. (2006). Rectifying diodes from asymmetrically functionalized single-wall carbon nanotubes. *Journal of the American Chemical Society*, *128*(10), 3134-3135.

[58] Bockrath, M., Liang, W., Bozovic, D., Hafner, J. H., Lieber, C. M., Tinkham, M., & Park, H. (2001). Resonant electron scattering by defects in single-walled carbon nanotubes. *Science*, *291*(5502), 283-285.

[59] Poudel, Y. R., & Li, W. (2018). Synthesis, properties, and applications of carbon nanotubes filled with foreign materials: A review. *Materials Today Physics*, *7*, 7-34.

[60] Chemiczna funkcjonalizacja powierzchni dla potrzeb nanotechnologii" red. G. Schroedera 2011, Cursiva, ISBN 978-83-62108-07-7

[61] Guldi, D. M.; Martín, N., Carbon Nanotubes and Related Structures: Synthesis, Characterization, Functionalization, and Applications. p. 106; 137, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, 2010; ISBN: 978-3-527-32406-4

[62] Saleemi, M. A., Kong, Y. L., Yong, P. V. C., & Wong, E. H. (2022). An Overview of Antimicrobial Properties of Carbon Nanotubes-Based Nanocomposites. *Advanced pharmaceutical bulletin*, *12*(3), 449–465. https://doi.org/10.34172/apb.2022.049

[63] Kang, S., Pinault, M., Pfefferle, L. D., & Elimelech, M. (2007). Single-walled carbon nanotubes exhibit strong antimicrobial activity. *Langmuir*, *23*(17), 8670-8673.

[64] Shinohara, N. (2007). Environmental impact of fullerenes. *Nanotechnologies for the Life Sciences: Online*.

[65] Kang, S., Mauter, M. S., & Elimelech, M. (2008). Physicochemical determinants of multiwalled carbon nanotube bacterial cytotoxicity. *Environmental science & technology*, *42*(19), 7528-7534.

[66] Nagai H, Toyokuni S. Differences and similarities between carbon nanotubes and asbestos fibers during mesothelial carcinogenesis: shedding light on fiber entry mechanism. Cancer Sci 2012;103(8):1378-90. doi: 10.1111/j.1349- 7006.2012.02326.x

[67] Johnston, H. J., Hutchison, G. R., Christensen, F. M., Peters, S., Hankin, S., Aschberger, K., & Stone, V. (2010). A critical review of the biological mechanisms underlying the in vivo and in vitro toxicity of carbon nanotubes: The contribution of physico-chemical characteristics. *Nanotoxicology*, *4*(2), 207-246.

[68] Arias LR, Yang L. Inactivation of bacterial pathogens by carbon nanotubes in suspensions. Langmuir 2009;25(5):3003-12. doi: 10.1021/la802769m

[69] Kang, S., Herzberg, M., Rodrigues, D. F., & Elimelech, M. (2008). Antibacterial effects of carbon nanotubes: size does matter!. *Langmuir*, *24*(13), 6409-6413.

[70] Stan, M. S., Strugari, A. F., Balas, M., & Nica, I. C. (2018). Biomedical applications of carbon nanotubes with improved properties. In *Fullerens, Graphenes and Nanotubes* (pp. 31-65). William Andrew Publishing.

[71] Grady, B. P. (2006). The Use of Solution Viscosity to Characterize Single-Walled Carbon Nanotube Dispersions. *Macromolecular Chemistry and Physics*, *207*(23), 2167-2169.

[72] Wong, B. S., Yoong, S. L., Jagusiak, A., Panczyk, T., Ho, H. K., Ang, W. H., & Pastorin, G. (2013). Carbon nanotubes for delivery of small molecule drugs. *Advanced drug delivery reviews*, *65*(15), 1964-2015.

[73] Liu, Z., Sun, X., Nakayama-Ratchford, N., & Dai, H. (2007). Supramolecular chemistry on water-soluble carbon nanotubes for drug loading and delivery. *ACS nano*, *1*(1), 50-56.

[74] Liu, Z., Fan, A. C., Rakhra, K., Sherlock, S., Goodwin, A., Chen, X., ... & Dai, H. (2009). Supramolecular stacking of doxorubicin on carbon nanotubes for in vivo cancer therapy. *Angewandte Chemie International Edition*, *48*(41), 7668-7672.

[75] Shi Kam, N. W., Jessop, T. C., Wender, P. A., & Dai, H. (2004). Nanotube molecular transporters: internalization of carbon nanotube– protein conjugates into mammalian cells. *Journal of the american chemical society*, *126*(22), 6850-6851.

[76] Kostarelos, K., Lacerda, L., Pastorin, G., Wu, W., Wieckowski, S., Luangsivilay, J., ... & Bianco, A. (2007). Cellular uptake of functionalized carbon nanotubes is independent of functional group and cell type. *Nature nanotechnology*, *2*(2), 108-113.

[77] Kaboudin, B., Saghatchi, F., Kazemi, F., & Akbari-Birgani, S. (2018). A novel magnetic carbon nanotube functionalized with pyridine groups: Synthesis, characterization and their application as an efficient carrier for plasmid DNA and aptamer. *ChemistrySelect*, *3*(24), 6743-6749.

[78] Kresge, A. C., Leonowicz, M. E., Roth, W. J., Vartuli, J. C., & Beck, J. S. (1992). Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. *nature*, *359*(6397), 710-712.

[79] Carvalho, G. C., Sábio, R. M., de Cássia Ribeiro, T., Monteiro, A. S., Pereira, D. V., Ribeiro, S. J. L., & Chorilli, M. (2020). Highlights in mesoporous silica nanoparticles as a multifunctional controlled drug delivery nanoplatform for infectious diseases treatment. *Pharmaceutical Research*, *37*(10), 191.

[80] Zhou, Y., Quan, G., Wu, Q., Zhang, X., Niu, B., Wu, B., ... & Wu, C. (2018). Mesoporous silica nanoparticles for drug and gene delivery. *Acta pharmaceutica sinica B*, *8*(2), 165-177.

[81] Narayan, R., Nayak, U. Y., Raichur, A. M., & Garg, S. (2018). Mesoporous silica nanoparticles: A comprehensive review on synthesis and recent advances. *Pharmaceutics*, *10*(3), 118.

[82] Flodström, K., Wennerström, H., & Alfredsson, V. (2004). Mechanism of mesoporous silica formation. A time-resolved NMR and TEM study of silica– block copolymer aggregation. *Langmuir*, *20*(3), 680-688.

[83] Vallet-Regi, M., Rámila, A., Del Real, R. P., & Pérez-Pariente, J. (2001). A new property of MCM-41: drug delivery system. *Chemistry of Materials*, *13*(2), 308-311.

[84] Hauss, D. J. (2007). Oral lipid-based formulations. *Advanced drug delivery reviews*, *59*(7), 667-676.

[85] Zhang, Y., Wang, J., Bai, X., Jiang, T., Zhang, Q., & Wang, S. (2012). Mesoporous silica nanoparticles for increasing the oral bioavailability and permeation of poorly water soluble drugs. *Molecular pharmaceutics*, *9*(3), 505-513.

[86] Kiekens, F., Eelen, S., Verheyden, L., Daems, T., Martens, J., & Van Den Mooter, G. (2012). Use of ordered mesoporous silica to enhance the oral bioavailability of ezetimibe in dogs. *Journal of pharmaceutical sciences*, *101*(3), 1136-1144.

[87] Van Speybroeck, M., Mellaerts, R., Mols, R., Do Thi, T., Martens, J. A., Van Humbeeck, J., ... & Augustijns, P. (2010). Enhanced absorption of the poorly soluble drug fenofibrate by tuning its release rate from ordered mesoporous silica. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *41*(5), 623-630.

[89] Hu, Y., Zhi, Z., Wang, T., Jiang, T., & Wang, S. (2011). Incorporation of indomethacin nanoparticles into 3-D ordered macroporous silica for enhanced dissolution and reduced gastric irritancy. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, *79*(3), 544-551.

[90] Xu, W., Riikonen, J., & Lehto, V. P. (2013). Mesoporous systems for poorly soluble drugs. *International journal of pharmaceutics*, *453*(1), 181-197.

[91] Geng, H., Zhao, Y., Liu, J., Cui, Y., Wang, Y., Zhao, Q., & Wang, S. (2016). Hollow mesoporous silica as a high drug loading carrier for regulation insoluble drug release. *International journal of pharmaceutics*, *510*(1), 184-194.

[92] Lennard, J. E., & Jones, I. (1924). On the determination of molecular fields.—I. From the variation of the viscosity of a gas with temperature. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, containing papers of a mathematical and physical character*, *106*(738), 441-462.

[93] Jones, J. E. (1924). On the determination of molecular fields.—II. From the equation of state of a gas. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character*, *106*(738), 463-477.

[94] Sikorska, C., & Gaston, N. (2020). Modified Lennard-Jones potentials for nanoscale atoms. *Journal of Computational Chemistry*, *41*(22), 1985-2000.

[95] Lennard-Jones, J. E. (1931). Cohesion. *Proceedings of the Physical Society*, *43*(5), 461.

[96] Śliwińska-Bartkowiak, M., Sterczyńska, A., Long, Y., & Gubbins, K. E. (2014). Influence of microroughness on the wetting properties of nano-porous silica matrices. *Molecular Physics*, *112*(17), 2365-2371.

[97] Radhakrishnan, R., Gubbins, K. E., & Sliwinska-Bartkowiak, M. (2002). Global phase diagrams for freezing in porous media. *The Journal of chemical physics*, *116*(3), 1147-1155.

[98] Gelb, L. D., Gubbins, K. E., Radhakrishnan, R., & Sliwinska-Bartkowiak, M. (1999). Phase separation in confined systems. *Reports on Progress in Physics*, *62*(12), 1573.

[99] Shi, Z., Zhang, Y., Liu, M., Hanaor, D. A., & Gan, Y. (2018). Dynamic contact angle hysteresis in liquid bridges. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *555*, 365-371.

[100] Huhtamäki, T., Tian, X., Korhonen, J. T., & Ras, R. H. (2018). Surface-wetting characterization using contact-angle measurements. *Nature protocols*, *13*(7), 1521-1538.

[101] Gibbs, J. W. (1961). *The scientific papers of JW Gibbs*. Dover.

[102] Jasper, W. J., & Anand, N. (2019). A generalized variational approach for predicting contact angles of sessile nano-droplets on both flat and curved surfaces. *Journal of Molecular Liquids*, *281*, 196-203.

[103] Dorrer, C., & Rühe, J. (2009). Some thoughts on superhydrophobic wetting. *Soft Matter*, *5*(1), 51-61.

[104] Wenzel, R. N. (1936). Resistance of solid surfaces to wetting by water. *Industrial & engineering chemistry*, *28*(8), 988-994.

[105] Cassie, A. B. D., & Baxter, S. (1944). Wettability of porous surfaces. *Transactions of the Faraday society*, *40*, 546-551.

[106] Huhtamäki, T., Tian, X., Korhonen, J. T., & Ras, R. H. (2018). Surface-wetting characterization using contact-angle measurements. *Nature protocols*, *13*(7), 1521-1538.

[107] Marmur, A. (2009). Solid-surface characterization by wetting. *Annual Review of materials research*, *39*, 473-489.

[108] Marmur, A. (2009). A guide to the equilibrium contact angles maze. *Contact angle wettability and adhesion*, *6*(3).

[109] Andrieu, C., Sykes, C., & Brochard, F. (1994). Average spreading parameter on heterogeneous surfaces. *Langmuir*, *10*(7), 2077-2080.

[110] Popovich, L. L., Feke, D. L., & Manas-Zloczower, I. (1999). Influence of physical and interfacial characteristics on the wetting and spreading of fluids on powders. *Powder technology*, *104*(1), 68-74.

[111] Van Oss, C. J., Giese, R. F., Li, Z., Murphy, K., Norris, J., Chaudhury, M. K., & Good, R. J. (1992). Determination of contact angles and pore sizes of porous media by column and thin layer wicking. *Journal of Adhesion Science and Technology*, *6*(4), 413-428.

[112] Neirinck, B., Van Deursen, J., Van der Biest, O., & Vleugels, J. (2010). Wettability assessment of submicrometer alumina powder using a modified washburn method. *Journal of the American Ceramic Society*, *93*(9), 2515-2518.

[113] Kirdponpattara, S., Phisalaphong, M., & Newby, B. M. Z. (2013). Applicability of Washburn capillary rise for determining contact angles of powders/porous materials. *Journal of colloid and interface science*, *397*, 169-176.

[114] Shah, K. (2017). *The use of surfactants to aid and improve the leaching of low grade copper ores* (Doctoral dissertation, University of British Columbia).

[115] Fehlauer, H., & Wolf, H. (2006). Density reference liquids certified by the Physikalisch-Technische Bundesanstalt. *Measurement Science and Technology*, *17*(10), 2588.

[116] Martins, G. I., Secco, D., Rosa, H. A., Bariccatti, R. A., Dolci, B. D., de Souza, S. N. M., ... & Gurgacz, F. (2015). Physical and chemical properties of fish oil biodiesel produced in Brazil. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *42*, 154-157.

[117] Bursa, S. (1972). *Chemia fizyczna*. Wydawnictwo Uczelniane Politechniki Szczecińskiej.

[118] Atkins, P. W., De Paula, J., & Keeler, J. (2023). *Atkins' physical chemistry*. Oxford university press, p. 750–752

[119] Pigoń, K., Ruziewicz, Z., Komorowski, L., & Lipiński, J. (2013). *Chemia fizyczna: Podstawy fenomenologiczne*. Wydawnictwo Naukowe PWN.

[120] Mortimer, R. G. (2000). *Physical chemistry*. Academic Press, p. 533–534

[121] Laidler, K. J. (1984). The development of the Arrhenius equation. *Journal of chemical Education*, *61*(6), 494.

[122] Wang, J., & Guo, X. (2020). Adsorption isotherm models: Classification, physical meaning, application and solving method. *Chemosphere*, *258*, 127279.

[123] Ng, K. C., Burhan, M., Shahzad, M. W., & Ismail, A. B. (2017). A universal isotherm model to capture adsorption uptake and energy distribution of porous heterogeneous surface. *Scientific Reports*, *7*(1), 10634.

[124] Ahmad, R., Ali, Z., Khan, A. A., & Rehman, N. U. (2020). Terbium extraction by functionalized surface: Experimental and DFT approach. *Adsorption*, *26*(1), 117-125.

[125] Saleh, T. A. (2022). Isotherm models of adsorption processes on adsorbents and nanoadsorbents. In *Interface Science and Technology* (Vol. 34, pp. 99-126). Elsevier.

[126] Paryjczak, T., Rynkowski, J., & Szynkowska, M. I. (2005). GAS CHROMATOGRAPHY| Physicochemical Measurements.

[127] Graves, P. R. G. D. J., & Gardiner, D. (1989). Practical raman spectroscopy. *Springer*, *10*, 978-3.

[128] Xing, F., Song, G., Ruan, C., Zhao, J., & Yang, Y. (2016, June). The brief introduction of different laser diagnostics methods used in aero-engine combustion research. In *International journal of modern physics: conference series* (Vol. 42, p. 1660184). World Scientific Publishing Company.

[129] Sri, K. B., Begum, S., Swethasri, R., & Sumakanth, M. (2022). Raman Spectroscopy in Reverse Engineering. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *14*(7), 776-782.

[130] Jorio, A., & Cançado, L. G. (2012). Perspectives on Raman spectroscopy of graphene-based systems: from the perfect two-dimensional surface to charcoal. *Physical Chemistry Chemical Physics*, *14*(44), 15246-15256.

[131] Ferrari, A. C., & Basko, D. M. (2013). Raman spectroscopy as a versatile tool for studying the properties of graphene. *Nature nanotechnology*, *8*(4), 235-246.

[132] Pimenta, M. A., Dresselhaus, G., Dresselhaus, M. S., Cancado, L. G., Jorio, A., & Saito, R. (2007). Studying disorder in graphite-based systems by Raman spectroscopy. *Physical chemistry chemical physics*, *9*(11), 1276-1290.

[133] Fantini, C., Jorio, A., Souza, M., Strano, M. S., Dresselhaus, M. S., & Pimenta, M. A. (2004). Optical transition energies for carbon nanotubes from resonant Raman spectroscopy: Environment and temperature effects. *Physical review letters*, *93*(14), 147406.

[134] Souza Filho, A. G., Chou, S. G., Samsonidze, G. G., Dresselhaus, G., Dresselhaus, M. S., An, L., ... & Saito, R. (2004). Stokes and anti-Stokes Raman spectra of small-diameter isolated carbon nanotubes. *Physical Review B*, *69*(11), 115428.

[135] Souza Filho, A. G., Chou, S. G., Samsonidze, G. G., Dresselhaus, G., Dresselhaus, M. S., An, L., ... & Saito, R. (2004). Stokes and anti-Stokes Raman spectra of small-diameter isolated carbon nanotubes. *Physical Review B*, *69*(11), 115428.

[136] Fantini, C., Jorio, A., Souza, M., Strano, M. S., Dresselhaus, M. S., & Pimenta, M. A. (2004). Optical transition energies for carbon nanotubes from resonant Raman spectroscopy: Environment and temperature effects. *Physical review letters*, *93*(14), 147406.

[137] Dresselhaus et al., Nano Lett. 10, 751-758 (2010).240 Copyright 2010 American Chemical Society.

[138] Soares, J. S., Cançado, L. G., Barros, E. B., & Jorio, A. (2010). The Kataura plot for single wall carbon nanotubes on top of crystalline quartz. *physica status solidi (b)*, *247*(11-12), 2835-2837.

[139] Hsu, C. P. S. (1997). Infrared spectroscopy. *Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry*, *249*.

[140] Sridharan, K. (2016). *Spectral methods in transition metal complexes*. Elsevier.

[141] https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-ir-routine-spectrometer/what-is-ft-ir-spectroscopy.html

[142] Arieli, Y., Epshtein, S., Yakubov, I., Weitzman, Y., Locketz, G., & Harris, A. (2014). Surface measurements by white light spatial-phase-shift imaging interferometry. *Optics Express*, *22*(13), 15632-15638.

[143] Goormaghtigh, E., Raussens, V., & Ruysschaert, J. M. (1999). Attenuated total reflection infrared spectroscopy of proteins and lipids in biological membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes*, *1422*(2), 105-185.

[144] Bokobza, L. (1998). Near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, *6*(1), 3-17.

[145] Abidi, N., & Abidi, N. (2021). Introduction to FTIR Microspectroscopy. *FTIR Microspectroscopy: Selected Emerging Applications*, 1-12.

[146] Jacox, M. E. (2003). Vibrational and electronic energy levels of polyatomic transient molecules. Supplement B. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, *32*(1), 1-441.

[147] Von Stockar, U., & Marison, I. W. (2005). The use of calorimetry in biotechnology. In *Bioprocesses and engineering* (pp. 93-136). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

[148] Weber, P. C., & Salemme, F. R. (2003). Applications of calorimetric methods to drug discovery and the study of protein interactions. *Current opinion in structural biology*, *13*(1), 115-121.
[149] Tilford, T., Ferenets, M., Adamietz, R., Pavuluri, S. K., Desmulliez, M. P., & Bailey, C. (2011, December). Assessment of the accuracy of cure kinetics models and fitting approaches utilised in analysis of microelectronics encapsulation materials. In 2011 IEEE 13th Electronics Packaging Technology Conference (pp. 262-267). IEEE.
[150] Haynie, D. T. (2001). *Biological thermodynamics*. Cambridge University Press.
[151] Haines, P. J., Reading, M., & Wilburn, F. W. (1998). Differential thermal analysis and differential scanning calorimetry. In *Handbook of thermal analysis and calorimetry* (Vol. 1, pp. 279-361). Elsevier Science BV.
[152] Cooper, A., Nutley, M. A., & Wadood, A. (2000). Differential scanning microcalorimetry in SE Harding and BZ Chowdhry (Eds.), Protein-Ligand Interactions: hydrodynamics and calorimetry.
[153] Cooper, A. (2000). Heat capacity of hydrogen-bonded networks: an alternative view of protein folding thermodynamics. *Biophysical Chemistry*, *85*(1), 25-39.
[154] https://apinstruments.pl/skaningowa-kalorymetria-roznicowa-dsc/
[155] Atgur, V., Manavendra, G., Desai, G. P., Banapurmath, N. R., Vadlamudi, C., Krishnappa, S., & Rao, B. N. (2022). Thermal behavior of diesel, honge oil methyl ester and ITS B-20 blend in atmospheric air and oxygen. *International Journal of Sustainable Engineering*, *15*(1), 240-250.
[156] Sitterberg, J., Özcetin, A., Ehrhardt, C., & Bakowsky, U. (2010). Utilising atomic force microscopy for the characterisation of nanoscale drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *74*(1), 2-13.
[157] https://labportal.pl/mikroskopia-sil-atomowych-afm/
[158] Zanette, S. I., Caride, A. O., Nunes, V. B., Klimchitskaya, G. L., Freire Jr, F. L., & Prioli, R. (2000). Theoretical and experimental investigation of the force–distance relation for an atomic force microscope with a pyramidal tip. *Surface science*, *453*(1-3), 75-82.
[159] Asmatulu, R., & Khan, W. S. (2019). Chapter 13-Characterization of electrospun nanofibers. Synthesis and Applications of Electrospun Nanofibers, 257-281.
[160] Aliofkhazraei, M., & Ali, N. (2014). AFM applications in micro/nanostructured coatings.

[161] Lonergan, N. E., Britt, L. D., & Sullivan, C. J. (2014). Immobilizing live Escherichia coli for AFM studies of surface dynamics. *Ultramicroscopy*, *137*, 30-39.

[162] Lal, R. A. T. N. E. S. H. W. A. R., & John, S. A. (1994). Biological applications of atomic force microscopy. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, *266*(1), C1-C21.

[163] Braga, P. C., & Ricci, D. (1998). Atomic force microscopy: application to investigation of Escherichia coli morphology before and after exposure to cefodizime. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *42*(1), 18-22.

[164] Cantón, R., & Morosini, M. I. (2011). Emergence and spread of antibiotic resistance following exposure to antibiotics. *FEMS microbiology reviews*, *35*(5), 977-991.

[165] Phillips, I., Acar, J., Bergan, T., Degener, J., Baquero, F., Forsgren, A., ... & Wiedemann, B. (1998). Methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. Terminology, EUCAST Definitive Document. *Clin. Microbiol. Infect*, *4*, 291-296.

[166] Humphries, R., Bobenchik, A. M., Hindler, J. A., & Schuetz, A. N. (2021). Overview of changes to the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100. *Journal of clinical microbiology*, *59*(12), 10-1128.

[167] Blondeau JM, Hansen G, Metzler K, et al. The role of PK/PD parameters to avoid selection and increase of resistance: mutant prevention concentration. J Chemother 2004; 16 suppl 3: 1-19. 2.

[168] Metzler K, Hansen GM, Hedlin P, et al. Comparison of minimal inhibitory and mutant prevention drug concentrations of 4 fluoroquinolones again

[169] Nagayama, A., Yamaguchi, K., Watanabe, K., Tanaka, M., Kobayashi, I., & Nagasawa, Z. (2008). Final report from the Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Japanese Society of Chemotherapy, on the agar dilution method (2007). *Journal of infection and chemotherapy*, *14*(5), 383-392.

[170] https://emerypharma.com/solutions/cell-microbiology-services/minimum-inhibitory-concentration/

[171] CLSI M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Approved Standard-28th edition; January 2018

[172] CLSI M07 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-11th edition; January 2018.

[173] CLSI M02 Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard-13th edition; January 2018.

[174] Keiran Stevenson et al. (2016) General calibration of microbial growth in microplate readers Scientific Reports (6), Article number: 38828 (2016). DOI: 10.1038/srep38828

[175] Tatiana Rochat et al. (2018) The conserved regulatory RNA RsaE down-regulates the arginine degradation pathway in Staphylococcus aureus Nucleic Acids Res. 2018 Sep 28;46(17):8803-8816. DOI: 10.1093/nar/gky584

[176] Emilia Krypotou et al. (2019) Control of Bacterial Virulence through the Peptide Signature of the Habitat Cell Rep. 2019 Feb 12;26(7):1815-1827.e5. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.01.073.

[177] https://www.bmglabtech.com/en/blog/measure-microbial-growth-using-the-od600/

[178] An, R., Addington, C. K., Long, Y., Rotnicki, K., Śliwinska-Bartkowiak, M., Thommes, M., & Gubbins, K. E. (2023). The Nanoscale Wetting Parameter and Its Role in Interfacial Phenomena: Phase Transitions in Nanopores. Langmuir, 39(51), 18730-18745.

[179] *A Thermodynamic Derivation of Wenzel's Modification of Young's Equation for Contact Angles; Together with a Theory of Hysteresis*, R. J. Good, J. Am. Chem. Soc. (74), 5041–5042 (1952); DOI: 10.1021/ja01140a014.

[180] *Relation of the Equilibrium Contact Angle to Liquid and Solid Constitution* in *Contact Angle, Wettability, and Adhesion*, W. A. Zisman (ed. R. F. Gould), American Chemical Society, Advances in Chemistry series (43), Ch1., 1-51 (1964); DOI: 10.1021/ba-1964-0043.fw001.

[181] Kazaoui, S., Minami, N., Jacquemin, R., Kataura, H., & Achiba, Y. (1999). Amphoteric doping of single-wall carbon-nanotube thin films as probed by optical absorption spectroscopy. *Physical Review B*, *60*(19), 13339.

[182] Jorio, A., Pimenta, M. A., Souza Filho, A. G., Saito, R., Dresselhaus, G., & Dresselhaus, M. S. (2003). Characterizing carbon nanotube samples with resonance Raman scattering. *New Journal of Physics*, *5*(1), 139.

[183] Jorio, A. (2012). Raman spectroscopy in graphene-based systems: prototypes for nanoscience and nanometrology. *ISRN nanotechnology*, *2012*, 1-16.

[184] Pandey, S., Pandey, P., Tiwari, G., Tiwari, R., & Rai, A. K. (2012). FTIR spectroscopy: A tool for quantitative analysis of ciprofloxacin in tablets. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *74*(1), 86.

[185] Bokobza, L. (1998). Near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, *6*(1), 3-17.

[186] Alba-Simionesco, C., Coasne, B., Dosseh, G., Dudziak, G., Gubbins, K. E., Radhakrishnan, R., & Sliwinska-Bartkowiak, M. J. P. C. M. (2006). Effects of confinement on freezing and melting. *Journal of Physics: Condensed Matter*, *18*(6), R15.

[187] Gubbins, K. E., Long, Y., & Śliwinska-Bartkowiak, M. (2014). Thermodynamics of confined nano-phases. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, *74*, 169-183.

[188] Wilson JW, Schurr MJ, LeBlanc CL, Ramamurthy R, Buchanan KL, Nickerson CA: Mechanisms of bacterial pathogenicity. Postgrad Med J 2002, 78, 216–224.

[189] Kraśnicki K, Gospodarek E: Adhezja pałeczek Acinetobacter spp. do paraksylenu. Med Dośw Mikrobiol 2004, 56, 179–185.

[190] Przondo–Mordarska A: Właściwości adhezyjne bakterii podstawą zasiedlania i zakażeń organizmu ludzkiego. Post Mikrobiol 2004, 43, Supl.1, 116.

[191] Czaczyk K: Czynniki warunkujące adhezję drobnoustrojów do powierzchni abiotycznych. Post Mikrobiol 2004, 43, 267–283.

[192] Wolska K, Jakubczak A: Wykrywanie biofilmu Pseudomonas aeruginosa na biomateriałach medycznych. Med Dośw Mikrobiol 2003, 55, 371–378.

SPIS RYSUNKÓW ORAZ TABEL

Rysunek 1 Własności nanomateriałów
Rysunek 2 Struktura chemiczna ciprofloksacyny [39]
Rysunek 3 Model mechanizmu działania ciprofloksacyny. Nowe DNA jest syntetyzowane w widełkach replikacyjnych (czarne strzałki). Replikacja rozpoczyna się w punkcie początkowym (oriC) i kończy w punkcie końcowym chromosomu ter [42]
Rysunek 4 Schematy nanomateriałów węglowych [46]
Rysunek 5 Schemat własności różnych nanokompozytów z węglowymi nanorurkami [59]
Rysunek 6 Metody funkcjonalizacji nanorurek węglowych [61]
Rysunek 7 Mechanizm przeciwdrobnoustrojowy CNT: produkcja reaktywnych form tlenu, rozrywanie DNA, zablokowanie transportu elektronów, zniszczenie ściany komórkowej bakterii, utlenianie białek [62]
Rysunek 8 Najważniejsze biomedyczne zastosowania nanorurek węglowych [70]
Rysunek 9 Schemat uwalniania substancji aktywnych z nanotub i ich różna funkcjonalizacja [72]
Rysunek 10 Schematyczne przedstawienie różnych typów MSN [79]
Rysunek 11 Schematyczny diagram przedstawiający przygotowanie mezoporowatych nanocząstek krzemionki (MSN) [81]
Rysunek 12 Mezoporowate nanocząstki krzemionki (MSN) o unikalnych właściwościach. W szczególności, MSN wykazały duży potencjał w dostarczaniu słabo rozpuszczalnych leków, środków przeciwnowotworowych i genów terapeutycznych [80]
Rysunek 13 Wykres funkcji potencjału Lennarda-Jonesa: Międzycząsteczkowa energia potencjalna V L-J w funkcji odległości pary cząstek [94]

Rysunek 14 Schemat kropli cieczy przedstawiający kąt zwilżania na granicy trzech faz w równaniu Younga [100]
Rysunek 15 Model Wenzela (u góry), w którym ciecz całkowicie zwilża chropowatą powierzchnię, oraz model Cassie-Baxtera (u dołu), w którym ciecz nie penetruje wgłębień, lecz osiada na "słupkach" [96].
Rysunek 16 Szkic energii swobodnej Gibbsa idealnych i rzeczywistych układów zwilżających w funkcji pozornego kąta zwilżania. Energia swobodna układu zwilżającego pomiędzy idealną powierzchnią stałą, wodą i gazem [106]
Rysunek 17 Schemat metody Washburna
Rysunek 18 Krzywa m2 w funkcji t eksperymentu w wariancie Washburna [114]
Rysunek 19 Możliwe mechanizmy adsorpcyjne: a) chemiczna adsorpcja na powierzchni, b) fizyczna adsorpcja na powierzchni, c) wymiana jonowa między adsorbatem, a adsorbentem [122]
Rysunek 20 I(a) : Materiały tylko mikroporowate (np. Zeolit), I(b) : Materiały mikroporowate (np. węgiel aktywny),), II: Materiały nieporowate (np. nieporowata krzemionka i proszek magnetyczny), III: Materiały nieporowate i materiały, które mają słabą interakcję między adsorbatem a adsorbentem (np. grafit/woda), IV(a) : Materiały mezoporowate (np. mezoporowata krzemionka i tlenek glinu), IV(b) : Materiały mezoporowate o średnicy porów mniejszej niż 4 nm (np. MCM-41), V: Materiały porowate i materiały o słabej interakcji między adsorbatem a adsorbentem (np. węgiel aktywny/woda), VI: Jednorodne materiały powierzchniowe (np. Grafit/Kr i NaCl/Kr) [123]
Rysunek 21 Schemat układu pomiarowego adsorpcji gazu
Rysunek 22 Proces rozpraszania Rayleigha (światło padające na cząsteczkę nie zmienia długości fali) i Ramana. Linie Stokesa – padający foton traci energię i rozprasza foton o niższej częstotliwości. Linie Antystokesa – padający foton zyskuje energię i rozprasza foton o wyższej częstotliwości [128]
Rysunek 23 Przykładowe widma Ramana: a) czystego grafenu, b) wysoko zorientowanego grafitu pyrolitycznego (HOPG), c) jednościennych nanorurek węglowych (SWCNT), d) grafenu uszkodzonego, e) jednościennych nanorurek węglowych (SWNH) i f) amorficznego węgla [135]
Rysunek 24 Wykres Kataura. Czarne punkty to nanorurki półprzewodnikowe, a czerwone punkty to nanorurki metaliczne. Cztery poziome linie odpowiadają energii leserów: 1,58 eV, 1,88 eV, 23,33 eV, 2,62 eV [138]
Rysunek 25 Zasada absorpcji w podczerwieni wyjaśniona na przykładzie cząsteczki wody [141]
Rysunek 26 Schemat działania FT-IR ATR [140]
Rysunek 27 Schemat działania różnicowej kalorymetrii skaningowej [149]
Rysunek 28 Skaningowa kalorymetria różnicowa. Przykładowa krzywa DSC dla różnych procesów termodynamicznych [153]
Rysunek 29 Analiza DSC. Wyznaczanie parametrów termodynamicznych z wykresu tj. temperatura przejścia fazowego (Tm), pojemność cieplna (ΔCp), zmiana entalpii (ΔH) [153]
Rysunek 30 Schemat budowy mikroskopu sił atomowych [157]
Rysunek 31 Siła oddziaływania pomiędzy atomami igły skanującej a próbki w zależności od odległości [156]
Rysunek 32 Trzy podstawowe tryby pracy AFM, w tym tryb kontaktowy, tryb bezkontaktowy i tryb przewywany (tapping) [159]
Rysunek 33 Schemat mikroskopu sił atomowych [160]
Rysunek 34 Testy MIC i MBC. (1) Przygotowanie seryjnych rozcieńczeń badanych związków i jednego antybiotyku kontroli jakości (QC) na płytce do mikrorozcieńczeń. (2) Utworzenie inokulum poprzez pobieranie kolonii z płytki agarowej. (3) Dozowanie inokulum do płytki mikrorozcieńczeniowej z seryjnie rozcieńczonymi badanymi związkami i inkubacja. (4) Odczytanie płytki do mikrorozcieńczeń w celu określenia wartości MIC. (5) Naniesienie części każdej studzienki na odpowiednie podłoże agarowe, inkubacja i sprawdzenie obecności kolonii w celu określenia MBC [166]
Rysunek 35 Wskaźniki laboratoryjne oceniające wrażliwości danego szczepu bakteryjnego na antybiotyk a krzywa stężenia antybiotyku we krwi w czasie
Rysunek 36 Znaczenie MIC, MBC, MPC
Rysunek 37 Krzywa wzrostu mikroorganizmów. Typowy przebieg liczby mikroorganizmów w hodowli okresowej [177]
Rysunek 38 Schemat wysycania próbki roztworem w szklanych U-rurkach
Rysunek 39 Schemat działania wiskozymetru

Rysunek 40 Wykres zależności zmian lepkości w funkcji temperatury
Rysunek 41 Wykres zależności zmian gęstości w funkcji temperatury dla roztworu ciprofloksacyny z wodą w stężeniach 1mg/ml oraz 2 mg/ml
Rysunek 42 Wykres zależności zmian lepkości w funkcji temperatury
Rysunek 43 Romiar kąta zwilżania dla wody. Seria 90 zdjęć na podstawie których wyniki zostały uśrednione
Rysunek 44 Metoda pomiaru kąta zwilżania (woda destylowana) na przykładowej powierzchni szklanej
Rysunek 45 Tensjometr Sigma 700/701
Rysunek 46 Krzywa m2 w funkcji t pomiaru wody w nanorurkach węglowych 1.7nm oraz 30 nm
Rysunek 47 Kąt zwilżania jako funkcja nanoskalowego parametru zwilżania aw dla różnych cieczy na gładkich powierzchniach krzemionki, grafitu i miki. Krzywe są najlepiej dopasowane do danych eksperymentalnych [178]
Rysunek 48 Wykres zależności współczynnika f od kąta zwilżania dla wody
Rysunek 49 Kąty zwilżania dla powierzchni płaskich HOPG, krzmionek oraz dla nanorurek węglowych o średnicy 1,7 nm oraz 30 nm dla wody oraz roztworu ciprofloksacyny w stężeniu 1 mg/ml oraz 2 mg/ml.
Rysunek 50 Eksperymentalnie zmierzone kąty zwilżania dla różnych cieczy na gładkiej płaskiej powierzchni węglowej HOPG (θbulk , dolne niebieskie punkty i krzywa) oraz w nanorurkach węglowych (θp , górne czerwone punkty i krzywa)
Rysunek 51 Praca adhezji dla HOPG, krzemionki oraz nanorurek węglowych o średnicy 1.7 nm oraz 30 nm dla wody i wodnego roztworu ciprofloksacyny o stężeniu 1 mg/ml i 2 mg/ml
Rysunek 52 Energia zwilżania dla HOPG, krzemionki oraz nanorurek węglowych o średnicy 1.7 nm oraz 30 nm dla wody i wodnego roztworu ciprofloksacyny o stężeniu 1 mg/ml i 2 mg/ml
Rysunek 53 (a) Widmo Ramana jednościennych nanorurek węglowych o średnicy 1,7 nm, (b) Widma Ramana jednościennych nanorurek węglowych o średnicy 30 nm
Rysunek 54 (a) Widma Ramana jednościennych nanorurek węglowych o średnicy 1,7 nm i nanorurek węglowych wypełnionych wodnym roztworem ciprofloksacyny w temperaturze pokojowej; (b) Widma Ramana jednościennych nanorurek węglowych o średnicy 30 nm i nanorurek węglowych wypełnionych wodnym roztworem ciprofloksacyny w temperaturze pokojowej.
Rysunek 55 Widma Ramana nanorurek węglowych (średnica 1,7 nm) wypełnionych wodnym roztworem ciprofloksacyny w zakresie temperatur -10 ^{o}C do 45 ^{o}C
Rysunek 56 Zależność temperaturowa stosunku G/D w SWCNTs (średnica 1,7 nm) wypełnionych wodnym roztworem ciprofloksacyny; (b) Przesunięcie Ramana w funkcji temperatury dla SWCNTs (średnica 1,7 nm) wypełnionych wodnym roztworem ciprofloksacyny
Rysunek 57 Widmo FT-IR ciprofloksacyny w formie proszku
Rysunek 58 (a) Porównanie widma wodnego roztworu CPX i CPX zaadsorbowanego w SWCNTs (1,7 nm); (b) Porównanie widma wodnego roztworu CPX i CPX zaadsorbowanego w SWCNTs (30 nm)
Rysunek 59 Ograniczenie działania wodnego roztworu ciprofloksacyny badane metodą FT-IR powoduje powstawanie grup funkcyjnych o aktywności przeciwdrobnoustrojowej, które mogą tworzyć wewnętrzne warstwy w nanorurkach węglowych. Chociaż ich widmo FT-IR jest przesunięte w kierunku wyższych częstotliwości co dowodzi ich dużej aktywności.
Rysunek 60 Dystrybucja rozmiarów porów dla jednościennych nanorurek węglowych o wymiarach 1.7nm i 30 nm
Rysunek 61 Profil DSC dla wodnego roztworu ciprofloksacyny zaadsorbowanego w jednościennych nanorurkach węglowych o wymiarach 1,7 nm
Rysunek 62 Profil DSC dla wodnego roztworu ciprofloksacyny w stężeniu 1 mg/ml
Rysunek 63 Profil DSC dla wodnego roztworu ciprofloksacyny zaadsorbowanego w porach krzemionkowych SBA-15 o wymiarach 5 nm
Rysunek 64 Obrazy AFM bakterii E. coli zdjęcie 2D A. Z-sensor mode B. Peak force error mode C. Height mode D. Adhesion mode E. Deformation F. Dissipation
Rysunek 65 Obrazy AFM bakterii E. coli po zaaplikowaniu CPX - czas ok. 1h zdjęcie 2D A. Z-sensor mode B. Peak force error mode C. Height mode D. Adhesion mode E. Deformation F. Dissipation

Rysunek 66 Obrazy AFM bakterii E. coli po zaaplikowaniu CPX - czas ok. 3h zdjęcie 2D A. Z-sensor mode B. Peak force error mode C. Height mode D. Adhesion mode E. Deformation F. Dissipation
Rysunek 67 Obrazy AFM bakterii E. coli po zaaplikowaniu CPX z CNT- czas ok. 1h zdjęcie 2D A. Z-sensor mode B. Peak force error mode C. Height mode D. Adhesion mode E. Deformation F. Dissipation
Rysunek 68 Obrazy AFM bakterii E. coli po zaaplikowaniu CPX z CNT- czas ok. 3h zdjęcie 2D A. Z-sensor mode B. Peak force error mode C. Height mode D. Adhesion mode E. Deformation F. Dissipation
Rysunek 69 Porównanie chropowatości bakterii E. Coli dla ciprofloksacyny i ciprofloksacyny zaadsorbowanej w jednościennych nanorurkach węglowych w czasie 1 godziny oraz 3 godzin
Rysunek 70 Pomiary parametru roughness dla: A. bakterii E.coli B. bakterii E.coli z CPX – 1h C. bakterii E.coli z CPX – 3h D. bakterii E.coli z CPX + CNT – 1h E. bakterii E.coli z CPX + CNT – 3h
Rysunek 71 Porównanie adhezji bakterii E. Coli dla ciprofloksacyny i ciprofloksacyny zaadsorbowanej w jednościennych nanorurkach węglowych w czasie 1 godziny oraz 3 godzin
Rysunek 72 Schemat pomiaru strefy inhibicji
Rysunek 73 Schemat pomiaru testu MIC (mikrorozcieńczeń)
Rysunek 74 Gęstość optyczna zmierzona w czasie dla grupy kontrolnej oraz po inkubacji bakterii z ciprofloksacyną i ciprofloksacyną zaadsorbowaną w nanorurkach węglowych
Rysunek 75 Szybkość wzrostu zmierzona w czasie dla grupy kontrolnej oraz po inkubacji bakterii z ciprofloksacyną, ciprofloksacyną zaadsorbowaną w nanorurkach węglowych

Tabela 1 Skuteczność przeciwdrobnoustrojowa czystych nanorurek węglowych w różnych badaniach [62]
Tabela 2 Tablica przejść wibracyjnych cząsteczek stabilnych i przejściowych [144]
Tabela 3 Własności badanych cieczy istotne do określenia kąta zwilżania
Tabela 4 Kąty zwilżania oraz współczynnik f dla wody na różnych powierzchniach krzemionkowych oraz węglowych
Tabela 5 Porównanie pików zarejestrowanych w widmie spektroskopii podczerwieni ciprofloksacyny oraz obliczone z prawa Hooka (równanie 18) [145]
Tabela 6 Porównanie pików dla ciprofloksacyny oraz jej roztworów umieszczonych w nanorurkach węglowych o średnicy 1.7 nm oraz 30 nm
Tabela 7 Zestawienie powierzchni oraz objętości porów dla nanorurek węglowych o wymiarach 1.7nm oraz 30 nm.
Tabela 8 Zestawienie danych temperaturowych dla roztworu ciprofloksacyny oraz zaadsorbowanego roztworu ciprofloksacyny w porach krzemionkowych i węglowych
Tabela 9 Zestawienie wysokości oraz chropowatości wyliczonych ze zdjęć AFM dla bakterii E.coli oraz po zaaplikowaniu ciprofloksacyny oraz ciprofloksacyny umieszczonej w jednościennych nanorurkach węglowych o średnicy 1,7 nm
Tabela 10 Zestawienie pomiarów stref inhibicji wodnego roztworu antybiotyku oraz po zaadsorbowaniu go w porach węglowych o średnicy 30 nm oraz 1,7 nm