

Dorota KONDEJ¹, Tomasz R. SOSNOWSKI²

e-mail: dokon@ciop.pl

¹ Zakład Zagrożeń Chemicznych, Pyłowych i Biologicznych, Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa² Katedra Inżynierii Procesów Zintegrowanych, Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa

Wpływ wybranych rodzajów wielościennych nanorurek węglowych (MWCNT) na deformowalną warstwę fosfolipidową na powierzchni wody

Wstęp

Nanorurki węglowe stanowią ważną grupę nanomateriałów, które ze względu na cylindryczną strukturę i wynikające z niej szczególne właściwości chemiczne, mechaniczne, termiczne, optyczne i elektryczne mają duży potencjał zastosowań. Nanorurki węglowe mogą być wykorzystywane np. w przemyśle tworzyw sztucznych jako nanonapełniacze do kompozytów polimerowych, w przemyśle chemicznym jako nośniki katalizatorów, w ochronie środowiska jako membrany filtracyjne czy w biomedycynie jako biosensory diagnostyczne i nośniki leków [De Volder *et al.*, 2013; Amenta i Aschberger, 2015]. Szacuje się, że rynek nanorurek węglowych stanowi około 28% udziału w rynku nanomateriałów ogółem. W 2016 r. światowy rynek nanorurek węglowych został wyceniony na 2,17 mld USD i przewiduje się, że do roku 2022 osiągnie poziom 5,6 mld USD przy rocznym wskaźniku wzrostu na poziomie 17,2% [Research and Markets, 2017]. Według innych źródeł prognozuje się, że światowy rynek nanorurek węglowych w 2022 roku osiągnie nawet 8,70 mld USD [Markets and Markets, 2017]. Ze względu na coraz szersze wykorzystanie nanorurek węglowych w pracach badawczo-rozwojowych, jak i w praktyce przemysłowej rośnie również liczba narażonych osób pracujących przy ich wytwarzaniu, obróbce czy użytkowaniu. Główną drogą narażenia na nanorurki węglowe jest układ oddechowy [Świdwińska-Gajewska i Czerczak, 2017].

W niniejszej pracy skoncentrowano się na ocenie wpływu wybranych wielościennych nanorurek węglowych na właściwości powierzchniowe monowarstwy fosfolipidowej utworzonej z fosfatydylocholine. Jest ona głównym składnikiem surfaktantu płucnego, który oddziela wdychane powietrze od nabłonka pęcherzyków płucnych. Badania modelowe, przeprowadzone dla deformowalnej warstwy fosfolipidowej utworzonej na powierzchni wody, pozwalają na przewidywanie potencjalnych skutków wdychania cząstek nanostrukturalnych zawieszonych w powietrzu stanowisk pracy [Kondej i Sosnowski, 2017]. Zastosowana metodyka badawcza pozwala na śledzenie aktywności powierzchniowej modelowego surfaktantu w warunkach zmieniającej się wielkości powierzchni ciecz-gaz, co jest odbiciem warunków panujących na powierzchni płuc w trakcie oddychania.

Badania doświadczalne

Materiały. Przebadano trzy rodzaje wielościennych nanorurek węglowych o średnicach w skali nano i długościach rzędu dziesiątek mikrometrów. W tab. 1 zamieszczono wymiary cząstek podane przez dostawcę (Cheap Tubes Inc., USA). W tabeli podano również powierzchnię właściwą nanorurek, którą określono wielopunktową metodą BET przy wykorzystaniu analizatora powierzchni Gemini 2360 v2.01 (Micromeritics Instrument Corp., USA).

Tab. 1. Charakterystyka badanych nanorurek węglowych

Wielościenna nanorurka węglowa	Średnica zewnętrzna [nm]	Średnica wewnętrzna [nm]	Długość [μm]	Powierzchnia właściwa [m ² /g]
MWL-8	<8	2÷5	10÷30	445 ±10
MWL-80	50÷80	5÷10	10÷20	92 ±2
MWL-30-CX	20÷30	5÷10	10÷30	190 ±4

Nanorurki MWL-8 i MWL-80 miały właściwości hydrofobowe, natomiast nanorurki MWL-30-CX dzięki funkcjonalizacji grupą karboksylową – hydrofilowe.

Metodyka. Obrazowanie powierzchni badanych cząstek wykonano przy wykorzystaniu skaningowego mikroskopu elektronowego Zeiss Ultra Plus (Niemcy).

Badania wpływu wybranych nanorurek węglowych na właściwości powierzchniowe warstwy fosfolipidowej prowadzono przy wykorzystaniu wagi Langmuira-Wilhelmy'ego model MiniTrough LB5000 (KSV Instruments Ltd., Finlandia). Urządzenie to opisano w publikacji poświęconej badaniom nad wpływem nanomateriałów na modelowy surfaktant płucny [Dobrowolska i Sosnowski, 2017].

Monowarstwę fosfolipidową utworzono przez naniesienie na powierzchnię czystej wody (Puricom, USA) 25 μl roztworu 1,2-dipalmito-3-glicero-3-fosfocholiny (DPPC, Sigma-Aldrich) o stężeniu 1 mg/ml i odparowanie rozpuszczalnika. Do sporządzenia roztworu DPPC stosowano n-heksan do analizy śladowej (Merck KGaA, Niemcy) oraz etanol cz.d.a. (POCh, Polska) zmieszane w proporcji 9:1. Po 15 min od naniesienia monowarstwy na powierzchnię międzyfazową woda-powietrze наносzono zawiesiny badanych cząstek o stężeniach w zakresie od 0,1 mg/ml do 2 mg/ml odpowiadających stężeniom powierzchniowym w zakresie od 10,3 ng/cm² do 205,1 ng/cm². Do sporządzenia zawiesin stosowano następującą ciecz: mieszaninę heksan/etanol (9:1) dla MWL-8 i MWL-80 oraz etanol dla MWL-30-CX. Zawiesiny poddawano wstępnej sonikacji przy 4,8 kJ/ml w płuczce ultradźwiękowej Sonic 14 (Polsonic, Polska). Po upływie kolejnych 20 min wymaganych dla odparowania rozpuszczalników wymuszano deformację warstwy fosfolipidowej poprzez uruchomienie przesuwu barierki. Dwuwymiarową izotermiczną kompresję prowadzono z szybkością 1,25 cm²/s w temperaturze 37 °C.

Izotermia kompresji wyznaczono dla każdego z badanych układów:

$$\pi = f(A) \quad (1)$$

Na ich podstawie określono przebiegi krzywych ściśliwości:

$$\kappa = - \frac{1}{A} \frac{dA}{d\pi} \Big|_{T=const} \quad (2)$$

gdzie:

A – wielkość powierzchni międzyfazowej przypadającej na jedną cząsteczkę DPPC, [Å²/cząsteczka]

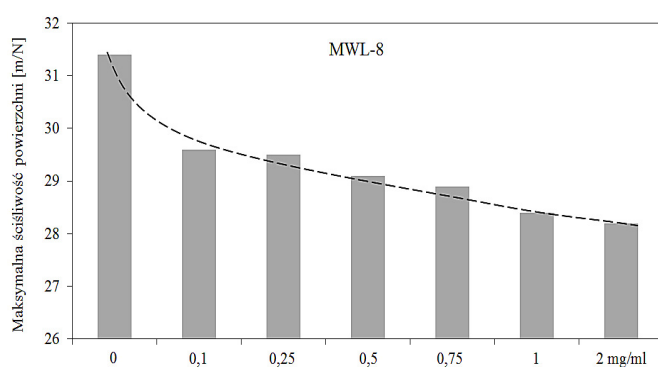
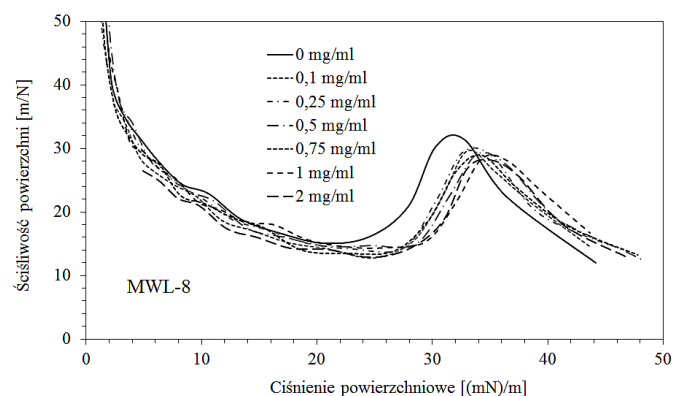
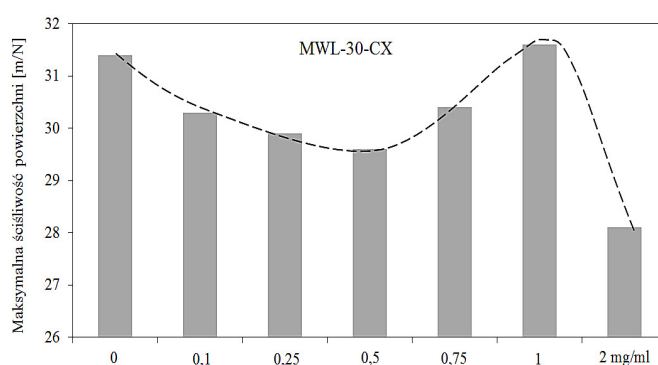
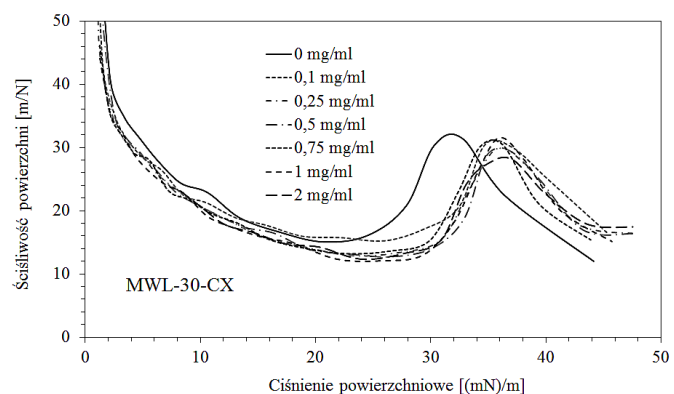
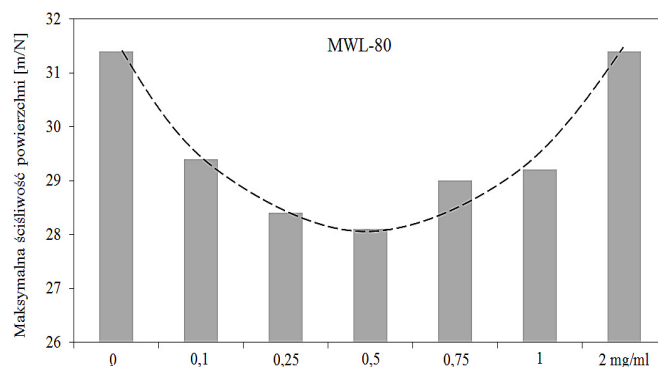
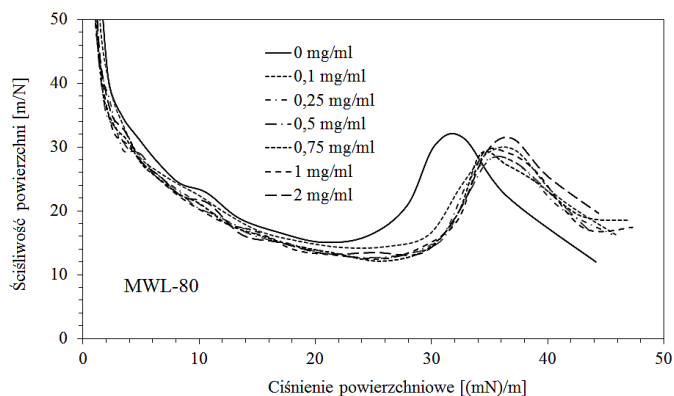
κ – izotermiczna ściśliwość powierzchni woda-powietrze zawierającej DPPC, [m/N].

π – ciśnienie powierzchniowe, [(mN)/m]

Wyniki i dyskusja

Obrazy mikroskopowe SEM (nie zamieszczone w pracy) potwierdziły strukturę geometryczną stosowanych nanorurek węglowych. Nanorurki MWL-8 mają mniejsze średnice od pozostałych, co przekłada się na wyraźnie większą powierzchnię przepadającą na jednostkę masy nanomateriału. Hydrofilizacja powierzchni rurek zastosowana przez producenta w stosunku do MWL-30-CX nie znajduje bezpośredniego odzwierciedlenia w mikroskopowej strukturze powierzchni tego nanomateriału.

Na rys. 1 przedstawiono wyniki izotermicznej ściśliwości powierzchni woda-powietrze zawierającej monowarstwę DPPC oraz



Rys. 1. Zależności ścisłości powierzchni woda/powietrze zawierającej monowarstwę fosfolipidową i nanorurki węglowe w różnych stężeniach

Rys. 2. Zmiany maksymalnej ścisłości powierzchni woda/powietrze zawierającej monowarstwę fosfolipidową w zależności od stężenia nanorurek węglowych

badane wielościennie nanorurki węglowe w różnych stężeniach. Dla każdego typu nanorurek widoczne jest wyraźne przesunięcie obszaru wysokich wartości $\kappa(\pi)$ w stronę większych wartości ciśnienia powierzchniowego π , przy czym przesunięcie to maleje ze wzrostem powierzchni właściwej nanorurek.

Porównanie maksymalnej wartości ścisłości κ_{max} jako funkcji stężenia poszczególnych nanorurek przedstawiono na rys. 2. Wynika z niego, że wraz ze wzrostem powierzchni właściwej nanorurek, zmienia się charakter zależności maksymalnej ścisłości powierzchni od stężenia cząstek na powierzchni woda-powietrze.

W przypadku nanorurek MWL-80 o najmniejszej powierzchni właściwej obserwuje się najniższą wartość $\kappa_{max} \approx 28$ mN/m przy stężeniach rzędu 0,25-0,5 mg/ml i ponowny jej wzrost przy wyższych stężeniach. Jakościowo różna jest sytuacja dla nanorurek o największej powierzchni właściwej (MWL-8), gdy κ_{max} maleje ze wzrostem stężenia. Z kolei dla nanorurek MWL-30-CX o pośredniej wartości powierzchni właściwej, zależność κ_{max} od stężenia cząstek jest podobna jak dla MWL-80 aż do stężenia 1 mg/ml, po przekroczeniu którego obserwuje się gwałtowny spadek wartości κ_{max} . Wyniki te wskazują, że wartość powierzchni właściwej wpływa na charakter zmian właściwości mechanicznych

(reologicznych) monowarstwy DPPC. Występowanie podobnego ekstremum wartości parametrów reologicznych powierzchni dla pośredniej wartości stężenia nanomateriałów węglowych w układzie modelującym surfaktant płucny było wcześniej obserwowane w badaniach *Dymowski i in.* [2017] i było tłumaczone efektami wywołanymi agregacją nanostruktur po przekroczeniu ich granicznego stężenia w układzie.

W przypadku nanorurek hydrofobowych (MWL-80 i MWL-8) obserwowane efekty oddziaływania z monowarstwą fosfolipidową są najprawdopodobniej związane ze zmianą jej architektury w wyniku wbudowania się nanocząstek w hydrofobowy obszar filmu tworzonego przez zorientowane w stronę fazy gazowej łańcuchy węglowodorowe molekuł fosfolipidu. Wywołana w ten sposób zmiana siły oddziaływań międzycząsteczkowych w kompresowanym filmie powierzchniowym znajduje odbicie w zależności $\pi(A)$, a w konsekwencji – także i zależności $\kappa(\pi)$, co jednoznacznie świadczy o zaburzeniu mechanicznej (reologicznej) charakterystyki obszaru powierzchniowego. Wnioski te są zgodne z obserwacjami innych badaczy potwierdzającymi możliwość unieruchomienia nanocząstek o charakterze hydrofobowym w dwuwymiarowych domenach lipidu kondensującego w kompresowanej monowarstwie [Guzman i in., 2011; Orsi i in., 2016].

W przedstawionych badaniach nie stwierdzono, aby nanorurki węglowe o właściwościach hydrofilowych MWL-30-CX wpływały na właściwości mechaniczne warstwy DPPC w sposób znacząco różny od nanorurek hydrofobowych. W tym przypadku interakcje z fosfolipidem przebiegają w obszarze hydrofilowym monowarstwy, powodując zmianę sił wzajemnego oddziaływania pomiędzy polarnymi fragmentami molekuł DPPC.

Dla obu rodzajów nanomateriałów jest również prawdopodobne, że w trakcie kompresji monowarstwy dochodzi do przyłączenia (adsorpcji) cząsteczek DPPC do powierzchni nanorurek, co w sposób nieodwracalny zaburza organizację warstwy powierzchniowej. Efekty takie były postulowane m.in. przez *Guzmana i in.* [2011] i zostały potwierdzone doświadczalnie przez tych autorów zarówno dla nanocząstek hydrofobowych jak i hydrofilowych.

W wyniku omawianych procesów zachodzących w monowarstwie fosfolipidowej poddawanej deformacji wzdłużnej, ulega więc zmianie dynamika zmian napięcia powierzchniowego, co wpływa na procesy hydrodynamiczne generowane w przylegającej warstwie cieczy, a w konsekwencji – na szybkość procesów transportu masy w analizowanym układzie [*Sosnowski, 2006*].

W kontekście postulowanego w niniejszej pracy potencjalnego oddziaływania badanych nanorurek węglowych na funkcjonowanie surfaktantu płucnego w układzie oddechowym, obserwowane efekty oznaczają prawdopodobny wpływ osadzonych nanorurek węglowych na szybkość usuwania zanieczyszczeń deponujących się na powierzchni płuc. Zmniejszenie szybkości eliminacji wdychanych zanieczyszczeń z powierzchni płuc po pojawieniu się na niej osadzonych nanocząstek oznacza większą akumulację w układzie oddechowym wszystkich innych wdychanych zanieczyszczeń pyłowych, co może prowadzić do efektów niekorzystnych dla zdrowia.

Obserwowane w niniejszej pracy zależności ścisłości powierzchni zawierającej monowarstwę fosfolipidową od właściwości oraz stężenia nanorurek węglowych stanowią uzupełnienie wyników wcześniejszych badań [*Dobrowolska i Sosnowski, 2017*], w których wskazano m.in. na możliwość zaniku maksimum ścisłości przy kompresji monowarstwy DPPC w obecności nanorurek hydrofobowych. W omawianych badaniach nanomateriały były jednak wprowadzane do układu pomiarowego w inny sposób (za pośrednictwem subfazy wodnej). Sugeruje to, że sposób oddziaływania nanomateriałów z warstwą fosfolipidową na powierzchni woda-powietrze może także zależeć od zastosowanej techniki badawczej. Zwrócili na to uwagę m.in. *Farnoud i Fiegel* [2013] i doszli do wniosku, że z punktu widzenia oceny efektów oddziaływania zanieczyszczeń aerozolowych na surfaktant płucny najbardziej pożądane jest wprowadzanie cząstek bezpośrednio na powierzchnię międzyfazową ciecz-gaz, zaś najkorzystniej – bezpośrednio z fazy gazowej, co jest jednak często trudne ze względów technicznych [*Farnoud i Fiegel, 2016*].

Wnioski

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że wprowadzenie wielościennych nanorurek węglowych do warstwy fosfolipidowej zaadsorbowanej na powierzchni wody wywołuje zmiany dynamicznych właściwości powierzchniowo-czynnych wykazywanych przez tę warstwę podczas jej kompresji. Obserwowane efekty, przejawiające się m.in. w postaci spadku maksymalnej wartości ścisłości powierzchni, zależą od rodzaju nanorurek oraz od ich stężenia. Stopniowo zmniejszenie wartości κ_{max} powodują nanorurki hydrofobowe o największej powierzchni właściwej ($> 400 \text{ m}^2/\text{g}$), jednak w przypadku nanorurek o mniejszej powierzchni właściwej odnotowuje się charakterystyczne lokalne minimum κ_{max} przy stężeniach ok. $0,25 \pm 0,5 \text{ mg/ml}$, które występuje niezależnie od zwilżalności nanomateriału. Taką jakościową zmianę przebiegu zależności można tłumaczyć agregacją nanocząstek występującą po przekroczeniu ich określonego stężenia w układzie.

Zaobserwowane zmiany dynamicznych właściwości powierzchni w rozważanym układzie, będącym jednym z eksperymentalnych modeli surfaktantu płucnego, może wskazywać na efekty potencjalnie groźne dla zdrowia, będące skutkiem oddychania powietrzem zanieczyszczonym pyłem nanorurek węglowych. Dalsza analiza tych efektów może się przyczynić do lepszego zrozumienia mechanizmów oddziaływania nanomateriałów na układ oddechowy, ustalenia standardów bezpieczeństwa (w tym dla środowiska pracy) oraz zdefiniowania wymagań dotyczących eliminacji zagrożeń aerozolowych pochodzących z emisji nanomateriałów.

LITERATURA

- Amenta V., Aschberger K. (2015). Carbon nanotubes: potential medical applications and safety concerns. *WIREs Nanomedicine and Nanotechnology*, 7(3), 371–386. DOI: 10.1002/wnan.1317
- De Volder M.F.L., Tawfick S.H., Baughman R.H., Hart A.J. (2013). Carbon nanotubes: present and future commercial applications. *Science*, 339(6119), 535–539. DOI: 10.1126/science.1222453
- Dobrowolska K., Sosnowski T.R. (2017). Zmiany ścisłości powierzchniowej w układzie woda-powietrze zawierającym DPPC i wielościenne nanorurki węglowe. *Inż. Ap. Chem.*, 56(4), 114–115
- Dymowski K., Mazurkiewicz-Pawlicka M., Sosnowski T.R. (2017). Badanie wpływu nanomateriałów węglowych na surfaktant płucny metoda pulsującej kropli. *Inż. Ap. Chem.*, 56(3), 68–69
- Farnoud A.M., Fiegel J. (2013). Interaction of dipalmitoyl phosphatidylcholine monolayers with a particle-laden subphase. *J. Phys. Chem., B*, 117(40), 12124–12134. DOI: 10.1021/jp405924y
- Farnoud A.M., Fiegel J. (2016). Calf lung surfactant recovers surface functionality after exposure to aerosols containing polymeric particles. *J. Aerosol Med. Pulm. Drug Deliv.*, 29(1), 10–23. DOI: 10.1089/jamp.2014.1165
- Guzmán E., Liggieri L., Santini E., Ferrari M., Ravera F. (2011). Effect of hydrophilic and hydrophobic nanoparticles on the surface pressure response of DPPC monolayers. *J. Phys. Chem., C*, 115(4), 21715–21722. DOI: 10.1021/jp207713x
- Kondej D., Sosnowski T.R. (2016). Effect of clay nanoparticles on model lung surfactant: a potential marker of hazard from nanoaerosol inhalation. *Env. Sci. Poll. Res.*, 23(5), 4660–4669. DOI: 10.1007/s11356-015-5610-4
- Markets and Markets, 2017. *Carbon Nanotubes (CNT) Market by Type (Single, Multi Walled), Method (Chemical Vapor Deposition, Catalytic Chemical Vapor Deposition, High Pressure Carbon Monoxide), Application (Electronics, Chemical, Batteries, Energy, Medical) - Forecast to 2022* (10.2017) <http://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/carbon-nanotubes-139.html>
- Orsi D., Rimoldi T., Guzmán E., Liggieri L., Ravera F., Ruta B., Cristofolini L. (2016). Hydrophobic silica nanoparticles induce gel phases in phospholipid monolayers. *Langmuir*, 32(19), 4868–4876. DOI: 10.1021/acs.langmuir.6b00813
- Research and Markets, 2017. *Global Carbon Nanotubes market - By Type, Application, Method, End-Use, Region - Market Size, Demand Forecasts, Industry Trends and Updates (2016-2022)* (10.2017) <https://www.researchandmarkets.com/reports/4401828>
- Sosnowski T.R. (2006). *Efekty dynamiczne w układach ciecz-gaz z aktywną powierzchnią międzyfazową*. Wyd. Pol. Warszawskiej, Warszawa
- Świdwińska-Gajewska A.M., Czerczak S. (2017). Nanorurki węglowe – charakterystyka substancji, działanie biologiczne i dopuszczalne poziomy narażenia zawodowego. *Medycyna Pracy*, 68(2), 259–276. DOI: 10.13075/mp.5893.00504

Publikacja opracowana na podstawie wyników IV etapu programu wieloletniego pn. „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy” finansowanego w latach 2017-2019 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.