

EMILIA ŚMIECHOWICZ

**Wydział Technologii Materiałowych
i Wzornictwa Tekstyliów
Katedra Włókien Sztucznych
Politechniki Łódzkiej**

**ANTYBAKTERYJNE WŁÓKNA CELULOZOWE
PRZEZNACZONE DO CELÓW MEDYCZNYCH –
SYNTEZA NANOCZĄSTEK SREBRA
Z WYKORZYSTANIEM N-TLENKU
N-METYLOMORFOLINY (NMMO) JAKO CZYNNIKA
REDUKUJĄCEGO**

Promotor: **dr hab. inż. Piotr Kulpiński, prof. PŁ**

Recenzenci: **prof. dr hab. inż. Bogumił Łaszkiewicz**
dr hab. inż. Dariusz Wawro

W ramach pracy doktorskiej otrzymano antybakteryjne włókna celulozowe modyfikowane nanocząstkami srebra, generowanymi w układzie NMMO. Głównym celem pracy było określenie wpływu podstawowych warunków wytwarzania nanocząstek srebra na ich wielkość, kształt, rozmieszczenie w matrycy polimerowej, a także na barwę otrzymywanych włókien. Charakterystyki otrzymanych w różnych warunkach nanocząstek srebra dokonano na podstawie analizy składu chemicznego w mikroobszarach włókien metodą mikroanalizy rentgenowskiej EDS (ang. Energy Dispersive Spectrometry) oraz analizy widm UV-VIS. Podstawowe parametry nanocząstek określono metodami Dynamicznego Rozpraszania Światła (DLS) oraz Transmisyjnej Mikroskopii Elektronowej (TEM). W pracy zbadano również parametry mechaniczne i właściwości higroskopijne włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra oraz oznaczono średni stopień polimeryzacji celulozy w otrzymywanych włóknach. Ponadto, przeprowadzono analizę struktury krystalicznej włókien metodą dyfraktometrii rentgenowskiej oraz wykonano analizę barwy włókien. Oceniono również odporność zastosowanej modyfikacji nanocząstkami srebra włókien na warunki przechowywania oraz na procesy prania włókien. W niniejszej pracy wykazano, że wielkość i kształt

otrzymywanych nanocząstek srebra, a w efekcie uzyskiwane efekty barwne włókien są skorelowane z warunkami prowadzenia procesu ich syntezy oraz z właściwościami antybakteryjnymi modyfikowanych włókien. Na podstawie wykonanych badań stwierdzono, że najkorzystniejsze warunki otrzymywania we włóknach możliwie małych nanocząstek bez ryzyka tworzenia przez nie aglomeratów, bądź agregatów osiągnięto, gdy syntezę nanocząstek w NMMO prowadzono w czasie 12 godzin w temperaturach 50 i 70°C oraz w czasie 20 minut w temperaturze 100°C. Z uwagi na potencjalne medyczne zastosowanie modyfikowanych włókien wykonano badania aktywności antybakteryjnej włókien oraz badania cytotoxyczności wyciągów z włókien wobec linii komórkowych ludzkich (HeLa) i mysich (L929). Na podstawie przeprowadzonych badań cytotoxyczności stwierdzono, że wytworzone z udziałem modyfikowanych włókien celulozowych materiały medyczne powinny być stosowane nie dłużej niż 24 godziny. Włókna modyfikowane nanocząstkami syntezowanymi w tych warunkach charakteryzowały się bardzo dobrymi wskaźnikami bakteriostatyczności i bakteriobójczości zarówno wobec bakterii gram ujemnych, jak i gram dodatnich. W pracy wykazano, że istnieje możliwość takiego sterowania procesem syntezy nanocząstek, który pozwoli na otrzymanie wysokiej jakości antybakteryjnych włókien celulozowych przeznaczonych do zastosowań medycznych.

1. WPROWADZENIE

Antybakteryjne włókna celulozowe z nanocząstkami srebra, będące przedmiotem zrealizowanej pracy doktorskiej, otrzymano dzięki zastosowaniu technologii NMMO. Związek NMMO (N-tlenek N-metylomorfilny), będący stosowanym w procesie otrzymywania włókien Lyocell, bezpośrednim rozpuszczalnikiem celulozy, wykorzystano również jako układ, w którym wytwarzano nanocząstki srebra.

Technologia wytwarzania włókien celulozowych typu Lyocell jest oparta na zastosowaniu NMMO jako bezpośredniego organicznego rozpuszczalnika celulozy. Związkiem wyjściowym do wytwarzania NMMO jest morfolina (czterohydro-1,4-oksazyna). Szczególne właściwości N-tlenku-N-metylomorfoliny, jakimi są jego cykliczna budowa, przynależność do trzeciorzędowych N-tlenków pozwalają na otrzymanie roztworów zawierających do 35% celulozy. Aktywność NMMO wynika głównie z silnie polarnego wiązania N→O. Tlen tej grupy jest zdolny tworzyć jedno lub dwa wiązania wodorowe z substancją zawierającą grupy OH, np. wodą lub alkoholami. N-tlenek-N-metylomorfoliny tworzy wiązania wodorowe z celulozą. Według informacji podanej w książce „Natural Fibers, Plastics and Composites” pod redakcją Wallenbergera i Westona [1], NMMO jest związkiem nietoksycznym. Obecność silnie polarnego, ale i nietrwalego wiązania N→O sprawia, że NMMO ma również właściwości

utleniające. W podwyższonej temperaturze, w trakcie procesu rozpuszczania celuloza ulega częściowo utlenieniu do produktów niskocząsteczkowych. Warunki, w których jest prowadzony proces rozpuszczania celulozy oraz właściwości utleniające NMMO przyspieszają egzotermiczny proces degradacji celulozy [2].

Włókna typu Lyocell są w pełni biodegradowalnymi włóknami z celulozy regenerowanej. Określane są jako włókna najnowszej, trzeciej generacji, zaraz po standardowych włóknach wiskozowych pierwszej generacji oraz włóknach wiskozowych ciętych modalnych (Modal) i ciągłych kordowych typu Kord-Super drugiej generacji [3]. Produkcja włókien Lyocell z wykorzystaniem NMMO jest jedną z bardziej obiecujących, przyjaznych środowisku naturalnemu technologii włókienniczych. Zarówno właściwości włókien Lyocell oraz ich proces produkcyjny są na tyle wyjątkowe, że Federalna Komisja Handlu w USA (ang. The Federal Trade Commission) uznała za celowe, aby umieścić te włókna w odrębnej grupie włókien [4]. Włókna Lyocell wykorzystuje się do produkcji różnego rodzaju biomateriałów, włóknin, w przemyśle papierniczym, a także jako materiał do opakowań, głównie z powodu polepszenia właściwości mechanicznych otrzymywanych z ich udziałem produktów [5].

Na podkreślenie zasługuje fakt, iż w zrealizowanej pracy doktorskiej połączono wysoko rozwiniętą technologię wytwarzania włókien Lyocell z nanotechnologią, która zapewnia rewolucyjne efekty w udoskonalaniu właściwości barierowych włókien Lyocell, mogących stanowić szczególną ochronę konsumentów przed szkodliwymi czynnikami zewnętrznymi.

Niniejsza praca opiera się na połączeniu technologii otrzymywania bioaktywnych włókien Lyocell z nanotechnologią, przy wykorzystaniu której syntezuje się nanocząstki srebra, a następnie wprowadza je do tworzywa włókien. Wyjątkowe właściwości antybakteryjne nanocząstek srebra zapewniają otrzymanym z ich udziałem włóknom celulozowym bardzo dobre właściwości bioaktywne, co przyczynia się do możliwości ich wykorzystania w szczególności na nowoczesne materiały opatrunkowe.

2. CEL I HIPOTEZA PRACY DOKTORSKIEJ

CEL PRACY: Głównym celem niniejszej pracy doktorskiej jest określenie podstawowych warunków wytwarzania nanocząstek srebra w NMMO. Poznanie warunków syntezy pozwoli na sterowanie procesem w taki sposób, aby uzyskać w optymalnych warunkach wysokiej jakości bioaktywne włókna celulozowe zawierające możliwie niskie stężenie nanocząstek srebra o jak najbardziej równomiernym, statystycznym ich rozłożeniu w matrycy celulozowej z jak najmniejszą ilością wytworzonych przez nie agregatów i aglomeratów.

HIPOTEZA PRACY: Możliwa jest kontrola i programowanie procesu syntezy nanocząstek srebra z wykorzystaniem NMMO jako czynnika reduku-

jącego, zwracając szczególną uwagę na podstawowe parametry wygenerowanych we włóknach nanocząstek srebra, tj. ich średnicę i kształt oraz wielkość i udział ilościowy wytworzonych przez nie agregatów i aglomeratów. Dodatkowo jest możliwość oceny wpływu warunków reakcji na wyżej wymienione parametry nanocząstek srebra i ich rozłożenie w matrycy włókien oraz w efekcie na barwę otrzymanych włókien.

3. METODYKA BADAŃ

3.1. Sposoby syntezy nanocząstek srebra

Przygotowanie roztworu prekursora

Roztwór azotanu srebra (AgNO_3) o stężeniu $0,01 \text{ M/dm}^3$

Odpowiednią naważkę AgNO_3 rozpuszczono w takiej ilości wody destylowanej, by otrzymać roztwór o stężeniu $0,01 \text{ mol/dm}^3$. Roztwór przechowywano w lodówce bez dostępu światła. Tak przygotowany roztwór stosowano do syntezy nanocząstek srebra w NMMO dodając go w ilości ($10,8 \text{ cm}^3$) pozwalającej na uzyskanie stężenia srebra we włóknach na poziomie $0,05\%$ (500 ppm). Obliczona, teoretyczna zawartość nanocząstek srebra na poziomie 500 ppm pozwala na otrzymanie włókien celulozowych o właściwościach antybakteryjnych [6].

3.1.1. Synteza nanocząstek srebra w NMMO przy zmiennych parametrach czasu i temperatury

Do wygenerowania nanocząstek zastosowano metodę chemicznej redukcji azotanu srebra. Rolę czynnika redukującego spełniał 50-procentowy wodny roztwór NMMO, będący jednocześnie stosowanym w procesie otrzymywania roztworu przędzalniczego rozpuszczalnikiem celulozy.

Jak wynika z literatury i wcześniej przeprowadzanych w Katedrze Włókien Sztucznych badań [7] na proces syntezy nanocząstek srebra może mieć wpływ wiele czynników, m.in. temperatura i czas syntezy nanocząstek, światło, warunki procesu otrzymywania roztworu przędzalniczego, a zwłaszcza obecność celulozy w roztworze. W niniejszej pracy zdecydowano się na syntezę nanocząstek srebra w NMMO (przed dodaniem celulozy) ponieważ umożliwia to zmianę parametrów procesu, szczególnie temperatury w szerszym zakresie. Zbadano wpływ temperatury i czasu procesu syntezy na wielkość i kształt nanocząstek, a także zdolność do tworzenia przez nie agregatów. Syntezę prowadzono w ten sposób, aby wyeliminować inne czynniki, mogące mieć niekontrolowany wpływ na podstawowe parametry otrzymywanych we włóknach celulozowych nanocząstek.

Nanocząstki srebra syntezowano w 50-procentowym wodnym roztworze NMMO, bez dostępu światła w zmiennych warunkach, stosując zmienne parametry temperatury i czasu syntezy, co przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Warunki syntezy nanocząstek srebra w NMMO

| Parametry syntezy nanocząstek srebra w NMMO | |
|---|--|
| Temperatura [K] (°C) | Czas syntezy [s] (h) |
| 293,15 (20) | 43200 (12), 86400 (24), 172800 (48), 259200 (72), 604800 (168) |
| 323,15 (50) | 43200 (12), 86400 (24), 172800 (48), 259200 (72), 604800 (168) |
| 343,15 (70) | 43200 (12), 86400 (24), 172800 (48), 259200 (72), 604800 (168) |
| 373,15 (100) | 1200 (0,33) |

Nanocząstki srebra syntezowano w takiej ilości NMMO, która odpowiadała ilości stosowanego do otrzymywania roztworu przewodniczącego rozpuszczalnika. Odmierzony wcześniej roztwór NMMO podgrzewano w łaźni wodnej aż do momentu uzyskania żądanych temperatur równych odpowiednio 20°C, 50°C i 70°C. Następnie, do NMMO wprowadzono 0,01 M AgNO₃, w ilości pozwalającej na uzyskanie teoretycznie obliczonej zawartości nanocząstek srebra we włóknie równej 0,05% (500 ppm). Tak przygotowane mieszaniny umieszczano (bez dostępu światła) w cieplarni, prowadząc syntezy nanocząstek przy zmiennych parametrach temperatury i czasu (tabela 1). W przypadku, kiedy zastosowano najwyższą temperaturę syntezy równą 100°C, roztwór NMMO termostatowano w 100°C. Następnie do przygotowanego w ten sposób roztworu stopniowo wkraplało odpowiednią ilość 0,01 M AgNO₃ jednocześnie mieszając. Proces syntezy nanocząstek w NMMO w temperaturze 100°C prowadzono bez dostępu światła w czasie 0,33 godzin, po czym mieszaninę schłodzono do temperatury do 20°C (tabela 1).

3.2. Otrzymywanie roztworów przewodniczących celulozy w NMMO z nanocząstkami srebra

Proces otrzymywania roztworów przewodniczących odbywał się w mieszalniku laboratoryjnym wyposażonym w płaszcz grzejny i dwa poziome mieszadła. Otrzymanie roztworów przewodniczących modyfikowanych nanocząstkami srebra polegało na dodaniu syntezowanych wcześniej roztworów NMMO z nanocząstkami srebra do rozdrobnionej masy celulozowej. Proces rozpuszczania

celulozy w NMMO przebiegał w obecności stabilizatora termicznego (Tenox), pod zmniejszonym ciśnieniem aż do momentu uzyskania temperatury 112°C i odebrania odpowiedniej ilości wody rzędu 180±5 cm³. Prowadzenie procesu rozpuszczania celulozy w NMMO w takich warunkach, w czasie około 120 min. pozwoliło na otrzymanie jednorodnych roztworów przędzalniczych z udziałem nanocząstek srebra o stężeniu celulozy równym 8%.

3.3. Formowanie włókien z roztworów przędzalniczych

Z otrzymanych roztworów przędzalniczych formowano włókna metodą sucho-mokłą na przędzarce laboratoryjnej (III etap procesu otrzymywania włókien Lyocell z nanocząstkami srebra). Roztwór przędzalniczy wytłaczano przez dyszę przędzalniczą (18 otworów; długość kanalika dyszy 3,5 mm; średnica kanalika dyszy 0,4 mm). Strumyki roztworu przędzalniczego po wyjściu z dyszy były kierowane do szczeliny powietrznej, a następnie do wodnej kąpieli zestalającej o temperaturze pokojowej. Otrzymane włókna płukano gorącą zdemineralizowaną wodą oraz suszono. Parametry procesu formowania włókien celulozowych Lyocell zestawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Parametry procesu formowania włókien

| Parametry procesu formowania włókien | Wartość |
|--|---------|
| Temperatura dyszy przędzalniczej, °C | 115 |
| Prędkość w kanaliku dyszy, m/min | 1,0 |
| Prędkość w pierwszym punkcie odbierającym, m/min | 55 |
| Długość szczeliny powietrznej, cm | 11 |
| Temperatura kąpieli zestalającej, °C | 20 |

4. CHARAKTERYSTYKA ZASTOSOWANYCH METOD BADAWCZYCH

4.1. Metody charakterystyki nanocząstek srebra

4.1.1. Mikroanaliza rentgenowska

W niniejszej pracy technikę EDS wykorzystano do wykonania punktowej analizy pierwiastkowej wytypowanych włókien celulozowych zawierających nanocząstki srebra.

Do badań wykorzystano przystawkę EDS Transmisyjnego Mikroskopu Elektronowego TECNAI G² FEG firmy EDAX typu PHOENIX z detektorem (Si, Li) i okienkiem typu UTW umożliwiającym analizę lekkich pierwiastków. Przystawka służy do wykonywania analiz promieniowania rentgenowskiego

EDX (ang. Energy Dispersive X-Ray analysis). Analizę prowadzono w trybie ilościowym.

Próbki wytypowanych włókien cięto na cienkie folie w środowisku ciekłego azotu, wykorzystując ultramikrotom z diamentowym ostrzem. Przygotowane próbki umieszczano na miedzianych siatkach.

4.1.2. Spektrofotometria UV/Vis

W celu wykonania pomiarów spektrofotometrycznych roztworów NMMO z nanocząstkami srebra zastosowano spektrofotometrię UV/VIS. Metoda ta pozwoliła na scharakteryzowanie otrzymanych w NMMO nanocząstek srebra, czego efektem było uzyskanie widm UV/VIS roztworów syntezowanych w różnych warunkach. Analizując otrzymane widma UV/VIS oceniano stopień przereagowania prekursora nanocząstek srebra w NMMO w zależności od zastosowanej temperatury i czasu syntezy nanocząstek srebra. Nanocząstki srebra posiadają zdolność absorpcji promieniowania widzialnego, będącą efektem zachodzącego na nich zjawiska rezonansu plazmonu powierzchniowego z maksimum w zakresie od 400 nm do 500 nm. Długość fali może zmieniać się w zależności od wielkości i kształtu badanych nanocząstek srebra, jak również obecności ich agregatów.

W niniejszej pracy pomiary spektrofotometryczne wykonano przy użyciu spektrofotometru Jasco UV/VIS (Japonia), w zakresie długości fali 290-700 nm. Syntezowane roztwory NMMO z nanocząstkami srebra rozcieńczano w stosunku 1:1 wodą destylowaną. Roztworem odniesienia był rozcieńczony wodą destylowaną w takim samym stosunku NMMO.

4.1.3. Metoda Dynamicznego Rozpraszania Światła (DLS)

W pracy za pomocą metody dynamicznego rozpraszania światła (DLS) oznaczono wielkość cząstek oraz rozkład ich średnicy i objętości. Do tego celu wykorzystano urządzenie PSS Nikomp 380 (Santa Barbara, Kalifornia).

Badaniom poddano syntezowane przy zmiennych parametrach czasu i temperatury roztwory NMMO z nanocząstkami srebra oraz modyfikowane nimi włókna celulozowe. W celu możliwości przeprowadzenia pomiaru wielkości nanocząstek srebra we włóknach celulozowych metodą DLS konieczne było poddanie ich obróbce wstępnej, polegającej na naświetleniu włókien promieniowaniem UV o dawce 50 J/cm^2 . Celem napromieniowania włókien była konieczność obniżenia średniego stopnia polimeryzacji celulozy oraz uzyskania odpowiedniej lepkości roztworu badanego. Naważki poddanych obróbce włókien (około 0,07 g) rozpuszczono w 25 cm^3 kompleksowego winianu sodowo-żelazowego ($\text{EWNN}_{\text{modyf}}$) i wytrząsano na wytrząsarce laboratoryjnej w czasie około 1 h, celem całkowitego rozpuszczenia obecnych w układzie mikrożeli.

Pomiary wielkości nanocząstek srebra zarówno w syntezowanych roztworach NMMO z nanocząstkami srebra, jak i w rozpuszczonych w EWNN_{modyf} włóknach wykonano w temperaturze 25°C. Analiza za pomocą techniki DLS umożliwiła wyznaczenie: intensywności światła rozpraszanego na cząstkach o różnej wielkości, rozmiaru cząstek, ich udziału objętościowego i liczbowego w badanej populacji cząstek.

W pracy zdecydowano się na przedstawianie wyników w postaci rozkładu Nikompa, w którym badana populacja cząstek dzielona jest na poszczególne frakcje w zależności od intensywności rozpraszanego na cząstkach światła. Taki sposób rozwiązania pozwala uzyskać dokładniejsze informacje na temat rozkładu i wielkości badanych cząstek w porównaniu z rozkładem Gaussa.

W celu wykonania właściwej analizy wymienionych wyżej parametrów w badaniach uwzględniono lepkość dynamiczną badanych roztworów oraz ich współczynnik załamania światła.

Badania lepkości kinetycznej roztworów przeprowadzono przy użyciu wiskozymetru rozcieńczeniowego Ubbelohde'a. Wykonano po trzy pomiary czasu przepływu płynu przez kapilarę. Wynik lepkości kinetycznej był wynikiem uśrednionym z trzech pomiarów. Uwzględniając gęstość analizowanych roztworów wyznaczono lepkość dynamiczną rozpuszczonych w EWNN włókien, która mieściła się w przedziale od około 3 do 4 cP, jak i syntezowanych układów NMMO z nanocząstkami srebra (od około 1-2 cP).

Pomiary współczynników refrakcji badanych roztworów wykonano na refraktometrze Abbe'go w temperaturze 25°C.

Wielkość współczynników refrakcji dla włókien rozpuszczonych w EWNN oraz dla syntezowanych roztworów z nanocząstkami srebra przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Wielkość współczynnika załamania światła dla syntezowanych układów NMMO-AgNO₃ oraz dla rozpuszczonych w EWNN włókien modyfikowanych tymi układami

| Temperatura syntezy nanocząstek srebra | Syntezone układy NMMO-AgNO ₃ | Włókna modyfikowane nanocząstkami |
|--|---|-----------------------------------|
| 20°C | 1,3900 | 1,4200 |
| 50°C | 1,3930 | 1,4240 |
| 70°C | 1,3890 | 1,4188 |
| 100°C | 1,3839 | 1,4180 |

4.1.4. Transmisyjna Mikroskopia Elektronowa (TEM)

W niniejszej pracy badania przy wykorzystaniu transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM) włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra przepro-

wadzano na Transmisyjnym Mikroskopie elektronowym TENCAI G2 FEG 20 (200 kV).

W pracy wykonane badania obejmowały obserwacje rozkładu nanocząstek srebra we włóknach celulozowych. Obserwacje wykonano z wykorzystaniem techniki „jasnego pola” (procedura P/19/IB-05). Występowanie we włóknach celulozowych nanocząstek srebra potwierdziły badania STEM-HAADF (Skaningowa Transmisyjna Mikroskopia Elektronowa z przystawką pierścieniowego detektora szerokokątowego HAADF, ang. Scanning Transmission Electron Microscopy – High-Angle Annular Dark-Field) pozwalająca na badania w „ciemnym polu”. Ponadto wykonano obserwacje wysokorozdzielcze HRTEM (Wysokorozdzielcza Transmisyjna Mikroskopia Elektronowa, ang. High-Resolution Transmission Electron Microscopy) włókien z nanocząstkami srebra.

Analizę otrzymanych zdjęć włókien wykonanych z wykorzystaniem TEM przeprowadzono za pomocą programu NIS-Elements i sporządzono histogramy rozkładu wymiarów nanocząstek srebra we włóknach celulozowych.

4.2. Metody charakterystyki włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra

4.2.1. Oznaczenie średniego stopnia polimeryzacji celulozy we włóknach

Wiskozymetryczna metoda oznaczenia średniego stopnia polimeryzacji (\overline{DP}) celulozy opiera się na wyznaczeniu granicznej liczby lepkościowej celulozy rozpuszczonej w kompleksowym winianie sodowo-żelazowym (EWNN_{modyf}) zgodnie z normą PN-92/P-50101/02 (ISO 5351/2:1981). Pomiar jest prowadzony przy użyciu wiskozymetru rozcieńczeniowego Ubbelohde’a. Oznaczenie polega na pomiarze w temperaturze 20°C czasu wypływu z wiskozymetru kapilarnego rozcieńczonego rozpuszczalnika i roztworu celulozy o określonym stężeniu. Zakres stężeń wynosi od 0,4 do 1,0 g/100 ml. Zasada pomiaru opiera się na wyznaczeniu lepkości zredukowanej η_{zred} roztworu badanego polimeru w rozpuszczalniku przy czterech stężeniach.

Średni stopień polimeryzacji oblicza się na podstawie poniższej zależności:

$$\overline{DP} = \frac{[\eta]}{8,14 \cdot 10^{-4}} \quad (1)$$

gdzie: $[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \eta_{zred}$ – lepkość istotna (graniczna liczba lepkościowa) (GLL).

Oznaczenie lepkości jest sposobem oceny poziomu degradacji celulozy zachodzącej w procesie roztwarzania i bielenia masy włóknistej. Degradacja ta wpływa na przydatność masy włóknistej do wytwarzania włókien.

4.2.2. Metoda oznaczania parametrów wytrzymałościowych włókien

Średnią masę liniową otrzymanych włókien wyznaczono w oparciu o normę ISO 1973:1997 (E), wykorzystując metodę grawimetryczną dla dziesięciu pęczków z 50 włókien (długość pęczka 50 mm). Wskaźniki wytrzymałościowe, czyli wytrzymałość włókna na rozerwanie oraz wydłużenie przy zerwaniu, wyznaczono według normy PN-85/P-04761/04. Zasada wyznaczania wskaźników wytrzymałościowych polega na rozciąganiu na zrywarce pojedynczego włókna w stanie wyprostowanym oraz pomiarze siły zerwania i odpowiadającego jej wydłużenia zerwania. Pomiarzy wykonano w warunkach normalnych, przy użyciu maszyny wytrzymałościowej ZWICK/Z 2.5, która jest wyposażona w oprogramowanie TestXpert v. 7.1.

4.2.3. Metoda oznaczania właściwości higroskopijnych włókien

OZNACZANIE RETENCJI WODY WE WŁÓKNACH

Oznaczanie retencji wody we włóknach przeprowadzono w oparciu o normę PN-72/P-04800. Próbkę włókien o masie około 0,2 g zalano wodnym 0,1-procentowym roztworem Rokafenolu NX-8 (eter nonylofenylopolioksyetylenoglikolowy). Tak przygotowane włókna pozostawiono na 24 godziny w kąpieli, po czym delikatnie je odcisnęto i odwirowano w wirówce przez 10 min z prędkością obrotową 2200 obr/min. Po odwirowaniu próbki włókien zważono i suszono przez 4,5 godziny w temperaturze 105°C. Wartość retencji obliczono ze wzoru:

$$R(\%) = \frac{m_w - m_s}{m_s} \cdot 100 \quad (2)$$

gdzie: R – retencja wody [%], m_w – masa wilgotnej próbki po odwirowaniu [g], m_s – masa suchej próbki [g].

OZNACZENIE SORPCJI WILGOCI WŁÓKIEN

Oznaczenie sorpcji wilgoci włókien wykonano według normy PN-71-P-04635. Próbkę o masie ok. 2 g umieszczono w eksykatorze o wilgotności względnej 65% w 20°C na czas 24 h. Po tym czasie próbki ważono i obliczano zawartość wilgoci w badanym włóknie ze wzoru:

$$W(\%) = \frac{m_m - m_s}{m_s} \cdot 100 \quad (3)$$

gdzie: W – wilgotność próbki [%], m_m – masa próbki trzymanej w powietrzu o wilgotności względnej 65% [g], m_s – masa suchej próbki [g].

4.2.4. Dyfraktometria rentgenowska XRD

W niniejszej pracy rentgenowska analiza fazowa wytypowanych włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra oraz włókna odniesienia bez modyfikatora została wykonana przy użyciu dyfraktometru rentgenowskiego PANanalytical X'Pert Pro MPD diffractometer ze źródłem promieniowania rentgenowskiego z lampą z anodą miedzianą, pracującą przy napięciu 40 kV i prądzie 30 mA. Włókna przeznaczone do badań o masie 0,3 g pocięto na mikrotomie. Badania stopnia krystaliczności prowadzono w zakresie kątów 2θ od 5° do 90° . Do badań użyto detektora półprzewodnikowego (ang. X'Celetor detektor) opartego na technologii Multiple Real Time Strip z możliwością równoczesnego pomiaru intensywności w zakresie 2θ od 2 do 122° .

4.2.5. Absorpcyjna spektrometria atomowa (AAS)

W niniejszej pracy do oznaczenia zawartości srebra we włóknach wykorzystano technikę absorpcyjnej spektrometrii atomowej z atomizacją w płomieniu (FAAS) (rodzaj płomienia acetylen-powietrze), dlatego też powyżej skupiono się wyłącznie na opisie atomizerów płomieniowych. Do badań umożliwiających oszacowanie zawartości srebra w tworzywie włókien celulozowych zastosowano spektrometr GBC 932 plus. Pomiar wykonywano przy długości fali 328,1 nm.

Przygotowanie próbek do badań polegało na przygotowaniu odważki wytypowanych włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra (około 0,025 g) i następnie poddaniu jej mineralizacji mikrofalowej w układzie zamkniętym (mineralizator Anaton Paar Multiwave 3000). Do mineralizacji próbek użyto następujących odczynników:

Etap I: HNO_3 (65%) – 4 ml, H_2O_2 (30%) – 2 ml, HF (40%) – 1 ml.

Moc 1200 W, czas mineralizacji 40 minut, maksymalne ciśnienie 60 barów, maksymalna temperatura 220°C (15-minutowe chłodzenie).

Etap II: H_3BO_3 (roztwór nasycony) – 6 ml. Kwas borowy dodawany jest w celu skompleksowania pozostałego kwasu fluorowodorowego.

Moc 1400 W, czas mineralizacji 20 minut, maksymalne ciśnienie 60 barów, maksymalna temperatura 220°C (15-minutowe chłodzenie).

W pracy oceniono również odporność zastosowanej modyfikacji włókien nanocząstkami srebra na wielokrotne prania (wyznaczono ilość srebra uwolnionego z matrycy włókien do kąpielii piorącej).

Proces prania dla wytypowanych do badań włókien wykonano według normy PN-EN ISO 105-C06/Ap1:1999, metodą A1S. Próbkę włókien o masie 2 g poddano cyklowi 50 prań w ECE Standard Detergent (SDC Enterprises Ltd). Po każdym praniu odcinano przeznaczoną do badań kąpiel piorącą, a próbki włókien płukano dwukrotnie w wodzie destylowanej i suszono w temperaturze

80°C. Przygotowane do kolejnego prania włókna umieszczano w nowo przygotowanej kąpielii piorącej. Do oznaczenia zawartości srebra w kąpielach piorących wykorzystano technikę absorpcyjnej spektrometrii atomowej z atomizacją elektrotermiczną – ETAAS (w kuwecie grafitowej). ETAAS jest metodą często stosowaną w oznaczaniu śladowych ilości metali w nowoczesnych laboratoriach analitycznych. Atomizacja elektrochemiczna charakteryzuje się znacznie niższą granicą wykrywalności niż atomizacja płomieniowa (Cygański A., 2009). Pomiar wykonano przy długości fali 328,1 nm na spektrometrze GBC SensAA. Przygotowanie próbki:

Mineralizacji poddano 1,0 ml próbki. Warunki i odczynniki takie same jak w przypadku badań prowadzonych dla włókien, przy czym:

Etap I: czas mineralizacji 55 minut (chłodzenie 15 minut).

Etap II: czas mineralizacji 35 minut (chłodzenie 15 minut).

4.2.6. Spektrofotometria odbiciowa

W niniejszej pracy barwę otrzymanych włókien oceniono przy użyciu spektrofotometru Mackbeth Color EYE 2000. W celu wykonania pomiaru próbki włókien ułożono równolegle na przygotowane do tego celu sztywne podkładki. Próbkę oraz pomiar wykonano zgodnie z normą PN EN ISO 105-JO1: 2002. Zmierzono wartości emisji światła od powierzchni włókien, które pokazano na krzywych widmowych. Wyznaczono współrzędne trójchromatyczne barwy x, y, które przedstawiono na wykresie chromatyczności barwy oraz wykonano pomiar różnic barwy dla poszczególnych włókien względem barwy włókna bez modyfikatora $W_{\text{odn.}}$.

4.2.7. Metoda ilościowa oceny aktywności antybakteryjnej włókien

Aktywność antybakteryjną otrzymanych w ramach pracy włókien wykonano według normy wg JIS L 1902:2002 (ang. Testing for antibacterial activity and efficacy on textile products). W normie JIS L 1902 nie są podane kryteria określające bardzo dobre, dobre lub brak właściwości przeciwbakteryjnych badanych próbek. Niektórzy badacze zakładają, że próba ma właściwości bakteriobójcze, jeżeli wartość współczynnika bakteriobójczości (L) jest większa od zera, natomiast właściwości bakteriostatyczne, jeżeli wartość współczynnika bakteriostatyczności (S) jest większa od 2,2 [8; 9].

4.2.8. Test MTT do oceny cytotoksyczności wyciągów z włókien z nanocząstkami srebra

Zastosowanie testu MTT pozwoliło na ocenę wpływu wyciągów 24 i 48 godzinnych uzyskanych z włókien celulozowych $W_{\text{odn.}}$ bez modyfikatora oraz

wybranych włókien W-Ag/20/24 z nanocząstkami srebra, które syntezowano w NMMO w temperaturze 20°C i czasie 24 h na żywotność komórek linii L929 i linii HeLa. Test MTT przeprowadzono zgodnie z Normą Europejską: ISO 10993-5:2009(E), Biological evaluation of medical devices, Part 5: Test for In vitro cytotoxicity.

5. WYNIKI BADAŃ NANOCZĄSTEK SREBRA ORAZ MODYFIKOWANYCH NIMI WŁÓKIEN CELULOZOWYCH WRAZ Z OMÓWIENIEM

Sposób oznaczania próbek omawianych w pracy:

Dla wygody Czytelnika oraz przejrzystości pracy każdą z próbek określono akronimem składającym się z trzech członów, np. **R-Ag/20/12**:

CZŁON 1 – ulega zmianie w zależności od rodzaju omawianej próbki, tj.:

R-Ag – oznacza **roztwór** NMMO z nanocząstkami srebra,

W-Ag – oznacza **włókno celulozowe** modyfikowane nanocząstkami srebra,

R-W-Ag – oznacza **włókno celulozowe** modyfikowane nanocząstkami srebra, **rozpuszczone** w winianie sodowo-żelazowym (EWNN).

Oddzielną nomenklaturę przyjęto również dla próbek odniesienia, bez udziału nanocząstek srebra, tj.:

R_{odn.} – oznacza roztwór NMMO,

W_{odn.} – oznacza włókno celulozowe standardowe bez udziału modyfikatora,

R-W_{odn.} – oznacza włókno celulozowe standardowe bez udziału modyfikatora, rozpuszczone w winianie sodowo-żelazowym (EWNN).

CZŁON 2 – oznacza temperaturę (wyrażoną w °C) syntezy nanocząstek srebra w NMMO, tj.:

20 – oznacza 20°C (293,15 K),

50 – 50°C (323,15 K),

70 – 70°C (343,15 K),

100 – 100°C (373,15 K).

CZŁON 3 – oznacza czas (wyrażony w h) syntezy nanocząstek srebra w NMMO, tj.:

12 – 12 h (43200 s),

24 – 24 h (86400 s),

48 – 48 h (172800 s),

72 – 72 h (259200 s),

168 – 168 h (604800 s) oraz

20 – 0,33 h (1200 s) w przypadku syntezy nanocząstek srebra w 100°C.

Przykłady oznaczenia próbek:

R-Ag/20/12 – oznacza roztwór NMMO z nanocząstkami srebra, syntezowanymi w NMMO w temperaturze 293 K (20°C) w czasie 43200 s (12 h),

W-Ag/20/12 – oznacza włókno celulozowe modyfikowane nanocząstkami srebra, syntezowanymi w NMMO w temperaturze 293 K (20°C) w czasie 43200 s (12 h),

R-W-Ag/20/12 – oznacza włókno celulozowe modyfikowane nanocząstkami srebra, syntezowanymi w NMMO w temperaturze 293 K (20°C) w czasie 43200 s (12 h), rozpuszczone w winianie sodowo-żelazowym.

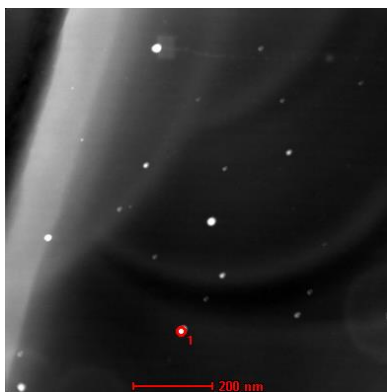
5.1. Charakterystyka nanocząstek srebra

5.1.1. Analiza składu chemicznego w mikroobszarach włókien

Analiza składu chemicznego w mikroobszarach wytypowanych włókien celulozowych z nanocząstkami srebra została wykonana poprzez zastosowanie techniki EDS. Wykonanie analizy składu chemicznego w mikroobszarach włókien z udziałem nanocząstek srebra pozwoliło na wstępną analizę pierwiastkową modyfikowanych włókien. Do badań wytypowano trzy włókna celulozowe modyfikowane nanocząstkami srebra w różnych temperaturach syntezy, tj. w 20°C; 50°C; 70°C, ale w takim samym czasie syntezy równym 48 godzin. Przykładowe wyniki badań dla jednego z wytypowanych włókien przedstawiono na rys. 1 i 2.

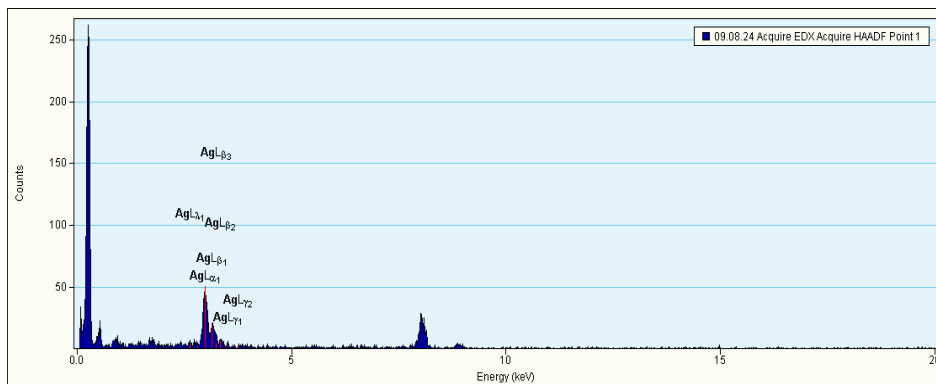
ANALIZA SKŁADU CHEMICZNEGO WŁÓKIEN Z NANOCZĄSTKAMI SREBRA SYNTEZOWANYMI W TEMPERATURZE 50°C W CZASIE 48 H

Rysunek 1 przedstawia obraz włókna w „ciemnym polu” wykonany techniką TEM z nanocząstkami srebra syntezowanymi w NMMO w temperaturze 50°C w czasie 48 godzin (W-Ag/50/48) z wybranym i oznaczonym kolorem szarym (1) obszarem analizy.



Rys. 1. Obraz włókna w „ciemnym polu” wykonany techniką TEM W-Ag/50/48 z oznaczonym kolorem szarym (1) obszarem analizy rentgenowskiej

Wynik analizy rentgenowskiej w postaci widma EDS dla oznaczonego obszaru na powyżej przedstawionym obrazie nanocząstek srebra w matrycy włókna, wykonanym metodą TEM przedstawiono na rys. 2.



Rys. 2. Widma EDS włókna W-Ag/50/48

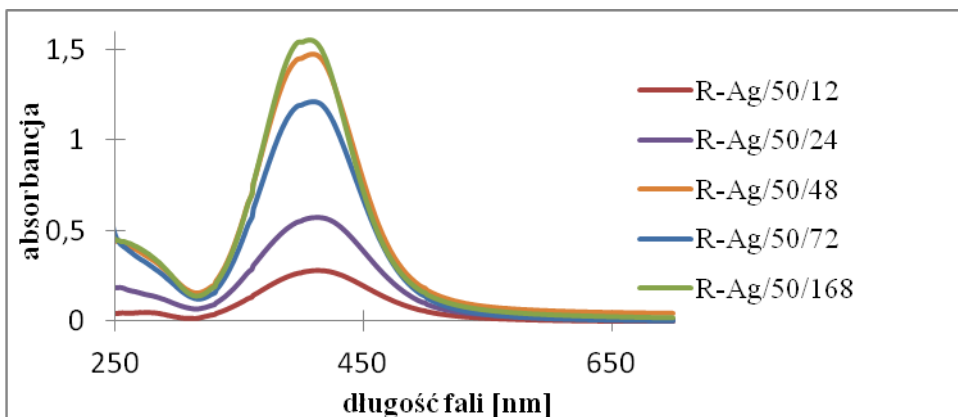
Przedstawione powyżej badania składu chemicznego w wybranych obszarach wytypowanych włókien potwierdziły, że obserwowane i oznaczone kolorem szarym na obrazach TEM cząstki są nanocząstkami srebra. Na zamieszczonych powyżej widmach wykonanych techniką EDS dla każdego z badanych włókien widoczne są wyraźne piki świadczące o obecności srebra we włóknach.

5.1.2. Pomiary spektrofotometryczne: analiza widm UV/VIS

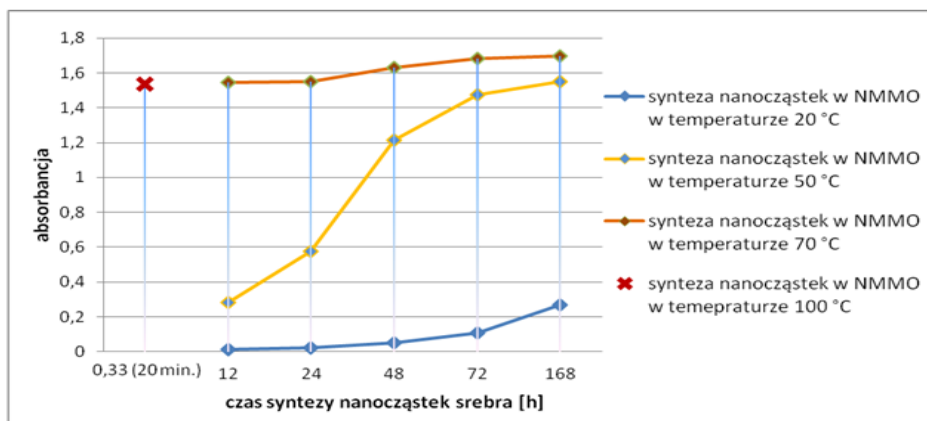
Pomiary spektrofotometryczne umożliwiły wstępną charakterystykę układów NMMO – prekursor nanocząstek srebra. Na podstawie uzyskanych widm dla promieniowania UV/VIS nanocząstek srebra wygenerowanych w NMMO przy zmiennych parametrach czasu i temperatury obserwuje się stopień przereagowania prekursora nanocząstek srebra w NMMO oraz wnioskuje na temat względnej wielkości wytworzonych nanocząstek srebra (analiza na podstawie położenia maksimum absorpcji). Szerokość uzyskanych widm pozwala ocenić, czy badane układy modyfikowane nanocząstkami są mono- czy polidispersyjne. Pomiary absorbancji w funkcji długości fali wykonano dla wszystkich roztworów NMMO z nanocząstkami srebra, syntezowanymi przy zmiennych parametrach temperatury i czasu. Cieczą odniesienia był 50-procentowy wodny roztwór NMMO. Poniżej przedstawiono przykładowe pomiary absorbancji dla wybranych układów NMMO z nanocząstkami (rys. 3) oraz porównanie pomiarów absorbancji dla wszystkich badanych układów.

BADANIA ROZTWORÓW NMMO Z NANOCZĄSTKAMI SREBRA SYNTEZOWANYMI W TEMPERATURZE 50°C

Na rys. 3 przedstawiono zależności absorpcji w funkcji długości fali w zakresie widmowym 250-700 nm dla nanocząstek srebra otrzymanych w NMMO w temperaturze 50°C przy różnym czasie syntezy (12, 24, 48, 72 i 168 godzin).



Rys. 3. Porównanie zależności absorpcji w funkcji długości fali dla nanocząstek srebra syntezowanych w NMMO w temperaturze 50°C przy różnym czasie syntezy



Rys. 4. Porównanie wartości absorpcji dla nanocząstek srebra otrzymywanych w NMMO w zależności od temperatury i czasu prowadzonej syntezy

Analiza otrzymanych wyników (rys. 4) pozwala stwierdzić, iż w temperaturze syntezy równej 20°C procesy zarodkowania i wzrostu nanocząstek srebra w NMMO są bardzo wolne, co pociąga za sobą konieczność stosowania dłuższych czasów syntezy. Wydłużenie czasu syntezy nanocząstek powoduje jedynie niewielki wzrost stopnia przereagowania prekursora w NMMO. Jednak

zastosowanie nawet tak długich czasów syntezy jest niewystarczające do całkowitej redukcji prekursora w NMMO. Jak wynika z przedstawionego powyżej wykresu synteza nanocząstek srebra w NMMO w temperaturze 50°C przebiega szybciej niż w temperaturze 20°C. Najkrótszy czas syntezy nanocząstek srebra w NMMO (12 godzin) w 50°C pozwala uzyskać porównywalny stopień przereagowania prekursora w NMMO jaki obserwuje się w najdłuższym czasie syntezy nanocząstek w 20°C (absorbancja około 0,25). Wraz z wydłużeniem czasu syntezy w 50°C obserwuje się znaczący wzrost wartości absorbancji, szczególnie w przypadku zastosowania dłuższych czasów redukcji AgNO_3 w NMMO, tj. od 48 do 168 godzin (absorbancja odpowiednio od około 1,2 do około 1,55). Oznacza to, że wraz z wydłużeniem czasu redukcji prekursora w NMMO wzrasta ilość wygenerowanych nanocząstek srebra w badanych układach. Synteza nanocząstek srebra w NMMO w temperaturze 70°C powoduje dalsze przyśpieszenie reakcji redukcji azotanu srebra w NMMO w porównaniu z syntezą nanocząstek w temperaturze 50°C, o czym świadczy wysoka absorbancja rzędu około 1,6. Zauważono, że w przypadku syntezy w 70°C stopień absorbancji nieznacznie wzrasta od około 1,55 dla najkrótszych czasów syntezy (12, 24 godzin) do ponad 1,6 dla dłuższych czasów (w czasie 168 godzin absorbancja rzędu 1,7). Absorbancja około 1,6 uzyskana dla nanocząstek srebra wygenerowanych w NMMO w temperaturze 70°C w najkrótszym czasie równym 12 godzin jest porównywalna z absorbancją dla nanocząstek otrzymanych w NMMO w temperaturze 50°C, jednak w najdłuższym czasie syntezy równym 168 godzin. Oznacza to, że podwyższając temperaturę syntezy do 70°C można w czasie 12 godzin uzyskać podobny stopień przereagowania AgNO_3 , generując w układzie porównywalną ilość nanocząstek srebra. W temperaturze 100°C syntezę nanocząstek srebra w NMMO prowadzono w stałym czasie równym 20 minut. Zauważono, że otrzymane maksimum absorbancji jest porównywalne z maksimum absorbancji uzyskanej dla nanocząstek srebra syntezowanych w temperaturze 70°C, jednak przy znacznie dłuższych czasach syntezy równych 12 i 24 godzin. Zastosowanie tak wysokiej temperatury syntezy nanocząstek srebra w NMMO pozwoliło na znaczne skrócenie czasu syntezy, zaledwie do 20 minut (rys. 4).

5.1.3. Badania morfologii i rozkładu wielkości nanocząstek srebra

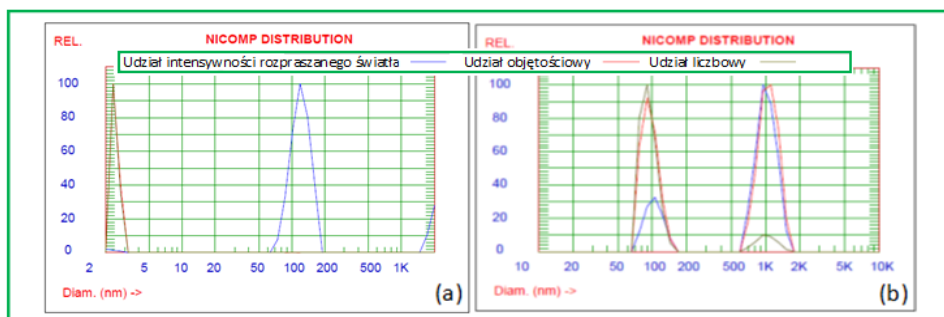
Do badań wielkości i kształtu, jak i rozkładu wielkości nanocząstek srebra wykorzystano dwie metody badawcze, tj. metodę Dynamicznego Rozpraszania Światła (DLS) oraz metodę Transmisyjnej Mikroskopii Elektronowej (TEM). Analiza nanocząstek srebra metodą DLS obejmowała wyznaczenie rozmiaru nanocząstek i ich agregatów, ich udziału liczbowego i objętościowego oraz intensywności rozpraszanego na badanych cząstkach światła. W metodzie tej pomiar rozmiarów nanocząstek możliwy jest jedynie w roztworze, w związku

z czym badane cząstki są „uwalniane” z matrycy polimerowej włókien. Poruszające się swobodnie w roztworze nanocząstki mogą mieć tendencję do aglomeracji, co powoduje, że rejestrowane są sygnały pochodzące wyłącznie od aglomeratów nanocząstek, na których ma miejsce silne rozpraszanie światła. Jak wynika z wcześniejszych doświadczeń, obecność nawet stosunkowo niewielkiej ilości aglomeratów może zakłócać rozpraszanie światła na nanocząstkach o małych średnicach. W przypadku badań TEM obserwacja nanocząstek zachodzi we włóknie, co oznacza, że obserwowany jest rzeczywisty obraz nanocząstek „zamrożonych” w matrycy polimerowej. Dlatego też technika TEM wydaje się być odpowiednią metodą pozwalającą na porównanie wyników uzyskanych metodą DLS. Charakterystyka nanocząstek srebra techniką TEM opiera się na całkowicie odmiennych zasadach od metody DLS, co pozwala na niezależne porównanie wyników uzyskanych dwiema całkowicie różniącymi się metodami. Dodatkowym walorem metody TEM jest możliwość bezpośredniej obserwacji obiektów, jak również oszacowania kształtu oraz rozmieszczenia nanocząstek srebra w matrycy polimerowej włókna.

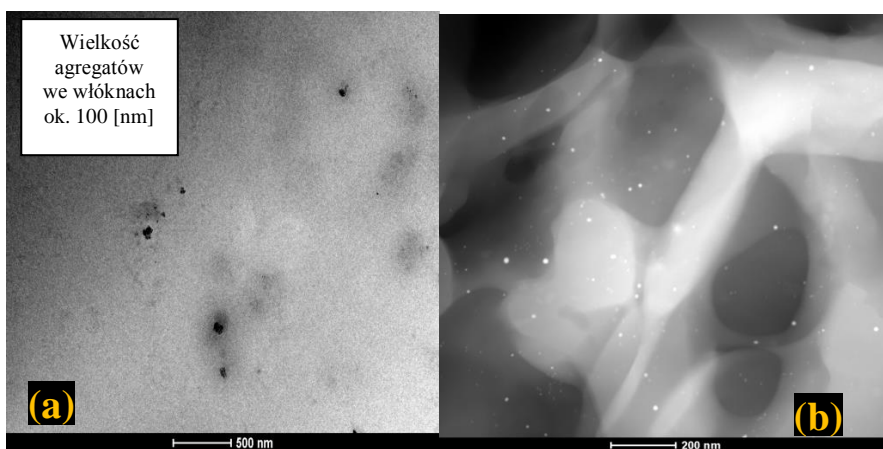
Poniżej przedstawiono wybrane przykłady wyników badań otrzymanych metodami DLS (tabela 4, rys. 5). i TEM (rys. 6, 7, 8 i 9).

Tabela 4. Analiza cząstek i w układzie rozpuszczonych włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra, syntezowanymi w NMMO w temperaturze 50°C w różnym czasie oraz dyspersji nanocząstek syntezowanych w przykładowym układzie NMMO-AgNO₃. Dla porównania zamieszczono również wyniki dla włókien niemodyfikowanych (W_{odn.}) oraz wodnego roztworu NMMO niezawierającego nanocząstek srebra

| Próba | Fracja | Udział objętościowy | | Udział liczbowy | | Intensywność dynamicznego rozpraszania światła | |
|---------------------------|--------|---------------------|-----------------------|-----------------|-----------------------|--|-----------------------|
| | | Średnica [nm] | Udział procentowy [%] | Średnica [nm] | Udział procentowy [%] | Średnica [nm] | Udział procentowy [%] |
| R-W_{odn.} | 1 | 3,8 | 100 | 3,8 | 100 | 4,3 | 100 |
| R_{odn.} | 1 | 423,7 | 100 | 410,5 | 100 | 408,4 | 100 |
| R-Ag/50/12 | 1 | 2,5 | 99,9 | 2,4 | 100 | 2,3 | 1,5 |
| | 2 | 106,3 | 0,1 | 102,9 | <0,1 | 121,8 | 77,0 |
| | 3 | 1929,3 | <0,1 | 1920,5 | <0,1 | 1920,5 | 21,5 |
| R-W-Ag/50/12 | 1 | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- |
| | 2 | 95,1 | 47,9 | 92,9 | 91,0 | 104,6 | 24,5 |
| | 3 | 1085,1 | 52,1 | 1007,8 | 9,0 | 1007,8 | 75,5 |



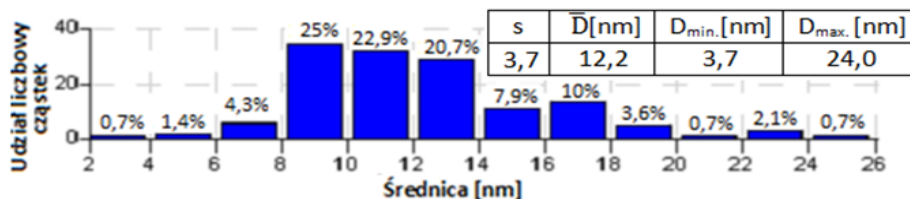
Rys. 5. Dystrybuanty rozkładu wielkości nanocząstek srebra otrzymanych w syntezowanym roztworze: (a) R-Ag/50/12 oraz w modyfikowanym nimi włóknie celulozowym, (b) R-W-Ag/50/12



Rys. 6. Obrazy nanocząstek srebra we włóknach W-Ag/50/12 wykonane metodą TEM: (a) obrazy nanocząstek i ich agregatów w „jasnym polu”, (b) obraz nanocząstek w „ciemnym polu”

W oparciu o zdjęcia otrzymane poprzez zastosowanie techniki TEM wyznaczono histogramy rozkładu rozmiarów cząstek (histogramy te opracowano na podstawie zliczeń nanocząstek na kilkunastu zdjęciach). Na histogramach wyrażono rozkład wielkości cząstek do ich udziału liczbowego w matrycy włókien celulozowych. Udział procentowy cząstek we włóknie przedstawiono nad każdym słupkiem opisującym rozmiary cząstek w danym przedziale średnic. W niektórych przypadkach włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra są widoczne agregaty cząstek, co ma znaczący wpływ na udział liczbowy cząstek. Z tego powodu uznano za celowe przedstawianie rozkładu wielkości wygenerowanych we włóknach cząstek w odniesieniu do ich udziału liczbowego

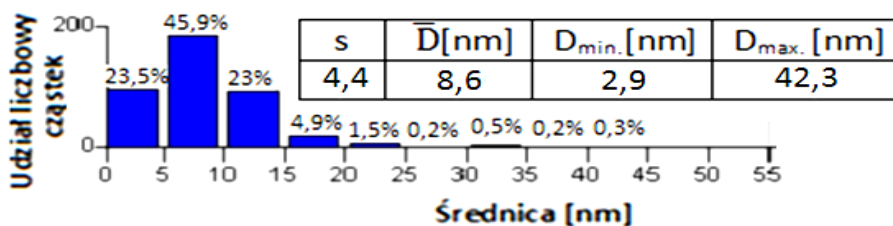
z uwzględnieniem również ich udziału procentowego, który pozwala z kolei porównywać procentową zawartość różnej wielkości cząstek.



Rys. 7. Histogram rozkładu wielkości cząstek srebra otrzymanych we włóknach celulozowych W-Ag/50/12 ze średnicami cząstek i ich odchyleniem standardowym



Rys. 8. Obraz nanocząstek srebra we włóknach W-Ag/70/12 wykonane metodą TEM: obrazy nanocząstek w „jasnym polu”



Rys. 9. Histogram rozkładu wielkości cząstek srebra otrzymanych we włóknach celulozowych W-Ag/70/12 ze średnicami cząstek i ich odchyleniem standardowym

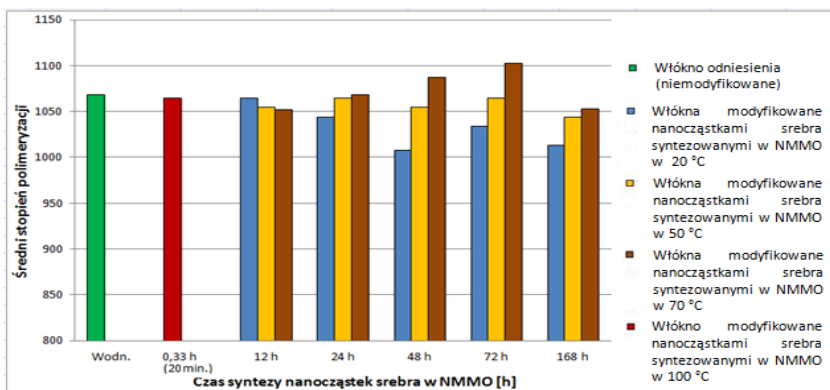
W oparciu o otrzymane techniką transmisyjnej mikroskopii elektronowej obrazy włókien można stwierdzić, że zastosowanie syntezy nanocząstek srebra w NMMO w podwyższonych temperaturach 50, 70 i 100°C w różnych czasach sprzyja tworzeniu się bardzo małych cząstek monokrystalicznych (średnice około 2 nm) oraz będących ich zlepiskami cząstek polikrystalicznych, a także bardzo niewielkich agregatów cząstek. W wielu przypadkach, na obrazach z TEM

widoczne były ekstremalnie małe nanocząstki srebra o średnicach poniżej 2 nm. Rozkładu tej wielkości nanocząstek nie oceniono ze względu na niewystarczającą rozdzielczość obrazów. Badania wielkości nanocząstek srebra w roztworach NMMO z nanocząstki srebra (R-Ag) metodą DLS w większości przypadków potwierdziły obecność małych nanocząstek w analizowanych układach. Jednak w wielu przypadkach badania podstawowych parametrów nanocząstek srebra we włóknach z nanocząstkami srebra przeprowadzone metodami DLS i TEM dały różne wyniki. Wielkości uzyskane metodą TEM nie są zafałszowane przez obecność większych nanocząstek bądź ich aglomeratów. Natomiast w metodzie DLS nawet niewielki udział aglomeratów powoduje, że małe nanocząstki nie są widoczne. Metodą DLS można potwierdzić obecność małych nanocząstek, natomiast nie można ich wykluczyć.

5.2. Charakterystyka włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra

5.2.1. Oznaczenie średniego stopnia polimeryzacji celulozy we włóknach

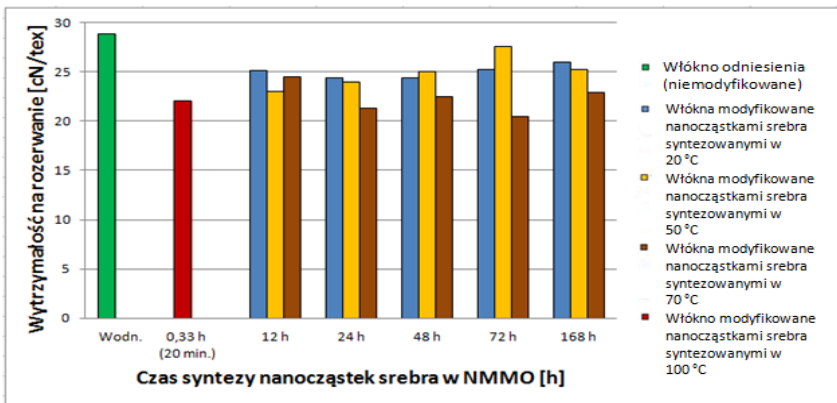
Oznaczenie średniego stopnia polimeryzacji \overline{DP} celulozy we włóknach wykonano metodą wiskozymetryczną zgodnie z normą PN-92/P-50101/02 (ISO 5351/2:1981). Celem badania \overline{DP} celulozy we włóknach było stwierdzenie wpływu nanocząstek srebra oraz samego procesu otrzymywania włókien na degradację celulozy. Badanie wykonano dla wszystkich otrzymanych włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra oraz dla porównania dla włókna celulozowego odniesienia ($W_{\text{odn.}}$). Uzyskane wyniki przedstawiono na rys. 10.



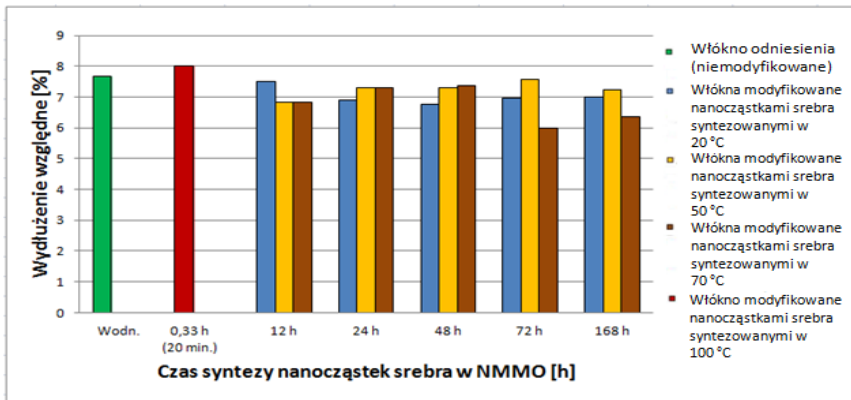
Rys. 10. Wpływ warunków syntezy nanocząstek srebra w NMMO na średni stopień polimeryzacji celulozy w otrzymanych włóknach

5.2.2. Oznaczenie wskaźników wytrzymałościowych modyfikowanych włókien

Celem badań wskaźników mechanicznych włókien było oszacowanie wpływu wprowadzonych do ich tworzywa nanocząstek srebra na średnie wartości parametrów mechanicznych włókien, tj. ich masę liniową, wytrzymałość na rozerwanie oraz wydłużenie względne. Badania te przeprowadzono dla wszystkich włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra. Badanie wykonano również dla włókna celulozowego odniesienia bez modyfikatora. Uzyskane wyniki przedstawiono na rys. 11 i 12.



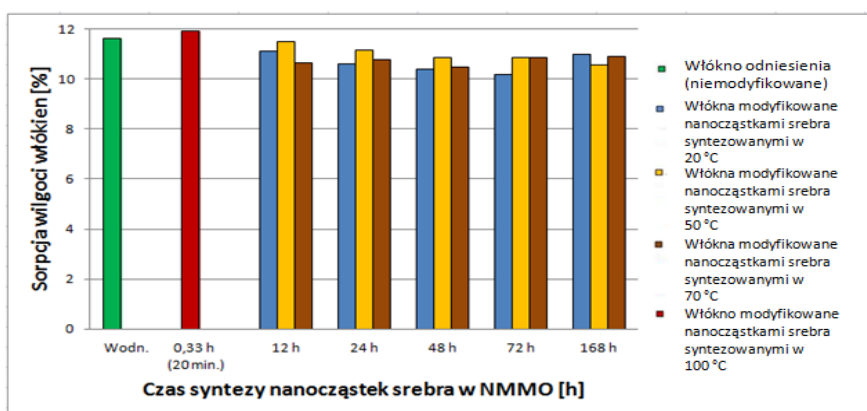
Rys. 11. Wpływ warunków syntezy nanocząstek srebra na wytrzymałość na rozerwanie otrzymanych włókien



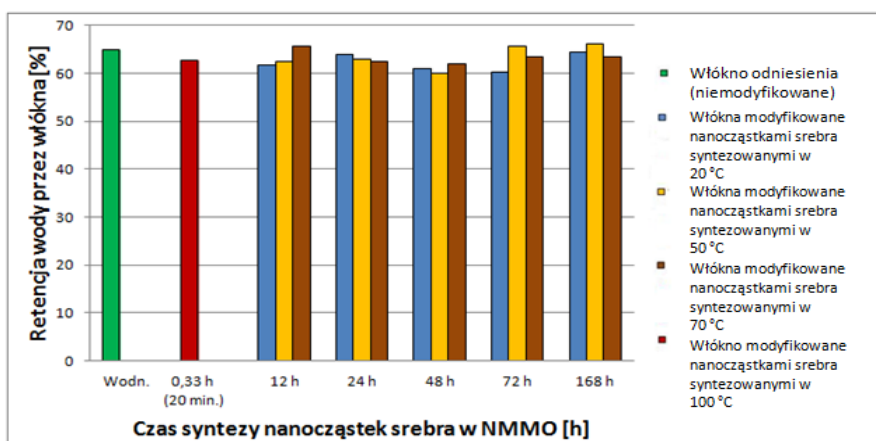
Rys. 12. Wpływ warunków syntezy nanocząstek srebra na wydłużenie względne włókien

5.2.3. Oznaczenie parametrów higroskopijnych modyfikowanych włókien

Z uwagi na to, iż głównym przeznaczeniem włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra będzie ich zastosowanie do celów medycznych, a w szczególności do otrzymania opatrunków, istotne jest oznaczenie wpływu warunków zastosowanej modyfikacji na parametry higroskopijne włókien. Z tego względu wykonano badania sorpcji wilgoci włókien oraz retencji wody przez włókna dla włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra w porównaniu z włóknem odniesienia bez modyfikatora. Wyniki badań przedstawiono na rys. 13 i 14.



Rys. 13. Wpływ warunków syntezy nanocząstek srebra na sorpcję wilgoci włókien

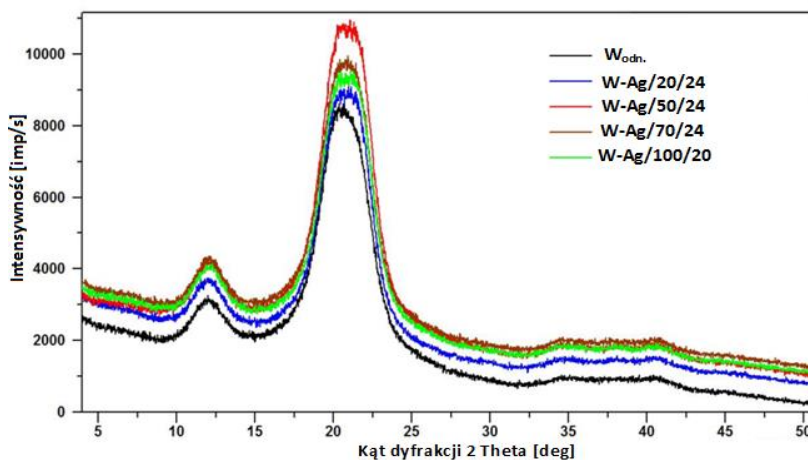


Rys. 14. Wpływ warunków syntezy nanocząstek srebra na retencję wody przez włókna

Na podstawie otrzymanych wyników badań: średniego stopnia polimeryzacji celulozy we włóknach, wskaźników wytrzymałościowych oraz parametrów higroskopijnych włókien można zauważyć niewielkie różnice wartości uzyskanych dla włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra w porównaniu z włóknem odniesienia. Można stwierdzić, że bardzo mała zawartość nanocząstek srebra w tworzywie włókien, jak i zastosowane warunki syntezy nanocząstek nie wywierają znaczącego wpływu na badane właściwości włókien.

5.2.4. Analiza struktury krystalicznej włókien metodą dyfraktometrii rentgenowskiej

Wykonanie badania struktury krystalicznej włókien metodą dyfraktometrii rentgenowskiej miało na celu oszacowanie wpływu nanocząstek srebra wprowadzonych do tworzywa włókien na strukturę krystaliczną celulozy we włóknach. Badania rentgenowskie wykonano dla włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra syntezowanymi w temperaturach 20, 50, 70 i 100°C w czasie 24 godzin. Dla porównania wykonano również dyfraktogramy włókien odniesienia bez modyfikatora ($W_{\text{odn.}}$). Dyfraktogramy przedstawiono na rys. 15.



Rys. 15. Wpływ warunków syntezy nanocząstek srebra na retencję wody przez włókna

Analiza stopnia krystaliczności włókien metodą dyfrakcji promieni rentgena nie wykazała znaczących różnic w budowie krystalicznej celulozy badanych włókien z nanocząstkami srebra w porównaniu z włóknem odniesienia. Na dyfraktogramach można zaobserwować jedynie niewielki wzrost intensywności refleksów pochodzących od fazy krystalicznej włókien modyfikowanych w stosunku do $W_{\text{odn.}}$, co może świadczyć o niewielkim wpływie warunków formowania włókien czy warunków syntezy nanocząstek srebra w NMMO na stopień krystaliczności analizowanych włókien.

5.2.5. Ocena odporności modyfikacji włókien celulozowych na warunki przechowywania oraz na procesy prania

W celu oznaczenia zawartości srebra w matrycy polimerowej włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra zastosowano technikę Absorpcyjnej Spektrometrii Atomowej z atomizacją w płomieniu (FAAS). Głównym celem badania było stwierdzenie, czy sposób ich przechowywania może mieć wpływ na ilość faktycznie obecnego we włóknach srebra. Do badań porównawczych przygotowano dwie serie wytypowanych wcześniej, tych samych, tj. otrzymanych w odpowiednich warunkach włókien (temperatury syntezy nanocząstek, tj.: 20°C, 50°C, 70°C i 100°C, czas 12 i 24 godzin dla pierwszych trzech temperatur oraz 20 minut dla temperatury 100°C), przy czym jedną serię włókien zaraz po ich otrzymaniu umieszczono w szczelnym opakowaniu, natomiast drugą serię włókien przetrzymywano bez zachowania szczególnych warunków przechowywania (włókna te wykorzystywano do badań wykonywanych w ramach niniejszej pracy). Na badanie wpływu warunków przechowywania włókien na zawartość w nich srebra zdecydowano się na podstawie obserwacji zmian koloru włókien w trakcie wykonywania zaplanowanych w ramach niniejszej pracy badań.

Teoretycznie wyliczona zawartość nanocząstek srebra w matrycy polimerowej włókien w odniesieniu do zawartości α celulozy wynosi **500 ppm** (0,05%). Wyznaczona zawartość srebra we włóknach wynosi **440 ppm**, co oznacza, że wykazany ubytek srebra we włóknie przechowywanym w sterylnych warunkach jest rzędu 12% i jest związany najprawdopodobniej z procesem formowania włókien. Badania średniej zawartości srebra we włóknach, których nie przechowywano w szczelnych opakowaniach wykazały, że w matrycy włókien znajduje się około **380 ppm** srebra. Oznacza to znacznie większy niż w wyżej opisanych przypadkach ubytek srebra rzędu około 24%, który może być związany nie tylko z efektem usuwania cząstek z matrycy włókien w procesie ich formowania, ale także z przypadkowym kontaktem ze znajdującymi się w otoczeniu mikroorganizmami.

Otrzymane wyniki dowodzą, że na zawartość srebra we włóknach, a tym samym na ich poziom aktywności antybakteryjnej, bardzo istotne znaczenie mają warunki przechowywania włókien. Włókna modyfikowane nanocząstkami srebra powinny być przechowane w sterylnych warunkach, ponieważ kontakt włókien z mikroorganizmami może być przyczyną niekontrolowanego uwalniania z powierzchni nanocząstek jonów srebra i prowadzić do zauważalnego obniżenia stężenia srebra we włóknach, a w konsekwencji do obniżenia ich aktywności antybakteryjnej. Przypuszczenie to zostało częściowo potwierdzone w trakcie badań właściwości bioaktywnych włókien (rys. 16).



Rys. 16. Zdjęcia włókna W-Ag/70/24 z nanocząstkami srebra przed (a) i po (b) badaniu aktywności antybakteryjnej

Na zdjęciu pokazanym na rys. 16 można zauważyć, że po 24-godzinnym bezpośrednim kontakcie włókna W-Ag/70/24 z komórkami bakterii nastąpiło jego zauważalne odbarwienie, a barwa włókna zmieniła się z barwy żółcistej na barwę kremową (b). Zmianę barwy włókien pod wpływem ich kontaktu z bakteriami obserwowano również dla innych próbek.

OCENA ODPORNOŚCI WŁÓKIEN MODYFIKOWANYCH NANOCZĄSTKAMI SREBRA NA PROCESY PRANIA

W celu oznaczenia odporności zastosowanej modyfikacji włókien celulozowych, tzn. oszacowania trwałości związania nanocząstek srebra z matrycą celulozową włókien, wykonano 50 cykli prań, a następnie określono zawartości srebra w kąpielach piorących. Badania zawartości srebra w kąpielach wykonano metodą Absorpcyjnej Spektrometrii Atomowej z atomizacją elektrotermiczną (ETAAS).

Badania wykonano dla włókna: W-Ag/70/12. W włóknie tym są obecne ekstremalnie małe (poniżej 2 nm) oraz bardzo duże udziały bardzo małych nanocząstek (około 3 do 10 nm). Ryzyko uwalniania tych nanocząstek z matrycy polimerowej włókien może być znacznie większe niż nanocząstek o większych średnicach. Cykl prań przeprowadzono również dla włókna odniesienia W_{odn} . Oznaczenie zawartości srebra przeprowadzono dla kąpeli po 1, 30 i 50 praniu (tabela 5).

Tabela 5. Zmiany zawartości srebra w kąpielach piorących włókna z nanocząstkami srebra W-Ag/70/12 oraz włókna odniesienia W_{odn} .

| Włókno | Ilość prań | Zawartość srebra w kąpeli piorącej [mg/l = ppm] |
|------------|------------|---|
| W_{odn} | 50 | 0 |
| W-Ag/70/12 | 1 | 0,13110 |
| | 30 | 0,05230 |
| | 50 | 0,04273 |

W celu oszacowania ewentualnego wpływu znajdującego się w kąpielach piorących srebra na zanieczyszczenie ścieków oparto się na dopuszczalnych normach wartości wskaźników zanieczyszczeń dla niektórych substancji niebezpiecznych dla środowiska naturalnego zawartych w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 4 lipca 2006 (Dz. U. z dnia 31 lipca 2006). W wyżej wspomnianym Rozporządzeniu najwyższa dopuszczalna zawartość srebra w ściekach wynosi 0,1 mg/l, co oznacza, że po pierwszym praniu włókna z nanocząstkami W-Ag/70/12 przekroczono najwyższą dopuszczalną wartość o około 0,03 mg/l. Po kolejnych praniach, tj. 30 i 50 praniu, zawartość srebra w kąpeli jest o około połowę poniżej dopuszczalnej normy. Warto zaznaczyć jednak, iż przeprowadzone badanie miało charakter uzupełniający, ponieważ głównym przeznaczeniem otrzymanych włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra będą materiały opatrunkowe jednorazowego użytku.

5.2.6. Analiza barwy włókien – widmowe charakterystyki remisji włókien oraz współrzędne trójchromatyczne barwy włókien

Analizę barwy włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra oraz włókien odniesienia wykonano przy zastosowaniu spektrofotometrii odbiciowej opisanej zgodnie z normą PN EN ISO 105-JO1: 2002. Głównym celem analizy barwy otrzymanych włókien była ocena wpływu warunków syntezy nanocząstek srebra w NMMO na zmianę barwy. Na podstawie tych badań podjęto próbę oszacowania związku barwy włókien z podstawowymi parametrami wytworzonych we włóknach nanocząstek srebra oraz ich rozmieszczenia w matrycy polimerowej włókien. W tym celu wyznaczono współrzędne trójchromatyczne barwy x , y ; wykonano pomiar różnicy barw (DE) włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra w porównaniu z włóknem odniesienia oraz zmierzono wartości remisji światła od powierzchni włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra, które pokazano na krzywych widmowych. Na rysunku 17 przedstawiono zdjęcie otrzymanych włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra oraz włókna odniesienia.



Rys. 17. Zdjęcie otrzymanych włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra oraz włókna odniesienia W_{odn.}

Różnice w barwie otrzymanych włókien są ściśle zależne od kształtu i wielkości obecnych we włóknach nanocząstek, a w efekcie od stosowanych warunków syntezy. Wraz z wydłużeniem czasu syntezy w temperaturze 20°C barwa otrzymanych włókien zmienia się z srebrzystozłocistej na złocistożółtą, co wynika ze stopniowego zwiększania się udziału cząstek syntezowanych w NMMO. Podniesienie temperatury pozwala przyspieszyć reakcję i syntezować nanocząstki głównie w NMMO. Przyczynia się do otrzymania włókien o barwie złocistożółtej z dużym udziałem bardzo małych cząstek srebra. Na podstawie przeprowadzonych badań można jednoznacznie stwierdzić, że zarówno temperatura, jak i czas prowadzonej syntezy nanocząstek srebra w NMMO mają znaczący wpływ na wielkość wygenerowanych nanocząstek srebra, a co za tym idzie mają wpływ na uzyskaną barwę otrzymanych włókien [10].

5.2.7. Oznaczenie aktywności antybakteryjnej modyfikowanych nanocząstkami srebra włókien celulozowych

Badania aktywności antybakteryjnej włókien z nanocząstkami srebra przeprowadzono w oparciu o normę JIS L 1902:2002. Z uwagi na to, iż włókna przeznaczone będą głównie na materiały opatrunkowe, zasadniczym celem było stwierdzenie ich aktywności antybakteryjnej zarówno wobec bakterii gram ujemnych, jak i gram dodatnich. Na podstawie przeprowadzonych badań

oszacowano wpływ warunków syntezy nanocząstek srebra w NMMO oraz podstawowych parametrów otrzymanych we włóknach nanocząstek na właściwości antybakteryjne włókien (wobec bakterii *Echerichia Coli* i *Staphylococcus aureus*). Do badań wytypowano włókna modyfikowane nanocząstkami srebra syntezowanymi w NMMO w każdej z zastosowanych temperatur, tj. 20, 50, 70 oraz 100°C (tabela 6 i 7).

Tabela 6. Aktywność biologiczna włókien celulozowych modyfikowanych nanocząstkami srebra wobec bakterii *Echerichia Coli*

| Nr włókna | Czas [h] | Liczba bakterii, [jtk/pr] | Przedział ufności, [jtk/pr] | Aktywność bakterio-statyczna | Aktywność bakterio-bójcza | Wartość wzrostu |
|-----------------------------|----------|---------------------------|--|------------------------------|---------------------------|-----------------|
| Próbka kontrolna (standard) | 0 | 2,1x10 ⁴ | 1,6x10 ⁴ -2,6x10 ⁴ | - | - | - |
| Próbka kontrolna (standard) | 24 | 1,4x10 ⁸ | 9,5x10 ⁷ -1,9x10 ⁸ | - | - | 3,8 |
| W-Ag/20/12 | 24 | 1,8x10 ⁶ | 1,5x10 ⁶ -2,0x10 ⁶ | 1,8 | -2,0 | - |
| W-Ag/20/24 | 24 | <20 | - | 6,8 | 3,0 | - |
| W-Ag/20/48 | 24 | <20 | - | 7,0 | 3,7 | - |

| | | | | | | |
|-------------|----|---------------------|--|-----|------|---|
| W-Ag/50/12 | 24 | <20 | - | 6,9 | 2,7 | - |
| W-Ag/50/24 | 24 | <20 | - | 6,9 | 3,0 | - |
| W-Ag/50/48 | 24 | 1,8x10 ⁵ | 1,6x10 ⁵ -2,1x10 ⁵ | 2,8 | -1,0 | - |
| W-Ag/70/12 | 24 | <20 | - | 6,9 | 3,0 | - |
| W-Ag/70/24 | 24 | <20 | - | 6,9 | 2,7 | - |
| W-Ag/70/48 | 24 | <20 | - | 6,7 | 3,2 | - |
| W-Ag/100/20 | 24 | <20 | - | 6,9 | 3,0 | - |

Tabela 7. Aktywność biologiczna włókien celulozowych modyfikowanych nanocząstkami srebra wobec bakterii *Staphylococcus aureus*

| Nr włókna | Czas [h] | Liczba bakterii, [jtk/pr] | Przedział ufności, [jtk/pr] | Aktywność bakterio-statyczna | Aktywność bakterio-bójcza | Wartość wzrostu |
|-----------------------------|----------|---------------------------|--|------------------------------|---------------------------|-----------------|
| Próbka kontrolna (standard) | 0 | 3,7x10 ⁴ | 3,1x10 ⁴ -4,2x10 ⁴ | – | – | – |
| Próbka kontrolna (standard) | 24 | 7,7x10 ⁶ | 8,0x10 ⁶ -1,1x10 ⁷ | – | – | 3,8 |
| W-Ag/20/12 | 24 | 9,5x10 ⁴ | 7,8x10 ⁴ -1,1x10 ⁵ | 1,9 | -0,4 | – |
| W-Ag/20/24 | 24 | <20 | – | 4,6 | 2,3 | – |
| W-Ag/20/48 | 24 | 1,9x10 ² | 1,3x10 ² -2,9x10 ² | 4,9 | 2,4 | – |
| W-Ag/50/12 | 24 | <20 | – | 5,7 | 3,5 | – |
| W-Ag/50/24 | 24 | <20 | – | 5,7 | 3,3 | – |
| W-Ag/50/48 | 24 | 6,2x10 ⁴ | 5,8x10 ⁴ -6,7x10 ⁴ | 2,1 | -0,2 | – |
| W-Ag/70/12 | 24 | <20 | – | 5,7 | 3,3 | – |
| W-Ag/70/24 | 24 | <20 | – | 2,9 | 1,1 | – |
| W-Ag/70/48 | 24 | <20 | – | 5,7 | 3,3 | – |
| W-Ag/100/20 | 24 | <20 | – | 5,7 | 3,3 | – |

Analiza wyników badań aktywności antybakteryjnej wytypowanych włókien modyfikowanych nanocząstkami srebra pozwala stwierdzić, że bardzo niską aktywność, a według niektórych badaczy wręcz brak aktywności bakterio-statycznej i bakteriobójczej ze względu na niskie wartości współczynnika bakteriobójczości (L) i bakteriostatyczności (S) [8, 9], wykazuje włókno W-Ag/20/12. Następnym włóknem wykazującym jedynie aktywność bakterio-statyczną wobec bakterii gram ujemnej *E. coli* jest włókno W-Ag/50/48. Pozostałe analizowane włókna wykazują zarówno aktywność bakterio-statyczną, jak i bakteriobójczą wobec obu rodzajów bakterii. Włókna modyfikowane nanocząstkami srebra syntezowanymi w temperaturze 20°C w czasach 24 i 48 godzin wykazują bardzo dobrą aktywność bakterio-statyczną i bakteriobójczą wobec bakterii gram ujemnej *E. coli*, natomiast wskaźniki bakteriobójczości i bakteriostatyczności określające ich aktywność wobec bakterii *S. aureus* mają niższe wartości, co oznacza trochę niższą aktywność tych włókien wobec bakterii gram dodatnich.

5.2.8. Oznaczenie cytotoksyczności modyfikowanych włókien

Oznaczenie cytotoksyczności wytypowanych włókien celulozowych modyfikowanych nanocząstkami srebra W-Ag/20/24 oraz włókien odniesienia $W_{odn.}$ bez modyfikatora wykonano w oparciu o Normę Europejską ISO 10993-5:2009(E) – Biological evaluation of medical devices, Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. Z uwagi na ryzyko wykorzystywania nanocząstek srebra jako potencjalnego terapeutyku, szczególnie ze względu na jego możliwe działanie cytotoksyczne wobec komórek żywych [11], jednym z istotnych kierunków wykonywanych w ramach pracy badań była ocena cytotoksyczności wyciągów z włókien modyfikowanych nanosrebrem. W tym celu sprawdzono wpływ wyciągów 24 i 48-godzinnych, uzyskanych z włókien z nanocząstkami srebra W-Ag/20/24 oraz dla porównania z włókien kontrolnych – $W_{odn.}$ bez udziału modyfikatora, na żywotność komórek dwóch linii: mysich fibroblastów – L929 oraz nabłonkopodobnych komórek ludzkich – HeLa za pomocą wcześniej opisanego testu MTT. Uzyskane w ramach przeprowadzonego doświadczenia wyniki dla włókien W-Ag/20/24 oraz $W_{odn.}$ umieszczono w tabeli 8.

Tabela 8. Ocena cytotoksyczności (%) A. 24 h i B. 48 h wyciągów badanych oznaczonych jako W-Ag/20/24 i wyciągu kontrolnego $W_{odn.}$, otrzymanych w podłożu hodowlanym (IMDM) i soli fizjologicznej (PBS)

| A. 24 h | | cytotoksyczność (%) | | B. 48 h | | cytotoksyczność (%) | |
|------------------|----------|---------------------|------------|------------------|----------|---------------------|------------|
| Linia komórkowa: | Podłoże: | W-Ag/20/24 | $W_{odn.}$ | Linia komórkowa: | Podłoże: | W-Ag/20/24 | $W_{odn.}$ |
| L929 | PBS- | 45,89 | NonT | L929 | PBS- | 84,89 | NonT |
| HeLa | | 58,26 | NonT | HeLa | | 81,38 | NonT |
| L929 | PBS+ | 32,02* | NonT | L929 | PBS+ | 36,42 | NonT |
| HeLa | | NonT | NonT | HeLa | | 44,17 | NonT |
| L929 | IMDM- | NonT | NonT | L929 | IMDM- | NonT | NonT |
| HeLa | | NonT | NonT | HeLa | | NonT | NonT |
| L929 | IMDM+ | NonT | NonT | L929 | IMDM+ | NonT | NonT |
| HeLa | | NonT | NonT | HeLa | | NonT | NonT |

NonT – wyciąg nie wykazuje właściwości cytotoksycznych względem użytej linii komórkowej: żywotność komórek $\geq 70\%$ = cytotoksyczność $\leq 30\%$

*wynik statystycznie niezamienny

Ocena wpływu wyciągu z wytypowanego włókna zawierającego nanocząstki srebra W-Ag/20/24 na żywotność komórek linii mysiej L929 i ludzkiej HeLa pokazała, iż ryzyko cytotoksyczności występuje w przypadku 48 h wyciągów, gdzie wykazano nasilone właściwości cytotoksyczne, szczególnie widoczne

w roztworze soli fizjologicznej (PBS-). W przypadku 24 h wyciągu z włókien zaobserwowano stosunkowo niską cytotoksyczność jedynie w czystej soli fizjologicznej (PBS-). Z uwagi na ryzyko cytotoksycznego działania obecnych w wyciągach z włókien nanocząstek srebra na żywotność komórek, szczególnie w czasie 48 h inkubacji, proponuje się, aby czas terapeutycznego stosowania materiałów medycznych z udziałem omawianych włókien nie przekraczał 24 h.

6. WNIOSKI

1. Otrzymano włókna celulozowe modyfikowane nanocząstkami srebra, wytwarzanymi w wyniku chemicznej redukcji AgNO_3 w układzie NMMO.
2. Potwierdzono obecność metalicznych nanocząstek srebra we włóknach oraz wykazano, że w ich matrycy znajdują się nanocząstki mono- i polikrystaliczne.
3. Wzrost temperatury syntezy powoduje zwiększenie szybkości redukcji AgNO_3 i gęstości nukleacji, czego efektem jest wzrost stężenia nanocząstek sferycznych o średnicach na poziomie od około 2 do 10 nm, bardziej jednorodnych pod względem wielkości i kształtu.
4. Temperatura syntezy 20°C i czas 12 godzin powodują, że AgNO_3 ulega przereagowaniu w niewielkim stopniu. Eliptyczne nanocząstki około 20 nm wytworzone w trakcie tworzenia roztworu przędzalniczego tworzą agregaty 270-1200 nm we włóknie, co powoduje, że włókno wykazuje słabe właściwości antybakteryjne.
5. Wydłużanie czasu syntezy w temperaturze 20°C powoduje zwiększenie ilości małych nanocząstek srebra, co skutkuje wyższą aktywnością antybakteryjną otrzymywanych włókien.
6. Wydłużanie czasu syntezy nanocząstek w wyższych temperaturach (głównie 70°C) wpływa niekorzystnie i powoduje powstawanie aglomeratów.
7. Najkorzystniejsze warunki otrzymania włókien z dużą ilością bardzo małych nanocząstek bez tworzenia aglomeratów to: czas 12 h, temperatury 50 i 70°C oraz 0,33 godzin (20 minut) w temperaturze 100°C (wysoka bakteriobójczość włókien).
8. Synteza nanocząstek srebra w NMMO nie powoduje degradacji celulozy ani nie wpływa na parametry mechaniczne i higroskopijne włókien.
9. Badania cytotoksyczności wykazały, że czas terapeutycznego stosowania materiałów medycznych z udziałem omawianych włókien nie powinien przekraczać 24 h.
10. Wykazano możliwość takiego sterowania procesem syntezy nanocząstek, który pozwoli na otrzymanie wysokiej jakości antybakteryjnych włókien celulozowych (12 h/ 70°C albo 20 min/ 100°C).

Literatura

- [1] **Wallenberger FT., Weston N.:** *Natural Fibers, Plastics and Composites*. USA, Kulwer Academic Publishers 2003.
- [2] **Łaskiewicz B.:** *Wytwarzanie włókien celulozowych bez udziału dwusiarczku węgla*, Łódź 1997.
- [3] **Marczak E., Marczak P.:** *Sztuczne włókna celulozowe*, 2003, <http://www.edupress.pl/archiwalne-numery/chemia/wrzesien-pazdziernik-2003/>
- [4] **Smith JA.:** *Lyocell – One fiber, many faces*, <http://ohioline.osu.edu/hyg-fact/5000/5572.html>
- [5] **Singha K.:** *Importance of the phase diagram in Lyocell fiber spinning*. International Journal of Materials Engineering, Vol. 2, No. 3, 2012, ss. 10-16.
- [6] **Kulpinski P.:** *Bioactive cellulose fibers with silver nanoparticles*, *e-Polymers*, Vol. 7, No. 1, 2007, ss. 804-15.
- [7] **Smiechowicz E., Kulpinski P., Niekraszewicz B., Bacciarelli A.:** *Cellulose fibers modified with silver nanoparticles*, *Cellulose*, Vol. 18, No. 4, 2011, ss. 975-85.
- [8] **Yu DG., Teng MY., Chou WL., Yang MC.:** *Characterization and inhibitory effect of antibacterial PAN-based hollow fiber loaded with silver nitrate*. Journal of Membrane Science, Vol. 225, 2003, ss. 115-23.
- [9] **Gutarowska B., Dymel M., Więckowska-Szakiel M., Ciechańska D.:** *Metody ilościowe oceny aktywności przeciwdrobnoustrojowej wyrobów włókienniczych*. Przegląd włókienniczy – WOS, Vol. 3, 2009, ss. 34-7.
- [10] **Smiechowicz E., Kulpinski P., Niekraszewicz B., Bemska J., Morgiel J.:** *Effect of silver on cellulose fibre colour*. *Coloration Technology*, Vol. 130, No. 6, 2014, ss. 424-31.
- [11] **Małaczewska J.:** *Cytotoksyczność nanocząsteczek srebra*. *Medycyna weterynaryjna*, Vol. 66, No. 12, 2010, ss. 833-38.

ANTIBACTERIAL CELLULOSE FIBERS FOR MEDICAL APPLICATIONS – SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES USING N-METHYLMORPHOLINE-N-OXIDE (NMMO) AS A REDUCING AGENT

Summary

Antibacterial cellulose fibers modified with silver nanoparticles were obtained. Silver nanoparticles were enclosed into cellulose fibers using N-methylmorpholine-N-oxide (NMMO) as a direct cellulose solvent as well as the main reducing system of nanoparticles. Silver nanoparticles were generated directly in NMMO as a product of AgNO₃ reduction of silver ions. The basic purpose of the research was to examine of the influence of reaction conditions of silver nanoparticles on their size, shape and distribution in the polymer matrix of fibers and consequently on the colour of obtained fibers, as well as on their

bioactive activity. The characteristics of the obtained silver nanoparticles were studied using energy dispersive spectroscopy (EDS), transmission electron microscopy (TEM) and dynamic light scattering technique (DLS). Taking into account the potential medical applications of the obtained fibers, their antibacterial activity and cytotoxicity of silver nanoparticles enclosed in fibers were examined in the human (HeLa) and mouse cells (L929).