



KAPITAŁ LUDZKI  
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI  
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Projekt pn. „*Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych*”  
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

**Piotr Piszczek, Jerzy Jakubiak, Aleksandra Radtke,**

**Wybrane problemy  
nanochemii materiałów  
nieorganicznych, hybrydowych i  
polimerowych**



*nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych*  
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

## SPIS TREŚCI

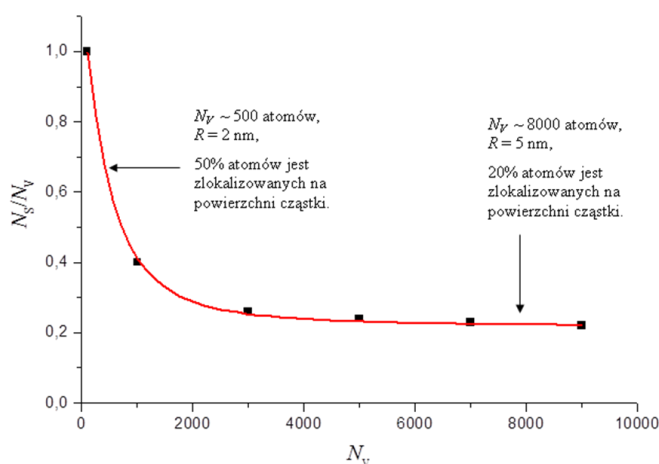
Wykład 1	Podstawy Nanochemii	3
Wykład 2	Nowoczesne technologie wytwarzania metali	11
Wykład 3	Współczesne materiały kompozytowe synteza, struktura i zastosowania	17
Wykład 4	Współczesne materiały bazujące na tlenkach metali	26
Wykład 5	Nanopręty, nanorurki, nanodruty, fullereny	35
Wykład 6	Zaawansowane techniki badawcze stosowane do charakteryzacji mikrostruktury i właściwości materiałów.	40
Wykład 7	Zastosowanie metod spektroskopowych w chemii strukturalnej.	66
Wykład 8	Współczesne materiały biomedyczne.	94
Wykład 9	Problemy badania właściwości biologicznych materiałów biomedycznych.	102

## Wykład 1

# Podstawy nanochemii

Intensywny rozwój nanonauki i nanotechnologii przyczynił się do powstania i rozwoju nowych dyscyplin naukowych. Jedną z nich jest NANOCHEMIA, która umożliwia projektowanie i syntezę układów strukturalnych o określonych właściwościach, zdolnych do samoorganizacji, począwszy od skali molekularnej aż do nanometrycznej. Istotne znaczenie w procesach syntezy chemicznej ma hierarchiczność tworzonych struktur, która ściśle wiąże się z powierzchnią, rozmiarem, kształtem używanych do tego celu cząstek (bloków). Ścisłe powiązanie procesów chemicznych ze zjawiskami fizycznymi, a także właściwościami biologicznymi czyni Nanochemię nauką interdyscyplinarną, która obok chemii opiera się na fizyce, nauce o materiałach, inżynierii, biologii i medycynie.

Istotne znaczenie w nanochemii odgrywa powierzchnia, którą należy traktować, jako układ stanowiący granicę między fazową. Zarówno w chemii, jak i fizyce powyższy układ jest traktowany, jako fragment objętości przestrzeni, który oddziela dużo większe objętości różnych substancji w układach o różnym stanie skupienia, tj. ciało stałe – ciało stałe, ciało stałe – ciecz, ciało stałe – gaz, itp. Opisuując obiekt makroskopowy powierzchnię z reguły pomijamy, gdyż tylko niewielki procent masy obiektu znajduje się na jego powierzchni. Proporcje odwracają się, gdy opisujemy obiekt w skali „nano” (rys. 1). W tym przypadku powierzchnia cząstki może zawierać 80 i więcej % jej całkowitej masy.



**Rys. 1.** Zmiany zależności liczby atomów zgromadzonych na powierzchni kulistej cząstki w funkcji całkowitej liczby atomów cząstki.

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych  
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Przy opisie powierzchni istotne znaczenie ma pojęcie energii powierzchniowej  $\gamma$  [ $\text{J}/\text{m}^2$ ], którą definiujemy, jako wielkość energii potrzebnej na utworzenie powierzchni jednostkowej poprzez rozdział dwóch znajdujących się w równowadze faz. Oznacza to, że chcąc zwiększyć powierzchnię danego obiektu o wartość  $dA$ , np. zmieniając jego kształt, to należy wykonać pracę ( $dW$ ), którą opisujemy równaniem:

$$dW = \gamma dA$$

W takim przypadku powierzchnia obiektu (cząstki) ulega zwiększeniu poprzez przemieszczanie atomów z wnętrza cząstki na jej powierzchnię. Inną metodą zwiększenia powierzchni jest jej rozciąganie, czyli zachowanie stałej liczby atomów powierzchniowych. W takim przypadku praca  $dW$  będzie opisywana zależnością:

$$dW = g_{ij} dA$$

gdzie przez  $g_{ij}$  oznaczono siłę działającą na powierzchnię wyrażoną w  $\text{J}/\text{m}^2$ . Powyższy parametr jest wielkością tensorową, która zależy od osi krystalograficznych i zależy on od elastycznego naprężenia wynikającego z odkształcenia powierzchni:

$$g_{ij} = \delta_{ij} \gamma + \frac{\partial \gamma}{\partial u_{ij}}$$

gdzie przez  $u_{ij}$  oznaczono tensor naprężenia a  $\delta_{ij}$  oznacza symbol Kroneckera. Należy zauważyć, że w przypadku cieczy, gdzie tensor naprężenia powierzchni nie występuje, wartość  $g_{ij} = \gamma$ .

W rzeczywistości, jeśli próbuje się zwiększyć powierzchnię cieczy, to atomy z wnętrza objętości będą przesuwane na jej powierzchnię, aby utrzymać stałą gęstość. W takim przypadku naprężenie powierzchniowe redukuje się do energii powierzchniowej.

Omawiane wyżej efekty powierzchniowe pozwalają zrozumieć efekty związane ze wzrostem stosunku powierzchni do objętości, jako wyniku zmniejszenia rozmiaru cząstki. Dobrym przykładem jest rozważenie kropli cieczy w kształcie kuli o średnicy  $2R$ . Zakrzywienie powierzchni powoduje, że w kierunku środka kuli jest wytwarzane ciśnienie. Zakładając, że jest to ciśnienie wyłącznie hydrostatyczne jego różnicę względem środka kuli  $\Delta P$  opisujemy równaniem Laplace'a:

$$\Delta P dV = \gamma dA$$

gdzie przez  $dV$  oznaczono zmiany objętości związane ze zmianą powierzchni kropli  $dA$ .

W przypadku kuli zmiany ciśnienia są opisywane wzorem:

$$\Delta P = \frac{2\gamma}{R}$$

Rozważając cząstkę kulistą ciała stałego, energia powierzchniowa musi będzie opisywana tensorem naprężenia ( $g_{ij}$ ). Upraszczając problem rozważamy ten problem, jak cząstki w kształcie sześciangu, której energia powierzchniowa ( $\gamma$ ) jest izotropiczna, tj.

$$g = \gamma + A \frac{d\gamma}{dA}$$

Biorąc pod uwagę definicję ściśliwości, którą opisujemy zależnością:

$$X = -\frac{\Delta V}{v\Delta P}$$

gdzie przez  $v$  oznacza objętość atomową ciała stałego, którą możemy również określić jako  $a^3$ , tj. opisać poprzez parametr sieci krystalicznej. Podstawiając powyższą zależność do równania opisującego różnicę ciśnienia skierowanego do środka kuli  $\Delta P$  otrzymujemy zależność opisywaną przez parametry sieci:

$$\frac{\Delta a}{a} = -\frac{2}{3} X \frac{g}{R}$$

Zależność ta pozwala stwierdzić istnienie kruczenia się sieci krystalicznej z uwagi na nacisk skierowany do wnętrza cząstki. To ograniczenie jest proporcjonalne do obciążenia powierzchni

i odwrotnie proporcjonalne do wielkości cząstek. Kurczenie się sieci cząstek w skali nanometrycznej jest obserwowane bardzo często. Dobrym przykładem jest zmiana parametru sieci krystalicznej [1].

Efekty związane ze zmniejszaniem się wielkości cząstek można prześledzić na przykładzie zmian dynamiki sieci cząstek o rozmiarach nanometrycznych. Gdy stosunek powierzchni do objętości osiąga określoną wartość, widmo fononowe ulega poszerzeniu. Pod pojęciem „fonony” rozumiemy quasi-cząstki reprezentujące oscylacje atomów w sieci krystalicznej. Na obniżenie częstości wynikające z poszerzenia widma jest spowodowane udziałem atomów powierzchni, których drgania są łagodniejsze. Rozszerzenie w kierunku większych częstości jest spowodowane kurczeniem się sieci, co jest związane ze zwiększeniem sztywności układu wynikające ze zwiększenia sił międzyatomowych. Z powyższymi zmianami w widmie fononowym mają wpływ na właściwości

---

<sup>1</sup> C. Bréchnignac, P. Houdy, M. Lahmani, Nanomaterials and Nanochemistry, Springer 2007.

termodynamiczne układu. Należy przy tym zauważyć, że entropia drgań zwiększa się oraz ciepło właściwe odbiegają od zależności  $T^3$  w niskich temperaturach.

Wzrost stosunku powierzchni do objętości, gdy wielkość cząstek zmniejsza się wywiera również znaczący wpływ na temperaturę topnienia nano-objektów. W najogólniejszym ujęciu kształt kryształu zależy od warunków wzrostu (tj. temperatury, ciśnienia, szybkości chłodzenia), które zazwyczaj są dalekie od stanu równowagi i dlatego nie są one wyjątkowe/unikalne. Jednakże w warunkach równowagi termodynamicznej kształt kryształów jest wyjątkowy/unikalny. Szczegółowo rozpatruje to twierdzenie Wulff'a, zgodnie z którym rozwiązanie problemu polega na minimalizacji całkowitej energii powierzchniowej ( $E_s$ ).

W przypadku cieczy efekt jest natychmiastowy i przyjmuje ona kształt kuli. W przypadku kryształu specyficzna energia powierzchniowa  $\gamma$  zależy od orientacji powierzchni kryształu. Zminimalizowana energia powierzchniowa jest w takim przypadku opisywana równaniem:

$$E_s = \sum_i \gamma_i A_i$$

gdzie indeksem  $i$  oznaczono różne aspekty z obszarów  $A_i$  i specyficznej energii powierzchni  $\gamma_i$ . Zgodnie z twierdzeniem Wulff'a energia przyjmuje minimalne wartości dla wielościanu, w którym odległości od środka do ścian  $h_i$  są proporcjonalne do wartości ich energii powierzchniowych  $\gamma_i$ :

$$\frac{\gamma_i}{h_i} = const$$

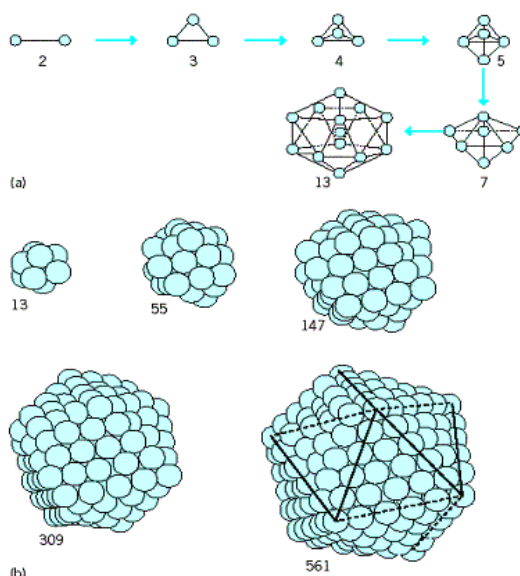
Zgodnie z powyższym, jeśli znamy zależność energii powierzchniowej od orientacji, to możemy skonstruować kształt kryształu w stanie równowagi.

Twierdzenie Wulff'a jest ściśle przestrzegane przy konstrukcji kryształów w skali makroskopowej. Rozpatrując układy w skali nanometrycznej korzystamy z obliczeń symulacyjnych opartych o metody dynamiki molekularnej. Badania te wykazały, że najbardziej uprzywilejowanym upakowaniem atomów cząstek, np. gazów szlachetnych (Ar, Kr) składających się z co najmniej kilkuset atomów, są dwudziestościany, tj. „icosahedry”. Małe cząstki tworzą uporządkowanie pięciokrotnej osi symetrii, natomiast w większych układach takie uporządkowanie nie występuje, gdyż jest niekorzystne energetycznie oraz nie wypełnia całej przestrzeni (Rys. 2).

W opisie mikrostruktury polikryształów nanometrycznych stosowane są takie pojęcia jak:

- **krystalit:** najmniejszy element proszku, warstwy, którym jest najczęściej nanokryształ jednolity pod względem struktury atomowej.
- **aglomerat:** układ wielu ziaren/krystalitów. Ziarna aglomeratu przylegają do siebie na tyle ściśle, że ich powierzchnia swobodna jest mniejsza niż izolowanych ziaren. Do aglomeracji ziaren dochodzi np. w procesach zagęszczania nanoproszków. Aglomeraty ziaren nanometrycznych często mają postać fraktali. [2]

Przestrzenne ułożenie ziaren/krystalitów w proszku/nanowarstwie zdeterminowane jest przez siły ich wzajemnego oddziaływania. Najczęściej są siły przyciągania elektrostatycznego, np. Van der Waalsa, mogą to być również wiązania kowalencyjne lub jonowe.



**Rys. 2.** Liczby atomów tworzących kubo-oktaedr (przykład icosahedronu) [3].

Siły wiążące ziarna, bez względu na ich rodzaj, działają pomiędzy atomami przypowierzchniowymi i są do wielkości tych powierzchni proporcjonalne. Z drugiej strony siły prowadzące do rozseparowania ziaren, jak udary mechaniczne, czy chociażby grawitacja, rosną z momentem bezwładności i masa ziaren, a więc z ich objętością. W tej sytuacji stabilność mechaniczna proszku podyktowana jest w dużej mierze stosunkiem sił

<sup>2</sup> R. Pielaszek, Dyfrakcyjne badania mikrostruktury nanokryształów poddawanych działaniu wysokiego ciśnienia, Praca doktorska pod kierunkiem prof. Bogdana Pałosa, Centrum Badań Wysokociśnieniowych PAN, Wydział Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, 1 października 2002.

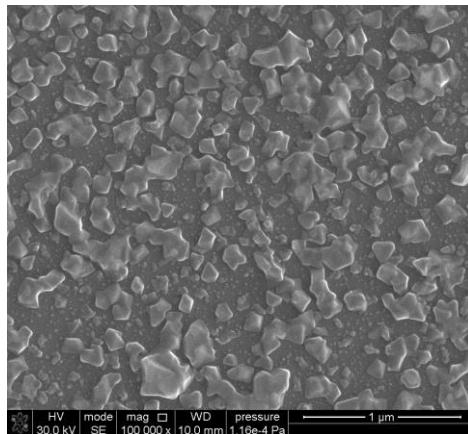
<sup>3</sup> [http://www.symulacje\\_komputerowe\\_fizyki.republika.pl/podstrony/teoria.htm](http://www.symulacje_komputerowe_fizyki.republika.pl/podstrony/teoria.htm)

wiążących (adhezji) do sił separujących, a więc i stosunkiem powierzchni krystalitów do ich objętości [2]:

$$\frac{\Delta V}{V} = \left[ \frac{\pi}{6} d^3 - \frac{\pi}{6} (d - 2\delta)^3 \right] \left( \frac{\pi}{6} d^3 \right)^{-1} \approx \frac{6\delta}{d}$$

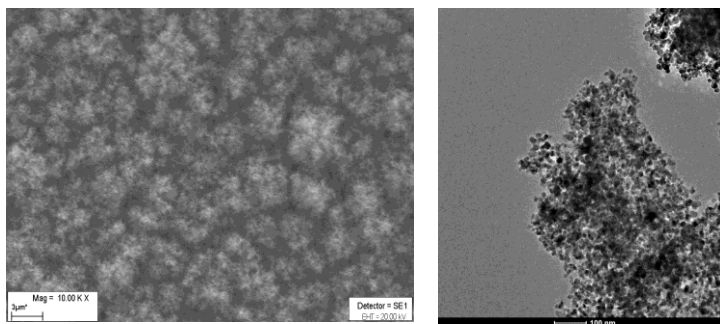
gdzie przez  $\Delta V$  oznaczono objętość materiału zgromadzonego nie dalej niż o  $\delta$  od powierzchni ziarna w kształcie kuli o średnicy  $d$  i objętości  $V$ . Parametr  $\Delta V$  można traktować jako obszar granic pomiędzy ziarnami, zaś wytrzymałość mechaniczna proszku/nanowarstwy jest proporcjonalna do  $\Delta V/V$ . Z powyższej zależności wynika, że wytrzymałość maleje zgodnie z zależnością  $1/d$ . Wartość powyższego parametru stanowi podstawę podziału proszków na [2]:

1. **proszki zwykle** – w których duża masa ziaren wobec słabo rozwiniętej powierzchni uniemożliwia tworzenie stabilnych struktur przestrzennych (Rys. 3)



**Rys. 3.** Struktura ziaren miedzi o rozmiarach 200-500 nm wytwarzanych metodą CVD.

2. **układy o wielkościach nanometrycznych** – gdzie nawet 50% masy tworzy obszar granic ziaren (przy założeniu jego grubości na 3-4 warstwy atomowe i średnicy ziarna 5-15 nm) i adhezja jest wystarczająco silna do utrzymania ziaren w pozycjach jakie przyjęły w trakcie wytwarzania powłoki (Rys. 4).



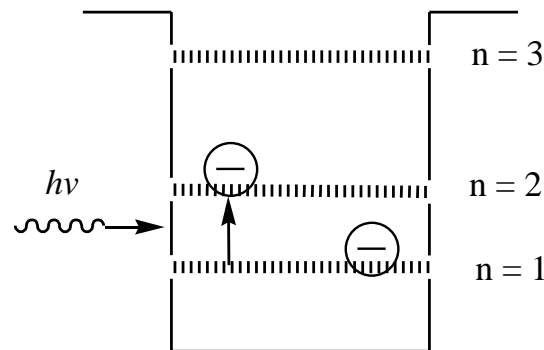
**Rys. 4.** Struktura ziaren  $\text{TiO}_2$  o rozmiarach 10-20 nm wytwarzanych metodą CVD. Układy ziaren tworzą fraktale statyczne.



Z punktu widzenia współczesnych technologii najbardziej interesujące są materiały zbudowane z nanokryształów, które wykazują tendencje do tworzenia superstruktur przestrzennych. Duży stosunek powierzchni (a więc sił adhezji) do masy kryształitu zapewnia znaczna stabilność takich superstruktur. Mogą one mieć postać rozgałęzionych włókien, często tworzą struktury fraktalne o znacznej rozpiętości masowych wymiarów fraktalnych  $D_m$  (od 1:5 wzwyż), (Rys. 4). Istnieje uporządkowanie dalekiego zasięgu ziaren. Odległości międzyatomowe będące wielokrotnością średnicy ziarna są bardziej prawdopodobne niż inne. Sytuacja ta nie ma analogii dla struktury atomowej. Materiałami o granicznym stanie zagęszczenia nanokryształów są ceramiki. Ich gęstość jest zbliżona do gęstości materiału z którego jest zbudowana. Kryształy stykają się ze swoimi sąsiadami całą swoją powierzchnią tworząc wiązania chemiczne. Charakterystyczną cech kryształitów w ceramikach jest zachowanie nanostruktur przez poszczególne ziarna. Tworzenie się wiązań chemicznych w tego typu materiałach wpływa na usztywnienie struktury, czego wyrazem jest wyższy moduł Younga materiałów ceramicznych w porównaniu do metali. Jednocześnie ich porowata struktura oraz stosunkowo mała masa atomowa pierwiastków, z których zwykle zbudowane są ceramiki (tlen, krzem, aluminium, tytan, węgiel) mają bezpośredni wpływ na ich stosunkowo małą gęstość. Przykładem tego mogą być korund ( $Al_2O_3$ ) o gęstości  $3.9 \text{ Mg/m}^3$  i module Younga 380 GPa oraz tlenek cyrkonu ( $ZrO_2$ ):  $5.6 \text{ Mg/m}^3$  i 200 GPa. Jedną z ważniejszych zalet tego typu materiałów jest ich twardość, na co wpływ ma sztywność sieci krystalicznej (silne zlokalizowane wiązania kowalencyjne), która zapobiega silnym dyslokacjom. Wysoką twardością charakteryzują się materiały ceramiczne wiązane jonowo. W tym przypadku efekt dyslokacji polega na przemieszczaniu się jednej części kryształu względem drugiej, co wiąże się ze wzajemnym przemieszczaniem się jonów o jednakowym ładunku. Ruchowi temu przeciwdziałają silne odpychające pole elektrostatyczne usztywniające cały układ.

Istotne znaczenie dla właściwości materiałów ma fakt, że rozmiary nanocząstek są porównywalne z długościami fal promieniowania elektromagnetycznego (długość fali de Broglie'a), co uwidacznia dyskretną naturę stanów elektronowych. Gdy przekroczona zostanie pewna wielkość układu, poniżej której pasma energetyczne przestają się nakładać materiały przewodzące stają się izolatorami. W przypadku struktur nanometrycznych często obserwujemy efekty związane ze zwiększeniem się prądu będącego wynikiem tunelowania elektronów między sąsiadującymi cząstkami. Absorpcja promieniowania

elektromagnetycznego najczęściej jest wynikiem przejść elektronowych między pasmem walencyjnym a pasmem przewodnictwa. Jednak w przypadku półprzewodników cząstki o wielkościach nanometrycznych może dochodzić do absorpcji wewnątrzpasmowej pomiędzy stanami związanymi elektronów/dziur. Przejścia takie zwykle obserwuje się w studniach kwantowych, ale również w kropkach kwantowych, drutach kwantowych. Aby mogło dojść do zjawiska absorpcji wewnątrz pasmowej stan podstawowy musi być wypełniony elektronami. Powyższy stan uzyskuje się poprzez domieszkowanie. W wyniku absorpcji promieniowania następuje wzbudzenie elektronu na poziomie podstawowym ( $n = 1$ ) i przejście do poziomu wyższego (związanego, Rys. 5). Odległość energetyczna wynosi najczęściej od 10 do 200 neV, co odpowiada długościom fali 6-120  $\mu\text{m}$  (zakres podczerwieni).



**Rys. 5.** Schemat absorpcji promieniowania elektromagnetycznego, któremu towarzyszy przejście optyczne pomiędzy elektronowymi stanami związanymi.

Energie przejść zależą od szerokości studni potencjału, co umożliwia dopasowanie absorpcji do określonej długości fali poprzez odpowiedni dobór parametrów struktury. [4]

W przypadku studni kwantowych, aby przejście wewnątrzpasmowe pomiędzy stanami związanymi elektronów mogło zajść musi być spełniony warunek, aby składowa pola elektrycznego padającego promieniowania powinna być prostopadła do płaszczyzny zawierającej studnię. Czyli, gdy światło pada prostopadle do studni, tj. wzdłuż kierunku wzrostu, absorpcja wewnątrzpasmowa nie zachodzi (Rys. 5). W kropkach kwantowych ten warunek nie obowiązuje i możliwe jest zaobserwowanie absorpcji wewnątrzpasmowej dla światła padającego prostopadle.

<sup>4</sup> R.W. Kelsall, I.W. Hamley, M. Geoghegan, Nanotechnologie, WN PWN Warszawa 2008.

## Wykład 2

# Nowoczesne technologie wytwarzania metali

W otaczającym nas środowisku naturalnym występuje wiele obiektów, których co najmniej jeden z wymiarów możemy wyrazić w nanometrach. Do najbardziej znanych należą bakterie ( $10^3$  nm), wirusy ( $10^2$  nm), występujące w przyrodzie cząsteczki fulerenów, nanoziarniste pyły wulkaniczne. Nanometale stanowią wyjątkową grupę materiałów, których technologie wytwarzania towarzyszą człowiekowi od zarania cywilizacji. Początkowo miały one znaczenie bardziej zdobnicze niż użytkowe (np. złocenie, srebrzenie przedmiotów zdobniczych, użytkowych, broni). Z rozwojem cywilizacji nanometale i technologie ich wytwarzania zyskiwały na znaczeniu, np. dodatek mikronowych lub submikronowych ziaren złota i srebra umożliwiał barwienie szkła, przy czym uzyskiwany kolor zależał od rozmiaru ziaren metalu. Na początku XX wieku odkryto efekt umocnienia wydzieleniowego, w którym odpowiedzialne za niego cząstki są wydzielane w skali nanometrycznej. Przykładem są stopy aluminium uzyskiwane z układów Al.-Cu, lub Al.-Zn [5].

Zmniejszenie rozmiarów cząstek ze skali mikrometrycznej do nanometrycznej powoduje tysiąckrotne zwiększenie powierzchni ziaren w jednostce objętości, co nadaje nanocząstkom metali unikatowe właściwości odmiennych od skali mikrometrycznej. Przykładem tego jest charakterystycznie wysoka wytrzymałość nanometali w niskich temperaturach, co wynika z tzw. efektu umacniania między granicami ziaren. Możliwości zwiększania wytrzymałości nanometali poprzez rozdrobnienie ziarna są ograniczone, dlatego stosuje się inne metody umocnienia. Najprostszym przypadkiem jest połączenie efektu umocnienia granicami ziaren i roztworowego. Atomy rozpuszczone w roztworze stałym zwiększają naprężenie tarcia sieci, powodując poprawę wytrzymałości. Ponadto wpływają na rozdrobnienie ziarna. Innym sposobem poprawy właściwości wytrzymałościowych jest umocnienie cząstkami drugiej fazy (wydzieleniami i cząstkami dyspersyjnymi). Obecność cząstek drugiej fazy zwiększa odporność na odkształcenie plastyczne, poprzez blokowanie ruchu dyslokacji oraz hamowanie migracji granic ziarn. Efekt ten zależy od przykładem nanometali umacnianych cząstkami dyspersyjnymi są

---

<sup>5</sup> K. Kurzydłowski, M. Lewandowska, Nanomateriały inżynierskie konstrukcyjne i funkcjonalne, WN PWN Warszawa 2011.

nanostale ferrytyczne umacniane tlenkami (tzw. stale ODS) do zastosowań w reaktorach termojądrowych. [6]

Ogromna energia, zmagazynowana w defektach struktury, głównie w granicach ziarn i dyslokacjach ma bezpośredni wpływ na niską stabilność strukturalną nanometali i ich łatwy rozrost. Siła pędna rozrostu ziarna jest więc większa niż w konwencjonalnych stopach metali. Wydzielenia na granicach ziaren mogą w pewnym stopniu utrudniać migrację granic ziaren, jednak w przeciwieństwie do cząstek dyspersyjnych są one niestabilne i mogą same ulegać rozrostowi. Cząstki innych faz mogą mieć również negatywny wpływ na właściwości metali, obniżać odporność na pękanie i korozję. Wpływ ten zależy w dużym stopniu od wielkości wydzieleni. Im większe wydzielenia, tym bardziej negatywny wpływ na właściwości nanometali. [2] Nanometale w porównaniu do swoich konwencjonalnych odpowiedników charakteryzują się mniejszą plastycznością. Głównym problemem ograniczającym plastyczność nanometali jest ich słaba zdolność do umocnienia odkształceniowego. Na skutek nawet małego odkształcenia podczas rozciągania w próbce bardzo szybko tworzy się szyjka, a wydłużenie w wielu przypadkach nie przekracza 1 - 2%. Skutkiem zmniejszenia rozmiarów ziarna może być wzrost szybkości dyfuzji po granicach ziaren, co z kolei wpływa na większą rozpuszczalność niektórych pierwiastków w osnowie, zmiana sekwencji wydzielania w stopach umacnianych wydzieleniowo czy też zanik uporządkowania strukturalnego w stopach uporządkowanych. Może też zmienić się kinetyka zjawisk zachodzących na powierzchni nanometali, czego efektem jest np. samorzutne narastanie warstw pasywnych na tytanie. Większa reaktywność i dyfuzyjność nanometali umożliwia szybkie tworzenia się i odbudowę warstw pasywnych, co zwiększa odporność na korozję.

Nanometale mogą być wytwarzane w różnej postaci: nanocząstek, proszków, cienkich warstw, które mogą tworzyć materiały konstrukcyjne i funkcjonalne. Ogólnie metod wytwarzania nanometali dzielimy na metody:

- **Top-down**, polegające na rozdrobnieniu struktur w skali makro do skali nano,
- **Bottom-up**, polegające na budowaniu struktur nanometrycznych z cząstek na poziomie atomowym, cząsteczkowym.

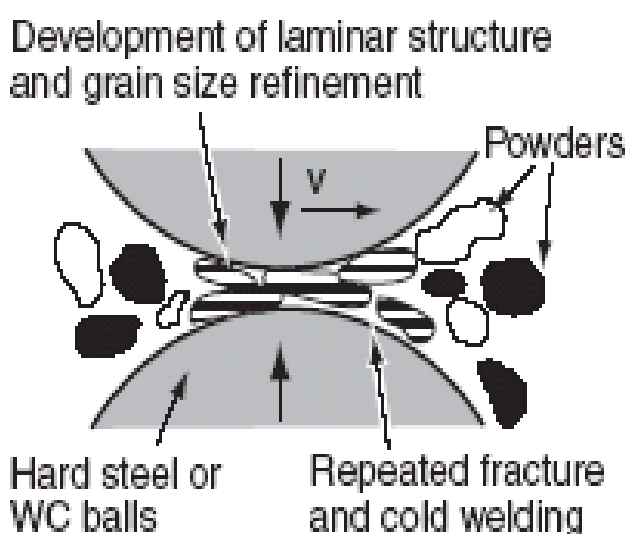
---

<sup>6</sup> Nanomateriały, <http://zasoby.open.agh.edu.pl>

## Metody *Top-down* [1,7]

### Procesy mielenia

Grube ziarna metalu w postaci proszku zostają podane rozdrobnianiu pomiędzy dwoma obracającymi się żarnami. Proces ten odbywa się zazwyczaj w próżni (bez dostępu powietrza), żeby przeciwdziałać utlenianiu metalu. Cykliczne odkształcenia, którym poddawany jest ziarna metalu w młynie powodują zmniejszenie się rozmiarów ziarna (Rys. 1).



Rys. 1. Schemat procesu wysokoenergetycznego mielenia. [3]

Mielenie może być wykorzystane do mechanicznego wytworzenia stopu dwóch albo więcej materiałów poprzez wymieszanie na zimno, dzięki czemu otrzymuje się nanostrukturalne stopy. Tym samym sposobem można też rozdrobnić i rozproszyć nanocząstki jednej fazy w drugiej. Struktury i fazy otrzymane przez mielenie są często metastabilne termodynamicznie (tj. są nietrwałe). Z procesem tym ściśle wiążą się metody konsolidacji proszków, które prowadzone są w warunkach pozwalających wyeliminować zjawiska rozrostu ziaren (niskie temperatury, wysokie ciśnienia i krótsze czasy spiekania).

### Metody litograficzne

Do tworzenia mikro- i nanostruktur metodą top-down często stosują się techniki litograficzne, wykazujące podobieństwo do procesów fotograficznych. Ich wspólną cechą jest wykorzystanie selektywności trawienia różnych materiałów w celu otrzymywania

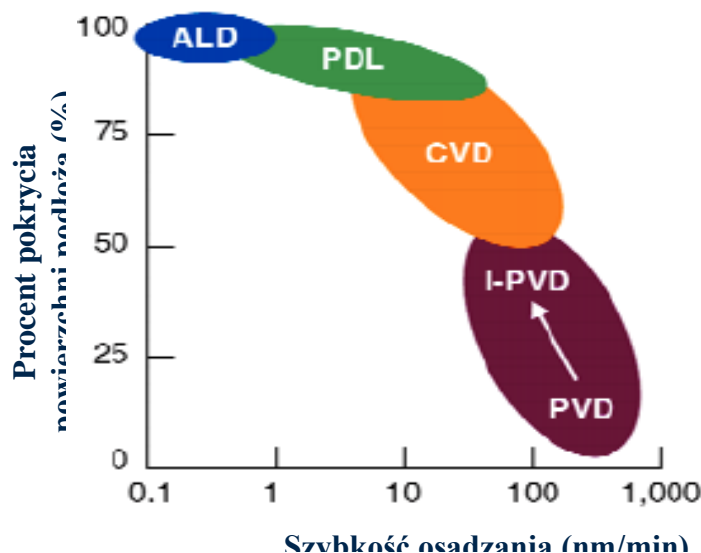
<sup>7</sup> R.W. Kelsall, I.W. Hamley, M. Geoghegan, Nanotechnologie, WN PWN Warszawa 2008.

pożądanych wzorów na zadanej powierzchni. Metody litograficzne są szeroko stosowane w mikro- i nanoelektronice półprzewodnikowej do wytwarzania tranzystorów, układów scalonych, elementów urządzeń optoelektrycznych, wyświetlaczy i układów służących do zapisu danych itd.

## Metody *Bottom-up* [3]

### Techniki wytwarzania nanomateriałów z fazy gazowej lub ciekłej

Techniki osadzania z fazy gazowej należą do jednego z najstarszych i najważniejszych sposobów wytwarzania nanomateriałów, szczególnie nanowarstw, nanokryształów, nanodrutów, czy też nanorurek. W odizolowanej komorze odparowywany jest materiał lub związek chemiczny, z którego zamierza się otrzymać nanomateriał. Zachodzące w następnej kolejności procesy fizyczne lub chemiczne prowadzą do zarodkowania i wzrostu nanocząstek, które dzięki dalszym procesom powierzchniowym i samoorganizacji prowadzą do utworzenia określonego obiektu. Metody osadzania z fazy gazowej można podzielić na: (a) techniki osadzania, w których najważniejszą rolę odgrywają procesy fizyczne, (b) techniki chemicznego osadzania z fazy gazowej (CVD) i (c) techniki oparte na procesach pirolizy. Na Rys. 2. porównano szybkości osadzania i stopień pokrycia powierzchni różnych technik osadzania z fazy gazowej.

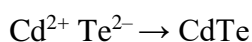


**Rys. 2.** Zależność procentu pokrycia powierzchni podłoża w zależności od szybkości osadzania (PVD – Physical Vapour Deposition, I-PVD – Ionic Physical Vapor Deposition, CVD – Chemical Vapour Deposition, PDL – Pulsed Layer Deposition, ALD – Atomic Layer Deposition).

Zgodnie z powyższą zależnością techniki PVD charakteryzują się dużymi szybkościami osadzania (50-1000 nm/min) ale procent pokrycia powierzchni jest niski lub najwyżej średni (ok. 50-70%). Parametr pokrycia powierzchni jest zdecydowanie lepszy w przypadku stosowania technik CVD i sięga blisko 90%. Jednak szybkości osadzania są w tym przypadku zdecydowanie mniejsze i wynoszą od 5 do 200 nm/min. W stosunku do metod CVD, w metodach ALD kontakt reagentów następuje dopiero na podłożu, co eliminuje reakcje w fazie gazowej, dzięki czemu stopień pokrycia powierzchni jest bardzo wysoki (80-100%). Typowa szybkość osadzania wynosi 0.1-3 mm/min.

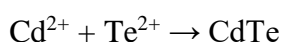
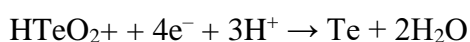
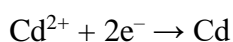
### Metody osadzania z fazy ciekłej

Jedną z najstarszych metod i ciągle udoskonalaną jest osadzanie elektrolityczne. Metoda ta pozwala na wytwarzanie materiałów nanostrukturalnych zbudowanych z czystych metali, tlenków metali lub soli tlenowców (siarczki, selenki, telurki). Elektroosadzanie zachodzi w wyniku wywołania reakcji chemicznych między elektrodami na skutek przyłożonego zewnętrznego napięcia. W wyniku zachodzących procesów elektrochemicznych jedna z elektrod się utlenia, a druga redukuje. W zależności od tego, na której elektrodzie odbywa się osadzanie, procesy tego typu dzielą się na anodowe i katodowe. W procesach anodowych zachodzi utlenianie elektrochemiczne anody zbudowanej z pierwiastka metalicznego. Powstałe w wyniku tego procesu jony reagują z jonami znajdującymi się w elektrolicie. Otrzymany w ten sposób związek jest osadzany na anodzie. Przykładowymi procesami anodowymi są:



Proces katodowy polega na osadzaniu związków znajdujących się w roztworze.

Przykładowymi procesami katodowymi są:



W procesie katodowym możliwe jest także osadzanie tlenków metali w postaci cienkich powłok, jeśli jony utlenianego metalu ulegają hydrolizie lub pH w pobliżu elektrody jest podwyższone na skutek rozkładu wody na wodór i jony  $\text{OH}^{-}$ . W celu otrzymania materiału o strukturze nanometrycznej metodą osadzania elektrolitycznego należy

*nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych*  
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

utworzyć na powierzchni elektrody dużą liczbę zarodków i silnie ograniczyć ich wzrost. Jest to możliwe przez dobór odpowiednich parametrów osadzania. Znaczącą rolę odgrywają tutaj: gęstość prądu i dodatek substancji organicznych, jako inhibitorów wzrostu ziaren, które adsorbując się na powierzchni osadzanego materiału powodują zmniejszenie szybkości wzrostu krystalitów poprzez blokowanie aktywnych miejsc przyłączania atomów.

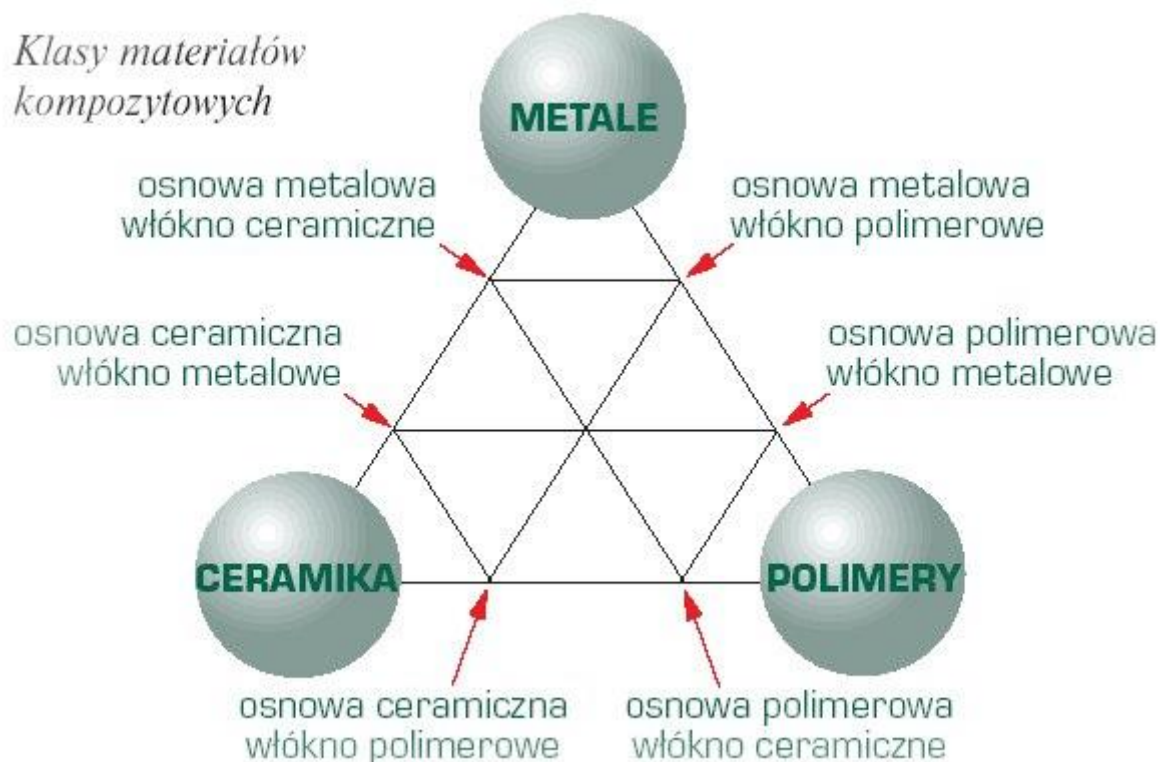


### Wykład 3

## Współczesne materiały kompozytowe synteza, struktura i zastosowania

Pod nazwą kompozyty rozumiemy materiały makroskopowo jednolite, składające się z połączonych wzajemnie składników o różnych właściwościach fizykochemicznych. Efektem takiego działania jest utworzenie nowego materiału o ściśle określonych właściwościach użytkowych wynikających z połączenia właściwości poszczególnych składników. Strukturę kompozytu tworzy faza ciągła stanowiąca **matrycę/osnowę** materiału stanowiąca technologicznie główny składnik. Biorąc pod uwagę podstawowy podział materiałów inżynierskich osnowę stanowią zwykle (a) metale, (b) polimery lub (c) ceramiki (Rys. 1). Drugi składnik stanowi fazę rozproszoną zwaną również **napelnienie** materiału, którym zwykle są materiały ceramiczne (tlenki metali), a także metale.

#### Klasy materiałów kompozytowych



Rys. 1. Materiały kompozytowe. [8]

Materiały kompozytowe można podzielić na trzy kategorie:

- **kompozyty warstwowe** (laminaty oraz przekładkowe typu "sandwich"), które zbudowane są z na przemian ułożonych warstw różnych materiałów,

<sup>8</sup> <http://www.szymonzychon.republika.pl>

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych  
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

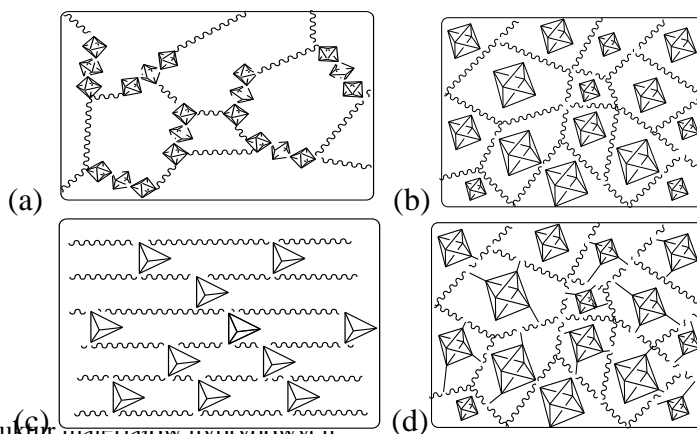
- **kompozyty włókniste**, w których jeden z komponentów ma postać włókien,
- **kompozyty ziarniste (proszkowe)**, w których jeden z materiałów stanowi osnowę, a drugi ma postać ziarnistą (proszki, ziarna).

Pod pojęciem **nanokompozyt** rozumiemy materiał dwufazowy, w którego osnowie (polimerowej, ceramicznej, metalicznej) są równomiernie rozmieszczone cząstki napełniacza, przy czym przynajmniej jeden z wymiarów tych cząstek nie przekracza 100 nanometrów. Rozmiar nanocząstek napełniacza stał się podstawą podziału materiałów nanokompozytowych. Obejmuje on trzy grupy materiałów:

- materiały, w których wszystkie trzy wymiary cząstek napełniacza wynoszą od kilku do kilkudziesięciu nanometrów, np. ziarna ditlenku krzemu, tytanu, cyrkonu,
- materiały, w których dwa wymiary cząstek napełniacza wynoszą od kilku do kilkudziesięciu nanometrów, np. nanorurki, nanopręty, włókna, whiskersy (wisker - kolumnowy lub cylindryczny włoszek wychodzący z powierzchni, zwykle utworzony z monokryształu metalu. Średnica typowego wiskera wynosi 1-5 nm, a jego długość 1-500  $\mu\text{m}$ ).
- materiały, w których tylko jeden wymiar cząstek napełniacza wynosi od kilku do kilkudziesięciu nanometrów, np. krzemowe napełniacze płytkowe, których grubość pojedynczej płytki wynosi ok. jednego nanometra zaś pozostałe wymiary zawierają się w przedziale 200-1000 nm.

Odrębna grupę stanowią **materiały hybrydowe** (organiczno-nieorganicznego lub nieorganiczno-organicznego), w których obie fazy mają rozmiary nanometryczne. W tym przypadku podział jest oparty na sposobie wiązania osnowy i cząstek napełniacza, Zgodnie z nim materiały hybrydowe możemy podzielić na układy, w których jeden ze składników (organiczny lub nieorganiczny) jest wbudowany w sieć drugiego. Tworzone są głównie słabe oddziaływania między składnikami, np. siły van der Waalsa, wiązania wodorowe, lub oddziaływania elektrostatyczne. Odrębną grupę tworzą układy, w których dwa składniki są połączone chemicznie silnymi wiązaniami kowalencyjnymi. Inne sposoby klasyfikacji tych materiałów dotyczą rozmieszczenia i wzajemnego oddziaływania składników organicznych i nieorganicznych lub podziału na materiały, w których faza nieorganiczna przeważa nad matrycą organiczną (Rys. 2(a)) i materiały z dominującą fazą organiczną (Rys. 2(c)). W tworzonej sieci składniki fazy nieorganicznej i organicznej mogą nie być połączone wiązaniami kowalencyjnymi lub składniki fazy nieorganicznej i

organicznej są połączone wiązaniami kowalencyjnymi (Rys. 2(b) i (d)). Materiały hybrydowe stanowią kombinację właściwości fizykochemicznych obu faz. **Szkielet nieorganiczny** może być modyfikowany poprzez użycie alkoholanów krzemu, metali grup głównych czy też metali grup przejściowych, co wpływa głównie na właściwości mechaniczne, optyczne i termiczne materiału. Natomiast **część organiczna** odpowiadająca za elastyczność i przetwarzalność materiałów, może być modyfikowana przez selektywny wybór alkoksylanów, organicznych monomerów czy polimerów.

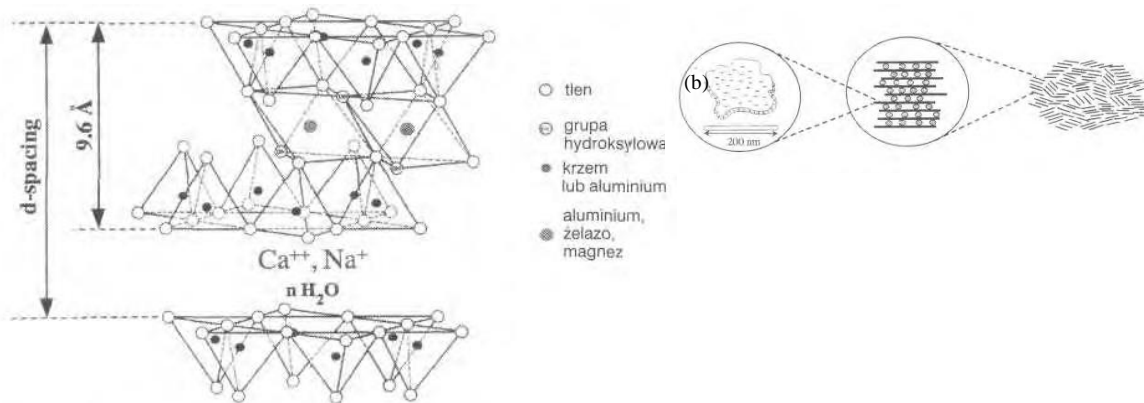


Rys. 2. Typy struktur materiałów hybrydowych

Nanokompozyty polimerowe z nanonapełniaczami stanowią największą grupę materiałów stosowanych w różnych technologiach. Osnowę tego typu materiałów stanowią głównie termoplasty, np. polietylen, polipropylen, poliamid, poli(tereftalen etylenu). Natomiast, jako nanonapełniacze stosowane są nanometryczne cząstki, np. montmorillonit, hektoryt i saponit (napełniacze płytkowe), których ilość stanowi 1-5% wagowych. Najczęściej stosowanym napełniaczem jest montmorillonit, o wzorze sumarycznym  $M_x[Al_{4-x}M_{g_i}](Si_8)O_{20}(OH)_4$ . Jest to kopalina pochodzenia wulkanicznego, której płytkowa struktura krystalograficzna składa się z trzech połączonych wzajemnie warstw: dwóch warstw zewnętrznych zbudowanych z tetraedrycznych kryształów ditlenku krzemu oraz warstwy wewnętrznej utworzonej z oktaedrycznych kryształów tlenku magnezowego lub tlenku glinowego, przy czym warstwy te są wzajemnie połączone poprzez uwspólnienie atomów tlenu (Rys. 3(a)). Grubość płytki montmorillonitu wynosi 0,96 nm, natomiast długości pozostałych jej wymiarów zawierają się w granicach 200-1000 nm. Poszczególne płytki połączone są wzajemnie siłami van der Waalsa, przy czym odległość między dwoma kolejnymi płytkami zwana z ang. *gallery* lub *interlayer* wynosi

ok. 0,3 nm. W przestrzeni między płytkami znajdują się jony m.in. wapnia, sodu, potasu, które neutralizują ujemny ładunek płytek. Suma grubości płytki i odległości między dwoma płytkami kolejnymi zwana jest wymiarem podstawowym, jest oznaczana symbolem *d-spacing* i wynosi 1,26 nm. Pięć do dziesięciu równoległych wzajemnie płytek, połączonych siłami van der Waalsa tworzy cząstkę pierwotną montmorillonitu o całkowitej grubości 7-12 nm. Z cząstek tych formują się aglomeraty o wymiarach 200-1000 nm (Rys. 3(b)).

(a)



R

struktura (b). [9,10]

Rozpatrując rodzaje struktur tworzonych w nanokompozytach polimerowych z udziałem nanocząstek warstwowych możemy wyróżnić układy:

- mikrokompozytowe (Rys. 4(a)),
- struktury interkalowane – układy, w których łańcuchy polimerowe znajdują się pomiędzy równoległymi nanocząstkami warstwowymi/płytkowymi (Rys. 4(b)),
- struktury eksfoliowane – warstwy wypełniacza są rozproszone w różnych kierunkach osnowy polimerowej (Rys. 4(c)).
- 

(a)

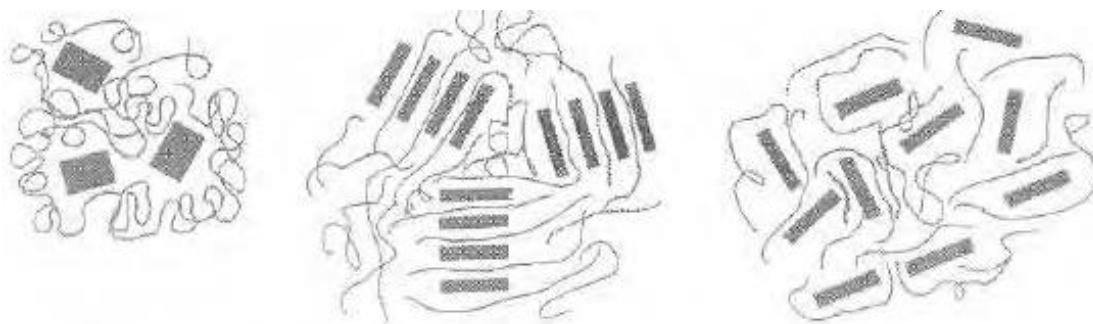
(b)

(c)

<sup>9</sup> K. Kurzydłowski, M. Lewandowska, Nanomateriały inżynierskie konstrukcyjne i funkcjonalne, WN PWN Warszawa 2011.

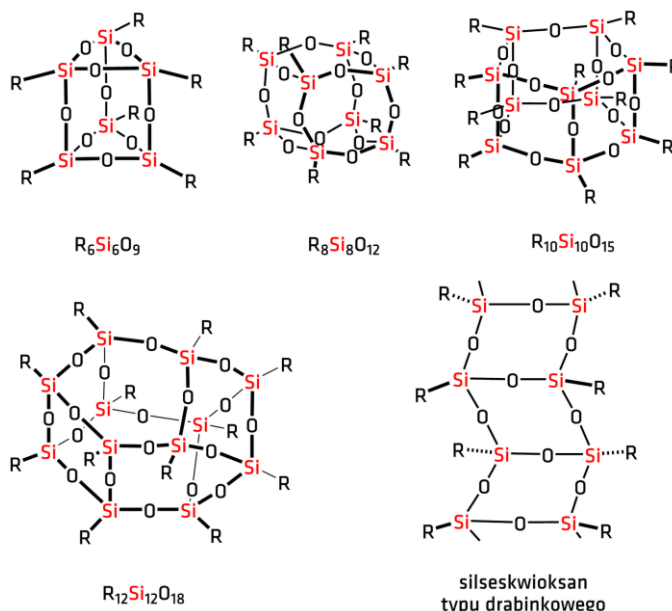
<sup>10</sup> J. Gołębiewski, Nanokompozyty polimerowe, struktura, metody wytwarzania i właściwości, Opracowanie stanowi część pracy naukowej finansowanej ze środków KBN w latach 2002-2005, jako projekt badawczy.

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



**Rys. 4.** Rodzaje nanokompozytów polimerowych z udziałem montmorylonitu (a) mikrokompozyt, (b) nanokompozyt interkalowy, (c) nanokompozyt eksfoliowany. [2,3]

Strukturę materiałów hybrydowych tworzą składniki o rozmiarach nanometrycznych połączone ze sobą za pomocą wiązań chemicznych. Rozproszenie w osnowie polimerowej cząstek o wymiarach nanometrycznych pozwala na uzyskanie nanokompozytu o specyficznych właściwościach fizykochemicznych i biologicznych. Poliedryczne oligomeryczne silseskwioxany (POSS), posiadają cząsteczki o wymiarach 1-3 nm i mogą tworzyć zarówno materiały hybrydowe, w szczególności w przypadku funkcjonalizacji POSS ugrupowaniami zdolnymi do reakcji z osnową, jak i nanokompozyty, gdy w matrycy utworzą się aglomeraty nie większe niż 100 nm (Rys. 5). Schemat syntezy tego typu kładów pokazano na Rys. 6. W przypadku powstawania większych skupisk POSS produktem są kompozyty. [11]

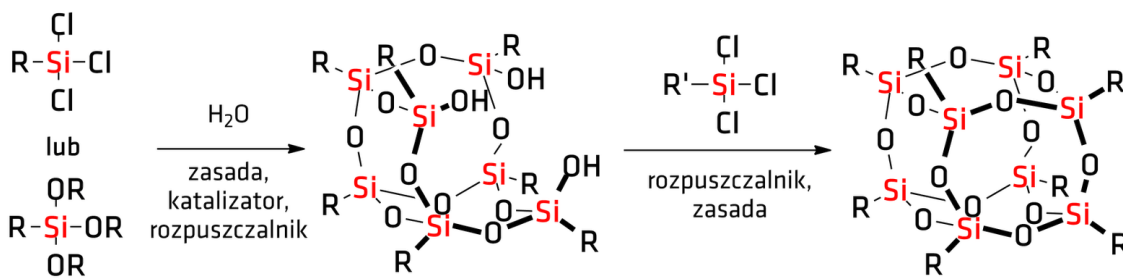


**Rys. 5.** Najważniejsze typy struktur POSS. [12]

<sup>11</sup> E. Andrzejewska, A. Marcinkowska, D. Prządka, A. Kloziński, P. Jakubowska, *Polimery*, 58 (2013) 794.

<sup>12</sup> <http://davidoffskilab.blogspot.com/p/silseskwioxany.html>

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



R' = H, Halogen, alkil, aryl lub inna grupa organiczna

Rys. 6. Schemat syntezy POSS. [5]

Potencjalne zastosowania takich materiałów to powłoki ochronne na metale, membrany przepuszczalne dla gazów, w medycynie natomiast, np. sztuczne zastawki serca, pomosty naczyniowe, tzw. by-passy. Wprowadzanie nanonapełniaczy typu POSS do polimeru w toku przetwórstwa może być realizowane, m.in. za pomocą wyłaczania reaktywnego oraz homogenizacji w stanie uplastycznionym. Techniki te są wykorzystywane, m.in. do wytwarzania nanokompozytów na osnowie poliolefinowej (polietylen, polipropylen).

### Metody wytwarzania nanokompozytów

Metody wytwarzania nanomateriałów hybrydowych zależą od rodzaju materiału. Nanokompozyty ceramiczne i metalowe są otrzymywane poprzez spiekanie proszków, metodą *zol – żel*, natryskiwania termicznego i metodami osadzania z fazy gazowej (CVD, PVD). Najczęściej nanokompozyty polimerowe są otrzymywane poprzez mieszanie bezpośrednie. Nanonapełniacz wprowadzany jest bezpośrednio do ciekłego polimeru i wymieszany z nim w sposób mechaniczny za pomocą szybkoobrotowego mieszadła, walcarki, kalandra lub wyłaczarki. Jest to metoda trudna ze względu na dużą lepkość polimeru, dlatego stosuje się środki powierzchniowo-czynne poprawiające zwilżalność nanonapełniaczy. Metoda ta stosowana jest do otrzymywania nanokompozytów polimerowych z nanokrzemionką, nanocząstkami metalicznymi, ceramicznymi, nanorurkami i krzemionką warstwową.

Znane są trzy metody wytwarzania nanokompozytów polimerowych:

1. Metoda polimeryzacji *in situ*. Jest to metoda najstarsza i została po raz pierwszy zastosowana na początku lat osiemdziesiątych do wytworzenia nanokompozytu poliamidu 6 z montmorillonitem. Obecnie jest stosowana głównie do wytwarzania nanokompozytów polimerów termoutwardzalnych, chociaż znane są także przypadki jej



stosowania w celu wytwarzania nanokompozytów takich polimerów jak poli(tereftalan etylenu), polistyren oraz polimetakrylan. Składa się z dwóch etapów. Etap pierwszy polega na wnikanii ciekłego monomeru między płytki nanonapełniacza i wymaga określonego czasu zależnego od polarności monomerów, właściwości powierzchniowych nanonapełniacza oraz temperatury procesu. Drugi etap tej metody obejmuje proces polimeryzacji zachodzącej głównie między płytkami nanonapełniacza. [3]

2. Metoda rozpuszczalnikowa. Metoda ta składa się z trzech głównych etapów. Etap pierwszy polega na przygotowaniu zawiesiny modyfikowanego powierzchniowo nanonapełniacza w polarnym rozpuszczalniku, np. toluenie. Rozpuszczalnik ten wnika między płytki nanonapełniacza i oddziałując na jony modyfikatora powoduje zwiększenie odległości między tymi płytkami. W etapie drugim polimer rozpuszcza się w tym samym rozpuszczalniku a zawiesiną tak, aby roztwór ten wypełnił szczeliny między płytki nanonapełniacza. W etapie trzecim następuje odparowanie rozpuszczalnika i suszenie otrzymanego nanokompozytu. Metodą tą są wytwarzane m.in. nanokompozyty takich polimerów termoplastycznych jak polietylen dużej gęstości i poliamid. [3]
3. Metoda polegająca na mieszaniu nanonapełniacza z uplastycznionym polimerem. Odpowiednio oczyszczony i wysuszony montmorillonit modyfikuje się metodą wymiany jonów. Jako modyfikator stosowany jest często związek zawierający jony alkiloamoniowe. W wyniku modyfikacji zwiększa się odległość między płytkami montmorillonitu do 2,5-3,25 nm oraz zmieniają się właściwości powierzchniowe płytek. Tak przygotowany montmorillonit, wraz z napełnianym polimerem są podawane do zasobnika wytłaczarki dwuślimakowej współbieżnej gdzie następują procesy uplastyczniania polimeru, mieszania polimeru z montmorillonitem i wygrzewania mieszaniny, która następnie jest granulowana w znany sposób. [3]

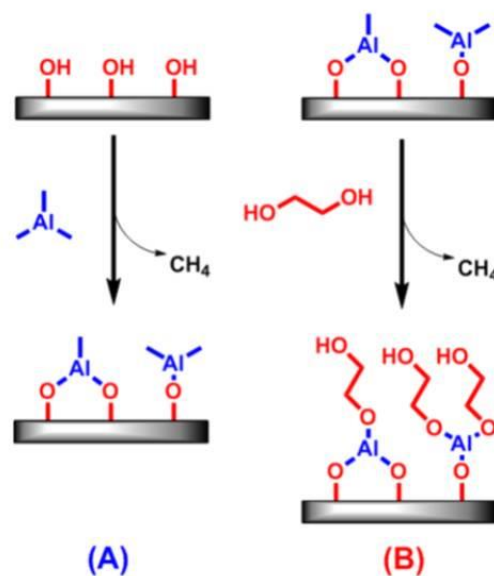
Często stosowaną metodą jest tzw. polimeryzacja *in-situ*, która polega na otrzymywaniu nanocząstek w trakcie wytwarzania nanokompozytu lub mieszaniu nanocząstek z monomerem lub roztworem monomeru z następującą po nim reakcją polimeryzacji. Możliwość oddziaływania i tworzenia wiązań między grupami funkcyjnymi monomeru, a grupami na powierzchni nanonapełniaczy zapewnia lepszą adhezję. Tę

metodę stosuje się do otrzymywania nanokompozytów krzemionki, aluminium, tytanu i tlenku wapnia w osnowie poliamidu.

### Wytwarzanie organicznych polimerów techniką MLD (Molecular Layer Deposition)

Coraz szersze wykorzystanie nanotechnologii w różnych dziedzinach naszego życia oraz unikatowe właściwości wytwarzanych materiałów doprowadziły do opracowania nowych metod kontrolowanego osadzania cienkich warstw materiałów. W ostatnich latach szczególnego znaczenia zyskały metody osadzania warstw atomowych (ALD), które umożliwiają wytwarzanie powłok złożonych z jednej warstwy metalicznej lub niemetalicznej. W trakcie czteroetapowego procesu osadzania stosuje się dwa prekursory: (I) będący źródłem wytwarzanego materiału oraz (II) związek, który wchodząc w reakcję z (I) prowadzi do utworzenia atomów/cząsteczek monowarstwy nieorganicznej.

W technikach MLD wykorzystywane są aktywne mono warstwy organometaliczne, zwane metalocenami. Przykładem może być synteza "alunocenów" (metaloceny zawierające aluminium) z trimetyloglinu i glikolu etylenowego (Rys. 7).



Rys. 7. Schemat wytwarzania organiczno-nieorganicznej monowarstwy hybrydowej metodą MLD.[13]

Metoda ta charakteryzuje się dużą elastycznością na stosowanie rodzaju metalu oraz liganda organicznego w celu wytworzenia hybrydowych cienkich warstw o

<sup>13</sup> <http://www.materialsviews.com/molecular-layer-deposition-building-hybrid-materials-one-layer-at-a-time/>





*nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych*  
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

niestandardowych właściwościach. Przez mieszanie prekursorów ALD wzrostu tlenku aluminium z prekursorem wykorzystywanymi w technice MLD, można dopasować stopień wprowadzenia składnika organicznego do osadzanej warstwy. Wytwarzane warstwy mogą być stosowane w takiej postaci, jak zostały wytworzone lub składnik organiczny może podlegać termolizie w celu utworzenia materiału o porowatości wymaganej np. w procesach katalitycznych.

## Wykład 4

# Współczesne materiały bazujące na tlenkach metali

Cienkowarstwowe nieorganiczne materiały niemetaliczne (ceramiczne) bazujące na tlenkach metali stanowią jedną z ważniejszych grup materiałów stosowanych w różnych gałęziach przemysłu. Przykładem jest przemysł elektroniczny, w którym nanostruktury tlenków metali znajdują zastosowanie w takich dziedzinach, jak: czujniki, baterie, ogniwa słoneczne i przechowywanie energii. Materiały te tworzą przede wszystkim tlenki takich metali jak: Al, Si, Ti, Zr, ale również Y, V, W, Mo. Materiały te tworzą formy przestrzenne o jonowych lub/i kowalencyjnych wiązaniach chemicznych. Surowce do wytwarzania tego typu materiałów możemy podzielić na surowce naturalne, np. skaleń ( $K_2O \times Al_2O_3 \times 6SiO_2$ ), glina (uwodnione glinokrzemiany, np.  $Al_2(Si_2O_5)(OH)_4$ ), kwarc ( $SiO_2$ ), kaolinit ( $Al_2O_3 \times 2SiO_2 \times 2H_2O$ ), krzemiany, tlenki (np.  $MgO$ ,  $Al_2O_3$ ). Odrębną grupę stanowią związki chemiczne, które poddane procesom np. hydrolizy, utlenia prowadzi do utworzenia tlenków metali o określonej strukturze polikrystalicznej. Do najważniejszych należą alkoholany metali i chalogenki metali. Materiały bazujące na tlenkach metali charakteryzuje:

1. wysoka wytrzymałość na ściskanie znacznie większa niż na rozciąganie,
2. wysoki moduł Younga,
3. wysoka twardość i w związku z tym również duża odporność na ścieranie,
4. kruchość,
5. mniejsza w porównaniu z metalami gęstość,
6. mała odporność na szybkie zmiany temperatury (szoki cieplne),
7. bardzo wysoka temperatura topnienia ( $2000-4000^\circ C$ ), i związana z tym odpornością na działanie wysokich temperatur,
8. wysoka trwałość chemiczna i odporność na korozję,
9. mała przewodność cieplna i elektryczna,
10. duża stabilność cieplna (odporność na pęcznienie).

W skali nanometrycznej materiały ceramiczne mogą tworzyć struktury krystaliczne lub amorficzne (szkliste). W skali mikrometrycznej ich mikrostruktura może być zbudowana wyłącznie z fazy krystalicznej lub wyłącznie fazy szklistej, może również być utworzona z fazy krystalicznych z różnym udziałem fazy szklistej. Biorąc pod uwagę rodzaje wiązań

chemicznych tworzonych w strukturach materiałów ceramicznych dzielimy je na (a) ceramiki jonowe (przewagę stanowią wiązania jonowe) i (b) ceramiki kowalencyjne (w ich strukturze przeważają wiązania kowalencyjne). Reprezentantem pierwszej grupy są związki jednego lub kilku metali z niemetalami, np.  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{MgO}$ ,  $\text{ZrO}_2$ . Ceramiki kowalencyjne natomiast są związkami dwóch niemetałów (np.  $\text{SiO}_2$ ) lub czystymi pierwiastkami, jak np. diament (C), krzem (Si), czy grafit (C).

### **Struktury ceramik jonowych:**

Przyciąganie elektrostatyczne powoduje gęste upakowanie jonów w taki sposób, aby jony o takim samym znaku nie stykały się ze sobą. Wiele prostych ceramik ma strukturę dokładnie taką samą jak sól kuchenna  $\text{NaCl}$ . Przykładem tego jest struktura  $\text{MgO}$ , w której atomy tlenu stanowią szkielet a wolne przestrzenie między nimi zajmują atomy metalu. Ten typ struktury tworzą również  $\text{CaO}$ ,  $\text{NiO}$ ,  $\text{FeO}$ ,  $\text{NbO}$ . Materiały te charakteryzują się stosunkowo wysokimi temperaturami topnienia ( $2800^\circ\text{C}$  w przypadku  $\text{MgO}$ ,  $2700^\circ\text{C}$  – dla  $\text{CaO}$ ), co czyni je dobrymi materiałami ogniotrwałymi. Innym typem struktury tworzonym w tego typu ceramikach konstrukcyjnych jest struktura korundu ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ). W tym typie struktury nie wszystkie luki między atomami tlenu są zajęte przez atomy metalu; w tym szczególnym wypadku atomy metalu zajmują jedynie dwie trzecie możliwych do wykorzystania położeń.

### **Ceramiki kowalencyjne:**

Do grupy tej zaliczamy materiały, w których strukturach krystalicznych przeważają wiązania kowalencyjne w trakcie ich tworzenia następuje uwspólnianie elektronów między sąsiednimi atomami. Liczba najbliższych sąsiadów, jak również ich wzajemne położenie, są jednoznacznie określone. Struktury ceramik kowalencyjnych są zatem krystaliczne ale nie należą do ściśle upakowanych. Bardzo twarde ceramiki konstrukcyjne mają struktury bardzo zbliżone do diamentu. Tworzenie się tego typu struktury pociąga za sobą określone właściwości, np. ich twardość ustępuje tylko diamentowi (ok. 8.000 HV).

Charakterystyczną cechą ceramiki jest jej porowatość ( $k_p$ ), określana jako względne odchylenie gęstości ceramiki od gęstości jednolitej masy, tworzącej ceramikę:

$$k_p = \frac{\rho_{cl} - \rho_{cp}}{\rho_{cl}} 100\%$$

gdzie:

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

$$\rho_{cp} = \frac{m_{cs}}{G_{cpS} - G_{cpW}}$$

gdzie przez  $\rho_{cl}$  oznaczono gęstość ceramiki litej,  $\rho_{cp}$  – gęstość ceramiki porowatej;  $m_{cs}$  - masa suchej ceramiki;  $G_{cpS}$  – ciężar ceramiki porowatej w powietrzu;  $G_{cpW}$  – ciężar ceramiki porowatej zanurzonej w wodzie; określanie gęstości materiału na podstawie powyższej zależności opiera się na prawie Archimedesesa (mianownik w powyższym wzorze określa ciężar wody wypartej przez zanurzoną w niej ceramikę, a więc, przy gęstości wody  $\rho_w = 1$  – odpowiada objętości masy ceramiki).

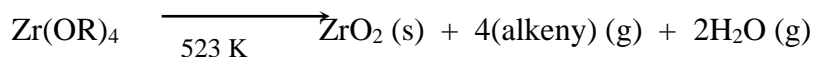
Współczesne materiały ceramiczne dzielimy na:

- ceramiki specjalne (inżynierskie oraz funkcjonalne),
- ceramiki wielofazowe z dużym udziałem fazy szklistej (należy do niej ceramika gospodarczo użytkowa, ceramika techniczna i ceramika budowlana),
- szkła,
- ceramiki szklane (dewitryfikaty),
- ceramiki naturalne (skały, minerały, w tym również lód).

## Metody wytwarzania nanomateriałów bazujących na tlenkach metali

### Zastosowanie alkoholanów metali, jako prekursorów MOCVD/ALD

Lotność alkoholanów metali, ich wysoka czystość i termiczny rozkład do tlenków metali to właściwości, które zdecydowały o zastosowaniu omawianej grupy związków jako prekursorów w metodach CVD. Tetra-alkoholany cyrkonu(IV) zostały po raz pierwszy wykorzystane do otrzymywania nanowarstw  $ZrO_2$  na podłożach szklanych. Badania mechanizmów termicznego rozkładu udowodniły, że warstwy ditlenku cyrkonu o wysokiej jakości tworzą się w wyniku reakcji:



Stosując powyższą metodę otrzymuje się warstwy tlenków Ti, Hf, Y, Dy i Yb w atmosferze gazu obojętnego ( $Ar$ ,  $N_2$ ) i w temperaturach 473-773 K. Należy jednak pamiętać, że proces CVD z użyciem alkoholanów metali, jako prekursorów nie zawsze prowadzi do wytworzenia czystych powłok tlenków metali. Przykładem są badania nad wykorzystaniem  $Al_2O^iBu_6$ ,  $Mo_2O^iBu_6$  i  $W_2O^iBu_6$  jako potencjalnych prekursorów tlenków  $\gamma-Al_2O_3$ ,  $MoO_2$ , i  $WO_2$ . Otrzymane wyniki wykazały, że termiczny rozkład

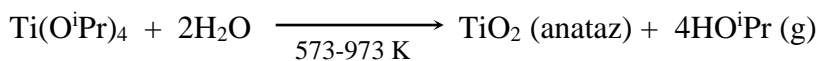
cyklohexylalkoholanów Mo i W przebiega inaczej. W temperaturze ok. 483 K termoliza  $\text{Mo}_2\text{O}^t\text{Bu}_6$  przebiega z eliminacją mieszaniny cykloheksanolu, cykloheksanonu, cykloheksen i cykloheksanu tworząc stabilne połączenie  $\text{Mo}_2\text{C}_4\text{O}_4$  w zakresie 483-823 K. Jednak w wyższych temperaturach (933-983 K) powyższy związek ulega rozkładowi z utworzeniem  $\text{Mo}_2\text{C}$ . W przypadku  $\text{W}_2\text{O}^t\text{Bu}_6$  termoliza przebiega z utworzeniem  $\text{W}_2\text{C}_4\text{O}_4$ , podobnie jak w przypadku pochodnej molibdenu, jednak w temperaturze 1073 K związek ten traci CO i tworzy warstwę metalicznego W.

Warunkiem użycia alkoholany metalu jako prekursora CVD jest konieczność wytworzenia odpowiednio wysokiego ciśnienia par w temperaturze ok. 373 K. Warunek ten spełniają głównie związki  $\text{M}(\text{OR})_n$  o strukturze monomerycznej. Tendencję omawianej grupy związków do agregacji i tworzenia oligomerów, np. połączenia  $\text{M}(\text{OR})_4$  dla  $\text{R} = \text{Me}$ , Et, Bu, można zmienić wykorzystując ligandy alkoholany zawierające grupy rozgałęzione, np.  $^t\text{Bu}$ ,  $^i\text{Bu}$ ,  $^i\text{Pr}$ , dla jonów centralnych o wartościowości 4, 5 lub 6. Jednakże badania porównawcze alkoholany metali wykazały, że tert-alkoholany metali alkalicznych, ziem alkalicznych, a także metali trójwartościowych nie tworzą połączeń monomerycznych. Wymienione związki tworzą dimery posiadające lotność odpowiednią dla ich wykorzystania, jako prekursorów CVD.

Odmianą metody CVD, pozwalającą na wykorzystanie alkoholany metali o niższej lotności jest metoda wspomagana aerozolowo CVD (AACVD). Technika ta polega na wprowadzaniu do reaktora zawiesiny lub roztworu alkoholany metalu, który następnie ulega termolizie na powierzchni rozgrzanego podłoża. Metoda ta jest szczególnie przydatna w przypadku wytwarzaniu materiałów opartych na tlenkach heterometalicznych. Przykładem są alkoholanosiloxanowe kompleksy metali przejściowych  $[\text{M}(\text{OSi}(\text{O}^t\text{Bu})_3)_4]$  ( $\text{M} = \text{Ti}$ , Zr lub Hf), które okazały się być dobrymi prekursorami tlenków  $\text{MSi}_4\text{O}_{10}$ , o niskiej temperaturze osadzania (ok. 423 K).

Odrębnym zagadnieniem jest wykorzystanie alkoholany w metodzie ALD. W tym przypadku wykorzystuje się wysoką podatność tych związków na hydrolizę. Przykładem jest otrzymywanie monowarstw ditlenku tytanu z wykorzystaniem, jako prekursorów izopropanolanu tytanu(IV) i wody lub nadtlenu wodoru. Puls 1 polega na  $\text{Ti}(\text{O}^i\text{Pr})$  na powierzchni podłoża aktywowanego wcześniej grupami  $-\text{OH}$ . Po oczyszczeniu podłoża z cząsteczek alkoholany niezwiązanych z podłożem (Puls 2) wprowadzane są cząsteczki wody (Puls 3). Na powierzchni podłoża zachodzi reakcja:

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych  
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



### Alkoholany metali jako prekursorzy *zol-żel*

Jak już wspomniano, metoda *zol-żel* polega na kontrolowanej hydrolizie alkoholanu metalu w odpowiednim rozpuszczalniku organicznym prowadzącej do utworzenia *żelu*, z którego po usunięciu rozpuszczalnika otrzymujemy rozdrobnione cząstki tlenku metalu. Otrzymany w ten sposób kserożel jest zagęszczany i ogrzewany do utworzenia ceramiki lub szkła. Duża reaktywność alkoholów metali z odczynnikami nukleofilowymi powoduje, że prowadzone są intensywne badania nad ograniczeniem ich reaktywności. W tym celu ligandy –OR są podstawiane przez ligandy mostkujące, które ograniczają podatność macierzystych alkoholów na reakcje hydrolizy. Najczęściej stosuje się w tym celu poliole, grupy karboksylanowe lub β-diketoniany. W zupełnie inny sposób przebiega hydroliza tetra-alkoksylianów (Si(OR)<sub>4</sub>). Jej wolny przebieg powoduje konieczność zastosowania kwasu lub katalizatora w celu przyspieszenia procesu.

W metodzie *zol-żel* szczególnie przydatne są alkoholany metali o niskiej lotności, które nie mogą być wykorzystane w procesach CVD. Stosując omawianą metodę otrzymuje się materiały oparte o tlenkach homo i heterometalicznych. Przykładami są tlenki Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>, V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, które znalazły szerokie zastosowanie w różnych dziedzinach życia codziennego. Chociaż tetra-alkoksyliany nie są alkoholami metali, nie mogą być pominięte w naszych rozważaniach, gdyż pełnią one rolę prekursorów stosowanych do wytwarzania różnych form krzemionki będącej składnikiem szkieł stosowanych w okularach, a także w wyrobach ceramicznych. Wymóg zachowania niskich temperatur (poniżej 573 K) w trakcie wytwarzania materiałów nieorganicznych stosowanych w elektronice powoduje, że technika *zol-żel* została skutecznie wykorzystana do produkcji materiałów ceramicznych lub warstw o właściwościach ferroelektrycznych, piezoelektrycznych i piroelektrycznych, np. BaTiO<sub>3</sub>, LiNbO<sub>3</sub> i Pb(Fe,Nb)O<sub>3</sub>. Kolejnym przykładem zastosowań alkoholów metali jest otrzymywanie materiałów ogniotrwałych na bazie glinokrzemianów (np. mulit), i glinokrzemianów magnezu (np. kordierytu).

## Ceramika $\text{Al}_2\text{O}_3$

Tlenek aluminium jest jednym z najstarszych i najczęściej stosowanych materiałów ceramicznych. Znajduje przy tym coraz szersze zastosowanie – od techniki wielkoprzemysłowej po techniki medyczne. Tlenek aluminium krystalizuje zasadniczo w czterech odmianach alotropowych. Znaczenie techniczne ma praktycznie jedynie odmiana  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ , powstająca podczas prażenia wodorotlenku glinu w temperaturze przekraczającej 1475 K; jest ona optycznie anizotropowa (odmiana  $\text{g-Al}_2\text{O}_3$ , mająca mniejsze znaczenie techniczne, jest optycznie izotropowa; pozostałe odmiany nie mają znaczenia technicznego). Odmiana  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  jest znana pod nazwą *korundu*.

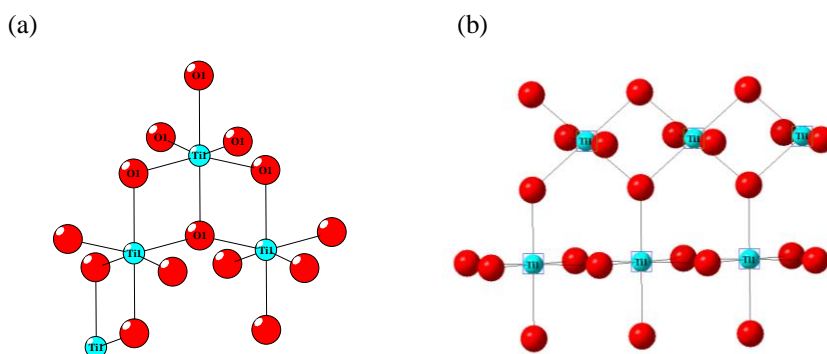
Tlenek aluminium ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) jest całkowicie odporny na działanie kwasów, bardzo odporny na działanie reduktorów (wodór wywiera na nią wpływ dopiero w temperaturze powyżej 1726 K), zaś w mniejszym stopniu na działanie zasad. Wybrane właściwości mechaniczne i fizyczne omawianych w niniejszym rozdziale typów ceramiek tlenkowych. Należy przy tym mieć na uwadze, że podane tam wartości dotyczą porównywalnej ceramiki drobnoziarnistej (ziarna wielkości 1-2  $\mu\text{m}$ ); przy większych ziarnach wartości wytrzymałości na zginanie (najbardziej miarodajny miernik wytrzymałości w przypadku ceramiek) będą mniejsze.

## *Ditlenek tytanu*

Obserwowane w ostatnich latach zainteresowanie zastosowaniem nanokrystalicznego ditlenku tytanu ( $\text{TiO}_2$ ) w różnych dziedzinach techniki i życia codziennego wynika ze specyficznych właściwości fizykochemicznych tego materiału. Zależą one od kształtu cząstek, ich rozmiaru, składu stechiometrycznego oraz struktury polikrystalicznej. Wysoki współczynnik załamania światła  $\text{TiO}_2$  powoduje, że cząstki od dużej powierzchni znajdują zastosowanie ze względu na wynikający z tego stosunek mocy i jasności. Z tego powodu materiał ten jest stosowany, jako biały pigment przy produkcji farb, barwieniu żywności, kosmetyków, past do zębów, polimerów itd. Dzięki swoim właściwościom superhydrofilowym  $\text{TiO}_2$  może być stosowany do produkcji samoczyszczących się szkieł w przemyśle motoryzacyjnym i budowlanym. Wykorzystuje się go również w przemyśle

chemicznym, medycznym, kosmetycznym, spożywczym, elektronicznym, mineralnym oraz paliwowo–energetycznym.

Ditlenek tytanu może występować w postaci jednej z trzech form polimorficznych: anatazu, brukitu lub rutyłu. Z punktu widzenia technologicznego jedynie anataz i rutył znalazły szerokie zastosowanie. Strukturę  $\text{TiO}_2$  tworzą kationy tytanu(IV) otoczone oktaedrycznie przez atomy tlenu, które tworzą mostki typu  $\mu_3\text{-O}$  łączące trzy jony centralne (Rys. 11.1.). Różnica między strukturą anatazu i rutyłu polega na sposobie deformacji oktaedrycznego otoczenia Ti(IV) oraz sposobie wzajemnych oddziaływań oktaedrów  $\{\text{Ti}(\mu_3\text{-O})_6\}$ . Ditlenek tytanu jest bardzo trwały mechanicznie i charakteryzuje się niską reaktywnością chemiczną, jest nietoksyczny, biokompatybilny oraz niedrogi. Jego temperatura topnienia wynosi 2128 K, jest nierozpuszczalny w wodzie,  $\text{HCl}$ ,  $\text{HNO}_3$  oraz rozcieńczonym  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , za to można go rozpuścić w gorącym, stężonym kwasie siarkowym(VI) oraz kwasie fluorowodorowym. Stopień rozpuszczalności zależy ściśle od specyfiki struktury, rutył jest mniej rozpuszczalny niż anataz.



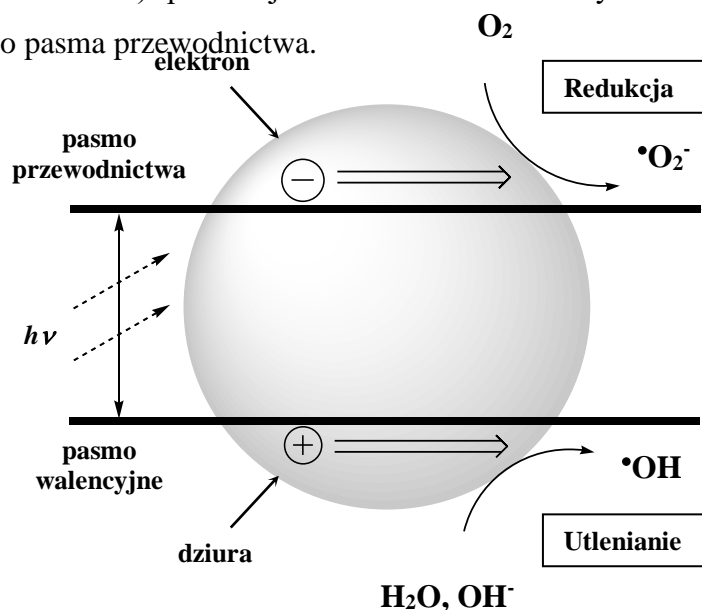
Rys. 1. Struktura krystaliczna (a) anatazu i (b) rutyłu.

Właściwości półprzewodzące ditlenku tytanu wynikają z wielkości przerwy energetycznej, która wynosi odpowiednio 3,2 eV dla formy anatazu oraz 3,0 eV dla rutyłu. Przewodnictwo typu  $n$  ditlenku tytanu jest wynikiem defektów sieci krystalicznej, takich jak wakanse tlenowe, kationowe  $\text{Ti}^{3+}$  i  $\text{Ti}^{4+}$  oraz tworzenie się krystalograficznych płaszczyzn ścinania. W przypadku rutyłu, defekty punktowe w warunkach podwójnie naładowanych wakansów tlenowych oraz obecność międzywęzłowych jonów tytanu na +3 lub +4 stopniu utlenienia wpływają na jego przewodnictwo oraz energię jonizacji. Dla anatazu dominujące defekty sieciowe nie zostały jeszcze w pełni poznane. Niektóre badania sugerują, że jest za nie odpowiedzialny tytan międzywęzłowy, podczas gdy inne wskazują, że wakanse tlenowe, kolejne zaś traktują obydwa zjawiska za równoważne.



Ditlenek tytanu jest przykładem materiału elektrochromowego, co oznacza, że potrafi on zmienić kolor w zależności od przyłożonego napięcia. Związane jest to z wprowadzaniem i usuwaniem kationów (np.  $H^+$  lub  $Li^+$ ) do wnętrza albo na zewnątrz materiału elektrochromowego pod wpływem regulowanego pola elektrycznego. W życiu codziennym materiały te mają bardzo ciekawe zastosowanie przy budowie ogniw słonecznych, jako barwniki uczulające, przy produkcji inteligentnych szyb czy też urządzeń do obrazowania. Omówione wyżej właściwości półprzewodzące  $TiO_2$  mają wpływ na właściwości fotokatalityczne tego materiału.

Dane encyklopedyczne definiują **fotokatalizę** jako reakcję chemiczną, w trakcie której katalizator lub substrat absorbują światło, co inicjuje i katalizuje przebieg procesu chemicznego. Działanie fotokatalityczne ditlenku tytanu jest często przywoływanym przykładem materiału, który w wymiarze makroskopowym nie wykazuje tego typu właściwości. Pojawia się ono dla warstw złożonych z nanokryształów  $TiO_2$  o odpowiedniej formie polikrystalicznej (anataz) bądź też mieszaniny anataz/rutyl. Światło o długości fali w zakresie poniżej 400 nm (ultrafioletowe UV, pasmo światła widzialnego to zakres fali o długości 380 ~ 780 nm) powoduje w strukturze  $TiO_2$  wybite elektronów z pasma walencyjnego do pasma przewodnictwa.



Rys. 2. Schemat procesów fotokatalitycznych zachodzących na powierzchni nanokryształu  $TiO_2$

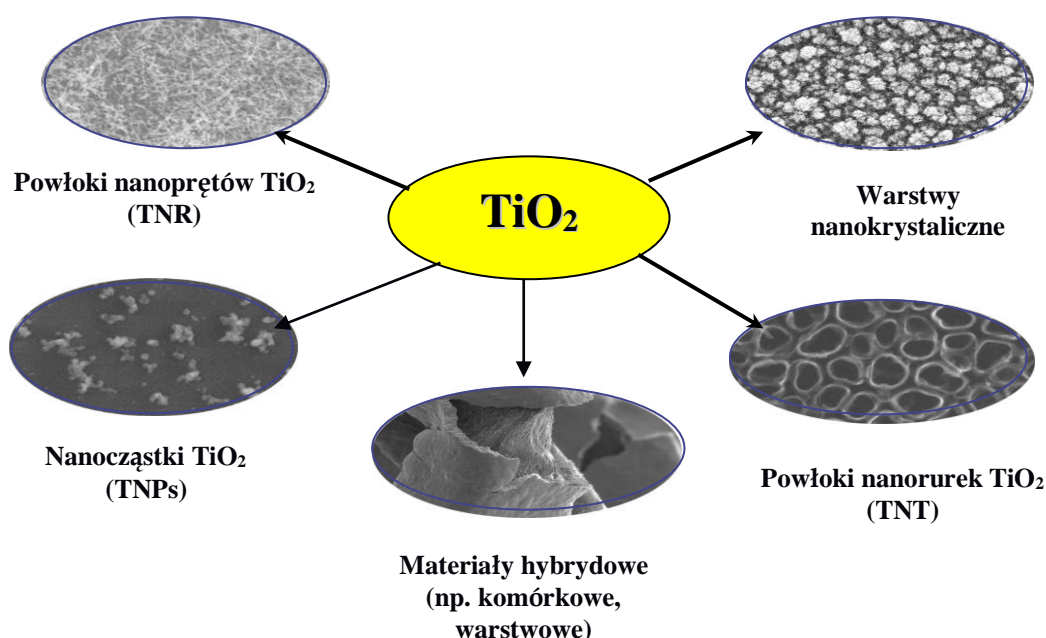
Szerokość przerwy energetycznej w przypadku  $TiO_2$  wynosi 3,2 eV. Na powierzchni  $TiO_2$  powstają elektrony, które mogą łączyć się z tlenem z powietrza formując aktywny tlen ( $O_2^-$ ) oraz dziury elektronowe (+), które łączą się z parą otaczającego powietrza lub wodą

*nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych*  
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

i tworzą rodniki wodorotlenowe ( $\cdot\text{OH}$ ) (Rys. 2.). Proces ten jest podobny do fotosyntezy, w której chlorofil wyłapuje światło słoneczne żeby zmienić wodę i dwutlenek węgla w tlen i glukozę. Tworzący się rodnik wodorotlenowy ( $\cdot\text{OH}$ ) jest silnym utleniaczem i może prowadzić do utleniania i rozkładu różnego rodzaju zabrudzeń organicznych, np.: tłuszcze, oleje, spaliny, bakterie. Część zanieczyszczeń w kolejnych reakcjach przekształca się w wodę i dwutlenek węgla. Zaletą użycia  $\text{TiO}_2$ , jako fotokatalizatora jest to, że jego właściwości nie są ograniczane przez brak bezpośredniego nasłonecznienia czy pochmurną pogodę.

## Wykład 5 Nanopręty, nanorurki, nanodruty, fullereny

Współczesne technologie szerokim zakresie wykorzystują materiały, których co najmniej jeden wymiar wyrażamy w nanometrach. Ten ostatni parametr decyduje o unikalnych właściwościach fizykochemicznych i biologicznych tego typu materiałów, które decydują o ich odrębności w porównaniu do materiałów makroskopowych. Dobrą ilustracją są układy bazujące na ditlenku tytanu o różnej strukturze i morfologii powierzchni stosowane w różnych technologiach (Rys. 1).



Rys. 1. Struktura materiałów bazujących na ditlenku tytanu(IV) stosowanych w różnych technologiach.

Stosowane we współczesnych technologiach materiały nanokonstrukcyjne znajdują szerokie zastosowanie między innymi w elektronice, optoelektronice, biomedycynie, farmaceutyce, kosmetyce, energetyce, czy monitoringu środowiska. Do jednych z najważniejszych nanomateriałów należą nanorurki, nanopręty, fullereny, nanodruty.

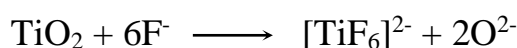
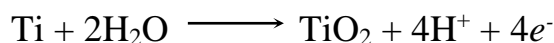
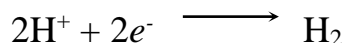
**Nanorurki węglowe;** to jeden z najwytrzymalszych i najsztwniejszych ze znanych materiałów. Wytrzymałość na rozciąganie nanorurek wielowarstwowych sięga 63 GPa, dla porównania hartowana stal osiąga wytrzymałość rzędu 1-2 GPa. W połączeniu z niewielką gęstością, daje to najlepszy rezultat spośród znanych materiałów. Z powodu elastyczności i pustej struktury łatwo wyginają się i odkształcają pod wpływem sił ściskających lub

zginających. Nanorurki węglowe zbudowane są ze zwiniętych w rurkę warstw grafenowych. Nanorurki węglowe ze względu na ich budowę, można podzielić na: (a) jednościenne (SWCNT), (b) dwuścienne (DWCNT) i (c) wielościenne (MWCNT).

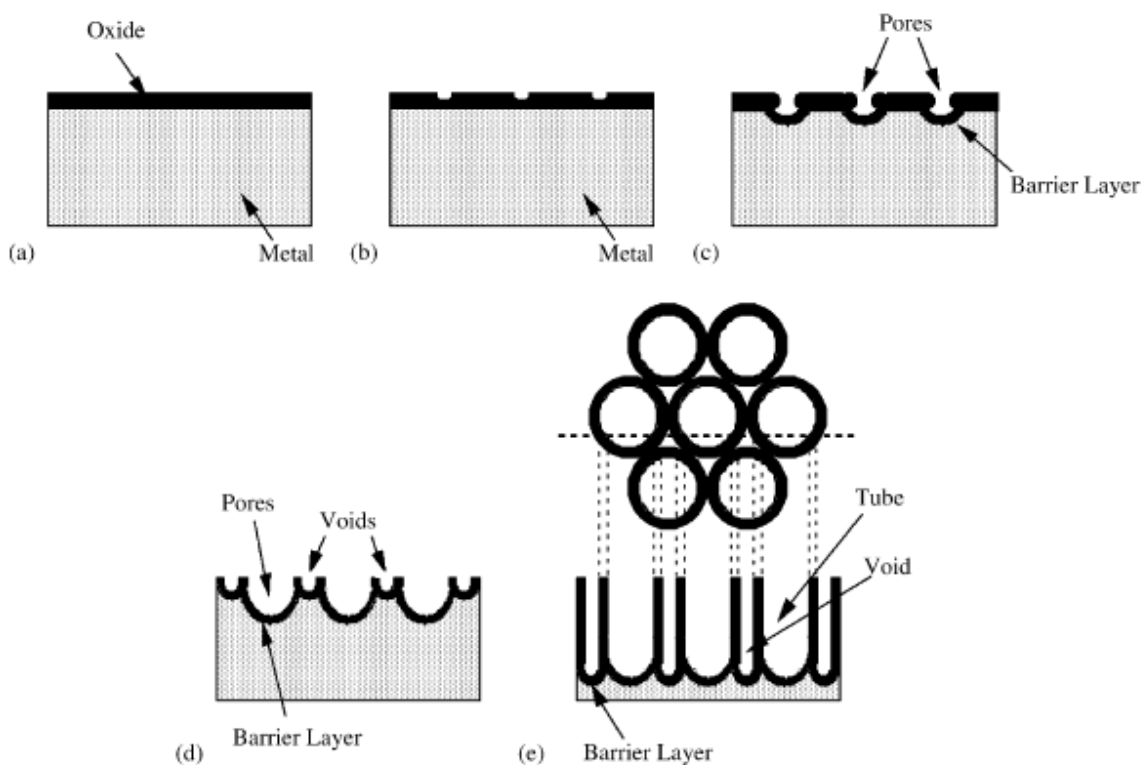
Jednościenne nanorurki węglowe wytwarzane są przez odparowywanie atomów węgla z tarczy węglowej za pomocą impulsów laserowych w temperaturze 1173-1273 K. Zastosowanie kobaltowo-niklowego katalizatora pozwala na otrzymywanie jednościennych nanorurek węgla z wydajnością 70-90%. Obecnie powszechnie stosowaną metodą jest CVD. Jako prekursorów używa się etanolu, metanu, etylenu, acetyleny, który trafia na rozgrzany katalizator (żelazo, nikiel albo kobalt). Obecność katalizatora pozwala na kontrolowany rozkład węglowodorów na cząsteczki wodoru i atomy węgla. Metodę CVD stosuje się głównie do otrzymywania dużej ilości nanorurek wielościennych. W procesie tym stosuje się np. etylen, acetylen, ale również tlenek lub di tlenek węgla, jako źródło węgla, oraz różne metaliczne katalizatory (np. Fe, Co, Ni, Cu) osadzone na nośnikach (np. MgO, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ZrO<sub>2</sub>, CaO, SiO<sub>2</sub>). Temperatura syntezy wynosi od 773 K do 1473 K. Średnice powstających rurek zależą od rodzaju użytego katalizatora, zaś powstające nanorurki są wielościenne i posiadają liczne defekty, co może być związane z niskimi temperaturami syntezy. Postulowana wysoka toksyczność nanorurek węglowych nie jest spowodowana przez atomy węgla, a pozostałości metali używanych przy półprzemysłowej syntezie nanorurek węglowych, które ze względu na niskie stężenia są trudne do wykrycia standardowymi metodami analitycznymi. Specyficzne właściwości fizykochemiczne nanorurek węglowych pozwalają na ich zastosowanie w różnych technologiach i dziedzinach życia codziennego. Do najważniejszych należą: (a) wychwyty różnych związków występujących w śladowych ilościach w fazie ciekłej i gazowej pozwala na ich wykorzystanie, jako sensorów gazów i śladowych ilości zanieczyszczeń, (b) nośniki katalizatorów (przemysł chemiczny) i elektrokatalizatorów (ogniwa paliwowe), (c) fotokatalizatory (samoczyszczące się powierzchnie), (d) fotoogniwa (dotyczy ogniw słonecznych), (e) membrany filtracyjne (ochrona środowiska), (f) materiały elektrodowe (baterie litowe), (g) markery (w biomedycynie), (h) wypełniacze materiałów kompozytowych, (i) ekrany pola elektromagnetycznego, (j) emitery emisji polowej, (k) nanowłókny, nanoprzędza, (l) sztuczne mięśnie, (ł) nośniki leków i genów.

W ostatnich latach istotnego znaczenia nabierają elektrochemiczne metody wytwarzania powłok nanorurek ditlenku tytanu. Podstawą tej metody jest zbudowanie

układu złożonego z katody tytanowej i anody platynowej zanurzonych w roztworze elektrolitu, którym najczęściej jest wodny roztwór kwasu fluorowodorowego. Po przyłożeniu napięcia zachodzą następujące reakcje chemiczne:



Na Rysunku 2 przedstawiono proces tworzenia się powłoki nanorutek na katodzie tytanowej w trakcie procesów anodyzacji.

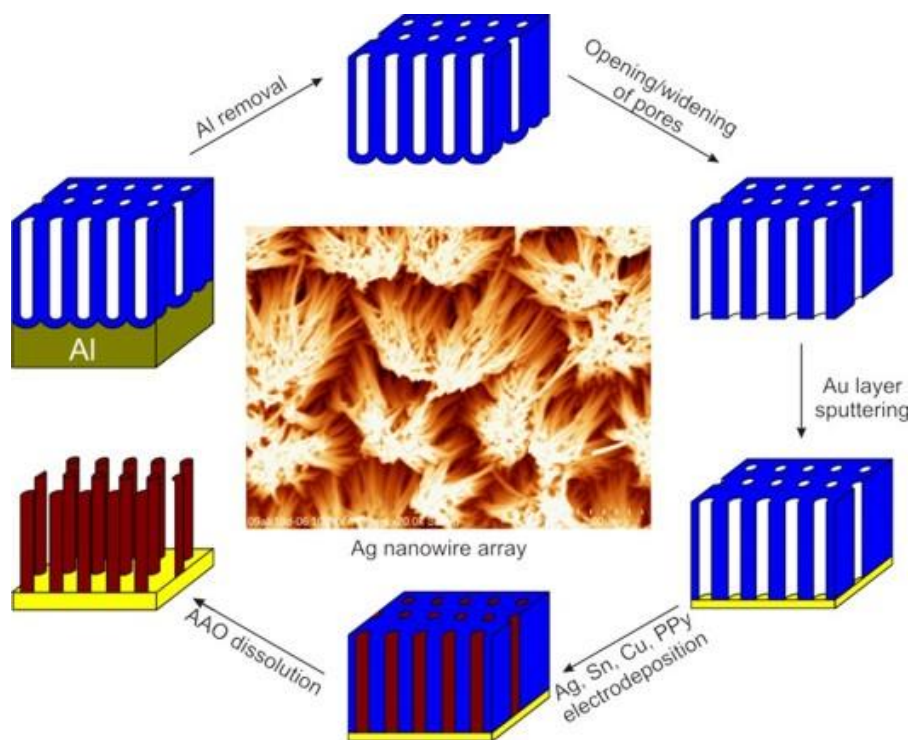


**Rys. 2.** Anodowanie powierzchni tytanu prowadzące do utworzenia powłoki nanorutek  $\text{TiO}_2$ ; (a) tworzenie się warstwy tlenku metalu, (b) tworzenie wgłębienia w warstwie tlenku, (c) wzrost wgłębienia, (d) część metaliczna pomiędzy porami ulega utlenianiu i tworzące się kompleksy  $[\text{TiF}_6]^{2-}$  wspomagają rozpuszczanie, (e) w pełni rozwinięte nanorurki (przekrój i widok z góry).

**Nanodrutki;** porowaty tlenek glinu z uporządkowaną strukturą porów (anodized aluminum oxide, AAO), otrzymywany w procesie anodowego utleniania metalu w roztworach kwasowych odgrywa szczególną rolę jako matryca przy syntezie układów nanodrutów, nanoprętów i nanokropek kwantowych zarówno metalicznych jak i półprzewodnikowych, węglowych, tlenkowych lub polimerowych [1]. Opierając się na porowatych matrycach

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

AAO uzyskiwane są powłoki nanodrutów metalicznych (Ag, Cu, Sn) lub polimerowych (Rys. 3). Potencjalne zastosowania tego typu materiałów obejmują układy magazynowania energii (nowoczesne materiały anodowe do baterii litowo-jonowych, nanostrukturalne kolektory prądu), elektrokatalizę oraz chemiczne i biochemiczne sensory.



Rys. 2 Schemat otrzymywania nanodrutów na bazie matrycy AAO. [14]

**Fullereny**; to cząsteczki tworzące kryształy, które są ogromnymi i pustymi wewnątrz, symetrycznymi wielościanami składającymi się z kilkudziesięciu do kilkuset atomów węgla. Najbardziej trwałe fullereny to: C<sub>32</sub>, C<sub>44</sub>, C<sub>50</sub>, C<sub>58</sub>, C<sub>60</sub>, C<sub>70</sub>, C<sub>240</sub>, C<sub>540</sub>, C<sub>960</sub>. Najlepiej poznane są, jak dotąd, cząsteczki C<sub>60</sub> i C<sub>70</sub>. Cząsteczki te składają się z 12 pierścieni pięcioatomowych i odpowiednio 20 lub 25 pierścieni sześćoatomowych. Mają one doskonale znane kształty piłek - futbolowej (C<sub>60</sub>) i do rugby (C<sub>70</sub>). W przyrodzie odkryto fullereny w śladowych ilościach w warstwie gliny bogatej w sadzę - pochodzącej z okresu kredowego (Nowa Zelandia). Bardzo niewielkie ilości fullerenów zawiera sadza powstająca w płomieniu, np. podczas spalania świecy. Generalnie fullereny otrzymuje się

<sup>14</sup> Grzegorz D. Sulka, Leszek Zaraska, Joanna Kapusta-Kołodziej, Katarzyna Hnida, <http://science24.com/paper/23227>



*nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych*  
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

odparowując w atmosferze helu grafit wiązką światła laserowego lub w elektrycznym łuku węglowym. Bez względu na metodę są one otrzymywane według następującego schematu:

Etap I : sublimacja substancji węglowej (grafit odparowywany przez laser),

Etap II: kondensacja gazu węglowego,

Etap III: ekstrakcja (wiele metod do wydobycia z sadzy fulerenów).

Fullereny mogą być wyekstrahowane przy użyciu benzenu, czy innych rozpuszczalników organicznych. C<sub>60</sub> i inne fullereny mogą być od siebie rozdzielone z wykorzystaniem chromatografii cieczowej.

Właściwości i przewidywane zastosowanie: Fullereny to miękkie żółte lub brązowe kryształki, które łatwo sublimują są dobrze rozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych. Nie rozpuszczają się w wodzie. Wewnątrz cząsteczki fullereny można umieścić atomy metali (tzw. metalofullereny). Przewiduje się, iż fullereny i ich metaliczne związki znajdą zastosowanie, jako przewodniki, półprzewodniki, nadprzewodniki (nadprzewodnictwo), smary, włókna sztuczne, farmaceutyki -np. w leczeniu choroby Alzheimera.

## Wykład 6

# Zaawansowane techniki badawcze stosowane do charakteryzacji mikrostruktury i właściwości materiałów

## Mikrotomografia rentgenowska jako metoda obrazowania w inżynierii materiałowej

Mikrotomografia komputerowa jest rodzajem tomografii komputerowej [1] pozwalającym na uzyskiwanie wysokorozdzielczych obrazów tomograficznych. Rentgenowska tomografia komputerowa jest transmisyjną techniką obrazowania umożliwiającą uzyskiwanie obrazów warstw badanego obiektu. Teoretyczne podstawy funkcjonowania tomografii są zasługą austriackiego matematyka Johanna Radona, który w 1917 roku udowodnił, że obraz dwu- i trójwymiarowego przedmiotu można odtworzyć w sposób zupełny z nieskończonej ilości jego rzutów. Jednak pierwszy tomograf został zbudowany dopiero w 1968 roku przez Godfreya Newbolda Hounsfielda w Wielkiej Brytanii. Pierwsze tomografy prawie natychmiast znalazły zastosowanie w diagnostyce medycznej. Podstawowe elementy typowego tomografu komputerowego to lampa rentgenowska i układ detektorów promieniowania. Zasadnicza różnica konstrukcyjna między tomografem stosowanym w diagnostyce medycznej a mikrotomografem stosowanym w charakteryzacji materiałów polega na tym, że w tym pierwszym obiekt badań (pacjent) pozostaje w trakcie skanowania nieruchomy (obrotowi podlega układ lampa-detektor), natomiast w mikrotomografach obrotowi podlega wyłącznie obiekt badań, co znacznie upraszcza konstrukcję urządzenia. Podczas skanowania badana próbka obraca się z założonym krokiem kątowym. W każdej z osiągniętych pozycji kątowych wykonywany jest obraz transmisyjny (projekcja) obiektu. Następnie na podstawie serii obrazów transmisyjnych (projekcji) dokonywana jest komputerowa rekonstrukcja wewnętrznej struktury badanego obiektu. Zgodnie z twierdzeniem Radona, im liczniejsza jest seria obrazów transmisyjnych (mniejszy kątowy krok obrotu próbki), tym dokładniejsze jest odwzorowanie wewnętrznej struktury badanego obiektu. Całkowity kąt obrotu próbki podczas skanowania nie może być mniejszy od  $180^\circ$ . Stosowane w mikrotomografii źródła promieniowania charakteryzują się odpowiednio niewielkim rozmiarem ogniska w porównaniu z lampami rentgenowskimi stosowanymi np. w tomografach do diagnostyki medycznej. Detektory promieniowania stosowane w



mikrotomografii powinny charakteryzować się niewielkim czasem bezwładności. Najczęściej stosuje się detektory scyntylicyjne, których warstwa robocza zawiera związki gadolinu np.  $Gd_2O_2S$ . Istotnym elementem toru rejestracji sygnału jest kamera CCD przetwarzająca impulsy świetlne generowane przez ekran scyntyлятора na sygnał elektryczny [2].

"Sercem" tomografii komputerowej są zaawansowane techniki rekonstrukcji [1] trójwymiarowego obrazu badanego obiektu z serii obrazów transmisyjnych (projekcji). Powszechnie stosowaną metodą rekonstrukcji obrazu tomograficznego jest wsteczna projekcja z filtrowaniem (ang. *filtered back-projection*). Poszukiwany obraz ma charakter cyfrowy. Wartości liczbowe przypisane poszczególnym jego elementom określają współczynniki osłabienia promieniowania  $\mu(x, y)$ . Wielkością bezpośrednio mierzoną nie są jednak współczynniki osłabienia lecz natężenie promieniowania. Dla nieskończenie cienkiej wiązki promieniowania monochromatycznego natężenie promieniowania  $I$  po przejściu przez obiekt wzdłuż linii prostej  $L$  wynosi:

$$I = I_0 \exp\left(-\int_L \mu(x, y) dl\right)$$

Po przekształceniu uzyskujemy:

$$\int_L \mu(x, y) dl = p(\theta, t) = \ln(I_0/I)$$

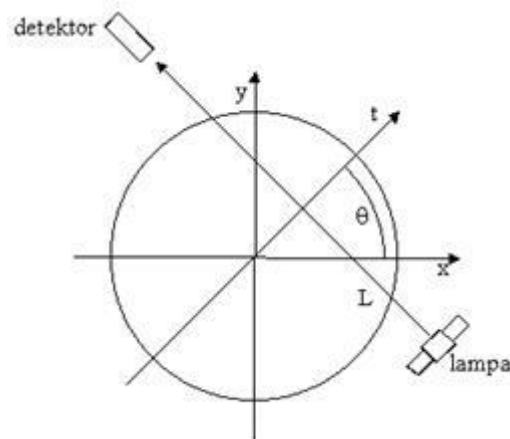
*dla  $0 \leq \theta < \pi, -\infty < t < +\infty$*

gdzie  $\theta$  i  $t$  oznaczają odpowiednio pozycję kątową obiektu względem zdefiniowanego układu współrzędnych oraz pozycję wiązki promieniowania.

Wartości  $p(\theta, t)$  zmierzone dla ustalonego kąta  $\theta$  i pełnej zmienności  $t$  nazywane są projekcją. Problem rekonstrukcji sprowadza się do znalezienia wyrażenia podcałkowego  $\mu(x, y)$ . Jak już wspomniano najpopularniejszą metodą rekonstrukcji jest wsteczna projekcja z filtrowaniem. W metodzie tej każda z projekcji (obraz transmisyjny) jest odpowiednio filtrowana, w celu przeciwdziałania efektom powodowanym przez nagłe zmiany gęstości w badanym obiekcie. Następnie wykonywana jest jej tzw. wsteczna projekcja, czyli zrzutowanie projekcji na płaszczyznę obrazu pod odpowiednim kątem. Procedurę rekonstrukcji obrazu metodą wstecznej projekcji przedstawiono na Rysunku 2. Skanowanym obiektem jest fantom o przekroju kołowym, wewnątrz którego znajdują się

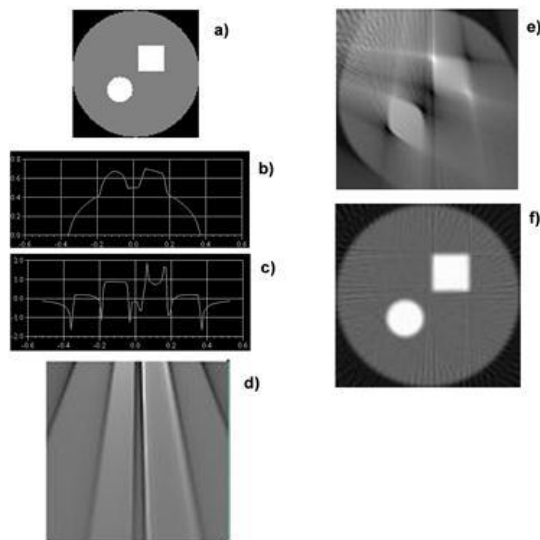
nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

dwa obszary o innej budowie, z których jeden ma przekrój koła, a drugi kwadratu. Na schematycznym przedstawieniu fantomu różnym gęstościom przypisano różne poziomy szarości (Rysunek 2a). Wynikiem skanowania jest 100 projekcji badanego obiektu (dla 100 różnych kątów). Rysunek 2b przedstawia projekcję bez filtracji (odczyt z detektora), natomiast na rysunku 2c możemy zobaczyć projekcję po filtracji. Efekt po zrzutowaniu przefiltrowanej projekcji na płaszczyznę przedstawia rysunek 2d (efekt wstecznej projekcji), natomiast rysunek 2e przedstawia ten sam efekt dla 20 zrzutowanych projekcji.



**Rys.1.** Schemat pomocniczy do modelu rekonstrukcji [1]

100 zrzutowanych projekcji (końcowy efekt) daje w wyniku pełną rekonstrukcję obrazu fantomu. Jak łatwo zauważyć, zwiększanie liczby zrzutowanych projekcji umożliwia w efekcie lepsze odwzorowanie skanowanego obiektu.



**Rys. 2.** Schemat procedury rekonstrukcji obrazu metodą wstecznej projekcji z filtrowaniem [1]

## Wybrane przykłady konstrukcji rentgenowskich mikrotomografów komputerowych.

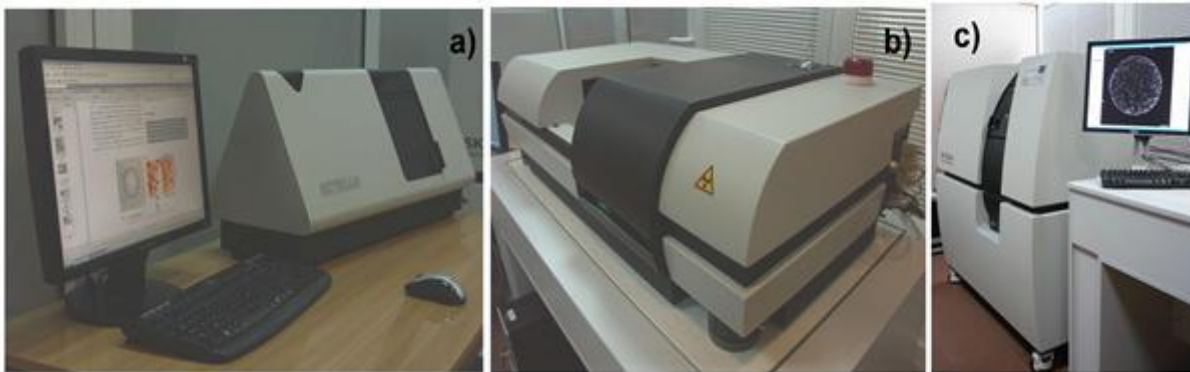
Obecnie na rynku jest dostępny szereg konstrukcji mikrotomografów komputerowych w znaczny sposób różniących się pomiędzy sobą przeznaczeniem, uzyskiwaną rozdzielczością obrazu oraz rodzajem źródła promieniowania rentgenowskiego. Do grupy wiodących producentów tego typu sprzętu należą takie firmy jak SkyScan (Belgia), SCANCO (Szwajcaria) oraz Xradia (USA).

**Tabela 1.** Dane techniczne wybranych mikrotomografów

	Mikrotomograf SkyScan 1174 [3]	Mikrotomograf SkyScan 1172 [3]	Nanotomograf SkyScan 2011 [3]
Maks. wielkość skanowanego obiektu	6.5 - 30 mm średnicy; wysokość 50 mm	68 mm średnicy	0.5-1 mm dla maks. rozdzielczości; maks. średnica 11 mm (piksel 9 $\mu$ m)
Źródło promieniowania	lampa rentgenowska chłodzona powietrzem 20-50 kV, 40 W	lampa rentgenowska chłodzona powietrzem 20-100 kV 10 W	lampa rentgenowska chłodzona powietrzem 20-50 kV, 40 W
Detektor promieniowania	cyfrowa kamera CCD (1280 x 1024 x 12 bit) połączona z ekranem scyntylicyjnym	cyfrowa kamera CCD 10 megapikseli połączona z ekranem scyntylicyjnym	cyfrowa kamera CCD (1280 x 1024 x 12 bit) połączona z ekranem scyntylicyjnym
Rozdzielczość przestrzenna	nominalna rozdzielczość 6÷30 mikronów; typowa rozdzielczość przy niskim kontraście 12 mikronów	maks. rozdzielczość 0.8 mikronów	nominalna rozdzielczość 150 ÷ 400 nm
Czas skanowania	typowo 2 – 15 min dla objętości 512 x 512 x 512 pikseli lub 5 – 40 min dla objętości 1024 x 1024 x 1024 pikseli	typowo 2 – 15 min dla objętości 512 x 512 x 512 pikseli lub 5 – 40 min dla objętości 1024 x 1024 x 1024 pikseli	typowo 15 – 90 min dla objętości całego obiektu
Promieniowanie oddawane do otoczenia	< 1 $\mu$ Sv/h na powierzchni obudowy	< 1 $\mu$ Sv/h na powierzchni obudowy	< 1 $\mu$ Sv/h na powierzchni obudowy

W Tabeli 1 porównano trzy modele mikrotomografów rentgenowskich produkowane przez belgijską firmę SkyScan tj. SkyScan1174, SkyScan1172 i SkyScan2011. Prezentowane

urządzenia są przenośnymi skanerami rentgenowskimi, służącymi do tworzenia trójwymiarowych obrazów mikroskopowych. Każde z przedstawionych urządzeń może być podłączone do komputera klasy *Pentium* poprzez port szeregowy, łącze USB lub FireWire. Do skanerów dołączone jest oprogramowanie niezbędne do przeprowadzenia rekonstrukcji obrazu 3D. Wyniki skanowania można zapisywać w postaci plików TIFF (\*.tif) lub BMP (\*.bmp).



**Rys. 3.** Na zdjęciach widok mikrotomografu SkyScan 1174 a), SkyScan 1172 b), nanotomografu SkyScan 2011 c) [3]

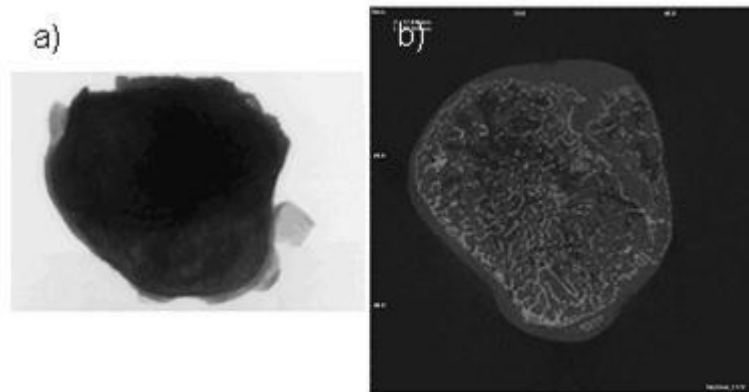
### Zastosowanie mikrotomografii komputerowej w nauce i przemyśle.

Mikrotomografia komputerowa jest z powodzeniem stosowana w takich dziedzinach jak defektoskopia i inżynieria materiałowa. Głównym celem badania tomograficznego jest zazwyczaj analiza jakościowa struktury, detalu lub próbki. Tomografia komputerowa oferuje również możliwość przeprowadzenia wszechstronnej analizy ilościowej badanych obiektów np. zmierzenie udziałów poszczególnych faz, wyznaczenie gęstości materiału (densytometria) oraz rozkładu wielkości porów i cząstek. Przykłady zastosowania rentgenowskiej mikrotomografii komputerowej mieszczące się w szeroko pojętej dziedzinie inżynierii materiałowej podano poniżej.

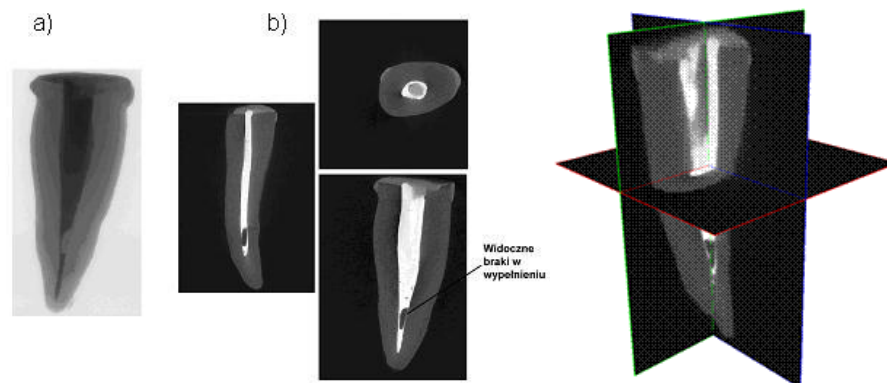
### Zastosowanie mikrotomografii komputerowej w inżynierii biomateriałów

Mikrotomografia komputerowa swoje zastosowanie znajduje najczęściej w inżynierii biomedycznej. Możliwości jakie mikrotomografia komputerowa oferuje w zakresie analizy złożonych struktur kostnych, zębów oraz materiałów biomimetycznych okazują się niezastąpione. Dobrym przykładem tego jest analiza struktury kości gąbczastej resekowanej głowy kości udowej (zilustrowanej na Rysunku 4). Przykładem zastosowania

mikrotomografii w obrazowaniu biomateriałów stosowanych w medycynie są badania jakości wypełnienia zęba przez plombę ceramiczną. W tym przypadku, w zasadzie nie istnieje żadna inna możliwość dokonania oceny wypełnienia poza analizą tomograficzną. Zwykle zdjęcie rtg nie oddaje wszystkich szczegółów oraz nie pozwala na dokładne odwzorowanie stopnia wnikięcia materiału plomby w kanał zęba.



**Rys. 4.** Resekowana głowa kości udowej: radiogram (a) i obraz tomograficzny (b). (badanie tomograficzne przeprowadzono z wykorzystaniem mikrotomografu SkyScan 1172).



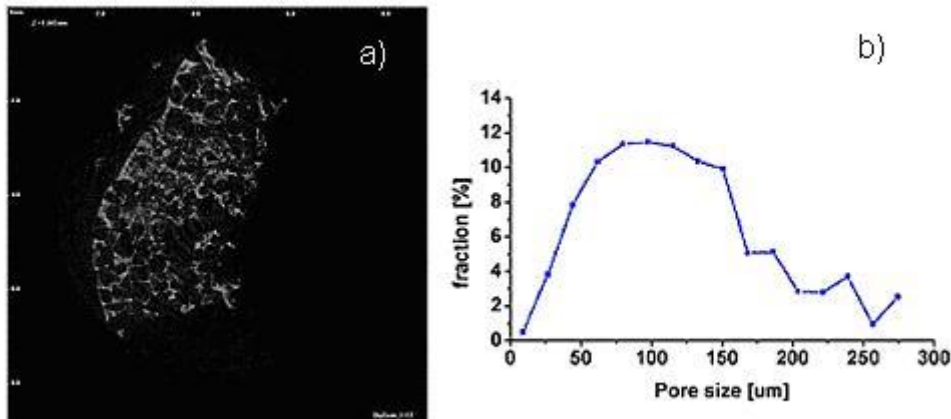
**Rys. 5.** Wyniki badania tomograficznego zęba: rentgenogram (a), prostopadłe przekroje badanego zęba (b) (jasny kolor – materiał wypełniający ubytek (resilon), ciemny kolor – zębina); rozdzielczość 7.3  $\mu\text{m}$  (rozmiar piksela) (badanie tomograficzne przeprowadzono z wykorzystaniem mikrotomografu SkyScan 1172)

### Analiza morfometryczna charakteryzowanych materiałów

Mikrotomografia komputerowa umożliwia pełną analizę morfometryczną, a tym samym uzyskanie pełnego zestawu danych ilościowych opisujących strukturę. Analiza morfometryczna polega na wyznaczaniu cech geometrycznych struktury takich jak udziały

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

fazowe, porowatość, rozmiary cząstek, porów oraz ich rozkłady statystyczne. Na rysunku 6 pokazano obraz tomograficzny rusztowania kostnego oraz wykres przedstawiający rozkład statystyczny wielkości występujących w nim porów. Ogólna porowatość badanego rusztowania, obliczana jako stosunek objętości zajmowanej przez materiał rusztowania do sumy objętości materiału i pustych przestrzeni, wynosi 30%.



Rys. 6. Przekrój badanego rusztowania kostnego (a) oraz rozkład wielkości porów w tym rusztowaniu (b) (rozdzielczość 4.42  $\mu\text{m}$ ).

### Analiza składu i wybranych własności fizycznych badanego materiału

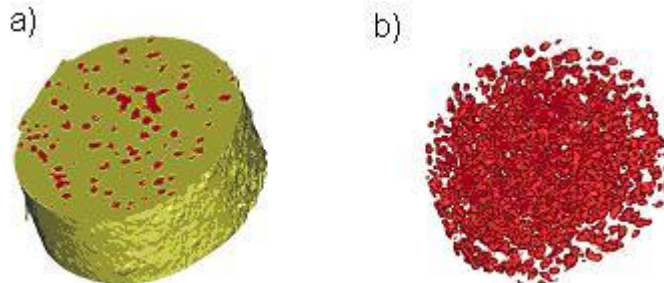
Mikrotomografia komputerowa pozwala również, choć w ograniczonym stopniu, na identyfikację faz materiałowych występujących w badanym materiale. Wynika to z faktu, że różne materiały w różnym stopniu pochłaniają promieniowanie gamma; o czym decyduje liczba atomowa materiału oraz jego gęstość. Współczynnik osłabienia promieniowania charakteryzujący dany materiał wyrażony jest następującym wzorem [4]:

$$\mu = k \lambda^3 Z^3$$

gdzie  $k$  jest współczynnikiem proporcjonalności zależnym od gęstości materiału,  $\lambda$  jest długością fali elektromagnetycznej, natomiast  $Z$  to liczba atomowa (lub zastępcza liczba atomowa, stosowana w przypadku gdy w materiale występuje więcej niż jeden pierwiastek chemiczny). Rysunek 7 przedstawia fragment włókna wytworzonego z PCL (polikaprolakton) wypełnionego cząstkami TCP (trójfosforan wapnia); TCP jako minerał zawiera pierwiastki o wyższej liczbie atomowej niż polimer osnowy (posiada też wyższą



gęstość). W oparciu o serię obrazów tomograficznych został stworzony model 3D włókna, w którym wyodrębniono polimer osnowy oraz cząstki TCP.



Rys. 7. Model 3D włókna PCL-TCP (a) z wyodrębnionymi cząstkami TCP (b) (po prawej stronie) wykonany w oparciu o wyniki badania tomograficznego (średnica włókna 400  $\mu\text{m}$  ; badanie tomograficzne przeprowadzono z wykorzystaniem nanotomografu SkyScan 2011 przy rozdzielczości 0.58  $\mu\text{m}$  - rozmiar piksela)

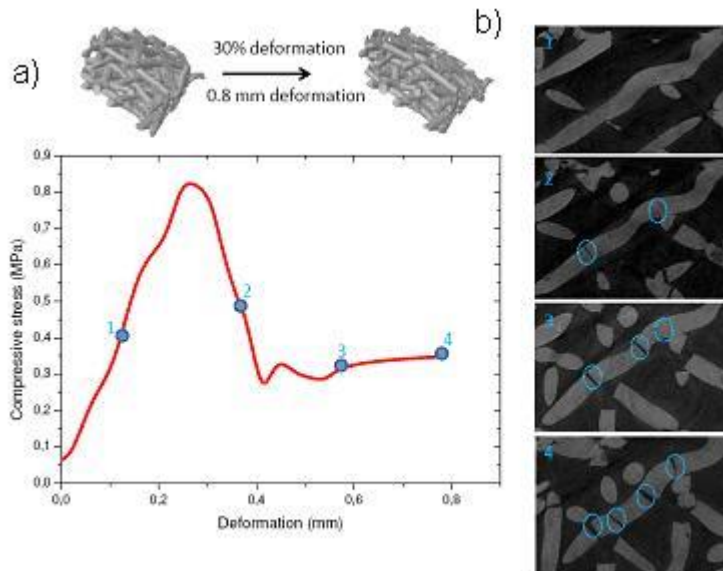
Niejednokrotnie jednak występujące obok siebie fazy materiałowe posiadają na tyle podobne współczynniki osłabienia, że rozróżnienie ich na tomogramie jest niezwykle trudne. Bywa również tak, że jedna z faz posiada współczynnik osłabienia wielokrotnie większy od drugiej, co może skutkować tym, że faza charakteryzująca się mniejszym współczynnikiem osłabienia jest mało widoczna na obrazie tomograficznym. W takim przypadku, o ile jest to możliwe, stosuje się specjalne metody preparacji badanych próbek, mające na celu lepsze uwidocznienie obszarów o małym współczynniku osłabienia promieniowania, tzw. metody kontrastowania). Jedną z wypróbowanych metod kontrastowania, stosowaną w przypadku materiałów biologicznych i polimerowych, polega na nasyceniu badanej próbki substancją o stosunkowo dużym współczynniku osłabienia. Do substancji o takich właściwościach należą, między innymi związki jodu (np. roztwór wodny jodku potasu).

### **Analiza struktury wewnętrznej materiału pod obciążeniem mechanicznym**

Mikrotomografia rentgenowska umożliwia również wykonywanie analizy struktury wewnętrznej badanej próbki znajdującej się pod obciążeniem. Jest to możliwe dzięki zastosowaniu specjalnego stolika do ściskania, rozciągania próbek wewnątrz komory mikrotomografu [3]. Rysunek 8 przedstawia obrazy tomograficzne struktury porowatej wykonanej z materiału polimerowego odpowiadające czterem różnym etapom procesu ściskania. Wyniki przeprowadzonego badania wskazują, że przy pewnej wartości

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

obciążenia niektóre z włókien zaczynają pękać, co na wykresie odwzorowane jest w postaci przegięcia krzywej. Opisany wyżej przykład znakomicie prezentuje unikatowe zalety mikrotomografii komputerowej.



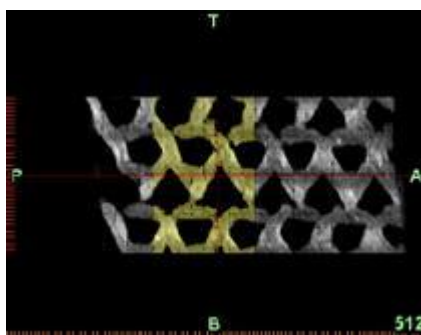
**Rys. 8.** Wykres ściskania rusztowania kostnego (a) wraz z przekrojami z różnych etapów badania (b) (u góry pokazano modele 3D rusztowania wykonane przed rozpoczęciem i po zakończeniu badania. ; badanie przeprowadzono z wykorzystaniem mikrotomografu SkyScan 1172).

### Optimalizacja struktury materiałów w oparciu o wyniki badań tomograficznych

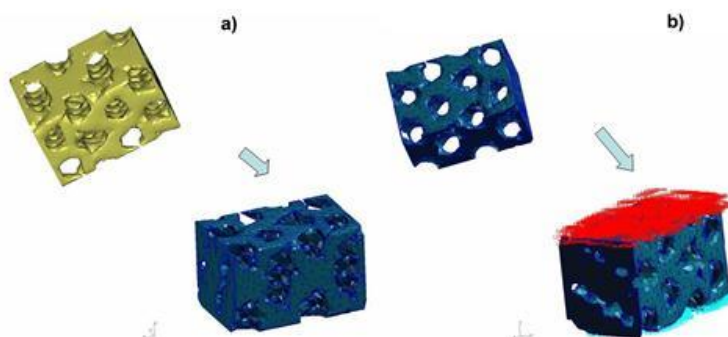
Jedną z możliwości jakie stwarza tomografia jest odtworzenie trójwymiarowego modelu skanowanego obiektu i zapisanie go w jednym z powszechnie używanych formatów CAD. W oparciu o tak stworzony model CAD można wykonać analizę struktury, między innymi zasymulować stan naprężenia pod odpowiednio wybranym obciążeniem. Najczęściej wykorzystywaną w praktyce inżynierskiej metodą analizy strukturalnej jest metoda elementów skończonych MES. Na rysunkach 9-11 przedstawiono przykład analizy stanu naprężeń fragmentu rusztowania kostnego przeprowadzonej w oparciu o geometrię uzyskaną na podstawie tomogramów. Użycie metody elementów skończonych pozwala również na identyfikację właściwości materiałowych implantu w sytuacji, kiedy ich zmierzenie drogą eksperymentalną wiązałoby się ze znacznym skomplikowaniem pomiarów.



nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

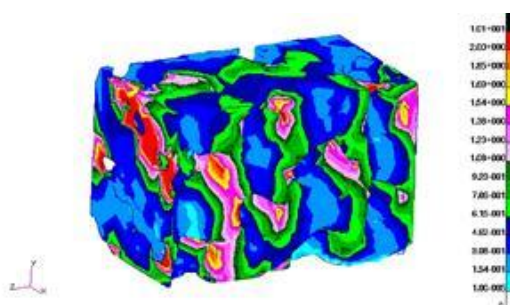


**Rys. 9.** Obraz tomograficzny rusztowania kostnego wytworzonego metodą szybkiego prototypowania wraz z zaznaczonym obszarem zainteresowania



**Rys. 10.** a) model CAD rusztowania stworzony w oparciu o serię obrazów tomograficznych; poniżej model metody elementów skończonych MES (obszar zdyskretyzowany).

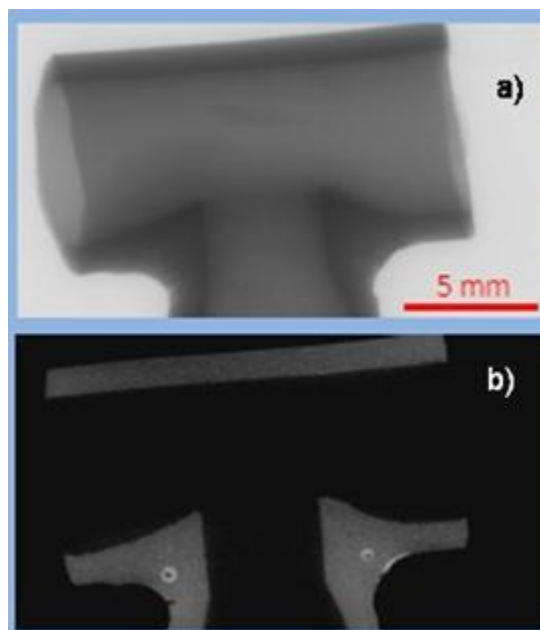
b) model MES z nałożonymi warunkami brzegowymi (utwierdzenie dolnej powierzchni i zadane ciśnienie na górnej powierzchni detalu)



**Rys. 11.** Mapa naprężeń zredukowanych [MPa] występujących w materiale pod zadaniem obciążeniem.

## Zastosowanie mikrotomografii komputerowej w defektoskopii

Mikrotomografia komputerowa jest nieniszczącą metodą pozwalającą obrazować strukturę badanych obiektów. Z powyższego względu doskonale sprawdza się jako narzędzie do defektoskopii. Wykrywanie wad materiału takich jak pęcherze, wtrącenia czy pęknięcia z zastosowaniem mikrotomografii staje się szczególnie efektywne. Rysunek 12 przedstawia rezultaty badania mającego na celu określenie jakości spoiny. W dolnej części rysunku widzimy radiogram, natomiast w górnej części znajduje się obraz tomograficzny odpowiadający jednemu z przekrojów. Na obrazie tomograficznym wyraźnie zauważalne są pęcherze znajdujące się wewnątrz spoiny. Ponadto istnieje możliwość ich dokładnej lokalizacji i pomiaru rozmiarów tych pęcherzy. Kontrola spawu odbywa się warstwa po warstwie, co właściwie wyklucza pominięcie jakiegokolwiek wady. Jedynymi ograniczeniami są zdolność rozdzielcza urządzenia, energia wiązki oraz maksymalna wielkość badanej próbki. Zlokalizowanie wady na radiogramie jest wielokrotnie bardziej kłopotliwe, prócz tego właściwie nie istnieje możliwość ustalenia jej dokładnej lokalizacji.



**Rys. 12.** Porównanie klasycznego zdjęcia rtg spoiny (a) oraz tomogramu (b); wyraźnie widoczne pęcherze wewnątrz spoiny (badanie tomograficzne przeprowadzono z wykorzystaniem mikrotomografu SkyScan 1172)

## Wnioski

Rentgenowska mikrotomografia komputerowa jest nieniszczącą metodą charakteryzacji materiałów, pozwalającą na otrzymanie z dużą dokładnością płaskiego lub przestrzennego obrazu materiału lub badanego elementu. Obecnie mikrotomografia komputerowa jest z powodzeniem stosowana w inżynierii odwrotnej (ang. *reverse engineering*) i badaniach materiałowych. Metoda ta bowiem umożliwia trójwymiarową analizę właściwości struktury materiału, włączając w to jej kompleksowy opis jakościowy i ilościowy, jak również, w ograniczonym stopniu, analizę składu chemicznego. Wielką zaletą metody jest możliwość badania próbek litych w celu obrazowania architektury wewnętrznej oraz wykonywanie modeli 3D opisujących geometrię. Podsumowując, zastosowanie mikrotomografii komputerowej w inżynierii materiałowej otwiera nowe możliwości poznawcze, badawcze i wdrożeniowe.

## Literatura

1. <http://www.ws.aplus.pl/tomografia/>
2. Elke van de Casteele, Model-Based Approach for Beam Hardening Correction and Resolution Measurements in Microtomography – PhD Thesis, Antwerpen 2004 (praca dostępna pod adresem <http://visielab.ua.ac.be/theses/elke/thesis.pdf>)
3. <http://www.skyscan.be/>
4. Grzegorz Jeziński, Radiografia przemysłowa. WNT, Warszawa 1993
5. Avinash C. Kak, Malcolm Slaney, Principles of Computerized Tomographic Imaging. IEEE Press New York, 1999

## Rentgenowska Spektroskopia Fotoelektronów (XPS)

**Treść wykładu zaczerpnięto z materiałów przygotowanych przez dr Sylwię Turczyniak zawartych w Rozdziale 11 pracy zbiorowej pod redakcją prof. dr hab. Janusza Ryzkowskiego [1]**

### 1. Wprowadzenie

Istnieje wiele technik badawczych, które służą do uzyskania informacji o właściwościach fizykochemicznych materiału. [2-6] Spośród nich najbardziej uprzywilejowane miejsce zajmuje spektroskopia fotoelektronów. W metodzie tej mierzy się rozkład energetyczny elektronów emitowanych z próbki pod wpływem naświetlania jej promieniowaniem ultrafioletowym (ang. *UPS - Ultraviolet photoelectron spectroscopy*) lub promieniowaniem rentgenowskim (ang. *XPS - X-ray photoelectron spectroscopy*). Obie metody mają podobną ideę fizyczną i umożliwiają bezpośredni pomiar elektronowych

stanów energetycznych. Jedyna różnica polega na energii padających na próbkę fotonów (UPS: 10-150 eV oraz XPS: ~ 150- 3000 eV). Ze względu na możliwość uzyskania informacji o elektronach powłok wewnętrznych XPS stał się jedną z podstawowych metod badania struktury elektronowej ciał stałych.

## 2. Podstawy fizyczne metody

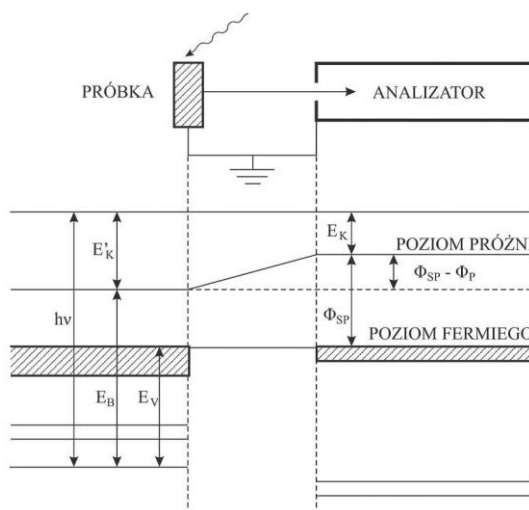
W rentgenowskiej spektroskopii fotoelektronów zogniskowana wiązka promieni rentgenowskich, zawierająca kwanty promieniowania linii  $K\alpha$  Mg lub  $K\alpha$  Al pada na próbkę powodując wybite elektronu z wewnętrznej powłoki atomu. Wybitny elektron przechodzi w stan swobodny z określoną energią  $E'K$ . Podstawowym równaniem, które opisuje zjawisko fotoelektryczne, na którym oparta jest spektroskopia fotoelektronów, jest równanie Einsteina (1):

$$h\nu = E'K + EB \quad (1)$$

gdzie:  $EB$  – energia wiązania elektronu w rdzeniu atomowym mierzona względem poziomu próżni (eV),  $E'K$  – energia kinetyczna wybitego fotoelektronu,  $h\nu$  – energia padającego na próbkę fotonu.

Z powyższego równania wynika, że jeśli zostanie zmierzona energia kinetyczna  $E_K$  wybitych fotoelektronów możliwe staje się określenie energii wiązania elektronów na poszczególnych powłokach. Wielkości  $E'K$  oraz  $E_K$  są różne (Rys. 1), co wynika z różnic pracy wyjścia elektronu z próbki  $\Phi_P$  i z materiału, z którego zrobiony jest analizator spektrometru  $\Phi_{SP}$ . W spektrometrach elektronów energia wiązania elektronów w ciele stałym mierzona jest względem poziomu Fermiego materiału analizatora. Na skutek kontaktu elektrycznego, poziomy Fermiego próbki i spektrometru wyrównują się w związku z tym wyżej przedstawione równanie przyjmuje postać (2) [7]:

$$h\nu = EB + \Phi_{SP} + (E_K + \Phi_{SP} - \Phi_P) \quad (2)$$



Rys. 1 Schemat poziomów energetycznych w próbce i spektrometrze [1].

Energia kinetyczna wyemitowanego fotoelektronu jest zależna od jego energii wiązania na odpowiedniej powłoce elektronowej atomu i jest opisana zależnością (3):

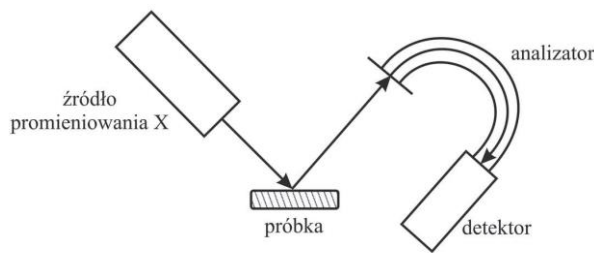
$$E_K = h\nu - E_B - \Phi_{SP} \quad (3)$$

Wyznaczenie energii wiązania w przypadku próbek przewodzących nie stanowi większego problemu. W przypadku materiałów półprzewodzących i nieprzewodzących wyznaczenie tej wartości staje się bardziej złożone. Dokładność z jaką określana jest energia wiązania zależy bowiem nie tylko od dokładności pomiaru energii kinetycznej fotoelektronów, monochromatyzacji padającej wiązki, ale również od prawidłowo przeprowadzonej kalibracji uzyskanego widma. Do tego celu stosuje się linię C1s węgla występującego w układzie. Precyzyjnie wykonane pomiary stwarzają szerokie możliwości, dostarczając tym samym ważnych informacji o danej próbce.

#### 4. Aparatura

Idea eksperymentu fotoemisyjnego wydaje się dosyć prosta. Jednak warunki techniczne jakie musi spełnić aparatura są dosyć restrykcyjne, dlatego do przeprowadzenia pomiaru techniką XPS niezbędna jest unikatowa aparatura. Schemat instrumentu do badań XPS przedstawia poniższy rysunek (Rys. 2.). Podstawowymi komponentami aparatury są: układ próżniowy, źródło promieniowania X, analizator energii elektronów oraz detektor.

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



Rys. 2. Ogólny schemat aparatury do pomiarów metodą XPS [1].

#### 4.1 Układ próżniowy

Istnieją trzy powody, dla których wysoka próżnia stanowi niezbędny element do przeprowadzenia badań metodą XPS. Po pierwsze wbity z powierzchni próbki fotoelektron musi dotrzeć do analizatora bez kolizji z cząsteczkami w fazie gazowej. Po drugie, niektóre elementy aparatury, jak np. źródło promieniowania X do poprawnej pracy wymagają warunków próżniowych. Trzecim, bardzo ważnym warunkiem jest dobry stan powierzchni próbki. Pierwsze dwa wymogi można spełnić w próżni rzędu  $10^{-4}$  –  $10^{-5}$  Pa. Bardziej restrykcyjnych warunków próżniowych wymaga spełnienie trzeciego warunku. W efekcie wymagana jest praca warunkach bardzo wysokiej próżni. Do większości prowadzonych badań wystarcza próżnia rzędu  $10^{-8}$  Pa, w przypadku badań materiałów polimerowych dobre wyniki uzyskuje się stosując próżnię  $10^{-6}$  Pa. Próbkę na odpowiednim nośniku najczęściej wprowadzane są do układu wysokiej próżni przez służbę lub z komory preparatywnej. W wielu przypadkach przed wprowadzeniem próbki do komory analitycznej wymaga się złożonych procesów jej przygotowania, dlatego układ do badań XPS zaopatrzone jest dodatkowo np. w źródła nanoszenia par metali. Po umieszczeniu próbki w komorze analitycznej, za pomocą manipulatorów ustawia się jej pozycję w trzech kierunkach. Istnieje również możliwość obracania próbką w jednym lub dwóch kierunkach [8]. Od 1996 roku, polska firma Prevac Sp. z o.o. specjalizuje się w produkcji unikalnej aparatury dla techniki próżniowej. Firma ta, należy do nielicznych na świecie producentów rozbieralnych lamp rentgenowskich, które są stosowane w badaniach XPS.

#### 4.2 Źródła promieniowania

Źródło promieniowania w spektroskopii fotoelektronów musi spełniać przynajmniej dwa podstawowe wymagania. Po pierwsze, padająca wiązka fotonów musi być monochromatyczna, drugim wymogiem jest wysoka intensywność wiązki. W celu osiągnięcia wykrywalnego przez detektor strumienia fotoelektronów wymagana jest

intensywność wiązki rzędu  $10^{10} - 10^{12}$  fotonów  $s^{-1}$  [8]. Promieniowanie rentgenowskie otrzymuje się w wyniku bombardowania wysokoenergetycznymi elektronami (10 – 15 keV) metalu anody. Elektrony wiązki pierwotnej (emitowane z rozgrzanego włókna wolframowego) wybijają elektron z wewnętrznej powłoki atomów znajdujących się w warstwie powierzchniowej, co skutkuje powstaniem luki, którą wypełnia elektron z wyższej powłoki. Przeskokowi elektronu towarzyszy emisja fotonu rentgenowskiego. Jeśli elektron przeskakuje z powłoki L na powłokę K wówczas wiązka promieni rentgenowskich zawiera kwanty promieniowania linii  $K\alpha$ . W badaniach XPS jako źródła promieniowania używa się zazwyczaj lampy rentgenowskiej lub lampy rentgenowskiej z monochromatorem, chociaż duże znaczenie ostatnio zyskuje promieniowanie synchrotronowe. Powszechnie stosowane materiały anody, oraz energie i szerokości połówkowe ich linii charakterystycznych przedstawiono w tabeli (Tabela 1). Standardowe achromatyczne źródło promieniowania zaopatrzone jest w podwójną anodę Al/Mg. Stosowanie lampy, o której mowa spełnia wymagania stawiane natężeniu wiązki oraz szerokości naturalnej linii  $K\alpha$  promieniowania rentgenowskiego, która stanowi granicę instrumentalnej zdolności rozdzielczej.

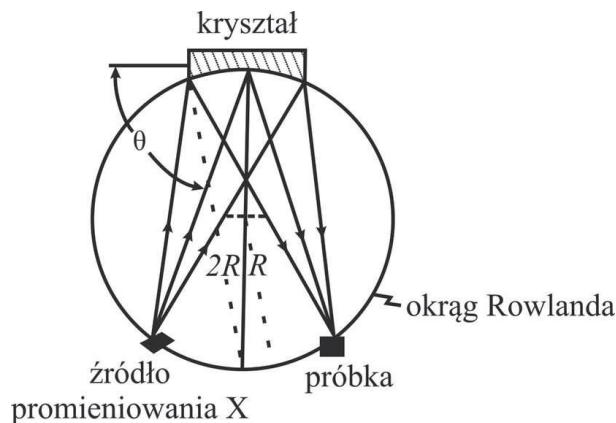
**Tabela 1.** Zestawienie powszechnie stosowanych anod oraz cech ich linii charakterystycznych [1].

Materiał anody	Linie emisyjne	Energia (eV)	Szerokość połówkowa (eV)
Mg	$K\alpha$	1253.6	0.7
Al	$K\alpha$	1486.6	0.85
Si	$K\alpha$	1739.5	1.0
Zr	$L\alpha$	2042.4	1.7
Ag	$L\alpha$	2984	2.6
Ti	$K\alpha$	4510	2.0
Cr	$K\alpha$	5415	2.1

Wiązkę achromatycznego promieniowania rentgenowskiego można bezpośrednio kierować na próbkę, jednak tego typu postępowanie posiada pewne wady. Po pierwsze na widmie ciągłym oprócz linii promieniowania charakterystycznego mogą pojawić się dodatkowe linie (satelity), które komplikują widmo fotoelektronów. Po drugie wysokoenergetyczne elektrony, promieniowanie hamowania (niem. *bremstrahlung*), oraz wytworzone ciepło padają bezpośrednio na próbkę, co może prowadzić do jej zniszczenia [9]. Aby zminimalizować strumień elektronów i wpływ promieniowania hamowania stosuje się cienką, przezroczystą folię, którą wprowadza się pomiędzy źródło promieniowania a



próbkę. W przypadku anod Al i Mg powszechnie stosuje się folię o grubości  $\sim 2\mu\text{m}$ . Najlepszą drogą do uzyskania wiązki promieniowania o ściśle określonej energii jest zastosowanie monochromatora. W monochromatorach wykorzystuje się odbicie wiązki promieni rentgenowskich na powierzchni kryształu kwarcu, równoległej do wybranej płaszczyzny dhkl. Warunkiem, który należy spełnić w celu zogniskowania padającej wiązki, jest umieszczenie źródła promieniowania, kryształu kwarcu, oraz ogniska na okręgu Rowlanda (Rys. 3.). Dzięki zastosowaniu monochromatora, można pozbyć się promieniowania hamowania oraz znacznie poprawić zdolność rozdzielczą. Oprócz oczywistych zalet wynikających ze stosowania monochromatora, można wskazać również pewne wady. Przede wszystkim wadą monochromatora jest obniżenie natężenia promieniowania rentgenowskiego, które jednak może być kompensowane przez użycie soczewek skupiających, analizatorów i wielokanałowych detektorów. Monochromatory zostały wprowadzone na rynek w 1970 roku i od tego czasu, są one powszechnie stosowane w aparaturze XPS. W ostatnich latach w technice XPS pojawiła się możliwość wykorzystania promieniowania synchrotronowego jako źródła wzbudzającego (ang. *ERXPS – Energy-Resolved XPS*).

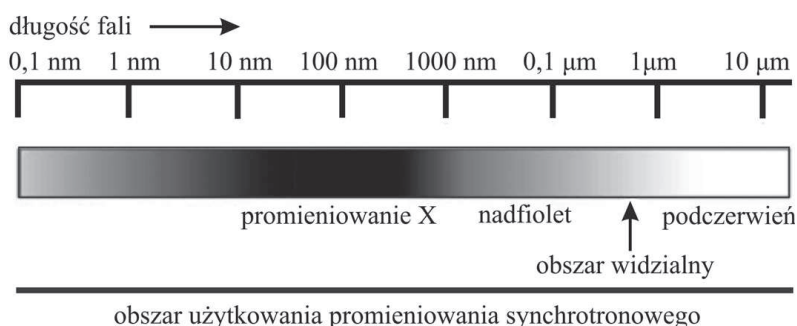


**Rys. 3.** Schemat monochromatyzacji metodą Rowlanda [1].

Promieniowanie synchrotronowe ma widmo ciągłe, które rozciąga się od podczerwieni do twardego promieniowania rentgenowskiego (Rys. 4). Dzięki temu możliwe jest wykonywanie pomiarów przy dowolnej energii promieniowania. Inną zaletą stosowania promieniowania synchrotronowego jest uzyskanie koherentnej wiązki, spolaryzowanej liniowo.



nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



**Rys. 4.** Rozkład widmowy promieniowania synchrotronowego. Zaciemniony pasek ilustruje poglądowo charakterystyczny rozkład natężenia (jasności) wiązki promieniowania synchrotronowego w funkcji długości fali [1].

### 4.3 Analizator energii elektronów

Zadaniem analizatora jest określenie rozkładu ilości fotonów w funkcji ich energii kinetycznej. W przeszłości obok analizatorów elektrostatycznych w użytku były również analizatory magnetyczne. Obecnie w technice XPS znaczenie mają dwa typy analizatorów elektrostatycznych: cylindryczny zwierciadlany (ang. *CMA – Cylindrical Mirror Analyzer*) i analizator cylindryczny półkulisty (ang. *HEA – Hemispherical Energy Analyzer*). Spośród dwóch wyżej wymienionych analizatorów najczęściej używanym jest HEA ze względu znacznie lepszą rozdzielczość i transmisję. CMA zapewnia rozdzielczość energetyczną około 0,4 – 0,6% w odniesieniu do energii do której urządzenie jest dostrojone, HEA pozwala osiągnąć dziesięciokrotnie lepsze rezultaty [5]. HEA zbudowany jest z dwóch koncentrycznych półkul. Półkula wewnętrzna ma dodatni potencjał względem półkuli zewnętrznej. Tory elektronów przebiegają pomiędzy okładkami kondensatora, a ich kształty zbliżone są do półokręgu. Pomiędzy próbką a wejściem do analizatora znajduje się soczewka, bądź układ soczewek, które spełniają rolę układu opóźniającego. Energia kinetyczna fotoelektronów emitowanych z powierzchni jest zbyt duża do uzyskania odpowiednio wysokiej rozdzielczości, dlatego elektrony muszą być opóźniane. Energia elektronów przechodzących przez HEA (energia przejścia) wynosi  $E_0 \equiv eV_0$ . Elektrony są rozpraszane przez potencjał  $V_2$  (ujemny w odniesieniu do  $V_0$ ) oraz przyciągane przez  $V_1$  (dodatni w odniesieniu do  $V_0$ ). Ogniskowanie nastąpi gdy elektrony zakreślą łuk o promieniu  $R_0 = (R_1 + R_2)/2$  [10,11] przy potencjałach  $V_1, V_2$ , które są związane z  $R_0, R_1$  i  $R_2$  zależnością (4):

$$v_1 = v_0 \left( 3 - 2 \frac{R_0}{R_1} \right)$$

(4)

$$v_2 = v_0 \left( 3 - 2 \frac{R_0}{R_2} \right)$$

Różnica potencjałów między okładkami kondensatora określona jest wzorem (5):

$$v_2 - v_1 = v_0 \left( \frac{R_2}{R_1} - \frac{R_1}{R_2} \right) \quad (5)$$

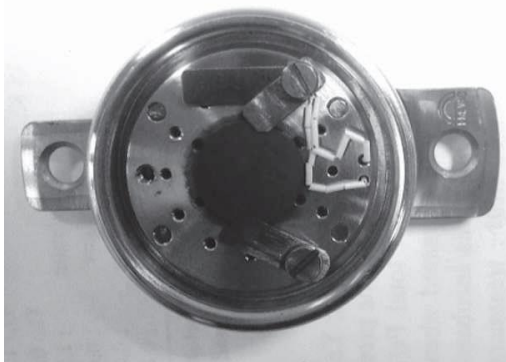
#### 4.4 Układ detekcyjny

Obecnie w spektrometrach elektronowych powszechnie stosuje się kanalikowe powielacze elektronowe (channeltrony) oraz płytki mikrokanalikowe. Channeltrony zbudowane są z materiału izolującego w kształcie rurki pokrytej od wewnątrz substancją charakteryzującą się wysokim współczynnikiem emisji wtórnej. Stosunek długości do średnicy rurki wynosi  $\sim 50$  [5]. W wyniku przyłożenia wysokiego napięcia (2 – 4 kV) do końców rurki, elektrony zderzają się wielokrotnie ze ściankami channeltronu, przy czym na skutek emisji wtórnej ich liczba szybko rośnie. Na wyjściu detektora otrzymuje się sygnał, który po wzmocnieniu jest rejestrowany. Przy użyciu channeltronu uzyskuje się wzmocnienie rzędu  $10^7 - 10^8$ . Płytką mikrokanałowa zbudowana jest ze szkła z otworami (kanałami) o średnicy 6 – 20  $\mu\text{m}$ , a odległość między nimi wynosi 15  $\mu\text{m}$ . Do zewnętrznych powierzchni płytki przykłada się napięcie rzędu 100 – 170 V i elektron uderzając o ściankę kanału wybija lawinę elektronów wtórnych. Osiągnięte wzmocnienie jest rzędu  $10^2 - 10^3$ .

#### 5. Przygotowanie próbek

Sposób przygotowania powierzchni o określonej strukturze atomowej i utrzymania jej podczas pomiaru były bardzo istotnym czynnikiem ograniczającym rozwój techniki XPS przed rokiem 1909. Początkowo technika XPS została opracowana do badania prostych materiałów. Obecnie zastosowanie metody XPS nie ogranicza się jedynie do badań ciał stałych. Badaniom XPS poddawane są także ciecze oraz gazy [12-15]. W większości dostępnych komercyjnie aparatów XPS nośniki zaprojektowane są do badań materiałów litych, stąd próbka przeznaczona do badania powinna być w postaci litego kawałka materiału o minimalnych wymiarach od 4 mm x 4 mm do 20 mm x 20 mm i o grubości nie przekraczającej 5 mm. Próbka taka poddawana jest zazwyczaj dodatkowym procesom czyszczenia. W przeciwieństwie do próbek litych, analiza próbek proszkowych prowadzona jest na ich niezmodyfikowanej powierzchni. Jak zostało wcześniej wspomniane, umieszczana w uchwycie próbki (*sample holder*) próbka powinna być

materiałem litym, dlatego w przypadku próbek proszkowych konieczne jest użycie specjalnych technik montażu. Proszek można swobodnie wsypać do specjalnie zaprojektowanego uchwytu próbek, jednak istnieje ryzyko, że ulegnie on rozsypaniu podczas pompowania lub transportu próbki wewnątrz aparatury. Inną niedogodnością jest brak możliwości badania próbki w pozycji pionowej bądź odwróconej. W związku z tym najczęściej próbki przymocowuje się do uchwytu próbki. W tym celu można próbkę nakleić na dwustronną, przewodzącą taśmę adhezyjną lub wprasować próbkę w folię indową. W przypadku wymienionych rozwiązań do widma XPS wprowadza się dodatkowy sygnał pochodzący od materiału wiążącego. W przypadku materiałów o dużym stopniu rozdrobnienia można nanieść na powierzchnię nośnika kroplę ich zawiesiny w lotnym rozpuszczalniku np. w alkoholu lub w eterze. Jednak i w tym rozwiązaniu należy liczyć się z faktem uzyskania dodatkowych sygnałów na widmie XPS. Dobrym sposobem na uzyskanie próbki jest sprasowanie proszku do postaci tabletki (Rys. 5) jednak nie wszystkie materiały dają się łatwo prasować [15].



**Rys. 5.** Próbka katalizatora proszkowego, sprasowana w formę pastylki, zamontowana na nośniku reaktorowym [1].

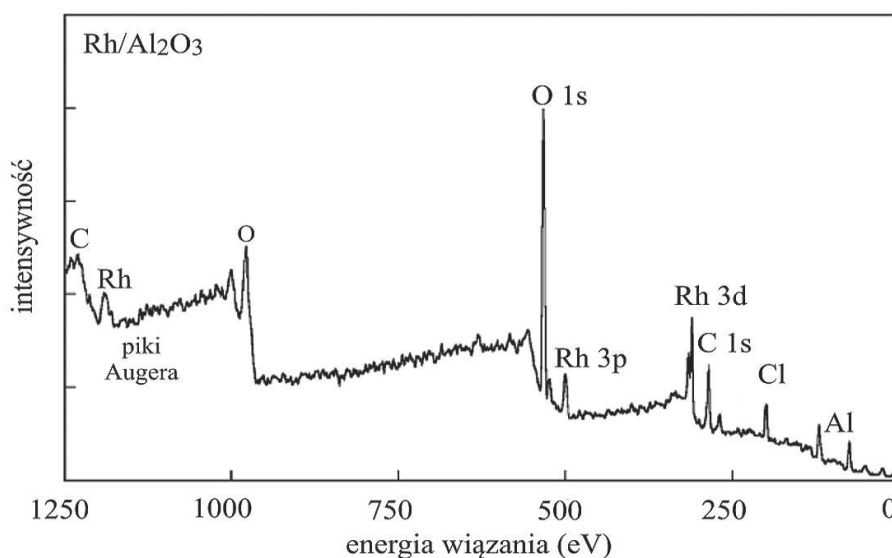
Przygotowanie próbki jest uzależnione nie tylko od formy badanego materiału, ale i od posiadanych możliwości technicznych, oraz planowanych badań. Odpowiednio przygotowana próbka wymaga przeniesienia do bardzo wysokiej próżni. Przed umieszczeniem próbki w komorze analitycznej należy zatem usunąć z jej powierzchni lotne składniki. W tym celu próbkę umieszcza się w niezależnym urządzeniu bądź komorze próżni wstępnej.

## 6. Opracowanie danych

Przystępując do badania próbki metodą XPS w pierwszej kolejności wykonuje się tzw. widmo zbiorcze. Widmo to, obejmuje cały zakres energii, który interesuje badacza, jednak

pomiar prowadzony jest z mniejszą rozdzielczością niż pomiar szczegółowy. Czas trwania takiego pomiaru wynosi zwykle kilka minut. Typowe widmo XPS przedstawiono na poniższym rysunku (Rys. 6). Widma XPS przedstawia się na wykresie zależności liczby zliczeń na sekundę w funkcji energii wiązania lub energii kinetycznej fotoelektronu (eV). Wzrost energii kinetycznej przyjmuje się w kierunku od strony lewej do prawej. Na widmie widoczne są charakterystyczne piki pochodzące od fotoelektronów (węższe linie) jak również piki Augera (szersze linie), które są generowane w procesie relaksacji. Źródłem tła są niesprężyste rozproszone fotoelektrony [17].

Widmo zbiorcze umożliwia, określenie granic energetycznych dla pomiarów szczegółowych, jak również dokładne określenie pierwiastków znajdujących się w warstwie powierzchniowej. Wartości energii wiązania charakterystycznych pików fotoelektronów zostały stabelaryzowane, stąd analiza jakościowa składu warstwy powierzchniowej jest dosyć prosta. Widmo szczegółowe jest widmem wysokorozdzielczym. W zależności od długości czasu pomiaru w jednym punkcie oraz zakresu energetycznego, długość trwania pomiaru wynosi od około godziny do kilku godzin. Jak już zostało wspomniane, oprócz linii charakterystycznych, na widmie XPS pojawiają się linie satelitarne. Powstają one przy przejściach w atomach podwójnie zjonizowanych. Innymi liniami, pojawiającymi się na widmie, są linie strat energii (plazmony).



**Rys. 6.** Widmo XPS katalizatora Rh/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> otrzymanego metodą impregnacji [1].

Plazmony są skutkiem zbiorowych oscylacji we wnętrzu, bądź na powierzchni ciała stałego. Na widmie można zaobserwować również rozszczepienie multipletowe,

powstające na skutek oddziaływania spinowego i orbitalnego momentu elektronu wewnętrznego ze spinowym i orbitalnym momentem elektronu na niezapełnionej powłoce. Zjawisko to jest typowe dla metali przejściowych, które mają niewypełnione poziomy d i f [7]. Dodatkowe linie mogą się pojawić w przypadku gdy fotoelektron powoduje emisję dwóch (rzadziej trzech) elektronów. Ostatecznie drugi elektron zostanie wzbudzony do wyżej leżących stanów związanych (ang. *shake-up*) bądź do stanów niezwiązanych (ang. *shake-off*). W rezultacie fotoelektron traci energię kinetyczną i pojawia przy wyższej energii wiązania na widmie. Obserwowane straty energii mają istotną wartość diagnostyczną, gdyż obrazy strat energii zależą od otoczenia atomu [2]. Otrzymane widmo podlega usunięciu linii satelitarnych, wygładzeniu, procedurze odjęcia tła, oraz rozdzielaniu nakładających się linii w celu przeprowadzenia dokładnej analizy ilościowej. Innym zjawiskiem, prowadzącym do zniekształcenia widma XPS jest ładowanie próbki wywołane emisją fotoelektronów. Jeśli ładunek powstaje w próbkach przewodzących, wówczas jest on kompensowany przez elektrony pochodzące ze spektrometru. Jeśli między drobinami proszku nie ma dobrego kontaktu, który umożliwiłby przepływ elektronów, bądź próbka jest izolatorem wówczas kompensacja ta nie jest możliwa. Niekiedy powierzchnia próbki ładuje się niejednorodnie i dochodzi do zjawiska określanego jako ładowanie różnicowe. Niejednorodność rozkładu ładunku prowadzi do przesunięcia, zniekształcenia i poszerzenia linii fotoelektronów. W takim przypadku ładunek należy skompensować strumieniem powolnych elektronów z działła neutralizującego [15]. Widmo XPS dostarcza wielu, niezwykle ważnych informacji o stanie powierzchni i zjawiskach na niej zachodzących co zdecydowało o kierunkach zastosowań tej techniki.

## 7. Kierunki zastosowań metody XPS

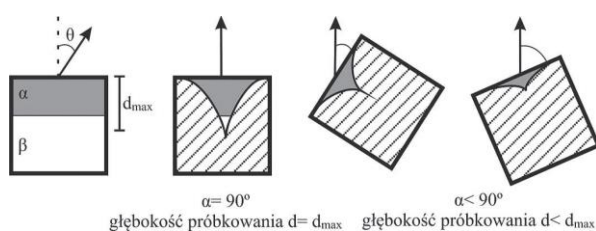
Badania prowadzone na przełomie lat sześćdziesiątych i siedemdziesiątych wyznaczyły podstawę dla aktualnie prowadzonych eksperymentów. Siegbahn jako pierwszy zauważył potencjalne możliwości wykorzystania techniki XPS. Obecnie badania wykonane metodą XPS znajdują zastosowanie nie tylko na płaszczyźnie akademickiej, ale również i przemysłowej. Dzięki tej technice możliwe jest określenie defektów oraz składu powierzchniowego proszków, włókien oraz modyfikowanych materiałów polimerowych. Istnieje także możliwość uzyskania informacji dotyczącej grubości powłok jak również

głębokościowej lokalizacji różnych pierwiastków [17]. Rzeczywisty zasięg metody XPS wynosi kilka nanometrów. Wynika to z faktu, że przy ustawieniu próbki względem osi spektrometru pod kątem  $90^\circ$ , grubość warstwy, z której elektrony opuszczają materiał bez strat energii kinetycznej jest równa (6):

$$d_{\max} = 3\lambda \quad (6)$$

gdzie  $d_{\max}$  – głębokość analizy,  $\lambda$  – średnia droga swobodna elektronów.

W celu zmniejszenia głębokości próbkowania stosuje się analizę kąto- rozdzielczą XPS (ang. *ARXPS* – *Angle- Resolved XPS*). Metoda ta polega na ustawieniu próbki względem osi spektrometru pod kątem mniejszym niż  $90^\circ$  (Rys. 7).



**Rys. 7.** Zmiana kąta zbierania elektronów ( $\theta$ ) pozwala uzyskać widma pochodzące od pierwiastków znajdujących się na różnych głębokościach próbki [1].

Dzięki manipulacji próbką możliwe jest uzyskanie informacji o głębokościowej lokalizacji różnych pierwiastków w danym materiale. W miarę zmniejszania kąta zasięg analizy maleje i wynosi (7):

$$d = 3\lambda \sin\theta \quad (7)$$

gdzie:  $\theta$  – kąt emisji analizowanych fotoelektronów.

Zwiększenie głębokości analizy XPS można uzyskać przez zastosowanie trawienia jonowego. Metoda ta polega na usuwaniu kolejnych warstw materiału przy użyciu wiązki jonowej co umożliwia prowadzenie analizy do głębokości  $\sim 1000$  nm. Jednak trawienie jonowe jest metodą niszczącą, a ponadto posiadającą wiele wad. Rozpylanie jonowe może być nierównomierne, tzn. jon padającej wiązki pierwotnej może spowodować wybicie różnej liczby atomów z powierzchni. Ponadto zaburzony zostaje skład ilościowy powierzchni, a także istnieje możliwość częściowej zmiany wartościowości niektórych pierwiastków [18]. Otrzymanie informacji z kilku warstw powierzchniowych jest także możliwe w sposób nieniszczący, przy użyciu promieniowania rentgenowskiego o różnych energiach. Doskonałym przykładem może być wykorzystanie w tym celu źródeł synchrotronowych [19]. Badania wewnętrznej struktury białek umożliwiły powiązanie ich struktury chemicznej z czynnościami fizjologicznymi [21]. XPS znalazł również zastosowanie w medycynie do charakteryzacji nanocząstek krzemowych do badań *in vitro*

i *in vivo* [22]. Nayak i Banerijee wykorzystali XPS do wyznaczenia udziału wiązania jonowego w cienkiej warstwie Zn<sub>3</sub>P<sub>2</sub> osadzonego na podłożu przez odparowanie wiązką elektronów [23]. Metodę XPS można wykorzystać do określenia wiązań węgla występujących na powierzchni badanych materiałów, ma to istotne znaczenie przy określaniu rodzajów grup funkcyjnych w związkach organicznych. Flieu Jr. i in wykorzystali XPS w celu obserwacji zmiany składu chemicznego w trakcie zachodzących procesów korozji w stopie magnezowo- glinowym [24]. Dzięki zastosowaniu XPS stwierdzono zjawiska segregacji powierzchniowej w stopach, a także zjawiska wzbogacania powierzchni w jeden ze składników tlenkowych w mieszanych układach tlenkowych. Innym zastosowaniem badań XPS jest oznaczenie zanieczyszczeń znajdujących się na powierzchni [20]. Możliwość określenia składu powierzchni oraz badania zmian na niej zachodzących pod wpływem reakcji sprawiła, że XPS znalazł szerokie zastosowanie w katalizie.

### 7.1 Zastosowanie XPS do badania katalizatorów

Charakterystyka układu katalitycznego obejmuje między innymi określenie struktury warstwy powierzchniowej faz uczestniczących w reakcji katalitycznej oraz zjawisk na niej zachodzących w zetknięciu z reagentami. W krótkim opracowaniu nie sposób wyliczyć wszystkich możliwości zastosowania techniki XPS w katalizie. Aktualnie badania katalizatorów metodą XPS prowadzone są w wielu kierunkach. Najbardziej podstawowe zastosowanie XPS obejmuje określenie składu ilościowego i jakościowego warstwy powierzchniowej katalizatora [25]. XPS umożliwia detekcję i analizę ilościową prawie wszystkich pierwiastków (wyjątek stanowi wodór i hel) z czułością 0,1 – 0,5 at.% w warstwie powierzchniowej dla materiału o grubości rzędu kilku nanometrów. W praktyce, ocena zawartości danego pierwiastka na powierzchni próbki sprowadza się do założenia, że intensywność sygnału pochodzącego od fotoelektronów jest wprost proporcjonalna do jego stężenia w próbce (8):

$$C_i = \frac{I_{K_i} / S_{K_i}}{\sum_j I_{L_j} / S_{L_j}}$$

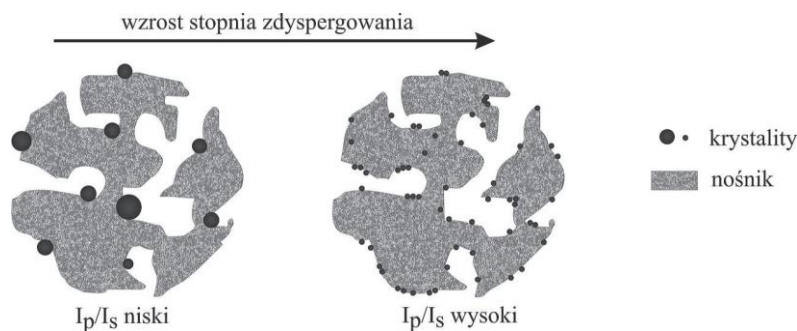
gdzie: i, j – pierwiastki obecne na powierzchni próbki, K<sub>i</sub>, L<sub>j</sub> – linie spektralne K lub L analizowane dla danego pierwiastka, c<sub>i</sub> – stężenie atomowe pierwiastka i, I<sub>K<sub>i</sub></sub> – natężenie



linii spektralnej  $K_i$ ,  $SK_i$  – względny atomowy współczynnik czułości dla linii spektralnej  $K_i$ , definiowany następująco (9):

$$S_{K_i} = C \sigma_{K_i} L_K \lambda_{K_i} T_{K_i}$$

gdzie:  $C$  – pewna stała, tak dobrana aby  $SC_i \equiv 1$ ,  $\sigma_{K_i}$  – przekrój czynny na jonizację danego pierwiastka,  $L_K$  – współczynnik asymetrii kątowej (określający zależność intensywności emitowanych fotoelektronów od kąta pomiędzy kierunkiem padania promieni  $X$  na próbkę, a kierunkiem ich analizy),  $\lambda_{K_i}$  – średnia droga swobodna fotoelektronów o określonej energii kinetycznej,  $T_{K_i}$  – funkcja transmisji analizatora. Położenie maksimum analizowanego sygnału lub zmiana kształtu danego piku na widmie sugeruje zmianę stanu chemicznego danego pierwiastka. Brinen i Melera [26] prowadząc badania XPS katalizatorów rodowych wykazali, że istnieje bezpośrednia zależność pomiędzy aktywnością katalityczną badanego katalizatora a stosunkiem tlenku do metalu. Kolejnym przykładem zastosowania badań XPS jest charakterystyka powierzchni katalizatora przed i po reakcji chemicznej [27,28]. Możliwe jest również określenie wpływu preparatyki katalizatora oraz jego obróbki na skład powierzchniowy [29,30]. Wpływ preparatyki katalizatora badany jest również po przeprowadzeniu reakcji [31]. Duża czułość powierzchniowa techniki XPS pozwala na ocenę stopnia dyspersji cząstek na nośniku. Na poniższym rysunku (Rys. 8) przedstawiono schematycznie dwa katalizatory o różnym stopniu zdyspergowania krystalitów na powierzchni nośnika.



**Rys. 8.** Zastosowanie metody XPS do oszacowania stopnia dyspersji krystalitów na powierzchni nośnika [1]

W przypadku małego stopnia rozproszenia krystalitów, w pomiarze metodą XPS, uzyskuje się niską intensywność sygnałów pochodzących od krystalitów ( $I_p$ ) oraz względnie wysoką intensywność sygnałów od nośnika ( $I_s$ ). W związku z tym stosunek wartości  $I_p/I_s$  jest niski. Dla katalizatorów o dużym stopniu dyspersji stosunek intensywności  $I_p/I_s$  przyjmuje wysoką wartość [2,32]. Badania prowadzone są również w kierunku określenia zmian



aktywnych form katalizatora w czasie jego obróbki termicznej w określonej atmosferze [33,34] lub użyciu określonej reakcji chemicznej. Torres i in. za pomocą techniki XPS badali wpływ promotora na redukowalność kobaltowej fazy aktywnej [35]. Szeroko zakrojone prace badawcze, dowiodły istnienie silnych oddziaływań wysoko zdyspergowanego zredukowanego metalu i nośnika w katalizatorach (ang. *SMSI – strong metal-support interaction*). Dowodem na obecność omawianych oddziaływań są przesunięcia chemiczne wartości energii wiązania na widmie XPS [36]. Wspomniana wcześniej technika ARXPS w połączeniu z możliwością analizy głębokościowej jest potężnym narzędziem służącym do charakteryzacji modelowych katalizatorów heterogenicznych [37,38]. Przedstawione informacje pozwalają ocenić jak potężnym narzędziem badawczym jest technika XPS. Wciągu ostatnich 50 lat pojawiła się szeroka gama publikacji świadczących o możliwościach praktycznego i powszedniego wykorzystania badań uzyskanych tą metodą. Mnogość zastosowań XPS oraz nieustanny rozwój aparatury sprawia, że XPS jeszcze długo pozostanie dominującą techniką, odgrywającą ogromną rolę w kształtowaniu naszej wiedzy w zakresie fizykochemii powierzchni.

## Literatura

- [1] S. Turczyniak, *Rentgenowska Spektroskopia Fotoelektronów, Rozdział 11, Adsorbenty i Katalizatory, Wybrane Technologie a Środowisko*, pod redakcją J. Ryczkowskiego, Nauka dla Gospodarki, Uniwersytet Rzeszowski, 2012, 2, 205-218
- [2] J.W. Niemantsverdriet, *Spectroscopy in Catalysis. An Introduction*, Wiley, Weinheim 1993
- [3] A. Łukasik, *Filozofia Atomizmu*, UMCS, Lublin 2006
- [4] H.P. Bonzel, CH. Kleint, *Prog. Surf. Sci.*, **49** (1995) 107-153
- [5] *Surface Analysis by Auger and X-Ray Photoelectron Spectroscopy* (pod red. D. Briggs, J.T. Grant), IM Publications, Chichester, 2003
- [6] *Fizykochemiczne metody badań katalizatorów kontaktowych* (pod red. M. Najbar), Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, 2001, 79- 97
- [7] *Fizyczne metody badań w biologii, medycynie i ochronie środowiska* (pod red. A.Z. Hryniewicz, E. Rokita), PWN, Warszawa 1999, 8- 238
- [8] *Encyclopedia Of Spectroscopy & Spectrometry* (pod red. J.C. Lindon, G.E. Tranter, J.L. Holmes), Elsevier Science, USA 2000
- [9] G. Gauglitz, T. Vo-Dinh, *Handbook Of Spectroscopy*, Wiley, Weinheim 2003, 586- 591
- [10] S. Hufner, *Photoelectron Spectroscopy: Principles and Applications*, Springer, Berlin 1994
- [11] *Surface Analysis Methods in Materials Science* (pod red. D.J. O'Connor, B.A. Sexton, R. St. C. Smart), Springer, Heidelberg 1992
- [12] B. Winter, M. Faubel, *Chem. Rev.*, 106 (2996) 1176- 1211
- [13] H. Bluhm, M. Havecker, A. Knop-Gericke, M. Kiskinova, Schlogl R., Salmeron M., *MRS Bulletin*, **32** (2007) 1022-1030
- [14] S.C. Avanzino, W.L. Jolly, *J. Am. Chem. Soc.*, **100** (1978) 2228- 2230
- [15] *Nauka i przemysł metody spektroskopowe w praktyce nowe wyzwania i możliwości* (pod red. Z. Hubicki), UMCS, Lublin 2011
- [16] *Nanotechnologie* (pod red. R.W. Kelsall, I.W. Hamley, M. Goeoghegan), PWN, Warszawa 2008
- [17] T. Nunnay, R.White, *Microscopy Today*, **19** (2011) 22- 28
- [18] M. Kilo, M. Hund, G. Sauer, A. Baiker, A. Wokaun, *J. Alloys and Compounds*, **236** (1996) 137- 150

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

- [19] H. Yamato, Y. Yamada, M. Sasase, F. Esaka, *J. Phys. Conference Series*, **100** (2008) 0120444  
[20] S. Geng, S. Zhang, H. Onishi, *Mater. Technol.*, **17** (2002) 234- 240  
[21] B.D. Lamp, D. Hobara, M.D. Porter, K. Niki, T.M. Cotton, *Langmuir*, **13** (1997) 736-741  
[22] N. O'Farrell, A. Houlton, B.A. Horrocks, *Int. J. Nanomedicine*, **1** (2006) 451-472  
[23] A. Nayak, H.D. Banerjee, *Appl. Surf. Sci.*, **148** (1999) 205- 210  
[24] S. Flieu Jr., C. Maffiotte, J.C. Galvan, A. Pardo, M. C. Merino, R. Arrabal, *The Open Surf. Sci. J.*, **3** (2011) 1- 14  
[25] R. Smith, *Platinum Metals Rev.*, **53** (2009) 55-56  
[26] J.S. Brinen, A. Melera, *J. Phys. Chem.*, **76** (1972) 2525- 2526  
[27] F.A. de Bruijn, G.B. Marin, J.W. Niemantsverdriet, W.H.M. Visscher, A.R. van Veen, *Surf. Interface Anal.*, **19** (1992) 537- 542  
[28] H. Song, U.S. Ozkan, *J. Catal.*, **261** (2009) 66-74  
[29] A.M. Visco, F. Neri, G. Neri, A. Donato, C. Milone, S. Galvagno, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **1** (1999) 2869- 2873  
[30] A.C.Q.M. Meijers, A.M. de Jong, L.M.P. van Gruijthuisen, J.W. Niemantsverdriet, *Appl. Catal.*, **70** (1991) 53-71  
[31] B. Bayram, I.I. Sokal, D. von Deak, J.T. Miller, U.S. Ozkan, *J. Catal.*, **284** (2011) 77- 89  
[32] M.C. Sanchez- Sanchez, R.N. Navarro, J.L.G. Fierro, *Internat. J. Hydrogen Energy*, **32** (2007) 1462- 1471  
[33] M. Najbar, J. Camra, *Solid State Ionics*, **101-103** (1997) 707- 711  
[34] J. Llorca, N. Homs, J. Sales, R. de la Piscina, *J. Catal.*, **209** (2002) 306- 317  
[35] J.A. Torres, J. Llorca, A. Casanovas, M. Dominguez, J. Salvado, D. Mantane, *Journal of Power Sources*, **169** (2007) 158- 166  
[36] B. Grzybowska- Świerkosz, *Elementy katalizy heterogenicznej*, PWN, Warszawa 1993, 131-132  
[37] Ch. Linsmeier, E. Tahlauer, *Appl. Catal. A: Gen.*, **391** (2011) 175- 186  
[38] F. Verpoort, G. de Doncker, A.R. Bossuyt, L. Fiermans, L. Verdonck, *J. Electron Spectrosc. Rel. Phenom.*, **73** (1995) 271- 281

## Wykład 7

# Zastosowanie metod spektroskopowych w chemii strukturalnej

## Zastosowanie metod spektroskopowych w analizie QSAR

Wykład opracowano wykorzystując materiały dr Moniki Kalinowkiej [1]

W ostatnich latach bardzo silnie zaznacza się – w badaniach naukowych – trend przewidywania z parametrów strukturalnych związku chemicznego jego właściwości biologicznych i/lub fizykochemicznych. Analiza taka nosi nazwę QSAR (ang. Quantitative Structure – Activity Relationship) czyli badania ilościowej zależności między strukturą chemiczną związku a jego właściwościami biologicznymi/fizykochemicznymi. Wynikiem analizy QSAR jest równanie, które może być użyte, np. do oceny aktywności biologicznej hipotetycznych związków przy założeniu, że mechanizm ich działania jest taki sam. Takie podejście do badań jest bardzo korzystne gdyż umożliwia: (1) ograniczenie ilości syntetyzowanych i poddawanych wstępnej ocenie związków, (2) projektowanie związków

chemicznych o najkorzystniejszych parametrach biologicznych lub fizykochemicznych. Aby otrzymać równania QSAR należy: (1) aktywność biologiczną wyrazić ilościowo, np. jako minimalną ilość (stężenie) pewnej substancji wywołującą określoną odpowiedź biologiczną oraz (2) parametry fizykochemiczne charakteryzujące ligandy wyrazić w postaci liczbowej. W ten sposób otrzymujemy tzw. deskryptory, które opisują różne właściwości cząsteczek, np.: (1) deskryptory elektronowe: moment dipolowy, polaryzowalność, energia HOMO i LUMO, ładunek całkowity, stała Hammeta, efekt rezonansowy i indukcyjny, (2) termodynamiczne: logP, refraktywność molowa, (3) strukturalne: pole powierzchni, objętość, liczba wiązań rotujących, parametr Tafta (steryczny), hydrofobowość podstawnika, wiązania wodorowe (donor-akceptor) oraz wiele innych deskryptorów. Rzadko do opisu struktury związku używa się danych spektroskopowych, np. liczb falowych z widm w podczerwieni lub Ramana. Wynika to z bardzo skomplikowanego obrazu struktury związku przedstawionej w postaci widma z często kilkudziesięcioma pasmami o różnych liczbach falowych. Chcąc zastosować w badaniach QSAR dane z widm należy: (1) wybrać do analizy grupę pojedynczych pasm przypisanych wcześniej określonym drganiom cząsteczki (co wiąże się z czasochłonnym etapem przypisywania pasm) lub (2) zastosować analizę statystyczną (np. składowych głównych) celem uzyskania pojedynczych parametrów pozwalających porównać widma badanych związków chemicznych lub zastosować deskryptory spektroskopowe jak np. EVA (ominięty etap przypisywania pasm). W pracy przedstawiono szereg badań, w których podejmowano próby zastosowania danych spektroskopowych do analizy QSAR. Rezultaty tych badań dały częściową odpowiedź na pytania: (1) czy użycie danych spektralnych jest wystarczające do opisu struktury molekularnej związków, (2) czy możliwe jest stworzenie odpowiednich modeli statystycznych wykorzystujących dane spektroskopowe, które określają zależności między strukturą związków a ich aktywnością biologiczną.

## **Wprowadzenie**

Metody badania ilościowej zależności między strukturą chemiczną związków a ich właściwościami biologicznymi (QSAR) polegają na znalezieniu odpowiednich parametrów opisujących właściwości fizykochemiczne cząsteczki i określeniu za ich pomocą przewidywanej aktywności biologicznej tej cząsteczki [2]. Prawdopodobnie pierwszej

*nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych*  
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

próby powiązania aktywności związku z jego budową dokonali Grum-Brown i Faser w 1868 roku zakładając, że aktywność biologiczna związku ( $\Phi$ ) jest funkcją jego budowy chemicznej ( $c$ ):

$$\Phi = f(c)$$

Od tego ogólnego wyrażenia do rozwoju ilościowej analizy zależności między strukturą a aktywnością związków była długa droga ponieważ niezbędne było zdefiniowanie odpowiednich pomiarów określających aktywność biologiczną „ $\Phi$ ”, oraz właściwych funkcji matematycznych „ $f$ ” i metod służących do ilościowego opisu struktury związku „ $c$ ” [3]. Nowoczesne metody analizy QSAR rozpoczęli w 1964 roku Hansch i Fujita [4] oraz Free i Wilson [5]. Obie metody, metoda Hansch’a i metoda Free-Wilson’a, używają analizy regresji wielokrotnej, ale różnią się opisem właściwości chemicznych. Dzisiaj oprócz analizy regresji wielokrotnej używa się wielu innych metod do opisu funkcji „ $f$ ” w równaniu wyżej. Są to np. analiza składowych głównych, metoda cząstkowych najmniejszych kwadratów (PLS), analiza dyskryminacyjna i inne. Do opisu struktury chemicznej związku używa się również różnych deskryptorów [6]. Można je sklasyfikować jako: (1) wielkości eksperymentalne, takie jak  $\log P_{ow}$  (współczynnik podziału w układzie oktanol/woda),  $pK_a/pK_b$ , dane spektroskopowe, (2) stałe podstawnikowe (elektryczna, hydrofobowa, steryczna), (3) parametry pochodzące z obliczeń kwantowo-mechanicznych i modelowania molekularnego. Natomiast typowym parametrem opisującym aktywność biologiczną są: stężenie molowe związku powodujące określony efekt (np.  $LC_{50}$ ), stała wiązania, stała asocjacji, stała inhibitora. Mimo, że analiza QSAR stanowi stosunkowo młodą dziedzinę nauki, w ostatnich latach nastąpił jej gwałtowny rozwój. Wynika to z faktu, iż metody te znalazły powszechne zastosowanie m.in. w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym jako podstawowe źródło informacji umożliwiających odkrycie nowych substancji o pożądanych właściwościach biologicznych (leków, konserwantów, dezynfekantów). W trakcie analizy QSAR wyznaczane są właściwości fizykochemiczne związków i ocena korelacji z ich aktywnością biologiczną. W dalszej kolejności następuje uszeregowanie związków podobnych strukturalnie z uwzględnieniem ich specyficznych aktywności. Taki sposób uporządkowania pozwala na łatwe wyznaczenie wspólnych fragmentów struktury przestrzennej, które odpowiedzialne są za aktywność biologiczną lub bezpośrednio na nią

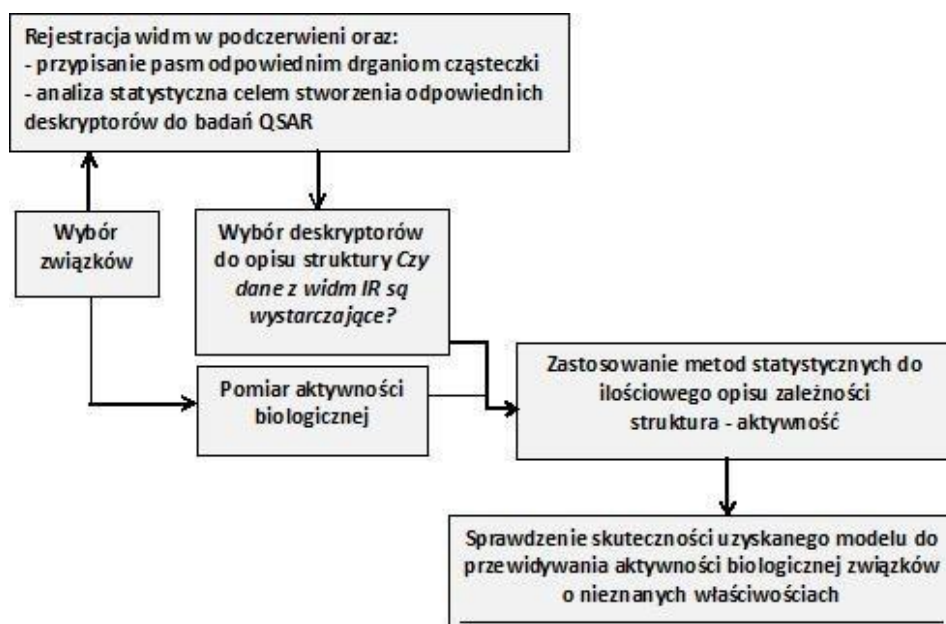
wpływają. Stosując metody statystyczne można ustalić równanie wiążące określone właściwości fizykochemiczne z aktywnością związku. Równania QSAR pozwalają nie tylko na ocenę biologicznych właściwości nowych związków, ale również są pomocne przy podjęciu decyzji o konieczności ich syntezy i/lub przeprowadzeniu testów biologicznych. Dzięki temu analiza QSAR zmniejsza ilość niepotrzebnych syntez i badań oraz pozwala na odkrycie nowych właściwości związków, które nie pasują do wyznaczonego równaniem trendu. Przykłady zastosowań analizy QSAR można byłoby długo mnożyć co potwierdziłoby, że jest to technika powszechnie i z dużym sukcesem stosowana w trakcie poszukiwania związków o określonych właściwościach biologicznych [7]. Na przykład, Seward i współp. bazując na współczynnikach podziału  $lopP_{ow}$  opracowali równania pozwalające przewidzieć toksyczne właściwości mono- i dikarboksylowych alifatycznych kwasów oraz ich soli sodowych w stosunku do *Tetrahymena Pyriformis* [8]. Smith i współp. stworzyli model pozwalający przewidzieć toksyczność związków fenolowych obecnych w dymie papierosowym [9]. Metody QSAR powszechnie stosowane są podczas projektowania leków przeciwnowotworowych [10]. Watkins i współp. badając czternaście pochodnych kwasu cynamonowego o potencjalnych właściwościach odstrasżających ptaki stworzyli matematyczny model oparty na zależnościach między strukturą związku a jego aktywnością biologiczną [11] w tych związków odstrasżających ptaki i mających zastosowanie w rolnictwie, sadownictwie i ogrodnictwie. W uzyskanym przez nich równaniu struktura związku opisywana została czterema parametrami zależnymi od zmian w rozkładzie ładunku elektronowego cząsteczki, które zostały obliczone przy użyciu metod kwantowo-mechanicznych. Narasimhana i współp. stosując analizę QSAR badali przeciwdrobnoustrojowe właściwości pochodnych kwasu cynamonowego [12]. Wykorzystali teoretyczne dane fizykochemiczne do opisu struktury związków. Sova i współp. opracowali model pozwalający nakreślić drogę syntezy inhibitorów dehydrogenazy  $17\beta$ -hydroksysteroidowej należących do pochodnych estrów kwasu cynamonowego [13]. Sunnerheim i współp. badali estry kwasów benzoesowych i cynamonowych jako potencjalnych insektycydów stosowanych w zwalczaniu szeliniaka sosnowego (*Hylobius abietis*) [14]. Zastosowanie analizy QSAR pozwoliło wyodrębnić cechy związków jakimi powinny charakteryzować się skuteczne insektycydy. Badania QSAR wykorzystane zostały do opracowania syntezy nowych pochodnych benzenosulfonamidu (BZS) posiadających właściwości

przeciwdrobnoustrojowe. Wyniki wskazują, że zwiększenie ładunku na atomach wodoru H1 i H1' (oznaczenia autorów) oraz jego zmniejszenie na atomach N3 i O2 powoduje wzrost aktywności pochodnych BZS w stosunku do *Bacillus subtilis* oraz opornego na metycilinę *Staphylococcus aureus* [15].

### Zastosowanie metod spektroskopowych w analizie QSAR

Stosunkowo rzadko do opisu struktury związku w badaniach QSAR stosuje się dane spektroskopowe jakimi są liczby falowe pasm z widm w podczerwieni lub ramanowskich. Wynika to przede wszystkim z bardzo skomplikowanego obrazu struktury molekularnej cząsteczki przedstawionego w postaci widma oscylacyjno-rotacyjnego. Chcąc zastosować uzyskane dane spektroskopowe do badań „struktura-aktywność” można: (1) przypisać pasma odpowiednim drganiom cząsteczki, lub (2) zastosować metody statystyczne (np. analizę składowych głównych), lub deskryptory bazujące na wszystkich liczbach falowych (lub z wybranego zakresu np. obszaru daktyloskopowego) celem stworzenia pojedynczych parametrów opisujących strukturę molekularną związku na podstawie liczb falowych z widm (rys. 1). W ten sposób uzyskuje się dwa różne podejścia do badań QSAR z zastosowaniem danych spektroskopowych, tzn. można wykonać korelację danych opisujących właściwości biologiczne związku z liczbami falowymi wybranych pojedynczych pasm z widm lub z deskryptorami, które policzono wykorzystując szeroki zakres liczb falowych. Wynikiem końcowym analizy QSAR jest uzyskanie ilościowych informacji o zależnościach między strukturą związku a jego aktywnością biologiczną w postaci równań matematycznych. Aby sprawdzić czy uzyskany model pozwala przewidzieć właściwości biologiczne substancji należy sprawdzić jego skuteczność wykorzystując dane związków o znanych i nieznanymi właściwościami biologicznymi oraz porównać uzyskane wyniki z tymi, kiedy do badań QSAR zastosowano inne popularne deskryptory (np.  $\log P_{ow}$ ).

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki



Rys. 1. Schemat analizy QSAR z wykorzystaniem danych spektroskopowych (rysunek autorski) [1].

Przykładem zastosowań do badań „struktura-aktywność” pojedynczych pasm z widm w podczerwieni są prace Cui i współ. [16]. Badali oni działanie szeregu związków zawierających grupę nitrozylową NO (np.  $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$ ,  $\text{K}_3[\text{Cr}(\text{CN})_5\text{NO}]$  i inne) na bakterie *Clostridium sporogenes*. Ustalili, że jedynie grupa NO jest odpowiedzialna za działanie bakteriostatyczne związku, podczas gdy pozostała część cząsteczki nie ma wpływu na rozwój badanych mikroorganizmów. Jednocześnie powiązali właściwości przeciwdrobnoustrojowe proponowanych związków z liczbą falową pasma pochodzącego od drgania rozciągającego N-O w widmie w podczerwieni. Zaproponowali wykorzystanie liczby falowej tego pasma jako „wskaźnika” aktywności przeciwdrobnoustrojowej związków o podobnej budowie chemicznej – wysoka liczba falowa pasma drgania rozciągającego N-O może być wstępnym wskaźnikiem dobrych właściwości bakteriostatycznych związku zawierającego taką grupę. Pewne wątpliwości może budzić fakt całkowitego zaniedbania przez autorów wpływu pozostałej części cząsteczki na rozkład ładunku elektronowego w grupie N-O, a więc również na liczbę falową drgania pasma „wskaźnikowego”. Z drugiej strony, istnieje szereg publikacji, w których przeprowadzona analiza statystyczna wykazała istnienie istotnych korelacji między pojedynczymi wybranymi pasmami z widm w podczerwieni związków chemicznych a parametrami strukturalnymi takimi jak stałe podstawnikowe Hammeta [17] czy parametrem Tafta [18] lub parametrami jonów metali (w przypadku związków

kompleksowych) [19]. Oznacza to, że wybór pojedynczych pasm z widm IR do analizy „struktura-aktywność” w pewnych przypadkach może być uzasadniony, ale musi być poprzedzony czasochłonnym procesem przypisywania pasm z widm odpowiednim drganiom cząsteczki. Pinovka w swoich pracach również wykorzystał pojedyncze pasma z widm w podczerwieni i ramanowskich do badania zależności między strukturą wybranych izoflawonów, kumaryn i benzoksazoli a ich właściwościami receptorowymi (względem receptora ER-β) [20]. Udało mu się zidentyfikować pasma z widm badanych związków, które korelują z parametrami określającymi siłę wiązania z receptorem. Wyniki analizy statystycznej wskazywały, że siła wiązania receptora wyraźnie zależy od gęstości elektronowej układu wiązań π. Zastosowanie w analizie QSAR deskryptorów, które opierają się na większej liczbie pasm z widm (np. z zakresu obszaru daktyloskopowego), pozwala pominąć etap analizy widm i przypisywania pasm. Pierwszy tego typu spektroskopowy deskryptor bazujący na liczbach falowych z widm IR lub Ramana zaproponowali Turner i współp., tzw. deskryptor EVA, który z dobrym rezultatem zastosowali w badaniach specyficznych właściwości steroidów [21-23]:

$$EVA(x) = \sum_{i=1}^{3N-6} \frac{1}{\sigma(2\pi)^{0.5}} \exp\left[-\frac{(x-f_i)^2}{2\sigma^2}\right]$$

Poszczególne symbole oznaczają:  $f_i$  – liczba falowa  $i$ -tego drgania normalnego,  $\sigma$  – współczynnik krzywej Gaussa opisującej kształt pasma (stały dla całego widma).

Pierwszym etapem badań jest uzyskanie obliczeniowych widm w podczerwieni (lub ramanowskich) najczęściej w zakresie 0-4000  $\text{cm}^{-1}$ . Następnie dla każdego pasma o określonej liczbie falowej liczy się deskryptor EVA na podstawie powyższego wzoru. Obliczenia wykonuje się dla każdej liczby falowej z widm wybranych związków, a następnie tworzy się macierz gdzie rzędami są wybrane do badań związki a kolumnami policzone deskryptory EVA w ilościach 4000/L (gdzie L to tzw. „rozdzielczość”, zakres liczb falowych dla których liczone są deskryptory EVA). Dane takie poddawane są analizie statystycznej, najczęściej wielokrotnej regresji liniowej z użyciem metody najmniejszych kwadratów (PLS, ang. *Partial Least Squares*). Zwykle liczba pasm obecnych w widmach jest inna dla różnych związków, z wyjątkiem tych o jednakowej liczbie atomów (liczba drgań normalnych dla nieliniowej cząsteczki N-atomowej jest równa 3N-6, a dla cząsteczki liniowej 3N-5). Dlatego trudno jest ocenić, które pasma



powinny być wybrane i porównywane między sobą jeśli mamy do czynienia z widmami kilku lub większej ilości związków. Użycie deskryptoru EVA pozwala wykorzystać w analizie QSAR jednakową dla wszystkich analizowanych związków liczbę parametrów (w ilości 4000/L) obliczonych na podstawie ustalonych zakresów liczb falowych (L). Liczne badania wykazały, że EVA może być z dużym powodzeniem użyta w analizie QSAR różnych strukturalnie klas związków chemicznych posiadających odmienne właściwości biologiczne [24,25]. Badania nad wykorzystaniem informacji jakie niosą widma w podczerwieni w analizie QSAR badali również Benigni i współp. Przeprowadzili analizę QSAR na 91 związkach wykorzystując pasma obecne w widmach FT-IR w zakresie 1500-600  $\text{cm}^{-1}$  rejestrowane dla prób w stanie gazowym [26]. Stosując analizę składowych głównych porównywali uzyskane wyniki analizy QSAR z osiągniętymi wcześniej gdy do badań wykorzystane zostały inne niż spektroskopowe deskryptory opisujące strukturę związku. Tylko w jednym przypadku uzyskano lepsze korelacje między spektroskopowymi deskryptorami a aktywnością biologiczną, niż miało to miejsce w przypadku korelacji z pozostałymi deskryptorami. Według autorów widma IR nie mogą być jedynym źródłem opisu struktury związku w analizie QSAR, a do uzyskania dobrych modeli QSAR powinny być stosowane takie strukturalne deskryptory, które w większym stopniu odzwierciedlają mechanizm biologicznego działania związków. Poprzednie badania przeprowadzone przez tych samych autorów na grupie 121 różnych strukturalnie związków wykazały brak wyraźnych korelacji pomiędzy danymi z eksperymentalnych widm w podczerwieni a innymi zwykle stosowanymi deskryptorami (takimi jak  $\log P_{ow}$ , refraktywność molowa, energia orbitalu HOMO,  $\log P_{ow}$ , polaryzowalność). Według autorów informacje o strukturze związku jakie odzwierciedla widmo w podczerwieni są odmienne niż opisują to wybrane do badań deskryptory strukturalne [27]. Benigni i współp. badali również zastosowanie danych z widm w podczerwieni do podziału wybranych związków chemicznych na grupy, które wykazują różny mechanizm działania toksycznego w środowisku wodnym. Liczby falowe z widm w podczerwieni poddawane były analizie składowych głównych, następnie uwzględniano 10 pierwszych składowych w analizie statystycznej z danymi biologicznymi opisującymi toksyczność związków. I tym razem dane spektroskopowe okazały się niewystarczającym parametrem do podziału związków na grupy o różnej aktywności biologicznej.

## Wnioski

Przedstawione wyniki badań wskazują, że w niektórych przypadkach udało się z dużym sukcesem zastosować spektroskopowe deskryptory w analizie QSAR (liczby falowe pojedynczych pasm lub policzone deskryptory np. na podstawie analizy składowych głównych). Szczególnie dobrze dopasowane modele QSAR otrzymano stosując deskryptor EVA. Pozwala on porównać poszczególne zakresy widm różnych związków (określone parametrem L) bez konieczności przypisywania pasm drganiom cząsteczki. Wykazano również wysoką korelację tego deskryptora z innymi popularnie stosowanymi w analizie QSAR parametrami strukturalnymi. Jednak brak wyraźnych korelacji między parametrami spektroskopowymi a danymi biologicznymi, które zostały opisane w innych pracach, nasuwa pytanie: w jakich przypadkach lepsze do analizy QSAR są deskryptory oparte na danych spektroskopowych a kiedy należy stosować inne deskryptory? Prawdopodobnie wtedy możliwe jest zastosowanie do badań QSAR widm IR i Ramana jeżeli zmiany we właściwościach biologicznych różnych związków odzwierciedlane są zmianą położenia pewnych pasm w widmach. Ponieważ widma w podczerwieni stanowią unikalny zapis struktury związku (szczególnie dotyczy to daktyloskopowego zakresu widma) stanowią znakomite źródło danych analitycznych do analizy QSAR. Z tego też powodu budzą ciągle zainteresowanie wielu ośrodków naukowych zajmujących się poszukiwaniem odpowiednich deskryptorów do opisu struktury związku w badaniach QSAR. Problem stanowi odpowiednie przygotowanie danych z widm w podczerwieni aby mogły mieć one zastosowanie w badaniach ilościowych zależności między strukturą związków a ich aktywnością biologiczną.

## Literatura

- [1.] M. Kalinowska, „Zastosowanie metod spektroskopowych w analizie QSAR”, Roble Sp. z o.o., <http://www.lab.media.pl/>, LAB 6 (2011) 10-14.
- [2.] P. Kafarski, B. Lejczak, Warszawa, 1994, PWN.
- [3.] R. Benigni, “Quantitative structure - activity relationship (QSAR) models of mutagens and carcinogens”, CRC Press LLC, U.S.A., 2003.
- [4.] C. Hansch, T. Fujita, J. Am. Chem. Soc. 86 (1964) 1616.
- [5.] S.M. Free Jr., J.W. Wilson, J. Med. Chem. 7 (1964) 395
- [6.] R. Todeschini, V. Consonni, “Handbook of molecular descriptors”, Wiley-VCH, Weinheim, 2000.
- [7.] T. Puzyn, J. Leszczyński, M.T.D. Cronin, “Recent advances in QSAR studies. Methods and applications”, Springer Science+Business Media B.V. 2010.
- [8.] J.R. Seward, T.W. Schultz, SAR and QSAR in Environ. Res. 10 (1999) 557.

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

- [9.] C.J. Smith, T.A. Perfetti, M.J. Morton, A. Rodgman, R. Garg, C.D. Selassie, C. Hansch, *Toxicol. Sci.* 69 (2002) 265.
- [10.] V. Markovic, S. Eric, Z.D. Juranic, T. Stanojkovic, L. Joksovic, B. Rankovic, M. Kosanic, M.D. Joksovic, *Bioorg. Chem.* 39 (2011) 18.
- [11.] R.W. Watkins, J.A. Lumley, E.L. Gill, J.D. Bishop, S.D. Langton, A.D. MacNicoll, N.R. Price, M.G.B. Drew, *J. Chem. Ecol.* 25 (1999) 2825.
- [12.] B. Narasimhana, D. Belsareb, D. Pharandeb, V. Mouryac, A. Dhakea, *Eur. J. Med. Chem.* 39 (2004) 827.
- [13.] M. Sova, A. Perdih, M. Kotnik, K. Kristan, T.L. Rižner, T. Solmajer, S. Gobec, *Bioorg. & Med. Chem.* 14 (2006) 7404.
- [14.] K. Sunnerheim, A. Nordqvist, G. Nordlander, A.-K. Borg-Karlson, C.R. Unelius, B. Bohman, H. Nordenhem, C. Hellqvist, A. Karlén, *J. Agric. Food Chem.* 55 (2007) 9365.
- [15.] M.M. González-Chávez, F. Méndez, R. Martínez, C. Pérez-González, F. Martínez-Gutiérrez, *Molecules* 16 (2011) 175.
- [16.] X. Cui, C. Joannou, M. N. Hughes, R. Cammack, *FEMS Microbiol. Lett.* 98 (1992) 67.
- [17.] M. Liler, *Chem. Commun. (London)* (1965) 244.
- [18.] R. T. C. Brownlee, R. D. Topsom, *Spectrochim. Acta Part A* 31 (1975) 1677.
- [19.] W. Lewandowski, M. Kalinowska, H. Lewandowska, *J. Inorg. Biochem.* 99 (2005) 1407.
- [20.] D. Pinovka, *Appl. Spectrosc.* 58 (2004) 323.
- [21.] D.B. Turner, P. Willett, A.M. Ferguson, T. Heritage, *J. Comp.-Aided Mol. Des.* 11 (1997) 409.
- [22.] D.B. Turner, P. Willett, *Eur. J. Med. Chem.* 35 (2000) 367.
- [23.] D.B. Turner, P. Willet, *J. Comp.-Aided Mol. Des.* 14 (2000) 1.
- [24.] D.B. Turner, P. Willett, A.M. Ferguson, T.W. Heritage, *J. Comp.-Aided Mol. Des.* 13 (2000) 271.
- [25.] O. Oltulu, M.M. Yaşar, E. Eroğlu, *Eur. J. Med. Chem.* 44 (2009) 3439.
- [26.] R. Benigni, A. Giuliani, L. Passerini, *J. Chem. Inform. Comp. Sci.* 41 (2001) 727.
- [27.] R. Benigni, L. Passerini, D.J. Livingstone, M.A. Johnson, A. Giuliani, *J. Chem. Inform. Comp. Sci.* 39 (1999) 558.

## **SPEKTROSKOPIA RAMANA: NOWOCZESNA TECHNIKA W DIAGNOSTYCE MEDYCZNEJ I ANALIZIE BIOCHEMICZNEJ**

### **Wykład opracowano wykorzystując artykuł dr Pauliny Nykiel [1]**

Spektroskopia Ramana jest szeroko stosowaną metodą w jakościowej i ilościowej analizie ciał stałych, cieczy i gazów. Do głównych zalet spektroskopii Ramana należą: możliwość bezpośredniego zastosowania w trakcie badania medycznego lub operacji, dokładność wyników, duża liczba otrzymywanych informacji przy stosunkowo niskich kosztach i możliwość zbadania próbki bez wcześniejszego przygotowania. Ponadto analiza jest niedestrukcyjna. Widmo ramanowskie tkanki biologicznej może być traktowane jako jej „śląd daktyloskopowy”, pozwalający na łatwą strukturalną i chemiczną charakterystykę oraz identyfikację tak złożonego materiału. Podczas wykładu przedstawiony będzie szereg możliwości wykorzystania spektroskopii Ramana w diagnostyce medycznej i analizie biochemicznej. Przedstawione przykłady ilustrują duży potencjał tej metody.

## 1. Wstęp

Diagnoza polega na rozpoznaniu choroby w oparciu o objawy subiektywne, obiektywne oraz wyniki badań laboratoryjnych i obrazowych (np. ultrasonografia, tomografia komputerowa, rezonans magnetyczny). Efektem przeprowadzonych badań powinno być szybkie i trafne rozpoznanie choroby. Standardem w klinicznej ocenie zmian patologicznych, które zachodzą w tkankach, jest badanie histopatologiczne. Jednakże pobranie materiału podczas biopsji i właściwa jego ocena nie są łatwe, ponieważ istnieje możliwość pobrania niereprezentatywnego fragmentu tkanki, co może skutkować postawieniem błędnej diagnozy. Trzeba brać pod uwagę, że analiza materiału pobranego z biopsji jest czasochłonna, co w konsekwencji opóźnia postawienie diagnozy. Poza tym biopsja generuje znaczne koszty, jest zabiegiem nieprzyjemnym dla pacjentów, a dla niektórych z nich wiąże się z traumatycznymi przeżyciami [2]. Korzystne więc wydaje się opracowanie nowych, tanich i mniej inwazyjnych metod badania materiału biologicznego.

Próbki biologiczne charakteryzują się złożoną strukturą i zróżnicowanym składem chemicznym. W badanych tkankach analizowane składniki często występują w bardzo niskich stężeniach. Metody spektroskopowe można z powodzeniem stosować w badaniach tego typu próbek biologicznych [3]. Do głównych zalet metod spektroskopowych zaliczyć można: małą inwazyjność, niedestrukcyjność oraz możliwość wykrycia zmian w tkankach już na wczesnym etapie ich powstania.

Metodami instrumentalnymi, które mogą być wykorzystane w biochemicznej i klinicznej analizie są spektroskopie: UV-ViS, fluorescencyjna, w podczerwieni, Ramana oraz magnetycznego rezonansu jądrowego [4]. W medycynie spektroskopia optyczna znalazła zastosowanie np. w endoskopii żołądka i jelit [5], natomiast fluorescencja np. w kolonoskopii [6]. Metody spektroskopowe są stosunkowo szybkie oraz umożliwiają badania *in vivo*, dzięki czemu można ominąć etapy pobierania i przygotowywania próbek do analizy oraz uniknąć bolesnych biopsji. Metody spektroskopowe mogą być zastosowane do diagnozy stanów chorobowych nawet na bardzo wczesnych etapach rozwoju choroby i w monitorowaniu leczenia. W szczególności dobrze się do tego nadaje spektroskopia oscylacyjna, gdyż nawet bardzo złożone biomolekuły jak białka, cukry, tłuszcze czy kwasy nukleinowe dają charakterystyczne widma zawierające informacje o ich budowie chemicznej. Do metod oscylacyjnych należą spektroskopia w podczerwieni oraz spektroskopia Ramana [7]. W spektroskopii oscylacyjnej w podczerwieni (IR)



nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych  
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

absorpcji promieniowania towarzyszą zmiany energii oscylacyjnej cząsteczki. Skomplikowany ruch drgający cząsteczki wieloatomowej można opisać jako zespół drgań prostszych, nazywanych normalnymi. Podczas drgania normalnego drgają wszystkie zręby atomowe cząsteczki (zręb atomowy to atom bez elektronów walencyjnych), czynią to zgodnie w fazie i z jednakową częstością, lecz amplituda wychylenia jest niejednakowa dla różnych zrębów atomowych. Jeżeli podczas danego drgania normalnego zręby atomowe jakiejś grupy funkcyjnej wychylają się znacznie bardziej niż w pozostałej części cząsteczki, to takie drganie normalne jest charakterystyczne dla tej grupy funkcyjnej. Drgania charakterystyczne odpowiadają drganiom elementów struktury cząsteczek (oscylatorów), np. takich jak pierścienie aromatyczne, łańcuchy alifatyczne i grupy funkcyjne. Energia drgań normalnych, w tym charakterystycznych, jest skwantowana i każdemu takiemu drganiu odpowiada specyficzny układ oscylacyjnych poziomów energetycznych. W związku z tym cząsteczki absorbują fotony o ściśle określonych energiach  $h\nu$ , pasujących do różnicy energii  $\Delta E$  poziomów ich oscylatorów. W widmie IR przy częstościach  $\nu$  absorbowanych fotonów pojawiają się pasma charakterystyczne dla danych oscylatorów. W praktyce położenia pasm oscylacyjnych podaje się w liczbach falowych  $\bar{\nu}$

$$\bar{\nu} = \frac{\nu}{c} = \frac{1}{\lambda}$$

gdzie  $c$  jest prędkością światła w próżni, a  $\lambda$  długością fali. Ze względu na charakterystyczne położenia pasm widmo IR umożliwia ustalenie, jakie grupy funkcyjne występują w analizowanym materiale. W podczerwieni aktywne są te drgania, dla których następują zmiany elektrycznego momentu dipolowego. Wobec tego w widmach IR intensywne są pasma pochodzące od drgań grup polarnych np. OH, NH,  $>C=O$ . W widmie IR mogą się także pojawiać pasma od wielokwantowych przejść spektroskopowych (nadtony) oraz przejść złożonych (sumacyjnych i różnicowych) na różnych oscylatorach jednocześnie.

Spektroskopia Ramana wykorzystuje natomiast zjawisko rozproszenia promieniowania elektromagnetycznego związanego ze zmianą energii rozpraszanych fotonów. Źródłem promieniowania w spektroskopii Ramana są lasery pracujące przy długości fali z zakresu od ultrafioletu, poprzez zakres widzialny, aż do podczerwieni. Wspomniana zmiana energii

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych  
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

rozpraszanych fotonów zawiera informację o oscylacyjnych poziomach energetycznych badanej substancji. W spektroskopii Ramana otrzymuje się widma zawierające pasma oscylacyjne odpowiadające drganiom normalnym cząsteczek. Są one wykorzystywane w analizie chemicznej, podobnie jak widma oscylacyjne w podczerwieni. Jednakże o intensywności pasm ramanowskich decyduje zmiana polaryzowalności podczas drgania normalnego, a nie zmiana elektrycznego momentu dipolowego, jak dla pasm w podczerwieni. Tak więc w spektroskopii Ramana aktywne są te drgania, dla których następuje zmiana polaryzowalności wiązania, czyli w widmach ramanowskich intensywne są pasma drgań niepolarnych, homojądrowych ugrupowań np. C=C, N–N, S–S.

Z powyższego krótkiego omówienia wynika, że spektroskopie w podczerwieni i Ramana są metodami komplementarnymi. Ze względu na różne reguły wyboru mogą istnieć drgania aktywne w widmie IR, a nieaktywne w widmie Ramana i odwrotnie (reguła wykluczania). Taka sytuacja występuje dla cząsteczek mających środek symetrii. Najczęściej jednak można zarejestrować zarówno pasma ramanowskie, jak i pasma IR tych samych grup funkcyjnych. Różnią się one jednak, często znacznie, intensywnością. Natomiast położenia pasm w widmach zarejestrowanych tymi dwiema metodami spektroskopii oscylacyjnej są zasadniczo takie same. Zastosowanie zarówno spektroskopii w podczerwieni, jak i ramanowskiej, zależy w dużej mierze od czułości aparatury używanej do rejestracji widm. Dużym wyzwaniem jest obecnie takie zvalidowanie metod diagnostycznych spektroskopii oscylacyjnej, aby wyniki były niezależne od aparatury, na jakiej się je otrzymuje [8]. Warto również wspomnieć, że spektroskopia oscylacyjna znajduje zastosowanie nie tylko w medycynie, ale również w farmacji – służy m.in. do badania procesu uwalniania substancji leczniczej ze stałych postaci leków, w szczególności z nowych nośników substancji leczniczych oraz do badania penetracji tkanek przez uwolnione leki. Badania te są aktualnie wykonywane głównie *in vitro*, ale po zapewnieniu odpowiednich środków bezpieczeństwa mogą być wykonywane *in vivo* [9]. W zastosowaniach biologicznych i medycznych spektroskopia Ramana ma tę zaletę, że widma zawierające dużą ilość informacji możemy otrzymać z nienaruszonej tkanki [10,11], a więc bez ingerencji w jej strukturę. Wobec tego możliwa jest szczegółowa analiza chemiczna materiału biologicznego, mimo wysokiej jego złożoności. Inną korzystną właściwością spektroskopii Ramana jest czułość nawet na małe zmiany strukturalne. Dzięki temu możliwe są badania porównawcze między zdrową a chorobowo



zmienioną tkanką [11]. Istotną zaletą spektroskopii Ramana jest także mała intensywność pasm wody, która w podczerwieni bardzo utrudnia analizę materiału biologicznego. Spektroskopia Ramana może być użyteczną metodą w diagnostyce wielu chorób cywilizacyjnych współczesnego społeczeństwa. Proponuje się jej stosowanie w diagnostyce miażdżycy [12], raka piersi [13] i żołądka [14], czy też osteoporozy [15]. Przy użyciu spektroskopii Ramana wykonywano badania krwi, mierząc *ex vivo* zawartość kwasu mlekowego [16] lub *in vivo* poziom glukozy u osób chorych na cukrzycę typu drugiego [17]. W artykule dokonano przeglądu możliwości wykorzystania tej szybkiej i prostej w wykonaniu metody w badaniach diagnostycznych różnego rodzaju jednostek chorobowych.

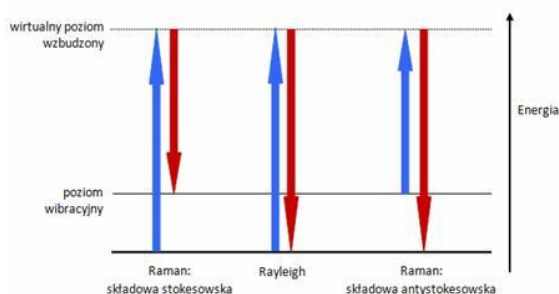
## 2. Spektroskopia Ramana

Zjawisko rozproszenia światła związanego ze zmianą częstości fotonu zostało po raz pierwszy zarejestrowane przez Ramana w 1928 roku, ale wykorzystanie spektroskopii Ramana w medycynie stało się możliwe dopiero w latach 80-tych ubiegłego wieku wraz z zastosowaniem w spektrometrach transformacji Fouriera. Efekt Ramana może być wytłumaczony zarówno przy użyciu falowego, jak i korpuskularnego przedstawienia promieniowania elektromagnetycznego [7]. W pierwszym przypadku stosuje się teorię Placzka [7], która wykorzystuje fizykę klasyczną. Teoria ta zakłada, że padająca fala elektromagnetyczna działa na cząstkę materii (zbiór małych cząsteczek, makrocząsteczkę) rozumianą jako zbiór ładunków elektrycznych. Pole elektryczne fali elektromagnetycznej polaryzuje ten rozkład ładunków, indukując w nim dipol elektryczny. Wielkość tego indukowanego dipola elektrycznego zależy od łatwości, z jaką ta cząstka się polaryzuje, czyli od parametru zwanego polaryzowalnością. Wspomniany indukowany dipol elektryczny oscyluje w takt zmian pola elektrycznego fali elektromagnetycznej oraz własnych oscylacji molekularnych. Oscylujący dipol elektryczny jest zawsze źródłem fal elektromagnetycznych, czymś w rodzaju minianteny, która w tym przypadku emituje falę rozproszoną. Fala elektromagnetyczna jest rozpraszana we wszystkich kierunkach i ma różne składowe. Składowa dominująca ma częstość taką samą, jak fala padająca i nosi nazwę składowej Rayleigha. Składowe posiadające częstości zmodyfikowane o częstości drgań własnych badanego układu noszą nazwę ramanowskich (Chandrasekhara Venkata Raman 1888-1970; fizyk hinduski; Nagroda Nobla w 1930 r.). Częstość fali rozproszonej może być podwyższona względem częstości fali padającej o częstość oscylacji własnych

układu – wtedy mamy do czynienia z tak zwaną składową antystokesowską. Natomiast, jeśli jest ona obniżona o częstość oscylacji własnych układu, to jest to składowa stokesowska. Pasma stokesowskie są silniejsze i one zwykle są analizowane w widmie ramanowskim. Z teorii Placzka wynika, że im większa jest zmiana polaryzowalności cząsteczki w trakcie drgania normalnego, tym silniejsze jest odpowiadające mu pasmo ramanowskie. Teoria Placzka przewiduje także, że oprócz wspomnianych składowych ramanowskich (stokesowskich i antystokesowskich) promieniowanie rozproszone zawiera składową Rayleigha, która ma niezmienną częstość w stosunku do fali padającej. Składowa Rayleigha jest ponad 3 rzędy wielkości silniejsza niż składowe ramanowskie. Efekt Ramana jest więc słaby i wymaga do detekcji bardzo czułej aparatury. Promieniowanie elektromagnetyczne możemy także traktować jako strumień fotonów. Jeśli więc kładziemy nacisk na aspekt korpuskularny promieniowania, to musimy rozważyć fotony docierające do cząstek analizowanej substancji (promieniowanie padające) i fotony wyemitowane przez te cząstki (promieniowanie rozproszone) [6,17]. Promieniowanie padające jest monochromatyczne i koherentne. Jego źródłem jest laser. W analizie teoretycznej rozproszenia fotonów na cząstkach materii stosuje się mechanikę kwantową. Zakłada się, że promieniowanie padające (Ryc. 1) wzbudza cząsteczki analizowanej substancji do pewnego wirtualnego poziomu energetycznego, z którego powracają emitując fotony promieniowania rozproszonego. Jeśli fotony rozproszone nie mają zmienionej częstości względem fotonów padających, to mamy do czynienia z rozproszeniem Rayleigha. W przeciwnym przypadku zachodzi rozproszenie ramanowskie. Efekt Ramana jest dość słaby, ponieważ ulega mu tylko co  $10^6 - 10^8$  kwant promieniowania. Na Ryc. 1 widzimy schemat energetyczny cząsteczki zawierający dyskretne poziomy energii. Najniższa (pogrubiona) linia symbolizuje podstawowy stan elektronowy i jednocześnie najniższy, to jest zerowy poziom oscylacyjny w tym stanie elektronowym (liczba kwantowa oscylacji równa 0), odpowiadający jednemu z drgań normalnych. Wyżej położona linia symbolizuje wyższy stan oscylacyjny, czyli pierwszy w tym podstawowym stanie elektronowym (liczba kwantowa oscylacji równa 1). Linia przerywana symbolizuje wzbudzony wirtualny poziom energetyczny cząsteczki. Jeśli cząsteczka przechodzi z zerowego poziomu oscylacyjnego do wzbudzonego poziomu wirtualnego i wraca na pierwszy poziom oscylacyjny, to emitowany (rozproszony) foton ma niższą energię od padającego i niższą częstość. Wtedy foton rozproszony odpowiada



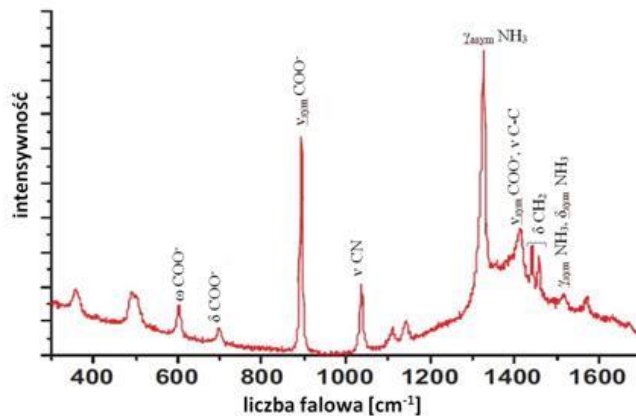
składowej stokesowskiej a obniżenie częstości odpowiada częstości danego drgania normalnego. Jeśli cząsteczka przechodzi z pierwszego poziomu oscylacyjnego do wzbudzonego poziomu wirtualnego i wraca na zerowy poziom oscylacyjny, to emitowany (rozproszony) foton ma wyższą energię od padającego i wyższą częstość. Wtedy foton rozproszony odpowiada składowej antystokesowskiej a podwyższenie częstości również odpowiada częstości rozważanego drgania normalnego. Pasma stokesowskie są znacznie silniejsze od antystokesowskich, gdyż większość cząsteczek w temperaturze pokojowej, w której rejestrujemy widma, znajduje się na zerowym poziomie oscylacyjnym. Dlatego zwykle rejestrujemy widmo Ramana rozproszenia stokesowskiego.



**Rys. 1.** Diagram energetyczny dla procesów rozproszenia Rayleigha i Ramana [1].

Widmo Ramana przedstawia zależność intensywności sygnału od częstości (liczby falowej), będącej różnicą między częstościami (liczbami falowymi) promieniowania padającego a rozproszonego (przesunięcie Ramana). Widmo składa się z pasm o położeniach uzależnionych od częstości drgań składników próbki. Przykładowe widmo Ramana przedstawiono na Ryc. 2. W zaprezentowanym widmie glicyny przypisano tylko główne, charakterystyczne pasma. Dwa spośród tych pasm: przy  $894$  i  $1327\text{ cm}^{-1}$  mogą być uważane za markery glicyny w bardziej złożonych widmach zawierających pasma wielu substancji [19]. Podobnie jak przykładowo wymieniona glicyna, każdy związek daje swoje charakterystyczne widmo ramanowskie będące „ślądem daktyloskopowym”, wykorzystywanym w analizie jakościowej. Dzięki powyższym właściwościom możliwe jest badanie tą metodą białek, polisacharydów, czy kwasów nukleinowych. Metodą spektroskopii Ramana możliwe jest również wykonanie analizy ilościowej opartej na zależności intensywności sygnałów od stężenia substancji w analizowanej próbce [18].

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

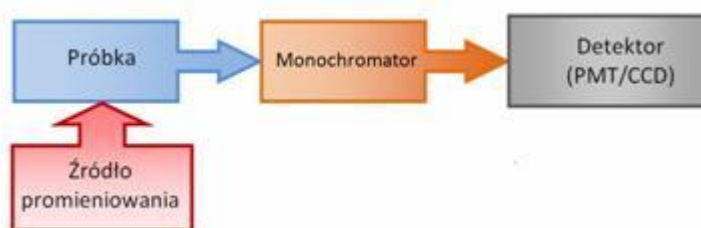


**Rys. 2.** Widmo Ramana glicyny (drgania:  $\nu$ -rozciągające,  $\delta$ -zginające,  $\gamma$  wahadłowe,  $\omega$ -wahlarzowe, *sym*-symetryczne, *asym*-asymetryczne) [1].

Główne elementy budowy spektrometru ramanowskiego pokazano na Ryc. 3 i 4. Ponieważ efekt Ramana jest stosunkowo słaby, konieczne jest stosowanie w spektrometrach intensywnego, monochromatycznego promieniowania, które nie wzbudzałoby przeszkadzającej fluorescencji. Niezbędna jest również czuła detekcja rozproszonych fotonów. Rozpowszechnienie spektroskopii ramanowskiej w naukach biologicznych stało się zatem możliwe dzięki użyciu laserów emitujących promieniowanie z zakresu bliskiej podczerwieni oraz dzięki wykorzystaniu transformacji Fouriera. Warto zwrócić uwagę na to, że promieniowanie laserowe z zakresu bliskiej podczerwieni lepiej wnika w głąb próbki biologicznej oraz wywołuje mniejszą fluorescencję [10,20]. Postęp techniczny umożliwił także budowę mikroskopów ramanowskich, które stają się coraz bardziej popularne w laboratoriach biologicznych i medycznych.

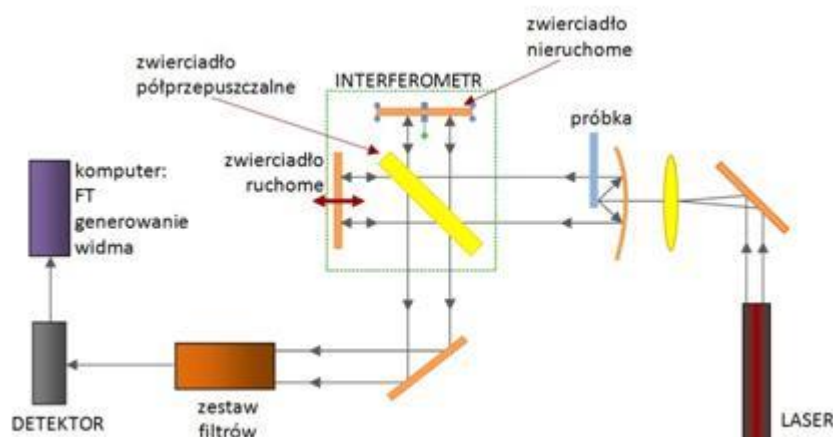
Do otrzymania widma ramanowskiego stosuje się dwie główne techniki: dyspersyjną oraz z transformacją Fouriera (FT). Różnią się one długością fali promieniowania padającego oraz sposobem detekcji (Ryc. 3 i 4) [21]. W obu przypadkach składowa rayleighowska jest eliminowana przez odpowiednie filtry. Spektrometry dyspersyjne (Ryc. 3) wykorzystują do wzbudzenia próbki promieniowanie laserowe z zakresu widzialnego, a do detekcji fotopowielacze (PMT) lub - obecnie częściej - detektory matrycowe CCD. Matryca CCD jest dwuwymiarowym układem światłoczułych detektorów półprzewodnikowych. Promieniowanie rozproszone jest analizowane przez klasyczny monochromator. Natomiast spektrometry fourierowskie (Ryc. 4) zaopatrzone są w lasery pracujące w zakresie bliskiej podczerwieni, w którym detektory CCD są nieprzydatne. Sygnał ramanowski próbki, stanowiący zbiór rozproszonych fal o częstościach

zmodyfikowanych przez oscylacje molekularne, zostaje przekształcony przez interferometr w sygnał interferencyjny. Ten z kolei po detekcji daje interferogram, który zawiera w sobie informację o całym widmie oscylacyjnym. Do rejestracji interferogramów stosowane są detektory germanowe (Ge) lub indowo-galowo-arsenowe (InGaAs). Rejestrację interferogramów powtarza się wielokrotnie, czyli wykonuje się odpowiednią liczbę skanów, dodając zdigitalizowane interferogramy w pamięci komputera. Stosunek sygnału do szumu rośnie z pierwiastkiem kwadratowym z liczby skanów, a więc akumulacja interferogramów zwiększa czułość metody. Na końcu komputer wykonuje transformację Fouriera, przekształcając interferogram w klasyczne widmo oscylacyjne.



Rys. 3. Schemat dyspersyjnego spektrometru Ramana [1].

Obie te techniki rejestracji widm ramanowskich mają swoje wady i zalety, a wybór jednej z nich powinien być dostosowany do właściwości analizowanej próbki [18]. Główne zalety techniki fourierowskiej to brak przeszkadzającej fluorescencji i duża dokładność określenia częstości pasm. Technika dyspersyjna charakteryzuje się większą czułością i rozdzielczością przestrzenną.



Rys. 4. Schemat spektrometru Ramana z transformacją Fouriera [1].

W spektroskopii Ramana stosuje się obecnie wiele nowych technik, które przede wszystkim zwiększają czułość tej metody. Rezonansowa spektroskopia Ramana (*Resonance Raman Spectroscopy, RRS*) jest techniką, w której częstość wiązki monochromatycznej lasera jest dostrojona do częstości przejścia elektronowego analizowanego związku, co prowadzi do selektywnego wzrostu intensywności pasm ramanowskich  $10^2 - 10^6$  razy w stosunku do klasycznej dyspersyjnej spektroskopii Ramana [11]. W badaniach stosuje się również powierzchniowo wzmocnioną spektroskopię Ramana (*Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS*), w której mierzy się rozproszenie ramanowskie cząsteczek zaadsorbowanych na powierzchni metalu lub metalicznego zolu (głównie srebra). Zjawisko wzmocnienia tłumaczy się dwoma różnymi mechanizmami: chemicznym i elektromagnetycznym. SERS zwiększa intensywność sygnału ramanowskiego  $10^3 - 10^7$  razy w stosunku do sygnału otrzymywanego w klasycznym eksperymencie ramanowskim [11,18,20]. Wykorzystując konfokalną mikroskopię ramanowską (*Confocal Raman Microscopy*) możliwe jest wykonanie widm z bardzo małego, precyzyjnie wybranego obszaru próbki (ok.  $1 \mu\text{m}^2$ ). Dzięki możliwościom jakie daje mikroskop konfokalny uzyskuje się przekroje optyczne badanych materiałów, obrazy trójwymiarowe oraz wizualizację komórek i fragmentów tkanek [11,21]. Ciekawą, stosowaną m.in. w obrazowaniu techniką jest wymuszona (nieliniowa) antystokesowska spektroskopia Ramana (*Coherent Antistokes Raman Spectroscopy, CARS*). Technika ta bazuje na wymuszonym rozproszeniu ramanowskim, gdzie do wzbudzenia próbki wykorzystuje się dwie wiązki promieniowania. Wymuszone antystokesowskie rozproszenie Ramana jest kilka rzędów wielkości silniejsze niż rozproszenie spontaniczne. Mimo to, nie jest jeszcze wystarczająco czułe do wszystkich zastosowań biologicznych i medycznych. Wobec tego CARS wykorzystywane jest głównie do analizy substancji, które występują w dużej ilości w próbkach biologicznych, w szczególności lipidów [22]. Ponadto, testowano zastosowanie tej metody w diagnostyce medycznej *in vivo* chorób skóry lub podczas zabiegów medycznych [23].

### 3. Zastosowanie spektroskopii Ramana

#### 3.1. Diagnostyka miażdżycy

Miażdżycą jest przewlekłą chorobą charakteryzującą się zmianami zwyrodnieniowymi – powstającymi w błonie środkowej i wewnętrznej tętnic – prowadzącymi do zwężenia światła tętnic oraz zmniejszenia ich elastyczności. Zwężenie światła tętnic jest wynikiem

odkładania się blaszek cholesterolu na wewnętrznej stronie naczyń, natomiast spadek elastyczności następuje w wyniku odkładania wapnia. Za przyczyny choroby uważane są: siedzący tryb życia, dieta bogata w cholesterol oraz dziedziczna skłonność do rozwoju miażdżycy. Miażdżycy jest chorobą bardzo niebezpieczną, ponieważ w wyniku rozrostu blaszek miażdżycowych lub ich pęknięcia może dojść do zatorów, a nawet zamknięcia światła tętnicy, co prowadzi do poważnych konsekwencji zdrowotnych. Z powodu miażdżycy i związanych z nią komplikacji umiera niemal 20% mieszkańców krajów wysokorozwiniętych [24].

Obecne techniki diagnozowania i obrazowania miażdżycy, jak m.in. angiografia czy obrazowanie metodą magnetycznego rezonansu jądrowego (MRI), umożliwiają jedynie ocenę anatomii blaszki miażdżycowej. Angiografia, uważana za tzw. „złoty standard” w diagnostyce chorób naczyń wieńcowych, pozwala ocenić stopień zwężenia naczyń, nie dostarcza jednak chemicznych i morfologicznych informacji o blaszkach miażdżycowych. Natomiast przeprowadzone badania pokazują, że to skład chemiczny i morfologia, bardziej niż anatomia (stopień zwężenia tętnic), określają niestabilność blaszek miażdżycowych i pozwalają przewidzieć rozwój choroby oraz ryzyko zagrażających życiu komplikacji, takich jak: zakrzepica tętnic wieńcowych czy ostre krwawienia jako następstwo pęknięcia płytki miażdżycowej [10,25]. Spektroskopia Ramana jest obiecującą metodą diagnostyczną obrazowania tętnic wieńcowych, ponieważ oba osadzające się w świetle naczynia krwionośnego składniki – cholesterol i związki wapnia – dają różne widma Ramana. Analizując widmo ramanowskie naczyń tętnicznych możliwe jest więc określenie czy naczynia są zdrowe, czy posiadają pierwsze, cholesterolowe blaszki miażdżycowe, czy też jest to miażdżycy zaawansowana, gdzie blaszki są już zwapniałe.

Spektroskopia Ramana jest metodą o potencjalnych możliwościach wykorzystania w badaniach diagnostycznych miażdżycy naczyń wieńcowych przeprowadzanych *in vivo*. Przemawiają za tym przede wszystkim możliwości szybkiego zbierania danych i niemal natychmiastowe otrzymanie wyniku. W kilku pracach zaprezentowano, że na podstawie matematycznego modelu porównywania między naczyniem zdrowym a miażdżycowo zmienionym, można z widm Ramana uzyskać ilościową informację o chemicznym składzie komponentów powodujących zwężenie tętnic [12,24]. Technika ta daje nie tylko możliwość sklasyfikowania zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych, dostarcza również informacji o cechach morfologicznych, takich jak obecność komórek

piankowatych, zmian martwiczych i kryształów cholesterolu, które mogą być użyte do oceny niestabilności blaszek, przewidywania postępu choroby i możliwości wystąpienia groźnych komplikacji (np. ostrego zespołu wieńcowego) [25]. Jedne z pierwszych widm naczyń tętnicznych metodą spektroskopii Ramana wykonali Rava i in. [26] przypisując charakterystyczne pasma elementom strukturalnym budującym naczynia. De Paula i in. [24] przypisali w widmie ramanowskim zdrowej tętnicy dominujące pasma przy 1660, 1452 i 1260  $\text{cm}^{-1}$  białkom strukturalnym: kolagenowi i elastynie. W przypadku widma tętnicy z blaszkami miażdżycowymi występują pasma 1442 i 1665  $\text{cm}^{-1}$  cholesterolu i jego estrów, głównych budulców blaszek miażdżycowych. Widmo Ramana zwapniałych blaszek miażdżycowych wykazuje znaczne różnice w stosunku do dwóch poprzednich – główne pasma: 962 i 1073  $\text{cm}^{-1}$  pochodzą od związków wapnia [24]. Przytoczone przykłady pokazują, że spektroskopia Ramana jest obiecującą metodą w szybkiej, bezbolesnej i nieinwazyjnej diagnostyce miażdżycy *in vivo*.

### 3.2. Diagnostyka osteoporozy

Od 2005 roku [27–30] pojawiają się doniesienia o możliwości wykorzystania spektroskopii Ramana w diagnostyce osteoporozy. W standardowej procedurze diagnostyki osteoporozy materiał używany do badań pochodzi z kości (badanie gęstości kości), natomiast Towler i in. [27–30] wykorzystali do badań nietypowy materiał – płytkę paznokci. Prace grupy Towlera wykazały, że ilość wiązań disiarczkowych w paznokciach osób chorych na osteoporozę jest mniejsza niż w paznokciach osób zdrowych. Wyniki takie nasuwają przypuszczenie, że istnieje korelacja między mechanicznymi i chemicznymi właściwościami kości i płytki paznokci [31]. Sugeruje to, że zmiany w macierzy organicznej kości, a więc w jej głównym białku budulcowym kolagenie, mają swoje odbicie w strukturze keratyny – pokrewnego białka będącego składnikiem paznokci. Kolagen i keratyna, pomimo że są różnymi białkami, mają jedną wspólną cechę: dużą zawartość reszt cysteinowych i w związku z tym dużą ilość wiązań disiarczkowych warunkujących wytrzymałość tkanek. Z badań Dittmara i in. [32] wiadomo natomiast, że ilość siarki w płytce paznokci pozostaje stała niezależnie od wieku. Zatem liczba „miejsc”, w których mogą utworzyć się wiązania S–S jest stała, ale u osoby chorej na osteoporozę liczba tych wiązań maleje w porównaniu z osobą zdrową. Na widmie ramanowskim paznokci osób chorych następuje więc obniżenie intensywności pasma,

charakterystycznego dla drgań rozciągających wiązania S–S przy ok.  $510\text{ cm}^{-1}$  w stosunku do wartości otrzymanej dla osób zdrowych.

### 3.3. Diagnostyka i monitorowanie leczenia chorób skóry

Możliwe jest również wykorzystanie spektroskopii Ramana w diagnostyce i analizie biochemicznej niektórych chorób skóry.

Spektroskopię Ramana w połączeniu ze spektroskopią fluorescencyjną zastosowano w diagnostyce *in vivo* bielactwa nabytego. Bielactwo nabyte jest przewlekłą chorobą polegającą na depigmentacji fragmentów skóry na skutek wymierania komórek barwnikowych skóry – melanocytów. Dokładny mechanizm powstawania plam bielactwych nie jest znany. Teorie powstawania tych zmian koncentrują się na trzech mechanizmach: autoimmunologicznym, autocytotoksycznym i związanym z układem nerwowym (neurogeny). Schallreuter i współpracownicy [33] donoszą, że wykorzystując spektroskopię Ramana z transformacją Fouriera zidentyfikowali obecność nadtlenu wodoru ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) w stężeniu milimolowym w skórze osoby chorej (zarówno w obszarze objętym pigmentacją jak i poza nim). Dodatkowo wykorzystując spektroskopię fluorescencyjną wykryli spowodowane przez  $\text{H}_2\text{O}_2$  utlenianie reszt tryptofanowych w obszarze depigmentacji (co prowadzi do zniszczenia komórek melanocytów). Otrzymane wyniki stanowią potwierdzenie dla teorii autocytotoksycznej (według której zniszczenie melanocytów powoduje jakiś czynnik obecny w tych komórkach – w tym przypadku  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) i wskazują efektywną metodę diagnostyki bielactwa.

Spektroskopię Ramana w połączeniu z mikroskopem konfokalnym oraz spektroskopią w podczerwieni wykorzystano do scharakteryzowania łuszczycy *in vitro*. Jest to przewlekła choroba skóry z tendencją do samoistnego ustępowania objawów i ich nawrotów. Jej charakterystyczną cechą jest występowanie łuszczących się wykwitów. Bernard i in. [34] badali warstwę rogową skóry odpowiedzialną za przepuszczalność naskórka. W przypadku pacjentów cierpiących na łuszczycę stwierdzono zwiększoną przepuszczalność i spadek grubości warstwy rogowej naskórka w porównaniu do osób zdrowych. Ta korelacja jest istotna w lepszym zrozumieniu patogenezy choroby, a ponadto może znaleźć zastosowanie w monitorowaniu klinicznego leczenia łuszczycy i przewidywania nawrotu objawów choroby [34].

Spektroskopia Ramana umożliwiła również badanie wielu składników skóry człowieka: fosfodiesteraz, DNA czy keratyny – rozszerzając tym samym możliwości dalszego jej wykorzystania.

### 3.4. Diagnostyka chorób nowotworowych

Choroba nowotworowa jest jedną z najczęstszych chorób współczesnego społeczeństwa, atakującą różne narządy. Jej najniebezpieczniejszą postacią jest nowotwór złośliwy charakteryzujący się szybkim wzrostem i zdolnością rozprzestrzeniania się (tworzenia przerzutów). Przerzuty powstają wtedy, gdy komórki nowotworowe, wędrując z krwią, dają początek nowemu ognisku nowotworowemu nawet w odległych tkankach. Leczenie nowotworów jest problematyczne ze względu na częsty brak dostatecznych informacji o rodzaju zmian nowotworowych i ich szybkim rozwoju po wyjściu z okresu utajenia. Stale prowadzone są badania nad różnego rodzaju terapiami, m.in. chemioterapią – polegającą na podawaniu leków toksycznych dla komórek nowotworowych, tzw. cytostatyków. Wraz ze wzrastającą ilością nowosyntetyzowanych leków o potencjalnym działaniu antynowotworowym niezbędne jest opracowanie metod wstępnej, szybkiej i rzetelnej oceny ich działania. Badanie takie można prowadzić zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Jednak ze względu na większą prostotę, mniejszą czasochłonność i niższy koszt, efektywniej prowadzić je *in vitro* [35]. W tym kontekście bardzo przydatne są takie metody spektroskopowe jak: spektroskopia Ramana (w tym SERS), NMR, IR, UV/Vis, fluorescencyjna czy krystalografia rentgenowska. Bardzo trudno jest diagnozować różnego rodzaju nowotwory. Rak jest skutkiem mutacji w genach kodujących białka. Początkowy okres choroby jest długi i utajony, a to ogranicza możliwości diagnostyczne, wskutek czego pacjent dowiaduje się o chorobie z reguły, gdy jest ona już w poważnym stadium. W wyniku postępu procesu nowotworowego zmienia się morfologia i biochemia tkanki. Biochemiczne markery komórek rakowych, takie jak: specyficzne białka, enzymy, hormony, mogą być analizowane za pomocą spektroskopii Ramana poprzez porównanie komórek zdrowej i potencjalnie chorej tkanki [36]. „Złoty standard” w badaniu patologicznych zmian, to obecnie badanie histopatologiczne tkanek. Jednak pobranie materiału biopsji i jego zbadanie jest czasochłonne, ponadto istnieje ryzyko pobrania niereprezentatywnej próbki. Stąd zainteresowanie metodami spektroskopowymi – szybkimi, nieinwazyjnymi, wykonywanymi *in situ*. Widmo otrzymane przy ich użyciu z jakiegokolwiek tkanki zawiera informacje histologiczne i biochemiczne [2]. Spektroskopia



Ramana, jako metoda diagnostyki raka, stała się przedmiotem zainteresowania wielu grup naukowców. Przeprowadzono szereg badań pod kątem wykorzystania tej metody w diagnostyce nowotworów m.in. piersi [13,37–39], gardła [40], płuc [3,36], skóry [41], jelita grubego [42], nerek [43], szyjki macicy [44] i wielu innych. Niemal w każdym przypadku otrzymane wyniki są bardzo obiecujące, potwierdzają duże możliwości, jakie spektroskopia Ramana daje w diagnostyce chorób nowotworowych *in vitro*, ale co ważniejsze również *in vivo*. W ramach tego opracowania przytoczono tylko kilka przykładów przeprowadzonych w tym zakresie badań. Huang i in. [36] w swoich badaniach wykorzystali spektroskopię Ramana z zakresu bliskiej podczerwieni (NIR) do diagnostyki raka płuc. Skoncentrowali się na poszukiwaniu techniki służącej odróżnieniu tkanki zdrowej od nowotworowo zmienionej. Badania przeprowadzone były *in vitro*. Używając spektrometru dyspersyjnego NIR-Raman wyposażonego w laser 785 nm już po 5 sekundach otrzymano dobrej jakości widma. W zarejestrowanych widmach występowały istotne różnice. Dla tkanki nowotworowo zmienionej mniejszą intensywność miały pasma charakterystyczne karotenoidów, a większą kwasów nukleinowych, w porównaniu z tkanką zdrową. Również kształty pasm otrzymanych dla tkanki zdrowej i objętej procesem nowotworowym były różne – głównie dla drgań wiązań białek i lipidów oraz drgań rozciągających grupy CH kwasów nukleinowych, czyli w zakresach 1000-1100, 1200-1400 i 1500-1700  $\text{cm}^{-1}$ . Dobre rozróżnienie między tkanką zdrową a nowotworowo zmienioną stanowi różnica intensywności pasm przy 1445 i 1655  $\text{cm}^{-1}$ . Otrzymane wyniki wskazują na możliwość wykorzystania spektroskopii Ramana z zakresu bliskiej podczerwieni w diagnostyce raka płuc. Lin i in. [39] wykorzystali spektroskopię Ramana w badaniach nowotworu gardła. Wykonano analizę 94 próbek: 22 zdrowej tkanki, 72 pochodzących z guzów nowotworowych. W widmach tkanek zdrowych i nowotworowo zmienionych widać znaczne różnice w intensywności pasm przy 2845 i 2880  $\text{cm}^{-1}$  (drgania rozciągające  $\text{CH}_2$  lipidów), które są intensywniejsze dla chorej tkanki oraz pasm 2920 (drgania rozciągające  $\text{CH}_2$  lipidów) i 2940  $\text{cm}^{-1}$  (drgania rozciągające  $\text{CH}_3$  białek) intensywniejszych dla zdrowej tkanki. Otrzymane wyniki dowiodły dużej wrażliwości (ok. 90 %) i specyficzności (ok. 91 %) spektroskopii Ramana jako metody diagnostycznej raka gardła. Abramczyk i in. [13,37–39] w swojej pracy skoncentrowali się na diagnostyce raka piersi. Wykazano, że spektroskopia Ramana jest bardzo dobrą metodą służącą rozróżnieniu tkanek piersi zdrowej i objętej nowotworem łagodnym lub złośliwym. Tylko w widmie

zdrowej tkanki widać pasma drgań rozciągających C-C ( $1150\text{ cm}^{-1}$ ), C=C ( $1520\text{ cm}^{-1}$ ) karotenoidów oraz symetrycznych i asymetrycznych drgań rozciągających C-H lipidów ( $2850\text{-}2940\text{ cm}^{-1}$ ), a brak ich w widmach tkanek nowotworowych. Ponadto fluorescencja tkanki objętej nowotworem złośliwym jest znacznie wyższa niż fluorescencja tkanki zdrowej czy z nowotworem łagodnym [13,38]. Otrzymane rezultaty wskazują, że w spektroskopii Ramana zestawienie intensywności pasm lipidów i karotenoidów oraz fluorescencji próbki, stanowi kluczowy element w diagnostyce nowotworu złośliwego piersi tą metodą [38]. Grupa Abramczyk przeprowadziła również obrazowanie ramanowskie tkanek piersi zmienionych nowotworowo. Stwierdzono, że skład kwasów tłuszczowych w nowotworowo zmienionej tkance piersi jest inny w porównaniu do otaczających zdrowych tkanek. W nowotworowej tkance piersi w przewodzie występują produkty metabolizmu kwasu arachidonowego, podczas gdy w tkance zdrowej dominują jednonienasycone pochodne kwasu oleinowego. Sugeruje to, że niektóre produkty metabolizmu kwasów tłuszczowych mogą brać udział w procesie karcynogenezy [37,39]. Pokazano, że spektroskopia Ramana jest dobrą metodą obrazowania bez potrzeby stosowania kontrastu, umożliwiającą rozróżnienie tkanki nowotworowej od zdrowej [40]. Gniadecka i in. [41] podjęli się diagnostyki najczęściej występującej postaci raka skóry, raka podstawnkomórkowego skóry (*basal cell carcinoma, BCC*), wykorzystując spektroskopie Ramana z zakresu bliskiej podczerwieni. Wykonano widma ramanowskie próbek skóry zdrowej i objętej chorobą, dla których wcześniej przeprowadzono badania histopatologiczne. Wyniki badań spektroskopowych wskazują na zmiany w strukturze białek i lipidów w próbkach skóry objętej procesem nowotworowym. Różnice spektralne między widmami zdrowej i chorej tkanki obserwowane są na pasmach charakterystycznych białek: amid I ( $1640\text{-}1680\text{ cm}^{-1}$ ), amid III ( $1220\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$ ) i  $\nu_{\text{C-C}}$  ( $928\text{-}940\text{ cm}^{-1}$ ) oraz lipidów:  $\delta(\text{CH}_2)$  – ( $1420\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$ ) i skręcających  $-(\text{CH}_2)_n-$  (ok.  $1300\text{ cm}^{-1}$ ). Ponadto między tkanką chorą a zdrową występuje również różnica w obszarze  $840\text{-}860\text{ cm}^{-1}$ , co odpowiada różnicom w strukturze polisacharydów. Podsumowując – analizując w widmie ramanowskim pola powierzchni pasm w zakresach:  $1230\text{-}1360$ ,  $900\text{-}990$  i  $830\text{-}900\text{ cm}^{-1}$  możliwe jest pełne rozróżnienie między skórą zdrową a chorą na raka podstawnkomórkowego (Tabela 1). Zaprezentowane wyniki pozwalają postrzegać spektroskopię Ramana jako obiecujące narzędzie również w diagnostyce tej jednostki chorobowej.

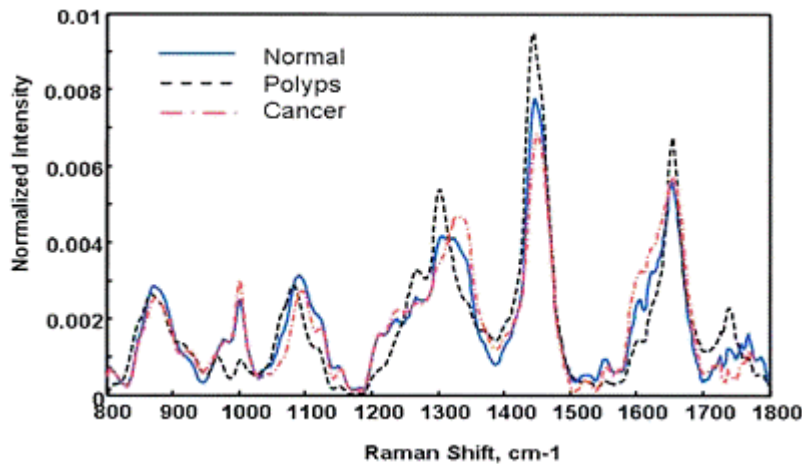
**Tabela 1.** Porównanie pól powierzchni pasm w widmie ramanowskim w odpowiednich zakresach dla skóry zdrowej i chorej na raka podstawnocomórkowego [41].

Pola powierzchni pasm w widmie w danym zakresie [ $\text{cm}^{-1}$ ]	Skóra zdrowa	Rak podstawnocomórkowy skóry
(1290–1360)/(1230–1290)	0,29 (0,22–0,36)	1,37 (1,21–1,54)
900–990	0,20 (0,17–0,22)	0,10 (0,08–0,12)
830–900	1,16 (0,14–0,18)	0,07 (0,04–0,10)

Rak szyjki macicy jest jedną z najczęstszych chorób nowotworowych wśród kobiet w krajach rozwiniętych i rozwijających się. Wykorzystaniem spektroskopii Ramana do badania tego nowotworu zajęli się Krishna i in. [44]. Widmo zdrowej tkanki nabłonkowej szyjki macicy charakteryzuje się silnym i szerokim pasmem amid I (ok.  $1655 \text{ cm}^{-1}$ ), szerokim pasmem amid III (ok.  $1250\text{--}1384 \text{ cm}^{-1}$ ) oraz ostrymi pasmami przy  $853$  i  $938 \text{ cm}^{-1}$ , które prawdopodobnie pochodzą od drgań białek strukturalnych takich jak kolagen. Charakterystycznymi cechami widma nowotworowo zmienionej tkanki szyjki macicy w stosunku do widma tkanki zdrowej są: słabsze i bardziej ostre pasmo amid I, przesunięcie pasma pochodzącego od drgań grupy  $\text{CH}_2$  oraz ostrzejsze pasmo amid III. Obserwowane zmiany wiążą się prawdopodobnie ze zwiększeniem ilości kwasu deoksyrybonukleinowego, lipidów i niekolagenowych białek w komórkach szyjki macicy objętych procesem nowotworowym. Dla przeprowadzonych badań wykonana została również analiza głównych składowych (jedna ze statystycznych metod analizy czynnikowej), co potwierdziło, że spektroskopia Ramana jest dobrą metodą rozróżnienia zdrowej i nowotworowo zmienionej tkanki szyjki macicy [43].

Rak jelita grubego jest jednym z najcięższych nowotworów, powodującym w Polsce śmierć prawie 80% chorujących na niego pacjentów. Badaniem przesiewowym w kierunku nowotworu jelita grubego jest badanie na krew utajoną w kale. W przypadku pozytywnego wyniku badania niezbędne jest kolejne – kolonoskopia, dla pacjentów bardzo stresujące i nieprzyjemne badanie, obarczone dodatkowo ryzykiem pobrania niereprezentatywnej próbki. Optyczna biopsja z wykorzystaniem spektroskopii Ramana wydaje się więc korzystną alternatywą. Widjaja i in. [42] przy wykorzystaniu spektroskopii Ramana z zakresu bliskiej podczerwieni w połączeniu z odpowiednim programem statystycznym, sklasyfikowali różne rodzaje próbek tkanek jelita grubego: zdrowych, z polipami i z gruczolakorakiem. Zarejestrowano widma Ramana w zakresie  $1800\text{--}800 \text{ cm}^{-1}$ , a główne

analizowane pasma występują ok. 875, 1002, 1090, 1267, 1320, 1445, 1605, 1655 i 1740  $\text{cm}^{-1}$ . Zarejestrowano diagnostyczne różnice w intensywności, położeniu i kształcie pasm między zdrowymi a chorymi tkankami (Ryc. 5). Różnice te są skutkiem zmian w składzie biochemicznym i strukturze tkanek, które zachodzą wraz z postępem procesu patologicznego.



**Rys. 5.** Widma Ramana tkanek jelita grubego: zdrowej (*Normal*), z polipami (*Polyps*), z gruczolakorakiem (*Cancer*) [41].

Spektroskopia Ramana wydaje się więc stanowić obiecujące, alternatywne narzędzie w diagnostyce raka, umożliwia odróżnienie zdrowych tkanek od zmienionych nowotworowo. Ponadto, w niektórych przypadkach, umożliwia różnicowanie między postacią łagodną a złośliwą nowotworu [38].

### 3.5. Inne zastosowania

Za pomocą spektroskopii Ramana można badać również białą i szarą istotę mózgu. Tą metodą uzyskuje się istotne informacje w diagnostyce takich chorób, jak choroba Parkinsona czy Alzheimer, poprzez porównanie między tkanką zdrową i objętą chorobą [45]. Wykonując badania *post mortem* tkanki mózgowej osoby cierpiącej na Alzheimer, stwierdzono obecność sygnału przy  $1628 \text{ cm}^{-1}$  pochodzącego od białka  $\beta$ -amylazy, podejrzanego o wywołanie choroby Alzheimer [46]. Spektroskopia Ramana może być stosowana również w diagnostyce kamicy nerkowej. Pozwala na wykrycie kamieni zarówno typu szczawianowego, jak i powstałych w wyniku redukcji cysteiny do cystyny. Dla tych drugich otrzymujemy widma z sygnałami charakterystycznymi dla cystyny:  $498 \text{ cm}^{-1}$  pochodzącym od drgań wiązań S-S i  $677 \text{ cm}^{-1}$  od drgań rozciągających wiązań C-S [47]. Analiza ta dostarcza szybkich i rzetelnych informacji o rodzaju powstałych kamieni.

#### 4. Podsumowanie

Spektroskopia Ramana staje się uznaną i szeroko wykorzystywaną metodą analizy biochemicznej tkanek i diagnostyki chorób. Techniki: spektroskopia Ramana z transformacją Fouriera oraz powierzchniowo wzmocniona spektroskopia Ramana, umożliwiły techniczny rozwój metody i otworzyły nowe pola jej wykorzystania, przewyższając takie problemy, jak fluorescencja próbek czy niska czułość metody. Widmo ramanowskie dostarcza bogatej informacji o chemicznym składzie próbek biologicznych, pozwala na identyfikację takich makromolekuł, jak kwasy nukleinowe, białka czy lipidy na podstawie ich charakterystycznych pasm. Na uwagę zasługuje fakt, że wiele prac powstaje we współpracy naukowców ze środowiskiem lekarskim. Kilka grup badaczy podjęło próby wykorzystania spektroskopii Ramana w diagnostyce *in vivo* [32]. Otrzymane wyniki są obiecujące, niemniej jednak wymagają jeszcze szeroko zakrojonych badań. Niezaprzeczalne jest jednak to, że wdrożenie spektroskopii Ramana jako metody diagnostycznej przyspieszyłoby badania, a co za tym idzie umożliwiło zbadanie większej liczby pacjentów w tym samym czasie, obniżyłoby koszty, a w przypadku niektórych chorób zwiększyło jakość życia pacjenta poprzez uniknięcie bolesnych i nieprzyjemnych badań.

#### 5. Literatura

- [1.] Nykiel P., Biul. Wydz. Farm. WUM, 2013, 4, 27-36; <http://biuletynfarmacji.wum.edu.pl>
- [2.] Swinson B., Jerjes W., El-Maaytah M., Norris P., Hopper, Oral Oncol., 2006, 42, 221-228.
- [3.] Zeng H., AcWilliams A., Lam S., Photodiagn. Photodyn.Ther., 2004, 1, 111-122.
- [4.] Pons M., Le Bonté S., Potier O., J. Biotechnol., 2004, 113, 211-230.
- [5.] Rollins A.M., Sivak M.V., Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol., 2001, 15, 227-247.
- [6.] Zonios G., Silveira Jr. L., van Dam J., Crawford J.M., Cothren R.M., Arendt J.T., Manoharan R., Feld M.S., Gastrointest. Endosc., 1996, 43, 4: 307.
- [7.] Kęcki Z., Podstawy spektroskopii molekularnej, PWN, Warszawa 1992.
- [8.] Shaw R.A., Mantsch H.H., J. Mol. Struct., 1999, 480-481, 1-13.
- [9.] Wartewig S., Neubert R.R.H., Adv. Drug Deliv. Rev., 2005, 57, 1144-1170.
- [10.] Moreira L.M., Silveira Jr. L., Santos F.V., Lyon J.P., Rocha R., Zangaro R.A., Villaverde A.B., Pacheco M.T.T., Spectroscopy, 2008, 22, 1-19.
- [11.] Baena J.R., Lendl B., Curr. Opin. Chem. Biol., 2004, 8, 534-539.
- [12.] Silveira Jr. L., Sathaiiah S., Zângaro R.A., Pacheco M.T.T., Chavantes M.C., Pasqualucci C.A.G., Lasers Surg. Med., 2002, 30, 290-297.
- [13.] Brożek-Pluska B., Placek I., Kurczewski K., Morawiec Z., Tazbir M., Abramczyk H., J. Mol. Liq., 2008, 141, 145-148.
- [14.] Kim K.O., Park J.-J., Yeon J.E., Kim J.S., Byun K.S., Bak Y.-T., Oh S.N., Choi D.W., Han W.S., Park S.C., Chung H., Gastrointest. Endosc., 2007, 65, 5.
- [15.] Moran P., Towler M.R., Chowdhury S., Saunders J., German M.J., Lawson N.S., Pollock H.M., Pillay I., Lyons D., J. Mater. Sci.: Mater. Med., 2007, 18, 969-974.

*nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych*  
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

- [16.] Pilotto S., Pacheco M.T.T., Silveira Jr L., Balbin Villaverde A., Zângaro R.A., *Laser. Med. Sci.*, 2001, 16, 2-9.
- [17.] Chaiken J., Finney W., Knudson P.E., Weinstock R.S., Khan M., Bussjager R.J., Hagrman D., Hagrman P., Zhao Y., Peterson C.M., Peterson K., *J. Biomed. Opt.*, 2005, 10(3), 031111.
- [18.] Smith E., Dent G., *Modern Raman Spectroscopy - A Practical Approach*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester 2005.
- [19.] Zhu G., Zhu X., Fan Q., Wan X., *Spectrochim Acta A*, 2011, 78, 1187-1195.
- [20.] Tu Q., Chang C., *Nanomed.-Nanotechnol.*, 2012, 8, 545-558.
- [21.] Das R.S., Agrawal Y.K., *Vib. Spectrosc.*, 2011, 57, 163-176.
- [22.] Zhang Y., Hong H., Cai W., *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 2010, 11(6), 654-661.
- [23.] Downes A., Elfick A., *Sensor (Basel.)*, 2010, 10, 1871-1889.
- [24.] de Paula Jr. A.R., Sathaiiah S., *Med. Eng. Phys.*, 2005, 27, 237-244.
- [25.] Buschman H.P., Motz J.T., Deinum G., Römer T.J., Fitzmaurice M., Kramer J.R., van der Laarsw A., Brusckie A.V., Feld M.S., *Cardiovasc. Pathol.*, 2001, 10, 59-68.
- [26.] Rava R.P., Baraga J.J., Feld M.S., *Spectrochim. Acta Part A*, 1991, 47, 509-512.
- [27.] Pillay I., Lyons D., German M.J., Lawson N.S., Pollock H.M., Saunders J., Chowdhury S., Moran P., Towler M.R., *J. Womens Health*, 2005, 14(4), 339-344.
- [28.] Moran P., Towler M.R., Chowdhury S., Saunders J., German M.J., Lawson N.S., Pollock H.M., Pillay I., Lyons D., *J. Mater. Sci.-Mater. M.*, 2007, 18, 969-974.
- [29.] Towler M.R., Wren A., Rushe N., Saunders J., Cummins N.M., Jakeman P.M., *J. Mater. Sci.-Mater. M.*, 2007, 18, 759-763.
- [30.] Cummins N.M., Day J.C.C., Wren A., Carroll P., Murphy N., Jakeman P.M., Towler M.R., *Spectroscopy*, 2010, 42, 517-524.
- [31.] Pandey G., Nakamura T., Singh R. P., *Investigation into the Correlation Between Viscoelastic Properties of Fingernails and Osteoporosis; Processings of the Xth International Congress and Exposition, June 2-5, 2008 Orlando, Florida USA.*
- [32.] Dittmar M., Dindorf W., Banerjee A., *Gerontology*, 2008, 54, 100-105.
- [33.] Schallreuter K.U., Krüger Ch., Rokos H., Hasse S., Zothner C., Panske A., *Arch. Dermatol. Res.*, 2007, 299, 225-230.
- [34.] Bernard G., Auger M., Soucy J., Pouliot R., *Biochim. Biophys. Acta*, 2007, 1770, 1317-1323.
- [35.] Ye Y., Hu J., He L., Zeng Y., *Vib. Spectrosc.*, 1999, 20, 1-4.
- [36.] Huang Z., McWilliams A., Lam S., Lui H., Zeng H., *Int. J. Cancer*, 2003, 107, 1047-1052.
- [37.] Abramczyk H., Brozek-Pluska B., Surmacki J., Jablonska-Gajewicz J., Kordek R., *Prog. Biophys. Mol. Bio.*, 2012, 108, 74-81.
- [38.] Abramczyk H., Surmacki J., Brozek-Pluska B., Morawiec Z., Tazbir M., *J. Mol. Struct.*, 2009, 924-926, 175-182.
- [39.] Abramczyk H., Brozek-Pluska B., Surmacki J., Jablonska J., Kordek R., *J. Mol. Liq.*, 2011, 164, 123-131.
- [40.] Lin K., Lau Pang Cheng D., Huang Z., *Biosens. Bioelectron.*, 2012, 35, 213-217.
- [41.] Gniadecka M., Wulf H.C., Nymark Mortensen N., Faurskov Nielsen O., Christensen D.H., *J. Raman Spectrosc.*, 1997, 28, 125-129.
- [42.] Widjaja E., Zheng W., Huang Z., *Int. J. Oncol.*, 2008, 32, 653-662.
- [43.] Bensalah K., Fleureau J., Rolland D., Lavastre O., Rioux-Leclercq N., Guille F., Patard J.-J., Senhadji L., de Crevoisier R., *Eur. Urol.*, 2010, 58, 602-608.
- [44.] Murali Krishna C., Prathima N.B., Malini R., Vadhiraja B.M., Bhatt R.A., Fernandes D.J., Kushtagi P., Vidyasagar M.S., Kartha V.B.; *Vib. Spectrosc.*, 2006, 41, 136-141.
- [45.] Ong C.W., Shen Z.X., He Y., Lee T., Tang S.H., *J. Raman Spectrosc.*, 1999, 30, 91-96.
- [46.] Sajig J., Elhaddoui A., Turrel S., *J. Raman Spectrosc.*, 1997, 28, 165-169.
- [47.] Pappas D., Smith B.W., Wineforder J.D., *Talanta*, 2000, 51, 131-144.

## Wykład 8

# Współczesne materiały biomedyczne

Współczesne osiągnięcia w medycynie nie byłyby możliwe bez towarzyszącemu im postępu w produkcji materiałów biomedycznych (Tabela I). Materiał biomedyczny (biomateriał) ogólnie można zdefiniować jako „nieorganiczny materiał użyty do produkcji sprzętu medycznego, który zaprojektowany został do bezpośredniego kontaktu z tkankami, płynami ustrojowymi i gazami układu oddechowego” [1]. Rzymianie, Aztekowie i Chińczycy używali złota do produkcji protez dentystycznych już 2000 lat temu [2]. Poza użyciem szkła i drewna do produkcji protez gałki ocznej [3] prawdziwy rozwój w dziedzinie biomateriałów nastąpił dopiero po opanowaniu chemii polimerów i wprowadzeniu do produkcji w 1937 roku polimetakrylanu metylu (PMMA, pleksa) [4]. W latach 60. XX wieku pojawiły się pierwsze protezy biodrowe [5]. W 1975 roku powstało Towarzystwo Biomateriałów, które skupiało inżynierów, naukowców i klinicystów z różnych dziedzin, mające za zadanie ujednoczenie systemu wytwarzania i wdrażania nowych materiałów oraz stworzenie odpowiednich regulacji prawnych [6]. Obecnie doroczne Światowe Kongresy Biomateriałów gromadzą tysiące naukowców i przedstawicieli przemysłu, a wydziały inżynierii materiałów biomedycznych powstały na renomowanych uczelniach medycznych i inżynieryjnych całego świata. Choć inżynieria biomateriałów jest odrębną specjalnością, to praca lekarza jest niezbędna na wszystkich etapach procesu powstawania nowego sprzętu [7]. Lekarz jest odpowiedzialny za utrzymanie równowagi między dążeniem producenta do osiągnięcia maksymalnego zysku z wdrożenia nowego produktu a dobrem chorego. Ustala również wskazania do użycia danego produktu, bada interakcje między biomateriałem a organizmem chorego, a także leczy powikłania wynikające z jego zastosowania.

Zastosowanie biomateriałów w praktyce klinicznej wiąże się z rozwiązaniem następujących problemów i zagadnień:

- toksyczność;
- kompatybilność biologiczna (*biocompatibility*);
- gojenie tkanek;
- właściwości mechaniczne i zmęczenie materiałów;
- zagadnienia prawne.

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Tabela 1. Materiały biomedyczne używane do produkcji sprzętu medycznego

Zastosowanie	Typ materiału
<b>Układ kostny</b>	
Protezy stawowe	Tytan, stal, polietylen, aluminium, wanad
Płytki kostne	Stal, kobalt, chrom
Cement kostny	Metakrylat polimetylu
Sztuczne więzadła stawowe	Teflon, dakron
<b>Układ naczyniowy</b>	
Protezy naczyniowe	Teflon, dakron, poliuretan
Zastawki sercowe	Tkanki naturalne, węgiel, stal
Cewniki naczyniowe	Teflon, silikon, poliuretan
<b>Narządy</b>	
Sztuczne serce	poliuretan
Serce-płuco	silikon
Sztuczna nerka	Celuloza, poliakrylonitryl
<b>Układ moczowy</b>	
Cewniki	Silikon, poliuretan, polietylen
Stenty	Teflon, Silikon, poliuretan, polietylen

### Toksyczność

Biomateriał nie powinien być toksyczny, za wyjątkiem „zaprogramowanych toksyn” używanych do niszczenia komórek nowotworowych. Wiele z polimerów ulega dezintegracji na drodze wymywania (*leaching*) z jego powierzchni cząsteczek, które mogą być toksyczne dla tkanek. Polimery te nie mogą być użyte jako biomateriały [8].

### Kompatybilność biologiczna (biocompatibility)

Kompatybilność to właściwość biomateriału powodująca takie jego działanie w organizmie, które obok leczenia pierwotnej choroby nie pogarsza stanu pacjenta lub nie wywołuje nowych powikłań. Ponieważ każde ciało obce wywołuje reakcję w ustroju pacjenta, dlatego biokompatybilność jest pojęciem arbitralnym i opisowym. Na przykład proteza naczyniowa jest biokompatybilna, umożliwiając przepływ krwi bez tworzenia zakrzepów i perforacji, ale przestaje spełniać swoją rolę, kiedy ulegnie zakażeniu. Niektórzy autorzy uważają, iż biokompatybilność musi być rozważana dla każdego urządzenia osobno, a normy są trudne do sprecyzowania [9].





## **Gojenie tkanek**

Każdy biomateriał wywołuje reakcję ciała obcego w tkankach i wpływa na prawidłowe gojenie rany chirurgicznej. Właściwości te powinny być uwzględnione przy wszczepianiu biomateriałów u pacjentów z ograniczoną rezerwą gojenia (nowotwory, uszkodzenie popromienne tkanek, chemioterapia, sterydy) [9].

## **Właściwości mechaniczne i zmęczenie materiałów**

Na sprzęt medyczny działają różne siły mechaniczne, którym urządzenie takie musi przeciwdziałać. Proteza biodrowa musi wytrzymać obciążenie masy ciała ludzkiego, musi być wystarczająco sztywna, a jednocześnie podatna na skręcanie i rozciąganie, a także odporna na wstrząsy [10]. Proteza naczyniowa nie może być sztywna, lecz rozciągliwa i elastyczna [11]. Zastawka sercowa poddawana jest zgięciu i prostowaniu 60 razy na minutę przez co najmniej 10 lat, natomiast cewnik moczowy zostaje usunięty już po kilku dniach [12]. Tak więc właściwości mechaniczne należy rozważyć w aspekcie roli fizjologicznej, jaką dany biomateriał ma do spełnienia.

## **Zagadnienia prawne**

Wyprodukowanie nowego sprzętu medycznego lub wdrożenie nowego biomateriału wymaga wielomilionowych

nakładów na badania podstawowe i testy przedkliniczne. Wiele z materiałów nigdy nie zostało wprowadzonych na rynek, ponieważ zysk ze sprzedaży byłby zbyt mały, ze względu na małą grupę potencjalnych pacjentów. Pojawiają się więc pytania natury etycznej i prawnej, jak najlepiej kontrolować nowe produkty, tak aby zapewnić bezpieczeństwo ich użycia i korzyści dla jak największej liczby chorych [7]. Właściwości biomateriałów muszą być rozważone nie tylko z punktu widzenia zachowania w laboratorium, ale także potencjalnych interakcji pomiędzy biomateriałem a tkankami i płynami biologicznymi.

## **Właściwości fizyczne**

Biomateriały są ciałami stałymi, które pod względem właściwości mechanicznych i fizycznych można podzielić na trzy klasy: metale, materiały ceramiczne i polimery [13].

## **Metale**

Ocenia się że w 1988 roku żyło około 1,1 mln Amerykanów ze wszczepionymi metalowymi protezami [6]. W samej Szwecji wszczepiono 116 727 protez [14]. Używane



są one głównie w stomatologii, ortopedii i chirurgii szczękowej [15, 16]. Stopy nierdzewnej stali, kobaltu, chromu, niklu i wanadu z różnymi dodatkami pozwalają na produkcję metalu o niezbędnych cechach fizykochemicznych.

## **Materiały ceramiczne**

To materiały nieorganiczne o skomplikowanej strukturze krystalicznej, do których dodawane są często węgiel i krzem.

## **Polimery**

Polimery występują naturalnie (skrobia, DNA), jednak większość tych substancji jest wytwarzana w drodze syntezy

chemicznej, w wyniku której otrzymuje się utworzone z atomów węgla łańcuchy o różnej długości. Jeżeli polimer ma ograniczoną liczbę łańcuchów bocznych i nie tworzą one połączeń, to tworzywo takie jest termoplastyczne i może być modelowane wraz ze wzrostem temperatury [13]. Tworzywa, w których podstawniki boczne tworzą połączenia, są termoutwardzalne po obniżeniu temperatury w fazie produkcji, zaś ponowne podniesienie temperatury tworzywa nie pozwoli na jego modelowanie, a raczej spowoduje nieodwracalne odkształcenie. Właściwość ta ma znaczenie w medycynie, na przykład cewnik lub stent z materiału termoplastycznego, odpowiednio sztywny przy wprowadzaniu do ustroju, nabiera giętkości i elastyczności w temperaturze ciała ( $37^{\circ}\text{C}$ ) [13].

W zależności od składu chemicznego łańcucha wyróżnia się homopolimery (tylko jeden składnik) lub kopolimery (dwa lub więcej składników). Polimery są najczęściej używanymi materiałami w medycynie [17].

### Homopolimery

1. Polimetakrylan metylu (PMMA, pleksa) — jest hydrofobową substancją o dużej wytrzymałości mechanicznej i stabilności, znaną pod nazwą pleksiglas. Dodatek  $\text{CH}_2\text{OH}$  powoduje zmiękczenie polimeru i jest on używany do produkcji miękkich soczewek.
2. Polietylen (PE) — w wysokocząsteczkowej formie używany jest do produkcji cewników i drenów; jest tani, odporny mechanicznie i chemicznie.
3. Polipropylen (PP) — jest podobny do polietylenu, jednak sztywniejszy i odporny na złamanie.



4. Politetrafluoroetylen (PTFE) — znany jako teflon, jest pochodną polietylenu. Używany jest w chirurgii naczyniowej;  
bardzo odporny termicznie i chemicznie.
5. Polichlorek winylu (PCV) — używany jest głównie do produkcji linii dożylnych;  
cehuje się znaczną sztywnością,  
jednak dodatek zmiękczaczy powoduje jego plastyczność.
6. *Polidimethyl siloxane* (PDMS) — ze względu na dużą oporność chemiczną, stabilność i plastyczność używany do produkcji cewników i stentów urologicznych.
7. Poliwęglan — używany do produkcji soczewek i oksygenatorów.
8. Nylon — grupa poliamidów używana głównie do produkcji szwów chirurgicznych.

#### Kopolimery

1. Mleczan poliglikolu — stosowany do produkcji szwów chirurgicznych.
2. Poliuretany — grupa polimerów zbudowanych z twardych i miękkich bloków. Ponieważ każdy z komponentów  
może mieć różne podstawniki, poliuretany mogą mieć diametralnie różne właściwości biologiczne i mechaniczne.

#### **Fizyka biomateriałów**

Spośród wielu właściwości biomateriałów ważnych w inżynierii podatność na rozciąganie, kruchość, wytrzymałość mechaniczna i aktywność chemiczna są najbardziej istotne dla biologa i lekarza [18]. Podatność na rozciąganie jest proporcjonalna do przyłożonej siły, a odwrotnie proporcjonalna do powierzchni przekroju (prawo Hooke'a). Podatność na rozwarstwienie wzdłuż osi długiej i rozciągliwość materiału mają znaczenie przy projektowaniu cewników i stentów. Biomateriały cechują się różną odpowiedzią na rozciąganie; większość polimerów ma cechy plastyczne i podlega znacznemu rozciąganiu. Szkło, materiały ceramiczne oraz niemodyfikowany polichlorek winylu ulegają złamaniu (*brittle fracture*) ze względu na brak plastyczności. Metale i stopy metali cechują się znaczną plastycznością i rozciągliwością. Odpowiedź na rozciąganie pozwala także na ocenę zmęczenia materiału. Zastawka sercowa, proteza biodrowa, cewnik moczowy poddawane są ciągłemu zginaniu i prostowaniu. Każdy z cykli zginanie–prostowanie powoduje powstanie

mikroszczelin w materiale. Po określonej liczbie cykli mikroszczeliny łączą się w jedną szczelinę i powodują rozpad materiału. Materiały biologiczne muszą funkcjonować bez złamania przez 106–107 cykli. Skutki zbyt wczesnego rozpadu mogą być poważne (np. śmierć pacjenta) [18]. Znajomość fizycznych właściwości ma znaczenie w biologicznym zachowaniu się biomateriału. Hanson wykazał, że zużywalność płytek krwi jest odwrotnie proporcjonalna do liczby grup węglowodorowych w poliuretanie. Neumann udowodnił, że przyczepność bakterii, granulocytów i erytrocytów jest proporcjonalna do wartości energii powierzchni [19].

### **Struktura mikroskopowa**

Mimo dążenia do uzyskania jak najgładszej powierzchni biomateriału, analiza mikroskopowa wykazuje, że jest ona nierówna, co powoduje zwiększoną przyczepność bakterii do biomateriału [20].

### **Modyfikacja powierzchni biomateriału**

Właściwości biologiczne biomateriałów zależą od stanu ich powierzchni i wiele metod zmiany powierzchni biomateriału pozwala na zachowanie korzystnych właściwości mechanicznych przy jednoczesnym zmniejszeniu częstości powikłań (Tabela 2) [20]. Ogólnie metody te można podzielić na metody modyfikacji zewnętrznych atomów biomateriału oraz na metody powłokowe, w których na biomateriał nanoszona jest powłoka ochronna [21]. Powłoka powinna być jak najcieńsza, jednak na tyle gruba, aby pokryć dokładnie powierzchnię biomateriału (zwykle ponad 10 Å) [22]. Ponieważ powłoki nanoszone mają często diametralnie różne właściwości fizykochemiczne w porównaniu z masą główną tworzywa, ważne jest uzyskanie dobrego połączenia materiału z warstwą zewnętrzną [23].

Typowym przykładem trwałego pokrycia biomateriału jest poliuretanowy cewnik pokryty związkami silikonu w celu zmniejszenia tarcia i przyczepności substancji organicznych, szczególnie białek [24]. Ze względu na niską antygenowość, powszechną dostępność i niski koszt heparyna i albumina stosowane są jako główne powłoki biomateriałów, tam gdzie niezbędny jest niski współczynnik tarcia [25].

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Tabela 2. Metody zmiany właściwości powierzchni w zależności od pożądaných właściwości biologicznych [9]

Pożądane właściwości	Modyfikacja powierzchni
Zmniejszenie krzepliwości i lepszy przepływ krwi	Dodatek grup oktadecylowych do powierzchni (przyczepiają albuminy)
	Dodatek silikonowej warstwy zewnętrznej
	Pokrycie fluoropolimerami przy użyciu natryskiwania plazmą
	Naświetlanie rentgenowskie hydrożelów
	Zmodyfikowany polistyren (ma cechy heparyny)
Zmiana przyczepności komórek i wzrostu komórkowego	Utlenianie powierzchni polistyrenu
	Natryskiwanie plazmą wzbogaconą w związki azotu
	Natryskiwanie plazmą z acetonem lub metanolem
	Pokrycie fluoropolimerami przy użyciu natryskiwania plazmą (zmniejsza przyczepność komórkową w soczewkach oka)
Kontrola przyczepności białkowej	Pokrycia z unieruchomionym glikolem polietylenu (zmniejsza adsorpcję białek)
	Cross-linking powierzchni polimeru
Zmniejszenie tarcia	Natryskiwanie plazmą (hartowanie materiału)
	Naświetlanie rentgenowskie hydrożelów
	Kilkskładnikowe pokrycia polimerów (poślizg między poszczególnymi składnikami pokrycia)
Zmniejszenie zużycia mechanicznego i zwiększenie odporności na korozję	Natryskiwanie jonami metali szlachetnych
	Natryskiwanie diamentem
	Anodyzacja
Zmiana przewodnictwa elektrycznego	Natryskiwanie substancjami niepolarnymi
	Pokrycie metodą solvent coating z zastosowaniem przewodników lub izolatorów

### Literatura:

- Williams DF. Definitions in Biomaterials. Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials. Elsevier, Chester, England 1987: 131–138.
- Courtney JM. Artificial organs and biomaterials. J Med Eng Technol. 1993; 17: 188–190.
- Sanan A, Haines SJ. Repairing holes in the head: a history of cranioplasty. Neurosurgery 1997; 40: 588–603.
- Middleton IP, Al-Lamee KG, Paprotny J. Professor Bamford's research in the field of biomaterials. J Biomater Sci Polym Ed. 2000; 11: 1287–1306.

*nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych*  
realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

5. Swanson SA. The state of the art in joint replacement. Part 1: background and history. *J Med Eng Technol.* 1977; 1: 255–259.
6. Ratner BD. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine.* Academic Press, San Diego 1986: 484–488.
7. Saha S, Saha P. Bioethics and applied biomaterials. *J Biomed Mater Res Appl Biomat.* 1987; 21: 181–190.
8. Laurencin CT, Pierre-Jacques HM, Langer R. Toxicology and biocompatibility considerations in the evaluation of polymeric materials for biomedical applications. *Clin Lab Med.* 1990; 10: 549–570.
9. Denstedt JD, Wollin TA, Reid G. Biomaterials used in urology: current issues of biocompatibility, infection, and encrustation. *J Endourol.* 1998; 12: 493–500.
10. Heuer DA, Mann KA. Fatigue fracture of the stem-cement interface with a clamped cantilever beam test. *J Biomech Eng.* 2000; 122: 647–651.
11. Salacinski HJ. The mechanical behavior of vascular grafts: a review. *J Biomater Appl.* 2001; 15: 241–278.
12. Korossis SA, Fisher J, Ingham E. Cardiac valve replacement: a bioengineering approach. *Biomed Mater Eng.* 2000; 10: 83–124.
13. Budinski KG, Budinski MK. *Engineering materials: properties and selection.* 7th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, N.J. 2002: 818–831.
14. Signorello LB. Nationwide study of cancer risk among hip replacement patients in Sweden. *J Natl Cancer Inst.* 2001; 93: 1405–1410.
15. Albertini TF, Kingman A, Brown LJ. Prevalence and distribution of dental restorative materials in US Air Force veterans. *J Public Health Dent.* 1997; 57: 5–10.
16. Konety BR. Urolume stent placement for the treatment of postbrachytherapy bladder outlet obstruction. *Urology* 2000; 55: 721–724.
17. Szycher M, Robinson WJ. *Synthetic biomedical polymers: concepts and applications.* Technomic Pub. Co., Westport, CT 1980: 235–240.
18. Levinson IJ. *Statics and strength of materials.* Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J. 1971: 498–506.
19. Neumann AW. Measurement of surface tensions of blood cells and proteins. *Ann NY Acad Sci.* 1983; 416: 276–298.
20. Adamson AW. *Physical chemistry of surfaces.* 5th ed. Wiley, New York 1990: 777–786.
21. Morra M. The characterization of plasma-modified polydimethylsiloxane interfaces with media of different surface energy. *Clin Mater.* 1990; 5: 147–156.
22. Tidswell IM. X-ray specular reflection studies of silicon coated by organic monolayers (alkylsiloxanes). *Physical Review B Condensed Matter.* 1990; 41: 1111–1128.
23. Dunkirk SG. Photochemical coatings for the prevention of bacterial colonization. *J Biomater Appl.* 1991; 6: 131–156.
24. Lopez-Lopez G. Effect of a siliconized latex urinary catheter on bacterial adherence and human neutrophil activity. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1991; 14: 1–6.
25. Weber N, Wendel HP, Ziemer G. Quality assessment of heparin coatings by their binding capacities of coagulation and complement enzymes. *J Biomater Appl.* 2000; 15: 8–22.

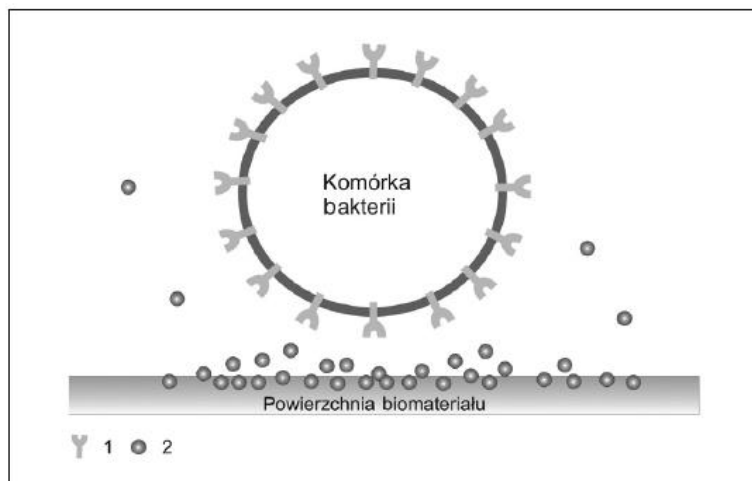
## Wykład 9

# Problemy badania właściwości biologicznych materiałów biomedycznych

### **Pojęcie filmu biologicznego (biofilmu) i fizykochemiczne podstawy przyczepności substancji organicznych do biomateriałów**

Już po kilkunastu sekundach od zanurzenia biomateriału w płynach biologicznych zostaje on pokryty białkami i peptydami. Komórki obecne w płynie tkankowym lub tkankach, rozpoznają powierzchnię biomateriału jako „obcą” (niespecyficzne rozpoznanie) poprzez gradient osmotyczny, protony i receptory białkowe. Rozpoczyna się kaskada fizjologiczna, której wynikiem jest utworzenie biofilmu. Biofilm można zdefiniować jako organiczny i nieorganiczny depozyt na powierzchni materiału. Depozyt ten zawiera także składniki komórkowe: płytki krwi, białe ciała krwi, bakterie i grzyby. Zjawisko to ma podłoże czysto fizykochemiczne. Białka preferencyjnie umiejscawiają się na styku środowisk (faz) płynnego i gazowego lub płynnego i stałego, a interakcje na styku środowisk wynikają z praw termodynamiki. Jak wykazano, bariera energetyczna (75A) jest wysoka dla powierzchni o niskiej hydrofilności (np. PTFE), a niska dla powierzchni o wysokiej hydrofilności (wysoka energia powierzchni) (np. szkło) [1]. Zatem modyfikacja powierzchni może wpłynąć na przyczepność białek, a tym samym na tworzenie biofilmu. Adsorpcja białek zależy od ich składu aminokwasów. W zależności od pH roztworu aminokwasy mogą mieć dodatni lub ujemny ładunek, co powoduje, że białka mogą tworzyć oddziaływania elektrostatyczne z powierzchnią biomateriału, komórkami i innymi białkami. Adsorpcja białek na powierzchni obcej nie jest wynikiem zwykłej dyspersji cząsteczek. Dowodem na to prawie aktywne (termodynamicznie uprzywilejowane) zjawisko jest fakt, że koncentracja białek na powierzchni biomateriału może być 1000 razy większa niż koncentracja w roztworze biologicznym. Co więcej, polietylen zanurzony w mieszaninie różnych białek przyczepia hemoglobinę i fibrynogen w sposób preferencyjny w porównaniu z gammaglobulinami [2]. Tak więc, istnieje kompetycja przyczepności różnych białek, zależna od specyficznych interakcji między biomateriałem i białkami, a stosunkowo niezależna od koncentracji białka w roztworze. Białka na powierzchni biomateriału ulegają zmianie konformacyjnej powodując zlepianie się i aktywację płytek krwi, zaś te same białka bez powierzchni obcej nie są w stanie zaktywować płytek krwi [3].

Receptory na powierzchni komórki są niezbędne do rozpoznania obcej powierzchni biomateriału (Rys. 1). Bez stymulacji receptorów (fimbrie, pile) i dalszej transmisji sygnałów wewnątrzkomórkowych komórka zbliża się do powierzchni, po czym ruchami Browna odbija się od powierzchni i pozostaje w roztworze w stanie zawieszonym, a nieprzyczepionym do powierzchni (plankton). Receptory ważne w tworzeniu biofilmu można podzielić na klasyczne receptory błony komórkowej, które aktywują cyklazę adenylową i wtórne sygnały w cytoplazmie, oraz receptory układu cytoszkieletu [4]. Białka z sekwencją RGD (arginina, glicyna, kwas aspartynowy) pozwalają na dalsze przyczepianie się płytek krwi, które są pierwszymi składnikami komórkowymi pojawiającymi się w biofilmie. Po połączeniu z powierzchnią biomateriału płytki ulegają aktywacji i wydzielają mediatory promujące dalszą agregację płytek oraz stymulują układ krzepnięcia [5].

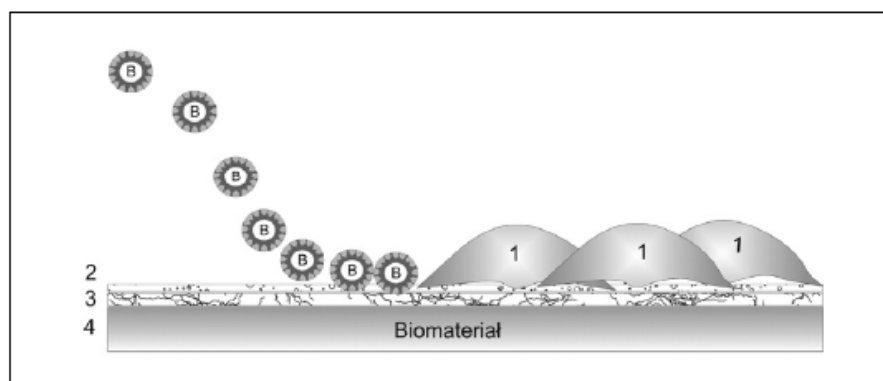


**Rys.1.** Interakcje między komórkami, a białkami na powierzchni biomateriału umożliwiające przyczepność bakterii: 1 — receptory i białka powierzchni komórki, 2 — białka w surowicy i płynach tkankowych.

Tworzenie biofilmu jest zatem procesem trójfazowym, obejmującym (Rys. 2) [1]:

1. przyczepność białek — zjawisko czysto fizyczne;
2. przyczepność bakterii — termodynamiczna nisza energetyczna dla bakterii, przyczepność oparta na receptorach;
3. zmiana metabolizmu i osiadły tryb życia kolonii— wytworzenie proteoglikanów zewnątrzkomórkowych spajających i ochraniających kolonię bakteryjną.





**Rys. 2.** Podstawowy model przyczepności bakterii do biomateriału. Film białkowy umożliwia promocję osiedlania filmu bakteryjnego. Osiadłe bakterie powodują wzrost dezintegracji powierzchni i lepszą apozycję biofilmu, co z kolei ułatwia wzrost kolonii: 1 — kolonia bakterii, 2 — film białkowy, 3 — korozja powierzchni biomateriału, 4 — biomateriał, B — bakterie.

Podsumowując, ze względu na przynajmniej trójfazowy proces tworzenia biofilmu, nie można go opisać jednym modelem matematycznym, dlatego badania *In vitro* z jak najdokładniejszym odtworzeniem warunków *in vivo* są najlepszą metodą badania biofilmu [6].

### **Mechanizmy przyczepności bakteryjnej do biomateriałów istotne w powikłaniach zapalnych**

Zakażenie materiału biologicznego może mieć fatalne następstwa. Mimo że protezy naczyniowe, zastawki serca czy protezy ortopedyczne ulegają zakażeniu dość rzadko, to jednak pojawienie się zakażenia może wymagać usunięcia protezy, amputacji kończyny lub spowodować śmierć pacjenta. Z kolei wszystkie cewniki dożylnie i moczowe pozostawione w ustroju dłużej niż 3–7 dni ulegają zakażeniu i mogą się przyczynić do rozwoju infekcji układu moczowego lub nawet infekcji uogólnionej [7].

W latach 80. XX wieku Gristina wysunął hipotezę, iż wysoka częstość powikłań zapalnych u pacjentów z protezami jest wynikiem:

- wzmożonej przyczepności szczepu bakteryjnego do powierzchni;
- nadmiernej produkcji polisacharydów przez osiadłe bakterie;
- zmiany metabolizmu bakterii, które utrudniają ich identyfikację.

Przyczepność bakterii do powierzchni materiału jest wynikiem konkurencji między komórkami gospodarza a bakteriami. Ryzyko infekcji wydaje się mniejsze w sytuacji doskonałej apozycji tkanek do materiału i ich dobrego unaczynienia. Jeżeli bakterie zostały

wprowadzone w momencie implantacji biomateriału, to utrudniają one proces gojenia i prawidłową apozycję tkanek do biomateriału [8].

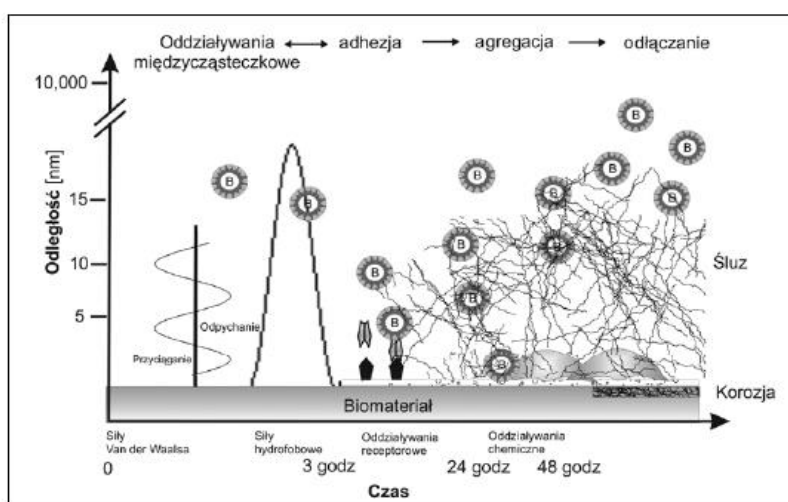
Czynnikami sprzyjającymi powikłaniom zapalnym biomateriałów są:

- obecność biomateriału lub martwych tkanek;
- adhezja bakterii do biomateriału;
- odporność na obronne mechanizmy gospodarza i aktywność antybiotyków;
- obecność charakterystycznych bakterii, takich jak: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*;
- specyficzność reakcji;
- przekształcenie niepatogennych lub oportunistycznych organizmów w organizmy patogenne;
- zakażenia wielobakteryjne;
- przetrwanie infekcji, aż do czasu usunięcia protezy;
- brak integracji tkankowej i dobrej apozycji biomateriału do tkanek;
- uszkodzenie tkanek.

### **Właściwości bakterii ułatwiające tworzenie biofilmu**

Wydaje się, że niektóre szczepy bakteryjne, takie jak: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Pseudomonas sp.*, *Enterococcus sp.*, dominują wśród organizmów wywołujących powikłania zapalne. Bakterie te mają jednak diametralnie różne właściwości wirulogenne i metaboliczne. Poszczególne szczepy różnią się także dynamiką wzrostu kolonii w zależności od stężenia mikroelementów, prędkością przepływu medium bakteriologicznego i odpowiedzią na zmianę pH; mają także inne spektra i mechanizmy przyczepności. *S. aureus* wydaje się preferować metale, podczas gdy *S. epidermidis* wykazuje większą przyczepność do powierzchni hydrofobowych i polimerów. *S. epidermidis* wykazuje także silniejsze wiązanie niż *S. aureus* i jednocześnie większą odporność na działanie antybiotyków w otoczeniu polimerów. Różnice w ilości produkowanego przez bakterie śluzu powodują dalszą różnorodność ich aktywności w otoczeniu biomateriału [9]. Wydaje się, że początkowo bakterie grupują się przy powierzchni z powodu hydrofobowości powierzchni i sił termodynamicznych (Rys. 3). Fimbrie i pile oddziałują na odległość około 15 nm, jednak razem z białkami powierzchni odgrywają ważną rolę w przekazywaniu sygnału zmieniającego metabolizm komórkowy z planktonicznego na stacjonarny. Jednocześnie osiadłe komórki wysyłają *quorum-sensing molecules*, które znacznie przyspieszają uaktywnienie genów niezbędnych do transferu

bakterii pomiędzy dwoma niszami ekologicznymi: ze stanu planktonicznego (bakterie zawieszone) do stanu osiadłego (biofilm) [35]. Bakterie w biofilmie charakteryzują się większą aktywnością biologiczną. Poza tym dochodzi także do synergii różnych grup bakterii. Bakterie aerobowe zmniejszają prężność tlenu w śluzie i umożliwiają rozwój bakterii anaerobowych. Bakterie poprzez produkowane enzymy i zmianę pH sprzyjają degradacji biomateriału [8, 10]. Praktyka, a także badania podstawowe wykazały zmniejszoną reaktywność makrofagów w obecności biomateriałów. Może to wynikać ze zjawiska zużycia makrofagów w procesie odpowiedzi na ciało obce.



**Rys. 3.** Nowoczesny model faz przyczepności bakteryjnej w funkcji czasu i w zależności od odległości od powierzchni biomateriału.

### Teoretyczne podstawy interakcji pomiędzy biomateriałem i tkankami

Biomateriał wywołuje zawsze reakcję w tkankach (Tabela III). Klasyczne badania nad odpowiedzią tkankową wywołaną przez biomateriały wykazały, że różne komórki pojawiają się na miejscu reakcji w ustalonej i rozciągniętej w czasie sekwencji, tak że końcowym wynikiem odpowiedzi tkankowej jest wytworzenie torebki z kolagenu i elastyny wokół implantu [8–10]. Odpowiedź komórkowa tkanek zależy od białek regulacyjnych (odpowiedź humoralna). Białka te należą do szeroko pojętego systemu odpowiedzi immunologicznej. Immunoglobuliny (IgG, IgM i IgA) nie odgrywają krytycznej roli w odpowiedzi tkankowej na biomateriał. Dowodem na to jest ich niska koncentracja na powierzchni materiału, niska przyczepność oraz fakt, że wszystkie materiały są pokryte biofilmem, to już w czasie pierwszego kontaktu materiału z tkankami. Ważniejszą rolę w odpowiedzi ustroju na biomateriał odgrywają komplement i cytokiny.

nie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczych realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Tabela 3. Interakcje między tkankami a materiałem biologicznym

<b>Oddziaływanie biomateriału na organizm gospodarza</b>	
Reakcje miejscowe	Adsorpcja białek
	Uaktywnienie kaskady krzepnięcia krwi
	Fibrynoliza
	Zwiększenie adhezji płytek krwi i ich uaktywnienie
	Uaktywnienie komplementu
	Adhezja białych ciałek krwi
Bezpośrednie wydzielanie toksyn przez biomateriał	
Zaburzenia normalnego gojenia	Wytworzenie torebki łącznotkankowej
	Reakcja typu „ciało obce”
	Deformacja blizny
Powikłania zapalne	
Działanie onkogenne	
Reakcje odległe i systemowe	Zakrzepica naczyniowa i embolizacja
	Odczyny alergiczne
	Przemieszczenie rozłożonego biomateriału drogą krwionośną lub limfatyczną do narządów odległych (płuco, mózg)
<b>Oddziaływanie organizmu gospodarza na biomateriał</b>	
Fizykochemiczne	Tarcie
	Zużycie materiału od naprężeń
	Złamanie ze zużycia
	Korozja
	Degradacja i hydroliza
Biologiczne	Adsorpcja płynów tkankowych
	Rozkład enzymatyczny przez tkanki i odczyn zapalny
	Uwapnienie

Uaktywnienie układu komplementu może mieć uboczne skutki w całym organizmie, jednak białka układu komplementu odgrywają także rolę lokalną w początkowej fazie przyczepności komórek do ciała obcego. Komplement pozwala na niespecyficzne rozpoznanie obcego materiału (*nonspecific recognition*). Jednocześnie wiele produktów przemiany komplementu stymuluje granulocyty, makrofagi, limfocyty T i B poprzez odpowiednie receptory (CR1, 2, 3). Rozpuszczalne składniki komplementu C3a, C4a, C5a działają na makrofagi i monocyty, wyzwalając produkcję cytokin przez te komórki.

Cytokiny są potężnymi mediatorami reakcji zapalnych i immunologicznych, które mogą powodować skutki uboczne w całym organizmie [11].

### **Mineralizacja biomateriałów**

Mineralizacja albo uwapnienie biomateriału występują szczególnie często w układzie krwionośnym i moczowym. Mineralizacja biomateriałów zależy od koncentracji jonów wapnia i właściwości materiału. Jak wykazały badania wszczepionych zastawek serca lub sztucznego serca — proces rozpoczyna się w punkcie zginania. Obecność bakterii jako czynnika przyspieszającego mineralizację jest kontrowersyjna, jednak wiadomo, że uwapnienie ułatwia przyczepność bakterii. Spośród materiałów używanych w medycynie silikon, poliuretan, hydrożele i dakron podlegają mineralizacji. Wapń zawarty w łzach może być przyczyną mineralizacji sztucznych soczewek oka, których podstawowym tworzywem jest poli-hydroksyetylmetylakrylat. Mineralizacja może być mierzona za pomocą analizy morfologicznej: oglądania, radiogramu, mikroskopii świetlnej, spektroskopowej, a także bardziej wyrafinowanych technik, takich jak: atomowa absorpcja, kolorymetryczny pomiar fosforanów i dyfrakcja rentgenowska. Mineralizację biomateriałów w moczu można zauważyć już po kilku godzinach. Jak dotąd jedyną skuteczną metodą zapobiegania uwapnieniu są bifosfoniany, takie jak aminobifosfoniany połączone z rezydualną grupą aldehydową na powierzchniach pochodnych gluteoaldehydów [12].

### **Literatura:**

1. Costerton JW. Introduction to biofilm. *Int J Antimicrob Agents* 1999; 1: 217–221.
2. Brash JL. Proteins at interfaces: physicochemical and biochemical studies. ACS symposium series, American Chemical Society, Washington, D.C. 1987: 706–713.
3. Slack SM, Posso SE, Horbett TA. Measurement of fibrinogen adsorption from blood plasma using 125I-fibrinogen and a direct ELISA technique. *J Biomater Sci Polym Ed.* 1991; 3: 49–67.
4. Cassels FJ, Hughes CV, Nauss JL. Adhesin receptors of human oral bacteria and modeling of putative adhesin-binding domains. *J Ind Microbiol.* 1995; 15: 176–185.
5. Kiaei D. Platelet and monoclonal antibody binding to fibrinogen adsorbed on glow-discharge-deposited polymers. *J Biomed Mater Res.* 1995; 29: 729–739.
6. Dibdin GH. Mathematical modeling of biofilms. *Adv Dent Res.* 1997; 11: 127–132.
7. Crump JA, Collignon PJ. Intravascular catheter-associated infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2000; 19: 1–8.
8. Wilson M. Bacterial biofilms and human disease. *Sci Prog.* 2001; 84: 235–254.
9. Davey ME, O'Toole AG. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2000; 64: 847–867.
10. Savage DC, Fletcher M. Bacterial adhesion: mechanisms and physiological significance. Plenum Press, New York 1985: 476–483.
11. Brunstedt MR. Bacteria/blood/material interactions. I. Injected and preseeded slime-forming *Staphylococcus epidermidis* in flowing blood with biomaterials. *J Biomed Mater Res.* 1995; 29: 455–466.
12. Morris NS, Stickler DJ. Encrustation of indwelling urethral catheters by *Proteus mirabilis* biofilms growing in human urine. *J Hosp Infect.* 1998; 39: 227–234.