Technologie XXI wieku – aktualne problemy i nowe wyzwania. Tom 1

Technologie XXI wieku – aktualne problemy i nowe wyzwania. Tom 1

Redakcja:
Izabela Mołdoch-Mendoń
Kamil Maciąg

Lublin 2020

Wydawnictwo Naukowe TYGIEL składa serdecznie podziękowania dla zespołu Recenzentów za zaangażowanie w dokonane recenzje oraz merytoryczne wskazówki dla Autorów.

Recenzentami niniejszej monografii byli:

- prof. dr hab. Małgorzata Grabarczyk
- dr hab. Agnieszka Gładysz-Płaska
- dr hab. inż. Arkadiusz Gola
- dr hab. inż. Ewelina Jamróz
- dr hab. inż. Janina Kabatc
- dr hab. inż. Justyna Kucińska-Lipka, prof. nadzw. PG
- dr hab. inż. Agnieszka Leśniak, prof. PK
- dr hab. n. farm. Agata Przekora-Kuśmierz
- dr hab. Barbara Skwaryło-Bednarz
- dr n. farm. Anna Biernasiuk
- dr Anna Pytlak
- dr Łukasz Szajnecki
- dr Monika Zubik-Duda

Wszystkie opublikowane rozdziały otrzymały pozytywne recenzje.

Skład i łamanie:
Monika Maciąg

Projekt okładki:
Marcin Szklarczyk

Korekta:
Ewelina Chodźko

© Copyright by Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o.

ISBN 978-83-66489-41-7

Wydawca:
Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o.
ul. Głowackiego 35/341, 20-060 Lublin
www.wydawnictwo-tygiel.pl

Spis treści

Krzysztof Kosała, Leszek Majkut, Ryszard Olszewski, Artur Flach

Badania laboratoryjne prototypu stanowiska do wyznaczania właściwości akustycznych materiałów stosowanych w ochronie przeciwhałasowej 7

Ireneusz Musiałek, Jarosław Kotliński, Andrzej Kęsy

Rozwój konstrukcji, produkcji i zastosowań podzespołów hydrokinetycznych 21

Henryk Bąkowski, Łukasz Łomozik, Andrzej Sokołowski

Wybrane zagadnienia z technologii wytwarzania za pomocą obróbki skrawaniem i cięcia elektroerozyjnego (WEDM) 35

Zdzisław Idziaszek

Metoda wyznaczania Zasobu Pracy i Zasobu Obsług Maszyn w procesie optymalizacji Dostępności Produkcyjnej Maszyn 49

Hubert Anysz

Zastosowanie narzędzi uczenia maszynowego i eksploracji danych z uwzględnieniem baz danych o małej liczbie rekordów 81

Witold Stachowiak, Michał Niemczak

Ciecze jonowe z anionem sulfonylomocznika jako nowoczesne środki ochrony roślin przeciwko chwastom 105

Agnieszka Królicka, Jerzy Zarębski, Andrzej Bobrowski, Julia Gonciarczyk

Woltamperometria jako narzędzie do oznaczania pierwiastków kluczowych dla nowoczesnych technologii na przykładzie Ge(IV) 123

Elżbieta Sitarz-Palczak

Zastosowanie geopolimerów z popiołów pochodzących z spalania węgla lub biomasy do fotokatalitycznej degradacji błękitu metylowego 139

Katarzyna Gieczewska, Joanna Grzyb

Bioczujniki i bionanourządzenia – przyszłość czy ślepa uliczka? 159

Agnieszka J. Nowak, Paulina Drynda, Justyna Wolny

Biodegradowalne materiały polimerowe 183

Angelika Plota, Anna Masek

Opakowania biodegradowalne – materiały przyjazne dla środowiska 201

Lidia Niekraś, Ewa Moliszewska, Agnieszka Rombel-Bryzek

Opakowania z biotworzyw – przyszłość? Czy w przyszłości nowy problem środowiskowy? 208

Alicja Gruchała

Fotochemiczne otrzymywanie powłok polimerowych opartych na monoterpenach, jako monomerach pochodzenia naturalnego.....228

Agata Zubkiewicz, Sandra Paszkiewicz, Anna Szymczyk

Możliwości syntezy poliamidów i kopoliamidów na bazie kwasu 2,5-furanodikarboksylowego oraz jego pochodnych.....239

Monika Biernat, Karolina Rudnicka, Lidia Ciołek

Porowate biokompozyty na bazie polilaktydu z udziałem cząstek stałych, jako materiały do regeneracji kości 249

Anna Skrzypek, Patryk Szymaszek

Badania przydatności nowych sond fluorescencyjnych do analizy kinetyki on-line oraz in-situ procesów fotopolimeryzacji 266

Patryk Szymaszek

Zastosowanie molekularnych sond fluorescencyjnych do monitorowania kinetyki otrzymywania hydrożelowych superabsorbentów polimerowych 277

Miłosz Rutkowski, Lidia Krzemińska-Fiedorowicz, Anna Lenart-Boroń

Oznaczanie właściwości przeciwdrobnoustrojowych nanokomponentów zawierających nanocząstki srebra wobec mikroorganizmów izolowanych z błon śluzowych jamy ustnej psów i kotów.....286

Alicja Michalczyk, Anna Cieniecka-Rosłonkiewicz, Sylwia Garbaczewska, Arkadiusz Białek

Surowce rolnicze i odpadowe jako źródła węgla w biosyntezie kwasu D-mlekowego, prekursora kwasu polimlekowego (PLA) 299

Indeks autorów 308

Krzysztof Kosała[1], Leszek Majkut[2], Ryszard Olszewski[3], Artur Flach[4]

Badania laboratoryjne prototypu stanowiska do wyznaczania właściwości akustycznych materiałów stosowanych w ochronie przeciwhałasowej

1. Wprowadzenie

Rozwój techniki i przemysłu, i związany z nim, intensywny postęp technologiczny, prowadzący do zwiększenia produkcji i opracowania szeregu wynalazków, daje dużo korzyści dla rozwoju całego społeczeństwa. Może być on jednak również źródłem wielu zagrożeń dla człowieka, zwłaszcza w jego środowisku życia i pracy. Do zagrożeń tych zaliczają się hałas i drgania, będące uciążliwościami o powszechnym zasięgu społecznym oraz będące bardzo często niebezpieczne także dla budowli, konstrukcji czy prawidłowej pracy maszyn i urządzeń. Dlatego też, ochrona środowiska – zwłaszcza przed tego typu zagrożeniami – stała się w ostatnich kilkudziesięciu latach oczywistą koniecznością [1]. Narażenie na nadmierne poziomy hałasu i drgań obejmuje wszystkich obywateli, wpływając niekorzystnie na ich zdrowie i samopoczucie a także obniżając efektywność pracy, i zwiększając prawdopodobieństwo wypadków przy pracy.

W szeroko pojętej ochronie przeciwhałasowej stosuje się rozwiązania polegające na ograniczeniu uciążliwej hałaśliwości maszyn i urządzeń. Odbywa się to zazwyczaj przy wykorzystaniu osłon w postaci przegród lub obudów, czyli poprzez ingerencję u źródła hałasu na drodze przenoszenia fali dźwiękowej [2]. Wśród przegród, które w zależności od przeznaczenia mogą być stosowane pojedynczo lub w pewnym układzie ścianek stanowiąc obudowę, wyróżnia się podstawowy podział, wynikający z właściwości użytych materiałów, na dźwiękochłonne i dźwiękoizolacyjne. Spośród obudów akustycznych, zastosowanie w praktyce mają obudowy dźwiękoizolacyjne i dźwiękochłonno-izolacyjne. Wśród nich wyróżnić można przegrody pojedyncze i wielokrotne. W przegrodzie wielokrotnej, w odróżnieniu od pojedynczej, pomiędzy warstwami występują szczeliny powietrzne. Jednolity materiał stanowi przegrodę jednorodną. Przegrody warstwowe niejednorodne to takie, które składają się z różnych, ściśle do siebie przylegających materiałów [2, 3].

Aby przegrody, stanowiące zabezpieczenia przeciwhałasowe, mogły spełniać skutecznie swoje zadanie, materiały, z jakich są one zbudowane muszą cechować się odpowiednimi właściwościami akustycznymi, szczególnie izolacyjnością akustyczną od dźwięków powietrznych. Parametr ten określany jest zazwyczaj w warunkach laboratoryjnych [4].

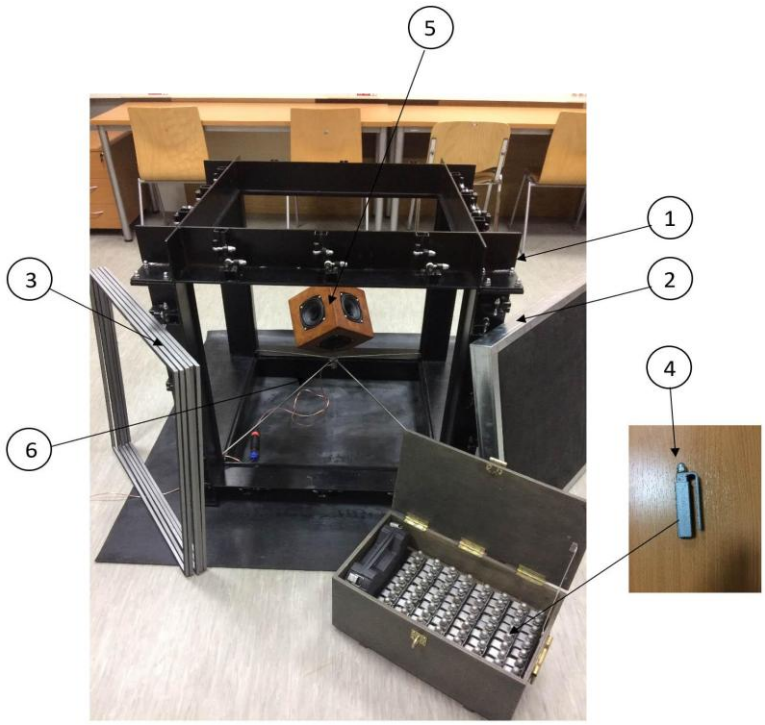
[1] kosala@agh.edu.pl, Katedra Mechaniki i Wibroakustyki, Wydział Inżynierii Mechanicznej i Robotyki, AGH w Krakowie, www.agh.edu.pl.
[2] majkut@agh.edu.pl, Katedra Mechaniki i Wibroakustyki, Wydział Inżynierii Mechanicznej i Robotyki, AGH w Krakowie, www.agh.edu.pl.
[3] olszewsk@agh.edu.pl, Katedra Mechaniki i Wibroakustyki, Wydział Inżynierii Mechanicznej i Robotyki, AGH w Krakowie, www.agh.edu.pl.
[4] flach@agh.edu.pl, Katedra Mechaniki i Wibroakustyki, Wydział Inżynierii Mechanicznej i Robotyki, AGH w Krakowie, www.agh.edu.pl.

W celu określenia skuteczności przegrody pod względem jej odporności na przenikanie fal dźwiękowych zastosowanie mają także metody obliczeniowe oparte na modelach teoretycznych. Wśród znanych modeli, przeznaczonych do obliczeń izolacyjności akustycznej przegród jednorodnych, wymienić należy prawo masy [5-8], modele Sharpa i Davy [6] oraz Statystyczną Analizę Energii (SEA) [5, 9]. Modele te, wykorzystując właściwości materiałów i konstrukcji przegrody, mają także zastosowanie przy wyznaczaniu izolacyjności akustycznej przegród warstwowych [10-14], do których wykorzystany może być również model oparty na analizie regresji [15].

W przypadku, gdy rozpatrywany jest układ przegród stanowiących obudowę dźwiękoizolacyjną podstawową właściwością, określającą jej skuteczność akustyczną jest strata wtrącenia (*Insertion Loss*) [5] (badana przez autorów [16]). Opracowany prototyp stanowiska badawczego, stanowiącego obudowę dźwiękoizolacyjną dla wszechkierunkowego źródła dźwięku umieszczonego w jej wnętrzu, imitującego hałaśliwą maszynę lub urządzenie, jest nowatorskim narzędziem do weryfikacji modelowania właściwości akustycznych przegród i obudów. Modelowanie właściwości akustycznych materiałów stosowanych w ochronie przeciwhałasowej ma istotne znaczenie szczególnie w przypadku, budowy prototypu przegrody lub obudowy docelowej, ze względu na wysokie koszty wytwarzania. Zastosowanie takiego podejścia ma również znaczenie, gdy koszty ekonomiczne badań, wykonywanych zgodnie z normami, są nie do zaakceptowania przez firmy podejmujące prace nad produktami innowacyjnymi. Dlatego też, cel pracy sformułowano następująco: weryfikacja możliwości badawczych z użyciem opracowanego prototypu stanowiska do wyznaczania właściwości akustycznych materiałów stosowanych w ochronie przeciwhałasowej. Prototyp tego stanowiska został poddany testom akustycznym. W tym celu wykorzystano komorę bezechową oraz pomieszczenie, w którym charakter pola akustycznego był zbliżony do pola występującego w warunkach przemysłowych.

2. Prototyp stanowiska badawczego do wyznaczania właściwości akustycznych materiałów

Podstawowym elementem stanowiska badawczego (rys. 1) do wyznaczania właściwości akustycznych materiałów, jest szkielet obudowy (1) stanowiący konstrukcję stalową w kształcie sześcianu, umożliwiający zainstalowanie pięciu ścianek o wymiarach 700 x 700 mm i grubościach z zakresu 1÷90 mm. Na rysunku 1 pokazano jeden z paneli (2) typu wełna mineralna-rigips, będący ścianką obudowy dźwiękochłonno-izolacyjnej, które nie znajdują się w zakresie niniejszego opracowania.



Rysunek 1. Prototypowe stanowisko badawcze do wyznaczania właściwości akustycznych materiałów, oznaczenia liczbowe: 1 – szkielet obudowy, 2 – panel typu wełna mineralna-rigips, 3 – ramki dociskowe, 4 – mechanizm dociskowy, 5 – źródło dźwięku, 6 – konstrukcja wsporników do mocowania źródła dźwięku [opracowanie własne]

Ścianki dociskane są, poprzez gumowe uszczelnienie, do szkieletu obudowy za pomocą ramek stalowych (3) o przekroju kwadratowym 10 × 10 mm przy wykorzystaniu zestawu 60 mechanizmów dociskowych (4). Konstrukcję stalową montuje się z dwóch paneli w kształcie kraty oraz czterech słupów z wykorzystaniem połączeń śrubowych. Masa konstrukcji z elementami dociskowymi oraz ramkami wynosi 171 kg.

Wewnątrz obudowy znajduje się opracowane i wykonane wszechkierunkowe źródło dźwięku, imitujące hałaśliwą maszynę lub urządzenie. Źródło, które stanowi 6 głośników zamkniętych w sześciennej obudowie (5) usytuowane jest centralnie wewnątrz obudowy, poprzez konstrukcję z czterech prętów stalowych (6), zamocowanych w narożach dolnej części obudowy. Alternatywnym rozwiązaniem zamiast konstrukcji z prętów stalowych może być stojak (zaprezentowany w dalszej części opracowania), który umiejscowiony na podłodze wewnątrz obudowy również może zapewnić centralną pozycję wszechkierunkowego źródła dźwięku.

Wymiary ścianek obudowy (700 × 700 mm) są zgodne z wymiarami okna pomiarowego – przeznaczonego do badań izolacyjności akustycznej małych próbek – stanowiącego wyposażenie laboratorium sprzężonych komór pogłosowych Katedry Mechaniki i Wibroakustyki AGH w Krakowie.

3. Badania laboratoryjne w komorze bezechowej

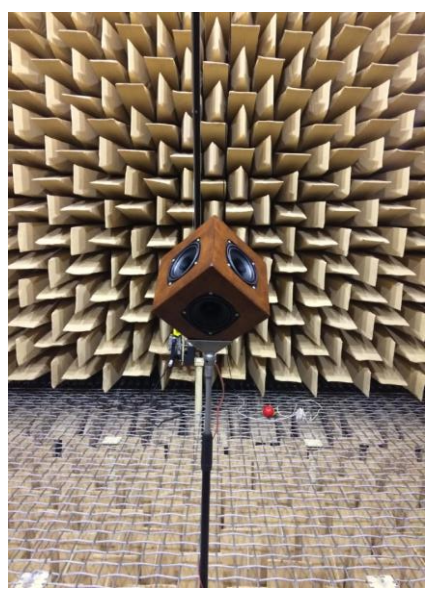
3.1. Zakres badań

Wstępne badania parametrów akustycznych opracowanego prototypu stanowiska do wyznaczania właściwości akustycznych materiałów stosowanych w ochronie przeciwhałasowej, przeprowadzone zostały w laboratorium – komorze bezechowej znajdującej się w Katedrze Mechaniki i Wibroakustyki AGH w Krakowie. Ponieważ prototyp stanowiska do badania cech akustycznych materiałów stanowi pewnego rodzaju obudowę dźwiękoizolacyjną dla wszechkierunkowego źródła dźwięku umieszczanego w jej wnętrzu w punkcie centralnym, w dalszej części opracowania, zamiast sformułowania prototypu stanowiska używane będzie zamiennie także pojęcie obudowy dźwiękoizolacyjnej.

Zakres badań obejmował wyznaczenie charakterystyki kierunkowości źródła dźwięku oraz wyznaczenie skuteczności obudowy dźwiękoizolacyjnej w redukcji poziomu hałasu źródła dźwięku znajdującego się wewnątrz tej obudowy. Etap ten poprzedzono określeniem poziomów mocy akustycznej źródła dźwięku bez obudowy i z obudową. Testowano obudowę o pięciu jednakowych ściankach, które stanowiły 3 rodzaje przegród dźwiękoizolacyjnych jedno i dwuwarstwowych: płyta stalowa o grubości 1 mm (stal1), płyta ze stopu aluminium o grubości 2 mm (aluminium2) oraz płyta stalowa o grubości 1 mm z przyklejoną warstwą gumy na bazie EPDM o grubości 3 mm (stal1-guma3).

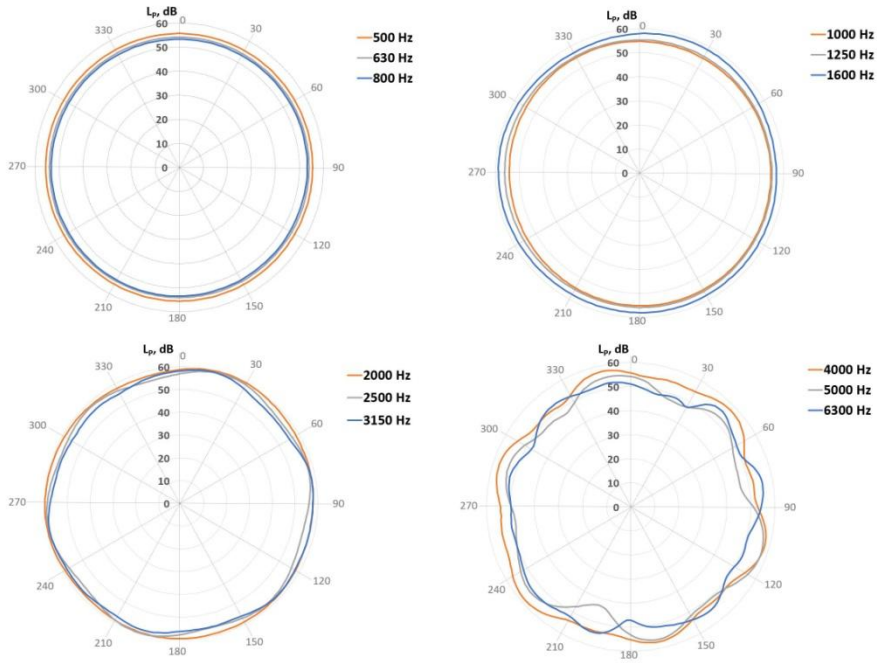
3.2. Badanie charakterystyki kierunkowości źródła dźwięku

Badania przeprowadzono w płaszczyźnie poziomej przechodzącej przez środek źródła dźwięku (rys. 2) przy użyciu mikrofonu G.R.A.S. 46AE 1/2", zlokalizowanego w odległości 4 m od źródła. Do badań wykorzystano stół obrotowy wyposażenia laboratorium.



Rysunek 2. Wszechkierunkowe źródło dźwięku [opracowanie własne]

Pomiary wykonano z rozdzielczością kątową ±2° oraz czasem uśredniania, wynoszącym 30 s. Sygnałem testowym był szum różowy przefiltrowany do zakresu działania wykorzystanych przetworników, czyli 50÷16 000 Hz. Wykresy wartości poziomu ciśnienia akustycznego w zależności od kąta pomiaru pokazano w postaci charakterystyk kierunkowości na rysunku 3.

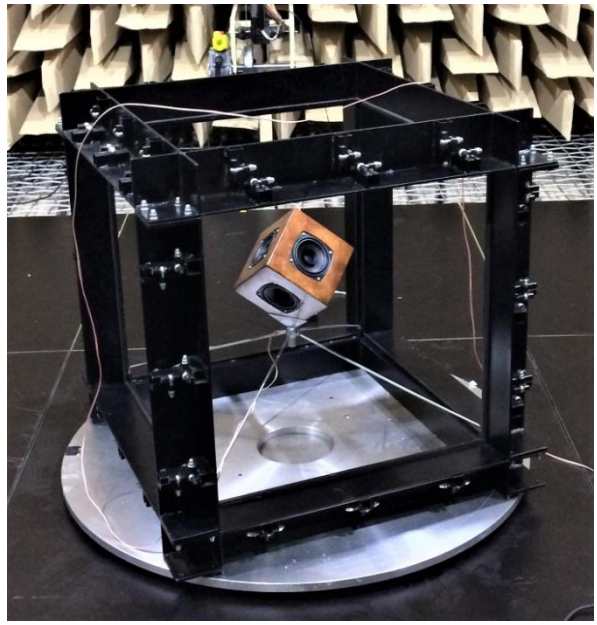


Rysunek 3. Charakterystyki kierunkowości wszechkierunkowego źródła dźwięku [opracowanie własne]

Przeprowadzone obliczenia i analizy wykazały, że badane źródło dźwięku spełnia wymagania normy PN-EN ISO 3382-1:2009, [17] dla kierunkowości źródeł wszechkierunkowych w zakresie częstotliwości 125÷4000 Hz.

3.3. Wyznaczanie poziomu mocy akustycznej źródła dźwięku

W pierwszej kolejności określono poziom mocy akustycznej wszechkierunkowego źródła dźwięku, umieszczonego wewnątrz konstrukcji obudowy bez ścianek (rys. 4).

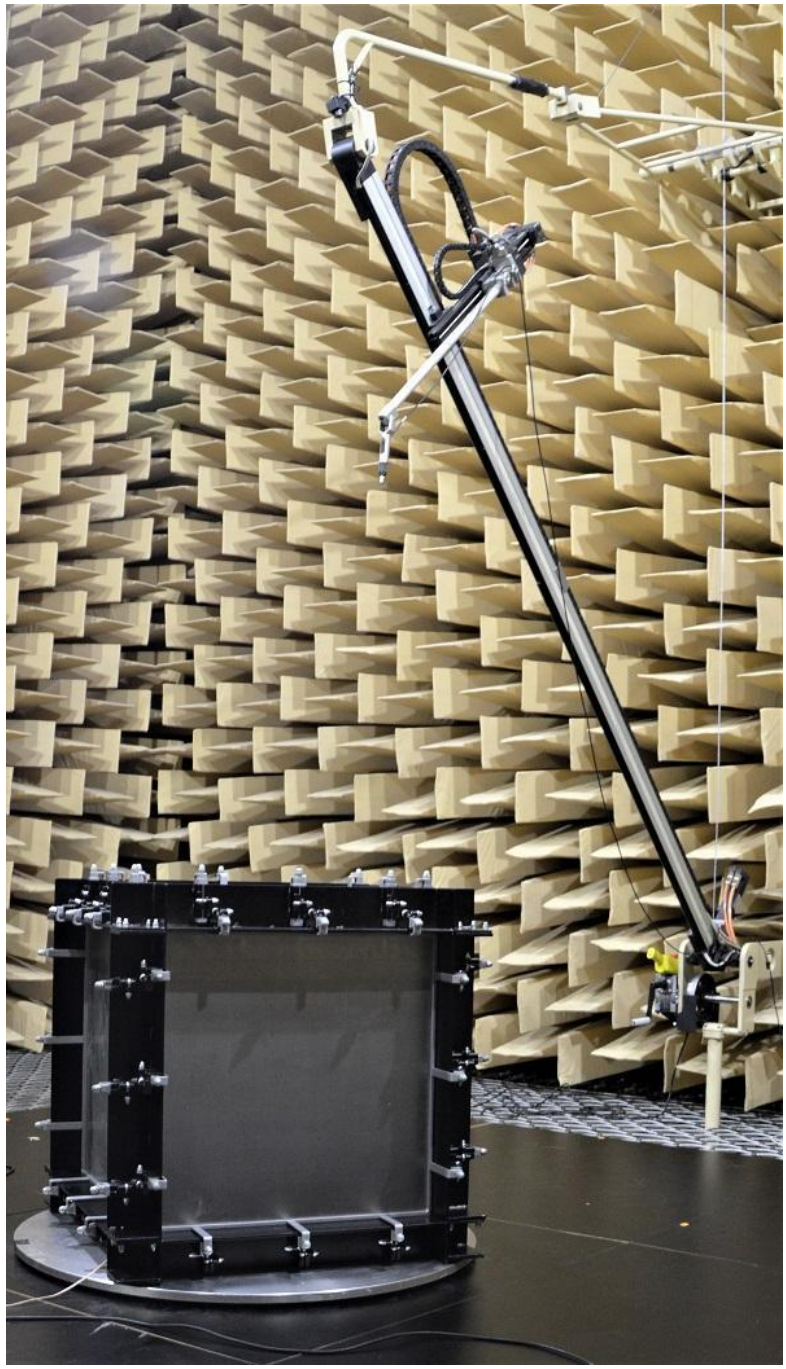


Rysunek 4. Badanie poziomu mocy akustycznej źródła dźwięku [opracowanie własne]

Do tego celu użyto stołu obrotowego, na którym znajdowała się konstrukcja obudowy. Pomiary przeprowadzono przy użyciu manipulatora pomiarowego (rys. 5) sterowanego za pomocą systemu National Instruments.

Z użyciem zautomatyzowanego systemu do akwizycji danych, na podstawie badań przeprowadzonych w 20 punktach pomiarowych zlokalizowanych na powierzchni półkuli o promieniu 2 m, wyznaczono poziomy ciśnienia akustycznego, zgodnie z normą PN-EN ISO 3745 [18].

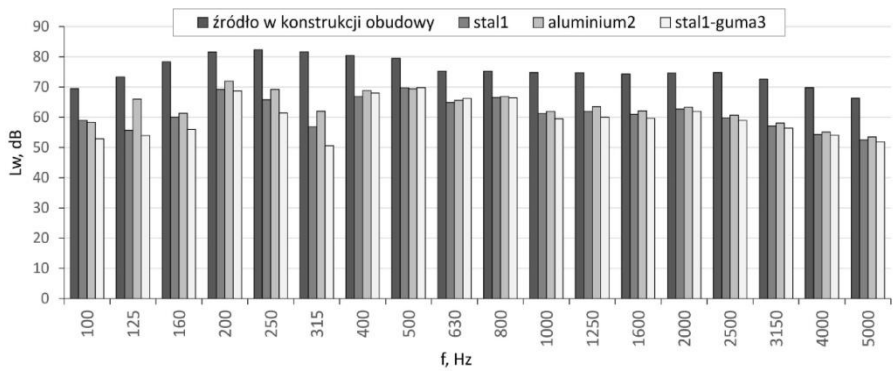
Na podstawie poziomów ciśnienia akustycznego wyznaczono metodą dokładną poziom mocy akustycznej wszechkierunkowego źródła dźwięku, z uwzględnieniem podłogi odbijającej. W badaniach wykorzystano generator szumu B&K1405, wzmacniacz B&K2716C, mikrofon G.R.A.S. 46AE 1/2". Badania przeprowadzono w warunkach środowiskowych panujących bezpośrednio w komorze bezechowej, określonych temperaturą o wartości 23°C oraz ciśnieniem reprezentowanym 1022 hPa.



Rysunek 5. Badanie poziomu mocy akustycznej źródła dźwięku [opracowanie własne]

3.4. Określenie skuteczności dźwiękoizolacyjnej obudowy

W celu określenia skuteczności obudowy w redukcji poziomu hałasu generowanego przez źródło dźwięku umieszczone w jej wnętrzu w przypadku każdego z trzech wariantów ścianek, wyznaczono poziomy mocy akustycznej, wykorzystując aparaturę i procedurę pomiarową taką samą jak przy określaniu poziomu mocy akustycznej źródła wewnątrz obudowy bez ścianek. Wyniki obliczeń poziomów mocy akustycznej dla samego źródła w konstrukcji obudowy, obudowy ze ściankami stalowymi, ze stopu aluminium oraz dwuwarstwowymi (połączenie stali i gumy) pokazano na rysunku 6.



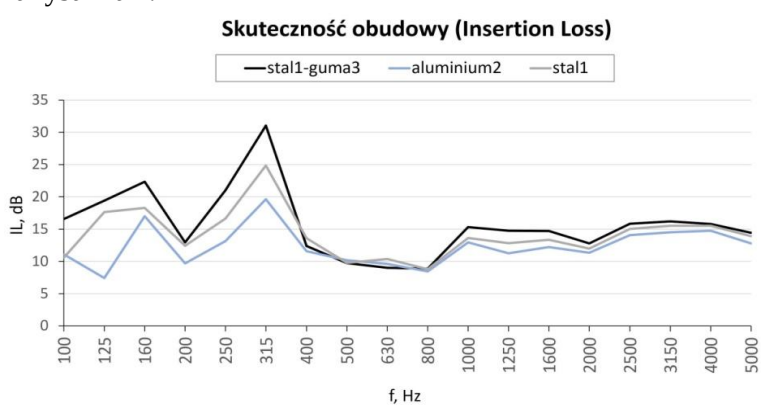
Rysunek 6. Poziomy mocy akustycznej w pasmach 1/3 oktawowych częstotliwości dla trzech wariantów obudowy [opracowanie własne]

Skuteczność obudowy IL (*Insertion Loss*) została obliczona przy użyciu wzoru:

$$IL = 10log\left(\frac{W_0}{W_E}\right) = L_{W0} - L_{WE}, dB \qquad (1)$$

gdzie: W_0, W_E – moc akustyczna emitowana przez źródło dźwięku, odpowiednio: bez obudowy i z obudową, L_{W0}, L_{WE} – odpowiednie poziomy mocy akustycznej.

Charakterystyki widmowe skuteczności akustycznej dla trzech wariantów obudowy pokazano na rysunku 7.



Rysunek 7. Skuteczność akustyczna (Insertion Loss) dla trzech wariantów obudowy dźwiękoizolacyjnej wyznaczona w komorze bezechowej [opracowanie własne]

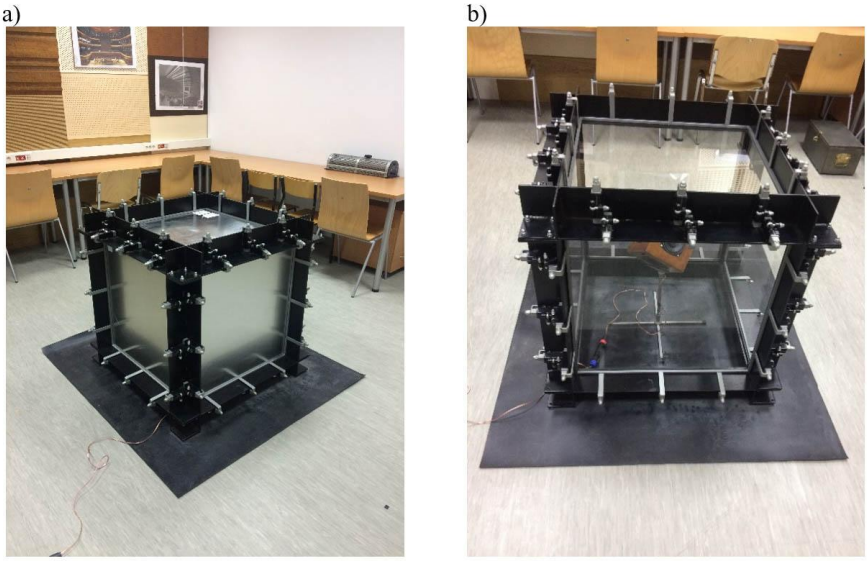
Badanie skuteczności akustycznej obudowy, przeprowadzone w warunkach laboratoryjnych metodą dokładną wykazały, że lepszą efektywność akustyczną ma obudowa ze ściankami stalowymi, o grubości 1 mm, w porównaniu do obudowy ze ściankami ze stopu aluminium, o grubości 2 mm (rys. 7). Zastosowanie jako ścianki obudowy przegród dwuwarstwowych (płyta stalowa o grubości 1 mm oraz płyta z gumy o grubości 3 mm) przyniosło – najlepszą spośród analizowanych przegród – skuteczność akustyczną.

4. Badania eksperymentalne

Kolejny etap badań wstępnych polegał na próbie wyznaczenia skuteczności akustycznej obudowy dźwiękoizolacyjnej w warunkach odmiennych od laboratoryjnych. Do tego celu wykorzystano jedną z sal AGH, której wyposażenie oraz rozkład przestrzenny umożliwił umieszczenie w jej środku stanowisko do badania obudów.

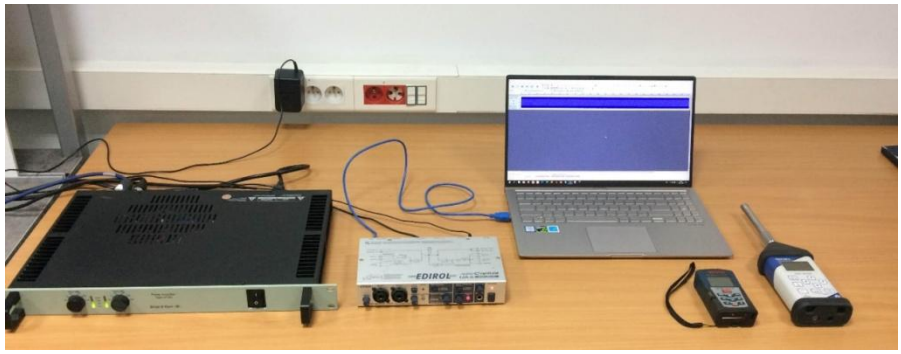
W pomieszczeniu o kubaturze 79 m^3, w którym charakter pola akustycznego jest zbliżony do pola występującego w warunkach przemysłowych, testowano obudowę o pięciu jednakowych ściankach, które stanowiły cztery rodzaje jednorodnych przegród dźwiękoizolacyjnych: płyta stalowa o grubości 1 mm (stal1), płyta aluminiowa o grubości 2 mm (aluminium2), płyta pleksiglasowa o grubości 5 mm (pleksiglas5) oraz płyta pleksiglasowa o grubości 15 mm (pleksiglas15). Przykładowe widoki obudów ze ściankami typu aluminium2 oraz pleksiglas5 pokazano na rysunkach 8a i 8b.

a) b)



Rysunek 8. Obudowa dźwiękoizolacyjna ze ściankami typu: a) stop aluminiowymi o grubości 2 mm, b) pleksiglas o grubości 5 mm [opracowanie własne]

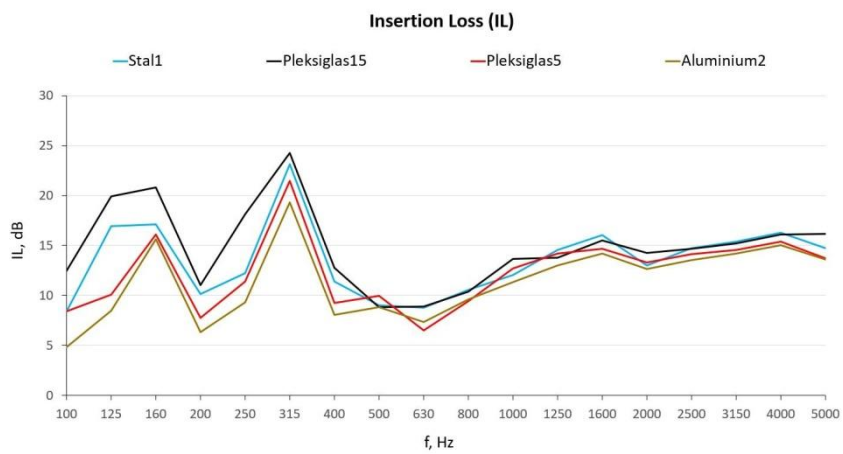
Aparaturę pomiarową pokazano na rys. 9. Do wszechkierunkowego źródła dźwięku doprowadzony był – poprzez wzmacniacz (Bruel&Kjaer 2716-C), interfejs audio (EDIROL UA-5) – sygnał w postaci szumu białego generowany w programie Audacity. Badania akustyczne przeprowadzono za pomocą miernika poziomu dźwięku SVAN 945A.



Rysunek 9. Aparatura pomiarowa do wyznaczania poziomu mocy akustycznej źródła dźwięku w obudowie i bez obudowy metodą orientacyjną [opracowanie własne]

Podobnie jak w przypadku badań przeprowadzonych w komorze bezechowej do wyznaczenia skuteczności obudowy dźwiękoizolacyjnej niezbędne było wyznaczenie poziomu mocy źródła dźwięku bez obudowy i z obudową. Do tego celu wykorzystano metodę orientacyjną wyznaczania mocy akustycznej, opisaną w normie PN-EN ISO 3746:1999 [19]. Zgodnie z normą [19], przy obliczeniach poziomów mocy akustycznej uwzględniono poprawkę dla poziomu hałasu tła akustycznego K1 oraz poprawkę środowiskową K2. Powierzchniowy poziom ciśnienia akustycznego został uśredniony z wyników uzyskanych z pomiarów przeprowadzonych w 4 punktach pomiarowych, zlokalizowanych zgodnie z normą na półkulistej powierzchni pomiarowej.

Skuteczność akustyczną obudowy obliczono przy użyciu wzoru (1). Charakterystyki widmowe skuteczności akustycznej obudowy dla czterech wariantów ścianek z płyt: stalowej, aluminiowej, pleksiglasowych (o grubościach 5 i 15 mm) pokazano na rysunku 10.



Rysunek 10. Skuteczność akustyczna (Insertion Loss) dla czterech wariantów obudowy dźwiękoizolacyjnej wyznaczona metodą orientacyjną [opracowanie własne]

Badania przeprowadzone metodą orientacyjną wykazały, że obudowa ze ściankami pleksiglasowymi o grubości 15 mm ma najlepszą skuteczność akustyczną spośród

analizowanych czterech zestawów płyt jednorodnych. Również wysoką efektywność w redukcji poziomu hałasu można osiągnąć poprzez zastosowanie na ścianki obudowy dźwiękoizolacyjnej płyt stalowych o niewielkiej grubości (1 mm). Ze względu na odmienne parametry materiałowe płyty ze stopu aluminium w stosunku do stalowej, obudowa z takimi ściankami o grubości 2 mm ma słabszą skuteczność, podobnie jak ma to miejsce przy porównaniu samej izolacyjności akustycznej tych płyt [3].

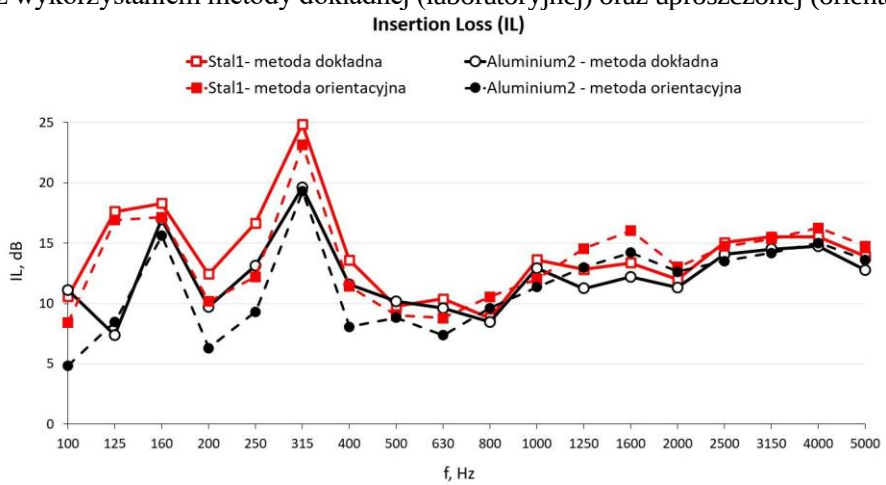
5. Porównanie skuteczności akustycznej obudowy wyznaczonej z wykorzystaniem metody dokładnej i orientacyjnej

Zarówno metoda dokładna, jak i orientacyjna wyznaczania poziomu mocy akustycznej źródła dźwięku, wykorzystane w dalszej kolejności do określenia skuteczności akustycznej obudowy, mają swoje zalety i wady.

Zwiększenie ilości punktów pomiarowych, odizolowanie się od hałasów zewnętrznych a tym samym zapewnienie odpowiednio niskiego poziomu tła akustycznego, automatyzacja procedury pomiarowej z precyzyjnym określeniem lokalizacji punktów pomiarowych to tylko niektóre z zalet metody dokładnej, która wymaga niestety warunków laboratoryjnych – komory bezechowej. Nie w każdym przypadku pomiary akustyczne hałaśliwej maszyny lub urządzenia mogą być taką metodą wyznaczone, ponieważ nie pozwalają na to ich gabaryty lub nie ma możliwości ich transportu do laboratorium. Dlatego też, w praktyce powszechnie używane są inne metody w tym techniczna, nie omawiana w ramach opracowania oraz orientacyjna.

Celem dalszych badań, dotyczących oceny technicznej prototypowego stanowiska do testowania obudów akustycznych, było sprawdzenie – w jakim stopniu uproszczenie w postaci zastosowania metody orientacyjnej w końcowym efekcie wpłynie na wyniki skuteczności akustycznej obudowy, w odniesieniu do metody dokładnej.

Na rysunku 11 pokazano charakterystyki widmowe skuteczności akustycznej obudowy ze ściankami z płyt stalowych 1 mm oraz ze stopu aluminium 2 mm, uzyskane z wykorzystaniem metody dokładnej (laboratoryjnej) oraz uproszczonej (orientacyjnej).



Rysunek 11. Porównanie charakterystyk widmowych skuteczności akustycznej obudowy ze ściankami stalowymi (grubość 1 mm) oraz ze stopu aluminium (grubość 2 mm) wyznaczonych przy użyciu metod: dokładnej i orientacyjnej [opracowanie własne]

Porównując charakterystyki widmowe skuteczności akustycznej obudów (rys. 10) można stwierdzić, że zarówno dla wariantu ze ściankami z płyt stalowych oraz z płyt ze stopu aluminium, wykorzystanie metody orientacyjnej dało akceptowalne rezultaty w postaci zbliżonych przebiegów. Odchylenie wartości, uzyskanych z metody orientacyjnej, w odniesieniu do metody laboratoryjnej jest w większości przypadków rzędu 2-3 dB, a więc zakresie niepewności pomiarowej.

6. Podsumowanie

Wstępne badania właściwości akustycznych prototypu stanowiska badawczego, przeznaczonego do testowania obudów ze ściankami dźwiękoizolacyjnymi, przeprowadzone w warunkach laboratoryjnych – komorze bezechowej wykazały, że proponowane stanowisko spełnia wymagania stawiane w aktach normatywnych.

Charakterystyki widmowe skuteczności akustycznej obudowy mają zbliżony przebieg z przesunięciem zależnym od stosowanych materiałów

Najlepszą skutecznością ochrony akustycznej cechowała się obudowa ze ściankami dwuwarstwowymi. Ze względu na niewielką grubość ścianek, wynoszącą 4 mm, przegrody te mogą mieć zastosowanie w zintegrowanych obudowach dźwiękoizolacyjnych maszyn i urządzeń.

Z przeprowadzonych badań eksperymentalnych, które odbyły się z wykorzystaniem – ze względu na warunki pomiarowe – orientacyjnej metody wyznaczania mocy akustycznej, wynika, że metoda ta z powodzeniem może służyć do dalszych badań, wykorzystujących skuteczność obudowy, zwłaszcza do celów porównawczych efektywności obudów dźwiękoizolacyjnych ze ściankami z różnych materiałów. Wśród testowanych w ramach badań eksperymentalnych ścianek obudów dźwiękoizolacyjnych płyty z tworzyw sztucznych takie jak np. pleksiglas, przy zachowaniu odpowiedniej grubości, mogą stanowić skuteczne zabezpieczenie przeciwhałasowe, zwłaszcza tam, gdzie istotne jest zapewnienie, oprócz braku występowania korozji, z uwagi na jego transparentność – dozoru pracującej maszyny czy urządzenia.

Metoda orientacyjna prowadząca do uzyskania skuteczności akustycznej obudowy może być z powodzeniem wykorzystana do otrzymania wyników wstępnych przy weryfikacji modeli w zagadnieniach modelowania własności akustycznych przegród i obudów.

Zaprojektowane stanowisko pomiarowe, ze względu na wymiary przegród (ścianek) jest kompatybilne ze stanowiskiem do badań małych próbek (700 × 700 mm) wyposażenia laboratorium sprzężonych komór pogłosowych KMiW AGH, służącego do określania izolacyjności akustycznej przegród. W połączeniu z nimi daje nowe możliwości weryfikacji teoretycznych modeli obliczeniowych skuteczności akustycznej przegród i obudów dźwiękoizolacyjnych oraz dźwiękochłonno-izolacyjnych.

Uwagi ogólne

Praca sfinansowana z Subwencji Badawczej AGH nr 16.16.130.942/kmiw.

Literatura

1. Engel Z., *Zawieska W. M., Hałas i drgania w procesach pracy. Źródła, ocena, zagrożenia, CIOP-PIB,* Warszawa 2010.
2. Engel Z., Sikora J., *Obudowy dźwiękochochłonno-izolacyjne. Podstawy projektowania i stosowania*, Wyd. AGH, Kraków 1998.
3. Sikora J., *Warstwy gumowe w rozwiązaniach zabezpieczeń wibroakustycznych*, AGH, Kraków 2011.
4. Wszołek T., *Uncertainty of sound insulation measurement in Laboratory*, Archives of Acoustics, Vol. 32, No 4 (supplement), 2007, s. 271-278.
5. Ver I.L., Beranek L.L., *Noise and vibration control engineering – principles and applications*, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey 2006.
6. Bies D.A., Hansen C.H., *Engineering noise control, theory and practice*, Spon Press, London and New York 2009.
7. Majkut L., Olszewski R., *Modelowanie izolacyjności akustycznej przegród jednorodnych,* Autobusy: technika, eksploatacja, systemy transportowe, 12, 2018, s. 553-556.
8. Majkut L., *Analiza teoretyczna zjawiska koincydencji i częstości krytycznych paneli akustycznych*, Autobusy: technika, eksploatacja, systemy transportowe, 12, 2018, s. 549-554.
9. Kosała K., Majkut L., Olszewski R., *Modelowanie izolacyjności akustycznej przegród Metodą Statystycznej Analizy Energii,* Autobusy: technika, eksploatacja, systemy transportowe, 12, 2018, s. 106-109.
10. Bajdała P., *The transmission loss calculation method of multilayer structures*, Technical Transactions, Mechanics, Wydawnictwo Politechniki Krakowskiej, 2011, Zeszyt 3, s. 3-11.
11. Kosała K., *Calculation models for analysing the sound insulating properties of homogeneous single baffles used in vibroacoustic protection*, Applied Acoustics, 146, 2019, s. 108-117.
12. Kosała K., *Sound insulation properties of two-layer baffles used in vibroacoustic protection*, Applied Acoustics, 156, 2019, s. 297-305.
13. Kosała K., *Charakterystyki akustyczne gumowo-metalowych przegród dźwiękoizolacyjnych – możliwości predykcji i badania doświadczalne*, Izolacje: Budownictwo, Przemysł, Ekologia, 7-8, 2019, s. 92-97.
14. Kosała K., Olszewski R., *Metody obliczeniowe wyznaczania izolacyjności akustycznej dwuwarstwowych przegród dźwiękoizolacyjnych*, Bezpieczeństwo Pracy, Nauka i Praktyka, 10, 2019, s. 19-22.
15. Majkut L., Olszewski R., *Zastosowanie modelu regresji do wyznaczenia współczynnika izolacyjności akustycznej przegrody niejednorodnej*, Autobusy: technika, eksploatacja, systemy transportowe, 12, 2019, s. 175-178.
16. Kosała K., Olszewski R., Majkut L., Flach A., *Badania własności akustycznych obudowy dźwiękoizolacyjnej ze ściankami jedno i dwuwarstwowymi*, Konf. WibroTech 2019, Kraków-Zawiercie 2019.
17. PN-EN ISO 3382-1:2009 – Akustyka. Pomiar parametrów akustycznych pomieszczeń. Część 1: Pomieszczenia specjalne.
18. PN-EN ISO 3745:2009 – Akustyka. Wyznaczanie poziomów mocy akustycznej źródeł hałasu na podstawie pomiarów poziomu ciśnienia akustycznego. Metody dokładne w komorach bezechowych i w komorach bezechowych z odbijającą podłogą.
19. PN-EN ISO 3746:1999 – Akustyka. Wyznaczanie poziomów mocy akustycznej źródeł hałasu na podstawie pomiarów poziomu ciśnienia akustycznego. Metoda orientacyjna z zastosowaniem otaczającej powierzchni nad płaszczyzną odbijającą dźwięk.

Badania laboratoryjne prototypu stanowiska do wyznaczania właściwości akustycznych materiałów stosowanych w ochronie przeciwhałasowej

Streszczenie

Intensywny postęp technologiczny, jaki może być obserwowany w ostatnim oraz na początku obecnego stulecia, przynoszący szereg wynalazków oraz zwiększenie produkcji dóbr, może zapewnić społeczeństwu wiele korzyści. Jednak z tym zjawiskiem, związanych jest także wiele niezamierzonych skutków, generujących zagrożenia dla ludzi w ich środowisku życia i pracy, a także dla maszyn i konstrukcji. Spośród tych zagrożeń należy wymienić hałas i drgania. Narażenie na nadmierne poziomy wymienionych czynników dotyczy wszystkich obywateli i wpływa niekorzystnie na ich zdrowie, utrudniając im wypoczynek, obniżając efektywność pracy, a także zwiększając prawdopodobieństwo wypadków przy wykonywaniu czynności zawodowych.

Problematyka ochrony przeciwhałasowej podjęta przez autorów w ramach opracowania obejmuje badania akustycznych cech materiałów, przeznaczonych do wytwarzania konstrukcji przeciwhałasowych, przede wszystkim typu: przegrody i obudowy dźwiękoizolacyjne, ale także i do pewnych typów osłon oraz ekranów akustycznych. Aby zabezpieczenia przeciwhałasowe mogły spełniać skutecznie swoje zadanie, materiały z jakich są one zbudowane muszą cechować się odpowiednimi właściwościami akustycznymi, w tym odpowiednią izolacyjnością akustyczną. Gdy rozpatrywany jest układ przegród, stanowiących obudowę dźwiękoizolacyjną, podstawową właściwością określającą jej skuteczność akustyczną jest strata wtrącenia, badana przez autorów. Opracowany prototyp stanowiska badawczego, będący pewnego rodzaju obudową dźwiękoizolacyjną dla wszechkierunkowego źródła dźwięku umieszczonego w jej wnętrzu, imitującego hałaśliwą maszynę lub urządzenie, jest nowatorskim narzędziem do weryfikacji modelowania właściwości akustycznych przegród i obudów. Badania akustyczne przeprowadzono zarówno w komorze bezechowej, jak i w pomieszczeniu, w którym charakter pola akustycznego był zbliżony do pola występującego w warunkach przemysłowych.

Słowa kluczowe: izolacyjność akustyczna, strata wtrącenia, przegrody dźwiękoizolacyjne, obudowy dźwiękoizolacyjne, modelowanie własności akustycznych

Laboratory tests of the prototype stand to determine the acoustic properties of materials used in noise protection

Abstract

The intensive technological progress that can be observed in the last and at the beginning of the present century, bringing a number of inventions and increasing goods production, can provide many benefits to society. However, this phenomenon is also associated with many unintended consequences, generating threats for people in the environment of their life and work, as well as for machines and constructions. These threats include noise and vibration, i.e. nuisances of widespread social reach. Exposure to excessive levels of noise and vibration affects all citizens and adversely affects their health, hindering their rest, reducing work efficiency and increasing the likelihood of accidents at work.

The issue of anti-noise protection undertaken by the authors as part of the study includes testing of materials that can be used in anti-noise constructions, primarily of the type of acoustic baffles and enclosures, but also for certain types of noise barriers and covers. In order for noise protection to be effective, the materials they are made of should have adequate acoustic properties, such as proper sound insulation. When the system of baffles constituting the sound insulation enclosure is considered, the basic property determining its acoustic efficiency is the so-called insertion loss, investigated by the authors. The developed prototype of the test stand, which is a kind of the sound insulating enclosure of an omnidirectional sound source placed inside, imitating a noisy machine or device, is an innovative tool for verifying the modeling of acoustic properties of baffles and enclosures. Acoustic tests were carried out both in an anechoic chamber and in a room where the nature of the sound field was similar to that occurring in industrial conditions.

Keywords: sound insulation, insertion loss, sound insulating baffles, sound insulating enclosure, modeling of acoustic properties

Ireneusz Musiałek[1], Jarosław Kotliński[2], Andrzej Kęsy[3]

Rozwój konstrukcji, produkcji i zastosowań podzespołów hydrokinetycznych

1. Wstęp

Układ napędowy to układ podzespołów mechanicznych, służący do przenoszenia energii mechanicznej z silnika napędowego do organu roboczego. Podstawowymi wielkościami fizycznymi występującymi w układzie napędowym są moment obrotowy i prędkość obrotowa.

Prace nad mechanicznymi układami napędowymi były intensywnie prowadzone od momentu wynalezienia silników napędowych, tj. po tym, jak pod koniec IX wieku opatentowano: w 1884 turbinę parową (Ch. Parsons), w 1887 czterocylindrowy silnik spalinowy o zapłonie iskrowym (N. A. Otto), a w 1892 silnik spalinowy o zapłonie samoczynnym (R. Diesel) [1]. Pierwszą profesjonalną konstrukcją podzespołu układu napędowego była 2-biegowa przekładnia mechaniczna samochodu Maybach-Daimler powstała w 1889 r. [1, 2].

Kolejne podzespoły układu napędowego pojawiały się w pojazdach i maszynach w miarę rozwoju technologii.

Przekładnia bezstopniowa CVT. Idę przekładni bezstopniowych przedstawił Leonardo da Vinci 1490 r. Najstarsza przekładnia CVT (ang. *Continuously Variable Transmission*) składała się dwóch par kół stożkowych, połączonych elastycznym pasem, rozsuwanych lub przysuwanych do siebie i w ten sposób tworzących koła pasowe o zmiennej średnicy. Przekładnia bezstopniowa została opatentowana pod koniec XIX wieku. W 1958 r., H. van Dorn z DAF zaproponował pierwszą konstrukcję CVT przeznaczoną do samochodu DAF 660. CVT były początkowo konstruowane do samochodów wyścigowych [3]. W 1993 r. zespół Formuły 1 Williamsa przetestował samochód z CVT, który osiągnął bardzo dobre wyniki. Jednak Międzynarodowa Federacja Samochodowa zabroniła stosowania bezstopniowych przekładni w sportach samochodowych. Obecnie CVT są sporadycznie stosowane w samochodach osobowych o małych mocach.

Przekładnia hydrostatyczna. Przekładnia hydrostatyczna składa się z jednej lub kilku par pomp wyporowych i silników hydrostatycznych [2]. W przypadku pomp wyporowych zmieniana jest wydajność pompy, a w przypadku silników hydraulicznych chłonność silnika. Najczęściej stosowane są pompy i silniki wielotłoczkowe z regulowaną w sposób bezstopniowy objętością roboczą. Wszystkie maszyny hydrauliczne tworzące przekładnię mogą się mieścić w jednym korpusie lub być od siebie oddalone i połączone przewodami hydraulicznymi.

[1] imusialek@ujk.edu.pl, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, Filia w Sandomierzu, www.ujk.pl.
[2] jaroslaw.kotlinski@uthrad.pl, Uniwersytet Technologiczna-Humanistyczny w Radomiu, Wydział Mechaniczny, www.uniwersytetradom.pl.
[3] a.kesy@uthrad.pl, Uniwersytet Technologiczna-Humanistyczny w Radomiu, Wydział Mechaniczny, www.uniwersytetradom.pl.

Historia przekładni hydrostatycznych, a zarazem hydrauliki rozpoczyna się od wynalezienia przez J. Keplera około 1600 r. pompy zębatej [1]. W 1663 r. B. Pascal po prowadzeniu rozważania teoretyczne wyjaśnił zasadę działania prasy hydraulicznej. W 1795 r. J. Bramah, skonstruował maszynę napędzaną wodą pod ciśnieniem. W 1905 r. po raz pierwszy zastosowano olej mineralny, jako ciecz roboczą w hydrostatycznej przekładni z tłokami osiowymi, a w 1964 r. został opracowany pierwszy syntetyczny olej hydrauliczny.

Przekładnia elektryczna. Przekładania elektryczna składa się ze źródła prądu, którym może być prądnica, sieć elektryczna lub akumulator, silnika elektrycznego oraz elektronicznego układu sterowania. Zastosowanie silników elektrycznych w zdecydowany sposób upraszcza konstrukcję układu napędowego lub likwiduje układ napędowy, gdy silniki są umieszczone bezpośrednio w kołach pojazdu bez żadnych pośredniczących podzespołów mechanicznych. Pierwszym pojazdem o napędzie elektrycznym był tricykl zbudowany przez G. Trouve w 1881 r., a pierwszym samochodem osobowym był *Flocken Elektrowagen* skonstruowany przez A. Flockenaz w 1888 r. Obecnie przekładnia elektryczna jest podstawową przekładnią używaną w lokomotywach spalinowych, w których silnik spalinowy napędza prądnicę wytwarzającą prąd elektryczny, służący do zasilania elektrycznych silników trakcyjnych. Takie rozwiązanie zastosowano na przykład w lokomotywie Bombardier Traxx DE, zbudowanej w 2010 r.

Ze względu na ochronę środowiska naturalnego obecnie istnieje bardzo silny trend stosowania pojazdów z napędem elektrycznym. Jednak z powodu problemów z magazynowaniem energii elektrycznej oraz trudności ze sterowaniem elektronicznym prądem elektrycznym o dużej mocy, napęd elektryczny jest przede wszystkim stosowany w samochodach osobowych.

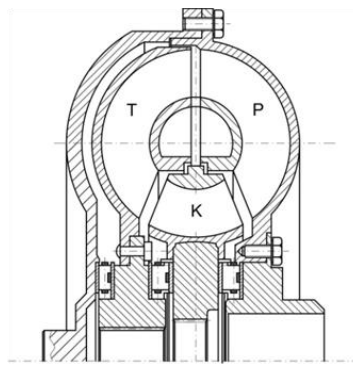
Dwusprzęgłowe skrzynie biegów. Dwusprzęgłowa skrzynia biegów składa się z **dwóch równoległych skrzyń biegów, każda z własnym sprzęgłem** wielopłytkowym [4]. Jedna skrzynia obsługujących biegi parzyste, druga nieparzyste.

Podczas jazdy, przed zmianą biegu sprzęgło w pierwszej przekładni jest załączone, a w drugiej rozłączone. Zmiana biegu rozpoczyna się od wyboru biegu w drugiej skrzyni biegów, gdy sprzęgło tej skrzyni jest jeszcze rozłączone (tak zwany wybór preselekcyjny). Następnie sprzęgło pierwszej skrzyni rozłącza się i jednocześnie załącza się sprzęgło drugiej skrzyni. Moment obrotowy przenoszonego przez sprzęgło pierwszej skrzyni spada proporcjonalnie do wzrostu momentu przenoszonego przez sprzęgło drugiej skrzyni. Sterowanie zmianą biegów odbywa się przez mechanizm elektrohydrauliczny albo elektromechaniczny.

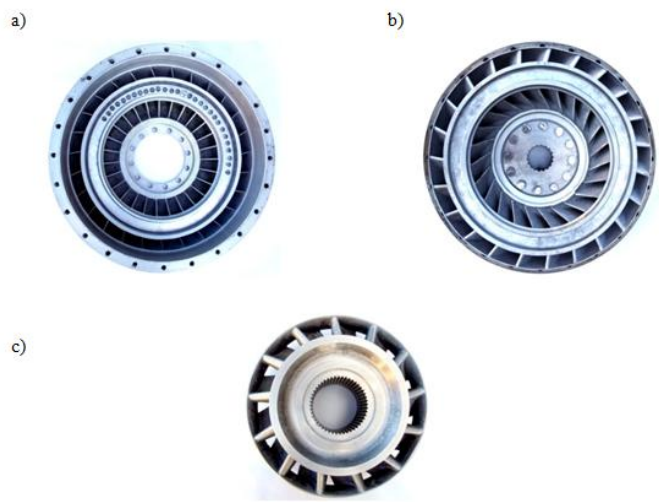
Dwusprzęgłową skrzynię biegów wynalazł A. Kegress jeszcze przed wybuchem II wojny światowej, celem zastosowania w samochodzie Citroëna [5]. Koncepcja zautomatyzowanej dwusprzęgłowej skrzyni biegów powstała w firmie Porsche w latach 80., a pierwsza konstrukcja została zrealizowana we współpracy firm: Borg Warner oraz IAV i po raz pierwszy została zamontowana w samochodzie osobowym Volkswagen Golf R32. Obecnie dwusprzęgłowe skrzynie biegów są stosowane przez wiele firm samochodowych, pod różnymi nazwami: Volkswagen – DSG (ang. *Direct Shift Gearbox*), Porsche – PDK, Ford i Volvo – Powershift, Audi – S-Tronic, Mercedes-Benz – Speedshift DCT, BMW – M-DCT, Mitsubishi – Twin Clutch SST.

2. Hydrokinetyczny układ napędowy

Hydrokinetyczny układ napędowy zawiera podzespół hydrokinetyczny, to jest przekładnię hydrokinetyczną, sprzęgło hydrokinetyczne lub hamulec hydrokinetyczny. Podstawowymi elementami podzespołów hydrokinetycznych są koła łopatkowe osadzone na wałach ułożyskowanych w szczelnej obudowie, wypełnionej cieczą roboczą [2]. Przekładnia hydrokinetyczna jest najbardziej zaawansowaną formą podzespołu hydrokinetycznego. Posiada koło łopatkowe pompy i co najmniej po jednym kole łopatkowym turbiny i kierownicy. Sprzęgło hydrokinetyczne składa się z koła łopatkowego pompy i koła łopatkowego turbiny. Hamulec hydrokinetyczny powstaje ze sprzęgła hydrokinetycznego przez unieruchomienie koła łopatkowego turbiny. O charakterystyce podzespołów hydrokinetycznych decyduje geometria kół łopatkowych, czyli kształt kanałów, w których przepływa ciecz robocza. Na rysunku 1 pokazano schemat konstrukcji przekładni hydrokinetycznej z trzema kołami łopatkowymi, a na rysunku 2 odlewane koła łopatkowe przekładni hydrokinetycznej.

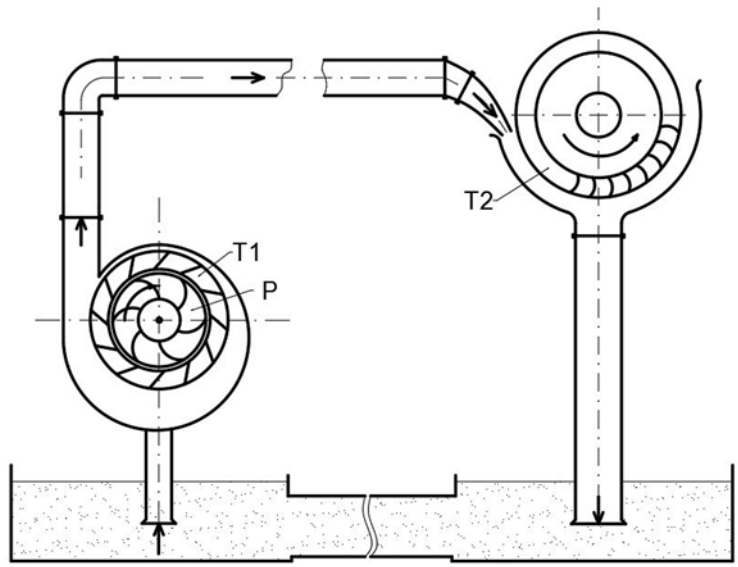


Rysunek 1. Schemat konstrukcji przekładni hydrokinetycznej z trzema kołami łopatkowymi: P – koła łopatkowe pompy, T – koło łopatkowe turbiny, K – koło łopatkowe kierownicy [opracowanie własne]



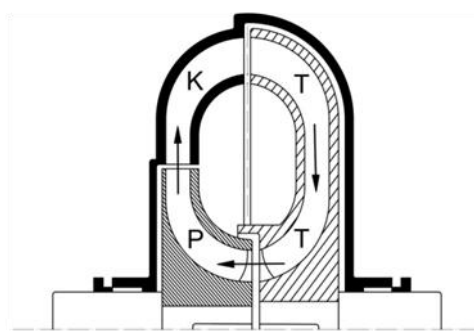
Rysunek 2. Odlane koła łopatkowe przekładni hydrokinetycznej: P – koło łopatowe pompy, T – koło łopatkowe turbiny, K – koło łopatkowe kierownicy [opracowanie własne]

Rozważania nad konstrukcją przekładni hydrokinetycznej zapoczątkował niemiecki inżynier elektryk H. Foettinger (1877-1945), pracownik stoczni Vulcan AG w Szczecinie [2, 3, 6], który rozpatrywał sposób przenoszenia energii ruchu obrotowego na drodze hydraulicznej w zastosowaniu do napędu statku, rysunek 3.



Rysunek 3. Schemat hydraulicznego układu napędowego statku: P – koło łopatkowe pompy, T1 – koło łopatkowe turbiny napędzające śrubę, T2 – koło łopatkowe turbiny realizującej wsteczny napęd śruby [opracowanie własne]

Oryginalnym rozwiązaniem technicznym H. Foettingera było umieszczenie koła łopatkowego pompy i koła łopatkowego turbiny we wspólnej obudowie, celem obniżenia strat przepływu. W ten sposób powstała przekładnia hydrokinetyczna pokazana na rysunku 4. Swój pomysł H. Foettinger opatentował w Niemczech w 1905 r. (patent nr 221422).



Rysunek 4. Schemat konstrukcyjny przekładni hydrokinetycznej opatentowanej przez Foettingera w 1905 r. [opracowanie własne]

Jedną z głównych zalet podzespołów hydrokinetycznych jest prosta konstrukcja. Podzespoły te mają również korzystny stosunek masy do przenoszonego momentu obrotowego, możliwość pracy przy zatrzymanym wale wyjściowym oraz możliwość samoczynnego dostosowywaniu obrotów wału wyjściowego do obciążenia. Cenną cechą napędów hydrokinetycznych jest zdolność do tłumienia drgań, gdyż wały wejściowy i wyjściowy podzespołu hydrokinetycznego nie są bezpośrednio ze sobą połączone, lecz za pomocą cieczy roboczej. Podzespoły hydrokinetyczne, od momentu powstania, są stosowane w układach napędowych statków, naziemnych środków transportu, pomp, czy generatorów prądotwórczych. Wał wejściowy podzespołu hydrokinetycznego może być połączony bezpośredni lub pośrednio przez przekładnie zębate, najczęściej planetarne, z jednostką napędową, którą może być turbina parowa, turbina gazowa, silnik spalinowy z zapłonem samoczynny lub silnik spalinowy z zapłonem iskrowym. Natomiast wał wyjściowy łączony jest z dalszymi elementami układu napędowego bezpośrednio lub za pomocą przekładni zębatych, o stałym przełożeniu lub o sterowanym zmiennym przełożeniu nazywanymi skrzyniami biegów. Skrzynie biegów pojazdów zawierające podzespoły hydrokinetyczne należą do grupy automatycznych skrzyń biegów [8].

W automatycznej skrzyni biegów przekładnia hydrokinetyczna pełni funkcję sprzęgła ciernego stosowanego w typowej skrzyni z ręcznie wybieranymi biegami. Skrzynia biegów z ręcznie wybieranymi biegami ma zwykle dwa wałki: sprzęgłowy i wyjściowy. Wałki te są połączone z sobą kołami zębatymi o różnej średnicy w taki sposób, że gdy jedna para kół jest zazębiona i przekazuje napęd pozostałe są rozłączone. Każda z takich par kół zębatych tworzy oddzielny bieg, o innej wartości przełożenia. Automatyczna skrzynia biegów jest wyposażona w przełącznik trybu pracy sterujący automatycznym systemem wybierania biegów. Wybieranie biegów odbywa się przez włączanie sprzęgieł lub hamulców związanych z kołami zębatymi. Klasyczne sterowanie tego systemu to sterowanie hydrauliczne. W miarę rozwoju techniki stosowano sterowanie elektrohydrauliczne, elektromechaniczne, elektropneumatyczne i elektroniczne.

3. Rozwój konstrukcji podzespołów hydrokinetycznych na świecie

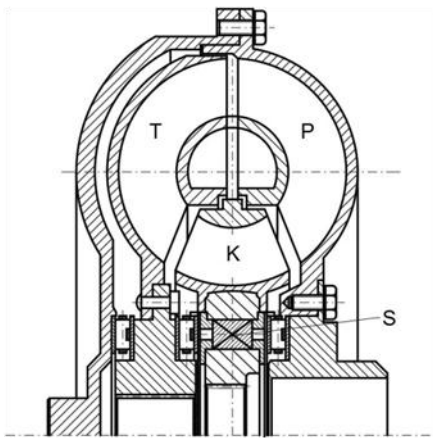
3.1. Lata 1905-1910

Po raz pierwszy przekładnię hydrokinetyczną zastosowano w 1909 r. w układzie napędowym statku, umieszczając ją między szybkoobrotową turbiną parową, która zastąpiła wolnoobrotowe silniki parowe, a śrubą napędową [2, 3, 6]. Pierwszy prototyp przekładni hydrokinetycznej o mocy 75 kW, z wodą jako cieczą roboczą, osiągnął sprawność 83%. Największym osiągnięciem tego etapu rozwoju konstrukcji przekładni hydrokinetycznej było zbudowanie statku pasażerskiego wyposażonego w dwie przekładnie hydrokinetyczne, każda o mocy 7360 kW i sprawności maksymalnej 89%. Od 1917 r. liczba statków z napędem hydrokinetycznym zaczęła stopniowo maleć, ze względu na coraz częstsze stosowanie wolnoobrotowych silników spalinowych oraz przekładni zębatych o dużej sprawności.

W 1910 r. w Niemczech opatentowano sprzęgło hydrokinetyczne, jako przekładnię hydrokinetyczną bez koła łopatkowego kierownicy.

3.2. Lata 1925-1932

Od 1925 r. rozpoczyna się stosowanie napędu hydrokinetycznego w pojazdach, kiedy to w Niemczech H. Reiseler zastosował przekładnię hydrokinetyczną w skrzyni biegów samochodu osobowego [1-4, 6]. Przekładnia ta współpracowała z przekładnią planetarną. W 1928 r. inżynierowie z TrilockConsortium w Karlsruhe w Niemczech W. Spannhake, H. Kluge oraz K. van Sanden, skonstruowali przekładnię hydrokinetyczną nazwaną „Tri-Lok", rysunek 5.



Rysunek 5. Schemat konstrukcji przekładni hydrokinetycznej „Tri-Lok": P – koło łopatkowe pompy, T – koło łopatkowe turbiny, K – koło łopatkowe kierownicy, S – sprzęgło jednokierunkowe (wolne koło) [opracowanie własne]

Istotą budowy tej przekładni było połączenie koła łopatkowego kierownicy z obudową za pomocą sprzęgła jednokierunkowego (wolnego koła). Takie rozwiązanie spowodowało zwiększenie sprawność przekładni, przy stosunkowo prostej konstrukcji, co predysponowało takie przekładnie do stosowania w samochodach osobowych.

W 1929 r. W. Spannhake i H. Sinclar skonstruowali sprzęgło hydrokinetyczne bez pierścienia wewnętrznego. Sprzęgło to miało prostszą budowę i z tego powodu było tańsze. W tym samym roku firma Leyland na licencji A. Lysholma, wyprodukowała przekładnię hydrokinetyczną do autobusu nazwaną Lysholm-Smith. W tym samym roku w ZSRR zbudowano pierwsze sprzęgło hydrauliczne.

W 1930 r. w firmie Daimler powstała pierwsza konstrukcja sprzęgła hydrokinetycznego do pojazdu.

W ZSSR na początku lat 30. Biuro Reduktorów Hydraulicznych w Leningradzie opracowało przekładnie hydrodynamiczne do różnych maszyn.

W 1932 r. przekładnię hydrokinetyczną zastosowano w układzie napędowym wagonu motorowego kursującego na trasie między Berlinem, a Hamburgiem. Układ napędowy wagonu napędzanego wysokoprężnym silnikiem spalinowym o mocy 440 kW składał się z przekładni hydrokinetycznej oraz przekładni zębatej.

W latach 1932-1934 w ZSSR została skonstruowana w MVTU im. Baumana pierwsza rosyjska przekładnia hydrokinetyczna. W 1935 r. dla fabryki ZIL skonstruowano dwie wersje samochodowej skrzyni biegów z przekładnią hydrokinetyczną typu

Lysholm-Smith dla autobusu ZIS-5. W pierwszej wersji zastosowano czteroczłonową dwustopniową przekładnię hydrokinetyczną, w drugiej wersji zastosowano sześcioczłonową trójstopniową przekładnię hydrokinetyczną.

3.3. Lata 1937-1945

W 1937 r. firma *General Motors* opatentowała sprzęgło hydrokinetyczne przeznaczone do automatycznej skrzyni biegów. Było to początkiem rozwoju konstrukcji automatycznych skrzyń biegów do samochodów osobowych [1-4, 6].

W 1938 r. w Stanach Zjednoczonych Ameryki G. Fleisch dla General Motors skonstruował automatyczną skrzynię biegów przez połączenie sprzęgła hydrokinetycznego z szeregiem przekładni zębatych, pozwalających na wybór 4 biegów do jazdy do przodu i 1 biegu do jazdy wstecz. Skrzynie tę nazwano „**Hydra-Matic**". Przekładnię tą wprowadzono w 1940 r. początkowo w samochodach *Oldsmobile,* a następnie Cadillac i Pontiac, a także w miarę upływu czasu w samochodach Bentley, Hudson, Kaiser, Nash i Rolls-Royce.

Także firma Chrysler w 1938 r. zaprezentowała automatyczną skrzynię biegów ze sprzęgłem hydrokinetycznym.

W latach wojny 1942-1945 automatyczna skrzynie biegów „**Hydra-Matic**" była produkowana w Stanach Zjednoczonych Ameryki tylko dla czołgów. W tym czasie wyprodukowano ponad 25 tys. takich przekładni. Pod koniec II wojny światowej hydrokinetyczne układy napędowe zaczęto także stosować w większości ciężkich pojazdach wojskowych.

3.4. Lata 1945-1978

Po drugiej wojnie światowej, zwłaszcza w Stanach Zjednoczonych Ameryki, zastosowanie hydrokinetycznych układów napędowych objęło także konstrukcje nie związane z wojskiem, takie jak lokomotywy, maszyny górnicze oraz ciężkie maszyny budowlane, w tym maszyny przeznaczone do robót ziemnych: spycharki, ładowarki, koparki. W końcu lat 50. napęd hydrokinetyczny zaczęto stosować w pojazdach transportu wewnętrznego, w takich jak np. wózki widłowe [1-4, 6].

W Rosji prace nad rozwojem napędów hydrokinetycznych podjęto od 1947 r. W ich efekcie w 1951 r. powstał układ napędowy ze sprzęgłem hydrokinetycznym dla samochodu ZIM oraz automatyczna skrzyni biegów z przekładnią hydrokinetyczną do samochodu Wołga [3].

W 1948 r. roku udział w sprzedaży samochodów z automatyczną skrzynia biegów wyniósł dla samochodów Pontiac 73%, dla samochodów Cadillac – 97%, a dla samochodów Oldsmobile prawie 100%.

W tym samym roku 1948 w firmie General Motors powstaje automatyczna skrzynia biegów „Dynaflow", z przekładnią hydrokinetyczną wyposażoną w koło łopatkowe turbiny składające się z 4 wieńców łopatkowych, które w pewnych zakresach pracy przekładni hydrokinetycznej mogły się obracać z różnymi prędkościami.

W 1949 r. wyprodukowano milionowy egzemplarz automatycznej skrzyni biegów „**Hydra-Matic**". Od tego roku automatyczne skrzynie biegów oferowały też firmy Lincoln, Nash, Hudson i Kaiser-Frazer, a od 1952 r. firmy Rolls-Royce, Ford, Studebaker, Packard. Automatyczną skrzynię biegów „Hydra-Matic" produkowano do 1955 r. Do tego czasu powstało 10 mln egz. wszystkich wersji tych skrzyń dla

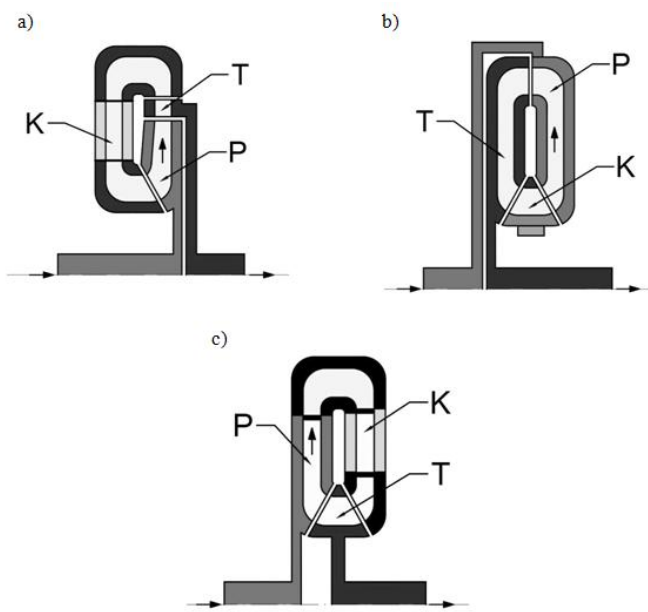
samochodów osobowych. Wyjątkowo firma *Rolls-Royce produkowała takie skrzynie dla modeli Phantom ViVI* do 1978 r.

W latach 1949-1954 r. w firmie Packard powstaje dwustopniowa, dwufazowa przekładnia hydrokinetyczna do automatycznej skrzyni biegów Ultramatic Drive współpracująca z dwustopniową stopniową przekładnią planetarną. W 1955 powstaje Twin Ultramatic. W przekładni „Ultramatic" po raz pierwszy zastosowano sprzęgło blokującego (Lock-up Clutch), łączące koło łopatkowe pompy i turbiny przy wyższych przełożeniach kinematycznych. Sprzęgło takie było też stosowane niektórych przekładniach hydrokinetycznych firmy Borg-Warner.

W 1952 r. w firmie Borg Warner wprowadza na rynek automatyczną skrzynię biegów o nazwie „Warner Gear" z przekładnią hydrokinetyczną „Tri-Lok" współpracującą z trójbiegową przekładnią planetarną.

W 1953 r. w firma Borg Wagner skonstruowano automatyczną skrzynię biegów z przekładnią hydrokinetyczną i sterowaniem hydrauliczno-elektrycznym.

W **Niemczech w** 1953 r. została wyprodukowana pierwsza automatyczna skrzynia biegów „Voith DIWA" przeznaczona do autobusów [7]. Cechą charakterystyczną tej przekładni było zastosowanie rozdziału mocy, dzięki czemu w zakresie pracy przekładni hydrokinetycznej uzyskano wyższe sprawności niż w do tej pory stosowanych konstrukcjach amerykańskich. Skrzynia posiadała poza biegiem neutralnym również dwa biegi jazdy do przodu i bieg wsteczny, a także dwustopniowy hamulec hydrokinetyczny. Schematy obrazujące układ kół łopatkowych w różnych konstrukcjach przekładni hydrokinetycznej pokazano na rysunku 6.



Rysunek 6. Układy kół łopatkowych w różnych konstrukcjach przekładni hydrokinetycznej: a – przekładnia hydrokinetyczna skonstruowana przez Foettingera, b – przekładnia hydrokinetyczna „Tri-Lok", c – przekładnia hydrokinetyczna „Voith DIWA" [opracowanie własne]

W latach 1950-1954 w automatyczną skrzynię biegów „Hydra-Matic" wyposażono samochody Lincoln. W tym czasie niemiecka firma Mercedes-Benz opracowała własną konstrukcję czterobiegowej automatycznej skrzyni biegów wzorując się na konstrukcji automatycznej skrzyni biegów „Hydra-Matic".

W 1958 w ZSSR została wyprodukowana pierwsza automatyczna skrzynia biegów wzorowana na konstrukcji firmy Packard i zastosowana w najwyższej klasy limuzynie ZIL-111.

W 1961 r. **w firmie Daimler-Benz** skonstruowano czterobiegową automatyczną skrzynię biegów ze sprzęgłem hydrokinetycznym dla samochodów osobowych początkowo dla modelu 220 SE. W tym samym roku w taką skrzynię wyposażono model 300 SE. Stosowano ją także w samochodach 230 L Roadster i w samochodzie Mercedes-Benz 600 z 1964 r.

W latach 1961-1966 w Niemczech w fabryce w Hedelfingen wprowadzono na rynek 100 tys. automatycznych skrzyń biegów, a w 1976 r. wyprodukowano milionowy egzemplarz.

W ZSSR w latach 60. fabryka ZIL wraz z fabryką samochodów w Briańsku produkowały samochody ZIL-135 z napędem hydrokinetycznym wyposażonym w trójelementową przekładnię hydrokinetyczną. Samochody te były używane jako podwozia wyrzutni rakiet oraz pojazdy służące do transportu statków kosmicznych [3].

W latach 60. powstały także pierwsze konstrukcje hamulców hydrokinetycznych do pojazdów, najpierw dla samochodów ciężarowych, a następnie dla autobusów i ciężkich przyczep.

Od 1963 r. na Ukrainie w Lwowskiej Fabryce Autobusów (LAZ) rozpoczęto produkcję hydromechanicznej przekładni LAZ-NAMI-035 z trójelementową przekładnią hydrokinetyczną, z dwufazowym kołem łopatkowym kierownicy, zaprojektowaną we współpracy z USA.

W 1967 r. w Czechosłowacji, we współpracy z ZSSR, skonstruowano i rozpoczęto produkcję hydromechanicznej skrzyni biegów z trójelementową przekładnię hydrokinetyczną z wolnym kołem NAMI – Praga 2M-70 przeznaczoną do autobusów Gorda.

W tym samym roku w czterobiegową automatyczną skrzynię biegów z przekładnią hydrokinetyczną wyposażono samochód firmy Volkswagen.

Od 1970 r. powstają konstrukcje automatycznych skrzyń biegów dla pojazdów wyposażone w 6 do 8 biegów. Wtedy w Stanach Zjednoczonych Ameryki układy napędowe pojazdów zawierające sprzęgło lub przekładnię hydrokinetyczną stały się standardem, tak że w 1970 r. około 90% produkowanych pojazdów zawierało taki układ napędowy.

W tym czasie w Europie Zachodniej powstawały konstrukcje pojazdów drogowych samochodów osobowych, ciężarowych autobusów z hydrokinetycznym układami napędowymi, głównie na licencji amerykańskich. Układy tego typu były stosowane nawet w małych samochodach osobowych.

Od 1990 r. masowo produkowano pięciobiegową automatyczną skrzynię biegów z przekładnią hydrokinetyczną oraz z elektro-hydraulicznym przełączaniem biegów.

4. Rozwój konstrukcji podzespołów hydrokinetycznych w Polsce

4.1. Lata 1919-1939

W okresie dwudziestolecia międzywojennego powstało pierwsze polskie sprzęgło hydrokinetyczne, którego konstruktorem był Jerzy Werner, późniejszy profesor i rektor Politechniki Łódzkiej [8, 9].

4.2. Lata 1951-1955

W latach 1951 do 1955 zespół pracowników Wydziału Mechanicznego Politechniki Gdańskiej pod kierunkiem prof. Adolf Polaka skonstruował sprzęgło hydrokinetyczne do dwustopniowej przekładni zębatej o mocy 515 kW [10, 11].

4.3. Lata 1957-1968

W 1957 r. rozpoczęto prace nad konstrukcją hydrokinetycznych układów napędowych w Politechnikach Łódzkiej oraz Politechnice Warszawskiej [12-14].

W latach 60. Fabryka Urządzeń Budowlanych w Łodzi uruchomiła produkcję typoszeregu przekładni hydrokinetycznych [15].

W tej dekadzie w Katedrze Budowy Samochodów Politechniki Łódzkiej, kierowanej przez prof. Jerzego Wernera, w ramach prac konstrukcyjnych, mających na celu uproszczenie technologii wykonania kół łopatkowych, przyjęto koncepcję kształtowania średniej powierzchni łopatki jako powierzchni prostokreślnej. Wg tej koncepcji zaprojektowano szereg kół łopatkowych, które posłużyły do budowy prototypów 4 przekładni hydrokinetycznych. Były to przekładnie trójwirnikowe o kierunku przepływu cieczy pompa-turbina-kierownica o średnicy czynnej D = 385 mm. Koło łopatkowe kierownicy było połączone z obudową przez sprzęgło jednokierunkowe. Jedną z tych przekładni hydrokinetycznych dobrano do układu napędowego z przekładnią planetarną autobusu SFA typu H100 z silnikiem spalinowym o mocy 88 kW i maksymalnym momencie obrotowym 412 Nm. Celem uzyskania danych do konstrukcji przekładni hydrokinetycznej, w typowy układ napędowy autobusu, zawierający sprzęgło cierne i pięciobiegową skrzynię biegów, wbudowano przekładnię hydrokinetyczną. Przeprowadzono badania drogowe oraz eksploatacyjne autobusu o przebiegu 11 tys. km. Na podstawie tych badań pod koniec lat 60. zbudowano i przebadano prototypowy hydrokinetyczny układ napędowy autobusu. Wyniki badań potwierdziły założenia konstrukcyjne, jednak tego układu napędowego nie wdrożono go do produkcji.

W Politechnice Warszawskiej prace nad hydrokinetycznymi układami napędowymi zapoczątkował prof. Kazimierz Studziński. Prace konstrukcyjne były prowadzone pod kierunkiem prof. Edward Habicha w Katedrze Ciągników i Pojazdów Politechniki Warszawskiej na zlecenie Szefostwa Służby Samochodowej MON. Opracowano sześciobiegowe hydrokinetyczne skrzynie biegów typu SP i PA ze sprzęgłami hydrokinetycznymi dla pojazdów terenowych. Prototypy tych skrzyń zostały przebadane w samochodzie Star 66, autobusie SAN H30 oraz transporterze opancerzonym SKOT. Wyniki badań były pozytywne, co spowodowało, że w 1965 r. Zjednoczenie Przemysłu Motoryzacyjnego POLMO podjęło decyzję o uruchomieniu produkcji seryjnej tych skrzyń biegów w zakładach WSK w Kaliszu. Powstała też konstrukcja trójbiegowych skrzyń tego typu z przekładnią hydrokinetyczną z przeznaczeniem dla autobusów. Prototypy tych skrzyń zostały zbudowane przez PIMOT i były przebadane w autobusach miejskich. Jednak mimo pozytywnych wyników badań nie uruchomiono produkcji żadnej z tych konstrukcji.

W Katedrze Ciągników i Pojazdów Politechniki Warszawskiej zaprojektowano także hydrokinetyczne skrzynie biegów do wózków widłowych, dla których w ramach pracy doktorskiej Zbigniewa Szydelskiego powstała konstrukcja przekładni hydrokinetycznej z płaskimi łopatkami. We współpracy z Gliwickimi Zakładami Urządzeń Transportowych ZREMB uruchomiona została seryjna produkcja wózków widłowych GPW2500 i T200 oraz małej ładowarki GŁ-120 (Kameleon) z tymi przekładniami.

W 1964 r. w Przemysłowym Instytucie Maszyn Budowlanych w Kobyłce opracowano dokumentację konstrukcyjną jednozakresowej przekładni hydrokinetycznej ZM 150 o układzie kół łopatkowych pompa-turbina-kierownica i średnicy czynnej 381 mm (15 cali), a w 1966 r. przekładni ZM 130 o średnicy czynnej 330,2 mm (13 cali) [15]. W tym czasie skonstruowano, zbudowano prototyp, przebadano i przygotowano do produkcji odmiany przekładni ZM 150 przeznaczone do maszyn transportowych ze sprzęgłem jednokierunkowym, oznaczone symbolem ZM 152 oraz ze sprzęgłem jednokierunkowym i sprzęgłem blokującym, oznaczone symbolem ZM 156. Prototypy tych przekładni zostały wykonane w Fabryce Urządzeń Budowlanych w Łodzi, przebadane w Wojskowej Akademii Technicznej w Warszawie i zamontowane w wywrotce „Mamut" o ładowności 20 ton oraz w ładowarce kołowej Ł2 o mocy 84 kW. Po uruchomieniu produkcji seryjnej tych przekładni zastosowano je także w typowych maszynach budowlanych o mocach 73 kW i 146 kW.

W latach 60. uruchomiono także seryjną produkcję sprzęgieł hydrokinetycznych w Zjednoczeniu Przedsiębiorstw Remontowych Maszyn i Urządzeń Budownictwa, Zjednoczeniu Przemysłu Węglowego oraz Zjednoczeniu Przemysłu Maszyn Budowlanych.

4.4. Lata 1973-1979

W latach 70. w Ośrodku Badawczo-Rozwojowym Maszyn Budowlanych w Stalowej Woli prowadzono prace konstrukcyjne nad tworzeniem układów łopatkowych przekładni hydrokinetycznych o dużej dynamice i wysokiej sprawności [16, 17]. W wyniku tych prac opracowano i wdrożono w Zakładach Hydrauliki Siłowej w Łodzi układ łopatkowy jednozakresowej przekładni UŁ-380/3 o średnicy czynnej 381 mm (15 cali). Układ ten zastosowano także w przekładni hydrokinetycznej 151 N do ładowarki Ł–34 z silnikiem spalinowym o mocy 160 kW. W ramach współpracy ze ZSRR opracowano konstrukcje 7 typowielkości przekładni jednostopniowych (o jednym wirniku turbiny), dwuzakresowych średnicach 340 mm oraz 370 mm. Przebadano je w Przemysłowym Instytucie Maszyn Budowlanych w Kobyłce i w Wojskowej Akademii Technicznej w Warszawie, a badania eksploatacyjne wykonano w ZSRR. Przekładnie te były produkowane w Zakładach Hydrauliki Siłowej w Łodzi na eksport do ZSRR.

W tych latach 1973-1975 w Przemysłowym Instytucie Maszyn Budowlanych w Kobyłce opracowano konstrukcję, zbudowano prototyp i przygotowano produkcję przekładni ZM 160 o średnicy czynnej 406,4 mm (16 cali) dla ładowarek kołowych o mocach do 220 kW. Od 1972 r. prowadzono też prace nad przekładniami ZM 120 dla ładowarki 175, ZM 133 do spycharki TD15C, ZM 143 do spycharki TD20E oraz przekładni ZM 170 do ciągnika TD25C.

Od 1975 r. w Ośrodku Badawczo-Rozwojowym Hydrauliki Siłowej Prema-Hydros w Łodzi prowadzono prace konstrukcyjne i badawcze dla Zakładów Hydrauliki Siłowej w Łodzi związane z rozwojem przekładni hydrokinetycznych o mocy 220 kW.

Przekładnie te były wytwarzane przez Fabrykę Urządzeń Budowlanych w Łodzi, a ich odbiorcą była Huta Stalowa Wola.

W latach 1978-1979 w WSK Rzeszów, we współpracy z International Harvester Co. ze Stanów Zjednoczonych Ameryki opracowano konstrukcje przekładni hydrokinetycznych o średnicach czynnych: 279,4 mm (11 cali) w 3 odmianach do ładowarek kołowych, oznaczonych jako: 510, 515, 520, o średnicy czynnej 355,6 mm (14 cali) do ciągnika TD20E oraz 406,4 mm (16 cali) w 3 odmianach dla ciągnika TD25E, ładowarki 560 i układarki rur SB185. Ostatecznie jednak produkcji tych przekładni nie uruchomiono i po 1980 r. zawieszono prace rozwojowe nad tymi przekładniami.

4.5. Lata 1982-1986

W 1982 r. po przyłączeniu Ośrodku Badawczo-Rozwojowym Hydrauliki Siłowej Prema-Hydros w Łodzi do Ośrodka Badawczo Rozwojowego Maszyn Ziemnych i Transportowych Huty Stalowa Wola zaprojektowano i wykonano prototypy przekładni hydrokinetycznych dla maszyn produkowanych później przez Hutę Stalowa Wola, Fadromę Wrocław, ZNTK Stargard Szczeciński, FSS Kielce, FUD Suchedniów [16, 17]. Produkcję przekładni PH1 370 1 do ciągnika SG-15C montowanego w Hucie Stalowa Wola uruchomiono w Zakładzie Maszyn Budowlanych w Lubaczowie.

W latach 1982-1983 opracowano w Przemysłowym Instytucie Maszyn Budowlanych w Kobyłce konstrukcję przekładni hydrokinetycznej ZM H175 o średnicy czynnej 444,5 mm (17,5 cala) dla ciężkiego ciągnika gąsienicowego TD–40 z silnikami o mocy 330 kW w dwóch odmianach prędkości obrotowych: 1800 obr/min i 2000 obr/min.

W 1986 powstały konstrukcje przekładni hydrokinetycznych o średnicy czynnej 370 mm, przeznaczonych do żurawi szosowo-terenowych o udźwigu 250 i 400 kN z blokadą wirników, w wersji z przesuniętą osią wału wejściowego bezpośrednio montowaną na silniku oraz w wersji łączonej z obiegową skrzynią biegów.

4.6. Lata 1990-1995

W latach 90. w Ośrodku Badawczym Maszyn Ziemnych i Transportowych Huty Stalowa Wola na licencji firmy Komatsu Dresser Co. skonstruowano zespoły napędowe z przekładniami hydrokinetycznymi dla ciągników TD7 H, TD8 H, TD9 H produkowanych przez Hutę Stalowa Wola [20, 21]. Ponadto przeprowadzono badania przekładni hydrokinetycznych dla produkowanych przez Hutę Stalowa Wola ładowarek 510, 515 oraz 520.

W 1995 r. w Zakładzie Maszyn Budowlanych w Lubaczowie produkowano 10 typów przekładni hydrokinetycznych dla maszyn budowlanych o mocach od 52 do 185 kW i średnicach czynnych od 280 do 410 mm.

5. Obecnie

Ocenia się, że na rynku amerykańskim w przekładnie automatyczne, ze sprzęgłem lub przekładnią hydrokinetyczną, wyposażonych jest nawet 90% eksploatowanych pojazdów [3, 4, 7]. Podobnie jest w Japonii i Australii, choć w tych krajach odsetek ten jest mniejszy i nie przekracza 80%. W Europie, głównie w Wielkiej Brytanii, Niemczech oraz państwach skandynawskich, gdzie znacznie częściej są stosowane silniki spalinowe o mniejszej pojemności, tylko kilkanaście procent używanych pojazdów jest wyposażonych w automatyczne skrzynie biegów.

W Polsce przekładnie hydrokinetyczne są produkowane przez Zakład Maszyn w Lubaczowie Sp. z o.o. [22]. Przedsiębiorstwo to oferuje 14 typów przekładni o śred-

nicach czynnych od 280 do 440 mm, które są stosowane w ciągnikach, maszynach budowlanych (ładowarkach oraz spycharkach) o mocach od 63,4 do 420 kW.

Nadal są prowadzone prace rozwojowe napędów hydrokinetycznych. Trwają badania nad zastosowaniem w podzespołach hydrokinetycznych nowych cieczy roboczych reagujących na zmianę pola elektrycznego lub magnetycznego [19]. Zastosowanie takich cieczy umożliwia elektroniczne sterowanie podzespołów hydrokinetycznych przewyższające pod względem czasu działania sterowanie innych napędów. Celem dalszego zwiększania sprawności prowadzona jest optymalizacja kształtu przestrzeni roboczej z użyciem zaawansowanych programów komputerowych. Do wytwarzania kół łopatkowych stosowana jest technologia druku 3D, co pozwala na znaczne zwiększenie dokładności kształtu przestrzeni roboczej [20].

6. Perspektywy dalszego rozwoju

Obecnie napędy hydrokinetyczne są konsekwentnie wypierane ze swoich tradycyjnych zastosowań. W bliskiej perspektywie, częściowo CVT oraz dwusprzęgłowe skrzynie biegów, wyeliminują napęd hydrokinetyczny z pojazdów z silnikami napędowymi o małych mocach, w tym z samochodów osobowych. Z kolei w maszynach budowlanych o małej i średnie mocy napęd hydrokinetyczny zastąpi sterowany napęd hydrostatyczny. Pozytywne efekty prowadzonych obecnie prace rozwojowych nad podzespołami hydrokinetycznymi nie odwrócą zjawiska wypierania napędów hydrokinetycznych.

Nowym trendem w rozwoju układów napędowych, uwzględniającym aspekty ekologiczne, jest stosowanie napędów elektrycznych. Należy się spodziewać, że w miarę rozwoju sieci stacji ładowania napęd elektryczny w pojazdach zastąpi wszystkie inne napędy.

Jednak napęd hydrokinetyczny jest i nadal będzie niezastąpiony w maszynach budowlanych o mocy powyżej 200 kW oraz w pompach i generatorach o dużych mocach, pracujących w trudnych warunkach eksploatacyjnych tj. w skrajnych temperaturach, przy dużym zapyleniu, wysokiej wilgotności powietrza, środowisku korozyjnym, czy tam, gdzie na odludnych terenach występuje duże ryzyko powstawania uszkodzeń mechanicznych. W takich napędach jest najczęściej stosowana trójelementowa przekładnia hydrokinetyczna z wolnym kołem i ze sprzęgłem blokującym. Napęd elektryczny nie jest w maszynach o mocy powyżej 200 kW stosowany przede wszystkim ze względu na wysoki koszt oraz duże rozmiary elektronicznych układów pozwalających na sterowanie prądem elektrycznym dużej mocy w trudnych warunkach eksploatacji.

Można zauważyć, że w odniesieniu do napędów hydrokinetycznych w układach napędowych maszyn historia zatoczyła koło, gdyż ponad 100 latach od pierwszego zastosowania przekładni hydrokinetycznej w napędzie dużej mocy, podzespoły hydrokinetyczne pozostają wiodącym elementem układu napędowego właśnie w maszynach dużej mocy.

Literatura

1. Lechner G., Naunheimer H., *Automotive Transmissions. Fundamentals, Selection, Design and Application*, Springer, 1999, s. 447.
2. Szydelski Z., *Sprzęgła, hamulce i przekładnie hydrokinetyczne*, WKŁ Warszawa 1981, s. 490.
3. https://oborudow.ru/pl/eksterer/istoriya-akpp-ot-mersedesa-i-kraislera-do-nissana-i-hondy/, data dostępu 20-11-2020 r.
4. http://www.smartdriver.pl/automatyczna-skrzynia-biegow-historia-motoryzacji, data dostępu 20-11-2020 r.

5. https://polskatimes.pl/spozniona-kariera-pewnej-skrzyni/ar/128688, data dostępu 20-11-2020 r.
6. Woźniak M., *Historia przekładni hydrokinetycznej*, Wiedza Techniczna, 2, 2010.
7. https://voith.com/pol-pl/2887.html, data dostępu 20-11-2020 r.
8. Szczepaniak C., *Wspomnienie o profesorze Jerzym Wernerze*, Zeszyty Historyczne Politechniki Łódzkiej, Z. 1, 2002, s. 59-63.
9. http://pl.wikipedia.org/wiki/Jerzy_Werner_(ojciec) konstruktor pierwszego polskiego sprzęgła hydrokinetycznego, data dostępu 20-11-2020 r.
10. Neyman A., *Katedra Konstrukcji i Eksploatacji Maszyn*, Wydział Mechaniczny Politechniki Gdańskiej. PTT Biuletyn 2005.
11. http://www.kkiem.mech.pg.gda.pl/o_katedrze/historia/historia.html, data dostępu 20-11-2020 r.
12. Szczepaniak C., *O pewnych pracach wykonanych w Katedrze Budowy Samochodów Politechniki Łódzkiej*, Archiwum Motoryzacji, 2, 2009, s. 89-95.
13. Szydelski Z., *Historia rozwoju napędów hydrokinetycznych. Referat wygłoszony na sesji z okazji jubileuszu 75-lecia Przeglądu Mechanicznego,* Warszawa, 12 luty 2010.
14. Żebrowski Z., *Profesor Edward Habich (1905-1987).* Politechnika Warszawska, Wydział Samochodów i Maszyn Roboczych, Jubileusz 40-lecia Wydziału, Warszawa 1993, s. 111-114.
15. Bukowski S., Paluch W., *Kierunki rozwoju zespołów napędowych kołowych maszyn do robót ziemnych*, Przegląd Mechaniczny., 13, 1986.
16. Garbacz D., *Ośrodek Badawczo-Rozwojowy Maszyn Ziemnych i Transportowych w Stalowej Woli*, Wydawnictwo Sztafeta, Stalowa Wola 1995.
17. *Huta Stalowa Wola 1938-1998*, Wydawnictwo Central Plus Stalowa Wola i Laser Lublin, Stalowa Wola-Lublin 1998.
18. www.fmlubaczow.pl, data dostępu 20-11-2020 r.
19. Musiałek I., Migus M., Osowski K., Kesy Z., Kesy A., Choi S.B., *Analysis of a Combined Clutch with an Electrorheological Fluid*, Smart Materials and Structures, 29 2020, s. 1-13.
20. Kotliński J., *Drukowanie części maszyn. Monografia*, Wydawnictwo Uniwersytetu Humanistyczno-Technologicznego w Radomiu 2018, s. 191.

Rozwój konstrukcji, produkcji i zastosowań podzespołów hydrokinetycznych

Streszczenie
Artykuł dotyczy rozwoju konstrukcji, produkcji i zastosowań podzespołów hydrokinetycznych pracujących w układach napędowych maszyn i środków transportu, w tym pojazdów. Opisano rozwój tych podzespołów od momentu ich wynalezienia do chwili obecnej, uwzględniając sytuację na świecie, jak i w Polsce. Wskazano te rozwiązania konstrukcyjne podzespołów hydrokinetycznych, które kierunkowały ich rozwój. Dokonano oceny obecnego stanu. Podano perspektywy rozwoju tych podzespołów hydrokinetycznych wskazując układy napędowe w których podzespoły te będą nadal stosowane w dłuższej perspektywie mimo obecnej dominacji napędów elektrycznych.
Słowa kluczowe: historia techniki, historia napędu hydrokinetycznego

Development of the design, production and application of hydrodynamic components

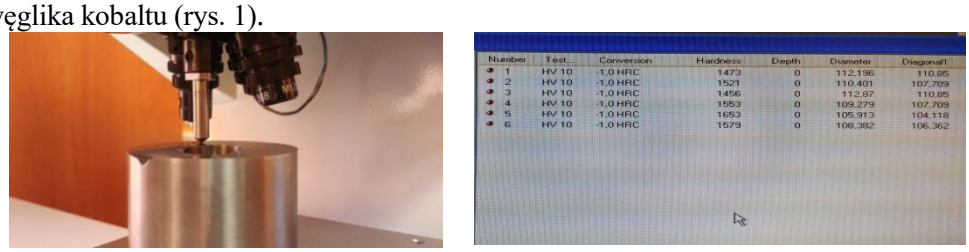
Abstact
The article concerns the development of the design, production and application of hydrodynamic components working in the drive systems of machines and means of transport, including vehicles. The development of these components from the moment of their invention to the present day is described, taking into account the situation in the world and in Poland. The design solutions of the hydrodynamic components which directed their development were indicated. The current state was assessed. Prospects for the development of these hydrodynamic components are given, indicating the drive systems in which these components will continue to be used in the long term, despite the current domination of electric drives.
Keywords: history of technology, history of hydrodynamic components

Henryk Bąkowski[1], Łukasz Łomozik[2], Andrzej Sokołowski[3]

Wybrane zagadnienia z technologii wytwarzania za pomocą obróbki skrawaniem i cięcia elektroerozyjnego (WEDM)

1. Wprowadzenie

Zaawansowane technologicznie branże, takie jak przemysł lotniczy, kosmiczny, samochodowy oraz jądrowy wymagają coraz to nowszych materiałów, spełniających rygorystyczne wymagania co do wytrzymałości w określonych warunkach cieplnych oraz o wysokim stosunku „wytrzymałości do masy". Badacze specjalizujący się w inżynierii materiałowej opracowują materiały o większej twardości i wytrzymałości, by sprostać tym wymaganiom. Poza koniecznością wdrażania nowych materiałów, nowe trendy w powyższych dziedzinach wskazują również na postępującą miniaturyzację, a także złożoność geometryczną wymaganych części. Produkcja elementów z materiałów supertwardych i o skomplikowanym kształcie to duże wyzwanie dla współczesnych technik wytwarzania. Przykładem tego może być obróbka twardego węglika kobaltu (rys. 1).



Rysunek 1. Stanowisko do pomiaru twardości oraz wyniki pomiarów [opracowanie własne]

Twardość takiego materiału dochodzi do 1600 HV 10, co uniemożliwia jego obróbkę przez zastosowanie konwencjonalnych metod wytwarzania (np. frezowanie). Aby sprostać powyższym problemom konieczne jest prowadzenie badań na temat zastosowania optymalnych ekonomicznie i jakościowo technik obróbki konkretnych detali. Wskazana jest również analiza dostępnych rozwiązań na rynku obrabiarek przemysłowych pod kątem ich przydatności w procesach wytwarzania elementów złożonych i trudnoobrabialnych [1, 2]. Celem pracy było porównanie technik obróbki ubytkowej takich jak frezowanie obwiedniowe oraz obróbka elektroerozyjna (WEDM – *Wire Electro Discharge Manufacturing*) pod kątem dokładności wymiarowej wykonanych elementów, a także stanu warstwy powierzchniowej produktów erozji i obrabianych powierzchni.

[1] henryk.bakowski@polsl.pl, Katedra Eksploatacji Pojazdów Samochodowych, Wydział Transportu i Inżynierii Lotniczej, Politechnika Śląska, www.polsl.pl.
[2] lukasz.lomozik@polsl.pl, Wydział Mechaniczny Technologiczny, Politechnika Śląska.
[3] andrzej.sokolowski@polsl.pl, Katedra Budowy Maszyn, Wydział Mechaniczny Technologiczny, Politechnika Śląska.

2. Ogólna charakterystyka procesu obróbki skrawaniem (frezowanie obwiedniowe) oraz obróbki elektroerozyjnej (WEDM)

2.1. Obróbka elektroerozyjna (WEDM)

Rozwój techniki w zakresie technologii produkcji spowodował powstanie maszyn CNC, pozwalających na powtarzalną realizację o wiele bardziej złożonych procedur technologicznych oraz powstanie narzędzi pozwalających zwiększyć produktywność istniejących systemów produkcyjnych. Proces kształtowania może być dokonywany również za pomocą energii wyładowań elektrycznych, zwany obróbką elektroerozyjną [3].

Proces przebiegu wyładowania iskrowego z katody do anody, gdy obie elektrody – oddalone o stałą odległość – są zanurzane w dielektryku, można przedstawić w pewnym uproszczeniu.

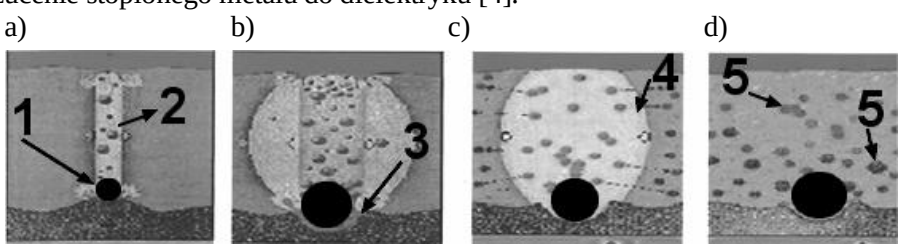
Na skutek przyłożenia napięcia do katody następuje tzw. zimna emisja elektronów. Powoduje to w określonej przestrzeni stan jonizacji. Jonizacja kończy się przy danym napięciu w pewnej odległości od katody, ponieważ dielektryki wykazują znaczne zdolności tłumiące proces jonizacji, czyli powodują dejonizację. Zwiększenie napięcia powoduje powiększenie obszaru oraz natężenia jonizacji. W pewnym momencie stan jonizacji staje się wystarczający, aby nastąpiło wyładowanie, tzn. przepływ ładunku z katody do anody.

Napięcie, przy którym nastąpił początek wyładowania, nazywa się napięciem granicznym.

Podobne zjawisko wyładowania można uzyskać, jeśli przy stałym napięciu zaczniemy zbliżać elektrody. Odległość, przy której zaczęło się wyładowanie, nazywa się graniczną odległością elektrod.

Zjawisko wyładowania może nastąpić przy stałym napięciu i stałej odległości elektrod, jeśli zacznie się zmieniać własności dielektryka. Na przykład przez przepompowywanie płynnego dielektryka i podawanie nowego, z ciągle powiększaną ilością zawiesiny grafitu w pewnym momencie nastąpi wyładowanie. Cząstki przewodzące zawiesiny zmieniają stan dielektryka, tworząc tzw. mostki przewodzenia.

W wyniku wyładowania następuje na anodzie krótkotrwała koncentracja energii elektrycznej i mechanicznej elektronów. Na skutek tego powstają w najbliższym otoczeniu wyładowania bardzo wysokie temperatury. Następuje częściowe stopienie, a nawet parowanie metalu anody (rys. 2a-1). Działające siły elektrodynamiczne oraz duży gradient naprężeń wewnętrznych, wywołanych polem temperatur, powodują wyrzucenie stopionego metalu do dielektryku [4].



Rysunek 2. Schemat procesu usuwania materiału: a) tworzenie kanału plazmowego, b) erozja materiału, c) implozja kanału, d) stabilizacja warunków w szczelinie

Zjawisko usuwania materiału ma charakter złożony i powoduje, że elektrony zderzają się z atomami ośrodka prowadząc do ich lawinowej jonizacji udarowej, w konsekwencji tworząc wąski kanał plazmowy (rys. 2a-2). Przepływający przez kanał prąd powoduje topnienie i parowanie materiału obrabianego oraz elektrody (drutu), w wyniku czego powstają zagłębienia zwane kraterami (rys. 2b-3). Wraz ze wzrostem czasu wyładowania elektrycznego zwiększa się średnica kanału plazmowego wytworzonego wokół pęcherza gazowego i wypełnionego jonami roztopionego oraz odparowanego metalu. Zakończenie cyklu pracy generatora, spadek napięcia i natężenia prądu powoduje implozyjne zamknięcie kanału plazmowego oraz pęcherza gazowego (rys. 2c-4). Materiał wyrzucony (wydmuchany przez ciśnienie wody) z kraterów zastyga w dielektryku tworząc produkty obróbki. Część materiału, która nie została usunięta z krateru ponownie na nim zastyga (rys. 2d-5). Następuje stabilizacja warunków w szczelinie, po czym proces się powtarza [5].

Stan warstwy wierzchniej po obróbce elektroerozyjnej wynika przede wszystkim z procesów cieplnych i przemian fazowych poprzez:

- topnienie i odparowanie na powierzchni materiału;
- tworzenie kraterów;
- powstawanie nowej struktury metalograficznej;
- zmianę stanu naprężeń w warstwie wierzchniej (pod wpływem naprężeń rozciągających mogące powodować mikropęknięcia).

Natomiast na występowanie odchyłek i błędów kształtu ma wpływ stan szafirowych prowadnic drutowych. O ich stanie decyduje uzyskanie zadanych wymiarów nominalnych co przy dokładności do 0,002 mm ma ogromne znaczenie dla poprawnej pracy silników hydraulicznych. Przedstawione wyżej drutowe wycinanie elektroerozyjne jest możliwe dzięki elektrodrążarce drutowej (rys. 3).

Rysunek 3. Elektrodrążarka (Mitsubishi Electric MV1200S) do cięcia elektrerozyjnego (WEDM) [opracowanie własne]

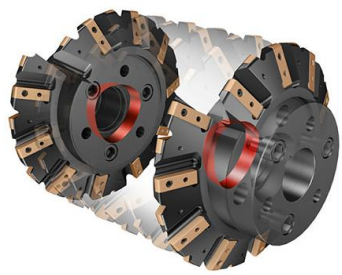
Rysunek 4. Widok podczas frezowania metodą obwiedniową na frezarce (Halbronn GHO 200) [opracowanie własne]

2.2. Frezowanie obwiedniowe

Liczną grupę produkowanych kół zębatych stanowią koła wykonane tylko obróbką skrawaniem, bez dalszej operacji wykończeniowej. Obecnie produkowane frezarki obwiedniowe (rys. 4) zapewniają bardzo dokładne sprzężenia kinematyczne na drodze elektronicznej i minimalizują błąd kinematyczny. Poza tym umożliwiają dobór w bardzo szerokim zakresie odpowiednich parametrów skrawania. Najczęściej stosowanymi materiałami, z których wykonuje się frezy obwiedniowe, są stal szybkotnąca i węgliki spiekane. Materiały te są ciągle udoskonalane w celu zwiększenia ich odporności na czynniki towarzyszące obróbce [6].

Poza stalą szybkotnącą, umożliwiającą zwiększenie wydajności dzięki większym prędkościom i posuwom roboczym przy zachowaniu tego samego poziomu jakości wprowadzono także narzędzia modułowe.

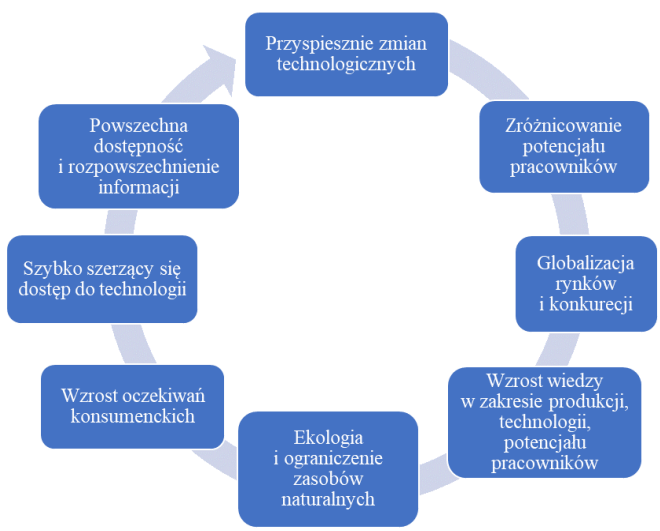
Dzięki wymiennym modułom czas eksploatacji takich narzędzi jest zdecydowanie dłuższy, co wpływa na obniżenie kosztów. Przykładem takich narzędzi są między innymi frezy ślimakowe (rys. 5) z wymiennymi płytkami z węglika spiekanego czy też dłutaki Fellowsa.



Rys. 5. Frez ślimakowy [2]

3. Współczesne trendy rozwoju wybranych procesów obróbki ubytkowej

Obecnie, światowy rozwój technik wytwarzania wiedzie wieloma kierunkami, pod wpływem zmieniających się czynników przedstawionych na rysunku nr 6.



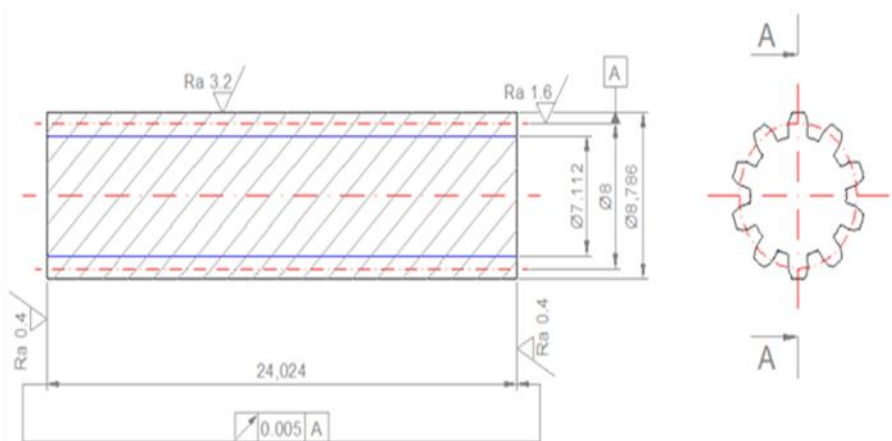
Rysunek 6. Czynniki wpływające na rozwój technik wytwarzania [3]

Odpowiedzią na wymagania współczesnego rynku jest postępująca automatyzacja maszyn CNC (*Computer Numerical Control*) znacząco zwiększająca ich wydajność i elastyczność. Dzisiejsze obrabiarki oprócz automatycznie ustawianych danych technologicznych i geometrycznych, mogą wykonywać inne automatyczne funkcje, takie jak samodzielna wymiana narzędzi i obrabianego przedmiotu, wykorzystanie wielu narzędzi (systemów narzędzi), a także automatycznych pomiarów detali bezpośrednio na maszynie oraz monitorowanie procesu itp.

Poza automatyzacją obejmującą wszystkie rodzaje obróbki oraz szeroko rozumianej technologii produkcji można również wyróżnić indywidualne drogi rozwoju poszczególnych metod obróbki ubytkowej, stanowiącej najliczniejszą gałąź przemysłu wytwórczego [7].

4. Metodyka i wyniki badań

Detale (satelity) o uzębieniu ewolwentowym wycinano na elektrodrążarce WEDM oraz frezarce obwiedniowej (rys. 3, 4). Frezowanie odbywało się w dwóch „przejazdach", najpierw z dołu do góry, a potem z góry na dół. Dla cięcia elektroerozyjnego (WEDM) dwa przejazdy były realizowane za pomocą ruchu powrotnego po tej samej ścieżce (rys. 7).



Rysunek 7. Wymiary wycinanego elementu [opracowanie własne]

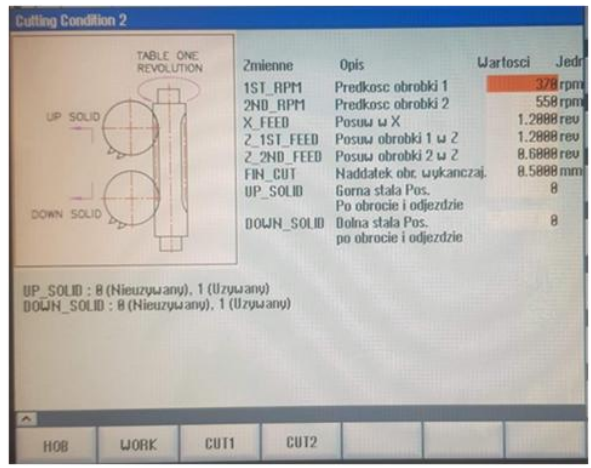
Zarówno przy cięciu za pomocą WEDM, jak i frezowaniu obwiedniowym istotne znaczenie ma naddatek na obróbkę. Gwarantuje on odpowiednie spasowanie współpracujących elementów i wysoki stopień sprawności całego obiektu technicznego.

4.1. Parametry frezowania obwiedniowego

Poniżej zamieszczono główne parametry frezowania obwiedniowego.

1 przejście
n_f = 370 obr/min
w = 1
l_d = 10 mm
l_w = 10 mm
l_e = 24
d_f = 62 mm
p_o = 1,2 mm/Obr

2 przejście
n_f = 550 obr/min
p_o = 0,6 mm/Obr



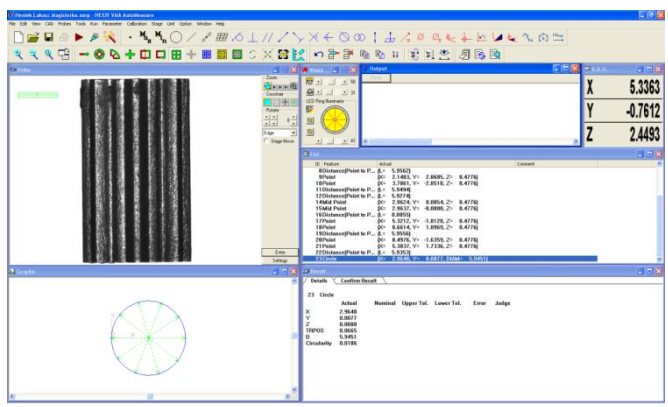
Czas przejazdów:

$$t_{g1} = \frac{L}{n_f p_o w} = 0{,}9\ min \quad t_{g2} = \frac{L}{n_f p_o w} = 1{,}3\ min$$

L – długość obrabianego przedmiotu.

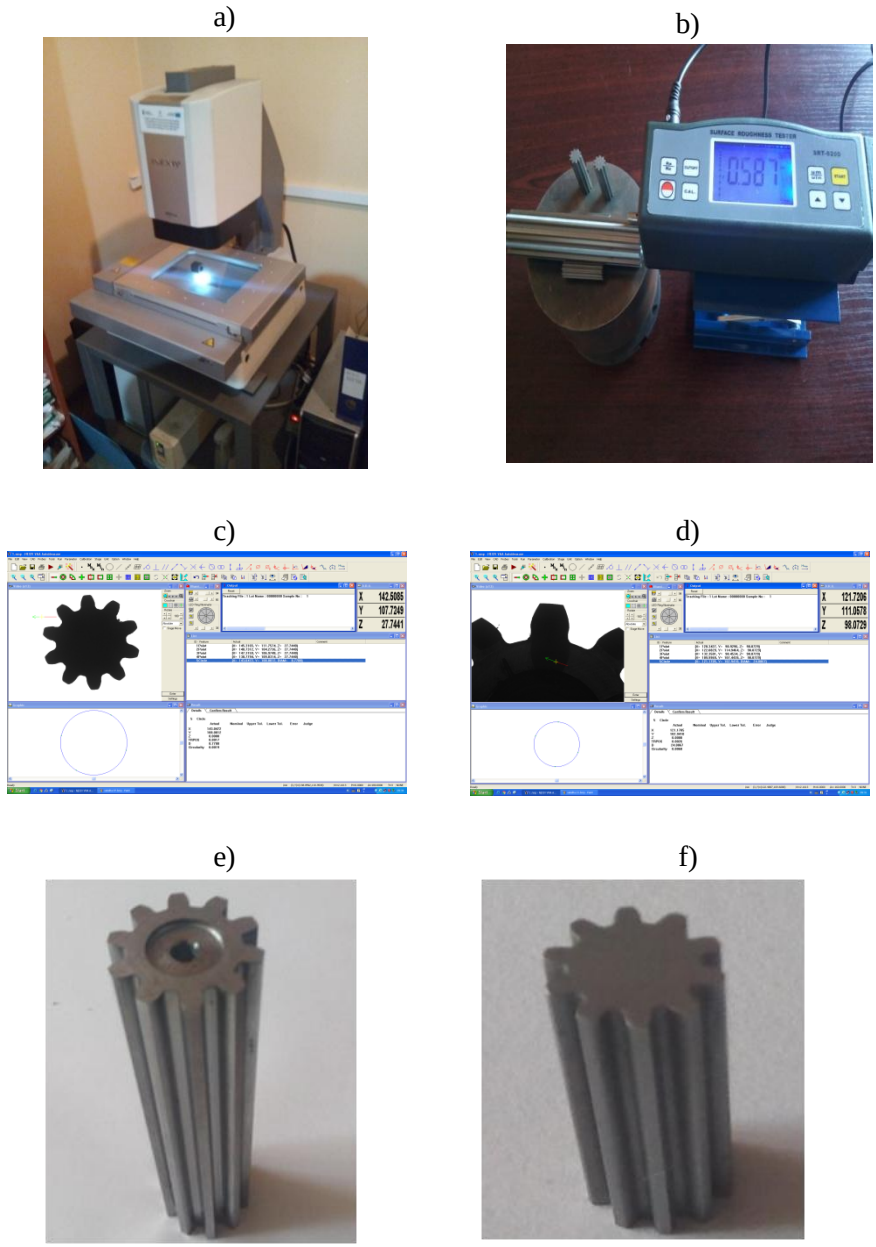
W celu wykonania pomiarów geometrycznych ich wielkości i odchyłek detalu wytwarzanego w różnych technologiach posłużono się oprogramowaniem dostarczonym do optycznej maszyny pomiarowej.

W badaniach metrologicznych wykonanie pomiarów wymiarów dokonuje się na wszystkich zębach. Sposób pomiaru detalu przedstawiono na rysunku 8.



Rysunek 8. Widok elementu z wymiarami podczas pomiaru [opracowanie własne]

Na rysunku 9 przedstawiono widok elementów wykonanych w technologii Ubytkowej za pomocą frezowania obwiedniowego i cięcia elektroerozyjnego (WEDM), stanowisk pomiarowych oraz oprogramowania NEXIV VMA Auto Measure.



Rysunek 9. Widok: a) mikroskopu Nikon INEXIV VMA 2520, b) profilometru stykowego SRT 6200, c), d) screen z pomiarów detali metodą frezowania obwiedniowego i cięcia elektroerozyjnego, e) rzeczywisty element wykonany w technologii frezowania obwiedniowego, f) rzeczywisty element wykonany w technologii cięcia elektroerozyjnego (WEDM) [opracowanie własne]

Aby wykonać prawidłowy detal należy dla frezowania obwiedniowego wykonać szereg czynności przygotowawczych takich jak: wykonanie nakiełka z uprzednim bardzo precyzyjnym centrowaniem (rys. 9e). Wymaga to większego nakładu czasu pracy, co przy dużej ilości podwyższa koszty całkowite wykonania elementów.

4.2. Badania metrologiczne

W celu określenia błędów odchyłek i kształtu, posłużono się oprogramowaniem dołączonym do mikroskopu optycznego Inexiv VMA 2520. Wybrane wyniki pomiarów przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Średnie wartości pomiarów wycinanych detali (satelit) [opracowanie własne]

Wymiar (rys. 7)	*Teoretyczny*	*Technologia frezowania obwiedniowego*	*Technologia cięcia elektroerozyjnego*
Długość detalu	*24,024*	*24.006 ± 0.02*	-
Szerokość detalu	*8,786*	-	*8.778 ± 0.01*

4.3. Badania metalograficzne

Zastosowanie badań metalograficznych pozwoliło na określenie stanu warstwy wierzchniej poprzez ocenę zarówno subiektywną (jakościowe badania), jak i obiektywną (ilościowe badania).

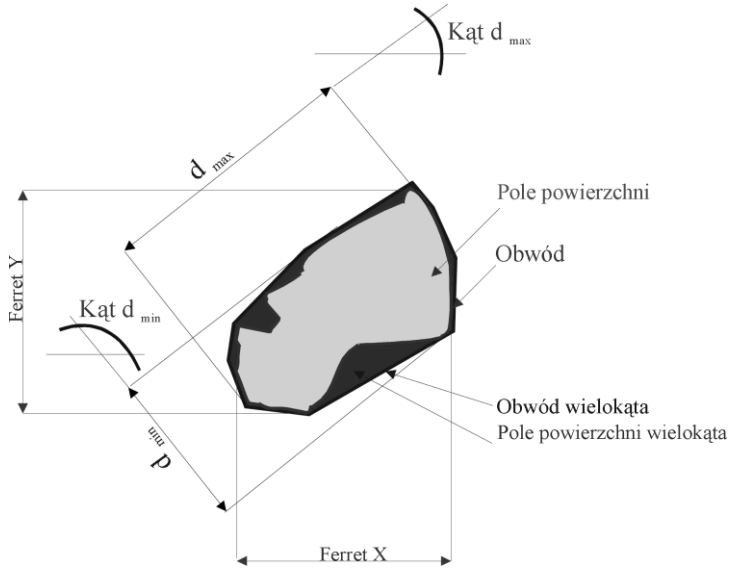
4.3.1. Ilościowa analiza metalograficzna

W analizie ilościowej są porównywane obrazy różnych obiektów. Analiza ta służy do określenia w sposób liczbowy liczby obiektów, ich wymiarów, kształtu oraz rozmieszczenia (cech stereologicznych). Jej wynikiem jest zestaw liczb, które opisują cechy wybranej struktury. Tylko w metalografii ilościowej – określonej liczbą i jednostką miary − można znaleźć ścisłe zależności pomiędzy strukturą a własnościami oraz pomiędzy strukturą a parametrami procesu technologicznego lub eksploatacyjnego.

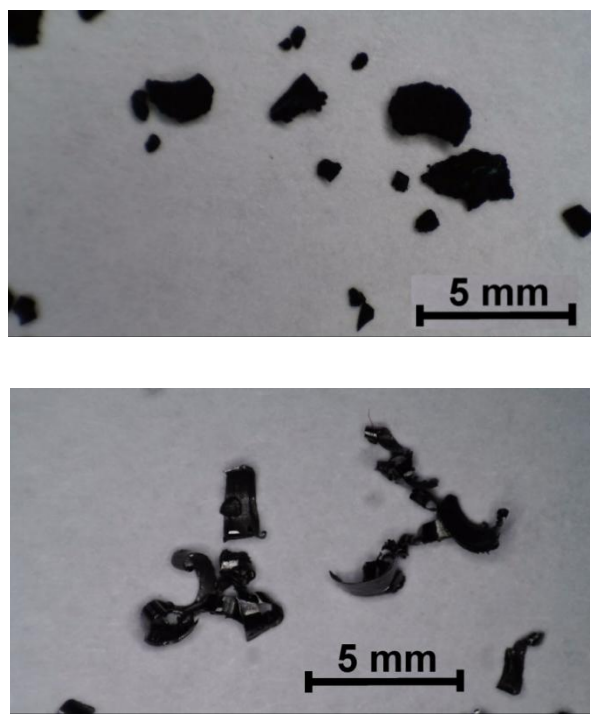
Pomiar cech stereologicznych produktów zużycia umożliwia system cyfrowej analizy obrazu. Analiza statystyczna uzyskanych danych pomiarowych obejmuje podział na odpowiednie klasy wymiarowe oraz obliczenie podstawowych wielkości statystycznych (rys. 13). Analiza statystyczna umożliwia otrzymanie zestawu wyników w postaci liczb i dopiero na tej podstawie można wnioskować o stanie technicznym badanego obiektu.

Określenie warunków pomiaru jest niezwykle istotne ze względu na detekcje obrazu i wyeksponowanie najważniejszych cech. Pobieranie obrazu podczas akwizycji i jego obróbka dokonywana jest za pomocą urządzeń rejestrujących obraz (rys. 11). Kryteria, jakimi trzeba się kierować podczas selekcji obrazów determinuje w dużej mierze doświadczenie badacza, ale także warunki pomiarów. Podczas badań wszystkie te warunki dobrano w sposób empiryczny i powtarzalny dla wszystkich pomiarów.

Głównym problemem w ilościowym opisie kształtu cząstek jest brak precyzyjnego i uniwersalnego określenia w terminologii cech analizowanych produktów erozji (rys. 10). Wydaje się, że każdy obiekt można opisać w kategoriach kształtu i wymiaru, co oznacza, że kształt jest rozumiany jako ta cecha geometrii, którą można oddzielić od wymiaru. Jednak w praktyce małe obiekty tego samego typu mają inny kształt niż duże (np. samochody, rośliny, zwierzęta). Kolejnym problemem jest to, iż kształtu w przeciwieństwie do wymiaru nie da się opisać za pomocą jednej liczby (rys. 12).



Rysunek 10. Cechy stereologiczne badanych obiektów [opracowanie własne]



Rysunek 11. Widok produktów erozji lub obróbki otrzymanych przy: a) cięciu elektroerozyjnym, b) frezowaniu obwiedniowym [opracowanie własne]

a)

Wyniki pomiaru automatycznego

1 2 3 4 5

Wielkość	Średnia	Wsk. zm.
Pole	1.920	150.4
Obwód	6.240	143.5
Liczba	10.00	0
Udział objętościowy	9.745	0
Wskaźnik kształtu	0.392	87.29
FeretX	1.532	126.5
FeretY	1.398	127.4
Feret45	1.608	118.3
Feret135	1.491	126.8
Średnica maks	1.757	116.6
Średnica min	1.140	142.2
Nachylenie Dmax	37.00	142.9
Nachylenie Dmin	69.50	71.25
Wydłużenie	2.235	52.94
Pole wypukłe	3.681	175.5
Obwód wypukły	4.661	125.0
Kształt wypukły	0.650	53.64
Środek ciężkości X	11.16	44.81
Środek ciężkości Y	3.099	102.4
Długość	0	0
Szerokość	0	0
Odległość	1.535	73.78

Typ pomiaru: standardowy, liniowy

Wyniki dla: obiektów, pól

Kontynuacja pomiaru

b)

Wyniki pomiaru automatycznego

1 2 3 4 5

Wielkość	Średnia	Wsk. zm.
Pole	1.082	122.5
Obwód	3.433	72.38
Liczba	17.00	0
Udział objętościowy	9.339	0
Wskaźnik kształtu	0.730	40.83
FeretX	1.135	77.39
FeretY	0.998	60.99
Feret45	1.113	68.29
Feret135	1.070	73.73
Średnica maks	1.273	68.77
Średnica min	0.841	66.57
Nachylenie Dmax	65.29	88.23
Nachylenie Dmin	93.24	60.34
Wydłużenie	1.466	21.27
Pole wypukłe	1.189	122.9
Obwód wypukły	3.354	69.84
Kształt wypukły	0.793	37.69
Środek ciężkości X	9.350	53.00
Środek ciężkości Y	6.037	45.37
Długość	0	0
Szerokość	0	0
Odległość	1.244	111.7

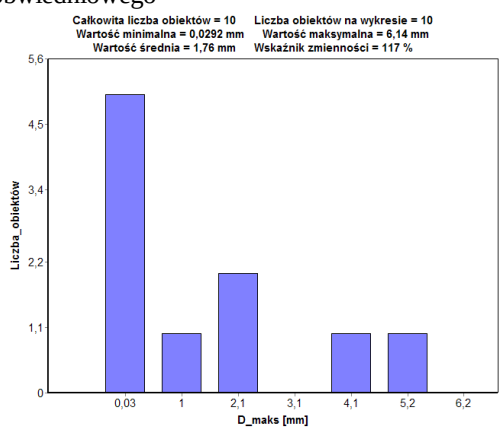
Typ pomiaru: standardowy, liniowy

Wyniki dla: obiektów, pól

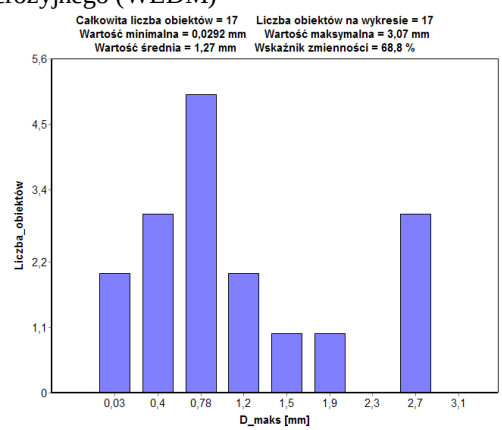
Kontynuacja pomiaru

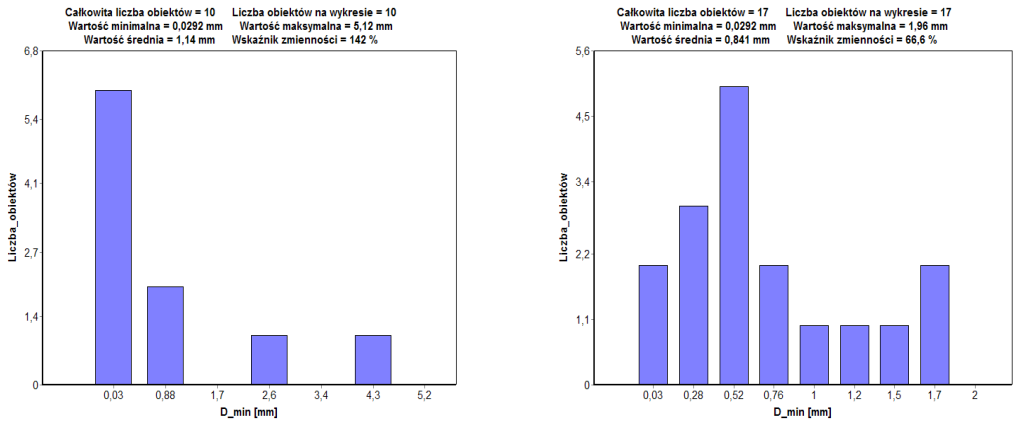
Rysunek 12. Cechy stereologiczne produktów erozji otrzymane przy: a) frezowaniu obwiedniowym, b) cięciu elektroerozyjnym [opracowanie własne]

a) produkty obróbki otrzymane z frezowania obwiedniowego



b) produkty erozji otrzymane z cięcia elektroerozyjnego (WEDM)





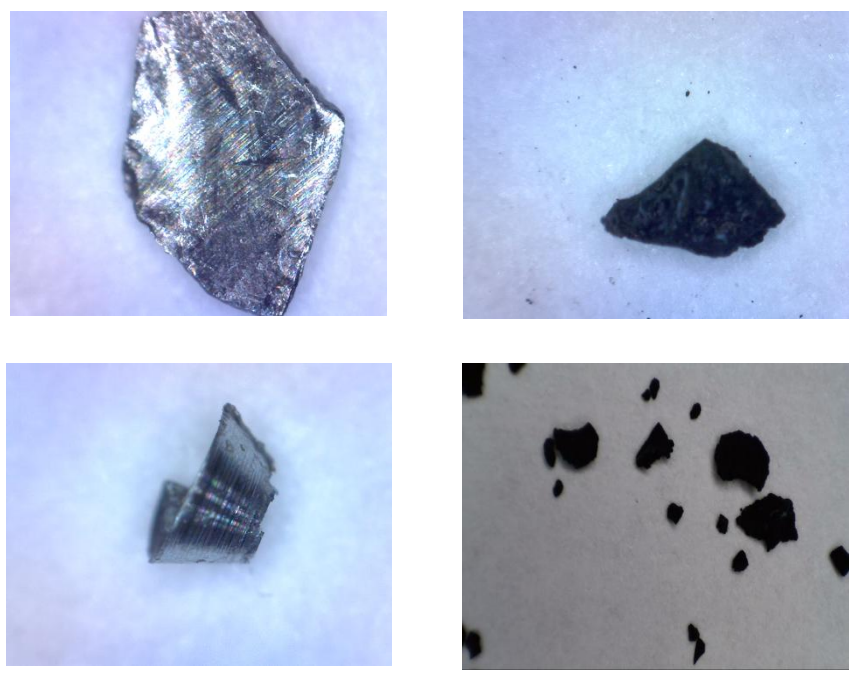
Rysunek 13. Histogramy rozkładu produktów obróbki otrzymane przy: a) frezowaniu obwiedniowym, b) cięciu elektroerozyjnym [opracowanie własne]

4.3.2. Jakościowa analiza metalograficzna

Stan powierzchni tarcia jest obiektem ciągłych badań wymuszanych przez postęp technologiczny. Wyniki przeprowadzonych badań najlepiej obrazują zdjęcia stanu powierzchni produktów zużycia lub obróbki oraz badanych elementów (rys. 14 i 15).

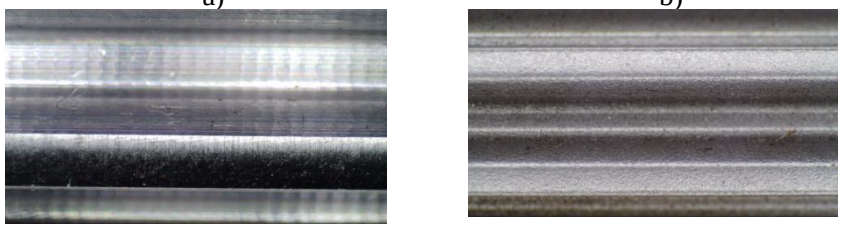
a) produkty obróbki otrzymane z frezowania obwiedniowego

b) produkty erozji otrzymane z cięcia elektroerozyjnego (WEDM)



Rysunek 14. Widok powierzchni produktów obróbki otrzymane przy: a) frezowaniu obwiedniowym, b) cięciu elektroerozyjnym [opracowanie własne]

a) b)



Rysunek 15. Widok powierzchni detali przy: a) frezowaniu obwiedniowym, b) cięciu elektroerozyjnym, pow. x 200 [opracowanie własne]

4.4. Badania profilometryczne

Badania profilometryczne zostały przeprowadzone na profilometrze stykowym SRT-6200 spełniającym wymagania normy PN-M-02812 (rys. 16). Błąd maksymalny uzyskiwanych wyników nie przekroczył 10% wartości mierzonej (tab. 2).

Rysunek 16. Widok mobilnego stanowiska pomiarowego do badania chropowatości powierzchni [opracowanie własne]

Tabela 2. Zestawie wyników chropowatości Ra dla danej metody wytwarzania

Rodzaj technologii	*Technologia frezowania obwiedniowego*	*Technologia cięcia elektroerozyjnego*
Średnia arytmetyczna rzędnych profilu Ra (μm)	*0,587 ± 0,014*	*2,402 ± 0,09*

5. Analiza wyników badań

Detale o skomplikowanych kształtach zostały wykonane w technologii frezowania obwiedniowego oraz za pomocą cięcia elektroerozyjnego (WEDM).

Na podstawie przeprowadzonych badań metrologicznych stwierdzono niedokładność wykonywanych elementów na poziomie niecałych 0,0176 mm, a w przypadku cięcia elektroerozyjnego wartość ta nie przekraczała 0,0089 mm (tab. 2). Trzeba zwrócić uwagę, iż frez ślimakowy wykorzystywany przy frezowaniu obwiedniowym z biegiem czasu się zużywa i może istotnie wpływać na dokładność uzyskiwanych wymiarów. Dla cięcia elektroerozyjnego nie ma to większego znaczenia, gdyż drut, którym wycinany jest dany element wykorzystywany jest tylko jeden raz. Gwarantuje to wysoką dokładność wymiarową uzyskiwanych detali. Natomiast czas potrzebny do ukończenia całkowitego elementu jest znacznie krótszy [8]. Czas obróbki potrzebny do wykonania detalu o tych samych wymiarach geometrycznych wynosi dla cięcia elektroerozyjnego 13 minut, natomiast w przypadku zastosowania frezowania obwiedniowego wynosi 2,2 min (4.1). Wymiary kół zębatych przedstawiono na rys. 7. Całkowita długość zarysu zęba wyniosła 19,371 mm.

Na podstawie wykonanych badań metalograficznych zarówno jakościowych, jak i ilościowych, możliwe było określenie istotnych różnic w procesie wytwarzania. Technologia ubytkowa oparta na działaniu siły mechanicznej, wykorzystywana przy frezowaniu obwiedniowym, pozwoliła uzyskać powierzchnie o mniejszej ilości wyrw w porównaniu do powierzchni otrzymanej za pomocą cięcia elektroerozyjnego (rys. 15). Produkty obróbki otrzymane w wyniku obu technologii są diametralnie różne (rys. 14). Powierzchnia produktów otrzymanych przy frezowaniu obwiedniowym posiada wybłyszczone powierzchnie i poskręcane wiórki metalu. Natomiast produkty zużycia otrzymane przy cięciu elektroerozyjnym (WEDM) posiadały bardziej regularne kształty. Wskaźnik kształtu był bardziej zbliżony do okrągłego dla produktów przy WEDM i wynosił 0,73, natomiast przy frezowaniu produkty posiadały wskaźnik 0,39. Jeżeli wskaźnik kształtu osiągnąłby wartość równą 1 to mielibyśmy do czynienia z okręgiem. Analiza ilościowa pozwoliła określić wielkość i kształt, przy czym zaobserwowano mniejszy wymiar produktów erozji (średnia średnica produktu równa 1,27 mm) przy cięciu elektroerozyjnym niż przy frezowaniu obwiedniowym (średnia średnica produktu równa 1,76 mm). Wynika to z zastosowania różnej energii przy obróbce [9].

Na podstawie badań profilometrycznych uzyskano wyniki chropowatości powierzchni detali po obróbce (tab. 2). Wykorzystując technologię frezowania obwiedniowego otrzymano wartość parametru chropowatości powierzchni Ra równą 0,58 μm. Dla cięcia elektroerozyjnego wartość ta wyniosła 2,4 μm. Należy pamiętać, że uzyskiwanie zbyt wysokich wartości chropowatości powierzchni nie jest wskazane, gdyż może prowadzić do powstania zjawiska adhezji mechanicznej pomiędzy dwoma współpracującymi powierzchniami. Taka sytuacja prowadzi do wyrywania nierówności powierzchni i powstawania defektów na powierzchniach współpracujących. W wyniku czego końcowym efektem będzie spadek sprawności całego obiektu technicznego [10]. Zastosowanie obróbki WEDM pozwala uzyskać chropowatość Ra < 1 μm za pomocą zwiększenia ilości przejazdów poprzez dogładzanie obrabianej powierzchni.

6. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano następujące wnioski końcowe:

- zastosowanie frezowania obwiedniowego do wykonywania kół zębatych (frezowanie obwiedniowe służy wyłącznie do frezowania uzębień) pozwoliło skrócić znacznie czas obróbki oraz uzyskać powierzchnie o znacznie niższej chropowatości powierzchni, co zostało potwierdzone w badaniach;
- badania metrologiczne pozwoliły określić dokładność wykonywanych detali, przy czym mniejsze odchyłki od wartości nominalnej odnotowano dla cięcia elektroerozyjnego (WEDM);
- cięcie elektroerozyjne wykazuje większą dokładność kształtową i przede wszystkim kontrolę nad naddatkiem, który ma niezwykle istotne znaczenie do poprawnej pracy danego urządzenia;
- przy frezowaniu obwiedniowym należy sprawdzać stan zużycia frezu ślimakowego, który w istotny sposób może zaburzyć osiąganie wysokiej jakości powierzchni obrabianego detalu.

Podziękowania

Firmie SM HYDRO spółka z ograniczoną odpowiedzialnością spółka komandytowa w Katowicach (KRS 0000526083) za materiały i możliwość przeprowadzenia badań empirycznych.

Literatura

1. Cichosz P., *Innowacyjnenarzędzia i technologie obróbki skrawaniem*, Mechanik, 2018, s. 794-802.
2. Davim J.P., *Machining and machine-tools*, Woodhead Publishing 2013, s. 19-129.
3. Golam K., Muhammad P., Jahan B. Bhattacharyya, *Micro-electrical Discharge Machining Processes*, Kolkata, Springer, 2019.
4. Grzesik W., *Advanced Machining Processes Of Metallic Materials*, Theory, Modelling, and Applications, 2017, s. 123-127.
5. Jameson E., *Electrical Discharge Machining. Society of Manufacturing Engineers*, United States of America, 2001.
6. Kaushik K., Divya Z., Davim J.P., *Advanced Machining and Manufacturing Processes*, Aveiro, Springer, 2019.
7. Nayak B., Mahapatra S., *Optimization of WEDM process parameters using deep cryo-treated Inconel 718 as work material*, Engineering Science and Technology, an International Journal. eBook, 2016.
8. Rozenek M., Dąbrowski L., *Aspekty ekonomiczne i dokładnościowe wycinania elektroerozyjnego*, Archiwum Technologii Maszyn i Automatyzacji, 2011, s. 87-95.
9. Świercz R., Świercz-Oniszczuk D., *Obróbka elektroerozyjna – badanie impulsów elektrycznych napięcia i natężenia prądu*, Mechanik, 2017, s. 112-113.
10. Świercz R., Świercz-Oniszczuk D., *Systemy sterowania adaptacyjnego w nowoczesnych obrabiarkach WEDM*, Mechanik 2015, s. 57-62.
11. Świercz R., Świercz-Oniszczuk D., *Wpływ parametrów obróbki elektroerozyjnej na właściwości użytkowe stali o wysokiej przewodności cieplnej*, Mechanik 2015, s. 29-34.

Wybrane zagadnienia z technologii wytwarzania za pomocą obróbki skrawaniem i cięcia elektroerozyjnego (WEDM)

Streszczenie

W pracy przedstawiono nowoczesne technologie wytwarzania elementów maszyn za pomocą obróbki skrawaniem (frezowanie obwiedniowe) oraz cięcia elektroerozyjnego (WEDM), wykorzystywane do produkcji silników hydraulicznych w przemyśle wydobywczym. Przeprowadzono badania porównawcze obu technologii wykorzystując nowoczesne metody pomiaru (badania metrologiczne – kształtu i wymiaru) detali z dokładnością do 0,1 mikrometra, a także badania metalograficzne zarówno jakościowe, jak i ilościowe. Otrzymane wyniki z ilościowej analizy metalograficznej posłużyły do wnioskowania o jakości procesu wytwarzania w oparciu o narzędzia statystyczne. Dopełnieniem badań było wykonanie pomiarów profilometrycznych geometrycznej struktury powierzchni, dzięki której możliwe było sformułowanie wniosków końcowych. Reasumując celem pracy było porównanie technologii wytwarzania detali o skomplikowanych kształtach, tj. elementów posiadających zarys ewolwentowy, wykorzystując naukowe metody badań.

Słowa kluczowe: frezowanie obwiedniowe, WEDM

Selected issues from manufacturing technology by machining and cutting EDM (WEDM)

Abstract

The paper presents modern technologies for the production of machine elements by means of machining (milling) and electro-erosion cutting (WEDM). Comparative tests of both technologies were carried out using modern measurement methods (metrological tests – shape and dimension) of details with an accuracy of 0.1 micrometer, as well as both qualitative and quantitative metallographic tests. The results obtained from the quantitative metallographic examination were used to infer about the quality of the manufacturing process based on statistical tools. Complementing the research was the performance of profilometric measurements of the geometric surface structure, thanks to which it was possible to formulate final conclusions. Summing up, the purpose of the work was to compare the technology of producing details with complex shapes, i.e. elements with involute contours, using scientific research methods.

Keywords: milling, WEDM

Zdzisław Idziaszek[1]

Metoda wyznaczania Zasobu Pracy i Zasobu Obsług Maszyn w procesie optymalizacji Dostępności Produkcyjnej Maszyn

1. Wstęp

W nowoczesnym ujęciu zarządzania produkcją [1-3] przy dużej dynamice zmian zadań produkcyjnych [4-7] oraz dużej konkurencji kosztowej produktu finalnego, modelowanie efektywności produkcji powiązane jest z efektywnościowym i elastycznym przydziałem zasobów eksploatacyjnych [3, 8-10]. W tym ujęciu jednym z ważniejszych zagadnień zasobowych jest problem dopasowania do planowanego wykorzystywania Zasobów Pracy Maszyny (Z^PM) odpowiednich Zasobów Obsługowych dla tej Maszyny (Z^OM) tak by minimalizując koszty tego dopasowania uzyskać maksymalną Dostępność Produkcyjną Maszyny (D_PM) [11-13]. Zatem w analizie kosztowej produkcji [14], poza ograniczaniem kosztów produkcji wynikających z nadmiaru lub/i niedoboru zapasów materiałowych [14] lub nieplanowanych przestojów z braku lub/i nadprodukcji ważnym zagadnieniem jest zagadnienie kosztowej optymalizacji projektowej maszyn [15-23] jednak przy równoczesnym uwzględnieniu możliwych wariantów dopasowania zasobów eksploatacyjnych (Z^PM i Z^OM [24, 25]).

Jeśli założyć, że jedną z ważniejszych przyczyn generowania nieplanowanych kosztów produkcyjnych (a tym samym kosztu produktów) są przestoje produkcyjne z powodu braku Dostępności Produkcyjnej Maszyn (D_PM) zasadnym jest budowanie modeli umożliwiających efektywną optymalizację wskaźnika D_PM [26].

W realnie dynamicznych zmianach produkcyjnych (z różnych przyczyn [12]) oznacza to konieczność monitorowania zmian tego dopasowania, jego prognozowania w krótkim i długim przedziale czasowym oraz wdrażania procesów umożliwiających utrzymanie dopasowania zasobów eksploatacyjnych na założonym/wymaganym poziomie/przedziale.

Zakłada się zatem, że jest to jedno z ważniejszych zagadnień optymalizacji efektywnego zarządzania kosztami w procesie Utrzymania Ruchu Maszyn (URM) [27].

Bazując na powyższym założeniu, zaproponowano nowe skodyfikowanie wskaźników opisujących zasoby eksploatacyjne w produkcji wraz z nowatorskim sposobem ich zapisu matematycznego w przestrzeni liczb zespolonych [11, 28-30].

Celem nowego ujęcia problemu optymalizowania D_PM jest opracowanie efektywniejszych modeli dopasowania zasobów pracy maszyn z niezbędnymi dla nich zasobami obsług umożliwiających większą efektywność algorytmiczną przy wykorzystaniu danych statystycznych z toku produkcyjnego.

Zaproponowane podejście nakierowane jest na kompleksową efektywnościową minimalizację kosztów produkcji zgodnie z filozofią „Lean manufacturing/Lean production" [2, 31, 32] oraz uwzględniającą podejście zastosowane w systemie Kanban [3].

[1] Wojskowa Akademia Techniczna, Wydział Mechatroniki, Uzbrojenia i Lotnictwa (Faculty of Mechatronics, Armament and Aerospace of the Military University of Technology).

O ile przy bardzo dużej stabilności produkcyjnej i właściwej polityce kadrowo-szkoleniowo-motywacyjnej jest szansa na poprawne/efektywne kosztowo dopasowanie Z^PM z niezbędnymi dla nich Z^OM to zoptymalizowanie ich w innych warunkach jest trudne i niedopasowanie generuje automatycznie koszty zmniejszające efektywność produkcji poprzez zmniejszanie D_PM. Trudności w dopasowaniu tych zasobów wynikają zwykle z wielu przyczyn [23, 25, 33-36]. Podstawową z nich jest duża różnorodność konstrukcyjna i obsługowa maszyn pracujących w złożonych systemach technicznych przy zróżnicowanym profilu produkcyjnym. Nakładają się na to zmiany wynikające z niestabilności czynnika ludzkiego [37] (wymiana personelu, stan zdrowia, emocji itd. [38, 41]) i zmian dynamiki procesów zużywania się zapasów pracy maszyn [32, 40] (różne normy obciążeń roboczych [41]) zmniejszających niezawodność ich poprawnej pracy. Problemem samym w sobie jest też śledzenie zmian entropii (pogarszająca się jakość z rutyny, braku zaangażowania, nadmiernej kontroli zewnętrznej itp.) prac obsługowych i czynności operatorskich [8, 38, 42-45].

Zmiennych procesu zmian entropi w eksploatacji jest bardzo dużo i trudno opisać je mierzalnymi (online) wskaźnikami, można tylko poszukać wskaźników globalnych z punktu widzenia grupy czynników.

W tym opracowaniu zajęto się jednym z tych zagadnień, jakim jest optymalizacja zasobów obsługowych (Z^OM) gwarantujących maksymalne wykorzystanie zasobu pracy maszyn (Z^PM) przy utrzymaniu minimalnej wartości intensywności uszkodzeń w produkcji (λp [46]) zapewniające maksymalną (dla tych uwarunkowań) efektywność procesu produkcji opisywaną przez wskaźnik opisujący Dostępność Produkcyjną Maszyn (D_PM).

Rozwiązanie właściwego modelowania tych zagadnień nie jest proste w praktyce. Trudności są dwojakiego rodzaju:

- brak spójnych eksploatacyjnie wskaźników oceniających Z^PM, Z^OM i D_PM oraz miar [30, 47] mogących wyznaczać te wskaźniki – będących jednocześnie podatnych na algorytmizacje i wielopoziomowe pozyskiwanie danych ze złożonych systemów produkcyjnych;
- brak modeli mogących w prosty sposób powiązać różne miarowo dane generujące zmiany Z^PM, Z^OM i D_PM.

Niedobory Z^OM mogą wynikać z braku właściwej informacji o stanie zdatności maszyn, jak i procesu produkcyjnego oraz niemożliwości śledzenia zmian tego stanu co wywołuje dwa rodzaje strat:

- zmniejszanie wykorzystania potencjalnych Z^PM lub zwiększanie sumarycznego czas przestojów w wyniku wzrostu czasu napraw (Tn [53]);
- nadmiary Z^OM wynikające z nieuwzględnienia, że nowe technologie lub uzyskana stabilność produkcji nie wymaga tak dużych Z^OM lub przydzielone Z^OM nie są efektywne dobrane dla nowych technologicznie maszyn.

Złożoność czynników powodujących niedopasowania konstrukcyjnego maszyn z przypisanymi im procedurami obsługowymi często jest tak skomplikowana, że nie wystarczy zwykła wiedza ekspercka dotycząca URM [48] a wymagane jest wprowadzanie Naukowych Metod Wspomagania Zarządzaniem Eksploatacją (NMWZE [49-51]).

Podejścia klasyczne nie uwzględniają w sposób kompleksowy wszystkich przyczyn i zwykle nie opisują dynamiki zjawisk w procesie zmian tego dopasowania w praktyce eksploatacyjnej/ produkcyjnej stąd nie nadają się do śledzenia tych zmian online. Problemy z budową modeli wpływu dopasowania konstrukcji maszyn i ich obsług na koszty produkcji wynikają z trudności:

- formalnego powiązania matematycznego w jednym modelu różnorodnych miarowo danych;
- sposobu typowania kompleksowych wskaźników opisujących pogrupowane (wg sensownych kryteriów) różnorodnych przyczyn powodujących zmiany dopasowania;
- opracowania spójnej rachunkowo kodyfikacji umożliwiającej prostą algorytmizację przy wielopoziomowym duplikowaniu elementów składowych maszyn, systemu obsługowego i całego procesu produkcyjnego;
- opracowania powiązań rachunkowych pomiędzy wskaźnikami opisującymi dopasowanie zasobów pracy maszyn (Z^PM i przydzielonych im zasobów obsług (Z^OM) a potencjalnymi zdolnościami wytwórczymi maszyn (potwierdzonych poprzez metody tautologii rachunku zdań) a w efekcie z dostępnością produkcyjną maszyn (D_PM);
- w powiązaniu poziomu dopasowania Z^PM i Z^OM ze wskaźnikami oceniającymi D_PM organizacji produkcyjnej mogących być uznanych przez ekspertów za przekształcenia mające sensowny aspekt fizykalno-praktyczny.

Jednym ze sposobów poradzenia sobie z tym problemem jest wprowadzenie lepiej zorganizowanego sposobu zbierania i przetwarzania informacji pod kątem dostosowania systemu informacyjnego/zarządczego w organizacji produkcyjnej do szybszego i adekwatniejszego przetwarzania danych zasobowych [50]. Zorganizowanie to może skutkować pozytywnie na wszystkie składowe związane z efektywnością eksploatacji (opisaną przez D_PM) a globalnie z produktywnością organizacji (Po [11, 22, 52]). Dlatego zaproponowano nowatorskie modele dopasowania Z^PM, Z^OM i D_PM – nie mające ograniczeń wynikających zwykle z braku możliwości powiązania różnych miarowo wskaźników charakteryzujących Z^PM, Z^OM. Modelowanie (opisane w tym opracowaniu) nie ma również ograniczeń co do liczby wskaźników ocenowych oraz liczby składowych elementów maszyn/systemu produkcyjnego.

Pierwszym nowym elementem, w modelowaniu dopasowania Z^PM i Z^OM w realizacji zadań produkcyjnych, jest nowego typu kodyfikacja zasobów (punkt 2). Kodyfikacja dotyczy wyodrębnionych grup (uznanych za charakteryzujące opis danej grupy) parametrów umożliwiających śledzenie tego dopasowania z podziałem (w każdej grupie) na inherentne i nieinherentne czynniki (rys. 1 i rys. 2).

Drugim nowym elementem jest nowatorski sposób przetwarzania informacji potrzebnych do identyfikacji i opisu tych zasobów. Zrealizowano go poprzez zastosowanie przejść matematycznych z opisu zasobów w liczbach rzeczywistych do opisu zasobów w liczbach zespolonych i po dokonaniu operacji przetwarzania danych na liczbach zespolonych dokonania przejścia powrotnego do zapisu wskaźników w liczbach rzeczywistych (rys. 2).

Za kryterium oceny efektów dopasowania (w proponowanym modelowaniu) można przyjąć zarówno Koszt Utrzymania Dostępności Produkcyjnej Maszyn (KuD_PM), jak i D_PM – w zależności od kryterium gotowości maszyn do pracy – ciągły (DpM),

czasowy, na zlecenie (KuD_PM). W szerszym ujęciu tego typu modele można rozszerzyć w stosunkowo prosty sposób na ocenę zdolności produkcyjnych całej organizacji produkcyjnej a po odniesieniu do uzyskanych zysków ze sprzedaży także na ocenę jej produktywności co umożliwia proste powiązanie DpM poszczególnych maszyn/taśm produkcyjnych z oceną produktywności [11, 52, 53] całej organizacji produkcyjnej [42].

Zaproponowany (w tym rozdziale) autorski model uznaje się, że może być szczególnie przydatny w:

- dopasowywaniu maszyn wdrażanych do systemów eksploatacji o różnych (jakościowo) zasobach czynnika ludzkiego lub/i wymaganiach środowiskowych oraz zastosowanych strategiach eksploatacyjnych;
- w projektowaniu nowych maszyn zwłaszcza dedykowanych w znane lub projektowane od nowa środowisko eksploatacyjne;
- w projektowaniu dużej niezawodności konstrukcji w oparciu o postoje obsługowe systemu nadrzędnego, w ramach których można zaplanować wymiany prewencyjne/ profilaktyczne elementów maszyny;
- lepszym wykorzystaniu zasobów trwałości elementów o bardzo dużej trwałości wynikającej z konieczności zachowania wymaganej niezawodności konstrukcji poprzez dopasowanie niezawodności elementów o stosunkowo niskiej trwałości planując ich wymiany prewencyjne [54] na nowe elementy w trakcie planowanych obsług konserwacyjnych.

Ideę, na której bazuje opracowany model można zastosować do dopasowania dowolnych zasobów opisujących każdy aspekt produkcyjny.

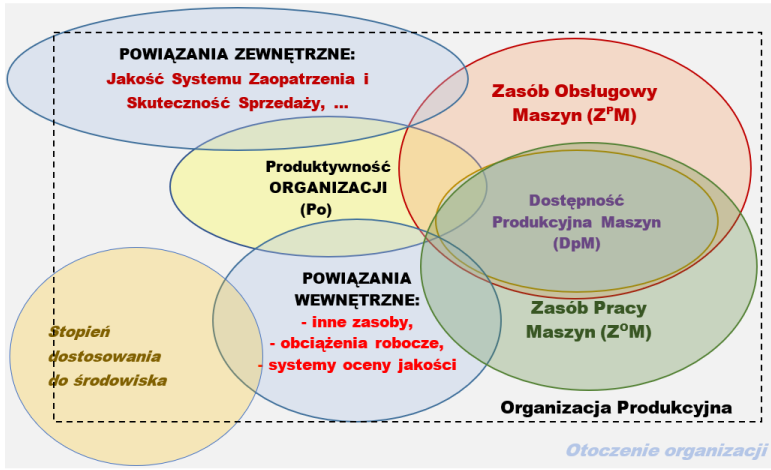
Uznaje się, że takie podejście może być szczególnie przydatne zwłaszcza dla inżynierów przy realizacji projektantów systemowych dotyczących maszyn i procesów produkcyjnych [55] w obrębie wszystkich zastosowań teoretycznych i praktycznych dyscypliny naukowej inżynieria mechaniczna.

Zatem celem tego rozdziału jest przedstawienie innowacyjnej metody wyznaczania zasobów eksploatacyjnych tj. Zasobów Pracy Maszyn (Z^PM) oraz Zasobów Obsługowych Maszyn (Z^OM) i ilustracji ich dopasowywania w procesie optymalizacji Dostępności Produkcyjnej Maszyn (D_PM) dedykowanego szczególnie do zastosowania w projektowych i eksploatacyjnych zarządczych systemach bazodanowych dla systemów technicznych.

2. Kodyfikacja i modele opisu zasobów eksploatacyjnych

W obecnym czasie nie wystarczy zaprojektować maszynę tylko pod kątem jej zdolności do wytwarzania określonej klasy produktów, ale należy też uwzględnić w projektowaniu jej potencjalne (lub dedykowane) środowisko pracy, wpływ (szczególnie w ujęciu niezawodnościowym [11, 23, 28, 56]) dopasowania niezbędnych zasobów eksploatacyjnych pod kątem efektywności produkcyjnej oraz szereg innych powiązań wewnętrznych i zewnętrznych.

Na potrzeby modelowania dopasowania zasobów pracy maszyny i zasobów obsług (będącego głównym elementem tego opracowania) uwzględniono tylko dane związane z tym modelowaniem i w dalszej części używa się nazewnictwa opisującego zasoby i efekty produkcyjne zgodnie z rysunkiem 1.



Rysunek 1. Ilustracja kodyfikacji zasobowej w modelu dopasowania zasobów

Idea powiązań zasobowych w organizacji przedstawiona na rysunku 1 wynika z doświadczenia eksperckiego autora [11, 29, 44, 50, 57], skoncentrowanego na opracowywaniu sposobów szacowania niezawodności i trwałości urządzeń i systemów ich eksploatacji. Możliwość opisu matematycznego na płaszczyźnie zespolonej efektywności zasobowej pracy obiektów technicznych w eksploatacji po raz pierwszy przedstawiono w artykule [29]. Pierwszej kodyfikacji za pomocą wskaźników opisujących inherentny zasób konstrukcji maszyny i nieinherentny zasób procedur obsługowych w zapisie liczb zespolonych przedstawiono w artykule [11] co wykorzystano przy ocenie wyrobu wojskowego [28]. W pracy [13] przedstawiono model zasobowy od samego początku za pomocą wskaźników niezawodnościowych, jednak po jego analizie uznano, że zawiera on za dużo informacji w jednym modelu, przez co nie jest do końca czytelny. Dlatego w przedstawionym tu podejściu nie uwzględnia się wprost probabilistycznego opisu sugerowanego w pracy [29]. Uznaje się, że będzie to następny etap rozwoju modelu opisanego w tym opracowaniu.

W trakcie zastosowań [11, 28] oceniono, że w modelowaniu tego typu należy zastosować szczegółowszy podział wg kryterium inherentności i nieinherentności zarówno dla zasobów konstrukcyjno-technicznych, jak i procedur obsługowych co stało się celem tego opracowania. Oznaczało to konieczność zastosowania podziału, na pierwszym etapie modelowania, na inherentne i nieinherentne podtypy zasobów oddzielnie dla aspektów dotyczących maszyn i oddzielnie dla przypisanych im podtypów zasobowych obsług (rys. 2).

Za cel nadrzędny zastosowanej w tym opracowaniu kodyfikacji w modelu dopasowania zasobów produkcyjnych maszyn i ich obsług przyjęto, że:

- model dopasowania powinien posiadać wystarczająco dużą ogólność by można było go zastosować zarówno do oceny projektowania maszyn jak i oceny procedur utrzymania ruchu;
- powinien uwzględniać wpływ specyfiki środowiska produkcyjnego, a w efekcie finalnym powiązanie zysku końcowego organizacji produkcyjnej ze wskaźnikami niezawodnościowymi wszystkich komponentów biorących w procesie generowania tego zysku;

- kodyfikacja zasobów postawiona być jednoznaczna i w miarę prosta, umożliwiając zapis miarowy dający matematyczne powiązania i przekształcanie wskaźników opisujących parametry maszyn i obsług z dostępnością produkcyjną maszyn, a w końcowym efekcie z produktywnością organizacji produkcyjnej.

Należy zwrócić uwagę (patrz rys. 1), że na zmianę zasobu potencjalnych zdolności produkcyjnych może istotnie wpłynąć zmiana uwarunkowań środowiskowych (przeniesienie produkcji do innego kraju/kontynentu) a w tym zmiana uwarunkowań dotycząca powiązań zewnętrznych, takich jak:

- powiązań z systemem dostaw i rynkiem zbytu;
- dostępności zasobów ludzkich o odpowiednich kwalifikacjach i zaangażowaniu projakościowym;
- stabilności prawodawstwa (np. norm środowiskowych – czyli niedostępność tanich, ale nieekologicznych technologii) itp.

Właściwie (ilościowo i jakościowo) skorelowanie/ zoptymalizowanie $Z^{O}M$ w URM, ma na celu:

- zapewnienie wymaganej jakości utrzymania maszyn w odpowiednim stanie niezawodności i gotowości do użycia – czyli niegenerowanie strat z przestojów po uszkodzeniu;
- optymalne wykorzystanie tych zasobów obsługowych w produkcji – czyli minimalizacja kosztów obsługowych w produkcji;
- zagwarantowanie odpowiedniej stabilności warunków użycia produkcyjnego – umożliwiające proste planowanie zdolności produkcyjnych;

co może również zapewnić/umożliwić:

- maksymalne wykorzystanie $Z^{P}M$;
- dobór DpM do danego typu produkcji – czyli minimalizacja kosztów zakupu maszyn – niekupowanie na niepotrzebny zapas;
- projektowy minimalizm środków (a tym samym kosztów) w realizacji produkcji – umożliwia konkurencyjność cenową produktów a tym samym odpowiednie zyski dla organizacji produkcyjnej.

Szczegółowszą kodyfikację zasobów i model ich dopasowania zilustrowano na rys. 2. Pokazano na nim przykładowe wskaźniki mierzalne – T_M, Z_U, K_{OP}, D_{ER} i Z_{MiA}, J_{MiA}, Z_{CL}, J_{WO} (z uwzględnieniem ich niezawodności występowania: N_{TM}, N_{ZU}, N_{KOP}, N_{DER}, N_{ZMiA}, N_{JMiA}, N_{ZCL}, N_{JWO}), ich opis zasobowy – $Z_PM_{/SkIn}$, $Z_PM_{/SkNin}$ i $Z_OM_{/SkIn,}$ $Z_OM_{/SkNin}$, opis możliwości – $Z^{P}M$ i $Z^{O}M$ oraz ocenę systemu produkcyjnego poprzez Potencjalny Zasób Produkcyjny Maszyny – $P^{ZP}M$ i Dostępność Produkcyjną Maszyny (D_PM). Na potrzeby ilustracji (rys. 2) modelowania wybrano dwie grupy wskaźników dotyczących cech konstrukcyjno-obsługowych maszyn i cech materiałowych oraz czynnika ludzkiego opisujących Utrzymanie Ruchu Maszyn.

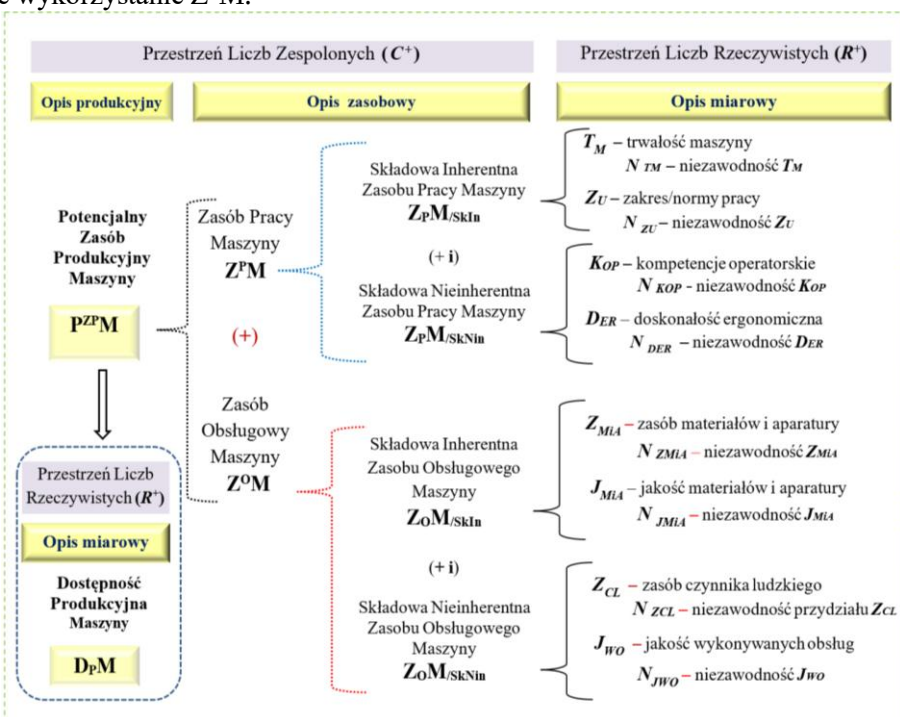
Pierwszą grupę czynników (rys. 2 – T_M, Z_U, K_{OP}, D_{ER}) charakteryzują parametry konstrukcyjne i funkcjonalne maszyny/taśmy produkcyjnej/ złożonych obiektów (dalej w skrócie używane pod pojęciem „maszyna") przyjęte w procesie projektowania maszyny i posiadane przez maszynę po jej wytworzeniu. Zostały one zdefiniowane jako początkowe wskaźniki mierzalne, z których modeluje się liczbę zespoloną nazwaną Zasobem Pracy Maszyny ($Z^{P}M$).

Drugą grupą czynników (rys. 2 – Z_{MiA}, J_{MiA}, Z_{CL}, J_{WO}) powiązano ze wskaźnikami mierzalnymi opisującymi obsługi zastosowane w eksploatacji (Utrzymaniu Ruchu Maszyn), z których modeluje się liczbę zespoloną nazwaną Zasobem Obsługowym Maszyny (Z^OM).

Założono, że dopasowanie liczb zespolonych Z^PM i Z^OM wpływa bezpośrednio na zdolności wytwórcze maszyny i zostało zamodelowane (rys. 2) przez liczbę zespoloną (będącą sumą liczb zespolonych Z^PM i Z^OM) nazwaną Potencjalnym Zasobem Produkcyjnym Maszyny ($P^{ZP}M$), z którego można wyznaczyć parametr opisujący efekt produkcyjny maszyny (w liczbach rzeczywistych) w postaci Dostępności Produkcyjnej Maszyny (D_PM).

W praktyce dopasowanie Z^PM i Z^OM nie jest pełne nawet na samym początku wprowadzenia maszyny w system produkcyjny. Dodatkowo w trakcie cyklu produkcyjnego dopasowanie to może być rozstrojone (rosnąca entropia dopasowania) w wyniku naturalnych fluktuacji wartości elementów składowych T_M, Z_U, K_{OP}, D_{ER} i Z_{MiA}, J_{MiA}, Z_{CL}, J_{WO}.

Dopasowanie zasobowe Z^OM decyduje o jakości konserwacji, zaplanowanych przestojach oraz wskaźniku niezawodnościowym, jakim jest średni czas do uszkodzenia (T_m). Ponadto decyduje o sukcesie optymalizacji kosztów produkcji nastawionej na pełne wykorzystanie Z^PM.



Rysunek 2. Ilustracja korelacji Dostępności Produkcyjnej Maszyny (D_PM) w przestrzeni liczb rzeczywistych (R^+) z modelami Z^PM i Z^OM oraz $P^{ZP}M$ w przestrzeni liczb zespolonych (C^+) bazujących na wskaźnikach miarowych maszyny (T_M, Z_U, K_{OP}, D_{ER}) i utrzymania ruchu maszyn (Z_{MiA}, J_{MiA}, Z_{CL}, J_{WO}) w przestrzeni liczb rzeczywistych (R^+) z uwzględnieniem niezawodności ich występowania w eksploatacji w procesie produkcyjnym

Najistotniejszym punktem modelowania (poza zastosowaną kodyfikacją zasobów) są zaproponowane sposoby przejść:

- z zapisu modelu w przestrzeni liczb rzeczywistych (R+) na zapis modelu w przestrzeni liczb zespolonych (C+);
- i powrotne przejście z zapisu modelu w przestrzeni liczb zespolonych (C+) do zapisu modelu w przestrzeni liczb rzeczywistych (R+).

W tej kodyfikacji przyjęto, że dla Z^PM (zgodnie z rys. 2.) inherentny zasób pracy maszyny opisano miarą – $Z_PM/^{SkIn}$ (1). Wartość $Z_PM/^{SkIn}$ (równoważna zapisowi w [11] Z_iM) wyznacza się z dwóch wskaźników mierzalnych: wskaźnika opisującego trwałość maszyny – T_M oraz wskaźnika opisującego tempo zużywania tej trwałości (w zależności od norm użytkowania/zakresu pracy maszyny) – Z_U z uwzględnieniem niezawodności ich występowania ($N_{TM,}$ N_{ZU}).

$$Z_PM_{/SkIn} = (T_M \cdot N_{TM}) \cdot (Z_U \cdot N_{ZU}) \quad (1)$$

gdzie:
$Z_PM_{/SkIn}$ – wskaźnik opisujący Składową Inherentną Zasobu Pracy Maszyny – liczba rzeczywista,
T_M – wskaźnik opisujący trwałość maszyny,
Z_U – tempo zużywania trwałości w zależności zakresu/norm pracy maszyny (opisane przez wskaźniki resursowe w [57]).
N_{TM} – niezawodność T_M,
N_{ZU} – niezawodność Z_U.

Natomiast nieinherentny zasób pracy maszyny (opisany jest tu miarą nazwaną jako Składowa Nieinherentna Zasobu Pracy Maszyny – $Z_PM_{/SkNin}$ (2) wyznacza się z dwóch wskaźników mierzalnych: wskaźnika opisującego wymagany poziom wykształcenia i kultury technicznej potencjału ludzkiego (operatorów tj. wymagane kompetencje czynnika ludzkiego) – K_{OP} oraz wskaźnika opisującego doskonałość ergonomiczną/ operatorską maszyny – D_{ER} z uwzględnieniem niezawodności ich występowania ($N_{KOP,}$ N_{DER}).

$$Z_PM_{/SkNin} = (K_{OP} \cdot N_{KOP}) \cdot (D_{ER} \cdot N_{DER}) \quad (2)$$

gdzie:
$Z_PM_{/SkNin}$ – Składowa Nieinherentna Zasobu Pracy Maszyny – liczba rzeczywista,
K_{OP} – wskaźnik opisujący wymagany poziom wykształcenia i kultury technicznej potencjału ludzkiego – operatorów tj. wymagane kompetencje czynnika ludzkiego,
D_{ER} – wskaźnik opisujący zaprojektowaną podatność obsługową maszyny,
N_{KOP} – niezawodność K_{OP},
N_{DER} – niezawodność D_{ER}.

Do powiązania $Z_PM_{/SkIn}$ i $Z_PM_{/SkNin}$ w jeden wskaźnik (Z^PM) użyto liczb zespolonych. Stąd opisane wskaźnikami mierzalnymi w przestrzeni liczb rzeczywistych $Z_PM_{/SkIn}$ i $Z_PM_{/SkNin}$ zostały użyte do zapisania w postaci liczby zespolonej – Z^PM opisującej Potencjał Roboczy Maszyny (3).

$$Z^PM = Z_PM_{/SkIn} + i\, Z_PM_{/SkNin} \quad (3)$$

gdzie:
Z^PM – liczba zespolona opisująca potencjał roboczy maszyny,
$Z_PM_{/SkIn}$ – Składowa Inherentna Zasobu Pracy Maszyny) – liczba rzeczywista,
$Z_PM_{/SkNin}$ – Składowa Nieinherentna Zasobu Pracy Maszyny – liczba rzeczywista.

Dla $Z^{O}M$ (zgodnie z rys. 2) inherentny zasób systemu utrzymania ruchu maszyny opisano miarą liczbową nazwaną Składowa Inherentna Zasobu Obsługowego Maszyny – $Z_{O}M_{/SkIn}$ (4) (równoważna zapisowi w [11] $Z_{ni}M$). Została ona wyznaczana z dwóch wskaźników mierzalnych (zapisanych w przestrzeni liczb rzeczywistych): wskaźnika opisującego zasób materiałów i aparatury systemu utrzymania ruchu maszyny – Z_{MiA} oraz wskaźnika opisującego jakość zastosowanych materiałów i aparatury systemu utrzymania ruchu maszyny – J_{MiA} z uwzględnieniem niezawodności ich występowania ($N_{ZMiA,}$ N_{JMiA}).

$$Z_{0}M_{/SkIn} = (Z_{MiA} \cdot N_{ZMiA}) \cdot (J_{MiA} \cdot N_{JMiA}) \tag{4}$$

gdzie:
$Z_{O}M_{/SkIn}$ – inherentny zasób $Z^{O}M$ – liczba rzeczywista,
Z_{MiA} – wskaźnik opisujący wymagany zasób materiałów i aparatury,
J_{MiA} – wskaźnik opisujący jakość materiałów i aparatury,
N_{ZMiA} – niezawodność $Z_{MiA,}$
N_{JMiA} – niezawodność $J_{MiA.}$

Natomiast zapas zasobu nieinherentnego systemu utrzymania ruchu maszyny opisany jest miarą nazwaną Składowa Nieinherentna Zasobu Obsługowego Maszyny $Z_{O}M_{/SkNin}$ (5) wyznaczany został z dwóch wskaźników mierzalnych: wskaźnika opisującego wymagany zasób czynnika ludzkiego w systemie utrzymania ruchu maszyny – Z_{CL} oraz wskaźnika opisującego wymaganą jakość jakość wykonywanych obsług w systemie utrzymania ruchu maszyny – J_{WO} z uwzględnieniem niezawodności ich występowania ($N_{ZCL,}$ N_{JWO}).

$$Z_{0}M_{/SkNin} = (Z_{CL} \cdot N_{ZCL}) \cdot (J_{WO} \cdot N_{JWO}) \tag{5}$$

gdzie:
$Z_{O}M_{/SkNin}$ – nieinherentny zasób $Z^{O}M$ – liczba rzeczywista,
Z_{CL} – wskaźnik opisujący wymagany zasób czynnika ludzkiego do obsługiwania maszyny,
J_{CL} – wskaźnik opisujący jakość czynnika ludzkiego,
N_{ZCL} – niezawodność przydziału $Z_{CL,}$
N_{JWO} – niezawodność $J_{WO.}$

Zasób nieinherentny systemu utrzymania ruchu maszyny $Z_{O}M_{/SkNin}$ i zasób inherentny systemu utrzymania ruchu maszyny $Z_{O}M_{/SkIn}$ w przestrzeni liczb zespolonych powiązano za pomocą liczby zespolonej $Z^{O}M$ (6) opisującej potencjał systemu utrzymania ruchu maszyny.

$$Z^{0}M = Z_{0}M_{/SkIn} + i\, Z_{0}M_{/SkNin} \tag{6}$$

gdzie:
$Z^{O}M$ – liczba zespolona opisująca potencjał systemu utrzymania ruchu maszyny,
$Z_{O}M_{/SkIn}$ – Składowa Inherentna Zasobu Obsługowego Maszyny) – liczba rzeczywista,
$Z_{O}M_{/SkNin}$ – Składowa Nieinherentna Zasobu Obsługowego Maszyny) – liczba rzeczywista,

Z liczb zespolonych $Z^{P}M$ i $Z^{O}M$ (po ich sumowaniu w przestrzeni zespolonej lub użyciu modułów liczb zespolonych $|Z^{P}M|$, $|Z^{O}M|$ do utworzenia nowej liczby zespolonej) otrzymujemy liczbę zespoloną $P^{ZW}M$ (7) opisującą Potencjał Zdolności Produkcyjnych Maszyny.

$$P^{ZP}M = Z^{P}M + Z^{O}M$$

lub (7)

$$P^{ZP}M = |Z^{P}M| + i\,|Z^{O}M|$$

gdzie:
$P^{ZP}M$ – liczba zespolona opisująca Potencjał Zdolności Wytwórczych Maszyny wiążący przypisane mu zasoby systemu utrzymania ruchu maszyny,
$|Z^{P}M|$ – moduł z liczby zespolonej (Zasób Pracy Maszyny) – liczba rzeczywista,
$|Z^{O}M|$ – moduł z liczby zespolonej (Zasób Obsługowy Maszyny) – liczba rzeczywista.

Do przejścia z liczby zespolonej $P^{ZW}M$ do miary liczbowej w przestrzeni liczb rzeczywistych wykorzystano moduł liczby $P^{ZW}M$. Uzyskana w ten sposób miara liczbowa w postaci D_PM (8) opisuje Produktywność Maszyny (do czego dążyliśmy w tym modelowaniu).

$$D_PM = \left| P^{ZW}M \right| = \left| (|Z^{P}M| + i\,|Z^{O}M|) \right| = \sqrt{|Z^{P}M|^{2} + |Z^{O}M|^{2}} \quad (8)$$

gdzie:
D_PM – Dostępność Produkcyjna Maszyny – liczba rzeczywista,
$\left| P^{ZW}M \right|$ – moduł z liczby zespolonej (Potencjalny Zasób Produkcyjny Maszyny) – liczba rzeczywista – wzór (7),
$|Z^{P}M|$ – moduł z liczby zespolonej (Zasób Pracy Maszyny) – liczba rzeczywista – wzór (3),
$|Z^{O}M|$ – moduł z liczby zespolonej (Zasób Obsługowy Maszyny) – liczba rzeczywista – wzór (6).

3. Podsumowanie

Proces przekształcania modelu jest następujący:

- Wytypowano grupę wskaźników mierzalnych zapisane w przestrzeni liczb rzeczywistych – T_M, Z_U, K_{OP}, D_{ER} i Z_{MiA}, J_{MiA}, Z_{CL}, J_{WO} oraz ich niezawodności występowania N_{TM}, N_{ZU}, N_{KOP}, N_{DER}, N_{ZMiA}, N_{JMiA}, N_{ZCL}, N_{JWO};
- W przestrzeni liczb rzeczywistych, wykorzystując wskaźniki – T_M, Z_U, K_{OP}, D_{ER} i Z_{MiA}, J_{MiA}, Z_{CL}, J_{WO} oraz ich niezawodności występowania N_{TM}, N_{ZU}, N_{KOP}, N_{DER}, N_{ZMiA}, N_{JMiA}, N_{ZCL}, N_{JWO} wyznaczono liczby rzeczywiste: $Z_PM_{/SkIn}$, $Z_PM_{/SkNin}$, $Z_OM_{/SkIn}$, $Z_OM_{/SkNin}$;
- Następnie w przestrzeni liczb zespolonych z liczb rzeczywistych $Z_PM_{/SkIn}$, $Z_PM_{/SkNin}$ zbudowano liczbę zespoloną $Z^{P}M$;
- Podobnie z liczb rzeczywistych $Z_OM_{/SkIn}$, $Z_OM_{/SkNin}$ zbudowano liczbę zespoloną $Z^{O}M$;
- Z liczb zespolonych $Z^{O}M$ i $Z^{P}M$ poprzez ich moduły uzyskano nowe liczby rzeczywiste: $|Z^{P}M|$, $|Z^{O}M|$;
- *Wariant I.* Z liczb rzeczywistych $|Z^{P}M|$, $|Z^{O}M|$ zbudowano liczbę zespoloną $P^{ZP}M$;
- *Wariant II.* Wykonano działanie dodawania na liczbach zespolonych w przestrzeni liczb zespolonych $Z^{O}M$ i $Z^{P}M$ i w ten sposób uzyskano nową liczbę zespoloną $P^{ZP}M$;
- Na koniec procesu przekształceń z liczby zespolonej $P^{ZW}M$ poprzez jej moduł ($\left| P^{ZW}M \right| = D_PM$) dokonano przejścia powrotnego do miary w przestrzeni liczb rzeczywistych otrzymując – Dostępność Produkcyjną Maszyny (D_PM) w postaci liczby rzeczywistej.

Wprawdzie w opisanej kodyfikacji i modelowaniu nie uwzględniono, ale istnieją również inne aspekty wpływające na efektywność produkcji maszyn, takie jak:

- współpraca między przedsiębiorstwami i środowiskiem nauki [58];
- integracja systemów Organizacji Produkcyjnej;
- wydajność procesów biznesowych [59];
- wzrost produktywności organizacji [37, 52] z optymalizacji dopasowania zasobów [32] nastawionych na minimalizację nadmiarów lub braków tych zasobów;
- szkolenia wprowadzające, uzupełniające, przypominające;
- motywowanie/rozumienie celów organizacji [39, 48, 60];
- analiza racjonalności polityki konserwacyjnej itp. [1, 12, 46].

Bardzo duża konkurencyjność i coraz większa złożoność systemów wytwórczych wymaga automatyzacji pobierania i szybkiego wielokryterialnego oraz wielopoziomowego przetwarzania danych w zarządzanym środowisku pracy [12] i permanentnego przekazywania danych do systemów wspomagania projektowego konstruktorów maszyn i systemów utrzymania w ruchu celem ciągłego ich dopasowywania na podstawie bieżących zmian.

Stąd bardzo ważnego znaczenia nabiera czas reakcji na pojawiające się fluktuacje wewnętrzne i zewnętrzne [46, 56] – rysunek 2. Dążenie do wzrostu produktywności [37, 52] tj. efektywniejszego wykorzystania posiadanych zasobów [27, 32, 51, 52] wymusza poszukiwanie innowacyjnych i kompleksowych, ale także algorytmicznie/ matematycznie prostych modeli opisu i prognozowania zmian tych zasobów i efektów produkcyjnych.

Zastosowane podejście (rys. 1 i 2) i opisana kodyfikacja oraz opisane modelowanie spełniają te postulaty. Opis wykorzystania praktycznego, opracowanych wskaźników (zarówno w przestrzeni liczb zespolonych, jak i rzeczywistych), wymaga podania interpretacji ich zastosowania co przedstawiono w dalszych punktach tego opracowania.

Interpretacje przedstawiono przy wykorzystaniu płaszczyzny liczb zespolonych (punkt 3÷6). Na rysunkach 3-7 opisano jak liczby zespolone zmieniają swoje położenie przy zmianach zasobów oraz jak wyznacza się z nich miary liczbowe opisujące poziomy dopasowania zasobów i efekty produkcyjne maszyn. Podano też (punkt 7) przykładowe konfiguracje zestawienia danych eksploatacyjnych (tab. 1-6 – A1, A2, B1, B2, C1, C2) uzyskiwanych zmian. Wyznaczenie wartości D_PM dla przykładowych konfiguracji danych eksploatacyjnych (A1/A2, B1/B2, C1/C2) zestawiono w tabeli 7 a dla konfiguracji danych eksploatacyjnych (A1/B2, A1/C2, B1/C2) zestawiono w tabeli 8. Zilustrowanie uzyskanych wartości D_PM z tabeli 7 i tabeli 8 przedstawiono na wykresie 1.

4. Analiza Zasobów Pracy Maszyny

Ideę modelowania Z^PM (z rys. 2 opisana zależnością (3)) za pomocą wskaźników mierzalnych (T_M, Z_U, K_{OP}, D_{ER}) i niezawodności ich występowania (N_{TM}, N_{ZU}, N_{KOP}, N_{DER}) w przestrzeni liczb rzeczywistych i opisu zasobowego w przestrzeni liczb zespolonych ($Z_PM_{/SkIn}$, $Z_PM_{/SkNin}$) zapisano, z uwzględnieniem zależności (1) i (2) w postaci zależności (9)

$$Z^PM = Z_PM_{/SkIn} + i\,(Z_PM_{/SkNin}) =$$

$$=\{(T_M \cdot N_{TM})\cdot (Z_U \cdot N_{ZU})\} + i\,\{(K_{OP} \cdot N_{KOP}) \cdot (D_{ER} \cdot N_{DER})\} \qquad (9)$$

i zilustrowano na płaszczyźnie zespolonej na rysunku 3.

Opracowany model Z^PM ma bardzo duży poziom ogólności. Jednak nie ma on ograniczeń w liczbie rozpatrywanych elementów składowych i typów czynników (T_M, Z_U, K_{OP}, D_{ER}) w każdym z elementów pod warunkiem, że prawidłowo zakwalifikuje się zasoby do $Z_PM_{/SkIn}$ lub $Z_PM_{/SkNin}$ oraz oszacuje niezawodności – N_{TM}, N_{ZU}, N_{KOP}, N_{DER} (10),

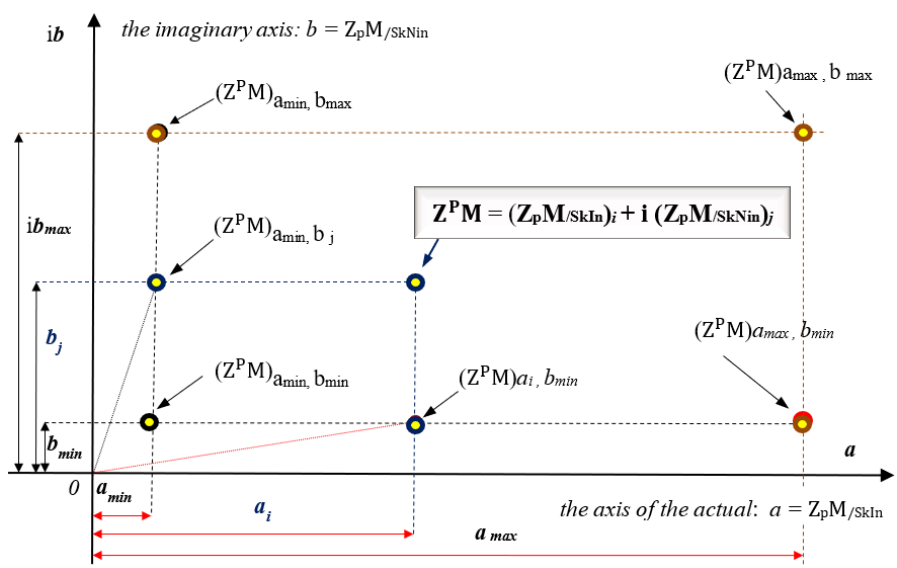
$$Z^PM = f\left(\Sigma\, Z_PM_{/SkIn\,|i}, \Sigma\, Z_PM_{/SkNin\,|i}\right) \tag{10}$$

gdzie:
i – składowe czasu działania maszyny bez awarii wynikające z wyróżnionych zasobów składowych konstrukcyjnych i podatności na obsługę/konserwację maszyny,
i – zawiera się w przedziale $i_{min} \div i_{max}$,
$i_{min\backslash max}$ – minimalna\maksymalna (graniczna) wartość inherentnego zasobu maszyny,

lub (11)

$$Z^PM = \Sigma\, Z^PM_{\,|j} \tag{11}$$

gdzie:
j – składowe Z^PM np. dla maszyn/linii produkcyjnych.
j – zawiera się w przedziale $j_{min} \div j_{max}$,
$j_{min\backslash max}$ – minimalna\maksymalna wartość nieinherentnego zasobu maszyny.



Rysunek 3. Model potencjału roboczego maszyny (Z^PM) na I ćwiartce płaszczyzny zespolonej. $Z_PM_{/SkNin} = i$ b – miara Z^PM wynikająca z trwałości i obciążeń roboczych maszyny; $Z_PM_{/SkIn} = a_1$ – miara Z^PM wynikająca z kompetencji operatorskich i doskonałości ergonomicznej maszyny

Z ilustracji Z^PM przedstawionej na rys. 3 wnioskujemy, że przy zmianie wartości $b_i = Z_PM_{/SkIn}$ lub zmianie wartości $a_i = Z_PM_{/SkNin}$ (lub zmianie ich obu naraz) zmienia się nam wartość Z^PM.

Oznacza to, że każda zmiana uwarunkowań eksploatacyjnych np. tempa zużywania (a – zmian norm użytkowania), czy zmiana jakości obsługi (i b) pociąga za sobą zmianę

wartości Z^PM, a tym samym zmianę miejsca położenia liczby zespolonej Z^PM na płaszczyźnie zespolonej.

Porównanie (na zasadzie nierówności) dwóch Z^PM reprezentowanych przez dwie liczby zespolone [30] nie jest możliwe, gdyż ciało $\mathbb{C}$ (liczb zespolonych) jest ciałem nieuporządkowanym. Brak porządku w $\mathbb{C}$ sprawia, że nierówności między liczbami zespolonymi, w rodzaju $z_1 > z_2$ (w naszym przypadku $Z^PM_{/1} > Z^PM_{/2}$) nie mają sensu, o ile nie dotyczą liczb rzeczywistych.

Wprawdzie istnieje relacja porządku dla dwu liczb zespolonych taka jak (12) jednak niełatwo połączyć ją z arytmetyką i uzyskać wartość liczbową, która miałaby sens jednostki miarowej dla całej liczby zespolonej, a nie tylko dla jej składowych.

$$a_1 + i\,b_1 \geq a_2 + i\,b_2 \Leftrightarrow a_1 \geq a_2 \text{ lub } a_1 = a_2\, i\, b_1 \geq b_2, \tag{12}$$

Relacja ta opisuje, jak zmienia się miejsce liczby zespolonej reprezentowane przez opisywany przez nią punkt na płaszczyźnie liczb zespolonych. Na podstawie zmiany tego punktu na płaszczyźnie liczb zespolonych można ocenić tylko, który z podstawowych typów zasobów należy zmienić (by uzyskać odpowiedni efekt) lub który z typów zasobów zmienił się od ostatniego wyznaczania wartości Z^PM powodując jej zmianę położenia.

Dla liczby zespolonej Z^PM – ogólny przypadek (rys. 3) opisano zależnością (13)

$$Z^PM = (Z_PM_{/SkIn})_i + i\,(Z_PM_{/SkNin})_j \tag{13}$$

Graniczne wartości Z^PM wskazujące obszar stosowalności zasobowej ZPM opisano poprzez:

$$(Z^P M)_{a_{max},b_{max}} = (Z_PM_{/SkIn})_{\max} + i\,(Z_PM_{/SkNin})_{\max},$$

$$\left(Z^PM\right)_{a_{min},b_{min}} = \text{dla } (Z_PM_{/SkIn})_{\min} + i\,(Z_PM_{/SkNin})_{\min},$$

$$\left(Z^PM\right)_{a_{min},b_j} - \text{dla } (Z_PM_{/SkIn})_{\min} + i\,(Z_PM_{/SkNin})_{j},$$

$$\left(Z^PM\right)_{a_i,b_{min}} = \text{dla } (Z_PM_{/SkIn})_{i} + i\,(Z_PM_{/SkNin})_{\min}.$$

Wynika stąd, że dla granicznych (maksymalnych i minimalnych) zasobów $Z_PM_{/SkIn}$ i $Z_PM_{/SkNin}$ można wyznaczyć graniczny zasób (maksymalny i minimalny) Z^PM.

Jednak wartość modułu z liczby zespolonej Z^PM tj. $|Z^PM|$ jest liczbą rzeczywistą i może być porównywany z wartościami modułów innych liczb zespolonych i można te wartości wykorzystać do oceny jakościowej i ilościowej zasobów pracy maszyn.

5. Analiza Zasobów Obsługowych Maszyny

Idea modelu Z^OM w przestrzeni liczb zespolonych (C^+) ze wskaźnikami systemu utrzymania ruchu maszyn (Z_{MiA}, $J_{MiA,}$ Z_{CL}, J_{WO}) w przestrzeni liczb rzeczywistych (R^+) została zilustrowana na rysunku 4.

Zestawienie całościowe powiązania wskaźników mierzalnych w przestrzeni liczb rzeczywistych i opisu zasobowego w przestrzeni liczb zespolonych dla maszyny przedstawiono w postaci zależności (14)

$$Z^{O}M = Z_{O}M_{/SkIn} + i\,(Z_{O}M_{/SkNin}) =$$

$$=\{(Z_{MiA} \cdot N_{ZMiA}) \cdot (J_{MiA} \cdot N_{JMiA})\} + i\,\{((Z_{CL} \cdot N_{ZCL}) \cdot (J_{WO} \cdot N_{JWO})\} \quad (14)$$

Matematyczna postać modelu $Z^{O}M$ przedstawiona w postaci zależności (6 i 14) została zamodelowana na rys. 4 wyznaczając nam liczbę zespoloną $Z^{O}M$ opisującą Zasób Obsługowy Maszyny.

Model $Z^{O}M$ przedstawiony jest na bardzo dużym poziomie ogólności. Jednak nie ma on ograniczeń w liczbie rozpatrywanych elementów składowych i typów czynników w każdym z elementów pod warunkiem, że prawidłowo zakwalifikuje się zasoby do $Z_{O}M_{/SkIn}$ lub $Z_{O}M_{/SkNin}$ (15).

$$Z^{O}M = f\,(\Sigma Z_{O}M_{/SkIn\,|i}, \Sigma\, Z_{O}M_{/SkNin\,|i}) \quad (15)$$

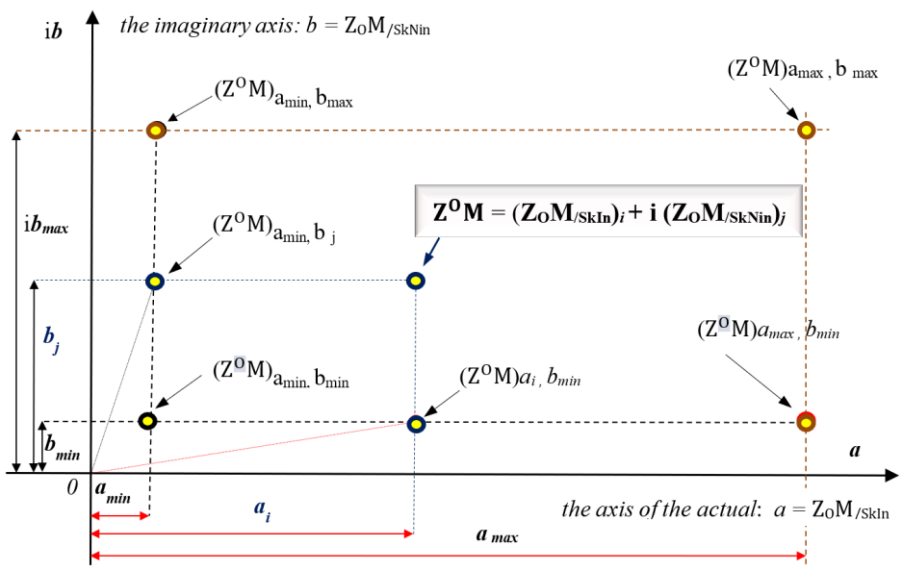
lub

$$Z^{O}M = \Sigma\, Z^{O}M_{\,|j}$$

gdzie:
i – składowe czasu działania Zasobu Obsługowego Maszyny bez przestojów wynikające z wyróżnio-nych zasobów składowych,
j – składowe Zasobu Obsługowego Maszyny np. dla wielu maszyn lub linii produkcyjnych.

Dla liczby zespolonej $Z^{O}M$ – ogólny przypadek (rys. 4) opisano zależnością (16)

$$Z^{O}M = (Z_{O}M_{/SkIn})_{i} + i\,(Z_{O}M_{/SkNin})_{j} \quad (16)$$



Rysunek 4. Model Zasobu Obsługowego Maszyny ($Z^{O}M$)
na I ćwiartce płaszczyzny liczb zespolonych

Graniczne wartości Z^OM wskazujące obszar stosowalności zasobowej ZPM opisano poprzez:

$$(Z^O M)_{a_{max},b_{max}} = (Z_O M_{/SkIn})_{\max} + i\,(Z_O M_{/SkNin})_{\max},$$

$$\left(Z^O M\right)_{a_{min},b_{min}} = \text{dla}\ (Z_O M_{/SkIn})_{\min} + i\,(Z_O M_{/SkNin})_{\min},$$

$$\left(Z^O M\right)_{a_{min},b_j} - \text{dla}\ (Z_O M_{/SkIn})_{\min} + i\,(Z_O M_{/SkNin})_{j},$$

$$\left(Z^O M\right)_{a_i,b_{min}} = \text{dla}\ (Z_O M_{/SkIn})_{i} + i\,(Z_O M/_{SkNin})_{\min}.$$

Wynika stąd, że dla granicznych (maksymalnych i minimalnych) zasobów $Z_OM_{/SkIn}$ i $Z_OM_{/SkNin}$ można wyznaczyć graniczny zasób (maksymalny i minimalny) Z^OM.

Jednak wartość modułu z liczby zespolonej Z^OM tj. $|Z^OM|$ jest liczbą rzeczywistą i może być porównywany z wartościami modułów innych liczb zespolonych i można te wartości wykorzystać do oceny jakościowej i ilościowej zasobów obsługowych maszyn.

W modelowaniu Z^OM przyjęto założenia:

- rozróżnia się pojęcie oceny utrzymania w ruchu maszyn/systemów produkcji/usług (istniejących, projektowanych lub modernizowanych, dobieranych elementów do danego typu produkcji/usług i środowiska ich pracy (klimatycznego i ludzkiego);
- w zależności od opisu obsług (zastosowanej strategii eksploatacji) szczegółowy model Z^OM może mieć trochę inną postać;
- model Z^OM buduje się w przestrzeni liczb zespolonych, gdzie (część urojona opisuje niematerialne zasoby i niezawodność ich występowania, część rzeczywista opisuje materialne zasoby i ich trwałość dla założonego poziomu ich niezawodności);
- zakłada się, że jakość istniejącego systemu utrzymania ruchu zależy od (kosztów przeznaczonych na to utrzymanie w ruchu maszyn lub/i jakość/adekwatność doboru procedur utrzymania w ruchu produkcji/maszyn/procesu, jakości realizacji tego utrzymania opisywanej niezawodnością oraz że obydwie składowe wpływają na koszty całkowite procesu.

6. Analiza Potencjalnego Zasobu Produkcyjnego Maszyny

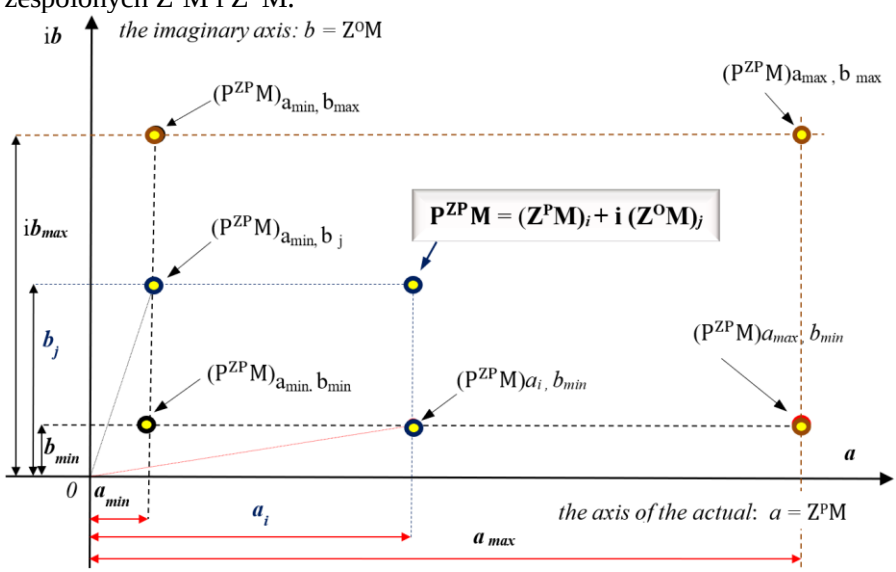
Idea powiązania Potencjalnego Zasobu Produkcyjnego Maszyny ($P^{ZP}M$) opisane w przestrzeni liczb zespolonych (C^+) poprzez modele: Z^PM, Z^OM, opisane w przestrzeni liczb zespolonych (C^+) zilustrowano na płaszczyźnie zespolonej na rysunku 5.

Do zamodelowania w przestrzeni liczb zespolonych Potencjalnego Zasobu Produkcyjnego Maszyny ($P^{ZP}M$ – rys. 5) wykorzystano działanie dodawania liczb zespolonych Z^PM (Rys. 4.) i Z^OM (rys. 5) w przestrzeni liczb zespolonych co zostało opisane wyrażeniem (17).

$$\begin{aligned} &P^{ZP}M = Z^PM + Z^OM = \\ &= [(Z_PM_{/SkIn} + Z_PM_{/SkNin})] + i\,[(Z_OM_{/SkIn} + Z_OM_{/SkNin}] = \\ &= \{f\,(T_M, Z_U, K_{OP}, D_{ER})\} + i\,\{f\,(Z_{MiA}, J_{MiA,}\, Z_{CL}, J_{WO})\} \end{aligned} \tag{17}$$

Przy modelowaniu $P^{ZP}M$ w czasie działania ($t \div t'$) systemu produkcyjnego przyjęto następujące założenia:

- wartość $Z^PM = f(Z_PM_{/SkIn}, Z_PM_{/SkNin})$ w procesie produkcji zmienia się w wyniku zużycia maszyn i fluktuacji jakości obsług ($Z^PM_{|t\div t'}$) a jej wartości początkowe dla ($t = 0$) wynikają z przyjętych założeń określających niezawodność konstrukcyjną i niezawodność podatności obsługowej oraz z faktycznie uzyskanych wartości tych parametrów po wdrożeniu maszyny do eksploatacji;
- wartość $Z^OM = f(Z_OM_{/SkIn}, Z_OM_{/SkNin})$ zależy od dynamicznych zmian zależnych od badanego przedziału czasu $t \div t'$ w systemie produkcyjnym uzależnionych od fluktuacji parametrów $Z_OM_{/SkIn}$, $Z_OM_{/SkNin}$ a jej wartości początkowe (dla $t = 0$) wynikającą (z przyjętych założeń określających niezawodność przydziału zasobów materiałów i aparatury oraz niezawodność przydziału zasobów ludzkich) z uzyskanych jej parametrów po wdrożeniu maszyny do eksploatacji;
- przedział czasu produkcji wynosi $t \div t'$;
- przyjęto koncepcję, że aby wyznaczyć faktyczną/bieżącą produktywność maszyny w danym systemie w danym okresie należy wyznaczyć kompleksowy Potencjał Zdolności Produkcyjnych Maszyny ($P^{ZP}M$) wiążący sobie jednocześnie (w danym okresie) potencjał roboczy maszyny (Z^PM) i potencjał roboczy systemu utrzymania ruchu maszyny (Z^OM);
- liczba zespolona $P^{ZP}M$ zostanie wyznaczona poprzez operacje dodawania liczb zespolonych Z^PM i Z^OM.



Rysunek 5. Model $P^{ZP}M$ jako liczby zespolonej wyznaczonej z dodania liczby zespolonej opisującej Zasób Pracy Maszyny (Z^PM) i liczby zespolonej opisującej Zasób Obsługowy dla tej Maszyny (Z^OM)

Zgodnie z powyższym dodano do siebie liczby zespolone Z^PM i Z^OM zależne od rozpatrywanego odcinka czasu produkcji i uzyskano nową liczbę zespoloną $P^{ZP}M_{|t\div t'}$ (18).

$$P^{ZP}M_{|\,t \div t'} = Z^{P}M_{|\,t \div t'} + Z^{O}M_{|\,t \div t'} \tag{18}$$

gdzie:
$Z^{P}M_{/t\text{-}t'}$ – liczba zespolona opisująca Zasób Pracy Maszyny, dla przedziału czasu produkcji $t \div t'$
$Z^{O}M_{|\,t \div t'}$ – liczba zespolona opisująca Potencjał Utrzymania Ruchu Maszyn (w którym obsługujemy maszynę z jej $Z^{P}M = f\,(Z_{P}M_{/SkIn}, Z_{P}M_{/SkNin})$).

Wartość $Z^{O}M_{|\,t \div t'}$ zależy od faktycznych (dynamicznie zmiennych) uwarunkowań środowiska eksploatacyjnego dla przedziału czasu produkcji $t \div t'$. Do oceny chwilowej wartości $P^{ZP}M$ nazwanej Potencjalnym Zasobem Produkcyjnym Maszyny dla chwili produkcji τ ($P^{ZP}M_{|\,\tau}$) można zastosować wyrażenie (19),

$$P^{ZP}M_{|\,\tau} = Z^{P}M_{|\,\tau} + Z^{O}M_{|\,\tau} \tag{19}$$

gdzie:
$P^{ZP}M_{|\,\tau}$ – liczba zespolona opisująca Potencjalny Zasób Produkcyjny Maszyny dla produkcji w chwili τ,
$Z^{P}M_{|\,\tau}$ – liczba zespolona opisująca Zasób Pracy Maszyny dla chwili produkcji τ,
$Z^{O}M_{|\,\tau}$ – liczba zespolona opisująca Zasób Obsługowy Maszyny (w którym umieszczono maszynę z jej $Z^{P}M = f\,(Z_{P}M_{/SkIn}, Z_{P}M_{/SkNin})$) zależny od faktycznych (dynamicznie zmiennych) uwarunkowań środowiska eksploatacyjnego dla chwili produkcji τ.

7. Analiza Dostępności Produkcyjnej Maszyny

Wprawdzie wartość liczby zespolonej $P^{ZP}M$ nie spełnia wymogu arytmetyki, ale jej moduł $|P^{ZP}M|$ już tak. Tak uzyskana wartość (w liczbach rzeczywistych) może być zastosowana do opisu miarowego Dostępności Produkcyjnej Maszyny ($D_{P}M$) z potencjału $P^{ZP}M$. Stąd moduł $|\,P^{ZP}M\,|$ aksjomatycznie przypisano (w zaproponowanej metodzie) jako wartość liczbową Dostępności Produkcyjnej Maszyny ($D_{P}M$).

Zgodnie z [30] wyrażenie $|z_1| > |z_2|$ (w naszym przypadku $|\,P^{ZP}M_{/2}\,|$) jest całkowicie wykonalne, ponieważ (20),

$$|Z_1|, |Z_2| \in \mathbb{R}\,;\ \left|P^{ZP}M_{|\,1}\right| > \left|P^{ZP}M_{|\,2}\right| \in \mathbb{R} \tag{20}$$

a liczby rzeczywiste są ciałem uporządkowanym.

Interpretacja geometryczna modułu $P^{ZP}M$ na płaszczyźnie zespolonej, to odległość punktu liczby zespolonej (reprezentującego ten $P^{ZP}M$) od początku układu (rys. 9 i 10).

W teorii moduł, czy też inaczej wartość bezwzględna liczby $z \in \mathbb{C}$ zapisujemy jako (21),

$$|z| = |a_i + i\,b_i\,| = \sqrt{a_i{}^2 + b_i{}^2} \tag{21}$$

Cenną cechą liczb zespolonych jest to, że upraszczają wiele operacji powiązania i przetwarzania z sobą różnorodnych cech systemu produkcyjnego (opisywanych zwykle złożonymi funkcjami) niemających wspólnych mian metrycznych. Po dokonaniu takich operacji na liczbach zespolonych, z liczby zespolonej uzyskanej na końcu tych działań, poprzez jej moduł, można wrócić do przestrzeni liczb rzeczywistych a tym samym uzyskać miarę liczbową opisującą system produkcyjny. Co wykorzystano w modelowaniu $D_{P}M$.

Wyrażenie (22) przedstawiają ogólną postać zależności dotyczącą wyznaczania Dostępność Produkcyjną Maszyny (D_PM),

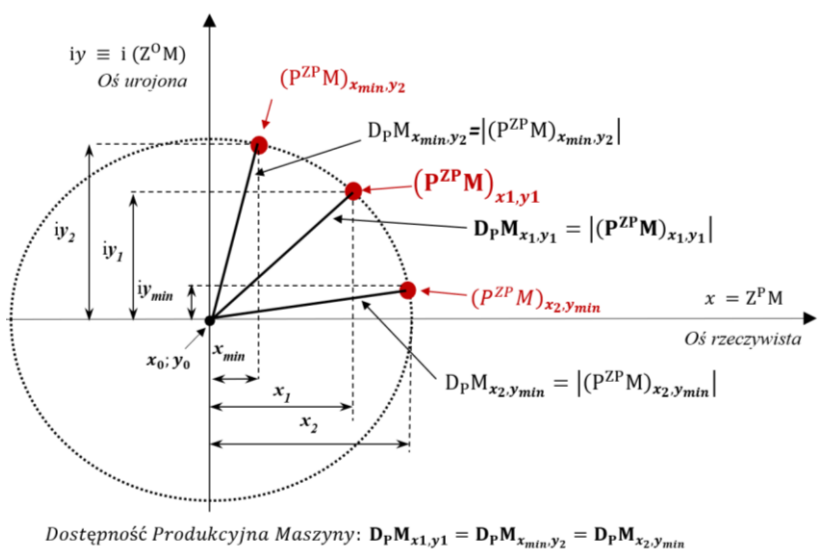
$$D_PM = \left| P^{ZP}M \right| = \left| Z^PM + Z^OM \right| \tag{22}$$

gdzie:
$P^{ZP}M$ – liczba zespolona wyznaczona z dodawania Zasób Pracy Maszyny (Z^PM) i Zasób Obsługowy Maszyny (Z^OM),
$|P^{ZP}M|$ – moduł z liczby zespolonej $P^{ZP}M$
D_PM – Dostępności Produkcyjnej Maszyny wyznaczona przy uwzględnieniu Zasobu Pracy Maszyny (Z^PM) i Zasobu Obsługowego Maszyny (Z^OM),

Na rysunku 6 i 7 zilustrowano trzy przypadki dla charakterystycznych wartości $Z_PM_{/SkIn}$,+ $Z_PM_{/SkNin}$ i $Z_OM_{/SkIn,}$+ $Z_OM_{/SkNin}$ z których wyznaczono $(P^{ZP}M)_{1,1}$; $(P^{ZP}M)_{2,3}$; $(P^{ZP}M)_{3,2}$. Na rysunku 6 zilustrowano taki dobór kombinacji wartości zasobów $Z_PM_{/SkIn}$, $Z_PM_{/SkNin}$ i $Z_OM_{/SkIn,}$ $Z_OM_{/SkNin}$, że punkty opisujące liczbę zespoloną $P^{ZW}M$ są w równej odległości od środka płaszczyzny.

Takie podejście jest istotne w przypadku, gdy chcemy zachować stabilną produktywność maszyn (procesu produkcyjnego), natomiast w przypadku niedopasowania zasobowego (zasobów $Z_PM_{/SkIn,}$+ $Z_PM_{/SkNin}$ i $Z_OM_{/SkIn,}$+ $Z_OM_{/SkNin}$) mogą nam się zmieniać wartości Dostępności Produkcyjnej Maszyny co ilustruje rysunek 7.

Można też spojrzeć na problem dopasowania odwrotnie, chcąc uzyskać określoną Produktywność Maszyn możemy tak skorelować użycie ich zasobów i ich zapasu magazynowego (w tym organizację urlopów dla czynnika ludzkiego) oraz użyć w innych cyklach produkcji, że przy planowanych/szacowanych ich zmianach (np. zużywaniu lub zmniejszaniu organizacyjnym) będziemy uzyskiwać założone/potrzebne nam w realizacji produkcji wartości D_PM.



Rysunek 6. Model wyznaczania Produktywności Maszyn D_PM z ich potencjalnych zdolności wytwórczych $P^{ZP}M$ na I ćwiartce płaszczyzny zespolonej

Na rysunku 7 wartości zasobów $Z_PM_{/SkIn,} + Z_PM_{/SkNin}$ *i* $Z_OM_{/SkIn,} + Z_OM_{/SkNin}$ zostały tak dobrane, że uzyskano rosnące wartości Dostępność Produkcyjną Maszyny opisane zestawem równań (23).

$$\mathrm{D_PM_{2,3}} = \left|\mathrm{P^{ZP}M_{2,3}}\right| = \sqrt{{x_2}^2 + {y_3}^2};$$

$$\mathrm{D_PM_{3,2}} = \left|P^{ZP}M_{3,2}\right| = \sqrt{{x_3}^2 + {y_2}^2}$$

$$\mathrm{D_PM_{1,1}} = \left|\mathrm{P^{ZP}M_{1,1}}\right| = \sqrt{{x_1}^2 + {y_1}^2}; \tag{23}$$

$$\mathrm{D_PM_{3,2}} > \mathrm{D_PM_{2,3}} > \mathrm{D_PM_{1,1}}.$$

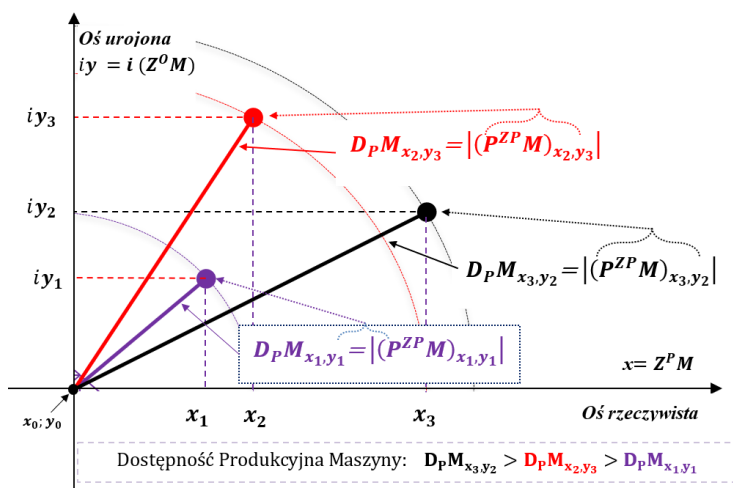
Dostępność Produkcyjną Maszyny – $\mathrm{D_PM}$ może być wyznaczana dla określonego przedziału czasu pracy systemu produkcyjnego ($t \div t'$) i zapisana jako Dostępność Produkcyjną Maszyny w przedziale czasu $t \div t'$ ($D_PM_{t\div t'}$) zależnością (24);

$$\mathrm{D_PM_{/t\div t'}} = \left|\mathrm{P^{ZP}M_{/t\div t'}}\right| \tag{24}$$

Przy wartości ($t \div t'$) dążącej do zera, uzyskujemy liczbę zespoloną opisującą Potencjalny Zasób Produkcyjny Maszyny dla produkcji w chwili τ ($\mathrm{P^{ZP}M_{/\tau}}$), z której możemy wyznaczyć miarę liczbową Dostępności Produkcyjnej Maszyny ($\mathrm{D_PM_{/\tau}}$) w postaci zależności (25),

$$\mathrm{D_PM_{/\tau}} = \left|\mathrm{P^{ZP}}M_{/\tau}\right| \tag{25}$$

gdzie:
$\mathrm{P^{ZP}M_{/\tau}}$ – Potencjalny Zasób Produkcyjny Maszyny dla produkcji w chwili τ,
$\mathrm{D_PM_{/\tau}}$ – Dostępność Produkcyjną Maszyny dla produkcji w chwili τ.



Rysunek 7. Ilustracja zmiennych wartości Dostępność Produkcyjną Maszyny $\mathrm{D_PM}$ wynikających ze zmiany wartości liczby zespolonej $\mathrm{P^{ZP}M}$ w wyniku zmian wartości $\mathrm{Z^PM}$ i $\mathrm{Z^OM}$

Analizując informacje, które zawierają w sobie wykresy na rysunku 6 i 7, wnioskujemy, że możemy tak dopasowywać zmieniające się w czasie wartości zasobów by Dostępność Produkcyjną Maszyny była stała (rys. 6). Natomiast dla tej samej kategorii

Maszyn, ale o różnych ich doskonałościach/stopniu zużycia i różnych możliwościach przypisania im zasobów obsługowych, wartości D_PM są różne (rys. 7).

Stąd uzyskując/posiadając wiedzę o zaistniałych/prognozowanych wartościach zmian poziomu technicznego maszyn, jakości i wystarczalności posiadanej kadry eksploatacyjnej, kultury technicznej środowiska oraz możliwych zmianach norm użytkowania Maszyn oraz zmianach warunków środowiskowych możemy zapobiegawczo korygować nasze plany dotyczące oczekiwanej Dostępności Produkcyjnej Maszyny/n.

Podsumowując, należy stwierdzić, że opracowane modele ($P^{ZP}M$ i D_PM) powinny być bardzo przydatne w końcowym efekcie ich zastosowania do analiz bieżącej i predykcyjnej oceny Produktywności Organizacji a tym samym do oszacowywania zmienności zysków Organizacji w danej działalności produkcyjnej.

Wykorzystując wnioski z takich analiz, można podejmować optymalne decyzje co do budowy harmonogramów przydziału posiadanych zasobów do danej aktywności produkcyjnej. Możemy też oceniać posiadane zasoby obsługowe w systemie eksploatacji oraz posiadane zasoby obiektowe w prognozie produktywności niezbędnej do podejmowania się kolejnych zadań produkcyjnych lub usługowych.

8. Przykład obliczeniowy

Przedstawiony przykład obliczeniowy ma za zadanie zilustrowanie możliwości opracowanych modeli w projektowaniu procesu algorytmizacji powiązania parametrów oceniających T_M, Z_U, K_{OP}, D_{ER}, Z_{MiA}, J_{MiA} Z_{CL}, J_{WO} i probabilistycznego ujęcia uwzględniającego prognozowanie niezawodności zachowania tych parametrów w zależności od rodzaju środowiska do którego trafiają maszyny poprzez opis $N_{TM,}$ $N_{ZU,}$ $N_{KOP,}$ N_{DER} , $N_{ZMiA,}$ $N_{JMiA,}$ $N_{ZCL,}$ N_{JWO} z parametrami wynikowymi, opisującymi: Inherentny Zasób Pracy Maszyny ($Z_PM_{/SkIn}$), Nieinherentny Zasób Pracy Maszyny ($Z_PM_{/SkNin}$) oraz Inherentny Zasób Obsługowy Maszyny ($Z_OM_{/SkIn}$); Nieinherentny Zasób Obsługowy Maszyny ($Z_OM_{/SkNin}$).

Zestawienia danych liczbowych opisujące zmiany T_M, Z_U, K_{OP}, D_{ER}, Z_{MiA}, J_{MiA} Z_{CL}, J_{WO} w funkcji zmian pogarszania jakości technicznej i obsługowej maszyny, zużywania zasobów pracy i obsług oraz zmian prognozy niezawodności środowiskowej w funkcji zmian $N_{TM,}$ $N_{ZU,}$ $N_{KOP,}$ $N_{DER,}$ $N_{ZMiA,}$ $N_{JMiA,}$ $N_{ZCL,}$ N_{JWO} zawarto w tabeli 1 do tabela 6. Zróżnicowanie danych w tabelach 1÷ 6 przyjęto wg następujących kategorii:

- pogarszanie jakości technicznej maszyny;
- zużywanie zasobów pracy;
- prognoza niezawodności środowiskowej.

Pogarszanie jakości technicznej maszyny – stosowanie gorszych materiałów, technologii produkcji, zezwalanie na przekraczanie norm obciążeń roboczych itp. – powoduje z tego tytułu szybsze ubywanie zasobu pracy maszyny w funkcji czasu (lub czasu przeliczonego na cykle pracy).

Zużywanie zasobów pracy – od naturalnych procesów zużywania wynikających z rozwiązania projektowego – maszyny w funkcji czasu (lub czasu przeliczonego na cykle pracy).

Prognoza niezawodności środowiskowej – uwzględnienie nakładania się przyspieszonego pogarszania jakości technicznej i zużywania odniesionego do warunków środowiskowych – np. poziom kultury technicznej środowiska, jakości kontroli, motywacji pracowników oraz wilgotności, temperatury, zapylenia itp.

Tabela 1. Zestawienia danych opisujących zmiany Z^PM wg wariantu A1

Czas	Pogarszanie jakości technicznej maszyny (**A1**)											
[j.um.]	T_M	N_{TM}	Z_U	N_{ZU}	Z_pM_{SkIn}	K_{OP}	N_{KOP}	D_{ER}	N_{DER}	Z_pM_{SkNin}	Z^PM	$\|Z^PM\|$
1	100	1	1	1	100,0000	100	1	1	1	100,0000	100+100i	141,4214
2	100	1	0,97	1	97,0000	100	1	0,97	1	97,0000	97+97i	137,1787
3	100	1	0,94	1	94,0000	100	1	0,94	1	94,0000	94+94i	132,9361
4	100	1	0,91	1	91,0000	100	1	0,91	1	91,0000	91+91i	128,6934
5	100	1	0,88	1	88,0000	100	1	0,88	1	88,0000	88+88i	124,4508
6	100	1	0,85	1	85,0000	100	1	0,85	1	85,0000	85+85i	120,2082
7	100	1	0,82	1	82,0000	100	1	0,82	1	82,0000	82+82i	115,9655
8	100	1	0,79	1	79,0000	100	1	0,79	1	79,0000	79+79i	111,7229
9	100	1	0,76	1	76,0000	100	1	0,76	1	76,0000	76+76i	107,4802
10	100	1	0,73	1	73,0000	100	1	0,73	1	73,0000	73+73i	103,2376
11	100	1	0,7	1	70,0000	100	1	0,7	1	70,0000	70+70i	98,9949
12	100	1	0,67	1	67,0000	100	1	0,67	1	67,0000	67+67i	94,7523
13	100	1	0,64	1	64,0000	100	1	0,64	1	64,0000	64+64i	90,5097
14	100	1	0,61	1	61,0000	100	1	0,61	1	61,0000	61+61i	86,2670
15	100	1	0,58	1	58,0000	100	1	0,58	1	58,0000	58+58i	82,0244

Tabela 2. Zestawienia danych opisujących zmiany Z^PM wg wariantu B1

Czas	Pogarszanie jakości i zużywanie zasobów pracy maszyny (**B1**)											
[j.um.]	T_M	N_{TM}	Z_U	N_{ZU}	Z_pM_{SkIn}	K_{OP}	N_{KOP}	D_{ER}	N_{DER}	Z_pM_{SkNin}	Z^PM	$\|Z^PM\|$
1	100	1	1	1	100,0000	100	1	1	1	100,0000	100+100i	141,4214
2	98	1	0,97	1	95,0600	98	1	0,97	1	95,0600	95,06+95,06i	134,4351
3	96	1	0,94	1	90,2400	96	1	0,94	1	90,2400	90,24+90,24i	127,6186
4	94	1	0,91	1	85,5400	94	1	0,91	1	85,5400	85,54+85,54i	120,9718
5	92	1	0,88	1	80,9600	92	1	0,88	1	80,9600	80,96+80,96i	114,4947
6	90	1	0,85	1	76,5000	90	1	0,85	1	76,5000	76,5+76,5i	108,1873
7	88	1	0,82	1	72,1600	88	1	0,82	1	72,1600	72,16+72,16i	102,0497
8	86	1	0,79	1	67,9400	86	1	0,79	1	67,9400	67,94+67,94i	96,0817
9	84	1	0,76	1	63,8400	84	1	0,76	1	63,8400	63,84+63,84i	90,2834
10	82	1	0,73	1	59,8600	82	1	0,73	1	59,8600	59,86+59,86i	84,6548
11	80	1	0,7	1	56,0000	80	1	0,7	1	56,0000	56+56i	79,1960
12	78	1	0,67	1	52,2600	78	1	0,67	1	52,2600	52,26+52,26i	73,9068
13	76	1	0,64	1	48,6400	76	1	0,64	1	48,6400	48,64+48,64i	68,7873
14	74	1	0,61	1	45,1400	74	1	0,61	1	45,1400	45,14+45,14i	63,8376
15	72	1	0,58	1	41,7600	72	1	0,58	1	41,7600	41,76+41,76i	59,0576

Tabela 3. Zestawienia danych opisujących zmiany Z^PM wg wariantu C1

Czas	Pogarszanie jakości, zużywanie zasobów pracy i prognoza niezawodności środowiskowej 0,85 (**C1**)											
[j.um.]	T_M	N_{TM}	Z_U	N_{ZU}	Z_PM_{SkIn}	K_{OP}	N_{KOP}	D_{ER}	N_{DER}	Z_PM_{SkNin}	Z^PM	$\|Z^PM\|$
1	100	0,9	1	0,85	72,2500	100	0,85	1	0,85	72,2500	72,25+72,25i	102,1769
2	98	0,9	0,97	0,85	68,6809	98	0,85	0,97	0,85	68,6809	68,68085+68,68085i	97,1294
3	96	0,9	0,94	0,85	65,1984	96	0,85	0,94	0,85	65,1984	65,1984+65,1984i	92,2045
4	94	0,9	0,91	0,85	61,8027	94	0,85	0,91	0,85	61,8027	61,80265+61,80265i	87,4021
5	92	0,9	0,88	0,85	58,4936	92	0,85	0,88	0,85	58,4936	58,4936+58,4936i	82,7224
6	90	0,9	0,85	0,85	55,2713	90	0,85	0,85	0,85	55,2713	55,27125+55,27125i	78,1654
7	88	0,9	0,82	0,85	52,1356	88	0,85	0,82	0,85	52,1356	52,1356+52,1356i	73,7309
8	86	0,9	0,79	0,85	49,0867	86	0,85	0,79	0,85	49,0867	49,08665+49,08665i	69,4190
9	84	0,9	0,76	0,85	46,1244	84	0,85	0,76	0,85	46,1244	46,1244+46,1244i	65,2298
10	82	0,9	0,73	0,85	43,2489	82	0,85	0,73	0,85	43,2489	43,24885+43,24885i	61,1631
11	80	0,9	0,7	0,85	40,4600	80	0,85	0,7	0,85	40,4600	40,46+40,46i	57,2191
12	78	0,9	0,67	0,85	37,7579	78	0,85	0,67	0,85	37,7579	37,75785+37,75785i	53,3977
13	76	0,9	0,64	0,85	35,1424	76	0,85	0,64	0,85	35,1424	35,1424+35,1424i	49,6989
14	74	0,9	0,61	0,85	32,6137	74	0,85	0,61	0,85	32,6137	32,61365+32,61365i	46,1227
15	72	0,9	0,58	0,85	30,1716	72	0,85	0,58	0,85	30,1716	30,1716+30,1716i	42,6691

Tabela 4. Zestawienia danych opisujących zmiany Z^OM wg wariantu A2

Czas	Pogarszanie jakości obsługowej maszyny (**A2**)											
[j.um.]	Z_{MA}	N_{ZMA}	J_{MA}	N_{JMA}	Z_OM_{SkIn}	Z_{CL}	N_{ZCL}	J_{WO}	N_{JWO}	Z_OM_{SkNin}	Z^OM	$\|Z^OM\|$
1	100	1	1	1	100,0000	100	1	1	1	100,0000	100+100i	141,4214
2	100	1	0,97	1	97,0000	100	1	0,97	1	97,0000	97+97i	137,1787
3	100	1	0,94	1	94,0000	100	1	0,94	1	94,0000	94+94i	132,9361
4	100	1	0,91	1	91,0000	100	1	0,91	1	91,0000	91+91i	128,6934
5	100	1	0,88	1	88,0000	100	1	0,88	1	88,0000	88+88i	124,4508
6	100	1	0,85	1	85,0000	100	1	0,85	1	85,0000	85+85i	120,2082
7	100	1	0,82	1	82,0000	100	1	0,82	1	82,0000	82+82i	115,9655
8	100	1	0,79	1	79,0000	100	1	0,79	1	79,0000	79+79i	111,7229
9	100	1	0,76	1	76,0000	100	1	0,76	1	76,0000	76+76i	107,4802
10	100	1	0,73	1	73,0000	100	1	0,73	1	73,0000	73+73i	103,2376
11	100	1	0,7	1	70,0000	100	1	0,7	1	70,0000	70+70i	98,9949
12	100	1	0,67	1	67,0000	100	1	0,67	1	67,0000	67+67i	94,7523
13	100	1	0,64	1	64,0000	100	1	0,64	1	64,0000	64+64i	90,5097
14	100	1	0,61	1	61,0000	100	1	0,61	1	61,0000	61+61i	86,2670
15	100	1	0,58	1	58,0000	100	1	0,58	1	58,0000	58+58i	82,0244

Tabela 5. Zestawienia danych opisujących zmiany $Z^{O}M$ wg wariantu B2

Czas	Pogarszanie jakości i zużywanie zasobów obsługowych przeznaczonych dla maszyny (**B2**)											
[j.um.]	Z_{MA}	N_{ZMA}	J_{MA}	N_{JMA}	Z_OM_{SkIn}	Z_{CL}	N_{ZCL}	J_{WO}	N_{JWO}	Z_OM_{SkNin}	Z^OM	$\|Z^OM\|$
1	100	1	1	1	100,0000	100	1	1	1	100,0000	100+100i	141,4214
2	98	1	0,97	1	95,0600	98	1	0,97	1	95,0600	95,06+95,06i	134,4351
3	96	1	0,94	1	90,2400	96	1	0,94	1	90,2400	90,24+90,24i	127,6186
4	94	1	0,91	1	85,5400	94	1	0,91	1	85,5400	85,54+85,54i	120,9718
5	92	1	0,88	1	80,9600	92	1	0,88	1	80,9600	80,96+80,96i	114,4947
6	90	1	0,85	1	76,5000	90	1	0,85	1	76,5000	76,5+76,5i	108,1873
7	88	1	0,82	1	72,1600	88	1	0,82	1	72,1600	72,16+72,16i	102,0497
8	86	1	0,79	1	67,9400	86	1	0,79	1	67,9400	67,94+67,94i	96,0817
9	84	1	0,76	1	63,8400	84	1	0,76	1	63,8400	63,84+63,84i	90,2834
10	82	1	0,73	1	59,8600	82	1	0,73	1	59,8600	59,86+59,86i	84,6548
11	80	1	0,7	1	56,0000	80	1	0,7	1	56,0000	56+56i	79,1960
12	78	1	0,67	1	52,2600	78	1	0,67	1	52,2600	52,26+52,26i	73,9068
13	76	1	0,64	1	48,6400	76	1	0,64	1	48,6400	48,64+48,64i	68,7873
14	74	1	0,61	1	45,1400	74	1	0,61	1	45,1400	45,14+45,14i	63,8376
15	72	1	0,58	1	41,7600	72	1	0,58	1	41,7600	41,76+41,76i	59,0576

Zestawienia danych, obliczenia i wykres zrealizowano w arkuszu kalkulacyjnym Excel.

Tabela 6. Zestawienia danych opisujących zmiany $Z^{O}M$ wg wariantu C2

Czas	Pogarszanie jakości, zużywanie zasobów obsługowych i prognoza niezawodności środowiskowej 0,85 (**C2**)											
[j.um.]	Z_{MA}	N_{ZMA}	J_{MA}	N_{JMA}	Z_OM_{SkIn}	Z_{CL}	N_{ZCL}	J_{WO}	N_{JWO}	Z_OM_{SkNin}	Z^OM	$\|Z^OM\|$
1	100	0,85	1	0,85	72,2500	100	0,9	1	0,85	72,2500	72,25+72,25i	102,1769
2	98	0,85	0,97	0,85	68,6809	98	0,9	0,97	0,85	68,6809	68,68085+68,68085i	97,1294
3	96	0,85	0,94	0,85	65,1984	96	0,9	0,94	0,85	65,1984	65,1984+65,1984i	92,2045
4	94	0,85	0,91	0,85	61,8027	94	0,9	0,91	0,85	61,8027	61,80265+61,80265i	87,4021
5	92	0,85	0,88	0,85	58,4936	92	0,9	0,88	0,85	58,4936	58,4936+58,4936i	82,7224
6	90	0,85	0,85	0,85	55,2713	90	0,9	0,85	0,85	55,2713	55,27125+55,27125i	78,1654
7	88	0,85	0,82	0,85	52,1356	88	0,9	0,82	0,85	52,1356	52,1356+52,1356i	73,7309
8	86	0,85	0,79	0,85	49,0867	86	0,9	0,79	0,85	49,0867	49,08665+49,08665i	69,4190
9	84	0,85	0,76	0,85	46,1244	84	0,9	0,76	0,85	46,1244	46,1244+46,1244i	65,2298
10	82	0,85	0,73	0,85	43,2489	82	0,9	0,73	0,85	43,2489	43,24885+43,24885i	61,1631
11	80	0,85	0,7	0,85	40,4600	80	0,9	0,7	0,85	40,4600	40,46+40,46i	57,2191
12	78	0,85	0,67	0,85	37,7579	78	0,9	0,67	0,85	37,7579	37,75785+37,75785i	53,3977
13	76	0,85	0,64	0,85	35,1424	76	0,9	0,64	0,85	35,1424	35,1424+35,1424i	49,6989
14	74	0,85	0,61	0,85	32,6137	74	0,9	0,61	0,85	32,6137	32,61365+32,61365i	46,1227
15	72	0,85	0,58	0,85	30,1716	72	0,9	0,58	0,85	30,1716	30,1716+30,1716i	42,6691

W tabeli 7 i 8 zestawiono dane z tabeli 1-6 wg różnych wariantów (A1, B1, C1 – zasobów $Z^{P}M$ i A2, B2, C2 – zasobów $Z^{O}M$) pokazano dopasowania (A1/A2, B1/B2, C1/C2, A1/B2, A1/C2, B1/C2) dla których wyznaczono wartości $P^{ZP}M$ i Dostępności Produkcyjnej Maszyny (D_PM).

Tabela 7. Dostępności Produkcyjnej Maszyny (D_PM) dla wariantów (A1/A2, B1/B2, C1/C2) dopasowania zasobów Z^PM i Z^OM

Dopasowanie zasobów - **A1** z **A2**	
$P^{ZP}M$	D_PM
200+200i	200,00000
194+194i	194,00000
188+188i	188,00000
182+182i	182,00000
176+176i	176,00000
170+170i	170,00000
164+164i	164,00000
158+158i	158,00000
152+152i	152,00000
146+146i	146,00000
140+140i	140,00000
134+134i	134,00000
128+128i	128,00000
122+122i	122,00000
116+116i	116,00000

Dopasowanie zasobów - **B1** z **B2**	
$P^{ZP}M$	D_PM
200+200i	200,00000
190,12+190,12i	190,12000
180,48+180,48i	180,48000
171,08+171,08i	171,08000
161,92+161,92i	161,92000
153+153i	153,00000
144,32+144,32i	144,32000
135,88+135,88i	135,88000
127,68+127,68i	127,68000
119,72+119,72i	119,72000
112+112i	112,00000
104,52+104,52i	104,52000
97,28+97,28i	97,28000
90,28+90,28i	90,28000
83,52+83,52i	83,52000

Dopasowanie zasobów - **C1** z **C2**	
$P^{ZP}M$	D_PM
144,5+144,5i	144,50000
137,3617+137,3617i	137,36170
130,3968+130,3968i	130,39680
123,6053+123,6053i	123,60530
116,9872+116,9872i	116,98720
110,5425+110,5425i	110,54250
104,2712+104,2712i	104,27120
98,1733+98,1733i	98,17330
92,2488+92,2488i	92,24880
86,4977+86,4977i	86,49770
80,92+80,92i	80,92000
75,5157+75,5157i	75,51570
70,2848+70,2848i	70,28480
65,2273+65,2273i	65,22730
60,3432+60,3432i	60,34320

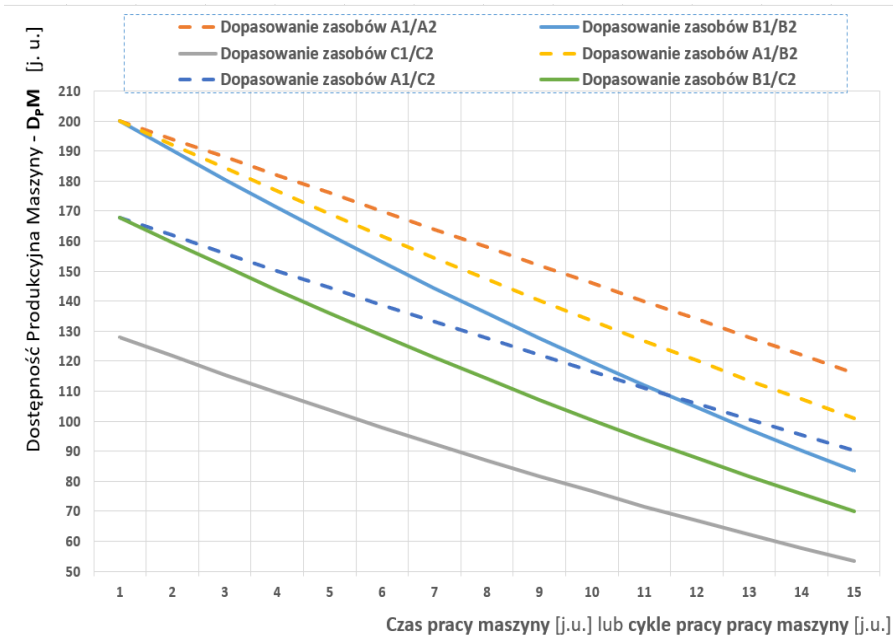
Tabela 8. Dostępności Produkcyjnej Maszyny (D_PM) dla wariantów (A1/B2, A1/C2, B1/C2) dopasowania zasobów Z^PM i Z^OM

Dopasowanie zasobów - **A1** z **B2**	
$P^{ZP}M$	D_PM
200+200i	200,00000
192,06+192,06i	192,06980
184,24+184,24i	184,27836
176,54+176,54i	176,62441
168,96+168,96i	169,10660
161,5+161,5i	161,72353
154,16+154,16i	154,47372
146,94+146,94i	147,35565
139,84+139,84i	140,36770
132,86+132,86i	133,50820
126+126i	126,77539
119,26+119,26i	120,16745
112,64+112,64i	113,68245
106,14+106,14i	107,31840
99,76+99,76i	101,07322

Dopasowanie zasobów - **A1** z **C2**	
$P^{ZP}M$	D_PM
172,25+172,25i	174,47099
165,68085+165,68085i	168,08366
159,1984+159,1984i	161,78276
152,80265+152,80265i	155,56714
146,4936+146,4936i	149,43561
140,27125+140,27125i	143,38697
134,1356+134,1356i	137,41995
128,08665+128,08665i	131,53326
122,1244+122,1244i	125,72558
116,24885+116,24885i	119,99553
110,46+110,46i	114,34169
104,75785+104,75785i	108,76263
99,1424+99,1424i	103,25685
93,61365+93,61365i	97,82280
88,1716+88,1716i	92,45891

Dopasowanie zasobów - **B1** z **C2**	
$P^{ZP}M$	D_PM
172,25+172,25i	174,47099
163,74085+163,74085i	165,85212
155,4384+155,4384i	157,44262
147,34265+147,34265i	149,24248
139,4536+139,4536i	141,25171
131,77125+131,77125i	133,47030
124,2956+124,2956i	125,89826
117,02665+117,02665i	118,53559
109,9644+109,9644i	111,38228
103,10885+103,10885i	104,43833
96,46+96,46i	97,70375
90,01785+90,01785i	91,17854
83,7824+83,7824i	84,86269
77,75365+77,75365i	78,75620
71,9316+71,9316i	72,85908

Zmiany wyznaczonych wartości Dostępności Produkcyjnej Maszyny (D_PM) dla wyznaczonych wartości w tabeli 7 i tabeli 8 zilustrowano na wykresie 1.



Wykres 1. Wykresy Dostępności Produkcyjnej Maszyny (D_PM) dla wariantów (A1/A2, B1/B2, C1/C2, A1/B2, A1/C2, B1/C2) dopasowania zasobów Z^PM i Z^OM w funkcji czasu pracy maszyny [j.u.] lub cykli pracy maszyny [j.u.], gdzie: j.u. – jednostki umowne – dobierane w zależności od potrzeb ocenowych

Przedstawiona w pokazanym przykładzie liczbowym metoda procedury obliczeniowej wskaźników eksploatacyjnych ma za zadanie wspomożenie:

- wstępnych analiz nowoprojektowanych systemów produkcyjnych;
- konstruktorów Maszyn i Utrzymania Ruchu przy wdrażaniu ich do istniejących systemów produkcyjnych;
- analizy dopasowania Z^PM, Z^OM przy przenoszeniu systemów produkcyjnych do innych środowisk klimatycznych i kultury technicznej/poziomu uprzemysłowienia środowiska;
- oceny dopasowania Z^PM, Z^OM przy zmianie zakresu produkcji;
- oceny bieżących fluktuacji składowych środowiska;
- pokazanie możliwości badania współzależności pomiędzy wszystkimi składowymi a szczególnie doborem komponentów produkcyjnych a ich kosztami i zyskami oraz produktywnością.

Wartości Z^PM, Z^OM a tym samym też wartości $P^{ZP}M$ i D_PM w trakcie produkcji ulegają ciągłym fluktuacjom, gdyż fluktuują ich składowe T_M, Z_U, K_{OP},D_{ER}, Z_{MiA}, J_{MiA}, Z_{CL}, J_{WO} i N_{TM}, N_{ZU}, N_{KOP}, N_{DER}, N_{ZMiA}, N_{JMiA}, N_{ZCL}, N_{JWO}. Fluktuacje mogą się pojawiać wg różnych wariantów (np. A1/A2, B1/B2, C1/C2, A1/B2, A1/C2, B1/C2). Przy opisie tych fluktuacji należy uwzględnić, że bez wyraźnie wyszczególnionego jednego czynnika powodującego te fluktuacje mogą być one opisywane rozkładem normalnym. Podstawowe przyczyny zmian to stosowanie gorszych materiałów w produkcji maszyn, zużywanie się robocze maszyn i fluktuacje jakości i poziomu obsług wynikające

z fluktuacji personelu obsługującego, kontrolującego lub wprowadzania niedopasowania ilości $Z^{P}M$, $Z^{O}M$ przy przyjętym $D_{P}M$.

Cała trudność w prognozowaniu tych fluktuacji polega na tym, że tradycyjne metody zbierania statystycznych danych zwykle są zbyt powolne i nie reagują wystarczająco szybko w pokazywaniu istotności zachodzących zmian (z punktu zastosowania w modelu $P^{ZP}M$ i $D_{P}M$). Dlatego w modelowaniu zmian tych parametrów proponuje się zastosowanie metod probabilistycznych opisanych w pracach [56, 58] oraz pracy doktorskiej autora [cytowanej w 13]. Zakłada się w nich, że jeśli w systemie nie ma zdecydowanie widocznych skoków zmian parametrów $Z_{P}M_{/SkIn}$, $Z_{P}M_{/SkNin}$, $Z_{O}M_{/SkIn}$, $Z_{O}M_{/SkNin}$ to zmiany zachodzące w systemie dla poszczególnych parametrów mają rozkład normalny. Oznacza to, że wynikowo zmiany $P^{ZP}M$ a tym samym $D_{P}M$ też mają rozkład normalny [34]. Przy takim założeniu można zastosować [zgodnie z 58] probabilistyczny model zmian dowolnego parametru eksploatacyjnego.

9. Podsumowanie

Opracowane modele $Z^{P}M$, $Z^{O}M$, $P^{ZP}M$ w przestrzeni liczb zespolonych (C^{+}) i modele $D_{P}M$ w przestrzeni liczb rzeczywistych (R^{+}) dają duże możliwości w prowadzeniu różnorodnych lokalnych i globalnych analiz oraz oszacowań dopasowywania zasobów pracy i obsług maszyn/systemów produkcyjnych, a zwłaszcza rozproszonych składowych Organizacji w globalnym rynku produkcji. Umożliwiają one za pomocą globalnych wskaźników liczbowych ($P^{ZP}M$ i $D_{P}M$) ocenę wpływu zmian doboru zasobów wytwórczych bazując na wskaźnikach mierzalnych konstrukcyjno-eksploatacyjnymi maszyny (T_M, Z_U, K_{OP}, D_{ER}) i systemu utrzymania ruchu maszyn (Z_{MiA}, J_{MiA}, Z_{CL}, J_{WO}) w przestrzeni liczb rzeczywistych (R^{+}).

W dziedzinie nauk technicznych mogą służyć do optymalnego projektowania obiektu technicznego dla ustalonego systemu eksploatacji lub doboru zasobów obsługowych do danej doskonałości obiektu i planowanej intensywności jego wykorzystania. W dziedzinie ekonomii może służyć do optymalizowania produktywności dla posiadanych\planowanych (inherentnych i nieinherentnych) zasobów wytwórczych w aspekcie maksymalizowania\optymalizowania zysków.

Zatem metoda zawiera w sobie dwa etapy możliwej analizy: techniczno-technologiczną (konstrukcyjno-eksploatacyjną) związaną z doborem jakościowym obiektów do systemów eksploatacji (lub systemu obsług do danego obiektu\procesu\organizacji) oraz zasobowo-ekonomiczną związaną z szacowaniem zdolności produkcyjnych oraz optymalizowaniem liczby produktów i zysków.

Opracowane modele można wykorzystać również (zwłaszcza po aplikacji modeli do systemu zbierania i przetwarzania danych) do monitorowania zmian procesu eksploatacji i stanu technicznego obiektu\procesu\organizacji na zmiany zdolności produkcyjnych badanego obiektu w danym środowisku eksploatacyjnym.

Zaproponowany sposób modelowania wyznaczania $P^{ZP}M$ i na tej podstawie analizy zmian $D_{P}M$ może być szczególnie przydatna tym, którzy muszą zmieniać ciągle zakres produkcyjny posiadanych maszyn lub przeprowadzają Organizację do innego środowiska niż to zalecił producent lub chcą wskazać na możliwe kierunki rozwoju Organizacji Produkcyjnej.

Przedstawione w artykule przykładowe interpretacje ilustrują tylko obszary zastosowań i nie stanowią gotowych do zastosowania modeli dla konkretnych Systemów Produkcyjnych/Maszyn.

Wyniki takich analiz mogą wspomóc wybór pomiędzy doskonaleniem maszyn a doskonaleniem systemu utrzymania ruchu oraz wspomóc w określeniu optymalnych granic tych zmian.

Ogólność opracowanych modeli może być szczególnie przydatna przy automatyzacji procesu obliczania sumarycznych wartości posiadanych T_M, Z_U, K_{OP}, D_{ER} *i* Z_{MiA}, J_{MiA}, Z_{CL}, J_{WO} a z nich sumarycznej wartości D_PM. Tym samym modele Z^PM, Z^OM, $P^{ZP}M$ mogą być użyteczne zarówno jako wskaźniki efektywności produkcji oraz wskaźniki w monitorowaniu poziomu stabilności procesu eksploatacji/utrzymania obiektów w ruchu.

Oczywiście jak każdy sposób modelowania i ten ma swoje ograniczenia wynikające z przyjętych założeń; i tak nie zajmowano się w tym modelowaniu takimi zagadnieniami, jak:

- niezawodność dostawy mediów (zasilanie elektryczne [61], wodne, gazowe, cieplne [4] itp.);
- niezawodność i trwałość dostawy materiałów produkcyjnych (blachy, półprodukty od kooperantów itp.);
- i innych niezwiązanych bezpośrednio z konstruowaniem systemu od strony doboru maszyn i systemu utrzymania ich w ruchu, ale kontrolowania jakości produktów i obliczania kosztów technicznych produkcji [62];
- czy też tak bardzo ważnymi zagadnieniami, jak diagnostyka uszkodzeń [63], projektowaniem zabezpieczeń przechodzeniem w stan niezdatności od losowych czynników [64] i wiele innych szczegółowych zagadnień, jak np. modelowanie pękania w metalach [65].

Jednakże zaproponowany w artykule model można w prosty sposób rozszerzyć (stosując zastosowaną ideę modelowania w przestrzeni liczb zespolonych) również o te zagadnienia w celu uzyskania kompleksowego modelu składowych wpływających na Produktywność Organizacji Produkcyjnej lub Usługowej.

Docelowo efektywnościowe skorelowanie i zoptymalizowanie elementów składowych ujętych w modelu (rys. 1 i 2) wymaga znajomości cech niezawodnościowych i trwałościowych zarówno maszyn, jak i systemu utrzymania ich w ruchu oraz wymaga posiadania odpowiednich metod obliczeniowych [38, 66] w ujęciu probabilistycznym.

Metody te powinny uwzględniać:

- zarówno zmiany dotyczące entropii systemu eksploatacyjnego, czyli pogarszania się jakości systemu produkcyjnego w czasie jego użytkowania i obsługiwania – chociażby z powodu procesu zużywania się w trakcie eksploatacji przyjętych w konstrukcji nadmiarów parametrycznych na podstawie przyjętych rozkładów trwałości lub danych statystycznych umożliwiających wyznaczenie intensywności uszkodzeń;
- jak i dotyczące efektów synergicznych w relacjach pomiędzy elementami decydującymi o niezawodności i trwałości oraz efektywności systemu eksploatacji – właściwe dopasowanie składowych może dawać dodatkowe wartości nie do uzyskania bez zastosowania właściwego połączenia lub zastosowania właściwego bodźca

sprzyjającego pojawieniu się wartości dodatkowej – np. ergonomiczne dopasowanie maszyn do czynnika ludzkiego – np. do gabarytów ciała – zapewniające komfort pracy, tworzenie właściwej atmosfery pracy – dbałość o estetykę miejsca pracy i systemy motywowania, kontroli, sposobu i częstości przeszkalania itp. – powodujące powiązanie emocjonalne z organizacją – utożsamianie się z miejscem pracy powodujące lepszą efektywność pracy.

Literatura

1. Jasiulewicz-Kaczmarek M., *Współczesne koncepcje utrzymania ruchu infrastruktury technologicznej przedsiębiorstwa*, Wydawnictwo Instytutu Inżynierii Zarządzania Politechniki Poznańskiej 2005, s. 127-134.
2. Fawaz A., *Lean manufacturing tools and techniques in the process industry with a focus on steel*, University of Pittsburgh 2003, http://etd.library.pitt.edu/ETD/available/etd-05282003114851/unrestricted/Abdullah.pdf.
3. Krasiński M., *Możliwość zastosowania metodyki Kanban w zarządzaniu projektami*, NAUKI O ZARZĄDZANIU MANAGEMENT SCIENCES 1(14), 2013, ISSN 2080-6000, s. 9.
4. Babiarz B., *Niezawodność i bezpieczeństwo systemów zaopatrzenia w ciepło*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Rzeszowskiej, Rzeszów 2017.
5. Bartkowiak T., Gessner A., *Modeling performance of a production line and optimizing its efficiency by means of genetic algorithm*, Paper presented at the ASME 2014 12th Biennial Conference on Engineering Systems Design and Analysis, ESDA 2014, doi:10.1115/ESDA2014-20141.
6. Downarowicz O., *System eksploatacji. Zarządzanie zasobami techniki*, Politechnika Gdańska: Wydawnictwo Instytutu Technologii Eksploatacji, 1997.
7. Gołaś A., Ciesielka W., Szopa K., Zydroń P., Bąchorek W., Benesz M., Kot A., Moskwa S., *Analysis of the possibilities to improve the reliability of a 15kV overhead line exposed to catastrophic icing in Poland*, Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2019, 21 (2), s. 282-288, http://dx.doi.org/10.17531/ein.2019.2.13.
8. Dwiliński L., *Podstawy eksploatacji obiektu technicznego*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa 2006.
9. Fuqing Y., Barabadi A., Jinmei L., *Reliability modelling on two-dimensional life data using bivariate weibull distribution: with case study of truck in mines*, Eksploatacja I Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2017, 19 (4), s. 650-659.
10. Moubray J., et al., *Maintenance management-a new paradigm*, Maintenance1996, 11: 1.
11. Idziaszek Z., *Method of analysis of productivity with an innovative model of the working capability of the object in the body (C) for the new resource allocation on inherent and non-inherent*, Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2018, 20 (4), s. 671-681, http://dx.doi.org/10.17531/ein.2018.4.18.
12. Jasiulewicz-Kaczmarek M., Drożyner P., *Preventive and Pro-Active Ergonomics Influence on Maintenance Excellence Level*, [w.] M.M. Robertson (eds.), *Ergonomics and Health Aspects*, HCII 2011, LNCS 6779 Springer-Verlag Berlin Heidelberg, ISBN 978-3-642-21715-9 2011, s. 49-58.
13. Idziaszek Z., *Machine Resource Reliability and Maintenance in Productivity*, Preprint – www.researchgate.net 2019, DOI: 10.13140/RG.2.2.28398.56645.

14. Macián V., Tormos B., Herrero J., *Maintenance management balanced scorecard approach for urban transport fleets*, Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2019, 21 (2), s. 226-236, http://dx.doi.org/10.17531/ein.2019.2.6.
15. Młynarski S., Pilch R., Smolnik M., Szybka J., Wiązania G., A *Method for rapid evaluation of k-out-of-n systems reliability*, Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2019; 21 (1), s. 170-176, http://dx.doi.org/10.17531/ein.2019.1.20.
16. Shewhart W.A., Wilks S.S., *System Reliability theory*, John Wiley & Sons, New Jersey 2004.
17. Tomaszek H., Ważny M., Idziaszek Z., *Zarys metody określania liczebności części zamiennych dla działek lotniczych*, Scientific problems of machines operation and maintenance, Radom 2005, 40(1), s. 125-136, PDF on ResearchGate.
18. Trzeszczyński J., Gawron P., Murzynowski W., *Wytyczne przedłużania eksploatacji zmodernizowanych bloków 100 MW – 360 MW*, Biuletyn Pro Novum 2016, nr 2, s. 792-799.
19. Zieja M., Jasztal M., Stępień S., Ważny M., *Two-dimensional approach towards a probabilistic model of fatigue cracking of an industrial pipeline*, monografia: „Safety and reliability – safe societies in a changing world", konferencja: 28-th International european safety and reliability conference (ESREL 2018), Trondheim, Norway, 17-21 June 2018, CRC Press London 2018, s. 2323-2331.
20. Wang Y., Guo L., Wen M., Yang Y., *Availability analysis for a multi-component system with different k-out-of-n: G warm standby subsystems subject to suspended animation*, Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2019, 21 (2), s. 289-300, http://dx.doi.org/10.17531/ein.2019.2.14.
21. Zieja M., Ważny M., Stępień S., *Outline of a method for estimating the durability of components or device assemblies while main-training the required reliability level*, Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2018, 20 (2), s. 260-266, http://dx.doi.org/10.17531/ein.2018.2.11.
22. Żurek J., *Żywotność śmigłowców*, Instytut Techniczny Wojsk Lotniczych, Warszawa 2006.
23. Jasiulewicz-Kaczmarek M., Bartkowiak T., *Improving the performance of a filling line based on simulation*, Paper presented at the IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 2016, 145(4), doi:10.1088/1757-899X/145/4/042024.
24. Liu T., Cheng L., Pan Z., Sun Q., *Cycle life prediction of Lithium-ion cells under complex temperature profiles*, Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2016, 18 (1), s. 25-31.
25. Wang H., Pham H., *Reliability and Optimal Maintenance*,Springer-Verlag, London 2006.
26. Domański R., Hadaś Ł., *The diagnosis of critical aspects of the efficiency on the production area in the industry – a comparative analysis (research results)*, [w:] Lewandowski J., Jałmużna I. (red.), *Contemporary problems in managing production and services supporting manufacturing processes*, Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Łódź 2009.
27. Legutko S., *Trendy rozwoju utrzymania ruchu urządzeń i maszyn*, Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2009, 2(42), s. 8-16.
28. Idziaszek Z., *Model of reliability-life weapons in estimating sets of parts exchanged as a preventive measure in terms of the cost of production and maintenance*, Problemy Mechatroniki. Uzbrojenie, lotnictwo, inżynieria bezpieczeństwa, Warszawa 2019, 10(2).
29. Idziaszek Z., Grzesik N., *Object characteristics deterioration effect on task realizability – outline method of estimation and prognosis*, Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2014, 16 (3), s. 433-440.
30. Stewart I., Tall D., *Podstawy matematyki*, Prószyński Media Sp. z.o.o., Warszawa 2017.

31. Ronald Leandro Elizondo et al., *Beyond Productivity and Continuous Improvement: Fundamentals required for Lean Complex transformation*, IFAC-Papers Online 2016, 49-12, s. 467-472.
32. Taylor A., Taylor M., McSweeney A., *Towards greater understanding of success and survival of lean systems*, International Journal of Production Research 2013, 51 (22), s. 6607-6630.
33. Dong W., Liu S., Yang X., Wang H., Fang Z., *Balancing reliability and maintenance cost rate of multi-state components with fault interval omission*, Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2019, 21 (1), s. 37-45, http://dx.doi.org/10.17531/ein.2019.1.5.
34. Tan C.M., Narula U., La i L.A., Pandey S., Tung J.H., Li C.Y., *Optimal maintenance strategy on medical instruments used for hemodialysis process*, Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2019, 21 (2), s. 318-328, http://dx.doi.org/10.17531/ein.2019.2.17.
35. Rohde U.L., Poddar A.K., Böck G., *The Design of Modern Microwave Oscillators for Wireless Applications: Theory and Optimization*, John Wiley & Sons, Inc., 27 January 2005, Print ISBN:9780471723424, Online ISBN:9780471727170, DOI:10.1002/0471727172.
36. Kupidura P., Woźniak R., Zahor M., *High low pressure launching systems development and testing* – POLISH JOURNAL OF ENVIRONMENTAL STUDIES, (ISSN 1230-1485), Vol.17, No 3C, 2008, s. 5.
37. Martinez-Jurado P.J., Moyano-Fuentes J., Jerez-Gomez P., *Human resource management in Lean Production adoption and implementation processes: Success factors in the aeronautics industry*, BRQ Business Research Quarterly 2014, 17 (1), s.47-68.
38. Gabryelewicz I., Sadłowska-Wrzesińska J., *Tendencje zmian i rola czynnika ludzkiego w systemach zarządzania przedsiębiorstwem*, Wydawnictwo Wydziału Inżynierii Produkcji i Technologii Materiałów Politechniki Częstochowskiej, Częstochowa 2014.
39. Gapp R., Fisher R., Kobayashi K., *Implementing 5s within a Japanese context: An integrated management system*, Management Decision 2008, 46(4), s. 565-579.
40. Kolińska K., Koliński A., *Efektywność procesu zarządzania zapasami części zamiennych w przedsiębiorstwach produkcyjnych – wyniki badań*, Gospodarka Materiałowa i Logistyka 2013, nr 3, s. 1-6
41. Typer P., Idziaszek Z., *Aspekty badawcze i wdrożeniowe oraz analiza możliwości zastosowania 12,7 mm WLKM*, Problemy Techniki Uzbrojenia, Warszawa 2016, T. 45, nr 138, s. 7-23, PDF on ResearchGate.
42. Griffin R.W., *Podstawy zarządzania organizacjami*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2017.
43. He Q., Zha Y., Zha ng R., Sun Q., Liu T., *Reliability analysis for multi-state system based on triangular fuzzy variety subset Bayesian networks*, Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2017, 19 (2), s. 158-165, http://dx.doi.org/10.17531/ein.2017.2.2.
44. Idziaszek Z., Olearczuk E., *Alokacja obsług i zasobów w zarządzaniu trwałością obiektów technicznych*, Scientific problems of machines operation and maintenance, 2005, Z.1, s. 115-124, PDF on ResearchGate.
45. Koźmiński A., Jemielniak D., Latusek-Jurczak D., *Zasady zarządzania*, Wolters Kluwer Polska, Warszawa 2014.
46. Zio E., *Reliability engineering: Old problems and new challenges*, Reliability Engineering & System Safety, 2009, 94, s.125-41.

47. Grzesik N., Sobolewski M., Koruba Z., Nowicki M., *Fuzzy logic estimator implemented in stabilization process based on Linear Quadratic Regulator method*, Aircraft Engineering and Aerospace Technology, ISSN 0002-2667, DOI: 10.1108/AEAT-09-2015-0206 (pending).
48. Nakajima S., *Introduction to TPM*, Portland: Productivity Press, 1988.
49. Gola A., *Reliability analysis of reconfigurable manufacturing system structures using computer simulation methods*, Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2019, 21 (1), s. 90-102, http://dx.doi.org/10.17531/ein.2019.1.11.
50. Piechna S., Idziaszek Z., *Teoretyczne podstawy oceny trwałością eksploatacji obiektów*, Mechanik 2010, Nr 7, s. 145-152.
51. Prokopenko J., North K., *Productivity and Quality Management*: *A modular programmer*, International Laboure Office,1996.
52. Kosieradzka A., *Zarządzanie produktywnością w przedsiębiorstwie*, Wydawnictwo C.H. Beck, Warszawa 2012.
53. NO-06-A102:2005 – *Uzbrojenie i sprzęt wojskowy – Ogólne wymagania techniczne, metody kontroli i badań. Wymagania niezawodnościowe*.
54. Dhillon B.S., *Maintainability, Maintenance, and Reliability for Engineers*. Boca Raton, London, New York: Taylor & Francis Group, 2006.
55. Lisowski M., Czop P., *Projektowanie, wytwarzanie i eksploatacja układów mechatronicznych*, Wydawnictwa AGH, Kraków 2016, ISBN: 978-83-7464-842-4.
56. Herterich M., Uebernickel F., Brenner W., *The Impact of Cyber-Physical Systems on Industrial Services in Manufacturing*, Procedia CIRP 2015, 30, s. 323-328.
57. Tomaszek H., Idziaszek Z., *Zarys metody oceny trwałości luf działek lotniczych*, Scientific problems of machines operation and maintenance, 2004, Z.1, s. 99-110, PDF on ResearchGate.
58. Nowakowski M., Carvajal R.G., *R&D SPIN-OFF MODELS IN SPAIN*, Problemy Eksploatacji – Maintenance Problems, 2013, 4, s. 123-134.
59. Galar D., Gustafson A., Tormos B., Berges L., *Maintenance Decision Making based on different types of data fusion*, Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability, Lublin 2012, s. 9.
60. Kowalski D.J., Ilska A., *Metoda TPM w optymalizacji procesów produkcyjnych*, Przegląd Włókienniczy 2018, 1(12), s. 14-19, DOI: 10.15199/60.2018.12.1.
61. Paska J., *Niezawodność systemów elektroenergetycznych*, Oficyna Wydawnicza Politechnik Warszawskiej, Warszawa 2005.
62. Milewska E., Skowron B., *Use of IT technologies in the management of production process quality*. MATEC Web of Conferences 183 (21), QPI 2018, 03012 (2018), https://doi.org/10.1051/matecconf/201818303012.
63. Szczepański P., Żurek J., *Chapman-Kolmogorov Equations for a Complete Set of Distinct Reliability States of an Object*, Problemy Mechatroniki. Uzbrojenie, lotnictwo, inżynieria bezpieczeństwa 2018, 9, 4 (34), s. 49-70.
64. Szczepański P., *Para zagrożeniowo-ochronna jako element szacowania bezpieczeństwa obiektu i ryzyka*, Biuletyn WAT 2014, VOL. LXIII, nr 4, s. 233-257.
65. Zieja M., Jasztal M., Stępień S., Ważny M., *Chapter: Two-dimensional approach towards a probabilistic model of fatigue cracking of an industrial pipeline,* [w:] *Safety and Reliability – Safe Societies in a Changing World 2018*, DOI: 10.1201/9781351174664-292.
66. Vališ D., Koucky M., Zak L., *On approaches for non-direct determination of system deterioration,* Eksploatacja i Niezawodnosc – Maintenance and Reliability 2012, 14 (1), s. 33-41.

Metoda wyznaczania Zasobu Pracy i Zasobu Obsług Maszyn w procesie optymalizacji Dostępności Produkcyjnej Maszyn

Streszczenie

W pracy opracowano metodę wyznaczania z zasobów eksploatacyjnych Zasobów Pracy Maszyn ($Z^{P}M$) oraz Zasobów Obsługowych Maszyn ($Z^{O}M$) i ich dopasowywania w procesie optymalizacji Dostępności Produkcyjnej Maszyn ($D_{P}M$). Zasoby eksploatacyjne opisano wskaźnikami mierzalnymi w przestrzeni liczb rzeczywistych (R^{+}) natomiast $Z^{P}M$ i $Z^{O}M$ zamodelowano w przestrzeni liczb zespolonych (C^{+}), by po operacjach na nich uzyskać Potencjalne Zasoby Produkcyjne Maszyny ($P^{ZP}M$). Z $P^{ZP}M$ dokonano w metodzie ponownego przejścia do przestrzeni liczb rzeczywistych (R^{+}) poprzez wyznaczenie $D_{P}M$. Modelowanie $Z^{P}M$ i $Z^{O}M$ w przestrzeni liczb zespolonych umożliwia powiązanie wartości parametrów eksploatacyjnych niemających wspólnych mian w przestrzeni liczb rzeczywistych. Opracowane modele $Z^{P}M$, $Z^{O}M$, $P^{ZP}M$ i $D_{P}M$ zostały zilustrowane na płaszczyźnie zespolonej. Modele dedykowane są do projektowych i zarządczych systemów bazodanowych. Praktyczność modeli zilustrowano w tabelach i na wykresie. Opracowana metoda, bazuje na intuicji i doświadczeniu eksperckim autora w modelowania trwałości i niezawodności obiektów przy modernizacji ich eksploatacji. Modele $Z^{P}M$, $Z^{O}M$ i $D_{P}M$ wnoszą nowe możliwości teoretyczne oraz aplikacyjne w inżynierii mechanicznej.

Słowa kluczowe: zasób pracy maszyn, zasób obsług maszyn, dostępność produkcyjna maszyn, niezawodność, eksploatacja, produkcja

Method of determining the Work Resource and Machine Maintenance Resource in the process of optimizing Availability of Machines in Production

Abstract

The work developed a method for determining from the operational resources of Machine Work Resources ($Z^{P}M$) and Machine Maintenance Resources ($Z^{O}M$) and their matching in the process of optimizing the Production Availability of Machines ($D_{P}M$). Operational resources are described in measurable indicators in the real-world space (R^{+}) while $Z^{P}M$ and $Z^{O}M$ modeled in the space of complex numbers (C^{+}) to obtain a complex number on them after the operations describing the Potential Machine Production Resource ($P^{ZP}M$). With $P^{ZP}M$, through the value of its module, a re-transition to the real number space (R^{+}) was made and $D_{P}M$ was designated. Modeling $Z^{P}M$ and $Z^{O}M$ in the complex number space allows you to associate the values of performance parameters that do not have common titers in the real-world space. Developed models $Z^{P}M$, $Z^{O}M$, $P^{ZP}M$ and $D_{P}M$ are illustrated on a complex plane. The models are dedicated to design and management database systems. The practicality of the models is illustrated in tables and in the graph. The developed method is based on the author's intuition and expert experience in modeling the durability and reliability of facilities while modernizing their operation. The $Z^{P}M$, $Z^{O}M$ and $D_{P}M$ models bring new theoretical and application possibilities in mechanical engineering.

Keywords: machine work resource, machine maintenance resource, machine production availability, reliability, maintenance, production

Hubert Anysz[1]

Zastosowanie narzędzi uczenia maszynowego i eksploracji danych z uwzględnieniem baz danych o małej liczbie rekordów

1. Wstęp

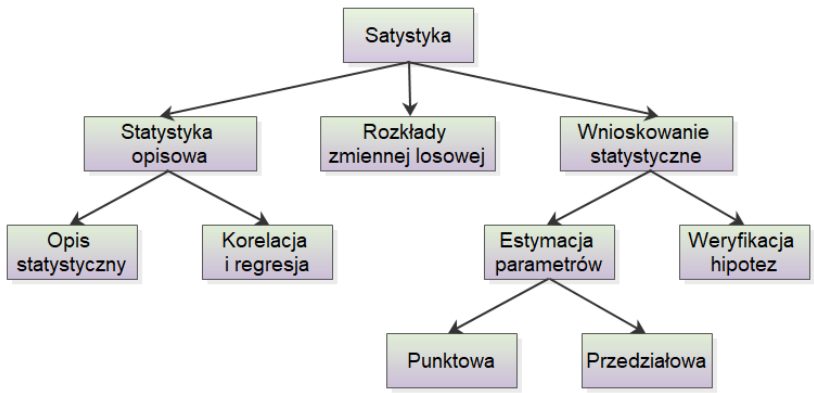
W dobie powszechnego dostępu do Internetu, co raz więcej urządzeń komunikuje się między sobą lub ze scentralizowanymi bazami danych. Reklamodawcy prześcigają się w skuteczności stosowanych spersonalizowanych reklam. To sprawia, że rozwój grupy narzędzi określanych mianem sztucznej inteligencji przeżywa swój rozkwit. Ilość danych, którą trzeba przetworzyć, by uzyskać z nich żądane informacje jest ogromna, stąd i liczba publikacji dotycząca algorytmów pozwalających na szybkie wyłuskanie informacji z informacyjnego szumu jest bardzo duża. Najczęstszym spotykanym w nich problemem jest nadmiar informacji. Nieco inne problemy związane z analizą danych napotykają naukowcy z różnych dziedzin. Częstym przypadkiem jest, że zebrane dane dotyczące badanych zjawisk wymagały kosztownych urządzeń, instalacji, badań. Same badania mogą być także długotrwałe. To sprawia, że w badaniach naukowych bazy danych dotyczących przyczyn i skutków analizowanych zjawisk często zawierają jedynie kilkadziesiąt lub kilkaset rekordów. Ze względu na zalety narzędzi uczenia maszynowego i eksploracji danych – m.in. zdolności do wyszukiwania istotnych zależności pomiędzy wielowymiarowym wejściem a wyjściem – wielu badaczy stosuje te narzędzia poszukując nieodkrytych wcześniej zależności badanych procesach, zjawiskach. Niedostateczna liczba rekordów w utworzonej bazie danych opisujących dane zjawisko może być skutecznie obniżyć wartość uzyskanych rezultatów analiz. W niniejszym rozdziale zostały zebrane doświadczenia autora z prac, w których wykorzystywano narzędzia uczenia maszynowego i eksploracji danych do badań materiałów, do analiz procesów, gdzie liczba typów danych wejściowych była duża w porównaniu do liczby przeprowadzonych badań (tj. rekordów w zbudowanej bazie danych). Zebrane przykłady zastosowań rozszerzono o metody przygotowania danych oraz o metody oceny trafności prognoz i klasyfikacji w celu ułatwienia pracy, szybszego osiągnięcia oczekiwanych efektów osobom rozpoczynającym wykorzystywanie narzędzi uczenia maszynowego do analiz własnych badań.

2. Analiza zjawisk opisywanych wieloma zmiennymi

Większości badanych zjawisk towarzyszy kilka przyczyn. Także skutki, efekt zjawiska mogą mieć wpływ na różne parametry na wyjściu z procesu. Inwencją badacza jest wybór, które wartości wejściowe przyjąć do analizy jako wpływające na badane zjawisko i które parametry mierzyć na wyjściu. Podejście statystyczne jest bardzo pomocne, jednak ma tę wadę, że analizować można tylko jedną cechę, lub pary cech. Warto jednocześnie zdefiniować czym jest statystyka. Według [1] **Błąd! Nie**

[1] h.anysz@il.pw.edu.pl, Zakład Inżynierii Produkcji i Zarządzania w Budownictwie, Instytut Inżynierii Budowlanej, Wydział Inżynierii Lądowej Politechniki Warszawskiej.

można odnaleźć źródła odwołania.„Statystyka jest nauką o metodach prowadzenia badania statystycznego i o metodach analizy jego wyników”, natomiast „Przedmiotem badania statystycznego są: wyodrębniony zbiór obiektów, który nazywamy zbiorowością statystyczną lub populacją, albo kilka zbio-rowości statystycznych…”. Statystykę można podzielić na 3 główne działy [2]: staty-stykę opisową, rozkłady zmiennej losowej oraz wnioskowanie statystyczne (patrz rys. 1).

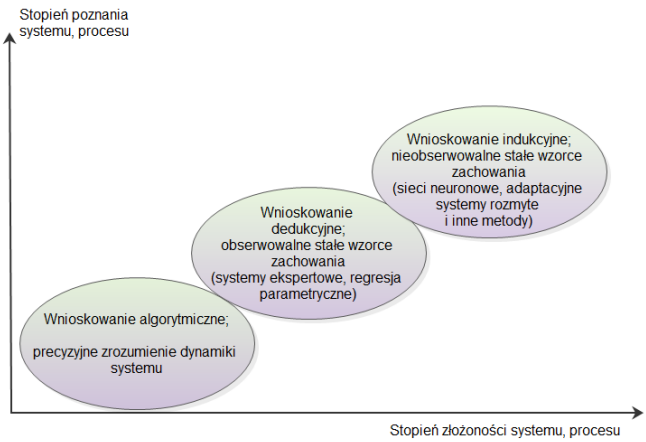


Rysunek 1. Działy statystyki, źródło: [2]

W przypadku, gdy na wynik procesu ma wpływ wiele zmiennych, stosując metody statystyczne jest bardzo trudno znaleźć takie kombinacje wartości zmiennych wejścio-wych, które istotnie wpływają na zmienność wyjścia. A to jest najczęściej poszukiwane – jak efektywnie sterować procesem, zjawiskiem, by uzyskiwać na wyjściu żądane efekty. O wiele łatwiej związki wielowymiarowego wejścia z wyjściem jest odnajdywać narzędziami eksploracji danych. Eksplorację danych bardzo celnie definiuje sam tytuł książki [3], który można przetłumaczyć jako odkrywanie wiedzy z danych. W [4] zamieszczono definicję eksploracji danych sformułowaną w 2001 r. w [5] jako „(…) analizę (często ogromnych) zbiorów danych obserwacyjnych w celu znalezienia nieoczekiwanych związków i podsumowania danych w oryginalny sposób, tak aby były zarówno zrozumiałe, jak i przydatne dla ich właściciela”. Dla tych potrzeb rozwijane są metody i algorytmy, dzięki którym wyszukiwania ww. związków jest szybsze, bardziej efektywne. Metody eksploracji danych można podzielić na [6]:

- odkrywanie asocjacji (reguł asocjacyjnych);
- klasyfikację i predykcję;
- grupowanie;
- analizę sekwencji i przebiegów czasowych;
- odkrywanie charakterystyk;
- eksplorację tekstu i danych semistrukturalnych;
- eksplorację treści zamieszczanych w Internecie;
- eksplorację grafów i sieci społecznościowych;
- eksplorację danych multimedialnych i przestrzennych;
- wykrywanie punktów osobliwych.

Na tej podstawie rozwinęły się metody ogólnie nazywane sztuczną inteligencją, dzięki którym realizowane są najczęściej wybrane zadania eksploracji danych. Mimo rozwoju technik informatycznych i co raz większej mocy obliczeniowej komputerów, sprawdzenie wszystkich możliwych kombinacji wielowymiarowego wejścia i wyjścia złożonego systemu jest wciąż praktycznie niemożliwe [7]. Zastosowanie metod sztucznej inteligencji jest tym bardziej zasadne, im bardziej złożony jest problem i im bardziej niepoznane są mechanizmy nim rządzące, co pokazano na rysunku 2.



Rysunek 2. Sugerowane warunki zastosowania metod sztucznej inteligencji, źródło: [7]

Metod i technik sztucznej inteligencji jest wiele (m.in. sztuczne sieci neuronowe, metoda K-najbliższych sąsiadów, las losowy, drzewa decyzyjne) i wciąż są one rozwijane [8, 9]. Popularność, która może być odczytywana jako przydatność zastosowań jednego z narzędzi sztucznej inteligencji – sztucznych sieci neuronowych – jest bardzo widoczna, choćby na podstawie [10]. Zamiast ścisłego przeszukiwania możliwych kombinacji stosowane są metaheurystyki. Chcąc zastosować ww. narzędzia należy zdecydować, czy posłużyć się dedykowanym oprogramowaniem, czy też samemu tworzyć oprogramowanie z wykorzystaniem ogólnie dostępnych modułów (tzw. „silników"), które realizują algorytmy sztucznej inteligencji. Niezależnie od przyjętego rozwiązania podstawą są dane, które będą analizowane.

3. Przygotowanie danych

Można wyodrębnić następujące etapy przygotowania danych do analiz [6]:

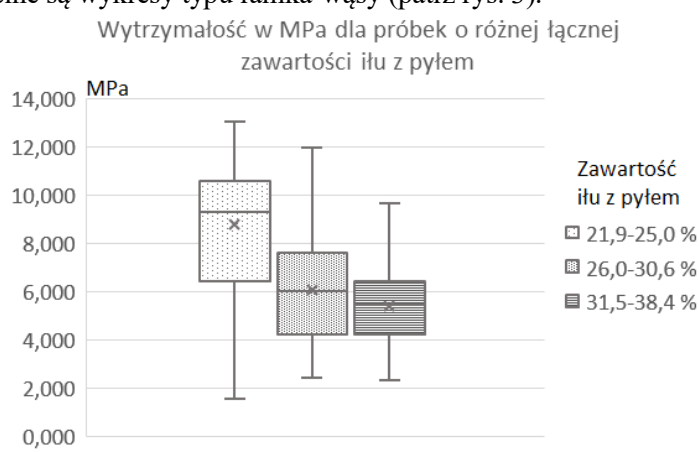
- czyszczenie danych;
- integracja danych;
- selekcja danych;
- konsolidacja i transformacja danych.

Takie przygotowanie danych należy wykonać niezależnie od wielkości bazy danych. W przypadku małych zbiorów danych właściwe ich przygotowanie jest jeszcze bardziej istotne niż dla dużych. Przykładem niech będzie porównanie dwóch zbiorów danych: jednego o 10000 rekordów i drugiego o 100 rekordach, w których 5% rekordów

dotyczy powtarzalnego zjawiska (powtarzalność ma być dopiero odkryta). Gdy dwa z rekordów będą zawierały błędne dane, to w pierwszym przypadku powtarzalność będziemy mogli stwierdzić w 4,8% przypadków zamiast w 5,0%. W drugim nato-miast powtarzalność stwierdzimy tylko w 3,0%. Różnica jest znacząca.

3.1. Czyszczenie i integracja danych

Czyszczenie danych polega głównie na usunięciu z bazy danych tych rekordów, które zawierają niepełne dane. W dużych bazach danych usunięcie np. 2 rekordów (jak w opisanym powyżej przykładzie) nie wpłynie znacząco na uzyskane na kolejnych etapach wyniki. Gdy zestawów danych jest niewiele, to utrata choćby jednego rekordu może istotnie wpłynąć na uzyskiwane wyniki analiz. Z tego powodu nie można – tak jak robi się to dla dużych baz danych – brakujące wartości zastąpić np. średnimi z całej populacji (jeden ze sposobów tzw. augmentacji danych) lub jej części (która jest podobna do opisu w rekordzie, który należałoby usunąć). Powód jest identyczny jak opisany powyżej – zastąpienie jednej, brakującej cechy w opisie zjawiska może znacząco zmienić wyniki, jeśli analizie poddawany jest mały zbiór danych. Usuniętych w procesie rekordów nie należy jednak usuwać na stałe. W kolejnych etapach może okazać się, że w przyjętym ostatecznie modelu dana cecha nie będzie brana pod uwagę, i pierwotnie usunięty rekord będzie zawierał pełne dane – będzie przydatny do analiz. Drugim ważnym etapem czyszczenia danych jest statystyczna analiza każdej z cech (kolumn w bazie danych) z osobna oraz jej korelacji z wyjściem. Dobrą praktyką jest przedstawianie statystyk podstawowych cech opisujących badany proces (liczby rekordów, średniej arytmetycznej, mediany, wartości minimalnej i maksymalnej, odchylenia standardowego, kwartyli wartości cech), także dla cechy lub cech opisujących wyjście. Bardzo czytelne są wykresy typu ramka-wąsy (patrz rys. 3).

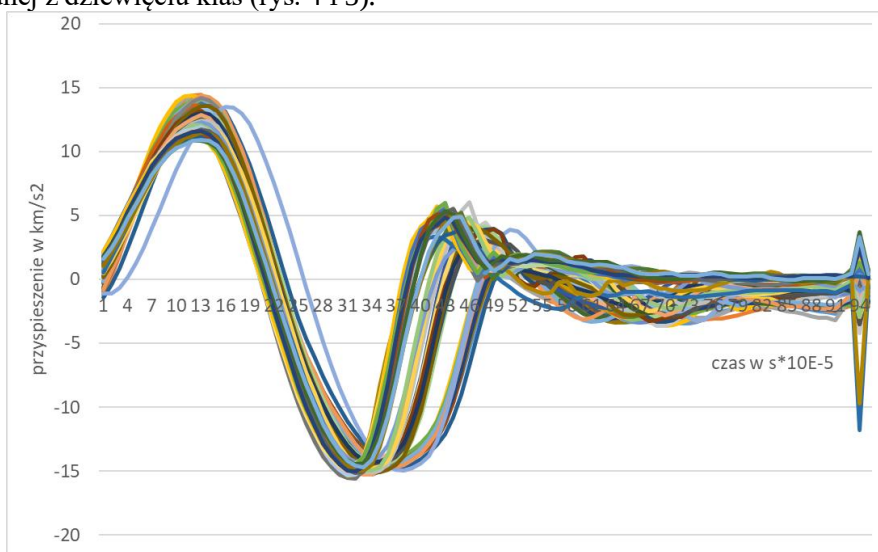


Rysunek 3. Przykładowy wykres typu ramka wąsy, źródło: [10]

Z takiego wykresu łatwo jest np. odczytać, że dla 50% próbek z zawartością iłu z pyłem 21,9-25,0% otrzymano wytrzymałość wyższą niż 9 MPa, ale jednocześnie minimalna wytrzymałość dla tego typu próbek była mniejsza niż 2 MPa. Dla ¼ takich próbek uzyskano wytrzymałość niższą, niż 6,5 MPa. Analiza statystyk podstawowych

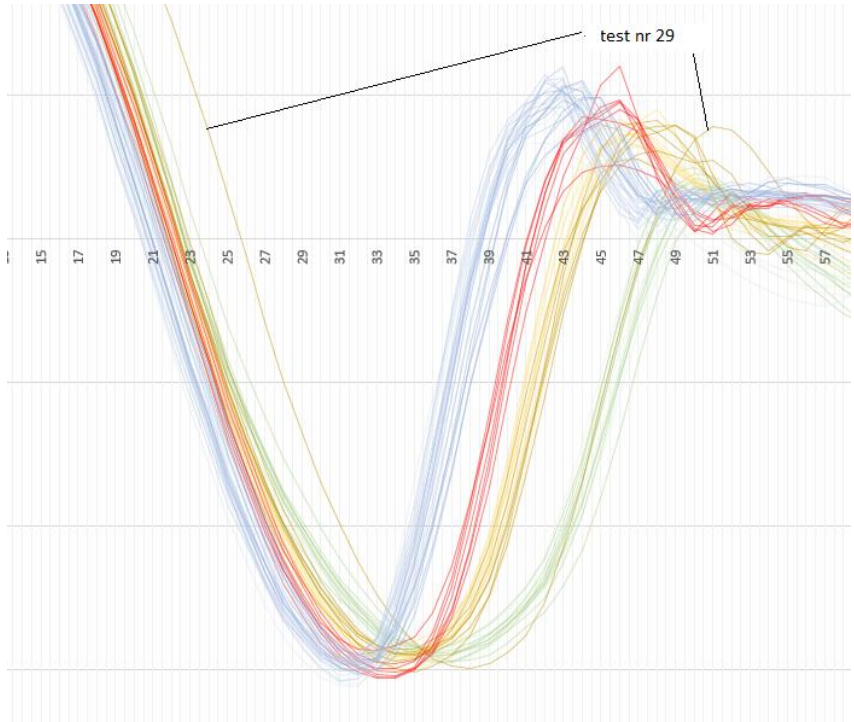
może ułatwić decyzję o odrzuceniu z analiz rekordów (czyli próbek, czy zbadanych przypadków zjawisk), dla których zmierzone wartości są bardzo nieprzystające do wszystkich pozostałych przypadków. Znaczące nieprzystawanie może wynikać z błędnego pomiaru lub z faktu, że w danym przypadku wpływ na pomiar miał inny czynnik, który w ogóle nie był brany pod uwagę (nie był rozważany, nie był mierzony dla żadnego z przypadków). Z tych powodów wszystkie odrzucone z bazy danych rekordy powinny być opisywane, a także powinny być podawane przyczyny ich odrzucenia.

Może się też okazać, że decyzję o odrzuceniu rekordu można podjąć dopiero po wykonaniu całości lub części obliczeń. Przykładem niech będzie artykuł [12], w którym na podstawie zestawów 95 przyspieszeń standaryzowanego młotka (uderzającego o badany stalowy element), zmierzonych w każdym przypadku co 0,01 ms, wykorzystując sztuczne sieci neuronowe starano się przypisać badany, stalowy element do jednej z dziewięciu klas (rys. 4 i 5).



Rysunek 4. 95 przyspieszeń młotka dla 67 testów stali, źródło: [12]

Analizując przyspieszenia na rysunku 4 można powiedzieć, że jeden z testów, w zakresie czasu od 0,01 do 0,31 ms, odstaje od pozostałych, lecz dalej zachowuje się tak, jak pozostałe próbki. Dopiero wstępna klasyfikacja na 4 grupy klas stali ujawniła, że po 0,31 ms w teście nr 29 uzyskano wyniki, które pokazują odstający charakter wyników także po 0,31 ms (patrz rys. 5). W teście nr 29 badano próbkę stali, dla której we wszystkich innych testach przyspieszenie zmieniało znak z ujemnego na dodatni pomiędzy 0,424 a 0,450 ms. Dla testu nr 29 zmiana znaku przyspieszenia nastąpiła pomiędzy 0,460-0,495 ms, czyli w czasie właściwym dla innej grupy klas stali. Dopiero to ustalenie pozwoliło dostatecznie dobrze uzasadnić odrzucenie z analiz testu nr 29. Dzięki temu, uzyskaną pierwotnie trafność klasyfikacji do dziewięciu klas stali na podstawie wyników 67 testów, równą 80% udało się zwiększyć do 95% (po odrzuceniu testu nr 29 i ponownym zastosowaniu sztucznych sieci neuronowych).



Rysunek 5. Fragment wykresu z rys. 4 z wykonaną wstępną klasyfikacją na 4 grupy klas stali i odstającym testem nr 29, także po 0,31 ms, źródło: [12]]

Integracja danych to łączenie danych dotyczących tego samego zjawiska, pochodzących z różnych źródeł w jedną bazę danych. Przykładem integracji może być praca [13], w której prognozowane jest opóźnienie w realizacji odcinków dróg ekspresowych i autostrad w Polsce. Zmiennymi niezależnymi, na podstawie których dokonywano prognoz są tam dane dotyczące budowanych obiektów (udostępnione na podstawie ustawy o dostępie do informacji przez Generalną Dyrekcję Dróg Krajowych i Autostrad), dane dotyczące przedsiębiorstw realizujących te obiekty (zebrane w sądzie rejestrowym, Internecie, wywiadowni gospodarczej), dane makroekonomiczne (ze źródłem w publikacjach Głównego Urzędu Statystycznego). Wartości zmiennej zależnej (niezbędnej do „wytrenowania" sztucznej sieci neuronowej) – liczby dni opóźnienia terminu zakończenia każdej z analizowanych inwestycji drogowych – poszukiwano w publikacjach prasowych i w Internecie. Zebrane informacje posłużyły do zintegrowania ich w bazę danych o realizacji 128 budowlanych przedsięwzięć. Zakończonych w latach 2009-2013 odcinków dróg ekspresowych i autostrad było w Polsce 156, jednak praktycznie niemożliwym było uzyskanie kompletu informacji o nich wszystkich. Po przeanalizowaniu przebiegu tych budów odrzucono też te przypadki, w których wystąpiły nieoczekiwane zaburzenia (np. w postaci protestów ekologów, których nie brano w analizach pod uwagę jako zmiennej niezależnej). Zmniejszyło to liczbę przypadków o 28, ale zapewniło kompletność, integralność bazy danych – podstawy obliczeń.

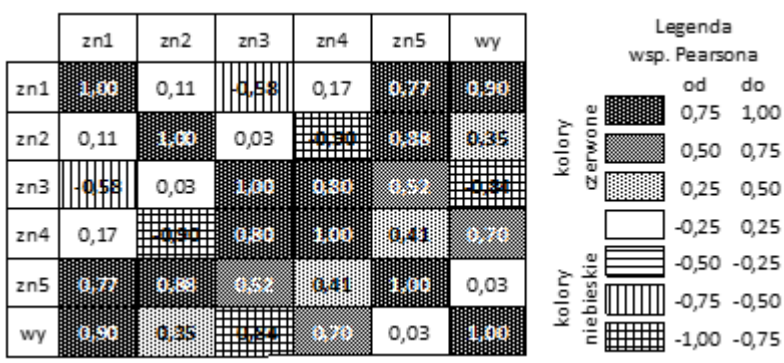
3.2. Selekcja danych

W dużych zbiorach danych istotnym problemem jest ich rozmiar – duża liczba rekordów powoduje nieefektywnie długie działanie oprogramowania. W bazach danych o małym rozmiarze rekordów może być zbyt mało, by oprogramowanie poszukujące związków między wejściem a wyjściem mogło te związki znaleźć. Zdarza się, że badane zjawisko możemy opisać wieloma parametrami, jednak w bazie danych mamy niewiele przypadków (rekordów) z opisanym parametrami zjawiskiem. Selekcja danych oznacza więc konieczność wyboru jedynie kilku zmiennych niezależnych, na podstawie których narzędziem sztucznej inteligencji (zwanej też uczeniem maszynowym) odbywać się będzie klasyfikacja, czy też prognozowanie wartości na wyjściu. W wyborze zmiennych niezależnych mogą być pomocne:

- zbadanie wzajemnych korelacji liniowych zmiennych niezależnych, a także korelacji z wartościami na wyjściu;
- analiza składowych głównych;
- empiryczne poszukiwanie optymalnego zestawu zmiennych niezależnych.

3.2.1. Badanie korelacji

Badanie korelacji liniowej Pearsona [14] pomiędzy parami zmiennych niezależnych oraz pomiędzy każdą z nich a zmienną zależną może być przedstawione tabelarycznie, liczbami lub również graficznie w postaci tak zwanych „map ciepła” (intensywnym kolorem czerwonym zaznacza się pary zmiennych niezależnych najsilniej skorelowane dodatnio, a intensywnym niebieskim o najniższej wartości współczynnika Pearsona (patrz rys. 6). Silna korelacja dodatnia lub ujemna odczytana z mapy ciepła nie zobowiązuje do usunięcia zmiennej silnie skorelowanej z inną. Jest jedynie sugestią. W przedstawionym na rysunku 6 przypadku można rozważać usunięcie zmiennej niezależnej $zn5$, gdyż jest silnie skorelowana dodatnio z $zn2$ (współczynnik korelacji między nimi to 0,88), a jednocześnie $zn5$ nie wykazuje korelacji z wyjściem (oznaczonym jako wy; współczynnik korelacji wynosi 0,03).



Rysunek 6. Przykładowa „mapa ciepła” zmiennych niezależnych zn1 do zn5 oraz wyjścia
[źródło: opracowanie własne]

Mimo iż obliczana jest korelacja liniowa i rzeczywista zależność między zmiennymi niezależnymi (bądź zmienną niezależną i wyjściem – zmienną zależną) może nie mieć charakteru liniowego, to obliczenie tych korelacji liniowych często daje dobre

wskazówki, których zmiennych nie uwzględniać (o ile istnieje potrzeba redukcji ich liczby). Takiego sprawdzenia dokonano m.in. w [10, 13]. W [13] zredukowano na tej podstawie liczbę zmiennych zależnych, a w [10] do analiz przyjęto nową zmienną jako sumę wartości dwóch silnie skorelowanych dodatnio zmiennych niezależnych (tam miało to też techniczne uzasadnienie). Usuwać z bazy danych można też zmienną, która jest silnie ujemnie skorelowana z inną zmienną niezależną.

3.2.2. Analiza składowych głównych

Analizę składowych głównych [9] (ang. *principal component analysis,* PCA) wykonuje się na zmiennych niezależnych – nie uwzględnia się wartości wyjścia. W jej wyniku otrzymujemy ranking przedstawiający, która ze zmiennych niezależnych najbardziej wpływa na zmienność zestawów zmiennych niezależnych. Można wyobrazić sobie, że każda ze zmiennych niezależnych tworzy wymiar wielowymiarowej przestrzeni. Zmienne niezależne są ze sobą powiązane – tworzą zestawy (rekordy w bazie danych opisujące zjawisko). Wynikiem PCA jest odpowiedź na pytanie, które ze zmiennych niezależnych są najbardziej odpowiedzialne za to, że odległości (w wielowymiarowej przestrzeni) pomiędzy punktami (opisanymi w rekordach zestawami zmiennych niezależnych – współrzędnych punktów) są największe. Zmienne o najmniejszym wpływie na rozpiętość zestawów danych są tymi, które można usunąć z analizy dążąc do zmniejszenia liczby zmiennych niezależnych. Przykłady skutecznego zastosowania analizy składowych głównych dla lepszego działania narzędzi uczenia maszynowego można łatwo znaleźć [np. 15-17]. Należy jednak pamiętać, że PCA nie uwzględnia wartości zmiennej zależnej. Nie ma więc pewności, że to ta zmienna niezależna, która powoduje największą zmienność zestawów danych, ma także największy wpływ na prognozowaną wartość (zmienną zależną).

3.2.3. Poszukiwania empiryczne

Zarówno badanie korelacji, jak i analiza składowych głównych nie dają całkowitej pewności, czy dokonano optymalnego wyboru zmiennych niezależnych. Optymalnego, czyli zapewniającego dla posiadanej bazy danych i wybranego narzędzia uczenia maszynowego, jak najbardziej dokładne prognoz, czy też jak największy udział trafnych klasyfikacji. Narzędzia sztucznej inteligencji stosowane są najczęściej tam, gdzie ich użytkownik podejrzewa, że istnieje związek pomiędzy wejściem, a wyjściem (pomiędzy zestawami zmiennych niezależnych a efektem ich łącznego wystąpienia – zmienną zależną). Gdy zależności te nie dają się opisać ściśle (funkcją wielu zmiennych), gdy badane procesy, zjawiska są złożone (porównaj rys. 2) wtedy zastosowanie narzędzi uczenia maszynowego może okazać się jedyną drogą do poznania tych zależności. Trudno więc oczekiwać, że jakiekolwiek pomocnicze narzędzie pozwoli precyzyjnie wskazać, które ze zmiennych zależnych powinny posłużyć do „wytrenowania" sztucznej inteligencji. Stąd jedną z metod poszukiwania optymalnego zestawu wejść (zmiennych zależnych) jest empiryczne sprawdzanie wyników działania narzędzia sztucznej inteligencji na różnych zestawach zmiennych zależnych. Można wyróżnić dwie podstawowe metody postępowania: w przód i wstecz. W przód, oznacza wybór dwóch zmiennych zależnych, na podstawie których wyniki prognoz czy klasyfikacji są najlepsze. Wybór pierwszej z nich czasem jest bardzo łatwy – trudno sobie wyobrazić prognozowanie opóźnień, bez podania planowanego czasu trwania [13, 18]. By wybrać drugą zmienną

sprawdzamy działanie narzędzia na każdej utworzonej parze zmiennych zależnych (bywają one nazywane predyktorami [19]). Po wyborze najlepszej pary predyktorów dołączany jest kolejno jeden z pozostałych predyktorów. Postępuje się tak do momentu, aż dołączenie dowolnej, niewykorzystanej jeszcze zmiennej niezależnej nie przynosi poprawy wyników. W procedurze „wstecz", w pierwszym kroku stosuje się wszystkie zmienne niezależne, a następnie usuwa się kolejno tylko jedną, sprawdzając, po usunięciu którego z predyktorów dokładność prognoz, czy klasyfikacji wzrosła najwięcej. Procedura trwa do momentu, aż usunięcie którekolwiek z predyktorów nie przynosi poprawy wyników.

3.3. Konsolidacja i transformacja danych

Konsolidacja i transformacja danych polega na takim ich przekształceniu by mogły być zastosowane przez wybrane narzędzie eksploracji danych [6]. Najczęstszą forma transformacji danych jest ich standaryzacja, czyli takie przekształcenie wartości zmiennych niezależnych i zmiennej zależnej by przyjmowały one wartości z tego samego zakresu. Standaryzacja danych wynika z potrzeby zapewnienia każdej ze zmiennych niezależnych „równych szans" na uwzględnienie w modelu wykorzystującym uczenie maszynowe. W [13] jednym z predyktorów była wartość kontraktu (kwoty w milionach), a innym liczba partnerów konsorcjum (liczba z zakresu od 1 do 7). Bez standaryzacji jedno z wejść do sieci byłoby więc zawsze większe o kilka rzędów wielkości od drugiego. Wykonano próby uczenia sieci danymi bez standaryzacji, co przyniosło znaczne pogorszenie precyzji prognoz. Nie wszystkie narzędzia uczenia maszynowego wymagają standaryzacji danych (np. sztuczne sieci neuronowe, maszyna wektorów nośnych tak, a drzewa decyzyjne, czy las losowy nie [9]). Jest kilka sposobów standaryzacji danych, jednak dwa z nich są stosowane najpowszechniej. Pierwszy z nich to standaryzacji liniowa-maksimum [20], która transformuje wartości zmiennych niezależnych (odrębnie dal każdego typu zmiennej) na liczby z zakresu <0, 1>. Ten rodzaj standaryzacji można opisać następującą formułą [20]:

$$dla\ 1 \leq i \leq\ k\ a_{1i} = \frac{a_{0i}}{max_k(a_{0i})} \tag{1}$$

gdzie: k – liczba rekordów w bazie danych, a_{0i} – i-ty element zmiennej a przed standaryzacją, , a_{1i} – i-ty element zmiennej a po standaryzacji.

Drugim szeroko stosowanym rodzajem standaryzacji danych jest tzw. standaryzacja „na zerową średnią i jednostkowe odchylenie standardowe" [7] definiowane następującą formułą:

$$a_{1i} = \frac{a_{0i} - \overline{a_0}}{\sigma_a} \tag{2}$$

gdzie: $\overline{a_0}$ – średnia arytmetyczna wartości zmiennej a przed standaryzacją, a_{0i} – i-ty element zmiennej a przed standaryzacją, , a_{1i} – i-ty element zmiennej a po standaryzacji, σ_{0a} – odchylenie standardowe zmiennej a przed standaryzacją.

Inne rodzaje standaryzacji, także nieliniowe, można znaleźć np. w [20]. Należy jednak pamiętać, że rodzaj standaryzacji danych może zmienić uzyskiwane uczeniem maszynowym wyniki [21]. Rodzaj standaryzacji danych może być więc jednym z parametrów, którym dostraja się narzędzie, by otrzymywać jak najlepsze rezultaty.

Drugim procesem transformacji danych może być ich binaryzacja. Oznacza to przekształcenie wartości liczbowych zmiennej a na wyłącznie dwie wartości (np. 0 i 1) następującą formułą [23]:

$$a_{1i} = \begin{cases} a_{0i} \leq p \rightarrow 0 \\ a_{0i} > p \rightarrow 1 \end{cases} \tag{3}$$

gdzie: a_{0i} – i-ty element zmiennej a przed binaryzacją, a_{1i} – i-ty element zmiennej a po binaryzacji, p – parametr dobierany przez użytkownika.

Binaryzacja danych jest szczególnie przydatna przy wyszukiwaniu reguł za pomocą analizy koszykowej (zwaną też analizą asocjacji) [9]. Ten rodzaj analizy został stworzony dla potrzeb badań zawartości koszyków klientów (w celu zwiększania sprzedaży). Programy komputerowe z modułem analizy koszykowej działają więc najefektywniej, jeśli zmienne mają postać binarną (dany produkt występowała w koszykach klientów lub nie). Można sformułować wiele problemów naukowych, których sama istota zmiennych jest binarna (dany czynnik, efekt występuje, bądź nie; np. w [22]), jednak w większości przypadków opis zjawiska zawiera liczby, które dla zastosowania analizy koszykowej transformuje się do postaci binarnej (np. w [23]). Takiej transformacji można też dokonać dla zmiennej, która może przynależeć do kilku rozłącznych podzbiorów. Wtedy z pierwotnych podzbiorów tworzy się dwa dychotomiczne podzbiory (będące sumami pierwotnych podzbiorów). Wtedy, jeśli a_{0i} należy do jednego z nich, to a_{1i} przyjmuje wartość 0, jeśli do drugiego, to wartość 1.

4. Miary błędów

Dotąd, w rozdziale, posługiwano się ogólnymi pojęciami jak: „trafność prognoz", „prawidłowość klasyfikacji", które łącznie można nazwać jakością, czy też skutecznością działania narzędzi sztucznej inteligencji. Chcąc jednak dyskutować o sposobach poprawy jakości ich działania, należy zdefiniować błędy wyników działania narzędzi uczenia maszynowego, eksploracji danych.

4.1. Błędy prognoz

Narzędzia uczenia maszynowego służą głównie dwóm celom: do prognozowania wartości (regresja) i do automatycznej klasyfikacji. Posługiwanie się tymi samymi, ogólnie przyjętymi miarami błędów sprzyja łatwiejszemu zrozumieniu prac, ale także łatwiej można ocenić wartość prognozy. Przyjęło się, że analizowana jest wartość bezwzględna błędu. Błąd bezwzględny (ang. *absolute error*, AE) [7, 19] można więc zdefiniować jako

$$AE = \left|\hat{b} - b\right| \tag{4}$$

gdzie: $\hat{b}$ – wartość prognozy, b – rzeczywiście zaobserwowana wartość.

Błąd względny, wyrażony w procentach (ang. *absolute percentage error,* APE) definiowany jest jako

$$APE = \left|\frac{\hat{b}-b}{b}\right| * 100\% \tag{5}$$

By móc ocenić jakość prognoz wykonanych narzędziem sztucznej inteligencji (np. sztuczną siecią neuronową) część danych nie jest wykorzystywana w procesie „uczenia"

(zwanego też trenowaniem). Po zbudowaniu modelu, ten zestaw danych – zwany próbą walidacyjną – podawany jest na wejściu i maszyna dokonuje prognoz. Wartości prognozowanych jest więc kilkanaście, kilkadziesiąt lub więcej. Wtedy, by ocenić jakość prognoz można policzyć średni błąd względny (ang. *mean absolute percentage error*, MAPE):

$$MAPE = \frac{\sum_{i=1}^{n}\left(\left|\frac{\widehat{b_i}-b_i}{b_i}\right|*100\%\right)}{n} \tag{6}$$

gdzie: n – liczebność próby walidacyjnej

Najbardziej rozpowszechnioną miarą błędu (próby walidacyjnej) jest średni błąd kwadratowy, zwany też błędem średniokwadratowym (ang. *mean squared error*, MSE) definiowany jako

$$MSE = \frac{\sum_{i=1}^{n}(\widehat{b_i}-b_i)^2}{n} \tag{7}$$

Przy rozwiązywaniu problemów regresyjnych większość narzędzi uczenia maszynowego, dzięki wykorzystaniu heurystycznych algorytmów poszukuje takiego odwzorowania wejścia na wyjście, które minimalizuje MSE. Podając jakość uzyskanych prognoz, podaje się najczęściej wielkość MSE lub MAPE (lub obydwie te wielkości). Należy przy tym zauważyć, że w przypadku MAPE nie jest istotne, czy błąd ten jest liczony dla wartości standaryzowanych, czy dla rzeczywistych wielkości – MAPE jest taki sam. Inaczej jest w przypadku MSE. Ten błąd ma najczęściej bardzo różniące się wartości dla prognoz standaryzowanych i prognoz przeliczonych do rzeczywistych wartości (bez standaryzacji). Stąd konieczność podawania, dla jakich wartości MSE zostało policzone. Porównywanie dokładności prognoz (różnych procesów, zjawisk, różnymi narzędziami) na podstawie MSE ma uzasadnienie, o ile MSE jest policzone dla wartości standaryzowanych. Z kolei, z punktu widzenia praktycznego zastosowania większe znaczenie ma MAPE, czy też maksymalna wartość AE. Istotną kwestią jest także użyteczność uzyskiwanych prognoz [24]. Prognozowanie kosztów pośrednich budowy ze średnim błędem względnym równym 6% można uznać za bardzo dokładną i użyteczną prognozę [25], jednak te same 6% MAPE dla prognoz kursów akcji giełdowych sprawia, że takie prognozy są bezużyteczne. Wielkość błędu uzyskanego w prognozach powinna być więc oceniana także z punktu widzenia ich użyteczności dla decydenta posługującego się prognozami.

4.2. Miary trafności klasyfikacji

Stosując narzędzia uczenia maszynowego do automatycznej klasyfikacji, przypisanie danego przypadku do niewłaściwej klasy można oceniać dwojako. Po pierwsze, po prostu jako błąd. Jednak sama informacja, że narzędzie prawidłowo zakwalifikowało 90% przypadków może okazać się niewystarczająca. Jeśli klas, do których przypisywane są poszczególne przypadki (opisane danymi w rekordach bazy danych) jest kilka (np. 8), to może się zdarzyć, że dla 5-ciu klas klasyfikacja jest 100% trafna, a wszystkie 10% pomyłek dotyczy 3 pozostałych klas (dla których – wyrażona procentowo – trafność klasyfikacji jest wtedy dużo niższa). Dlatego, jakość wyników klasyfikacji ocenia się tzw. macierzą błędów, której przykład przedstawiony jest w tabeli 1.

Tabela 1. Wyniki klasyfikacji postępowań przetargowych z próby walidacyjnej [26]

	Klasa: wolne od zmowy	*Klasa: podejrzenie zmowy*	*Klasa: zmowa bardzo prawdopodobna*	*Łącznie dla wszystkich klas*
Liczebność w próbie walidacyjnej	*52*	*14*	*4*	*70*
Liczba prawidłowych klasyfikacji	*50*	*10*	*3*	*63*
Liczba nieprawidłowych klasyfikacji	*2*	*4*	*1*	*7*
Udział prawidłowych klasyfikacji w %	*96,15*	*71,43*	*75,00*	*90,00*
Udział nieprawidłowych klasyfikacji w %	*3,85*	*28,57*	*25,00*	*10,00*

Źródło: [26]

Znaczące różnice w trafności klasyfikacji do poszczególnych podzbiorów mogą być przyczynkiem do dalszych poszukiwań jeszcze trafniej klasyfikującego modelu. Macierz błędów może zawierać także informację, do której, nieprawidłowej klasy został błędnie przypisany dany rekord z próby walidacyjnej. Ma to wpływ na wnioskowanie na podstawie prognoz. Analizując przykład z tabeli 1 przy następujących założeniach:

- 2 błędnie sklasyfikowane przypadki postępowań pochodzące z klasy „wolne od zmowy" automatyczny klasyfikator przypisał do klasy „podejrzenie zmowy";
- 4 błędnie sklasyfikowane przypadki z klasy „podejrzenie zmowy" automatyczny klasyfikator przypisał do klasy „zmowa bardzo prawdopodobna";
- 1 błędnie sklasyfikowany przypadek z klasy „zmowa bardzo prawdopodobna" automatyczny klasyfikator przypisał do klasy „podejrzenie zmowy",

można stwierdzić, że o ile klasyfikator przypisał dane postępowanie do klasy „wolne od zmowy", to można być pewnym, że to postępowanie jest wolne od zmowy. Wszystkie postępowania przypisane do tej klasy zostały poprawnie sklasyfikowane przez automatyczny klasyfikator (mimo trafności klasyfikacji mniejszej niż 100%). Efekt ten wykorzystano np. w [12]. Stąd też warto analizować, do których klas nastąpiło błędne automatyczne przypisanie danego przypadku.

Specyficznym przypadkiem analiz błędów klasyfikacji jest klasyfikacja jedynie do dwóch klas w zastosowaniach medycznych, gdzie tak samo istotne jest, by zdrowemu człowiekowi nie podawać leków, jak nie odmawiać leczenia osobie rzeczywiście chorej (mylnie traktując ją jak zdrową).

		Klasa przypisana przez klasyfikator	
		dodatnia	ujemna
Klasa rzeczywista	dodatnia	liczba przypadków prawdziwie dodatnich oznaczna TP	liczba przypadków fałszywie ujemnych oznaczana FN
	ujemna	liczba przypadków fałszywie dodatnich oznaczana FN	liczba przypadków prawdziwie ujemnych oznaczana TN

Rysunek 7. Macierz błędów w klasyfikacji do dwóch klas; szarym tłem oznaczono prawidłowe klasyfikacje, źródło: [27, 28]

Dla n klasyfikowanych przypadków spełniona jest następująca równość:

$$n = TP + FP + TN + FN \tag{8}$$

Do interpretacji macierzy błędów w postaci przedstawionej na rys. 7 używa się zdefiniowanych poniższymi równaniami pojęć dokładności, precyzji, czułości, specyficzności (nazywanej też swoistością) [27, 28].

$$dokładność = \frac{TP+TN}{n} \tag{9}$$

$$precyzja = \frac{TP}{TP+FP} \tag{10}$$

$$czułość = \frac{TP}{TP+FN} \tag{11}$$

$$specyficzność = \frac{TN}{FP+TN} \tag{12}$$

Należy jednak pamiętać, że powyższe wskaźniki dotyczą jedynie przypadku, gdy narzędzie klasyfikuje wyłącznie do dwóch klas.

4.3. Określanie istotności odkrywanych reguł asocjacyjnych

Dzięki zastosowaniu analiza koszykowej – jednego z narzędzi eksploracji danych – odnajdywane są w danych reguły, które ogólnie można zapisać wyrażeniem

$$b \rightarrow h \tag{13}$$

gdzie: b – poprzednik, h – następnik reguły.

Taka reguła jest odczytywana następująco: jeśli wystąpił poprzednik, to wystąpił także następnik. Zarówno poprzednik, jak i następnik mogą się składać z kilku zmiennych, jednak najczęściej poszukuje się reguł, w których poprzednik jest opisany wieloma zmiennymi, a następnik jedną (np. jeśli przed południem spadało ciśnienie oraz temperatura w południe przekroczyła 30°C, to po południu była burza). Taka reguła (jak w powyższym przykładzie) nie sprawdza się zawsze. Stąd miarami jakości odkrywanych reguł nie są miary błędów, a 3 parametry (proporcje) [6, 9], dzięki którym można łatwo określić szanse na sprawdzenie się reguły w przypadku wystąpienia poprzednika. Są nimi [3, 4, 6]:

- wsparcie – oznaczane sup (od ang. *support*);
- ufność – oznaczana $conf$ (od ang. zaufanie, ufność);
- przyrost – oznaczany *lift* (od ang. m.in. dźwigać, podźwignąć).

Wsparcie jest definiowane następująco:

$$\text{sup}\,(b \rightarrow h) = \frac{n(b \rightarrow h)}{N} \tag{14}$$

gdzie: $n(b \rightarrow h)$ – liczba przypadków, w których wystąpieniu poprzednika towarzyszyło wystąpienie następnika, N – liczba wszystkich przypadków w bazie danych. Natomiast ufność reguły określana jest następująco:

$$conf(b \rightarrow h) = \frac{n(b \rightarrow h)}{n(b)} \tag{15}$$

gdzie: $n(b)$ – liczba przypadków, w których odnotowano wystąpienie poprzednika.

Niemniej istotny jest przyrost reguły. Gdy jego wartość jest mniejsza niż 1, oznacza to, że znaleziona reguła nie wyjaśnia występowania następnika. Przyrost definiowany jest następująco:

$$lift(b \rightarrow h) = \frac{conf(b \rightarrow h)}{P(h)} \tag{16}$$

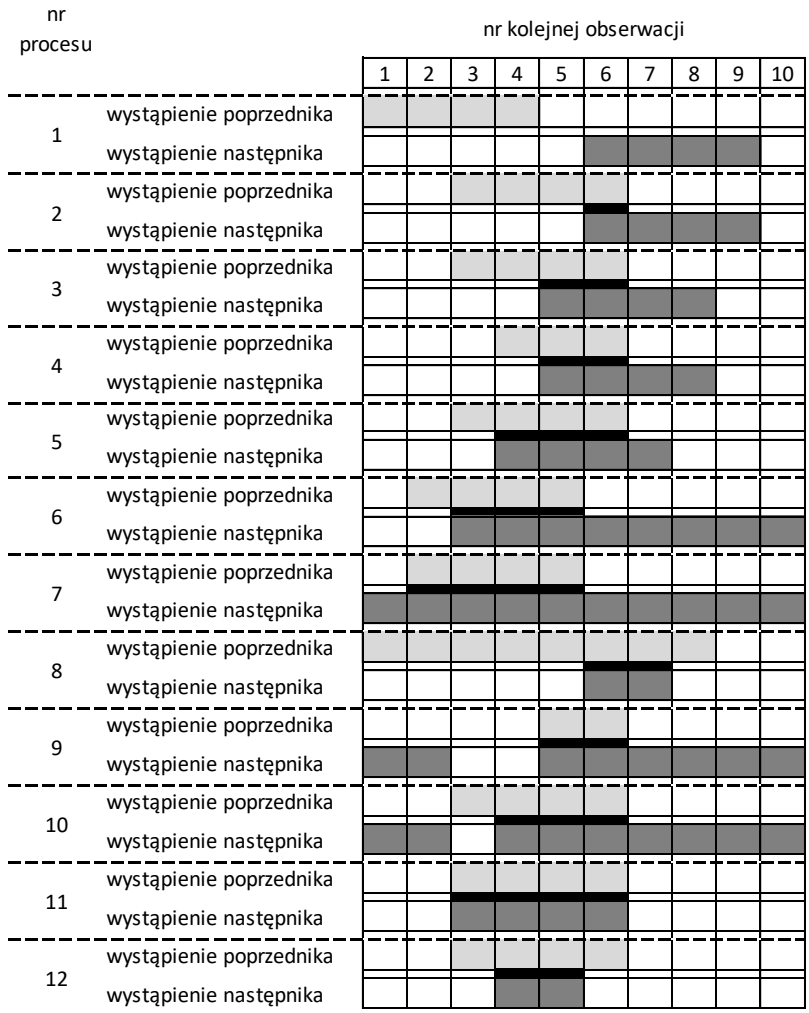
gdzie: $P(h)$ – prawdopodobieństwo wystąpienia następnika (bez względu na to, czy poprzednik wystąpił, czy też nie).

Dla lepszego zrozumienia oceny jakości odkrywanych reguł asocjacyjnych przygotowano przykład, w którym w 12-tu procesach dokonywano po 10 obserwacji wystąpienia poprzednika i następnika (rys. 8). Dla reguły „jeśli poprzednik, to następnik" policzono wsparcie, ufność i przyrost (dla każdego z procesów), które przedstawiono w tabeli 2. Porównując proces nr 5 i proces nr 6 należy zauważyć, że wysoka ufność reguły, nie zawsze jest istotna. W procesie nr 6 następnik występuje prawie zawsze i odkryta reguła nie wyjaśnia występowania następnika ($lift < 1$). Inaczej jest w przypadku procesu nr 8. Przyrost wskazuje na istotność reguły, natomiast jej ufność jest niska. Nie mniej, każdej obserwacji następnika towarzyszy obserwacja poprzednika. W przypadku procesu nr 8 warto więc bardziej sprecyzować poprzednik (np. poprzez dodanie jeszcze innej zmiennej). W tym przypadku – prawdopodobnie – jeszcze inny parametr (nieuwzględniony dotąd w poprzedniku) ma wpływ na występowanie następnika (w procesie nr 8).

Tabela 2. Ocena reguły za pomocą sup, conf oraz lift dla procesów z rysunku 8

Nr procesu	*Wsparcie* (Sup)	*Ufność* $(Conf)$	*Przyrost* $(Lift)$
1	*0,00*	*0,00*	*0,00*
2	*0,10*	*0,25*	*0,63*
3	*0,20*	*0,50*	*1,25*
4	*0,20*	*0,67*	*1,67*
5	*0,30*	*0,75*	*1,88*
6	*0,30*	*0,75*	*0,94*
7	*0,40*	*1,00*	*1,00*
8	*0,20*	*0,25*	*1,25*
9	*0,20*	*1,00*	*1,25*
10	*0,30*	*0,75*	*0,83*
11	*0,40*	*1,00*	*2,50*
12	*0,20*	*0,50*	*2,50*

Źródło: opracowanie własne



Rysunek 8. Obserwacje wystąpienia poprzednika i następnika w przykładowych 12-u procesach
[źródło: opracowanie własne]

5. Istotne aspekty zastosowania wybranych narzędzi sztucznej inteligencji i eksploracji danych do małych baz danych

5.1. Liczba rekordów w bazie danych a złożoność narzędzia

W statystyce przyjmuje się najczęściej, że mała liczność próby, to poniżej 30 przypadków, jednak można znaleźć informacje, że graniczną liczbą, ponad którą nie można mówić już o małej próbie jest 100 [29, 30]. Narzędzia sztucznej inteligencji potrzebują zestawów kompletnych danych – wejść i wyjść – by móc znaleźć jak najdokładniejszy sposób przekształcenia jednych w drugie. Im bardziej złożony problem, tym więcej potrzeba zestawów danych (rekordów w bazie danych). Przy uczeniu głębokim (ang. *deep learning*), w którym narzędzie uczone jest nie zestawami liczb a plikami (graficznymi, dźwiękowymi, tekstowymi), potrzeba tysiące zestawów danych.

W [31] użyto ponad 4000 standaryzowanych zdjęć do predykcji wytrzymałości na ściskanie. W innych pracach próbek było mało (np. w [12] tylko 66). Można znaleźć wskazania, że dla sztucznych sieci neuronowych liczba połączeń między neuronami powinna być 10-ciokrotnie mniejsza, niż liczba rekordów w bazie danych [32]. Małe bazy danych wymagają większej liczby prób obliczeniowych oraz dokładniejszego dostrajania stosowanych narzędzi. Nie mniej, zależność – im bardziej skomplikowany problem i jego model, tym więcej potrzeba zestawów danych do wytrenowania narzędzia – pozostaje aktualna. Stosowanie skomplikowanych modeli (np. sztucznych sieci neuronowych o więcej niż jedna warstwie ukrytej i wielu neuronach w warstwach ukrytych) do małych baz danych, prowadzi najczęściej do błędów (predykcji, czy klasyfikacji) o wiele większych, niż w modelach o mniejszym skomplikowaniu samego narzędzia. Stąd zapewne wynika popularność metod (opisanych w podrozdziale 3) redukcji liczby zmiennych niezależnych. Przy zbyt małej liczebności zestawów danych, redukcja liczby zmiennych niezależnych najczęściej poprawia precyzję prognoz, czy trafność klasyfikacji.

5.2. Rodzaj wyjścia a jakość predykcji, klasyfikacji

W [32] można znaleźć istotną wskazówkę, iż sztuczne sieci neuronowe znacznie dokładniej mogą określić, czy prognozowana wartość np. nie będzie większa, niż podana przez użytkownika sieci, niż tę wartość zaprognozować. Odwołując się do wymogu użyteczności prognozy [24], jeśli uzyskiwane prognozy nie są wystarczająco dokładne (tj. błędy prognoz są zbyt duże) można rozważyć, czy dokładna wartość jest potrzebna. Dla przykładu, w prognozowaniu wytrzymałości materiału, być może zamiast prognozy, wystarczy informacja, że wytrzymałość nie będzie niższa niż założona, podana przez użytkownika. Podobnie jest w zagadnieniu klasyfikacji. Automatyczna klasyfikacja do 9-ciu klas stali (w [12]) na podstawie tylko 66 rekordów w bazie danych nie pozwoliła na uzyskanie trafności klasyfikacji wyższej, niż 80%. Wtedy, jeden proces klasyfikacji zastąpiono ośmioma, które klasyfikowały wyniki badań stali na dwa dychotomiczne podzbiory. Co poglądowo przedstawiono na rysunku 9.

Rysunek 9. Ośmioetapowy proces klasyfikacji do dwóch dychotomicznych podzbiorów (w każdym etapie klasyfikacji), źródło: [12]

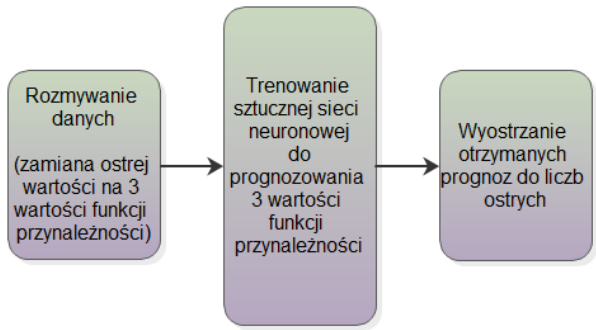
Automatyczne klasyfikowanie tylko do dwóch podzbiorów zrealizowane zostało prostszym modelem (o złożoności adekwatnej do liczby badań stali tj. 66). Zastosowane ośmiokrotnie, pozwoliło zwiększyć trafność klasyfikacji z 80% do 95%. W [13] z pierwotnie wybranych dwunastu predyktorów pozostawiono tylko 6. Pozwoliło to na uzyskiwanie prognozy o dostatecznie małym błędzie, by model był użyteczny. Programy komputerowe pozwalają prognozować np. 2 zmienne zależne jednocześnie, ale ze względów opisanych powyżej, lepsze rezultaty (mniejsze błędy) otrzymuje się prognozując dwie zmienne zależne odrębnie, dwoma modelami, pomimo iż wyniki uzyskiwane są na tym samym zestawie danych.

5.3. Modyfikacja wyjścia

Częstym przypadkiem jest, kiedy w początkowej fazie obliczeń nie otrzymuje się prognoz czy klasyfikacji wystarczająco trafnych. Oprócz opisanych wyżej działań związanych z danymi i złożonością zastosowanego narzędzia uczenia maszynowego, można rozważyć, czy nie poszukiwać innej zmiennej zależnej. Takiej, na podstawie której będzie można dopiero obliczyć (w sposób ścisły) poszukiwaną zmienną zależną. Przy niewielu rekordach w bazie danych takie działanie może uprościć model, co z kolei może wpłynąć na zwiększenie precyzji prognoz. Ten efekt wykorzystano w [33], gdzie prognozowanie sztuczną siecią neuronową jest jedynie częścią procesu projektowania składu mieszanki. Innym zabiegiem mogącym zmniejszyć błędy prognoz jest prognozowanie wartości względnej (zamiast bezwzględnej). Optymalizując działanie modelu w [13] zastąpiono prognozowane opóźnienie wyrażone w dniach, opóźnieniem wyrażonym jako proporcja liczby dni opóźnienia do planowanej liczby dni trwania budowy. W przywołanym przypadku nie zmniejszyło to niestety błędów prognoz. Inną możliwością zmiany typu wyjścia (czyli prognozowanej zmiennej zależnej) jest zastąpieniem jednej liczby kilkoma wartościami funkcji przynależności policzonych na podstawie teorii zbiorów rozmytych [34]. W [18] zamiast liczby dni opóźnienia budowy zastosowano na wyjściu ze sztucznej sieci neuronowej 3 wartości funkcji przynależności do zbiorów: opóźnienie małe, opóźnienie średnie i opóźnienie duże. Po wyostrzeniu prognozowanych wartości do okazało się, że błędy prognoz są mniejsze, niż przy prognozowaniu liczby dni opóźnienia (w [13]). To samo próbowano uzyskać w [35] prognozując w pierwszym etapie obliczeń wartości funkcji przynależności, a dopiero w drugim etapie na podstawie tych prognoz klasyfikowano przypadki do 3 podzbiorów. Jednak w tym przypadku, bezpośrednie zastosowanie sztucznej sieci neuronowej jako klasyfikatora przyniosło większą trafność klasyfikacji.

5.4. Narzędzia hybrydowe

Przy małej liczbie przypadków w bazie danych zastosowane narzędzie uczenia maszynowego nie może być bardzo złożone, gdyż jest zbyt mało przypadków do skutecznego wytrenowanie modelu. Remedium na zbyt duży błąd prognoz, czy zbyt małą trafność klasyfikacji może być zastosowanie modeli hybrydowych. Zamiast jednego, złożonego narzędzia, stosowane są dwa prostsze. W przywołanym wcześniej przykładzie [18] zastosowanie teorii zbiorów rozmytych, w istocie dodaje do modelu dwa elementy, które można odpowiednio „nastroić". Schemat modelu pokazano na rysunku 10.

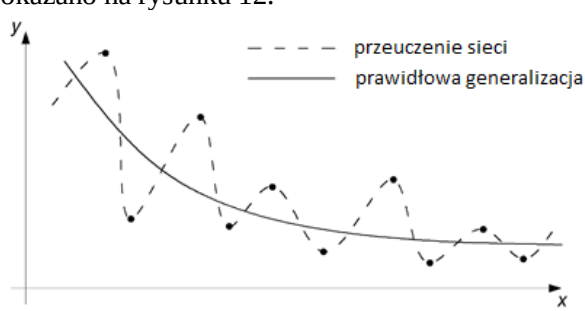


Rysunek 10. Trzy moduły modelu neuronowo-rozmytego, źródło: [18]

Pierwszy moduł to zamiana liczb ostrych na wartości trzech funkcji przynależności. Drugi to dostrajanie sieci, by prognozowała te 3 wartości z jak najmniejszym błędem, a trzeci to wyostrzanie otrzymanych prognoz do liczb ostrych. Operacje w każdym z tych trzech modułów mogą być wykonane w różny sposób, więc do modelowania zmiennej zależnej można użyć 3 narzędzi, a nie tylko samej sztucznej sieci neuronowej. Przykładów, w których hybrydowe modele – czyli takie, w których stosuje się łącznie więcej niż jedno narzędzie – przynoszą dokładniejsze prognozy, niż modele z pojedynczym narzędziem można znaleźć dużo np. [36, 37]. W prowadzonych analizach wyników badań warto więc rozważać zastosowanie narzędzi uczenia maszynowego wzbogaconych inne matematyczne narzędzia.

5.5. Wyodrębnienie podzbioru walidacyjnego

W celu wytrenowania sztucznych sieci neuronowych z posiadanej bazy danych (zawierającej i zmienne niezależne i zmienną zależną) wyodrębnia się 3 podzbiory: uczący, testowy i walidacyjny. Podzbiór uczący służy do wytrenowania narzędzia. Proces ten trwa dotąd, aż w próbie testowej MSE przestaje maleć – wtedy proces uczenia sieci zostaje zatrzymany. Dalsze prowadzenie uczenia sieci mogłoby doprowadzić do lepszego dopasowania narzędzia do danych uczących, ale utracona zostałaby zdolność do generalizacji (błędy MSE dla próby testowej i walidacyjnej byłyby znacznie wyższe) [32]. Taki efekt, zwany przeuczeniem sztucznej sieci neuronowej schematycznie pokazano na rysunku 12.



Rysunek 12. Schematyczny obraz przeuczenia sztucznej sieci neuronowej oraz prawidłowo odnalezionego nią trendu, źródło: [32, 33]

Do oceny jakości prognoz, czy klasyfikacji służy podzbiór walidacyjny. Tych zestawów zmiennych niezależnych i zmiennej zależnej sieć „nie widzi" w procesie uczenia. Dokonuje się więc prognoz (lub klasyfikacji) dla podzbioru walidacyjnego i porównując ze znanymi zmiennymi zależnymi można policzyć opisane w poprzednich podrozdziałach błędy. Jest bardzo istotnym, by podawać którego podzbioru dotyczy policzony błąd. Jednym ze sposobów oceny czy nie doszło do przeuczenia narzędzia jest porównanie błędów (najczęściej MSE) dla ww. 3 podzbiorów – powinny być one na zbliżonym poziomie. Wyraźnie niższy MSE dla podzbioru uczącego może świadczyć o przeuczeniu, a wyraźnie wyższy, o niedoskonałości narzędzia. Wyraźnie niższe MSE dla próby testowej i walidacyjnej sugerują konieczność wyboru innych parametrów sztucznej sieci neuronowej lub innych zmiennych zależnych (lub nawet innego narzędzia).

Dla dużych baz danych losowy podział na danych na 3 podzbiory jest właściwy. W literaturze można znaleźć sugestie, że proporcje liczności tych podzbiorów powinny być z zakresu 60:20:20 – 70:15:15 (uczący : testowy : walidacyjny) [38, 39]. Dla małych baz danych, losowy wybór będzie właściwy tylko dla tych przypadków, w których różne zakresy zmiennej zależnej (lub klasy, przy klasyfikacji) są podobnie licznie reprezentowane. Najczęściej ten warunek nie jest spełniony. Wtedy dobrze jest taką zrównoważoną reprezentację zapewnić we wszystkich 3 podzbiorach. Taki nadzorowany podział danych zastosowano w [12, 26]. W [12], wśród 66 testów stali najmniej licznie był reprezentowany jeden gatunek (5 testów), a najliczniejszy był gatunek o dwunastu testach. Przy losowym wyborze testów do podzbiorów mogłoby się zdarzyć, że żaden test któregoś z gatunków stali nie znalazłby się w podzbiorze uczącym, co bez wątpienia utrudniłoby jego automatyczne rozpoznawanie. W [26], na 249 analizowanych postępowań tylko 9 (w opinii autorów) powinno być sklasyfikowane jako „zmowa bardzo prawdopodobna". Dzieląc zbiór danych na podzbiory, 4 z tych postępowań przypisano do podzbioru uczącego, 1 do testowego oraz 4 do walidacyjnego, m.in. dzięki temu zabiegowi 3 z 4 postępowań ze zbioru walidacyjnego mogły być prawidłowo sklasyfikowane.

W artykułach polsko- i anglojęzycznych można znaleźć przykłady, w których autorzy posługują się wyłącznie pojęciami podzbioru uczącego i testowego (ang. *training dataset, testing dataset*). Wynika to zapewne z dwóch powodów. Część z programów komputerowych całkowicie (bez ingerencji użytkownika) kontroluje, czy nie nastąpiło przeuczenie narzędzia. Wtedy wyodrębnia się jedynie zbiór walidacyjny (albo podając jego liczność lub procentowy udział w całości danych, albo zaznaczając rekordy mające służyć do walidacji). W takim przypadku podzbiór walidacyjny jest często nazywany testowym. Drugim powodem jest fakt, iż część narzędzi uczenia maszynowego (np. drzewa klasyfikacyjne, drzewa C&RT [26]) są zabezpieczane przed przeuczeniem w inny sposób, niż przez kontrolę MSE dla próby testowej. Do weryfikacji jakości działania tych narzędzi służy podzbiór testowy (tak jak walidacyjny – nie biorący udziału w procesie trenowania narzędzia). Czytając prace dotyczące uczenia maszynowego, najczęściej jasno wynika z nich, czy wyodrębniano 2, czy 3 podzbiory danych, dlatego różne nazewnictwo zbioru służącego do oceny jakości działania nie stanowi problemu.

5.6. Weryfikacja jakości modeli

Bazy danych o małej liczbie rekordów, stosowane do zbudowania modelu w oparciu o uczenie maszynowe powodują, że model może być mało odporny (czyli dawać znacząco różne błędy) przy zamianie rekordów pomiędzy podzbiorami (uczącym, testowym i walidacyjnym). By przekonać się, czy zbudowany model działa bardzo dobrze jedynie przy konkretnym podziale danych na podzbiory, należy uruchomić go na zrandomizowanych podzbiorach. Podchodząc do tego zagadnienia systematycznie, wykorzystując sugestie proporcji podziału danych, można dane podzielić na 5 do 7 podzbiorów i tylukrotnie przeprowadzić proces budowy modelu tak, by przy każdej iteracji uczenie przeprowadzać na innych danych (i podobnie walidację). Taka weryfikacja jakości modelu nazywa się walidacją krzyżową (ang. *cross-validation*). Błędy MSE, czy MAPE podaje się wtedy uśrednione ze zbudowanych na różnych zestawach danych do modeli (w języku angielskim zestawy danych w walidacji krzyżowej nazywane są „folds"). Jeśli jednak, w którymś zestawie danych błędy znacząco odbiegały od średniej należy poszukać przyczyny takiego stanu rzeczy.

Niezależnie od wielkości bazy danych, ocenę błędów należy też rozpatrywać przez pryzmat użyteczności wyników. Prognozy ze stosunkowo dużym błędem, zjawiska, które nie poddaje się ścisłym opisom, mogą być bardzo przydatne i mogą być uznane za istotne. Z drugiej strony, prognozy z tym samym MSE, czy MAPE innego zjawiska mogą nie wnosić żadnej istotnej, nowej informacji o badanym zjawisku. Dlatego, oprócz samych wartości liczbowych precyzji prognoz, czy trafności klasyfikacji ważne jest odniesienie się do samego badanego zjawiska.

Ważne jest także sprawdzenie, czy dla badanego wcześniej zjawiska nie zbudowano wcześniej innego modelu. Jeśli tak, odniesienie się do tych, wcześniejszych badań (do poziomu błędów tam uzyskanych) także będzie świadczyć o jakości nowego, autorskiego rozwiązania. Jeśli takie modele nie były wcześniej budowane, można sprawdzić jakość nowego rozwiązania porównując wyniki do znacznie prostszego modelu (np. zbudowanego na bazie programu Microsoft Excel z dodatkiem Solver).

Pytaniem, na które nie ma jednoznacznej odpowiedzi jest: czy mała liczność zestawów danych powoduje, że uzyskane prognozy, klasyfikacje, reguły asocjacyjne są nieistotne (właśnie z przyczyny małej ich liczności). Dla przykładu wyszukana, silna reguła o następujących wskaźnikach $sup = 0{,}01, conf = 1, lift = 100$ dla bazy danych z 10000 rekordów oznacza, że za każdym razem, gdy 100 razy wystąpił określony poprzednik, to zawsze (sic!) wystąpił określony następnik. Ta sama reguła wyszukana dla bazy danych o 100 rekordach oznacza, że był tylko jeden unikalny przypadek, kiedy wystąpił określony poprzednik. Wtedy towarzyszył mu określony następnik. Dla jednego przypadku nie można mówić o regule, tylko o… przypadku (losowości). Jednak nawet dla małej bazy danych (np. o 100 rekordach), reguła o 100% ufności wspierana przez 3 przypadki może być już wskazaniem powtarzalności (o ile przyrost dla tej reguły jest większy od jedności).

Małe bazy danych, zwykle dlatego są małe, gdyż przygotowanie większych jest bardzo kosztowne lub bardzo czasochłonne, lub wynika to z samej natury zjawiska (np. ograniczona liczba wybudowanych obiektów przez to samo przedsiębiorstwo). W określonej rzeczywistości te bazy danych nie mogą być rozszerzone (do rozmiarów kilku, czy kilkudziesięciokrotnie większych). Eksplorowanie takich baz danych – przy

zachowaniu uwarunkowań opisanych w niniejszym rozdziale – może przynosić nowe, nieodkryte dotąd zależności. Zbudowane, poprawnie działające modele mogą nie być wprost aplikowalne do innych zbliżonych zjawisk, ale mogą skutecznie wskazywać metody poszukiwania ogólnych zależności w przypadkach, gdy liczba zestawów danych jest znacząco większa.

Unikalne reguły asocjacyjne, czy zaskakujące, automatyczne klasyfikacje mogą także wskazywać obszary, w których powinny koncentrować się dalsze badania opisywanych zjawisk.

6. Podsumowanie

Omówione w niniejszym rozdziale problemy i istotne kwestie związane z poszukiwaniem związków między wielowymiarowym wejściem a wyjściem, opisanych niedużą liczbą przypadków, nie są wyczerpującym, przeglądowym przedstawieniem tych kwestii. Objętość rozdziału, ale przede wszystkim, ograniczone doświadczenie autora w stosowaniu metod uczenia maszynowego i eksploracji danych nie jest na tyle bogate, by opisać większość stosowanych metod. Problemy napotkane podczas obliczeń w przywołanych w rozdziale pracach (opartych w większości na małych bazach danych) i ich zastosowane rozwiązania, zostały usystematyzowane tak, by zachowana była kolejność działań: od przygotowania bazy danych do obliczeń, do dyskusji wyników. Nie można jednoznacznie stwierdzić, dla ilu rekordów w bazie danych można ją określić „mała" lub „duża baza danych". Można jednak powiedzieć, że w zależności od zastosowanych narzędzi uczenia maszynowego, czy eksploracji danych, skuteczne ich zastosowanie wymaga przynajmniej kilkudziesięciu rekordów. Stosując odpowiednie zabiegi (opracowując dane wejściowe, konstruując modele) możliwe jest skuteczne zastosowanie narzędzi uczenia maszynowego i eksploracji danych do modelowania i poznawania zjawisk opisanych tylko kilkudziesięcioma przypadkami. Możliwe jest też – na podstawie wykonanych obliczeń – rzetelne wnioskowanie.

Literatura

1. Lisowski G., Haman J., Jasiński M., *Podstawy statystyki dla socjologów. Opis statystyczny. Tom 1,* Wydawnictwo Naukowe Scholar, Warszawa 2011.
2. Stanisławek J., *Podstawy statystyki. Opis statystyczny. Korelacja i regresja. Rozkłady zmiennej losowej. Wnioskowanie statystyczne*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa 2010.
3. Larose T.L., Larose C.D., *Discovering Knowledge in Data*, Wiley, Hoboken (NJ) USA, 2016.
4. Larose D.T., *Metody I modele eksploracji danych*, PWN, Warszawa 2012.
5. Hand D., Mannila H., Smyth P., *Principles of Data Mining, MIT Press*, Cambridge, (MA) USA, 2001.
6. Morzy T., *Eksploracja danych. Metody i algorytmy*, PWN, Warszawa 2013.
7. Bartkiewicz W., *Sztuczne sieci neuronowe*, [w:] Zieliński J.S. (red.), *Inteligentne systemy w zarządzaniu. Teoria i praktyka*, PWN, Warszawa 2000.
8. Rutkowski L., *Metody i techniki sztucznej inteligencji*, PWN, Warszawa 2012.
9. Statsoft*, Internetowy Podręcznik Statystyki*, https://www.statsoft.pl/textbook/stathome.html (dostęp: lipiec 2020).
10. Doroshenko A., *Applying Artificial Neural Networks In Construction*, E3S Web of Conferences 143:01029, 2020, doi: 10.1051/e3sconf/202014301029.

11. Anysz H., Brzozowski Ł., Kretowicz W., Narloch P., *Feature Importance of Stabilised Rammed Earth Components Affecting the Compressive Strength Calculated with Explainable Artificial Intelligence Tools*, Materials 13(10) 2317, 2020, doi: 10.3390/ma13102317.
12. Beskopylny A., Lyapin A., Anysz H., Meskhi B., Veremeenko A., Mozgovoy A., *Artificial Neural Networks in Classification of Steel Grades Based on Non-Destructive Tests*, Materials 13(11), 2445, 2020, doi: 10.3390/ma13112445.
13. Anysz H., *Wykorzystanie sztucznych sieci neuronowych do oceny możliwości wystąpienia opóźnień w realizacji kontraktów budowlanych*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa 2017.
14. Rabiej M., *Statystyka z programem Statistica*, Helion, Gliwice 2012.
15. Mrówczyńska M., Sztubecki J., Greinert A., *Compression of results of geodetic displacement measurements using the PCA method and neural networks*, Measurement 158, 107693, 2020, doi: 10.1016/j.measurement.2020.107693.
16. Mohamad-Saleh J., Hoyle B.S., *Improved Neural Network Performance Using Principal Component Analysis on Matlab*, International Journal of The Computer, the Internet and Management Vol.16,. No.2 (May-August), 2008, s. 1-8.
17. Juszczyk M., *Application of PCA-based data compression in the ANN-supported conceptual cost estimation of residential buildings*, AIP Conference Proceedings 1738, 200007, 2016, doi: 10.1063/1.4951979.
18. Anysz H., Ibadov N., *Neuro-fuzzy predictions of construction site completion dates*, Technical Transactions 6/2017 Civil Engineering, 2017, s. 51-58, doi: 10.4467/2353737XCT.17.086.6562
19. Rogalska M., *Wieloczynnikowe modele w prognozowaniu czasu procesów budowlanych*, wydawnictwo Politechniki Lubelskiej, Lublin 2016.
20. Kaftanowicz M., Krzemiński M., *Multiple-criteria analysis of plasterboard systems*, Proceedia Engineering 111, 2015, s. 351-355.
21. Anysz H., Zbiciak A., Ibadov I., *The influence of input data standardization method on prediction accuracy of artificial neural networks*, Proceedia Engineering 153, 2016, s. 66-70.
22. Nicał A., Anysz H., *The quality management in precast concrete production and delivery processes supported by association analysis*, International Journal of Environmental Science and Technology 17, 577-590, 2020, doi: 10.1007/s13762-019-02597-9.
23. Anysz H., Buczkowski B., *The association analysis for risk evaluation of significant delay occurrence in the completion date of construction project*, International Journal of Environmental Science and Technology 16, 5396-5374, 2019, doi: 10.1007/s13762-018-1892-7.
24. Zeliaś A., Pawełek B., Wanat S., *Prognozowanie ekonomiczne. Teoria, przykłady, zadania*, PWN, Warszawa 2013.
25. Juszczyk M., Leśniak A., *Modelling Construction Site Cost Index Based on Neural Network Ensembles*, Symmetry 11(3):411, 2019, doi: 10.3390/sym11030411.
26. Anysz H., Foremny A., Kulejewski J., *Comparison of ANN Classifier to the Neuro-Fuzzy System for Collusion Detection in the Tender Procedures of Road Construction Sector*, IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. 471 112064, 2019, doi: 10.1088/1757-899X/471/11/112064.
27. PQStat *Statystyczne Oprogramowanie Obliczeniowe*, https://pqstat.pl/?mod_f=diagnoza (dostęp: lipiec 2020).
28. Piegorsch W.W., *Confusion Matrix*, [w:] Wiley StatsRef: *Statistics Reference Online*, 2020, doi: 10.1002/9781118445112.stat08244 (dostęp: lipiec 2020).
29. Kot S.M., Jakubowski J., Sokołowski A., *Statystyka*, Diffin, Warszawa 2011.
30. Aczel A. D., *Statystyka w zarządzaniu*, PWN, Warszawa 2000.

31. Narloch P., Hassanat A., Trawneh A.S., Anysz H., Kotowski J., Almohammadi K., *Predicting Compressive Strength of Cement-Stabilized Rammed Earth Based on SEM Images Using Computer Vision and Deep Learning,* Applied Sciences 9(23):5131, 2019, doi: 10.3390/app9235131.
32. Tadeusiewicz R., *Sieci neuronowe*, Akademicka Oficyna Wydawnicza, Kraków 1993.
33. Anysz H., Narloch P., *Designing the Composition of Cement Stabilized Rammed Earth Using Artificial Neural Networks*, Materials 12(9), 2019, doi: 10.3390/ma12091396
34. Zadeh L.A., *Fuzzy Sets,* Information and Control, vol. 8, 1965, s. 338-353.
35. Anysz H., Foremny A., Kulejewski J., *Comparison of ANN Classifier to the Neuro-Fuzzy System for Collusion Detection in the Tender Procedures of Road Construction Sector*, IOP Conference Series Materials Science and Engineering 471:112064, 2019, doi: 10.1088/1757-899X/471/11/112064.
36. Zhang Y., Pan G., *A hybrid prediction model for forecasting wind energy resources*, Environmental Science and Pollution Research 27(Complete):1-19, 2020, doi: 10.1007/s11356-020-08452-6.
37. Eugene E.A., Gao X., Dowling A.W., *Learning and Optimization with Bayesian Hybrid Models*, American Control Conference (ACC), 2020, doi: 10.23919/ACC45564.2020.9148007.
38. Hagan, M.T., Demuth, H.B., Beale, M.H., De Jesús O., *Neural Network Design*, Martin Hagan: Lexington, KY,USA, 2014.
39. Osowski S., *Sieci neuronowe do przetwarzania informacji*, Oficyna Wydawnicza PW, Warszawa 2006.

Zastosowanie narzędzi uczenia maszynowego i eksploracji danych z uwzględnieniem baz danych o małej liczbie rekordów

Streszczenie

Stosowanie narzędzi eksploracji danych i uczenia maszynowego staje się coraz powszechniejsze. Ich przydatność ujawnia się szczególnie przy dużych zbiorach danych, kiedy z szumu informacyjnego można wyłowić poszukiwane informacje, bądź nowe zaskakujące zależności. Rozwój tych narzędzi, ich zalety, sprawiły, że stosowane są także eksploracji zbiorów danych o znacznie mniejszej liczbie rekordów, zwykle dotyczących bardzo specyficznych zjawisk. Z tej specyfiki – najczęściej – wynika niemożność powiększenia liczby przypadków, co mogłoby wpłynąć na łatwiejsze wyszukanie zależności w badanych zjawiskach. W niniejszym rozdziale przedstawiono specyfikę stosowania wybranych narzędzi do małych zbiorów danych. Starano się przybliżyć sposoby przygotowania danych, metody obliczania jakości działania narzędzi uwzględniając specyfikę baz danych o małej liczbie rekordów. W oparciu o doświadczenia autora przedstawiono wybrane techniki obliczeń, które w przywołanych pracach pomogły wyjść z impasu obliczeń tj. uzyskiwania wyników znacznie gorszych niż oczekiwane. Sposoby zwiększania precyzji prognoz, trafności klasyfikacji wymuszone były małą licznością zbiorów danych, które analizowano. Techniki te ilustrowano przykładami z opublikowanych prac. Ze względu na ograniczone doświadczenie autora, rozdział ten nie jest przeglądem najbardziej popularnych technik uczenia maszynowego i eksploracji danych, nie mniej zebrane i przedstawione doświadczenia mogą skrócić czytelnikowi drogę dochodzenia do satysfakcjonujących efektów w zastosowaniu opisanych technik obliczeniowych.

Słowa kluczowe: uczenie maszynowe, eksploracja danych, sztuczne sieci neuronowe, analiza asocjacji, automatyczna klasyfikacja

The Problems of the Machine Learning Applied Also to Databases of a Low Number of Records

Abstract
The applications of machine learning tools and data exploration become more and more popular. Their usefulness occurs mainly when they are applied to large datasets. Then, the information or uncovered relationships – hidden in the information noise – can be discovered. Observed development of these tools made them useful also when they are applied to the datasets of a much lower number of records, where very specific phenomena are described by the data recorded. This specificity is a probable reason why these small datasets cannot be extended. The computerized method made finding hidden rules, hidden relationships in large datasets easier. This chapter is a kind of approach to analysing rather small datasets with the use of machine learning and data exploration selected tools. Based on the author's experience selected techniques are presented. They allowed overcoming the problems of initially poor results (much below expected) when machine learning was applied to a small dataset. The ways of treating the data, the ways of tuning the selected tools, leading to lowering prediction errors or accuracy of automatic classification, were forced by small datasets being analysed. The techniques are illustrated by examples based on previous publications. According to the limited experience of the author, the chapter isn't a review of the most popular machine learning and data exploration tools. However, the presented techniques may shorten the reader's way to achieve satisfactory results of applying these modern artificial intelligence tools to small datasets.
Keywords: machine learning, data exploration, artificial neural networks, association analysis, automatic classification

Witold Stachowiak[1], Michał Niemczak[2]

Ciecze jonowe z anionem sulfonylomocznika jako nowoczesne środki ochrony roślin przeciwko chwastom

1. Wstęp

Ludzkość, na drodze wielu tysięcy lat ewolucji, osiągnęła wysoki poziom technologii i kultury. Około 20 tysięcy lat temu, gdy ludzie pierwotni zaczęli prowadzić osiadły tryb życia, rozpoczął się powolny proces rozwoju rolnictwa. Odnalezione w 2015 roku w Izraelu stanowiska dowodzą, że już wtedy rolnicy musieli radzić sobie z agrofagami, w tym z różnymi gatunkami chwastów, które przyczyniały się do znacznego obniżenia wielkości i jakości pozyskiwanych plonów, poprzez konkurowanie z uprawianymi roślinami o składniki pokarmowe, wodę i dostęp światła słonecznego. Na przestrzeni tysiącleci sukcesywnie wzrastała liczba ludności, czego skutkiem było wzrastające zapotrzebowanie na żywność. Obecnie według Funduszu Ludnościowego Narodów Zjednoczonych kulę ziemską zamieszkuje około 7,7 mld osób, a szacuje się, że z roku na rok liczba ta będzie wzrastała o dodatkowe 1,1% [1]. Z tego względu rolnicy na całym świecie stają przed ogromnym wyzwaniem, związanym z otrzymaniem możliwie maksymalnej ilości produktów (surowców rolniczych) z ograniczonej powierzchni gruntów rolnych [1]. Jest to możliwe tylko w przypadku odpowiedniego doboru gleb do uprawy roślin oraz prowadzenia plantacji w odpowiedniej kulturze.

Dużym wyzwaniem współczesnego rolnictwa jest ograniczenie obecności chwastów na polach uprawnych, bowiem są one bardzo ekspansywne oraz w dużej mierze odporne na niesprzyjające warunki klimatyczne. Należy zaznaczyć, iż od 1 stycznia 2014 roku w krajach Unii Europejskiej obowiązuje Integrowana Ochrona Roślin (IOR), dlatego producenci zobowiązani są do zastosowania wszystkich dostępnych metod ochrony roślin przed agrofagami, w tym chwastami, przede wszystkim niechemicznych, a w uzasadnionych przypadkach zastosowania tylko zalecanych środków ochrony roślin. Wykonanie zabiegów chemicznych powinno odbywać się w oparciu o monitoring występowania organizmów szkodliwych, po uwzględnieniu ich ekonomicznej szkodliwości. Stosując różnego rodzaju środki chemiczne kluczowym staje się zmniejszenie częstotliwości wykonywanych zabiegów do niezbędnego minimum, aby ewentualne zagrożenie dla biosfery było jak najmniejsze [2-7].

Najtrudniejszym aspektem w walce z chwastami jest jednak fakt, że bardzo szybko uodporniają się na środki ochrony roślin (substancje aktywne w nich zawarte) stosowane do ich zwalczania, czyli herbicydy.

Bardzo ważnym aspektem w stosowaniu środków chwastobójczych jest ich interakcja z roślinami uprawnymi, zwierzętami zamieszkującymi pola, jak również z glebą, czy też ich przenikanie do wód gruntowych. Wiele z aktualnie stosowanych herbicydów

[1] witold.p.stachowiak@gmail.com, Zakład Technologii Chemicznej, Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska.
[2] michal.niemczak@put.poznan.pl, Zakład Technologii Chemicznej, Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska.

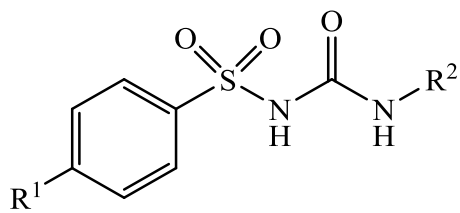
ma w swoim składzie substancje aktywne (czynne) wpływające niekorzystnie na środowisko, jak i te o nieznanym jeszcze oddziaływaniu. Z tego powodu najnowsze technologie stawiają na tzw. „zieloną chemię" – koncepcję, która zakłada zaprzestanie emisji jakichkolwiek szkodliwych substancji do środowiska. Takimi „zielonymi chemikaliami" okazują się ciecze jonowe (ang. *Ionic Liquids, ILs*) definiowane, jako sole o charakterze organicznym, które pozostają ciekłe w temperaturze poniżej temperatury wrzenia wody [8, 9]. Są to sole, których kation ma charakter organiczny, natomiast anion może być zarówno organiczny, jak i nieorganiczny. Niekiedy ciecze jonowe nazywane są też ciekłymi solami organicznymi lub stopionymi solami. Ciecze jonowe charakteryzują się bardzo niską prężnością par, którą zawdzięczają obecności wiązania jonowego. W efekcie, uznawane są one za związki nielotne, w przeciwieństwie do wielu popularnych rozpuszczalników organicznych. Ciecze jonowe są również wyjątkowo stabilne termicznie i elektrochemicznie oraz niepalne, co generuje ogromne możliwości ich zastosowań [9]. Ich specyficzne właściwości są spowodowane między innymi silnymi oddziaływaniami kulombowskimi oraz wiązaniami wodorowymi [10]. Powyższe, razem z oddziaływaniami dyspersyjnymi, determinują organizację cząsteczek cieczy jonowej, która wpływa na szereg właściwości fizykochemicznych. Przykładowo, niska symetria kationu implikuje niską temperaturę topnienia, jak również dosyć małą energię sieci krystalicznej związku [11].

Powszechnie przyjęto, że ciecze jonowe wpisują się w założenia tzw. „zielonej chemii", odpowiadają trzem z 12 zasad: „bezpieczne rozpuszczalniki i materiały pomocnicze", „materiały wydajne energetycznie" i „bezpieczne katalizatory". Postępujący za tym wzrost zainteresowania nimi doprowadził do konkluzji, że są związkami projektowanymi pod kątem wielu oczekiwanych właściwości. Biorąc pod uwagę przyszłe zastosowanie otrzymywanej soli można dobrać odpowiedni kation, jak i anion, a następnie połączyć ich zalety w jednej cząsteczce cieczy jonowej. Szacuje się, że ilość możliwych kombinacji kation-anion wynosi aż 10^{18}, co daje niewyobrażalną ilość czasu potrzebnego na opracowanie wszystkich wariantów [9].

Otrzymanie, a następnie wprowadzenie do obiegu herbicydów będących cieczami jonowymi może znacząco polepszyć sytuację ekonomiczną rolników oraz jakość środowiska naturalnego. Związki te nazwano herbicydowymi cieczami jonowymi (ang. *Herbicidal Ionic Liquids, HILs*), stanowią one III generację cieczy jonowych. Należy podkreślić, że są to świadomie zaprojektowane substancje zawierające jon wykazujący aktywność chwastobójczą. W ten sposób dotychczas stosowane herbicydy można wzbogacić w szereg pożądanych właściwości cieczy jonowych. W toku wieloletnich badań dostrzeżono i opisano wiele zalet wprowadzenia herbicydu do struktury cieczy jonowej. Znaczne zmniejszenie rozpuszczalności preparatu w wodzie powoduje o wiele mniejszą mobilność w glebie, a co za tym idzie mniejsze przenikanie takiego herbicydu do wód gruntowych, ujęć wodnych czy innych roślin [12, 13]. Niemierzalne wartości prężności par z kolei uniemożliwiają odparowanie preparatu z powierzchni rośliny, w efekcie czego cała jego zaaplikowana ilość zostaje wchłonięta przez liście czy korzenie. Ponadto, brak parowania tych środków wpływa pozytywnie na bezpieczeństwo pracy osoby przeprowadzającej oprysk. Badania nad herbicydowymi cieczami jonowymi wskazują możliwości wyeliminowania z preparatów herbicydowych substancji niebezpiecznych, co stanowi ich największą zaletę [14]. Modyfikacja struktury powszechnie

stosowanych środków chwastobójczych w kierunku otrzymywania cieczy jonowych poprawia ich aktywność biologiczną, co może pozwolić na uzyskanie lepszej wydajności oraz jakości plonów. Wprowadzenie do struktury środka chwastobójczego kationu rozgałęzionego lub zawierającego długi łańcuch węglowodorowy dodatkowo wpływa na aktywność powierzchniową. Lepszy kontakt powierzchni preparatu z częściami nadziemnymi roślin (szczególnie liści) skutkuje lepszym wnikaniem do jej wnętrza [12, 14]. W efekcie, herbicydowe ciecze jonowe można aplikować w znacznie mniejszej ilości w przeliczeniu na hektar, przy jednoczesnym zachowaniu wysokiej efektywności działania w porównaniu z powszechnie stosowanymi substancjami chwastobójczymi [15].

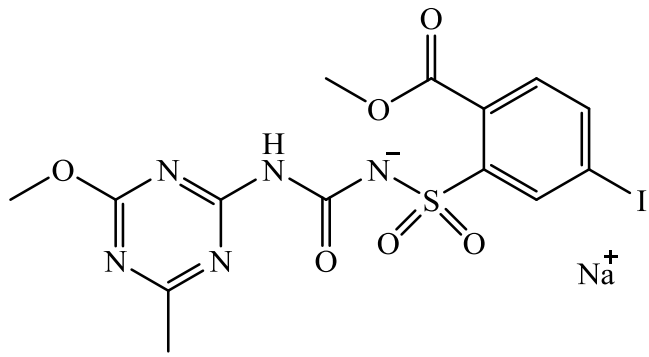
Pochodne sulfonylomocznika to grupa związków mających w swojej strukturze specyficzne ugrupowanie, są połączeniem amidu kwasu benzenosulfonowego i mocznika (rys. 1) [16].



Rysunek 1. Struktura sulfonylomocznika. Źródło: [55]

Substancje te są jednymi z najbardziej popularnych środków chwastobójczych. Użycie ich gwałtownie wzrosło ze względu na ich wysoką selektywność działania i efektywność przy zastosowaniu już w niewielkich dawkach, nieprzekraczających 10 gramów na hektar [17]. Obecnie skomercjalizowano ponad 30 preparatów na bazie sulfonylomocznika, które zaraz po glifosacie zajmują drugie miejsce wśród najczęściej stosowanych środków chwastobójczych na całym świecie. Większość herbicydów sulfonylomocznikowych ulega hydrolizie kwasowej w glebach o odczynie kwaśnym, natomiast w środowisku glebowym o odczynie obojętnym czy alkalicznym niektóre z nich np. metsulfuron metylowy czy chlorosulfuron ulegają degradacji w niewielkim stopniu i zalegają w niej nawet kilka miesięcy [18]. Mechanizm działania sulfonylomoczników polega na inhibicji enzymu ALS – syntazy acetylomleczanowej, przez co należą one do grupy B według klasyfikacji systemem HRAC [19]. Oznacza to, że blokują szlak metaboliczny aminokwasów potrzebnych do syntezy białek – leucyny, izoleucyny i waliny [20]. Jednakże aktywność związków zawierających sulfonylomocznik nie ogranicza się jedynie do działania na rośliny. Należy zaznaczyć, że w przypadku cukrzycy typu 2 stosuje się leki na bazie tej substancji aktywnej. Działają one w trzustce, powodując zwiększenie produkcji insuliny [21].

Przedmiotem badań w niniejszej pracy jest szczególna forma sulfonylomocznika – jodosulfuron metylosodowy, o nazwie systematycznej sól jednosodowa estru metylowego kwasu 4-jodo-2-[3-(4-metoksy-6-metylo-1,3,5-triazyn-2-ylo)ureidosulfonylo] benzoesowego (rys. 2). Został on otrzymany i opisany po raz pierwszy w 1999 roku. W opracowanych od tego czasu preparatach chwastobójczych, stanowi on substancję aktywną polecaną do stosowania w uprawach zbóż – jęczmienia jarego, kukurydzy, pszenicy jarej i ozimej, pszenżyta jarego i ozimego oraz żyta.



Rysunek 2. Struktura jodosulfuronu metylosodowego. Źródło: [56]

Standardowa dawka jodosulfuronu metylosodowego wynosi zaledwie 7,5-10 g na hektar. Chwastami wrażliwymi na tę pochodną sulfonylomocznika są: komosa biała, mak polny, miotła zbożowa, samosiewy rzepaku, rumian polny oraz rdest powojowy [22]. Obecnie rynek preparatów zawierających jodosulfuron metylosodowy jest zdominowany przez dwóch największych producentów: Bayer CropScience, który wytwarza środki ochrony roślin takie jak Huzar 05 WG, Maczeta OD 125, Raper 31 OD, Sekator 125 OD oraz przedsiębiorstwo Cheminova Deutschland, znane między innymi z produkcji preparatów Zeus 208 WG oraz Maister 31 OD. Wymienione wyżej środki wykazują działanie systemiczne, zostają wchłonięte w głównej mierze przez liście, hamują powstawanie aminokwasów niezbędnych do syntezy białek. Z przeprowadzonych badań polowych wynika, że okres połowicznego rozkładu jodosulfuronu metylosodowego DT_{50} wynosi 9-15 dni, co czynni go środkiem krótko zalegającym w glebie, a sam jego rozkład ma charakter chemiczny oraz mikrobiologiczny. Na drodze chemicznej związek ten ulega reakcji hydrolizy w miejscu mostka sulfonylomocznikowego, co czyni go substancją o niskiej stabilności w środowisku wodnym. Należy jednak podkreślić, że stosowanie sulfonylomoczników jest związane z koniecznością łączenia ich z różnego rodzaju adiuwantami (np. w postaci ciężkich węglowodorów aromatycznych oraz niespecyfikowanej frakcji naftowej), które mają na celu poprawić ich skuteczność. W efekcie, preparat Huzar 05 WG został określony jako szkodliwy dla ludzi, bardzo toksyczny dla ryb, rozwielitek i glonów. Dlatego też, w celu zminimalizowania ryzyka przedostania się tego herbicydu do wód gruntowych, jego stosowanie objęte jest regulacjami, które ściśle określają warunki natrysku cieczy użytkowej.

Celem niniejszej pracy jest zaprezentowanie opracowanej efektywnej metody syntezy nowych herbicydowych cieczy jonowych zawierających w anionie pochodną sulfonylomocznika o działaniu chwastobójczym, których struktury potwierdzono za pomocą spektroskopii NMR, UV oraz FT-IR. Szczegółowej ocenie poddano także rozpuszczalność wszystkich produktów w popularnych rozpuszczalnikach o różnej polarności, wyznaczono ich temperatury topnienia i przeanalizowano aktywność ich skuteczności wobec roślin testowych – chabra bławatka i samosiewów rzepaku ozimego.

2. Metodyka prowadzenia badań

2.1. Użyte reagenty i odczynniki

Aceton (> 99%, Avantor Performance Materials Poland), acetonitryl (> 99%, Avantor Performance Materials Poland), bromek mirystylotrimetyloamoniowy ([C_{14}TMA][Br], 99%, Sigma-Aldrich), chlorek behenylotrimetyloamoniowy ([C_{22}TMA][Cl], 80%, KCI Limited), chlorek dicetylodimetyloamoniowy ([DiC_{16}DMA][Cl], 75% r-r w izopropanolu, Akzo-Nobel), chlorek didecylodimetyloamoniowy ([DDA][Cl], 40% r-r wodny, Akzo-Nobel), chlorek dioktylodimetyloamoniowy ([DiC_8DMA][Cl], 99,3%, CHEMOS GmbH), chlorek cetylotrimetyloamoniowy ([C_{16}TMA][Cl], 50% r-r wodny, Stockmeier Chemia), chlorek cocotrimetyloamoniowy ([C_{12}TMA][Cl], 35% r-r wodny, Julis Hoesch Duren), chlorek stearylotrimetyloamoniowy ([C_{18}TMA][Cl], 80%, KCI Limited), chloroform (> 99%, Avantor Performance Materials Poland), dimetylosulfotlenek (DMSO, > 99%, Avantor Performance Materials Poland), izopropanol (> 99%, Avantor Performance Materials Poland), heksan (> 99%, Avantor Performance Materials Poland), sól sodowa jodosulfuronu metylowego (93,6%, Bayer CropScience), metanol (> 99%, Avantor Performance Materials Poland), octan etylu (> 99%, Avantor Performance Materials Poland), toluen (> 99%, Avantor Performance Materials Poland), woda destylowana (przewodnictwo < 2 mS/m, Wydział Technologii Chemicznej PP).

2.2. Metodyka prowadzenia syntez

W kolbie okrągłodennej umieszczono 3,03 g odpowiedniego chlorku tetraalkiloamonioweego, który rozpuszczono w 15 cm^3 wody destylowanej. W drugim naczyniu rozpuszczono stechiometryczną ilość (wraz z 5% nadmiarem) soli sodowej jodosulfuronu metylu, do której dodano 40 cm^3 wody destylowanej i całość ogrzano do temperatury ok. 50°C. Następnie oba roztwory połączono. W wyniku reakcji wymiany anionu z roztworu wydzieliła się gęsta ciecz (będąca produktem), którą wydzielono techniką ekstrakcji dwufazowej. W tym celu do mieszaniny poreakcyjnej dodano 30 cm^3 chloroformu i dokładnie wymieszano obie fazy, po czym nastąpiło szybkie ich rozdzielenie. Warstwę chloroformową oddzielono i przemyto trzykrotnie porcjami wody destylowanej w ilości po 20 cm^3. W celu dokładnego usunięcia wody z fazy organicznej dodano do niej ok. 3 g bezwodnego Na_2SO_4, który po czasie 5 minut oddzielono za pomocą techniki sączenia filtracyjnego. W kolejnym etapie z przesączu odparowano chloroform pod zmniejszonym ciśnieniem, a surową ciecz jonową rozpuszczono w:

- bezwodnym acetonie i ochłodzono do temperatury 0°C (produkty 1-**7**);
- mieszaninie aceton: alkohol izopropylowy (10:1, v:v) o temperaturze 40°C (produkt 8).

Następnie, wytrącone stałe zanieczyszczenia odsączono, a po odparowaniu rozpuszczalnika z przesączu gotowe produkty suszono na linii próżniowej w temperaturze 25°C, przez okres 6 godzin.

2.3. Analiza produktów

2.3.1. Badanie rozpuszczalności

Do szklanych fiolek odważano po ok. 0,1 g próbki soli. Następnie dodano 1 cm^3 rozpuszczalnika i energicznie mieszano przez około 1 minutę w temperaturze pokojowej. Jeśli próbka nie uległa rozpuszczeniu, dodano kolejne 2 cm^3 rozpuszczalnika

i znów energicznie mieszano przez 1 minutę. W ten sposób próbka produktu zostawała zakwalifikowana do jednej z trzech grup: rozpuszczalna w 1 cm^3, rozpuszczalna w 3 cm^3 oraz nierozpuszczalna. W badaniu wykorzystano następujące rozpuszczalniki: woda destylowana, metanol, aceton, acetonitryl, octan etylu, dimetylosulfotlenek (DMSO), toluen, heksan, chloroform oraz izopropanol.

2.3.2. Wyznaczenie współczynnika refrakcji

Badanie zostało przeprowadzone za pomocą refraktometru J357 Rudolph Research Analytical. Na powierzchnię pryzmatu nakładano kroplę próbki soli, następnie zamykano pokrywę, dzięki czemu próbka była stabilizowana termicznie z obu stron. Pomiar został przeprowadzony odpowiednio dla temperatur: 20, 30 oraz 40°C.

2.3.3. Spektroskopia ultrafioletu (UV)

Badanie absorpcji promieniowania z zakresu UV dla każdego otrzymanego związku wykonano na aparacie Rayleigh UV-1601. Do badania użyto roztworów w metanolu o stężeniu ok. 0,05 $mg \cdot cm^{-3}$, a jako standardu odniesienia czystego metanolu. Użyto kuwet polimerowych, wykonanych z PMMA. Otrzymano widma w zakresie długości fali λ = 250-400 nm.

2.3.4. Spektroskopia podczerwieni (FT-IR)

Widmo absorpcji promieniowania podczerwonego wykonano za pomocą reaktora EasyMax 102, wyposażonego w detektor MCT oraz sondę AgX 9.5 mm z diamentową końcówką. Analizę przeprowadzono w zakresie 650-3000 cm^{-1}. W celu przeprowadzenia badania próbkę związku nanoszono na sondę. Widmo w czasie rzeczywistym było rejestrowane za pomocą oprogramowania iCIR 4.3.

2.3.5. Spektroskopia nuklearnego rezonansu magnetycznego (NMR)

W celu potwierdzenia struktury otrzymanych cieczy jonowych, próbki zostały przesłane do Środowiskowego Laboratorium Unikalnej Aparatury Badawczej działającym przy Uniwersytecie Adama Mickiewicza w Poznaniu. Wykonano tam spektrometrię magnetycznego rezonansu jądrowego: protonowego oraz węglowego. Do tego celu wykorzystano Spektrometr Varian model XL o częstotliwości generowania 300 MHz dla ^{1}H NMR oraz 75 MHz dla ^{13}C NMR. Jako rozpuszczalnika użyto deuterowanego chloroformu, a jako standardu odniesienia tetrametylosilanu (TMS).

2.3.6. Wyznaczenie temperatury topnienia

Temperaturę topnienia soli, które w pokojowej temperaturze są ciałami stałymi, zbadano za pomocą aparatu Büchi Melting Point B-540. Gradient temperatury wynosił $10°C \cdot min^{-1}$. Wartość temperatury podano z dokładnością do 0,1°C.

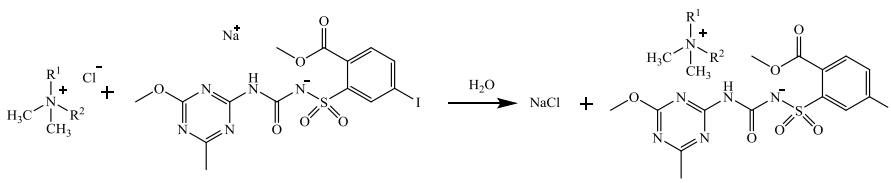
2.3.7. Badanie skuteczności chwastobójczej

Badanie skuteczności działania otrzymanych cieczy jonowych zostało wykonane we współpracy z Instytutem Ochrony Roślin w Poznaniu. W pierwszym etapie przygotowano rośliny. W tym celu do wazonów wysiano nasiona dwóch roślin testowych: rzepaku ozimego (*Brassica napus)* (traktowanych tutaj jako samosiewy) oraz chabra bławatka (*Centaurea cyanus*). Po wykształceniu liści młode rośliny – siewki przerywano tak, aby w wazonie zostało 5 osobników dla chabra bławatka oraz 4 dla rzepaku

ozimego. Przygotowano po cztery wazony (powtórzenia) dla każdej badanej substancji. Następnie odważano odpowiednie ilości soli i rozpuszczono je w wodzie (w celu pełnego rozpuszczenia próbek konieczne było użycie łaźni wodnej ultradźwiękowej). Oprysk przeprowadzono w fazie rozwojowej 4-liścia roślin. Zastosowany opryskiwacz kabinowy wyposażony był w rozpylacz Tee Jet 1102, przemieszczał się nad roślinami ze stałą prędkością 3,1 $m \cdot s^{-1}$. Rozpylacz znajdował się na wysokości 40 cm nad wierzchołkami roślin, ciśnienie roztworu w nim wynosiło 0,2 MPa, a wydatek cieczy był równy 200 dm^3 na 1 ha. Zastosowano dawkę 7,5 g substancji aktywnej (anionu) na hektar. Jako środek porównawczy zastosowano środek herbicydowy Huzar 05 WG. Kolejnym etapem badania było pozostawienie opryskanych i nieopryskanych kontrolnych roślin w szklarni, w której utrzymywano stałą temperaturę 20°C oraz wilgotność powietrza na poziomie 60%. Po trzech tygodniach zmiany w wyglądzie roślin zarejestrowano aparatem fotograficznym, a następnie ścięto je tuż nad powierzchnią gleby i zważono z dokładnością do 0,1 g. Czynność tę wykonano dla każdego wazonu. Obliczając różnicę między masą nieopryskanych roślin a masą tych opryskanych uzyskano wartość redukcji świeżej masy roślin.

3. Omówienie wyników

3.1. Synteza



Rysunek 3. Schemat otrzymywania ILs z anionem jodosulfuronu metylu.
Źródło: Opracowanie własne

Badane związki otrzymano w wyniku reakcji wymiany prowadzonej w środowisku wodnym, w stosunku molowym 1 : 1,05 soli amoniowej do soli sodowej jodosulfuronu metylu (rys. 3). Produkty jako substancje o wiele bardziej hydrofobowe od substratów wydzielono przy pomocy techniki ekstrakcji dwufazowej woda:chloroform. Otrzymaną fazę organiczną przemyto wodą i wyduszono siarczanem(VI) sodu. Następnie usunięto z niej rozpuszczalnik przy pomocy wyparki próżniowej. Otrzymany surowy produkt oczyszczono z resztek soli nieorganicznych poprzez ich wytrącenie, rozpuszczając go w:

- bezwodnym acetonie, ochładzając do temperatury 0°C (produkty 1-7);
- mieszaninie aceton: alkohol izopropylowy (10:1, v:v) o temperaturze 40°C (produkt 8).

Następnie, wytrącone stałe zanieczyszczenia odsączono, a po odparowaniu rozpuszczalnika z przesączu gotowe produkty suszono na linii próżniowej w temperaturze 25°C, przez okres 6 godzin. Otrzymane produkty były żółtymi ciałami stałymi, zwykle krystalizującymi w okresie kilku dni po otrzymaniu, z wyjątkiem produktów 1 i 2, które wykrystalizowały po 4 tygodniach (tab. 1).

Tabela 1. Nazwy kodowe oraz wydajności otrzymywania badanych związków

Nr	*R^1*	*R^2*	*Nazwa związku*	*Wydajność reakcji [%]*	*Temperatura topnienia [°C]*
1	*C_8H_{17}*	*C_8H_{17}*	*[DiC$_8$DMA][JS-M]*	*75*	*40-43*
2	*$C_{10}H_{21}$*	*$C_{10}H_{21}$*	*[DDA][JS-M]*	*82*	*51-52*
3	*$C_{16}H_{33}$*	*$C_{16}H_{33}$*	*[DiC$_{16}$DMA][JS-M]*	*95*	*49-53*
4	*$C_{12}H_{25}$*	*CH_3*	*[C$_{12}$TMA][JS-M]*	*88*	*67-70*
5	*$C_{14}H_{29}$*	*CH_3*	*[C$_{14}$TMA][JS-M]*	*92*	*64-66*
6	*$C_{16}H_{33}$*	*CH_3*	*[C$_{16}$TMA][JS-M]*	*87*	*76-79*
7	*$C_{18}H_{37}$*	*CH_3*	*[C$_{18}$TMA][JS-M]*	*69*	*89-92*
8	*$C_{22}H_{45}$*	*CH_3*	*[C$_{22}$TMA][JS-M]*	*72*	*61-63*

Źródło: Opracowanie własne

3.2. Identyfikacja produktów

3.2.1. Wyniki spektroskopii UV

Dla każdej badanej próbki obliczono dokładne stężenie (*c*), następnie na podstawie wyznaczonych wartości maksimum absorpcji (*A*), molowe współczynniki absorpcji (ε). Obliczeń dokonano na podstawie prawa Lamberta-Beera [23]:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c \tag{1}$$

gdzie: ε – molowy współczynnik absorpcji [-] l – długość drogi wiązki promieniowania (w tym przypadku 1 cm) [cm] c – stężenie molowe [mol·dm^{-3}].

Wszystkie próbki charakteryzowały się maksimum absorpcji przy jednakowej długości fali (λ_{max} = 255 nm) z wyjątkiem [C$_{12}$TMA][JS-M] (4), dla którego λ_{max} wyniosła 256 nm. Wysokie molowe współczynniki absorpcji wskazują na występowanie pasma K, związanego z przejściem elektronów π→π*. Wystąpienie tego pasma jest charakterystyczne dla związków, w których występują podstawione pierścienie aromatyczne. Ponadto, zyskane wyniki były bardzo zbliżone, co oznacza, że wpływ struktury kationu amoniowego na wartość ε jest niewielki. Otrzymane wyniki przedstawiono w tabeli 2.

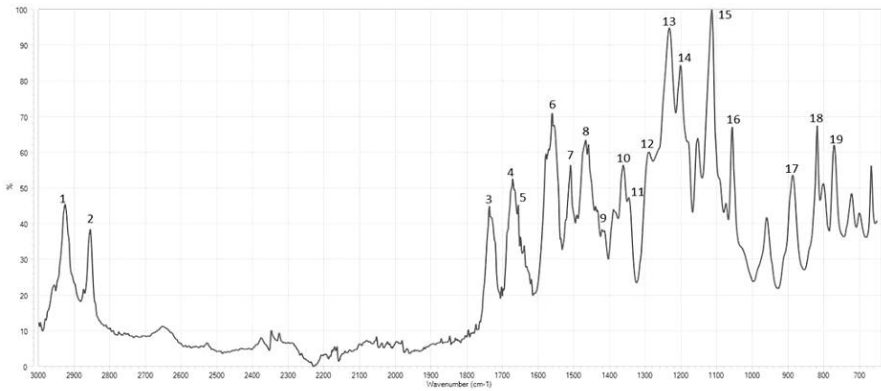
Tabela 2. Wyniki analizy produktów za pomocą spektroskopii UV

Nr	*Maksimum absorpcji [-]*	*Długość fali [nm]*	*Stężenie [mol·dm^{-3}]*	*Molowy współczynnik absorpcji [dm^3·mol^{-1}·cm^{-1}]*
1	*1,168*	*255*	*7,09·10^{-5}*	*16502*
2	*1,114*	*255*	*6,49·10^{-5}*	*17103*
3	*0,906*	*255*	*5,3·10^{-5}*	*17169*
4	*1,373*	*256*	*8,44·10^{-5}*	*16232*
5	*1,125*	*255*	*6,29·10^{-5}*	*17965*
6	*1,206*	*255*	*7,09·10^{-5}*	*17066*
7	*1,130*	*255*	*6,84·10^{-5}*	*16520*
8	*0,951*	*255*	*5,49·10^{-5}*	*17304*

Źródło: Opracowanie własne

3.3. Wyniki spektroskopii FT-IR

Analizę techniką spektrometrii podczerwieni (FT-IR) wykonano zgodnie z metodologią zawartą w podpunkcie 2.3.4. W celu ułatwienia procedury nanoszenia próbki na sondę badane produkty podgrzano do temperatury, w której są lepkimi cieczami. Poniżej zaprezentowano widmo FT-IR wraz ze szczegółową analizą dla jodosulfuronu mirystylotrimetyloamoniowego (5) (rys. 4).



Rysunek 4. Analiza widma FT-IR związku nr 5. Źródło: Opracowanie własne

W tabeli 3 przedstawiono długości fali, przy których występuje maksimum absorpcji promieniowania IR oraz odpowiadające im typy drgań odpowiednich grup funkcyjnych.

Tabela 3. Drgania występujące w widmie związku nr 5

Nr	*Liczba falowa [cm^{-1}]*	*Drgania*	*Nr*	*Liczba falowa [cm^{-1}]*	*Drgania*
1	*2925*	*C-Hγ alif.*	*11*	*1345*	*C-Nγ arom.*
2	*2855*	*C-Hγ alif.*	*12*	*1290*	*C-Nγ arom.*
3	*1736*	*C=Oγ est.*	*13*	*1233*	*Ph-O-C alif.*
4	*1679*	*C=Oγ arom.*	*14*	*1202*	*C-Oγ est.*
5	*1655*	*C=Oγ amid*	*15*	*1113*	*C-Nγ alif.*
6	*1562*	*C=Cγ arom.*	*16*	*1055*	*C-Nγ alif.*
7	*1510*	*C=Cγ arom.*	*17*	*887*	*C-Hγ arom.*
8	*1467*	*C-Hσ alif.*	*18*	*819*	*C-Hγ arom.*
9	*1417*	*C-Nγ alif.*	*19*	*773*	*N-Hσ*
10	*1388*	*S-Oγ*			

Źródło: Opracowanie własne

Wykorzystując numerację sygnałów z rysunku 3 oraz tabeli 3 wyznaczono maksima absorpcji dla pozostałych produktów, które zestawiono w tabeli 4.

Z uwagi na podobieństwo strukturalne wykorzystanych kationów tetraalkiloamoniowych w syntezowanych cieczach jonowych różnice w położeniu analizowanych sygnałów były niewielkie. Zaobserwowano jedynie wyraźne różnice w intensywności pasm pochodzących od drgań rozciągających C-Hγ alif., związanych ze zmianą długości łańcuchów alkilowych połączonych z czwartorzędowym atomem azotu.

Tabela 4. Zestawienie drgań występujących w otrzymanych związkach

Nr związku/ sygnału	*Liczba falowa [cm^{-1}]*							
	1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*
1	*2924*	*2921*	*2924*	*2930*	*2925*	*2927*	*2923*	*2928*
2	*2854*	*2854*	*2856*	*2855*	*2855*	*2855*	*2853*	*2855*
3	*1735*	*1735*	*1735*	*1738*	*1736*	*1738*	*1738*	*1738*
4	*1672*	*1674*	*1672*	*1672*	*1679*	*1672*	*1671*	*1671*
5	*1578*	*1656*	*1656*	*1656*	*1655*	*1655*	*1655*	*1655*
6	*1560*	*1561*	*1561*	*1563*	*1562*	*1563*	*1562*	*1562*
7	*1509*	*1514*	*1510*	*1511*	*1510*	*1511*	*1510*	*1510*
8	*1468*	*1467*	*1467*	*1468*	*1467*	*1468*	*1467*	*1467*
9	*1431*	*1431*	*1431*	*1422*	*1417*	*1421*	*1421*	*1421*
10	*1359*	*1357*	*1359*	*1361*	*1388*	*1362*	*1365*	*1362*
11	*1343*	*1337*	*1343*	*1343*	*1345*	*1346*	*1340*	*1344*
12	*1274*	*1278*	*1289*	*1284*	*1290*	*1291*	*1281*	*1261*
13	*1233*	*1235*	*1235*	*1232*	*1233*	*1234*	*1236*	*1234*
14	*1200*	*1195*	*1200*	*1200*	*1202*	*1203*	*1200*	*1202*
15	*1113*	*1110*	*1116*	*1110*	*1113*	*1112*	*1111*	*1113*
16	*1056*	*1053*	*1054*	*1055*	*1055*	*1055*	*1054*	*1055*
17	*886*	*883*	*885*	*888*	*887*	*887*	*884*	*885*
18	*819*	*818*	*818*	*819*	*819*	*819*	*819*	*819*
19	*770*	*772*	*770*	*771*	*773*	*772*	*721*	*722*

Źródło: Opracowanie własne

3.3.1. Wyniki spektroskopii NMR

Przy pomocy spektroskopii protonowego i węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego potwierdzono struktury związków nr 1, 3, 5, 8.

Wynik badania jodosulfuronu dioktylodimetyloamoniowego (1):

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 0,88 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H), 1,23 (m, 16H), 1,29 (m, 4H), 1,61 (m, 4H), 2,40 (s, 3H), 3,13 (s, 6H), 3,25 (m, 4H), 3,87 (s, 3H), 3,92 (s, 3H), 7,10 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,73 (dd, *J* = 8,0 Hz; 1,7 Hz, 1H), 8,42 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 13,9; 22,5; 25,4; 26,1; 29,3; 31,7; 50,9; 52,7; 54,4; 63,8; 95,3; 128,9; 131,5; 137,4; 138,6; 144,5; 155,1; 165,5; 168,7; 171,0; 178,4.

Wynik badania jodosulfuronu dicetylodimetyloamoniowego (3):

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 0,88 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H), 1,26 (m, 24H), 1,32 (m, 4H), 1,61 (m, 4H), 2,40 (s, 3H), 3,13 (s, 6H), 3,22 (m, 4H), 3,87 (s, 3H), 3,92 (s, 3H), 7,10 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,73 (dd, *J* = 8,0; 1,7 Hz, 1H), 8,43 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 13,9; 22,5; 25,4; 26,1; 29,5; 31,8; 50,9; 52,6; 54,4; 63,7; 95,3; 128,9; 131,5; 137,4; 138,6; 144,5; 155,1; 165,5; 168,7; 171,0; 178,4.

Wynik badania jodosulfuronu mirystylotrimetyloamoniowego (5):

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 0,88 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,26 (m, 20H), 1,30 (m, 2H), 1,62 (m, 2H), 2,39 (s, 3H), 3,17 (s, 8H), 3,22 (m, 4H), 3,86 (s, 3H), 3,91 (s, 3H), 7,10 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,73 (dd, *J* = 8,0; 1,7 Hz, 1H), 8,40 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 14,0; 22,6; 25,4; 26,1; 29,1; 29,4; 29,5; 31,8; 52,7; 53,2; 54,5; 66,7; 95,3; 129,0; 131,5; 137,3; 138,8; 144,4; 155,3; 165,5; 168,7; 171,0; 178,4.

Wynik badania jodosulfuronu behenylotrimetyloamoniowego (8):

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 0,88 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,26 (m, 36H), 1,32 (m, 2H), 1,64 (m, 2H), 2,39 (s, 3H), 3,18 (s, 9H), 3,24 (m, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,91 (s, 3H), 7,12 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,75 (dd, *J* = 7,9; 1,7 Hz, 1H), 8,40 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 14,0; 22,5; 25,4; 26,0; 29,5; 31,7; 52,7; 53,1; 54,4; 66,6; 95,3; 129,0; 131,4; 137,2; 138,7; 144,3; 155,2; 165,4; 168,6; 171,0; 178,4.

3.4. Analiza rozpuszczalności

Rozpuszczalność otrzymanych cieczy jonowych zbadano według metodologii przedstawionej w punkcie 2.3.1. Uzyskane wyniki rozpuszczalności w dziesięciu wybranych rozpuszczalnikach uszeregowano w kolejności malejącej polarności, w skali Snydera (tab. 5).

Spośród otrzymanych cieczy jonowych jedynie produkt z kationem cocotrimetyloamoniowym (4) rozpuszczał się w wodzie, aczkolwiek z pewną trudnością. Natomiast wszystkie sole rozpuszczały się w metanolu, DMSO, acetonitrylu, acetonie, chloroformie. W toluenie ulegały rozpuszczeniu wszystkie sole, lecz wymagało to użycia większych ilości rozpuszczalnika. Z kolei niewielkie powinowactwo do heksanu wykazały jedynie dwa produkty zawierające w swojej strukturze podstawniki heksadecylowe – [DiC$_{16}$DMA][JS-M] (**3**) i [C$_{16}$TMA][JS-M] (6).

Tabela 5. Rozpuszczalność badanych związków w temperaturze 25°C

Nr	*Woda*	*Metanol*	*DMSO*	*Acetonitryl*	*Aceton*	*Izopropanol*	*Octan etylu*	*Chloroform*	*Toluen*	*Heksan*
	9,0[a]	*6,6*	*6,5*	*6,2*	*5,1*	*4,3*	*4,3*	*4,1*	*2,3*	*0,0*
1	-	+	+	+	+	+	+	+	-/+	-
2	-	+	+	+	+	+	+	+	-/+	-
3	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-/+
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
6	-	+	+	+	+	-	+	+	-/+	-/+
7	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
8	-	+	+	+	+	+	-/+	+	+	-

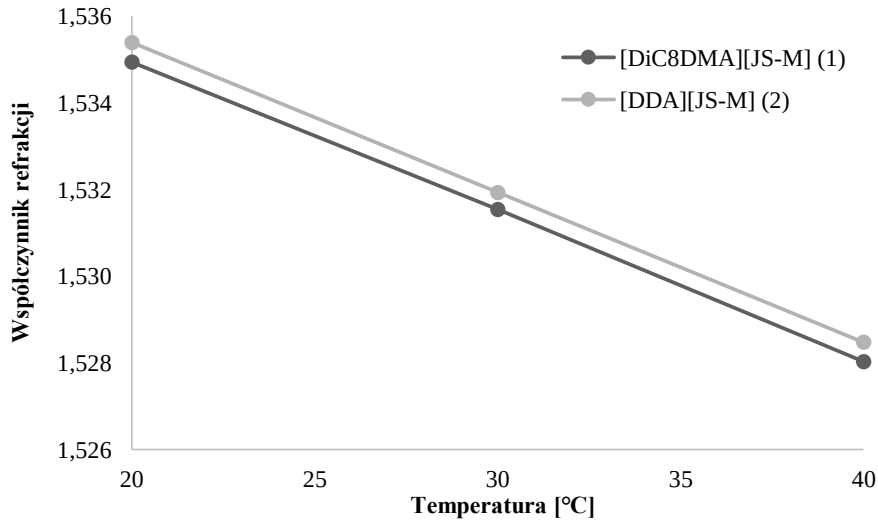
[a] – wartość w skali polarności Snydera, + rozpuszczalne w 1 cm^3 rozpuszczalnika, -/+ rozpuszczalne w 3 cm^3 rozpuszczalnika, - nierozpuszczalne w 3 cm^3 rozpuszczalnika

Źródło: Opracowanie własne

3.5. Badanie współczynnika załamania światła

Badanie współczynnika załamania światła (refrakcji) przeprowadzono według metody przedstawionej w punkcie 2.3.2. Parametr ten oznaczono jedynie dla dwóch związków: jodosulfuronu dioktylodimetyloamoniowego (1) oraz jodosulfuronu didecy-

lodimetyloamoniowego (2) (rys. 5). Obie sole po dokładnym wysuszeniu miały postać bardzo lepkich cieczy, które po upływie 4 tygodni skrystalizowały. Pozostałe produkty tuż po otrzymaniu miały postać uniemożliwiającą wykonanie tego badania. Współczynnik refrakcji oznaczono w trzech temperaturach: 20°C, 30°C i 40°C. W tabeli 6 przedstawiono wyniki jako średnie z trzech pomiarów.



Rysunek 5. Zależność współczynnika refrakcji od temperatury dla produktów 1 oraz 2
Źródło: Opracowanie własne

Tabela 6. Współczynniki refrakcji produktów 1 oraz 2

Temperatura [°C]	*[DiC$_8$DMA][JS-M] (1)*	*[DDA][JS-M] (2)*
20	*1,53494*	*1,53539*
30	*1,53154*	*1,53193*
40	*1,52803*	*1,52848*

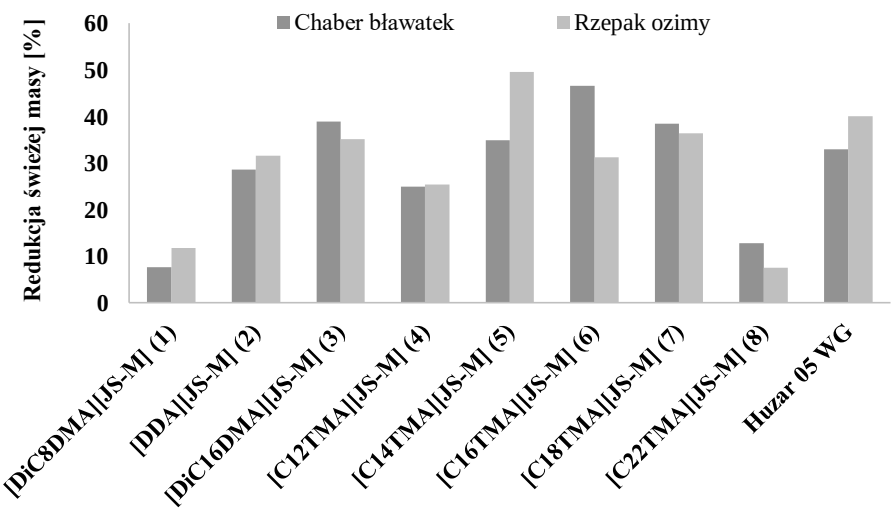
Źródło: Opracowanie własne

Otrzymane wyniki wykazują liniową tendencję spadkową dla współczynnika refrakcji światła w miarę wzrostu temperatury (rys. 5), co jest zgodne z danymi literaturowym na temat herbicydowych cieczy jonowych [15]. Różnice współczynników dla obu cieczy jonowych były niewielkie, jodosulfuron didecylodimetyloamoniowy (2) charakteryzował się nieznacznie większymi wartościami niż jodosulfuron dioktylodimetyloamoniowy (1).

3.6. Skuteczność chwastobójcza

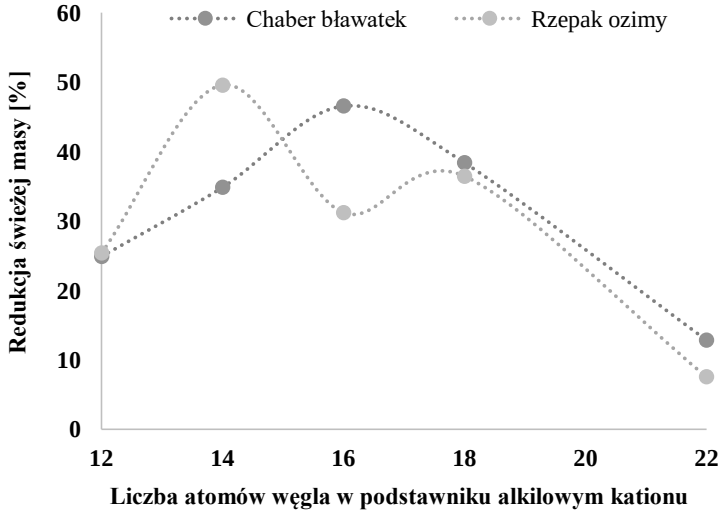
Doświadczenia związane z wyznaczeniem skuteczności chwastobójczej nowo powstałych cieczy jonowych szczegółowo opisano w punkcie 2.3.7., a uzyskane wyniki redukcji świeżej masy roślin przedstawiono na rysunku 6. Zastosowany herbicyd referencyjny Huzar 05 WG to komercyjny środek chwastobójczy stosowany w uprawie pszenicy ozimej, życie i pszenżycie ozimym. Substancją aktywną wykorzystanego preparatu jest sól sodowa jodosulfuronu metylu, której aktywność biologiczna

została wzmocniona poprzez dodanie ciężkich węglowodorów aromatycznych oraz niespecyfikowanej frakcji naftowej [24-26]. Jego udział w eksperymencie umożliwia porównanie aktywności chwastobójczej komercyjnego, dotychczas stosowanego w rolnictwie środka z nowo powstałymi pochodnymi tego herbicydu. Roślinami testowymi były chaber bławatek oraz rzepak ozimy, którego samosiewy stanowią konkurencję dla uprawianych zbóż i wpływają na zmniejszenie jakości, jak i ilości plonów. Zarówno ciecze jonowe, jak i preparat referencyjny zaaplikowano w tej samej dawce substancji aktywnej wynoszącej 7,5 g na hektar.

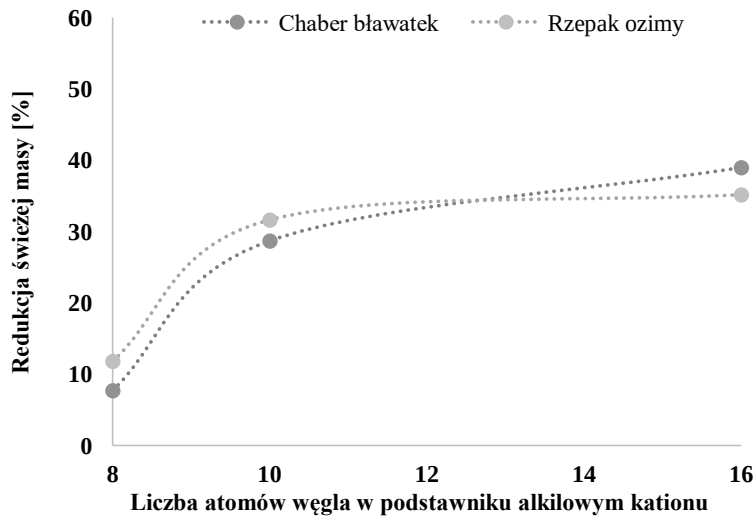


Rysunek 6. Redukcja świeżej masy roślin dla otrzymanych produktów (1-8) oraz preparatu komercyjnego
Źródło: Opracowanie własne

Zgodnie z danymi zaprezentowanymi na rysunku 6 największą skuteczność chwastobójczą wobec rzepaku ozimego (analizowanego, jako samosiewy) wykazywał jodosulfuron mirystylotrimetyloamoniowy (5), który jako jedyny charakteryzował się większym ubytkiem masy obydwu roślin testowych niż Huzar 05 WG. Z kolei jodosulfuron cetylotrimetyloamoniowy (6) cechował się największą spośród wszystkich badanych substancji aktywnością względem chabra bławatka.



Rysunek 7. Zależność redukcji masy od długości łańcucha dla związków z kationem alkilotrimetyloamoniowym (4-8). Źródło: Opracowanie własne



Rysunek 8. Zależność redukcji masy od długości łańcucha dla związków z kationem dialkilodimetyloamoniowym (1-3). Źródło: Opracowanie własne

Wyniki wskazują, że 16 atomów węgla to optymalna długość podstawnika obecnego w kationie alkilotrimetyloamoniowym dla chabra bławatka, a 14 atomów węgla dla rzepaku ozimego (rys. 7).

Co istotne, ciecz jonowa z najdłuższym (22-węglowym) łańcuchem wykazała najmniejszą aktywność chwastobójczą, co oznacza, że wydłużanie podstawnika alkilowego w kationie herbicydowej cieczy jonowej może osłabiać jej aktywność biologiczną. Z kolei analizując dane przedstawione na rysunku 8 można wywnioskować, że spośród

produktów z dwoma łańcuchami węglowymi w kationie najlepsze wyniki uzyskano dla cieczy jonowej zawierającej najdłuższe grupy alkilowe: [DiC$_{16}$DMA][JS-M] (3).

Wzrost aktywności chwastobójczej badanych produktów dla roślin chabra bławatka można uszeregować w następującej kolejności:
[DiC$_8$DMA][JS-M] < [C$_{22}$TMA][JS-M] < [C$_{12}$TMA][JS-M] < [DDA][JS-M] < Huzar 05 WG < [C$_{14}$TMA][JS-M] < [C$_{18}$TMA][JS-M] < [DiC$_{16}$DMA][JS-M] < [C$_{16}$TMA][JS-M].

Cztery spośród otrzymanych cieczy jonowych wykazały większą skuteczność niż preparat komercyjny. Natomiast dla roślin rzepaku ozimego badane produkty mogą zostać uporządkowane według wzrastającej aktywności w poniższy sposób:
[C$_{22}$TMA][JS-M] < [DiC$_8$DMA][JS-M] < [C$_{12}$TMA][JS-M] < [C$_{16}$TMA][JS-M] < [DDA][JS-M] < [DiC$_{16}$DMA][JS-M] < [C$_{18}$TMA][JS-M] < Huzar 05 WG < [C$_{14}$TMA][JS-M].

Podsumowując, otrzymane ciecze jonowe zachowały aktywność biologiczną pochodzącą od anionu jodosulfuronu metylu i można je zakwalifikować jako nowe herbicydowe ciecze jonowe. Związki te mogą być traktowane jako potencjalne zamienniki obecnie stosowanych herbicydów będących pochodnymi sulfonylomocznika.

4. Wnioski

- W wyniku przeprowadzonych reakcji wymiany anionu pomiędzy halogenkami tetraalkiloamoniowymi oraz solą sodową jodosulfuronu metylu zsyntezowano 8 nowych soli z wysoką wydajnością przekraczającą 70%. Dla każdego produktu z anionem sulfonylomocznika opracowano także efektywną metodę wyodrębniania ze środowiska reakcji oraz oczyszczania. Struktury zsyntezowanych związków zostały potwierdzone za pomocą widm ultrafioletu, podczerwieni, protonowego i węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego. Wszystkie otrzymane sole wykazywały temperaturę topnienia poniżej 100°C, zatem można je zaliczyć do cieczy jonowych;
- Dowiedziono, że większość spośród zsyntezowanych cieczy jonowych jest bardzo trudno rozpuszczalna w wodzie, natomiast wszystkie z nich dobrze rozpuszczają się w metanolu, akrylonitrylu, acetonie i dimetylosulfotlenku (DMSO). Ponadto, jedynie dwie z soli ulegają rozpuszczeniu w heksanie;
- W wyniku badań stwierdzono, że zsyntezowane ciecze jonowe wykazują aktywność chwastobójczą wobec roślin chabra bławatka i samosiewów rzepaku ozimego, przez co można zasugerować zaliczenie ich do nowych herbicydowych cieczy jonowych. Największą skuteczność chwastobójczą spośród zsyntezowanych cieczy jonowych, ocenianą ubytkiem masy wobec samosiewów rzepaku ozimego, wykazywał jodosulfuron mirystylotrimetyloamoniowy (5), a z kolei jodosulfuron cetylotrimetyloamoniowy (6) cechował się największą spośród wszystkich badanych substancji aktywnością względem chabra bławatka.
- Ze względu na wysoką aktywność biologiczną, testowane ciecze jonowe mogą być uwzględnione jako potencjalne zamienniki obecnie stosowanych herbicydów z grupy sulfonylomoczników.

Uwagi ogólne/Podziękowania

Składamy podziękowania Pani dr hab. Katarzynie Marcinkowskiej za pomoc w wykonaniu testów aktywności biologicznej. Badania zostały częściowo sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki (SONATA 14, nr grantu 2018/31/D/ST5/01057).

Literatura

1. State of World Population 2019, UNFPA, 164.
2. Powles S.B., Yu Q., *Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides*, Annual Review of Plant Biology, 61, 2010, s. 317-47.
3. Vencill W.K., Nichols R.L., Webster T.M., Soteres J.K., Mallory-Smith C., Burgos N.R., Johnson W.G., McClelland M.R., *Herbicide Resistance: Toward an Understanding of Resistance Development and the Impact of Herbicide-Resistant Crops*, Weed Science, 60, 2012, s. 2-30.
4. Beckie H.J., Tardif F.J., *Herbicide cross resistance in weeds*, Crop Protection, 35, 2012, s. 15-28.
5. Owen M.D.K., Zelaya I.A., *Herbicide-resistant crops and weed resistance to herbicides*, Pest Management Science, 61, 2005, s. 301-11.
6. Owen M.D.K., *Herbicide resistance*, Biotechnology in Agriculture and Forestry, 64, 2010, s. 159-76.
7. Jamiołkowska A., Hetman B., Skwaryło-Bednarz B., Kopacki M., *Integrowana ochrona roślin w Polsce i Unii Europejskiej oraz prawne podstawy jej funkcjonowania. Praca przeglądowa*, Annales UMCS, Sectio E Agricultura, 71, 2017, s. 103-111.
8. Kirchner B., *Ionic liquids from theoretical investigations*, Topics in Current Chemistry, 290, 2009, s. 213-62.
9. Pernak J., Rzemieniecki T., Materna K., *O cieczach jonowych „w pigułce" (historia, właściwości i rozwój)*, CHEMIK, 70, 2016, s. 471-475.
10. Yu G., Zhao D., Wen L., Yang S., Chen X., *Viscosity of ionic liquids: Database, observation, and quantitative structure-property relationship analysis*, AIChE Journal, 58, 2012, s. 2885-99.
11. Triolo A., Russina O., Fazio B., Appetecchi G.B., Carewska M., Passerini S., *Nanoscale organization in piperidinium-based room temperature ionic liquids*, Journal of Chemical Physics, 130, 2009, s. 1-6.
12. Adamczewski K., *Wpływ sześcioletniego stosowania herbicydów na uodpornienie się miotły zbożowej (Apera spica-venti (L.) P.B.) na preparaty sulfonylomocznikowe*, Fragmenta Agronomica, 26, 2009, s. 7-15.
13. Woźnica Z., *Herbologia Podstawy biologii, ekologii i zwalczania chwastów*, Wyd. PWRiL, Wrocław 2008.
14. Pernak J., Syguda A., Janiszewska D., Materna K., Praczyk T., *Ionic liquids with herbicidal anions*, Tetrahedron, 67, 2011, s. 4838-4844.
15. Niemczak M., Rzemieniecki T., Biedziak A., Marcinkowska K., Pernak J., *Synthesis and Structure–Property Relationships in Herbicidal Ionic Liquids and their Double Salts*, Chempluschem, 83, 2018, s. 529-541.
16. Sola D., Rossi L., Schianca G.P.C., Maffioli P., Bigliocca M., Mella R., Corlianò F., Paolo Fra G., Bartoli E., Derosa G., *Sulfonylureas and their use in clinical practice*, Archives of Medical Science, 11, 2015, s. 840-848.
17. Barros J.C., Calado J.G., Basch G., Carvalho M.J., *Effect of different doses of post-emergence-applied iodosulfuron on weed control and grain yield of malt barley (Hordeum*

distichum L.), under Mediterranean conditions, Journal of Plant Protection Research, 56, 2016, s. 15-20.
18. Hang B.J., Hong Q., Xie X.T., Huang X., Wang C.H., He J., Li S.P., *SulE, a sulfonylurea herbicide de-esterification esterase from Hansschlegelia zhihuaiae S113,* Applied and Environmental Microbiology, 78, 2012, s. 1962-1968.
19. HRAC Mode of Action Classification 2020 Map, https://hracglobal.com/tools/hrac-mode-of-action-classification-2020-map, dostęp 25.06.2020.
20. Nowaczyk K., Obrępalska-Stęplowska A., *Wybrane mechanizmy nabywania odporności organizmów na środki ochrony roślin*, Postępy Biologii Komórki, 33, 2006, s. 137-159.
21. Aquilante C.L., *Sulfonylurea pharmacogenomics in Type 2 diabetes: The influence of drug target and diabetes risk polymorphisms*, Expert Review of Cardiovascular Therapy, 8, 2010, s. 359-72.
22. Snopczyński T., https://zwalczamychwasty.pl/jodosulfuron-metylosodowy/, dostęp 25.06.2020.
23. Cygański A., *Metody Spektroskopowe w Chemii Anality*cznej, Wyd. PWN, Warszawa 2017.
24. https://www.agro.bayer.com.pl/-/media/website/files/karty/huzar-activ-plus-karta-charakterystyki.pdf, dostęp 25.06.2020.
25. https://www.agro.bayer.com.pl/-/media/website/files/karty/huzar-activ-387-od-kch.pdf?download=1,dostęp 25.06.2020.
26. https://gov.pl/documents/912055/913531/Huzar+05+WG.pdf, dostęp 25.06.2020.

Ciecze jonowe z anionem sulfonylomocznika jako nowoczesne środki ochrony roślin przeciwko chwastom

Streszczenie

Corocznie rolnicy zmagają się z niepożądanymi gatunkami chwastów, które są odpowiedzialne za znaczące obniżenie wielkości i jakości plonów roślin uprawnych, głównie poprzez konkurowanie z nimi o składniki pokarmowe, wodę i dostęp do światła słonecznego. Zgodnie z obowiązującą od 1 stycznia 2014 roku w krajach Unii Europejskiej Integrowaną Ochroną Roślin (IOR) producenci zobowiązani są do wykorzystania wszystkich dostępnych metod ochrony roślin, przede wszystkim niechemicznych, a w koniecznych przypadkach zastosowania środków ochrony roślin. Wykonanie zabiegów chemicznych powinno odbywać się w oparciu o monitoring występowania organizmów szkodliwych, po uwzględnieniu ich ekonomicznej szkodliwości. Dlatego w uzasadnionych przypadkach ochrony roślin uprawnych przed chwastami istotne jest stosowanie skutecznych i jednocześnie innowacyjnych preparatów ochrony roślin, aby zminimalizować ryzyko ich wpływu na środowisko, zdrowie zwierząt i człowieka.

W niniejszej pracy przedstawiono metodykę syntezy nowych herbicydowych cieczy jonowych zawierających w anionie pochodną sulfonylomocznika o działaniu chwastobójczym i nazwie zwyczajowej jodosulfuron metylu. Należy zaznaczyć, że przeciwjony w otrzymanych związkach stanowią czwarto-rzędowe kationy amoniowe z długołańcuchowymi podstawnikami alkilowymi. W toku badań opracowano efektywną metodę syntezy nowych herbicydów wykorzystując reakcję wymiany jonowej pomiędzy sola sodową jodosulfuronu metylu oraz odpowiednimi chlorkami dialkilodimetyloamoniowymi. W rezultacie otrzymano osiem nowych, nieopisanych w literaturze soli, z których wszystkie zakwalifikowano do grupy cieczy jonowych. Struktury otrzymanych produktów potwierdzono za pomocą spektroskopii NMR, UV oraz FT-IR. Zbadano również rozpuszczalność wszystkich produktów w popularnych rozpuszczalnikach o różnej polarności oraz wyznaczono ich temperatury topnienia. Otrzymane nowe produkty poddano również badaniom aktywności biologicznej umożliwiającym ocenę ich skuteczności wobec roślin testowych, będących popularnymi chwastami, na przykład chabra bławatka powszechnie występującego w uprawach rolniczych czy samosiewów rzepaku ozimego. Można zasugerować, że obecność anionu o działaniu chwastobójczym pozwala zakwalifikować nowo zsyntezowane związki do grupy herbicydowych cieczy jonowych, co wskazuje na ich wysoki potencjał aplikacyjny.

Słowa kluczowe: chwasty, ochrona roślin, herbicydowe ciecze jonowe, analiza spektralna

Ionic liquids with a sulfonylurea anion as modern plant protection products against weeds

Abstract

Every year, farmers have to struggle with undesirable weed species, which are responsible for significant reduction of the quantity and quality of crop yields, mainly by competing with cultivated plant for nutrients, water and access to sunlight. In accordance with the Integrated Plant Protection (IPP), introduced in January 1 in 2014 in the European Union countries, producers are obliged to use all available methods of plant protection, especially non-chemical ones and only, if necessary, apply plant protection products. Chemical treatments should be based on the monitoring of harmful organisms, after taking into account their economic harmfulness. Therefore, in justified cases of protecting crops against weeds, it is important to use effective as well as innovative plant protection preparations to minimize the risk of their impact on the environment, animal and human health.

This paper presents a methodology for the synthesis of new herbicidal ionic liquids containing in the anion a sulfonyl urea derivative with the common name iodosulfuron methyl that exhibits herbicidal activity. It should be noted that the ions in the obtained compounds are quaternary ammonium cations containing long-chain alkyl substitutes. In the course of this study, an effective method of synthesis of new herbicides was developed using the ion exchange reaction between the sodium salt of iodosulfuron-methyl and the corresponding dialkyldimethylammonium chlorides. In result eight new salts, not known in the literature, were obtained. Additionally, their melting points indicated that all of them may be classified as ionic liquids. The structures of the obtained products were confirmed by NMR, UV and FT-IR spectroscopies and subsequently, their solubility was tested in ten popular solvents of characterized by different polarity. The obtained new products were also subjected to biological activity tests to assess their effectiveness against test plants, which are popular weeds, like winter rapeseed self-seedings or cornflower that is known to be widely spread in agricultural crops. It can be suggested that the presence of a weed-killing anion allow to classify the newly synthesized compounds as herbicidal ionic liquids, which indicates their high application potential.

Keywords: weeds, plant protection, herbicide ionic liquids, spectral analysis

Agnieszka Królicka[1], Jerzy Zarębski[2], Andrzej Bobrowski[3], Julia Gonciarczyk[4]

Woltamperometria jako narzędzie do oznaczania pierwiastków kluczowych dla nowoczesnych technologii na przykładzie Ge(IV)

1. Wprowadzenie

Urządzenia, z których korzystamy na co dzień stają się coraz bardziej skomplikowane jednocześnie oferując użytkownikowi coraz to nowe możliwości. Szczególną metamorfozę przeszły telefony, które w postaci smartfonów obecnie służą nie tylko do przesyłania dźwięku, ale łączą funkcje komputera, telefonu, aparatu fotograficznego, dyktafonu oraz urządzenia do geolokalizacji. Wprowadzenie nowych funkcji było możliwe dzięki rozwojowi nowoczesnych technologii z zakresu elektroniki, optyki, miniaturyzacji czy elektrochemii. Nadanie urządzeniom dodatkowych funkcji wymagało użycia nowych materiałów, do których wytwarzania konieczne jest zastosowanie niewykorzystywanych wcześniej surowców. Urządzenia stosowane jeszcze w latach dziewięćdziesiątych dwudziestego wieku były produkowane z wykorzystaniem około 20 pierwiastków [1], natomiast obecnie szacuje się, że liczba pierwiastków stosowanych do wyprodukowania telefonu komórkowego obejmuje około 50 różnych metali. Użycie nowych materiałów sprawiło, że urządzenia, które mamy współcześnie do dyspozycji stają się z roku na rok coraz mniejsze, lżejsze oraz oferują coraz więcej możliwości [2]. Ocenia się, że każdy stabilny pierwiastek w układzie okresowym znalazł swoje zastosowanie w produkcji nowoczesnych materiałów [3]. Ze względu na rosnące zapotrzebowanie z roku na rok rośnie globalne zużycie pierwiastków wcześniej nie wykorzystywanych w przemyśle. Ze względu na ich kluczowe znaczenie dla rozwoju nowoczesnych technologii zaliczane są do „surowców krytycznych" lub „surowców o krytycznym znaczeniu dla nowych technologii" (ang. *Critical raw materials* (CRMs), *technology critical elements* (TCEs), *Critical elements, Critical materials, Energy critical elements, Elements of security*) a ich listy są publikowane przez instytucje rządowe szeregu państw (np. USA: Final List of Critical Minerals, 2018, Unia Europejska: Komunikat Komisji do Parlamentu Europejskiego, Rady, Europejskiego Komitetu Ekonomiczno-Społecznego i Komitetu Regionów w sprawie

[1] krolicka@agh.edu.pl, Katedra Technologii Materiałów Budowlanych, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, AGH Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków.

[2] zarebski.jerzy@gmail.com, Katedra Technologii Materiałów Budowlanych, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, AGH Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków.

[3] abobrow@agh.edu.pl, Katedra Technologii Materiałów Budowlanych, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, AGH Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków.

[4] julia.sliwa08@gmail.com, Katedra Technologii Materiałów Budowlanych, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, AGH Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków.

wykazu surowców krytycznych dla UE 2017). Listy pierwiastków i surowców krytycznych dla rozwoju nowych technologii są co kilka lat aktualizowane i po każdej korekcie stają się coraz dłuższe. Pierwsza lista powstała w 2011 r. i obejmowała 14 CRM a zestawienie z 2017 roku zawierało już 27 pozycji. Tabela 1 pokazuje jak zmieniały się listy pierwiastków kluczowych w latach 2011-2018, oraz które z pierwiastków znajdują zastosowanie do produkcji smartfonów. Jedynie nieliczne z pierwiastków wymienionych na liście są produkowane na terenie UE (np. hafn), pozostałe są importowane, głównie z Chin (pierwiastki ziem rzadkich (ang. *rare earth elements* REE), magnez, wolfram, antymon, gal, german). Pomimo że minerały zawierające metale należące do CRM są dość rozpowszechnione w przyrodzie, tylko niektóre z nich mogą być eksploatowane. Przykładem mogą być minerały z grupy eudialitu, złożonego krzemianu o wzorze: $N_{15}[M(1)]_6[M(2)]_3[M(3)][M(4)]Z_3[Si_{24}O_{72}]O'_4X_2$, gdzie N = Na, Ca, K, Sr, REE, Ba, Mn, H_3O^+, M(1) = Ca, Mn, REE, Na, Sr, Fe, M(2) = Fe, Mn, Na, Zr, Ta, Ti, K, Ba, H_3O^+, M(3,4) = Si, Nb, Ti, W, Na, Z = Zr, Ti, Nb; O' = O, OH^-, H_2O; X = H_2O, Cl^-, F^-, OH^-, CO_3^{2-}, SO_4^{2-}, SiO_4^{4-}, zawierające około 1-10% REE_2O_3 [4], które ze względu na trudności technologiczne i brak możliwości efektywnego rozdzielenia REE nie są wykorzystywane jako surowiec do wytwarzania pierwiastków ziem rzadkich na skalę przemysłową. O skali trudności procesu rozdzielenia REE może świadczyć fakt, iż nawet preparaty farmaceutyczne zawierające gadolin o stężeniu 0.5 M, które podawane są dożylnie pacjentom w ramach przygotowania do badań za pomocą tomografii rezonansu magnetycznego, są zanieczyszczone innymi metalami z grupy REE. Badania dostępnych na rynku preparatów gadolinowych wykazały, że mogą one zawierać od 0,64 mgL^{-1} do 2,16 mgL^{-1} REE [5]. Minerały pierwiastków ziem rzadkich występują także w Polsce, ale zawartość ich jest niewielka i nie mają znaczenia gospodarczego [6]. Jako źródła metali z grupy CRM rozważane są również odpady pochodzące z zużytego sprzętu elektronicznego, zużyte katalizatory, a także fosfogipsy oraz popioły lotne. Popioły lotne są produktem ubocznym spalania węgla kamiennego oraz węgla brunatnego, wychwytywanym w instalacjach służących do oczyszczania spalin. Na cząstkach popiołów, zawierających głównie krzem, glin, wapń, żelazo, sód, potas i magnez, ulegają zatężeniu niektóre metale, obecne w śladowych ilościach w spalanych paliwach stałych. Dane literaturowe wskazują, że popioły lotne mogą zawierać niektóre metale z grupy metali ziem rzadkich w ilości nawet kilkuset mg/kg (np. Ce [7]), a także kilkadziesiąt mg/kg La, Nd, Y [8] oraz kilkanaście mg/kg Pe, Sm, Gd, Dy [8].

Tabela 9. Lista surowców o krytycznym znaczeniu dla nowych technologii

L.p.	*L. a.*	*Pierwiastek / wykorzystanie w telefonii komórkowej*	*USA*[*]	*EU (2014)*[**]	*EU (2017)*[***]
1	*2*	*He*	*tak*		*tak*
2	*3*	*Li / baterie litowe ($LiCoO_2$)*	*tak*		
3	*4*	*Be*	*tak*	*tak*	*tak*
4	*5*	*B*		*tak*	*tak*

5	*6*	*C*	*tak (naturalny grafit)*	*tak (grafit naturalny, koksujący)*	*tak (grafit naturalny, koksujący)*
6	*9*	*F*	*tak (fluoryt)*	*tak (fluoryt)*	*tak (fluoryt)*
7	*12*	*Mg / stopy magnezu do wytwarzania obudów telefonów*	*tak*	*tak*	*tak*
8	*13*	*Al*	*tak (Boksyt)*		
9	*14*	*Si / chipy dla elektroniki*			*tak (krzem metaliczny)*
10	*15*	*P*		*tak (fosforyt)*	*tak (fosfor, fosforyt)*
11	*19*	*K*	*tak (potaż)*		
12	*21*	*Sc*	*tak (REE)*		*tak (REE)*
13	*22*	*Ti*	*tak*		
14	*23*	*V*	*tak*		*tak*
15	*24*	*Cr*	*tak*		
16	*25*	*Mn*	*tak*		
17	*27*	*Co / baterie litowe ($LiCoO_2$)*	*tak*	*tak*	*tak*
18	*31*	*Ga / chipy dla elektroniki*		*tak*	*tak*
19	*32*	*Ge*	*tak*	*tak*	*tak*
20	*33*	*As / chipy dla elektroniki*	*tak*		
21	*37*	*Rb*	*tak*		
22	*38*	*Sr*	*tak*		
23	*39*	*Y / kolorowe wyświetlacze*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
24	*40*	*Zr*	*tak*		
25	*41*	*Nb*	*tak*	*tak*	*tak*
26	*44*	*Ru*	*tak*	*tak*	*tak*
27	*45*	*Rh*	*tak*	*tak*	*tak*
28	*46*	*Pd*	*tak*	*tak*	*tak*
29	*49*	*In / szkło przewodzące dla ekranów dotykowych*			*tak*
30	*50*	*Sn / szkło przewodzące dla ekranów dotykowych, lutowanie – elektronika*	*tak*		
31	*51*	*Sb chipy dla elektroniki*	*tak*	*tak*	*tak*
32	*52*	*Te*	*tak*		
33	*55*	*Cs*	*tak*		
34	*56*	*Ba*	*tak (baryt)*		*tak (baryt)*

35	*57*	*La / kolorowe wyświetlacze*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
36	*58*	*Ce*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
37	*59*	*Pr / kolorowe wyświetlacze, magnesy w głośniku i mikrofonie*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
38	*60*	*Nd / magnesy w głośniku i mikrofonie; elementy wibrujące*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
39	*61*	*Pm*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
40	*62*	*Sm*	*tak (REE)*		
41	*63*	*Eu / kolorowy wyświetlacz*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
42	*64*	*Gd / kolorowe wyświetlacze, magnesy w głośniku i mikrofonie*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
43	*65*	*Tb / kolorowe wyświetlacze, magnesy w głośniku i mikrofonie*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
44	*66*	*Dy / kolorowe wyświetlacze, magnesy w głośniku i mikrofonie*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
45	*67*	*Ho*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
46	*68*	*Er*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
47	*69*	*Tm*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
48	*70*	*Yb*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
49	*71*	*Lu*	*tak (REE)*	*tak (REE)*	*tak (REE)*
50	*72*	*Hf*	*tak*		*tak*
51	*73*	*Ta / mikro kondensatory*	*tak*		*tak*
52	*74*	*W*	*tak*	*tak*	*tak*
53	*75*	*Re*	*tak*		
54	*76*	*Os*	*tak*		
55	*77*	*Ir*	*tak*	*tak*	*tak*
56	*78*	*Pt*	*tak*	*tak*	*tak*
57	*83*	*Bi*	*tak*		*tak*
58	*92*	*U*	*tak*		

* – Final List of Critical Minerals, 2018
** – Komunikat Komisji do Parlamentu Europejskiego, Rady, Europejskiego Komitetu Ekonomiczno-Społecznego i Komitetu Regionów w sprawie przeglądu wykazu surowców krytycznych dla UE i wdrażania inicjatywy na rzecz surowców 2014
*** – Komunikat Komisji do Parlamentu Europejskiego, Rady, Europejskiego Komitetu Ekonomiczno-Społecznego i Komitetu Regionów w sprawie wykazu surowców krytycznych dla UE 2017
L. a. – liczba atomowa
Tak – pierwiastek wymieniony na liście UE lub USA

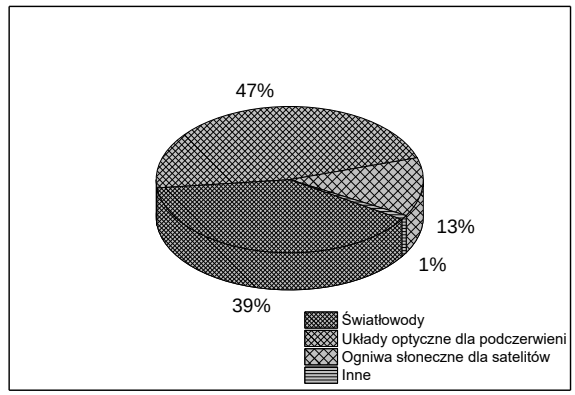
Mając na uwadze, że zawartości metali CRM w materiałach geologicznych, popiołach lotnych, jak również w odpadach elektronicznych, są na ogół bardzo niskie i rzadko przekraczają poziom mg/kg, procedury analityczne stosowane do oznaczania

CRM muszą odznaczać się bardzo wysoką czułością. Techniki stosowane do oznaczania CRM to najczęściej techniki spektrometryczne wykorzystujące plazmę sprzężoną indukcyjnie, czyli ICP – OES lub ICP – MS. Oznaczenie metali za pomocą ICP-MS, mimo bardzo wysokiej czułości tej techniki, może być utrudnione poprzez zawarte w próbce rozpuszczone sole, a także ze względu na interferencje spektralne. Koniecznym staje się więc stosowanie dodatkowych zabiegów mających na celu usunięcie soli i/lub zatężenie próbki (strącanie na nośniku, stosowanie żywic jonowymiennych, stosowanie specjalnych rozpylaczy). Technikami analitycznymi, które są niewrażliwe na obecność soli nieorganicznych, a jednocześnie odznaczają się niskimi granicami wykrywalności są techniki woltamperometryczne. W przypadku technik woltamperometrycznych źródłem informacji analitycznej jest prąd przepływający przez układ elektrod, zanurzonych w roztworze elektrolitu. Dodatkowo, stosując stripingową woltamperometrię (SV), analit po związaniu w odpowiedni związek kompleksowy może być nagromadzony i zatężany in-situ na powierzchni elektrody roboczej podczas pomiaru, bez konieczności zastosowania dodatkowych zabiegów i przyrządów. Wydłużając lub skracając czas zatężania można dostosować parametry metody analitycznej do zawartości analitu w próbce.

W pracy przedstawiono możliwość wykorzystania woltamperometrii stripingowej do oznaczania TCE na przykładzie oznaczania germanu.

2. German, źródła i zastosowania

Zawartość germanu w skorupie ziemskiej oceniana jest na kilka mg/kg, czyli jest względnie duża, w porównaniu z zawartością złota lub platyny, wynoszących kilka μg/kg, czy też irydu (1 μg/kg) i rodu (0,1 μg/kg). Jednakże german rzadko występuje jako główny składnik minerałów a jego niska zawartość i ograniczenia techniczne uniemożliwiają pozyskiwanie tego pierwiastka ze źródeł naturalnych. German jest produkowany głównie z odpadów powstających podczas obróbki rud cynku. Na świecie german jest wykorzystywany głównie do wytwarzania światłowodów, układów optycznych dla podczerwieni oraz jako katalizator procesów polimeryzacji. Zastosowania germanu na terenie UE przedstawiono na rysunku 1 [9]. Wśród materiałów produkowanych z wykorzystaniem germanu największy udział mają światłowody. Tlenek germanu w niewielkich ilościach jest dodawany do szkła w celu zwiększenia współczynnika załamania światła, co zapobiega absorpcji światła i utracie sygnału. Światłowody tego typu wykorzystywane są do budowy łączy o dużej przepustowości, na które stale rośnie zapotrzebowanie. Drugim w kolejności zastosowaniem germanu jest wytwarzanie układów optycznych dla podczerwieni, ponieważ german jest materiałem przepuszczającym promieniowanie podczerwone. Dzięki tej właściwości jest stosowany do wytwarzania soczewek, okienek i filtrów dla urządzeń optycznych, rejestrujących promieniowanie IR (noktowizory, kamery IR, spektroskopia IR). Trzecie w kolejności zastosowanie to wytwarzanie ogniw słonecznych, wykorzystywanych głównie w urządzeniach pracujących w przestrzeni kosmicznej.



Rysunek 1. Zastosowania germanu krajach UE [9]

3. Związki kompleksowe germanu

W roztworach wodnych o odczynie kwaśnym i słabo zasadowym german występuje w postaci obojętnego związku $[Ge(OH)_4]^0$, natomiast w środowisku zasadowym występuje w postaci anionu $[GeO(OH)_3]^-$. Krzywe dystrybucji nieorganicznych form germanu przedstawiono na rysunku 2. W obecności związków organicznych, takich jak kwasy karboksylowe, czy też katechol i jego pochodne, Ge(IV) chętnie tworzy związki kompleksowe. Tworzenie związków kompleksowych germanu opisują równania z (1)-(3).

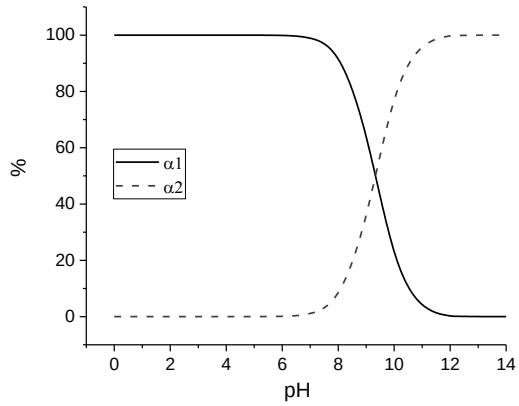
$$Ge(OH)_4 + 3H_2L \rightleftarrows [GeL_3]^{2-} + 2H^+ + 4H_2O \qquad (1)$$

$$[GeL_3]^{2-} + 2H^+ \rightleftarrows GeL_2 + H_2L \qquad (2)$$

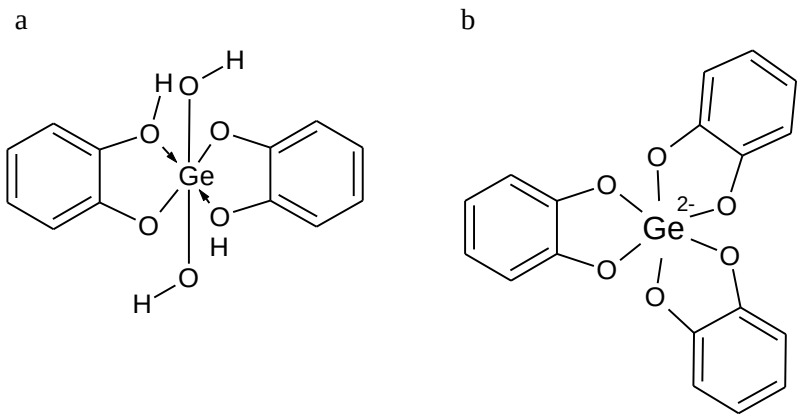
$$GeL_2 + 2H_2O \rightleftarrows [Ge(OH)_2L_2]^{2-} + 2H^+ \qquad (3)$$

Liczba cząsteczek katecholu, kompleksujących jony germanu zależy od pH roztworu. W środowisku silnie kwaśnym, o pH między 1 a 2, german występuje w formie nieskompleksowanej $[Ge(OH)_4]^0$ a począwszy od pH = 4 tworzy oktaedryczne związki kompleksowe, o dużej stabilności [10]. Kompleksy Ge(IV) zawdzięczają dużą stabilność tworzeniu pięcio- i sześcioczłonowych pierścieni, złożonych z atomu germanu oraz dwóch grup funkcyjnych, takich jak C-OH, O=C-OH lub C=O, tak jak przedstawiono na rysunku 3.

Zdolność katecholu do kompleksowania jonów germanu jest wykorzystywana do ekstrakcji germanu z surowców, głównie popiołów lotnych. Po wyługowaniu germanu, kompleks german – katechol (CA) jest wytrącany w wyniku reakcji z bromkiem cetylotrimetyloamoniowym (CTAB), której produktem jest słabo rozpuszczalny związek, para jonowa, o następującej stechiometrii: Ge:CA:CTAB 1:3:2. Końcowym produktem procesu pozyskiwania germanu z ekstraktów wodnych popiołów lotnych jest tlenek germanu, otrzymywany w wyniku prażenia związku $[(CTA)_2Ge(Kat)_3]$. Wydajność procesu wynosi 98,8% [11].



Rysunek 2. Krzywe dystrybucji związków germanu w roztworach wodnych. $\alpha_1 = [\mathrm{Ge(OH)_4}]^0$ oraz $\alpha_2 = [\mathrm{GeO(OH)_3}]^-$. Rysunek przygotowano na dla $[\mathrm{GeO(OH)_3}]^- + \mathrm{H}^+ \rightleftarrows [\mathrm{Ge(OH)_4}]^0$, log K = 9,32 [12]

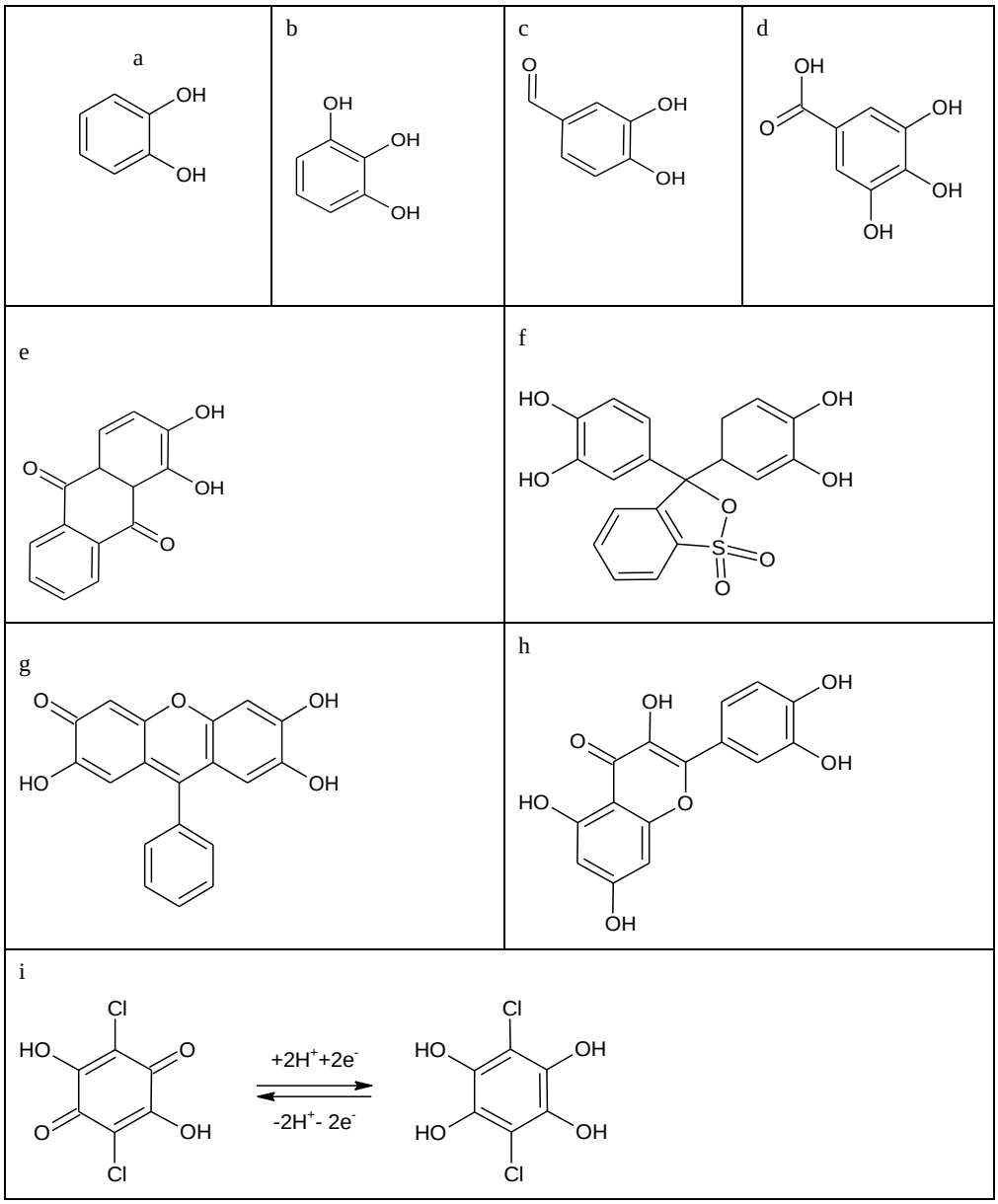


Rysunek 3. Wzory strukturalne kompleksów germanu o różnej stechiometrii:
a) $[\mathrm{Ge(OH)_2L_2}]^{2-}$, b) $[\mathrm{GeL_3}]^{2-}$

4. Elektrochemia związków kompleksowych germanu

Związki kompleksowe germanu z katecholem i jego pochodnymi znalazły także zastosowanie w analizie woltamperometrycznej (tab. 2).

Tabela 10. Związki, pochodne katecholu, tworzące kompleksy z germanem



a – katechol, b – pirogalol, c – dihydroksybenzaldehyd, d – kwas galusowy, e – Alizaryna, f – Fiolet pirokatecholowy, g – Fenylofluoron, h – kwercetyna, i – równanie redukcji kwasu chloranilowego

Źródłem sygnału analitycznego w metodach woltamperometrycznych są procesy utleniania lub redukcji zachodzące na powierzchni elektrody roboczej, która ulega polaryzacji. W przypadku metod stripingowych rejestracja krzywej woltamperometrycznej poprzedzona jest nagromadzaniem analitu na powierzchni elektrody roboczej, dzięki czemu możliwe jest kilkudziesięciokrotne zwiększenie sygnału analitu. Przebieg oznaczenia metodą woltamperometrii stripingowej obejmuje następujące etapy:

1) Tworzenie związku kompleksowego w roztworze

$$Ge(OH)_4 + H^+ \rightleftarrows [Ge(OH)_3(H_2O)]^+ \qquad (4)$$

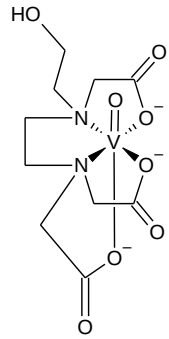
$$[Ge(OH)_3(H_2O)]^+ + H_2L \rightleftarrows [Ge(OH)_2L] + 2H_2O + H^+ \qquad (5)$$

2) Adsorpcja związku kompleksowego na powierzchni elektrody
- Rtęciowej (np. wiszącej kroplowej elektrody rtęciowej)
- Amalgamatowej (np. elektrody amalgamatowej, o odnawialnej powierzchni Hg(Ag)FE);
- Elektrody błonkowej bizmutowej.

3) Redukcja zaadsorbowanego związku kompleksowego

$$[Ge^{IV}(OH)_2L_2]^{2-}_{ads} + 2e \rightarrow [Ge^{II}(OH)_2L_2]^{4-}_{ads} \qquad (6)$$

Im więcej analitu uda się nagromadzić na powierzchni elektrody, tym wyższe sygnały analitu są rejestrowane i tym wyższą czułością odznacza się procedura analityczna. Na efektywność procesu nagromadzania wpływ mają potencjał i czas zatężenia. Jeżeli powierzchnia elektrody ulegnie nasyceniu, nie ma możliwości zwiększania sygnału analitycznego poprzez nagromadzanie analitu. Woltamperometryczne metody stripingowe, w których nagromadzanie analitu na powierzchni elektrody odbywa się na drodze adsorpcji, określane są jako metody adsorpcyjnej woltamperometrii stripingowej (ang. *Adsorptive stripping voltammetry*, AdSV). Metody AdSV wykorzystujące kompleksy germanu z ligandami, pochodnymi katecholu, zebranymi w tabeli 2, były wykorzystywane do oznaczania zawartości germanu w próbkach, zawierających german w ilości kilku do kilkunastu μmol L^{-1} [13-19]. Obiektem badań woltamperometrycznych były, między innymi, roztwory otrzymane podczas produkcji cynku [20]. Zważywszy, że stężenia germanu w próbkach naturalnych są o kilka rzędów wielkości niższe niż granice oznaczalności oferowane przez metody AdSV, poszukiwano sposobów umożliwiających zwiększenie sygnał germanu, bez konieczności stosowania dodatkowych zabiegów chemicznych, takich jak procedury zatężania śladów poprzez strącanie na nośniku, etc. Do wzmocnienia sygnału analitycznego germanu, a tym samym do obniżenia granicy oznaczalności metody AdSV, wykorzystano efekty katalityczne. Woltamperometryczne metody katalityczne wymagają użycia reagenta, który umożliwi selektywne wzmocnienie sygnał analitu [21-23]. Często rolę tego typu czynników pełnią związki powodujące utlenienie zredukowanej na elektrodzie formy analitu, wymuszając w ten sposób „regenerację" aktywnej elektrochemicznie formy analitu, dzięki czemu ta sama cząsteczka lub jon może wielokrotnie brać udział w procesie elektrodowym, przyczyniając się do wyraźnego zwiększenia rejestrowanych sygnałów prądowych. Przykłady układów katalitycznych wykorzystywanych do oznaczania germanu zestawiono w tabeli 3. Analizując informacje zestawione w tabeli 3 można stwierdzić, że najwyższą czułość oraz najniższe granice wykrywalności (LOD = 0,01 nM Ge(IV)) zapewniają metody wykorzystujące w charakterze czynnika katalitycznego kompleksy wanadu(IV) z kwasem hydroksyetylenodiaminotrójoctowym (HEDTA) (Rysunek 4) [24]. Mechanizm przebiegu procesu katalitycznego zachodzący w układzie Ge(IV)-katechol-V(IV)-HEDTA nie jest prostą regeneracją elektroaktywnej formy analitu, lecz bardziej złożonym procesem, którego przebieg ilustrują zapisane poniżej równania (7)-(10) [25-27].



Rysunek 4. Budowa kompleksu V(IV) z HEDTA, $[V^{IV}O(HY)]$

Tabela 11. Układy katalityczne służące do oznaczania śladowych zawartości germanu

Elektroda	*Elektrolit*	*E_{acc} (V); t_{acc} (s)*	*L*	*Czynnik katalityczny*	*Zakres liniowości (nM)*	*LOD (nM)*	*Lit*
$BiFE_{ex\text{-}situ}$	*b.o., pH 4.8*	*-0.34; 150*	*PY*	*$KBrO_3$*	*7-230*	*0.8*	*[28]*
DME	*b.o., pH 4.6*	*-*	*CA*	*$NaBrO_3$*	*1-7000*	*1*	*[29]*
DME	*b.o., pH 4.5*	*-*	*CA*	*$NaClO_3$*	*1000-510000*	*53*	*[30]*
DME	*H_2SO_4, pH 2*	*-*	*GA*	*V(IV)-EDTA*	*0.55-275*	*0.05*	*[31]*
HMDE	*KCl, pH 2.2*	*-0.05; 60*	*3,4-DHB*	*V(IV)-EDTA*	*0.1-10*	*0.05*	*[32]*
HMDE	*$HClO_4$, pH 1.6*	*-0.1; 120*	*GA*	*V(IV)-EDTA*	*0.03-10*	*0.02*	*[33]*
HMDE	*b.o., pH 4.4*	*-0.2; 80*	*CA*	*V(IV)-HEDTA*	*0.05-20*	*0.01*	*[25]*
Hg(Ag)FE	*b.o., pH 4.4*	*-0.2; 80*	*CA*	*V(IV)-HEDTA*	*0.2-10*	*0.15*	*[25]*
HMDE	*Kwas octowy*	*-0.1;60*	*CAA*	*V(IV)-HEDTA*	*0.75-50*	*0.085*	*[26]*
Hg(Ag)FE	*Kwas octowy*	*-0.1; 60*	*CAA*	*V(IV)-HEDTA*	*1-25*	*0.7*	*[27]*
HMDE	*b.o., pH 4.5*	*-0.1; 80*	*PY*	*V(IV)-HEDTA*	*0.25-25*	*0.02*	*[27]*

- b.o. – bufor octanowy
- L – czynnik kompleksujący german(IV)
- CAA – kwas chloranilowy
- PY – pirogalol
- CA – katechol
- GA – kwas galusowy

1) Adsorpcja kompleksu german-katechol na powierzchni elektrody

$$[Ge^{IV}(OH)_2L_2]^{2-} \xrightarrow{elektroda} [Ge^{IV}(OH)_2L_2]^{2-}_{ads} \quad (7)$$

2) Elektroredukcja zaadsorbowanego kompleksu, prowadząca do powstania aktywnego chemicznie jonu, zawierającego Ge(II) w swojej strukturze

$$[Ge^{IV}(OH)_2L_2]^{2-}_{ads} + 2e \rightarrow [Ge^{II}(OH)_2L_2]^{4-} \quad (8)$$

3) Tworzenie kompleksu mieszanego, zawierającego Ge(II), katechol, V(IV) oraz HEDTA

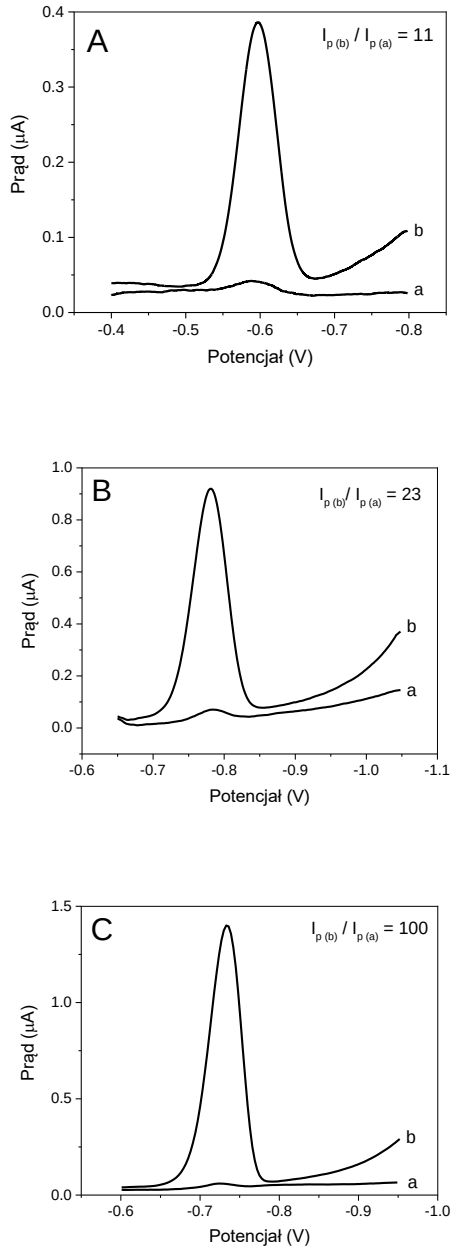
$$[Ge^{II}(OH)_2L_2]^{4-} + [V^{IV}O(HY)] \rightarrow [Ge^{II}(OH)_2L_2 - V^{IV}O(HY)] \quad (9)$$

4) Redukcja związanego w kompleks V(IV) do V(II)

$$[Ge^{II}(OH)_2L_2 - V^{IV}O(HY)] + 2e \rightarrow [Ge^{II}(OH)_2L_2]^{4-} + V^{II}O + HY^{3-} \quad (10)$$

5) Reakcja jonu zawierającego Ge(II) z kolejną cząsteczką kompleksu wanadu(IV) a następnie redukcja wanadu(IV), związanego w mieszany kompleks Ge(II)-katechol-V(IV)-EDTA i powtórzenie cyklu reakcji od etapów 3 do 5

Dzięki opisanemu procesowi katalitycznemu, w którym funkcję katalizatora procesu elektroredukcji V(IV) związanego w kompleks z HEDTA pełni zredukowana postać germanu ($[Ge^{II}(OH)_2L_2]^{4-}$), liczba elektronów wymienianych w procesie elektrodowym rośnie, co powoduje wzrost mierzonego sygnału analitycznego germanu. Wzmocnienie sygnału analitycznego zależy od rodzaju liganda, kompleksującego jony germanu (rys. 5A-AC). Ligand kompleksujący german nie musi być wprowadzany do roztworu, lecz może być użyty jego prekursor, który w wyniku reakcji elektrodowej jest przekształcany w czynnik kompleksujący german, tak jak to się dzieje w przypadku kwasu chloranilowego (tabela 2, równanie (i)). Kwas chloranilowy, czyli 2,5-dichloro-3,6-dihydroksy-1,4-benzochinon jest elektrochemicznie przekształcany w 2,5-dichloro-1,3,4,6-tetrahydroksy-benzen, czyli związek, w którego strukturze występują dwie sąsiadujące grupy hydroksylowe, -C(-OH)-C(-OH)-, dzięki którym wspomniany związek tworzy chelatowy kompleks z germanem. Spośród badanych ligandów, w obecności tego samego czynnika katalitycznego, czyli V(IV)-HEDTA, największe, tj. stukrotne wzmocnienie sygnału germanu, zarejestrowano w przypadku stosowania pirogalolu (rys. 4C). Wzmocnienie sygnału, wyrażone jako stosunek prądu piku germanu zmierzonego dla krzywych woltamperometrycznych zarejestrowanych w obecności czynnika katalitycznego do prądu piku germanu przed dodaniem czynnika katalitycznego widoczne na rysunkach 5A-5C, pozwalają porównać efektywność stosowania różnych ligandów.



Rysunek 5. Woltamperogramy zarejestrowane w roztworach germanu zawierających (A) kwas chloranilowy, (B) katechol oraz pirogalol (C) przed (krzywe a) i po dodaniu V(IV)-HEDTA. Skład badanych roztworów: 15 nM of Ge(IV) (C), 20 nM (B), 25 mM (A), 0.5 mM kwas chloranilowy (A), 1.5 mM katechol (B), 1 mM pirogalo (C), 1 mM V(IV) (B,C), 1.5 mM V(IV) (A), 1.5 mM of HEDTA (B), 2 mM HEDTA (C), 3 mM of HEDTA (A), 0.1 M kwas octowy (A), 0,05 M bufor octanowy (B,C). Elektroda robocza: wisząca kroplowa elektroda rtęciowa. Technika wotlamperometryczna: pulsowa różnicowa. Warunki nagromadzania: E_{acc} = -0.1 V, t_{acc} = 60 s (A); E_{acc} = -0.2 V, t_{acc} = 80 s; E_{acc} = -0.1 V, t_{acc} = 60 s (badania własne)

Wspomniane efekty katalityczne można rejestrować nie tylko za pomocą elektrod rtęciowych, lecz także za pomocą znacząco mniej uciążliwych dla środowiska i nadających się do miniaturyzacji elektrody stałych, na przykład elektrody amalgamatowej o regenerowanej powierzchni [24, 25, 34, 35]. Opracowane metody katalityczno-adsorpcyjnej woltamperometrii stripingowej zostały z powodzeniem zastosowane do oznaczania śladowych ilości tego pierwiastka w próbkach wód naturalnych o różnej mineralizacji, od 475 mgL^{-1} do 5225,3 mgL^{-1} (tab. 4). Uzyskane wyniki były zgodne z danymi referencyjnymi, uzyskanymi metodą całkowitego odbicia promieniowania rentgenowskiego (*Total Reflection X-Ray Fluorescence* – TXRF) [36].

Tabela 12. Charakterystyka katalitycznych i katalityczno-adsorpcyjnych woltamperometrycznych metod oznaczania germanu

Próbka	*Elektroda*	*L*	*Oznaczono*	*Ref*	*Dodatek*	*Odzysk / %*	*Lit*
			Ge(IV) μgL^{-1}				
*woda mineralna**	*HMDE*	*CA*	*17.7±1.5*	*17.69*	*0*	*n. d.*	*[25]*
*woda mineralna**	*Hg(Ag)FE*	*CA*	*17.9±2.5*	*17.69*	*0*	*n. d.*	*[25]*
*woda mineralna**	*HMDE*	*CAA*	*18.6 ± 1.1*	*17.69*	*0*	*n. d.*	*[26]*
*woda mineralna***	*HMDE*	*CAA*	*n. w.*	*n. w.*	*0.36*	*98.9 ± 1.0*	*[26]*
woda wodociągowa	*HMDE*	*CAA*	*n. w.*	*n. w.*	*0.36*	*102 ± 12*	*[26]*
woda rzeczna	*HMDE*	*PY*	*n. w.*	*n. w.*	*0.036*	*95.3 ± 1.8*	*[27]*
woda wodociągowa	*HMDE*	*PY*	*n. w.*	*n. w.*	*0.036*	*95 ± 1.1*	*[27]*

- L – czynnik kompleksujący german(IV)
- CAA – kwas chloranilowy
- PY – pirogalol
- CA – katechol
- Ref – wartość referencyjna
- n. w. – nie wykryto
- n. d. – nie dotyczy

* – woda o mineralizacji ogólnej 5225,3 mgL^{-1}
** – woda o mineralizacji ogólnej 475 mgL^{-1}

5. Wnioski

Wyniki przedstawione w pracy wskazują, że stosując metodę katalityczno-adsorpcyjnej woltamperometrii stripingowej można z powodzeniem oznaczać śladowe i ultraśladowe zawartości germanu w próbkach naturalnych. Dobierając odpowiednio ligand kompleksujący german, czynnik katalityczny oraz czas nagromadzania można projektować procedury analityczne o różnym zakresie liniowości i granicy oznaczalności, w zależności od zawartości analitu w próbce. Podobne procedury woltamperometryczne można projektować dla pozostałych metali należących do grupy CRM. W przypadku metali należących do platynowców, kobaltu, czy skandu można odnaleźć w literaturze wiele przykładów takich procedur, natomiast w przypadku pozostałych metali, dostępne

są jedynie pojedyncze prace lub brak jest jakichkolwiek doniesień o możliwości ich oznaczania technikami woltamperometrycznymi.

Literatura

1. Eggert R.G., *Minerals go critical*, Nature Chemistry, 3 (2011) 688-691.
2. https://www.compoundchem.com/2014/02/19/the-chemical-elements-of-a-smartphone/ (14 lipca 2020).
3. Buechler D.T., Zyaykina N.N., Spencer C.A., Lawson E., Ploss N.M., Hua I., *Comprehensive elemental analysis of consumer electronic devices: Rare earth, precious, and critical elements*, Waste Management, 103, 2020, s. 67-75.
4. Borst A.M., Finch A.A., Friis H., Horsburgh N.J., Gamaletsos P.N., Goettlicher J., Steininger R., Geraki K., *Structural state of rare earth elements in eudialyte-group mineralsMineralogical*, Magazine 84, 2020, s. 19-34.
5. Veiga M., Mattiazzi P., de Goisc J.S., Nascimentod P.C., Borgese D.L.G., Bohre D., *Presence of other rare earth metals in gadolinium-based contrast agents*, Talanta 216, 2020, 120940.
6. Jarosiński A., *Możliwości pozyskiwania metali ziem rzadkich w Polsce*, Zeszyty Naukowe Instytutu Gospodarki Surowcami Mineralnymi i Energią Polskiej Akademii Nauk, 92, 2016, s. 75-88.
7. Franus W., Wiatros-Motyka M.M., Wdowin M., *Coal fly ash as a resource for rare earth elements*, Environmental Science and Pollution Research, 22, 2015, s. 9464-9474.
8. Dudas M.J., Warren C.J., *Submicroscopic model of fly as particles*, Geoderma, 40, 1987, s. 101-114.
9. *Study on the review of the list of Critical Raw Materials Critical Raw Materials Factsheets* EU 2017.
10. Pokrovski G.S., Martin F., Hazemann J.-L., Schott J., *An X-ray absorption fine structure spectroscopy study of germanium-organic ligand complexes in aqueous solution*, Chemical Geology, 163, 2000, s. 151-165.
11. Arroyo F., Fernandez-Pereira C., Coca P., *Precipitation of Germanium from Coal Fly Ash Leachates*, Coal Combustion and Gasification Products, 2, 2010, s. 28-34.
12. Pokrovski G.S., Schott J., E*xperimental study of the complexation of silicon and germanium with aqueous organic species: Implications for germanium and silicon transport and Ge/Si ratio in natural waters*, Geochimica et Cosmochimica Acta, 62, 1998, s. 3413-3428.
13. Sun C.-Q., Gao Q., Liu L., *Adsorptive stripping measurement of germanium(IV) in the presence of pyrogallol*, Talanta, 42, 1995, s. 881-884.
14. Aguilar J.C., de Gyves J., *Determination of germanium(IV) in sulphide ores by differential pulse polarography in pyrogallol-sulfuric acid media*, Analytica Chimica Acta, 306, 1995, s. 243-247.
15. Muniz Alvarez J.L., Garcia Calzon J.A., Lopez Fonseca J.M., *Electrochemical Reduction of Ge(IV) Catalyzed by o-Catechol at the Dropping Mercury Electrode and at the Hanging Mercury Drop Electrode after Adsorptive Preconcentration*, Electroanalysis, 11, 1999, s. 656-659.
16. Ly S.Y., Song S.S., Kim S.K., Jung Y.S., Lee C.H., *Determination of Ge(IV) in rice in a mercury-coated glassy carbon electrode in the presence of catechol*, Food Chemistry, 95, 2006, s. 337-343.
17. Gökmeşe F., Gökmeşe E., Osman Solak A., *A new adsorptive square-wave stripping voltammetric method for the trace analysis of germanium*, Hacettepe Journal of Biology and Chemistry, 36, 2008, s. 215-221.

18. Piech R., *Study of simultaneous measurements of trace gallium(III) and germanium(IV) by adsorptive stripping voltammetry using mercury film electrode*, Journal of Applied Electrochemistry, 41, 2011, s. 207-214.
19. Grabarczyk M., Adamczyk M., *Bismuth film electrode and chloranilic acid as a new alternative for simple, fast and sensitive Ge(IV) quantification by adsorptive stripping voltammetry*, RSC Advances, 8, 2018, s. 15215-1522.
20. Bond A. M., Kratsis S., Newman O.M.G., *Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Germanium in Zinc Plant Electrolyte*, Electroanalysis, 10, 1998, s. 387-392.
21. Bobrowski A., Zarębski J., *Catalytic systems in adsorptive stripping voltammetry*, Electroanalysis, 12, 2000, s. 1177-1186.
22. Bobrowski A., Zarębski J., *Application of catalytic adsorptive stripping voltammetry in water analysis*, Water Science and Technology: Water Supply, 1, 2001, s. 1-8.
23. Bobrowski A., Zarębski J., *Catalytic adsorptive stripping voltammetry at film electrodes*, Current Analytical Chemistry, 4, 2008, s. 191-201.
24. Alberico E., Micera G., Sanna D., *Coordination of oxovanadium(IV) to aminocarboxylic acids in aqueous solution*, Polyhedion, 13, 1994, s. 1763-1771.
25. Zarębski J., Bobrowski A., Gonciarczyk J., Królicka A., *Extremely sensitive germanium stripping voltammetric determination with the use of a new Ge(IV)-Catechol-V(IV)-HEDTA catalytic adsorptive system*, Electrochimica Acta 324, 2019, s. 134859.
26. Zarębski J., Bobrowski A., Królicka A., Gonciarczyk J., Manolopoulou V., Economou A., *A novel catalytic adsorptive stripping voltammetric method for the determination of germanium ultratraces in the presence of chloranilic acid and the V(IV)·HEDTA complex*, Journal of Solid State Electrochemistry, 2020, 10.1007/s10008-020-04669-0.
27. Zarębski J., Bobrowski A., Gonciarczyk J., Królicka A., *Selection of Optimal Ligand and Vanadium(IV) Complexonate for Sensitive Catalytic Adsorptive Stripping Voltammetric Quantification of Germanium*, Electroanalysis 32, 2020, 10.1002/elan.202060055.
28. Zhong S., Su J., Chen L., Tong J., Jia W., Li X., Zou H., *Determination of Total Germanium in Chinese Herbal Remedies by Square-Wave Catalytic Adsorptive Cathodic Stripping Voltammetry at an Improved Bismuth Film Electrode*, International Journal of Electrochemistry, 2013, s. 735019.
29. Shi J., Jiao K., *Adsorptive complex catalytic polarographic determination of germanium in soils and vegetables*, Analytica Chimica Acta, 309, 1995, s. 103-109.
30. Hasebe K., Hikima S., Kakizaki T., lwashimizu T., Aoki K., *Trace Determination of Germanium by Means of Adsorption Waves in Differential-pulse Polarography*, Analyst, 115, 1990, s. 413-416.
31. Zhang Y., Wu Y., *Enhancement Mechanism of the Oscillopolarographic Current of Germanium(IV)-Trihydroxybenzoic Acid System and Application*, Analytical Sciences 13 (Supplement), 1997, s. 279-284.
32. Sun C., Gao Q., Xi J., Xu H., *Determination of germanium(IV) by catalytic cathodic stripping voltammetry*, Analytica Chimica Acta, 309, 1995, s. 89-93.
33. Li Y.-H., Chen X.-H., Huang M.-H., Zhou F.-Q., *Catalytic Adsorptive Stripping Voltammetry of Germanium(IV) in the Presence of Gallic Acid and vanadium(IV)-EDTA*, Electroanalysis, 19, 2007, s. 704-708.
34. Baś B., Kowalski Z., *Preparation of Silver Surface for Mercury Film Electrode of Prolonged Analytical Application*, Electroanalysis ,14, 2002, s. 1067-1071.
35. Bobrowski A., Królicka A., Bobrowski R., *Renewable silver amalgam film electrodes in electrochemical stripping analysis – a review*, Journal of Solid State Electrochemistry, 20, 2016, s. 3217-3228.

36. Piech A.P., Baszak A., *Trace elements in selected mineral waters commercially available*, Czasopismo Inżynierii Lądowej, Środowiska i Architektury – Journal of Civil Engineering, Environment and Architecture, JCEEA 63, 2016, s. 419-432.

Woltamperometria jako narzędzie do oznaczania pierwiastków kluczowych dla nowoczesnych technologii na przykładzie Ge(IV)

Streszczenie

W pracy przedstawiono problemy związane z ilościowym oznaczaniem zawartości metali należących do grupy surowców o krytycznym znaczeniu dla nowych technologii (TCE). Do oznaczania śladowych ilości TCE w próbkach naturalnych zaproponowano zastosowanie metody katalityczno-adsorpcyjnej woltamperometrii stripingowej. Możliwości analityczne wspomnianej metody omówiono na przykładzie oznaczania germanu.

Słowa kluczowe: surowce o krytycznym znaczeniu dla nowych technologii, katalityczno-adsorpcyjna woltamperometria stripingowa, german

Voltammetry as a tool for determining technology critical elements n the example of Ge (IV)

Abstract

The paper discusses issues concerning the quantitative determination of metals belonging to the group of raw materials critical for new technologies (TCE). For the determination of trace amounts of TCE in natural samples, the use of a catalytic-adsorption stripping voltammetry method was proposed. The analytical possibilities of the mentioned method are discussed on the example of germanium determination.

Keywords: Critical raw materials, catalytic adsorptive striping voltammetry, germanium

Elżbieta Sitarz-Palczak[1]

Zastosowanie geopolimerów z popiołów pochodzących z spalania węgla lub biomasy do fotokatalitycznej degradacji błekitu metylowego

1. Wstęp

Jednym z najpoważniejszych źródeł zanieczyszczeń oraz skażeń środowiska wodnego są ścieki przemysłowe zawierające w swoim składzie barwniki [1]. Szacuje się, że w zależności od zastosowanego procesu technologicznego do ścieków przemysłowych trafia od 2-50% barwników używanych w procesie produkcji [2].

Substancje barwiące są cząsteczkami organicznymi oraz metaloorganicznymi, które w zależności od rodzaju mogą wykazywać właściwości toksyczne, jak i kancerogenne. Obecność związków barwiących wpływa negatywnie na środowisko naturalne. Nawet niewielka ilość barwników może powodować zabarwienie znacznych objętości roztworów wodnych oraz być przyczyną zakłócenia procesów życiowych przebiegających w wodzie, tj. zahamowanie procesów fotosyntezy oraz zwiększenie chemicznego i biologicznego zapotrzebowania tlenu. Ponadto niektóre z barwników są wyjątkowo szkodliwe dla organizmów żyjących w wodzie ze względu na obecność w swojej strukturze jonów metali, jak i jonów chlorkowych [3]. Związki dające najwyższe wskaźniki toksyczności to barwniki zasadowe oraz diazowe barwniki bezpośrednie. Dodatkowo, szczególnie barwniki azowe wykazują działanie kancerogenne oraz mutagenne poprzez rozkład wiązania azowego, podczas którego powstają rakotwórcze aminy aromatyczne. Wiele substancji barwiących może być zauważalne w roztworach wodnych już przy stężeniach równych 1mg/dm^3 [4]. Do tego typu barwników zaliczamy błękit metylowy stosowany przede wszystkim w przemyśle włókienniczym (nazwa handlowa – błękit anilinowy) oraz do wybarwiania preparatów medycznych w celu wykazania obecności grzybów z rodzaju Candida [5].

Oczyszczanie ścieków przemysłowych zawierających związki barwiące jest tematem skomplikowanym będącym przedmiotem badań. Problemem jest ciągła zmiana w technologii produkcji barwników, jak i ich wykorzystanie w procesie technologicznym. Ze względu na różnice w stosowanych materiałach i samej metodzie przemysłowej nie można jednoznacznie określić uniwersalnego składu jakościowego oraz ilościowego ścieków przemysłowych, a co za tym idzie nie da się ich skutecznie oczyścić z niepożądanych substancji przy zastosowaniu jednej metody. Dlatego, konieczne jest w wielu przypadkach stosowanie technik łączonych.

Wyróżnia się szereg procesów oczyszczania ścieków zaczynając od metod biologicznych z wykorzystaniem osadu czynnego, poprzez metody mechaniczne oraz chemiczne. Różnią się one od siebie sposobem oddziaływania na zanieczyszczenia oraz stosowanymi substancjami, jak i warunkami. Wykazują one różną skuteczność w usuwaniu ścieków z przemysłu barwników. Mechaniczne oczyszczanie ścieków

[1] epalczak@prz.edu.pl, Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Rzeszowska, www.prz.edu.pl.

obejmuje metody, które występują w każdej oczyszczalni ścieków i stosowane są do każdego rodzaju zanieczyszczeń, niezależnie od ich składu jakościowego i ilościowego. Z danych literaturowych wynika, że prowadzenie dwugodzinnej metody mechanicznego oczyszczania ścieków z przemysłu barwników poprzez sedymentację prowadzi do zmniejszenia o 40-50% występujących zawiesin, zredukowania barwy ścieków o 15-20% oraz zmniejszenie wartości biologicznego zapotrzebowania na tlen o ok. 8-40% [6]. Usuwanie ścieków z przemysłu barwników metodą osadu czynnego jest jedną z najbardziej ekonomicznych metod, jednakże nie powoduje wysokiej redukcji barwy. Wynika to z obecności detergentów, które wpływają negatywnie na kondycje osadu czynnego, powodując wytwarzanie nadmiernych ilości piany [7, 8]. Wśród metod chemicznych za jedną z najbardziej efektywnych uważa się strącanie np. wapnem [9] i adsorpcję np. z wykorzystaniem węgla aktywnego [10]. Obecnie prowadzi się szereg badań odnośnie zastąpienia węgla aktywnego, którego wadą jest wysoka cena sorbentami będącymi odpadami, które charakteryzują się niskimi kosztami przetwarzania oraz szeroką dostępnością. Jako przykłady takich sorbentów, stosowanych w oczyszczaniu ścieków z zawartością barwnika, którym był błękit metylowy wymienić można: łupiny orzechów laskowych, łupiny fasoli, skórki z bananów, pomarańczy, cytryn, włókna ziaren palmowych, nasiona papai, łupiny kawy, trociny cedrowe i tłuczeń ceglany [7]. Usunięcie z wody substancji barwiących jest możliwe również poprzez zastosowanie metod zaawansowanego utleniania chemicznego (*Advanced Oxidation Processes* – AOPs). Typowym przykładem utleniacza stosowanego w tej technologii jest ozon. W odniesieniu do ścieków włókienniczych po 1h ozonowaniu otrzymano 85% redukcję barwy oraz 13% ubytek chemicznego zapotrzebowania na tlen [11]. Ozonowanie może przebiegać jako reakcje ozonu cząsteczkowego lub poprzez procesy utleniania realizowane w wyniku generowania wolnych rodników, w szczególności rodników hydroksylowych [12]. Zastosowanie tego rodzaju czynnika utleniającego w odniesieniu do ścieków z przemysłu włókienniczego prowadzi do uzyskania 80% redukcji chemicznego zapotrzebowania na tlen [13].

W niniejszej pracy określono możliwość zastosowania geopolimerów otrzymanych popiołów pochodzących ze spalania węgla lub biomasy do fotokatalitycznej degradacji błekitu metylowego.

2. Część doświadczalna

2.1. Materiały i metody

Materiał badawczy stanowiły geopolimery otrzymane z popiołów pochodzących ze spalania węgla (PW/GEO) lub biomasy (PB/GEO). Warunki syntezy tych materiałów, będących amorficznymi polimerami nieorganicznymi przedstawiono szczegółowo w pracy [14]. Geopolimery stosowano w postaci rozdrobnionej, po uprzednim zmieleniu i utarciu w moździerzu porcelanowym i agatowym. Rozmiar ziaren stosowanych geopolimerów był równy $\varphi \leq 100$ μm. Ponadto, wykorzystano błękit metylowy (BM), produkt dostępny komercyjnie pod nazwą błękit anilinowy. Jego charakterystykę fizykochemiczną zawiera praca [5].

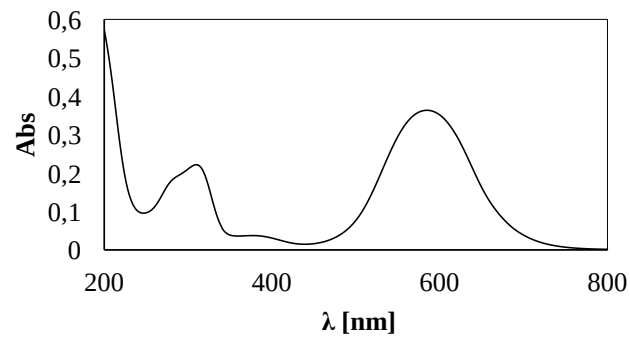
Badania fotokatalitycznej degradacji BM za pomocą PW/GEO i PB/GEO obejmowały następujące etapy:

- wyznaczenie analitycznej długości fali;

- przygotowanie roztworów wzorcowych BM i sporządzenie krzywej kalibracyjnej stanowiącej zależność $A = f(c_{BM})$;
- badania wpływu stężenia początkowego BM oraz czasu prowadzenia eksperymentu na proces fotokatalitycznej degradacji BM.

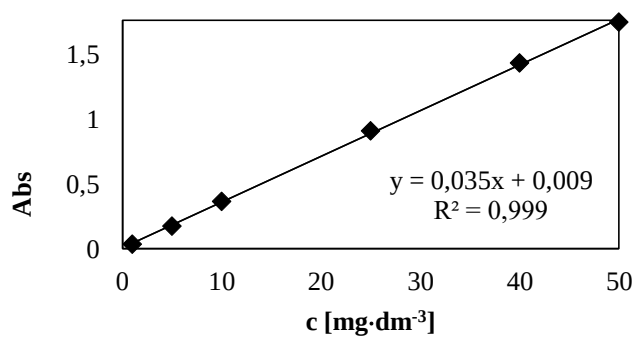
W celu wyznaczenia analitycznej długości fali za pomocą spektrofotometru UV-VIS (model V-670 (Jasco, Japonia) zarejestrowano widmo roztworu BM o stężeniu 10 mg·dm^{-3} przy długości fali $\lambda = 650$ nm, które zostało przedstawione na rysunku 1. W wyniku analizy powyższego widma stwierdzono, że maksimum absorbancji występuje przy długości fali równej 585 nm. Wartość ta jest szukaną analityczną długością fali.

Do sporządzenie krzywej wzorcowej przygotowano roztwory BM o następujących stężeniach początkowych: 5, 10, 25, 40, 50 mg·dm^{-3}, a następnie zmierzono absorbancję dla tych roztworów przy analitycznej długości fali $\lambda = 585$ nm.



Rysunek 1. Widmo absorpcyjne roztworu BM o stężeniu 10 mg·dm^{-3} otrzymane dla $\lambda = 650$ nm, l = 1, odnośnik – woda [opracowanie własne]

Na podstawie otrzymanych wyników sporządzono krzywą kalibracyjną stanowiącą zależność $A = f(c_{BM})$, którą przedstawiono na rysunku 2.



Rysunek 2. Krzywa kalibracyjna A = f(c) dla roztworów wzorcowych BM ($\lambda = 585$ nm, l = 1, odnośnik – woda) [opracowanie własne]

W kolejnym etapie badań określono wpływ stężenia początkowego BM (w zakresie 1-50 mg·dm^{-3}) oraz czasu trwania eksperymentu (w zakresie 5-1440 minut) na proces fotokatalitycznej degradacji BM. Eksperymenty prowadzono w układzie jednoskładnikowym zamkniętym, stosując masę próbki geopolimeru równą 1,00 g oraz objętość roztworu BM równą 100 cm^3. Otrzymaną zawiesinę wytrząsano w temperaturze 293 (± 0,5 K), w czasie 30 minut z szybkością v = 500 rpm na wytrząsarce laboratoryjnej Vibramax 100 (Heidolph Instruments, Niemcy)). Dalej sączono i w otrzymanym przesączu oznaczano stężenie błękitu metylowego metodą spektrofotometryczną w zakresie UV-VIS.

2.2. Wyznaczenie parametrów sorpcyjnych

Na podstawie otrzymanych wartości stężeń BM w otrzymanych roztworach obliczono wartości pojemności sorpcyjnej q oraz współczynnika absorpcji A.

Pojemność sorpcyjną q wyznaczono korzystając z zależności (1):

$$q = \frac{(c_0 - c)}{m} \cdot V \tag{1}$$

gdzie: q – pojemność sorpcyjna geopolimeru [mg·g^{-1}], c_0 – początkowe stężenie MB w roztworze [mg·dm^{-3}], c – chwilowe stężenie BM w roztworze [mg·dm^{-3}], m – masa próbki geopolimeru [g], V – objętość roztworu MB [dm^{-3}].

Współczynnik adsorpcji A [%] obliczono zgodnie z równaniem (2):

$$A = \frac{c_0 - c}{c_0} \cdot 100\% \tag{2}$$

Opis symboli podano przy równaniu (1).

2.3. Mechanizm fotokatalitycznej degradacji błękitu metylowego

W celu określenia mechanizmu fotokatalitycznej degradacji BM próbki geodolimerów otrzymanych z popiołów ze spalania węgla (PW/GEO) lub biomasy (PB/GEO) po eksperymencie sorpcji wysuszono do stałej masy w temperaturze pokojowej. Po sproszkowaniu i utarciu w moździerzu porcelanowym i agatowym przeznaczono na badania spektroskopowe metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR). Próbki do badań przygotowano przez zmieszanie ok. 0,5 mg geopolimeru z 200 mg spektralnie czystego KBr. Następnie poddano je prasowaniu w próżni pod ciśnieniem 20 MPa. Widma absorpcyjne geopolimerów otrzymanych z popiołów z spalania węgla (PW/GEO) lub biomasy (PB/GEO) przed i po procesie degradacji fotokatalitycznej BM zarejestrowano w zakresie podstawowym 4000-400 cm^{-1} z rozdzielczością 2 cm^{-1}.

3. Analiza wyników

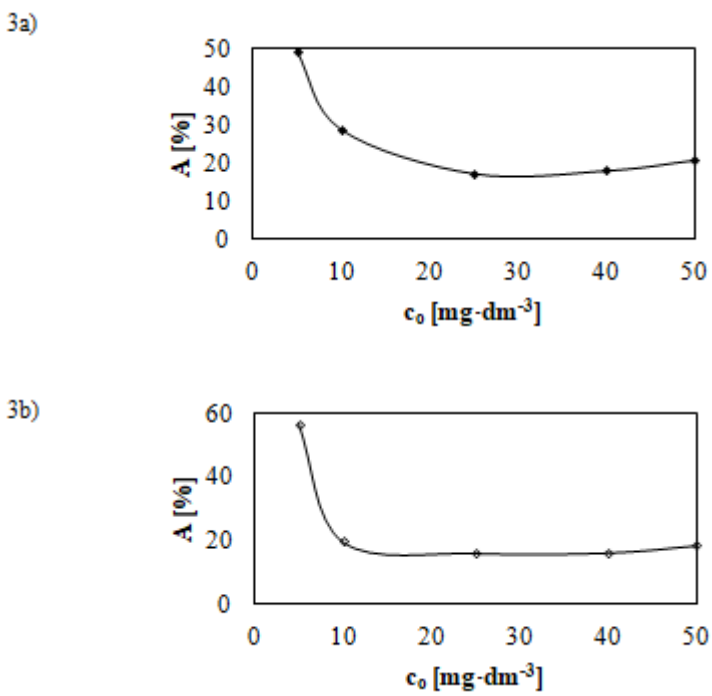
W tabeli 1 zestawiono obliczone wartości stężeń na podstawie równania krzywej kalibracyjnej oraz zmierzone wartości absorbancji dla roztworów BM o stężeniach początkowych w zakresie 1-50 mg·dm^{-3} otrzymane po eksperymencie sorpcji z udziałem geopolimerów otrzymanych z popiołów z spalania węgla (PW/GEO) lub biomasy (PB/GEO).

Tabela 1. Zestawienie wartości absorbancji oraz stężeń dla roztworów BM po eksperymencie sorpcji z udziałem geopolimerów otrzymanych z popiołów ze spalania węgla (PW/GEO) lub biomasy (PB/GEO)

Geopolimer	*PW/GEO*			*PB/GEO*		
C_0 $[mg \cdot dm^{-3}]$	*m* [g]	*Abs*	C_{BM} $[mg \cdot dm^{-3}]$	*m* [g]	*Abs*	C_{BM} $[mg \cdot dm^{-3}]$
5,00	*0,99*	*0,07*	*2,53*	*1,00*	*0,09*	*2,15*
10,00	*1,10*	*0,11*	*7,11*	*1,00*	*0,07*	*8,01*
25,00	*1,10*	*0,17*	*20,66*	*1,00*	*0,16*	*20,94*
40,00	*1,01*	*0,27*	*32,76*	*1,00*	*0,25*	*33,43*
50,00	*1,00*	*0,34*	*39,58*	*1,00*	*0,31*	*40,67*

Źródło: Opracowanie własne

Na wykresach 3 i 4 przedstawiono zależność parametrów sorpcyjnych od stężenia początkowego BM. Wartości pojemności sorpcyjnej obliczono na podstawie równania (1), natomiast współczynnika adsorpcji na podstawie równania (2).



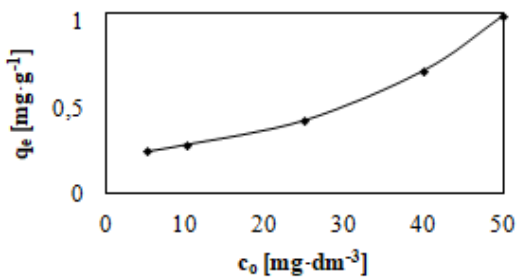
Rysunek 3. Zależność współczynnika adsorpcji dla a) PW/GEO oraz b) PB/GEO od stężenia początkowego roztworu BM [opracowanie własne]

Pochłanianie barwnika przez geopolimery maleje wraz ze wzrostem stężenia początkowego (c_0) błękitu metylowego w obu przypadkach. Dla zastosowanych geopolimerów wartości współczynnika adsorpcji zmieniają się w następujących zakresach: 49-21% dla PW/GEO i 57-19% dla PB/GEO. Przebieg tych zmian jest

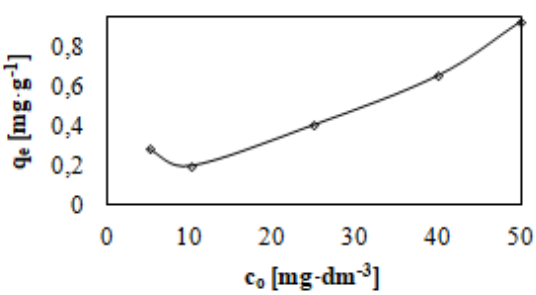
bardziej gwałtowny dla PB/GEO, natomiast dość łagodny dla PW/GEO, nie mniej jednak początkowo stopień związania BM jest dość wysoki (rys. 3a i 3b).

Dość wysoki stopień związania BM sugeruje silne oddziaływanie pomiędzy jego cząsteczkami a centrami aktywnymi na powierzchni PB/GEO oraz PW/GEO. Wydajność usuwania BM z roztworów spada jednak ze wzrostem stężenia roztworu użytego podczas eksperymentu. Jest to związane z tym, że przy niskim stężeniu dostępna jest większa ilość centrów aktywnych znajdujących się na powierzchni geopolimerów, w których może zostać związany BM. Sprzyja to zwiększonej interakcji barwnika z geopolimerem. Większe stężenie początkowe BM w roztworze powoduje natomiast zmniejszenie liczby miejsc aktywnych, z którymi może zachodzić oddziaływanie, ponieważ część z nich jest już zajęta. Wiąże się to ze spadkiem skuteczności usuwania BM.

4a)



4b)



Rysunek 4. Zależność pojemności sorpcyjnej dla a) PW/GEO oraz b) PB/GEO od stężenia początkowego roztworu BM [opracowanie własne]

Na wartości pojemności sorpcyjnej oraz współczynnik adsorpcji wpływa także porowatość geopolimerów. Zwiększająca się liczba porów wpływa na wzrost powierzchni właściwej ciała stałego, a tym samym ilość centrów aktywnych. Na podstawie otrzymanych wyników można więc sądzić, iż większą porowatość wykazuje geopolimer na bazie popiołu ze spalania biomasy wykazujący większą efektywność usuwania BM z badanych roztworów.

W tabeli 2 przedstawiono wyniki badań dotyczących wpływu czasu trwania eksperymentu (w zakresie 5-1440 minut) na proces fotokatalitycznej degradacji BM. Na podstawie tych wyników oraz korzystając z zależności (1) i (2) wyznaczono wartości pojemności sorpcyjnej oraz współczynnika adsorpcji dla obu badanych geopolimerów.

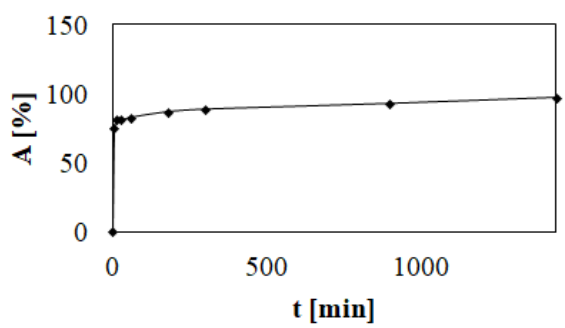
Tabela 2. Zestawienie wartości absorbancji oraz czasów trwania procesu dla roztworu BM o stężeniu 50 mg·dm^{-3} po eksperymencie sorpcji z udziałem geopolimerów otrzymanych z popiołów ze spalania węgla (PW/GEO) lub biomasy (PB/GEO)

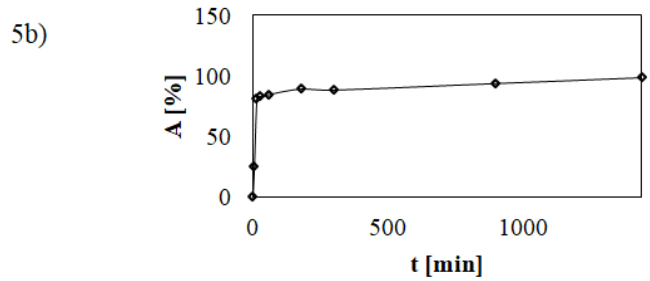
Geopolimer	*PW/GEO*			*PB/GEO*		
t [min]	*m [g]*	*Abs*	*C_{BM} [mg·dm^{-3}]*	*m [g]*	*Abs*	*C_{BM} [mg·dm^{-3}]*
0	*0,00*	*1,74*	*0,00*	*0,00*	*1,74*	*0,00*
5	*1,00*	*0,44*	*12,19*	*1,01*	*0,41*	*37,65*
15	*1,01*	*0,34*	*9,57*	*1,00*	*0,33*	*9,26*
30	*1,00*	*0,34*	*9,57*	*1,00*	*0,31*	*8,48*
60	*1,00*	*0,31*	*8,62*	*1,01*	*0,28*	*7,62*
180	*1,01*	*0,24*	*6,58*	*1,01*	*0,21*	*5,34*
300	*1,01*	*0,21*	*5,70*	*1,01*	*0,21*	*5,81*
900	*1,01*	*0,14*	*3,63*	*1,00*	*0,12*	*3,10*
1440	*1,01*	*0,06*	*1,48*	*1,00*	*0,03*	*0,72*

Źródło: Opracowanie własne

Zostały one przedstawione na kolejnych wykresach, tj. 5 i 6. Jak widać efektywność usuwania barwnika wyrażona w postaci współczynnika adsorpcji rośnie wraz z czasem prowadzenia procesu, aż do osiągnięcia plateau po 5 minutach dla PW/GEO oraz 15 minutach dla PB/GEO. Po tym czasie układy znajdują się już w stanie równowagi, w którym wartość współczynnika adsorpcji jest stała i taka sama dla obu geopolimerów tj. ok. 80%. Na podstawie wykonanych badań można stwierdzić, że lepszym fotokatalizatorem reakcji usuwania barwnika BM jest PW/GEO, ponieważ wymagany czas do osiągnięcia stanu równowagi jest znacząco krótszy.

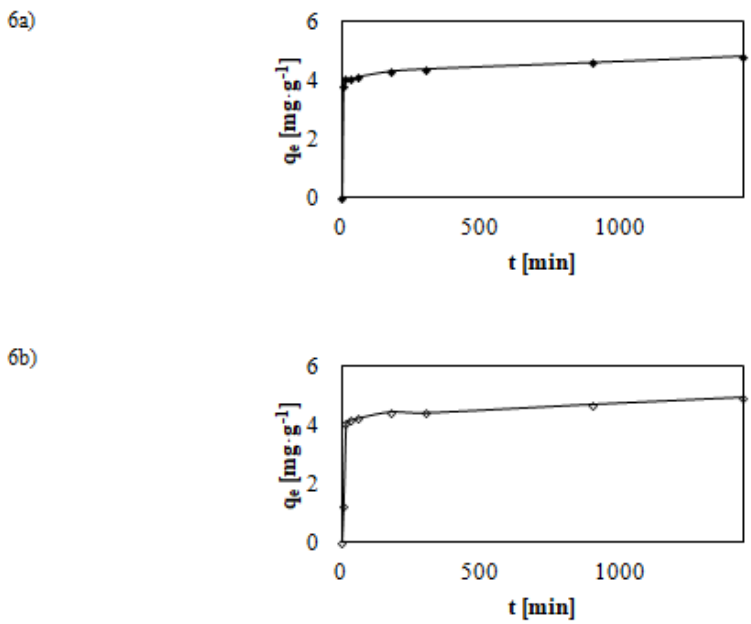
5a)





Rysunek 5. Zależność współczynnika adsorpcji dla a) PW/GEO oraz b) PB/GEO od czasu trwania procesu dla roztworu BM o stężeniu 50 mg·dm^{-3} [opracowanie własne]

Na podstawie wykonanych badań można stwierdzić, że lepszym fotokatalizatorem reakcji usuwania barwnika BM jest PB/GEO, ponieważ wymagany czas do osiągnięcia stanu równowagi jest znacząco krótszy.



Rysunek 6. Zależność pojemności sorpcyjnej dla a) PW/GEO oraz b) PB/GEO od czasu trwania procesu dla roztworu BM o stężeniu 50 mg·dm^{-3} [opracowanie własne]

3.1. Opis równowagi i kinetyki procesu fotokatalitycznej degradacji błekitu metylowego na geopolimerach otrzymanych popiołów pochodzących ze spalania węgla lub biomasy

W celu dokonania wyboru równania izotermy sorpcji najlepiej opisującego adsorpcję cząstek barwnika BM na PW/GEO oraz PB/GEO przeprowadzono linearyzacje wartości eksperymentalnych.

Opis kinetyki sorpcji obejmował wyznaczenie stężenie równowagowego (c_e). W tym celu w programie Maxima wykonano wykres zależności zmian stężenia BM w funkcji czasu dla roztworów zawierających PW/GEO oraz PB/GEO. Następnie wyznaczono styczne w punktach końcowych t_0 i t_K. Wykreślono dwusieczną kąta, pod którym przecięły się proste. Odczytano współrzędne punktu przecięcia dwusiecznej z krzywą kinetyczną – wartość na osi odciętych to czas, w którym osiągnięte zostało stężenie równowagowe, natomiast na osi rzędnych znajdowała się wartość stężenia równowagowego.

Otrzymane wartości stężenia równowagowego oraz czasu, w którym zostało ono osiągnięte zestawiono w tabeli 3 dla PW/GEO i PB/GEO.

Tabela 3. Zestawienie wartości równowagowych stężeń, pojemności sorpcyjnych oraz czasów dla geopolimerów otrzymanych z popiołów ze spalania węgla (PW/GEO) lub biomasy (PB/GEO)

Geopolimer	c_e $[mg \cdot dm^{-3}]$	t_e *[min]*	q_e $[mg \cdot g^{-1}]$
PW/GEO	*9,167*	*37,5*	*4,091*
PB/GEO	*8,333*	*37,5*	*4,182*

Źródło: Opracowanie własne

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że oba geopolimery charakteryzują się zbliżoną pojemnością sorpcyjną. Nieznacznie lepszą wartość tego parametru uzyskano dla geopolimeru na bazie popiołu ze spalania biomasy. Maksimum q_e wynosi dla PW/GEO 4,091 mg BM/g geopolimeru natomiast dla PB/GEO 4,182 mg BM/g geopolimeru.

3.2. Opis równowagi procesu fotokatalitycznej degradacji błękitu metylowego

Do opisu sorpcji barwników najczęściej stosuje się izotermy Langmuira oraz Freundlicha [15, 16]. W związku z tym podjęto próby dopasowania wyników otrzymanych w trakcie prowadzenia eksperymentu do tych izoterm.

Równanie izotermy Langmuira opisane jest następującą zależnością (3):

$$K_L c_e = \frac{q_e}{1 - q_e} \tag{3}$$

gdzie: K_L – wartość stała, c_e – stężenie BM w stanie równowagi$[mg \cdot dm^{-3}]$, q_e – pojemność sorpcyjna geopolimeru w stanie równowagi $[mg \cdot g^{-1}]$.

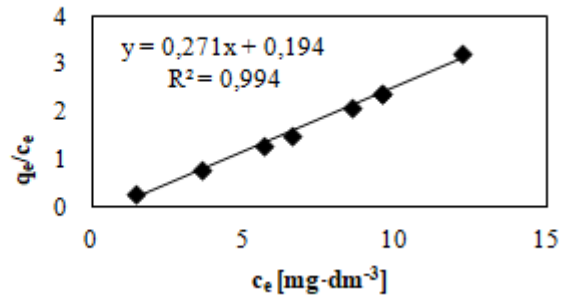
Po przekształceniu równanie (3) przyjmuje postać (4):

$$\frac{c_e}{q_e} = \frac{1}{K_L} + c_e \tag{4}$$

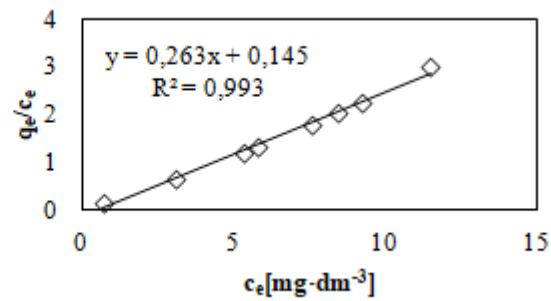
Funkcją opisującą izotermę Langmuira jest więc $\frac{c_e}{q_e} = f(c_e)$.

Na wykresach (rys. 7a i 7b) przedstawiono zależność opisującą izotermę Langmuira dla PW/GEO oraz PB/GEO.

7a)



7b)



Rysunek 7. Izoterma Langmuira dla a) PW/GEO oraz b) PB/GEO [opracowanie własne]

Zgodnie z teorią adsorpcji Freundlicha cząstki adsorbentu najpierw zajmują centra aktywne o najwyższej energii wiązania. Kolejno po nich obsadzane są miejsca o stopniowo zmniejszającej się energii. Na podstawie tego założenia zostało wyprowadzone równanie izotermy Freundlicha (5):

$$q_e = K_F c_e^{\frac{1}{n}} \tag{5}$$

gdzie: K_F – wartość stała, n – parametr opisujący niejednorodność powierzchni.

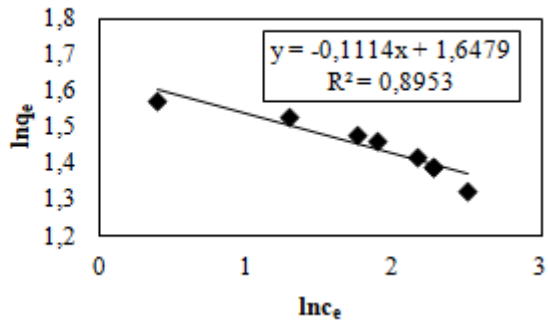
Logarytmując równanie (5) otrzymuje się następującą zależność (6):

$$lnq_e = lnK_F + \frac{1}{n} lnc_e \tag{6}$$

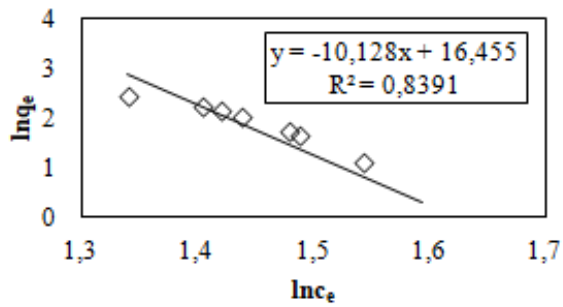
Zgodnie z powyższą zależnością funkcją opisującą izotermę Freundlicha jest następujące równanie $lnq_e = f(lnc_e)$ [17].

Na rysunku 8 przedstawiono wykresy izoterm Freundlicha dla PW/GEO i PB/GEO.

8a)



8b)



Rysunek 8. Izoterma Freundlicha dla a) PW/GEO oraz b) PB/GEO [opracowanie własne]

Na podstawie otrzymanych współczynników korelacji liniowej R^2 można stwierdzić, że sorpcja BM na zarówno na PW/GEO, jak i PB/GEO zachodzi zgodnie z teorią Langmuira. W celu potwierdzenia tej tezy z równania otrzymanej prostej obliczono stałą K_L i współczynnik separacji R_L zgodnie z równaniem (7).

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \tag{7}$$

gdzie: R_L – współczynnik separacji, K_L – wartość stała [$dm^3 \cdot g^{-1}$], c_0 – stężenie początkowe roztworu [$mg \cdot dm^{-3}$].

Wyniki zestawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Zestawienie wartości stałych K_L oraz współczynników separacji R_L dla geopolimerów otrzymanych z popiołów ze spalania węgla (PW/GEO) lub biomasy (PB/GEO)

Geopolimer	*K_L [$dm^3 \cdot g^{-1}$]*	*R_L*
PW/GEO	*5,155*	*0,795*
PB/GEO	*6,897*	*0,744*

Źródło: Opracowanie własne

Zgodnie z [15] R_L powinno się mieścić w zakresie od 0 do 1. Otrzymane wartości potwierdzają więc sorpcję BM zgodnie z mechanizmem Langmuira. Można więc sądzić, że na powierzchni geopolimerów istnieje określona liczba centrów aktywnych,

a w każdym z nich może zostać związana tylko jedna cząsteczka. Błękit metylowy jest wiązany na drodze fizycznej lub chemicznej i tworzy na powierzchni geopolimeru monowarstwę.

3.3. Opis kinetyki procesu fotokatalitycznej degradacji błękitu metylowego

Do opisu kinetyki procesu sorpcji barwników na ciałach stałych zgodnie z danymi literaturowymi [18, 19] służą zazwyczaj równania kinetyczne pseudo-pierwszego i pseudo-drugiego rzędu.

Równanie kinetyczne pseudo-pierwszego rzędu opisuje zależność (8):

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1(q_e - g_t) \tag{8}$$

gdzie: k_1 – stała szybkości, q_t – pojemność sorpcyjna w czasie t [mg·g^{-1}], q_e – pojemność sorpcyjna w stanie równowagi [mg·g^{-1}].

Po przekształceniach otrzymujemy zależność (9 i 10):

$$\frac{q_t}{q_e} + \ln(q_e + q_t) = \ln(q_e) - K_1 t \tag{9}$$

$$K_1 = \frac{k_1 g_t}{q_e} \tag{10}$$

Jeżeli adsorpcja przebiega zgodnie z równaniem kinetycznym pseudo-pierwszego rzędu zależność $\frac{q_t}{q_e} + \ln(q_e - q_t) = f(t)$ jest liniowa [19, 20].

Równanie kinetyczne pseudo-drugiego rzędu opisuje zależność (11):

$$\frac{dq_t}{dt} = \frac{k(q_e - q_t)^2}{1 + k_t} \tag{11}$$

Przekształcając równanie (11) dochodzi się do zależności (12):

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \tag{12}$$

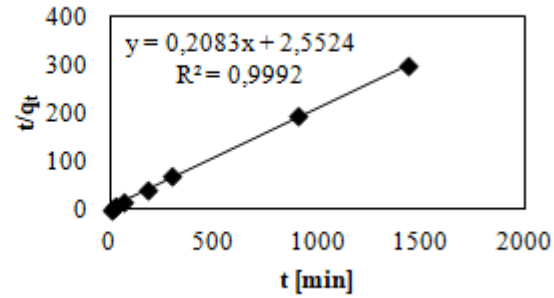
gdzie: k_2 – stała szybkości pseudo-drugiego rzędu [mg^2·g^{-2}].

Proces sorpcji może zostać opisany równaniem pseudo-drugiego rzędu jeżeli zależność $\frac{t}{q_t} = f(t)$ jest liniowa [19,20].

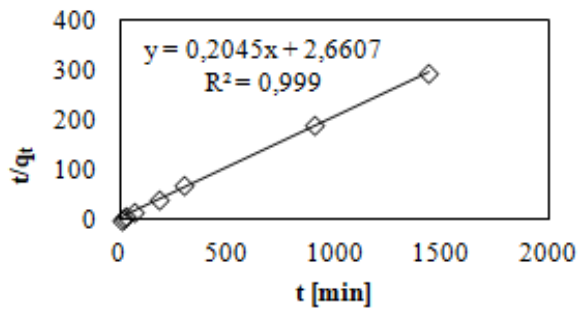
Na podstawie wykonanych badań stwierdzono, że opis kinetyki sorpcji BM na powierzchni obu geopolimerów jest możliwy za pomocą równania kinetycznego pseudo-pierwszego rzędu jedynie dla pierwszych 30 minut prowadzenia procesu. W związku z powyższym do opisu kinetyki adsorpcji BM na powierzchni badanych geopolimerów zastosowano równanie kinetyczne pseudo-drugiego rzędu.

Wyniki dopasowania danych uzyskanych podczas eksperymentów do równania kinetycznego pseudo-drugiego rzędu przedstawiono na rysunku 9.

9a)



9b)



Rysunek 9. Zależność $t/q_t = f(t)$ opisująca równanie kinetyczne pseudo-drugiego rzędu dla a) PW/GEO oraz b) PB/GEO [opracowanie własne]

Wykonane wykresy wskazują na to, że mechanizm sorpcji BM zachodzi zgodnie z równaniem kinetycznym pseudo-drugiego rzędu. Świadczą o tym współczynniki korelacji liniowej R^2 wynoszące w przypadku obu geopolimerów 0,999. Zgodnie z teorią kinetyki pseudo-drugiego rzędu adsorpcja zachodzi na drodze dyfuzji powierzchniowej ustalonej w czasie [18].

Do określenia szybkości procesu adsorpcji można wykorzystać również model dyfuzji wewnątrzcząsteczkowej. Według tego modelu proces adsorpcji złożony jest z następujących etapów:

- migracji adsorbatu na powierzchnię sorbentu;
- dyfuzji barwnika;
- dyfuzji wewnątrzcząsteczkowej w porach;
- adsorpcji na powierzchni sorbentu.

Zgodnie z teorią Cranka [18] równanie szybkości dyfuzji wewnątrzcząsteczkowej ma następują postać, zapisaną w postaci równania (13):

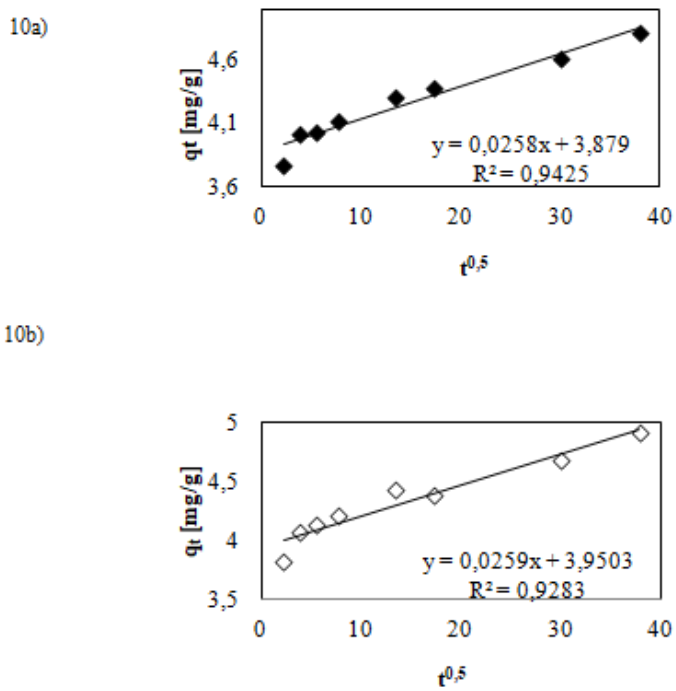
$$q_t = k_p t^{0,5} + c \tag{13}$$

gdzie: k_p – stała szybkości dyfuzji wewnątrzcząsteczkowej [$mg^2 \cdot g^{-2}$].

Mechanizm dyfuzji wewnątrzcząsteczkowej ilustruje się graficznie zależnością (14):

$$q_t = f(t^{0,5}) \tag{14}$$

Wyniki obliczeń dla modelu dyfuzji wewnątrzcząsteczkowej podstawiono na rysunku 10.



Rysunek 10. Zależność $q_t = f(t^{0,5})$ opisująca model dyfuzji wewnątrzcząsteczkowej dla a) PW/GEO oraz b) PB/GEO [opracowanie własne]

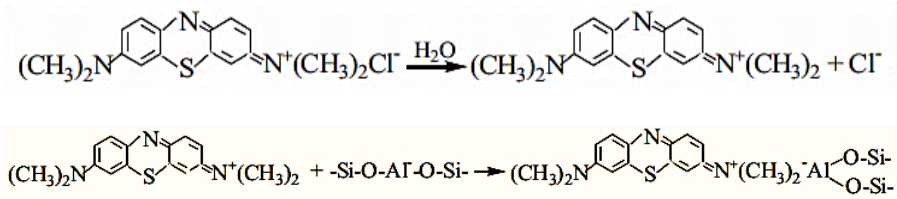
Z obliczonych wartości współczynników R^2 (odpowiednio 0,9425 dla PW/GEO i 0,9283 dla PB/GEO) wynika, że wartości q_t są wysoko liniowo skorelowane z wartościami $t^{0,5}$ co sugeruje, iż dyfuzja wewnątrzcząsteczkowa jest etapem limitującym szybkość procesu adsorpcji BM na obu badanych geopolimerach. Dlatego też szybkość adsorpcji BM na powierzchni badanych geopolimerów jest warunkowana jednocześnie dyfuzją w fazie ciekłej, dyfuzją wewnątrzcząsteczkową w porach geopolimerów oraz adsorpcją na ich powierzchni. Szybkość adsorpcji BM na powierzchni obu geopolimerów jest zgodna z równaniem kinetyki pseudo-drugiego rzędu.

3.4. Mechanizm fotokatalitycznej degradacji błękitu metylowego

Na podstawie wykonanych obliczeń opracowano mechanizm fotokatalitycznej degradacji błękitu metylowego. Proces ten należy do Zawansowanych Metod Utleniania (*Advanced Oxidation Processes* – AOPs). Jego mechanizm obejmuje kilka etapów. W pierwszym z nich, przedstawionym na rys. 11, BM w roztworze wodnym ulega dysocjacji elektrolitycznej, tworząc kationy, które są następnie wykorzystywane

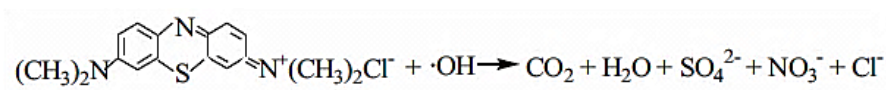
do skompensowania ujemnego ładunku łańcuchów geopolimerowych, w skład w których wchodzą aniony [SiO_4^{4-}] oraz [AlO_4^-].

W strukturze geopolimerów oprócz zawartości tlenu, krzemu oraz glinu wyróżnia się tlenki metali Fe_2O_3 oraz TiO_2 [14]. Są one źródłem elektronów, których emisja ma miejsce pod wpływem promieniowania UV. W wyniku połączenia wyemitowanych elektronów z cząsteczkami wody powstają rodniki hydroksylowe.



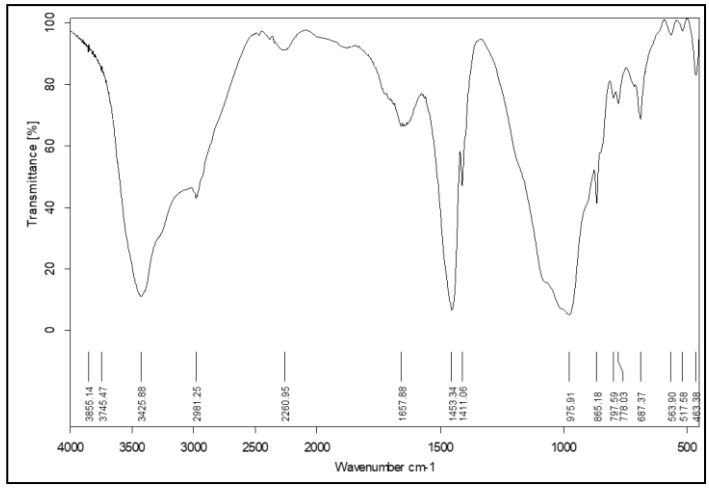
Rysunek 11. Mechanizm fotokatalitycznej degradacji błękitu metylowego – etap I opracowano na podstawie [18]

Zaadsorbowany na powierzchni geopolimeru BM ulega utlenieniu podczas reakcji z rodnikami hydroksylowymi powstałymi w wyniku działania na układ promieniowania UV. Proces ten przebiega zgodnie z mechanizmem pokazanym na rysunku 12, prowadząc do powstania produktów degradacji fotokatalitycznej [18].

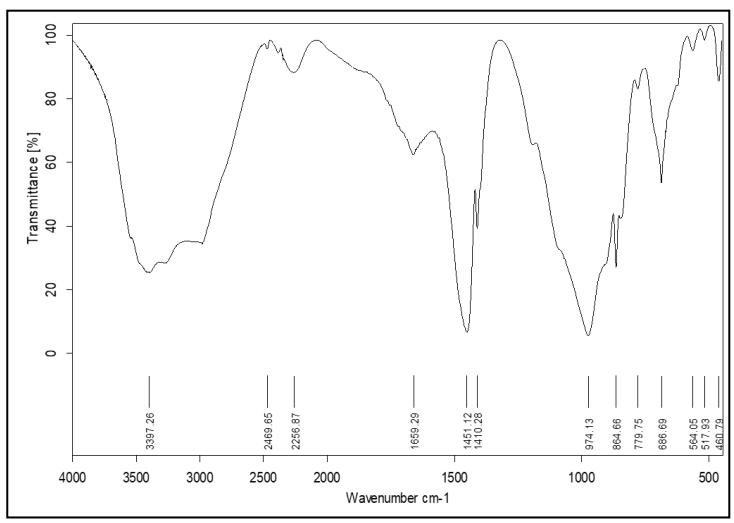


Rysunek 12. Mechanizm fotokatalitycznej degradacji błękitu metylowego – etap II opracowano na podstawie [18]

W celu porównania zmian zachodzących w strukturze geopolimerów wynikających z obecności określonych grup funkcyjnych znajdujących się na ich powierzchni przed sorpcją oraz po sorpcji błękitu metylowego wykonano widma metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR). Zastały one pokazane odpowiednio na rysunkach 13 i 14 – przed sorpcją BM oraz rysunkach 15 i 16 – po sorpcji BM.



Rysunek 13. Widmo FTIR dla PW/GEO przed sorpcją BM [opracowanie własne]



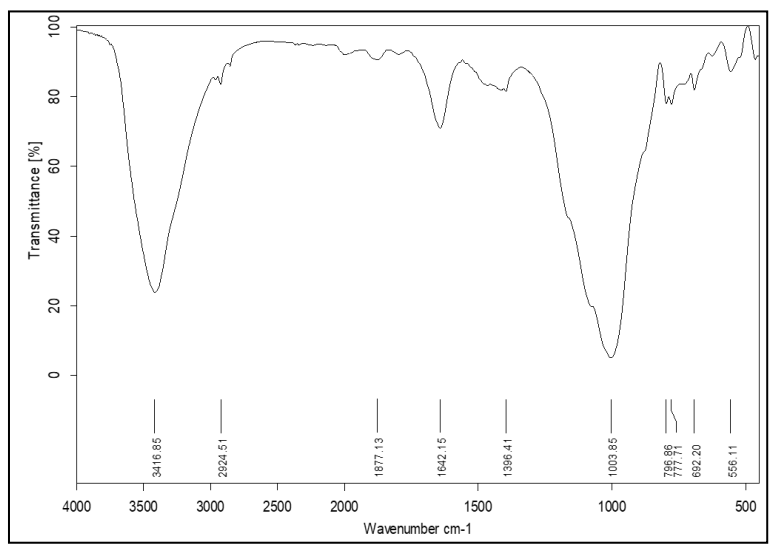
Rysunek 14. Widmo FTIR dla PB/GEO przed sorpcją BM [opracowanie własne]

Widoczne na spektrogramach (rys. 13 i 14) pasma w zakresie 3500-3200 cm^{-1} charakteryzujące się maksimum absorpcji ok. 3426 cm^{-1} dla PW/GEO i ok. 3397 cm^{-1} dla PB/GEO mogą wskazywać na obecność na powierzchni popiołu grup -OH związanych z nią chemicznie, jak również mogą pochodzić od drgań rozciągających grup -OH występujących w cząsteczkach wody zaadsorbowanych na powierzchni geopolimeru.

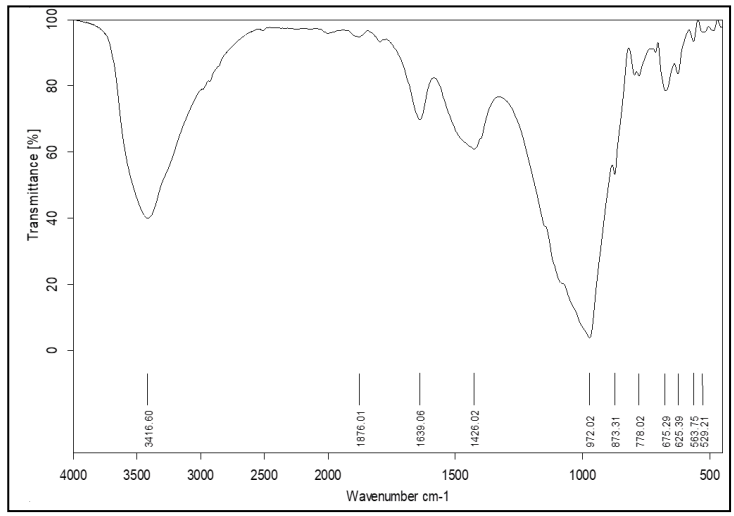
Pasma o długości fali ok. 1658 cm^{-1} dla PW/GEO i ok. 1669 cm^{-1} dla PB/GEO mogą sugerować obecność na powierzchni geopolimerów grup amidowych, ponieważ występują one w zakresie charakterystycznym dla drgań zginających grup –N=N.

Na spektrogramach widoczne są również pasma w zakresach charakterystycznych dla drgań wewnętrznych Si-O(Al) i Si-O(Si) oraz symetrycznych i asymetrycznych drgań rozciągających wiązań Si-O(Al) pochodzących od struktury glinokrzemianów.

Porównanie widm FTIR geopolimerów przed i po sorpcji pozwala stwierdzić, że pasma występujące na obu widmach różnią się między sobą intensywnością oraz położeniem. Ponadto, widoczne na spektrogramach (rys. 15 i 16) pasma stanowią również nowe sygnały pochodzące od grup aminowych występujących w cząsteczkach błękitu metylowego. Są to pasma znajdujące się w zakresie charakterystycznym dla drgań zginających N-H (900-660 cm^{-1}). Istotną różnicę stanowi pasmo pojawiające się przy mniejszych częstościach równych ok. 1641 cm^{-1} w porównaniu do widma przed sorpcją. Jest to pasmo charakterystyczne dla drgań rozciągających wiązania –C=C- oraz -C=N- sugerujące obecność pierścienia aromatycznego pochodzącego od cząsteczki barwnika. Zaobserwowano także, zmniejszenie intensywności pasma przy wartości ok. 1448 cm^{-1} odpowiadające drganiom mostkowym od związanej wody (rys. 15). Sygnały pochodzące od grup O-H są lekko przesunięte w kierunku dłuższych fal i są mniej intensywne w porównaniu z widmem dla geopolimerów przed procesem sorpcji. Pasma znajdujące się przy długości fali ok. 1500 cm^{-1} są znacznie mniej intensywne, tak samo jak pasma pochodzące od struktury glinokrzemianów.



Rysunek 15. Widmo FTIR dla PW/GEO po sorpcji BM [opracowanie własne]



Rysunek 16. Widmo FTIR dla PB/GEO po sorpcji BM [opracowanie własne]

Porównanie widm FTIR geopolimerów przed i po sorpcji pozwala stwierdzić, że pasma występujące na obu widmach różnią się między sobą intensywnością oraz położeniem. Ponadto, widoczne na spektrogramach (rys. 15 i 16) pasma stanowią również nowe sygnały pochodzące od grup aminowych występujących w cząsteczkach błękitu metylowego. Są to pasma znajdujące się w zakresie charakterystycznym dla drgań zginających N-H (900-660 cm^{-1}). Istotną różnicę stanowi pasmo pojawiające się przy mniejszych częstościach równych ok. 1641 cm^{-1} w porównaniu do widma przed sorpcją. Jest to pasmo charakterystyczne dla drgań rozciągających wiązania –C=C- oraz -C=N- sugerujące obecność pierścienia aromatycznego pochodzącego od cząsteczki barwnika. Zaobserwowano także, zmniejszenie intensywności pasma przy wartości ok. 1448 cm^{-1} odpowiadające drganiom mostkowych związanej wody (rys. 15). Sygnały pochodzące od grup O-H są lekko przesunięte w kierunku dłuższych fal i są mniej intensywne w porównaniu z widmem dla geopolimerów przed procesem sorpcji. Pasma znajdujące się przy długości fali ok. 1500 cm^{-1} są znacznie mniej intensywne tak samo jak pasmo pochodzące od struktury glinokrzemianów.

4. Wnioski

Na podstawie wykonanych badań można sformułować następujące wnioski:

1) Geopolimery na bazie popiołu ze spalania węgla i biomasy mogą być stosowane w reakcji fotokatalitycznej degradacji barwnika błękitu metylowego.
2) Mechanizm procesu fotodegradacji błękitu metylowego można go zaliczyć do Procesów Zaawansowanego Utleniania (AOPs).
3) Wydajność usuwania barwnika spada ze wzrostem stężenia początkowego roztworu.
4) Proces fotokatalitycznej degradacji błękitu metylowego z udziałem geopolimeru na bazie popiołu ze spalania węgla osiąga stan równowagi po 5 min, natomiast w układzie z geopolimerem na bazie popiołu ze spalania biomasy po 15 min.
5) Opis równowagi procesu adsorpcji błękitu metylowego na powierzchni geodolimerów zachodzi zgodnie z modelem izotermy Langmuira.

6) Szybkość adsorpcji jest warunkowana dyfuzją w fazie ciekłej, dyfuzją wewnątrz-cząsteczkową i adsorpcją powierzchniową.
7) Szybkość adsorpcji barwnika na powierzchni obu geopolimerów jest zgodna z równaniem kinetyki pseudo-drugiego rzędu.
8) Analiza spektroskopowa w podczerwieni z transformacją Fouriera wykazała trwałe wiązanie cząsteczek błękitu metylowego na powierzchni zastosowanych geo-polimerów.

Literatura

1. Kyzioł-Kosmosińska J., Pająk M., *Usuwanie barwników z wód i ścieków metodą sorpcji na neogeńskich iłach smektytowych*, Works & Studies – Prace i Studia, Zabrze 2012, s. 153-159.
2. Filipkowska U., *Adsorption and desorption of Reactive Dyes onto Chitin and Chitosan Flakes and Beads*, Adsorption Science and Technology, 24, 2006, s. 781-795.
3. Jóźwiak T., Filipkowska U., Rodziewicz J., Mielcarek A., Owczarkowska D., *Zastosowanie kompostu jako taniego sorbentu do usuwania barwników z roztworów wodnych*, Rocznik Ochrona Środowiska, 15, 2013, s. 2398-2411.
4. Bień J.B., Sobik-Szołtysek J., Wustalska K., Kowalczyk M., Kamizela ,T., *Unieszkodliwianie ścieków przemysłowych,* Wydawnictwo Politechniki Częstochowskiej, Częstochowa 2018.
5. Unuabonah E.I., Adebowale K.O., Dawodu F.A., *Equilibrium, kinetic and sorber design studies on the adsorption of Aniline blue dye by sodium tetraborate-modified Kaolinite clay adsorbent*, Journal of Hazardous Materials, 157, 2008, s. 397-409.
6. Anielak A.M., *Chemiczne i fizykochemiczne oczyszczanie ścieków*, PWN, Warszawa 2010.
7. Wawrzkiewicz M., *Zastosowanie sorbentów różnego typu w procesie usuwania barwników z roztworów wodnych i ścieków przemysłowych*, Przemysł Chemiczny, 91, 2012, s. 45 -52.
8. Jędrzejczak M., Kamińska A., Wojciechowski K., *Dekoloryzacja barwników azowych, pochodnych kwasu Schäffera i soli R za pomocą mikroorganizmów osadu czynnego*, CHEMIK, 66, 2012, s. 1308-1313.
9. Ponikowski A., *Badania technologiczne nad oczyszczaniem ścieków przemysłowych z zakładów włókienniczych*, Ochrona Środowiska, 3, 1981, s. 40-44.
10. Bezak-Mazur E., Adamczyk D., *Wpływ czasu regeneracji na zdolności sorpcyjne węgla aktywowanego WD-EXTRA*, Proceeding of ECOpole, 7, 2013, s. 539-545.
11. Bilińska L., Wrębiak J., Ledakowicz S., *Ozonowanie jako etap technologii oczyszczania ścieków włókienniczych*, Inżynieria i Aparatura Chemiczna, 54, 2015, s. 146-147.
12. Nawrocki J., Fijołek L., *Mechanizmy i skuteczność ozonowania katalitycznego w oczyszczaniu wody*, Rocznik Ochrona Środowiska, 3, 2009, s. 3-16.
13. Dąbek L., Ozimina E., Picheta-Oleś A., *Badania nad usuwaniem barwnych związków organicznych ze ścieków z przemysłu włókienniczego*, Rocznik Ochrona Środowiska, 15, 2013, s. 1164-1176.
14. Sitarz-Palczak E., Kalembkiewicz J., Galas D., *Comparative study on the characteristics of coal fly ash and biomass ash geopolymers*, Archives of Environmental Protection, 45, 2019, s. 126-135.
15. Novais R.M., Ascens G., Tobaldi D.M., Seabra M.P., Labrincha J.A., *Biomass fly ash geopolymer monoliths for effective methylene blue removal from wastewaters,* Journal of Cleaner Production, 171, 2018, s. 783-794.
16. Riegiert D., RadwanK., Rakowska J., Miazga A., *Wpływ składu chemicznego i morfologii na sorpcyjność materiałów porowatych,* Materiały ceramiczne, 1, 2016, s. 22-27.
17. Sarbak Z., *Reakcje i procesy katalityczne,* Laboratorium, 1, 2015, s. 22-28.
18. Zhang Y., Liu L., *Fly ash-based geopolymer as a novel photocatalyst for degradation of dye from wastewater,* Particuology, 11, 2013, s. 353-358.

19. Dutkiewicz E.T., *Fizykochemia powierzchni*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa, 1998.
20. Novais R.M., Buruberri L.H., Seabra M.P., Labrincha J.A., *Novel porous fly-ash containing geopolymer monoliths for lead adsorption from wastewaters*, Journal of Hazardous Materials, 318, 2016, s. 631-640.

Zastosowanie geopolimerów z popiołów pochodzących z spalania węgla lub biomasy do fotokatalitycznej degradacji błekitu metylowego

Streszczenie

W niniejszej pracy określono możliwości zastosowanie geopolimerów otrzymanych z popiołu ze spalania węgla lub biomasy do fotokatalitycznej degradacji błękitu metylowego (BM). Barwnik ten jest powszechnie stosowany w przemyśle tekstylnym (jako błękit anilinowy) oraz do wybarwiania preparatów medycznych. Utylizacja ścieków przemysłowych powstających podczas barwienia materiałów jest zagadnieniem ważnym ze względu na negatywny wpływ ścieków z przemysłu barwników na środowisko naturalne, jak i brak uniwersalnych metod utylizacji tego typu ścieków. Wykonano badania wpływu stężenia początkowego BM oraz czasu na efektywność procesu fotokatalitycznej degradacji błękitu metylowego. Dokonano opisu równowagi i kinetyki sorpcji BM na geopolimerach otrzymanych z popiołów. Do określenia mechanizmu fotokatalitycznej degradacji BM wykorzystano metodę FTIR. Zastosowane geopolimery wykazują efektywność w procesie usuwania BM na poziomie 50%, która maleje ze wzrostem jego stężenia oraz czasem prowadzenia eksperymentu sorpcji. Otrzymano zbliżoną wartość pojemności sorpcyjnej dla badanych geopolimerów, która wynosi ok. 4,1 mgBM/g geopolimeru. Proces sorpcji zachodzi zgodnie z modelem Langmuira, według równania kinetycznego pseudo-drugiego rzędu. Szybkość procesu sorpcji na powierzchni geopolimerów jest uwarunkowana jednocześnie dyfuzją w fazie ciekłej, dyfuzją wewnątrzcząsteczkową oraz zgodnie z równaniem kinetyki psuedo-drugiego rzędu – sorpcją powierzchniową. Proces fotokatalitycznej degradacji BM można zaliczyć do Advanced Oxidation Processes (AOPs). Jego mechanizm polega na utlenianiu powstającym rodnikiem hydroksylowym cząsteczek barwnika zaadsorbowanych na powierzchni geopolimeru. Zastosowany w niniejszej pracy proces jest prosty i ekonomiczny ponieważ wykorzystano w nim geopolimery otrzymane z popiołów, czyli ubocznych produktów spalania węgla lub biomasy, które stanowią odpady podlegające w dużej mierze składowaniu na składowiskach.

Słowa kluczowe: geopolimer, adsorpcja, błękit metylowy, odpady przemysłowe

Application of geopolymers obtained from ash from coal or biomass combustion to photocatalytic degradation of methyl blue

Abstract

In this paper the possibilities of application of geopolymers obtained from ash from coal or biomass combustion to photocatalytic degradation of methyl blue (BM) were determined. This dye is commonly used in textile industry (as aniline blue) and for coloring medical preparations. Disposal of industrial wastewater generated during dyeing is an important issue due to the negative impact of wastewater from the dyeing industry on the environment, as well as the lack of universal methods on disposal of this type of wastewater. The influence of initial BM concentration and time on the efficiency of photocatalytic methyl blue degradation process was studied. The equlibrium and kinetics of BM sorption on geopolymers obtained from ashes were described. The FTIR method was used to determine the mechanism of photocatalytic degradation of methyl blue. The applied geopolymers show efficiency in the process of BM removal at the level of 50%, which decreases with the increase of it is concentration and time sorption experiment. A similar value of sorption capacity was obtained for the studied geopolymers, which is approximately 4,1 mgBM/g geopolymer. The sorption process takes place according to the Langmuir model according to a kinetic equation of the pseudo-second order. The rate of sorption process on the surface geopolymers is simultaneously determined by liquid phase diffusion, intermolecular diffusion and, according to the pseudo-second order kinetics equation- surface sorption. The photocatalytic BM degradation process can be classified as Advanced Oxidation Processes (AOPs). It is mechanism consists in oxidation of dye particles adsorbed on the surface of the geopolymer with hydroxyl radical. The process used in this paper is simple and economical because it uses geopolymers obtained from ashes, i. e. by- products of coal or biomass combustion, which are wastes that are largely landfilled.

Keywords: geopolymer, adsorption, methyl blue, industrial waste

Katarzyna Gieczewska[1], Joanna Grzyb[2]

Bioczujniki i bionanourządzenia – przyszłość czy ślepa uliczka?

1. Wstęp

Rozwój nauki i techniki, jak i postęp w dziedzinie medycyny powodują, że projekty niegdyś znajdujące się w sferze *science fiction* stają się realne, lub potencjalnie możliwe do zrealizowania w określonym horyzoncie czasowym. Jednym z marzeń ludzkości są mikroskopijnej wielkości urządzenia, które wprowadzone do organizmu człowieka naprawiałyby najbardziej uszkodzone organy i leczyły nieuleczalne choroby. Póki co, takie uniwersalne nanoboty ciągle wydają się być bardzo odległym celem. Jednakże, tworzy się już struktury nanometrowej wielkości, które można wykorzystywać jako bardzo proste nanourządzenia. Najprostszym do zrealizowania zadaniem jest funkcja czujnikowa. Takie urządzenie musi się więc składać z części reagującej z wykrywaną cząsteczką (analitem) oraz elementu pozwalającego przetworzyć informację od sensora na sygnał możliwy do detekcji i zapisu. Możliwe jest łączenie kilku funkcji, np. czujnikowej i terapeutycznej.

Za Campas i współpracownikami [1] bioczujniki możemy podzielić na grupy na podstawie własności części biologicznej lub biorąc pod uwagę metodę detekcji. Część biologiczną mogą stanowić enzymy, przeciwciała, oligonukleotydy komórki i fragmenty tkanek oraz materiały biomimetyczne. Pod względem metod detekcji, bardzo ogólnie możemy wyróżnić bioczujniki elektrochemiczne, optyczne i akustyczne.

W naszym przeglądzie skupimy się przede wszystkim na właściwościach części biologicznej, ale również na docelowym zastosowaniu bionanourządzenia. Rozpoczniemy jednakże od skrótowej charakterystyki części abiotycznej, którą stanowią nanomateriały.

2. Nanomateriały i ich właściwości istotne dla funkcjonowania bionanourządzeń

Mianem nanomateriałów określa się wszelkie struktury, których przynajmniej jeden z wymiarów nie przekracza 100 nm [2]. Należą tutaj kropki kwantowe, zarówno koloidalne (QD), jak i epitaksjalne. QD to struktury w przybliżeniu sferyczne, zbudowane z materiałów półprzewodnikowych (CdSe, ZnS, CdTe i inne), metali ziem rzadkich (Yt, Tb, Eu), krzemu czy węgla. Nazwa „kropka kwantowa" jest opisem właściwości fizycznych tej struktury – ze względu na ograniczenia przestrzenne (promień mniejszy lub zbliżony do promienia Bohra ekscytonu, czyli odległości elektron-dziura elektronowa we wzbudzonym atomie), nanocząstki takie zachowują się jak obiekty zerowymiarowe. W uproszczeniu, można QD traktować jako atom; posiada skwantowane

[1] kat.gieczewska@biol.uw.edu.pl, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. I. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa.
[2] joanna.grzyb@uwr.edu.pl, Zakład Biofizyki, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski, ul. F. Joliot-Curie 14a, 50-383 Wrocław.

poziomy energetyczne, z dobrze wyodrębnioną przerwą energetyczną, czego nie posiada materiał o identycznym składzie, ale o rozmiarach makroskopowych. Innymi słowy, duży kryształ CdTe będzie miał inną charakterystykę spektralną czy elektrochemiczną niż jego nanocząstkowa pochodna. QD zyskują zdolność fluorescencji, niekiedy o znacznej wydajności. Nanocząstki można uzyskać poprzez rozdrobnienie materiału makroskopowego, najczęściej jednak stosuje się syntezę chemiczną z prostszych substratów. W ten sposób uzyskuje się jednorodne QD (CdTe), QD typu rdzeń/powłoka (CdSe/ZnS) i struktury bardziej złożone (CdSe/CdS/CdZnS/ZnS [3]). Możliwe jest domieszkowanie [4], powodujące wprowadzenie do nanokryształu dodatkowych jonów. Istnieją koloidalne nanomateriały o innym kształcie niż sferyczny, jak nanotrójkaty, nanogwiazdki czy nanopręty [5]. Węglowe kropki kwantowe (CQD) uzyskuje się poprzez zwęglenie materiału wyjściowego (np. glukoza). QD z materiałów półprzewodnikowych zazwyczaj zawierają na swej powierzchni dodatkowy płaszcz z cząsteczek organicznych, chroniący nanokryształy przed agregacją, jak również umożliwiający funkcjonalizację, czyli przyłączanie innych elementów do powierzchni nanocząstki. Płaszcz ten wprowadzany jest na etapie syntezy, po osiągnięciu przez nanocząstki odpowiednich rozmiarów. Najczęściej są to hydrofobowe pochodne fosfiny, np. TOPO (tri-oktylo fosfina). W kolejnych etapach możliwe jest podmienienie płaszcza na cząsteczki hydrofilowe, np. kwas dihydroliponowy lub cysteaminę. Możliwe jest opłaszczenie nanokryształu przez łańcuchy polipeptydowe białek [6]. Węglowe i krzemowe QD nie zawierają dodatkowego płaszcza. Powierzchniowe grupy karboksylowe CQD wprowadza się poprzez zastosowanie warunków utleniających. W przypadku nanocząstek niefluorescencyjnych ze złota lub srebra, powierzchnię stabilizuje się zazwyczaj kwasami organicznymi (np. kwas cytrynowy), co również umożliwia późniejszą funkcjonalizację. W działaniu nanoczujników, zbudowanych w oparciu o nanocząstki, wykorzystuje się albo zdolność fluorescencji (często w połączeniu ze zjawiskiem Försterowskiego rezonansowego przekazu energii, FRET), albo zdolność wzbudzanego światłem przekazu elektronów. Dokładniejsze omówienie tematu znajdzie czytelnik w innych pracach przeglądowych [7-11].

Epitaksjalne QD to nanocząstki z materiałów półprzewodnikowych, tworzone metodą epitaksji, czyli wzrostu poprzez nakładanie kolejnych warstw atomów na podłożu. W praktyce, wymagają one pasywacji (pokrycia, zatopienia) w warstwach chroniących przed wpływem tlenu atmosferycznego. Z tego powodu, są one nieużyteczne w konstrukcji bionanohybryd, znajdują jednak istotne zastosowania w elektronice (np. w konstrukcji monitorów telewizyjnych). Z materiałów półprzewodnikowych można formować epitaksjalne niepasywowane nanodruty. Dłuższe niż nanodruty są nanowłókna i nanorurki, które można uzyskać między innymi metodą elektroprzędzenia [12]. Uzyskane struktury mają nanometrowej wielkości średnice, ale długość ich może dochodzić do milimetrów, a nawet centymetrów.

Do nanomateriałów zalicza się zbudowany z atomów węgla grafen oraz nanorurki węglowe (CNT) [13]. Są to materiały trójwymiarowe, o jednym z wymiarów (grafen) lub dwóch z wymiarów (CNT) nieprzekraczającym kilkudziesięciu nanometrów. Można jednocześnie uzyskiwać bardzo duże (rzędu centymetrów kwadratowych) powierzchnie pokryte grafenem. Podobnie ma się z długością nanorurek, sięgającą milimetrów, a nawet centymetrów [14, 15].

Tworzenie nanobiourządzeń wymaga połączenia minimum dwóch elementów. W takich procesach wykorzystuje się reakcje chemiczne, prowadzące do powstania połączeń kowalencyjnych pomiędzy specyficznymi grupami na powierzchni elementów składowych. Bezpośrednio z powierzchnią nanocząstek (poprzez oddziaływanie z atomem metalu) mogą tworzyć wiązania grupy tiolowe i fosfinowe. Mniej stabilne, ale potencjalnie silne wiązania, można uzyskać dzięki oddziaływaniom elektrostatycznym. Szczegóły takich reakcji znajdzie czytelnik w podręczniku [16].

3. Czujniki oparte o aktywność enzymatyczną

Enzymy to białka, które można określić mianem prostych urządzeń biologicznych. Mają one zdolność katalizowania, czyli obniżania energii aktywacji przeprowadzanej reakcji. W wyniku działania enzymu znacząco przesuwa się równowaga reakcji, promując powstawanie produktu. W bioczujnikach stosunkowo łatwo wykorzystuje się enzymy, używające jako substratu badanego analitu (rys. 1A, 1B). Mogą to być zarówno izolowane białka enzymatyczne, co omówimy w tym podrozdziale, jak i enzymy zawarte w tkankach roślinnych, którym poświęcony został następny podrozdział. Dzięki wykorzystaniu enzymów, znacząco wzrasta więc czułość i selektywność czujników. Przykładowo, czułość nanobioczujnika opartego na oksydazie glukozy (GOX) i układzie zawierającym nanocząstki CdTe i Au, sięga 50 nM, a użyteczny zakres detekcji to 0.10-50 μM. Dostępne komercyjnie testy kolorymetryczne mają czułość 10x niższą a limit detekcji standardowych glukometrów osiąga zaledwie 9 μM [17]. Wykrywanie glukozy jest bodajże najpopularniejszą funkcją bionanoczujnika, najprawdopodobniej ze względu na stosunkowo dużą dostępność komercyjną GOX, jak i wysoką stabilność tego enzymu *in vitro*. Z drugiej strony, istnieje zapotrzebowanie na dobre i czułe testy poziomu glukozy we krwi diabetyków. GOX łączono także z QD ZnS, domieszkowanymi Mn [18], QD CdSe/ZnS [19], QD CdTe [20], nanocząstkami grafenowymi [21] czy nanorurkami węglowymi w połączeniu z CdTe [22]. Potencjalnie, możliwe jest użycie wielu innych nanomateriałów w połączeniu z GOX, gdyż zasada działania czujników jest wspólna – utlenienie glukozy przez enzym dostarcza elektronu, który może być oddany na towarzyszącą nanocząstkę, zmieniając jej właściwości fluorescencyjne. Znacząca część bioczujników działa także w oparciu o detekcję elektrochemiczną, czyli bezpośredni pomiar potencjału generowanego przez zachodzącą reakcję.

Na podobnej zasadzie działa czujnik cholesterolu, utworzony przez kowalencyjne przyłączenie oksydazy cholesterolu (uwalniającej H_2O_2, wygaszacz, podczas reakcji) do QD CdSe/ZnS [23].

Nieco zmodyfikowany bioczujnik glukozy oparto o nanohybrydę nanocząstek złotych i peroksydazy chrzanowej (HRP) [24]. Glukoza jest tu utleniana przez nanocząstki do kwasu glukonowego, co prowadzi do jednoczesnego powstania H_2O_2 będącego substratem dla HRP, która przy jego udziale może utleniać szereg substratów, wykrywalnych metodami spektroskopii absorpcyjnej lub fluorescencyjnej.

Nanocząstki stosunkowo łatwo można użyć do badania aktywności różnego typu proteaz [25]. Zasada działania takiego czujnika jest uniwersalna dla różnych proteaz. Do obu końców oligopeptydu, zawierającego sekwencję aminokwasową rozpoznawaną przez proteazę, przyłączona zostaje nanocząstka (np. QD CdSe/ZnS [26]) oraz inny fluorofor (tu, rodamina), stanowiące parę FRET (Rys. 1D). Alternatywnie, może to być

wygaszacz, np. nanocząstka Au. Aktywna metaloproteinaza powoduje zerwanie wiązania i przywrócenie fluorescencji QD. Bardziej skomplikowany system pozwala na wykrywanie kinaz. Do QD przyłączany jest kowalencyjnie peptyd z miejscem specyficznej fosforylacji. Miejsce to rozpoznawane jest przez przeciwciało, dodatkowo połączone kowalencyjnie z fluoroforem stanowiącym parę FRET z QD [27]. Po fosforylacji spada intensywność fluorescencji QD i pojawia się sygnał fluoroforu.

4. Rośliny jako źródło komponentu enzymatycznego dla bioczujników

Użycie komponentu roślinnego ma szereg zalet: stabilność wykorzystanych enzymów oraz ich wysoką aktywność, niski koszt i dostępność materiału roślinnego, oraz zawieranie się w tkance roślinnej wszystkich kofaktorów niezbędnych dla danej reakcji. Minusem wykorzystywania całych tkanek w tworzeniu bioczujników jest ich mała specyficzność i dość wolne działanie związane z koniecznością pokonania przez analit bariery błony i ściany komórkowej. Kolejne partie czujników trzeba zaś niestety osobno kalibrować, albowiem materiał roślinny nie jest wystandaryzowany i w zależności od warunków wzrostu i etapu ontogenezy może zawierać różne stężenie związków czynnych. Szczegółowe omówienie wykorzystania bioczujników opartych na komponentach roślinnych znajdzie czytelnik na przykład w pracach przeglądowych [1, 28, 29], tutaj przedstawimy jedynie najciekawsze wybrane przykłady, dla zobrazowania ich wad i zalet.

W latach 80. Kuriyama i Rechnitz, po raz pierwszy użyli miąższu z żółtej dyni [30] zawierającego dekarboksylazę glutaminianu oraz elektrody CO_2 w celu pomiaru zawartości kwasu glutaminowego w badanej próbce. W 1985 to miąższ bananowy wykorzystany został w układach bioczujnikowych [31]. Zasada działania „bananatrody" Sidwella i Rechnitza opiera się na detekcji elektrodą tlenową typu Clark'a efektów reakcji przeprowadzanej przez oksydazę polifenolową (PPO), która w warunkach naturalnych przyczynia się do szybkiego brązowienia owoców. PPO katalizuje reakcje hydroksylacji i utleniania, w obu przypadkach niezbędny jest tlen, którego ubytek mierzony jest sprzężoną elektrodą. Wykrywanie dopaminy przez bananatrodę polega zatem na elektrochemicznym pomiarze poziomu pobierania tlenu podczas przeprowadzania reakcji przekształcania dopaminy do 1,2-benzochinonu. Modyfikacja tego układu, polegająca na zanurzeniu miąższu banana w paście węglowej, przyspieszyła metodę wykrywania dopaminy [32]. Zamiast ubytku O_2, mierzono tutaj redukcję pochodnej chinonu do katecholu. Zastosowanie tego układu do określania jakości piwa (zawartość flawanoli, katechin i ich pochodnych) nie udała się, z racji tego, że ww. związki występują w dość dużych ilościach natywnie w tkance bananów. Korzystano więc z innych roślin zawierających wysokie stężenie PPO – suszonych i świeżych jabłek oraz ziemniaków.

Fragmenty tkanek zawieszone w paście węglowej wykazują się niehomogennością, co ułatwia penetrację wody i w efekcie podnosi dostępność PPO dla substratów i zwiększa szybkość detekcji analitu [1, 33]. Łatwiejsza penetracja substratów w obrębie bioczujników opartych właśnie na paście węglowej oraz fragmentach tkanek/ekstraktach roślinnych zwiększa czułość takich układów, powodując, że mogą być one wykorzystane również w badaniach próbek pobranych bezpośrednio ze środowiska. PPO w ekstrakcie z owoców genipy (*Genipa americana* L.) zastosowano do oceny związków fenolowych w próbkach ścieków przemysłowych pochodzących z przemysłu

włókienniczego a uzyskane wyniki były zgodne ze standardowymi testami spektrofotometrycznymi [34].

PPO, zawarta w tkankach roślinnych, używana była również w bioczujnikach wykrywających paracetamol czy epinefrynę. Ekstrakt z owoców jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) zawierający PPO z powodzeniem wykorzystano do skonstruowania bioczujnika na bazie pasty węglowej. W zoptymalizowanych warunkach bioczujnik został oceniony pod kątem ilościowego oznaczenia paracetamolu, kwasu acetylosalicylowego, metylodopy i kwasu askorbinowego. Najlepsze wyniki uzyskano dla paracetamolu, wykazując granicę wykrywalności 3 μM, a liniowy zakres odczytu do stężenia 245 μM [35]. Zaś na bazie mieszaniny awokado (*Persea americana* L.), wazeliny i grafitu opracowano bioczujnik amperometryczny [36]. PPO z awokado katalizowała reakcję oksydacji paracetamolu do N-acetylo-p-benzochinonu, redukowanego na powrót na elektrodzie Ag/AgCl. Granica wykrywalności opracowanego bioczujnika wynosiła 88 μM, co jest zbliżone do zakresu uzyskiwanego w standardowej metodzie detekcji. Podobny typ bioczujnika oparto o tkanki bakłażana [37].

Jak można zauważyć ważne w konstrukcji bioczujników jest nie tylko odpowiednie źródło enzymów, ale i rodzaj depozycji materiału biologicznego. Ekstrakt z owoców awokado immobilizowany techniką warstwa po warstwie (LbL) na podłożu z tlenku indowo-cynowego (ITO) stosowany do wykrycia monofenolu charakteryzuje się 14 razy większą czułością niż wartości stwierdzane w literaturze dla podobnego układu [38].

Większość czujników pestycydów ulega szybkiej degradacji. Wysoka stabilność tkanek roślinnych stanowi alternatywę dla tego problemu. Bioczujnik oparty na tkance ziemniaka wykorzystuje hamowanie aktywności PPO przez herbicydy, by w ten sposób wykryć atrazynę wodzie, z granicą wykrywalności 10 μM [39]. Żywotność bioczujnika wynosiła 8-14 dni i można ją było poprawić przez przemywanie układu wodą w celu usunięcia wszelkich śladów atrazyny. Niezależnie od ograniczeń, zastosowanie tkanki zamiast oczyszczonego enzymu ułatwiło wymianę warstwy biokatalitycznej, czego wynikiem był tani bioczujnik „częściowo jednorazowego użytku".

Enzymem często wykorzystywanym w bioczujnikach jest peroksydaza (POD). Bioczujniki, w których skład wchodzi są niezwykle stabilne (do 10 miesięcy) i potrafią przetrwać od 300 do 500 oznaczeń [40]. Jako źródło peroksydazy wykorzystano też homogenat kiełków lucerny siewnej (*Medicago sativa* L.) do budowy bioczujnika do oznaczania pestycydu thiodicarb, inaczej Larvin [41]. POD w tym przypadku została unieruchomiona w formie samoorganizujących się monowarstwach na złotej elektrodzie. Żywotność układu Au-alfalfa-SAM wynosiła 20 dni (co starczało na co najmniej 220 oznaczeń). Wyniki uzyskane dla tiodikarbu w ekstraktach roślinnych proponowaną metodą są w ścisłej zgodności z wynikami uzyskanymi przy zastosowaniu procedury wysokosprawnej chromatografii cieczowej przy 95% poziomie ufności. Z kolei tkanka ziemniaka zawiera nie tylko POD i PPO, ale i kwaśną fosfatazę (ACP) [42]. Dodana zewnętrznie GOD daje czujnik dwuenzymatyczny do oznaczania fosforanów. ACP hydrolizuje glukozo-6-fosforanu do glukozy, która jest następnie utleniania przez GOX z wykorzystaniem tlenu. Obecność fosforanów hamuje aktywność ACP proporcjonalnie do ich stężenia. Bioczujnika użyto do oznaczania fosforanów w żywności (mleko świeże i w proszku, wino i przecier pomidorowy), a uzyskane wyniki były podobne do tych uzyskanych metodą spektrometryczną Bartletta.

Inne wykorzystywane enzymy to oksydaza askorbinianu (AO), katalizująca utlenianie witaminy C, i dekarboksylaza pirogronianu (DP). Jako źródło pierwszego zastosowano tkanki ogórka konstruując czujnik wykrywający zredukowaną formę glutationu [43]. Homogenat ogórka utrwalano żelatyną i glutaraldehydem na membranie teflonowej. Detekcja polegała na określeniu poziomu tlenu, który zależny było od hamowania AO przez glutation. Granica wykrywalności analitu wynosiła 0,1 μM, a jego zastosowanie do rzeczywistych próbek ziemniaka, brokułów i pomidorów dało wyniki porównywalne z uzyskanymi metodą Ellmana. Bioczujnik działał nawet po 2 miesiącach.

W celu zademonstrowania lepszego działania detekcji fluorescencji w biczujnikach opartych na tkankach roślinnych połączono tkankę ziaren kukurydzy bogatą w DP ze światłowodową elektrodą CO_2 [44]. Pirogronian w tym układzie jest dekarboksylowany do aldehydu octowego a reakcję można śledzić poprzez monitorowanie uwalniania CO_2. Chociaż najczęstszym sposobem pomiaru CO_2 jest użycie odpowiedniej elektrody membranowej CO_2, światłowodowa optroda CO_2 może być również użyta, jeśli do systemu wprowadzimy barwnik fluorescencyjny wrażliwy na pH. Autorzy porównali obydwa rodzaje elektrod, obserwując znacznie krótsze czasy odpowiedzi i nieco niższe granice wykrywalności z elektrodą optyczną. Żywotność bioczujnika wynosiła tylko 7 dni; niemniej jednak żywotność była taka sama w przypadku elektrody z membraną CO_2, co dowodzi, że napromienianie z sond światłowodowych nie spowodowało żadnego uszkodzenia tkanki.

Zarówno liścienie, jak i nasiona roślin motylkowych zawierają wysoki poziom diaminooksydazy (DAO). Enzym ten katalizuje utlenianie diamin (np. putrescyna, kadaweryna), wytwarzając H_2O_2, który można zmierzyć amperometrycznie. Opracowano bioczujnik zdolny do wykrywania 0,5 μM każdej z tych diamin [45]. Oczyszczone DAO sprzężone z kulkami magnetycznymi immobilizowano na elektrodach Co(II)-ftalocyjanina/węgiel i błękit pruski/węgiel w celu uzyskania monoenzymatycznych bioczujników [46]. Koniugaty DAO-MB są stabilne przez co najmniej 3 miesiące, zastosowane do oznaczania trzech amin biogennych (BA) w homogenacie ze świeżych i zleżałych ryb, wykazują przydatność zarówno jako narzędzie przesiewowe, jak i do ilościowego oznaczania BA. Zastosowanie kulek magnetycznych jako nośników do immobilizacji sprawia, że tak otrzymane bioczujniki są proste, szybkie, stabilne, niedrogie i można je zintegrować z odpowiednimi macierzami do wysokowydajnej analizy BA w przemyśle spożywczym.

Siarczyny są szeroko stosowane w przemyśle spożywczym i winiarskim w roli konserwantów. Nie są obojętne dla organizmu człowieka, dlatego ich zawartość powinna być ściśle monitorowana. Bogatym źródłem oksydazy siarczynowej (OS), którą można w celu wykrycia siarczynów użyć, jest ślaz zaniedbany (*Malva neglecta*). OS katalizuje reakcję utlenienia aminokwasów siarkowych i uwalnia H_2O_2 [47]. Ubytek O_2, towarzyszący tej reakcji, monitorowano przez przetwornik amperometryczny.

Poza pozyskiwaniem aktywnych enzymatycznie ekstraktów roślinnych lub, jeszcze prościej, wykorzystaniem pulpy owocowej, konstruuje się bardziej finezyjne bioczujniki, np. do detekcji wpływu danego czynnika na żywe komórki roślin [48]. W tym przypadku wykorzystano specyfikę działania białek witronektynopodobnych (VN), zlokalizowanych na powierzchni komórek roślinnych. Białka te są ważnym biomarkerem uszkodzeń roślin pod wpływem stresu metali ciężkich. Utworzony bioczujnik miał za

cel monitorowanie niewidocznych uszkodzeń komórek wywołanych przez kadm [Cd(II)] lub ołów [Pb(II)]. Aby wyprodukować ten czujnik, najpierw zdeponowano na elektrodzie z węgla szklistego warstwę L-cysteiny, by ta z kolei łącząc się z nanocząstkami złota przyłączyła przeciwciało anty-IgG-Au. Jako ostatnie przyłączano żywe protoplasty *Arabidopsis thaliana* inkubowane z przeciwciałem anty-witronektywonym. Czujnik działał poprzez określenie zmiany impedancji z granicą wykrywalności Cd(II) i Pb(II) odpowiednio 18,5 nM i 25,6 nM.

5. Czujniki substancji gazowych i rozpuszczonych w roztworze

Nanomateriały pozwalają na poprawienie czułości detektorów, ze względu na ich ogromną powierzchnię w stosunku do objętości. Nanodruty sprawdzają się dobrze jako czujniki dla stanu gazowego [49]. Na bazie nanodrutów ZnO utworzono czujnik, mogący wykrywać aceton w oddechu osób z cukrzycą [50]. Zasada działania wynika ze zmian we właściwościach nanodrutów przy oddziaływaniu z analitem. Oddziaływanie to polega na tworzeniu wiązań chemicznych lub adsorpcji na powierzchni. Zazwyczaj mierzy się przewodnictwo układu, ale można też obserwować zmiany w emisji fluorescencji. Czułość takich układów podnosi się poprzez tworzenie kompozytów, np. ZnO z grafenem [51] lub domieszkowanie Sb/SnO_2 [52]. Zdolność wykrywania acetonu mają też np. nanowłókna In_2O_3, funkcjonalizowane nanocząstkami TiO_2 [53]. Także nanomateriały węglowe, w tym nanorurki węglowe, są używane w konstrukcji czujników gazowych [54].

Maty z elektroprzędzonych nanowłókien, można traktować jako elektrody o bardzo dużej powierzchni. Niedekorowane spełniają podobną funkcję do opisywanych wyżej nanodrutów, jako czujniki dla składu powietrza i płynów. Jednakże, przy ogromnej liczbie wykrywanych substancji, reakcja jest zbyt niespecyficzna, aby mieć zastosowanie praktyczne. Sytuacja zmienia się dla nanowłókien dekorowanych, np. przeciwciałami, enzymami czy oligonukleotydami, specyficznymi względem określonej substancji (rys. 1 F).

Maty z nanowłókien zostały użyte np. jako czujnik elektrochemiczny względem jonów potasu [12]. Selektywność uzyskano dzięki powleczeniu mat roztworem jonoforowym, a szybkość detekcji była kilka rzędów wyższą niż dla klasycznych membran jonoselektywnych.

Ceramiczne nanowłókna z $ZnO\text{-}Al_2O_3$, dekorowane dodatkowo nanocząstkami Au, zdeponowane na mieszaninie tlenku grafenu i chitosanu, użyto jako detektora hydrochinonu i katecholu [55]. Metoda ta pozwala na jednoczesne wykrycie różnych analitów, pod warunkiem, że ich potencjały red-oks są rozbieżne.

W oparciu o grafen, połączony z przeciwciałami przeciw białku spike, opracowano czujnik wykrywający koronawirusa SARS-Cov-2 w wydzielinach dróg oddechowych pacjentów [56]. Podobną w funkcji konstrukcje zaproponowano także w oparciu o aptamery RNA, skoniugowane z QD [57].

Osobny sposób detekcji wykorzystuje przeciwciała dekorowane metalicznymi nanocząstkami (złotymi lub srebrnymi) (rys. 1G). Tak przygotowane przeciwciała oddziałują ze specyficznym epitopem (np. markerami nowotworowymi), co jednocześnie powoduje zbliżenie do siebie nanocząstek, i zmianę ich własności spektralnych. Na podobnej zasadzie działa czujnik wykrywający obecność przeciwciał przeciw bakterii *Borrelia,* wywołującej boreliozę. W tym przypadku, nanocząstki dekorowane były antygenem

powierzchniowym tej bakterii oraz jednocześnie białkiem A, wiążącym się do przeciwciał ludzkich typu IgG. Do wytworzenia agregatu konieczne jest więc związanie przeciwciała do obu typów białek na powierzchni nanocząstki [58]. Zamiast przeciwciał można użyć aptamerów [59].

6. Bioczujniki oparte na procesie fotosyntezy

Organizmy fotosyntetyczne stanowiące podstawę ekosystemów często są również pierwszym receptorem wszelkich zanieczyszczeń środowiska. Stąd opracowuje się szereg bioczujników opartych na typ procesie [1]. Pomiary procesów fotosyntetycznych można realizować za pomocą układów elektrochemicznych i spektrofotometrycznych. Szczegóły metod, w odniesieniu do mechanizmów procesów fizjologicznych, znajdzie czytelnik w odpowiednich podręcznikach. Do budowy bioczujników można wykorzystać całe komórki (jak u sinic czy mikroglonów) [60], wyizolowane, nienaruszone chloroplasty lub tylakoidy. Często wykorzystuje się izolowane kompleksy fotosyntezytyczne – fotosystem I (PSI) lub fotosystem II (PSII), izolowany np. z *Synechococcus elongatus* [61] (rys. 1C).

Makrocząsteczki i/lub fotosyntetyczne kompleksy molekularne to naturalne przykłady nanosystemów. Warto przyjrzeć się zwłaszcza białku centrum reakcji (RC). RC ma unikalne właściwości fizyko-chemiczne, które są w dużej mierze zachowane w systemach biohybrydowych, umożliwiając wykorzystanie RC w zastosowania technicznych [62]. Są to:

- Charakterystyczna absorpcja światła – widmo absorpcji w zakresie bliskiej podczerwieni (700-1000 nm), na granicy światła widzialnego, wygodne do pomiaru za pomocą urządzeń optycznych;
- Procesy zachodzące wewnątrz białek RC po wzbudzeniu przez światło mogą trwać od kilku femtosekund do pikosekund (faza separacja ładunku) lub sekund (faza rekombinacji ładunku). Białka RC mogą być modyfikowane metodami inżynierii genetycznej lub przez obróbkę chemiczną oczyszczonego białka [62];
- Wzbudzone przez światło centra redoks mogą oddziaływać z innymi komponentami układów hybrydowych zarówno po stronie donorowej, jak i akceptorowej. Można je połączyć z nanorurkami węglowymi, tlenkami metali przejściowych czy krzemem porowatym i użyć do połączenia z zewnętrznym komponentem redoks do napędzania transferu elektronów [63]. Naturalne nośniki redoks można zastąpić przez nieorganiczne, którymi są w stanie przekazać/przyjąć elektrony do/z RC. Te bionanohybrydy redoks są obiecującymi modelami do konwersji świetlnej w urządzeniach optoelektronicznych i fotowoltaicznych [64].

Oprócz oczywistych zalet, wąskim gardłem wszelkich zastosowań systemów biohybrydowych jest ich niezwykła wrażliwość. Po wyizolowaniu składników biologicznych z tkanek, zwykle tracą one aktywność. Wiązanie ich z nanostrukturami powoduje częściowe zachowanie ich biologicznej aktywności. Hydrofobowy charakter nanorurek węglowych lub grafenu może naśladować środowisko błon *in vivo* zapewniając większą stabilność RC [65].

PSI jest bardzo obiecującym kandydatem do wykorzystania w układach bionanohybrydowych ze względu na stosunkowo dużą stabilność strukturalną i większy zakres absorpcji (w porównaniu do rdzenia PSII) i łatwiejszą pracę laboratoryjnej [66]. PSI

przyłączany jest do powierzchni nośnych w postaci suchej, jako jedna warstwa specyficznie związana [66] lub poprzez samoorganizację w struktury jedno- lub wielowarstwowe [67]. Zademonstrowano np. znaczny wzrost fotoprądu, gdy PSI przyłączono w formie monowarstwy do podłoża przewodzącego [68].

RC jest małym kompleksem białkowo-barwnikowym, co przy wykorzystaniu w układach sztucznych samego białka skutkuje niską efektywną powierzchnią absorpcji światła [69]. Dlatego często RC izoluje się razem z ich kompleksami antenowymi. By zwiększyć zakres wykorzystywanego światła opracowano sztuczną antenę (usieciowane fluorofory), by widmo emisji umożliwiło FRET do RC [70]. W innym układzie użyto QD, które pochłaniają światło znacznie wydajniej niż naturalne anteny fotosyntetyczne i przekazują energię wzbudzenia do RC. Suche warstwy bakteryjnych RC i QD z CdSe/ZnS potrafiły utrzymać aktywność przez kilka miesięcy [71].

Wspomniane w poprzednim podrozdziale nanorurki, nanoprzewody i nanowłókna umożliwiają opracowanie funkcjonalnych układów nanoelektronicznych. Pracuje się nad kilkoma metodami związania RC z nanorurkami węglowymi dla aplikacji optoelektronicznych. Stwierdzono, że właściwości fotochemiczne RC związanego z nanorurkami węglowymi lub nanodrutami są w dużej mierze zachowane. RC tworzą pary ładunków po fotowzbudzeniu i czas życia rekombinacji ładunku znacznie wzrasta, wskazując na jego stabilizację. Kiedy RC są związane z nanorurkami węglowymi, następuje zmiana przewodnictwa, która towarzyszy aktywacji światłem. Autorzy wnioskują, że środowisko nanorurek przypomina warunki *in vivo,* w których zapewniona jest stabilność strukturalna białka a układ nieożywiony zapewnia funkcjonalną interakcję bezpośrednio za pomocą pary elektron/dziura lub przez oddziaływanie pola elektromagnetycznego [72].

Izolowane materiały fotosyntetyczne mają stosunkowo krótki czas aktywności, co ogranicza ich efektywne wykorzystanie. Aby obejść to ograniczenie, opracowano różne techniki unieruchamiania/immobilizacji, poprawiające ich stabilność zarówno w warunkach przechowywania, jak i pracy. Metody unieruchamiania obejmują metody chemiczne lub fizyczne w zależności od tego, czy dochodzi do wiązania kowalencyjnego materiału z podłożem czy nie. W przypadku metod fizycznych możemy wyróżnić (i) adsorpcję na bibule filtracyjnej, szkle czy DEAE celulozie i (ii) uwięzienie w żelu polisacharydowym (agar, alginian [73], karagenian, agaroza), białkowym (żelatyna) czy syntetycznym (poliakrylamidowym czy hydrożeli poli(alhololu winylowego)) [74-76]. Do metod chemicznych zaliczamy sieciowanie przy użyciu glutaraldehydu, kosieciowanie z żelatyną, czy łączenie kowalencyjne z białkami typu BSA [77].

Unieruchomienie przez adsorpcję jest prostą i ekonomiczną techniką, który nie niszczy aktywności materiału biologicznego. Jednak siły samego oddziaływania między poszczególnymi składowymi są słabe, stąd możliwa jest desorpcja biokatalizatora. Unieruchomienie przez inkluzję stosuje się preferencyjnie dla materiału fotosyntezytycznego. W tej technice biokatalizator jest uwięziony w trójwymiarowej sieci żelu (naturalnego lub syntetycznego).

Techniki kowalencyjne, szeroko stosowane do immobilizacji enzymów, zazwyczaj nie nadają się do materiałów fotosyntetycznych ze względu na działanie denaturujące środka wiążącego i wynikająca z tego utrata aktywności układu. Niemniej jednak, ponieważ wykazano, że aldehyd glutarowy zachowuje aktywność reakcji Hilla

w chloroplastach, ten środek sieciujący służy do unieruchamiania materiału fotosyntetycznego. Działanie denaturujące aldehydu glutarowego można zmniejszyć przez dodanie białek podczas polimeryzacji.

W badaniach fitotoksyczności często używa się różnych immobilizowanych materiałów, także jako biologicznych receptorów w bioczujnikach [1] do wykrywania substancji chemicznych, które oddziałują z procesem fotosyntezy. Pomimo znacznie różniących się procedur immobilizacji opracowane bioczujniki cechują się uderzająco podobnymi możliwościami wykrywania testowanych herbicydów [75].

Technologia sitodruku daje możliwość wyprodukowania dużej liczby czujników po niskich kosztach. W związku z tym, ze względu na ich swoiste właściwości i powtarzalność, elektrody drukowane metodą sitodruku są często wykorzystywane w opracowywaniu jednorazowych urządzeń elektrochemicznych [78]. Dla przykładu, unieruchomiono kompleksy PSII wyizolowane z termofilnych sinic *Synechococcus elongatus* na elektrodach sitodrukowych za pomocą czterech technik immobilizacji, odpowiednio: uwięzieniem w żelu agarozowym, alginianowym lub żelatynowym oraz usieciowaniem w matrycy BSA-glutaraldehyd [73]. Uwięzienie w agarozie i alginianach nie powiodło się, ponieważ te żele wykazywały słabą adhezję do powierzchni elektrody. Lepsze wyniki uzyskano, gdy cząstki PSII zostały uwięzione w żelatynie lub usieciowane w matrycy BSA-glutaraldehyd. Tę ostatnią metodę zastosowano do unieruchomienia innych materiałów fotosyntetycznych na elektrodach drukowanych metodą sitodruku, takich jak błony tylakoidów ze *Spinacia oleracea* L. oraz z *Senecio vulgaris* typu dzikiego i szczepów mutantów odpornych na atrazynę [79], jak i izolowane kompleksy antenowe LHCII z *S. oleracea* [77].

6.1. Zastosowania bioczujników opartych na materiale fotosyntetycznym

Bioczujniki często stosowane są do wykrywania herbicydów, takich jak triazyny (np. atrazyna), triazynony (np. metribuzyna), fenylomoczniki (np. diuron) i fenole (np. bromoksynil), które hamują aktywność PSII. Wymienione herbicydy oddziałują z białkiem D1, wchodzącym w skład PSII, zastępując plastochinon z miejsca jego wiązania (QB). Opierając się na tym sposobie działania, bioczujniki fotosyntetyczne zapewniają doskonałe narzędzie do wykrywania herbicydów i umożliwiają szybkie badanie przesiewowe próbek środowiskowych [1, 63, 73].

Zastosowanie multiczujników to kolejna interesująca strategia poprawy selektywności i czułości bioczujników fotosyntetycznych. Szerokie i długotrwałe stosowanie niektórych herbicydów, głównie atrazyny, powoduje selekcję, a w konsekwencji dyfuzję w populacji odpornych na herbicydy biotypów pochodzących od wrażliwych gatunków inwazyjnych. Oporność wynika z modyfikacji składu aminokwasowego docelowego białka D1 w kieszeni QB. Wyselekcjonowano z gleby traktowanej przez pięć lat atrazyną szczepy *Senecio vulgaris* i *Amaranthus retroflexus* oporne na ten herbicyd [80]. Skonstruowano multiczujniki przy użyciu fotosystemów szczepu typu dzikiego i mutanta odpornego na atrazynę. Taki bioczujnik jest w stanie rozróżnić kilka podklas zastosowanych herbicydów.

Jednokomórkowe glony *Chlamydomonas reinhardtii*, z tylko jednym chloroplastem, są ważne jako model kompleksu nanostrukturalnego PSII; ponadto, kompleks ten może być łatwo modyfikowany przez ukierunkowaną mutagenezę. W ten sposób wygenerowano mutanta D1 *C. reinhardtii*, zmieniając fenyloalaninę w pozycji 206 na

inne aminokwasy. Dwa z tych mutantów, serynowy i lizynowy, wykazały nadwrażliwość na herbicydy atrazynę, diuron i fenmedifan. Zaprojektowano i wykonano zminiaturyzowany przyrząd optyczny oparty na bioczujnikach do pomiarów fluorescencji wielu macierzy kilku mutantów D1 *C. reinhardtii*, i przeanalizowano ich wrażliwość na sześć pestycydów: atrazynę, diuron, joksynil, terbutylazynę, prometryn i linuron [81].

Komponent roślinny wykrywa także zanieczyszczenia przemysłowe metalami ciężkimi: ołowiem, kadmem, niklem, chromem, miedzią i rtęcią. Chociaż metale te mogą wpływać na kilka funkcji roślin, fotosystemy, w szczególności PSII, są szczególnie wrażliwe na ich toksyczność.

Chociaż wykracza to poza zakres tego rozdziału, konieczne jest przynajmniej wspomnienie o bioczipach, dedykowanych dla badań roślin. Niektóre przykłady multiczujników zostały już wspomniane w poprzedniej sekcji. Bioczip to urządzenie, które integruje kilka bioczujników na tej samej platformie. Innymi słowy, bioczipy to uporządkowane zestawy znanych elementów rozpoznawania biologicznego unieruchomionych w precyzyjnie określonych miejscach stałego podłoża. Podejście oparte na bioczipach umożliwia jednoczesne wykrywanie dziesiątek, setek, a nawet tysięcy analitów. Bioczipy szybko zastępują inne techniki analizy, zwłaszcza w sekwencjonowaniu DNA, analizie ekspresji i innych zastosowaniach o dużej przepustowości. Pomimo szerokiej gamy dostępnych technik bioczujników, większość bioczipów wykorzystuje do wykrywania metody fluorescencyjne. Wykrywanie fluorescencji umożliwia skanowanie powierzchni mikromacierzy z dokładnością do mikrometrów, rejestrowanie wartości pikseli i przekładanie ich na zeskanowany obraz. Po odpowiednim przetworzeniu danych wyniki można zinterpretować.

Chociaż wykazano zastosowanie mikromacierzy DNA do odkrywania genów lub mutacji polimorfizmu u drożdży i roślin, a w szczególności kwiatów i owoców, większość bioczipów DNA pochodzenia roślinnego analizuje profile ekspresji genów. W tym kierunku zastosowano mikromacierze DNA do zrozumienia biologicznych aspektów drożdży *Saccharomyces cerevisiae* podczas rozwoju zarodników, do zbadania ich odpowiedzi na stres lub szlaku metabolicznego galaktozy [82, 83]. W odniesieniu do roślin wyższych, większość badań z mikromacierzami DNA wykorzystywała *Arabidopsis thaliana* jako roślinę modelową do oceny poziomów ekspresji w sadzonkach, korzeniach, liściach, kwiatostanach, kwiatach i łuszczynach na różnych etapach rozwoju [84-86]. Różnice w ekspresji genów przyczyniły się do zidentyfikowania promotorów i wspólnych elementów regulacyjnych oraz do wyjaśnienia szlaków regulacyjnych, umożliwiając genetyczną inżynierię szlaków metabolicznych. Chociaż w mniejszym stopniu, bioczipy były również wykorzystywane do badania odpowiedzi niektórych genów na światło [87].

7. Nanocząstki jako platforma do przenoszenia czynników aktywnych

Nanocząstki mogą też być używane jako platforma do przenoszenia właściwych aktywnych elementów. Uzyskujemy w ten sposób coś więcej niż tylko bioczujnik, ale właściwe bionanourządzenie. Możliwe są dwie strategie – nanocząstki funkcjonujące jako osłona, uwalniająca czynnik aktywny dopiero w miejscu działania, oraz nanocząstki służące jako platforma immobilizacyjna dla czynników terapeutycznych i analitycznych [88]. Do pierwszej grupy należą, zaproponowane przez Batool i wsp. [89], grafenowe kropki kwantowe z enkapsulowanymi proteazami cysteinowymi –

papainą z papai oraz proteazą izolowaną z ziaren albicji porcelanowej (*Albizia procera*). Takie nanokapsułki były następnie używane jako insektycyd chroniący składowane ziarna zbóż, powodując znacznie większą redukcję przeżywalności owadów niż roztwór samych proteaz.

Nanokapsułki metaloorganiczne wykorzystano także do enkapsulacji cząsteczek kolejnych enzymów szlaku redukcji kwasu pirogronowego, uzyskując w ten sposób nanoreaktory produkujące kwas mlekowy [90].

Kropki kwantowe CdSe/ZnS, enkapsulowane w amfipatycznym polimerze, a następnie przyłączane kowalencyjnie do matrycy z włóknistego kolagenu, zostały użyte do monitorowania aktywności kardiomiocytów *in situ* [91]. Wykazano, że fluorescencja CdSe/ZnS (emisja 630 nm) była skorelowana z potencjałem błonowym, mierzonym za pomocą *patch clamp*. Na uwagę zasługuje fakt użycia w tym eksperymencie wzbudzenia dwufotonowego, z laserem podczerwonym (emisja 600 nm).

Mini-kaskadę enzymatyczną, składającą się z cząsteczek tyrozynazy i beta-galaktozydazy, immobilizowano na powierzchni nanorurek węglowych [92]. Dzięki kolokalizacji enzymów, produkt pośredni reakcji, fenol, był znacznie efektywniej przetwarzany w produkt końcowy, o-chinon. Szlak syntezy witaminy K2, składający się z trzech enzymów, umieszczono na powierzchni koloidalnych kropek kwantowych CdSe/ZnS. W tym przypadku wydajność całego układu znacząco zależał od odległości między poszczególnymi składnikami, a więc pośrednio od obsadzenia dostępnej powierzchni nanocząstki [93]. Wzmocnienie kolokalizacyjne uzyskano także na matrycy nanocząstek polistyrenowych [94]. Obserwuje się także przyspieszanie reakcji pojedynczych enzymów na skutek ich połączenia z nanocząstkami [95].

Warto zauważyć, porównując rozmiary nanocząstek i cząsteczek biologicznych, że pojemność powierzchni immobilizacyjnej może ograniczać się do zaledwie kilku białek. Stąd też mogą wynikać późniejsze ograniczenia. To kryterium nie będzie tak istotne dla nanorurek, aczkolwiek odrębnym problemem może być kierowane (nie losowe) lokalizowanie kolejnych elementów szlaku syntezy. Dla nanomateriałów takich jak grafen czy nanowarstwy, kwestia lokalizacji powinna mieć mniejsze znaczenie. Jednakże, takie nanomateriały mają znów mniejsze praktyczne zastosowanie w bioreaktorach czy innych układach wymagających środowiska płynnego.

8. Nanobiohybrydy o zastosowaniach teranostycznych

Nanocząstki znajdują też zastosowanie w teranostyce, czyli takich połączeniach, które spełniają funkcję diagnostyczną i terapeutyczną jednocześnie. Prostym przykładem będzie nanocząstka z przyłączonymi na jej powierzchni przeciwciałami, rozpoznającymi markery komórek nowotworowych. Za funkcję diagnostyczną odpowiada właśnie przeciwciało, wykrywając nowotworowo zmienioną tkankę. Przykładem będzie tu połączenie monoklonalnych przeciwciał BRCAA1 i Her2, wycelowanych w komórki raka żołądka, z kropkami kwantowymi CdSe/ZnS [96]. W nieco bardziej skomplikowanej strukturze, połączono jednościenne nanorurki węglowe, kropki kwantowe oraz przeciwciała [97]. Funkcję podobną do przeciwciał spełniać mogą aptamery. Z użyciem aptamerów wycelowanych przeciw receptorowi EGF, skonstruowano platformę do dostarczania siRNAs i kropek kwantowych do komórek raka piersi [98].

Dzięki obecności przeciwciał, nanocząstki zostają zakotwiczone na powierzchni docelowej, i możliwe jest spełnianie ich funkcji terapeutycznej. Najczęściej używa się

naświetlania nanocząstek, co powoduje tworzenie reaktywnych form tlenu. Na tej zasadzie, zaproponowano nanocząstki $NAYF_4$, pokryte SiO_2, domieszkowane lantanowcami (Er^{3+}–Yb^{3+} and Tm^{3+}–Yb^{3+}). Wykazano produkcje ROS po podaniu tych nanocząstek do komórek HeLa [99]. Użycie nanocząstek magnetycznych pozwala natomiast na zniszczenie tkanki nowotworowej poprzez wytworzenie lokalnej hipertermii. Takie właściwości mają na przykład supermagnetyczne nanocząstki z tlenku żelaza [100]. W cytowanym przykładzie, nanocząstki dekorowano dodatkowo nanocząstkami złota, w celu zapewnienia alternatywnych możliwości wizualizacji, oraz wzmocnienia efektów hipertermii. Paramagnetyczne nanocząstki można otrzymać na bazie tlenku gadolinu. Stosując różne domieszki wytworzono nanomateriały paramagnetyczne których emisję można wzbudzać laserem podczerwonym [101].

Piękny przykład nanohybrydy teranostycznej zaprezentowali Qin i wsp. [102]. Podstawą są tu nanocząstki tlenku grafenu, do których zostaje kowalencyjnie przyłączona, poprzez łącznik polipetydowy, doksorubicyna. Sekwencja aminokwasowa łącznika pozwala na jego selektywne odcięcie przez metaloproteinazę macierzy tkankowej, nadprodukowaną przez komórki nowotworowe. Uwolniona doksorubicyna ma właściwości toksyczne dla komórek, a jej fluorescencja może zostać wykorzystana dla wizualizacji tkanki nowotworowej. Autorzy postulują, że na podobnej zasadzie można przenosić do komórek również fragmenty oligonukloetydowe do terapii genowej.

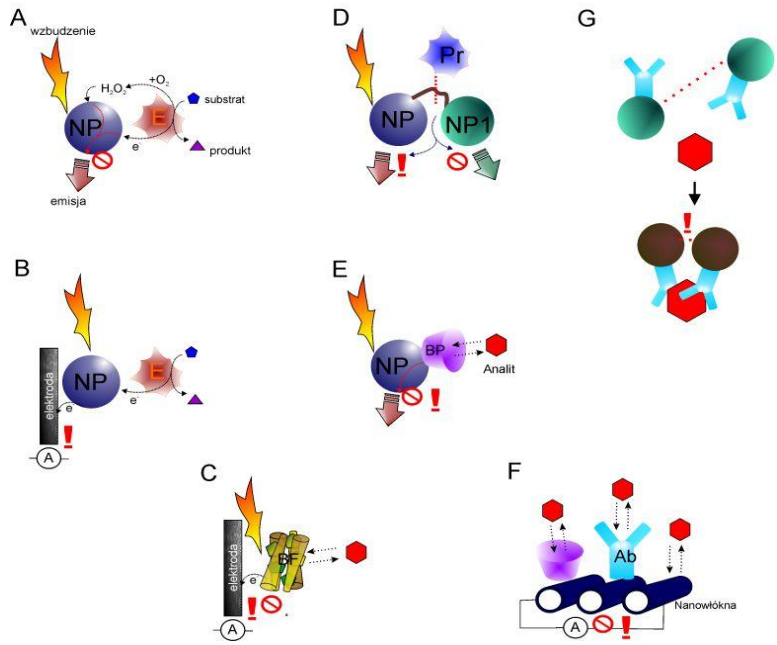
Tlenek grafenu zastosowano także jako matrycę w nanobiohybrydzie, niosącą terapeutyczny kwas chloragenowy, jak również nanocząstki złote i gadolin, pozwalające na obrazowanie MRI [103].

Jeszcze inne podejście reprezentuje konstrukcja, złożona z liposomów, w których zamknięto cząsteczki terapeutyczne i wizualizujące. Małe jednowarstwowe liposomy utworzono z DPPC, cholesterolu oraz pegylowanej witaminy E. Do powierzchni liposomów dodatkowo kowalencyjne przyłączono kwas foliowy, a we wnętrzu zamknięto, poprzez enkapsulację, docetaksal i hydrofobowe kropki kwantowe na bazie selenku kadmu. Kwas foliowy odpowiada za wyłapywanie przez docelowe komórki nowotworowe, natomiast docetaksal i QD działają cytotoksycznie. Dodatkowo, obecność QD pozwala na wizualizację [104].

Ostatnio przedstawiono kropki kwantowe „all in one", zbudowane z $Ag_{2-x}Cu_xS$. Nanocząstki te mają zapewniać nie tylko wizualizację (w tym, efekt upkonwersji oraz efekt fotoakustyczny), ale także umożliwiać wywołanie lokalnej hipertermii [105].

9. Bioczujniki i rośliny

Kolejnym aspektem są oparte na nanomateriałach bioczujniki stosowane w ochronie roślin [63]. Stosuje się tu wszystkie dostępne materiały zarówno oparte na metalach, odmianach alotropowych węgla, kompozytach polimerowych w formie nanocząstek, jak i nanorurek, nanoprętów czy nanodrutów. Zastosowanie szybkich, małej wielkości bioczujników na dużą skalę wpisuje się w ogólnoświatowy trend (i potrzebę) zwiększenia poziomu produkcji żywności. Szybko wykryty patogen czy choroba umożliwia szybsze leczenie i zapobiega porażeniom kolejnych roślin, utrzymując czy podwyższając wydajność produkcji – co szczególnie ważne w krajach rozwijających się [106]. Straty w uprawach spowodowane infestacją owadów czy patogenami roślin to od 12-80% w zależności od gatunku [107].



Rysunek 1. Przykładowe typy konstrukcyjne i funkcjonalne biosensorów; NP, NP1 – nanocząstka, E – enzym, BF – białka fotosyntetyczne, Pr – proteaza, BP – białko wiążące, Ab – przeciwciało. (A) czujnik z enzymem jako elementem biologicznym wykorzystujący m.in. transport elektronu, wykrywający substrat enzymu, detekcja poprzez pomiar emisji fluorescencji; (B) jak A, ale detekcja poprzez pomiar natężenia prądu; (C) kompleks fotosyntetyczny jako bezpośredni detektor; (D) czujnik na zasadzie zjawiska transferu energii między połączonymi peptydem nanocząstkami, wykrywa proteazy tnące peptyd; (E) wiązanie analitu przez specyficzne białko wiążące wpływa na fluorescencję nanocząstki; (F) wiązanie analitu do białek, przeciwciał lub bezpośrednie oddziaływanie z nanomateriałem wpływa na przewodnictwo; (G) – oddziaływanie przeciwciał z analitem powoduje zbliżanie do siebie nanocząstek, co zmienia ich własności barwne.

9.1. Wykrywanie wirusów

Wirusy typu wirusa mozaiki ogórka, ospowatości śliwy czy wirusa Y ziemniaka wykrywa się głównie metodami immunodetekcyjnymi [63]. Całkiem niedawno, bo w 2019 roku, opracowano nanobiosensor wykorzystujący zjawisko zlokalizowanego rezonansu plazmonów powierzchniowych (LSPR) nanocząstek złota [108] w kolorymetrycznym nanobiosensorze do wykrywania genomu wirusa liściozwoju ziemniaka. W tym przypadku zmiany w bezpośrednim otoczeniu nanocząstek złota wywołane hybrydyzacją wprowadzonej sondy z fragmentem wirusa wywoływały zmianę w LSPR a co za tym idzie zmianę w kolorze próbki.

Praca przeglądowa z 2018 roku wylicza aż 13 biosensorów [109] opracowanych na potrzeby wykrywania wirusów roślinnych a zawierających nanocząstki złota lub kropki kwantowe. Zastanawiające, że zdecydowana większość z nich (11) jako układ detekcji wykorzystuje powierzchniowy rezonans plazmonowy lub zjawisko FRET nie zaś metody immunochemiczne, mimo że komponent biologiczny to zazwyczaj przeciwciało.

9.2. Wykrywanie infekcji grzybowej i bakteryjnej

Zakażenia grzybowe to ok. 80% ogólnej liczby infekcji roślin [63]. Choroby grzybowe to m.in. zaraza ziemniaka (*Phytophthora infestans*) odpowiedzialna za Wielki Głód w Irlandii czy mączniak rzekomy winorośli (*Plasmopara viticola*). Opracowano metodę detekcji *P. infestans* opartą na połączeniu uniwersalnego startera dla asymetrycznej metody PCR z opartym na nanocząstkach złota bioczujnikiem w formie paska testowego o przepływie bocznym [110]. W obecności badanego ssDNA następuje hybrydyzacja koniugatem nanocząstek i sondy DNA, powodując agregację nanocząstek i w efekcie czerwone zabarwienie.

Podobny mechanizm zastosowano w teście paskowym wykrywającym śluzaka ziemniaka *Ralsonia solanacearum* [111]. Wywoływacz (kwas chlorozłoty) w tym przypadku wzmacnia sygnał pochodzący od nanocząstek złota; ulegając redukcji uwalnia złoto, które opłaszczając nanocząstki zwiększa ich rozmiar, sprzyja agregacji i skutkuje pojawieniem się charakterystycznego zabarwienia. Podobną zasadę wykorzystano do wykrycia wirusa X ziemniaka [111] i wirusa liściozwoju ziemniaka [112].

9.3. Wykrywanie chorób roślin wywołanych stresem abiotycznym

Stres abiotyczny to negatywny wpływ czynników nieożywionych takich jak wysoka temperatura, sól, woda, zanieczyszczenia, metale ciężkie itp. na kondycję i wzrost roślin. Długotrwała ekspozycja na niekorzystne warunki środowiska prowadzi do zmian w normalnych funkcjach biologicznych rośliny prowadząc do stanu chorobowego. Stąd szybkie wykrywanie zmian spowodowanych stresem abiotycznym jest takie ważne. Najczęściej efekty działania stresu abiotycznego mierzone są z wykorzystaniem wizualnej oceny stanu liści/łodygi/korzeni, analizy termicznej, ekspresji niektórych nowych receptorów, białek, obniżenia normalnych funkcji, czy pomiarem reaktywnych form tlenu. Zarówno anionorodnik ponadtlenkowy (O_2^-), jak i inne reaktywne formy tlenu (RFT) są generowane w odpowiedzi na stresy biotyczne i abiotyczne [113].

Kwas abscysynowy (ABA) to hormon roślinny zapobiegający negatywnym skutkom upałów i suszy [114]. Poszukiwanie szybkiej metody pomiaru ABA *in vivo* doprowadziły do powstania biosond „Abaleons", „ABACUS" i Cameleon",wykorzystujących zjawisko FRET, między białkiem zielonej fluorescencji a receptorem ABA. Biosondy emitują zieloną fluorescencję po związaniu ABA z receptorem.

9.4. Monitorowanie wzrostu roślin

Hormony roślinne lub fitohormony to cząsteczki regulujące różne etapy wzrostu i metabolizmu roślin. Pięć głównych hormonów roślinnych to auksyny, gibereliny, cytokininy, etylen i kwas abscysynowy. Hormony te mogą współpracować lub niezależnie wpływać na wzrost roślin w bardzo niskich stężeniach (ng/g do pg/g tkanki). Opracowano immunobioczujnik elektrochemiczny do wykrywania kwasu indolo-3-octowego (auksyna) używając elektrody z węgla szklistego, pokrytej porowym grafenem i nanocząstkami złota z minimum detekcji 0,016 nm/ml [115].

Opisano również bioczujnik elektrochemiczny *in vivo*, będący układem trzech elektrod ze stali nierdzewnej w połączeniu z podobnymi do popcornu nanostrukturami złota, nanocząstkami platyny i filmem nanokompozytowym ze zredukowanego tlenku grafenu [116]. Nanocząstki platyny powleczone polisafraniną T wykazują wysoką czułość układu *in vivo* (wbicie elektrod w łodygę rośliny) i mogą służyć do określenia kondycji roślin w czasie rzeczywistym.

9.5. Wykrywanie roślin modyfikowanych genetycznie

Rośliny modyfikowane genetycznie lub rośliny transgeniczne są wykorzystywane w uprawach wielkoskalowych takich jak uprawa ryżu, gorczycy, odpornej bawełny, pomidorów, owoców i wielu innych. Wiele pożądanych cech udało się zaimplementować, np. odporność na choroby, opóźnione dojrzewanie, odporność na atak patogenu, wzbogacenie w składniki odżywcze [63]. Wiele upraw i żywności modyfikowanej genetycznie jest dostępnych na całym świecie, pomimo trwającej debaty na temat stosowania GMO. W dążeniu do ustalenia, które rośliny zawierają transgen (i w ilu kopiach) oraz ze względu na prawa konsumentów do informacji, coraz więcej krajów wydaje jakościowe lub ilościowe przepisy dotyczące etykietowania określonej sekwencji insertu w roślinach transgenicznych. [117]

Do wykrywania roślin GMO dostępne są różne metody optyczne, takie jak fluorescencja, spektroskopia ramanowska, bioczujniki powierzchniowego rezonansu plazmowego. Nano-bioczujnika z kodem kreskowym SERS (*Surface Enhanced Raman Spectroscopy*) używa się do wykrywania ryżu transformowanego genem *Bacillus thuringiensis,* eksprymującym białka owadobójcze [118]. Znaczniki SERS umożliwiają detekcję już 0,1 pg/ml DNA.

Konwencjonalna fotolitografia została wykorzystana do wytworzenia rozszczepionych pierścieni ze złota z matrycą planarną zawierających bioczujnik oparty na metamateriałach terahercowych na arkuszu PET. Zmiana częstotliwości rezonansowej powodowana związaniem analitu pozwala rozróżnić genom transgeniczny i dziki badanej rośliny [119].

10. Podsumowanie

W rozdziale zebraliśmy przykłady prostych konstrukcji, wykorzystujących nanomateriały i cząsteczki biologiczne. Te konstrukcje spełniają następnie rolę detektorów różnorakich substancji, niekiedy wielokrotnie czulszych niż przy konwencjonalnej detekcji chemicznej. W przypadku konstrukcji opartych o przeciwciała, oferują zakres detekcji niemożliwy do zrealizowania w innych sposób, jak rozróżnienie typów patogenu. Jednakże, na co zwracaliśmy uwagę, często specyfika prostych konstrukcji z udziałem nanomateriałów jest dyskusyjna; nanomateriał może podobnie reagować na szereg czynników, zachodzi więc niebezpieczeństwo ze właściwy pomiar może być zakłócany przez substancje innego typu, obecne w badanej próbce. Podobnie, znaczną wadą jest niestabilność elementów biologicznych typu enzymy czy centra fotosyntetyczne, co powoduje ograniczenie możliwości przechowywania już wytworzonych czujników. Stąd też szereg zaprezentowanych przykładów można raczej traktować jako ciekawostkę lub podstawę do dalszych prac, nie jako obiecujący prototyp. Wymienionych wad pozbawione są w zasadzie tylko testy oparte o przeciwciała, stąd tez wynika ich zastosowanie w testach komercyjnych. Na podobnej zasadzie stabilne są czujniki oparte o oligonukleotydy, stąd też ich coraz większe zastosowanie. Nie da się jednak wykluczyć, że dla konkretnych białek enzymatycznych uda się opracować odpowiedni układ, np. matrycę stabilizacyjną, która umożliwi ich praktyczne zastosowanie.

Podziękowania

Praca finansowana ze środków grantu SonataBis z Narodowego Centrum Nauki (UMO-2016/22/E/NZ1/00673).

Literatura

1. Campas M., Carpentier R., Rouillon R., *Plant tissue-and photosynthesis-based biosensors*. Biotechnology Advances, 26, 2008, s. 370-378.
2. Cademartiri L., Ozin G.A., Kłonkowski A.M., *Nanochemia: podstawowe koncepcje*: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2015.
3. Jing P., Zheng J., Ikezawa M., Liu X., Lv S., Kong X., Zhao J., Masumoto Y., *Temperature-dependent photoluminescence of CdSe-core CdS/CdZnS/ZnS-multishell quantum dots*, The Journal of Physical Chemistry C, 113, 2009, s. 13545-13550.
4. Wu P., Yan X.-P., *Doped quantum dots for chemo/biosensing and bioimaging*, Chemical Society Reviews, 42, 2013, s. 5489-5521.
5. Liu T.-M., Conde J., Lipiński T., Bednarkiewicz A., Huang C.-C., *Revisiting the classification of NIR-absorbing/emitting nanomaterials for in vivo bioapplications*, NPG Asia Materials, 8, 2016, e295-e295.
6. Antoniak M.A., Grzyb J., Nyk M., *Preserved two-photon optical properties of hydrophilic proteins-conjugated quantum dots*, Journal of Luminescence, 209, 2019, s. 57-60.
7. Sławski J., Grzyb J., *Nanoparticles as energy donors and acceptors in bionanohybrid systems*, Acta Biochimica Polonica, 66, 2019, s. 469-481.
8. Bailey R.E., Smith A.M., Nie S., *Quantum dots in biology and medicine*, Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures, 25, 2004, 1-12.
9. Geißler D., Hildebrandt N., *Recent developments in Förster resonance energy transfer (FRET) diagnostics using quantum dots*, Analytical and bioanalytical chemistry, 408, 2016), 4475-4483.
10. Petryayeva E., Algar W.R., Medintz I.L., *Quantum dots in bioanalysis: a review of applications across various platforms for fluorescence spectroscopy and imaging*, Applied spectroscopy, 67, 2013), 215-252.
11. Lakowicz J.R., *Principles of fluorescence spectroscopy*, Springer Science & Business Media, New York 2007.
12. Baranowska-Korczyc A., Jaworska E., Strawski M., Paterczyk B., Maksymium K., Michalska A., *A potentiometric sensor based on modified electrospun PVDF nanofibers – towards 2D ion-selective membranes*, Analyst, 2020.
13. Power A.C., Gorey B., Chandra S., Chapman J., *Carbon nanomaterials and their application to electrochemical sensors: a review*, Nanotechnology Reviews, 7, 2018, s. 19-41.
14. Li S., Yu Z., Rutherglen C., Burke P.J., *Electrical properties of 0.4 cm long single-walled carbon nanotubes*, Nano Letters, 4, 2004, s. 2003-2007.
15. Zheng L., O'connell M., Doorn S., Liao X., Zhao Y., Akhadov E., Hoffbauer M., Roop B., Jia Q., Dye R., *Ultralong single-wall carbon nanotubes*, Nature materials, 3, 2004, s. 673-676.
16. Hermanson G.T. *Bioconjugate techniques*: Academic press; 2013.
17. Cha K.H., Jensen G.C., Balijepalli A.S., Cohan B.E., Meyerhoff M.E., *Evaluation of commercial glucometer test strips for potential measurement of glucose in tears*, Analytical chemistry, 86, 2014, s. 1902-1908.
18. Wu P., He Y., Wang H.-F., Yan X.-P., *Conjugation of glucose oxidase onto Mn-doped ZnS quantum dots for phosphorescent sensing of glucose in biological fluids*, Analytical chemistry, 82, 2010, s. 1427-1433.
19. Tanne J., Schafer D., Khalid W., Parak W., Lisdat F., *Light-controlled bioelectrochemical sensor based on CdSe/ZnS quantum dots*. Analytical chemistry, 83, 2011, s. 7778-7785.

20. Cao L., Ye J., Tong L., Tang B., *A new route to the considerable enhancement of glucose oxidase (GOx) activity: the simple assembly of a complex from CdTe quantum dots and GOx, and its glucose sensing*, Chemistry – A European Journal, 14, 2008, s. 9633-9640.
21. Razmi H., Mohammad-Rezaei R., *Graphene quantum dots as a new substrate for immobilization and direct electrochemistry of glucose oxidase: application to sensitive glucose determination. Biosensors and bioelectronics*, 41, 2013, s. 498-504.
22. Liu Q., Lu X., Li J., Yao X., Li J., *Direct electrochemistry of glucose oxidase and electrochemical biosensing of glucose on quantum dots/carbon nanotubes electrodes*, Biosens Bioelectron, 22, 2007, s. 3203-9.
23. Kim K.-E., Kim T.G., Sung Y.-M., *Fluorescent cholesterol sensing using enzyme-modified CdSe/ZnS quantum dots*, Journal of Nanoparticle Research, 14, 2012, s. 1179.
24. Zeng D., Luo W., Li J., Liu H., Ma H., Huang Q., Fan C., *Gold nanoparticles-based nanoconjugates for enhanced enzyme cascade and glucose sensing*, Analyst, 137, 2012, s. 4435-4439.
25. Oliveira-Silva R., Sousa-Jeronimo M., Botequim D., Silva N.J.O., Paulo P.M.R., Prazeres D.M.F., *Monitoring Proteolytic Activity in Real Time: A New World of Opportunities for Biosensors*, Trends Biochem Sci, 45, 2020, s. 604-618.
26. Shi L., De Paoli V., Rosenzweig N., Rosenzweig Z., *Synthesis and application of quantum dots FRET-based protease sensors*, J Am Chem Soc, 128, 2006, s. 10378-9.
27. Lowe S.B., Dick J.A., Cohen B.E., Stevens M.M., *Multiplex sensing of protease and kinase enzyme activity via orthogonal coupling of quantum dot-peptide conjugates*, ACS Nano, 6, 2012, s. 851-7.
28. Patra J.K., Mahato D.K., Kumar P., *Biosensor Technology-Advanced Scientific Tools, with Special Reference to Nanobiosensors and Plant-and Food-Based Biosensors*, Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms: Concepts and Controversies, Vol 2, 2019, s. 287-303.
29. Singh A.K., Verma N., *Plants and plant-derived materials used for biosensor development*, [w:] Mukesh Yadav VK, and Nirmala Sehrawat, editor. Industrial Biotechnology: De Gruyter; 2019, s. 73.
30. Kuriyama S., Rechnitz G.A., *Plant Tissue-Based Bioselective Membrane-Electrode for Glutamate*, Analytica Chimica Acta, 131, 1981, s. 91-96.
31. Sidwell J.S., Rechnitz G.A., *Bananatrode – an Electrochemical Biosensor for Dopamine*, Biotechnology Letters, 7, 1985, s. 419-422.
32. Wang J., Lin M.S., *Mixed plant tissue-carbon paste bioelectrode*. Anal Chem, 60, 1988, s. 1545-8.
33. Cummings E.A., Mailley P., Linquette-Mailley S., Eggins B.R., McAdams E.T., McFadden S., *Amperometric carbon paste biosensor based on plant tissue for the determination of total flavanol content in beers*, Analyst, 123, 1998, s. 1975-1980.
34. Antunes R.S., Ferraz D., Garcia L.F., Thomaz D.V., Luque R., Lobon G.S., Gil E.S., Lopes F.M., *Development of a Polyphenol Oxidase Biosensor from Jenipapo Fruit Extract (Genipa americana L.) and Determination of Phenolic Compounds in Textile Industrial Effluents*, Biosensors (Basel), 8, 2018.
35. Antunes R.S., Garcia L.F., Somerset V.S., Gil E.S., Lopes F.M., *The Use of a Polypheno-loxidase Biosensor Obtained from the Fruit of Jurubeba (Solanum paniculatum L.) in the Determination of Paracetamol and Other Phenolic Drugs*, Biosensors (Basel), 8, 2018.
36. Fatibello-Filho O., Lupetti K.O., Vieira I.C., *Chronoamperometric determination of paracetamol using an avocado tissue (Persea americana) biosensor*, Talanta, 55, 2001, s. 685-92.

37. Garcia L.F., Benjamin S.R., Antunes R.S., Lopes F.M., Somerset V.S., Gil E.S., *Solanum melongena polyphenol oxidase biosensor for the electrochemical analysis of paracetamol*, Prep Biochem Biotechnol, 46, 2016, s. 850-855.
38. Vieira N.C.S., Ferreira R.A., Rodrigues V.D., Guimaraes F.E.G., de Queiroz A.A.A., *Self-assembled films containing crude extract of avocado as a source of tyrosinase for monophenol detection*, Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications, 33, 2013, s. 3899-3902.
39. Mazzei F., Botre F., Lorenti G., Simonetti G., Porcelli F., Scibona G., Botre C., *Plant-Tissue Electrode for the Determination of Atrazine*. Analytica Chimica Acta, 316, 1995, s. 79-82.
40. Fernandes S.C., de Oliveira I.R.W.Z., Vieira I.C., *A green bean homogenate immobilized on chemically crosslinked chitin for determination of caffeic acid in white wine*, Enzyme and Microbial Technology, 40, 2007, s. 661-668.
41. Moccelini S.K., Vieira I.C., de Lima F., Lucca B.G., Barbosa A.M.J., Ferreira V.S., *Determination of thiodicarb using a biosensor based on alfalfa sprout peroxidase immobilized in self-assembled monolayers*, Talanta, 82, 2010, s. 164-170.
42. Campanella L., Cordatore M., Mazzei F., Tomassetti M., Volpe G., *Phosphate Determination in Foodstuffs Using a Plant-Tissue Electrode*, Food Chemistry, 44, 1992, s. 291-297.
43. Sezginturk M.K., Dinckaya E., *An amperometric inhibitor biosensor for the determination of reduced glutathione (GSH) without any derivatization in some plants*, Biosens Bioelectron, 19, 2004, s. 835-41.
44. He X.Y., Rechnitz G.A., *Plant Tissue-Based Fiberoptic Pyruvate Sensor*, Analytica Chimica Acta, 316, 1995, s. 57-63.
45. Botre F., Botre C., Lorenti G., Mazzei F., Porcelli F., Scibona G., *Plant-Tissue Biosensors for the Determination of Biogenic Diamines and of Their Amino-Acid Precursors – Effect of Carbonic-Anhydrase*, Sensors and Actuators B-Chemical, 15, 1993, s. 135-140.
46. Leonardo S., Campas M., *Electrochemical enzyme sensor arrays for the detection of the biogenic amines histamine, putrescine and cadaverine using magnetic beads as immobilisation supports*, Microchimica Acta, 183, 2016, s. 1881-1890.
47. Sezginturk M.K., Dinckaya E., *Direct determination of sulfite in food samples by a biosensor based on plant tissue homogenate*, Talanta, 65, 2005, s. 998-1002.
48. Wang X., Cheng M., Yang Q., Wei H., Xia A., Wang L., Ben Y., Zhou Q., Yang Z., Huang X., *A living plant cell-based biosensor for real-time monitoring invisible damage of plant cells under heavy metal stress*, The Science of the total environment, 697, 2019, s. 134097.
49. Sberveglieri G., Baratto C., Comini E., Faglia G., Ferroni M., Ponzoni A., Vomiero A., *Synthesis and characterization of semiconducting nanowires for gas sensing*, Sensors and Actuators B: Chemical, 121, 2007, s. 208-213.
50. Behera B., Chandra S., *A MEMS based acetone sensor incorporating ZnO nanowires synthesized by wet oxidation of Zn film*, Journal of Micromechanics and Microengineering, 25, 2014, s. 015007.
51. Zhang H., Cen Y., Du Y., Ruan S., *Enhanced acetone sensing characteristics of ZnO/graphene composites*, Sensors, 16, 2016, s. 1876.
52. Choi H.-J., Choi S.-J., Choo S., Kim I.-D., Lee H., *Hierarchical ZnO nanowires-loaded Sb-doped SnO 2-ZnO micrograting pattern via direct imprinting-assisted hydrothermal growth and its selective detection of acetone molecules*, Scientific reports, 6, 2016, s. 18731.
53. Park S., *Acetone gas detection using TiO2 nanoparticles functionalized In2O3 nanowires for diagnosis of diabetes*, Journal of Alloys and Compounds, 696, 2017, s. 655-662.

54. Xu K., Fu C., Gao Z., Wei F., Ying Y., Xu C., Fu G., *Nanomaterial-based gas sensors: A review*, Instrumentation Science & Technology, 46, 2018, s. 115-145.
55. Nazari M., Kashanian S., Moradipour P., Maleki N., *A novel fabrication of sensor using ZnO-Al2O3 ceramic nanofibers to simultaneously detect catechol and hydroquinone*, Journal of Electroanalytical Chemistry, 812, 2018, s. 122-131.
56. Seo G., Lee G., Kim M.J., Baek S.H., Choi M., Ku K.B., Lee C.S., Jun S., Park D., Kim H.G., Kim S.J., Lee J.O., Kim B.T., Park E.C., Kim S.I., *Rapid Detection of COVID-19 Causative Virus (SARS-CoV-2) in Human Nasopharyngeal Swab Specimens Using Field-Effect Transistor-Based Biosensor*, ACS Nano, 14, 2020, s. 5135-5142.
57. Roh C., Jo S.K., *Quantitative and sensitive detection of SARS coronavirus nucleocapsid protein using quantum dots-conjugated RNA aptamer on chip*, J Chem Technol Biotechnol, 86, 2011, s. 1475-1479.
58. Alasel M., Keusgen M., *Two-Protein Modified Gold Nanoparticles for One-Step Serological Diagnosis*, physica status solidi (a), 215, 2018, s. 1700700.
59. Giorgi-Coll S., Marín M.J., Sule O., Hutchinson P.J., Carpenter K.L., *Aptamer-modified gold nanoparticles for rapid aggregation-based detection of inflammation: an optical assay for interleukin-6*, Microchimica Acta, 187, 2020, s. 13.
60. Lacey R.F., Ye D., Ruffing A.M., *Engineering and characterization of copper and gold sensors in Escherichia coli and Synechococcus sp. PCC 7002*, Appl Microbiol Biotechnol, 103, 2019, s. 2797-2808.
61. Varsamis D.G., Touloupakis E., Morlacchi P., Ghanotakis D.F., Giardi M.T., Cullen D.C., *Development of a photosystem II-based optical microfluidic sensor for herbicide detection*. Talanta, 77, 2008, s. 42-7.
62. Nagy L., Magyar M., Szabo T., Hajdu K., Giotta L., Dorogi M., Milano F., *Photosynthetic machineries in nano-systems*, Curr Protein Pept Sci, 15, 2014, s. 363-73.
63. Kumar V., Arora, K., *Trends in nano-inspired biosensors for plants*, Materials Science for Energy Technologies, 3, 2020, s. 255-273.
64. Szabo T., Cseko R., Hajdu K., Nagy K., Sipos O., Galajda P., Garab G., Nagy L., *Sensing photosynthetic herbicides in an electrochemical flow cell*. Photosynth Res, 132, 2017, s. 127-134.
65. Hajdu K., Szabo T., Sarrai A., Rinyu L., Nagy L., *Functional Nanohybrid Materials from Photosynthetic Reaction Center Proteins*, International Journal of Photoenergy, 2017.
66. Frolov D., Marsh M., Crouch L.I., Fyfe P.K., Robert B., van Grondelle R., Hadfield A., Jones M.R., *Structural and spectroscopic consequences of hexacoordination of a bacteriochlorophyll cofactor in the Rhodobacter sphaeroides reaction center*, Biochemistry, 49, 2010, s. 1882-92.
67. Carmeli I., Frolov L., Carmeli C., Richter S., *Photovoltaic activity of photosystem I-based self-assembled monolayer*, J Am Chem Soc, 129, 2007, s. 12352-3.
68. Ciesielski P.N., Faulkner C.J., Irwin M.T., Gregory J.M., Tolk N.H., Cliffel D.E., Jennings G.K., *Enhanced Photocurrent Production by Photosystem I Multilayer Assemblies*, Advanced Functional Materials, 20, 2010, s. 4048-4054.
69. Hajdu K., Gergely C., Martin M., Zimanyi L., Agarwal V., Palestino G., Hernadi K., Nemeth Z., Nagy L., *Light-harvesting bio-nanomaterial using porous silicon and photosynthetic reaction center*, Nanoscale Res Lett, 7, 2012, s. 400.
70. Milano F., Tangorra R.R., Omar O.H., Ragni R., Operamolla A., Agostiano A., Farinola G.M., Trotta M., *Enhancing the Light Harvesting Capability of a Photosynthetic Reaction Center by a Tailored Molecular Fluorophore*, Angewandte Chemie-International Edition, 51, 2012, s. 1019-11023.
71. Lukashev E.P., Knox P.P., Gorokhov V.V., Grishanova N.P., Seifullina N.K., Krikunova M., Lokstein H., Paschenko V.Z., *Purple-bacterial photosynthetic reaction centers and*

quantum-dot hybrid-assemblies in lecithin liposomes and thin films, J Photochem Photobiol B, 164, 2016, s. 73-82.
72. Szabo T., Magyar M., Hajdu K., Dorogi M., Nyerki E., Toth T., Lingvay M., Garab G., Hernadi K., Nagy L., *Structural and Functional Hierarchy in Photosynthetic Energy Conversion-from Molecules to Nanostructures*, Nanoscale Res Lett, 10, 2015, s. 458.
73. Koblizek M., Maly J., Masojidek J., Komenda J., Kucera T., Giardi M.T., Mattoo A.K., Pilloton R., *A biosensor for the detection of triazine and phenylurea herbicides designed using Photosystem II coupled to a screen-printed electrode*, Biotechnology and Bioengineering, 78, 2002, s. 110-116.
74. Barthelmebs L., Carpentier R., Rouillon R., *Physical and Chemical Immobilization Methods of Photosynthetic Materials*, Photosynthesis Research Protocols, Second Edition, 684, 2011, s. 247-256.
75. Laberge D., Rouillon R., Carpentier R., *Comparative study of thylakoid membranes sensitivity for herbicide detection after physical or chemical immobilization*, Enzyme and Microbial Technology, 26, 2000, s. 332-336.
76. Rouillon R., Sole M., Carpentier R., Marty J.L., *Immobilization of Thylakoids in Polyvinylalcohol for the Detection of Herbicides*, Sensors and Actuators B-Chemical, 27, 1995, s. 477-479.
77. Piotrowska P., Łazicka M., Palińska-Saadi A., Paterczyk B., Kowalewska Ł., Grzyb J., Maj-Żurawska M., Garstka M., *Electrochemical characterization of LHCII on graphite electrodes – Potential-dependent photoactivation and arrangement of complexes*, Bioelectrochemistry, 127, 2019, s. 37-48.
78. Touloupakis E., Boutopoulos C., Buonasera K., Zergioti I., Giardi M.T., *A photosynthetic biosensor with enhanced electron transfer generation realized by laser printing technology*, Anal Bioanal Chem, 402, 2012, s. 3237-44.
79. Touloupakis E., Giannoudi L., Piletsky S.A., Guzzella L., Pozzoni F., Giardi M.T., *A multi-biosensor based on immobilized Photosystem II on screen-printed electrodes for the detection of herbicides in river water*, Biosens Bioelectron, 20, 2005, s. 1984-92.
80. Giardi M.T., Guzzella L., Euzet P., Rouillon R., Esposito D., *Detection of herbicide subclasses by an optical multibiosensor based on an array of photosystem II mutants*, Environmental Science & Technology, 39, 2005, s. 5378-5384.
81. Tibuzzi A., Rea G., Pezzotti G., Esposito D., Johanningmeier U., Giardi M.T., *A new miniaturized multiarray biosensor system for fluorescence detection*, Journal of Physics-Condensed Matter, 19, 2007.
82. Hirasawa T., Yoshikawa K., Nakakura Y., Nagahisa K., Furusawa C., Katakura Y., Shimizu H., Shioya S., *Identification of target genes conferring ethanol stress tolerance to Saccharomyces cerevisiae based on DNA microarray data analysis*, Journal of biotechnology, 131, 2007, s. 34-44.
83. Gröger M., Lange M., Rennert K., Kaschowitz T., Plettenberg H., Hoffmann M., Mosig A.S., *Novel approach for the prediction of cell densities and viability in standardized translucent cell culture biochips with near infrared spectroscopy*, Engineering in Life Sciences, 17, 2017, s. 585-593.
84. Wu S.-H., Ramonell K., Gollub J., Somerville S., *Plant gene expression profiling with DNA microarrays*, Plant Physiology and Biochemistry, 39, 2001, s. 917-926.
85. Ogita N., Okushima Y., Tokizawa M., Yamamoto Y.Y., Tanaka M., Seki M., Makita Y., Matsui M., Okamoto-Yoshiyama K., Sakamoto T., *Identifying the target genes of SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE 1, a master transcription factor controlling DNA damage response in Arabidopsis*, The Plant Journal, 94, 2018, s. 439-453.

86. Baum S., Reimer-Michalski E.-M., Jaskiewicz M.R., Conrath U., *Formaldehyde-assisted isolation of regulatory DNA elements from Arabidopsis leaves*, Nature Protocols, 15, 2020, s. 713-733.
87. Kimura M., Yamamoto Y.Y., Seki M., Sakurai T., Sato M., Abe T., Yoshida S., Manabe K., Shinozaki K., Matsui M., *Identification of arabidopsis genes regulated by high light – stress using cDNA microarray*, Photochemistry and Photobiology, 77, 2003, s. 226-233.
88. Hwang E.T., Lee S., *Multienzymatic cascade reactions via enzyme complex by immobilization*, ACS Catalysis, 9, 2019, s. 4402-4425.
89. Batool M., Hussain D., Akrem A., Najam-ul-Haq M., Saeed S., Zaka S.M., Nawaz M.S., Buck F., Saeed Q., *Graphene quantum dots as cysteine protease nanocarriers against stored grain insect pests*, Scientific reports, 10, 2020.
90. Chen W.-H., Vázquez-González M., Zoabi A., Abu-Reziq R., Willner I., *Biocatalytic cascades driven by enzymes encapsulated in metal – organic framework nanoparticles*, Nature Catalysis, 1, 2018, s. 689-695.
91. Jooken S., de Coene Y., Deschaume O., Krylychkina O., Verbiest T., Clays K., Callewaert G., Bartic C., *Quantum dot functionalized extracellular matrices for in situ monitoring of cardiomyocyte activity*, ACS Applied Nano Materials, 2020.
92. Zhang Y., Pan D., Zhou Q., Zhao J., Pan N., Zhang Y., Wang L.-x., Shen Y., *An enzyme cascade-based electrochemical immunoassay using a polydopamine – carbon nanotube nanocomposite for signal amplification*, Journal of Materials Chemistry B, 6, 2018, s. 8180-8187.
93. Kang W., Liu J., Wang J., Nie Y., Guo Z., Xia J., *Cascade biocatalysis by multienzyme–nanoparticle assemblies*, Bioconjugate chemistry, 25, 2014, s. 1387-1394.
94. Jia F., Mallapragada S.K., Narasimhan B., *Multienzyme immobilization and colocalization on nanoparticles enabled by DNA hybridization*, Industrial & Engineering Chemistry Research, 54, 2015, s. 10212-10220.
95. Szczepaniak K., Worch R., Grzyb J., *Ferredoxin:NADP(+) oxidoreductase in junction with CdSe/ZnS quantum dots: characteristics of an enzymatically active nanohybrid*, Journal of Physics: Condensed Matter, 25, 2013.
96. Li C., Ji Y., Wang C., Liang S., Pan F., Zhang C., Chen F., Fu H., Wang K., Cui D., *BRCAA1 antibody-and Her2 antibody-conjugated amphiphilic polymer engineered CdSe/ZnS quantum dots for targeted imaging of gastric cancer*, Nanoscale research letters, 9, 2014, s. 1-13.
97. Brakmane G., Madani S.Y., Seifalian A.,*Cancer Antibody Enhanced Real Time Imaging Cell Probes – a Novel Theranostic Tool using Polymer Linked Carbon Nanotubes and Quantum Dots*, Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents), 13, 2013, s. 821-832.
98. Kim M.W., Jeong H.Y., Kang S.J., Jeong I.H., Choi M.J., You Y.M., Im C.S., Song I.H., Lee T.S., Lee J.S., *Anti-EGF receptor aptamer-guided co-delivery of anti-cancer siRNAs and quantum dots for theranostics of triple-negative breast cancer*, Theranostics, 9, 2019, s. 837.
99. Kowalik P., Elbaum D., Mikulski J., Fronc K., Kamińska I., Morais P.C., De Souza P.E., Nunes R.B., Veiga-Souza F.H., Gruzeł G., *Upconversion fluorescence imaging of HeLa cells using ROS generating SiO 2-coated lanthanide-doped NaYF 4 nanoconstructs*, Rsc Advances, 7, 2017, s. 30262-30273.
100. Jagminas A., Mikalauskaitė A., Karabanovas V., Vaičiūnienė J., *Methionine-mediated synthesis of magnetic nanoparticles and functionalization with gold quantum dots for theranostic applications*, Beilstein journal of nanotechnology, 8, 2017, s. 1734-1741.
101. Kamińska I., Fronc K., Sikora B., Mouawad M., Siemiarczuk A., Szewczyk M., Sobczak K., Wojciechowski T., Zaleszczyk W., Minikayev R., *Upconverting/magnetic: Gd 2 O*

3:(Er 3+, Yb 3+, Zn 2+) nanoparticles for biological applications: effect of Zn 2+ doping, Rsc Advances, 5, 2015, s. 78361-78373.
102. Qin S.Y., Feng J., Rong L., Jia H.Z., Chen S., Liu X.J., Luo G.F., Zhuo R.X., Zhang X.Z., *Theranostic GO-based nanohybrid for tumor induced imaging and potential combinational tumor therapy*, Small, 10, 2014, s. 599-608.
103. Usman M.S., Hussein M.Z., Fakurazi S., Masarudin M.J., Ahmad Saad F.F., *A bimodal theranostic nanodelivery system based on [graphene oxide-chlorogenic acid-gadolinium/gold] nanoparticles*, PloS one, 13, 2018), e0200760.
104. Muthu M.S., Kulkarni S.A., Raju A., Feng S.-S., *Theranostic liposomes of TPGS coating for targeted co-delivery of docetaxel and quantum dots*, Biomaterials, 33, 2012, s. 3494-3501.
105. Zhao Y., Song M., Yang X., Yang J., Du C., Wang G., Yi J., Shan G., Li D., Liu L., *Amorphous Ag2-xCuxS quantum dots: „all-in-one" theranostic nanomedicines for near-infrared fluorescence/photoacoustics dual-modal-imaging-guided photothermal therapy*, Chemical Engineering Journal, 2020, s. 125777.
106. Elmer W., White J.C., *The Future of Nanotechnology in Plant Pathology*, Annual Review of Phytopathology, Vol 56, 56, 2018, s. 111-133.
107. Fang Y., Ramasamy R.P., *Current and Prospective Methods for Plant Disease Detection*, Biosensors-Basel, 5, 2015, s. 537-561.
108. Razmi A., Golestanipour A., Nikkhah M., Bagheri A., Shamsbakhsh M., Malekzadeh-Shafaroudi S., *Localized surface plasmon resonance biosensing of tomato yellow leaf curl virus*, J Virol Methods, 267, 2019, s. 1-7.
109. Hong S., Lee C., *The Current Status and Future Outlook of Quantum Dot-Based Biosensors for Plant Virus Detection*, Plant Pathol J, 34, 2018, s. 85-92.
110. Zhan F., Wang T., Iradukunda L., Zhan J., *A gold nanoparticle-based lateral flow biosensor for sensitive visual detection of the potato late blight pathogen, Phytophthora infestans*, Analytica Chimica Acta, 1036, 2018, s. 153-161.
111. Razo S.C., Panferova N.A., Panferov V.G., Safenkova I.V., Drenova N.V., Varitsev Y.A., Zherdev A.V., Pakina E.N., Dzantiev B.B., *Enlargement of Gold Nanoparticles for Sensitive Immunochromatographic Diagnostics of Potato Brown Rot*, Sensors (Basel), 19, 2019.
112. Panferov V.G., Safenkova I.V., Byzova N.A., Varitsev Y.A., Zherdev A.V., Dzantiev B.B., *Silver-enhanced lateral flow immunoassay for highly-sensitive detection of potato leafroll virus*, Food and Agricultural Immunology, 29, 2018, s. 445-457.
113. Xu J.H., Tran T., Marcia C.S.P., Braun D.M., Goggin F.L., *Superoxide-responsive gene expression in Arabidopsis thaliana and Zea mays*, Plant Physiology and Biochemistry, 117, 2017, s. 51-60.
114. Choi W.G., Gilroy S., *Plant biologists FRET over stress*, Elife, 3, 2014.
115. Su Z.H., Xu X.L., Cheng Y.B., Tan Y.M., Xiao L.T., Tang D.L., Jiang H.M., Qin X.L., Wang H.X., *Chemical pre-reduction and electro-reduction guided preparation of a porous graphene bionanocomposite for indole-3-acetic acid detection*, Nanoscale, 11, 2019, s. 962-967.
116. Li H.Y., Wang C., Wang X.D., Hou P.C., Luo B., Song P., Pan D.Y., Li A.X., Chen L.P., *Disposable stainless steel-based electrochemical microsensor for in vivo determination of indole-3-acetic acid in soybean seedlings*, Biosens Bioelectron, 126, 2019, s. 193-199.
117. Lopez M.S.P., Manzanares-Palenzuela C.L., Lopez-Ruiz B., *Biosensors for GMO Testing: Nearly 25 Years of Research*, Critical Reviews in Analytical Chemistry, 48, 2018, s. 391-405.
118. Chen K., Han H.Y., Luo Z.H., Wang Y.J., Wang X.P., *A practicable detection system for genetically modified rice by SERS-barcoded nanosensors*, Biosens Bioelectron, 34, 2012, s. 118-124.
119. Yang Y.P., Xu D.Q., Zhang W.L., *High-sensitivity and label-free identification of a transgenic genome using a terahertz meta-biosensor*, Optics Express, 26, 2018, s. 31589-31598.

Bioczujniki i bionanourządzenia – przyszłość czy ślepa uliczka?

Streszczenie
Bioczujniki można zdefiniować jako urządzenia sensoryczne, zawierające element pochodzenia biologicznego. Mogą to być białka, kompleksy białkowe, kwasy nukleinowe czy bardziej złożone elementy, jak błony biologiczne. Element biologiczny odpowiada za wykrycie badanego czynnika, jakim może być cząsteczka wiążąca się specyficznie do białka, komplementarny oligonukleotyd czy proteaza, tnąca specyficzną sekwencję aminokwasową. Rozpoznanie analitu może więc wywołać zmianę konformacyjną białka, usztywnienie oligonukleotydu czy zmianę długości peptydu. Potrzeba jednakże przekształcenia tego faktu na sygnał analityczny. Może to być emisja fluorescencji różnego rodzaju nanocząstek, przyłączonych do białek lub peptydów, czy też zmiana przewodnictwa w układzie elektrodowym, powiązanym z elementem bio.
Możliwość uzyskania dokładnych i szczegółowych danych o aktualnym stanie ludzkiego ciała, jak I zmianach parametrów w czasie, jest podstawą do opracowania i stosowania zindywidualizowanych, skuteczniejszych terapii. Szybkie i proste testy, oparte o bioczujniki, mogą też mieć zastosowanie do monitorowania środowiska, na przykład do wykrywania skażeń. Literatura obfituje w przykłady takich urządzeń, opartych m.in. o enzymy czy kompleksy fotosyntetyczne. Żadne z nich jednak, póki co, nie zostało skutecznie skomercjalizowane. W niniejszym rozdziale, na wybranych przykładach, przedstawimy strategie tworzenia bioczujników i pochodnych o rozszerzonej funkcji, które można określić nazwą bionanourządzeń. Przedyskutujemy również możliwości ich zastosowania i dalszego rozwoju, biorąc pod uwagę ograniczenia wynikające z właściwości biocząsteczek.
Słowa kluczowe: bioczujniki, nanocząstki, nanomateriały, fluorescencja, transport elektronów

Biosensors and bionanodevices – the future or a dead end?

Abstract
Biosensors may be defined as devices with sensorability, containing elements of biological origin. These may be proteins, nucleic acids or more complex systems, as biological membranes. Such biological element is responsible for the detection of a specific factor, for example, a protein ligand, a complementary oligonucleotide or a protease, cutting a peptide bearing a specific amino acid sequence. An analyte recognition may then induce a conformational change in a protein, an oligonucleotide stiffening or a change in a peptide length. There need to be also a way to express such change as a measurable signal; this may be a fluorescence emission of selected nanoparticles combined with proteins or peptides, or a conductivity change in an electrode setup containing bioelements.
The possibility to obtain fast and accurate, of the moment data about the human body, as well as real-time information about such parameters change, is the basis to individual therapies. Fast and easy tests, based on biosensors, may be applicable in monitoring an environment. The literature abounds in examples of such devices, using e.g. enzymes or photosynthetic complexes. Till now, however, none of them was introduced in the market. In this chapter, we will present strategies of biosensors/biodevices construction. We will also discuss the possibility of their application and further development, given the fact of limitation connected to biomolecules properties.
Keywords: biosensors, nanoparticles, nanomaterials, fluorescence, electron transfer

Agnieszka J. Nowak[1], Paulina Drynda[2], Justyna Wolny[2]

Biodegradowalne materiały polimerowe

1. Wstęp

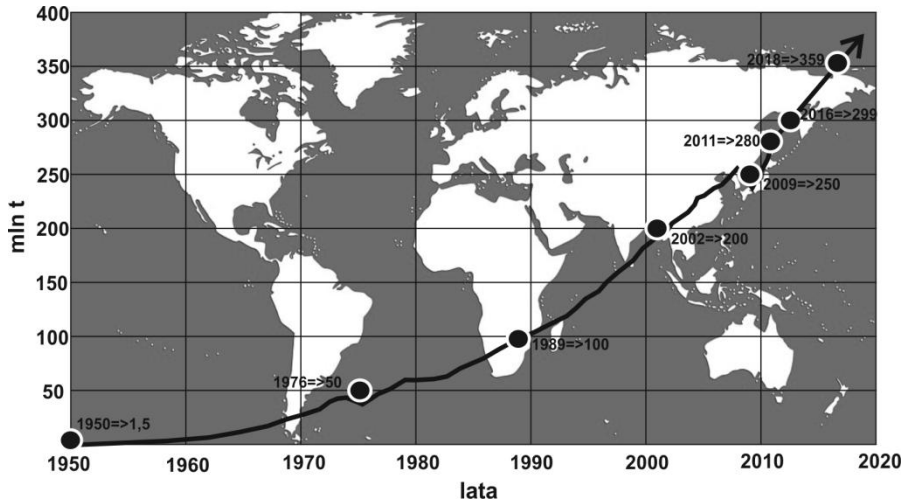
Na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat miał miejsce niespotykany dotychczas rozwój gospodarczy, który doprowadził do tzw. trzeciej, a w latach dziesiątych dwudziestego pierwszego wieku nawet czwartej rewolucji przemysłowej. Dzięki tak sprzyjającym warunkom liczba ludności ciągle wzrasta, a co za tym idzie, rosną również potrzeby populacji. Zaistniała konieczność wytwarzania większej ilości towarów, które muszą sprostać coraz wyższym wymaganiom konsumentów.

W związku ze wzrastającymi potrzebami na rynku zaistniała nisza dla materiałów charakteryzujących się niską masą, która bezpośrednio będzie wpływać na minimalizację kosztów w obszarze globalnego transportu. Biorąc pod uwagę cenę oraz stosunek gęstości do właściwości wytrzymałościowych, doskonałym rozwiązaniem dla przedsiębiorców stały się materiały polimerowe, które od kilkunastu lat stanowią bezkonkurencyjną grupę materiałów używanych w wielu gałęziach przemysłu, m.in. samochodowym, lotniczym, medycznym, a nawet budownictwie. Obecnie dużym zainteresowaniem cieszą się materiały termoplastyczne, które po osiągnięciu określonej temperatury zmieniają stan stały na postać lepkiego płynu. W przeciwieństwie do duromerów, potocznie zwanych duroplastami jest możliwość ponownego przetwórstwa termoplastów. Większość z nich można przetwarzać metodami formowania wtryskowego, tłoczenia, rozdmuchu czy termoformowania. Daje to szanse na maksymalne wykorzystanie materiału. W porównaniu do metali czy ceramiki koszt wytworzenia elementów jest stosunkowo niski. Ze względu na tak dużą popularność materiałów polimerowych na świecie powstaje coraz więcej zalegających na lądzie i w oceanach odpadów.

2. Materiały polimerowe

Polimery to grupa materiałów inżynierskich, która największą popularność zyskała w XX i XXI wieku. Dzięki uzyskaniu dobrych własności w połączeniu z niską gęstością, materiały polimerowe coraz częściej stanowią dobry zamiennik dla tradycyjnych materiałów metalowych i ceramicznych. Wytwarzanie i użytkowanie polimerów stale rośnie od początku lat 60. XX wieku, osiągając w 2018 roku wartość 359 mln ton rocznej produkcji (rys. 1). Największym producentem tej grupy materiałów są Chiny, na które przypada 30% światowej produkcji, wyprzedzając tym samym kraje Europy oraz Północnoamerykańskiej Strefy Wolnego Handlu, tzw. NAFTA. Pod koniec lat osiemdziesiątych ubiegłego wieku wytwarzanie produktów polimerowych objętościowo przewyższyło produkcję stali, czyli jednego z najważniejszych materiałów konstrukcyjnych na świecie. W latach 1995-2000 handel materiałami polimerowymi wzrastał 15% rocznie. W samym 2000 roku wytworzono produkty na bazie polimerów o łącznej kwocie 3,3 mld dolarów [1-3].

[1] agnieszka.j.nowak@polsl.pl, Katedra Materiałów Inżynierskich i Biomedycznych, Wydział Mechaniczny Technologiczny, Politechnika Śląska.
[2] Studentka/Członek SKN Przetwórstwa Tworzyw Sztucznych i Kompozytów „HEAD TO HEAD", Wydział Mechaniczny Technologiczny, Politechnika Śląska.



Rysunek 1. Czynniki wpływające na przebieg oraz szybkość biodegradacji [1, 2]

Rozwój światowego przemysłu i chęć wdrażania nowych materiałów do codziennego użytku przyczyniło się do masowego stosowania materiałów polimerowych, aby w 2013 dojść do zużycia około 300 milionów ton, w Polsce średnio jedna osoba zużywa 75 kg tworzyw sztucznych rocznie, zajmując tym samym szóste miejsce w Unii Europejskiej. Największą ilość materiału przeznaczana jest na różnego rodzaju jednorazowe opakowania żywności, wody oraz napojów (ok. 31%), a także na materiały budowlane takie jak rury kanalizacyjne i wodociągowe, kable, ramy okienne, elementy izolacyjne (styropian elewacyjny przeznaczony do ocieplenia budynków) [1-4].

We współczesnym świecie materiały polimerowe są nieodłącznym elementem naszego życia. Wprowadzenie polimerów do codziennego użytkowania miało na celu zastąpienie tradycyjnych oraz rzadko występujących materiałów, których zasoby są ograniczone. Obecnie ta grupa materiałów występuje w ogromnej ilości produktów codziennego zastosowania. Branża materiałów polimerowych to ogromny sektor gospodarki, który zatrudnia w Europie 1,6 mln osób w około 60 tys. zakładach przemysłowych [1, 3-9].

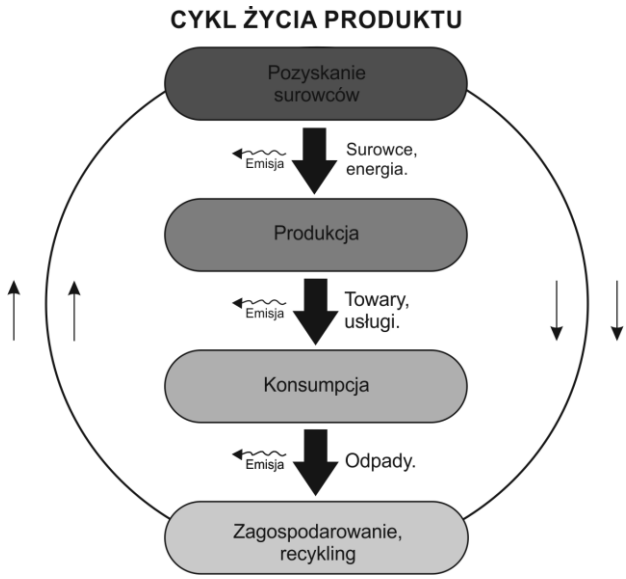
Wartość dodana w Europie osiągnęła taki sam poziom co przemysł farmaceutyczny. Poprzez ciągły rozwój branży powstają nowe miejsca pracy, a ilość osób bezrobotnych zmniejsza się. Tworzywa sztuczne to nie tylko jednorazowe słomki oraz foliowe torebki, które cieszą się złą sławą wśród świadomych konsumentów. Dzisiejsza medycyna nie istnieje bez polimerów. Największym ograniczeniem jest jedynie ludzka wyobraźnia i możliwości projektanta i/lub inżyniera. Jednorazowe produkty mające bezpośredni kontakt z ludzkimi wydzielinami takie jak strzykawki, wzierniki czy sterylne pojemniki coraz częściej wypierają metalowe zamienniki, gdzie wymagana jest sterylizacja po każdorazowym zastosowaniu. Chirurgia oraz implantologia ciągle korzysta z najnowocześniejszych rozwiązań. Metody szybkiego prototypowania wspomagają zaplanowanie skomplikowanych operacji. Możliwe jest zaprojektowanie naczyń krwionośnych, protez, modeli dla chirurgii rekonstrukcyjnej dopasowanych indywidualnie do potrzeb pacjenta. Dzięki tym rozwiązaniom lekarze są w stanie lepiej przygotować się do zaplanowanych zabiegów. Elementy wprowadzane podczas operacji

do ludzkiego organizmu muszą charakteryzować się biozgodnością i nie wywoływać u pacjenta stanu zapalnego czy reakcji alergicznych. Zastosowanie wchłanialnych nici chirurgicznych po zakończeniu zabiegu pozwala na szybką rekonwalescencję pacjenta bez konieczności ponownej ingerencji w celu usunięcia szwów. Coraz częściej syntetyczne nici zastępują te naturalne ze względu na dobre własności wytrzymałościowe, łatwość wytwarzania oraz wywoływanie słabszej reakcji zapalnej w organizmie. Osoby posiadające wady wzroku mają możliwość noszenia soczewek hydrożelowych, będące substytutem tradycyjnych okularów korekcyjnych. Takie rozwiązanie poprawia komfort życia ludzi żyjących aktywnie, gdzie dobry wzrok jest konieczny. Pracodawca jest zobligowany do zapewnienia pracownikom środków ochrony przed szkodliwymi czynnikami. Jednorazowe lateksowe rękawiczki, maseczki, przyłbice czy poliwęglanowe okulary ochronne w wielu zakładach pracy znalazły powszechne zastosowanie jako środki indywidualnej ochrony osobistej. Obecna branża motoryzacyjna również silnie opiera się o tę grupę materiałów inżynierskich. Około 20% wagi pojazdu to tworzywa sztuczne lub materiały kompozytowe o osnowie polimerowej. Rosnące wymagania konsumentów, konkurencja producentów oraz nowe dyrektywy dotyczące ekologii i utylizacji przyczyniają się do poszukiwań nowych rozwiązań. Tworzywa syntetyczne są alternatywą dla metalowych elementów, zapewniając te same lub lepsze własności wytrzymałościowe, gwarantując bezpieczeństwo podróżujących, przy jednocześnie dużo mniejszej wadze detalu. W gospodarstwie domowym w zasięgu ręki znajdują się produkty wykonane z materiałów polimerowych. Najpopularniejsze na świecie klocki LEGO, służące do zabawy wielu pokoleniom wykonane są z termoplastycznego ABSu, materiału, z którego wykonuje się także zderzaki samochodowe. Termomodernizacja budynków z wykorzystaniem pianek poliuretanowych, polistyrenu ekspandorwanego (styropianu) pozwala na poprawę efektywności energetycznej, co związane jest z redukcją kosztów oraz zmniejszeniem ilości zużycia materiału opałowego. Tworzywa sztuczne dobrze sprawdzają się jako materiały wykorzystywane do wytwarzania produktów służących do przechowywania żywności. Opakowania foliowe stanowią barierę między zewnętrznym środowiskiem a pożywieniem. Zapewniają ochronę podczas transportu i magazynowania przed szkodliwymi czynnikami, które mogą doprowadzić do zepsucia produktu. Przedłużają okres przydatności wyrobu do spożycia, dodatkowo ze względu na niski ciężar ułatwiają przewożenie artykułów spożywczych. Ze względu na rozwijające się zapotrzebowanie na dobra konsumenckie coraz więcej produktów pakowane jest w cienkie folie polimerowe, które po użyciu stają się bezużytecznym odpadkiem [1, 3-9].

W celu uniknięcia zbędnych odpadów nowego znaczenia nabiera cykl życia produktu definiowany jako czas życia produktu od momentu pojawienia się pomysłu do realizacji (potrzeby), przez projekt, produkcję, sprzedaż oraz eksploatacje do etapu fizycznej eliminacji, co w uproszczony sposób przedstawiono na rysunku 2 [10].

Przedstawić go można w trzech fazach: zaprojektowanie, wytworzenie oraz czas użytkowania. Duża konkurencja na rynku przyczynia się do skrócenia faz projektowania. Natomiast jakość wykonanego produktu wpływa na jego cały cykl życia. W całym okresie życia produktu na jakość wpływają różne czynniki. Wymagania jakościowe stawiane produktom na każdym etapie życia reguluje norma ISO 9001. Po przesyceniu rynku produktem, widocznym spadkiem sprzedaży i pozyskanych zysków,

pojawia się problem z jego utylizacją lub ponownym wykorzystaniem w innym celu. Na etapie projektowania powinny być uwzględnione nie tylko aspekty ekonomiczne, tj. koszty wytwarzania, praktyczność, długi czas użytkowania, ale także należy wziąć pod uwagę wpływ na środowisko, co przy dużej konkurencji i chęci zaspokojenia jak największej ilości potrzeb odchodzi na dalszy plan [9, 10].



Rysunek 2. Schemat cyklu życia produktu [11]

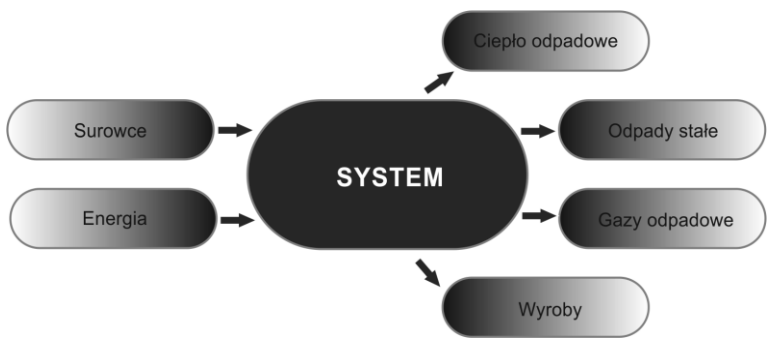
Od rozpoczęcia produkcji materiałów polimerowych na skalę przemysłową na świecie powstało ich łącznie ponad 9,1 mld ton (dane z 2017 roku). Większość z nich to odpady, które trafiły na wysypiska śmieci lub do naturalnego środowiska. Co roku do oceanów trafia aż do 12,7 mln ton odpadów polimerowych. W 2014 roku masowy stosunek śmieci w morzach do ryb wynosi 1:5. Szacuje się, że do 2050 roku w morzach i oceanach będzie więcej „plastikowych" śmieci niż ryb. Na Pacyfiku znajduje się wielkie pływające wysypisko śmieci, które według ekspertów trzykrotnie przekroczyło wielkością powierzchnię największego kraju Unii Europejskiej – Francji. Zanieczyszczenie wód morskich odpadami pochodzi z 10 rzek, z czego 80% z nich to rzeki krajów azjatyckich. Szacuje się, że około 49% odpadów w środowisku morskim to artykuły jednorazowego użytku wytworzone z tworzyw termoplastycznych. Najczęściej na brzegu morza można znaleźć butelki po napojach, patyczki kosmetyczne, reklamówki, jednorazowe sztućce, słomki i mieszadełka oraz opakowania po produktach garmażeryjnych. Przez takie działania naturalne ekosystemy ulegają zniszczeniu, wiele gatunków roślin oraz zwierząt wymiera. Zwierzęta morskie coraz częściej żywią się mikroplastikiem niż naturalnym pożywieniem. Mikroplastik to mieszanina różnego rodzaju materiałów polimerowych o wielkości od 0,1 μm do 5 mm w postaci granulek, płatków, nieregularnych fragmentów lub włókien. Można sklasyfikować go na pierwotny oraz wtórny. Mikroplastik pierwotny to cząstki, które od momentu wytworzenia są w skali mikro. Głównym źródłem jest pranie ubrań wykonanych z syntetycznych materiałów, ścieranie opon w trakcie jazdy, a także pył miejski, które wraz ze ściekami

dostają się do wód morskich. Mikroplastik wtórny stanowi 69-81% zanieczyszczenia mórz i oceanów materiałami polimerowymi. Powstaje poprzez degradację sieci rybackich, śmieci pod wpływem promieniowania słonecznego oraz samej wody morskiej [12-15].

2.1. Recykling i utylizacja materiałów polimerowych

Trwałość charakteryzująca materiały polimerowe jako dobry materiał do produkcji różnego rodzaju opakowań sprawia, że produkty te są trudne w rozkładzie. Kraje uprzemysłowione zużywają bardzo duże ilości produktów wykonanych z materiałów polimerowych, co przekłada się na zwiększenie ilości nierozkładalnych odpadów w środowisku. Zarządzanie tak dużą ilością odpadów to problem ekonomiczny, logistyczny oraz techniczny. Problem ten występuje globalnie, dlatego wiele instytucji międzynarodowych, w tym Unia Europejska zadecydowała o wprowadzeniu w 2021 roku zakazu sprzedaży produktów jednorazowych, takich jak słomki, patyczki do uszu, sztućce, wyprodukowanych z materiałów polimerowych. Przyjęto także ustawę przewidującą produkcję nowych butelek, w których 25% materiału powinno pochodzić z odzysku przed 2025 rokiem, a także 90% recykling butelek do 2029 r. [16, 17].

Ekobilanse pozwalają na dokonanie oceny problematyczności materiałów polimerowych względem środowiska, spowodowane produkcją, eksploatacją materiału oraz odpowiedniego zagospodarowania późniejszych odpadów. Schemat ekobilansu przedstawiono na rysunku 3 [16].



Rysunek 3. Schemat ekobilansu podany przez Brandrupa [16]

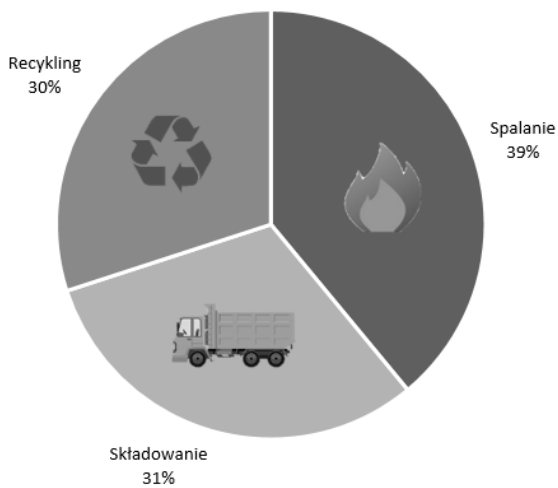
Na bilans ekologiczny składa się wiele czynników, między innymi [16]:

- ilość zużytych surowców (bez ropy);
- stałe odpady, które nie nadają się do utylizacji;
- ilość zużytej czystej wody, nie wliczając tej użytej do chłodzenia;
- nakłady energetyczne włącznie z zapotrzebowaniem na węgiel i ropę naftową;
- emisja szkodliwych gazów i innych substancji do środowiska.

W porównaniu do innych materiałów produkcja i przetwórstwo materiałów polimerowych nie wymaga dużego zużycia energii, doprowadzając do redukcji zużycia nieodnawialnych surowców, których zasoby z roku na rok są coraz mniejsze. Dzięki możliwości recyklingu wielu typów materiałów polimerowych wykorzystywanych w wielu dziedzinach gospodarki ich ekobilans znacząco się poprawia. Recykling to procesy oraz czynności przyczyniające się do odzyskania oraz wtórnego wykorzystania

odpadu przy jednoczesnym jak najmniej możliwym energetycznym wkładzie. Jednym z pierwszych kroków recyklingu jest odpowiednia segregacja powstałych odpadów. Odzyskany surowiec może być wielokrotnie przetwarzany i wykorzystywany do momentu znaczącego spadku pierwotnych własności. Celem takich działań jest uzyskanie materiałów o przeznaczeniu pierwotnym lub innym, zmniejszenie ilości zużywanych surowców takich jak drewno, węgiel czy ropa naftowa oraz oszczędność energii [18, 19].

Najczęstszym sposobem przetwarzania materiałów polimerowych w Europie jest spalanie z odzyskiem energii. Spośród wszystkich odpadów polimerowych 30% z nich poddawane jest recyklingowi (rys. 5) [20].



Rysunek 5. Sposoby przetwarzania odpadów z tworzyw sztucznych w Europie [20]

Wpływ na to ma cena produktu, którego materiał pochodzi z recyklingu jest wyższa niż w przypadku nowego odpowiednika. Spółki zajmujące się recyklingiem potrzebują dużą ilość recyklatów, które wyprodukowano według określonych specyfikacji. Przekłada się to na całkowity koszt produktu, przez co popyt na materiały pochodzące z recyklingu to jedynie 6% całościowego zapotrzebowania na polimery w Europie [20].

Składowanie jest najmniej ekonomicznym sposobem przetwarzania odpadów. Proces rozkładu jest bardzo długi, przez co obszar składowania zajmuje coraz większe powierzchnie [21].

Ilość powszechnie używanych materiałów polimerowych stanowi obecnie poważne zagrożenie dla środowiska naturalnego, szczególnie że materiały te często stanowią produkty jednokrotnego użytku. Zasadniczy problem stanowi czas degradacji pojedynczych wyrobów, który wynosi średnio kilkaset lat. Biorąc pod uwagę ogromne ilości produkowanych odpadów prognozuje, że do 2050 roku na świecie będą zalegać ogromne ilości termoplastycznych. Ponadto statystyki przeprowadzone na rok 2015 podają, że tylko 9% wyprodukowanych tworzyw sztucznych zostaje poddana recyklingowi. Co więcej, ponowne wykorzystanie recyklatów również nie stanowi rozwiązania problemu z uwagi na to, że z każdym kolejnym cyklem przetwórczym obniżają się ich własności wytrzymałościowe, w wyniku czego ograniczany jest ich realny

obszar aplikacyjny, a w efekcie materiały te stają się bezużyteczne. Dlatego tak znaczący dla środowiska naturalnego wydaje się być nurt badawczy prowadzący do wyeliminowania tradycyjnych termoplastów z rynku na rzecz tych biodegradowalnych.

3. Biodegradacja materiałów polimerowych

Biodegradowalność to zdolność do rozkładu materiału w stosunkowo krótkim czasie pod wpływem działania czynników biotycznych, a w szczególnej mierze mikroorganizmów, którego efektem jest powstanie biomasy, wody oraz dwutlenku węgla. Do zajścia procesu biodegradacji konieczna jest obecność określonych gatunków bakterii, grzybów lub glonów wydzielających odpowiednie enzymy, rodniki i metabolity, a także odpowiednie warunki środowiskowe. Na rozkład tworzywa wpływają również inne czynniki fizyczne i chemiczne, takie jak utlenianie, degradacja hydrolityczna, termiczna lub fotodegradacja [17, 22-24].

Kompostowalność natomiast to zdolność do biodegradacji materiału w środowisku kompostu, czego efektem jest powstanie humusu (nawozu naturalnego). Tworzywo określa się jako kompostowalne, jeżeli w wyniku jego rozkładu w środowisku nie powstają substancje ekotoksyczne. Ponadto produkty biodegradacji muszą ulegać dezintegracji na frakcję o wielkości nierozróżnialnej w gotowym kompoście oraz nie mogą wpływać negatywnie na jakość kompostu [22, 23, 25].

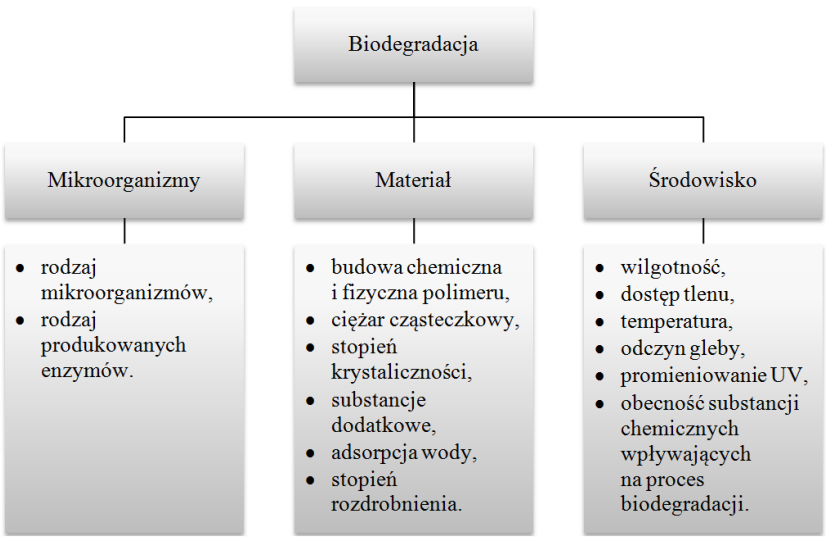
Ocenę biodegradowalności tworzywa w określonych warunkach środowiskowych wydaje się na podstawie spełnienia wymogów norm przedmiotowych. Aby materiał został określony jako biodegradowalny zgodnie z normą PN-EN 13432, musi spełniać następujące warunki [22, 23, 26]:

- zawartość substancji szkodliwych, w tym metali ciężkich w materiale znajduje się poniżej określonych limitów;
- po okresie 6 miesięcy kontrolowanego kompostowania tlenowego co najmniej 90% materiału musi ulec rozkładowi na biomasę, wodę oraz dwutlenek węgla;
- 3-miesięczna obróbka biologiczna powoduje rozpad materiału, a produkty rozpadu nie wykazują właściwości ekotoksycznych (test wzrostu roślin).

Proces biodegradacji polimerów uwarunkowany jest wieloma czynnikami. Zostały one przedstawione schematycznie na rysunku 6. Są to nie tylko cechy samego materiału, lecz także warunki środowiskowe oraz obecność odpowiednich mikroorganizmów zapewniających zajście biodegradacji [17, 23, 24].

Rodzaj materiału, a w szczególności jego budowa chemiczna, ma kluczowe znaczenie dla przebiegu procesu biodegradacji. Podatnością na działanie mikroorganizmów cechują się materiały, w których budowie występują znaczące ilości grup chemicznych zdolnych do rozkładu pod wpływem wytwarzanych przez nie enzymów. Są to między innymi grupy karboksylowe, hydroksylowe, amidowe, uretanowe, estrowe czy eterowe. Korzystny jest również brak rozgałęzień bocznych łańcuchów oraz wiązań sieciujących. Czynniki te ułatwiają wnikanie enzymów do głębszych warstw materiału. Istotny wpływ ma również stopień krystaliczności polimeru. Struktura amorficzna posiadająca większe wolne przestrzenie pomiędzy łańcuchami polimeru stwarza możliwość wnikania wody oraz enzymów. Struktura krystaliczna o znacznym zagęszczeniu łańcuchów w istotny sposób spowalnia przebieg procesu. Biodegradacji łatwiej ulegają polimery o mniejszym ciężarze cząsteczkowym. Jest to związane

z łatwiejszym przenikaniem małych cząsteczek przez ściany komórkowe mikroorganizmów. Większe cząsteczki muszą wcześniej zostać podzielone na monomery, dimery lub oligomery przez enzymy zewnątrzkomórkowe. Substancje pomocnicze dodawane do polimerów mogą zwiększać lub zmniejszać podatność materiału na biodegradację. Toksyczne dla mikroorganizmów mogą być niektóre stabilizatory lub środki sieciujące, które spowolnią lub całkowicie uniemożliwią zajście omawianego procesu. Dodatki przyspieszające biodegradację to między innymi napełniacze naturalne lub inne małocząsteczkowe substancje ulegające wymywaniu lub szybkiej degradacji. Powodują one zwiększenie porowatości struktury, co skutkuje zwiększoną chłonnością materiału. O szybkości przebiegu degradacji decyduje bowiem także stosunek powierzchni materiału do jego objętości. Powinien być on jak największy, ponieważ stwarza to większy obszar działania enzymów wytwarzanych przez mikroorganizmy [17, 23-25, 27].



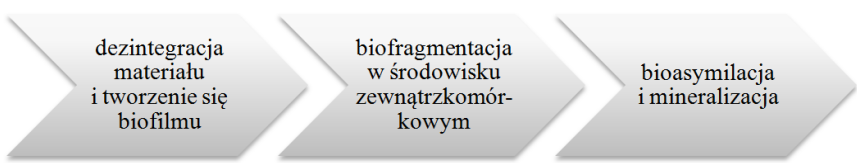
Rysunek 6. Czynniki wpływające na przebieg oraz szybkość biodegradacji [17, 24]

Mikroorganizmy żyjące w środowisku w znaczący sposób wpływają na możliwość zajścia procesu biodegradacji. Wytwarzają one bowiem, w zależności od gatunku, enzymy zdolne do rozkładania określonych grup i wiązań chemicznych występujących w łańcuchach polimerowych. Enzymy można podzielić na konstytutywne, czyli produkowane zawsze oraz indukowane pewnymi czynnikami zewnętrznymi. Gatunki bakterii, grzybów czy glonów tworzące mikroflorę są ściśle związane z rodzajem środowiska, w którym żyją. Mogą być to zarówno organizmy tlenowe, jak i beztlenowe [17, 24].

Warunki środowiskowe w znacznym stopniu wpływają na przebieg biodegradacji. Decydują także o składzie gatunkowym mikroflory. Głównymi czynnikami warunkującymi rozwój oraz aktywność mikroorganizmów jest wilgotność oraz dostęp tlenu. Woda zapewnia między innymi transport enzymów oraz innych substancji w objętości polimeru, a przede wszystkim warunkuje procesy życiowe zachodzące w komórkach. Środowisko tlenowe umożliwia rozwój mikroorganizmów aerobowych oraz zacho-

dzenie degradacji oksydacyjnej. Mikroorganizmy anaerobowe, także zdolne do degradacji polimerów, będą rozwijać się natomiast w środowisku beztlenowym. Odpowiednia temperatura oraz odczyn środowiska znajdujący się w optymalnym zakresie przyśpieszają proces biodegradacji. Zbyt niska temperatura może powodować spowolnienie procesów metabolicznych mikroorganizmów, natomiast zbyt wysoka zatrzymanie wzrostu oraz namnażania komórek. Wzrost temperatury powoduje także przyspieszenie reakcji enzymatycznej, lecz zbyt duży może doprowadzić do denaturacji enzymatycznych białek. Do denaturacji może doprowadzić też zbyt kwaśne lub alkaiczne środowisko. Właściwe pH warunkuje łączenie się enzymu z substratem. Wpływ promieniowania UV na proces biodegradacji może być dwojaki. Działaniem korzystnym może być wywoływanie zjawiska fotodegradacji łańcuchów polegającym na pękaniu wiązań i zmniejszaniu ciężaru cząsteczkowego polimeru. Niekorzystne może być jednak działanie sterylizujące hamujące rozwój mikroorganizmów oraz mutagenne powodujące zmiany w ich DNA. Substancje chemiczne występujące w środowisku mogą pełnić funkcję aktywatorów lub inhibitorów procesu biodegradacji. Aktywatory przyspieszające działanie enzymów to na przykład jony metali, niektóre białka oraz inne związki organiczne. Inhibitory można podzielić na specyficzne, czyli działające na określony enzym oraz niespecyficzne. Do drugiej grupy można zaliczyć między innymi jony metali ciężkich. Związki chemiczne mają także istotny wpływ na funkcjonowanie mikroorganizmów, stanowiąc pożywkę lub powodując ich obumieranie [17, 23, 24].

Główne etapy procesu biodegradacji przedstawiono na rysunku 7. Dezintegracja materiału polimerowego oraz powstanie biofilmu na jego powierzchni to pierwszy etap procesu biodegradacji. Rozdrobnienie materiału może zachodzić w wyniku procesów abiotycznych, takich jak hydroliza czy utlenianie, a także działania makroorganizmów np. gryzoni i owadów, które poprzez gryzienie i żucie rozdrabniają materiał polimerowy. Następnie na powierzchni materiału dochodzi do utworzenia warstwy biofilmu. Jest to złożona struktura biologiczna składająca się z populacji bakterii, grzybów oraz glonów otoczona przez matrycę, w której skład wchodzą polisacharydy, proteiny oraz inne substancje organiczne i nieorganiczne. Procesom adhezyjnym biofilmu do podłoża sprzyja zwiększenie porowatości oraz chropowatości powierzchni [17, 22-24].



Rysunek 7. Etapy procesu biodegradacji [17, 23, 24]

Proces biofragmentacji polimeru jest konieczny do zajścia kolejnego etapu biodegradacji. Makrocząsteczki polimeru ze względu na duży ciężar oraz, w większości przypadków, brak rozpuszczalności w wodzie nie są zdolne do pokonania bariery komórkowej. Z tego powodu konieczna jest defragmentacja łańcuchów pod wpływem specyficznych enzymów zewnątrzkomórkowych, a także wolnych rodników wytwarzanych przez mikroorganizmy. Wyróżnia się dwa rodzaje enzymów powodujących biofragmentację. Endoenzymy przecinają łańcuch polimerowy w przypadkowych

miejscach powodując powstawanie fragmentów blokowych, natomiast egzoenzymy posiadają zdolność do odszczepiania monomerów, dimerów lub trimerów z końca łańcucha polimerowego [17, 23, 24].

Bioasymilacja i mineralizacja stanowią ostatni etap biodegradacji. Monomery lub oligomery transportowane są do wnętrza komórek mikroorganizmów przez błonę komórkową. Następnie dochodzi do ich degradacji pod wpływem enzymów wewnątrzkomórkowych oraz włączenia do cyklu metabolicznego komórki. Związki małocząsteczkowe stanowią dla organizmu źródło energii, a także materiał budulcowy. Ostatecznymi produktami procesu biodegradacji jest biomasa, woda, oraz gazy: dwutlenek węgla, metan, amoniak [17, 23, 24].

Procesu biodegradacji nie należy mylić z procesem selektywnego rozkładu pod wpływem czynników biologicznych tylko jednego składnika wieloskładnikowego tworzywa sztucznego lub kompozytu. Najczęściej jest to wypełniacz, plastyfikator, prodegradant lub inny środek pomocniczy. Dochodzi wtedy do przerwania spoistości materiału oraz rozproszenia niebiodegradowalnej matrycy polimerowej w środowisku. Proces ten nazywany jest biorozkładem [22, 27].

4. Podział biodegradowalnych materiałów polimerowych

Polimery biodegradowalne zbudowane są z łańcuchów polimerowych zdolnych do rozkładu na pojedyncze mery oraz ich przemiany w biomasę pod wpływem działania mikroorganizmów występujących naturalnie w środowisku. Są one często mylone z tzw. „zielonymi polimerami" (biopolimerami), czyli materiałami niebiodegradowalnymi produkowanymi z biomasy najczęściej w procesie fermentacji oraz późniejszej polimeryzacji. Ich własności nie różnią się od odpowiadającym im polimerom petrochemicznym, takim jak polipropylen, polietylen czy poli(tereftalan etylenu), dlatego w celu ich oznaczenia stosuje się przedrostki „green" lub „bio", np. Bio-PP, Green PE, Bio-PET. Mimo tego, że są one wytwarzane z surowców pochodzenia roślinnego, nie ulegają procesom biodegradacji. Poddaje się je takim samym procedurom recyklingu, jak ich odpowiedniki petrochemiczne [22, 26].

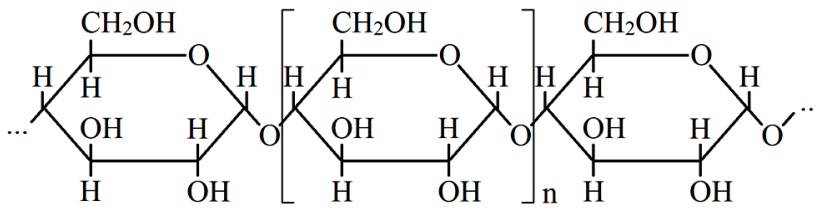
Polimery podatne na proces biodegradacji można podzielić biorąc pod uwagę kryteria stosowane przy klasyfikacji innych materiałów polimerowych, np. metody syntezy, budowy łańcucha, własności reologicznych i fizykochemicznych. Natomiast ze względu na pochodzenie polimery biodegradowalne można podzielić na [22, 23, 26]:

- polimery pochodzenia zwierzęcego lub roślinnego, takie jak polisacharydy, proteiny oraz lipidy, które izolowane są z biomasy, np. skrobia, celuloza, żelatyna, kauczuk;
- polimery wytwarzane podczas kontrolowanej syntezy przez mikroorganizmy, np. polihydroksyalkaniany (PHA);
- polimery syntetyzowane chemicznie z monomerów biopochodnych otrzymywanych podczas fermentacji, np. poli(kwas mlekowy) (PLA);
- polimery pochodzenia petrochemicznego, np. poli(kwas glikolowy) (PGA), polikaprolakton (PCL), poli(bursztynian butylenowy) (PBS).

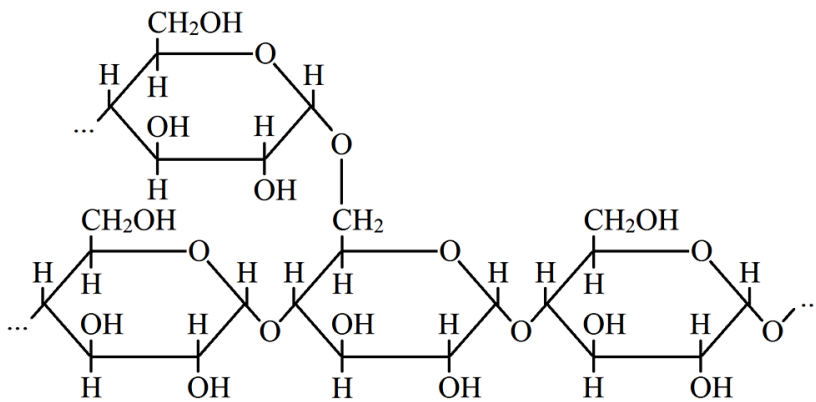
4.1. Skrobia

Skrobia to roślinny polimer zaliczany do grupy biosacharydów. Zbudowana jest z dwóch rodzajów substancji wielkocząsteczkowych: amylozy i amylopektyny. Składają się one z merów D-glukozy połączonych wiązaniami α-glikozydowymi. Amyloza (rys. 8) jest zbudowana z prostych, zwiniętych w spiralę łańcuchów. Amylopektyna

(rys. 9), której zawartość w skrobi zazwyczaj jest większa (75-85%), jest polimerem rozgałęzionym o strukturze przypominającej koronę drzewa. Skrobia jako substancja zapasowa stanowiąca magazyn energii dla wielu roślin występuje w ich komórkach w postaci ziaren o wielkości od 1 do 100 μm. Można ją pozyskiwać między innymi z ziemniaków, kukurydzy, pszenicy, żyta, manioku, ryżu, sorga czy batatów. W zależności od pochodzenia ilość, kształt oraz wielkość ziarenek skrobi, a także udział amylozy i amylopektyny w składzie może się różnić. Skrobia ulega całkowitemu rozkładowi w glebie oraz środowisku wodnym [17, 22, 23, 27, 28].



Rysunek 7. Wzór strukturalny łańcucha amylozy [24, 27]

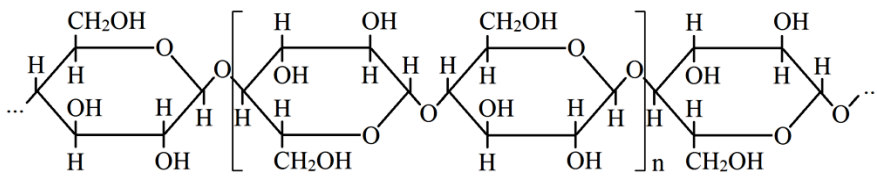


Rysunek 8. Fragment struktury chemicznej amylopektyny [24, 27]

Skrobia ze względu na swoją dostępność oraz niską cenę znajduje zastosowanie jako biodegradowalny napełniacz polimerów w formie naturalnej, a także modyfikowanej. W formie naturalnej skrobia wprowadzana jest do polimeru osnowy w postaci ziaren o różnych rozmiarach w zależności od pochodzenia. Termoplastyczną skrobię (TPS) otrzymuje się przez wytłaczanie z dodatkiem plastyfikatora np. gliceryny. W ten sposób niszczona jest jej częściowo krystaliczna struktura. Po modyfikacji jest ona nadal w pełni biodegradowalna, jednak posiada dużą gęstość w porównaniu z większością termoplastów oraz umiarkowane własności mechaniczne. W związku z tym często stosuje się blendy TPS z innymi polimerami, w tym polimerami biodegradowalnymi. Skrobia może być także stosowana w postaci zmodyfikowanej jako składnik szczepionych kopolimerów np. kopolimer skrobi z polistyrenem lub akrylanem metylu [17, 23].

4.2. Celuloza

Celuloza to naturalny polimer będący materiałem budulcowym ścian komórkowych roślin. Jej zawartość w strukturze drewna wynosi, w zależności od gatunku, od 40 do 70%, natomiast w bawełnie sięga do 98%. Składa się ona jednostek D-glukozowych połączonych w łańcuchy liniowe przez wiązania glikozydowe w konfiguracji β (rys. 9). Makrocząsteczki celulozy o stopniu polimeryzacji od 500 do 10000 powiązane są między sobą dużą ilością wiązań wodorowych. Łańcuchy polimeru ułożone równolegle tworzą wiązki zwane mikrofibrylami, które następnie tworzą makrofibryle. W przeważającej części krystaliczna budowa celulozy oraz ścisłe ułożenie jej łańcuchów powodują, że jest ona nierozpuszczalna w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych. Pod wpływem wody ulega ona jednak pęcznieniu w wyniku wytwarzania wiązań wodorowych. Własności celulozy są anizotropowe, wykazuje ona 10-krotnie większą wytrzymałość włókna oraz 200-krotnie mniejsze pęcznienie pod wpływem wody w kierunku wzdłuż osi włókna niż w kierunku poprzecznym [17, 25, 26, 28].

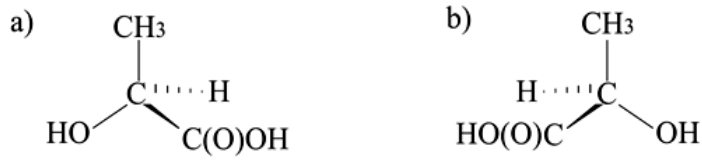


Rysunek 9. Wzór strukturalny łańcucha celulozy [28]

Głównymi źródłami celulozy w przemyśle są drewno oraz bawełna. Z celulozy drzewnej wytwarza się materiały budowlane, papier, tekturę, włókna oraz masę celulozową służącą do otrzymywania pochodnych celulozy, natomiast celuloza pozyskana z bawełny jest używana głównie do produkcji włókien i tekstyliów, a także mikrokrystalicznej celulozy wykorzystywanej w medycynie. Poprzez modyfikację pozyskanej celulozy otrzymuje się polimery celulozowe stosowane w przemyśle. Do najczęściej wykorzystywanych należą estry i etery celulozy oraz celuloza regenerowana. Celulozę mikrobiologiczną o wysokiej czystości oraz wysokim stopniu polimeryzacji i krystaliczności pozyskuje się przez hodowle bakterii syntetyzujących ją w swoich komórkach. Jest to jednak produkcja mało wydajna oraz kosztowna, dlatego zastosowanie celulozy bakteryjnej jest ograniczone [17, 23, 28].

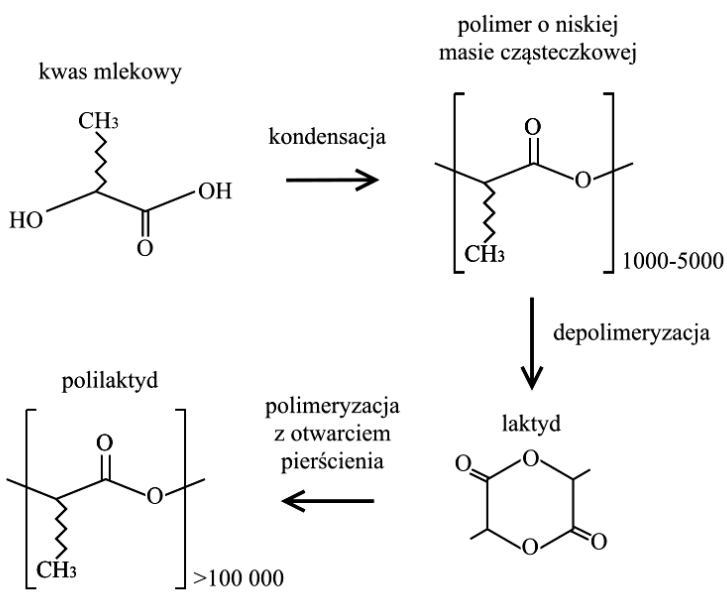
4.3. PLA

Poli(kwas mlekowy), polilaktyd (PLA) to biodegradowalny poliester alifatyczny pozyskiwany ze źródeł odnawialnych. Jest produktem procesu polimeryzacji kwasu mlekowego uzyskiwanego na drodze fermentacji cukrów. Kwas mlekowy, który jest substratem dla PLA, ze względu na swój chiralny charakter tworzy dwa rodzaje enancjomerów, a mianowicie L- oraz D-enancjomer (rys. 10). PLA występuje zatem w różnych odmianach, o odmiennej budowie i zróżnicowanych własnościach. Na rynku można spotkać PLLA, PDLA oraz PDLLA (ten ostatni stanowi mieszkankę obu, wcześniej wymienionych izomerów). Połączenie obu enancjomerów zapewnia amorficzną strukturę oraz okazuje się korzystne ze względu na lepszą stabilność temperaturową tworzywa [22, 29-32].



Rysunek 10. Budowa enancjomerów kwasu mlekowego: a) L-enancjomeru, b) D enancjomeru [31]

Do produkcji PLA wykorzystuje się najczęściej ziemniaki, kukurydzę lub buraki cukrowe. W wyniku hydrolizy pozyskanej skrobi dochodzi do uzyskania dekstrozy, która następnie podczas fermentacji przy użyciu bakterii mlekowych ulega konwersji do kwasu mlekowego. Kwas mlekowy to prosty kwas organiczny o asymetrycznym położeniu atomu węgla, dlatego może występować w dwóch odmianach: prawo- i lewoskrętnej. Otrzymywanie PLA może zachodzić w wyniku dwóch różnych metod, z których wynika różnica w nazewnictwie tego polimeru oraz odmienna budowa grup końcowych. Poli(kwas mlekowy) wytwarzany jest poprzez polimeryzację kondensacyjną kwasu mlekowego. Jest to metoda mniej kosztowna, jednak uniemożliwia pozyskiwanie PLA o dużym ciężarze cząsteczkowym. Drugą opracowaną metodą jest synteza polilaktydu przez polimeryzację z otwarciem pierścienia (rys. 11). Do zastosowania tej reakcji konieczne jest uzyskanie laktydu w procesie depolimeryzacji oligomerów kwasu mlekowego o niskiej masie cząsteczkowej. Następnie przeprowadza się proces syntezy z otwarciem pierścienia laktydu, w wyniku której powstaje PLA o ciężarze cząsteczkowym powyżej 50 000 oraz lepszych własnościach mechanicznych [27, 30-32].



Rysunek 11. Schemat otrzymywania PLA z wykorzystaniem metody otwarcia pierścienia laktydu [31]

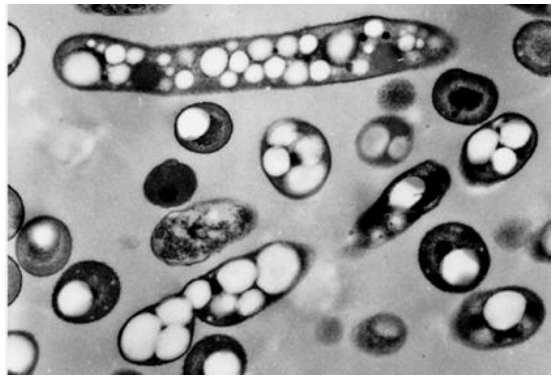
Własności PLA są zależne od budowy jednostek powtarzalnych oraz ich rozkładu w łańcuchu polimerowym. PLA wykorzystywany przemysłowo wykazuje temperaturę topnienia ok. 160-180˚C oraz własności mechaniczne zbliżone do polistyrenu lub poli(chlorku winylu), jest sztywny i kruchy. Jego wadą jest duża higroskopijność, która zmniejsza się jednak przy wzroście udziału fazy krystalicznej. Do głównych metod przetwórstwa PLA należą wtrysk, formowanie z rozdmuchem oraz wytłaczanie włókien. PLA znajduje zastosowanie w przedmiotach codziennego użytku, takich jak opakowania do kontaktu z żywnością, torby, sztućce jednorazowe, kubki, butelki, folie ochronne w rolnictwie i budownictwie, materiały higieny osobistej, odzież sportowa oraz elementy wyposażenia wnętrz. Ze względu na swoją bioresorbowalność PLA stosowany jest powszechnie w medycynie w postaci nici chirurgicznych, siatek i klipsów, a także opatrunków, masek medycznych i odzieży dla personelu [27, 30-32].

4.4. PHA

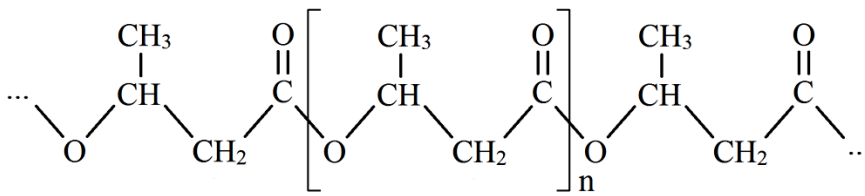
Polihydroksyalkaniany (PHA) to naturalne poliestry alifatyczne występujące w postaci granulek w komórkach szerokiej gamy mikroorganizmów. Wytwarzane są jako substancja zapasowa w przypadku, gdy w środowisku występuje nadmiar źródeł węgla przy jednoczesnym niedoborze siarki, azotu, magnezu i fosforu. Otrzymywanie PHA na skalę przemysłową polega na hodowli kolonii bakterii syntetyzujących ten polimer w swoich komórkach w ilości około 80% suchej masy (Rys. 12). Jako źródło węgla wykorzystuje się głównie substancje cukrowe np. glukoza, fruktoza lub sacharoza. Po okresie inkubacji bakterii następuje proces fermentacji, podczas którego wytwarzany jest polimer. Następnie przeprowadza się czynności mające na celu wyodrębnienie go z komórek, takie jak zatężanie, przemywanie i suszenie, a następnie granulowanie [23, 33, 34].

Do najpopularniejszych polihydroksyalkanianów wykorzystywanych w przemyśle należy poli(3-hydroksymaślan) (P3HB) (rys. 13). Wykazuje on bardzo małą przepuszczalność tlenu i pary wodnej oraz jest kształtowany w procesach wtrysku. Jego wadą jest jednak duża sztywność i łamliwość spowodowana dużym udziałem fazy krystalicznej, a także niewielki przedział temperaturowy pomiędzy temperaturą topnienia (170˚C) i degradacji termicznej (180˚C). Z tego powodu stosuje się połączenie P3HB z poli(3-hydroksywalerianem) (P3HV). Otrzymany w ten sposób kopolimer PHBV wykazuje mniejszą krystaliczność, lepsze własności przetwórcze oraz nadaje się do produkcji folii opakowaniowych [23, 33-35].

Niewątpliwą zaletą tej grupy materiałów jest całkowita biodegradowalność do nieszkodliwych związków prostych, nawet w warunkach domowego kompostowania. Nie wykazują toksyczności, a ponadto są materiałami biozgodnymi. Polimery te pochodzą ze źródeł w pełni odnawialnych. Prowadzone są prace nad wykorzystaniem w syntezie PHA odpadów z przemysłu rolnego i spożywczego, co pozwala na zagospodarowanie zbędnej biomasy przy jednoczesnym zachowaniu pełnowartościowych surowców. Ich zalety sprawiają, że polimery te są wykorzystywane w medycynie jako w medycynie jako implanty kości, zastawek serca, systemy dostarczania leków, resorbowalne nici chirurgiczne oraz odzież medyczna jednorazowego użytku. Powoli wkraczają również na rynek opakowań i przemysłu rolnego [29, 33, 34].



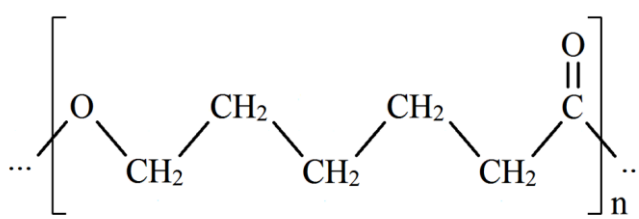
Rysunek 12. Obraz TEM bakterii Wautersia eutropha z widocznymi granulkami P3HB [36]



Rysunek 13. Wzór strukturalny łańcucha P3HB [26, 35]

4.5. PCL

Poli(ε-kaprolakton) (PCL) (rys. 14) to najpopularniejszy biodegradowalny poliester pochodzenia petrochemicznego. Wytwarzany jest w procesie polimeryzacji z otwarciem pierścienia monomerów ε-kaprolaktonu. Posiada strukturę liniową oraz wysoki poziom krystaliczności (około 50%), co powoduje jego dużą elastyczność oraz wydłużenie przy zerwaniu. Odznacza się także niską temperaturą zeszklenia (-60˚C) oraz temperaturą topnienia (60˚C), a powyżej 250˚C ulega degradacji termicznej. Polikaprolakton wykorzystywany jest jako samodzielny polimer, składnik biodegradowalnych kompozytów, najczęściej z termoplastyczną skrobią, a także w połączeniu z innymi polimerami jako plastyfikator lub modyfikator adhezji. Znajduje zastosowanie w medycynie m.in. jako otoczka leków o kontrolowanym uwalnianiu oraz w postaci nici chirurgicznych oraz implantów ulegających bioresorpcji, a także w rolnictwie jako błona do spowolnionego dozowania środków ochrony roślin [22, 26, 35].



Rysunek 14. Wzór strukturalny łańcucha poli(ε-kaprolaktonu) [35]

5. Podsumowanie

Siłą napędową rozwoju polimerów biodegradowalnych są wady konwencjonalnych tworzyw sztucznych dotyczące przede wszystkim nadmiernej eksploatacji zasobów kopalnianych, ograniczonego recyklingu oraz zaśmiecania i zanieczyszczania środowiska naturalnego. Problemy z utylizacją polimerów ropopochodnych w ostatnich etapach cyklu życia produktów sprawiają, że coraz większą uwagę i znaczenie przypisuje się aspektom ekologicznym.

Obecnie wiele kampanii społecznych związanych jest z uświadomieniem istoty zrównoważonego rozwoju oraz potrzeby ochrony środowiska naturalnego. Niestety pomimo wzrastającej ekologicznej świadomości społeczeństwa, polimery biodegradowalne są nadal we wczesnym stadium rozwoju i stanowią jedynie niewielką część produkcji. Za taki stan rzeczy odpowiadają między innymi wyższe ceny w porównaniu do ich petrochemicznych odpowiedników oraz niewystarczające własności funkcjonalne. Dodatkowo ciągłe braki w infrastrukturze służącej do segregacji i biodegradacji ograniczają rozwój tych materiałów.

Aktualnie prowadzone są prace mające na celu minimalizować wady polimerów biodegradowalnych, m.in. poprzez projektowane z myślą o możliwości przetwarzania konwencjonalnymi metodami w celu obniżenia kosztów parku maszynowego, poszukiwanie alternatywnych metod wytwarzania, czy też podwyższanie własności użytkowych. Tak jak w przypadku polimerów konwencjonalnych, istnieją ogromne możliwości tworzenia niestandardowych połączeń różnych polimerów biodegradowalnych do konkretnych zastosowań, przy jednoczesnej redukcji kosztów wynikających z wykorzystania tańszych napełniaczy organicznych lub mineralnych. Połączenie materiałów takich jak poli(kwas mlekowy) oraz polihydroksyalkaniany z innymi naturalnymi dodatkami jak np. skrobią czy celulozą pozwala na otrzymanie tworzyw o własnościach podobnych lub nawet przewyższających konwencjonalne polimery przy zachowaniu biodegradowalności.

Sytuacja na rynkach światowych wskazuje, że polimery biodegradowalne cieszą się coraz większym zainteresowaniem nie tylko ze strony przedsiębiorców, ale również konsumentów. Wiele koncernów decyduje się na wprowadzenie do swojej oferty produktów z tego typu materiałów pomimo zwiększonych kosztów, ponieważ wzmacnia to pozytywny, proekologiczny wizerunek firmy w oczach klientów. Stanowi to szansę dla polimerów biodegradowalnych, których dalszy rozwój będzie związany z udoskonaleniem ich własności, zwiększeniem dostępności oraz spadkiem cen. Kluczowe znaczenie będzie mieć w tym przypadku obniżenie kosztów związanych z ich pozyskiwaniem, przetwarzaniem czy samą biodegradacją. Śledząc aktualne nurty naukowe można odnotować zwiększoną aktywność w realizowaniu prac badawczych związanych z tematyką polimerów biodegradowalnych i ich funkcjonalizacją w każdym z etapów cyklu życia produktu.

Uwagi ogólne

Niniejsze opracowanie powstało dzięki realizacji projektu pt. „Opracowanie procesu wytwórczego biodegradowalnych materiałów kompozytowych wzmacnianych naturalnymi napełniaczami aplikowanymi w branży spożywczej” realizowanego w ramach działań Studenckiego Koła Naukowego Przetwórstwa Tworzyw Sztucznych i Kompozytów „HEAD TO HEAD” działającego przy Katedrze Materiałów Inżynierskich i Biomedycznych na wydziale Mechanicznym Technologicznym Politechniki Śląskiej w Gliwicach. Finansowanego w ramach programu „Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza”.

Literatura

1. Borkowski K., *Przemysł tworzyw sztucznych – materiałów XXI wieku*, Mechanik, nr 4 2015, s. 278-282.
2. Kozera-Szałkowska A., *Rynek tworzyw sztucznych – produkcja, zapotrzebowanie, zagospodarowanie odpadów*, Polimery, nr 11-12 2019, s. 751-758.
3. Cylkowski P., *Rynek polimerów na świecie*, https://www.parkiet.com/artykul/273477.html?preview=&remainingPreview=&grantedBy=preview&; dostęp 10.08.2020.
4. PlasticsEurope Deutschland e.V., Messe Düsseldorf K., *Tworzywa sztuczne – Fakty 2019*, https://www.plasticseurope.org/pl/resources/publications/1999-tworzywa-fakty-2019; dostęp 10.08.2020.
5. Laska-Leśniewicz A., *Wykorzystanie metod szybkiego prototypowania (rapid prototyping) w nowoczesnej medycynie*, Zeszyty Naukowe Towarzystwa Doktorantów UJ Nauki Ścisłe, nr 15 2017, s. 39-48.
6. Zurek M., Kajzer A., Basiaga M., Jendruś R., *Właściwości wytrzymałościowe wybranych polimerowych nici chirurgicznyc*h, Polimery, nr 5 2016, s. 334-338.
7. Dobrzański L.A., *Podstawy nauki o materiałach i metaloznawstwo*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2002.
8. Tartakowski Z., Trybuła D., Mydłowska K., *Recykling wielowarstwowych materiałów polimerowych stosowanych w pojazdach samochodowych*, Autobusy, nr 6, 2015, s. 243-245.
9. Sykut B., Kowalik K., Droździel P., *Współczesne opakowania dla przemysłu żywnościowego*, Nauki Inżynierskie i Technologie, nr 3, 2013, s. 115-121.
10. Korab I., Jacejko P., Kardynał I., Olchawa L., Pączka-Mazur A., *Wybory konsumenckie a gospodarowanie odpadami*, Polish Journal for Sustainable Development, Tom 22, 2018, s. 59-64 .
11. Lenart A., *Zarządzanie cyklem życia produktu a systemy ERP, Komputerowo zintegrowane zarządzanie*, Oficyna Wydawnicza Polskiego Towarzystwa Zarządzania Produkcją, t. 2, 2009, s. 115-123.
12. Namyślak Ł., *Ocena obciążenia środowiska przy produkcji energii elektrycznej przy pomocy metody LCA*, Inżynieria Rolnicza WiR, 4(139), 2012, s. 285-293.
13. Mizerny J., *Zanieczyszczenie plastikiem to globalny problem*, https://www.green-projects.pl/zanieczyszczenie-plastikiem-globalny-problem/; dostęp 10.08.2020.
14. Stadno A., *Ile plastiku zużywasz tygodniowo, a ile w ciągu roku? Teraz możesz to policzyć*, https://tech.wp.pl/ile-plastiku-zuzywasz-tygodniowo-a-ile-w-ciagu-roku-teraz-mozesz-to-policzyc-6379147856701057a?nil=; dostęp 10.08.2020.
15. Nauka W Polsce MNISzW, *Na świecie powstało już ponad 9.1 mld ton plastiku*, większość trafiła na śmietniki, http://naukawpolsce.pap.pl/aktualnosci/news%2C415060%2Cna-swiecie-powstalo-juz-ponad-91-mld-ton-plastiku-wiekszosc-trafila-na-smietniki.html; dostęp 12.08.2020.
16. Mizerny J., *Skąd się bierze mikroplastik i dlaczego jest problemem dla środowiska?*, https://www.green-projects.pl/skad-sie-bierze-mikroplastik-problemem-dla-srodowiska/; dostęp 12.08.2020.
17. Mucha M., *Polimery a ekologia*, Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Łódź 2002.
18. Aktualności Parlamentu Europejskiego 2019, Parlament Europejski poparł wprowadzenie do 2021 r. zakazu sprzedaży plastikowych jednorazówek, https://www.europarl.europa.eu/news/pl/press-room/20190321IPR32111/parlament poparl-wprowadzenie-do-2021-r-zakazu-plastikowych-jednorazowek; dostęp 13.08.2020.
19. Dobrzańska B., Dobrzański D., Kiełczewski D., *Ochrona środowiska przyrodniczego*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2019.
20. Dziennik Ustaw, nr 62 2001, poz. 628.
21. Aktualności Parlamentu Europejskiego 2019, Odpady z tworzyw sztucznych i recykling w UE: fakty i liczby,

https://www.europarl.europa.eu/news/pl/headlines/society/20181212STO21610/odpady-z-tworzyw-sztucznych-i-recykling-w-ue-fakty-i-liczby; dostęp 13.08.2020.
22. Klepka T. (red.), *Nowoczesne materiały polimerowe i ich przetwórstwo, Część 3,* Politechnika Lubelska, Lublin 2017.
23. Kuciel S. (red.), *Kompozyty polimerowe na osnowie recyklatów z włóknami naturalnymi*, Wydawnictwo Politechniki Krakowskiej, Kraków 2010.
24. Żmihorska-Gotfryd A., *Wybrane zagadnienia biologicznej degradacji polimerów*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Rzeszowskiej, Rzeszów 2015.
25. Rabek J.F., *Współczesna wiedza o polimerach Budowa strukturalna polimerów i metody badawcze*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Tom 1, Warszawa 2017.
26. Malinowski R., *Biotworzywa jako nowe materiały przyjazne środowisku naturalnemu*, Inżynieria i Ochrona Środowiska, nr 2, 2015, s. 215-231.
27. Szlezyngier W., Brzozowski Z.K., *Tworzywa sztuczne*, Wydawnictwo Oświatowe FOSZE, Tom 2, Rzeszów 2012.
28. Rabek J.F., *Współczesna wiedza o polimerach. Polimery naturalne i syntetyczne, otrzymywanie i zastosowania*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Tom 2, Warszawa 2017.
29. Farmer N., *Innowacje w opakowaniach żywności i napojów*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2016.
30. Duda A., *Polilaktyd – tworzywo sztuczne XXI wieku*, Przemysł Chemiczny, nr 8-9, 2003, s. 905-907.
31. Żenkiewicz M., Richert J., *Synteza, właściwości i zastosowanie polilaktydu*, Przetwórstwo Tworzyw, nr 5, 2009, s. 192-199.
32. Duda A., Penczek S., *Polilaktyd [poli(kwas mlekowy)]: synteza, właściwości i zastosowania*, Polimery, nr 1, 2003, s. 16-27.
33. Kurcok P., Kawalec M., Sobota M., Michalak M., Kwiecień M., Jurczyk S., *Polihydroksyalkaniany – zastosowanie i recykling*, Polimery, nr 5, 2017, s. 364-370.
34. Mizielińska M., Łopusiewicz Ł., Soból M., *Polihydroksyalkanolany - obiecujące polimery biodegradowalne*, Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych, nr 2, 2018, s. 99-306.
35. Gołębiewski J., Gibas E., Malinowski R., *Wybrane polimery biodegradowalne – otrzymywanie, właściwości, zastosowanie*, Polimery, nr 11-12, 2008, s. 799-807.
36. Tian J., Sinskey A.J., Stubbe J., Kinetic *Studies of Polyhydroxybutyrate Granule Formation in Wautersia eutropha H16 by Transmission Electron Microsco*py, Journal of Bacteriology, No. 11, June 2005, s. 3814-382.

Biodegradowalne materiały polimerowe

Streszczenie

W artykule przedstawiono zagadnienia dotyczące polimerów biodegradowalnych, opisano pojęcia biodegradowalności i kompostowalności. Przybliżono czynniki wpływające na proces biologicznej degradacji materiałów polimerowych oraz opisano jego etapy. Przedstawiono charakterystykę najpopularniejszych polimerów biodegradowalnych, opisano ich budowę, otrzymywanie, własności oraz zastosowanie.

Słowa kluczowe: biodegradacja, polimery biodegradowalne, biopolimery, skrobia, celuloza, PLA, PHA, PHB, PLC

Biodegradable polymeric materials

Abstract

The article presents the basic issues of biodegradable polymers, including definitions of biodegradability and compostability. Factors influencing the process of biological degradation of polymers and its stages are described. Characteristics of the most popular biodegradable polymers used in industry, their structure, preparation, properties and application are presented.

Keywords: biodegradation, biodegradable polymers, biopolymers, starch, cellulose, PLA, PHA, PHB, PLC

Angelika Plota[1], Anna Masek[2]

Opakowania biodegradowalne – materiały przyjazne dla środowiska

1. Wprowadzenie

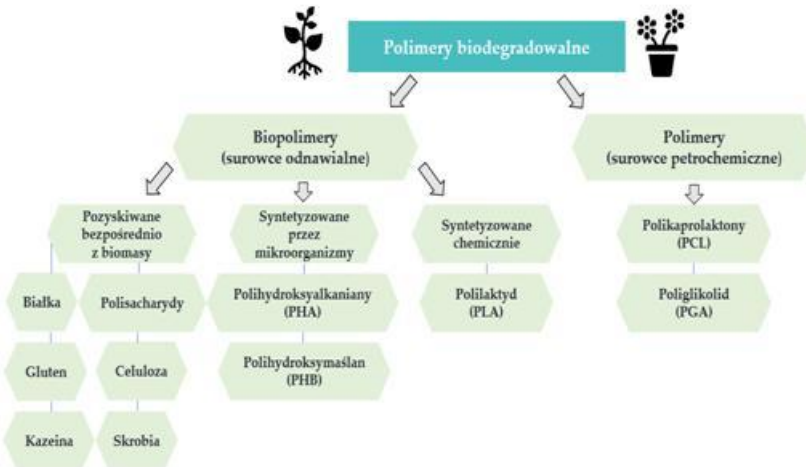
W dzisiejszych czasach materiały polimerowe odgrywają znaczącą rolę w rozwoju współczesnej cywilizacji i coraz częściej zastępują tradycyjne materiały w niemal każdej dziedzinie, np. opakowaniach, budownictwie, motoryzacji czy medycynie. Ich średnia roczna produkcja wynosiła około 1,5 miliona ton rocznie w latach pięćdziesiątych, natomiast w 2018 roku gwałtownie wzrosła do prawie 400 milionów ton w skali roku, przy czym 40% stanowiły opakowania spożywcze [1, 2]. Ze względu na nieustannie zwiększające się problemy zanieczyszczenia środowiska naturalnego odpadami z tworzyw polimerowych, podjęto prace badawcze dotyczące wytwarzania nowych materiałów, przyjaznych dla środowiska, a tym samym zachowujących właściwości tradycyjnych polimerów [3].

Polimery biodegradowalne są to materiały, które pochodzą ze źródeł naturalnych lub mogą być one syntezowane z syntetycznych surowców i ulegają degradacji pod wpływem enzymatycznego działania mikroorganizmów, takich jak bakterie, grzyby i glony po upływie okresu ich użytkowania. Polimer jest uważany za biodegradowalny, gdy niemal całkowicie (80-90%) ulega rozkładowi poprzez bakterie obecne w wodzie lub glebie w ciągu 6 miesięcy [4]. Materiałami biodegradowalnymi mogą być zarówno biopolimery oraz polimery otrzymywane z surowców petrochemicznych [5].

Obserwuje się, że zapotrzebowanie na biodegradowalne polimery do zastosowań opakowaniowych ogromnie wzrosło. Ponadto uważa się, że mechanizmy zrównoważonej produkcji i recyklingu biotworzyw są w dużym stopniu zgodne z działaniami określonymi w celach zrównoważonego rozwoju ONZ i europejskiej strategii na rzecz tworzyw sztucznych w gospodarce o obiegu zamkniętym [5, 6]. Klasyfikacja polimerów biodegradowalnych

Polimery biodegradowalne można podzielić na różne typy w zależności od sposobu ich otrzymywania oraz źródeł pozyskiwania surowców stosowanych do ich wytwarzania (np. surowce odnawialne, kopalne). Rysunek 1 przedstawia podział polimerów, które mogą być pozyskiwane bezpośrednio z biomasy, syntetyzowane chemicznie z monomerów otrzymywanych w procesie fermentacji biomasy, syntetyzowane przez mikroorganizmy lub otrzymywane z surowców petrochemicznych [7].

[1] angelika.plota@gmail.com, Instytut Technologii Polimerów i Barwników, Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka, www.p.lodz.pl.
[2] anna.masek@p.lodz.pl, Instytut Technologii Polimerów i Barwników, Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka, www.p.lodz.pl.



Rysunek 6. Klasyfikacja polimerów biodegradowalnych ze względu na sposób otrzymywania i źródło pozyskiwania surowców do ich wytwarzania [praca własna]

2. Biodegradacja, kompostowanie

Proces biodegradacji przebiega dwuetapowo (rys. 2). Początkowo następuje biofragmentacja łańcuchów polimerów spowodowana działaniem enzymów zgodnie z mechanizmem utleniania lub hydrolizy. Drugi etap stanowi mineralizacja, podczas której następuje przemiana polimeru w biomasę, sole, wodę, dwutlenek węgla oraz metan [8]. Kiedy proces rozkładu kończy się na pierwszym etapie (fragmentacji), to materiał taki uległ degradacji. Tworzywo jest biodegradowalne tylko wtedy, gdy podczas procesu rozkładu pojawi się również mineralizacja [9].

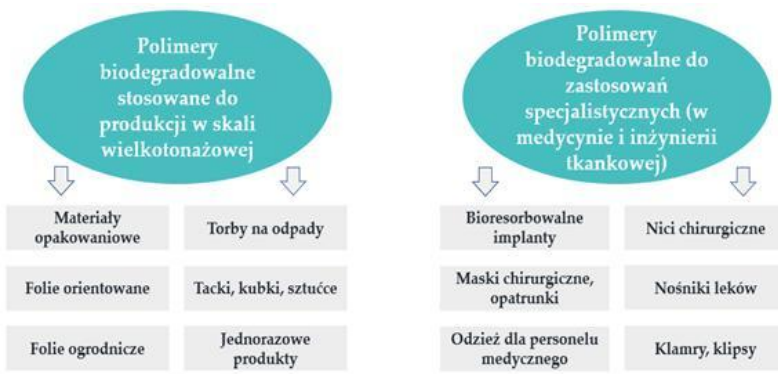
Jednym z przykładów biodegradacji jest proces kompostowania. Tworzywa kompostowalne to takie, które ulegają całkowitej asymilacji w ciągu 180 dni w warunkach kompostowania (wilgotność 50-60%, obecność tlenu, pH odpadów ok. 6,5). Jest to metoda recyklingu odpadów organicznych, która przebiega w kontrolowanych warunkach tlenowych, w wyniku której, substancje organiczne są przetwarzane przez mikroorganizmy. Proces kompostowania jest uznawany za zakończony, kiedy tworzywo zawiera związki organiczne, które trudno ulegają rozkładowi lub takie, które są typowe dla humusu [10].

Rysunek 7. Schemat mechanizmu procesu biodegradacji [9]

Podstawowa różnica pomiędzy kompostowalnymi i biodegradowalnymi materiałami polega na tym, że produkty nadające się do kompostowania wymagają specjalnych warunków, aby się rozpadły, podczas gdy produkty biodegradowalne rozkładają się naturalnie. Zazwyczaj kompostowanie jest szybszym procesem, ale tylko w kontrolowanych warunkach przy odpowiedniej wilgotności i temperaturze oraz w obecności tlenu [11].

3. Obszary zastosowań materiałów biodegradowalnych

Tworzywa biodegradowalne mają coraz większą możliwość zastosowań w różnych dziedzinach. Rysunek 3 przedstawia przykłady wykorzystania tych materiałów do produkcji wyrobów w skali wielkotonażowej oraz przeznaczonych do zastosowań specjalistycznych. Należy dodać, że zastąpienie opakowań, które są produkowane z konwencjonalnych tworzyw sztucznych przez biodegradowalne ich zamienniki, wpisuje się w trend gospodarki zrównoważonego rozwoju i redukcji odpadów [7].



Rysunek 8. Zastosowania wyrobów z polimerów biodegradowalnych [praca własna]

Rynek opakowań biodegradowalnych został wyceniony na 89,57 mld USD w 2019 roku i oczekuje się, że wartość ta zwiększy się do 121,38 mld USD do 2025 roku. Stosowanie nowoczesnych, funkcjonalnych materiałów opakowaniowych staje się coraz bardziej popularne z takich względów, jak [12]:

- niski wpływ na środowisko;
- rosnący nacisk na możliwość recyklingu i zrównoważony rozwój;
- nacisk rządu na efektywne zarządzanie opakowaniami oraz rosnącą świadomość konsumentów w połączeniu z rosnącym zakazem używania plastiku;
- kierunki rozwoju innowacyjnych materiałów opakowaniowych.

Opakowania oraz materiały, które są stosowane do ich produkcji nieustannie są udoskonalane ze względu na postęp technologiczny i stale rosnące wymagania konsumentów. Do aktualnych trendów materiałów opakowaniowych można zaliczyć opakowania przeciwdrobnoustrojowe, inteligentne oraz hybrydowe. Bazują one na wykorzystaniu materiałów, które nadają optymalne warunki przechowywania produktów, dobrej odporności mechanicznej, barierowości w stosunku do gazów i pary wodnej, a także informują konsumenta o jakości zapakowanego wyrobu [13].

3.1. Opakowania przeciwdrobnoustrojowe

Opakowania aktywne wykorzystują różne rozwiązania technologiczne, które uwzględniają rodzaj przemian (fizjologicznych, chemicznych i mikrobiologicznych) w produktach żywnościowych. Do tej grupy zaliczyć można materiały o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, które odgrywają ważną rolę w opakowaniach żywności i mogą wydłużyć okres przydatności do spożycia, a także zapewnić konserwację żywności. Wytwarzanie opakowań przeciwdrobnoustrojowych polega na wprowadzeniu środków bioaktywnych bezpośrednio do składników opakowania, nakładaniu środków bioaktywnych na powierzchnię opakowania lub tworzeniu folii przy użyciu polimerów przeciwdrobnoustrojowych [14].

Skrobia i pochodne skrobi, PLA i PHB mają wiele cech kompatybilnych z różnymi środkami przeciwdrobnoustrojowymi do zastosowania ich jako materiały opakowaniowe. Zbadano je pod kątem mikroorganizmów chorobotwórczych oraz powodujących psucie się w zastosowaniach biomedycznych i spożywczych w różnych warunkach testowych. Aktywne błony przygotowane przez odlewanie rozpuszczalnikowe wykazały uwalnianie środków przeciwdrobnoustrojowych i skuteczność przeciwko docelowym mikroorganizmom [15].

Zbadano wpływ dodania peptydów przeciwdrobnoustrojowych (nizyny i pediocyny) do folii nanokompozytowych skrobiowo-haloizytowych w celu konserwacji żywności. Okazało się, że tak przygotowane folie miały nie tylko lepszą stabilność termiczną, właściwości barierowe dla wody, wytrzymałość mechaniczną, ale także wykazywały wysoką aktywność przeciwbakteryjną przeciwko *L. monocytogenes* i *C. perfringens* [16].

Włączenie środków przeciwdrobnoustrojowych do matrycy PLA umożliwiło ich uwalnianie w kontrolowany sposób, poprawiając skuteczność działania przeciwko mikroorganizmom. Obecne w warstwie powłoki polilaktydu substancje przeciwdrobnoustrojowe tworzą hydrofilową powierzchnię, która zapobiega przyleganiu mikroorganizmów do powierzchni folii. Aby spełnić rygorystyczne wymagania dla zastosowań opakowań biomedycznych, opracowano różne metody modyfikacji powierzchni PLA, np. modyfikację powierzchni nanocząsteczkami srebra w celu wytworzenia antybakteryjnych warstw nanokompozytowych [17, 18].

Różne naturalne środki przeciwdrobnoustrojowe, takie jak wanilina czy eugenol, mogą być dodane do biomateriałów na bazie PHB w różnych dawkach w celu wytworzenia aktywnych materiałów opakowaniowych. Stwierdzono, że takie materiały zawierające wanilinę i eugenol nawet w niewielkiej ilości (80 μg/g PHB) działają skutecznie przeciwko różnym gatunkom bakterii [19-21].

3.2. Opakowania inteligentne

Folie ze wskaźnikiem temperatury i czasu (TTI) należą do najbardziej obiecujących inteligentnych systemów pakowania, które są obecnie dostępne do użytku w przemyśle spożywczym. Podstawowa koncepcja tych materiałów pozwala na wykrywanie zmian temperatur, które powodują reakcje chemiczne i rozwój drobnoustrojów w produktach spożywczych. Ponadto, folie te są obiecujące, ze względu na niski koszt, prostotę oraz niezawodność. Czujniki kolorymetryczne, które stanowią jeden z wielu rodzajów czujników, mogą dostarczyć odpowiedź poprzez zmianę koloru zgodnie ze zmianami pH produktu, dzięki czemu otrzymywane są informacje o konserwacji i rzeczywistej jakości żywności w sposób wizualny oraz intuicyjny. Oprócz oferowanego prostego rozwiązania, wspólną cechą takich systemów jest to, że są one oparte na biodegra-

dowalnych foliach polimerowych i barwnikach wskaźnikowych pH. Tego typu inteligentne czujniki biopolimerowe mogą być wykorzystywane w wielu zastosowaniach do pakowania żywności. Przykład może stanowić wykorzystanie ureazy (enzymu) w systemie TTI, który ma zdolność do wskazywania zmiany temperatury od 5 do 30°C poprzez zmiany koloru [22].

3.3. Nanokompozyty na bazie polimerów

Innowacyjne materiały hybrydowe to interesująca alternatywa stosowana w przemyśle opakowaniowym, która łączy pożądane cechy polimerów organicznych z zaletami komponentów nieorganicznych [23].

Bionanokompozyty to innowacyjny przykład materiałów hybrydowych. Powstają one w wyniku połączenia polimerów naturalnych oraz nieorganicznych ciał stałych i wykazują co najmniej jeden wymiar w skali nanometrycznej. Podobnie jak w przypadku konwencjonalnych nanokompozytów, które zawierają syntetyczne polimery, biohybrydowe materiały również wykazują ulepszone właściwości strukturalne i funkcjonalne, przez co zwiększa się ich możliwość zastosowania. Właściwości charakterystyczne dla biopolimerów, czyli biokompatybilność i biodegradowalność, otwierają nowe perspektywy dla tych materiałów hybrydowych, ze szczególnym uwzględnieniem materiałów przyjaznych dla środowiska [24].

Opracowano różne rodzaje materiałów nanostrukturalnych, które są syntetyzowane z naturalnych polimerów i charakteryzują się niskim kosztem, szeroką dostępnością oraz całkowitą kompostowalnością. Według niektórych naukowców, nanocząstki skrobi mogą być stosowane w nanokompozytach jako wypełniacze i wpływają na poprawę właściwości mechanicznych oraz biodegradowalność [25]. Kolejnym przykładem jest nieustannie rozwijająca się produkcja materiałów nanocelulozowych, stosowanych jako środki wzmacniające do przygotowania materiałów kompozytowych. Materiały nanocelulozowe w porównaniu z celulozą są lżejsze, mają wysoki stosunek pola powierzchni do objętości oraz większą wytrzymałość i sztywność. Dlatego stanowią korzystne rozwiązanie podczas opracowywania ekologicznych bionanokompozytów do różnych zastosowań przemysłowych. Nanoceluloza w postaci nanokryształów, nanowłókien lub bakteryjnej nanocelulozy, jest biodegradowalna i biokompatybilna. Ze względu na niski współczynnik rozszerzalności cieplnej, wysoki współczynnik kształtu, dobre właściwości mechaniczne i optyczne, kompozyty na bazie nanocelulozy mogą być pomyślnie stosowane w opakowaniach do żywności [26]. Zbadano także folie nanokompozytowe na bazie chitozanu, wzmocnione nanochityną i kwasem garbnikowym, jako środkami sieciującymi. Okazało się, że dodatek nanochityny powoduje polepszenie właściwości mechanicznych oraz spadek rozpukszczalności w wodzie [27].

4. Podsumowanie

Obecny popyt na materiały biodegradowalne szacuje się na ok. 15 tysięcy ton rocznie. Przewiduje się, że zapotrzebowanie to będzie systematycznie wzrastać (zwłaszcza w krajach wysokorozwiniętych), gdzie większa jest świadomość stosowania produktów przyjaznych dla środowiska. Przyjmuje się, że zapotrzebowanie na te produkty w najbliższym czasie osiągnie wartość ok. tysiąca ton w skali roku. Główny kierunek ich zastosowania to torby na odpady komunalne, opakowaniami na żywność w tym sztućce i talerze jednorazowego użytku oraz rolnictwo.

Olbrzymią zaletą polimerów biodegradowalnych jest zamknięty cykl obiegu zużytych wyrobów oraz ich krótki czas życia. Tworzywa biodegradowalne w perspektywie nadchodzących lat może nie zastąpią w pełni materiałów konwencjonalnych, ale mogą stanowić dobrą alternatywę, przyczynić się do ograniczenia odpadów i wykazywać obiecujący potencjał w wielu różnych zastosowaniach.

Literatura

1. Jim Jem K., Tan B., *The Development and Challenges of Poly (lactic acid) and Poly (glycolic acid)*, Advanced Industrial and Engineering Polymer Research, 3, 2020, s. 60-70.
2. Wróblewska-Krepsztul J., Rydzkowski T., Borowski G., Thakur V.K., *Recent Progress in Biodegradable Polymers and Nanocomposites Based Packaging Materials for Sustainable Environment*, International Journal of Polymer Analysis and Characterization, 23, 2018, s. 383-395.
3. Chamy R. *Biodegradation – Life of Science*, IntechOpen, London, UK 2013, s. 141-185.
4. Gross R.A., *Biodegradable Polymers for the Environment*, Science, 297, 2002, s. 803-807.
5. Rameshkumar S., Shaiju P., O'Connor K.E., Babu P.R., *Bio-based and biodegradable polymers – State-of-the-art, challenges and emerging trends*, Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry, 21, 2020, s. 75-81.
6. Zhong Y., Godwin P., Jin Y., Xiao H., *Biodegradable Polymers and Green-based Antimicrobial Packaging Materials: A minireview*, Advanced Industrial and Engineering Polymer Research, 3, 2020, s. 27-35.
7. Malinowski R., *Biotworzywa jako nowe materiały przyjazne środowisku naturalnemu*, Inżynieria i Ochrona Środowiska, 18, 2015, s. 215-231.
8. Vroman I., Tighzert L., *Biodegradable Polymers*, Materials, 2, 2009, s. 307-344.
9. Stasiak P., *Biodegradowalne tworzywa – opakowania jutra*, http://organicconcept.pl/blog/biodegradowalne-tworzywa-opakowania-jutra, 17.09.2020 r.
10. Assman K., *Polimery biodegradowalne – przykłady zastosowań*, Klepka T. (red.), *Nowoczesne materiały polimerowe i ich przetwórstwo*, Politechnika Lubelska, Lublin 2017, s. 51-71.
11. Gobrecht D., *What is the Difference Between Compostable and Biodegradable?*, https://www.pjponline.com/what-is-the-difference-between-compostable-and-biodegradable/, 17.09.2020 r.
12. Mordor Intelligence, *Biodegradable packaging market – growth, trends, and forecasts 2020-2025)*, https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/gobal-biodegradable-packaging-solutions-market-industry, 18.09.2020 r.
13. Fang Z., Zhao Y., Warner R.D., Johnson, S.K., *Active and intelligent packaging in meat industry*, Trends in Food Science & Technology, 61, 2017, s. 60-71.
14. Cooksey K., *Antimicrobial food packaging materials*, Additives for Polymers, 2001, s. 6-10.
15. Abreu A.S., Oliveira M., de Sa A., Cerqueira M.A., Vicente A.A., Machado A.V., *Antimicrobial nanostructured starch based films for packaging*, Carbohydrate Polymers, 129, 2015, s. 127-134.
16. Meira S.M.M., Zehetmeyer G., Werner J.O., Brandelli A., *A novel active packaging material based on starch-halloysite nanocomposites incorporating antimicrobial peptides*, Food Hydrocolloids, 63, 2017, s. 561-570.
17. Turalija M., Bischof S., Budimir A., Gaan S., *Antimicrobial PLA films from environment friendly additives*, Composites Part B: Engineering, 102, 2016, s. 94-99.
18. Zhang H., Hortal M., Jordá-Beneyto M., Rosa E., Lara-Lledo M., *ZnO-PLA nanocomposite coated paper for antimicrobial packaging application*, Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, 78, 2017, s. 250-257.

19. Solaiman D.K.Y., Ashby R.D., Zerkowski J.A., Krishnama A., Vasanthan N., *Control-release of antimicrobial sophorolipid employing different biopolymer matrices*, Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 4, 2015, s. 342-348.
20. Xavier J.R., Babusha S.T., George J., Ramana K.V., *Material properties and antimicrobial activity of polyhydroxybutyrate (PHB) films incorporated with vanillin*, Biotechnology and Applied Biochemistry, 176, 2015, s. 1498-1510.
21. Garrido-Miranda K.A., Rivas B.L., Pérez-Rivera M.A., Sanfuentes E.A., Peña-Farfal C., *Antioxidant and antifungal effects of eugenol incorporated in bionanocomposites of poly(3-hydroxybutyrate)-thermoplastic starch*, Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, 98, 2018, s. 260-267.
22. Stefani R., Vinhal G.L.R.R.B., do Nascimento D.V., Pereira M.C.S., Pertuzatti P.B., da Silva Chaves K., *Smart Biopolymers in Food Industry*, Salam A., Makhlouf H., Hosseini M. (red.), *Industrial Applications for Intelligent Polymers and Coatings*, Springer International Publishing, Switzerland 2016, 253-269.
23. Sanchez C., Julian B., Belleville P., Popall M., *Applications of hybrid organic-inorganic nanocomposites*, Journal of Materials Chemistry, 15, 2005, s. 3559-3592.
24. Ruiz-Hitzky E., Aranda P., Darder M., Rytwo G., *Hybrid materials based on clays for environmental and biomedical applications*, Journal of Materials Chemistry, 20, 2010, s. 9306-9321.
25. Dularia C., Sinhmar A., Thory R., Nain V., *Development of starch nanoparticles based composite films from non-conventional source – Water chestnut (Trapa bispinosa)*, Internation Journal of Biological Macromolecules, 136, 2019, s. 1161-1168.
26. Sharma A., Thakura M., Mandal T., Goswami S., *Commercial application of cellulose nano-composites – A review*, Biotechnology Reports, 21, 2019, s. e00316.
27. Rubentheren V., Ward T.A., Chee C.Y., Tang C.K., *Processing and analysis of chitosan nanocomposites reinforced with chitin whiskers and tannic acid as a crosslinker*, Carbohydrate Polymers, 115, 2015, s. 379-387.

Opakowania biodegradowalne – materiały przyjazne dla środowiska

Streszczenie
W dzisiejszych czasach materiały polimerowe odgrywają znaczącą rolę w rozwoju współczesnej cywilizacji i coraz częściej zastępują tradycyjne materiały w niemal każdej dziedzinie. Ze względu nie nieustannie zwiększające się problemy zanieczyszczenia środowiska odpadami z tworzyw polimerowych, podjęto prace badawcze dotyczące wytwarzania nowych materiałów, przyjaznych dla środowiska, a tym samym zachowujących właściwości tradycyjnych polimerów. W ostatnim czasie zapotrzebowanie na biodegradowalne materiały do zastosowań opakowaniowych ogromnie wzrosło. Ponadto uważa się, że mechanizmy zrównoważonej produkcji i recyklingu biotworzyw są w dużym stopniu zgodne z działaniami określonymi w celach zrównoważonego rozwoju ONZ i europejskiej strategii na rzecz tworzyw sztucznych w gospodarce o obiegu zamkniętym. W niniejszej pracy przedstawiono innowacyjne kierunki rozwoju materiałów opakowaniowych wraz z podaniem przykładów i korzyści płynących z takich rozwiązań.
Słowa kluczowe: opakowania

Biodegradable packaging – environmentally friendly materials

Abstract
Nowadays, polymeric materials play a significant role in the development of modern civilization and are increasingly replacing traditional materials in almost every field. Due to the constantly increasing problems of environmental pollution with polymer waste, research work was undertaken on the production of new materials, environmentally friendly, and thus preserving the properties of traditional polymers. Recently, the demand for biodegradable materials for packaging applications has increased enormously. In addition, the mechanisms for sustainable bioplastics production and recycling are considered to be largely in line with the actions identified in the UN Sustainable Development Goals and the European Strategy for Plastics in a Circular Economy. This paper presents innovative directions for development of packaging materials, along with examples and benefits of such solutions.
Keywords: packaging

Lidia Niekraś[1], Ewa Moliszewska[2], Agnieszka Rombel-Bryzek[3]

Opakowania z biotworzyw – przyszłość? Czy w przyszłości nowy problem środowiskowy?

1. Wprowadzenie

Tworzywa sztuczne mają wszechstronne zastosowanie, niemniej od kilkunastu lat branża opakowalnicza pozostaje głównym ich odbiorcą. Sektor ten zużywa rocznie blisko 35% całkowitej ich produkcji, co w porównaniu z branżą budowlaną czy z branżą elektroniczną, elektryczną i meblarską łącznie jest wyższe o odpowiednio: 12% i 27% [1-3]. Do kluczowych odbiorców opakowań z tworzyw sztucznych należy przemysł spożywczy wykorzystujący 60-70% ich ogółu [1, 2, 4]. Opakowania produktów spożywczych użytkowane są jednak na tyle krótko, że wraz z jednorazowymi torbami na zakupy stały się głównym źródłem uciążliwych odpadów z tworzyw sztucznych zalegających nie tylko na wysypiskach śmieci [5, 6]. Pomimo tego, że skala problemu jest ogromna, produkcja opakowań z tworzyw sztucznych niezmiennie utrzymuje się na wysokim poziomie. Zgodnie z danymi Fundacja PlasticsEurope za 2019 łączne zapotrzebowanie na tworzywa sztuczne w Polsce wyniosły w tym roku ok. 3,6 mln ton, co oznacza blisko 3% wzrost w porównaniu z rokiem poprzednim. A sam przemysł opakowalniczy odnotował na przestrzenie ostatnich 10 lat aż 55% wzrost z 772 tys. ton w roku 2010 do ok. 1,2 mln ton w roku 2019. Autorzy niniejszego raportu, jako argument słuszności ich stosowania podają m.in. fakt, że tworzywa sztuczne służą praktycznej realizacji idei zrównoważonego rozwoju, ponieważ opakowania z nichwykonane przedłużają trwałość towarów i produktów przechowywanych w magazynach i na półkach sklepowych. W krajach rozwijających się, właśnie ze względuna niewystarczające ich wykorzystanie do pakowania, ochrony oraz przedłużania trwałości produktów zmarnowałosię aż 50% zasobów żywnościowych [7]. Nie bez znaczenia jest również fakt, że ilość dodawanych do żywności środków konserwujące i antyutleniaczemoże być mniejsza dzięki doskonałej barierowości, jaką uzyskuje się podczas stosowania opakowania z tworzyw sztucznych względem wilgoci, CO_2, O_2 [4]. W pracy Emblema można także przeczytać, że zanieczyszczenia środowiska wywołane niewłaściwie zabezpieczonym produktem spożywczym, jakim jest np. mleko, mogą być większe aniżeli te wynikające ze złożenia jego opakowania z PE – HD na składowisku [8]. Zatem, ze względu na użyteczność i popularność opakowań z tworzyw syntetycznych zmniejszenie ilości powstających z nich odpadów będzie w najbliższym czasie bardzo trudne.

Wśród proponowanych metodmających prowadzić do rozwiązania tego problemu wymienia się recykling i produkcję opakowań z biotworzyw ulegających rozkładowi w naturalnych warunkach [4].

[1] lniekras@wp.pl, Uniwersytet Opolski, Wydział Przyrodniczo-Techniczny, Instytut Inżynierii Środowiska i Biotechnologii.
[2] ewamoli@uni.opole.pl, Uniwersytet Opolski, Wydział Przyrodniczo-Techniczny, Instytut Inżynierii Środowiska i Biotechnologii.
[3] agarombel@uni.opole.pl, Uniwersytet Opolski, Wydział Lekarski, Instytut Nauk Medycznych.

Recykling, będący najlepszą metodą zagospodarowania odpadów polega na odzyskiwaniu i ponownym wykorzystaniu surowców do tworzenia nowych produktów o wartości użytkowej lub energetycznej [9]. Dla zużytych opakowań proponuje się kilka formy recyklingu: recykling materiałowy, chemiczny, energetyczny oraz organiczny (rozumiany jako kompostowanie przemysłowe) [8-9]

Stosowanie trzech pierwszych metod recyklingu ma doprowadzić do realnego spadku masy odpadów opakowaniowych deponowanych na wysypiskach śmieci. Okazuje się bowiem, że pomimo wzrostu świadomości ekologicznej w społeczeństwie i wiedzy na temat niebezpieczeństw związanych z niewłaściwym utylizowaniem odpadów opakowaniowych, składowanie wciąż pozostaje najpopularniejszą formą ich likwidowania [10, 12]. Obserwuje się, że w ogólnych profilach śmieciowych 25% wszystkich zanieczyszczeń generują tworzywa sztuczne. Pomiędzy wszystkimi tworzywami sztucznymi trafiającymi na wysypiska śmieci, aż 61% przypada na opakowania [11, 12]. Dlatego Parlament Europejski, w odpowiedzi na niegasnący problem zagospodarowania odpadów opakowaniowych, zdecydował się wprowadzić kolejne regulacje prawne. I tak szczegółowe warunki, zasady i cele recyklingu materiałowego i energetycznego dla tworzyw sztucznych reguluje Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) (Dyrektywa: 2018/851 z dnia 30 maja 2018 r. zmieniająca dyrektywę 2008/98/WE w sprawie odpadów) [13,14]. Jednocześnie 27 marca 2019 roku zatwierdzono tzw. Dyrektywę Plastikową (*The Single-Use Plastics Directi*ve [13]), która nakazuje do 2025 roku wprowadzenie do obrotu nakrętek czy wieczek plastikowych na stałe przytwierdzonych do opakowania, jak również butelek plastikowych wyprodukowanych w 25% z materiału recyklingowego, a do 2030 z 30% recyklatu. Określono także poziom zbiórki i recyklingu plastikowych butelek jednorazowego użytku na poziomie 77% do 2025 roku, i aż 90% do 2029 roku. Surowce uzyskane po recyklingu PET, można również skutecznie wykorzystywać w wielu gałęziach przemysłu, w tym do ponownej produkcji opakowań na żywność (tzw. rPET), i co ciekawe – po ich zużyciu – poddać również recyklingowi mechanicznemu. Jak podaje ogólnodostępna popularnonaukowa literatura przedmiotu [15, 16] PET nadaje się do 7-krotnego przetworzenia, a wykorzystanie 1 tony rPET obniża emisję dwutlenku węgla o ok. 50% w porównaniu z użyciem 1 tony butelek z nieprzetworzonego PET. Warto też dodać, że recykling opakowań z PET zmniejsza zależność produkcji opakowań od paliw kopalnych o czym informuje chociażby plakat reklamowy jednej z polskich firm dystrybuujących wodę mineralną [18].

Czwarta z wymienionych form recyklingu – recykling organiczny, nie prowadzi bezpośrednio do spadku masy odpadów odprowadzanych na wysypiska, ale do zlikwidowania ich na skutek naturalnych procesów przeprowadzanych w warunkach przemysłowych. A. Jędrczak w książce z 2007 roku pt. „Biologiczne przetwarzanie odpadów", zdefiniował recykling organiczny na podstawie ówczesnego prawodawstwa, jako obróbkę tlenową, w tym kompostowanie, lub beztlenową odpadów, które ulegają rozkładowi biologicznemu w kontrolowanych warunkach, przy wykorzystaniu mikroorganizmów, w wyniku której powstaje materia organiczna lub metan [18]. Ta sama definicja obowiązuje w Ustawie o Odpadach z 2012 roku [19]. Jednak, aby zastosować tę metodę do likwidacji odpadów opakowaniowych, opakowanie musi być wykonane z biotworzywa [2, 16]. Niestety, na chwilę obecną ich udział na rynku opakowań jest

niewielki i wynosi ok. 1% [3, 6]. Niemniej jednak, to w ich produkcji dostrzega się ogromny potencjał, czego wyrazem są stosowane zarówno w obiegowej opinii, jak i w literaturze przedmiotu określenia: polimery przyjazne środowisku naturalnemu (ang. *environmentally friendly polymers*) [14], materiały polimerowe nadziei [9, 10], czy po prostu tworzywa ekologiczne.

Niniejszy artykule poświęcony jest kwestii biotworzyw w kontekście stosowania ich w produkcji opakowań i worków na odpady organiczne. W przyszłości mają one stanowić realną alternatywę wobec opakowań z tradycyjnego plastiku, głównie ze względu na fakt, że czas ich rozkładu w środowisku naturalnym ma być nieporównywalnie krótszy w stosunku do czasu rozkładu opakowań syntetycznych.

2. Biodegradowalne materiały polimerowe (ang. *bioplastics*) wykorzystywane w produkcji opakowań

Polimery to związki chemiczne zbudowane z dużej liczby powtarzających się jednostek zwanych monomerami [2]. Monomery wchodzące w skład polimeru mogą być takie same lub różne (np. dwa lub większa liczba różnych monomerów). W pierwszym przypadku mówimy o homopolimerach w drugim o kopolimerach. Polimery wytwarzane przez organizmy żywe i naturalnie występujące w przyrodzie to biopolimery. Są nimi na przykład skrobia, celuloza, chityna czy białka. Z kolei polimery wytwarzane przez człowieka na drodze syntezy chemicznej (w tym przypadku polimeryzacji) głównie z ropy naftowej, to polimery syntetycznenie mające swoich odpowiedników w naturze. Należą do nich np. polietylen (PE-LD – małej gęstości, PE-HD – dużej gęstości), polipropylen(PP) poli(chlorek winylu) (PVC) czy poli(tereftalan etylenu) (PET). Polimery syntetyczne w połączeniu ze związkami pomocniczymi (np. wypełniaczami, stabilizatorami, plastyfikatorami, barwnikami i pigmentami czy antyutleniaczami [1]) stanowią podstawowy składnik tworzyw sztucznych. Warto zauważyć, że właściwości użytkowe tworzyw sztucznych zależą od: monomeru budującego polimer i długość łańcucha, a także od substancji pomocniczych i dodatków funkcjonalnych [1, 2]. Na przykład odpowiednią barierowość w stosunku do wilgoci można uzyskać poprzez zastosowanie w monomerach odpowiednich atomów lub grup funkcyjnych. Podstawienie grupy metylenowej CH_3 do etylenyw polipropylenie daje większą barierowość na wilgoć aniżeli podstawienie Cl w poli(chlorku winylu) [2]. Z kolei wysoką wytrzymałość mechaniczną tworzywa można uzyskać poprzez użycie polimerów o długich łańcuchach, trudniej ulegającym procesom rozkładu. Dodatki w postaci związków pomocniczych nie powodują zmiany struktury polimeru wchodzącego w skład tworzywa, ale zmieniają jego właściwości fizykochemicznych. Dzięki temu tworzywa syntetyczne odznaczają się m.in. wysoką trwałością i znaczną odpornością na czynników chemiczne, fizyczne oraz są mniej wrażliwe na warunki środowiska [1]. Jednak konsekwencją tego jest wysoka odporność stosowanych tworzyw sztucznych na rozkład pod wpływem wody, powietrza czy światła słonecznego [21]. Wreszcie większość polimerów syntetycznych nie ulegnie biodegradacji w środowisku naturalnym [19], ponieważ nie ma organizmów posiadających enzymy rozkładające wiązania pomiędzy węglami syntetycznych długich łańcuchów węglowodorów alifatycznych [20]. Dlatego z biegiem czasu nawet jeśli następuje ich rozpad, pod wpływem czynników fizycznych, takich jak np. światło słoneczne (fotodegradacja) czy wysoka temperatura (termodegradacja) lub pod wpływem czynników chemicznych, jak np.

woda, kwasy i zasady (degradacja hydrolityczna) [19] to prowadzi to tylko do starzenia się materiału i rozpadu na mniejsze kawałki mikro- i nanoplastiku. Najnowsze badania pokazują, że cząsteczki te są niezwykle niebezpiecznego dla wszystkich organizmów żywych. Stąd też liczne działania w kierunku wykorzystanie biopolimerów do produkcji biotworzyw mających rozwiązać w jakimś stopniu problem tworzyw syntetycznych.

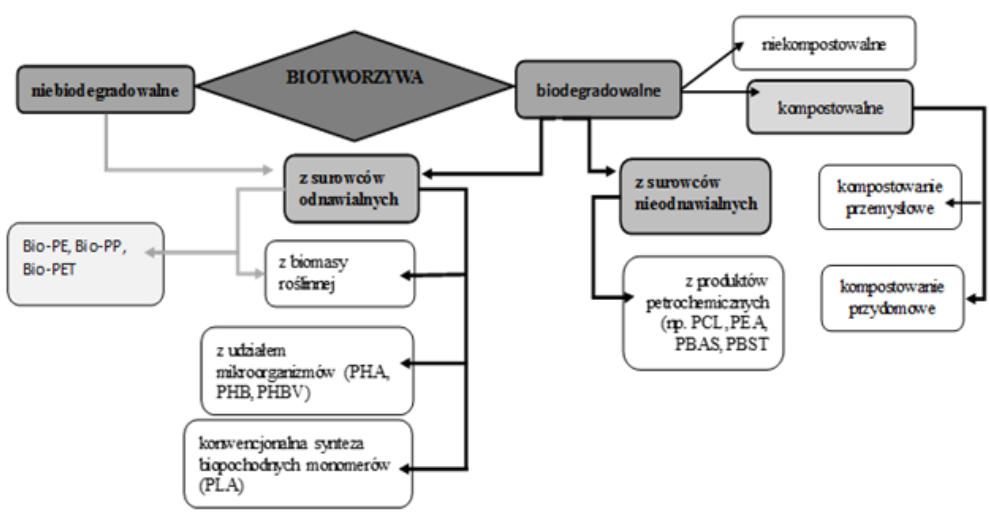
Określenia „polimery biodegradowalne" oraz „polimery kompostowalne" po raz pierwszy pojawiły się w latach 80. XX wieku. Polimery biodegradowalne nazywane są również „zielonymi" polimerami (ang. *green polymers*) lub polimerami przyjaznymi środowisku (ang. *environmentally friendly polymers*). W latach 90. ubiegłego wieku rozpoczęto stosowanie tego typu materiałów do celów opakowaniowych.

Według europejskiego stowarzyszenia European Bioplastics biotworzywa to grupa materiałów produkowana z surowców odnawialnych, przy czym nie zawsze biodegradowalnych oraz z surowców nieodnawialnych, z kolei nie zawsze niebiodegradowalnych [22]. Bogata w tym zakresie literatura proponuje różne kryteria ich podziału, niemniej najczęściej uwzględniane są:

- surowce wykorzystane do ich wyprodukowania: czy pochodzą ze źródeł odnawialnych czy nieodnawialnych (materiał kopalny, głównie ropa naftowa);
- podatność na procesy biodegradacji: biodegradowalne, niebiodegradowalne oraz biodegradowalne i zarazem kompostowalne.

Rysunek 1 przedstawia podział biotworzyw ze względu na powyższe kryteria.

Jeśli surowce do syntezy biotworzyw pochodzą ze źródeł odnawialnych, to może je stanowić biomasa pochodzenia roślinnego lub zwierzęcego (polisacharydy, białka i lipidy). Można je również syntetyzować z udziałem mikroorganizmów lub genetycznie zmodyfikowanych w tym celu roślin albo syntetyzować chemicznie z monomerów otrzymanych w procesie fermentacji biomasy [23, 24].



Rysunek 1. Schemat podziału biopolimerów [opracowanie własne]

2.1. Biotworzywa niebiodegradowalne z surowców odnawialnych

Do grupy biotworzyw niebiodegradowalnych uzyskiwanych z surowców odnawialnych należą tzw. zielone poliolefiny, takie jak np. bio-polietylen (Bio-PE), bio-polipropylen (Bio-PP) i Bio-PET. Produkowane z nich opakowania dostępne są na rynku od 2008 roku i cechują je te same właściwości co ich petrochemicznych odpowiedników, takich jak: PE, PP czy PET [25, 26].

Technologia produkcji Bio-PE opiera się na polimeryzacji etanolu uzyskanego na drodze fermentacji produktów roślinnych, m.in. trzciny cukrowej. Jej pomysłodawcą był brazylijski koncern petrochemiczny Braskem, który obecnie produkuje kilka odmian „zielonego" polietylenu dużej i małej gęstości (HD-PE i LD-PE). Dzięki temu, że właściwości Bio-PE są podobne do tradycyjnego PE, znalazł on zastosowanie przy produkcji m.in. toreb handlowych, worków czy folii opakowaniowych [25, 26, 27].

W celu skomercjalizowania Bio-PE do jego produkcji wykorzystano również biopaliwo (UPM BioVerno) pozyskiwane z surowego oleju talowego, będącego odpadem po produkcji masy papierniczej. Metoda ta wydaje się obiecująca, ponieważ stwarza możliwości zagospodarowania odpadów poprodukcyjnych i tym samym uwolnienia gruntów rolnych zajmowanych *de facto* pod uprawy roślin, które miałyby być wykorzystane w produkcji żywności i biomasy np. na cele energetyczne [28].

Do produkcji Bio-PP stosuje się także typowe surowce pochodzenia biologicznego jak kukurydza, trzcina cukrowa czy buraki. W przeciwieństwie do nich Bio-PET nie jest już produktem otrzymanym tylko z surowców odnawialnych. W jego skład wchodzi 70% kwasu tereftalowego syntetyzowanego w tradycyjny sposób i 30% glikolu etylowego otrzymanego w drodze fermentacji surowców roślinnych. Jednak zaletą tego tworzywa jest to, że jego zużytą formę dopuszcza się do składowania np. z butelkami z PET [27], ponieważ tak jak butelki PET, w całości mogą być poddane recyklingowi [26], chemicznemu oraz materiałowemu.

Ciekawą alternatywą dla butelek z PET są produkowane od 2015 roku butelki z PEF (ang. *poly-ethylen-furanose*), syntetyzowana w wyniku kopolimeryzacji dwóch monomerów: kwasu 2,5-furandikarboksylowego (FDCA) z glikolem monoetylenowym (MEG) przy czym oba te związki pochodzą w 100% z biomasy. Butelki z PEF – tzw. PlantBottle (rys. 2), charakteryzują się wyższą barierowością dla CO_2 i O_2 w stosunku do tradycyjnego PET, zaś po zużyciu w całości nadają się do recyklingu materiałowego [26-28], ewentualnie mogą zostać spalone. Komercyjną produkcję opakowań z PEF planuje się rozpocząć od 2024 roku [29].

Uzasadnieniem dla poszukiwania nowych rozwiązań w zakresie biotworzyw niebiodegradowalnych jest niewykorzystywanie ropy naftowej i zmniejszenie emisji CO_2. Jednak dyskusyjną kwestią są uprawy roślin z przeznaczeniem na ten cel. Zużycie środków chemicznych do ochrony roślin, zwiększenie emisji ditlenku węgla, a także zmniejszanie powierzchni upraw pod rośliny z przeznaczeniem na żywność oraz wykorzystanie i tak wyczerpujących się zasobów wodnych, to argumenty poddające pod wątpliwość słuszność prowadzenie tego typu działań.

Rysunek 2. Znak „PlantBottle" charakteryzujący opakowania wykonane z udziałem materiałów pochodzenia roślinnego [34]

2.2. Biotworzywa biodegradowalne i kompostowalne

2.2.1. Norma EN 13432 i NF T 51-800

W podziale biotworzyw zaprezentowanym na Rysunku 1 uwzględniono dodatkowo ich podatność na proces kompostowania. Należy uznać, że jest to ważny aspekt w dyskutowanym zagadnieniu, ponieważ kompostowanie stanowi rekomendowaną metodę unieszkodliwiania odpadów organicznych, wśród których wydaje się, że również powinny znaleźć się opakowania z biotworzyw.

Aby zużyte opakowanie mogło być kompostowane, musi spełnić surowe wymogi normy EN 13432 (tożsama do EN 14995). Oznacza to, że w swoim składzie powinny mieć powyżej 50% związków organicznych (co obliczane jest na podstawie suchej pozostałości po spaleniu w temp. 550°C) i limitowaną zawartość metali ciężkich oraz innych niebezpiecznych pierwiastków, takich jak np. Cu, Pb, Hg, Cd, Zn, Ni czy Cr, Mo, Se [29, 35, 36]. W testach laboratoryjnych, w warunkach tlenowych powinny wykazywać biodegradowalność w stopniu co najmniej 90% w ciągu maks. 6 miesięcy, zaś w warunkach beztlenowych – w stopniu co najmniej 50% w ciągu maks. 2 miesięcy. Zaś dekompozycja przekompostowanego materiału powinna być na tak wysokim poziomie, by po 12 tygodniach, w warunkach aerobowych, a po 5 tygodniach anaerobowych, po przesianiu na sicie o wielkości oczek większym niż 2 mm pozostało na nim maksymalnie 10% jego wyjściowej masy. Należy też dodać, że kompost otrzymany z udziałem biotworzyw nie może być gorszej jakości niż ten bez nich. Procedura certyfikacyjna przewiduje w tym zakresie badania na roślinach, podczas których ocenia się ich tempo kiełkowania i wzrost, oraz badania w zakresie egzotoksyczności wykonywane np. na dafniach. Wszystkie doświadczenia składające się na ocenę przydatności opakowań do kompostowania prowadzone są zgodnie ze standardami międzynarodowymi (ISO 14851, ISO 14852, ISO 14855) i amerykańskimi (ASTM D6400, ASTM D 5338, ASTM D 6002). Norma EN 13432 (rys. 3) obowiązuje od 2000 roku i stanowi podstawę dla innych regulacji dotyczących biologicznego rozkładu opakowań, przyjmując przemysłowe kompostowanie za właściwe do tego celu [37]. W reaktorach do kompostowania możliwe jest bowiem zachodzenie tego procesu w warunkach kontrolowanych, dzięki czemu czynniki, takie jak: wysoka temperatura, odpowiedni przepływ powietrza, właściwy poziom wilgotności i pH

utrzymane są na optymalnym poziomie, tak by sprzyjać rozwojowi mikroorganizmów odpowiedzialnych za rozkład materii. Norma ta nie odnosi się jednak do kompostowania w warunkach przydomowych. Pryzmy kompostowe w przydomowym kompostowniku znajdują się w otwartej przestrzeni, gdzie nie ma możliwości regulowania jakichkolwiek parametrów, wskutek czego materiał ulega rozkładowi mikrobiologicznemu zdecydowanie wolniej. Dlatego na potrzeby kompostowania w gospodarstwie przydomowym/ogrodowym opracowana została nowa norma NF T 51-800, zgodna z australijską normą AS 5810. [35], która zakłada dwukrotnie dłuższy czas zarówno na biologiczny rozkład materiału, jak i jego dezintegrację w środowisku. Czyli aby opakowanie mogło być poddane kompostowaniu w warunkach przydomowych, jego rozkład biologiczny powinien zakończyć się w ciągu 12 miesięcy (a nie 6), a jego dezintegracja po 6 miesiącach (a nie 12 tygodniach), oczywiście przy co najmniej 90% rozkładzie materiału [30, 35].

Zatem, jeśli surowcem do produkcji opakowań będą zasoby odnawialne, to opakowania te będą miały statut biotworzywa, jednak nie jest to równoważne z tym, że są one kompostowalne. Stąd też tworzywa kompostowalne są zawsze biodegradowalne, ale już tworzywa biodegradowalne nie zawsze będą kompostowalne. I wreszcie tworzywa biodegradowalno-kompostowalne mogą być kompostowalne w warunkach przemysłowego kompostowania, ale już nie zawsze domowego.

Rysunek 3. Znakiem normy EN 13432 jest czarny zawijany, listek, przyznawany przez DIN CERTCO

W licznych artykułach poświęconych biotworzywom i opakowaniom z biotworzyw zwraca się szczególną uwagę na konieczność właściwego stosowania terminów: opakowania przyjazne środowisku naturalnemu, opakowania ekologiczne, czy opakowania biodegradowalne [38]. Nadużywanie lub błędne ich definiowanie może prowadzić do nagromadzenia w przyszłości tej formy odpadów opakowaniowych (podobnie jak wcześniej „jednorazówek") w miejscach do tego nieprzeznaczonych. Na przykład składowanie opakowań degradowalnych i zarazem kompostowalnymi na wysypisku śmieci grozi wydzielaniem do atmosfery zwiększonej ilości metanu wywołującego silniejszy efekt cieplarniany niż sam CO_2. Dzieje się tak dlatego, że przy prawidłowej konstrukcji wysypiska panujące tam suche i najczęściej anaerobowe warunki sprzyjają procesom uwalniania tego gazu z materiałów biodegradowalnych. Opakowania biodegradowalne nie nadają się także do recyklingu materiałowego, ponieważ ich obecność w strumieniu odpadów z tworzyw sztucznych przeznaczonych na ten cel może obniżyć przejrzystość recyklatu uzyskanego np. z butelek z PET lub też ogólnie wywołać jego nieokreślone właściwości [3, 10].

2.2.2. Biodegradacja polimerów stosowanych w opakowalnictwie

Biodegradacja (degradacja biologiczna/degradacja biotyczna) to naturalny proces rozkładu materii wywołany działaniem enzymów produkowanych przez mikroorganizmy, w wyniku którego powstają proste związki chemiczne, takie jak: woda, dwutlenek węgla, sole mineralne oraz nowa biomasa – w przypadku rozkładu w warunkach tlenowych, lub metan – w przypadku rozkładu w warunkach beztlenowych [2, 27, 39, 40].

Pierwszy etap degradacji polimeru zależny jest od czynników abiotycznych, wśród których można wymienić: promienie słoneczne (fotodegradacja), promienie elektromagnetyczne, siły mechaniczne, tlen (utlenianie), wodę i ciepło. Skutkiem abiotycznej degradacji są zmiany w wyglądzie opakowań widoczne w postaci odbarwień, utraty połysku, wzrostu kruchości i ogólnego pogorszenia się jego właściwości mechanicznych. Zmienia się również struktura chemiczna tworzywa: pękają wiązania kowalencyjne w łańcuchu głównym polimeru co powoduje jego rozpad na liczne krótsze łańcuchy oraz obniżenie stopnia polimeryzacji i ciężaru cząsteczkowego. W sprzyjających warunkach proces ten zakończy się depolimeryzacją z wytworzeniem związków chemicznych mogących być materiałem odżywczym dla mikroorganizmów [1, 4, 27].

Na tym etapie możliwa jest ocena stopnia degradacji opakowań za pomocą spektroskopii w podczerwieni (FT-IR) [4]. Gdy polimer posiada grupy funkcyjne, np. karbonylową, hydroksylową, winylową, wykazujące absorpcję w znanym zakresie widma, to zarejestrowanie odstępstwa od niego może wskazywać na degradację polimeru. Jest to tzw. indeks danej grupy (np. karbonylowej, hydroksylowej, winylowej), czyli stosunek rejestrowanej intensywności pasma ulegającego zmianie do intensywności pasma nieulegającej zmianie w wyniku biodegradacji [42]. Pękanie wiązań w łańcuchu głównym polimeru, obserwowane w postaci spadku intensywności pasma, wskazuje na obecność wiązań C-H, a pojawienie się nowych pasm sugeruje obecność wiązań C=C oraz połączeń tlenowych, takich jak: C=O, C-O, O-C [43]. Spodziewanym skutkiem degradacji łańcucha głównego polimeru jest obniżenie jego masy, co można ocenić za pomocą narzędzi stosowanych w spektrometrii masowej, będącej dobrym uzupełnieniem dla techniki spektroskopii w podczerwieni. Warto zaznaczyć, że podatność opakowań na biodegradację wzrasta proporcjonalnie do spadku masy cząsteczkowej tworzących je polimerów [23, 42].

Zasadniczą rolę w rozwój mikroorganizmów, które będą wydzielać odpowiednią ilość enzymów powodującychbiodegradację tworzywa odgrywają warunki środowiska, jak: temperatura, pH, wilgotność czy dostępem do tlenu i składników odżywczych. Wiadomo również, że różne środowiskach, do których mogą trefić zużyte opakowania biodegradowalne, (gleba, kompost, osad czynny czy woda morska), zasiedlane są przez różne mikroorganizmy. Dlatego dokładne poznanie drobnoustrojów zaangażowanych bezpośrednio w proces rozkładu tworzyw biodegradowalnych pozostaje kwestią otwartą. Niemniej w literaturze przedmiotu wśród bakterii zaangażowanych w ten proces wymienia się, m.in. rodzajów *Bacillus, Staphyloccoccus, Micrococcus, Pseudomonas* [23], *Arthrobacter, Cellulomonas* i wiele innych [41, 44] oraz grzyby, m.in. *Aspergillus, Penicillium, Talaromyces, Trichoderma, Gliocladium* i inne [44, 45]. Niektóre tworzywa mogą także ulegać biodegradacji pod wpływem makroorganizmów takich jak ślimaki i owady [46].

Mikro i makroorganizmy wydzielają enzymy niezależnie od tworzyw występujących w ich środowisku, niemniej w zależności od rodzaju tworzywa różne enzymy będą brały udział w procesie ich degradacji skutkiem czego będzie rozerwanie wiązań na ich powierzchni. W ciągu kilkudziesięciu lat przeprowadzono liczne badania w celu zidentyfikowania konkretnych enzymów uczestniczących w procesie biodegradacji polimerów, a obszerne ich omówienie dostępne jest m.in. w artykule przeglądowym Satti i Shah z 2020 roku [47]. Warto jednak wspomnieć, że degradacja enzymatyczna zachodzi przede wszystkim na drodze hydrolizy z udziałem proteaz, esteraz, lipaz, kutynaz, katalaz, ureaz, i glukozydaz [48, 49].

Ostatecznym rozkładem tworzyw są monomery o niskiej masie cząsteczkowej ulegające na końcu mineralizacji do CO_2 i H_2O. To, jak długo potrwa ten proces w przyrodzie, uzależnione jest odtakich czynnikówjak dostęp do światła, dostęp do tlenu, wartość temperatury czy poziom wilgotności otoczenia, ale nie tylko. Istotny wpływ na proces biodegradacji mają również właściwości samego tworzywa jak jego budowa chemiczna, rodzaju wiązań, stopień krystaliczności czy sprężystości [43]. Nie bez znaczenia jest także powierzchnia i grubości tworzywa oraz jego właściwości hydrofilowe i hydrofobowe [41, 23]. Niemniej jednak dla opakowań biodegradowalnych i zarazem kompostowalnych czas ten jest ściśle określony [8].

2.2.3. PLA, naturalne poliestry (PHA, PHB), celofan

Najczęściej stosowanym biotworzywem na świecie jest polilaktyd, czyli poli(kwas mlekowy) PLA [43]. Dzięki temu, że jego synteza odbywa się z udziałem biomasy i zarazem jest tworzywem w pełni biodegradowalnym, określa się go jako produkt podwójnie „zielony".

PLAto alifatyczny poliester termoplastyczny, który na skalę przemysłową może być otrzymanydwoma metodami: przez polimeryzacjęz otwarciem pierścienia cyklicznego laktydu (*Ring-Opening-Polimerization* – ROP) oraz przez polikondensację kwasu mlekowego (2-hydroksy propanowy) (LAc) [1, 44]. Kwas mlekowy można uzyskać w wyniku syntezy chemicznej, jednak preferowaną metodą jest metoda biologiczna. Polega ona na otrzymaniu kwasu mlekowego w wyniku bakteryjnej fermentacji skrobi pochodzącej głównie z kukurydzy, choć nie tylko. Nowoczesne podejście do biotechnologicznej produkcji kwasu mlekowego zakłada wykorzystanie do tego celu również produktów odpadowych, pochodzących np. z przemysłu spożywczego [45].

Kwas mlekowy występuje w formie dwóch różnych izomerów optycznie czynnych o konfiguracji L i D. Różnica między izomerami polega na innym ułożeniu podstawników w przestrzeni względem siebie przy asymetrycznym atomie węgla. Podczas produkcji PLA, zastosowanie wybranego izomeru lub ich mieszanek pozwala na uzyskanie różnych jego właściwości. Na przykład PLA otrzymany w całości z L (+)–kwasu mlekowego charakteryzuje się dużym stopniem krystaliczności, z kolei kopolimery form L(+) i D (-) są bardziej amorficzne i przez to bardziej przezroczyste [37]. Biologiczna synteza izomerów L (+) i D (-) możliwa jest dzięki zastosowaniu różnych szczepów bakterii [44-46]. Mikroorganizmy zdolne do produkcji kwasu mlekowego to przede wszystkim bakterie fermentacji mlekowej (LAB, ang. *Lactic Acid Bacteria*) [46] wśród których można wymienić *Enterococcus, Lactococcus, Leuconostoc, Oenococcus, Pediococcus, Streptococcus, Tetragenococcus, Weissella* czy *Lactobacillus, Carnobacterium*, *Bifidobacterium* oraz *Escherichia coli*. Oprócz

bakterii, zdolność do syntezy PLA wykazują również grzyby strzępkowe z rodzaju *Rhizopus* [46]. Wspólną cechą wszystkich organizmów typu LAB jest możliwość wewnątrzkomórkowej biosyntezy kwasu mlekowego jako głównego metabolitu. Warunkiem wysokiej wydajności tego procesu jest dodanie do pożywki skrobi i łatwo przyswajalnych źródeł azotu, witamin oraz mikroelementów. Jest to konieczne, ponieważ LAB generalnie nie wykazują zdolności do syntezy witamin z grupy B oraz aminokwasów. Fakt ten jednak powoduje, że koszty związane z biologiczną syntezą kwasu mlekowego i tym samym masową produkcją PLA są wysokie [43, 44].

Fermentacja skrobi kukurydzianej i innych polisacharydów przez LAB prowadzi do uzyskania kwasu mlekowego, który przekształcany jest następnie do laktydu polimeryzującego do polilaktydu o różnych właściwościach, które jak już wcześniej wspomniano zależą od tego, czy produkt będzie D(-)-polikwasem, L(+)-polikwasem, czy mieszanką obu izomerów [45].

Degradacji PLA odbywa się w dwóch etapach: w pierwszym, niezależnym od obecności enzymów, w procesiehydrolizy, woda przenika do polimerów powodując rozpad ich wiązań estrowych, skutkiem czego jest powstanie oligomerów i ponownie kwasu mlekowego, przekształconegoostatecznie do wody, dwutlenku węgla i biomasy.

Badania pokazują, że produkty z PLA ulegają 100% degradacji w wysokiej temperaturze (powyżej 70°C) i wilgotność (min. 70% RH) [1]. Warunki takie uzyskać można w procesie kompostowania przemysłowego, w którym ich rozpad obserwowano już po 60 dniach [1]. Z drugiej strony udowodniono, że jeśli opakowanie z PLA znajdzie się na wysypisku śmieci, to nie dość, że zalegać na nim może równie długo, jak tradycyjne opakowanie z tworzyw syntetycznych to dodatkowo, podczas jego rozkładu może wydzielać się toksyczny metanu, będący poważnym zagrożeniem dla środowiska [23]. Niekorzystne jest również pozostawienie opakowań z PLA wśród odpadów z PS lub PET skierowanych do recyklingu materiałowego. Dowiedziono, że jeśli w zakładach przetwórstwa tworzyw sztucznych, do sortowania śmieci nie stosuje się specjalnych urządzeń optycznych a jedynie sortowanie ręczne, to odpady z PLA często pozostając w strumieniu odpadów z tradycyjnego plastiku wpływają na obniżenie jakości powstałego recyklatu (cechuje się on m.in. obniżonymi parametrami wytrzymałościowymi) [46].

Inną grupą „zielonych" tworzyw stosowanych w produkcji opakowań są również w pełni kompostowalne polihydroksyalkaniany np. PHA [1, 25, 30]. Polimery te, podobnie jak PLA, wytwarzane są w procesie fermentacji wewnątrz komórek różnych mikroorganizmów, przy czym PHA stanowi dla nich substancję zapasową wykorzystywaną w czasie niedoboru niektórych składników odżywczych, takich jak azot, fosfor, siarka i magnez, przy jednoczesnym nadmiarze źródeł węgla. Inną metodą pozyskiwania PHA jest zaangażowanie do tego celu zmodyfikowanych genetycznie rośliny, jak np. rzodkiewnik pospolity (*Arabidopsis thaliana)*, który kumuluje PHA w plastydach, podobnie mogą funkcjonować bawełna, kukurydza oraz rośliny oleiste np. rzepak [55]. Podjęto również próby syntezy PHA z osadu czynnego [56].

Na skalę przemysłową stosuje się mikroorganizmy, które gromadzą polihydroksyalkaniany z 80% wydajnościąw cytoplazmie w formie granul. Przykładem ich są: *Ralstonia eutropha, Alcaligenes latus, Azotobacter vinelandii,* rekombinowana genetycznie *Escherichia coli, Methylobacterium organophilum i Pseudomonas putida* [57, 58].

Zaobserwowano także, że sinice (cyjanobakterie), dzięki obecności specyficznego enzymu, syntazy PHA, wykorzystują dwutlenek węgla jako źródła węgla oraz energię słoneczną do produkcji PHA. Cecha ta może być szczególnie atrakcyjna z punktu widzenia wykorzystania sinic w komercyjnej produkcji PHA. Pozwala ona bowiem na obniżenie kosztów produkcji a dodatkowo może przyczynić się do spadku stężenia dwutlenku węgla w atmosferze [59].

Pożywkę dla drobnoustrojów hodowanych do syntezy PHA stanowią głównie substraty cukrowe np. sacharoza lub rośliny bogate w węglowodany jak kukurydza bądź melasa buraczana [47]. Jednak w celu obniżania wysokich kosztów produkcji, taniego i ogólnodostępnego źródła węgla i azotu upatruje się w odpadach z produkcji rolno-spożywczej [60]. Co ciekawe poprzez zmianę źródła węgla, mikroorganizmy mogą syntetyzować różne polihydroksyalkaniany w zależności od zapotrzebowania, co daje możliwość uzyskania polimerów o pożądanych właściwościach fizycznych i chemicznych [60]. Ekstrakcja PHA z komórek mikroorganizmów i ich oczyszczenie jest procedurą skomplikowaną, zaś sama metodyka zależy od tego, w jakim celu polimer ma zostać wykorzystany. Niemniej, szczególnie istotnym etapem jest oczyszczanie PHA z pozostałości innych związków organicznych, takich jak kwasy nukleinowe, fosfolipidy czy peptydoglikany [60].

Najprostszą i najczęściej wykorzystywaną odmianą PHA jest polihydroksymaśla (ang. *polyhydroxybutyrate*, PHB), który ze względu na swoją termoplastyczność, wykazuje duże podobieństwo do polipropylenu [55]. Jednak co istotne, PHB jest w pełni biodegradowlany pod wpływem bakterii obecnych w glebie, ściekach i wodach powierzchniowych, a sam proces można przyspieszyć wykorzystując do tego warunki beztlenowe [1].

Z kolei najstarszym z biodegradowalnych i jednocześnie kompostowalnych opakowań z biotworzyw jest celofan, który otrzymuje się w reakcji celulozy z dwusiarczkiem węgla [61, 62]. Jego produkcja opiera się na naturalnych surowcach roślinnych bogatych w celulozę, do których przede wszystkim zaliczyć należy drewno, choć w tym celu wykorzystuje się również jutę, konopie, len czy trawę. Masa celulozowa przeznaczona do produkcji celofanu, przypomina wyglądem papier czerpany. Taka forma poddawana jest obróbce chemicznej pozwalającej na rozbicie łańcuchów celulozy w konsekwencji czego powstaje zabarwiony na pomarańczowo gęsty płyn nazywanego wiskozą. Wiskoza ulega kilkakrotnemu filtrowaniu w celu uzyskania materiału o maksymalnej czystości, a następnie tłoczy się ją przez płaską szczelinę do wanny odlewniczej, gdzie prawie natychmiast płynna wiskoza ulega koagulacji zamieniając się w folię. Tak uzyskana folia może stanowić opakowanie tworzące dobrą barierę ochronną względem tlenu, jednak już niekoniecznie względem pary wodnej [31, 61]. Właściwość taką można jednak łatwo uzyskać po zastosowaniu odpowiednich lakierów powlekających, dlatego celofan znalazł szerokie zastosowanie jako opakowanie wykorzystywane do owijania produktów spożywczych. Z punktu widzenia zagospodarowania celofanu jako odpadu, może być on składowany wraz z innymi odpadami organicznymi [61-63].

3. Problem opakowań oksydegradowalnych

Tworzywa, z których wykonano opakowania oksydegradowalne, to konwencjonalne, niedegradowalne polimery, uzyskane z surowców petrochemicznych, takich jak polietylen (PE) czy polipropylen (PP) wzbogacone o pro-degradanty. Pro-degradanty/

dodatki prooksydacyjne to czynniki przyspieszające foto- i termoutlenianie oraz rozszczepianie łańcuchów na hydrofilowe niskocząsteczkowe fragmenty mające ulec biodegradacji [25, 62]. Zatem tworzywa te są niejako projektowane tak, aby ulec rozpadowi w określonym czasie, zdecydowanie szybszym niż tradycyjne opakowania z plastiku, pod wpływem wody, światłą, promieni UV oraz w obecności tlenu [40]. Wśród najczęściej spotykanych pro-degradantów są d2w (*degradable to water*) oraz TDPA (ang. *Totally Degradable Plastic Additives*). Szybkość rozkładu folii z dodatkiem np. TDPA zależy od jego ilości, jak również od grubości samej folii oraz warunków atmosferycznych. W dostępnej literaturze można przeczytać, że degradowane opakowanie zawierające 2% dodatku TPDA, utylizowane w warunkach naturalnych i poddane działaniu czynników atmosferycznych, rozpadnie się w czasie do 180 dni. Z kolei opakowanie tego samego rodzaju zakopana w gruncie, przez co izolowane częściowo od czynników atmosferycznych, będzie rozkładać się dłużej, nawet do 2 lat [23, 30, 62]. Liczne badania jednak nie potwierdzały tych przewidywań [5, 62].

Wokół stosowania opakowań oksydegradowalnych jako alternatywy wobec opakowań z „plastiku" narosło tak wiele kontrowersji, że w 2015 roku Parlament Europejski zobowiązał Komisję do przeprowadzenia samodzielnej oceny ich oddziaływania na środowisko. Owocem kilkuletniej pracy szerokiego grona ekspertów, instytucji międzynarodowych i państwowych, laboratoriów badawczych, stowarzyszeń branżowych producentów tworzyw sztucznych, czy wreszcie przedsiębiorstw recyklingu jest raport przedstawiony Parlamentowi Europejskiemu w styczniu 2018 roku [64]. W jego wnioskach można przeczytać m.in., że oksydegradowalne tworzywa sztuczne:

- nie nadają się do kompostowania, ponieważ kompost z ich dodatkiem nie mógłby pełnić funkcji użytecznych, co oznacza, że nie zapewniłby glebie odpowiednich składników odżywczych;
- nie nadają się do składowania, ponieważ na wysypiskach, w głębszych ich warstwach panują warunki beztlenowe, a rozpad opakowań oksydegradowalnych wymaga dostępu do tlenu (co gorsze, w takich warunkach jest wysoce prawdopodobne wydzielanie metanu jako produktu ubocznego ich rozkładu);
- nie rozpadają się wystarczająco szybko po dodaniu czynnika utleniającego (a przynajmniej brak jest na to dowodów), jakkolwiek czynnik ten faktycznie przyspiesza rozpad tradycyjnych tworzyw sztucznych;
- nie nadają się do recyklingu materiałowego, ponieważ wykazano, że ich obecność w systemie recyklingu tradycyjnych tworzyw może powodować powstawanie niskiej jakości recyklatu;
- przyczyniają się do zanieczyszczenia środowiska morskiego mikrodrobinami, wskutek czego stanowią poważne zagrożenie dla żyjących w nim zwierząt.

Wobec powyższego, opakowania z tworzyw oksybiodegradowlnych nie są rozwiązaniem sprzyjającym środowisku, nie nadają się do długotrwałego użytkowania, recyklingu ani kompostowania, dlatego ich wykorzystywanie ma być stopniowo ograniczane [64].

4. Metody testowania opakowań z biotworzyw

Wśród metod laboratoryjnych stosowanych w ocenie podatności opakowań z biotworzyw na biodegradację i/lub kompostowanie (przemysłowego i/lub przydomowe), zgodnie z przepisami obowiązującymi w Unii Europejskiej, należy wskazać testy ISO

14851, ISO 14852. ISO 14855-1, ISO 14855-2, ISO 17556 oraz testy umożliwiające ocenę dezintegracji materiału w środowisku: ISO 16929, ISO 20200 21. Krótką charakterystykę wymienionych metod przedstawiono w tabeli numer 1 i 2. Informacje w niej zawarte stanowią tłumaczenie z raportu: *Relevance of Biodegradable and Compostable Consumer Plastic Products and Pakkging in a Circular Economy*, który ukazał się w marcu 2020 roku [3].

Tabela 1. ISO testy na biodegradację tworzyw [3]

Numer normy	*Tytuł*	*Opis i kluczowe cechy*
ISO 14851	*Określenie całkowitej tlenowej biodegradowalności plastikowego materiału w środowisku wodnym – metoda mierzenia zapotrzebowania tlenu w zamkniętym respirometrze*	*Testowanie jest wykonywane w środowisku wodnym, biodegradacja jest mierzona poprzez zużycie tlenu; czas trwania – 2 miesiące*
ISO 14852	*Określenie całkowitej tlenowej biodegradowalności plastikowego materiału w środowisku wodnym; pomiar poprzez analizę odprowadzenia dwutlenku węgla*	*Testowanie jest wykonywane w środowisku wodnym; biodegradacja jest mierzona przez analizę odprowadzenia dwutlenku węgla; czas trwania – 2 miesiące*
ISO 14855-1	*Określenie całkowitej tlenowej biodegradowalności plastikowego materiału oraz rozpad plastikowego materiału w warunkach kontrolowanegokompostowania; pomiar poprzez analizę odprowadzenia dwutlenku węgla*	*Testowanie przy użyciu kompostowego inokulum; czas trwania – max. 6 miesięcy; biodegradacja mierzona poprzez konwersję węgla*
ISO 14855-2	*Jak powyżej (ISO 14855-1) – część 2; grawimetryczne/wagowe pomiary dwutlenku węgla przekształconego/ pozyskanego w testach laboratoryjnych (ISO 14855-2)*	*Tak jak dla ISO 14855-1, ale z innym sposobem mierzenia konwersji węgla*
ISO 17556	*Określenie całkowitej tlenowej biodegradowalności plastikowego materiału w glebie poprzez zmierzenie zapotrzebowania tlenu*	*Testowanie przy użyciu glebowego inokulum; czas trwania – max. 6 miesięcy, 20-28°C; biodegradacja mierzona zużyciem tlenu*

Tabela 2ISO testy na dezintegrację tworzyw [3]

Numer normy	*Tytuł*	*Opis i cechy kluczowe*
ISO 16929	*Określenie stopnia rozpadu plastiku w określonych warunkach kompostowania w pilotażowym teście określającym skalę rozpadu plastiku*	*Materiały testowane w 5 x 5 cm lub 10 x 10 cm kawałkach w kompostowaniu pilotażowym przy użyciu mieszanki bioodpadów; temp. może wzrosnąć do 65°C; czas trwania – 12 tyg.; próbka jest potem przesiewana przez sito 10 mm i 2 mm*

ISO 20200:2015	*Plastiki – określenie stopnia rozpadu materiałów plastikowych wsymulowanych warunkach kompostowania w teście laboratoryjnym*	*Jakościowa ocena rozpadu materii w ok. 58°C w czasie max. 90 dni, jeśli jest niewystarczające, wtedy należy kontynuować w temp. pokojowej przez kolejne max. 90 dni*

5. Wnioski

Opakowania z biotworzyw dostępne są na runku od blisko 30 lat, tymczasem pomimo tego, że wydają się być dobrą alternatywą dla tradycyjnych opakowań z syntetycznych tworzyw sztucznych ich udział w ogólnej produkcji wciąż jest niewielki, bo zaledwie 1% [38]. Rodzi się zatem pytanie, dlaczego tak jest, skoro problem zagospodarowania odpadów opakowaniowych z tworzyw sztucznych jest ogromny, a kompostowanie, jako najlepsza metoda unieszkodliwiania odpadów [66], polecane jest w likwidacji dużej grupy produktów z biotworzyw? Również wykorzystanie surowców odnawialnych w ich produkcji wydaje się być bardziej pożądane, aniżeli dalsze zużywanie kurczących się zasobów ropy naftowej.

W Rocznym Raporcie z 2018 rok Fundacji Plastics Europe Polska [3], wśród głównych przyczyn ich niskiej produkcji podaje się niezadowalające wskaźniki wytrzymałość mechanicznej i stosunkowo wysokie koszty produkcji wybranych materiałów biodegradowalnych w porównaniu z tradycyjnymi opakowaniami [3, 4, 8, 24]. Okazuje się bowiem, że wyprodukowanie np. PHB z transgenicznej kukurydzy pochłania 4 razy więcej energii niż wymaga tego wytworzenie tej samej ilość polietylenu z surowców petrochemicznych [66]. Nie bez znaczenie są tu również koszty samej uprawy roślin przeznaczanych do produkcji biotworzyw, do których należy wliczyć m.in. wydatki związane z koniecznością stosowania chemicznych środków ochrony roślin (nieobojętnych zresztą dla środowiska naturalnego), czy transport plonów na miejsce produkcji [37]. Z kolei wspomniane wyżej, słabe właściwości mechaniczne, przejawiające się dużą kruchością, czy niską odpornością na rozciąganie, mogą skutkować zwiększoną ilością zużywania opakowań z biotworzyw w porównaniu do wcześniej użytkowanych w tym samym celu tradycyjnych opakowań z tworzyw syntetycznych i co się z tym wiąże – zwiększoną ilością odpadów. Wreszcie fakt, że wykazują one małą barierę ochronną dla przenikania pary wodnej, tlenu czy dwutlenku węgla rodzi poważne wątpliwości co do możliwości wszechstronnego ich wykorzystania, szczególnie w celach ochrony produktów spożywczych.

Zgodnie z przyjętą przez Komisję Europejską, w styczniu 2018 roku strategią stosowania plastiku w obiegu zamkniętym (Strategy for Plastics in a Circular Economy), w produkcji opakowań powinno odejść się od produkcji w systemie liniowym (rozumianym jako: wyprodukuj, użyj i wyrzuć), na rzecz produkcji w systemie zamkniętym. W swoich założeniach system ten przewiduje odzyskiwanie zużytych opakowań do ponownego wykorzystania co ma oczywiście doprowadzić do minimalizowania odpadów opakowaniowych skierowanych do likwidacji, ale również pozwolić na pełne wykorzystanie zasobów, z których one powstały. W przypadku opakowań z biotworzyw, zamknięciem cyklu będzie odprowadzanie zużytych opakowań do kompostowania, a następnie wykorzystanie tego kompostu pod uprawy roślin. Tymczasem

faktyczna ocena stopnia ich biodegradacji w procesie kompostowania szacowana jest obecnie na podstawie testów laboratoryjnych i badań wykonywanych w warunkach kontrolowanego kompostowania (zgodnie z określonymi normami), natomiast brak jest ich potwierdzenia w badaniach prowadzonych w warunkach otwartego środowiska, czy przydomowego kompostownika. To może wzbudzać poważne wątpliwości co do ich bezpiecznego stosowania, ponieważ docelowo to przede wszystkim tam będą trafiać zużyte opakowania z biotworzyw, zaś wytworzony z ich udziałem kompost, posłuży jako nawóz pod uprawy własne, postrzegane niejednokrotnie jako zdrowsze niż te prowadzone na skalę przemysłową. Dlatego badania prowadzone w warunkach rzeczywistego składowania zużytych opakowań, uwzględniające jednocześnie sposób użytkowania wskazany przez producenta (np. worki na organiczne odpady domowe) wydają się konieczne. Oczywiście pojawia się niebezpieczeństwo nienaukowego ich charakteru, a przeniesienie wyników laboratoryjnych (w których kontrolowane są kluczowe parametry jak temperatura, wilgotność czy odpowiedni stosunek C:N i pH) na procesy zachodzące w zmiennych warunkach środowiska oraz prognozowanie na ich podstawie przebiegu i czasu degradacji, jest trudne, aczkolwiek nie niemożliwe [42]. Co więcej, eksperymenty potwierdzające degradację opakowań w środowisku naturalnym powinny trwać na tyle długo, aby możliwa była ocena wpływu produktów ich rozkładu na jakość roślin wzrastających na takim kompoście.

Niewłaściwe użytkowanie opakowań z biotworzyw, może również wynikać z błędnych informacji podawanych przez samych producentów, którzy zachęceni możliwością zdobycia dodatkowych korzyści finansowych umieszczą na nich, niezgodnie z prawdą symbolegraficzne (por. rys. 2 i 3). W efekcie szansa na właściwe unieszkodliwianie tych materiałów w drodze recyklingu materiałowego, kompostowania przemysłowego lub domowego zostanie zaprzepaszczona. Stąd też na producentach spoczywa ogromna odpowiedzialność, aby określenia „degradacja", „biodegradacja" czy „opakowanie biodegradowalne" lub „opakowanie kompostowalne" stosować zgodnie ze stanem faktycznym. Nie bez znaczenia jest również używanie tych samych symboli poświadczających uzyskanie odpowiedniego certyfikatu biodegradacji (rys. 4 i 5). To niewątpliwie pozwoli na uniknięcie chaosu informacyjnego wśród użytkowników, a przede wszystkim prawidłowe wydzielenie ich ze strumienia odpadów komunalnych wraz z innymi odpadami organicznymi powstającymi w gospodarstwach domowych i skierowanie do recyklingu organicznego bez konieczności dodatkowego oczyszczania z resztek zawartości.

Również po stronie branży opakowalniczej leży unikanie chaosu informacyjnego wynikającego z dynamiki ich rozwoju, za którym jednak nie nadąża przeciętny użytkownik. Doniesienia o nowych materiałach przyjaznych środowisku naturalnemu pojawiają się głównie w kręgach specjalistycznych, podczas gdy docelowi ich użytkownicy niewiele o tym wiedzą. Zatem, może słuszniejsze byłoby udoskonalanie metody zagospodarowania odpadów z tradycyjnych tworzyw, o których już wiemy, jakie stwarzają zagrożenia, aniżeli szukać nowych rozwiązań, które w perspektywie czasu mogą okazać się niewłaściwe, czego najlepszym przekładem są opakowania oksydegradowalne.

Rysunek 4. Znak VINCOTTE, potwierdzający zawartość w wyrobie surowców ze źródeł odnawialnych; liczba gwiazdek umieszczonych na tym znaku zależy od procentowej zawartości węgla pochodzącego ze źródeł odnawialnych [30]

Rysunek 5. Znaki dla wyrobów kompostowalnych: logo OK COMPOST przyznawane przez VINÇOTTE oraz logo dla wyrobów kompostowalnych w kompostownikach przydomowych [30]

Literatura

1. Stachurek I., *Problemy z biodegradacją tworzyw sztucznych w środowisku*, Zeszyty Naukowe Wyższej Szkoły Zarządzania Ochroną Pracy w Katowicach, Nr 1(8), 2012, s. 74-108.
2. Emblem A., Emblem H., *Technika opakowań*, PWN, Warszawa 2014, s. 341-378.
3. Raport Roczny 2018 https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKEwizwvjAxsfoAhU04aYKHXq0CasQFjAAegQIARAB&url=https%3A%2F%2Fwww.plasticseurope.org%2Fdownload_file%2Fforce%2F3131%2F521&usg=AOvVaw0KWUSK7rhkoDkkZ40kk7qx, data dostępu 1.10.2020.
4. Wróblewska-Krepsztul J., Michalska-Pożoga I., Rydzkowski T., Moroz P., *Biodegradacja polimerów, biopolimery w przemyśle spożywczym,* [w:] Klepka T. (red.), *Nowoczesne materiały polimerowe i ich przetwórstwo, część 3*, Lublin 2017, s. 16-37.
5. Adamcová D., Vaverková M., *Degradation of Biodegradable/Degradable Plastics in Municipal Solid-Waste Landfill*, Pol. J. Environ. Stud. Vol. 23, No. 4,2014, s. 1071-1078.

6. Cassone B.J., Cassone B.J., Grove H.C., Elebute O., Villanueva S.M.P., LeMoine C.M.R., *Role of the intestinal microbiome inlow-density polyethylene degradationby caterpillar larvae of the greater wax moth,Galleria mellonella,* https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0112 data dostępu 1.10.2020.
7. file:///D:/__Documents%20and%20settings/Downloads/Raport_roczny_PEP_2019.pdf data dostępu, 8.12.2020.
8. Emblem A., Emblem H., *Technika opakowań*, PWN, Warszawa 2014, s. 88-116.
9. Rosik-Dulewska Cz., *Podstawy gospodarki odpadami*, PWN, Warszawa 2006.
10. Kowalczuk M., Kurcok P., Kawalec M., Sobota M., Michalak M., Kwiecień M., *Materiały opakowaniowe nowej generacji z tworzywa polimerowego ulegającego recyklingowi organicznemu*, Chemik 68, 8, 2014, s. 679-691.
11. Tworzywa sztuczne w obiegu zamkniętym. Analiza sytuacji w Europie. PlasticsEurope 2019 https://www.plasticseurope.org/download_file/force/3512/521 dostęp 26.03.2020.
12. Malinowski M., Grzelec K., Gutwin M., *Analiza zanieczyszczeń w selektywnie gromadzonych odpadach tworzyw sztucznych-studium przypadku*, Infrastruktura i Ekologia Terenów Wiejskich, nr II/1, 2018, s. 465-478.
13. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej (https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018L0851&from=EN, data dostępu 1.10.2020.
14. https://sip.lex.pl/akty-prawne/dzienniki-UE/opakowania-i-odpady-opakowaniowe-67427559, data dostępu 1.10.2020.
15. https://www.spg-pack.com/pl/osiagniety-cel-rpet-material-w-100-pochodzacy-z-recyklingu/ data dostępu 1.10.2020.
16. https://www.nestle.pl/sites/g/files/pydnoa386/files/2020-05/wszystko-co-musisz-wiedziec-o-butelkach-PET.pdf data dostępu 1.10.2020.
17. https://lifestyle.newseria.pl/files/_uploaded/glownekonf_2112383124.jpg dostęp 26.03.2020.
18. Jędrczak A., *Biologiczne przetwarzanie odpadów*, PWN, Warszawa 2007, s. 7-24.
19. Mucha M., *Polimery a ekologia*, Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Łódź 2002.
20. Boruczkowska H., *Wpływ metody wytwarzania na właściwości tworzywa sporządzonego ze skrobi i polimerów syntetycznych*, Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 2002, z 489, s. 423-432.
21. Markowicz F., *Badanie wpływu tworzyw oxobio- i biodegradowalnych na środowisko,* Inżynieria Ekologiczna/Ecological Engineering, Vol. 19 (6), 2018, s. 172-181.
22. Ustawa o Odpadach, 14. 12, 2012, Art. 18, Ust 2.
23. Chmielnicki B., *Zmiany wybranych właściwości mieszanin PE HD z recyklatami degradowanymi po ich kompostowaniu*, Przetwórstwo Tworzyw 3, 2014, s. 207-215.
24. Wróbel G., Chmielnicki B., Bortel K., *Zmiany wybranych właściwości mieszanin LD PE z recyklatami degradowanymi po ich kompostowaniu,* Przetwórstow Tworzyw 1, 2015, s. 65-75.
25. Malinowski R., *Biotworzywa jako nowe materiały przyjazne środowisku naturalnemu*, Inżynieria i Ochrona Środowiska, t. 18, nr 2,2015, s. 215-231.
26. Żakowska H., Ganczewski G., *Tworzywa sztuczne w opakowaniach,*
27. *stan obecny i trendy rozwojowe*, prezentacja z ramach konferencji VII Międzynarodowej Konferencji Naukowo-Techniczna: Przyszłość opakowań z tworzyw polimerowych. http://www.cobro.org.pl/images/__doc__/konferencje_i_seminaria/2019/przyszlosc_opakowan_06_2019/01_HZakowska_GGanczewski.pdf data dostępu 1.10.2020.
28. Kaczmarek H., Bajer K., *Metody badania biodegradacji materiałów polimerowych,* Polimery, 51, nr 10, 2006, s. 716-721.
29. https://www.chemiaibiznes.com.pl/aktualnosc/zielony-polietylen-firmy-braskem-historia-rok-po-roku data dostępu 1.10.2020.

30. Wolański A., *Biopolimery na K 2019*, https://imch.pl/digital/19hu7a41cpv8xz3/plastime-2019-03.pdf data dostępu 1.10.2020.
31. Kržan A., Koordynator Projektu PLASTiCE, *Biotworzywa szansa przyszłości,* http://www.plastice.org/fileadmin/files/Advisory_scheme_PL_web.pdf data dostępu 1.10.2020.
32. Assman K., *Opakowania z natury*, Przegląd Komunalny, Ekoinnowacje w opakowaniach, 2015, s. 20-22.
33. https://bioplasticsnews.com/2019/05/03/technology-profile-polyethylene-furanoate-production-pef/ data dostępu 1.10.2020.
34. https://omnexus.specialchem.com/selection-guide/polyethylene-furanoate-pef-bioplastic data dostępu 1.10.2020.
35. Assman K., *Polimery biodegradowalne – przykłady zastosowań*, [w:] Klepka T. (red), *Nowoczesne materiały polimerowe i ich przetwórstwo. Część 3*, Politechnika Lubelska, Lublin, 2017, s. 51-71.
36. Topolinski B., *System certyfikacji biotworzyw – propozycje polskie*, Świat Biotworzyw 1, 2016, s. 16-19.
37. Relevance of Biodegradable and compostable Consumer Plastic Products and Packaging in a Circular Economy; For the Europen Commissing DG Environment. Project conducted und Framework Contract No ENV.B.3/FRA/2017/005; March 2020.
38. https://ec.europa.eu/environment/waste/compost/presentations/dewilde.pdf data dostępu 1.10.2020.
39. Emblem A., Emblem H., *Technika opakowań*, PWN, Warszawa 2014, s. 399-404.
40. Kurcok P., Kawalec M., Sobota M., Michalak M., Kwiecień M., Jurczyk S., *Polihydroksyalkaniany – zastosowanie i recykling*, Polimery, 62, nr 5,2017, s. 364-370.
41. Sprawozdanie komisji dla parlamentu europejskiego i rady, W sprawie wpływu stosowania oksydegradowalnych tworzyw sztucznych, w tym oksydegradowalnych plastikowych toreb na zakupy, na środowisko naturalne, Bruksela 16.01.2018, https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/PDF/?uri=CELEX:52018DC0035&from=EN data dostępu 1.10.2020.
42. Tokiwa Y., Calabia B.P., Ugwu C.U., Aiba S., *Biodegradability of plastics.* Int J Mol Sci 10, 2009, s. 3722-3742.
43. Bajer K., Kaczmarek H., *Metody badania biodegradacji materiałów polimerowych*, Polimery, 52, nr 1, 2007, s. 13-18.
44. Pasieczna-Patkowska S., Lesiuk A*., Ocena rozkładu handlowego opakowań polietylenowych w glebie metodą FT-IR/PAS*, Chemik nr 10 tom 67, 2013, s. 863-867.
45. Deconinck S., De Wilde B., *Benefits and challenges of bio- and oxo-degradable plastics*, 2013, PlasticEurope AISBL.
46. Babu RP, O'Connor K, Seeram R., *Current progress on bio-based polymers and their future trends*, Prog Biomater. 2013, Mar 18;2(1):8. doi: 10.1186/2194-0517-2-8. PMID: 29470779, PMCID: PMC5151099.
47. Maślanka S., Kos A, Bańczyk M., Czopek I, Adam Ł., *Badanie stężenia kwasu mlekowego, otrzymanego w procesie fermentacji mlekowej laktozy, zawartej w serwatce poprodukcyjnej przy udziale Lactobacillus* Chemik, 69,42015, s. 241-251.
48. Nowak B., Pająk J., *Biodegradacja polilaktydu PLA*, Archiwum Gospodarki Odpadami i Ochrony Środowiska, Vol. 12 nr 2 2010, s. 1-10.
49. Satti S.M., and Shah A.A., *Polyester – based biodegradable plastics: an approachtowards sustainable development*, Letters in Applied Microbiology, Vol 70, Issue 6, 2020, s. 413-430.
50. Nowak B., Pająk J., Płociniczak T., Łabużek S*., Enzymy uczestniczące w biodegradacji polimerów*, 2008, Biotechnologia, Nr 1 2008, s. 45-52.

51. Prachayawarakorn J., *Properities of thermoplastic rice starch composites reinforeced by cotto fiber or low-density poleyethylen, Carbohydrate* Polymers, Tom 81, 2010, s. 425-433.
52. https://www.products.pcc.eu/pl/blog/biotworzywa-przyszlosc-przemyslu-tworzyw-sztucznych/ data dostępu 1.10.2020.
53. Pietraszek P., Dybka K., Walczak P., Otlewska A., Rygała E., Ołtuszak-Walczak A., *Mikrobiologiczna produkcja kwasu mlekowego z surowców odnawialnych*, Polish Journalof Agronomy, 16, 2014, s. 45-56.
54. Emblem A, Emblem H., *Technika opakowań*, PWN, Warszawa 2014, s. 399-404.
55. Gibas E., *Problemy w recyklingu biotworzyw*, 2019, https://www.plastech.pl/wiadomosci/Problemy-w-recyklingu-biotworzyw-13397 data dostępu 1.10.2020.
56. Mizielińska M., Łopusiewicz Ł., Soból M., *Polihydroksyalkanolany – obiecujące polimery biodegradowalne*, Kosmos Tom 67, Nr 2, 2018, s. 299-306.
57. Muszyński A., Łebkowska M., Kaczmarska J., Walętrzak G., *Badania czynników ograniczających pozyskiwanie polihydroksykwasów z osadu czynnego*, Ochrona Środowiska 35, 2013, s. 19-23.
58. Luengo J.M., García B., Sandoval A., Naharro G., Olivera E.R., *Bioplastics from microorganisms*, Curr. Opin. Microbiol. 6, 2003, s. 251-260.
59. Kunasundari B., Sudesh K., *Isolation and recovery of microbial polyhydroxyalkanoates*, EXPRESS Polym. Lett. 5, 2011, s. 620-634.
60. Kaur L., Khajuria R., Parihar L., Dimpal Singh G., *Polyhydroxyalkanoates: biosynthesis to commercial production – a review*, JMBFS 6, 2017, s. 1098-1106.
61. Padovani G., Carlozzi P., Seggiani M., Cinelli P., Vitolo S., Lazzeri A., *PHB-rich biomass and BioH2 by means of photosynthetic microorganisms*. CET 49, 2016, s. 55-60.
62. Kornacki A., *Alternatywa dla plastiku*, Przegląd Komunalny, Ekoinnowacje w opakowaniach, 2015, s. 14-16.
63. http://www.plastice.org/fileadmin/files/Presentation_21_Kompostowalne_folie_celulozowe_NatureFlex_prezentacja.pdf data dostępu 1.10.2020.
64. Markowicz F., *Badanie wpływu tworzyw oxobio- i biodegradowalnych na środowisko,* Inżynieria Ekologiczna/Ecological Engineering, Vol. 19 (6), 2018, s. 172-181
65. Kornacki A., *Przyszłość (z) celofanu*, Plastime Magazine nr 1, 2019, s. 34-39.
66. Sprawozdanie komisji dla parlamentu europejskiego i rady, W sprawie wpływu stosowania oksydegradowalnych tworzyw sztucznych, w tym oksydegradowalnych plastikowych toreb na zakupy, na środowisko naturalne, Bruksela 16.01.2018, https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/PDF/?uri=CELEX:52018DC0035&from=EN data dostępu 1.10.2020.
67. Roohi, Kulsoom Bano, Mohammed Kuddus, Mohammed R. Zaheer, Qamar Zia, Mohammed F. Khan, Ghulam Md. Ashraf, Anamika Gupta and Gjumrakch Aliev, *Microbial Enzymatic Degradation of Biodegradable Plastics*, Current Pharmaceutical Biotechnology, Volume 18, Number 5, 2017, s. 427-440.
68. Bortel K. *Materiały polimerowe w opakowaniach i ich zagospodarowanie*, Opakowanie nr 6, 2009, s. 40-45.

Opakowania z biotworzyw – przyszłość? Czy w przyszłości nowy problem środowiskowy?

Streszczenie
Problem odpadów opakowaniowych z tworzyw sztucznych wciąż wymaga poszukiwania skutecznych rozwiązań. W artykule przedstawiono wytyczne Komisji Europejskie z marca 2019 roku w zakresie działań ograniczających składowanie zużytych opakowań na wysypiskach śmieci. Najwięcej uwagi poświęcono biotworzywom, stosowanym w produkcji opakowań, które – zgodnie z zapewnieniami ich producentów – mogą być składowane z odpadami organicznymi i ulegać wraz z nimi procesom biodegradacji lub kompostowania. Dzięki temu ich stosowanie mogłaby istotnie wpłynąć na zmniejszenie ilości odpadów opakowaniowych odprowadzanych na składowiska śmieci, jak również przyczynić się do nie zalegania ich w środowisku naturalnym tak długo, jak odpadów opakowaniowych z tworzyw sztucznych.
W niniejszej pracy zaproponowano podział biotworzyw uwzględniając surowce stosowane do ich produkcji oraz podatność na biodegradację w warunkach kompostowania przemysłowego i przydomowego. Przypomniano wymogi normy EN 13432 i NF T 51-800 i w oparciu o raportu Parlamentu Europejskiego z 2018 roku uzasadniono, że stosowanie opakowań oksydegradowalnych nie jest rozwiązaniem sprzyjającym środowisku naturalnemu. We wnioskach spróbowano uzasadnić, dlaczego udział biotworzyw w ogólnej produkcji opakowań jest wciąż niewielki oraz poddano pod dyskusje laboratoryjną ocenę podatności biotworzyw na biodegradację.
Treść streszczenia powinna odpowiadać na pytania: jakie są przesłanki opracowania, jak osiągnięto opisywane cele, oraz zarysowywać tematykę poruszoną w rozdziale. Należy opisać zakres tematyczny opracowania, wymienić główne metody użyte w opracowaniu, wyjaśnić co wynika z przeprowadzonej analizy, dyskusji oraz uzyskanych wyników, podać główne wnioski oraz ewentualne założenia badawcze do dalszych prac lub zastosowania praktyczne.
Słowa kluczowe: biotworzywa, kompostowanie przemysłowe i domowe

Bioplastics packaging – the future? Will there be a new environmental problem in the future?

Abstract
The problem of plastic packaging waste still requires searching for effective solutions. The article presents the guidelines of the European Commission of March 2019 in the field of activities limiting the storage of used packaging in landfills. The most attention was paid to bioplastics used in the production of packaging, which – according to the assurances of their manufacturers – can be stored with organic waste and undergo biodegradation or composting processes with them. Thanks to this, their use could significantly reduce the amount of packaging waste disposed of in landfills, as well as contribute to not remaining in the natural environment as long as plastic packaging waste.
This paper proposes a division of bioplastics taking into account the raw materials used in their production and biodegradability in industrial and home composting conditions. The requirements of the EN 13432 and NF T 51-800 standards were recalled and, based on the report of the European Parliament from 2018, it was justified that the use of oxo-degradable packaging is not a solution favorable to the natural environment. The conclusions are an attempt to justify why the share of bioplastics in the overall production of packaging is still low, and the laboratory assessment of biodegradability of bioplastics was discussed.
Keywords: bioplastics, industrial and domestic composting

Alicja Gruchała[1]

Fotochemiczne otrzymywanie powłok polimerowych opartych na monoterpenach, jako monomerach pochodzenia naturalnego

1. Wprowadzenie

W dzisiejszych czasach coraz większe znaczenie odgrywa koncepcja zrównoważonego rozwoju. Jest ona respektowana i wdrażana przez międzynarodowe koncerny. Opiera się ona na idei takiego rozwoju, który zapewnia zaspokojenie potrzeb obecnego pokolenia bez ograniczania szans rozwojowych kolejnych pokoleń [1]. Koncepcja ta łączy trzy podstawowe obszary: społeczeństwo, środowisko oraz gospodarkę, a założony program obejmuje siedemnaście celów, które odnoszą się między innymi do życia ludzi, biznesu, klimatu oraz przemysłu, który wywiera ogromny wpływ na powiązane z nim obszary. Z przemysłowego punktu widzenia należy skupić się na technologiach, które umożliwiają efektywną produkcję przy jednoczesnym poszanowaniu środowiska naturalnego. Z tego powodu uwaga naukowców oraz przedsiębiorców skierowana jest na innowacyjne rozwiązania zwiększające możliwości produkcyjne przy względzie na odpowiedzialne korzystanie z surowców naturalnych, efektywne zużycie energii, a także ograniczenie ilości szkodliwych produktów ubocznych oraz odpadów. Jest to konieczne, aby zapewnić takie funkcjonowanie zakładów produkcyjnych, które będzie przyjazne środowisku, zwłaszcza jeśli chodzi o czystość wód, brak zanieczyszczeń powietrza oraz gleby, brak negatywnego wpływu na zmiany klimatyczne, ale także na życie i zdrowie ludzi.

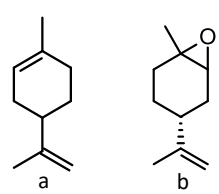
2. Wstęp

Odkąd w 1832 roku pierwszy raz użyto terminu „polimer" produkcja tworzyw polimerowych, w tym powłok polimerowych nieustannie wzrasta. Z danych rynkowych wynika, że w 2018 roku na świecie wyprodukowano 359 mln ton tworzyw sztucznych. Według raportów głównymi obszarami zastosowań tych tworzyw są produkcja opakowań, budownictwo oraz przemysł motoryzacyjny [2]. Polimery są także szeroko wykorzystywane przy produkcji żywności, materiałów tekstylnych, a także w medycynie [3]. Powoduje to konieczność zwrócenia uwagi na jak najbardziej przyjazny środowisku przebieg produkcji, a także długość cyklu życia wyrobów powstałych z tworzyw sztucznych. Jednym z proekologicznych wariantów może być użycie surowców pochodzenia naturalnego, których pozyskiwanie nie prowadzi do powstania toksycznych produktów ubocznych, ponieważ często można je prowadzić za pomocą metod naturalnych, takich jak destylacja. Dodatkowo polimery powstałe z naturalnych monomerów są biodegradowalne. Kwestie te dają im przewagę nad monomerami będącymi produktami przemysłu petrochemicznego.

[1] alicja_alis@wp.pl, Laboratorium Fotochemii i Spektroskopii Optycznej, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki.

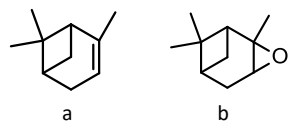
Naturalne zasoby monomerów dają szerokie oraz różnorodne możliwości zastosowania. Występują w wielu roślinach powszechnie rosnących na całym świecie i są coraz częściej brane pod uwagę przy produkcji biopolimerów. Pierwszą dużą grupą są rośliny bogate w cukry, takie jak trzcina cukrowa, pszenica czy burak cukrowy. Prekursorami monomerów są zawarte w nich związki pochodzące od polisacharydów. Z glukozy oraz fruktozy w wyniku syntezy mikrobiologicznej powstaje poli(hydroksy alkanian) (PHA), który jest stosowany do produkcji opakowań. Z sacharozy otrzymywany jest polilaktyd (PLA), poli(bursztynian butylenu) (PBS), a także poli(furanian etylenu) (PEF), które również znajdują zastosowanie w produkcji opakowań, a także kubeczków jednorazowych. Włókna celulozowe służą do wzmacniania kompozycji stosowanych w hydrożelach oraz giętkich częściach elektronicznych. Kolejną grupą wykorzystywaną przy produkcji tworzyw sztucznych są oleje roślinne zawierające trójglicerydy. Należą do nich olej sojowy, palmowy, słonecznikowy oraz rycynowy. Monomerami są w ich przypadku struktury trójglicerydów, a także epoksydowanych trójglicerydów, kwas oleinowy i kwas rycynolowy. Służą one do produkcji długołańcuchowych poliestrów, nylonu, elastomerów oraz żywic epoksydowych [4]. Innym przykładem monomerów pochodzenia naturalnego są monoterpeny, wchodzące w skład większej grupy zwanej terpenami. Są to wtórne metabolity roślin [5]. Występują one w wielu roślinach, takich jak sosna, tulipan, mięta, a także skórkach owoców cytrusowych [4]. Są one powszechnie stosowane w farmacji, gdzie wykazują aktywność przeciwwirusową przeciwnowotworową, przeciwbakteryjną, a także przeciwzapalną. Służą również jako surowce w kosmetyce, przemyśle perfumeryjnym, spożywczym, ale także przy syntezie biopolimerów, dzięki obecności wiązań podwójnych w ich strukturze [5]. Otrzymuje się z nich żywice oraz elastomery.

Spośród wyżej wymienionych monomerów pochodzenia naturalnego duży potencjał ma limonen wchodzący w skład grupy monoterpenów, ponieważ jest powszechnie dostępny oraz tani, co jest pozytywnym aspektem z ekonomicznego punktu widzenia prowadzenia produkcji tworzyw polimerowych. Limonen (rys. 1a) jest otrzymywany ze skórek owoców cytrusowych metodami naturalnymi (procesy destylacyjne) lub syntetycznymi (np. piroliza), jednak te drugie generują duże ilości produktów ubocznych oraz są szkodliwe dla środowiska. Występuje on w przyrodzie w postaci izomerów, często tworzących mieszaninę racemiczną, ponieważ w jego strukturze znajduje się centrum chiralne [6]. Wśród wielu pochodnych limonenu, takich jak: gamma-terpinen, p-cymen, terpinolen, terpinen, karweol, alkohol perillowy, izopiperitenol duże znaczenie ma tlenek limonenu (rys. 1b). Powstaje on w wyniku epoksydacji limonenu, która najczęściej jest prowadzona na katalizatorach (Ti-MCM-41, Ti-SBA-15 lub katalizator Jacobsena) oraz sitach molekularnych. Tlenek limonenu może być surowcem w przemyśle tworzyw sztucznych [6].



Rysunek 1. Wzór strukturalny limonenu (a) oraz tlenku limonenu (b) [opracowanie własne]

Kolejnym monoterpenem powszechnie występującym w przyrodzie jest α-pinen (rys. 2a) pozyskiwany z pulpy celulozowej drzew iglastych, głównie sosny. α-pinen posiada dwa enancjomery występujące w roślinnych olejkach eterycznych. Wyróżnia się wiele pochodnych tego związku – chlorek β-laktam-N-sulfonylu, pinol, aldehyd kamfolowy, p-cymen i inne. Z przemysłowego punktu widzenia cenną pochodną jest tlenek α-pinenu (rys. 2b) otrzymywany w wyniku epoksydacji α-pinenu na katalizatorach – między innymi na powietrznym katalizatorze z nanotlenku tytanu [7], a także w wyniki fotooksydacji na nanokatalizatorze heterostrukturalnego tleneku CeO_2 − M (gdzie M to Co, Cu, Mn, Fe lub Ni) [8].



Rysunek 2. Wzór strukturalny α-pinenu (a) oraz tlenku α-pinenu (b) [opracowanie własne]

Monomery pochodzenia naturalnego można wykorzystać do produkcji powłok polimerowych. Innowacyjną metodą stosowaną w tym celu jest fotopolimeryzacja, czyli polimeryzacja inicjowana światłem. Jest ona reakcją szybką, a co więcej przyjazną środowisku z powodu braku konieczności stosowania dodatkowych środków chemicznych utwardzających kompozycję i rozpuszczalników, a także dzięki małemu zużyciu energii, ponieważ proces można prowadzić w temperaturze otoczenia. Dwa podstawowe mechanizmy tego typu reakcji to fotopolimeryzacja rodnikowa oraz fotopolimeryzacja kationowa. Cząstki reaktywne potrzebne do zainicjowania reakcji są generowane z fotoinicjatorów w wyniku naświetlania światłem ultrafioletowym lub widzialnym. Fotoinicjatorami mogą być związki posiadające grupy chromoforowe, które absorbują promieniowanie. Każdą reakcję polimeryzacji, w tym fotopolimeryzacji wyróżniają trzy etapy: etap inicjacji, wzrost łańcucha oraz etap terminacji, czyli zakończenia reakcji. Charakterystyczną cechą fotopolimeryzacji jest to, że reakcja kończy się z momentem przerwania naświetlania, z wyjątkiem tzw. polimeryzacji żyjącej, która może trwać, nawet po zakończeniu naświetlania. Obecnie fotopolimeryzacja rodnikowa jest szerzej stosowana, jednak ma pewną wadę – powinna być prowadzona w warunkach beztlenowych, ponieważ tlen oddziałuje z centrami jonowymi hamując reakcję (inhibicja tlenowa). Alternatywą dla niej może być coraz częściej stosowana fotopolimeryzacja typu tiol-en, polegająca na reakcji alkenów z tiolami, która nie posiada tej wady. Natomiast fotopolimeryzacja kationowa rozwija się znacznie wolniej z powodu mniejszego wyboru dostępnych inicjatorów oraz monomerów [9].

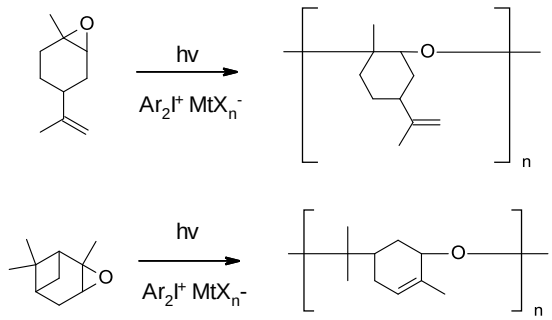
Badanie przebiegu fotopolimeryzacji ma na celu sprawdzenie, z jaką efektywnością dana reakcja zachodzi oraz jak przebiega w celu ustalenia zadowalających parametrów procesowych, takich jak czas prowadzenia procesu, natężenie światła, czy skład badanej kompozycji. Pozwala to na otrzymanie zadowalającego stopnia przereagowania oraz danych właściwości produktu. W dalszym etapie produkcji monitorowanie procesu jest konieczne do bieżącej kontroli jakości powstających materiałów. Metody badania przebiegu reakcji możemy podzielić na dwie grupy. Pierwszą z nich są metody

nieciągłe, które polegają na okresowych pomiarach zmiennych charakteryzujących przebieg reakcji. Znacznie lepszy obraz zmian zachodzących podczas procesu dają metody ciągłe, umożliwiające monitorowanie kompozycji w czasie rzeczywistym.

Jedną z najbardziej popularnych metod nieciągłych jest spektroskopia w podczerwieni, która polega na monitorowaniu stopnia przereagowania grup funkcyjnych pochodzących od monomeru za pomocą zależności absorbancji w czasie. Kolejną metodą jest grawimetria, uważana za jedną z najprostszych metod wyznaczania konwersji, polega ona na pomiarze ilości powstałego, nierozpuszczalnego polimeru za pomocą ekstrakcji, jednak pozwala ona jedynie na wyznaczenie wydajności powstałego produktu od czasu. Zmiany w próbce można wyznaczać również za pomocą dynamicznych właściwości mechanicznych (np. tłumienia) w czasie, jak w przypadku dynamicznej analizy mechanicznej (DMA), co daje jakościowe wyniki [9].

Metody ciągłe polegają na obserwacji w czasie rzeczywistym różnych parametrów charakteryzujących proces fotopolimeryzacji, np. radiometria w podczerwieni polega na pomiarze temperatury powłoki utwardzanej i obserwacji piku termicznego, powstałego w wyniku egzotermicznego charakteru reakcji. Dostarcza ona jakościowych danych na temat okresu indukcji oraz reaktywności kompozycji. Innym przykładem jest dylatometria polegająca na pomiarze skurczu kompozycji wynikającego ze zmniejszania się dystansu między cząstkami po wejściu do łańcucha polimerowego w czasie reakcji, która pozwala wyznaczyć stopień przereagowania. Parametrem podlegającym monitorowaniu może być również współczynnik załamania światła, który zmienia się w następstwie skurczu polimeryzacyjnego. Metoda stosowana w tym celu to interferometria laserowa. Szeroko stosowaną metodą jest fotokalorymetria (foto-DSC), polegająca na pomiarze ciepła wydzielającego się podczas reakcji. Łączy ona bezpośrednio parametr, jakim jest szybkość generowania ciepła do szybkości fotopolimeryzacji oraz przereagowania grup funkcyjnych. Kolejną często stosowaną ciągłą metodą jest spektroskopia w poczerwieni w czasie rzeczywistym oraz spektroskopia w podczerwieni w czasie rzeczywistym z transformatą Fouriera (Real time FT-IR), która polega na pomiarze widm absorpcyjnych, tak samo jak w przypadku spektroskopii w podczerwieni, dzięki czemu otrzymuje się krzywą zależności konwersji od czasu [9]. Innowacyjną techniką stosowaną w celu badania przebiegu reakcji jest spektroskopia fluorescencyjna, polegająca na pomiarze charakterystyki fluorescencyjnej sondy molekularnej dodawanej do kompozycji, która zmienia się w zależności od zmian mikrośrodowiska, w którym się znajduje (przy fotopolimeryzacji obserwujemy zmiany lepkości oraz polarności). Pozwala ona określić kinetykę zachodzącej reakcji [10].

Celem badań było zastosowanie tlenku limonenu oraz tlenku α-pinenu, jako monomerów pochodzenia naturalnego, w celu wytworzenia powłok polimerowych na drodze fotopolimeryzacji kationowej (rys. 3) oraz foto-kopolimeryzacji kationowej z monomerem pochodzenia petrochemicznego CADE realizowanej w zakresie światła UV-Vis.

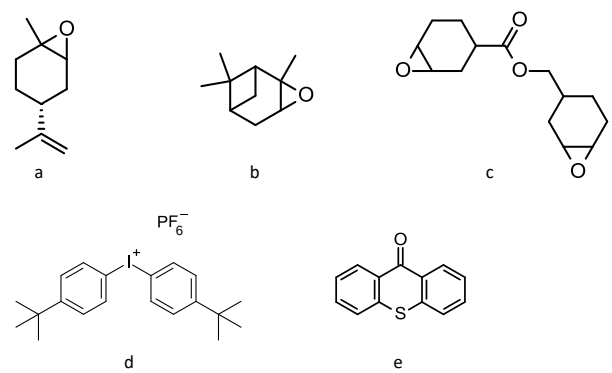


Rysunek 3. Mechanizm reakcji fotopolimeryzacji tlenku limonenu oraz tlenku α-pinenu [opracowanie własne]

3. Metodyka

Składnikami badanych kompozycji fotoutwardzalnych był tlenek limonenu, mieszanina cis i trans firmy Sigma-Aldrich, tlenek α-pinenu firmy Sigma-Aldrich, monomer epoksydowy CADE (3,4-epoksycykloheksylometylo-3',4'epoksycyklo heksanokarboksylan) firmy Lambson, Speedcure 938 (heksafluorofosforan bis-(4-t-butylofenylo) jodoniowy) firmy Lambson w roli fotoinicjatora kationowego oraz tioksanton firmy Sigma Aldrich jako fotosensybilizator (rys. 4). Kompozycje składały się odpowiednio z:

1) tlenku limonenu, fotoinicjatora (1% w/w) oraz fotosensybilizatora (0,25% w/w) – fotopolimeryzacja kationowa.
2) tlenku α-pinenu, fotoinicjatora (1% w/w) oraz fotosensybilizatora (0,25% w/w) – fotopolimeryzacja kationowa.
3) tlenku limonenu oraz monomeru CADE w proporcji 1:1, fotoinicjatora (1% w/w) oraz fotosensybilizatora (0,25% w/w) – foto-kopolimeryzacja kationowa.
4) tlenku α-pinenu oraz monomeru CADE w proporcji 1:1, fotoinicjatora (1% w/w) oraz fotosensybilizatora (0,25% w/w) – foto-kopolimeryzacja kationowa.



Rysunek 4. Wzory stosowanych reagentów: tlenek limonenu (a), tlenek α-pinenu (b), monomer CADE (c), Speedcure938 (d), Tioksanton (e) [opracowanie własne]

Kompozycje naświetlano diodą UV-LED o długości fali 365nm, zastosowano natężenie prądu 700mA. Do monitorowania przebiegu reakcji zastosowano spektroskopię w podczerwieni z transformatą Fouriera (FT-IR) przy pomocy spektrometru Nicolet firmy Thermo Scientific. Badane kompozycje nakładano w postaci powłok na pastylkę wykonaną z fluorku baru. Na podstawie równania (1) obliczono konwersje (rys. 8-9) dla grup epoksydowych pochodzących od monomerów.

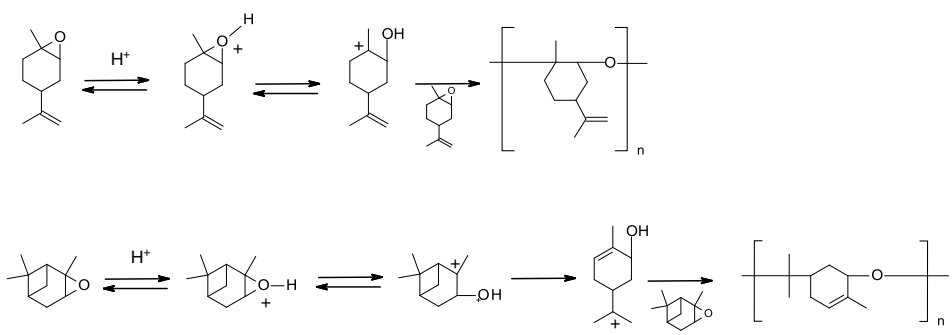
$$K = (1\text{-}A/A_0) * 100\% \quad (1)$$

Gdzie poprzez A oznaczona jest powierzchnia piku w danym czasie t, a symbolem A_0 powierzchnia piku na początku reakcji, w czasie t = 0.

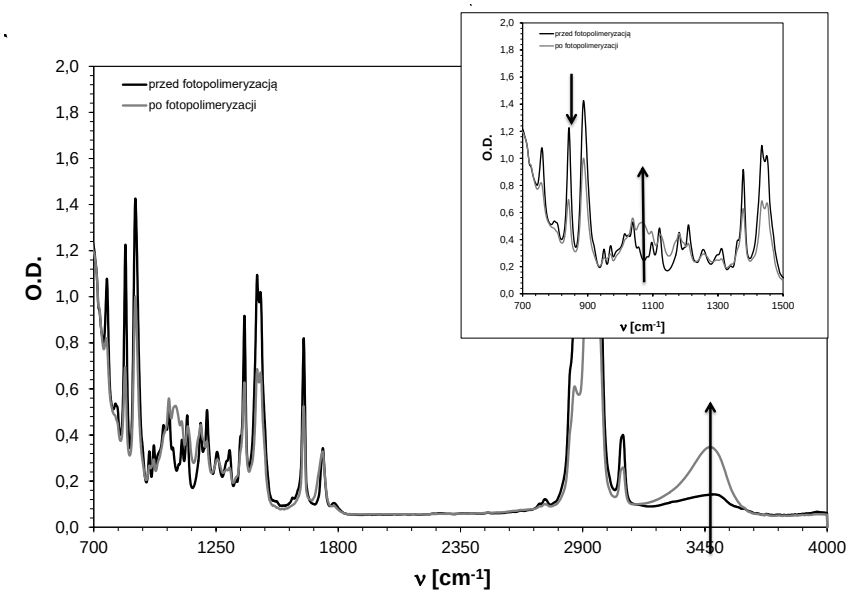
4. Wyniki

Podczas fotopolimeryzacji monitorowano zanik pasm związanych z otwarciem pierścienia oksiranowego powyższych monomerów, a także charakterystyczne zmiany zachodzące w widmie, które świadczą o przebiegu reakcji.

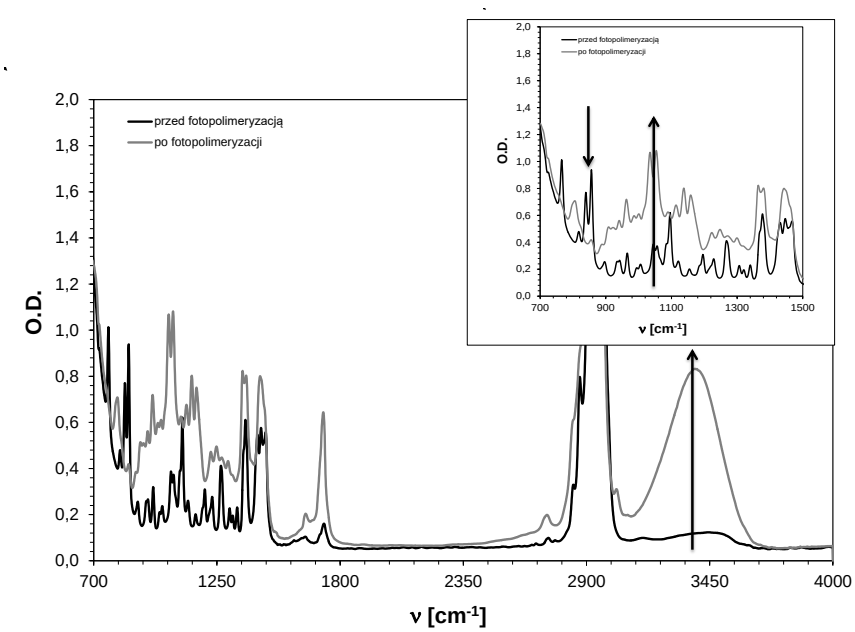
Analizując widma przed oraz po procesach fotopolimeryzacji kationowej i fotokopolimeryzacji można z pewnością stwierdzić zajście reakcji fotopolimeryzacji badanych monomerów. We wszystkich badanych widmach (rys. 6-9) zaobserwowano wzrost pasm pochodzącego od grupy hydroksylowej przy liczbie falowej ok. 3500 cm^{-1}, świadczy to o przebiegu procesu fotopolimeryzacji, ponieważ grupa ta pojawia się w jednym z produktów przejściowych reakcji otwarcia pierścienia epoksydowego (rys. 5). Świadczy o tym również charakterystyczne pasmo pojawiające się przy liczbie falowej 1080 cm^{-1} pochodzący od wiązań polieterowych powstałych w polimerze. Jednocześnie w zakresie daktyloskopowym obserwujemy zanik pasm pochodzących od grup epoksydowych monomerów; dla tlenku limonenu ok. 842 cm^{-1}, dla tlenku α-pinenu ok. 840 cm^{-1} oraz dla monomeru CADE ok. 790 cm^{-1}.



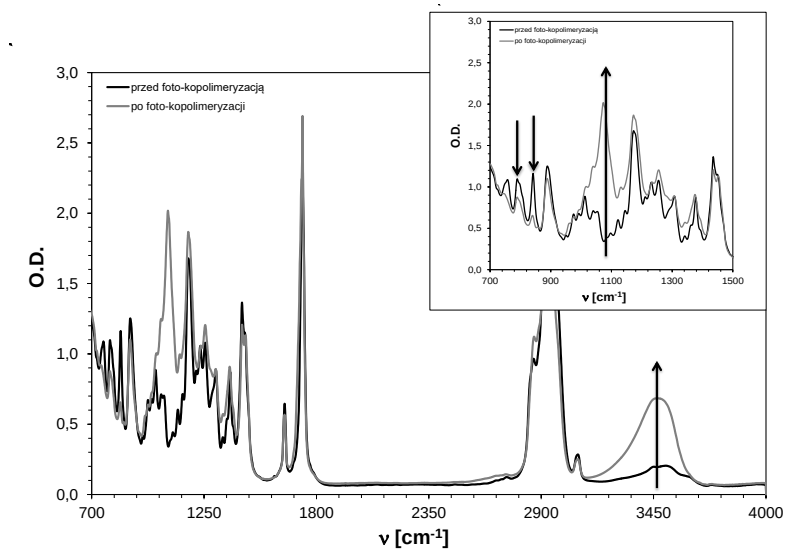
Rysunek 5. Mechanizm reakcji fotopolimeryzacji tlenku limonenu oraz tlenku α-pinenu – powstawanie produktu przejściowego zawierającego grupę hydroksylową [opracowanie własne]



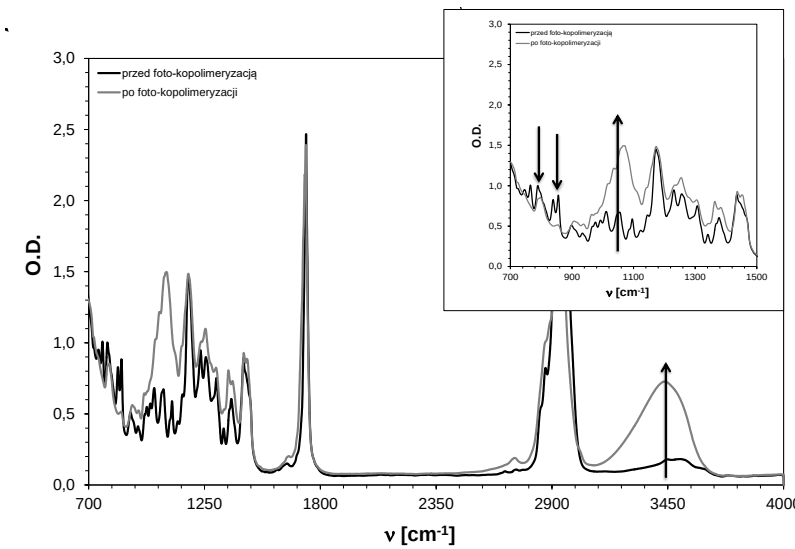
Rysunek 6. Widmo przed i po fotopolimeryzacji kompozycji 1 [opracowanie własne]



Rysunek 7. Widmo przed i po fotopolimeryzacji kompozycji 2 [opracowanie własne]



Rysunek 8. Widmo przed i po foto-kopolimeryzacji kompozycji 3 [opracowanie własne]

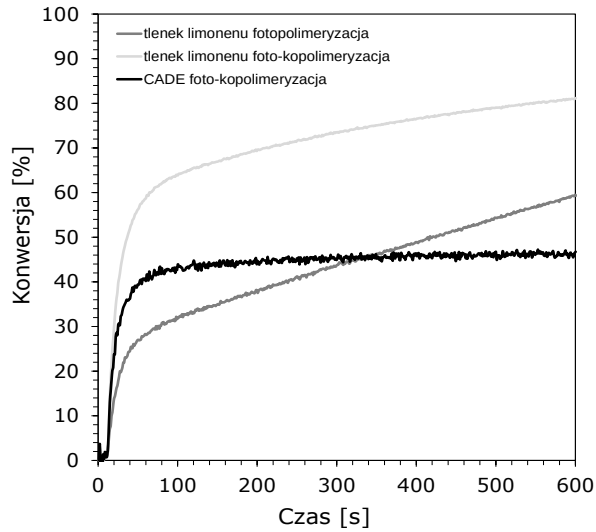


Rysunek 9. Widmo przed i po foto-kopolimeryzacji kompozycji 4 [opracowanie własne]

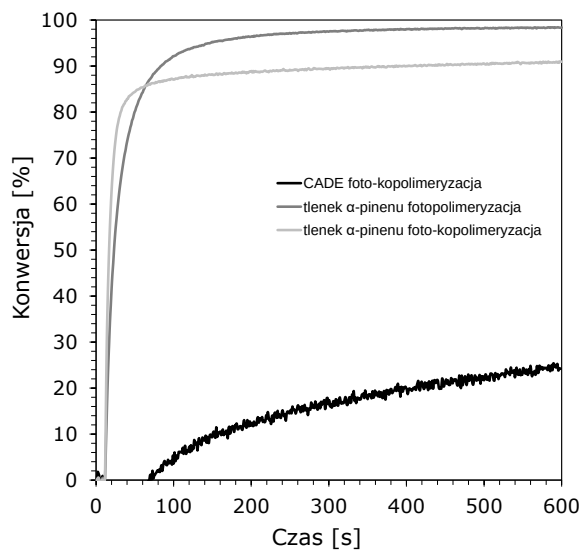
5. Dyskusja wyników

Na podstawie zarejestrowanych widm obliczono stopień przereagowania monomerów. Zależność konwersji od czasu fotopolimeryzacji przedstawiono na wykresach 10-11, a końcową konwersję monomerów zestawiono w tabeli nr 1. Przereagowanie tlenku limonenu w przypadku fotopolimeryzacji kationowej z otwarciem pierścienia epoksydowego wynosi 59%, natomiast dla procesu foto-kopolimeryzacji wynosi 81% przy konwersji monomeru CADE 47%. Oznacza to, że reakcja zachodzi efektywniej

względem tlenku limonenu w przypadku foto-kopolimeryzacji. Dla tlenku α-pinenu w przypadku fotopolimeryzacji konwersja jest bardzo wysoka – wynosi 98%, dla foto-kopolimeryzacji 91% przy konwersji monomeru CADE wynoszącej 24%. Oznacza to, że fotopolimeryzacja kationowa z otwarciem pierścienia zachodzi dla tlenku α-pinenu z wyższą konwersją w przypadku fotopolimeryzacji, jednak jest jedynie niewiele niższa w trakcie procesu foto-kopolimeryzacji.



Rysunek 10. Porównanie konwersji dla tlenku limonenu w przypadku fotopolimeryzacji oraz dla tlenku limonenu i monomeru CADE podczas foto-kopolimeryzacji [opracowanie własne]



Rysunek 11. Porównanie konwersji dla tlenku α-pinenu w przypadku fotopolimeryzacji oraz dla tlenku α-pinenu i monomeru CADE podczas foto-kopolimeryzacji [opracowanie własne]

Tabela 1. Konwersja monomerów

Kompozycja	*Konwersja tlenku limonenu [%]*	*Konwersja tlenku α-pinenu [%]*	*Konwersja CADE [%]*
1	*59*	-	-
2	-	*98*	-
3	*81*	-	*47*
4	-	*91*	*24*

Źródło: Opracowanie własne

Wysokie wartości stopni przereagowania świadczą o zaniku większości wiązań podwójnych pochodzących od badanych grup. Znaczy to, że fotopolimeryzacja kationowa zachodzi dla tych związków z bardzo dużą wydajnością. Daje to szanse na zastosowanie monomerów pochodzenia naturalnego na skalę przemysłową. Dodatkowo równie dobrze działają one w kompozycjach zawierających w swym składzie także inne dodatkowe monomery pochodzenia petrochemicznego, co skutkuje efektywnym przebiegiem procesu foto-kopolimeryzacji. Fakt ten umożliwia projektowanie systemów hybrydowych w oparciu o badane monoterpeny, dzięki czemu możliwa jest produkcja materiałów o specyficznych właściwościach.

6. Wnioski

Z powyższych badań wynika, że zarówno tlenek limonenu, jak i α-pinenu można z powodzeniem wykorzystać do produkcji powłok polimerowych metodą fotopolimeryzacji kationowej realizowanej w zakresie światła UV-Vis. Dodatkowo monomery te mogą być składnikiem kompozycji, w skład których wchodzą monomery i oligomery pochodzenia petrochemicznego, które w trakcie procesów fotopolimeryzacji ulegają kopolimeryzacji. Tym samym daje to duże szanse na rozwój zastosowań monomerów pochodzenia naturalnego w procesach indukowanych fotochemicznie.

Podziękowania

Niniejsza praca była finansowana przez Fundację na rzecz Nauki Polskiej (FNP) w ramach projektu TEAM TECH numer umowy POIR.04.04.00-00-204B/16-00 (TEAM TECH/2016-2/15).

Literatura

1. Rozkrut D. (Redaktor główny), *Na ścieżce zrównoważonego rozwoju*, Główny Urząd Statytyczny, Warszawa 2016.
2. Źródło: PlasticsEurope Market Research Group (PEMRG) / Conversion Market & Strategy GmbH.
3. Rabek J.F., *Współczesna wiedza o polimerach*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2017, s. 1.
4. Zhu Y., Romain C., Williams C.K., *Sustainable polymers from renewable resources,* Nature, Macmillan Publishers Limited part of Springer Nature, 15 December 2016.
5. Trytek M., Paduch R., Fiedurek J., Kandefer-Szerszeń M., *Monoterpeny-stare związki, nowe zastosowania i biotechnologiczne metody ich otrzymywania*, praca przeglądowa, BIOTECHNOLOGIA I (76) 135-155 rok 2007.
6. Malko M.W., Wróblewska A., *Znaczenie R-(+)-limonenu, jako surowca do syntez w chemii organicznej i dla przemysłu organicznego*, CHEMIK 2016, 70, 4, s. 193-202.

7. Yang W., Li Z., Tao N., Guo C., *α-pinene Epoxidation with Air Catalyzed by Nanosized TiO_2,* Chinese Journal of Catalysis, 2006-05.
8. Mavuso M.A., Makgwane P.R., Ray S.S, *Heterostructured CeO2−M (M = Co, Cu, Mn, Fe, Ni) OxideNanocatalysts for the Visible-Light Photooxidation of Pinene to Aroma Oxygenates,* ACS Omega2020, 5, 9775-9788.
9. Pączkowski J. praca zbiorowa, *Fotochemia polimerów teoria i zastosowanie,* Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń 2003.
10. Ortyl J., Wilamowski J., Milart P.,Galek M., Popielarz R., *Relative sensitization efficiency of fluorescent probes/sensitizers for monitoring and acceleration of cationic photopolymerization of monomers,* Polymer Testing 48 (2015), s. 151-159.

Fotochemiczne otrzymywanie powłok polimerowych opartych na epoksydowanych monoterpnach jako monomerach pochodzenia naturalnego

Streszczenie
W dzisiejszych czasach bardzo ważną rolę odgrywają zagadnienia związane z proekologiczną produkcją tworzyw chemicznych, takich jak powłoki polimerowe. Z tego powodu warto rozważyć zastosowanie monomerów pochodzenia naturalnego, zamiast monomerów będących produktami przemysłu petrochemicznego. Daje to możliwość prowadzenia produkcji w sposób bardziej zrównoważony i przyjazny dla środowiska. Przykładem takich substancji są monoterpeny, które wychodzą w skład większej grupy zwanej terpenami – są to jedne z wtórnych metabolitów roślin. Jednym z nich jest limonen pozyskiwany ze skórek owoców cytrusowych. Ma on szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym, kosmetyczny, medycynie, ale również przy syntezie biopolimerów, dzięki obecności wiązań podwójnych w jego strukturze. Innym przedstawicielem tej klasy związków jest α-pinen pozyskiwany z sosny. Stanowi on przede wszystkim istotny odczynnik w przemyśle farmaceutycznym oraz kosmetycznym. W ramach powyższej pracy zbadano zastosowanie pochodnych powyższych związków: tlenku limonenu oraz tlenku α-pinenu, jako monomerów, w celu wytworzenia powłok polimerowych na drodze fotopolimeryzacji kationowej realizowanej w zakresie światła UV-Vis. Potwierdzono, że surowce pochodzenia naturalnego mogą być z powodzeniem wykorzystywane do otrzymywania biodegradowalnych polimerowych powłok.
Słowa kluczowe: naturalne monomery, fotopolimeryzacja, powłoki polimerowe

Photochemical preparation of polymer coatings based on epoxidized monoterpenes as monomers of natural origin

Abstract
Nowadays, issues related to the ecological production of chemical materials such as polymer coatings play a significant role. For this reason, it is worth considering using monomers of natural origin instead of monomers that are products of the petrochemical industry. This allows producing in a more sustainable and environmentally friendly way. An example of such substances are monoterpenes, which are part of a larger group called terpenes – these are one of the secondary metabolites of plants. One of them is limonene extracted from citrus peel. It is widely used in the food industry, cosmetics, medicine, and the synthesis of biopolymers, thanks to double bonds in its structure. Another representative of this class of compounds is α-pinen obtained from pine. It is primarily an important reagent in the pharmaceutical and cosmetic industries. Presented study investigated the use of derivatives of the mentioned compounds: limonene oxide and α-pinen oxide, as monomers, to produce polymer coatings by cationic photopolymerization carried out in the UV-Vis range. It was confirmed that raw materials of natural origin could be successfully used to obtain biodegradable polymeric coatings.
Keywords: natural monomers, photopolymerization, polymer coatings

Agata Zubkiewicz[1], Sandra Paszkiewicz[2], Anna Szymczyk[3]

Możliwości syntezy poliamidów i kopoliamidów na bazie kwasu 2,5-furanodikarboksylowego oraz jego pochodnych

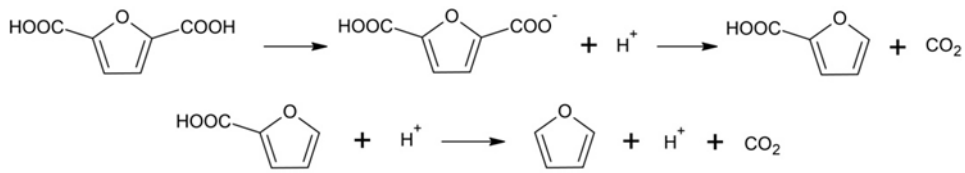
1. Wstęp

Wyczerpujące się zasoby petro- i karbochemiczne, czynniki ekonomiczne, polityczne oraz, przede wszystkim ekologiczne (zanieczyszczenie środowiska) sprawiają, że coraz więcej uwagi poświęca się możliwości przemysłowego zastosowania naturalnych surowców odnawialnych, takich jak polisacharydów, białek i tłuszczy. Ponadto, w Unii Europejskiej planowany jest wzrost produkcji przemysłu chemicznego o 300% do 2040 roku [1]. Wywołało to konieczność poszukiwania nowych źródeł surowców, gdyż zasoby pochodzenia petrochemicznego mogą okazać się niewystarczające do realizacji tej strategii. Ostatnimi czasy szczególny nacisk jest położony na zastąpienie substratów pochodzenia petro- i karbochemicznego (stosowanych również w produkcji tworzyw polimerowych), produktami otrzymywanymi z biomasy roślinnej, na co wpływ mają również coraz ostrzejsze regulacje ekologiczne, oraz opracowywane strategie bardziej zrównoważonego rozwoju tworzyw polimerowych. Zainteresowanie biomasą roślinną, jako surowcem wynika z jej dostępności, natury chemicznej, odnawialności, czasami wielokrotnie w ciągu roku i biodegradowalności. Jednym z takich produktów otrzymywanych z biomasy roślinnej jest kwas 2,5-furanodikarboksylowy (FDCA), który jest syntezowany z 5-hydroksymetylofurfuralu (HMF), otrzymywanego z polisacharydów [2] i został uznany za jeden z najbardziej obiecujących związków pochodzenia roślinnego do syntezy materiałów polimerowych, w tym poliestrów, poliuretanów i poliamidów. Kolejną niewątpliwą zaletą FDCA jest fakt, że wykazuje on dodatkowo duże podobieństwo pod względem budowy do kwasu tereftalowego (TPA) [3]. Dlatego może on stanowić proekologiczną alternatywę do otrzymywania materiałów polimerowych, w tym poliamidów (PA) i kopoliamidów (KPA).

Poliamidy (PA) są produktami polikondensacji diamin z kwasami dikarboksylowymi lub polimeryzacji laktamów i zalicza się je do grupy jednych z najbardziej znanych i najczęściej wykorzystywanych polimerów [4]. Znajdują one zastosowanie w wielu dziedzinach gospodarki, w tym do wytwarzania włókien oraz elementów maszyn i urządzeń. Pierwsze doniesienia na temat syntezy poliamidów opartych na FDCA miały miejsce ponad 50 lat temu. Jednakże, wciąż jest stosunkowo niewiele prac opisujących właściwości tych materiałów. Wynika to prawdopodobnie z trudności

[1] agata.zubkiewicz@zut.edu.pl, Katedra Fizyki Technicznej, Wydział Inżynierii Mechanicznej i Mechatroniki, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, http://www.zut.edu.pl.
[2] spaszkiewicz@zut.edu.pl, Katedra Technologii Materiałowych Wydział Inżynierii Mechanicznej i Mechatroniki, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, http://www.zut.edu.pl.
[3] aszymczyk@zut.edu.pl, Katedra Fizyki Technicznej, Wydział Inżynierii Mechanicznej i Mechatroniki, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, http://www.zut.edu.pl.

w uzyskaniu odpowiednio wysokich stopni polimeryzacji poliamidów otrzymanych na bazie FDCA. Wielkość pierścienia aromatycznego, nieliniowa struktura cząsteczki, oraz niska stabilność termiczna FDCA, może prowadzić do dekarboksylacji podczas syntezy (zwłaszcza powyżej 200°C) i tym samym wpływać na właściwości otrzymywanych poliamidów (rys. 1). Alternatywą, może być otrzymanie kopoliamidów, np. kopoliamidoestrów, które łączą w sobie doskonałe właściwości mechaniczne poliamidów z biodegradowalnością poliestrów i mogą mieć potencjalne zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu, np. do otrzymania jednorazowych toreb, folii rolniczych, nośników leków i wielu innych [5]. W literaturze, opisano kilka sposobów otrzymania poliamidów i kopoliamidów opartych na FDCA i jego pochodnych, m.in. metodą polimeryzacji w stanie stałym (SSP) poprzedzoną prepolimeryzacją z FDCA i 1,10-diaminodekanem [6], metodą kopolimeryzacji FDCA z heksanodiaminą w obecności kwasu indolo-3-propionowego [7], metodą kondensacji furanianu 2-metylu z kwasem lewulinowym w środowisku kwaśnym [8], czy np. metodą polikondensacji z diaminy oraz glikolu [5].



Rysunek 9. Dekarboksylacja kwasu 2,5-furanodikarboksylowego [9]

Niniejsza praca przedstawia przegląd możliwości otrzymywania poliamidów oraz kopoliamidów na bazie kwasu furanodikarboksylowego i jego pochodnych.

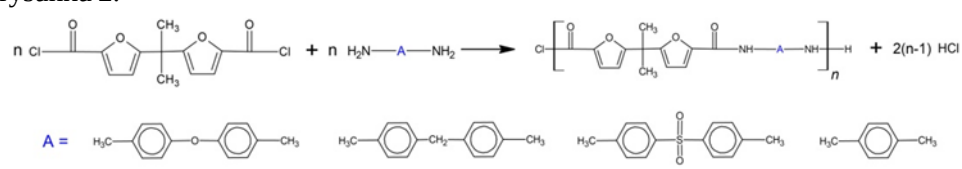
2. Poliamidy oparte na kwasie furanodikarboksylowym, oraz jego pochodnych

Pomimo tego, że pierwsze syntezy poliamidów opartych na kwasie 2,5-furanodikarboksyowym miały miejsce na początku lat 60. XX wieku, są one rzadko opisywane w literaturze fachowej. Już w 1961 roku, Hopff i Krieger [10] opisali możliwość syntezy poliamidów opartych na różnych kwasach dikarboksylowych, w tym FDCA. Zachodząca w wysokich temperaturach dekarboksylacja (> 200°C) znacznie utrudniała badaczom uzyskanie zadowalających wyników. Nieco później Moore i Bunting [11] otrzymali serie poliestrów i poliamidów opartych na czterech izomerycznych kwasach furanodikarboksylowych. Poliamidy otrzymane zostały metodą polimeryzacji w roztworze, a ich temperatury zeszklenia oraz lepkość, znacznie się różniły w zależności od użytego kwasu.

Dobranie odpowiedniej metody i warunków syntezy są kluczowe do otrzymania dobrej jakości materiałów, dlatego Mitiakoudis wraz z Gandinim [12] otrzymali poliamidy oparte na kwasach 2,5 i 3,4-furanodikarboksylowych, czterema różnymi metodami: polimeryzacją w masie diamin i dichlorku FDCA; polimeryzacją w roztworze diamin i dichlorku FDCA, gdzie rozpuszczalnikiem była mieszanina N-metylopirolidonu (NMP) i heksametylofosforotriamidu (HMPT) (1:1); bezpośrednią polikondensacją aromatycznych diamin z FDCA; polimeryzacją międzyfazową diamin furanowych,

gdzie fazą organiczną był chlorek metylenu lub chloroform, natomiast faza wodna zawierała KOH w celu zobojętnienia wydzielającego się HCl. W pierwszej metodzie, wysoka temperatura reakcji (250°C) przyczyniła się do powstania produktów niskocząsteczkowych. Metodą polimeryzacji w roztworze otrzymano materiały o stosunkowo niskiej wartości lepkości (0,17-0,5 dL/g). Najbardziej obiecującą techniką wydawała się być bezpośrednia polikondensacja w stanie stopionym. Pomimo możliwych reakcji ubocznych, poliamidy otrzymane tą metodą charakteryzowały się najwyższymi masami cząsteczkowymi.

Furanowe poliamidy metodą polimeryzacji międzyfazowej oraz polimeryzacji w roztworze otrzymali Miyagawa wraz z zespołem [13]. Jako monomery zastosowali chlorek dimeru FDCA i trzy diaminy alifatyczne, zawierające 4, 5, 6 i 10 grup metylenowych. Temperatury topnienia, oraz temperatury rozkładu otrzymanych poliamidów były wyższe niż analogicznych poliamidów z jednym pierścieniem furanowym. Abid i in. [14] zastosowali natomiast dwie różne procedury w celu otrzymania poliamidu 2,5-furanometylenowego. Pierwsza metoda polegała na zmieszaniu w 75°C za pomocą mieszadła magnetycznego 2-furamidu z paraformaldehydem, węglanem potasu i wodą, a następnie dodaniu kwasu mrówkowego i kwasu Lewisa lub Brønsteda. Produkt odsączono, oczyszczono i wysuszono. Druga metoda polegała natomiast na rozpuszczeniu w 0°C 2-furamidu w mocnym kwasie, po czym dodaniu paraformaldehydu przy ciągłym mieszaniu i ogrzewaniu do 60°C. Metoda 2 okazała się bardziej wydajna. Powstało mniej produktów ubocznych, a lepkość materiału wyjściowego była niemal trzykrotnie większa niż w przypadku metody 1. Kilka lat później ten sam zespół [15] otrzymał serię poliamidów poprzez polikondensację międzyfazową. Jako monomery wykorzystali 2,2'-bis(5-chloroformylo-2-furylo)propan, który zawiera dwa pierścienie furanowe, oraz cztery komercyjnie dostępne diaminy: 1,4-bis (aminofenylo)eter, 1,4-bis(aminofenylo)metan, 1,4-bis(aminofenylo)sulfon i 1,4-fenylodiaminę. Diamina i wybrany katalizator, którym był chlorek trietylobenzyloamoniowy, bromek tetrabutyloamoniowy, wodorosiarczan tetrabutyloamoniowy, bądź bromek heksadecylotrimetyloamoniowy rozpuszczane były w wodnym roztworze wodorotlenku sodu, do którego następnie dodano roztwór chlorku dikwasu w niemieszającym się z wodą organicznym rozpuszczalniku. Temperatura reakcji wynosiła między 10°C a 80°C, natomiast czas reakcji między 1 h a 8 h. Ogólny schemat syntezy przedstawiono na rysunku 2.



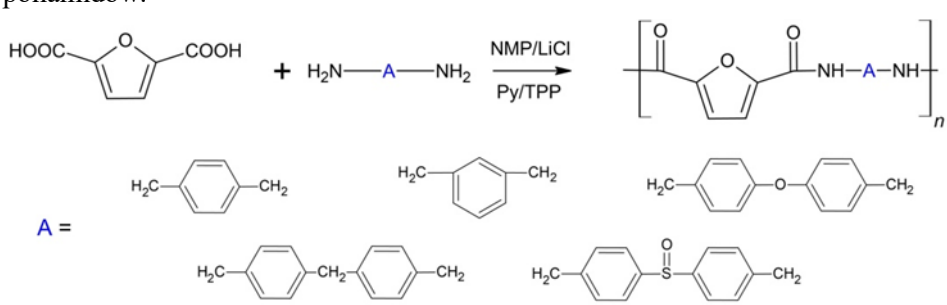
Rysunek 10. Schemat syntezy poliamidów z 2,2'-bis (5-chloroformylo-2-furylo)propanu i różnych aromatycznych diamin [15]

Podobną metodę zastosowali Cureton i in. [16]. Diaminę alifatyczną lub aromatyczną, katalizator, oraz roztwór NaOH, mieszano w temperaturze pokojowej, aż do rozpuszczenia składników, po czym dodawano w porcjach rozpuszczony w chloroformie, dichlorek FDCA. Po 2 godzinach polimer odsączono, przemyto, rozpuszczono

w dimetylosulfotlenku (DMSO) i pozostawiono na noc, po czym przefiltrowano, przemyto i wysuszono. Uzyskano $\bar{M}_n$ między 23700 g/mol, a 62000 g/mol i wskaźniki polidyspersyjności wynoszące od 1,4 do 2,0. Furanowe poliamidy łatwiej rozpuszczały się w niektórych rozpuszczalnikach (DMSO, DMF, NMP), niż ich odpowiedniki na bazie ropy naftowej.

Fehrenbacher wraz z zespołem [17] otrzymał poliamidy o różnej długości łańcuchów alifatycznych (6, 8, 10 i 12 grup metylenowych) poprzez polikondensacji w stopie estru dimetylowego kwasu 2,5-furanodikarboksylowego (DMFDCA) i różnych diamin alifatycznych. W zależności od otrzymanego poliamidu, liczbowo średnie masy cząsteczkowe ($\bar{M}_n$) wynosiły od 4299 g/mol do 6970 g/mol. Tak niskie wartości mas cząsteczkowych mogą wynikać z powstających produktów ubocznych i zachodzącej dekarboksylacji. Otrzymane poliamidy były kruche, przez co formowanie wtryskowe było utrudnione. Wraz ze wzrostem długości łańcucha alifatycznego, malała temperatura zeszklenia, co związane jest ze wzrostem mobilności i mniejszą sztywnością łańcucha polimerowego. Typową polikondensację w stanie stopionym przeprowadzili także w ostatnim czasie Ali i in. [8] w celu otrzymania jonowymiennych poliamidów z 4-bis(5-(metoksykarbonylo)furan-2-ylo)pentanokwasu (BFL) i różnych diamin. Diester bisfuranowy (BFL) został zsyntezowany z 2-furanianu metylu i kwasu lewulinowego w reakcji kondensacji w środowisku kwaśnym. Wydajność tej metody wynosiła ponad 85%.

Luo wraz z zespołem [18] otrzymali poliamidy metodą wysokotemperaturowej polimeryzacji w roztworze FDCA z różnymi aromatycznymi diaminami. Schemat reakcji przedstawiono na rysunku 3. Uzyskano stosunkowo wysokie $\bar{M}_n$, wynoszące od 39300 g/mol, dla poli(4,4'-difenylosulfonofuranoamidu) (PSF), do 83800 g/mol, dla poli(4,4'-difenyloeterofuranoamidu) (POF), ze wskaźnikiem polidyspersyjności 1,49 – 2,22. Najlepsze wyniki uzyskano jednak dla poli (p-fenylenofuranoamidu) (PPF), który charakteryzował się największą stabilnością termiczną (temperatura ubytku 5% masy (T_5): 394,5°C), oraz największą wytrzymałością na rozciąganie (94,77 MPa) i najwyższym modułem Younga, wynoszącym 1635 MPa, spośród badanych poliamidów.

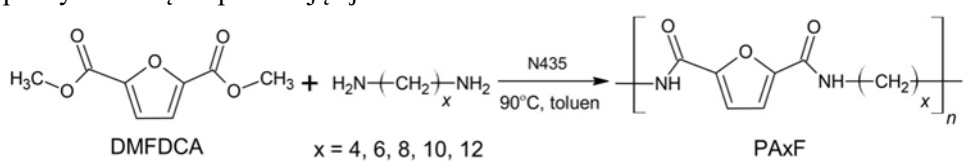


Rysunek 11. Schemat syntezy poliamidów z FDCA, oraz różnych aromatycznych diamin metodą polimeryzacji w roztworze [18]

Polimeryzację rozpuszczalnikową zastosowali również da Fontoura i in. [19]. W swojej pracy, zbadali wpływ użytego rozpuszczalnika (N-metylo-2-pirolidonu (NMP), lub N,N-dimetyloacetamidu (DMAc)) na właściwości furanowych poliamidów

otrzymanych z FDCA, p-fenylodiaminy i fosforynu trifenylu (TPP). Okazało się, że poliamid otrzymany przy użyciu DMAc, charakteryzował się większą stabilnością termiczną, ale też bardziej uporządkowaną strukturą krystaliczną, niż jego odpowiednik uzyskany z wykorzystaniem NMP, co może być związane z większą zdolnością do solwatacji DMAc.

Odmienną metodą syntezy polimerów jest polimeryzacja enzymatyczna. Posiada ona liczne zalety, takie jak łagodne warunki reakcji pod względem temperatury i ciśnienia, krótszy czas reakcji, a także stosowanie naturalnego, nietoksycznego katalizatora. Jiang i in. [20] w celu otrzymania poliamidów opartych na FDCA, wykorzystali enzym Novozym 435. Poli (oktametylenofuranoamid) (PA8F) zsyntezowali jednoetapową metodą w toluenie oraz zróżnicowaną temperaturowo dwuetapową metodą w eterze difenylowym. W obu przypadkach reakcja nie zachodziła, gdy jako monomer wykorzystano FDCA, dlatego zastąpiono kwas, estrem dimetylowym (DMFDCA). W zależności od zastosowanej metody oraz temperatury reakcji, $\overline{M}_n$ wynosiły od 7200 g/mol do 13400 g/mol. Otrzymane poliamidy miały różne grupy końcowe: aminę/aminę, ester/aminę, ester/ester, ester/kwas, kwas/aminę, kwas/kwas i ester/amid, a także nie miały grup końcowych (poliamidy cykliczne). Furanowe poliamidy charakteryzowały się niższą temperaturą topnienia niż ich odpowiednik na bazie kwasu tereftalowego. Ponieważ wyższe masy cząsteczkowe uzyskano, stosując metodę jednoetapową, nieco później, ten sam zespół metodą polikondensacji enzymatycznej w toluenie, otrzymał furanowe poliamidy różniące się ilością grup metylenowych w łańcuchu alifatycznym (4, 6, 8, 10, 12) (rys. 4) [21]. Wagowo średnie masy cząsteczkowe $\overline{M}_n$ wynosiły od 9500 g/mol do 13400g/mol. Pomimo tego, że enzym wykazywał najwyższą selektywność wobec PA8F, wydajność reakcji nie przekraczała 50% i powstawała duża ilość niskocząsteczkowych poliamidów, których pozbywano się rozpuszczając je w metanolu.



Rysunek 12. Schemat syntezy poliamidów z DMFDCA, oraz różnych diamin metodą polimeryzacji enzymatycznej [21].

Identyczny enzym do syntezy w 100% opartych na surowcach odnawialnych poliamidów wykorzystali w ostatnim czasie Huang wraz z zespołem [22]. Otrzymali oni poliamid z 1,5-pentanodiaminy i DMFDCA, który następnie był sieciowany w niskiej temperaturze poprzez reakcję Dielsa-Aldera, po czym w wyższej temperaturze zachodziła możliwość odwracalnego sieciowania. Poprzez odpowiednio dostosowane ultradźwiękami i temperaturą odwrotne sieciowane, istnieje możliwość kontrolowania właściwości termicznych poliamidów.

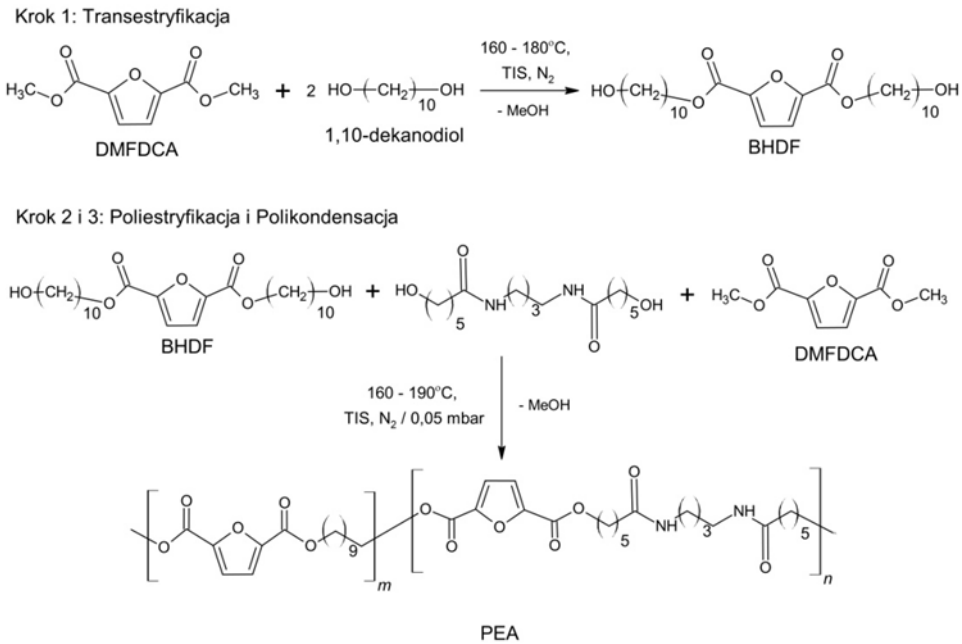
3. Kopoliamidy oparte na kwasie furanodikarboksylowym oraz jego pochodnych

Zbyt niska masa cząsteczkowa furanowych poliamidów, to częsty problem, z jakim spotykają się badacze. Rozwiązaniem może być otrzymanie kopoliamidów poprzez prepolimeryzację poprzedzającą polimeryzację w stanie stałym (SSP). Endach wraz z zespołem [23] zsyntezowali kopoliamidy poprzez polimeryzację wstępną mieszanin soli 1,4-butanodiaminy, kwasu adypinowego (sól 4,6) i soli FDCA (sól 4,F), a następnie polimeryzację w stanie stałym przygotowanego prepolimeru. Otrzymane zostały w ten sposób trzy kopoliamidy poli(butylenoadypamidu) (PA-4,6) i poli(butyleno-2,5-furandikarboksyloamidu) (PA-4,F) zawierające 10%, 20% i 30% PA-4,F. Kopolimer zawierający 10% PA-4,F charakteryzował się większą lepkością i wyższą temperaturą zeszklenia w stosunku do PA-4,6, co może być związane ze sztywniejszym, dzięki pierścieniowi furanowemu łańcuchem. Pozostałe kopoliamidy charakteryzowały się mniejszą lepkością. FDCA wykazywał mniejszą reaktywność niż kwas adypinowy. Identyczną metodę zastosowali Cao i in. [6], którzy zsyntezowali kopoliamidy z FDCA, kwasu tereftalowego i 1,10-diaminodekanu. Niemal połowa wykorzystanego FDCA uległa jednak dekarboksylacji. W rezultacie końcowy udział ugrupowań furanowych był znacznie niższy niż zakładano. Z tym samym problemem spotkali się Cousin wraz z zespołem [7]. Otrzymane metodą polikondensacji w stopie kopoliamidy na bazie FDCA, kwasu izoftalowego (IPA) i 1,6-heksametylenodiaminy były amorficzne, a ich $\overline{M}_n$ nie przekraczała 16000 g/mol.

Rosnące zapotrzebowanie na biodegradowalne polimery sprawiło, że poza poliamidami opartymi na surowcach odnawialnych, coraz częściej można znaleźć publikacje dotyczące bio-bazujących kopoli(amido-estrów) (PEA). Ze względu na biodegradowalność poliestrów, związaną z obecnością ulegających hydrolizie grup estrowych (-COO-), oraz doskonałymi właściwościami mechanicznymi i termicznymi poliamidów, w ostatnich latach podjęto prace badawcze nad PEA opartymi na kwasie furanodikarboksylowym, oraz jego pochodnych. W 2013 Triki wraz z zespołem [5] metodą polikondensacji w stopie, otrzymał serię PEA na bazie zsyntezowanego wcześniej diestru BFA (5,5'-(propano-2,2-diylo) -bis (kwas furano-2-karboksylowy)), heksametylenodiaminy i 1,2-etanodiolu. Otrzymane PEA były amorficzne, a ich temperatura zeszklenia wzrastała, wraz ze wzrostem udziału grup amidowych. Zachodzące reakcje uboczne, takie jak estryfikacja diolu, tworzenie niereaktywnych 2-furylowych grup końcowych oraz rozgałęzianie łańcuchów wynikające z tworzenia się amidyny były głównym problemem w otrzymaniu wysokiej jakości materiałów.

Grupa badawcza Wilsensa [24] porównała z kolei właściwości czterech kopoli (amido-estrów) opartych na 4-aminobenzoesanie metylu oraz chlorków odpowiednio kwasu tereftalowego (TA), kwasu 2,5-tiofenodikarboksylowego (2,5-TDCA), kwasu 2,5-furanodikarboksylowego (2,5-FDCA) i kwasu izoftalowego (IA). PEA oparte na FDCA, w przeciwieństwie do pozostałych kopoliamidów, były amorficzne i charakteryzowały się niższymi temperaturami topnienia. Spowodowane mogło to być tworzeniem się wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych pomiędzy atomami tlenu w pierścieniach furanu a atomami wodoru grup amidowych. Ograniczone w ten sposób powstawanie międzycząsteczkowych wiązań wodorowych, może skutkować znacznym pogorszeniem właściwości termicznych i mechanicznych poliamidów. Aby obejść ten

problem Kluge i in. [25] metodą trzystopniowej polikondensacji w stopie, zsyntezowali PEA z DMFDCA, 1,10-dekanodiolu i alifatycznego diolu zawierającego dwa wewnętrzne wiązania amidowe (AD) (rys. 5). Otrzymane materiały były półkrystaliczne, a ich stopień krystaliczności wzrastał, wraz z udziałem grup amidowych. Grupy metylenowe pomiędzy pierścieniami furanu a grupami amidowymi skutecznie przeszkodziły w tworzeniu się wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych. Ponadto charakterystyczne temperatury przejść fazowych, jak i właściwości mechaniczne kopolimerów mogły być kontrolowane poprzez zmianę stosunku 1,10-dekanodiolu i amidodiolu.



Rysunek 13. Schemat syntezy PEA metodą trzystopniowej polikondensacji w stopie [25].

Ze względu na niską temperaturę reakcji, dzięki czemu nie dojdzie do dekarboksylacji FDCA, Maniar i in. [26] otrzymali PEA metodą polikondensacji enzymatycznej, przy wykorzystaniu enzymu Novozyme 435. W tym celu wykorzystali ester dimetylowy kwasu furanodikarboksylowego (DMFDCA), alifatyczne diole, oraz diaminy lub aminoalkohole. Reakcje prowadzili przy użyciu toluenu w temperaturze 90°C. Ponieważ toluen jest szkodliwym rozpuszczalnikiem, analogiczne reakcje przeprowadzili w przyjaznych środowisku cieczach jonowych. Otrzymane materiały były półkrystaliczne i cechowały się dwustopniowym procesem degradacji. Gdy rozpuszczalnikiem był toluen, poliamidy miały ponad dwukrotnie wyższą masę cząsteczkową niż w przypadku cieczy jonowych, co może wiązać się z lepszą rozpuszczalnością poliamidów w toluenie. Ponadto poliamidy otrzymane z diamin miały lepsze właściwości niż z aminoalkoholi, co może wiązać się z selektywnością enzymu.

4. Podsumowanie

Malejące zasoby paliw kopalnianych sprawiają, że wytwarzanie tworzyw polimerowych z surowców odnawialnych, wśród których jednym z najbardziej obiecujących jest kwas furanodikarboksylowy, staje się konieczne. Szczególną grupę polimerów stanowią poliamidy, będące jednymi z najczęściej stosowanych w przemyśle tworzyw sztucznych. Na podstawie dostępnej literatury można stwierdzić, że furanowe poliamidy i kopoliamidy można otrzymać m.in. metodą polikondensacji w stopie, polimeryzacji w roztworze, polimeryzacji międzyfazowej i polimeryzacji w stanie stałym. W licznych pracach napotykano jednak problem związany z trudnością w uzyskaniu wysokocząsteczkowych produktów. Zachodzące reakcje uboczne, takie jak m.in. dekarboksylacja, wpływają na niską wydajność procesów syntezy, a tym samym na gorsze właściwości furanowych poliamidów w porównaniu do ich ropowochodnych odpowiedników. Pomimo wyzwań napotykanych podczas syntezy, w ostatnich latach widoczny jest znaczny wzrost liczby publikacji dotyczących furanowych PA i PEA. Poprzez odpowiedni dobór procedury, oraz monomerów, możliwe jest uzyskanie materiałów o obiecujących właściwościach termicznych i mechanicznych, co w przyszłości może przyczynić się do produkcji wysokiej jakości furanowych poliamidów o szerokich możliwościach aplikacyjnych.

Podziękowania

Prace badawcze zostały sfinansowane z projektu badawczego Sonata o nr 2018/31/D/ST8/00792 ze środków Narodowego Centrum Nauki.

Literatura

1. Tomasik P., *Polysaccharides and Ecology*, Chemia i Inżynieria Ekologiczna, 6, 1999, s. 831-838.
2. van Putten R.-J., van der Waal J.C., de Jong E., Rasrendra C.B., Heeres H.J., de Vries J.G., *Hydroxymethylfurfural, A Versatile Platform Chemical Made from Renewable Resources*, Chemical Reviews, 113, 2013, s. 1499-1597.
3. Kowalczyk I., Kwiatkowska M., Rosłaniec Z., *Kwas 2,5-furanodikarboksylowy jako potencjalny składnik kopolimerów o właściwościach elastomerowych,* Elastomery, 4, 2016, s. 40-47.
4. Dutkiewicz S., Boryniec S., *Synteza i charakterystyka modyfikowanych poliamidów otrzymywanych z laktamów i polieteroamin*, Polimery, 48, 2003, s. 116-121.
5. Triki R., Abid M., Tessier M., Abid S., El Gharbi R., Fradet A., *Furan-based poly(esteramide)s by bulk copolycondensation*, European Polymer Journal, 49, 2013, s. 1852-1860.
6. Cao M., Zhang C., He B., Huang M., Jiang S., *Synthesis of 2,5-furandicarboxylic acid-based heat-resistant polyamides under existing industrialization process*, Macromolecular Research, 25, 2017, s. 722-729.
7. Cousin T., Galy J., Rousseau A., Dupuy J., *Synthesis and properties of polyamides from 2,5-furandicarboxylic acid*, Journal of Applied Polymer Science, 135, 2018, s. 45901.
8. Ali D.K., Al-Zuheiri A.M., Sweileh B.A., *Green ion-exchange bisfuranic polyamides by polycondensation with bio-based diamines*, Green Materials, 8, 2020, s. 24-31.
9. Huang W., Hu X., Zhai J., Zhu N., Guo K., *Biorenewable furan-containing polyamides*, Materials Today Sustainability, 10, 2020, s. 100049.
10. Hopff V.H., Krieger A., *Über polyamide aus heterocyclischen dicarbonsäuren,* Die Makromolekulare Chemie, 47, 1961, s. 93-113.

11. Moore J.A., Bunting W.W., *Polyesters and Polyamides Containing Isomeric Furan Dicarboxylic Acids*, Polymer Science and Technology, 31, 1985, s. 51-91.
12. Mitiakoudis A., Gandini A., *Synthesis and Characterization of Furanic Polyamides*, Macromolecules, 24, 1991, s. 830-835.
13. Miyagawa N., Suzuki T., Okano K., Matsumoto T., Nishino T., Mori A., *Synthesis of furan dimer-based polyamides with a high melting point*, Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 56, 2018, s. 1516-1519.
14. Abid M., El Gharbi R., Gandini A., *Polyamides incorporating furan moieties. 3. Polycondensation of 2- furamide with paraformaldehyde*, Polymer, 41, 2000, s. 3555-3560.
15. Abid S., El Gharbi R., Gandini A., *Polyamides incorporating furan moieties. 5. Synthesis and characterisation of furan-aromatic homologues*, Polymer, 45, 2004, s. 5793-5801.
16. Cureton L.S.T., Napadensky E., Annunziato C., La Scala J.J., *The effect of furan molecular units on the glass transition and thermal degradation temperatures of polyamides*, Journal of Applied Polymer Science, 134, 2017, s. 1-12.
17. Fehrenbacher U., Grosshardt O., Kowollik K., Tübke B., Dingenouts N., Wilhelm M., *Synthese und Charakterisierung von Polyestern und Polyamiden auf der Basis von Furan-2,5-dicarbonsäure,* Chemie Ingenieur Technik, 81, 2009, s. 1829-1835.
18. Luo K., Wang Y., Yu J., Zhu J., Hu Z., *Semi-bio-based aromatic polyamides from 2,5-furandicarboxylic acid: Toward high-performance polymers from renewable resources*, RSC Advances, 6, 2016, s. 87013-87020.
19. da Fontoura C.M., Pistor V., Mauler R.S., *Evaluation of degradation of furanic polyamides synthesized with different solvents*, Polimeros, 29, 2019, s. 1-6.
20. Jiang Y., Maniar D., Woortman A.J.J., Alberda Van Ekenstein G.O.R., Loos K., *Enzymatic Polymerization of Furan-2,5-Dicarboxylic Acid-Based Furanic-Aliphatic Polyamides as Sustainable Alternatives to Polyphthalamides*, Biomacromolecules, 16, 2015, s. 3674-3685.
21. Jiang Y., Maniar D., Woortman A.J.J., Loos K., *Enzymatic synthesis of 2,5-furandicarboxylic acid-based semi-aromatic polyamides: enzymatic polymerization kinetics, effect of diamine chain length and thermal properties*, RSC Advances, 6, 2016, s. 67941-67953.
22. Huang W., Zhai J., Zhang C., Hu X., Zhu N., Chen K., Guo K., *100% Bio-Based Polyamide with Temperature/Ultrasound Dually Triggered Reversible Cross-Linking*, Industrial and Engineering Chemistry Research, 59, 2020, s. 13588-13594.
23. Endah Y.K., Han S.H., Kim J.H., Kim N.K., Kim W.N., Lee H.S., Lee H., *Solid-state polymerization and characterization of a copolyamide based on adipic acid, 1,4-butanediamine, and 2,5-furandicarboxylic acid*, Journal of Applied Polymer Science, 133, 2016, s. 43391.
24. Wilsens C.H.R.M., Deshmukh Y.S., Noordover B.A.J., Rastogi S., *Influence of the 2, 5-furandicarboxamide moiety on hydrogen bonding in aliphatic-aromatic poly(ester amide)s*, Macromolecules, 47, 2014, s. 6196-6206.
25. Kluge M., Papadopoulos L., Magaziotis A.T., Dimitrios Zamboulis A., Bikiaris D.N., Robert T., *A Facile Method to Synthesize Semicrystalline Poly(ester amide)s from 2,5-Furandicarboxylic Acid, 1,10-Decanediol, and Crystallizable Amido Diols,* CS Sustainable Chemistry & Engineering, 8, 2020, s. 10812-10821.
26. Maniar D., Silviantiab F., Ospina V.C., Woortman A.J.J., van Dijken J., Loos K., *On the way to greener furanic-aliphatic poly(ester amide)s: Enzymatic polymerization in ionic liquid*, Polymer, 205, 2020, s. 122662.

Możliwości syntezy poliamidów i kopoliamidów na bazie kwasu 2,5-furanodikarboksylowego oraz jego pochodnych

Streszczenie

Kwas 2,5-furanodikarboksylowy (FDCA) jest jednym z najbardziej obiecujących i wszechstronnych monomerów pochodzenia roślinnego. Może on zostać wykorzystany zarówno do syntezy poliuretanów, poliamidów, poliestrów, jak i ich kopolimerów. Rosnące zainteresowanie polimerami opartymi na surowcach odnawialnych, skutkuje wzrostem ilości publikacji, w tym dotyczących poliamidów i kopoliamidów opartych na FDCA. Niniejsza praca stanowi przegląd literatury na temat możliwości syntezy poliamidów, kopoliamidów, oraz kopoli(amido estrów) na bazie FDCA i jego pochodnych. Omówiono możliwe sposoby syntezy furanowych poliamidów, ich wady oraz zalety, a także podstawowe właściwości uzyskanych tymi metodami materiałów.

Słowa kluczowe: kwas 2,5-furanodikarboksylowy, poliamidy, kopoliamidy, polikondensacja

Possibilities of synthesizing polyamides and copolyamides based on 2,5-furanedicarboxylic acid and its

Abstract

2,5-furanedicarboxylic acid (FDCA) is one of the most promising and versatile biobased monomers. It can be used both for the synthesis of polyurethanes, polyamides, polyesters and their copolymers. The growing interest in polymers based on renewable raw materials results in an increase in the number of publications, including those on FDCA-based polyamides and copolyamides. This work is a review of the literature on the possibility of synthesizing polyamides, copolyamides, and copoly (amide esters) based on FDCA and its derivatives. Possible methods of synthesis of furan polyamides, their advantages and disadvantages as well as basic properties of materials obtained by these methods are discussed.

Keywords: 2,5-furanedicarboxylic acid, polyamides, copolyamides, polycondensation

Monika Biernat[1], Karolina Rudnicka[2], Lidia Ciołek[1]

Porowate biokompozyty na bazie polilaktydu z udziałem cząstek stałych, jako materiały do regeneracji kości

1. Wprowadzenie

Zastosowanie biomateriałów w medycynie opisywane jest w literaturze już od wielu lat. Bardzo liczna część prac poświęcona jest materiałom do regeneracji tkanek, a zwłaszcza kości. Podstawowe wymagania, jakie stawia się biomateriałom, aby mogły wspomagać przebieg procesów fizjologicznych to przede wszystkim biozgodność, bioaktywność, biodegradowalność i łatwa dostępność. Kryteria biozgodności *in vitro,* jakie powinny spełniać materiały implantacyjne do zastosowań w medycynie regeneracyjnej kości uwzględniają też żywotność komórek pozostających w bezpośrednim kontakcie z implantem [1]. Sama biokompatybilność kompozytów nie zapewnia bowiem zachowania właściwego procesu regeneracji i reakcji odpornościowych, które są kluczowe dla procesu gojenia i kierunkowania makrofagów tkankowych do profilu regulacyjnego [2-4].

Niezwykle ważna jest również porowatość z optymalną wielkością porów, która umożliwia dobrą penetrację komórek, wrastanie tkanki, szybką waskularyzację i łatwość dostarczania substancji odżywczych [5]. Idealne rusztowanie w inżynierii tkanki kostnej posiada makroporowatość (wielkość porów > 100 μm) i mikroporowatość (wielkość porów < 20 μm), otwartą porowatość dla wzrostu *in vivo* tkanek i dostateczną wytrzymałość mechaniczną. Kinetyka degradacji powinna być odpowiednia dla właściwego przeniesienia obciążeń, a początkowa wytrzymałość niezbędna dla bezpiecznego przeprowadzenia zabiegu chirurgicznego, a także przetrwania po wpływie sił fizycznych *in vivo* [6].

W celu zwiększenia wytrzymałości mechanicznej kompozytów stosuje się najczęściej wypełniacze w postaci cząstek stałych (np. ceramicznych). Łatwą metodą dla wprowadzenia takich cząstek do materiałów implantacyjnych dla regeneracji kości jest wytwarzanie porowatych kompozytów polimerowych z wypełniaczami na drodze liofilizacji. Istnieją opisy przykładów kompozytów otrzymywanych na bazie polilaktydu z 40% udziałem bioszkła, w których pory osiągały wielkość ok. 100 μm, a wielkość połączeń między porami wahała się w granicach 10-50 μm [7]. Znane są też doniesienia o porowatych kompozytach polilaktydowych z udziałem cząstek hydroksyapatytu o różnych rozmiarach i morfologii [8, 9].

Wiadomo, że stopień poprawy właściwości mechanicznych zależy od morfologii zastosowanego wypełniacza i jest największy w przypadku zastosowania wypełniaczy w postaci cienkich włókien (whiskersów). Włókna wapniowo-fosforanowe, a szcze-

[1] m.biernat@icimb.pl, Zakład Biomateriałów, Oddział Ceramiki i Betonów w Warszawie, Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Ceramiki i Materiałów Budowlanych, Warszawa, Polska.
[2] Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Łódź, Polska.

gólnie hydroksyapatytowe są najczęściej rozpatrywanymi cząstkami ceramicznymi, jakie stosuje się w celu wzmocnienia struktury kompozytów porowatych [10, 11]. Poza tym ceramika wapniowo-fosforanowa wykazuje rozpuszczalność w płynach ustrojowych, przez co sprzyja aktywności osteoblastów (osteogenezie) i jest uznawana za materiał bioaktywny [12]. Dużym zainteresowaniem cieszy się zwłaszcza syntetyczny hydroksyapatyt (HA), który jest stosowany zarówno w stomatologii, jak i ortopedii [13-15]. Jest materiałem o składzie bardzo zbliżonym do naturalnego apatytu występującego w kościach i posiada korzystne właściwości, takie jak bioaktywność i osteokonduktywność oraz powoduje szybkie tworzenie kości i silne biologiczne wiązanie z tkankami kostnymi [16].

Niektórzy autorzy uważają jednak, że spośród bioaktywnych materiałów ceramicznych, to bioszkła najlepiej stymulują odbudowę kości. Badania *in vivo* wykazały, że bioszkła wiążą się z kością szybciej niż inne rodzaje bioceramiki, a badania *in vitro* wykazały, że właściwości osteogenne bioszkieł wynikają z możliwości stymulacji komórek osteoprogenitorowych przez produkty rozpuszczania bioszkieł [17].

Celem pracy było przedstawienie wpływu dwóch rodzajów cząstek stałych (bioszkła, włókna apatytowe) na mikrostrukturę, właściwości wytrzymałościowe oraz cytotoksyczność polimerowych kompozytów porowatych.

2. Materiały

2.1. Materiały wykorzystane do syntezy biokompozytów

Jako materiały wyjściowe zastosowano: dedykowany do celów medycznych polilaktyd PLA - RESOMER® LR 706 S (Evonik), użyty jako rozpuszczalnik polilaktydu 1,4-dioksan (Avantor), β-TCP (fosforan β-trójwapniowy), 96% (Fluka Chemie GmbH), H_2O_2, 30% (Avantor), tetraetoksysilan 99,0% (GC) (Sigma-Aldrich), fosforan(V)trietylu (Fluka), czterowodny azotan(V)wapnia (POCH).

2.2. Materiały wykorzystane do badań biologicznych *in vitro*

Zastosowano następujące linie komórkowe, podłoża hodowlane i dodatki do podłóż: fibroblasty mysie linii (L929, ATCC, Rockville, MD, USA) oraz monocytów linii THP-1Blue™ (Invivogen, San Diego, CA, USA), kompletne podłoże hodowlane RPMI 1640 zawierające 2mM L-glutaminy (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MI, USA), i inaktywowaną termicznie surowicę cielęcą (Cytogen, Zgierz, Polska), mieszaninę penicyliny/streptomycyny (Sigma-Aldrich), czynniki selektywne: blastocydynę i normocynę (Invivogen) oraz odczynniki chemiczne QuantiBlue™ (Invivogen), saponinę (Pol-Aura, Dywity, Polska), bromek 3-(4,5-dimetylotiazol-2-ylo)-2,5-difenylotetrazoliowy – MTT (Sigma-Aldrich) i stymulatory: lipopolisacharyd (LPS) Escherichia coli (E. coli) O 55:B5 (Sigma-Aldrich).

3. Metody eksperymentalne

3.1. Synteza cząstek apatytowych w postaci włókien

Włókna apatytowe oznaczone w niniejszej pracy jako W otrzymywano zgodnie z procedurą opisaną we wcześniejszych pracach [18,19]. W skrócie, 4 gramy β-TCP umieszczono w szklanej butelce Pyrex o poj. 250 ml i dodano 100 ml 30% roztworu H_2O_2. Szczelnie zamkniętą butelkę z zawartością wytrząsano 2 minuty, po czym

umieszczono na 48 godzin w cieplarce w temperaturze 95°C. Otrzymane cząstki apatytowe odsączono, przemyto czterokrotnie 500 ml wody destylowanej i wysuszono w temperaturze 90°C.

3.2. Synteza cząstek bioszkła

Opracowany skład chemiczny bioszkła mieścił się w układzie CaO-SiO_2-P_2O_5. W bioszkle oznaczonym w niniejszej pracy symbolem BG obliczony udział SiO_2 stanowił 70% wag., P_2O_5 5% wag. oraz CaO 25% wag. Proces wytworzenia metodą zol-żel przeprowadzono uwzględniając wcześniej opisaną metodykę [20]. Po przeprowadzeniu mieszanin reakcyjnych z zolu w żel i zakończeniu suszenia, bioszkło wygrzewano w piecu elektrycznym w temperaturze 650°C przez 5 h. W ten sposób uzyskano gruboziarnisty proszek, który następnie rozdrobniono mechanicznie.

3.3. Wytwarzanie porowatych kompozytów polilaktydowych z udziałem włókien apatytowych i/lub ziaren bioszkła

Porowate kompozyty polilaktydowe z udziałem włókien apatytowych i/lub ziaren bioszkła otrzymywano metodą liofilizacji stabilnych dyspersji cząstek stałych w roztworach polimeru w 1,4-dioksanie. Udział procentowy poszczególnych składników kompozytów przedstawiono w tabeli 1. Skład procentowy kompozytów z dodatkiem bioszkła lub jednoczesnym dodatkiem bioszkła i włókien apatytowych opracowano tak, aby udział ziaren bioszkła w wytworzonych kompozytach był równy udziałowi polimeru, a dodatek włókien zawierał się w granicach 10-30% wag. ilości bioszkła. Równy udział bioszkła i polimeru w wyjściowym składzie kompozytu zapewniał odpowiednio sztywną strukturę materiału. Dodatkowo do badań wytrzymałościowych zostały wytworzone kompozyty z dodatkiem samych ziaren bioszkła lub samych włókien apatytowych. Udział ziaren bioszkła w tych kompozytach zawierał się w granicach 50-60% wag., a udział włókien apatytowych w granicach 10-50% wag. (tab. 1).

Tabela 1. Udział procentowy poszczególnych składników kompozytów polilaktydu z dodatkiem cząstek stałych

Symbol kompozytu	*Udział poszczególnych składników kompozytu [% wag.]*		
	PLA	*BG*	*W*
Kompozyty na bazie 1 [% wag.] roztworu polimeru w 1,4-dioksanie			
1PLABG10W	*47,62*	*47,62*	*4,76*
Kompozyty na bazie 2 [% wag.] roztworu polimeru w 1,4-dioksanie			
2PLA	*100,00*	-	-
2PLABG	*50,00*	*50,00*	-
2PLABG10W	*47,62*	*47,62*	*4,76*
2PLABG20W	*45,45*	*45,45*	*9,10*
2PLABG30W	*43,48*	*43,48*	*13,04*
Kompozyty na bazie 4 [% wag.] roztworu polimeru w 1,4-dioksanie			
4PLA	*100,00*	-	-
4PLABG	*50,00*	*50,00*	-
4PLABG10W	*47,62*	*47,62*	*4,76*
4PLABG50W	*40,00*	*40,00*	*20,00*

4PLA10W	*90,00*	-	*10,00*
4PLA20W	*80,00*	-	*20,00*
4PLA30W	*70,00*	-	*30,00*
4PLA50W	*50,00*	-	*50,00*
4PLA52BG	*48,00*	*52,00*	-
4PLA56BG	*44,00*	*56,00*	-
4PLA60BG	*40,00*	*60,00*	-

Źródło: Opracowanie własne

3.3.1. Przygotowanie dyspersji cząstek stałych

Do roztworu (o stężeniu 1% lub 2% lub 4%) polilaktydu w 1,4-dioksanie dodawano określoną (wg opracowania w tabeli 1) ilość bioszkła i mieszano magnetycznie przez 15 minut 240 obr./min) w celu uzyskania stabilnej dyspersji. Podobnie dodawano określoną (wg opracowania w tabeli 1) ilość włókien apatytowych i mieszano przez 30 min (120 obr./min) w celu uzyskania jednorodnej dyspersji. Dyspersje wylewano do form polietylenowych i poddawano wstępnemu zamrażaniu w -4 °C przez 24 h.

3.3.2. Proces liofilizacji

Otrzymane dyspersje poddawano procesowi liofilizacji obejmującemu zamrażanie i sublimację rozpuszczalnika. Proces prowadzono przez 28 godzin w liofilizatorze 1-16 BETA, Christ. Etap wstępny obejmował zamrożenie do -35°C wstępnie zamrożonych dyspersji. W głównym etapie suszenia poniżej punktu krzepnięcia, rozpuszczalnik był sublimowany pod zmniejszonym ciśnieniem (0,06 kPa). W końcowej fazie suszenia ciśnienie w komorze liofilizatora obniżono do 0,005 kPa.

3.4. Charakterystyka cząstek stałych

Obserwacje morfologii włókien apatytowych prowadzono przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego (Nova NanoSEM 200, FEI). Obserwacje prowadzono w warunkach wysokiej próżni używając detektora ETD przy napięciu wzbudzającym 10 kV.

Skład fazowy włókien apatytowych potwierdzono metodą XRD z zastosowaniem dyfraktometru Bruker-AXS D8 DAVINCI. Dyfraktogramy były rejestrowane w zakresie 4° do 90° kąta 2θ (Cu Kα). Analizę ilościową przeprowadzono metodą Rietvelda z zastosowaniem programu TOPAS v5.

Rozkład ziarnowy cząstek bioszkła BG wykonano laserowym analizatorem uziarnienia firmy Malvern Instruments w zawiesinie wodnej. Jako wynik analizy podano wielkości charakterystyczne d(v,0,1) – wartość wymiaru cząstki, poniżej której występuje 10% obj. populacji cząstek badanej próbki, d(v,0,5) – wartość wymiaru cząstki, poniżej której występuje 50% obj. populacji cząstek badanej próbki, d(v,0,9) – wartość wymiaru cząstki, poniżej której występuje 90% obj. populacji cząstek badanej próbki.

3.5. Charakterystyka kompozytów

Obserwacje mikrostruktury uzyskanych kompozytów prowadzono przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego (Nova NanoSEM 200, FEI) z zastosowaniem detektora ETD przy napięciu wzbudzającym 15 kV. Przed badaniami mikroskopowymi próbki były pokrywane cienką warstwą materiału przewodzącego (film złota 10 nm) przy użyciu napylarki Leica EM SCD500. Dodatkowo za pomocą funkcji

pomiaru i adnotacji na obszarze próbki określano średnią wielkość porów w kompozytach.

Właściwości wytrzymałościowe porowatych kompozytów określano poprzez pomiar wytrzymałości na ściskanie cylindrycznych próbek o wymiarach 10,0 mm średnicy i 12,0 mm wysokości w ilości więcej niż pięć dla każdego rodzaju kompozytu. Badania prowadzono z wykorzystaniem maszyny wytrzymałościowej LR 10K produkcji Lloyd Instruments, o maksymalnym obciążeniu 10 kN i szybkości posuwu głowicy 1 mm/min. Wytrzymałość na ściskanie wyznaczano przez pomiar naprężenia przy odkształceniu równym 10%.

3.6. Ocena biozgodności komórkowej kompozytów polilaktydowych

W celu wykluczenia potencjalnego działania szkodliwego, uzyskane kompozyty zbadano w zakresie aktywności cytotoksycznej względem mysiej linii fibroblastów linii L929 w teście redukcji bromku 3-(4,5-dimetylotiazol-2-ylo)-2,5-difenylotetrazoliowego (MTT) zgodnie z wytycznymi EN ISO 10993-5:2009 (Biologiczna ocena wyrobów medycznych – Część 5: Badania cytotoksyczności *in vitro*). Test cytotoksyczności kontaktowej, rekomendowany przez ww. normę pozwala na określenie żywotności komórek hodowanych w obecności materiału w oparciu o ich aktywność enzymatyczną, która po dodaniu MTT, objawia się utworzeniem nierozpuszczalnych kryształów formazanu. Intensywność barwy koresponduje z poziomem żywotności komórek eksponowanych na kompozyt. Ponadto, w celu zweryfikowania czy wytworzone kompozyty wzbudzają aktywację ludzkich monocytów wykonano uprzednio zoptymalizowane [21,22] przesiewowe badania *in vitro* względem reporterowych komórek linii THP1-Blue™ (Invivogen), których aktywacja (z udziałem powierzchniowych receptorów toll-podobnych (TLR)) skutkuje ekspresją czynnika jądrowego NF-κB (*nuclear factor* – κB) objawiającego się wydzielaniem do środowiska wzrostu fosfatazy alkalicznej, wykrywanej kolorymetrycznie. Oceniane kolorymetrycznie stężenie uwolnionego enzymu jest wprost proporcjonalne do stopnia pobudzenia monocytów i ich gotowości do zainicjowania reakcji zapalnej.

3.6.1. Ocena działania cytotoksycznego kompozytów

Hodowlę fibroblastów prowadzono w podłożu RPMI 1640 z 10% dodatkiem inaktywowanej surowicy cielęcej oraz antybiotykami: penicyliną i streptomycyną (100 μg/ml; 100 IU), w warunkach inkubatora hodowlanego tzn. 37°C, podwyższonej wilgotności i atmosferze wzbogaconej w 5% CO_2. Po 5 dniach hodowli komórek pierwszego pasażu i osiągnięciu konfluencji powyżej 80%, ustalano gęstość i żywotność komórek, doprowadzając zawiesinę do gęstości 5×10^5 kom./ml. Tak przygotowane zawiesiny komórek nanoszono do studzienek płytki 96-dołkowej po 100 μl/studzienkę i inkubowano przez 24 godz. (37°C, 5% CO_2) w celu adhezji do powierzchni naczynia hodowlanego i ponownego utworzenia monowarstw komórkowych. Następnie podłoże znad komórek usuwano i w jego miejsce nanoszono po 100 μl świeżego podłoża i nakładano uprzednio wycięte kompozyty o wielkości zbliżonej do 1/10 powierzchni dna studzienki. Uwzględniano kontrolę żywotności, którą stanowiły hodowle prowadzone w podłożu oraz kontrolę cytotoksyczności zawierającą fibroblasty traktowane 2% roztworem saponiny. Po 24 h inkubacji w odwróconym mikroskopie świetlnym monitorowano stan komórek, a następnie do wszystkich dołków dodawano po 20 μl odczynnika MTT (5 mg/ml) i inkubowano jak wcześniej. W kolejnym etapie płytki wirowano, usuwano supernatant oraz nanoszono po 150 μl alkoholu izopropylowego.

Po 15 min inkubacji w temperaturze pokojowej na kołysce, mierzono absorbancję w czytniku Multiskan EX reader (Thermo Scientific) przy długości fali 560 nm. Doświadczenie powtarzano dwukrotnie z każdorazowym uwzględnieniem czterokrotnych powtórzeń.

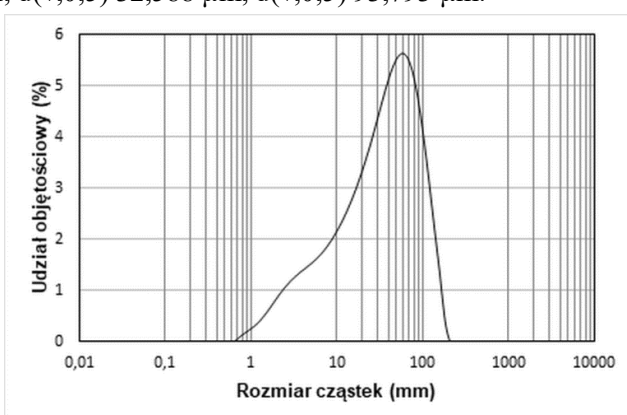
3.6.2. Ocena aktywności pro-zapalnej monocytów THP-1Blue™ hodowanych w środowisku kompozytów

Hodowlę monocytów linii THP-1Blue™ prowadzono w podłożu cRPMI z 10% dodatkiem inaktywowanej surowicy cielęcej oraz antybiotykami: penicyliną/streptomycyną (100 µg/ml; 100 IU), blastocydyną (10 µg/ml) oraz normomycyną (100 µg/ml) w warunkach inkubatora hodowlanego (37°C, 95% wilgotności i atmosferze wzbogaconej w 5% CO_2). Po 5 dniach hodowli weryfikowano gęstość i żywotność zawiesiny monocytów doprowadzając ją do 5×10^5 kom./ml. Następnie zawiesinę komórek nanoszono po 200 µl/studzienkę do 96-dołkowego naczynia hodowlanego i dodawano badane kompozyty o wielkości odpowiadającej 1/10 powierzchni dna studzienki uwzględniając kontrole ujemne: hodowle w samym podłożem hodowlanym oraz kontrole dodatnie: hodowle stymulowane lipopolisacharydem (LPS) *Escherichia coli* O55:B5 w stężeniu 1 µg/ml. Po upływie 4 godz., płytki 96-studzienkowe wirowano (1400 obr./min; 10 min), a następnie z każdej ze studzienek pobierano po 20 µl supernatantu hodowlanego i przenoszono do osobnej płytki zawierającej 180 µl odczynnika do detekcji QuantiBlue™. Po upływie 2 godz., absorbancję mierzono przy długości fali 620 nm za pomocą czytnika Multiskan EXreader (Thermo Scientific). Doświadczenie powtarzano dwukrotnie z każdorazowym uwzględnieniem czterokrotnych powtórzeń.

4. Rezultaty i dyskusja

4.1. Charakterystyka cząstek stałych w postaci ziaren bioszkła

Jako pierwszy rodzaj cząstek stałych, których dodanie do kompozytu miało na celu jego wzmocnienie zastosowano ziarna bioszkła pochodzącego z układu CaO-SiO_2-P_2O_5. Bioszkło o symbolu BG scharakteryzowano pod względem jego uziarnienia (rys. 1), a wartości charakterystyczne rozkładu ziarnowego wynosiły odpowiednio d(v,0,1) 4,204 µm; d(v,0,5) 32,588 µm, d(v,0,5) 93,793 µm.

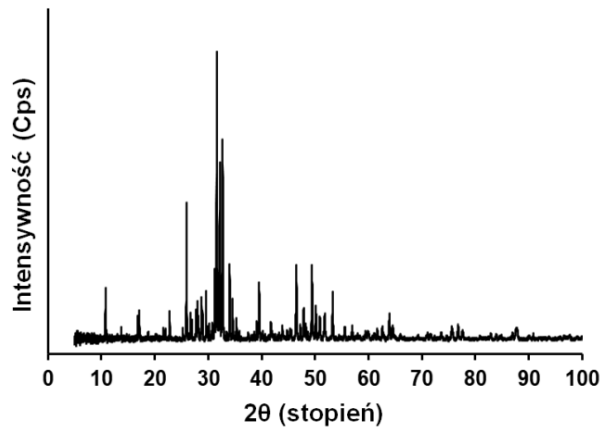


Rysunek 1. Analiza uziarnienia bioszkła BG [Opracowanie własne]

Na podstawie wcześniejszych wyników badań [23] wiadomo, że uziarnienie bioszkła tej wielkości pozwala na otrzymanie regularnych struktur porowatych w kompozytach polilaktydowych.

4.2. Charakterystyka cząstek stałych w postaci włókien apatytowych

Innym rodzajem cząstek stałych, jakie rozpatrywano były cząstki apatytowe w postaci włókien. Włókna zsyntezowano zgodnie z procedurą opracowaną i opisaną wcześniej [19], a skład fazowy wytworzonych włókien potwierdzono metodą XRD (rys. 2, tab. 2).



Rysunek 2. Widmo XRD otrzymanych włókien apatytowych [Opracowanie własne]

Tabela 2. Skład fazowy otrzymanych włókien apatytowych

Skład fazowy włókien [% wag.]	
Hydroksyapatyt $Ca_5(PO_4)_3(OH)$	*71,08±0,17*
Pirofosforan wapnia $Ca_2P_2O_7$	*13,43±0,15*
Whitlockit $Ca_3(PO_4)_2$	*15,49±0,14*

Źródło: Opracowanie własne

Jak wynika z tabeli 2, otrzymane włókna charakteryzują się wysoką zawartością hydroksyapatytu, którego skład fazowy jest bardzo zbliżony do apatytu wchodzącego w skład tkanki kostnej. Można założyć zatem, że włókna te będą wykazywać pełną biotolerancję w środowisku tkankowym. Zsyntezowane włókna zawierają też pirofosforan wapnia i ortofosforan wapnia (whitlockit), które według danych literaturowych posiadają zdolność tworzenia trwałego i silnego połączenia z kością [24-26]. Wykazują ponadto większą szybkość degradacji, aniżeli uznawany za niebiodegradowalny hydroksyapatyt, co wskazuje na możliwość uzyskiwania biomateriału o kontrolowanej szybkości resorpcji [27, 28]. Otrzymane trójfazowe włókna apatytowe mogą stanowić obiecujący materiał wzmacniający dla polimerowych kompozytów biodegradowalnych dla regeneracji tkanki kostnej.

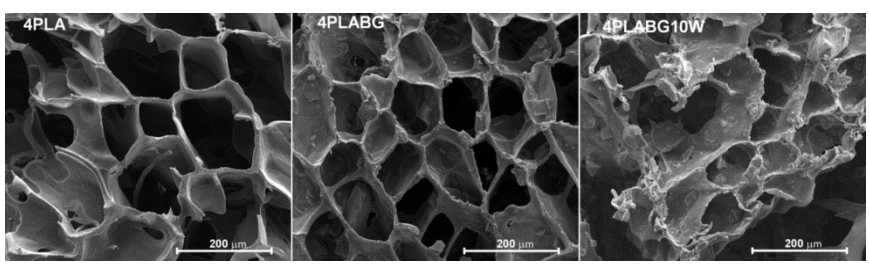
Mikrostrukturę włókien potwierdzono metodą SEM (rys. 3). Długość włókien zawiera się w granicach: 10-30 μm, a szerokość włókien wynosi: 1-3 μm. Według Malicka [29] dużą rolę we wzmacnianiu kompozytów materiałami włóknistymi odgrywa stosunek długości do średnicy włókna. Przyjmuje się, że im stosunek ten jest większy, tym włókno wykazuje większą zdolność do wzmacniania kompozytu. Biorąc pod uwagę powyższe dane literaturowe oraz wymiary uzyskanych włókien apatytowych, obiecującym wydało się zastosowanie tych włókien jako czynnika wzmacniającego kompozyty polimerowe.

Rysunek 3. Obraz SEM włókien apatytowych [Opracowanie własne]

4.3. Charakterystyka kompozytów porowatych z udziałem cząstek stałych

4.3.1. Mikrostruktura i porowatość

Dla otrzymanych kompozytów porowatych wykonano zdjęcia SEM i porównano mikrostrukturę kompozytów różniących się rodzajem cząstek stałych. Rysunek 4 przedstawia obrazy struktur porowatych otrzymanych z: roztworu samego polilaktydu (4PLA), dyspersji bioszkła w roztworze polimeru (4PLABG) i dyspersji bioszkła i włókien apatytowych w roztworze polimeru (4PLABG10WM). Średnie wielkości porów wynosiły odpowiednio: 166,25 μm dla 4PLA, 146,58 μm dla 4PLABG i 105,47 μm dla 4PLABG10W.

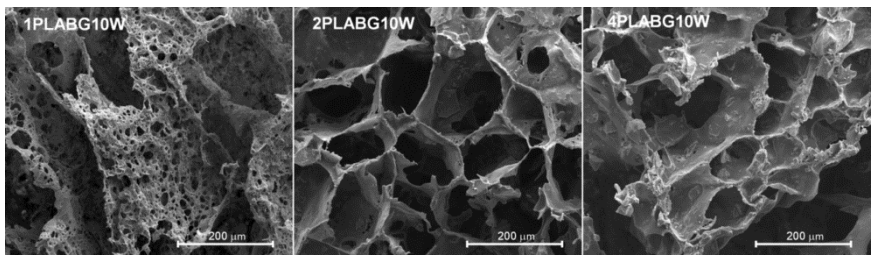


Rysunek 4. Obrazy SEM struktur porowatych otrzymanych z: roztworu polilaktydu o stężeniu 4% (4PLA), dyspersji bioszkła w roztworze polilaktydu o stężeniu 4% (4PLABG) i dyspersji bioszkła z dodatkiem włókien apatytowych w ilości 10% w stosunku do ilości bioszkła w roztworze polilaktydu o stężeniu 4% (4PLABG10W) [Opracowanie własne]

Jak można zaobserwować, pory w kompozycie niemal w całości są otwarte, dzięki czemu obecne są wewnętrzne połączenia między porami, odpowiedzialne za dobrą penetrację komórek, wrastanie tkanki, szybką waskularyzację i łatwość dostarczania

substancji odżywczych w implancie. Wraz z dodatkiem do kompozycji cząstek stałych, wielkość porów ulega niewielkiemu zmniejszeniu. Uzyskiwanie porów o mniejszych rozmiarach w przypadku dodawania większej ilości cząstek stałych do dyspersji o takich samych stężeniach może być spowodowana działaniem cząstek jako zarodników krystalizacji na etapie zamrażania dyspersji w procesie liofilizacji. W efekcie tego powstaje więcej porów o mniejszych rozmiarach. Zaobserwowano również, że włókna apatytowe w porowatej strukturze kompozytu umiejscowione były głównie w ścianach pomiędzy porami.

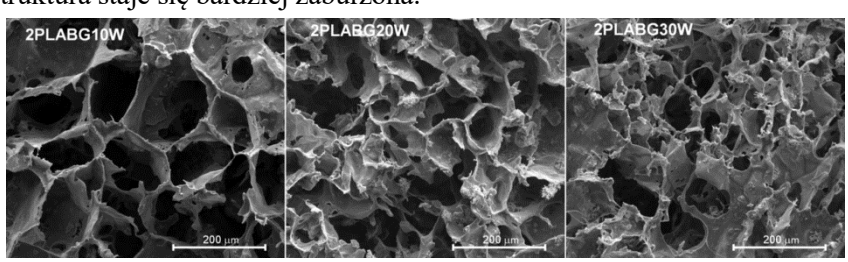
Dla kompozytów zawierających w składzie zarówno ziarna bioszkła, jak i włókna apatytowe, zbadano zależność mikrostruktury od wyjściowego stężenia polimeru (rys. 5).



Rysunek 5. Obrazy SEM kompozytów porowatych otrzymanych z: dyspersji bioszkła z dodatkiem włókien apatytowych w ilości 10% w stosunku do ilości bioszkła w roztworach polilaktydu o stężeniu 1%, 2% i 4% [Opracowanie własne]

Zwiększenie wyjściowego stężenia roztworu polimeru z 1% na 2% i na 4%, powoduje otrzymanie kompozytów porowatych o strukturze bardziej regularnej, w której pory są lepiej wykształcone. W przypadku kompozytów na bazie 1% roztworu polimeru poza dużymi porami o wielkościach 80-200 µm, wyraźnie widoczne są małe pory o wielkości 1-10 µm umiejscowione w ścianach większych porów. Są to bardzo ważne połączenia między porami, gdyż mogą być odpowiedzialne za efektywność dostarczania substancji odżywczych w całej objętości implantu. Mogą powodować też lepszą adsorpcję protein odpowiedzialnych za indukowanie kościotworzenia oraz lepszą wymianę jonową, która wpływa na szybkość narastania apatytu [30].

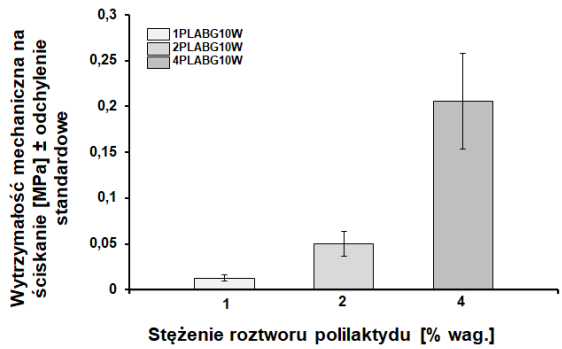
Dodatkowo dla kompozytów uzyskanych na bazie 2% roztworów polilaktydu porównano wpływ zawartości włókien apatytowych na mikrostrukturę (rys. 6). Zauważyć można, że im większy dodatek włókien apatytowych w kompozycie, tym mikrostruktura staje się bardziej zaburzona.



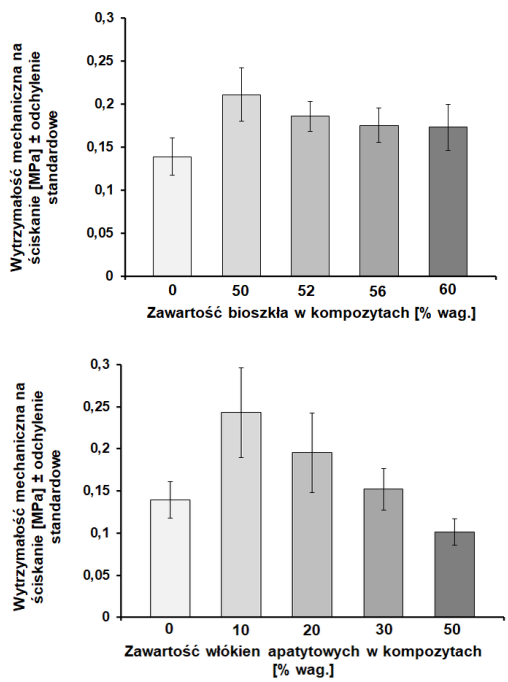
Rysunek 6. Obrazy SEM kompozytów porowatych otrzymanych z: dyspersji bioszkła z dodatkiem włókien apatytowych w ilości 10%, 20% i 30% w stosunku do bioszkła w roztworach polilaktydu o stężeniu 2% [Opracowanie własne]

4.3.2. Właściwości wytrzymałościowe

Właściwości mechaniczne liofilizowanych rusztowań są zwykle mierzone w trybie ściskania w obszarze sprężystym krzywej naprężenie-odkształcenie dla określonej wartości odkształcenia [31]. Uzyskane kompozyty scharakteryzowane zostały pod względem wytrzymałości na ściskanie przy granicy odkształcenia równej 10%. Określony został wpływ stężenia wyjściowego roztworu polimeru oraz ilości i rodzaju cząstek stałych na właściwości wytrzymałościowe kompozytów. Otrzymane wyniki przedstawiono na rysunkach 7-9.



Rysunek 7. Wpływ stężenia roztworu polilaktydu na wytrzymałość mechaniczną na ściskanie [Opracowanie własne]

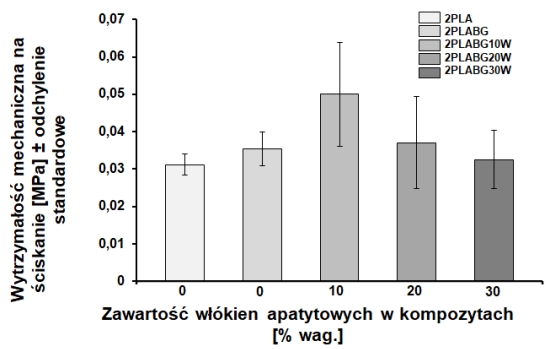


Rysunek 8. Wpływ zawartości wypełniacza w kompozytach na bazie 4% roztworów polilaktydu na wytrzymałość mechaniczną na ściskanie [Opracowanie własne]

Największą wytrzymałością na ściskanie charakteryzują się rusztowania porowate otrzymane na bazie roztworu o największym z badanych stężeniu polimeru (rys. 7).

Dla kompozytów na bazie 4% roztworów polilaktydu porównano wpływ dodatku włókien apatytowych i dodatku ziaren bioszkła na poprawę właściwości wytrzymałościowych (rys. 8). Zaobserwowano, że dodatek cząstek stałych powoduje wzrost wytrzymałości na ściskanie zarówno kompozytów z ziarnami bioszkła, jak i z włóknami apatytowymi. Wzrost ten następuje jednak do pewnej granicy zawartości cząstek stałych. Dalszy ich dodatek powoduje sukcesywny spadek wytrzymałości mechanicznej. Dla kompozytów w dodatkiem włókien apatytowych, granica po której wytrzymałość na ściskanie spada, występuje przy zawartości 10% wag. włókien. Podobną wartość wytrzymałości na ściskanie dla kompozytów z ziarnami bioszkła można uzyskać dla zawartości bioszkła równej 50% wag. Oznacza to, że znacznie mniejsza ilość włókien apatytowych, aniżeli ziaren bioszkła wystarcza do poprawienia właściwości wytrzymałościowych porowatych kompozytów polilaktydowych. Jednakże przekroczenie granicznej zawartości 10% wag. włókien apatytowych powoduje dużo większy spadek wytrzymałości mechanicznej kompozytów, aniżeli przekroczenie zawartości 50% wag. ziaren bioszkła.

Wynik i obserwację o granicznej wartości dodatku cząstek stałych przy której wytrzymałość mechaniczna kompozytu jest największa potwierdziły kolejne badania wytrzymałości na ściskanie przeprowadzone dla kompozytów na bazie 2% roztworu polilaktydu o składzie wyjściowym polimer/ziarna bioszkła równym 1:1 i zwiększającym się dodatku włókien apatytowych (rys. 9). Podobnie jak w przypadku kompozytów z dodatkiem samych włókien, wytrzymałość na ściskanie była największa dla 10% wag. dodatku włókien, a potem wraz ze wzrostem ilości dodawanych włókien malała.

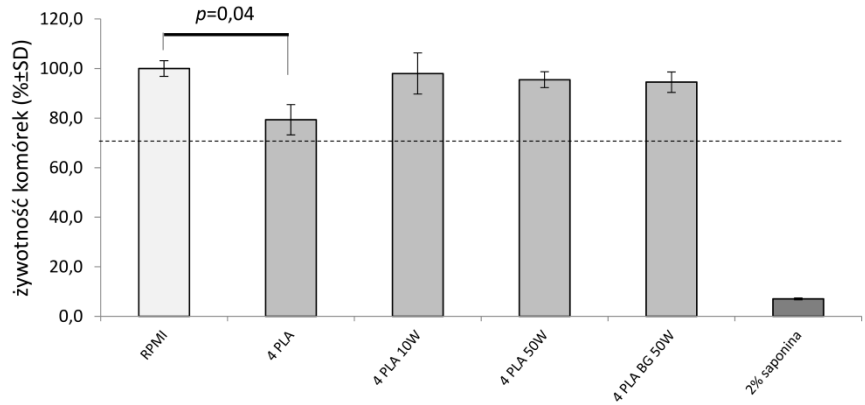


Rysunek 9. Wpływ zawartości włókien apatytowych na wytrzymałość mechaniczną na ściskanie [Opracowanie własne]

4.3.3. Biozgodność kompozytów oceniana na modelach komórkowych *in vitro*

4.3.3.1. Działanie cytotoksyczne

Zgodnie ze standardami ujętymi w normie ISO 10993-5:2009 Biologiczna ocena wyrobów medycznych – Część 5: Badania cytotoksyczności *in vitro*, kompozyt do zastosowań biomedycznych spełnia kryterium biozgodności w zakresie cytotoksyczności, jeśli żywotność komórek eksponowanych na biomateriał nie spada poniżej 70%.



Rysunek 10. Żywotność fibroblastów mysich L929 po 24 godz. inkubacji z kompozytami (4PLA, 4PLA10W, 4PLA50W, 4PLABG50W) oceniana w teście redukcji MTT, względem hodowli nietraktowanej (RPMI) i uwzględnieniem kontroli cytotoksyczności – hodowli komórek traktowanych 2% roztworem saponiny) [Opracowanie własne]

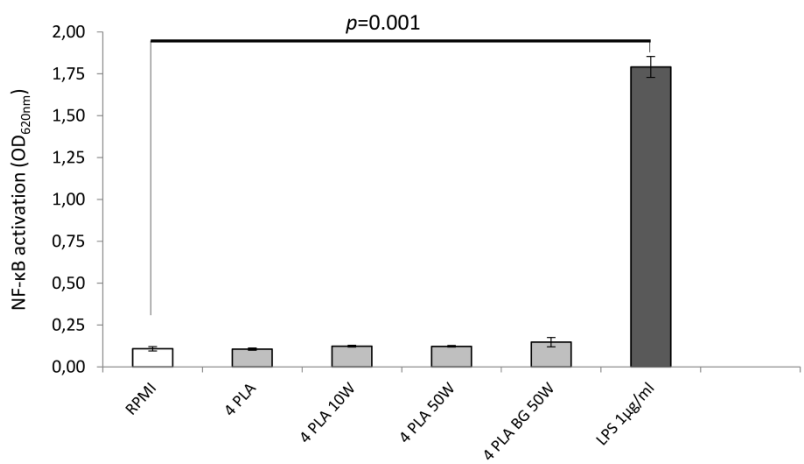
Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że wszystkie badane kompozyty niezależnie od zawartości polilaktydu, włókien apatytowych oraz bioszkła spełniają powyższe kryterium (rys. 10). Ponadto, kompozyt uzyskany na bazie 4% roztworu polilaktydu w 1,4-dioksanie bez dodatku włókien apatytowych lub bioszkła spowodował istotne obniżenie żywotności komórek w porównaniu do hodowli nietraktowanej (79,4 ± 6,1% vs 100 ± 3,1% p = 0,04), co może sugerować lepszą biokompatybilność kompozytów wzbogacanych włóknami apatytowymi i bioszkłem. Chen i wsp. w badaniach semi-biologicznych prowadzonych w roztworach symulujących płyny ustrojowe wykazali, że polilaktydowe kompozyty do zastosowań kostnych modyfikowane bioszkłem wykazują lepszą stabilność i dynamikę degradacji wspierającą regenerację tkanki kostnej [32]. Korzystny wpływ bioszkła na proces regeneracji został potwierdzony w kompleksowych badaniach *in vitro* i *in vivo*, w których na modelu mysim (CD-1) wykazano, że implantacja kompozytów wzbogaconych BG wspiera proces kostnienia i unaczyniania [33]. Badania innych autorów sugerują, że kompozyty wytwarzane na bazie bioszkła modyfikowane włóknami polilaktydowymi wspierają tworzenie hydroksyapatytu i procesy biomineralizacji [34]. Obserwowana w prezentowanych badaniach biokompatybilność komórkowa kompozytów polilaktydowych z bioszkłem i włóknami apatytowymi oraz przytoczone wyniki badań innych autorów sugerują, że zawartość w materiałach obu rozpatrywanych wypełniaczy może wywrzeć synergistyczny efekt w zakresie biomineralizacji, kostnienia i waskularyzacji tkanki kostnej.

4.3.3.2. Działanie pro-zapalne

Procesy regeneracji tkanek, w tym regeneracja uszkodzeń kostnych jest złożonym procesem związanym z remodelingiem tkanki, pobudzeniem mechanizmów eliminacji komórek martwych i uszkodzonych (fagocytoza), procesami regeneracji i proliferacji komórek kościotwórczych [35]. Wyniki badań ostatnich lat potwierdzają udział

monocytów i makrofagów we wszystkich powyższych etapach. W warunkach fizjologicznych monocyty krwi obwodowej, już na kilka minut po wystąpieniu uszkodzenia migrują do tkanek i tam różnicują się do makrofagów, które wspierają procesy regeneracji i gojenia [2,3]. Obecność czynników zakaźnych, endotoksyn bakteryjnych, środowisko cytokinowe oraz specyfika kompozytów zastosowanych do regeneracji tkanki kostnej może wzbudzać patologiczną reakcję monocytów i ich ukierunkowanie z fenotypu regeneracyjnego (M2) do prozapalnego (M1) charakteryzującego się m.in. aktywacją czynnika transkrypcyjnego NF-κB oraz uwalnianiem cytokin prozapalnych tj. interleukiny (IL)-1, czynnika martwicy guza TNF (tumor necrosis factor). Profilowanie monocytów do fenotypu prozapalnego skutkuje patologiczną reakcją zapalną prowadzącą do wysięku ropnego i postępującej destrukcji tkanek [3, 4].

Model *in vitro* komórek THP-1Blue™ zastosowany w niniejszych badaniach pozwala na przesiewowe określenie, zarówno potencjału prozapalnego kompozytu, jak i obecności endotoksyn bakteryjnych, których stężenie w wyrobach medycznych mających kontakt z krwią, nie powinna przekraczać 0,25 IU/ml (~10 pg/ml). Wykazano, że uzyskane polilaktydowe kompozyty zawierające bioszkło i/lub włókna apatytowe nie wzbudzają aktywacji czynnika NF-κB. Aktywność monocytów hodowanych w obecności kompozytów 4PLA, 4PLA10W, 4PLA50W, 4PLABG50W, pozostawała na poziomie fizjologicznym (komórek nietraktowanych) (0,108 ± 0,013) i wynosiła odpowiednio 0,106 ± 0,013; 0,124 ± 0,006; 0,123 ± 0,005; 0,147 ± 0,005. Podczas gdy endotoksyna *E. coli* (znany aktywator czynnika NF-κB) istotnie pobudziła monocyty THP-1Blue™ (1,792 ± 0,062), w porównaniu do kontroli nietraktowanej (0,108 ± 0,013) (rys. 11). Brak pobudzenia monocytów do wydzielania cytokin prozapalnych w odpowiedzi na badane biokompozyty jest cechą pożądaną w odniesieniu do możliwości przyszłego ich zastosowania w medycynie regeneracyjnej. Wskazuje ponadto na brak lub znikomą zawartość endotoksyn bakteryjnych, która dla wyrobów medycznych mających kontakt z krwią wynosi <0,5 EU/ml.



Rysunek 11. Aktywacja monocytów hodowanych przez 24 godz. w obecności kompozytów (4PLA, 4PLA10W, 4PLA50W, 4PLABG50W) oceniana w oparciu o aktywację czynnika jądrowego NF-κB (*nucler factor-κB*) z uwzględnieniem hodowli nietraktowanej (RPMI) i hodowli traktowanej LPS *Escherichia coli* (*E. coli*) [Opracowanie własne]

5. Wnioski

Opracowane i wytworzone porowate biokompozyty na bazie polilaktydu z udziałem cząstek stałych w postaci włókien apatytowych i/lub ziaren bioszkła mogą stanowić obiecujący materiał do zastosowania jako implanty ubytków kostnych.

Otrzymane kompozyty charakteryzowały się odpowiednią mikrostrukturą do stworzenia dobrych warunków dla regeneracji tkanki kostnej. Uzyskane rusztowania posiadały pory otwarte o średniej wielkości przekraczającej 100 μm, co powinno zapewnić dobrą penetrację komórek, wrastanie tkanki, szybką waskularyzację i łatwość dostarczania substancji odżywczych. Zastosowane cząstki stałe jako wypełniacze zwiększały wytrzymałość kompozytów, w zależności od ich rodzaju i zawartości.

Ocena aktywności cytotoksycznej względem mysiej linii fibroblastów testem MTT oraz ocena aktywności pro-zapalnej wykazała, że wszystkie badane kompozyty niezależnie od zawartości polilaktydu, włókien apatytowych oraz bioszkła spełniały normowe kryterium biozgodności na poziomie *in vitro* i mogą być zakwalifikowane do dalszych, bardziej kompleksowych badań komórkowych w zakresie aktywności kościotwórczej i waskularyzacji oraz badań *in vivo*.

Podziękowania

Projekt „Wielofunkcyjne kompozyty aktywne biologicznie do zastosowań w medycynie regeneracyjnej układu kostnego” (POIR.04.04.00-00-16D7/18) jest realizowany w ramach programu TEAM-NET Fundacji na rzecz Nauki Polskiej finansowanego przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego.

Literatura

1. PN-EN ISO 10993-5:2009 Biologiczna ocena wyrobów medycznych – Część 5: Badania cytotoksyczności *in vitro*.
2. Wynn T.A., Vannella K.M., *Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis*, Immunity, 44(3), 2016, s. 450-462. doi:10.1016/j.immuni.2016.02.015. PMID: 26982353; PMCID: PMC4794754.
3. Mantovani A., Sozzani S., Locati M., Allavena P., Sica A., *Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes*, Trends in Immunology, 23(11), 2002, s. 549-55. doi:10.1016/s1471-4906(02)02302-5. PMID: 12401408.
4. Ogle M.E., Segar C.E., Sridhar S., Botchwey E.A., *Monocytes and macrophages in tissue repair: Implications for immunoregenerative biomaterial design*, Experimental Biology and Medicine, 241(10), 2016, s. 1084-97. doi: 10.1177/1535370216650293. PMID: 27229903; PMCID: PMC4898192.
5. Kim B.S., Park I.K., Hoshiba T., Jiang H.L., Choi Y.J., Akaike T., Cho C.S., *Design of artificial extracellular matrices for tissue engineering*, Prog Polym Sci. 36, 2011, s. 238-268.
6. Bose S., Roy M., Bandyopadhyay A., *Recent advances in bone tissue engineering scaffolds*, Trends in Biotechnology, 30(10), 2012, s. 546-554.
7. Maquet L.V., Boccaccini A.R., Pravata L., Notingher I., Jérôme R., *Preparation, characterization, and in vitro degradation of bioresorbable and bioactive composites based on Bioglass-filled polylactide foams*, Journal of Biomedical Materials Research Part A, 662), 2003, s. 335-46. doi: 10.1002/jbm.a.10587.

8. Delabarde C., Plummer C.J.G., Bourban P., Månson A.E., *Biodegradable polylactide/hydroxyapatite nanocomposite foam scaffolds for bone tissue engineering applications*, Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 23, 2012, s. 1371-1385.
9. Kasuga T., Ota Y., Nogami M., Abe Y., *Preparation and mechanical properties of polylactic acid composites containing hydroxyapatite fibers*, Biomaterials, 22, 2001, s. 19-23.
10. Zhou F., Qingling F., *Improved mechanical properties of hydroxyapatite whisker-reinforced poly(l-lactic acid) scaffold by surface modification of hydroxyapatite*, Materials Science and Engineering: C, 35, 2014, s. 190-194.
11. Wu H., Pang D., Ma C., Li Q., Xiong C., *Composites of hydroxyapatite whiskers poly(L-lactide-co-glycolide) with high tensile plasticity*, Journal of Macromolecular Science, Part B Physics, 51, 2011, s. 1242-1255.
12. Dorozhkin S.V., *Calcium orthophosphate-based bioceramics*, Materials (Basel), 6(9), 2013, s. 3840-3942, https://doi.org/10.3390/ma6093840.
13. Best S.M., Porter A.E., Thian E.S., Huang J., *Bioceramics: Past, present and for the future*, Journal of the European Ceramic Society, 28(7), 2008, s. 1319-1327.
14. Roeder R.K., Converse G.L., Kane R.J., Yue W., *Hydroxyapatite-reinforced polymer biocomposites for synthetic bone substitutes*, JOM, 60(3), 2008, s. 38-45.
15. Mendelson B.C., Jacobson S.R., Lavoipierre A.M., Huggins R.J., *The fate of porous hydroxyapatite granules used in facial skeletal augmentation*, Aesthetic Plastastic Surgery, 34(4), 2010, s. 455-461.
16. Martz E.O., Goel V.K., Pope M.H., Park J.B., *Materials and design of spinal implants – A review*, Journal of Biomedical Materials Research, 38(3), 1997, s. 267-288.
17. Hench L.L., Polak J.M., *Third-generation biomedical materials*, Science, 295(5557), 2002, s. 1014-7. doi:10.1126/science.1067404.
18. Tas A.C., *Formation of calcium phosphate whiskers in hydrogen peroxide (H2O2) solutions at 90°C,* Journal of American Ceramic Society, 90, 2007, s. 2358-2362. doi:10.1111/j.1551-2916.2007.01768.x.
19. Biernat M., Jaegermann Z., Tymowicz-Grzyb P., Konopka G., *Influence of low-temperature reaction time on morphology and phase composition of short calcium phosphate whiskers*, Processing and Application of Ceramic, 13, 2019, s. 57-64. doi:10.2298/pac1901057b.
20. Saravanapavan P., Hench L.L., *Low-temperature synthesis, structure, and bioactivity of gel-derived glasses in the binary $CaOSiO_2$ system*, Journal of Biomedical Materials Research Part A, 54, 2001, s. 608-618.
21. Gazińska M., Krokos A., Kobielarz M., Włodarczyk M., Skibińska P., Stępak B., Antończak A., Morawiak M., Płociński P., Rudnicka K., *Influence of hydroxyapatite surface functionalization on thermal and biological properties of poly(l-Lactide)- and poly(l-Lactide-co-glycolide)-based composites*, Int J Mol Sci, 21(18), 2020, s. 6711. doi: 10.3390/ijms21186711.
22. Florkiewicz W., Malina D., Pluta K., Rudnicka K., Gajewski A., Olejnik E., Tyliszczak B., Sobczak-Kupiec A., *Assessment of cytotoxicity and immune compatibility of phytochemicals-mediated biosynthesised silver nanoparticles using Cynara scolymus*, IET Nanobiotechnol, 13(7), 2019, s. 726-735. doi: 10.1049/iet-nbt.2018.5357.
23. Ciołek L., Biernat M., Jaegermann Z., Tymowicz-Grzyb P., Taźbierski P., Jastrzębska A., Olszyna A., *Controlling the microstructure of lyophilized porous biocomposites by the addition of ZnO-doped bioglass*, International Journal of Applied Ceramic Technology, 14, 2017, s. 1107-1116. https://doi.org/10.1111/ijac.12739.
24. Sun J.S., Huang Y.C., Tsuang Y.H., Chen L.T., Lin F.H., *Sintered dicalcium pyrophosphate increases bone mass in ovariectomized rats*, Journal of Biomedical Materials Research, 592), 2002, s. 246-253.

25. Kitsugi T., Yamamuro T., Nakamura T., Kotani S., Kokubo T., Takeuchi H., *Four calcium phosphate ceramics as bone substitutes for non-weight-bearing*, Biomaterials, 14(3), 1993, s. 216-224.
26. Grover L.M., Wright A.J., Gbureck U., Bolarinwa A., Song J., Liu Y., Farrar D.F., Howling G., Rose J., Barralet J.E., *The effect of amorphous pyrophosphate on calcium phosphate cement resorption and bone generation*, Biomaterials, 3428), 2013, s. 6631-6637.
27. Jensen S.S., Broggini N., Hjorting-Hansen E., Buser D., *Bone healing and graft resorption of autograft, anorganic bovine bone and β-tricalcium phosphate. A histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs*, Clinical Oral Implants Research, 17(3), 2006, s. 237-243.
28. Lu J., Descamps M., Dejou J., Koubi K., Hardouin P., Lemaitre J., Proust J.P., *The biodegradation mechanism of calcium phosphate biomaterials in bone*, Journal of Biomedical Materials Research, 63(4), 2002, s. 408-412. doi: 10.1002/jbm.10259.
29. Mallick P.K., *Fiber-Reinforced composites, Materials, Manufacturing and Design* 3rd ed., CRC Press, Taylor & Francis Group, LLC, 2007
30. Yuan H., Kurashina K., de Bruijn J.D., Li Y., de Groot K., Zhang X., *A preliminary study on osteoinduction of two kinds of calcium phosphate ceramics*, Biomaterials, 20(19), 1999, s. 1799-806.
31. Basha R.Y., Sampath Kumar T.S., Doble M., *Design of biocomposite materials for bone tissue regeneration*, Materials Science Engineering Part C, 57, 2015, s. 452-463.
32. Chen Q.Z., Blaker J.J., Boccaccini A.R., *Bioactive and mechanically strong Bioglass-poly(D,L-lactic acid) composite coatings on surgical sutures*, Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials, 762), 2006, s. 354-6, doi: 10.1002/jbm.b.30379. PMID: 16161126.
33. Barbeck M., Serra T., Booms P., Stojanovic S., Najman S., Engel E., Sader R., Kirkpatrick C.J., Navarro M., Ghanaati S., *Analysis of the in vitro degradation and the in vivo tissue response to bi-layered 3D-printed scaffolds combining PLA and biphasic PLA/bioglass components – Guidance of the inflammatory response as basis for osteochondral regeneration*, Bioactive Materials, 2(4), 2017, s. 208-223. doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.06.001. PMID: 29744431; PMCID: PMC5935508.
34. Xie L., Yu H., Yang W., Zhu Z., Yue L., *Preparation, in vitro degradability, cytotoxicity, and in vivo biocompatibility of porous hydroxyapatite whisker-reinforced poly(L-lactide) biocomposite scaffolds*, Journal Biomaterials Science Polymer Edition, 27(6), 2016, s. 505-528. doi: 10.1080/09205063.2016.1140613. Epub 2016 Feb 12. PMID: 26873015.
35. Soltan M., Rohrer M.D., Prasad H.S., *Monocytes: super cells for bone regeneration*, Implant Dentistry, 21(1), 2012, s. 13-20. doi: 10.1097/ID.0b013e31823fcf85. PMID: 22214990.

Porowate biokompozyty na bazie polilaktydu z udziałem cząstek stałych, jako materiały do regeneracji kości

Streszczenie

Biomateriały dla medycyny regeneracyjnej powinny wspomagać przebieg procesów fizjologicznych I wykazywać biozgodność. Kryterium biozgodności *in vitro* uwzględnia przede wszystkim żywotność komórek pozostających w bezpośrednim kontakcie z implantem. Materiałem dla regeneracji kości mogą być porowate rusztowania kompozytowe. Idealne rusztowanie w inżynierii tkanki kostnej powinno posiadać odpowiednią dla wzrostu *in vivo* tkanek otwartą porowatość i dostateczną wytrzymałość mechaniczną. W celu zwiększenia wytrzymałości mechanicznej kompozytów stosuje się najczęściej wypełniacze w postaci cząstek stałych.

Celem pracy było przedstawienie wpływu dwóch rodzajów cząstek stałych (bioszkła, włókna apatytowe) na mikrostrukturę, właściwości wytrzymałościowe oraz cytotoksyczność kompozytów porowatych na bazie polilaktydu.

Kompozyty wzbogacone o takie cząstki wytworzono metodą liofilizacji. Mikrostrukturę uzyskanych kompozytów oceniono metodą SEM. Wytrzymałość mechaniczną na ściskanie określono z użyciem maszyny wytrzymałościowej Lloyd Instruments. Następnie dokonano oceny aktywności cytotoksycznej względem mysiej linii fibroblastów testem MTT oraz oceniono aktywność pro-zapalną.
Uzyskano kompozyty posiadające pory otwarte o średniej wielkości przekraczającej 100 μm. Wykazano, że zastosowane wypełniacze w postaci ziaren bioszkła i/lub włókien apatytowych wpływały na podniesienie wytrzymałości mechanicznej wytworzonych kompozytów, w zależności od ich rodzaju i zawartości. Wszystkie badane kompozyty niezależnie od zawartości polilaktydu, włókien apatytowych oraz bioszkła spełniały kryterium biozgodności w zakresie cytotoksyczności oraz nie pobudzały reakcji zapalnej monocytów, w przesiewowym teście z użyciem linii THP1Blue™.
Opracowane porowate biokompozyty na bazie polilaktydu z udziałem cząstek stałych mogą stanowić obiecujący materiał do zastosowania jako implanty ubytków kostnych.
Słowa kluczowe: kompozyt, włókna apatytowe, bioszkło, morfologia, biozgodność

Porous biocomposites based on polylactide with solid particles, as materials for bone regeneration

Abstract
Biomaterials intended for regenerative medicine should support the physiological processes and exhibit biocompatibility. The *in vitro* biocompatibility criterion corresponds with the viability of cells remaining in direct contact with the implant. Porous composite scaffolds are considered as promising candidates as a materials for bone regeneration. An ideal scaffold for bone tissue engineering should have an open porosity suitable for *in vivo* growth of tissues and sufficient mechanical strength. In order to increase the mechanical strength of composites, solid particulate fillers are most often used.
The aim of the study was to present the effect of two types of solid particles (bioglass, apatite whiskers) on the microstructure, strength properties and cytotoxicity of porous composites based on polylactide.
Composites enriched with such particles were prepared by lyophilization. The microstructure of the obtained composites was assessed by the SEM. The compressive strength was determined using a Lloyd Instruments testing machine. Next, the cytotoxic activity against the murine fibroblast line was assessed with the MTT reduction assay according to ISO 10993-5:2009 and the pro-inflammatory activity was assessed in the THP1Blue™.
Composites with open pores with an average size exceeding 100 μm were obtained. It was shown that the applied fillers in the form of bioglass grains and/or apatite whiskers increased the mechanical strength of the produced composites, depending on their type and content. All tested composites, regardless of the content of polylactide, apatite whiskers and bioglass, met the criterion of biocompatibility in terms of cytotoxicity and immune responses of monocytes
The developed porous biocomposites based on polylactide with the solid particles participation may be a promising material for use as implants of bone defects.
Keywords: composite, apatite whiskers, bioglass, morphology, biocompatibility

Anna Skrzypek[1], Patryk Szymaszek[2]

Badania przydatności nowych sond fluorescencyjnych do analizy kinetyki on-line oraz *in-situ* procesów fotopolimeryzacji

1. Wprowadzenie

Metody i techniki badawcze w ostatnich latach nabierają coraz większego znaczenia w różnych dziedzinach nauki. W badaniach nad otrzymaniem nowych materiałów warto zwrócić uwagę na metody biologii molekularnej, które poprzez zastosowanie odpowiedniej technologii umożliwiają poznanie i obserwację procesów biologicznych [1].

Istotą biologii molekularnej jest użycie sond molekularnych, które powszechnie znajdują zastosowanie w śledzeniu aktywności komórek, diagnostyce medycznej oraz monitorowaniu zmian środowiska. Ich działanie polega na wykorzystaniu zjawiska fluorescencji w konsekwencji zachodzących zmian fizyko-chemicznych otoczenia. Dziedzina nauki zwana fotochemią polimerów z powodzeniem wykorzystuje zjawisko luminescencji sond. Zastosowanie w chemii polimerów technologii FPT umożliwia jej wykorzystanie do monitorowania postępu procesów polimeryzacji i fotopolimeryzacji, ale również do wnikliwej obserwacji surowców stosowanych do produkcji powłok polimerowych. Obecność chromoforu w obrębie cząsteczki umożliwia przekazanie sygnału elektromagnetycznego. Co oznacza, że jest to grupa posiadająca zdolność do absorbowania energii o odpowiedniej długości fali, a później do emisji promieniowania w innej długości fali [2].

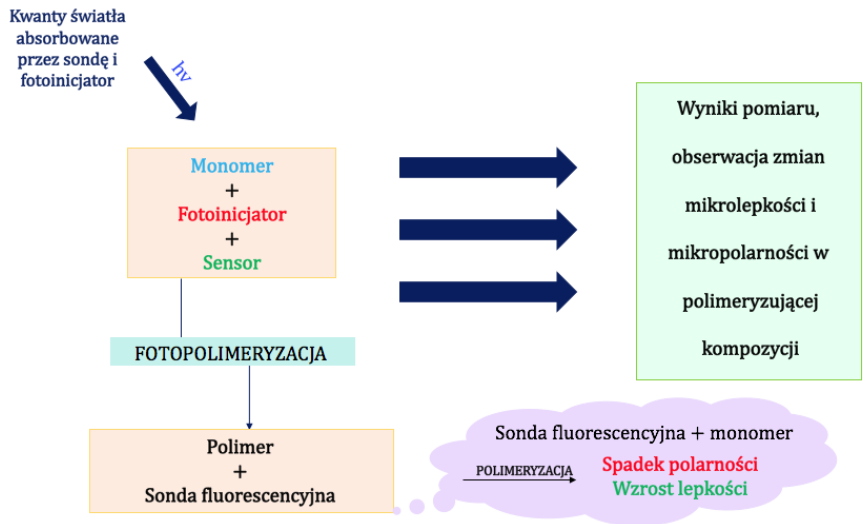
W niniejszym artykule do roli molekularnej sondy fluorescencyjnej wybrano pochodną 2-amino-6-[4-(dimetyloamino)fenylo]-4-fenylo-pirydyno-3-karbonitrylu. Zainteresowanie tą pochodną wynika ze względu na jej zdolność do emisji fluorescencji w zakresie widzialnym oraz wysoką fotostabilność oraz tanią i nieskomplikowaną metodę syntezy.

2. Technologia FPT – *Fluorescence Probe Technology*

Technologia FPT polega na zastosowaniu fluorescencyjnych sond molekularnych, które reagują na zmiany zachodzące w ich mikrootoczeniu. Jej podstawą jest pomiar zmian charakterystyki fluorescencji sondy w miarę zmian otaczającego ją środowiska [1]. Istotną cechą wyróżniającą technologie fluorescencyjnych sond molekularnych jest krótki czas trwania badania, co było niemożliwe do zrealizowania przez tradycyjne metody spektroskopii w podczerwieni tj. FTIR, real-time FT-IR oraz ATR-IR.

[1] skrzypek.anna147@gmail.com, Katedra Biotechnologii i Chemii Fizycznej, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki, ul. Warszawska 24, 31-155 Kraków.

[2] szymaszek.patryk@gmail.com, Katedra Biotechnologii i Chemii Fizycznej, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki, ul. Warszawska 24, 31-155 Kraków.



Rysunek 1. Zasada działania technologii [3]

Pod wpływem naświetlania kompozycji składającej się z monomeru, fotoinicjatora oraz sensora fluorescencyjnego, światłem o długości fali, które sonda absorbuje, cząsteczki sensora ulegają wzbudzeniu na wyższy poziom energetyczny (rys. 1). W wyniku wzbudzenia elektronowego cząsteczki sondy ulegają relaksacji tworząc w stanie wzbudzonym odpowiedni energetycznie konformer. Sondy molekularne wykorzystywane do badań przeważnie reagują na zmiany mikrolepkości lub mikropolarności otoczenia i dzięki temu zachowują się jak czujniki molekularne. Konsekwencją postępu procesu polimeryzacji jest zmiana intensywności oraz położenia widma fluorescencji sondy. Zwykle w trakcie tego procesu widmo emisji ulega przesunięciu w kierunku fal krótszych.

3. Metoda monitorowania i kontroli parametrów kinetycznych dla szybkich procesów polimeryzacji

Dysponowanie szybką metodą pomiarową jest niezbędne na linii produkcji w trakcie otrzymywania materiałów polimerowych w postaci powłok fotoutwardzalnych. Z kolei zastosowanie techniki FPT i wykorzystanie w kompozycjach polimeryzujących cząsteczek sondy fluorescencyjnej gwarantuje, że molekuły te reagują na zmiany zachodzące w ich mikro-otoczeniu w przedziale nanosekund. Z tego względu zastosowanie techniki FPT wykorzystującej organiczne molekularne sensory fluorescencyjne do monitorowania i kontroli parametrów kinetycznych dla szybkich procesów polimeryzacji na liniach produkcyjnych jest niezwykle obiecujące i gwarantuje, że w trakcie przeprowadzanej tak analizy otrzymamy informacje o zmianach zachodzących w otoczeniu sondy.

Tym samym technologia FPT może znaleźć szerokie zastosowanie do monitorowania procesów fotopolimeryzacji wolnorodnikowej w kierunku badań nie tylko „in situ", ale też „on-line". Wynika to z faktu, iż technika FPT jest metodą wyjątkowo czułą, nieniszczącą badanej kompozycji o bardzo krótkim czasie odpowiedzi.

4. Molekularne sondy fluorescencyjne stosowane w technice FPT

Sondy są to związki chemiczne, których właściwości fotofizyczne i fotochemiczne zależą od właściwości fizykochemicznych otoczenia [2]. Wszystkie typy sond różnią się spośród siebie mechanizmem działania. Sondy fluorescencyjne stosowane w technologii FPT można podzielić na cztery zasadnicze rodzaje:

Tabela 1. Rodzaje sond fluorescencyjnych

Podział sond fluorescencyjnych			
TICT	*Ekscymerowe/ Ekscypleksowe*	*ICT*	*Typu soli organicznych*

Źródło: Opracowanie własne

Sondy typu TICT (*Twisted Intramolecular Charge Transfer*) występują najczęściej i są szeroko wykorzystywane do badań chemii i biochemii. Charakteryzują się wewnątrzcząsteczkowym przeniesieniem elektronu w stanie wzbudzonym, przy jednoczesnym skręceniu jednej z grup funkcyjnych bądź całej cząsteczki w czasie życia jej stanu wzbudzonego. Stany wzbudzone takiej sondy TICT są w różnym stopniu stabilizowane przy różnej polarności środowiska, dzieje się tak, ponieważ sondy te reagują na zmiany otoczenia, w którym występują. Tym samym sondy TICT są wrażliwe na zmiany głównie polarności.

Sondy ICT (*Intramolecular Charge Transfer*) podobnie jak w przypadku sensorów TICT wykazują wewnątrzcząsteczkowe przeniesienie elektronu w stanie wzbudzonym jednak nie wykazują rotacji grup funkcyjnych. Stanowią cząsteczki, w skład których wchodzą silne grupy elektronoakceptorowe (A) oraz grupy elektrodonorowe (D) połączone właściwym fragmentem cząsteczki (S). Dzięki takiej budowie donor i akceptor elektronu są utrzymywane w odpowiednim dystansie i orientacji w stosunku do siebie (D-S-A).

Ekscymery/ekscypleksy są to układy opierające swe działanie na zjawisku powstania ekscymerów w stanach wzbudzonych. Główny wpływ na właściwości tego typu sond ma lepkość otoczenia. Najbardziej znaną sondą, w której wykorzystuje się proces tworzenia ekscymeru jest piren. Lokalną polarność środowiska, w którym znajduje się piren identyfikuje się mierząc stosunek intensywności pierwszego i trzeciego pasma oscylacyjnego widma emisji pojedynczej cząsteczki pirenu [2]. W przypadku zależności między intensywnością emisji ekscymerowej do emisji monomerowej występuje silna zależność od oddziaływań pomiędzy łańcuchem polimerowym i cząsteczkami rozpuszczalnika.

Kolejną grupą sond fluorescencyjnych są sondy typu soli organicznych charakteryzujące się strukturą: $[D\text{-}\pi\text{-}A]^{+}X^{-}$, gdzie D – grupa elektrodonorowa, A – grupa elektroakceptorowa. Sondy te nie wykazują efektu solwatochromowego, lecz w trakcie zmian polarności otoczenia powodują przesunięcia widma fluorescencji w kierunku fal krótszych [2].

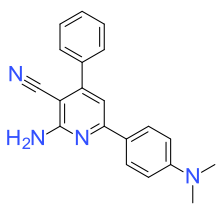
5. Nowe molekularne sensory fluorescencyjne – wyzwania na przyszłość

Do dziś trwa nieustanna praca naukowców nad opracowaniem różnych typów sond fluorescencyjnych niezbędnych do monitorowania procesów polimeryzacji. Dotychczas odkryte sensory różnią się między sobą mechanizmem działania. W zależności od

badanego środowiska, wymagana jest konkretna struktura chemiczna, czułość oraz wydajność kwantowa fluorescencji sondy fluorescencyjnej. Z tego powodu nie ma całkowicie uniwersalnych sond. Warto dodać, iż każdy proces może być monitorowany za pomocą metody FPT, lecz w zależności od rodzaju zachodzących zmian dobór odpowiedniej sondy jest bardzo istotny. Opracowano szereg nowych sond molekularnych przydatnych do monitorowania zarówno bardzo szybkich procesów fotopolimeryzacji kationowej, jak i fotopolimeryzacji wolnorodnikowej, aczkolwiek tylko niewielka grupa opracowanych związków charakteryzuje się uniwersalnością zastosowania niezależnie od badanego procesu. Z tej przyczyny konieczne jest poszukiwanie nowych molekuł pełniących funkcję sond fluorescencyjnych do monitorowania szeregu fotopolimeryzacji. W tym celu podjęto badania mające na celu określenie przydatności opracowanej pochodnej 2-amino-6-[4-(dimetyloamino) fenylo]-4-fenylo-pirydyno-3-karbonitrylu do roli molekularnego sensora fluorescencyjnego do badań procesów fotopolimeryzacji.

5.1. Materiały badawcze wykorzystywane w pracy eksperymentalnej

Na rzecz przeprowadzenia pracy badawczej wybrano związek P70, będący pochodną 2-amino-6-[4-(dimetyloamino)fenylo]-4-fenylo-pirydyno-3-karbonitrylu do roli sensora fluorescencyjnego.



2-amino-6-[4-(dimetyloamino)fenylo]-4-fenylo-pirydyno-3-karbonitryl

Wzór sumaryczny: $C_{20}H_{18}N_4$

Masa molowa: 314,38372

Rysunek 2. Wzór strukturalny 2-amino-6-[4-(dimetyloamino)fenylo]-4-fenylo-pirydyno-3-karbonitrylu (P70).

5.2. Aparatura badawcza stosowana w pracy eksperymentalnej

Stanowisko pomiarowe składało się ze źródła światła wzbudzania fluorescencji, w tym wypadku była to dioda LED emitująca światło UV, a także z detektora w postaci spektrometru UV-Vis produkcji StellarNet oraz światłowodów, których zadaniem jest transmisja światła z miejsca pomiaru do spektrometru. Gotowe kompozycje nałożono na szkiełka cienkowarstwowe, grubości rzędu 0,1 mm, a następnie dokonano analizy w termostatycznej komorze pomiarowej w temperaturze 21^{o}C. Dobór temperatury jest indywidualny w zależności od procesu.

5.3. Przygotowanie kompozycji do procesów fotopolimeryzacji

Modelowe kompozycje składały się z sensora, inicjatora oraz monomeru. Podczas przygotowania próbki do polimeryzacji kationowej jako monomer wybrano eter diwinylowy glikolu trietylenowego TEGDVE natomiast fotoinicjatorem była sól jodowana w postaci związku handlowo dostępnego pod nazwą Speedcure 938.

Jeżeli chodzi o przygotowanie kompozycji do przeprowadzenia badań z zakresu fotopolimeryzacji rodnikowej to rolę monomeru pełnił triakrylan trimetylolopropanu TMPTA a rolę fotoinicjatora pełniła pochodna benzofenonu o nazwie OMEGA. W obu przypadkach sensorem był związek o akronimie P70 stanowiący pochodną 2-amino-6-[4-(dimetyloamino) fenylo]-4-fenylo-pirydyno-3-karbonitrylu.

Tabela 2. Skład kompozycji światłoutwardzalnej

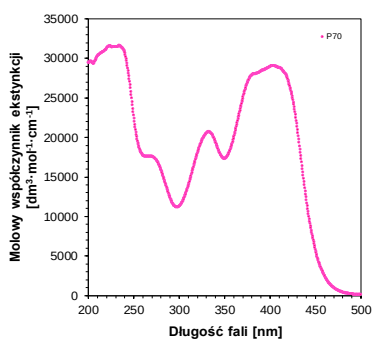
Skład	***Polimeryzacja kationowa***		***Polimeryzacja rodnikowa***	
Sensor	*P70*	*1,0 mg*	*P70*	*1,0 mg*
Inicjator	*SPEEDCURE 938*	*10,0 mg*	*OMEGA*	*10,0 mg*
Monomer	*TEGDVE*	*1,0 g*	*TMPTA*	*1,0 g*

Źródło: [4]

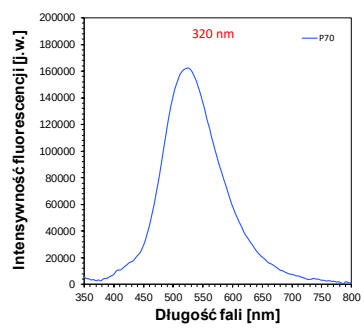
Rysunek 3. Kompozycje po procesie fotopolimeryzacji.

5.4. Opracowanie wyników

Pierwszy etap pracy nad pochodną 2-amino-6-[4-(dimetyloamino)fenylo]-4-fenylo-pirydyno-3-karbonitrylu polegał na wyznaczeniu podstawowych parametrów istotnych z punktu widzenia zastosowań do roli czujnika biomolekularnego do procesów fotopolimeryzacji. W tym celu przeprowadzono charakterystykę spektroskopową sensora P70 widoczną na wykresie 1.



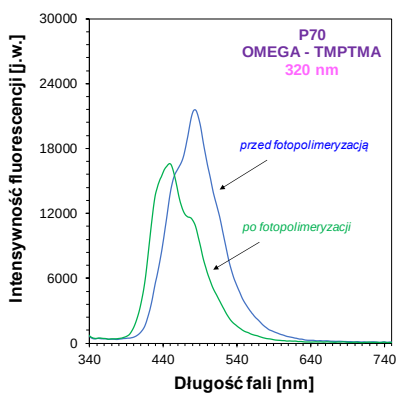
Wykres 1. Zależność molowego współczynnika absorpcji od długości fali dla badanego sensora P70, analiza wykonana w acetonitrylu



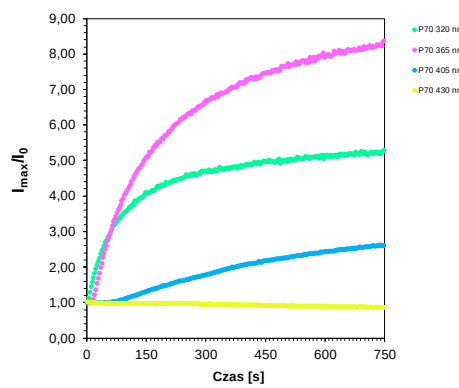
Wykres 2. Widmo fluorescencji badanego sensora P70, analiza wykonana w acetonitrylu

Zbadano fluorescencję pochodnej 2-amino-6-[4-(dimetyloamino)fenylo]-4-fenylo-pirydyno-3-karbonitrylu wzbudzając odpowiednio przy dwóch długościach fali. Pierwszy pomiar fluorescencji uzyskano po wzbudzeniu diodą 320 nm, osiągnięto wówczas maksimum przy długości fali 518 nm. Wykonane pomiary są bardzo istotne, gdyż w przypadku zastosowania badanego związku w charakterze sensora fluorescencyjnego do procesów fotopolimeryzacji ważne jest, aby sonda charakteryzowała się wystarczającą intensywnością fluorescencji, przy wzbudzeniu światłem o długości fali wynoszącej co najmniej 320 nm. Wymagania dotyczące widma fluorescencji wynikają z faktu, iż intensywność światła wzbudzenia o krótszych długościach fali jest silnie tłumiona przez szkiełka mikroskopowe stosowane do przygotowania badanych kompozycji.

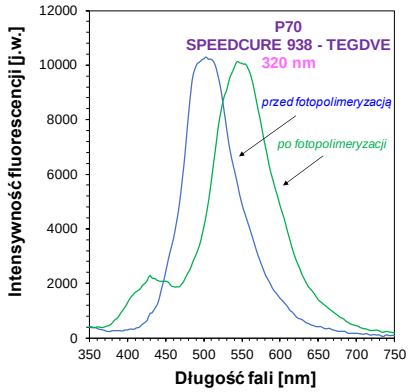
Jako pierwsze, do monitorowania fotopolimeryzacji modelowej kompozycji zastosowano stosunek intensywności fluorescencji (R), sformułowany jako wartość stosunku intensywności przy krótszej długości fali (λ_1) do intensywności przy dłuższej długości fali (λ_2). Wartości odpowiednie dla λ_1 i λ_2 dobrano w taki sposób, aby odpowiadały połowie intensywności fluorescencji przed polimeryzacją. Uzyskane wartości R wzrastały, jeśli widmo fluorescencji zmieniało położenie w stronę fal krótszych lub malały, gdy w kierunku przeciwnym. Na wykresie 4 przedstawiono zmiany stosunku intensywności w czasie naświetlania analizowanej kompozycji, w momencie trwania polimeryzacji. Poniższy wykres przedstawia zachowanie się sondy w trakcie polimeryzacji rodnikowej. Wyznaczone wartości stosunku intensywności fluorescencji wzrastały, a widmo podążało w stronę fal o krótszej długości fali. Analizując wynik można stwierdzić, iż powstałe przesunięcie jest następstwem emisji z bardziej bogatych energetycznie konformacji stanów wzbudzonych, czego konsekwencją jest przesuwanie widma fluorescencji.



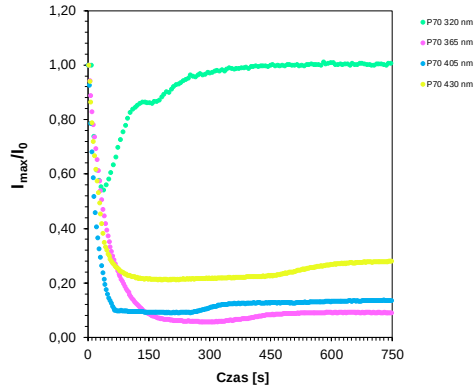
Wykres 3. Widma fluorescencyjne sensora P70 przed i po procesie polimeryzacji rodnikowej



Wykres 4. Zależność maksymalnej intensywności fluorescencji od czasu dla fotopolimeryzacji rodnikowej TMPTMA



Wykres 5. Widma fluorescencyjne sensora P70 przed i po polimeryzacji kationowej monomeru



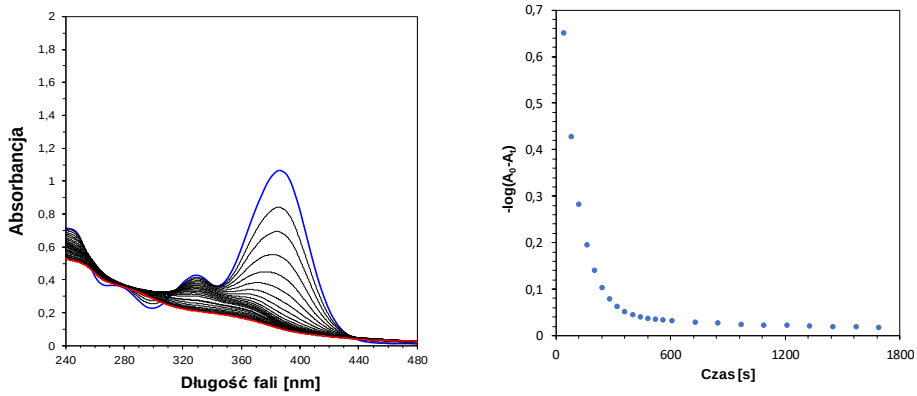
Wykres 6. Zależność maksymalnej intensywności fluorescencji od czasu dla fotopolimeryzacji kationowej TEGDVE

Zmiany maksymalnej intensywności fluorescencji I_{max}/I_0 w funkcji czasu naświetlania badanej kompozycji przedstawiono na wykresie 4. Kompozycje naświetlano czterema różnymi diodami i obserwowano, jaki wpływ na intensywność fluorescencji sensora, a także na kinetykę procesu fotopolimeryzacji ma moc światła podczas przebiegu tego procesu.

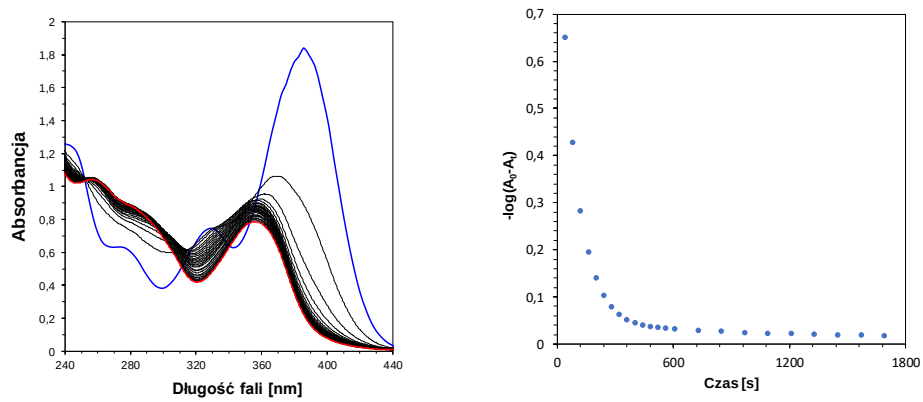
Zilustrowane na wykresie 5 zachowanie się sondy P70 w trakcie fotopolimeryzacji kationowej monomeru jest analogiczne jak zachowanie typowych sond fluorescencyjnych w trakcie procesów polimeryzacji wolnorodnikowych opisanych w literaturze. Największą wrażliwość na zmiany zachodzące w układzie (Wykres 6) sonda wykazuje podczas naświetlania diodą 320 nm, wówczas jej intensywność wzrosła dwukrotnie.

Wrażliwość związku na promieniowanie w zakresie ultrafioletowym i widzialnym może wpływać na stabilność, co prowadzi do zachodzących zmian fizykochemicznych. Kształty uzyskanych krzywych kinetycznych otrzymanych metodą FPT wskazują, że badana sonda umożliwia śledzenie zmian zachodzących w układzie przy całym zakresie konwersji monomeru zarówno ulegającego fotopolimeryzacji kationowej, jak i w trakcie fotopolimeryzacji rodnikowej przy użyciu maksymalnej intensywności fluorescencji.

Kolejny etap obejmował przeprowadzenie analizy jakościowej fotostabilności pochodnej 2-amino-6-[4-(dimetyloamino)fenylo]-4-fenylo-pirydyno-3-karbonitrylu. W tym celu eksperyment wykonano przy użyciu dwóch diod 365 nm (700 mA) oraz 405 nm (1000 mA). Badania prowadzono w stałej temperaturze pokojowej 21^{o}C. Zilustrowane na wykresach zależności względnej fotostabilności w funkcji czasu sygnalizują o zaniku absorbancji w miarę naświetlania próbki. Uzyskane wyniki pomiaru fotostabilności wskazują na potrzebę strukturalnej modyfikacji badanej sondy molekularnej tak, aby w momencie naświetlania charakteryzowała się wyższą fotostabilnością.

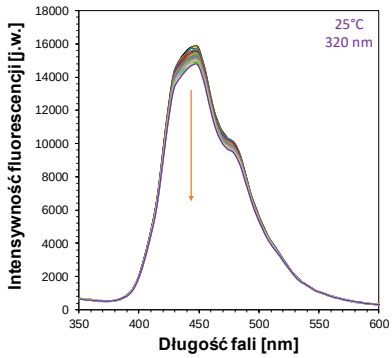


Wykres 7. Pomiar fotostabilności związku P70 wykonany w acetonitrylu przy użyciu diody 365 nm o mocy 700 mA

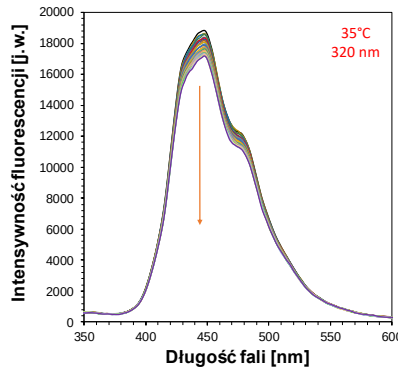


Wykres 8. Pomiar fotostabilności związku P70 wykonany w acetonitrylu przy użyciu diody 405 nm o mocy 1000 mA

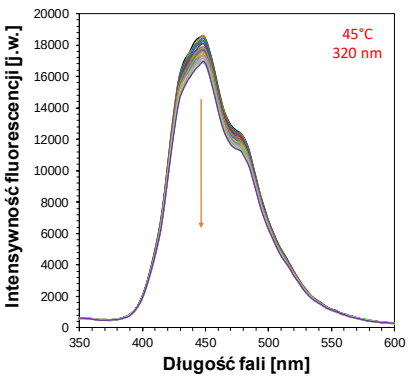
Analogicznie jak w przypadku fotolizy przeprowadzono badanie stabilności termicznej sensora w temperaturach: 25°C, 35°C oraz 45°C. Eksperyment polegał na obserwacji wytrzymałości związku w miarę zmian temperatury w układzie. Finalnie po przeanalizowaniu wyników przeprowadzonych pomiarów stwierdzono, że we wszystkich analizowanych temperaturach intensywność fluorescencji nieznacznie spada co świadczy o stabilności termicznej związku i możliwości zastosowania go do roli sensora molekularnego niezależnie od temperatury otoczenia, w którym się znajduje.



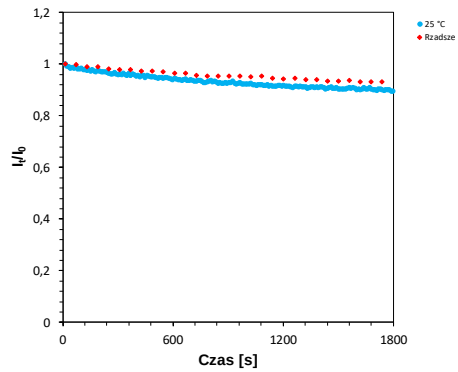
Wykres 9. Stabilność termiczna sondy w temperaturze 25°C



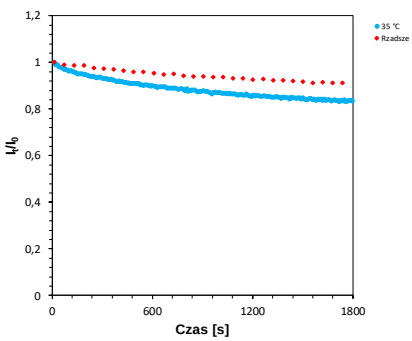
Wykres 10. Stabilność termiczna sondy w temperaturze 35°C



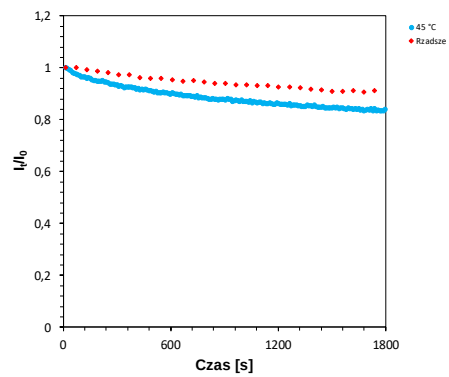
Wykres 11. Stabilność termiczna sondy w temperaturze 45°C



od czasu dla T = 25°C



od czasu dla T = 35°C



od czasu dla T = 45°C

Powyższe pomiary względnej intensywności od czasu (wykresy 12-14) prowadzono w stałej temperaturze przez 30 min z zaprogramowanym skanem punktów widma co minutę. Poprzez zestawienie otrzymanych wyników można wnioskować, iż obserwo-

wany zanik fluorescencji mógł wynikać w niewielkim stopniu z wpływu temperatury a w znacznym z niewystarczającej fotostabilności sensora, co przedstawiono na wykresie 7 i 8.

6. Podsumowanie

Związek P70, który jest pochodną 2-amino-6-[4-(dimetyloamino)fenylo]-4-fenylo-pirydyno-3-karbonitrylu charakteryzuje się wysoką czułością jako czujnik molekularny do roli monitorowania zarówno polimeryzacji kationowej, jak i rodnikowej metodą FPT w warunkach stacjonarnych. Jako wskaźnik postępu fotopolimeryzacji można z powodzeniem zastosować stosunek maksymalnej intensywności fluorescencji do względnej wartości intensywności początkowej.

Podziękowania

Niniejsze prace były finansowane przez Fundację na rzecz Nauki Polskiej (FNP) w ramach projektu TEAM TECH numer umowy POIR.04.04.00-00-204B/16-00 - TEAM TECH/2016-2/15.

Literatura

1. Buchowicz J., *Biotechnologia molekularna*, PWN, Warszawa 2007.
2. Kukuła K., Chachaj-Brekiesz A., Kamińska I., Ortyl J., *Molecular fluorescent probes in biology*, Biochemistry and biotechnology, Technical Issues 4/2015, s. 19-25.
3. Ortyl J., Sawicz K., Popielarz R., *Performance of amidocoumarins as probes for monitoring of cationic photopolymerization of monomers by fluorescence probe technology*, Journal of Polymer Science, 2010, s. 4522-4528.
4. Pączkowski J., *Fluorescent probes as a research tool in polymer chemistry*, Polimery, 2005, s. 520-529.

Badania przydatności pochodnych 2-amino-6-[4-(dimetyloamino)fenylo]-4-fenylo-pirydyno-3-karbonitrylu jako nowych sond fluorescencyjnych do analizy kinetyki on-line oraz *in situ* procesów fotopolimeryzacji

Streszczenie

Techniki fotochemiczne wykorzystujące zjawisko fluorescencji zyskują coraz większe znaczenie w różnych dziedzinach nauki, od biologii molekularnej po chemię polimerów, ze względu na ich wysoką czułość, selektywność i nie destrukcyjność. Nowoczesne zastosowanie fluorescencji w chemii polimerów dotyczy zarówno procesów fotopolimeryzacji, jak i metod kontroli procesów polimeryzacji i charakterystyki otrzymywanych tworzyw. Intensywny rozwój technik fotochemicznych w chemii polimerów nastąpił wraz z rozwojem technologii fluorescencyjnych sond molekularnych, zwanej w skrócie FPT (Fluorescence Probe Technology). W chemii polimerów FPT znajduje zastosowanie w monitorowaniu postępu procesów polimeryzacji i fotopolimeryzacji, a także w kontroli jakości surowców stosowanych do produkcji polimerów i parametrów gotowych polimerów. Podstawą prezentowanej metody jest pomiar zmian właściwości fluorescencyjnych sondy w miarę zmiany właściwości środowiska, w której znajduje się sonda. Reakcje fotopolimeryzacji są zazwyczaj bardzo szybkie, co jest ich główną zaletą. W celu monitorowania takich procesów konieczna jest szybka metoda pomiarowa oraz szybki sposób zbierania I przetwarzania danych. Sondy fluorescencyjne reagują na zmiany zachodzące w ich otoczeniu w czasie nanosekund, dzięki czemu metoda FPT spełnia wymagania dotyczące szybkości. Z tego powodu metoda ta jest najbardziej popularna w śledzeniu szybkich procesów fotopolimeryzacji, jednak może być również wykorzystywana do monitorowania powolnych procesów. W zależności od środowiska pomiarowego, wymagana jest odpowiednia czułość i wydajność kwantowa sondy. Dlatego też nie istnieją całkowicie uniwersalne sondy molekularne. W związku z tym uzasadnione jest poszukiwanie nowych sensorów fluorescencyjnych do monitorowania procesów fotopolimeryzacji. W prezentacji przedstawiono badania

przydatności pochodnej 2-amino-6-[4-(dimetyloamino)fenylo]-4-fenylo-pirydyno-3-karbonitrylu jako sensora fluorescencyjnego do monitorowania postępu polimeryzacji rodnikowej i kationowej.
Słowa kluczowe: technlogia FPT, fotopolimeryzacja, sondy molekularne

Studies on the suitability of 2-amino-6-[4-(dimethylamino)phenyl]-4-phenyl-pyridino-3-carbonitril derivatives as new fluorescence probes for on-line and *in situ* photopolymerization processes analysis

Abstract

Photochemical techniques using the fluorescence phenomenon are becoming increasingly important in various science fields, from molecular biology to polymer chemistry, due to their high sensitivity, selectivity, and non-destructive properties. The modern application of fluorescence in polymer chemistry concerns both photopolymerization processes and methods of control of polymerization processes and the characteristics of the obtained materials. The intensive development of photochemical techniques in polymer chemistry has been accompanied by the development of the fluorescent molecular probe technology, known as FPT (Fluorescence Probe Technology), for short. In polymer chemistry, FPT is used to monitor the progress of polymerization and photopolymerization processes and control the quality of raw materials used to produce polymers and parameters of finished polymers. The basis of the presented method is to measure changes in the probe's fluorescent properties as the environment in which the probe is located changes. Photopolymerization reactions are usually very fast, which is their main advantage. To monitor such processes, a fast measurement method and fast data collection and processing are necessary. Fluorescent probes react to changes in their environment during the nanoseconds so that the FPT method meets the speed requirements. For this reason, this method is most popular for tracking fast photopolymerization processes, but can also be used to monitor slow processes. Depending on the measuring environment, the appropriate sensitivity and quantum performance of the probe is required. Therefore, there are no completely universal molecular probes. Therefore, the search for new fluorescent sensors for monitoring photopolymerization processes is justified. This presentation presents studies on the suitability of 2-amino-6-[4-(dimethylamino) phenyl]-4-phenyl-pyridino-3-carbonitrile derivative as a fluorescence sensor for monitoring radical and cationic progress polymerization.
Keywords: FPT technology, photopolymerization, molecular probes

Patryk Szymaszek[1]

Zastosowanie molekularnych sond fluorescencyjnych do monitorowania kinetyki otrzymywania hydrożelowych superabsorbentów polimerowych

1. Wstęp

Hydrożelem nazywamy substancję, w której fazą rozproszoną jest woda wypełniająca wolne przestrzenie w trójwymiarowej sieci. Natomiast w roli czynnika żelującego stosowane są rozmaite polimery zarówno naturalne, jak i syntetyczne, a także ich mieszaniny.

Aby polimer można było nazwać hydrożelem powinien on absorbować wodę co najmniej w 10% masowych. Niektóre z hydrożeli potrafią zwiększyć swą masę nawet 1000-krotnie uzyskując stan równowagi po absorpcji wody. Za tę właściwość odpowiedzialne są głównie wiązania wodorowe tworzone pomiędzy cząsteczkami wody i grupami funkcyjnymi łańcucha polimerowego takimi jak grupa hydroksylowa czy aminowa.

Dzięki swoim właściwościom hydrożele znalazły szerokie zastosowanie w wielu dziedzinach m.in. w produkcji soczewek kontaktowych i implantów chirurgicznych, układów dostarczania leków i kosmetyków, do sporządzania opatrunków na rany, w rolnictwie, oraz jako osuszacze powietrza czy gazów przemysłowych [1]. Właściwości hydrożeli są uzależnione od wielu czynników m.in. rodzaju polimeru, z którego są utworzone, stopnia usieciowania polimeru, charakteru grup funkcyjnych, czy stopnia rozdrobnienia produktu. Wśród właściwości hydrożeli polimerowych, które determinują ich szerokie zastosowanie należy wymienić stopień usieciowania polimeru, który wpływa na takie właściwości, jak nietoksyczność, zdolność wchłaniania dużych ilości wody, biokompatybilność, biodegradowalność, jak również elastyczność i odporność termiczną i chemiczną. W usieciowanej strukturze hydrożelu wyróżnia się pojedyncze i wielofunkcyjne miejsca wiązań kowalencyjnych, jak również splątania molekularne. Zwiększenie stopnia usieciowania wpływa na wzrost wytrzymałości matrycy hydrożelowej oraz pozwala na uzyskanie znacznie dłuższego czasu degradacji w przypadku materiału biodegradowalnego. Niestety wadą takiej metody jest wzrost kruchości [2]. Dlatego też, aby otrzymać elastomer należy znaleźć optymalną wartość stopnia usieciowania. Narzędziem, które pozwala na monitorowanie kinetyki otrzymywania hydrożeli jest technologia FPT. Technika FPT jest metodą niedestruktywną, o wysokiej czułości, charakteryzującą się bardzo krótkim czasem odpowiedzi ($< 10^{-8}$ s). Ponadto, co jest bardzo istotne, może być wykorzystywana do pomiarów przebiegu procesów polimeryzacji zarówno w laboratorium (off-line), jak i w liniach produkcyjnych (on-line), gdzie polimeryzowana kompozycja często jest w ruchu względem urządzenia pomiarowego [3].

[1] szymaszek.patryk@gmail.com, Zespół Fotochemii Stosowanej, Katedra Biotechnologii i Chemii Fizycznej, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki ul. Warszawska 24, 31-155 Kraków, www.pk.edu.pl.

Podstawą prezentowanej metody jest pomiar zmian właściwości fluorescencyjnych odpowiedniej sondy molekularnej w miarę zmiany właściwości środowiskowych, w których znajduje się sonda. Jeżeli układ zawierający sondę fluorescencyjną jest oświetlony światłem o długości fali odpowiadającej maksymalnej absorpcji sondy, wówczas molekuły sondy są wzbudzane na wyższy poziom energetyczny. W czasie trwania stanów wzbudzonych, wzbudzone cząsteczki oddziałują z otoczeniem, co powoduje ich stabilizację i relaksacje do najniżej położonego stanu wzbudzonego. Wraz z postępującą polimeryzacją monomeru zmniejsza się polarność układu. Jednocześnie zwiększa się lepkość układu. Spadek polarności środowiska powoduje zmniejszenie stabilizacji stanów wzbudzonych sensora fluorescencyjnego, co przyczynia się do zwiększenia luki energetycznej pomiędzy energią stanu wzbudzonego a energią stanu podstawowego. Z tego względu, wzrost mikrolepkości środowiska powoduje, że coraz mniej wzbudzonych cząsteczek jest w stanie osiągnąć najbardziej energetycznie efektywną konformację, zanim nastąpi emisja promieniowania. W rezultacie, w miarę postępującej polimeryzacji, coraz częściej dochodzi do emisji z bardziej bogatych energetycznie stanów wzbudzonych, czego konsekwencją jest przesunięcie widma fluorescencji w kierunku krótszych fal.

Początkowo w metodzie tej do monitorowania zmiany stopnia spolimeryzowania stosowano pomiary zmian intensywności fluorescencji, z uwagi na zmieniającą się intensywność fluorescencji w trakcie procesów polimeryzacji. W wyniku kolejnych badań wykazano, że intensywność fluorescencji sond fluorescencyjnych znacząco wzrasta dopiero po osiągnięciu punktu żelu. W konsekwencji opracowano parametr znormalizowanej intensywności fluorescencji będący ilorazem początkowej intensywności fluorescencji mierzonej w maksimum piku oraz intensywności fluorescencji mierzonej po czasie.

Jedną z zalet reakcji fotopolimeryzacji jest ich duża szybkość, jednak w celu ich monitorowania, potrzebna jest metoda, pozwalająca na równie szybki sposób zbierania i przetwarzania danych. Sondy fluorescencyjne reagują na zmiany zachodzące w ich otoczeniu w kolejności nanosekund, dlatego też metoda FPT spełnia wymagania dotyczące szybkości. Z tego powodu metoda ta jest najbardziej popularna w śledzeniu szybkich procesów fotopolimeryzacji. Nic nie stoi również na przeszkodzie, wykorzystania metody FPT, do monitorowania procesów powolnych [4].

Potrzeba poszukiwania nowych cząsteczek, mogących pełnić funkcję sond fluorescencyjnych do monitorowania procesów fotopolimeryzacji wypływa z różnorodnego środowiska reakcji fotopolimeryzacji, które w znaczny sposób wpływa na czułość i wydajność kwantową sensorów. Z tego powodu niemożliwe jest opracowanie całkowicie uniwersalnego sensora.

W niniejszym opracowaniu przedstawiamy wyniki badań pochodnej 2-amino-4,6-difenylo-pirydyny-3-karbonitrylu, oraz ocenę jej przydatności jako sondy fluorescencyjnej do monitorowania postępu otrzymywania hydrożelowych superabsorbentów.

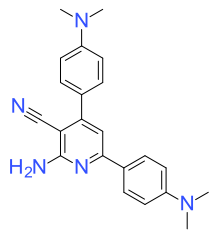
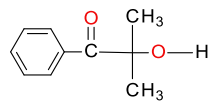
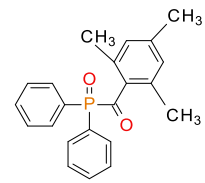
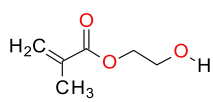
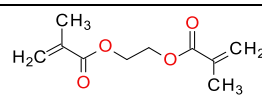
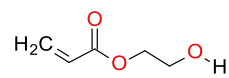
2. Materiały i Metody

2.1. Materiały

Jako monomery w reakcji fotopolimeryzacji wykorzystano akrylan 2-hydroksyetylu (HEA, Sigma Aldrich), metakrylan 2-hydroksyetylu (HEMA, Sigma Aldrich) oraz dimetakrylan glikolu etylenowego (EGDMA, Sigma Aldrich). Jako fotoinicjatory

zastosowano 2-hydroksy-2-metylo-1-fenylo-propan-1-on (Darocure1173, Sigma Aldrich) oraz Tlenek difenylo(2,4,6-trimetylo-benzoilo)fosfiny (TPO, Sigma Aldrich). Do roli sensora wybrano pochodną 2-amino-4,6-difenylopirydyno-3-karbonitrylu-2-amino-4,6-bis[4-(dimethyloamino)fenyl]pirydyno-3-karbonitryl (P71).

Tabela 13. Struktury reagentów wykorzystywanych w badaniach

Sonda	*Fotoinicjatory*	
 *P71* *2-amino-4,6-bis[4-(dimethyloamino) fenyl] pirydyno-3-karbonitryl*	 *Darocure1173* *2-Hydroksy-2-metylo-1-fenylo-propan-1-on*	 *TPO* *Tlenek difenylo(2,4,6-trimetylo-benzoilo)fosfiny*
Monomery		
 *HEMA* *Metakrylan 2-hydroksyetylu*	 *EGDMA* *Dimetakrylan glikolu etylenowego*	 *HEA* *Akrylan 2-hydroksyetylu*

2.2. Charakterystyka absorpcji i fluorescencji

Widma absorpcji sensora zostały zarejestrowane w acetonitrylu, przy użyciu spektrometru SilverNova (StellarNet, Inc., USA) w połączeniu z szerokopasmowym wolframowo-deuterowym źródłem światła UV-Vis (StellarNet, Inc., USA), oraz kuwety kwarcowej z 1,0 cm ścieżką optyczną. Następnie dane dotyczące absorbancji zostały przeliczone na współczynniki ekstynkcji [$dm^3 \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$]. Pomiary fluorescencji przeprowadzono przy użyciu tego samego miniaturowego spektrometru. Charakterystykę spektralną sensora mierzono w acetonitrylu w temperaturze pokojowej (25°C) z użyciem kuwet kwarcowych o grubości 10 mm. Jako źródło wzbudzenia wykorzystano światło UV-LED 365 nm (UVTOP315-BL-TO39, Roithner Laser Technik GmbH, Austria).

2.3. Monitorowanie procesów fotopolimeryzacji przez FPT

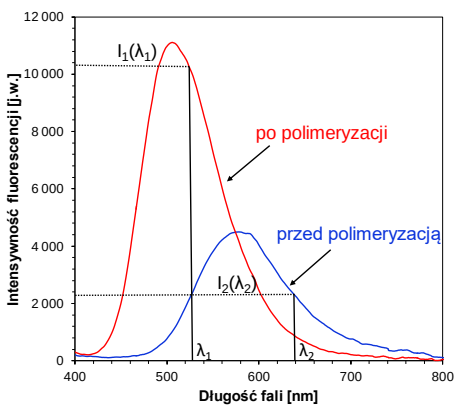
Układ do monitorowania fotopolimeryzacji składał się z miniaturowego spektrometru sterowanego komputerowo (SilverNova firmy StellarNet, Inc.), głowicy, w której podczas pomiaru umieszczono próbkę cienkowarstwową oraz diody UV emitującej promieniowanie 365 nm lub 405 nm (UVTOP315-BL-TO39 firmy Roithner LaserTechnik GmbH, Austria), wyposażonej w odpowiedni zasilacz. Głowica została

zmodernizowana o system termostatów, który gwarantuje stabilność warunków środowiskowych podczas monitorowania procesu fotopolimeryzacji. Dlatego wszystkie procesy fotopolimeryzacji zostały przeprowadzone w temperaturze otoczenia (25°C) z wykorzystaniem termostatu ITC4020 (firmy Thorlabs Inc. z USA). Światło UV z diody LED oświetlało około 5 mm punkt w cienkiej warstwie próbki. Światło z miejsca pomiaru zostało przekazane do spektrometru za pomocą kabla światłowodowego PMMA z rdzeniem 2 mm. Dioda LED UV była zasilana prądem stałym o natężeniu 23 mA z odpowiedniego stabilizowanego źródła prądu stałego.

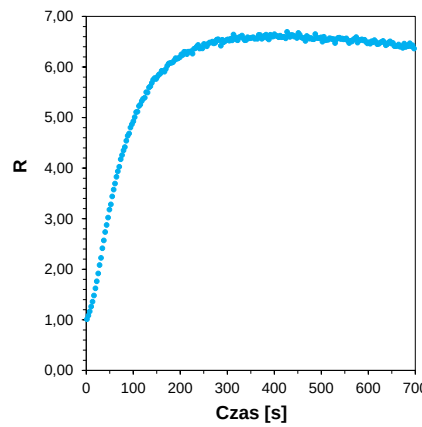
W skład wykorzystanych kompozycji wchodził odpowiedni monomer lub ich mieszanina (50:50% wag.), fotoinicjator (1% wag.) oraz sonda fluorescencyjna (0,1% wag.).

2.4. Parametry analizy wyników FPT

Jednym z użytecznych parametrów służących do monitorowania procesu polimeryzacji przy wykorzystaniu technologii FPT i sond molekularnych jest stosunek intensywności fluorescencji mierzony przy dwóch różnych długościach fali zlokalizowanych po obu stronach maksimum widma. Dzieląc intensywność fluorescencji przy mniejszej długości fali (I1) przez intensywność przy większej długości fali (I2), otrzymany stosunek (R), co przedstawiono na rysunku 1 i 2. Wzrasta on wraz z postępem polimeryzacji w miarę przesuwania się widma w stronę fal krótszych i staje się ilościowym wyznacznikiem tego procesu. Zasadniczą zaletą tej metody jest możliwość precyzyjnego pomiaru stosunku intensywności, który nie zależy od stężenia sondy ani od geometrycznych wymiarów próbki.

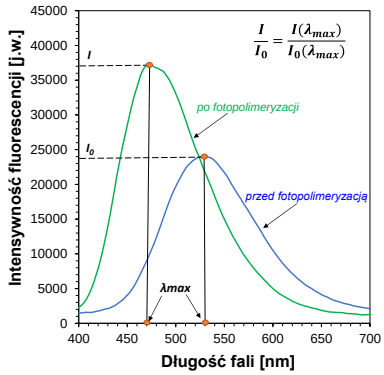


Rysunek 1. Graficzne przedstawienie zasady wyznaczania parametru R

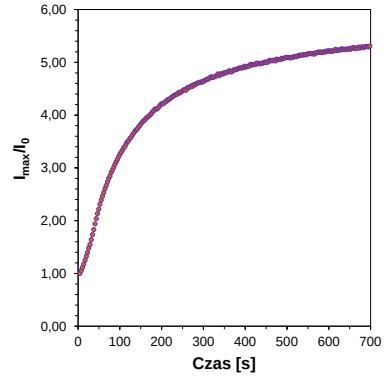


Rysunek 2. Wykres zależności wartości parametru R od czasu

Drugim parametrem jest tak zwana znormalizowana intensywność fluorescencji. Parametr ten, wyznacza się dzieląc maksimum intensywności emisji w danym czasie przez początkową intensywność fluorescencji. Wprowadzenie parametru (I/I_0) jako wskaźnika do monitorowania postępu procesów polimeryzacji metodą FPT, niezwykle poszerzyło spektrum możliwości zastosowania nowych sond fluorescencyjnych, ponieważ tylko niektóre związki fluoryzujące przesuwają swoje widmo fluorescencji w miarę zmian zachodzących w ich otoczeniu, natomiast większość fluoroforów zmienia intensywność fluorescencji ze zmianą mikrolepkości otoczenia.



Rysunek 3. Graficzne przedstawienie zasady wyznaczania parametru I/I_0

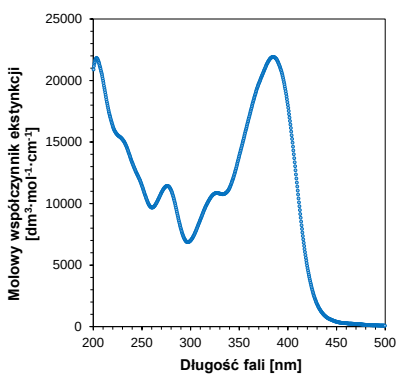


Rysunek 4. Wykres zależności wartości parametru I/I_0 od czasu

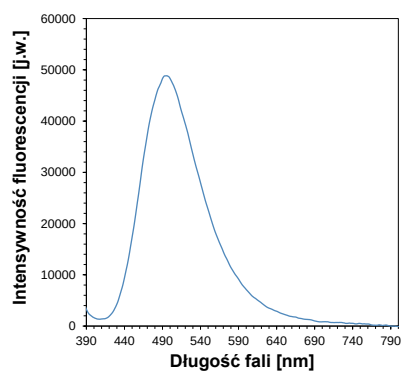
3. Wyniki i dyskusja

3.1. Właściwości spektroskopowe

Pierwszym etapem prac było zbadanie charakterystyki absorpcji i emisji sensora w acetonitrylu. Widma absorpcji potwierdziły, że badany związek ma silne pasmo absorpcji w zakresie długości fali światła UV-VIS, sięgające do 470 nm. Badana pochodna wykazywała wystarczającą intensywność luminescencji po wzbudzeniu niską mocą diody UV-LED 365 nm, tak, aby można było łatwo zmierzyć ich widma emisji przy niskim stężeniu. Jest to bardzo ważne, ponieważ w przypadku zastosowania związków fluorescencyjnych jako sond do FPT, sondy te powinny wykazywać najsilniejszą możliwą emisję przy długości fali wzbudzenia.



Rysunek 5. Wykres zależności molowego współczynnika ekstynkcji sondy P71 od długości fali w acetonitryli



Rysunek 6. Widmo fluorescencji pochodnej P71, przy długości fali wzbudzenia 365 nm w acetonitrylu

Wartość molowego współczynnika ekstynkcji badanego związku przy długofalowym maksimum wynosi 21 822 $dm^3 \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$. Wartość ta przekracza graniczną wartość 10 000 $dm^3 \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$, powyżej której badane związki uważane są jako bardzo obiecujące do roli sensorów fluorescencyjnych.

3.2. Monitorowanie fotopolimeryzacji metodą FPT

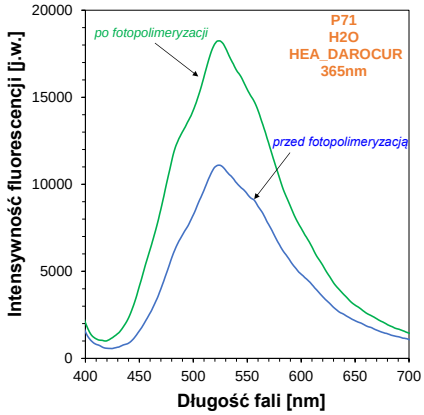
Różne parametry spektralne sondy fluorescencyjnej mogą być wykorzystywane do monitorowania zmian w środowisku sondy molekularnej, które byłyby traktowane jako wskaźnik postępu reakcji polimeryzacji. Z praktycznego punktu widzenia, najczęściej stosowany jest stosunek intensywności fluorescencji, mierzony przy dwóch różnych długościach fal, znajdujących się po obu stronach maksimum widma, określany jako parametr R. Parametr R zwiększa się w miarę postępu polimeryzacji w miarę przesuwania się widma w kierunku krótszych długości fal i staje się ilościowym wyznacznikiem tego procesu. Główną zaletą tej metody jest możliwość precyzyjnego pomiaru stosunku intensywności, który nie zależy od stężenia sondy ani od wymiarów geometrycznych próbki. Jednak nie zawsze można stosować stosunek intensywności fluorescencji R jako wskaźnik postępu fotopolimeryzacji. Dotyczy to przypadków, gdy w trakcie naświetlania układu, sonda ulega ubocznej reakcji fotochemicznej, w wyniku której powstaje inny fluoryzujący związek. W celu wyeliminowania tej niedogodności wprowadzono drugi wskaźnik postępu polimeryzacji – znormalizowaną intensywność fluorescencji (I/I_0).

Pochodną 2-amino-4,6-difenylopirydyno-3-karbonitrylu wykorzystano do pomiarów kinetyki polimeryzacji ośmiu różnych kompozycji przedstawionych w tabeli 2. Kompozycje różniły się rodzajem monomeru oraz inicjatora. Do zainicjowania procesu fotopolimeryzacji wykorzystano diody emitujące światło o długości fali 365 nm w przypadku zastosowania DAROCURE1173 jako fotoinicjatora oraz diodę emitującą światło o długości fali 405 nm w przypadku fotoinicjatora TPO.

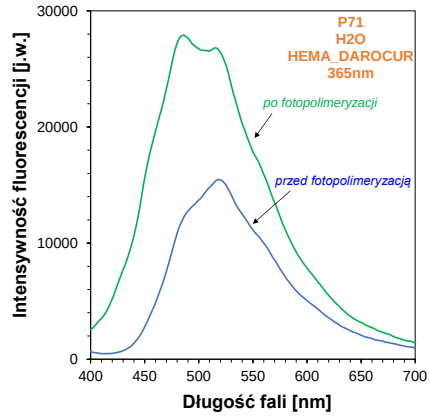
Tabela 14. Skład kompozycji wykorzystanych w badaniu

Numer	*Monomer*	*Fotoinicjator*	*Sensor*
1	*EGDMA*	*TPO*	*P71*
2	*EGDMA*	*DAROCUR1173*	
3	*HEA*	*TPO*	
4	*HEA*	*DAROCUR1173*	
5	*EGDMA + HEA*	*TPO*	
6	*EGDMA + HEA*	*DAROCUR1173*	
7	*HEA + H_2O*	*DAROCUR1173*	
8	*HEMA + H_2O*	*DAROCUR1173*	

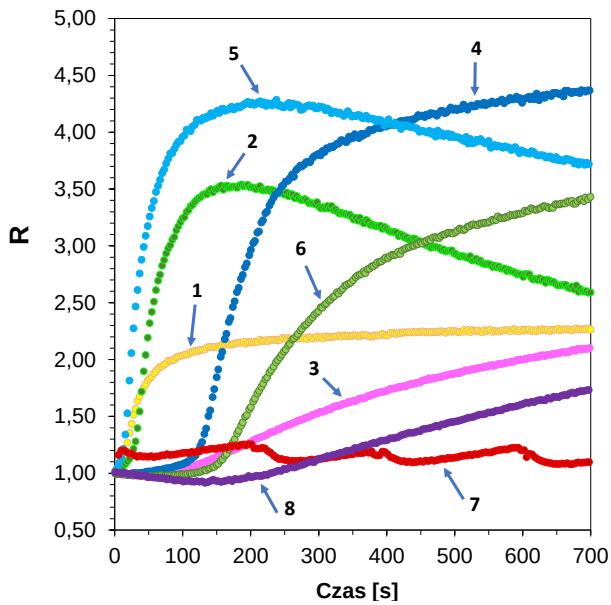
Charakterystyka fluorescencji sensora zmieniała się w zależności od monomeru oraz fotoinicjatora wchodzącego w skład kompozycji. W każdym przypadku jednak widno fluorescencji sensora przesuwa się w kierunku krótszych długości fali wraz z postępem polimeryzacji, co obrazuje rysunek 7, przedstawiający wzrost parametru R w czasie. Również parametr znormalizowanej emisji I/I_0 charakteryzował się wzrostem wartości w czasie, co odpowiada wzrostowi intensywności fluorescencji sensora P71 wraz z postępem polimeryzacji. Wyraźny spadek wartości parametrów R oraz I/I_0 po osiągnięciu maksimum wynika z niewystarczającej fotostabilności zastosowanego sensora. Na wykresach parametrów R oraz I/I_0 można zauważyć ich cykliczność dla kompozycji HEA + H_2O + Darocure1173 + P71. Wynika ona z przesuwania się powstającego hydrożelu na skutek nierównego podłoża.



Rysunek 7. Widmo fluorescencji sensora P71 przed i po procesie fotopolimeryzacji kompozycji nr 7



Rysunek 8. Widmo fluorescencji sensora P71 przed i po procesie fotopolimeryzacji kompozycji nr 8



Rysunek 9. Zestawienie zmian wartości parametru R w czasie dla poszczególnych kompozycji: 1- EGDMA+TPO+P71, 2-EGDMA+DAROCUR1173+P71, 3-HEA+TPO+P71, 4-HEA+DAROCUR1173+P71, 5-EGDMA+HEA+TPO+P71, 6-EGDMA+HEA+DAROCUR1173+P71, 7-HEA+H_2O+DAROCUR1173+P71, 8 - HEMA+H_2O+DAROCUR1173+P71

4. Wnioski

We wszystkich kompozycjach pochodna 2-amino-4,6-difenylo-pirydyny-3-karbonitrylu przesuwa swoje spektrum fluorescencyjne ku krótszym długościom fali w trakcie fotopolimeryzacji. Wraz z postępem fotopolimeryzacji rodnikowej rośnie również intensywność fluorescencji sensora. Dzięki takiej zmianie parametrów możliwe jest

monitorowanie postępu polimeryzacji z wykorzystaniem wskaźnika intensywności fluorescencji (R) jako wskaźnika postępu, jak również parametru znormalizowanej fluorescencji I/I_0. Dlatego też sonda ta może być stosowana do monitorowania procesów fotopolimeryzacji metodą FPT zarówno w trybie off-line, jak i on-line w szerokim zakresie konwersji monomerów.

Podziękowania

Niniejsze prace były współfinansowane przez Fundację na rzecz Nauki Polskiej (FNP) w ramach projektu TEAM TECH numer umowy POIR.04.04.00-00-204B/16-00 - TEAM TECH/2016-2/15.

Literatura

1. Tyliszczak B., Pielichowski K., *Charakterystyka matryc hydrożelowych – zastosowania biomedyczne superabsorbentów polimerowych*, Czasopismo techniczne, 1-Ch/2007, s. 159-167.
2. Hoffman A.S., *Hydrogels for biomedical applications,* Advanced Drug Delivery Review 43, 2002, s. 3-12.
3. Ortyl J., Popielarz R., *The performance of 7-hydroxycoumarin-3-carbonitrile and 7-hydroxycoumarin-3-carboxylic acid as fluorescent probes for monitoring of cationic photopolymerization processes by FPT*, Journal of Applied Polymer Science, 2013, 128 (3), s. 1974-1978.
4. Ortyl J., Sawicz K., Popielarz R., *Ocena przydatności pochodnych ftalimidu do monitorowania fotopolimeryzacji kationowej metodą FPT*, Czasopismo Techniczne, Ser. Chemia, 1-Ch/2009, s. 67-73.

Zastosowanie molekularnych sond fluorescencyjnych do monitorowania kinetyki otrzymywania hydrożelowych superabsorbentów polimerowych

Streszczenie
Hydrożele to sieci polimerowe zdolne do odwracalnej absorpcji dużej ilości wody. Zdolność ta jest ściśle związana z hydrofilowym charakterem materiału. Woda w hydrożelu stanowi medium transportowe dla dyfuzji substancji, a stopień usieciowania matrycy polimerowej wpływa na własności ich transportu przez materiał. Zmieniając masę cząsteczkową polimeru pomiędzy wiązaniami poprzecznymi w sieci hydrożelu można otrzymać materiał będący rodzajem selektywnego sita molekularnego, stanowiącego barierę dla dużych cząsteczek np. immunoglobulin, a umożliwiającego dyfuzję mniejszych cząsteczek tj. glukozy czy insuliny. Dlatego też opracowanie narzędzi analitycznych do monitorowania procesu otrzymywania materiałów hydrożelowych jest niezwykle atrakcyjne z punktu widzenia aplikacyjnego i poznawczego. W związku z powyższym wykorzystano do tego celu technologię FPT (*Fluorescence Probe Technology*), która opiera swoje działanie na zastosowaniu fluorescencyjnych sond molekularnych. Jej podstawą są pomiary zmian charakterystyki fluorescencji sondy, w miarę zachodzących w układzie zmian. Technologia FPT dzięki wykorzystaniu sond fluorescencyjnych jest niedestruktywna, jak również zapewnia wysoką czułość pomiaru i krótki czas odpowiedzi (< 10-8 s). Sondy fluorescencyjne do zastosowań w technologii FPT zwykle reagują na zmiany mikrolepkości i/lub polarności otoczenia i w ten sposób działają jak czujniki molekularne, pozwalając śledzić postęp polimeryzacji. W chemii polimerów technologia FPT wykorzystywana jest w zakresie monitoringu postępu procesów polimeryzacji i fotopolimeryzacji, jak również kontroli jakości surowców stosowanych do produkcji polimerów oraz parametrów gotowych już polimerów. W artykule omówiono zastosowanie pochodnej 2-amino-4,6- difenylo-pirydyny-3-karbonitrylu do monitorowania kinetyki otrzymywania superabsorbentów polimerowych w postaci hydrożeli.
Słowa kluczowe: FPT, hydrożel, sonda fluorescencyjna

Application of molecular fluorescent probes to monitor the kinetics of obtaining hydrogel polymeric superabsorbents

Abstract
Hydrogels are polymer networks capable of reversibly absorbing large amounts of water. This ability is closely related to the hydrophilic nature of the material. Water in a hydrogel is a transport medium for the diffusion of substances, and the degree of cross-linking of the polymer matrix affects the properties of their transport through the material. By changing the polymer's molecular weight between cross-links in the hydrogel network, it is possible to obtain a material which is a kind of selective molecular sieve, which is a barrier for large molecules, e.g., immunoglobulins, and which enables the diffusion of smaller molecules, e.g., glucose or insulin. Therefore, the development of analytical tools for monitoring the process of obtaining hydrogel materials is extremely attractive from the application and cognitive point of view. Therefore, FPT (Fluorescence Probe Technology) was used for this purpose, based on the use of fluorescent molecular probes. It is based on the measurement of changes in the probe's fluorescence characteristics, as they occur in the system. The FPT technology is non-destructive due to the use of fluorescent probes and provides high measurement sensitivity and short response times (< 10-8 s). Fluorescent probes for FPT applications usually react to changes in the microviscosity and/or polarity of the environment and thus act as molecular sensors to track the polymerization progress. In polymer chemistry, FPT technology is used to monitor the progress of polymerization and photopolymerization processes and control the quality of raw materials used in the production of polymers and the parameters of finished polymers. The article discusses the application of 2-amino-4,6-diphenyl-pyridine-3-carbonitrile derivative to monitor the kinetics of obtaining polymeric superabsorbents in the form of hydrogels.
Keywords: FPT, fluorescence probe, hydrogels

Miłosz Rutkowski[1], Lidia Krzemińska-Fiedorowicz[2], Anna Lenart-Boroń[3]

Oznaczanie właściwości przeciwdrobnoustrojowych nanokomponentów zawierających nanocząstki srebra wobec mikroorganizmów izolowanych z błon śluzowych jamy ustnej psów i kotów

1. Wprowadzenie

Nanotechnologia stanowi szczególne źródło wiedzy budzące zainteresowanie wśród naukowców na całym świecie ze względu na swój interdyscyplinarny charakter. Wykorzystując nanomateriały i umiejętności biotechnologiczne naukowcy poznają i charakteryzują wpływ nanocząstek na zjawiska występujące w przyrodzie [1]. Nanotechnologia, daje możliwości rozwoju w wielu dyscyplinach m.in. w farmacji, weterynarii, rolnictwie, kosmetyce oraz biotechnologii. Doniesienia o kolejnych odkryciach dotyczących nowatorskich metod otrzymywania nanozwiązków oraz ich zastosowania w skali globalnej inspirują zespoły badawcze do weryfikowania coraz bardziej odważnych tez [2]. Wśród wielu poznanych nanomateriałów szczególną uwagę skupiają nanocząstki metali, tj. srebra i złota, które osiągają rozmiary około 100 nm i posiadają zmienną liczbę atomów mieszczącą się w przedziale od 20 do 15 000. Dzięki wykorzystaniu zróżnicowanych metod syntezy, możliwe jest regulowanie powstającego kształtu i wielkości nanostruktur, których formy przestrzenne wpływają na posiadane właściwości nanocząstek [3]. Budowa morfologiczna nanostruktur określonych pierwiastków m.in. srebra uwarunkowana jest sposobem ich powstawania. Wśród opisanych technik syntezy nanocząstek stosuje się m.in. metody fizyczne oraz chemiczne [4]. Jedną z najbardziej popularnych metod syntetyzowania nanocząstek srebra jest reakcja redukcji chemicznej w roztworach wodnych, polegająca na rozkładzie soli srebra dzięki wykorzystaniu określonego reduktora [5].

Biopolimery są związkami naturalnymi zbudowanymi z wielu podjednostek utworzonych dzięki występowaniu w ich strukturze wiązań kowalencyjnych. Spośród dotychczas poznanych biopolimerów największe zastosowanie przypisuje się m.in. polipeptydom i polisacharydom. Ze względu na swoją biodegradowalność są wykorzystywane w wielu gałęziach przemysłu [6]. Alginian sodu to naturalny biopolimer zbudowany z reszt kwasów: α-L-guluronowego i β-D-mannuronowego, którego struktura przestrzenna opiera się na obecności wiązań glikozydowych. Jest pozyskiwany na szeroką skalę z alg morskich i znajduje zastosowanie m.in. w przemyśle spożywczym i chemicznym. Włókna tworzone z udziałem alginianu sodu wykorzystuje się do produkcji bandaży i opatrunków medycznych [7]. Biopolimery są

[1] miloszr131@gmail.com, Koło Naukowe Technologów Żywności, Sekcja Nanomateriałów, Katedra Chemii, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, https://urk.edu.pl/
[2] lidia.krzeminska-fiedorowicz@urk.edu.pl Katedra Chemii, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, https://wtz.urk.edu.pl/Katedra_Chemii.html
[3] anna.lenart-boron@urk.edu.pl, Katedra Mikrobiologii i Biomonitoringu, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, https://wre.urk.edu.pl/index/site/6899

matrycą do wytwarzania nanocząstek srebra oraz ograniczają aglomerację powstałych nanostruktur. Istotną cechą pozyskiwania komponentów polimerowych zawierających nanocząstki jest możliwość wykorzystania bezpiecznych dla środowiska związków chemicznych, spełniających wymogi „zielonej chemii" [8]. U zwierząt towarzyszących jama ustna jest miejscem rozwoju drobnoustrojów. Mikrobiom znajdujący się na grzbiecie języka i na powierzchni płytki nazębnej przemieszcza się w środowisku wodnym po powierzchni jamy ustnej [9].

Choroby przyzębia u psów są problemem dotyczącym jamy ustnej ze względu na obecność bakterii w obrębie płytki nazębnej. Najczęściej jest to stan zapalny tkanek otaczających zęby, wywoływanych przez mikroorganizmy zasiedlające obszar okołodziąsłowy. Należą do nich m.in. bakterie z rodzaju *Streptococcus*, *Fusobacterium*, *Bacteroides* i *Escherichia coli* [10]. Zwierzęta towarzyszące mogą być nosicielami mikroflory opornej na powszechnie dostępne antybiotyki. Szczególnym przykładem drobnoustrojów występujących u zwierząt są gronkowce. Jest to grupa Gram-dodatnich ziarniaków, których częstym miejscem występowania są drogi śluzowe. Jednak rosnąca oporność na powszechnie dostępne leki przeciwdrobnoustrojowe stanowi istotny problem ze względu na przenoszenie się tych bakterii między zwierzęciem a człowiekiem wskutek kontaktu bezpośredniego [11]. Z tego względu wielu naukowców poszukuje nowych substancji o właściwościach hamujących rozwój mikroorganizmów. Jedną z propozycji walki z patogenami jest zastosowanie nanocząstek srebra w biodegradowalnych foliach. Ich bakteriobójcze działanie polega na przyłączaniu się do błony komórkowej mikroorganizmu i hamowaniu oddychania wewnątrzkomórkowego, co w konsekwencji prowadzi do zakłóceń transportu protonów, a następnie do plazmolizy i inhibicji syntezy struktur ściany komórkowej bakterii [12].

2. Cel pracy

Celem badań było oznaczenie właściwości przeciwdrobnoustrojowych nanokomponentów zawierających nanocząstki srebra wobec mikroorganizmów izolowanych z błon śluzowych jamy ustnej psów i kotów.

3. Materiały i metody

3.1. Synteza nanocząstek srebra w alginianie sodu

3.1.1. Materiały wykorzystane do syntezy żeli zawierających nanosrebro

Do syntezy żeli zawierających nanosrebro wykorzystano następujące materiały i odczynniki:

- alginian sodu (Sigma-Aldrich);
- gliceryna (Sigma-Aldrich, 99,5%);
- azotan srebra (Sigma-Aldrich, Poland, 99,99%, PubChem CID:135191);
- 2,5% roztwór amoniaku (Sigma Aldrich);
- 4% roztwór ksylozy (Sigma Aldrich);
- 4% roztwór cytrynianu sodu (Sigma Aldrich);
- 1% roztwór hydrazyny (Sigma Aldrich):
- 1% roztwór borowodorku sodu (Sigma Aldrich).

3.1.2. Przygotowanie folii polisacharydowej z nanosrebrem

Alginian sodu (15 g) rozpuszczano w wodzie, tak aby stężenie polisacharydu wynosiło 1,5%. Otrzymaną zawiesinę kleikowano w temperaturze 60°C. Następnie odmierzano po 200 ml żelu polisacharydowego do pięciu kolb stożkowych i dodawano 0,6 ml azotanu (V) srebra o stężeniu 0,01 mol/dm^3 oraz 5 ml roztworu amoniaku 2,5%). Po czym do żeli wprowadzano roztwór gliceryny, w stosunku 1:2 względem alginianu sodu, jako plastyfikator i ogrzewano przez około 0,5 h. Po tym czasie do poszczególnych próbek dodawano określone reduktory. Do próbki nr 1 dodano 8 ml 4% roztworu ksylozy, do próbki nr 2-8 ml 4% roztworu cytrynianu sodu, do próbki nr 3-8 ml 1% roztworu hydrazyny, zaś do próbki nr 4-8 ml 1% roztworu borowodorku sodu. Próbkę nr 5 oznaczono jako kontrolę i pozostawiono bez dodatku reduktora. Tak przygotowane żele ogrzewano mieszając przez godzinę. Po tym czasie rozlano poszczególne żele do wysuszonych i odtłuszczonych szalek i suszono w suszarce. W ten sposób otrzymano folie zawierające nanocząstki srebra.

3.2. Spektroskopia FTIR

Widma ATR-FTIR (ang. *Attenuated Total Reflection-Fourier Transform Infrared*) odczytywano za pomocą spektrofotometru MATTSON 3000 FT-IR (Madison, Wisconsin, USA), wyposażonego w nasadkę refleksyjną 30SPEC 30° z akcesorium MIRacle ATR firmy PIKE Technologies Inc., Madison, Wisconsin, USA, którego zakres obejmował 4000-700, w rozdzielczości 4 cm.

3.3. Spektrometria UV-VIS

Wykonano widma absorpcyjne UV-VIS (ang. *Ultraviolet-Visible Spectroscopy*) rejestrowano za pomocą spektrofotometru skaningowego Shimadzu 2101 w zakresie 200-800 nm. Najwyższy pik zobrazowany na wykresie został osiągnięty w przypadku foli otrzymanej z użyciem ksylozy jako reduktora.

3.4. Mikroskopia elektronowa SEM

Wykorzystano również mikroskopię elektronową SEM (ang. *Scanning Electron Microscope*). Kształt, rozmiar oraz agregację nanosrebra określano przy zastosowaniu wysoko-rozdzielczego mikroskopu skaningowego JOEL 7550, wyposażonego w detektor pomiaru TEM (ang. *Transmission Electron Microscope).*

3.5. Posiew na podłożu namnażającym.

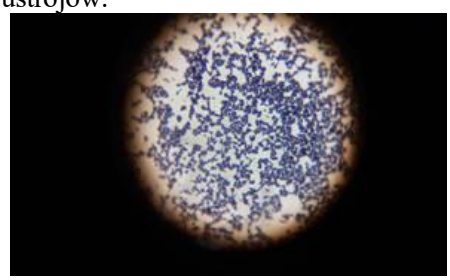
Po pobraniu wymazów z błon śluzowych jamy ustnej badanych zwierząt wykonano posiewy na podłożach namnażającym do hodowli bakterii – TSA (agar tryptozowo-sojowy) (zdj. 1 i 2). Po 24-godzinnej inkubacji wyizolowano i przepasażowano materiał bakteryjny do dalszych oznaczeń.

Zdjęcie 1. Posiew bakterii pobranych z błon śluzowych jamy ustnej kotów [opracowanie własne]

Zdjęcie 2. Posiew bakterii pobranych z błon śluzowych jamy ustnej psów [opracowanie własne]

3.6. Identyfikacja drobnoustrojów metodą Grama

Identyfikację drobnoustrojów oparto na badaniach mikroskopowych obserwując komórki w preparatach barwionych metodą Grama. Stwierdzono obecność Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnych form kulistych, tj. ziarniaków oraz form cylindrycznych, tj. laseczek. W badanych próbkach przeważała obecność bakterii Gram-dodatnich. Na zamieszczonej fotografii (zdj. 3) przestawiono obraz mikroskopowy obserwowanych drobnoustrojów.



Zdjęcie 3. Obraz mikroskopowy komórek wybarwionych metodą Grama [opracowanie własne]

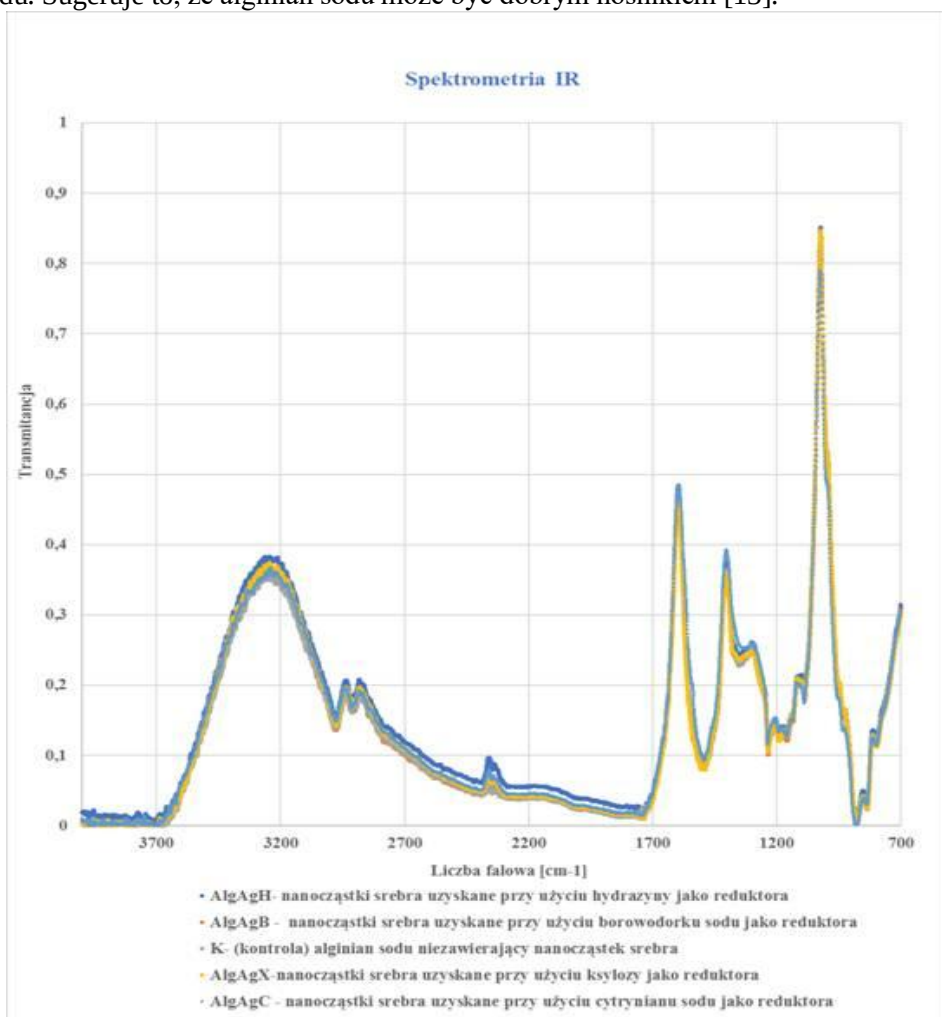
3.7. Ocena działania przeciwbakteryjnego nanocząstek srebra

Analizę działania przeciwbakteryjnego nanocząstek srebra wykonano z udziałem izolatów pobranych od zwierząt. Przygotowywano z nich zawiesiny o stężeniu 0,5 w skali MacFarlanda. Następnie posiewano je na stałym podłożu Mueller-Hinton, po czym na jego powierzchnię nanoszono kawałki folii. Szalki inkubowano w temp. 37°C. Po upływie 24 godzin odczytywano wyniki, mierząc średnice stref zahamowania wzrostu bakterii wokół fragmentów folii.

4. Wyniki

4.1. Spektroskopia FTIR

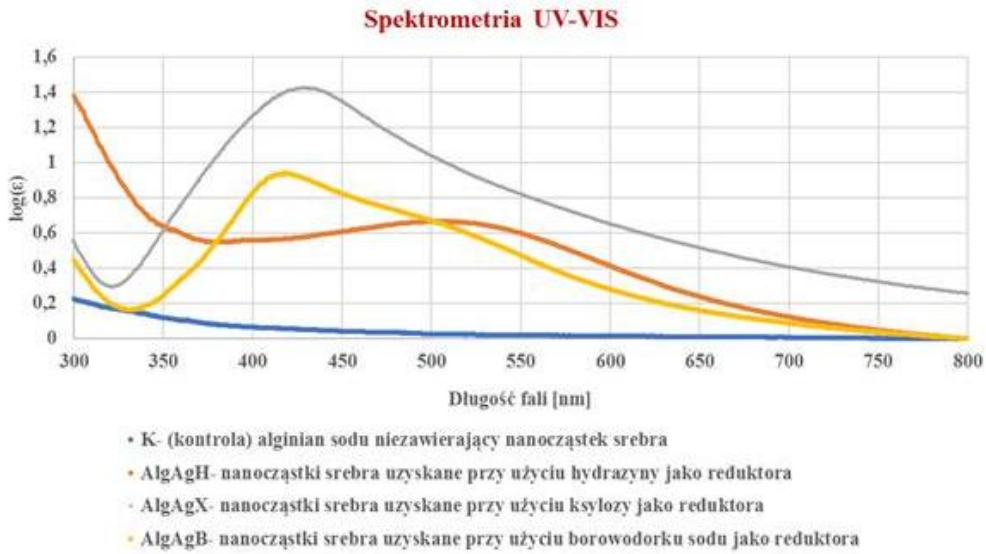
Na wykresie numer 1 przedstawiono widmo podczerwieni. Wykres prezentuje widma FTIR folii alginianowej bez dodatku nanocząstek oraz folii alginianowej z obecnym nanosrebrem. W otrzymanych widmach FTIR zaobserwowano pasma w zakresie około 3000 cm^{-1} do 3500 cm^{-1}, które są charakterystyczne dla obecności wiązań wodorowych występujących w polisacharydach oraz pasma absorpcyjne w zakresie 950 cm^{-1} do 1050 cm^{-1}, specyficzne dla wiązania C-O. Otrzymane widma są reprezentatywne dla użytych polisacharydów, co oznacza, że podczas reakcji otrzymywania struktur z nanosrebrem nie powstały wiązania między nimi a alginianem sodu. Sugeruje to, że alginian sodu może być dobrym nośnikiem [13].



Wykres 1. Widma FTIR folii alginianowej bez dodatku nanocząstek oraz folii alginianowej z obecnym nanosrebrem [opracowanie własne]

4.2. Spektrometria UV-VIS

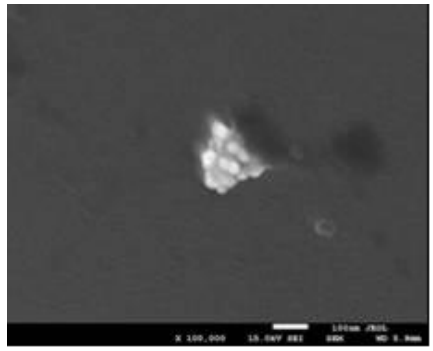
Na wykresie numer 2 przedstawiono widma UV-VIS. Dla nanokompozytów otrzymanych przy użyciu wszystkich reduktorów otrzymano widma, w których zaobserwowano charakterystyczny dla obecności nanosrebra pik, znajdujący się w zakresie 350-600 nm. Szerokość pików nanocząstek srebra uzyskanych przy użyciu hydrazyny i borowodorku sodu świadczy o niejednorodności nanosrebra.



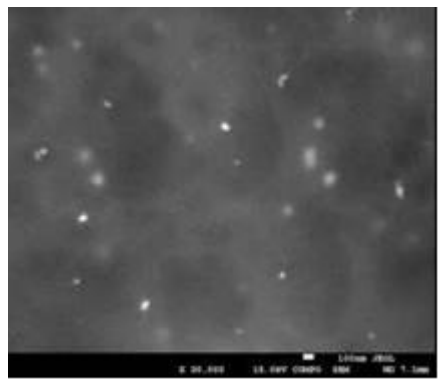
Wykres 2. Widma UV-VIS folii alginianowej bez dodatku nanocząstek oraz folii alginianowej z obecnym nanosrebrem [opracowanie własne]

4.3. Mikroskopia elektronowa SEM

W przypadku nanocząstek srebra uzyskanych dzięki wykorzystaniu borowodorku sodu (będącego reduktorem) reakcja biegła szybko i dochodziło do agregacji struktur nanosrebra (zdj. 4). W ten sposób powstały różne kształty nanostruktur: trójkątne, kołowe lub formy mieszane. W zależności od formy powstałych nanocząstek uzyskano żele polisacharydowe o różnych barwach. Dzięki zastosowaniu detekcji elektronów wtórnych (w systemie COMPO), udowodniono obecność nanosrebra w całej strukturze uzyskanego kompozytu. Na fotografii numer 5 nanostruktury uzyskano poprzez redukcję srebra wobec ksylozy. Pozostałe nanocząstki charakteryzują się różną wielkością, a ich rozmiary wahają się w zakresie 10-25 nm oraz 20-50 nm. Posiadają one również regularny i sferyczny kształt. Niektóre nanocząstki zagregowały w większe skupiska, co przedstawia zdjęcie numer 5.



Zdjęcie 4. Mikroskopowy obraz nanostruktur [opracowanie własne]



Zdjęcie 5. Mikroskopowy obraz nanostruktury [opracowanie własne]

4.4. Wyniki oceny działania przeciwbakteryjnego nanocząstek srebra

W tabeli 1 zestawiono uśrednione wyniki średnic stref zahamowania wzrostu bakterii dookoła folii zawierających nanocząstki srebra.

Tabela 1. Uśrednione wyniki średnic zahamowania wzrostu (mm) bakterii dookoła folii zawierających nanocząstki srebra

Badana grupa	*AlgAgX*	*AlgAgH*	*AlgAgB*	*AlgAgC*	*K*
Koty i psy	*27 mm*	*12 mm*	*18 mm*	*25 mm*	*0 mm*
Koty	*28 mm*	*15 mm*	*20 mm*	*28 mm*	*0 mm*
Psy	*26 mm*	*8 mm*	*16 mm*	*21 mm*	*0 mm*

Objaśnienia:
Nanocząstki srebra pozyskane przez użycie następujących reduktorów: AlgAgX – ksylozy; AlgAgH – hydrazyny; AlgAgB – borowodorku sodu; AlgAgC – cytrynianu sodu; K – kontrola (alginian sodu niezawierający nanocząstek srebra).

4.5. Analiza statystyczna uśrednionych wyników oceny działania przeciwbakteryjnego nanocząstek srebra

4.5.1. Hipoteza 1

Istnieją różnice między oddziaływaniem poszczególnych reduktorów w próbkach na bakterie pochodzące z błon śluzowych jamy ustnej kotów i psów (tab. 2).

Tabela 2. Wyniki analizy statystycznej z wykorzystaniem testów normalności rozkładów

Testy normalności rozkładów:						
Badane nanocząstki	*Kołmogorow-Smirnow*[a]			*Shapiro-Wilk*		
	Statystyka	*df*	*Istotność*	*Statystyka*	*df*	*Istotność*
AlgAgX	*0,18*	*10*	*0,2*	*0,96*	*10*	*0,814*
AlgAgH	*0,33*	*10*	*0,003*	*0,71*	*10*	*0,001*
AlgAgB	*0,24*	*10*	*0,101*	*0,85*	*10*	*0,054*
AlgAgC	*0,32*	*10*	*0,005*	*0,6*	*10*	*<0,001*

Rozkład zmiennej zależnej dla grupy kontrolnej był rozkładem odbiegającym od normalnego ze względu na wartości równe 0 dla wszystkich obserwacji. Rozkłady wyników osiągniętych dla prób nanosrebra pozyskanego przez użycie hydrazyny (AlgAgH) oraz prób nanosrebra pozyskanego przez zastosowanie cytrynianu sodu (AlgAgC) odbiegają od rozkładu normalnego, zatem zastosowano alternatywę nieparametryczną testu ANOVA – test Friedmana. Wartość testu Friedmana wyniosła χ^2 (4) = 19,10; p < 0,001 (tab. 3) oraz (tab. 5).

Tabela 3. Wartości testowane dla testu Friedmana

Wartość testowana[a]	
N	*10*
Chi-kwadrat	*29,099*
df	*4*
Istotność asymptotyczna	*0,001*

a. Test Friedmana

Następnie wykonano serię analiz post-hoc używając testu Wilcoxona (tab. 4).

Tabela 4. Wyniki analizy post-hock przy zastosowaniu testu Wilcoxona

Próba 1 – Próba 2	*Statystyka testu*	*Błąd standardowy*	*Istotność*	*Istotność skorygowana*
K - AlgAgH	*0,900*	*0,707*	*0,203*	*1,000*
K - AlgAgB	*1,500*	*0,707*	*0,034*	*0,339*
K - AlgAgC	*2,750*	*0,707*	*<0,001*	*0,001*
K - AlgAgX	*3,100*	*0,707*	*<0,001*	*<0,001*
AlgAgH - AlgAgB	*-0,600*	*0,707*	*0,396*	*1,000*
AlgAgH - AlgAgC	*-1,850*	*0,707*	*0,009*	*0,089*
AlgAgH - AlgAgX	*2,200*	*0,707*	*0,002*	*0,019*
AlgAgB - AlgAgC	*-1,250*	*0,707*	*0,077*	*0,771*
AlgAgB - AlgAgX	*1,600*	*0,707*	*0,024*	*0,237*
AlgAgC - AlgAgX	*0,350*	*0,707*	*0,621*	*1,000*

Analiza post-hoc wykazała istotność różnic wyników otrzymanych dla: próbki zawierającej nanosrebro uzyskane przez zastosowanie ksylozy jako reduktora (AlgAgX) względem kontroli (K) przy ($p < 0,001$), dla próbki zawierającej nanocząstki srebra uzyskane przez zastosowanie cytrynianu sodu (AlgAgC) względem kontroli (K) przy ($p = 0,001$) oraz próbki zawierającej nanosrebro uzyskane przez zastosowanie ksylozy jako reduktora (AlgAgX) względem próbki z nanocząstkami srebra otrzymanymi przez użycie hydrazyny jako reduktora (AlgAgH) dla ($p = 0,019$) (tab. 4).

Tabela 5. Rangi testu Friedmana

Rangi dla testu Friedmana	
Badane nanocząstki	*Średnia ranga*
AlgAgX	*4,45*
AlgAgH	*2,25*
AlgAgB	*2,85*
AlgAgC	*4,1*
K	*1,35*

4.5.2. Hipoteza 2

Istnieją różnice między oddziaływaniem poszczególnych reduktorów w próbkach wobec bakterii pochodzących z błon śluzowych jamy ustnej kotów (tab. 6).

Tabela 6. Wyniki testów normalności rozkładów w przypadku hipotezy 2

Testy normalności rozkładu							
Badane nanocząstki	*Próbka*	*Kołmogorow-Smirnow*[a]			*Shapiro-Wilk*		
		Statystyka	*df*	*Istotność*	*Statystyka*	*df*	*Istotność*
AlgAgX	*0*	*0,23*	*5*	*0,2*	*0,87*	*5*	*0,281*
	1	*0,19*	*5*	*0,2*	*0,94*	*5*	*0,67*
AlgAgH	*0*	*0,36*	*5*	*0,026*	*0,68*	*5*	*0,006*
	1	*0,33*	*5*	*0,068*	*0,71*	*5*	*0,015*
AlgAgB	*0*	*0,36*	*5*	*0,026*	*0,73*	*5*	*0,021*
	1	*0,11*	*5*	*0,2*	*0,99*	*5*	*0,997*
AlgAgC	*0*	*0,32*	*5*	*0,088*	*0,75*	*5*	*0,031*
	1	*0,29*	*5*	*0,191*	*0,9*	*5*	*0,44*

Tabela 7. Rangi dla testu Friedmana

Rangi dla testu Friedmana	
Badane nanocząstki	*Średnia ranga*
AlgAgX	*4,3*
AlgAgH	*2,3*
AlgAgB	*2,9*
AlgAgC	*4,3*
K	*1,2*

Wykazano, że wartość testu Friedmana wyniosła χ^2 (4) = 14,99; $p = 0,005$ (tab. 7). Okazało się, że wartość ta jest istotna statystycznie, zatem wykonano testy post hoc, których wyniki zaprezentowano (tab. 8).

Tabela 8.Wyniki analizy post-hock.

Próba 1 – Próba 2	*Statystyka testu*	*Błąd standardowy*	*Istotność*	*Istotność skorygowana*
K - AlgAgH	*1,100*	*1,000*	*0,271*	*1,000*
K - AlgAgB	*1,700*	*1,000*	*0,089*	*0,891*
K - AlgAgX	*3,100*	*1,000*	*0,002*	*0,019*
K - AlgAgC	*3,100*	*1,000*	*0,002*	*0,019*
AlgAgH - AlgAgB	*-0,600*	*1,000*	*0,549*	*1,000*
AlgAgH - AlgAgX	*2,000*	*1,000*	*0,046*	*0,455*
AlgAgH - AlgAgC	*-2,000*	*1,000*	*0,046*	*0,455*
AlgAgB - AlgAgX	*1,400*	*1,000*	*0,162*	*1,000*
AlgAgB - AlgAgC	*-1,400*	*1,000*	*0,162*	*1,000*
AlgAgX - AlgAgC	*0,000*	*1,000*	*1,000*	*1,000*

W przypadku hipotezy drugiej analiza post-hoc wykazała istotność różnic wyników otrzymanych dla: próbki zawierającej nanosrebro uzyskane przez zastosowanie ksylozy jako reduktora (AlgAgX) względem kontoli (K) przy (p = 0,019) oraz dla próbki zawierającej nanocząstki srebra uzyskane przez zastosowanie cytrynianu sodu (AlgAgC) względem kontoli (K) przy (p = 0,019) (tab. 8).

4.5.3. Hipoteza 3

Stwierdzono, że istnieją różnice między oddziaływaniem poszczególnych reduktorów w próbkach na bakterie pochodzące z błon śluzowych jamy ustnej psów.

Tabela 9. Rangi dla testu Friedmana

Rangi dla testu Friedmana	
Badane nanocząstki	*Średnia ranga*
AlgAgX	*4,6*
AlgAgH	*2,2*
AlgAgB	*2,8*
AlgAgC	*3,9*
K	*1,5*

Wyniki wykazały, że wartość testu Friedmana wyniosła χ^2 (4) = 14,48; p = 0,006 (tab. 9). Stwierdzono istotne różnice między grupami, zatem wykonano analizę post hoc (tab. 10).

Tabela 10. Wyniki analizy post-hock

Próba 1 – Próba 2	*Statystyka testu*	*Błąd standardowy*	*Istotność*	*Istotność skorygowana*
K - AlgAgH	*0,700*	*1,000*	*0,484*	*1,000*
K - AlgAgB	*1,300*	*1,000*	*0,194*	*1,000*
K - AlgAgC	*2,400*	*1,000*	*0,016*	*0,164*
K - AlgAgX	*3,100*	*1,000*	*0,002*	*0,019*
AlgAgH - AlgAgB	*-0,600*	*1,000*	*0,549*	*1,000*
AlgAgH - AlgAgC	*-1,700*	*1,000*	*0,089*	*0,891*
AlgAgH - AlgAgX	*2,400*	*1,000*	*0,016*	*0,164*
AlgAgB - AlgAgC	*-1,100*	*1,000*	*0,271*	*1,000*

AlgAgB - AlgAgX	*1,800*	*1,000*	*0,072*	*0,719*
AlgAgC - AlgAgX	*0,700*	*1,000*	*0,484*	*1,000*

W przypadku hipotezy trzeciej analiza post-hoc wykazała istotność różnic wyników otrzymanych dla: próbki zawierającej nanosrebro uzyskane przez zastosowanie ksylozy jako reduktora (AlgAgX) względem kontroli (K) przy (p = 0,019) (tab. 10).

5. Omówienie wyników

Na podstawie przeprowadzonych analiz fizyko-chemicznych stwierdzono, że we wszystkich badanych foliach, do których dodano wodne roztwory związków redukujących (ksylozy, hydrazyny, borowodorku sodu i cytrynianu sodu) otrzymano nanocząstki srebra. W wyniku oceny działania przeciwdrobnoustrojowego folii zawierających nanocząstki srebra, stwierdzono potencjalny efekt przeciwbakteryjny. Analiza statystyczna wykazała, że w przypadku nanokompozytów otrzymanych za pomocą ksylozy jako reduktora, zaistniało najmocniejsze działanie hamujące wzrost bakterii izolowanych z błon śluzowych jamy ustnej zwierząt względem wszystkich badanych prób. W przypadku hipotezy 1, uwzględniając różnice między próbkami wobec drobnoustrojów izolowanych od kotów i psów traktowanych zbiorczo, wykazano istotne różnice wyników otrzymanych dla: próbki zawierającej nanosrebro uzyskane przez zastosowanie ksylozy jako reduktora (AlgAgX) oraz próbki zawierającej nanocząstki srebra uzyskane przez zastosowanie cytrynianu sodu (AlgAgC) względem próby kontrolnej (K). W pozostałych próbkach (AlgAgB oraz AlgAgH) nie wykazano istotnych różnic względem kontroli. Zaobserwowano także różnice w próbce zawierającej nanosrebro uzyskane przez zastosowanie ksylozy (AlgAgX) względem próbki z nanocząstkami srebra otrzymanymi przez użycie hydrazyny (AlgAgH). Na podstawie danych można stwierdzić, że próbka zawierająca nanosrebro pozyskane przez użycie ksylozy (AlgAgX) ma lepsze działanie przeciwdrobnoustrojowe niż próbka zawierająca nanocząstki srebra pozyskane przez zastosowanie hydrazyny jako reduktora (AlgAgH). Pomiędzy pozostałymi próbkami nie odnotowano istotnych różnic.

W przypadku hipotezy drugiej uwzględniając wpływ próbek wobec drobnoustrojów izolowanych od kotów, analiza post-hoc wykazała istotność różnic wyników otrzymanych dla: próbki zawierającej nanosrebro uzyskane przez zastosowanie ksylozy jako reduktora (AlgAgX) oraz dla próbki zawierającej nanocząstki srebra uzyskane przez zastosowanie cytrynianu sodu (AlgAgC) względem kontroli (K). Rezultaty te nie różnią się od wyników uzyskanych dla próbek obejmujących izolaty pobrane z błon śluzowych zarówno psów, jak i kotów. Efekt wobec bakterii pozyskanych od kotów był identyczny, jak w przypadku ogółu bakterii pobranych z błon śluzowych wszystkich zwierząt. W przypadku hipotezy trzeciej, uwzględniającej z kolei oddziaływanie próbek wobec bakterii izolowanych od psów, analiza post-hoc wykazała istotność różnic wyników otrzymanych dla: próbki zawierającej nanosrebro uzyskane przez zastosowanie ksylozy jako reduktora (AlgAgX) względem kontroli (K). Nie zaobserwowano różnic dla próbek zawierających nanocząstki srebra pozyskane przez zastosowanie cytrynianu sodu (AlgAgC).

6. Wnioski

Wnioskuje się, że najkorzystniejsze działanie przeciwbakteryjne posiadały nanocząstki srebra otrzymane z wykorzystaniem ksylozy jako reduktora. Mogłyby one odnaleźć swoje zastosowanie w produkcji preparatów bakteriobójczych, opatrunków i materiałów o charakterze leczniczym dla zwierząt. Niniejsze badanie jest wstępną analizą pilotażową wskazującą na obiecujące efekty działania przeciwbakteryjnego wybranych nanokompozytów. Zachęca to do kontynuacji w przyszłości poszerzonych prac badawczych w tej dziedzinie.

Literatura

1. Sokół L.J., *Nanotechnologia w życiu człowieka*, Nanotechnology in human's life, Economy and Management, 2012.
2. Kosmala K., Szymańska R., *Nanocząstki tlenku tytanu (IV). Otrzymywanie, właściwości i zastosowanie*, Kosmos Problemy Nauk Biologicznych, 2016.
3. Siemieniec J., Kruk P., *Synteza nanocząstek srebra oraz złota metodami zielonej chemii*, Chemik, 2013, 67, 10, 842-847.
4. Khachatryan G., Khachatryan K., Krystyjan M., Krzan M., Khachatryan L., *Functional properties of composites containing silver nanoparticles embedded in hyaluronan and hyaluronan-lecithin matrix*, International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 149, s. 417-423.
5. Wolska I.K., Markowska K., Wypij M., Golińska P., Dahm H., *Nanocząstki srebra, synteza i biologiczna aktywność*, Kosmos Problemy Nauk Biologicznych, 2017.
6. Sionkowska A., Lewandowska K., *Projekt pn. Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno-przyrodniczy*ch, realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, 2016.
7. Kępska D., Olejnik Ł., *Algi – przyszłość z morza*, Chemik, 2014, 68, 11, s. 967-972.
8. Sionkowski G., Kaczmarek H., *Polimery z nanocząstkami srebra-wybrane układy – otrzymywanie, właściwości, zastosowania*, Polimery, 2010, 55, s. 7-8.
9. Dardzińska W., Dworecka-Kaszak B., *Biofilm bakteryjny płytki nazębnej i jego znaczenie w chorobach jamy ustnej psów i kotów*, Życie Weterynaryjne, 2014.
10. Gołyńska M., Polkowska I., Sobczyńska-Rak A., *Choroby przyzębia u psów*, Życie Weterynaryjne, 2014.
11. Binek M., Kizerwetter-Świda M., Rzewuska M., *Oporność na antybiotyki gronkowców izolowanych od zwierząt*, Conference Paper, ResearchGate, 2007.
12. Małachowska-Jutsz A., Hetmańczyk S., *Biocidal properties of silver nanoparticles Biobójcze właściwości nanocząstek srebra*, Przemysł Chemiczny, ResearchGate, 2014.
13. Papageorgiou, S.K., Kouvelos, E.P., Favvas, E.P., Sapalidis, A.A., Romanos, G.E., &Katsaros, F.K., *Metal – carboxylateinteractions in metal–alginatecomplexesstudied with FTIR spectroscopy*, Carbohydrate Research, 2010, 345(4), s. 469-473.

Oznaczenie właściwości przeciwdrobnoustrojowych nanokomponentów zawierających nanocząstki srebra wobec mikroorganizmów izolowanych z błon śluzowych jamy ustnej psów i kotów

Streszczenie

Jama ustna stanowi specyficzne środowisko bytowania mikroorganizmów. U zwierząt różnice między gatunkami mikroflory wynikają z ich odmiennego składu ilościowego i jakościowego. Ze względu na uodparnianie się bakterii i grzybów na antybiotyki i chemioterapeutyki wielu naukowców poszukuje nowych substancji o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych. Celem badań było oznaczenie właściwości przeciwbakteryjnych nanokomponentów zawierających nanocząstki srebra wobec mikroorganizmów wyizolowanych z błon śluzowych jamy ustnej psów i kotów. Folie zawierające nanocząstki sreba wykonano stosując alginian sodu, do którego po skleikowaniu, dodano azotan (V) srebra oraz kolejno: ksylozę, hydrazynę, cytrynian sodu i borowodorek sodu jako reduktory. Po pobraniu wymazów wykonywano posiewy na podłożach odżywczych. Po 24-godzinnej inkubacji izolowano materiał bakteryjny i rozcieńczano go w roztworze soli fizjologicznej, by następnie określić gęstość optyczną bakterii za pomocą densytometru. Identyfikację bakterii oparto na obserwacji preparatów barwionych metodą Grama. Stwierdzono obecność Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnych form kulistych, tj. ziarniaki, dwoinki, pakietowce oraz form cylindrycznych, tj. laseczki. W badanych próbkach przeważały bakterie Gram-dodatnie. Analizę działania przeciwdrobnoustrojowego nanocząstek srebra wykonano posiewając izolaty bakterii na agarze Mueller-Hinton oraz układając na powierzchni kawałki folii. Szalki inkubowano w temp. 37°C. Po upływie 24 godzin odczytano wyniki, mierząc średnice zahamowania wzrostu bakterii wokół folii. Najsilniejsze działanie stwierdzono w przypadku folii otrzymanej poprzez użycie ksylozy. Najsłabszy efekt wykazano dla folii przygotowanej z udziałem hydrazyny. Wnioskuje się, że nanocząstki srebra pozyskane przez wykorzystanie ksylozy jako reduktora, mogłyby znaleźć zastosowanie w produkcji preparatów bakteriobójczych do stosowania w weterynarii.

Słowa kluczowe: nanocząstki srebra, alginian sodu, mikroorganizmy, psy, koty

Determination of antimicrobial properties of nanocomponents containing silver nanoparticles against isolated microorganisms from the oral mucosa of dogs and cats

Abstract

The oral cavity is a specific environment for microorganisms. In animals, the differences between the species of microflora result from their different quantitative and qualitative composition. Due to the resistance of bacteria and fungi to antibiotics and chemotherapeutic agents, many scientists are looking for new substances with antimicrobial properties. The aim of the research was to determine the antibacterial properties of nanocomponents containing silver nanoparticles against microorganisms isolated from the oral mucosa of dogs and cats. The films containing silver nanoparticles were made using sodium alginate, to which, after gluing, silver nitrate (V) was added, and successively: xylose, hydrazine, sodium citrate and sodium borohydride as reducing agents. After the swabs were collected, inoculation on nutrient media (TSA) was performed. After a 24-hour incubation, bacterial material was isolated and diluted in physiological saline to determine the optical density of the bacteria with a densitometer. Identification of bacteria was based on the observation of preparations stained with the Gram method. The presence of gram-positive and gram-negative spherical forms, i.e. cocci, split, bundle and cylindrical forms, i.e. rods, was found. Gram-positive bacteria predominated in the samples tested. The analysis of the antimicrobial activity of silver nanoparticles was performed by inoculating bacterial isolates on Mueller-Hinton agar and placing pieces of foil on the surface. The dishes were incubated at 37°C. After 24 hours, the results were read by measuring the diameters of inhibition of bacterial growth around the film. The strongest effect was found for the film obtained by using xylose. The weakest effect was demonstrated for the film prepared with the use of hydrazine. It is concluded that silver nanoparticles obtained by using xylose as a reducing agent could be used in the production of bactericidal preparations for veterinary use.

Keywords: silver nanoparticles, sodium alginate, microorganisms, dogs, cats

Alicja Michalczyk[1], Anna Cieniecka-Rosłonkiewicz[2], Sylwia Garbaczewska[3], Arkadiusz Białek[4]

Surowce rolnicze i odpadowe jako źródła węgla w biosyntezie kwasu D-mlekowego, prekursora kwasu polimlekowego (PLA)

1. Wstęp

Kwas mlekowy (LA, ang. *Lactic Acid*) jest kwasem organicznym produkowanym w skali przemysłowej przede wszystkim z udziałem mikroorganizmów, głównie bakterii fermentacji mlekowej (LAB, ang. *Lactic Acid Bacteria*) [1]. Stanowi również substrat wyjściowy do otrzymywania polilaktydu (PLA) [2, 3]. Ze względu na swoje właściwości oraz szeroką gamę zastosowań (przemysł spożywczy, farmaceutyczny, kosmetyczny, chemiczny), LA stanowi obiekt intensywnych badań. Do dziś podjęto liczne próby usprawnienia procesu fermentacji mlekowej, koncentrując się w głównej mierze na poprawie wydajności i obniżeniu kosztów procesu biotechnologicznego otrzymywania kwasu mlekowego. Podstawowym zagadnieniem jest dobór odpowiednich szczepów produkcyjnych, uzależniony od pożądanych cech produktu końcowego fermentacji (izomer L lub D LA) lub ich ulepszanie np. poprzez modyfikacje genetyczne, jak również stosowanie do produkcji kwasu mlekowego tanich, odnawialnych, powszechnie dostępnych surowców, przy jednoczesnym niskim koszcie ich przerobu [4-19].

Obniżenie kosztów wytwarzania kwasu mlekowego jest ważne w kontekście wzrastającego zapotrzebowania na biodegradowalne tworzywa sztuczne, szczególnie PLA, nazywanego materiałem XXI wieku. Oprócz zastosowań medycznych (implanty, nici chirurgiczne, klamry, klipsy, maski chirurgiczne, opatrunki, kompresy itp.), PLA znalazł również zastosowanie w produkcji rolno-spożywczej. Służy do wytwarzania biodegradowalnych folii ogrodowych, agrowłóknin, doniczek rozkładających się po wysadzeniu z roślinami do gruntu, opakowań i przedmiotów jednokrotnego użytku (toreb na zakupy, worków na śmieci, butelek do napojów, opakowań produktów mleczarskich, sztućców i naczyń) oraz produkcji matryc do kontrolowanego uwalniania nawozów czy pestycydów [2, 3]. Stąd też przyszłość biotechnologicznego otrzymywania kwasu mlekowego, a tym samym produkcji PLA, łączy się nierozerwalnie z zastosowaniem tanich, powszechnie dostępnych surowców odnawialnych.

W procesie biosyntezy kwasu mlekowego jako źródło węgla najczęściej wykorzystuje się skrobiowe surowce rolnicze (pszenica, ziemniaki, jęczmień, kukurydza,

[1] Michalczyk@ipo.waw.pl, Zakład Technologii Chemicznej i Biotechnologii, Sieć Badawcza Łukasiewicz-Instytut Przemysłu Organicznego.
[2] Cieniecka@ipo.waw.pl, Zakład Technologii Chemicznej i Biotechnologii, Sieć Badawcza Łukasiewicz-Instytut Przemysłu Organicznego.
[3] Garbaczewska@ipo.waw.pl, Zakład Technologii Chemicznej i Biotechnologii, Sieć Badawcza Łukasiewicz-Instytut Przemysłu Organicznego.
[4] Bialek@ipo.waw.pl, Zakład Technologii Chemicznej i Biotechnologii, Sieć Badawcza Łukasiewicz-Instytut Przemysłu Organicznego.

ryż, kassawa) [7-12], odpadową biomasę lignocelulozową, generowaną przez rolnictwo i leśnictwo (słoma ryżowa, pszeniczna i kukurydziana, drewno odpadowe, makulatura) [13-17] oraz produkty odpadowe pochodzące z przemysłu spożywczego (melasa, serwatka) [18, 19]. Surowce skrobiowe i lignocelulozowe przed użyciem jako składniki pożywki fermentacyjnej muszą być poddane procesowi hydrolizy chemicznej lub enzymatycznej w celu otrzymania cukrów fermentujących wykorzystywanych przez szczep bakteryjny do biosyntezy D-LA [20, 21].

Celem niniejszej pracy było sprawdzenie możliwości wykorzystania surowców skrobiowych (ziaren pszenicy, mąki pszennej) oraz lignocelulozowych (kolby i słoma kukurydziana) w formie hydrolizatów oraz produktów odpadowych pochodzących z przemysłu spożywczego (melasa buraczana, serwatka) jako źródeł węgla w procesie biosyntezy D-LA przez szczep *Sporolactobacillus laevolacticus* DSM 442.

2. Materiały i metody

2.1. Surowce rolnicze i odpadowe

W badaniach użyto następujące źródła węgla:

- glukoza odczynnikowa (Sigma Aldrich);
- melasa buraczana o sumarycznej zawartości węglowodanów 62,5 % (hurtowania z artykułami do produkcji rolnej Max-rol);
- serwatka w proszku o zawartości laktozy 68% (Mogador);
- surowce skrobiowe: mąka pszenna o zawartości skrobi 65% (Złote Młyny), ziarna pszenicy o zawartości skrobi 60%. Oznaczenie zawartości skrobi wykonano metodą enzymatyczną przy użyciu zestawu AA/AMG6/95 firmy Megazyme [22];
- surowce lignocelulozowe: słoma kukurydziana o zawartości celulozy ok. 38% i hemicelulozy ok. 24%, kolby kukurydziane o zawartości celulozy 38% i hemicelulozy 40%. Zawartość celulozy i hemicelulozy określono według metodyki opisanej przez Ayeni i współ. [23].

Ilość surowców odpadowych użytych jako źródło węgla do pożywki fermentacyjnej wyliczano na podstawie ilości zawartych w nich węglowodanów i odnoszono do zawartości glukozy 100 g/l w pożywce. W przypadku surowców lignocelulozowych ilość surowca użytego do fermentacji wynosiła 10,52 g/l, co odpowiadało ok. 30 g/l (hydrolizat z kolb kukurydzy) lub 16,6 g/l (hydrolizat ze słomy kukurydzianej) cukrów fermentujących.

2.2. Hydroliza enzymatyczna surowców lignocelulozowych

W badaniach używano substraty lignocelulozowe: kolby kukurydziane i słomę kukurydzianą. Proces hydrolizy przeprowadzono według procedury opisanej przez Światek i współ. [24]. Ilość wykorzystywanych w badaniach surowców lignocelulozowych odnoszono do ilości zawartej w nich celulozy (38%). Materiał doświadczalny poddano wstępnej obróbce z wykorzystaniem NaOH w proporcji 0,1 g/g surowca. Próbki ogrzewano w temperaturze 121°C w autoklawie pod ciśnieniem 0,1MPa w czasie 90 min. Materiał po obróbce i korekcie kwasowości do pH 5, poddano hydrolizie enzymatycznej. Stężenie substratu lignocelulozowego w zawiesinie ustalono na poziomie 30% s.s. w/w/. Reakcję prowadzono w czasie 72 godz. w temp. 30°C z zastosowaniem wytrząsania 250 rpm (inkubator Innova 40, New Brusweek, USA).

Zastosowano kompozycję trzech enzymów celulolitycznych: celulazy z *Trichoderma longibrachiatum*, ksylanazy z *Trichoderma longibrachiatum* i celobiazy z *Aspergillus niger*. Preparaty stosowano w następujących dawkach: celulaza z *T. longibrachiatum* (Sigma C9748) 15 U/g s.s. substratu, ksylanaza z *T. longibrachiatum* (Sigma X2629), 15 FXU/g s.s. substratu, celobiaza z *A. niger* – 30 CBU·g^{-1}s.s. substratu. Aktywność enzymów była wyrażana następująco: 1 U – ilość enzymu uwalniająca 1 μmol glukozy z celulozy w czasie 1 h (warunki reakcji: pH 5,0; temperatura 37°C, czas inkubacji 2 h). 1FXU – ilość enzymu uwalniająca 1 μmol ksylozy z ksylanu w czasie 1 minuty (warunki reakcji: pH; 4,5, temperatura 30°C), 1 CBU – ilość enzymu przekształcająca 1 μmol celobiozy do 2 μmoli glukozy w ciągu 1 minuty (warunki reakcji: pH 4,8; temperatura 50°C). Efekty hydrolizy określano na podstawie stężenia uwolnionych cukrów redukujących, oznaczonych za pomocą HPLC. Wydajność hydrolizy (w) obliczano według następującego wzoru:

$$W=\frac{c\ x\ 0{,}9}{z}\ x100\% \qquad [1]$$

gdzie: c − stężenie uwolnionych cukrów redukujących [g /l], 0,9 – współczynnik przeliczeniowy cukrów prostych na polisacharydy, z − zawartość celulozy i hemicelulozy w materiale natywnym [%].

2.3. Hydroliza enzymatyczna surowców skrobiowych

Ziarna pszenicy oraz mąkę pszenną poddano hydrolizie w dwuetapowym procesie za pomocą enzymów amylolitycznych: α-amylazy (Termamyl S.C.) oraz gluko-amylazy (San Extra II). 264 g mąki pszennej oraz ziarna pszenicy zawieszono w 5-krotnej masie wody destylowanej. Po doprowadzeniu pH zawiesiny do wartości 5,0 dodano enzym Termamyl S.C. (α-amylaza) w celu upłynnienia skrobi. Ilość dodanego enzymu wynosiła 0,45 mg/g skrobi. Zawiesinę wytrząsano (150 rpm) przez 45 minut w temperaturze 80°C. Po schłodzeniu do temperatury 65°C i doprowadzeniu do pH 5,5 lub 6,5 dodano do zawiesiny enzym scukrzający San Extra L w ilości 0,7 mg/g skrobi. Reakcje prowadzono w temperaturze 60°C na wytrząsarce przy szybkości obrotów 150 rpm 24 godziny. W uzyskanych hydrolizatach oznaczono zawartość sumaryczną cukrów (glukoza, maltoza) metodą HPLC. Wydajność hydrolizy wyznaczano wg polskiej normy PN-78/A-74701 [26].

2.4. Szczep testowy

W badaniach wykorzystano szczep *Sporolactobacillus laevolacticus* DSM 442 pochodzący z niemieckiej kolekcji DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH). Czystą kulturę szczepu bakteryjnego przechowywano w temperaturze 4°C na płynnym podłożu MRS (Oxoid), przeszczepiano co 2 tygodnie i hodowano w temperaturze 30°C przez 48 godzin.

2.5. Biosynteza kwasu D-mlekowego w warunkach stacjonarnych

Proces fermentacji prowadzono na zmodyfikowanej pożywce Sawai [4] o następującym składzie: 5 g ekstraktu drożdżowego, 60 g/l $CaCO_3$, 2 g/l $MgSO_4x7\ H_2O$, 0,1 g/l $MnSO_4x5H_2O$, 0,1 g/l $FeSO_4x7{\cdot}H_2O$, 100 g/l glukozy lub jej substytuty jak melasa buraczana, serwatka, hydrolizaty enzymatyczne z kolb i słomy kukurydzianej, hydrolizaty enzymatyczne z mąki pszennej i ziaren pszenicy. Odczyn pożywki doprowadzano do wartości 6,5 przy użyciu 1N roztworu HCl oraz NaOH. Pożywki

rozlewano do kolb Erlenmayera o pojemności 100 ml po 30 ml i sterylizowano w autoklawie w temperaturze 121°C przez 15 minut pod ciśnieniem 0,1 MPa Po wystudzeniu, kolby zaszczepiono 48-godzinną kulturą szczepu *Sp. laevolacticus* DSM442 i inkubowano w temperaturze 37°C przez 7 dni w warunkach stacjonarnych. W 24-godzinnych odstępach czasu pobierano z każdej kolbki po dwie próbki w celu oznaczenia zawartości LA (D-LA, L-LA) w brzeczce pofermentacyjnej. Uzyskane wyniki wyrażano w g/l.

2.6. Biosynteza kwasu D-mlekowego w bioreaktorze w trybie okresowym

Sporządzono 1 l pożywki produkcyjnej na bazie hydrolizatu z mąki pszennej oraz melasy buraczanej, które w badaniach skryningowych stanowiły optymalne źródło węgla w procesie biosyntezy D-LA. Pozostałe składniki pożywki fermentacyjnej: 60 g/l $CaCO_3$, 2 g/l Mg SO_4x7 H_2O, 0,1 g/l $MnSO_4$x5H_2O, 0,1 g/l $FeSO_4$x7·H_2O. Do zaszczepienia podłoża produkcyjnego w bioreaktorze używano 10% (v/v) hodowli inokulacyjnej. Proces biosyntezy prowadzono w bioreaktorze BioFlo320 (New Brunshwick) o maksymalnej pojemności naczynia 2,5 l przez 120 godz. przy zachowaniu następujących parametrów; obroty mieszadeł 150 rpm, przepływ powietrza 0,8 vvm, temperatura 37°C do całkowitego wyczerpania źródła węgla. Co kilka godzin pobierano dwie próbki w celu oznaczenia zawartości LA (D-LA, L-LA). Analogiczne badania wykonano na pożywce fermentacyjnej zawierającej w swoim składzie glukozę.

2.7. Metody analityczne

Stężenie cukrów fermentujących w hydrolizatach z surowców skrobiowych i lignocelulozowych, jak również ich zawartość i ilość kwasu mlekowego oraz kwasu octowego w brzeczce pofermentacyjnej oznaczono za pomocą zastawu HPLC (LC-20AD, Shimadzu, Japonia) wyposażonego w detektor refraktometryczny (RID-20A), detektor UV (SPD-M20A) i kolumnę jonowymienną (Aminex, HPX 87H, Bio-Rad, Hercules, USA). Warunki analizy były następujące: faza ruchoma 5 mM H_2SO_4, przepływ fazy 0,6 ml/min, temperatura kolumny 37ºC. Przed każdą analizą próbki odwirowywano z prędkością 8000 rpm (Universal 320R, Hettich, Niemcy) przez 30 min. Supernatant przepuszczano przez filtr strzykawkowy 0,22 μm RC (Chemlad, Polska) i rozcieńczano w fazie. W celu oznaczenia czystości enancjomerycznej kwasu mlekowego w brzeczce pofermentacyjnej zastosowano testy enzymatyczne (Nzytech; D-/L-Lactic acid, UV metod, Portugalia).

3. Wyniki

W pierwszym etapie prowadzonych badań polisacharydy zawarte w surowcach lignocelulozowych oraz skrobiowych poddano procesowi hydrolizy. Z danych przedstawionych w tabeli 1 wynika, że efektem hydrolizy enzymatycznej kolb kukurydzianych było uzyskanie sumarycznie 58 g/l cukrów, z czego 30 g/l stanowiła glukoza. Wydajność przebiegu procesu hydrolizy wynosiła natomiast 66,9%. W przypadku słomy kukurydzianej otrzymano sumarycznie 41,2 g/l cukrów, z czego glukoza stanowiła 16,6 g/l. Hydroliza surowca natomiast przebiegała z wydajnością 59,8%.

Tabela 1. Efekt hydrolizy enzymatycznej surowców lignocelulozowych

Surowiec	*Zawartość glukozy [g/l]*	*Zawartość ksylozy [g/l]*	*Zawartość arabinozy [g/]*	*Pozostałe cukry redukujące*	*Wydajność hydrolizy*
Słoma kukurydziana	*16,6*	*12,5*	*4*	*8,1*	*59,8*
Kolby kukurydziane	*30*	*19,7*	*1,5*	*6,8*	*66,9*

W tabeli 2 przedstawiono wyniki dotyczące hydrolizy enzymatycznej surowców skrobiowych; mąki pszennej i ziarna pszenicy. Sumaryczna ilość cukrów uzyskanych po 24 godz. procesu hydrolizy mąki pszennej wynosiła 132 g/l, a wydajność procesu 69%. W wyniku hydrolizy ziaren pszenicy otrzymano łącznie 118 g/l cukrów, a proces przebiegał z wydajnością 67%.

Tabela 2. Efekt hydrolizy enzymatycznej surowców skrobiowych

Surowiec	*Sumaryczna zawartość cukrów w hydrolizacie*			*Wydajność [%]*
	Glukoza [g/l]	*Maltoza [g/l]*	*Suma [g/l]*	
Mąka pszenna	*92,8*	*39,2*	*132*	*69*
Ziarna pszenicy	*67,8*	*50,2*	*118*	*67*

W wyniku procesu hydrolizy uzyskano zarówno glukozę i maltozę, co świadczy o niecałkowitej konwersji skrobi do glukozy. W obu przypadkach wydajność hydrolizy skrobi była analogiczna.

W tabeli 3 przedstawiono wyniki biosyntezy kwasu D-mlekowego w warunkach stacjonarnych na pożywkach zawierających różne źródła węgla.

Tabela 3. Biosynteza kwasu D-mlekowego w warunkach stacjonarnych na pożywkach zawierających różne źródła węgla

Źródło węgla	*Ilość substratu użytego do pożywki [g/l]*	*Całkowita zawartość cukrów fermentujących [g/l]*	*Optymalny czas fermentacji [godz]*	*D-LA [g/l]*	*Wydajność [%]*
Glukoza	*100*	*100*	*96*	*83,6*	*84,0*
Melasa buraczana	*160*	*100*	*120*	*70*	*70,0*
Serwatka	*140*	*100*	*144*	*69,5*	*70,0*
Hydrolizat enzymatyczny z mąki pszennej	*264*	*132*	*120*	*78,8*	*59,7*
Hydrolizat enzymatyczny z ziaren pszenicy	*264*	*118*	*120*	*65,0*	*55,0*
Hydrolizat enzymatyczny z kolb kukurydzianych	*10,52*	*30*	*120*	*8,8*	*29,0*
Hydrolizat enzymatyczny z słomy kukurydzianej	*10,52*	*16,6*	*120*	*3,8*	*22,0*

Spośród przetestowanych surowców mogących stanowić substytut glukozy, najwyższe wartości biosyntezy D-LA uzyskano, gdy źródłem węgla był hydrolizat enzymatyczny z mąki pszennej 78,8 g/l D-LA po 120 godz. fermentacji (wydajność 59,7%) oraz melasa buraczana (70 g/l D-LA po 120 godz. fermentacji, wydajność 70%). Na pożywce z serwatką uzyskano zbliżoną ilość D-LA 69,8 g/l, jak w przypadku melasy buraczanej, ale po upływie dłuższego czasu fermentacji wynoszącym 144 godz. Na pożywkach zawierających jako bazę hydrolizat z kolb kukurydzy i słomy kukurydzianej uzyskano zaledwie 8,8 g/l i 3,8 g/l D-LA. Niewielkie ilości D-LA uzyskane na pożywkach z hydrolizatami surowców lignocelulozowych jako źródła węgla, mogą wynikać z faktu, że pentozy w nich zawarte nie są wykorzystywane przez szczep *Sp. laevolacticus* DSM 442 do biosyntezy D-LA, co wykazały nie opublikowane jeszcze badania własne. Według niektórych autorów z kolei, fermentacja hydrolizatów ligninocelulozowych może ulegać inhibicji z uwagi na obecność w środowisku reakcji związków, takich jak furfural, 5-hydroksymetylo-furfural czy kwas octowy, które powstają na etapie wstępnego przetwarzania surowca. Zapobiegając tym zjawiskom poddaje się wspomniane surowce detoksyfikacji [27], aczkolwiek znane są również prace, w których adaptuje się bakterie mleczanowe do warunków podłoża hodowlanego [28].

Melasa i hydrolizat z mąki pszennej jako najkorzystniejsze źródła węgla do przebiegu biosyntezy D-LA w warunkach stacjonarnych, zostały wytypowane do dalszego etapu badań w bioreaktorze. Procesy biosyntezy w trybie okresowym w bioreaktorze typu Bio Flo 320 prowadzono przy zachowaniu następujących parametrów: pH wyjściowym pożywki równym 6,5, temperatura 37°C, obroty mieszadeł 150 rpm, przepływ powietrza 0,8 vvm. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Biosynteza kwasu D-mlekowego w bioreaktorze na pożywkach zawierających wytypowane źródła węgla

Źródło węgla [g/l]	*Ilość substratu użytego do pożywki [g/l]*	*Całkowita zawartość cukrów fermentujących [g/l]*	*Optymalny czas fermentacji [godz]*	*D-LA [g/l]*	*Wydajność [%]*
Glukoza	*100*	*100*	*72*	*90*	*90*
Melasa buraczana	*160*	*100*	*120*	*79,5*	*79,5*
Hydrolizat z mąki pszennej	*264*	*132*	*120*	*89,2*	*67,6*

Wykazano, że zastosowanie melasy buraczanej, jak i hydrolizatu mąki pszennej jako składnika medium produkcyjnego, pozwoliło na uzyskanie niemalże analogicznej ilości D-LA (ok. 79,5-89,2 g/l), jak w przypadku wykorzystania glukozy. Istotne różnice stwierdzono natomiast w optymalnych czasach oraz wydajnościach procesu fermentacji, które wynosiły odpowiednio 120 godz. i 79,5% dla melasy buraczanej oraz 120 godz. i 67,6% dla hydrolizatu z mąki pszennej. Wykorzystanie glukozy odczynnikowej w pożywce fermentacyjnej skróciło czas fermentacji do 72 godz. I zwiększyło wydajność procesu do 90%.

Zastąpienie glukozy melasą lub hydrolizatem mąki pszennej powodowało również zmniejszenie szybkość objętościowej produkcji D-LA. Dla glukozy jako źródła węgla

w pożywce fermentacyjnej wynosiła ona 1,24 g/l/godz., dla hydrolizatu enzymatycznego mąki pszennej 0,74 g/l/godz., a dla melasy buraczanej 0,66 g/l/godz.

4. Wnioski

Prowadzone przez nas badania wykazały możliwość wykorzystania surowców odpadowych i produktów rolniczych jako składników pożywek produkcyjnych, stanowiących źródła węgla w procesie biosyntezy D-LA z wykorzystaniem szczepu *Sp. laevolacticus* DSM 442. Spośród przetestowanych substytutów glukozy, melasa buraczana oraz hydrolizat enzymatyczny mąki pszennej, stanowiły najkorzystniejsze źródła węgla w procesie fermentacji D-LA. Ilości D-LA uzyskiwane podczas fermentacji w warunkach stacjonarnych i w trybie okresowym w bioreaktorze z wykorzystaniem melasy buraczanej i hydrolizatu z mąki pszennej były zbliżone do ilości D-LA uzyskiwane na pożywkach z glukozą i wynosiły ok. 70-80 g/l (hodowla stacjonarna) oraz ok. 80-90 g/l (hodowla w bioreaktorze). Zastosowanie wyżej wymienionych surowców w pożywce wpłynęło jednak na wydłużenie przebiegu czasu fermentacji do 120 godz. dla obu typów hodowli, zmniejszenie wydajności do ok. 60-70% w hodowli stacjonarnej oraz ok. 68-80% w hodowli w bioreaktorze. Obniżeniu uległa również szybkość objętościowa produkcji D-LA w obu typach hodowli.

Uzyskane wyniki, a także dostępne dane literaturowe wskazują, że zastosowanie metody biotechnologicznej produkcji kwasu mlekowego ze źródeł odnawialnych ma niewątpliwie wiele zalet. Jednakże jest jeszcze szereg problemów do pokonania, aby mogła się ona odbywać na masową skalę i była opłacalna ekonomicznie. Aby uzyskiwać konkurencyjny produkt o najlepszych właściwościach, proces jego produkcji wymaga ciągłego usprawniania.

Uwagi ogólne

Badania realizowane ramach Strategicznego Programu Badań Naukowych i Prac Rozwojowych „Środowisko naturalne, rolnictwo i leśnictwo” BIOSTRATEG/Konkurs II, Nr 2/298338/2/NCBR finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.

Literatura

1. Pietraszek P., Dybka K., Walczak P., Otlewska A., Rygała A., Ołtuszak-Walczak E., *Mikrobiologiczna produkcja kwasu mlekowego z surowców odnawialnych,* Polish Journal of Agronomy, 2014, 16, s. 45-56.
2. Foltynowicz Z., Jakubiak P., *Poli(kwas mlekowy) – biodegradowalny polimer otrzymywany z surowców roślinnych*, Polimery, 2002, 47, 11-12, 769.
3. Jamshidian M., Tehrany E.A., Imran M., Jacquot M., *Poly-Lactic Acid: Production, Applications, Nanocomposites, and Release Studies*, Comprehensive Reviewsin Food Scienceand Food Safety, 2010, 9, 5, s. 552-571.
4. Sawai H., Na K., Sasaki N., Mimitsuka T., Minegishi S., Yamada, S. Shimizu M. K., Yonehara T., *Membrane-integrated fermentation system for improving the optical purity of D-lactic acid produced during continuous fermentation Bioscience*, Biotechnology, and Biochemistry, 2011), 75(12), s. 2326-32.
5. Demirci A., Pometto A., *Enhanced production of D(-)-lactic acid by mutants of Lactobacillus delbrueckii ATCC 964*, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 1992, 11(1), s. 23-28.
6. Zheng H., Gong J., Chen T., Chen X., Zhao X., *Strain improvement of Sporolactobacillus inulinus ATCC 15538 for acid tolerance and production of D-lactic acid by genome shuffling*, Appl Microbiol Biotechnol, 2010, 85(5), s. 1541-9.

7. Michalczyk A., Cieniecka-Rosłonkiewicz A., Garbaczewska S., Morytz B., Białek A., *Badania nad wykorzystaniem biomasy skrobiowej jako źródła węgla w procesie fermentacji D-mleczanowej metodą SHF i SSF,* Przemysł Chemiczny, 2020, 99 (1), s. 99-102.
8. Smerilli M., Neureiter M., Wurz S., Haas C., Frühauf S., Fuchs W., *Direct fermentation of potato starch and potato residues to lactic acid by Geobacillus stearothermophilus under non-sterile conditions*, Journal of Chemical Technology & Biotechnology 2015, 90(4), s. 648-657.
9. Wang X., Wang G., Yu X., Chen H., Sun Y., Chen G., *Pretreatment of corn stover by solid acid for D-lactic acid fermentation,* Bioresource Technology, 2017, 239, s. 490-495.
10. Linko Y.Y., Javanainen P., *Simultaneous liquefaction, saccharification, and lactic acid fermentation on barley starch*, Enzyme and Microbial Technology, 1996, 19, s. 118-123
11. Yun J.S., Wee Y.J., Kim J.N., Ryu H.W., *Fermentative production of DL-lactic acid from amylase-treated rice and wheat brans hydrolyzate by a novel lactic acid bacterium, Lactobacillus sp.*, Biotechnology Letters, 2004, 26, s.1613-1616.
12. Xiaodong W., Xuan G., Rakshit S.K., *Direct fermentative production of lactic acid on cassava and other starch substrates*, Biotechnology Letters, 1997,19, s. 841-843.
13. Gao L., Yang H., Wang X., Ishii M., Igarashi Y., Cui Z., *Rice straw fermentation using lactic acid bacteria*, Bioresource Technology, 2008, 99,8, s. 2742-2748
14. Maas R.H.W., Bakker R.R., Jansen M.L.A., Visser D. , de Jong E. , Eggink G., Weusth R.A., *Lactic acid production from lime-treated wheat straw by Bacillus coagulans: neutralization of acid by fed-batch addition of alkaline substrate*, Applied Microbiology and Biotechnology, 2008, 78, s. 751-758.
15. Wang X., Wang G., Yu X., Chen H., Sun Y., Chen G., *Pretreatment of corn stover by solid acid for D-lactic acid fermentation,* Bioresource Technology, 2017, 239, s. 490-495.
16. Grosse Ch., Grigsby W.J., Noël M., Treu A., Thévenon M. F., Gérardin P., *Optimizing chemical wood modification with oligomericlLactic acid by screening of processing conditions*, Journal of Wood Chemistry and Technology, 2019, 39, 6, s. 385-398.
17. Yang S., Yu H., You Y., Li X., Jiang J., *Effective lactic acid production from waste paper using Streptococcus thermophilus at low enzyme loading assisted by Gleditsia saponin*, Carbohydrate Polymers, 2018, 200, 15, s. 122-127.
18. Vidra A., Tóth A.J., Németh Á., *Lactic acid production from cane molasses*, Liquid Waste Recovery 2017, 2, s. 13-16.
19. Ghasemi M., Najafpour G., Rahimnejad M., Beigi P.A., Sedighi M., Hashemiyeh B., *Effect of different media on production of lactic acid from whey by Lactobacillus bulgaricus*, African Journal of Biotechnology, 2009, 8 (1), s. 081-084,
20. Oh H., Wee Y.J., Yun J.S., Han S.H., Jung S., Ryu H.W., *Lactic acid production from agricultural resources as cheap raw materials*, Bioresource Technology, 2005, 96, s. 1492-1498.
21. Abdel-Rahman M. A., Tashiro Y., Sonomoto K., *Lactic Acid Production from Lignocellulose-Derived Sugars using Lactic Acid Bacteria: Overview and Limits*, Journal of Biotechnology, 2011, 56(4), s. 286-301.
22. AACC „Approved methods of the AACC". Method 76-13, Total Starch Assay Methode (Megazyme Amyloglucosidase/α-Amylase Method) approved November 1999.
23. Ayeni A.O., Adeeyol O.A., Oresegun O.M, Oladimeji T.E., *Compositional analysis of lignocellulosic materials: Evaluation of an economically viable method suitable for woody and non-woody biomas*, American Journal of Engineering Research, 2015, 4,1, s. 14-19.
24. Świątek K., Lewandowska M., Świątek M., Bednarski W., *Doskonalenie warunków hydrolizy enzymatycznej polisacharydów zawartych w słomie rzepakowej,* Zeszyty problemowe postępów nauk rolniczych, 2012, 570, s. 107-116
25. Świątek K., Lewandowska M., Świątek M., Bednarski W., *Wpływ parametrów obróbki ciśnieniowej na efektywność hydrolizy polisacharydów surowca lignocelulozowego,* Nauki inżynierskie i technologie, 2012, 3, 6, s. 117-126.

26. PN-EN 1185:2000, Norma Hydrolizaty skrobiowe (krochmalowe) – Metody badań
27. Palmqvist E.A., Hahn-Hägerdal B., *Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibitors and mechanisms of inhibition*, Bioresource Technology, 2000, 74, 1, s. 25-33.
28. Wee Y.J., Kim J.N. , Ryu H.W., *Biotechnological production of lactic acid and its recent applications*, Food Technology and Biotechnology, 2006, 442, s. 163-172.

Surowce rolnicze i odpadowe jako źródła węgla w biosyntezie kwasu D-mlekowego, prekursora kwasu polimlekowego (PLA)

Streszczenie
Zbadano zdolność szczepu *Sporolactobacillus laevolacticus* DSM 442 do biosyntezy kwasu D-mlekowego (D-LA), stanowiącego substrat do produkcji kwasu polimlekowego (PLA). Jako źródła węgla w pożywkach fermentacyjnych wykorzystano tanie surowce odpadowe i produkty rolnicze. Badania skriningowe prowadzone w hodowlach stacjonarnych z zastosowaniem różnorodnych źródeł węgla wykazały, że optymalnymi składnikami pożywek są melasa buraczana i hydrolizat z mąki pszennej. Hydrolizaty uzyskiwane z surowców lignocelulozwych, zawierające w składzie oprócz heksoz pentozy, nie są natomiast wykorzystane przez szczep produkcyjny do syntezy D-LA.
W wyniku procesu fermentacji prowadzonego w bioreaktorze w trybie okresowym na pożywkach zawierających wytypowane źródła węgla (hyrolizat z mąki pszennej oraz melasę buraczaną) uzyskano analogiczną ilość D-LA (odpowiednio 89,2 g/l i 79,5 g/l), jak w przypadku zastosowania glukozy (90 g/l). Istotne różnice stwierdzono natomiast w czasach oraz wydajności procesu fermentacji, które wynosiły odpowiednio 120 godz. i 79,5% dla melasy buraczanej oraz 120 godz. i 67,6% dla hydrolizatu z mąki pszennej. Wykorzystanie glukozy odczynnikowej w pożywce fermentacyjnej skróciło natomiast czas fermentacji do 72 godz. i zwiększyło wydajność procesu do 90%. Zastąpienie glukozy melasą lub hydrolizatem mąki pszennej powodowało również obniżenie szybkość objętościowej produkcji D-LA. Dla glukozy jako źródła węgla w pożywce fermentacyjnej wynosiła ona 1,24 g/l/godz., dla hydrolizatu enzymatycznego maki pszennej 0,74g/l/godz., a dla melasy buraczanej 0,66g/l/godz. Uzyskane wyniki wskazują na potencjał tanich surowców odnawialnych jako substratów do biosyntezy D-LA. Jest to jednak zagadnienie, które wymaga prowadzenia dalszych prac badawczych.
Słowa kluczowe: kwas D-mlekowy (D-LA), polilaktyd (PLA), odpadowe źródła węgla, *Sporolactobacillus laevolacticus* DSM 442, fermentacja

Agricultural and waste raw materials as carbon sources in biosynthesis of D-lactic acid, a precursor of polylactic acid (PLA)

Abstract
The study investigated the ability of *Sporolactobacillus laevolacticus* DSM 442 strain to biosynthetise D-lactic acid (D-LA), which is a substrate for the production of polylactic acid (PLA). Cheap waste raw materials and agricultural products were used as carbon sources in the fermentation broths. Screening tests carried out in stationary cultures with the use of various carbon sources showed that beet molasses and wheat flour hydrolysate are the most optimal ingredients of the broths. In turn, hydrolysates obtained from lignocellulose raw materials, containing pentoses apart from hexoses, are not used by the production strain for D-LA synthesis.
As a result of the fermentation process carried out in the bioreactor in batch mode on media containing selected carbon sources (wheat flour hydrolysate and beet molasses), a similar amount of D-LA was obtained (89.2 g/L and 79.5 g/L, respectively) as it was in the case of the use of glucose (90 g/L). However, significant differences were found in the duration and efficiency of the fermentation process, which amounted to 120 hours and 79.5% for beet molasses, and 120 hours and 67.6% for wheat flour hydrolysate. In turn, the use of glucose reagent in the fermentation broth shortened the fermentation time to 72 hours and increased the process efficiency to 90%. Replacing glucose with molasses or wheat flour hydrolysate also resulted in reduced volumetric rate of D-LA production. The rate amounted to 1.24 g/L/h for glucose as a carbon source in the fermentation broth, 0.74g/L/h for the enzyme hydrolysate of wheat flour, and 0.66g/L/h for beet molasses. The results obtained suggest the potential of cheap renewable raw materials as substrates for D-LA biosynthesis. However, the issue requires further research.
Keywords: D-lactic acid (D-LA), polylactic acid (PLA), waste carbon sources, *Sporolactobacillus laevolacticus* DSM 442, fermentation

Indeks autorów

Anysz H. 81
Bąkowski H. 35
Białek A. 299
Biernat M. 249
Bobrowski A. 123
Cieniecka-Rosłonkiewicz A. 299
Ciołek L. 249
Drynda P. 183
Flach A. 7
Garbaczewska S. 299
Gieczewska K. 159
Gonciarczyk J. 123
Gruchała A. 228
Grzyb J. 159
Idziaszek Z. 49
Kęsy A. 21
Kosała K. 7
Kotliński J. 21
Królicka A. 123
Krzemińska-Fiedorowicz L. 286
Lenart-Boroń A. 286
Łomozik Ł. 35
Majkut L. 7
Masek A. 201
Michalczyk A. 299
Moliszewska E. 208
Musiałek I. 21
Niekraś L. 208
Niemczak M. 105
Nowak A.J.' 183
Olszewski R. 7
Paszkiewicz S. 239
Plota A. 201
Rombel-Bryzek A. 208
Rudnicka K. 249
Rutkowski M. 286
Sitarz-Palczak E. 139
Skrzypek A. 266
Sokołowski A. 35
Stachowiak W. 105
Szymaszek P. 266, 277
Szymczyk A. 239
Wolny J. 183
Zarębski J. 123
Zubkiewicz A. 239