

Konrad DYMOWSKI<sup>1</sup>, Marta MAZURKIEWICZ-PAWLICKA<sup>2</sup>, Tomasz R. SOSNOWSKI<sup>1</sup>

e-mail: tomasz.sosnowski@pw.edu.pl

<sup>1</sup> Katedra Inżynierii Procesów Zintegrowanych, Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa<sup>2</sup> Laboratorium Grafenowe PW, Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa

## Badanie wpływu nanomateriałów węglowych na surfaktant płucny metodą pulsującej kropli

### Wstęp

Ciecz zawierająca surfaktant płucny jest drugim – obok śluzu oskrzelowego – rodzajem płynu biologicznego pokrywającego powierzchnię ścianek układu oddechowego. Wdychane cząstki aerozolowe, które docierają do poziomu pęcherzyków płucnych i tam się osadzają, bezpośrednio oddziałują z surfaktantem, którego cząsteczki są zaadsorbowane na powierzchni międzyfazowej ciecz-gaz.

Rolą surfaktantu w płucach jest utrzymywanie odpowiedniej zmienności napięcia powierzchniowego w trakcie cyklu wdychania i wydechu, z czym związane są zarówno mechaniczne aspekty funkcjonowania narządu oddechowego (m.in. praca wymagana do wykonania wdechu), jak i występowanie określonych zjawisk hydrodynamicznych – efektów *Marangoni* – współodpowiedzialnych za procesy przenoszenia masy przebiegające w tym układzie (m.in. wymiana gazowa, usuwanie osadzonych zanieczyszczeń pyłowych) [Sosnowski, 2006]. Dlatego też duże znaczenie mają nieinwazyjne dla organizmu badania doświadczalne umożliwiające określenie zmian funkcjonalności surfaktantu płucnego pod wpływem wdychanych substancji, w tym zarówno cząstek leków aerozolowych [np. Kramek-Romanowska i in., 2015] jak i substancji potencjalnie szkodliwych [np. Kondej i Sosnowski, 2016].

Rozwój nanotechnologii spowodował, że coraz częściej mamy styczność z nowymi materiałami, których wpływ na organizm jest jeszcze nierozpoznany. Do takich substancji należą nanomateriały węglowe np. grafen, tlenek grafenu, nanorurki węglowe. W niniejszej pracy podjęto próbę oceny fizykochemicznego oddziaływania takich materiałów z surfaktantem płucnym korzystając z metody pulsującej kropli.

### Badania doświadczalne

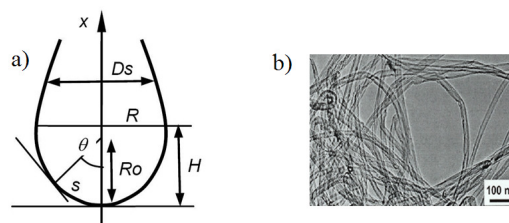
**Aparatura.** Badania wykonano w tensjometrze *PAT-1M* (*Interface*, Niemcy), umożliwiającym prowadzenie sinusoidalnych pulsacji powierzchni kropli w fizjologicznym zakresie częstotliwości (0,1±0,5 Hz) i przy amplitudzie zmian powierzchni ciecz-gaz wynoszącej do 15% powierzchni średniej. Dynamiczne napięcie powierzchniowe,  $\sigma(t)$ , jest wyznaczane automatycznie w oparciu o profil kropli (Rys. 1a). Pomiarzy prowadzono w warunkach termodynamicznych ( $36,6 \pm 0,2$  °C).

**Materiały.** Jako surfaktantu płucnego użyto komercyjnego preparatu *Curosurf*<sup>®</sup> (*Chiesi*, Włochy), będącego ekstraktem pozyskanym z płuc świni. W badaniach wykorzystano nanomateriały w postaci dwóch typów wielościennych nanorurek węglowych MWCNT (*Multiwall Carbon Nanotubes*) oraz nanopłatki:

- nanorurki hydrofobowe (*CNT Co., Ltd.*, Korea), oznaczone w tym badaniu jako CNT1,
- nanorurki hydrofilowe – te same nanorurki po utlenieniu w  $\text{HNO}_3$  (*Laboratorium Grafenowe PW*), oznaczone jako CNT2
- nanopłatki tlenku grafenu (materiał wytworzony w *Laboratorium Grafenowym PW*), oznaczonych jako GOx.

**Badania dynamicznego napięcia powierzchniowego** w trakcie oscylacji powierzchni wykonano w stosunku do samego surfaktantu płucnego (próbka kontrolna) oraz w stosunku do próbek zawierających takie samo stężenie surfaktantu oraz domieszki nanomateriałów w stężeniach 0,25; 0,5 i 1 mg/ml (czyli g/dm<sup>3</sup>). Dawki te odpowiadają wyliczonym stężeniom osadzonych nanocząstek podczas kilkugo-

dziennego oddychania silnie zanieczyszczonym powietrzem (np. w zapyłonym środowisku pracy [Kondej i Sosnowski, 2013]). Nanocząstki dodawano w postaci wodnych zawiesin poddawanych wstępnej deagregacji w polu ultradźwiękowym. Pomiar dla każdego wariantu (rodzaj cząstek i ich stężenie) powtarzano co najmniej trzykrotnie. W oparciu o uzyskane przebiegi  $\sigma(t)$  wyznaczono wartości efektywnych lepkości i sprężystości powierzchniowych, a następnie dokonano ich porównania w funkcji rodzaju i stężenia nanomateriału, a także częstości oscylacji.



Rys. 1. (a) schemat geometrii osiowoosymetrycznej kropli z zaznaczonymi wielkościami geometrycznymi ( $D_s$ ,  $R$ ,  $R_o$ ,  $H$ ,  $s$ ,  $\theta$ ) pozwalającymi na obliczenie napięcia powierzchniowego [Hansen, 2006] (b) zdjęcie TEM nanorurek CNT1 [Hansen, 2006]

### Wyniki

Przykładową zależność napięcia powierzchniowego od czasu rejestrowaną w trakcie oscylacji powierzchni kropli zaprezentowano na rys.2. Napięcie powierzchniowe – jako dynamiczna odpowiedź powierzchni na sinusoidalne wymuszenie – zmienia się periodycznie, przy czym odpowiedź ta nie musi pozostawać w fazie z tempem zmian pola powierzchni. Odpowiedź  $\Delta\sigma(t) = \sigma(t) - \sigma_{eq}$  ma w ogólności postać:

$$\Delta\sigma(t) = \Delta\sigma_m \cos(\omega t + \varphi) \quad (1)$$

gdzie:

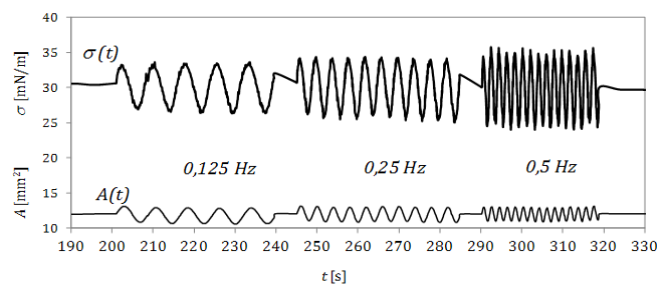
- $\varphi$  – kąt przesunięcia fazowego,
- $\Delta\sigma_m$  – amplituda wahań napięcia powierzchniowego,
- $\omega$  – częstością oscylacji

Na gruncie reologii 2D można udowodnić, że:

$$\tan \varphi = \frac{\mu_D \omega}{\epsilon_D} \quad (2)$$

gdzie:

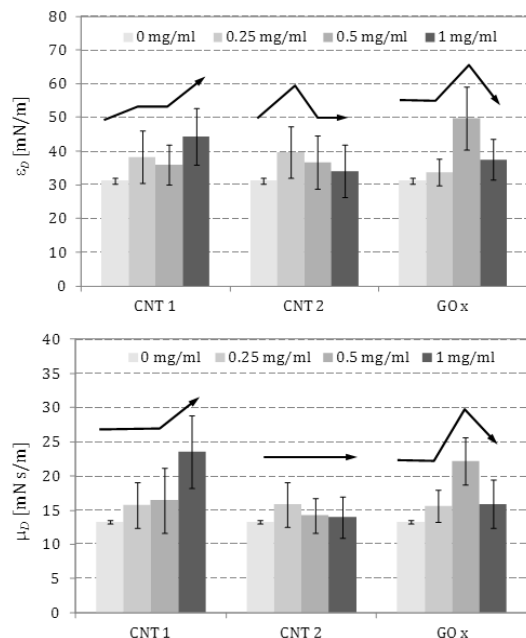
- $\mu_D$  – efektywna lepkość dylatacyjna, [Ns/m]
- $\epsilon_D$  – efektywną sprężystość dylatacyjną powierzchni [N/m].



Rys.2. Zmienność napięcia powierzchniowego  $\sigma(t)$  w trakcie sinusoidalnej pulsacji wielkości powierzchni ciecz-gaz  $A(t)$  w układzie zawierającym surfaktant płucny dla trzech częstości oscylacji

Wartości  $\mu_D$  i  $\epsilon_D$  są wyznaczane za pomocą szybkiej transformacji Fouriera (FFT) i dostarczają syntetycznej informacji o wpływie nanomateriałów na charakter zmian napięcia powierzchniowego w układzie stanowiącym model obiektu fizjologicznego.

Na rys. 3 zaprezentowano wyznaczone z pomiarów zależności lepkości i sprężystości powierzchniowej od stężenia poszczególnych nanomateriałów przy typowym cyklu oscylacyjnym (4 s/cykl tj. częstotliwość 0,25 Hz). Zależności o podobnym charakterze uzyskano także dla pozostałych badanych częstości (0,125 i 0,5 Hz).



Rys.3. Zależność efektywnej sprężystości i lepkości (powierzniowe parametry dylatacyjne) od zawartości poszczególnych nanocząstek w rozworze surfaktantu płucnego. Oscylacje odpowiadające typowemu cyklowi oddechowemu (0,25 Hz). Słupki błędów oznaczają odchylenie standardowe. Strzałki wskazują trendy zmian

Testowane nanomateriały zaburzają właściwości reologiczne powierzchni surfaktantu płucnego, jednak odnotowano różny wpływ ich stężenia w zależności od rodzaju cząstek. W przypadku nanorurek hydrofobowych CNT1 obserwuje się stopniowy wzrost wartości lepkości oraz sprężystości powierzchniowej wraz ze wzrostem stężenia cząstek w cieczy i najbardziej widoczne efekty towarzyszą stężeniu 1 g/dm<sup>3</sup>. Oba materiały hydrofilowe (CNT2 i GOx) wykazują odstępstwa od tego trendu. Dla CNT2 efekt zaburzenia jest najslabszy – biorąc pod uwagę statystyczny rozrzut wyników, w zasadzie nie można stwierdzić wpływu tych nanorurek na lepkość powierzchniową, a jedynie w niewielkim stopniu - na sprężystość (słaby efekt jest obserwowany tylko przy stężeniu 0,25 g/dm<sup>3</sup>). W przypadku GOx istnieje stężenie cząstek (0,5 g/dm<sup>3</sup>), dla którego odnotowano maksimum zaburzenia reologicznej odpowiedzi powierzchni. Przy wyższym stężeniu efekt ten jednak zanika.

## Dyskusja

Zróznicowaną zależność zmian dynamicznych właściwości powierzchni ciec-zgaz roztworu surfaktantu płucnego pod wpływem badanych nanocząstek należy tłumaczyć odmiennym charakterem fizykochemicznym nanomateriałów wprowadzanych do układu.

**Nanorurki hydrofobowe**, cechujące się dużym rozwinieniem powierzchni (do 250 m<sup>2</sup>/g [<http://www.carbonnanotube.biz/>]) tworzą konkurencyjną - w stosunku do granicy faz woda/powietrze - powierzchnię dla adsorpcji amfifilowych składników surfaktantu. Jak wskazano we wcześniejszych pracach [m.in. Sosnowski i in., 2011], prowadzi to do ubytku masy wolnego surfaktantu w roztworze, a w konsekwencji - do zmian szybkości wymiany masy pomiędzy obszarem powierzchniowym a fazą objętościową oraz zmian stężenia na powierzchni. Znajduje to oddźwięk w zaburzeniu dynamiki

zmian napięcia powierzchniowego na oscylującej powierzchni ciec-zgaz, czego wyrazem są odnotowane zmiany wartości  $\mu_D$  i  $\epsilon_D$ .

**Nanorurki hydrofilowe** CNT2 (utlenione w środowisku HNO<sub>3</sub>) posiadają na powierzchni dużo grup polarnych tworzących wiązania wodorowe, co sprzyja agregacji tych nanorurek w dyspersji wodnej z utworzeniem struktur o mniejszej efektywnej powierzchni właściwej. Ze względu na hydrofilowy charakter, powierzchnia CNT2 jest mniej atrakcyjna dla adsorpcji surfaktantu, co dodatkowo tłumaczy ich niewielki wpływ na dynamikę zjawisk powierzchniowych.

**Nanopłatki** GOx są również hydrofilowe, jednak – w przeciwieństwie do zagregowanych CNT2 – występują one w dużym rozproszeniu, co umożliwia im szybkie docieranie do powierzchni ciec-zgaz i oddziaływanie z obecnymi na niej molekułami surfaktantu. Po przekroczeniu pewnego poziomu stężenia GOx może to wpływać na dynamiczną wartość napięcia powierzchniowego. Spadek efektu dla jeszcze wyższych stężeń GOx można (spekulatywnie) tłumaczyć wzrastającą agregacją nanopłatek, prowadzącą do spadku szybkości ich transportu do powierzchni cieczy. W wyjaśnieniu obserwowanych efektów może być pomocne również uwzględnienie micelizacji surfaktantu i wpływu nanocząstek na kinetykę uwalniania monomerów surfaktantu z micel. Problem ten wymaga jednak dalszych badań.

## Podsumowanie i wnioski

W pracy przedstawiono wyniki pomiarów oddziaływania wybranych nanomateriałów węglowych z surfaktantem płucnym w warunkach odpowiadających dynamicznym zmianom powierzchni ciec-zgaz przebiegającym w układzie fizjologicznym podczas cyklu oddechowego.

Stwierdzono, że nanorurki węglowe oraz nanopłatki tlenku grafenu wpływają na dynamikę zmian napięcia powierzchniowego i efektywne parametry reologiczne obszaru powierzchniowego ciec-zgaz w sposób zależny od cech fizykochemicznych tych nanomateriałów oraz ich stężenia. Typowy efekt zaobserwowano jedynie dla hydrofobowych wielościennych nanorurek węglowych, cechujących się dużą powierzchnią właściwą. Nanorurki hydrofilowe wykazujące skłonność do agregacji okazały się nie mieć wpływu na surfaktant. W przypadku nanopłatek GOx, maksimum efektu występuje dla wartości pośredniej stężenia (0,5 g/dm<sup>3</sup>).

Wyniki pozwalają zatem stwierdzić, że inhalacja nanomateriałów może prowadzić do zaburzenia funkcji powierzchniowo czynnych surfaktantu płucnego, jednak oddziaływanie to jest wysoce specyficzne i zależne od zainhalowanej dawki.

## LITERATURA

- Hansen F.K., (2006). *DROPimage™ Advanced – A program for the measurement of interfacial tension and contact angles by image analysis*. (06.2017) <https://folk.uio.no/fhansen/dropbroc.html>
- Carbon Nano Tubes catalogue. CNT Co., Ltd., Korea (06-2017) <http://www.carbonnanotube.biz/catalogue.pdf>
- Kondej D., Sosnowski T.R. (2013). Alteration of biophysical activity of pulmonary surfactant by aluminosilicate nanoparticles. *Inhalation Toxicol.*, 25, 77-83. DOI: 10.3109/08958378.2012.756087
- Kondej D., Sosnowski T.R. (2016). Effect of clay nanoparticles on model lung surfactant: a potential marker of hazard from nanoaerosol inhalation. *Env. Sci. Pollut. Res.*, 23, 4660-4669. DOI: 10.1007/s11356-015-5610-4
- Kramek-Romanowska K., Odziomek M., Sosnowski T.R., (2015). Dynamic tensiometry studies on interactions of novel therapeutic inhalable powders with model pulmonary surfactant at the air-water interface. *Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 480, 149-158. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2015.02.017
- Sosnowski T.R. (2006). *Efekty dynamiczne w układach ciec-zgaz z aktywną powierzchnią międzyfazową*. OWPW, Warszawa
- Sosnowski T.R., Koliński M., Gradoń L. (2011). Interactions of benzo[a]pyrene and diesel exhaust particulate matter with the lung surfactant system. *Ann. Occup. Hyg.*, 55, 329-338. DOI: 10.1093/annhyg/mer007

Praca finansowana z projektu Narodowego Centrum Nauki nr 2017/13/B/ST8/00808.