

AKADEMIA MEDYCZNA W GDAŃSKU

WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY



Jacek Żegliński

**STABILIZACJA NADTLENKU WODORU
W KSEROŻELU KRZEMIONKOWYM –
BADANIE ODDZIAŁYWAŃ SKŁADNIKÓW KOMPOZYTU
I JEGO CHARAKTERYSTYKA**

Praca doktorska wykonana w Katedrze i Zakładzie

Chemii Nieorganicznej AM w Gdańsku

Promotor: prof. zw. dr hab. inż. Ryszard Piękoś

Gdańsk 2006

SPIS TREŚCI

I. WSTĘP	4
II. CZĘŚĆ TEORETYCZNA	7
II.1. Nadtlenek wodoru	7
II.1.1. Właściwości fizyczne nadtlenu wodoru	7
II.1.2. Właściwości chemiczne nadtlenu wodoru	8
II.1.3. Właściwości biobójcze nadtlenu wodoru	11
II.1.4. Przykłady zastosowań nadtlenu wodoru	12
Synteza związków organicznych.....	12
Nadtlenek wodoru w ochronie środowiska.....	12
Nadtlenek wodoru jako środek bakteriobójczy.....	13
II.1.5. Toksykologia nadtlenu wodoru	14
II.2. Żel krzemionkowy	15
II.3. Metoda zol-żel	19
III. CEL I ZAKRES PRACY	23
IV. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA	24
IV.1. MATERIAŁY I METODY	24
Materiały.....	24
Otrzymywanie kompozytów kserożelu krzemionkowego z nadtlenu wodoru.....	25
Oznaczanie stężenia H_2O_2 w kompozytach oraz krzemionki w zolu kwasu krzemowego.....	25
Badanie morfologii powierzchni kompozytów.....	26
Badanie stabilności termicznej.....	26
Badanie kinetyki uwalniania H_2O_2 z matrycy kserożelu do roztworu wodnego.....	26
Badanie aktywności bakteriobójczej.....	27
Badanie stabilności kompozytów w czasie przechowywania.....	27
Spektroskopia FTIR.....	28
Metodologia obliczeń kwantowo-chemicznych.....	28
IV.2. Otrzymywanie i charakterystyka kompozytów kserożelu krzemionkowego z nadtlenu wodoru	29

IV.2.1. Otrzymywanie kompozytów kserożelu krzemionkowego z nadtlaniem wodoru.....	29
IV.2.2. Ocena morfologii powierzchni kompozytów.....	32
IV.2.3. Badanie stabilności termicznej.....	33
IV.2.4. Badanie kinetyki uwalniania H ₂ O ₂ z matrycy kserożelu.....	35
IV.2.5. Badanie aktywności bakteriobójczej.....	37
IV.2.6. Badanie trwałości kompozytów.....	38
IV.3. Studia nad oddziaływaniem nadtlenu wodoru z żelazem krzemionkowym, oparte na spektroskopii FTIR i obliczeniach kwantowo-chemicznych.....	41
V.3.2. Obliczenia kwantowo-chemiczne.....	45
Geometrie klasterów cząsteczek Si(OH) ₄ , H ₂ O ₂ i H ₂ O.....	45
Analiza konformacyjna kompleksu [(HO) ₃ SiOSi(OH) ₃]··H ₂ O ₂	48
Energia stabilizacji składników kompleksu [(HO) ₃ SiOSi(OH) ₃]··H ₂ O ₂	51
Porównanie liczb falowych obliczonych dla modelowych asocjatów z widmem eksperymentalnym.....	52
V. PODSUMOWANIE I WNIOSKI.....	56
VI. SUMMARY.....	58
VII. PIŚMIENNICTWO.....	60

I. WSTĘP

Nadtlenek wodoru jest popularnym utleniaczem i efektywnym biocydem. Jednocześnie jest jednym z najbardziej „ekologicznych” związków chemicznych, gdyż jedynymi produktami jego rozkładu są tlen i woda. Ponieważ ochrona środowiska naturalnego jest obecnie najważniejszym aspektem brany pod uwagę przy projektowaniu nowych technologii i materiałów, wzmożone zainteresowanie tym związkiem w ostatnich latach wydaje się w pełni zrozumiałe.

Nadtlenek wodoru produkowany i rozprowadzany w roztworach wodnych o stężeniu 3% („woda utleniona”), 30% („perhydrol”) i 70% rozkłada się pod wpływem śladowych ilości metali ciężkich, alkaliów, czy nawet kurzu obecnego w powietrzu [1]. Zagrożenie gwałtownym rozkładem nadtlenu wodoru jest największe w przypadku stężonych roztworów H_2O_2 . Z tego względu kontynuowane są prace nad zaprojektowaniem bezpieczniejszej w użyciu, mniej narażonej na rozkład, a tym samym bardziej praktycznej formy nadtlenu wodoru. Spośród już opracowanych postaci, komercyjne zastosowanie znalazły trzy stałe peroksohydraty: „nadwęglan” sodu ($2Na_2CO_3 \cdot 3H_2O_2$), „nadborań” sodu ($NaBO_3 \cdot xH_2O_2$; $x = 1$ lub 4), stosowane głównie jako wybielacze w proszkach do prania, w syntezie organicznej [2] oraz pertlenon, addukt (1:1) mocznika z nadtlentem wodoru ($CO(NH_2)_2 \cdot H_2O_2$), wykorzystywane do rozjaśniania włosów, wybielania zębów, dezynfekcji zranionej skóry, a także jako efektywny utleniacz w syntezie organicznej [3, 4].

W Katedrze Chemii Nieorganicznej AMG prowadzone są prace nad wykorzystaniem żeli krzemionkowych jako nośników biologicznie aktywnych związków nieorganicznych. Autor niniejszej rozprawy, wykorzystując metodę zol-żel, opracował ostatnio sposób otrzymywania adduktu nadtlenu wodoru z żelem krzemionkowym. Otrzymany preparat został zbadany pod kątem stabilności w czasie przechowywania. Okazało się, że dzięki dodatkowi stabilizatora (0,05% wag. H_3PO_4), możliwe było uzyskanie stabilnego hydrożelu krzemionkowego o 10 procentowej zawartości H_2O_2 (po 50 dniach przechowywania w układzie nadal pozostawało 97,8% utleniacza). Równolegle zbadano efektywność kwasu winowego i wersenianu sodu, jako potencjalnych stabilizatorów nadtlenu wodoru. Oba związki okazały się jednak mniej skuteczne niż kwas ortofosforowy(V) [5].

Podczas suszenia hydrożelu zawierającego nadtlenek wodoru dochodzi do desorpcji fizycznie związanej wody oraz dalszej kondensacji wiązań Si–OH przy jednoczesnym niewielkim ubytku nadtlenu wodoru. W konsekwencji hydrożel odwadnia się i kurczy, a

stężenie nadtlenu wodoru w układzie znacząco wzrasta. W ten sposób został otrzymany kompozyt: kserożel krzemionkowy - nadtlenek wodoru, który po rozdrobnieniu przyjmuje postać proszku.

Cenną właściwością nowego adduktu jest możliwość uzyskiwania bardzo wysokich stężeń H_2O_2 w postaci stałej (do 70%). Dla porównania pertlenon, czyli kompleks mocznika i nadtlenu wodoru, zawiera 36% H_2O_2 . Jak już wspomniałem, stężone roztwory nadtlenu wodoru rozkładają się gwałtownie pod wpływem śladowych ilości metali, alkaliów, czy nawet kurzu. Nadtlenek wodoru skondensowany w preparacie krzemionkowym, pomimo dużego stężenia, nie jest tak narażony na gwałtowny rozkład jak jego stężone roztwory wodne. Ponadto postać proszku jest bezpieczniejsza w użyciu i wygodniejsza w transporcie.

Kserożel krzemionkowy o dużym stężeniu H_2O_2 mógłby znaleźć praktyczne zastosowanie jako aktywny sorbent, skuteczny w neutralizowaniu określonych skażeń chemicznych lub biologicznych. Można też oczekiwać, że nadtlenek wodoru zaokludowany w chemicznie obojętnym, biokompatybilnym kserożelu krzemionkowym będzie interesującą alternatywą dla pertlenonu – popularnego składnika preparatów do wybielania zębów. Ponadto, kserożel krzemionkowy wydaje się być lepszym nośnikiem nadtlenu wodoru w odniesieniu do dezynfekcji zranionej skóry, biorąc pod uwagę, że w tym kontekście mocznik wykazuje działanie drażniące [6]. Kolejne potencjalne zastosowanie kserożelu to plaster dezynfekcyjny z osadzonym kompozytem, jako czynnikiem bakteriobójczym. Kompozyt kserożelu krzemionkowego z nadtlentem wodoru może być również zastosowany w przenośnych systemach do dezynfekcji wody pitnej.

Poza przedstawionymi powyżej atrakcyjnymi aspektami praktycznymi, addukt żelu krzemionkowego i nadtlenu wodoru jest interesujący z punktu widzenia oddziaływań zachodzących pomiędzy jego składnikami. Cząsteczka H_2O_2 jest najmniejszą molekułą wykazującą rotację wokół wiązania O–O. Z tego względu, studia nad oddziaływaniem nadtlenu wodoru z żelem krzemionkowym mogą być przyczynkiem do lepszego zrozumienia zjawiska adsorpcji.

Przedmiotem niniejszej pracy jest kompozyt: nadtlenek wodoru - żel krzemionkowy, dlatego też Część Teoretyczną rozprawy poświęciłem omówieniu właściwości nadtlenu wodoru oraz dokonałem przeglądu literaturowego najważniejszych jego zastosowań. Ponadto przedstawiłem aktualny stan badań teoretycznych i spektroskopowych w odniesieniu do żeli krzemionkowych i ich oddziaływań z małymi cząsteczkami. Na końcu zaprezentowałem metodę zol-żel jako użyteczną technikę do otrzymywania matryc krzemionkowych jako nośników substancji aktywnych.

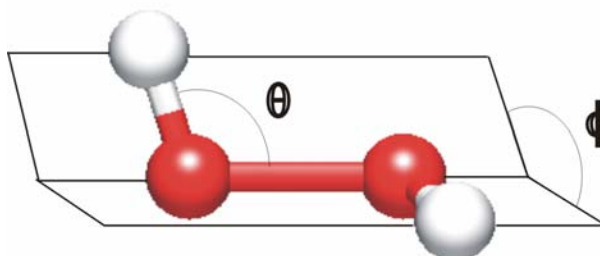
II. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

II.1. Nadtlenek wodoru

II.1.1. Właściwości fizyczne nadtlenku wodoru

Nadtlenek wodoru, H_2O_2 , jest bezbarwną cieczą, mieszającą się z wodą w każdym stosunku. Nadtlenek wodoru i woda nie tworzą mieszaniny azeotropowej i dzięki temu mogą być całkowicie rozdzielone na drodze destylacji. W skali laboratoryjnej 100-proc. H_2O_2 jest otrzymywany najczęściej w procesie frakcjonowanej krystalizacji jego stężonych roztworów. Ze względów bezpieczeństwa czysty nadtlenek wodoru nie jest produkowany na skalę przemysłową i ma jedynie znaczenie akademickie. Źródłem bezwodnego H_2O_2 jest jego addukt z mocznikiem ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$), wykorzystywany w reakcjach chemicznych prowadzonych w skali laboratoryjnej [7] oraz w badaniach spektroskopowych [8].

Na Rys. 1 przedstawiono model cząsteczki nadtlenku wodoru, a jego parametry geometryczne zawiera Tabela 1.



Rys. 1. Model cząsteczki nadtlenku wodoru.

Tabela 1. Parametry geometryczne cząsteczki nadtlenku wodoru w fazie gazowej [9].

Rodzaj wiązania / kąta	Długość wiązania (angstremy); wielkość kąta (stopnie)
Wiązanie O–O	1,464
Wiązanie O–H	0,965
Kąt wiązania O–O–H (θ)	99,4
Kąt dwuścienny H–O–O–H (ϕ)	111,8

Pomimo znacznego podobieństwa cząsteczek nadtlenu wodoru i wody, oba związki znacznie różnią się właściwościami fizycznymi (Tabela 2).

Tabela 2. Porównanie właściwości fizycznych nadtlenu wodoru i wody.

Właściwości	Nadtlenek wodoru	Woda
Temperatura topnienia (°C)	- 0,43	0,0
Temperatura wrzenia (°C)	150,2	100
Ciepło topnienia (J g ⁻¹)	368	334
Ciepło parowania (J g ⁻¹) (25°C)	1519	2443
Ciepło właściwe (J g ⁻¹ K ⁻¹) (25°C)	2,629	4,182
Prężność pary (kPa) (30°C)	0,7	4,24
Gęstość (g cm ⁻³) (25°C)	1,4425	0,9971
Lepkość (mPa s)		
0°C	1,819	1,792
20 °C	1,249	1,002
Temperatura krytyczna (°C)	457	374,2
Ciśnienie krytyczne (MPa)	20,99	21,44
Współczynnik załamania światła (n_D^{20})	1,4084	1,3330
Stała dielektryczna (25°C)	89,2	78,4
Moment dipolowy (D)	2,26	1,84

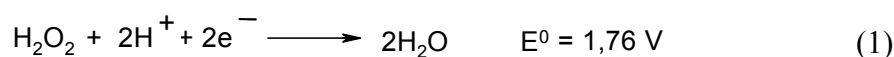
Czysty nadtlenek wodoru ma dużo wyższą temperaturę wrzenia i dużo mniejszą prężność pary niż można by oczekiwać biorąc pod uwagę jego masę molową. Powód tego jest taki sam jak w przypadku wody: cząsteczki nadtlenu wodoru tworzą trójwymiarową sieć za pomocą wiązań wodorowych. Ponieważ prężność pary H₂O₂ jest niższa niż prężność pary wody, można wysnuć wniosek, że nadtlenek wodoru tworzy silniejsze od wody wiązania wodorowe. Jednocześnie, zważywszy na dużą wartość stałej dielektrycznej można przypuszczać, że asocjaty cząsteczek H₂O₂ w dużej mierze przyjmują formę liniowych łańcuchów.

Jak dotąd, nie ma dowodów spektroskopowych potwierdzających geometrię dużych aglomeratów cząsteczek H₂O₂. Klaster molekularny nadtlenu wodoru są jednak przedmiotem prowadzonych w ostatnich latach studiów teoretycznych. Stosując teorię funkcyjną gęstości (DFT, ang. *density functional theory*) oraz metody *ab initio*, Elango i współpracownicy wykonali szereg obliczeń dla klasterów zawierających od 2 do 28 cząsteczek nadtlenu wodoru. Okazało się, że układy zawierające powyżej siedmiu molekuł

H₂O₂ połączonych silnymi wiązaniami wodorowymi przyjmują kształt helisy [10]. Z obliczeń przeprowadzonych przez Kulkarniego i współpracowników wynika, że cząsteczki nadtlenku wodoru mogą tworzyć względnie trwałe cykliczne dimery, trimery i tetramery [11]. Jak dotąd jedynie dimer (H₂O₂)₂ został zaobserwowany eksperymentalnie w widmie IR za pomocą techniki izolacji w matrycy (ang. *matrix isolation*) [12]. Ponieważ nadtlenek wodoru odgrywa ważną rolę w chemii atmosfery i procesach biologicznych, aktualnie prowadzone są zarówno badania teoretyczne [13-16], jak również spektroskopowe [17-21] nad jego oddziaływaniem z małymi cząsteczkami w oparciu o wiązania wodorowe.

II.1.2. Właściwości chemiczne nadtlenku wodoru

Atomy tlenu w cząsteczce H₂O₂ występują na -1 stopniu utlenienia, dlatego nadtlenek wodoru może być zarówno utleniaczem, jak i reduktorem. Wartość potencjału redokсового (E°) nadtlenku wodoru zmierzonego dla reakcji półokwowej (1) wynosi 1,76 V.

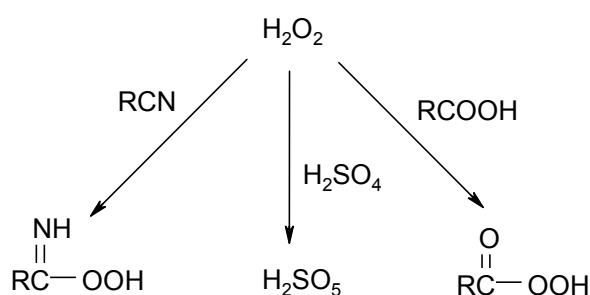


Zważywszy na dużą wartość E°, można by sądzić, że przedstawiony związek jest bardzo silnym utleniaczem. W rzeczywistości nadtlenek wodoru jest względnie słabym utleniaczem w odniesieniu do związków organicznych. Wartości potencjałów redoks dla wybranych utleniaczy zaprezentowano w Tabeli 3.

Tabela 3. Potencjały redoks wybranych utleniaczy [22].

Utleniacz	E ⁰ /V
F ₂	3,00
HO•	2,80
O ₃	2,01
H ₂ SO ₅	1,81
H ₂ O ₂	1,76
KMnO ₄	1,70
HO ₂ ⁻	1,70
HOCl	1,49
Cl ₂	1,27
ClO ₂	1,27
O ₂	1,20

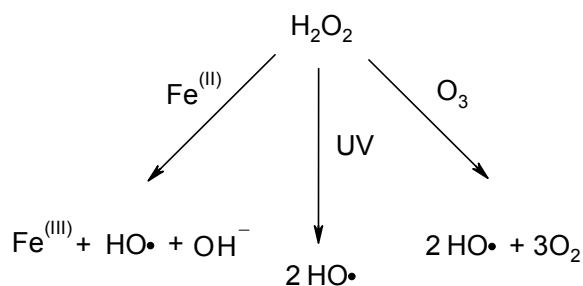
Nadtlenek wodoru w postaci niezmodyfikowanej niezbyt szybko utlenia m.in. olefiny, węglowodory aromatyczne, czy alkanany. Wynika to ze względnie małej reaktywności H_2O_2 wobec organicznych grup funkcyjnych oraz z faktu, że w obecności związków o charakterze elektrofilowym może on reagować jako nukleofil (ulegać reakcjom substytucji), nieprzejawiając właściwości utleniających. Ta niezbyt duża reaktywność okazała się korzystna ze względu na możliwość selektywnej aktywacji H_2O_2 wobec określonej grupy związków. Aktywacja nadtlenu wodoru polega na wymianie atomu wodoru w cząsteczce H_2O_2 na taki podstawnik, aby powstały związek nadtlenny posiadał znacznie lepszą grupę odchodzącą niż grupa hydroksylowa. Na Rys. 2 przedstawiono wybrane sposoby aktywacji nadtlenu wodoru.



Rys. 2. Sposoby aktywacji nadtlenu wodoru [23].

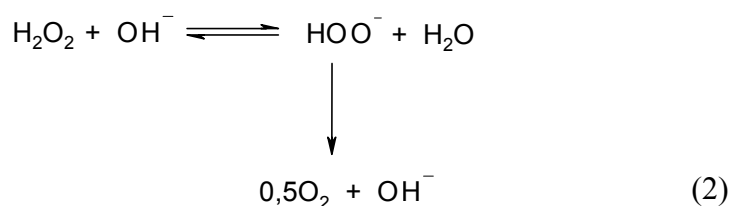
W reakcji nitryli z nadtlentem wodoru powstają odpowiednie kwasy peroksykarbonyimidowe. Aktywacja z użyciem kwasów prowadzi do powstania odpowiednich peroksykwasów (nadkwasów). W praktyce, najczęściej stosuje się kwasy karboksylowe (mrówkowy i octowy). Wynika to z wyjątkowo silnych właściwości utleniających nadkwasów nieorganicznych, działających często destrukcyjnie na cząsteczki związków utlenianych [23].

Ponieważ wiązanie O—O w cząsteczce nadtlenu wodoru jest względnie słabe (energia dysocjacji – 213 kJ mol^{-1}), jest ono podatne na rozpad homolityczny przy zastosowaniu metod termicznych, fotolizy, radiolizy oraz reakcji z jonami metalu o właściwościach redukujących, np. jonem Fe(II) (układ: $\text{Fe(II)} + \text{H}_2\text{O}_2$ nazywany jest odczynnikiem Fentona). Rodniki hydroksylowe ($\text{HO}\cdot$), powstające w wyniku rozpadu wiązania O—O nadtlenu wodoru mają bardzo silne właściwości utleniające (ze względu na wielkość potencjału redoks ustępują tylko fluorowi). Niestety, przy dużej mocy utleniającej, rodnik hydroksylowy charakteryzuje się małą selektywnością, co znacznie ogranicza jego rolę w syntezie. Wybrane metody generowania rodników hydroksylowych zostały przedstawione na Rys. 3.



Rys. 3. Metody generowania rodników hydroksylowych: metoda Fentona, naświetlanie promieniowaniem UV, reakcja z ozonem [22].

Roztwory nadtlenu wodoru są stabilne w środowisku kwaśnym i obojętnym, natomiast w środowisku zasadowym ma miejsce szybki rozkład H_2O_2 , a dokładniej powstającego zgodnie ze schematem (2) anionu perhydroksylowego (HOO^-):



Jony metali ciężkich katalizują rozkład nadtlenu wodoru, dlatego też roztwory H_2O_2 należy chronić przed zanieczyszczeniem i przechowywać w plastikowych, np. polietylenowych pojemnikach. W przypadku stężonych roztworów nadtlenu, pojemniki powinny być również wyposażone w zawory samoczynnie regulujące ciśnienie. Wpływ jonów metali na szybkość rozkładu H_2O_2 został przedstawiony w Tabeli 4.

Tabela 4. Wpływ jonów metali na szybkość rozkładu nadtlenu [24].

Jon metalu	Dodana ilość jonu (ppm)	Ubytek aktywnego tlenu po 24 h w 100°C (%) ^a
—	—	2
Al(III)	10	2
Sn(IV)	10	2
Zn(II)	10	10
Fe(III)	1,0	15
Cu(II)	0,01	24
Cr(II)	0,1	96

^a Nadtlenek wodoru niestabilizowany

Nadtlenek wodoru do zastosowań komercyjnych jest zwykle stabilizowany fosforanami(V) lub związkami cyny(IV). Związki cyny działają efektywnie w roztworach obojętnych, tworząc formy koloidalne, które adsorbują metale przejściowe. Fosforany(V) tworzą z kationami metali nierozpuszczalne sole. W obu przypadkach ma miejsce efektywne hamowanie rozkładu H_2O_2 . Podwyższona temperatura oraz promieniowanie słoneczne również przyspieszają rozkład nadtlenu wodoru, dlatego związek ten powinien być przechowywany w chłodnym i zaciemnionym miejscu.

II.1.3. Właściwości biobójcze nadtlenu wodoru

Ponieważ nadtlenek wodoru ulega szybkiemu rozkładowi do tlenu i wody podczas kontaktu z materiałem biologicznym, jego działanie biobójcze jest ograniczone do stosunkowo krótkiego czasu. Na tej podstawie nadtlenek wodoru można zaliczyć do grupy środków antyseptycznych. Cząsteczki H_2O_2 ze względu na swoje małe rozmiary łatwo przenikają przez błony komórkowe, wykazując działanie biobójcze wobec szerokiego spektrum organizmów – bakterii, grzybów i wirusów [25]. Jako środek dezynfekcyjny, powszechnie stosowany jest 3% wodny roztwór H_2O_2 (tzw. „woda utleniona”). Dowiedziono, że w wyższych stężeniach (10-30%), nadtlenek wodoru niszczy również przetrwalniki [26]. Bakterie niewykazujące aktywności katalazy – enzymu stanowiącego naturalną ochronę przed działaniem destrukcyjnych czynników utleniających – są szczególnie wrażliwe na działanie H_2O_2 . Ten mechanizm obronny komórek staje się jednak nieefektywny w przypadku wyższych stężeń utleniacza [27]. W Tabeli 5 porównano aktywność przeciwdrobnoustrojową związków utleniających wobec różnych grup organizmów.

Tabela 5. Aktywność biobójcza związków utleniających.

Drobnoustroje	Aktywność przeciwdrobnoustrojowa
Bakterie Gram-dodatnie	+++
Bakterie Gram-ujemne	+++
Prątki	+
Przetrwalniki	++
Grzyby	++
Wirusy lipofilowe	+++
Wirusy hydrofilowe	++

Mechanizm działania bakteriobójczego nadtlenu wodoru polega na jego rozkładzie wewnątrz komórki przez enzymy ochronne (m.in. katalazę) i/lub obecne tam jony metali – reduktorów (Fe^{2+} , Cu^+). W wyniku reakcji rozkładu H_2O_2 powstają nietrwałe i bardzo reaktywne rodniki hydroksylowe ($\text{HO}\cdot$), reagujące z obecnymi w komórce nukleofilami. W rezultacie dochodzi do rozrywania nici DNA, czego następstwem są mutacje materiału genetycznego. Rodniki hydroksylowe mogą również niszczyć błony komórkowe. Wyniki modelowych badań nad tym zagadnieniem wykazały całkowitą degradację błony lipidowej po 17 minutach jej ekspozycji na działanie rodników [28]. W przypadku organizmów beztlenowych, głównym czynnikiem cytotoksycznym jest końcowy produkt rozkładu nadtlenu wodoru – tlen cząsteczkowy [29].

II.1.4. Przykłady zastosowań nadtlenu wodoru

Synteza związków organicznych

Nadtlenek wodoru w postaci niezmodyfikowanej jest stosowany w syntezie organicznej w bardzo ograniczonym zakresie. Jak już wspomniano, możliwa jest skuteczna aktywacja tego utleniacza. Sposób epoksydacji alkenów nadtlaniem wodoru aktywowanym kwasami karboksylowymi został opisany w literaturze już w 1909 roku [30]. Efektywność tego procesu została znacznie poprawiona dzięki opracowaniu szeregu katalizatorów. W przypadku utleniania olefin i alkoholi allilowych do odpowiednich epoksydów, stosuje się katalizatory fosforanowo-wolframianowe [31] oraz kwas wolframowy i jego sole sodowe [32, 33]. Inny sposób epoksydacji alkenów opiera się na aktywacji H_2O_2 za pomocą nitryli, z uzyskaniem reaktywnego kwasu peroksykarboksimidowego [34]. Nadkwasy organiczne, w obecności związków metali grup przejściowych (np. RuO_4) powodują rozpad alkenów i dioli do kwasów karboksylowych [35]. Nadtlenek wodoru łatwo utlenia halogenowodory i ich sole (z wyjątkiem fluorków) z uwolnieniem odpowiednich halogenów. Zastosowanie układu: $\text{H}_2\text{O}_2 / \text{HX}$ pozwala na halogenowanie szerokiego spektrum związków aromatycznych, m.in. fenoli i eterów [36] oraz aromatycznych amin i amidów [37].

Wymienione reakcje stanowią jedynie przykłady wykorzystania nadtlenu wodoru w syntezie organicznej i nie wyczerpują możliwości jego zastosowań w tej dziedzinie.

Nadtlenek wodoru w ochronie środowiska

Ze względu na coraz ostrzejsze normy dotyczące ochrony środowiska, nadtlenek wodoru wypiera związki chloru, manganiany(VII) oraz inne utleniacze będące źródłem dodatkowych odpadów w technologiach uzdatniania wody pitnej i oczyszczania ścieków. W latach pięćdziesiątych XX w. opracowano szereg efektywnych technologii oczyszczania ścieków zanieczyszczonych związkami organicznymi w oparciu o odczynnik Fentona [38, 39]. Odczynnik ten umożliwia konwersję fenoli, chlorowanych fenoli, czy herbicydów do dwutlenku węgla, wody i kwasów mineralnych. Wykazano, że szybkość rozkładu zanieczyszczeń może zostać zwiększona poprzez naświetlanie promieniowaniem UV. Promieniowanie to stanowi dodatkowy czynnik powodujący rozkład H_2O_2 na rodniki hydroksylowe odpowiedzialne za degradację zanieczyszczeń organicznych. Obszerne zestawienia związków organicznych możliwych do utlenienia w układzie nadtlenek wodoru / UV dokonał Legrini i współpracownicy [40]. Hatakeda i współpracownicy dowiedli, że niezmodyfikowany nadtlenek wodoru skutecznie rozkłada polichlorowane bifenyle do dwutlenku węgla, wody i kwasu chlorowodorowego (stopień konwersji 99,9%) w warunkach nadkrytycznych (temperatura 673 K, ciśnienie 30 MPa) [41, 42]. Nadtlenek wodoru może również przekształcać toksyczne zanieczyszczenia nieorganiczne w obojętne, czy mniej uciążliwe dla środowiska związki, utleniając np. cyjanki do cyjanianów (samoczynnie hydrolizujących dalej do amoniaku i wodorowęglanów), azotany(III) do azotanów(V) (przy $pH < 5$), tioli i merkaptanów do disiarczków. Nadtlenek wodoru został też z powodzeniem zastosowany do eliminowania przykrego zapachu siarczków zawartych w ściekach generowanych przez przemysł papierniczy i tekstylny [43].

Nadtlenek wodoru i jego pochodne można również zastosować do oczyszczania skażonej gleby. W tym przypadku toksyczne zanieczyszczenia gleby są utleniane nadtlenkami do biodegradowalnych składników. Ponieważ nadtlenek wodoru jest źródłem tlenu cząsteczkowego, może być zastosowany w biotechnologicznych procesach oczyszczania, stymulując wzrost mikroorganizmów tlenowych obecnych w glebie, odpowiedzialnych za rozkład zanieczyszczeń [22].

Nadtlenek wodoru jako środek bakteriobójczy

Wykazano, że aktywność przeciwdrobnoustrojowa nadtlenku wodoru jest najwyższa w odniesieniu do bakterii Gram-ujemnych i bakterii beztlenowych [44]. W stężeniach w granicach od 5300 do 12000 ppm, nadtlenek wodoru redukuje populację *E. coli* w wodzie

odpowiednio od 97 do >99,9% [45]. Udowodniono znaczną aktywność H₂O₂ wobec przetrwalników, zarówno w fazie ciekłej [46], jak gazowej [47]. Nadtlenek wodoru w fazie gazowej może być z powodzeniem zastosowany jako inhibitor procesu gnicia owoców. Forney i współpracownicy wykazali, że świeże winogrona traktowane przez 10 minut gazowym H₂O₂ (w 40°C) były w dużo mniejszym stopniu narażone na gnienie w trakcie przechowywania [48]. Gazowy H₂O₂ może być również wykorzystywany w niskotemperaturowym procesie sterylizacji termowrażliwych powierzchni plastikowych, czy materiałów ze stali nierdzewnej [47].

Zainteresowanie nadtlaniem wodoru jako środkiem do dezynfekcji wody pitnej znacznie wzrosło po doniesieniach, że w procesie chlorowania wody mogą powstawać toksyczne chlorowcopochodne organiczne (m.in. trichlorometan). Francuskie Ministerstwo Zdrowia zaaprobowało ostatnio użycie nadtlenu wodoru do dezynfekcji wody pitnej, a wiele krajów m.in. Szwajcaria, Niemcy i Australia zaakceptowały wykorzystanie do tego celu kompozycji złożonej z jonów srebra(I) i nadtlenu wodoru.

II.1.5. Toksykologia nadtlenu wodoru

Roztwory o stężeniu >10% H₂O₂ powodują podrażnienie tkanek i ich wybielenie. Bardziej stężone roztwory powodują poparzenie skóry, a w przypadku kontaktu z oczami – uszkodzenie gałki ocznej. Gazowy nadtlenek wodoru podrażnia górne drogi oddechowe i może prowadzić do poważnych zmian w płucach. W Tabeli 6 przedstawiono dawki śmiertelne nadtlenu wodoru (LD₅₀, ang. *Lethal dose*) dla zwierząt w zależności od sposobu aplikacji.

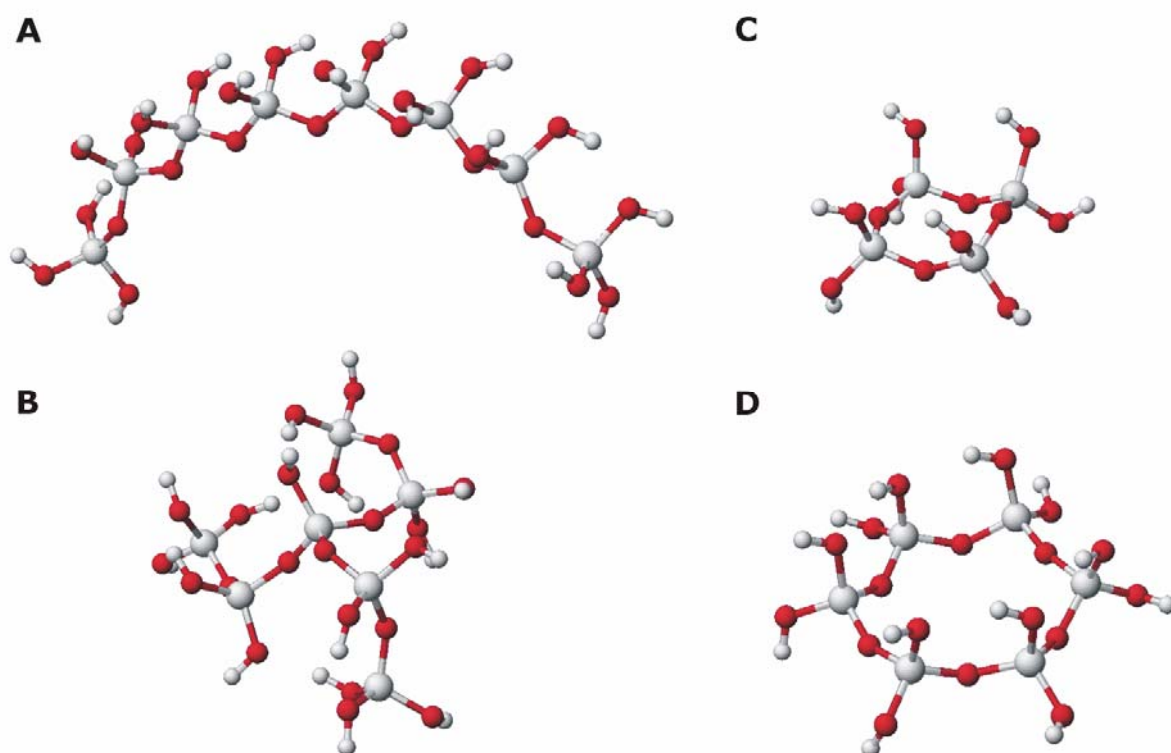
Tabela 6. Toksyczność nadtlenu wodoru.

Test	Zwierzę	Sposób aplikacji	Stężenie
LD ₅₀	Mysz	<i>per os</i>	2000 mg kg ⁻¹
LD ₅₀	Szczur	<i>per os</i>	4060 mg kg ⁻¹
LD ₅₀	Mysz	Naskórny	1,2 x 10 ⁴ mg kg ⁻¹
LD ₅₀	Szczur	Naskórny	4800 mg kg ⁻¹
LD ₅₀	Królik	Naskórny	650 mg kg ⁻¹
LD ₅₀	Szczur	Wziewny	2000 mg m ⁻³

Nadtlenek wodoru wykazuje działanie mutagenne wobec bakterii i grzybów. W przypadku ssaków, niezależnie od sposobu aplikacji, nie udowodniono rakotwórczego działania H_2O_2 , zarówno w badaniach *in vitro* [49], jak i *in vivo* [50, 51].

II.2. Żel krzemionkowy

Żel krzemionkowy to amorficzny polimer nieorganiczny którego strukturę cząsteczkową stanowią tetraedryczne jednostki SiO_4 związane ze sobą wiązaniem siloksanowym (Si–O–Si) z utworzeniem łańcuchów liniowych i rozgałęzionych, a także struktur pierścieniowych. W zależności od stopnia kondensacji, żel krzemionkowy posiada na swojej powierzchni określoną liczbę grup hydroksylowych definiujących jego hydrofilowość. Na Rys. 4 przedstawiono główne elementy strukturalne żelu krzemionkowego.



Rys. 4. Elementy strukturalne żelu krzemionkowego: (A) łańcuch liniowy, (B) struktura rozgałęziona, (C) pierścień czteroczłonowy, (D) pierścień sześcioczłonowy. Struktury zoptymalizowane za pomocą funkcjonału gęstości B88LYP DFT oraz bazy funkcyjnej DZVP [52].

Choć żele krzemionkowe są obecnie stosowane w wielu dziedzinach, wydaje się że ich potencjał nie jest jeszcze w pełni wykorzystany. Dowodzi tego ilość prac naukowych opublikowanych w ostatnich latach na temat samych żeli krzemionkowych jak i materiałów które współtworzą [53-55].

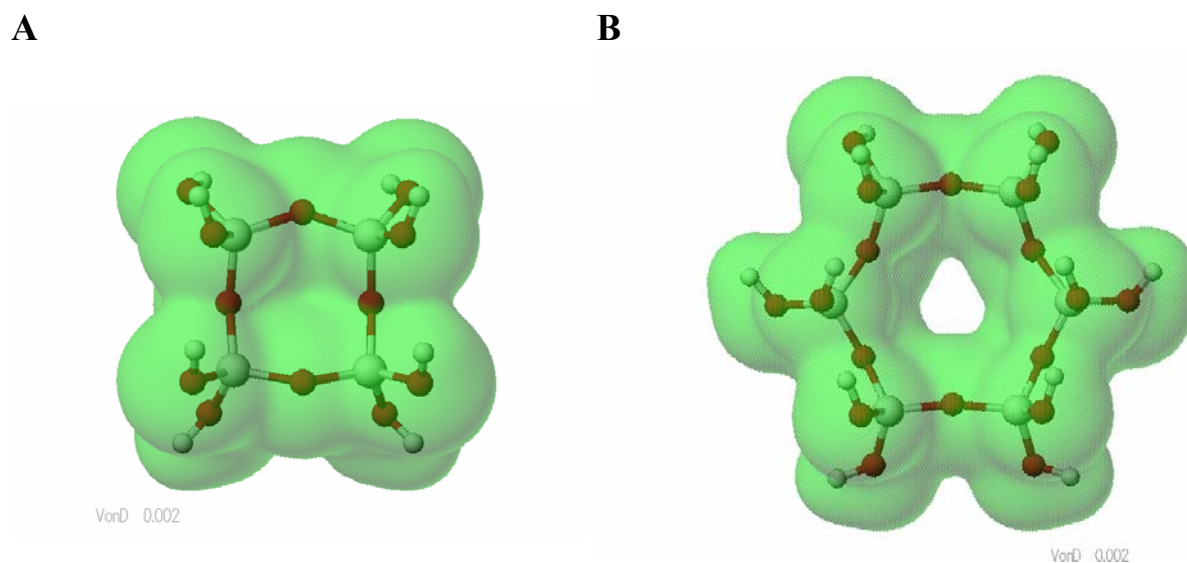
Można się spodziewać, że poznanie mechanizmu oddziaływań żeli krzemionkowych z cząsteczkami adsorbentu na poziomie molekularnym umożliwi lepsze zrozumienie zjawiska adsorpcji, a w konsekwencji pozwoli na zaprojektowanie efektywniejszych adsorbentów krzemionkowych, matryc dla leków, czy implantów medycznych. Narzędziem badawczym zyskującym coraz szersze uznanie w badaniach struktury cząsteczkowej i stanów energetycznych są obliczenia kwantowo-chemiczne. Ze względu na nieregularność i stopień skomplikowania struktury żeli krzemionkowych, ich racjonalne modelowanie stało się możliwe dopiero w ostatnich latach, dzięki wzrostowi mocy obliczeniowej komputerów i optymalizacji metod obliczeniowych. Ponieważ metody *ab initio* opierające się na rozwiązaniu równania Schrödingera pozwalają na przeprowadzenie obliczeń dla układów złożonych maksymalnie ze 100 atomów [56], w związku z tym wobec złożoności struktury żeli krzemionkowych konieczne jest zastosowanie uproszczonych modeli. Najprostszym modelem żelu krzemionkowego jest jego monomer, czyli cząsteczka kwasu ortokrzemowego ($\text{Si}(\text{OH})_4$) [57]. Pereira i współpracownicy wykonali obliczenia metodą DFT (ang. *Density Functional Theory*) dla klasterów złożonych ze skondensowanych monomerów kwasu ortokrzemowego zawierających od jednego do ośmiu atomów krzemu [58].

Analizując małowielkościowe modele kwasu krzemowego należy pamiętać, że mamy do czynienia z układem izolowanym, nie oddziałującym z innymi cząsteczkami sieci w której się znajduje. Niemniej jednak można oczekiwać, że ze względu na dużą elastyczność wiązań w obrębie mostków siloksanowych (Si–O–Si) geometrie takich modelowych klasterów molekularnych pozostałyby w znacznej mierze niezmiennione, nawet wtedy, gdyby stanowiły fragment rzeczywistej sieci żelu krzemionkowego. Dzięki wspomnianej elastyczności wiązań siloksanowych, w obrębie struktury molekularnej żelu funkcjonuje mechanizm polegający na przeciwdziałaniu naprężeniom układu i uzyskiwaniu geometrii o możliwie najniższej energii [59].

Spśród elementów strukturalnych zaprezentowanych na Rys. 4, można wyróżnić takie, które dominują w sieci żelu krzemionkowego. West i współpracownicy stosując obliczenia kwantowo-chemiczne ustalili, że cykliczne tetramery siloksanowe są faworyzowane energetycznie w porównaniu do łańcuchów liniowych [60]. Analiza dyfrakcyjna z wykorzystaniem promieniowania X potwierdziła obecność pierścieni czteroczłonowych

zarówno na etapie oligomeryzacji, jak również w finalnym żelu [61]. Kolejną formą cykliczną powszechnie występującą w żelu krzemionkowym jest sześcioczłonowy pierścień siloksanowy [62, 63].

Żele krzemionkowe są obiecującym materiałem do otrzymywania matryc które potencjalnie będzie można zastosować jako monolityczne nośniki leków. Wiadomo, że substancje aktywne mogą być inkorporowane w porach żelu, a korzystając z metody zol-żel – pułapkowane wewnątrz jego sieci. Biorąc pod uwagę, że sieć żelu składa się głównie z cztero- i sześcioczłonowych pierścieni siloksanowych nasuwa się pytanie do jakiego stopnia taka sieć jest „szczelna” dla małych cząsteczek (np. nadtlenu wodoru). Na Rys. 5 zaprezentowane zostały cztero- i sześcioczłonowe pierścienie siloksanowe wraz z ich powierzchniami van der Waalsa. Kształt powierzchni van der Waalsa dla pierścienia czteroczłonowego potwierdza istnienie znacznej bariery energetycznej dla przejścia nawet małych cząsteczek. W przypadku pierścienia sześcioczłonowego, biorąc pod uwagę jedynie kształt powierzchni van der Waalsa, bariera przejścia jest dużo mniejsza.



Rys. 5. Powierzchnia van der Waalsa pierścieni siloksanowych: (A) czteroczłonowego, (B) sześcioczłonowego. Struktury zoptymalizowane za pomocą funkcjonału gęstości B88LYP DFT, oraz bazy funkcyjnej DZVP [52].

Modelowanie dużych układów i zachodzących tam w dynamiczny sposób procesów umożliwiają metody Dynamiki Molekularnej (MD, ang. *Molecular Dynamics*). Feuston i współpracownicy zaproponowali potencjał empiryczny opisujący oddziaływania kwas ortokrzemowy – woda i na tej podstawie przeprowadzili symulację procesu oligomeryzacji

zolu kwasu krzemowego [64]. Dwa niezależne zespoły powtórzyły symulację stosując ten sam potencjał empiryczny dla dużo większego układu [65, 66]. Ustalono, że reakcja kondensacji kwasu ortokrzemowego przebiega zgodnie z mechanizmem S_N2 . Ponadto zaobserwowano, że w przypadku dużego nadmiaru wody, na początkowym etapie procesu polimeryzacji następuje kondensacja monomerów do dimerów oraz tworzenie małych klasterów. Dopiero po dłuższym czasie ma miejsce agregacja klaster-klaster.

Spośród metod eksperymentalnych, szczególnie przydatne narzędzie do badania żeli krzemionkowych stanowi spektroskopia FTIR. Zakres drgań rozciągających ($3800 - 3000 \text{ cm}^{-1}$) dostarcza informacji na temat grup silanolowych (Si-OH) obecnych na powierzchni porów [67-69]. Z kolei zakres $1300-900 \text{ cm}^{-1}$ obejmuje drgania m.in. mostków siloksanowych (Si-O-Si) [70]. Drgania przy 950 cm^{-1} ilościowo opisują populację nieprzereagowanych grup Si-OH [62]. Analizując proporcje pomiędzy udziałem grup Si-OH i Si-O-Si możliwe jest oszacowanie stopnia hydrofilowości/hydrofobowości żelu [63]. W zakresie liczb falowych $720-400 \text{ cm}^{-1}$ mają miejsce drgania szkieletu żelu krzemionkowego, w tym drgania pierścieni siloksanowych [71].

Interpretacja widm IR kompleksów adsorpcyjnych nie jest łatwym zadaniem, ponieważ trudno jest jednoznacznie przewidzieć które pasma widmowe i w jakim zakresie ulegną przesunięciu po utworzeniu adduktu. W takim przypadku bardzo pomocne są obliczenia kwantowo-chemiczne, pozwalające na uzyskanie równowagowej geometrii układu i energii oddziaływań w obrębie modelowych asocjacji. Możliwe jest również obliczenie liczb falowych dla poszczególnych grup atomów, także tych powiązanych wiązaniami wodorowymi.

Jedne z pierwszych badań teoretycznych nad niekowalencyjnymi kompleksami żelu krzemionkowego przeprowadzili Pelmenschikov i współpracownicy dla modelowej cząsteczki kwasu ortokrzemowego. Stosując metody *ab initio* zbadali oni oddziaływania w układach: $\text{Si(OH)}_4 \cdots \text{H}_2\text{O}$ [72] oraz $\text{Si(OH)}_4 \cdots \text{CH}_3\text{OH}$ [73]. W ostatnich latach ukazała się praca opisująca oddziaływania aglomeratów cząsteczki kwasu ortokrzemowego z molekułami wody [74]. Zgodnie z moją wiedzą, jak do tej pory pojawiła się zaledwie jedna publikacja na temat oddziaływań cząsteczki kwasu dikrzemowego [75], pomimo faktu, że molekula $(\text{OH})_3\text{Si-O-Si(OH)}_3$ wydaje się być lepszym modelem do badań zjawiska adsorpcji ze względu na obecność mostka siloksanowego.

II.3. Metoda zol-żel

Metoda zol-żel, choć znana od końca XIX w., dopiero w ostatnich dekadach znalazła liczne zastosowania [76]. Technika ta daje możliwość inkorporowania aktywnych składników (m.in. leków, enzymów i komórek) w monolitycznej matrycy.

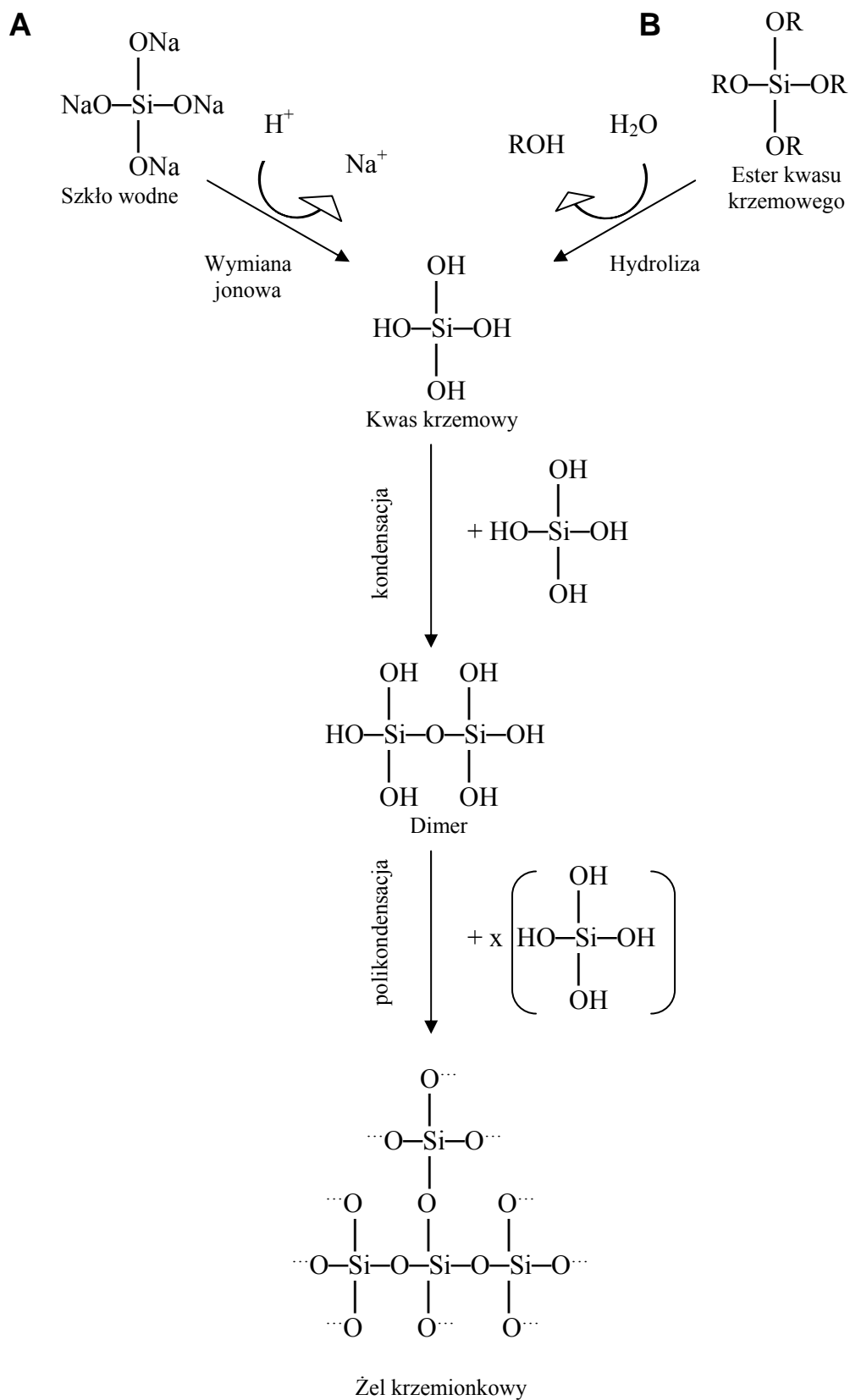
Najważniejsze zalety metody zol-żel to:

- a) ultrahomogeniczność otrzymanego układu – inkorporowane molekuly mogą zostać odseparowane na poziomie nanocząstek;
- b) niska temperatura procesu zol-żel – wrażliwe na podwyższoną temperaturę cząsteczki (np. białka) mogą być inkorporowane w temperaturze pokojowej;
- c) bierność chemiczna, biokompatybilność i biodegradowalność matryc krzemionkowych – metodę można zastosować do otrzymywania biodegradowalnych, monolitycznych systemów do kontrolowanego uwalniania leków oraz kompozytowych implantów medycznych.

Żel krzemionkowy można otrzymywać metodą zol-żel dwoma sposobami:

- a) na drodze wymiany jonowej – przepuszczając roztwór krzemianu sodu (szkło wodne) przez kolumnę wypełnioną kationitem, gdzie następuje wymiana jonów Na^+ krzemianu na jony H^+ jonitu z utworzeniem kwasu krzemowego, ulegającego dalej reakcjom polikondensacji;
- b) przez hydrolizę prekursorów kwasu ortokrzemowego – estrów tego kwasu, np. tetraetoksyilanu ($\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$) – i polikondensację produktów hydrolizy.

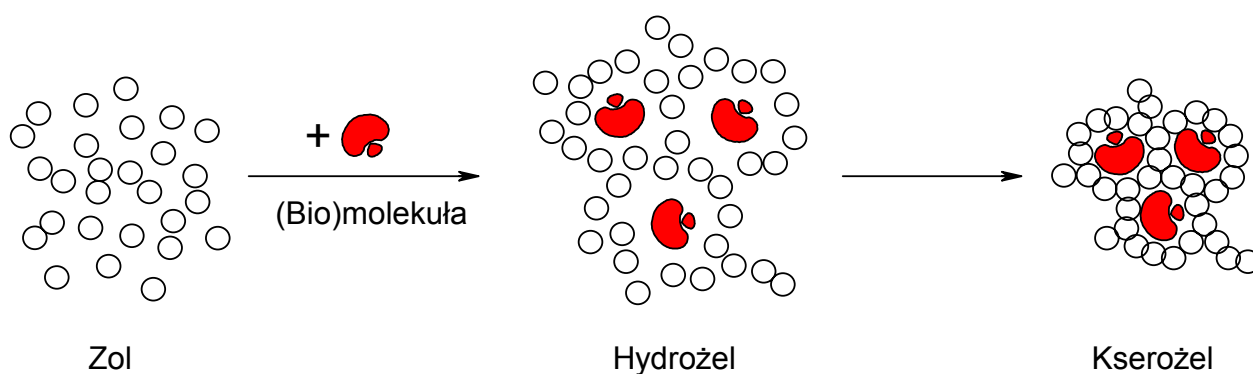
W wyniku reakcji kondensacji powstają dimery i oligomery kwasu krzemowego, łączące się z czasem w większe układy, które ostatecznie przyjmują postać nieregularnej, trójwymiarowej sieci zbudowanej z mostków $\equiv\text{Si}-\text{O}-\text{Si}\equiv$, współistniejącej z zolem zawierającym cząsteczki nieprzereagowanego monomeru, wody i alkoholu (w metodzie z użyciem estrów) [77]. Żel otrzymany na tym etapie (hydrożel) jest miękki i zawiera około 50-80% fazy ciekłej. Proces otrzymywania żelu krzemionkowego został przedstawiony schematycznie na Rys. 6.



Rys. 6. Schemat otrzymywania żelu krzemionkowego. Szkło wodne (A) oraz ester kwasu ortokrzemowego (B) jako prekursory kwasu ortokrzemowego.

Hydrożel poddany procesowi suszenia (zakres temperatury suszenia: 25-100°C) wraz z usuwaniem rozpuszczalników kurczy się, a dotychczasowa struktura sieci ulega znacznym przekształceniom i dalszemu zagęszczeniu. W rezultacie, po wysuszeniu uzyskuje się stały, porowaty monolit, zwany kserożelem. Morfologia kserożelu (w szczególności wielkość, kształt i dystrybucja porów) zależy od temperatury procesu, stężenia reagentów (stosunek molowy ((R) = woda/prekursor) mieści się zwykle w granicach od 1 do 50), pH roztworu i warunków suszenia [78, 79].

Inkorporowanie aktywnych cząsteczek metodą zol-żel polega na ich dodawaniu do zolu kwasu krzemowego i suszeniu mieszaniny w łagodnych warunkach. Dzięki niskiej temperaturze procesu nawet wrażliwe termicznie biocząsteczki zachowują swoją aktywność po zamknięciu w matrycy kserożelu. Etapy zamykania molekuł w matrycy krzemionkowej podczas procesu zol-żel zaprezentowane zostały na Rys. 7.



Rys.7. Zamykanie molekuł w matrycy krzemionkowej w procesie zol-żel.

Kortesuo i współpracownicy zbadali *in vitro* szybkość uwalniania cytrynianu toremifenu zaokludowanego w kserożelu krzemionkowym oraz biodostępność leku, szybkość degradacji matrycy i stopień biogodności tkankowej *in vivo* implantu krzemionkowego wszczepionego podskórnym myszom. Badanie *in vivo* wykazało, że po 28 dniach całkowita ilość leku została uwolniona z matrycy krzemionkowej, natomiast implant uległ biodegradacji w 77 procentach po 56 dniach. Ustalono, że sam kserożel krzemionkowy nie prowokuje odpowiedzi tkankowej, co stanowi potwierdzenie jego biokompatybilności [80].

Ponieważ właściwości kserożeli krzemionkowych, istotne z punktu widzenia ich przydatności jako matrycy dla leków (m.in. wielkość i dystrybucja porów, pole powierzchni

właściwej, stopień hydrofilowości/hydrofobowości, stopień usieciowania żelu), zależą od parametrów procesu zol-żel, dlatego też dzięki modyfikowaniu tych parametrów możliwe jest uzyskanie kompozytu lek-matryca, o pożądanym profilu uwalniania substancji aktywnej. W ostatnich latach opublikowano szereg prac dotyczących wpływu parametrów procesu zol-żel na kinetykę uwalniania leków z matrycy kserożelu *in vitro*. Böttcher i współpracownicy badali przydatność metody zol-żel i nośników krzemionkowych jako matryc dla nifedypiny. Ustalono, że uwalnianie leku z kompozytu może być w dużym zakresie kontrolowane, a szybkość uwalniania zależy od wielkości ziaren kompozytu, warunków żelowania i suszenia. Uwalnianie leku można przyspieszyć przez dodatek sorbitolu, a spowolnić przez dodatek glikolu polietylenowego (PEG 600) na etapie tworzenia żelu [81]. Z przeprowadzonych badań nad wpływem proporcji składników zolu (woda/tetraetoksyilan) oraz pH zolu na szybkość uwalniania deksmedetomidyny wynika, że dla stosunku molowego woda/tetraetoksyilan w zakresie 6 - 35 oraz pH = 2,3 i 3 (tzn. blisko punktu izoelektrycznego żelu krzemionkowego) ma miejsce prostoliniowe uwalnianie leku zgodnie z kinetyką zerowego rzędu, natomiast przy pH = 1 oraz 5 następuje uwalnianie dwuetapowe: szybkie w pierwszym etapie i wolne w drugim [82]. Ustalono, że szybkość uwalniania leku jest proporcjonalna do jego zawartości w matrycy kserożelu [83]. Ahola i współpracownicy dowiedli, że rodzaj katalizatora może mieć istotny wpływ na kinetykę uwalniania heparyny. Matryce kserożelowe otrzymane z zoli gdzie zastosowano kwas octowy uwalniały heparynę znacznie wolniej niż układy syntetyzowane w obecności kwasu azotowego(V) [84]. Kolejny sposób modyfikacji matrycy kserożelu polega na zastosowaniu prekursorów kwasu ortokrzemowego zawierających alkilowe grupy funkcyjne np. dimetylodietoksyilan, metylo dietoksyilan lub etylotrietoksyilan. W wyniku hydrolizy i kondensacji wymienionych prekursorów uzyskuje się żele o niższym stopniu usieciowania i wyższym stopniu hydrofobowości. Tak zmodyfikowane matryce ulegają wolniejszej degradacji, co istotnie wpływa na profile uwalniania substancji leczniczych [85].

III. CEL I ZAKRES PRACY

Cele niniejszej pracy:

1) Opracowanie metody otrzymywania stabilnego kompozytu złożonego z kserożelu krzemionkowego i nadtlenu wodoru w szerokim zakresie stężeń H_2O_2 .

2) Charakterystyka otrzymanego kompozytu.

W szczególności postanowiłem:

- a) zbadać morfologię kompozytu;
- b) określić jego stabilność termiczną;
- c) zbadać kinetykę uwalniania nadtlenu wodoru z matrycy kserożelu do roztworu wodnego;
- d) dokonać oceny właściwości bakteriobójczych preparatu;
- e) dokonać oceny trwałości kompozytu ze względu na temperaturę przechowywania oraz stężenie zainkorporowanego nadtlenu wodoru;
- f) zbadać wpływ fizycznie zaadsorbowanej wody na trwałość kompozytu.

3) Badanie oddziaływania nadtlenu wodoru z żelem krzemionkowym, oparte na fourierowskiej spektroskopii w podczerwieni i obliczeniach kwantowo-chemicznych.

W szczególności postanowiłem:

- a) uzyskać widmo FTIR kompozytu kserożelu krzemionkowego i nadtlenu wodoru;
- b) zaprojektować małowiązane modele solwatowanego żelu krzemionkowego: $Si(OH)_4 \cdots 2H_2O_2 \cdots H_2O$, $Si(OH)_4 \cdots 2H_2O_2$, $Si(OH)_4 \cdots H_2O_2 \cdots 2H_2O$, $Si(OH)_4 \cdots H_2O_2 \cdots H_2O$ oraz $[(OH)_3Si-O-Si(OH)_3] \cdots H_2O_2$ i w oparciu o obliczenia kwantowo-chemiczne uzyskać ich struktury równowagowe, dane spektroskopowe (IR), a dla kompleksu kwas dikrzemowy–nadtlenek wodoru, również energie stabilizacji;
- c) skonfrontować widmo eksperymentalne z liczbami falowymi i wartościami energii stabilizacji obliczonymi dla modelowych asocjatów, a następnie zinterpretować otrzymane wyniki.

IV. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

BADANIE MORFOLOGII POWIERZCHNI KOMPOZYTÓW ELEKTRONOWYM MIKROSKOPEM SKANINGOWYM BYŁO MOŻLIWE DZIĘKI WSPÓLPRACY Z P. DR. INŻ. MICHAŁEM STRANKOWSKIM Z KATEDRY TECHNOLOGII POLIMERÓW POLITECHNIKI GDAŃSKIEJ. OBLICZENIA KWANTOWO-CHEMICZNE ZAPROJEKTOWANYCH PRZEZE MNIĘ KLASTERÓW CZĄSTECZEK $\text{Si}(\text{OH})_4$, H_2O_2 I H_2O ORAZ DIMERU KWASU DIKRZEMOWEGO Z NADTLENKIEM WODORU PRZEPROWADZIŁ P. MGR GRZEGORZ P. PIOTROWSKI Z WYDZIAŁU CHEMII UNIWERSYTETU GDAŃSKIEGO. BADANIA WŁAŚCIWOŚCI BAKTERIOBÓJCZYCH KOMPOZYTU WYKONAŁA P. MGR AGNIESZKA CABAJ Z ZAKŁADU CHEMII I BIOCHEMII MORZA INSTYTUTU OCEANOLOGII PAN W SOPOCIE. SYNTEZĘ KOMPOZYTÓW ORAZ POZOSTAŁE BADANIA I OBLICZENIA WYKONAŁEM OSOBIŚCIE.

IV.1. MATERIAŁY I METODY

Materialy

Odczynniki:

Szkło wodne R-145; stosunek molowy $\text{SiO}_2/\text{Na}_2\text{O}$ – 2,5; WAMA Lębork,
nadtlenek wodoru (~30%) cz.; POCh Gliwice,
manganian(VII) potasu cz.d.a.; POCh Gliwice,
kwas ortofosforowy(V) cz.d.a. (85%); POCh Gliwice,
kwas siarkowy(VI) cz.; POCh Gliwice,
kwas solny (36%) cz.; POCh Gliwice,
woda destylowana – część preparatywna i analityczna,
woda dejonizowana (Milli-Q) sterylizowana w autoklawie – testy mikrobiologiczne.

Zastosowane szczepy bakterii:

Escherichia coli (ATCC 8739) z Polskiej Kolekcji Mikroorganizmów, PAN, Wrocław,
Micrococcus luteus (99% podobieństwa do AF 542073) z Zakładu Chemii i Biochemii
Morza, PAN, Sopot.

Otrzymywanie kompozytów kserożelu krzemionkowego z nadtlaniem wodoru

Kwas ortokrzemowy otrzymywałem na drodze wymiany jonowej. Szkło wodne, rozcieńczone wodą destylowaną w stosunku 1:4 przepuszczałem przez kolumnę szklaną (500×40 mm) wypełnioną żywicą jonowymienną (Amberlit IR-120, Fluka AG) uzyskując roztwór (zól) kwasu ortokrzemowego (H_4SiO_4) o zawartości $5,0 \pm 0,3\%$ wag. SiO_2 . Roztwór ten mieszałem następnie z perhydrolem (30% H_2O_2) do uzyskania 0,5, 1, 2,5, 5, 10 i 20% wag. H_2O_2 w zolu. Aby dokonać immobilizacji śladowych ilości zanieczyszczeń metalicznych katalizujących rozkład H_2O_2 , do każdej z mieszanin dodawana była taka sama ilość stabilizatora (0,03% wag. H_3PO_4). Otrzymane roztwory ($\text{pH} = 2,0 \pm 0,2$) były wylewane na szklane płytki Petriego (90 mm wewnętrznej średnicy; 15 mm wysokości) i suszone w suszarce laboratoryjnej w temperaturze 70°C do momentu ubytku 90% masy próbki. Uzyskiwałem kserożele (w postaci nieregularnych bryłek monolitu) zawierające od 3,8 do 68,0% H_2O_2 . Dodatkowo, dla układu z 5-proc. początkową zawartością H_2O_2 w zolu były otrzymywane kompozyty różniące się stopniem wysuszenia. Ocenę mikroskopową morfologii powierzchni kompozytów przeprowadzano dla monolitów kserożelu. Szybkości uwalniania H_2O_2 badałem zarówno z pokruszonego monolitu (średnia średnica cząstek ~ 2 mm), jak i ze sproszkowanych próbek kserożelu (średnia średnica cząstek 13 μm). Badanie z użyciem różnicowego kalorymetru skaningowego (DSC), ocena stabilności, oraz testy mikrobiologiczne zostały przeprowadzane dla sproszkowanych próbek kompozytów.

Wielkość cząstek sproszkowanych próbek kompozytu określałem przez zapisanie ich obrazów mikroskopowych w formie plików graficznych (mikroskop – Motic B1-220A, Wetzlar, Niemcy, sprzężony z kamerą cyfrową – Panasonic GP-KR 222E, Matsushita Communication Industrial, Japonia), a po manualnym wybraniu z nich 150 reprezentatywnych cząstek, korzystając z oprogramowania UTHSCSA Image Tool software, (wersja 3.00), zmierzyłem ich powierzchnie i obliczyłem średnice.

Oznaczanie stężenia H_2O_2 w kompozytach oraz krzemionki w zolu kwasu krzemowego

Stężenie nadtlenu wodoru w kserożelach oznaczałem miareczkowo, mianowanym roztworem KMnO_4 . Na szkiełku zegarkowym odważałem próbki kompozytu (typ wagi – PRL T A13, dokładność ważenia – 0,0001 g), które następnie były przenoszone do kolb stożkowych. Do kolb dodawałem ok. 10 ml kwasu siarkowego(VI) rozcieńczonego wodą destylowaną w stosunku 1:4. Miareczkowanie prowadziłem mianowanym roztworem manganianu(VII) potasu (objętość biurety 25 ml, dokładność – 0,05 ml) do zmiany zabarwienia. Stężenie nadtlenu wodoru było oznaczane każdorazowo przez uśrednienie

dwóch pomiarów wykonanych dla jednego układu. W przypadku różnicy stężeń > 2% wykonywałem trzeci pomiar.

Zawartość krzemionki (SiO_2) w zolu kwasu krzemowego oznaczałem gravimetrycznie w tyglach kwarcowych.

Badanie morfologii powierzchni kompozytów

Powierzchnia monolitów kompozytów kserożelu krzemionkowego z nadtlakiem wodoru była badana skaningowym mikroskopem elektronowym Tesla BS-300, Brno, Republika Czeska (15 kV). Za pomocą napyłarki na powierzchnię próbek została napyłona cienka warstwa złota w celu lepszego odprowadzenia ładunków elektrycznych od powierzchni próbek. Obrazy mikroskopowe były rejestrowane przy powiększeniach 500x, 1000x oraz 10000x.

Badanie stabilności termicznej

Do określenia stabilności termicznej kompozytów wykorzystałem różnicową kalorymetrię skaningową (DSC). Pomiary DSC zostały przeprowadzone aparatem DSC-6, Perkin-Elmer, USA. Sproszkowane próbki kompozytów o masie $38 \pm 4,9$ mg były umieszczane w aluminiowych naczynkach. Badanie prowadziłem w zakresie temperatur $20 \div 200^\circ\text{C}$ przy szybkości ogrzewania $10^\circ\text{C min}^{-1}$ w atmosferze azotu.

Badanie kinetyki uwalniania H_2O_2 z matrycy kserożelu do roztworu wodnego

Próbki kompozytu o masie 0,3 g umieszczałem w 20-ml zakręczanych probówkach szklanych (13 mm wewnętrznej średnicy; 160 mm wysokości). Aby określić ilość H_2O_2 uwolnionego w określonych przedziałach czasu, przygotowywałem siedem identycznych próbek dla danego kompozytu. Do każdej próbki dodawałem 10 ml wody destylowanej. Pierwsza próbka była analizowana po 30 sekundach bez wytrząsania, podczas gdy pozostałe sześć probówek umieszczałem poziomo w termostatowanej łaźni wodnej (Julabo Exatherm U3, Niemcy) sprzężonej z wytrząsarką laboratoryjną (Elpin+ 358S, Polska). Po czasie uprzednio określonym dla każdej próbki, filtrowałem ciecz z nad osadu, a ilość uwolnionego H_2O_2 oznaczałem miareczkowo za pomocą 0,02 M KMnO_4 . Badanie przeprowadzałem w temperaturze 25°C , przy szybkości wytrząsania 100 c.p.m. i amplitudzie 1.

Badanie aktywności bakteriobójczej

Celem testu było określenie aktywności bakteriobójczej kompozytu kserożel krzemionkowy – nadtlenek wodoru. Wykrzystane zostały Gram-ujemne bakterie z gatunku *Escherichia coli* – główny względnie chorobotwórczy drobnoustrój występujący w jelicie grubym, obecny także w wodzie powierzchniowej, glebie, żywności, ściekach i na roślinach oraz bakterie Gram-dodatnie z gatunku *Micrococcus luteus* – występujące głównie w glebie, wodzie, kurzu, jak również na skórze człowieka. Ponieważ badany materiał jest nierozpuszczalny w wodzie, zastosowano metodę *cut plug*, wykorzystywaną powszechnie do oceny aktywności bakteriobójczej polimerów [86].

Test przeprowadzano na sterylnych, plastikowych płytkach Petriego, zawierających po 15 ml odpowiedniego podłoża zestalonego agarem. Dla *E. coli* i *M. luteus* zastosowano odpowiednio podłoża Nutrient Agar [87] i ZoBell [88]. Na każdą tak przygotowaną płytkę posiewano murawą 100 μ l jednodniowej hodowli bakterii o absorbcji $\sim 0,5$ przy długości fali $\lambda = 600$ nm. Ta absorbcja w przybliżeniu odpowiada 10^7 CFU/ml (10^7 komórek bakteryjnych w 1 mililitrze). W inokulowanym podłożu każdej z płytek robiono studzienkę o średnicy 4 mm, którą wypełniano 20 mg sproszkowanego kompozytu zawierającego 3,59% H_2O_2 . Wykonywano także próbę kontrolną z kserożelem krzemionkowym niezawierającym nadtlenu wodoru. Aby dokonać porównania właściwości bakteriobójczych H_2O_2 w kompozycie z nadtlentkiem wodoru w fazie ciekłej, studzienki wypełniano 20 μ l 3,59-proc. roztworu H_2O_2 . Tak przygotowane płytki inkubowano przez 24 h w temperaturze 37°C. Po tym czasie odczytywano średnicę zahamowania wzrostu.

Badanie stabilności kompozytów w czasie przechowywania

Sproszkowane kompozyty były przechowywane przez 63 dni w zamkniętych, plastikowych probówkach Eppendorfa, w zaciemnionym miejscu. Próbki zawierające 3,8% H_2O_2 (wysuszone do 90% ubytku masy) były przechowywane w temperaturze pokojowej, 3°C oraz $-25^\circ C$, natomiast kompozyty otrzymane z zoli zawierających 5 i 20 procent H_2O_2 , różniące się dodatkowo stopniem wysuszenia, były przechowywane w temperaturze 3°C. Pomiarzy zawartości nadtlenu wodoru w kompozytach były prowadzone po 1, 2, 3, 5 dniach, a następnie co siedem kolejnych dni. Stężenie H_2O_2 było określane manganometrycznie. Uzyskane wyniki były odnoszone do początkowego stężenia H_2O_2 w próbkach (przyjąłem, że wynosi ono 100%), dzięki czemu możliwe było obserwowanie względnych zmian zawartości nadtlenu wodoru w badanych układach w czasie przechowywania.

Spektroskopia FTIR

Próbkę kserożelu zawierającego 62,4% H_2O_2 sproszkowałem, a następnie przechowywałem w szczelnie zamkniętym, szklanym pojemniku przez 13 dni. W momencie pomiaru spektroskopowego stężenie H_2O_2 w kompozycie wynosiło 50,6%.

Widma FTIR wykonywano na spektrometrze Bruker IFS 66, Niemcy, w tabletkce KBr, w zakresie $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$. Na początku rejestrowano po 16 skanów dla jednego cyklu pomiarowego, zwiększając tę liczbę do 128 po ustabilizowaniu się odczytu. Dla czystej tabletki KBr (stanowiącej tło pomiarowe) za każdym razem była rejestrowana identyczna liczba skanów. W przypadku czystego kserożelu krzemionkowego, rejestrowane widmo powstawało z uśrednienia 128 skanów. Pomiaru były wykonywane przy rozdzielczości 4 cm^{-1} .

Metodologia obliczeń kwantowo-chemicznych

Optymalizację geometrii kompleksów: woda – cykliczny tetramer kwasu krzemowego, oraz nadtlenuk wodoru – cykliczny tetramer kwasu krzemowego, przeprowadziłem przy użyciu programu Dgauss [89] zawartego w oprogramowaniu CAChe (wersja 7.5.0.85). Jako metodę obliczeniową zastosowałem teorię funkcjonału gęstości (DFT) z funkcjonałem energii wymiennie-korelacyjnej, B88LYP [90], oraz bazę funkcyjną DZVP (ang. *double zeta valence polarization*) [91].

Obliczenia dla klasterów: $\text{Si}(\text{OH})_4-2\text{H}_2\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}$, $\text{Si}(\text{OH})_4-2\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{Si}(\text{OH})_4-\text{H}_2\text{O}_2-2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Si}(\text{OH})_4-\text{H}_2\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}$ oraz kompleksu (1:1) $[(\text{HO})_3\text{SiOSi}(\text{OH})_3]-\text{H}_2\text{O}_2$ wykonano za pomocą programu GAMESS-US (wersja 12) [92] i bazy funkcyjnej 6-31++G(d,p), na różnych poziomach teorii. Widma wibracyjne obliczono dla całkowicie zoptymalizowanych geometrycznie struktur wykorzystując teorię DFT i funkcjonał B3LYP [93]. Wszystkie przedstawione układy zidentyfikowano jako rzeczywiste minima energetyczne - obliczone widma nie posiadały częstości urojonych (ang. *imaginary frequencies*). Podczas porównywania obliczonych wartości drgań z częstościami eksperymentalnymi, nie stosowano mnożników skalujących. Podczas obliczania energii stabilizacji składników kompleksu $[(\text{HO})_3\text{SiOSi}(\text{OH})_3]-\text{H}_2\text{O}_2$, poza metodą DFT, zastosowano również metody *ab initio* – metodę Hartree-Focka (HF) i teorię perturbacyjną drugiego rzędu Møllera-Plesseta (MP2). Dla obliczonych energii dokonano korekcji błędu superpozycji bazy (BSSE) [94].

IV.2. Otrzymywanie i charakterystyka kompozytów kserożelu krzemionkowego z nadtlaniem wodoru

IV.2.1. Otrzymywanie kompozytów kserożelu krzemionkowego z nadtlaniem wodoru

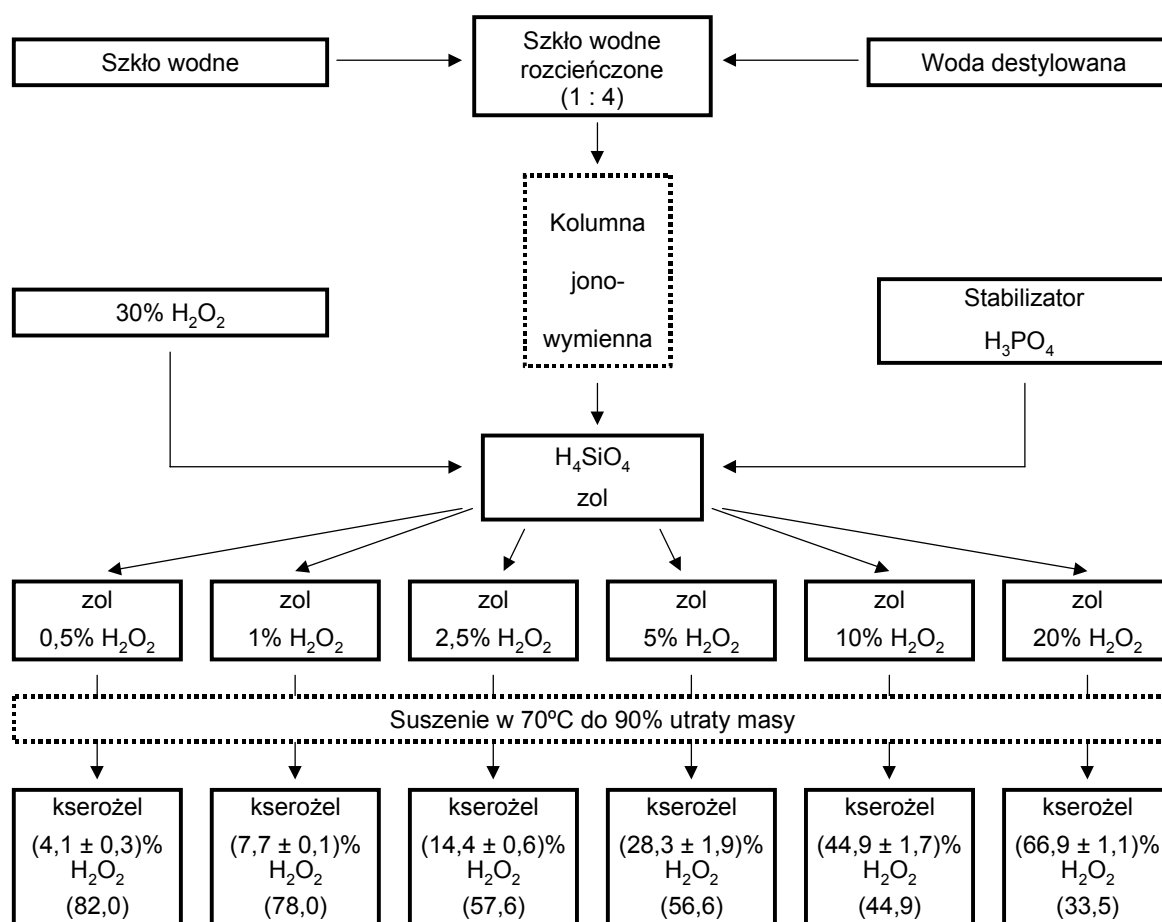
Podczas wygrzewania mieszaniny wodnych roztworów kwasu krzemowego i nadtlenu wodoru, prowadzonego w temperaturze 70°C, woda i częściowo H₂O₂ stopniowo opuszczają układ. Równocześnie grupy silanolowe, ≡Si-OH, kwasu krzemowego ulegają kondensacji z utworzeniem mostków silkosanowych, ≡Si-O-Si≡, w wyniku czego powstaje hydrożel. Kontynuowanie suszenia prowadzi do dalszej dehydratacji i zagęszczenia trójwymiarowej sieci żelu krzemionkowego, czego rezultatem jest powstający kserożel. Procesom odparowywania składników mieszaniny i zagęszczania sieci żelu krzemionkowego towarzyszy widoczny wzrost stężenia H₂O₂. Nadtlenek wodoru ulega zarówno adsorpcji na powierzchni, jak i zamykaniu (ang. *encapsulation*, kapsułkowanie) wewnątrz porów kserożelu. Maksymalną wydajność ładowania (WŁ) nadtlenu wodoru w kserożelu osiągnąłem poprzez odparowanie około 90% całkowitej masy wyjściowej mieszaniny.

Wydajność ładowania (WŁ) została obliczona według wzoru:

$$W\text{Ł} (\%) = (Q_{\text{kserożel}} / Q_{\text{zol}}) \times 100,$$

gdzie $Q_{\text{kserożel}}$ jest masą nadtlenu wodoru w kserożelu, natomiast Q_{zol} stanowi początkową zawartość H₂O₂ w zolu (przed jego wysuszeniem).

Schemat otrzymywania kompozytów kserożelu krzemionkowego z nadtlaniem wodoru w zakresie stężeń 4,1 ÷ 66,9% H₂O₂ przedstawia Rys. 8.

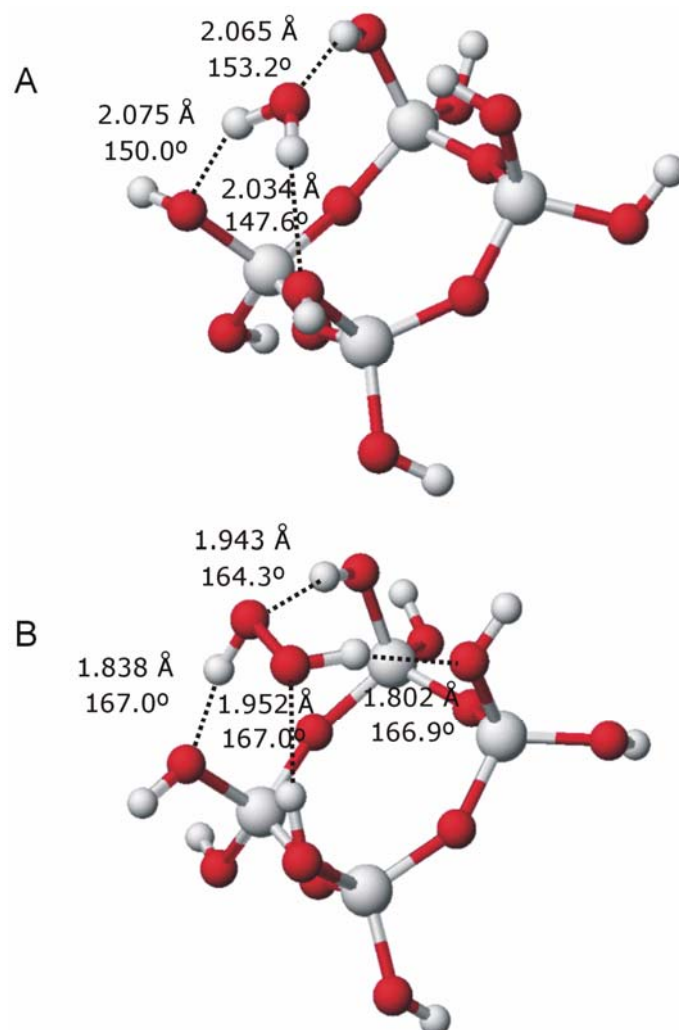


Rys. 8. Schemat otrzymywania kompozytów kserożelu krzemionkowego z nadtlenkiem wodoru. Stężenia H₂O₂ w kserożelach stanowią średnią ± MD (odchylenie średnie, ang. *mean deviation*) z dwóch niezależnych eksperymentów. Dane liczbowe w nawiasach przedstawiają procentową wydajność ładowania H₂O₂ w kserożelach.

Najwyższą WŁ uzyskano dla niskich stężeń H₂O₂ w wyjściowym zolu (WŁ = 82,0 dla 0,5% H₂O₂ w zolu), natomiast najniższą WŁ, dla zolu zawierającego najwyższe stężenie nadtlenu wodoru (WŁ = 33,5 dla 20% H₂O₂ w zolu). W drugim przypadku otrzymano kserożel o najwyższej zawartości H₂O₂ (66,9%).

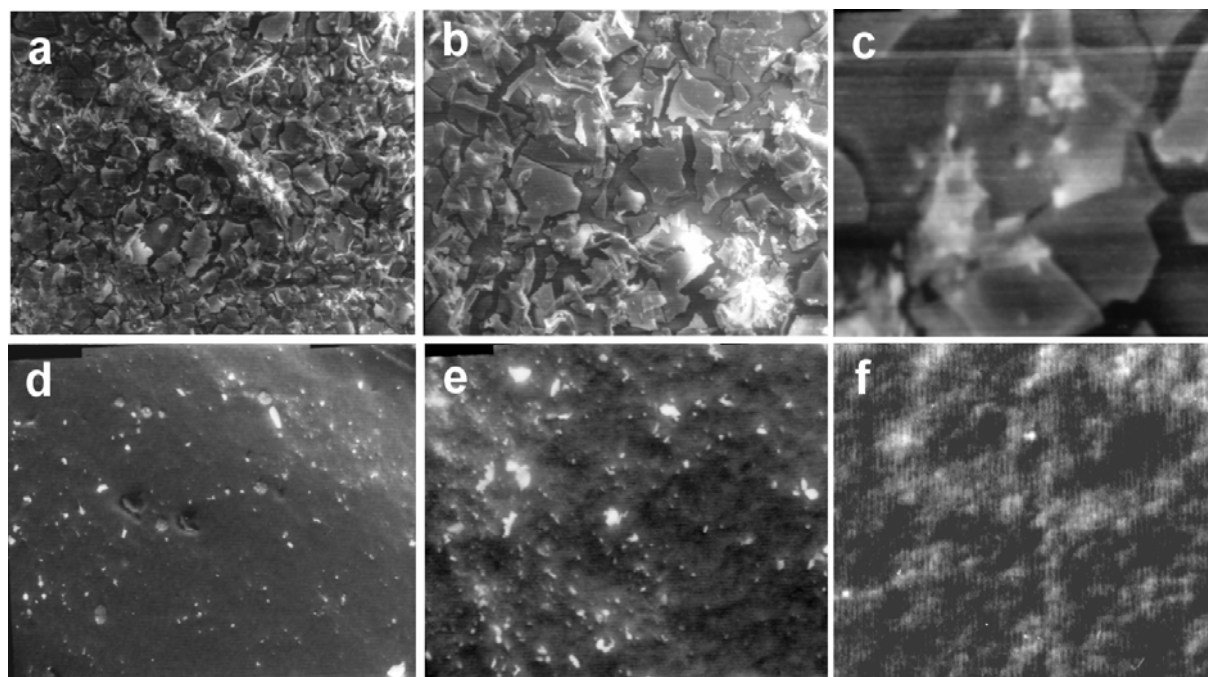
Przedstawione wyniki jasno pokazują, że cząsteczki H₂O₂ są znacznie silniej niż cząsteczki wody adsorbowane na żelu krzemionkowym. Co sprawia, że nadtlenek wodoru wygrywa współzawodnictwo w dostępie do sorbentu? Wytlumaczenie tego zjawiska może być następujące: cząsteczka H₂O₂ posiada dwa atomy tlenu, a więc dwa podatne na wiązania wodorowe centra nukleofilowe. W ten sposób nadtlenek wodoru może tworzyć większą w porównaniu do cząsteczki wody liczbę wiązań wodorowych. Ponieważ elementy składowe cząsteczki wody nie mogą ulegać rotacji, jest ona włączona w wiązania wodorowe bez wyraźnych zmian geometrii. Nadtlenek wodoru wykazuje natomiast pewną rotację wokół

wiązania O–O [95]. Należy się zatem spodziewać lepszego dopasowania do centrów adsorpcji żelu krzemionkowego bardziej „elastycznych” cząsteczek H_2O_2 , czego efektem będzie powstawanie mniej naprężonych i krótszych, a w konsekwencji silniejszych wiązań wodorowych. Potwierdzeniem tej tezy może być przedstawiony na Rys. 9 model centrum adsorpcji żelu krzemionkowego wraz z zaadsorbowaną cząsteczką wody i nadtlenu wodoru.



Rys. 9. Pierścień siloksanowy złożony z czterech skondensowanych cząsteczek $\text{Si}(\text{OH})_4$ jako model centrum adsorpcji żelu krzemionkowego z zaadsorbowaną cząsteczką: (A) wody, (B) nadtlenu wodoru. Struktury zoptymalizowane za pomocą funkcjonału gęstości B88LYP DFT oraz bazy funkcyjnej DZVP. Długości wiązań wodorowych przedstawiono w angstromach (Å), a kąty wiązań wodorowych (O–H···O) – w stopniach.

IV.2.2. Ocena morfologii powierzchni kompozytów



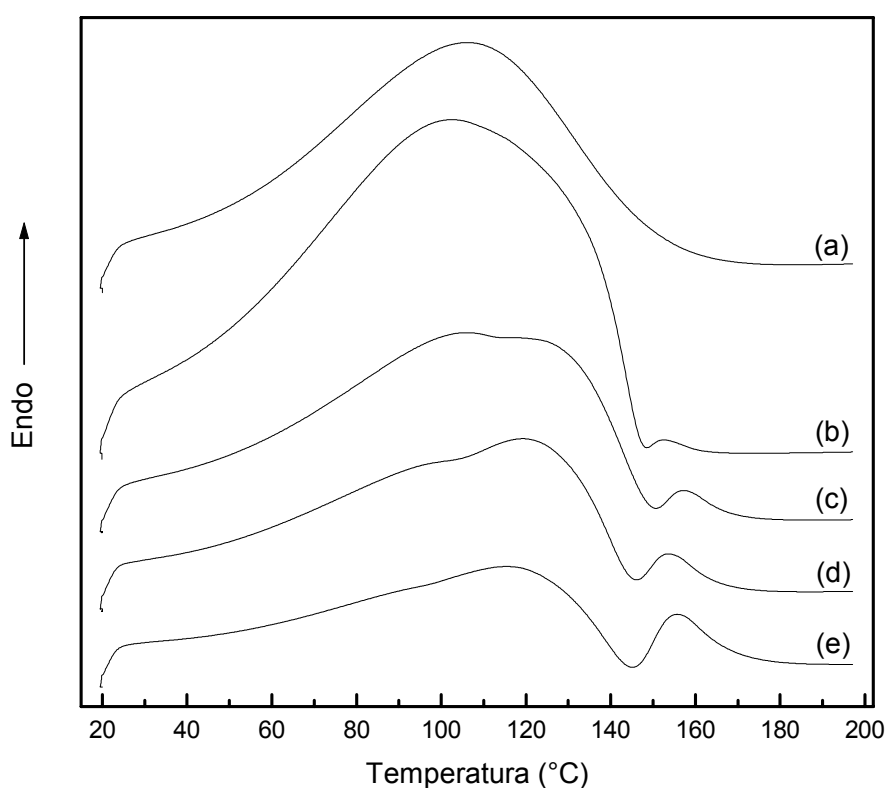
Rys. 10. Mikrofotografie powierzchni monolitów kompozytów kserożelu krzemionkowego z nadtlaniem wodoru wykonane elektronowym mikroskopem skaningowym, zawierających 8% H_2O_2 (zdjęcia a-c) i 27% H_2O_2 (zdjęcia d-f) przy powiększeniu: 500x (a i d); 1000x (b i e); 10000x (c i f).

Mikrofotografie przedstawione na Rys. 10 ukazują morfologię kompozytów zawierających 8% H_2O_2 oraz 27% H_2O_2 . Oba kompozyty powstały z wysuszenia odpowiednich zoli do 90% ubytku masy (zgodnie ze schematem na Rys. 8). Na ciemnej powierzchni, stanowiącej jednolitą fazę kserożelu krzemionkowego i nadtlenu wodoru, widoczne są białe plamki wskazujące na obecność fosforanów – efekt dodania stabilizatora, oraz chlorku sodu (w znikomej ilości przechodzącego do roztworu kwasu krzemowego w procesie wymiany jonowej). Zdjęcia ukazują znaczące różnice w obrazie powierzchni obu kompozytów. Powierzchnia monolitu zawierającego 8% H_2O_2 składa się z płaskich płytek o nieregularnym kształcie, rozdzielonych szczelinami. W przypadku monolitu zawierającego 27% H_2O_2 , powiększenie 500x ukazuje niemalże gładką powierzchnię (zdjęcie d). Złożoność struktury w pełni uwidacznia się dopiero przy powiększeniu 10000x (zdjęcie f). Obserwowana różnica morfologii powierzchni obu układów jest najprawdopodobniej wynikiem różnej zawartości nadtlenu wodoru i wody. Ponieważ cząsteczki H_2O oraz H_2O_2 wypełniając przestrzeń wewnątrz kserożelu i tworząc silne wiązania wodorowe wzmacniają

jego szkielet – zapobiegają w ten sposób jego erozji. Kompozyt o popękanej powierzchni otrzymałem z zolu o mniejszej zawartości obu tych składników.

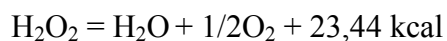
IV.2.3. Badanie stabilności termicznej

Na Rys. 11 przedstawiono termogramy kserożelu krzemionkowego oraz kompozytów kserożelu krzemionkowego z nadtlakiem wodoru różniących się stopniem wysuszenia. Analizowane próbki zostały wysuszone w zakresie 87,0 ÷ 92,0% całkowitego ubytku masy.



Rys. 11. Krzywe DSC kserożelu krzemionkowego (a) oraz kompozytów kserożelu krzemionkowego z nadtlakiem wodoru (b-e), otrzymanych z zolu zawierającego 5% H_2O_2 . Stężenie H_2O_2 w kompozytach oraz stopień ubytku masy wyjściowych zoli wynosiły odpowiednio: (b) 21,0 i 87,0; (c) 30,3 i 89,8; (d) 29,6 i 91,0; (e) 25,3 i 92,0 (%).

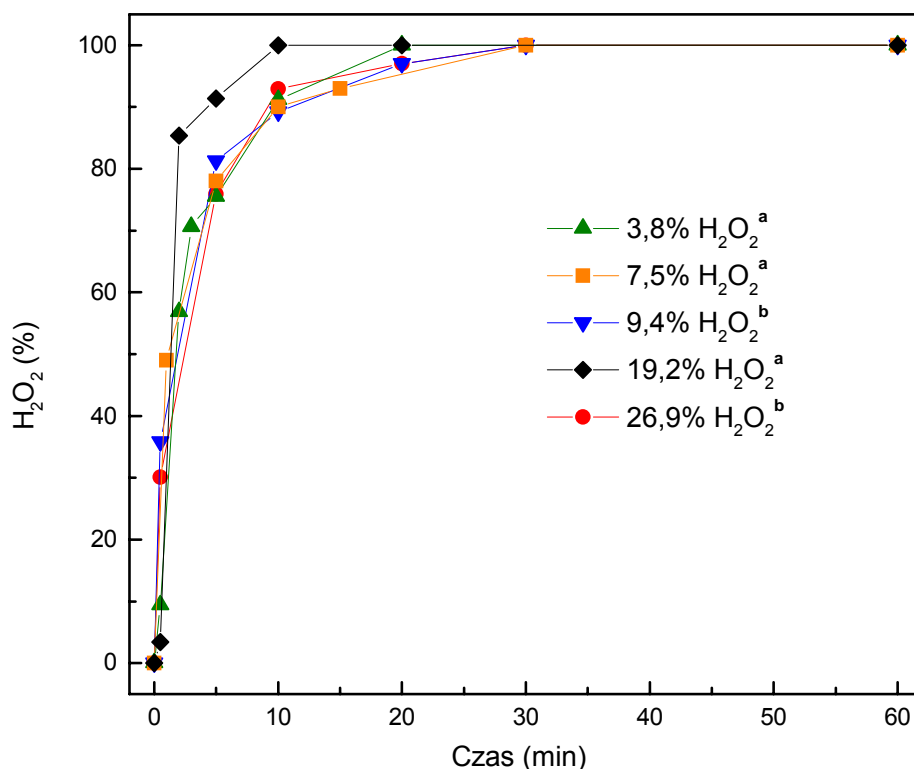
W czasie termicznego skanowania próbek, głównym obserwowanym efektem cieplnym jest silny efekt endotermiczny, który wykazuje zarówno próbka samego kserożelu, jak również próbki kompozytów. Ciepło dostarczane do układu wykorzystywane zostaje tutaj do rozrywania wiązań wodorowych pomiędzy grupami hydroksylowymi żelu krzemionkowego, $\equiv\text{Si}-\text{OH}$, a cząsteczkami wody i nadtlenu wodoru. Najprawdopodobniej, wraz ze wzrostem temperatury, słabiej związane cząsteczki wody są uwalniane z powierzchni żelu w pierwszej kolejności. Dla kserożelu krzemionkowego (krzywa a) maksimum pików endotermicznych występuje w temperaturze 106°C , natomiast całkowita desorpcja fizycznie zaadsorbowanej wody zachodzi po ogrzaniu próbki do 170°C . W przypadku kompozytów, po przekroczeniu pewnej granicznej temperatury następuje rozkład H_2O_2 zgodnie z równaniem [24]:



Egzotermiczne efekty cieplne są widoczne na termogramach (b-e) w zakresie temperatur $145 - 151^{\circ}\text{C}$. Jednocześnie można prześledzić proces desorpcji wody powstałej z rozkładu nadtlenu wodoru – są to niewielkie piki endotermiczne w zakresie $153 - 157^{\circ}\text{C}$. Termogramy kompozytów nie ukazują oddzielnych pików dla efektów cieplnych związanych z desorpcją wody i nadtlenu wodoru. Świadczy to o złożonym mechanizmie desorpcji. Niemniej jednak, analizując kształt krzywych, można wyróżnić fragmenty, gdzie efekt endotermiczny jest w głównej mierze wynikiem desorpcji albo wody, albo nadtlenu wodoru. Najlepiej jest to widoczne dla krzywej (c), gdzie lewy „garb” głównego pików endotermicznych z maksimum w 105°C odpowiada desorpcji wody, a prawy „garb” z maksimum w 123°C – nadtlenu wodoru. Z przedstawionego zestawienia termogramów wynika, że zawartość słabo związanej wody maleje w porządku: (b) > (c) > (d) > (e), co odpowiada stopniowi wysuszenia kompozytów. Prawy „garb” głównego pików na krzywej (b) jest najbardziej przesunięty w kierunku wyższych temperatur, co sugeruje najsilniejsze związanie cząsteczek H_2O_2 z powierzchnią kserożelu. Jednak najwyższa temperatura rozkładu nadtlenu wodoru (151°C , krzywa c), wskazuje na najstabilniejszy termicznie kompozyt. Biorąc pod uwagę powyższe obserwacje, można postawić tezę, że woda obecna w kompozytach w pewnym nadmiarze stabilizuje cząsteczki H_2O_2 zaadsorbowane na powierzchni kserożelu podnosząc barierę energetyczną, po przekroczeniu której następuje desorpcja nadtlenu wodoru.

IV.2.4. Badanie kinetyki uwalniania H_2O_2 z matrycy kserożelu

Rys. 12 przedstawia kinetykę uwalniania nadtlenu wodoru z matrycy kserożelu krzemionkowego do roztworu wodnego dla pięciu stężeń H_2O_2 i dwóch wielkości cząstek kompozytu.



Rys. 12. Kinetyka uwalniania H_2O_2 z matrycy kserożelu krzemionkowego dla różnych stężeń nadtlenu wodoru w kompozycie. ^a średnia wielkość cząstek 13 μm ; ^b średnia wielkość cząstek 2 mm.

Uwalnianie nadtlenu wodoru do roztworu wodnego przebiega bardzo szybko już w łagodnych warunkach (temperatura 25°C, szybkość wytrząsania 100 c.p.m., amplituda 1), a proces ten tylko w niewielkim stopniu zależy od stężenia H_2O_2 i wielkości cząstek. W większości przypadków, 90% nadtlenu wodoru opuszcza matrycę kserożelu po około 10 minutach. Jedynie dla próbek sproszkowanych, zawierających 19,2% H_2O_2 , szybkość uwalniania jest wyraźnie większa (90% H_2O_2 po 5 minutach).

Na podstawie dotychczasowych badań ustalono, że inkorporowane cząsteczki są uwalniane z sieci kserożelu do roztworu wodnego na drodze dyfuzji. Jednocześnie w

roztworze wodnym ma miejsce erozja matrycy krzemionkowej (pękanie wiązań siloksanowych), co przyczynia się do znacznego przyspieszenia tego procesu. W większości przypadków szybkość uwalniania jest odwrotnie proporcjonalna do wielkości cząstek kompozytu [81].

Biorąc pod uwagę przedstawione krzywe kinetyki uwalniania H_2O_2 można założyć, że znaczna szybkość tego procesu jest wynikiem niezakłóconej penetracji wody do wnętrza porów kserożelu, co z kolei powoduje destrukcję matrycy krzemionkowej. Nadtlenek wodoru może być wtedy łatwo wypłukiwany z powierzchni kserożelu przez wodę obecną w układzie w dużym nadmiarze. W tym przypadku rozmiar cząstek kompozytu nie ma większego wpływu na szybkość uwalniania H_2O_2 .

Korzyścią wynikającą z dużej szybkości uwalniania H_2O_2 jest możliwość szybkiego uzyskiwania jego dość dokładnego stężenia w roztworze do którego jest uwalniany. Przedstawiona kinetyka uwalniania nadtlenu wodoru z matrycy kserożelu będzie także korzystna w wszędzie tam, gdzie niepożądana jest jego przedłużona ekspozycja. Wydaje się, że przedłużone uwalnianie H_2O_2 może być korzystne w systemach wybielających oraz w miejscach, gdzie wskazana jest długookresowa dezynfekcja. W ostatnich latach opublikowano wyniki badań z których wynika, że tempo uwalniania aktywnych składników z kserożelu krzemionkowego może być spowolnione poprzez kowalencyjne związanie grup silanolowych kserożelu z glikolem polietylenowym [83] lub też di- lub trialkoksyilanami [85]. Leonard i współpracownicy udowodnili eksperymentalnie możliwość przedłużonego uwalniania H_2O_2 z adduktu mocznik-nadtlenek wodoru, dzięki dodatkowi karboksypolime-tylenu – polimeru będącego również skutecznym czynnikiem zwiększającym adhezję do tkanek [96]. Projektując układ o przedłużonym uwalnianiu należy pamiętać, że podczas miejscowego użycia nadtlenu wodoru, częstym efektem ubocznym jest podrażnienie tkanek. Efekt ten zależy zarówno od stężenia H_2O_2 , jak również od czasu jego kontaktu z tkanką [97]. Niezbędne jest więc precyzyjne określenie tych dwóch parametrów nie tylko w odniesieniu do optymalnej skuteczności biobójczej. Należy też rozważyć wpływ wspomnianych parametrów na proces gojenia.

IV.2.5. Badanie aktywności bakteriobójczej

Bakterie zastosowane w teście to Gram-ujemna *Escherichia coli* oraz Gram-dodatnia *Micrococcus luteus*. Oba szczepy wykazują aktywność katalazy, enzymu stanowiącego naturalną ochronę przed działaniem destrukcyjnych czynników utleniających. Ten mechanizm obronny staje się jednak nieefektywny w przypadku wyższych stężeń utleniacza.

W niniejszym teście porównałem wielkość stref zahamowania wzrostu obu bakterii w obecności wodnego roztworu H_2O_2 oraz kompozytu kserożelu krzemionkowego z nadtlutkiem wodoru – Tabela. 7. Próba kontrolna dla kserożelu niezawierającego nadtlutku wodoru nie wykazała zahamowania wzrostu bakterii. Rys. 13 prezentuje przykładowy wynik testu dla *E. coli* inkubowanej w obecności kompozytu oraz przy jego braku.

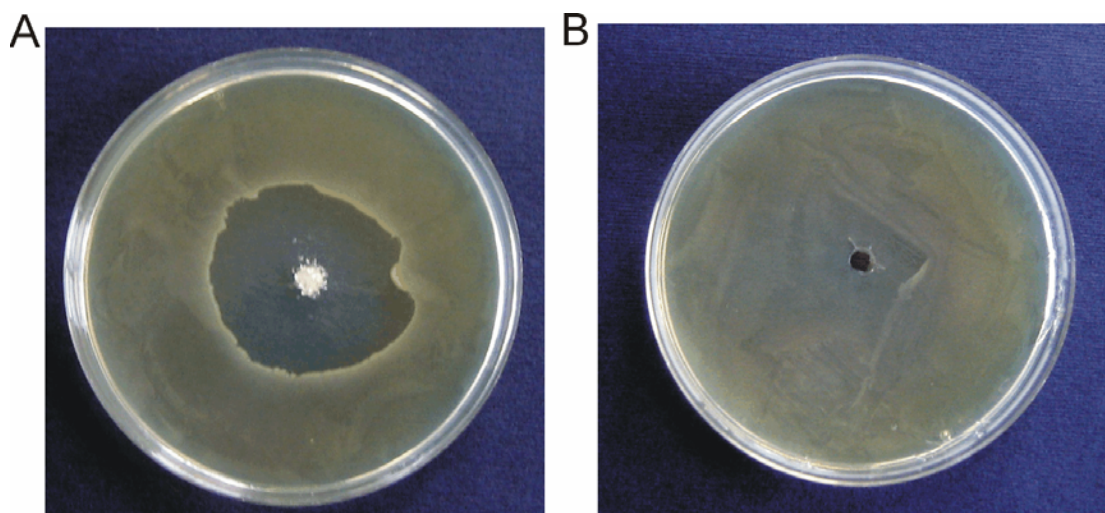
Średnia wartość średnicy strefy zahamowania wzrostu *E. coli* i *M. luteus* w obecności kompozytu wynosiła odpowiednio 27,0 mm i 31,6 mm, co stanowi 94,8% oraz 97,5% średnicy strefy zahamowania wzrostu tych bakterii w obecności wodnego roztworu H_2O_2 . Przedstawione wyniki wskazują, że dyfuzja nadtlutku wodoru z matrycy kserożelu do podłoża agarowego przebiega niemal tak samo intensywnie jak dyfuzja H_2O_2 w fazie ciekłej. Można więc oczekiwać, że po nieznacznym zwilżeniu, kompozyt kserożelu krzemionkowego z nadtlutkiem wodoru będzie wykazywać aktywność biobójczą porównywalną z aktywnością wodnego roztworu H_2O_2 .

Tabela 7. Porównanie średnic strefy zahamowania wzrostu *E. coli* i *M. luteus* w obecności 20 mg roztworu H_2O_2 oraz 20 mg kompozytu kserożelu krzemionkowego z nadtlutkiem wodoru po 24 h inkubowania na pożywce agarowej w temperaturze 37°C.

	Wodny roztwór 3,59% H_2O_2		Kserożel krzemionkowy 3,59% H_2O_2	
	Średnica ^a	SD ^b	Średnica	SD
<i>Escherichia coli</i>	27,0	2,0	25,6	2,2
<i>Micrococcus luteus</i>	31,6	1,7	30,8	1,3

^a Średnia wartość średnicy strefy zahamowania wzrostu (mm) dla pięciu powtórzeń;

^b odchylenie standardowe (n = 5).

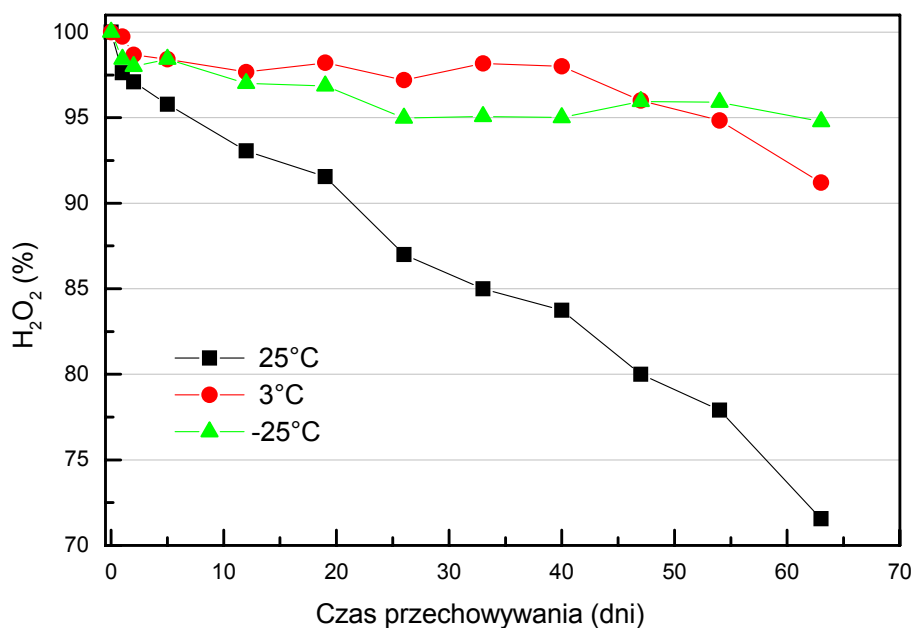


Rys. 13. Wzrost *E. coli* po 24 h inkubowania: (A) w obecności kompozytu kserożelu krzemionkowego z nadtlenkiem wodoru; (B) bez kompozytu.

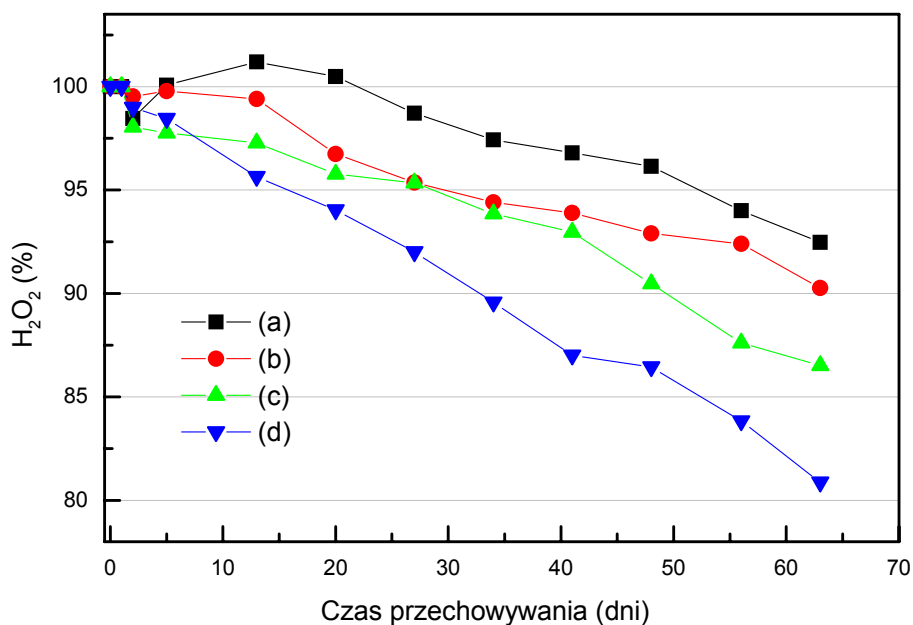
IV.2.6. Badanie trwałości kompozytów

Zawartość nadtlenu wodoru w kompozycie w czasie przechowywania stopniowo ulega zmniejszeniu. Jest to spowodowane rozkładem cząsteczek H_2O_2 pod wpływem zanieczyszczeń (głównie katalitycznych ilości jonów metali ciężkich), oraz desorpcją nadtlenu wodoru z powierzchni kserożelu. Oba te procesy mogą zostać spowolnione poprzez obniżenie temperatury. Jak można prześledzić na Rys. 14, najwolniejszy ubytek nadtlenu wodoru ma miejsce w próbkach przechowywanych w temperaturze $3^\circ C$ i $-25^\circ C$. W obu przypadkach, po 63 dniach, w kompozycie pozostawało powyżej 90% H_2O_2 .

Wyniki przedstawione na Rys. 15 pokazują, że stopień wysuszenia w istotny sposób wpływa na stabilność kompozytów. W najmniej odwodnionym układzie (a), zawierającym względnie najwięcej wody, stężenie H_2O_2 wzrastało w czasie trzech pierwszych tygodni przechowywania. Uzyskane wyniki korespondują z rezultatami otrzymanymi metodą DSC (słabo związane wiązania wodorowymi cząsteczki H_2O opuszczają matrycę kserożelu w pierwszej kolejności, zwiększając w ten sposób względne stężenie nadtlenu wodoru w układzie). Zawartość H_2O_2 w kompozycie (a) po 63 dniach przechowywania była najwyższa (93%) w porównaniu do bardziej wysuszonych próbek (b), (c) oraz (d) – odpowiednio 90,5%, 86,5% oraz 81% H_2O_2 .

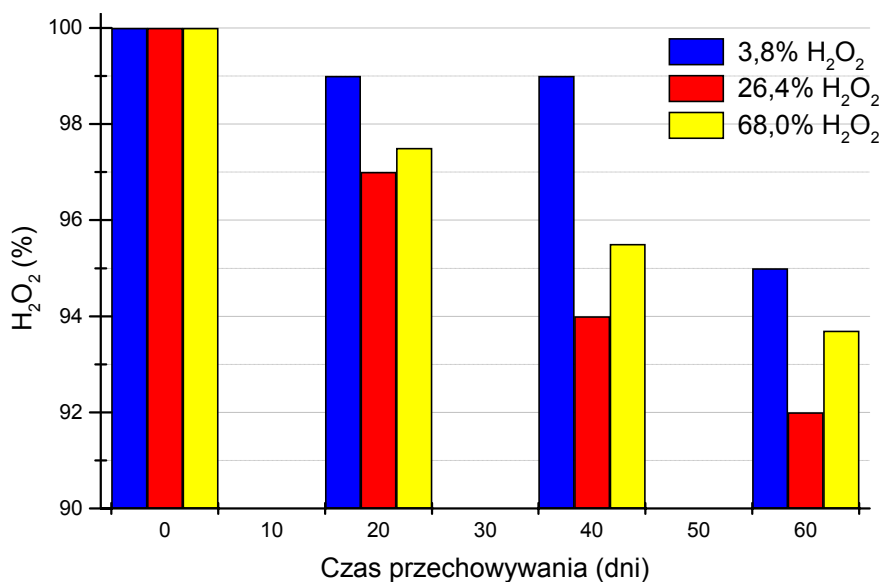


Rys. 14. Względny ubytek nadtlenu wodoru z kompozytów: kserożel krzemionkowy – H₂O₂. Stężenie H₂O₂ na początku badania wynosiło 3,8%. Wszystkie kompozyty zostały otrzymane poprzez wysuszenie odpowiednich zoli do 90% ubytku masy. Próbkę były przechowywane przez 63 dni w temperaturze pokojowej, 3°C oraz –25°C.



Rys. 15. Względny ubytek nadtlenu wodoru z kompozytów: kserożel krzemionkowy – H₂O₂. Kompozyty różniące się stopniem wysuszenia przechowywano przez 63 dni w temperaturze 3°C. Stężenie H₂O₂ w kompozytach, oraz stopień ubytku masy zoli wynosiły odpowiednio: (a) 25,8 i 87,0; (b) 26,4 i 90,0; (c) 24,6 i 92,0; (d) 21,7 i 93,0 (%).

Wyniki pomiarów wykazały, że stężenie H_2O_2 w kompozytach nie wpływa w widoczny sposób na ich stabilność. W kserożelach zawierających 3,8, 26,4, oraz 68,0% H_2O_2 , po 60 dniach przechowywania w $3^\circ C$, nadal pozostawało odpowiednio 95,0, 92,0, i 93,7% nadtlenu wodoru (Rys.16).

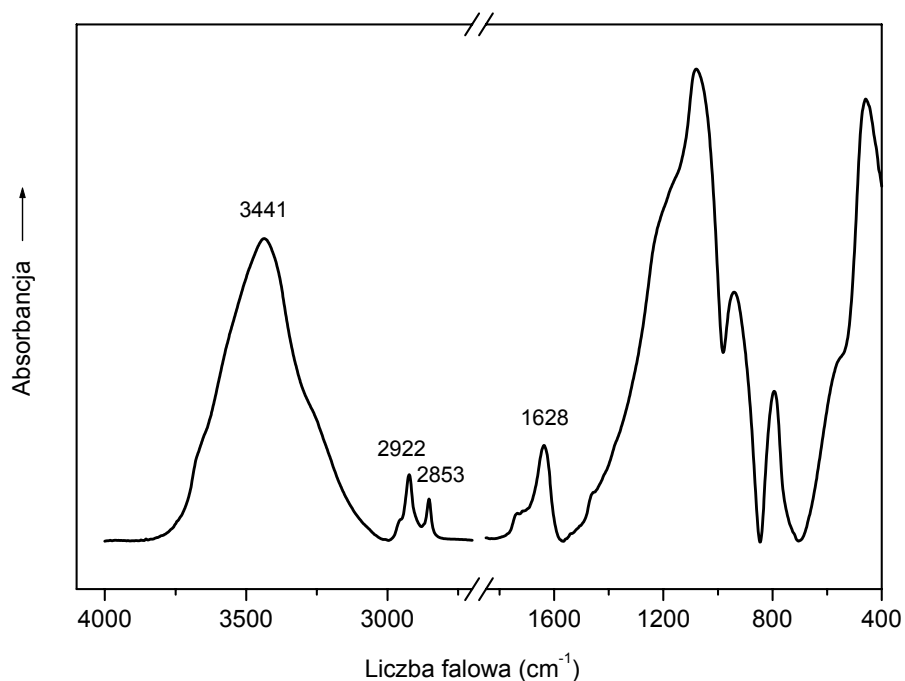


Rys. 16. Porównanie stabilności kompozytów krzemionkowych z nadtlakiem wodoru w zależności od zawartości H_2O_2 . Próbkki otrzymane z wysuszenia odpowiednich zoli do 90% ubytku masy, przechowywane przez 63 dni w temperaturze $3^\circ C$.

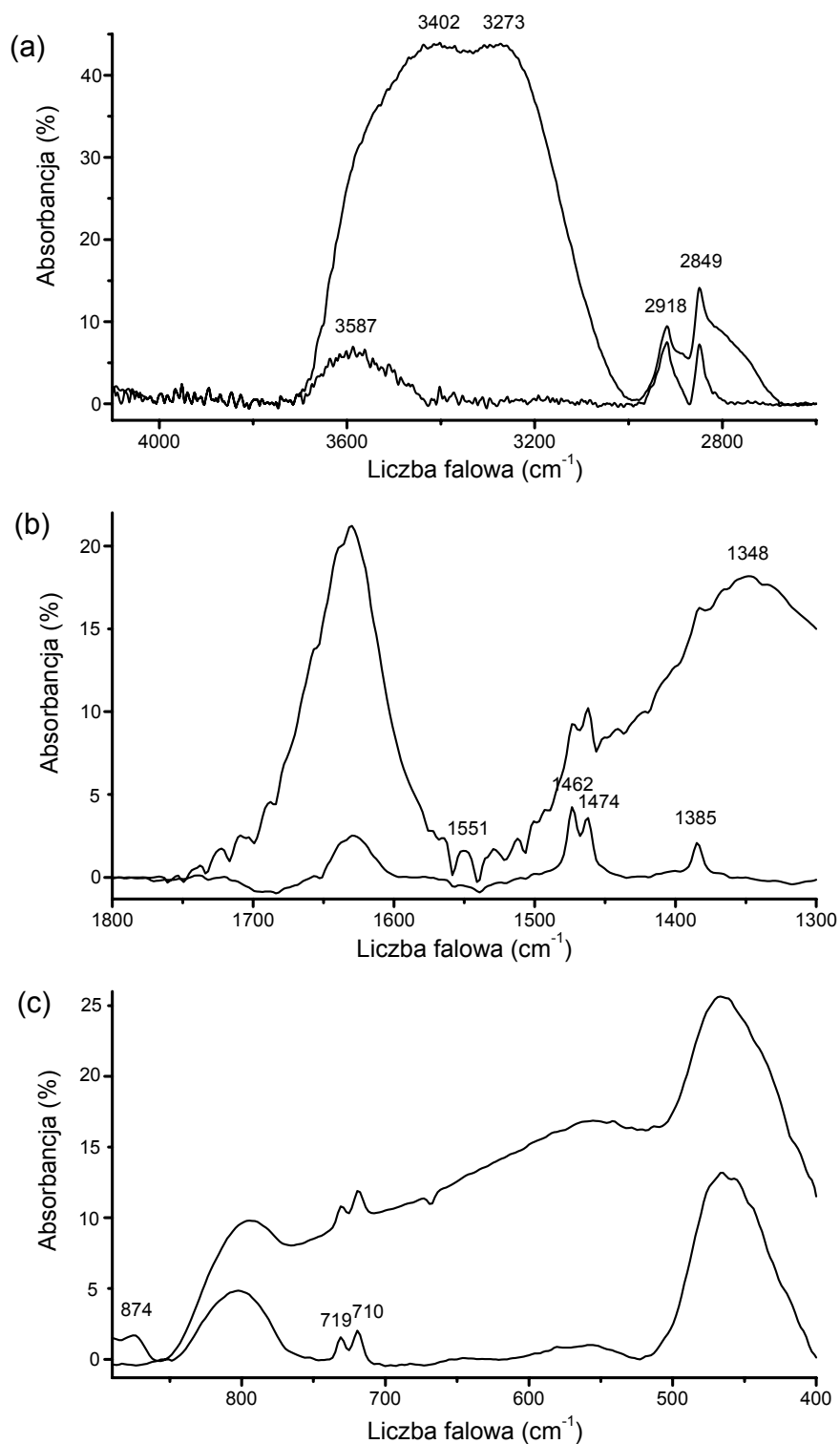
IV.3. Badanie oddziaływania nadtlenu wodoru z żelazem krzemionkowym, oparte na spektroskopii FTIR i obliczeniach kwantowo-chemicznych

IV.3.1. Spektroskopia FTIR

W celu poprawnej interpretacji widma kompozytu kserożelaz krzemionkowego z nadtlaniem wodoru, w jednakowych warunkach zarejestrowano widma FTIR kserożelaz krzemionkowego nie zawierającego H_2O_2 (Rys. 17) oraz kserożelaz z nadtlaniem wodoru (Rys. 18).



Rys. 17. Widmo FTIR kserożelaz krzemionkowego (otrzymane w takich samych warunkach jak widmo kompozytu).



Rys. 18. Widmo FTIR kompozytu kserożelu krzemionkowego z nadtlenkiem wodoru (50,6% wag. H_2O_2) w zakresie drgań: (a) rozciągających, (b) zginających, (c) szkieletowych i torsyjnych. Górna krzywa opisuje faktyczny skład kompozytu, dolna krzywa reprezentuje ten sam kompozyt po 20 min. naświetlania promieniowaniem podczerwonym.

Zestaw pasm w zakresie drgań rozciągających widoczny przy 2922 i 2853 cm^{-1} został zauważony po raz pierwszy przez McDonalda w widmie stopionej krzemionki [98]. Björnström i współpracownicy zaobserwowali drgania w tym samym zakresie w widmie Ramana żelu krzemionkowego. Przyjęto hipotezę, że woda może wypełniać pory żelu będąc w postaci ciekłej (krople wody wewnątrz porów), lub też występować w postaci cienkiej warstewki zaadsorbowanej na jego powierzchni. Cząsteczki wody zaokludowane wewnątrz porów mogą ulegać przemianie z jednej postaci w drugą, przy czym powstająca cienka warstewka wody dużo silniej przylega do hydrofilowej powierzchni żelu. Konsekwencją tej przemiany jest znaczne przesunięcie drgań rozciągających SiO–H do obserwowanego zakresu 2950 – 2850 cm^{-1} [74].

Na rys. 2 przedstawiono widmo FTIR kserożelu krzemionkowego z nadtlakiem wodoru stanowiącym 50,6% całkowitej masy kompozytu. Górna krzywa odnosi się do pierwszej serii zarejestrowanych skanów i przedstawia stan początkowy kompozytu. Następne pomiary dla tej samej próbki wykonywałem co kolejne 2 minuty. Chociaż badany kompozyt jest stabilny w czasie przechowywania, to w kolejnych rejestrowanych krzywych widmowych obserwowałem coraz mniejszą absorbancję, co odzwierciedla postępującą desorpcję cząsteczek H_2O_2 oraz H_2O . Zjawisko to można tłumaczyć tym, że obecne w badanym układzie wiązania wodorowe pomiędzy cząsteczkami H_2O_2 , a hydrofilową powierzchnią żelu krzemionkowego są wrażliwe na promieniowanie podczerwone. Uwolnione w procesie naświetlania cząsteczki nadtlenu wodoru mogą zderzać się z niezwiązanymi cząsteczkami H_2O_2 lub wody i w oparciu o nowe wiązania wodorowe tworzyć (najprawdopodobniej cykliczne) dimery i oligomery. Nowo utworzone kompleksy, niezwiązane już z powierzchnią żelu, bez przeszkód opuszczają układ, czego dowodem jest zanik szerokiego pasma w widmie kompozytu, widocznego w zakresie 3700 - 3100 cm^{-1} (Rys. 18a). W tym samym czasie, intensywność pasma przy 1630 cm^{-1} (odpowiadającego drganiom zginającym cząsteczki wody) znacznie maleje, podczas gdy pasmo H–O–O przy 1348 cm^{-1} [99] znika zupełnie (Rys. 18b). Równocześnie obserwuje się całkowity zanik pasma z zakresu drgań rozciągających grupy O–O przy 874 cm^{-1} (Rys. 18c), charakterystycznego dla dimerów i oligomerów H_2O_2 [8]. Reasumując, można założyć, że górna krzywa na Rys. 18 opisuje faktyczny skład kompozytu kserożelu krzemionkowego z nadtlakiem wodoru, podczas gdy dolna krzywa reprezentuje kserożel zawierający tylko niewielką ilość H_2O_2 .

W widmie kompozytu, szerokie pasmo zlokalizowane w zakresie drgań rozciągających przy $3700 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ (górną krzywą na Rys. 18a) jest wynikiem nakładania się drgań rozciągających grup O–H:

- (a) w cząsteczkach nadtlenu wodoru (składowa z maksimum przy 3273 cm^{-1});
- (b) w cząsteczkach wody (składowa z maksimum przy 3402 cm^{-1});
- (c) w grupach silanolowych (Si–OH) żelu krzemionkowego, związanych wiązaniami wodorowymi z cząsteczkami H_2O_2 oraz H_2O (szerokie pasmo w zakresie $\sim 3700 - \sim 3200 \text{ cm}^{-1}$) [68, 69].

Brak pasma widmowego w zakresie drgań rozciągających powyżej 3700 cm^{-1} (charakterystycznego dla wolnych grup O–H żelu krzemionkowego) wskazuje na całkowite nasycenie grup siloksanowych kserożelu wiązaniami wodorowymi.

Zestaw pasm w zakresie $2950 - 2800 \text{ cm}^{-1}$ jest wynikiem drgań cząsteczek H_2O_2 (kombinacja nadtonów drgań zginających $\nu_2 + \nu_6$) [100], oraz drgań rozciągających grup O–H cząsteczek H_2O w obrębie hydratu: żel krzemionkowy – woda (pasma z maksimum przy 2918 i 2849 cm^{-1}).

Główne pasmo z zakresu drgań rozciągających (dolna krzywa) ulega znacznemu zmniejszeniu po ustabilizowaniu się układu. Absorbancja obniża się z 44 do 7%, a zakres drgań kurczy do $3700 - 3420 \text{ cm}^{-1}$. Jak już wspomniano, jest to związane z desorpcją nadtlenu wodoru i wody. Jednocześnie największy udział w tym osłabionym paśmie należy do grup O–H żelu krzemionkowego, powiązanych wiązaniami wodorowymi.

Na Rys. 18b widoczne jest pasmo z maksimum przy 1630 cm^{-1} , będące wynikiem drgań zginających cząsteczek wody zarówno w fazie ciekłej wewnątrz porów, jak również związanej wiązaniami wodorowymi z powierzchnią żelu krzemionkowego oraz cząsteczkami H_2O_2 .

Szerokie pasmo z maksimum przy 1348 cm^{-1} to efekt drgań zginających grup H–O–O pochodzących od cząsteczek H_2O_2 . Zarówno jego nieregularny kształt, jak i znaczna szerokość, wskazują na złożoną naturę oddziaływań cząsteczek nadtlenu wodoru z powierzchnią żelu krzemionkowego. Oddziaływanie cząsteczek H_2O_2 z obecnymi w układzie cząsteczkami wody również ma wpływ na kształt omawianego pasma.

Pasma o małej intensywności, widoczne w zakresie $1570 - 1490 \text{ cm}^{-1}$, całkowicie zanikają po 20 minutach naświetlania promieniowaniem podczerwonym. Jednocześnie zanika również pasmo drgań zginających H–O–O przy 1348 cm^{-1} (por. krzywe na Rys. 18b). Na widmie przedstawiającym stan ustabilizowany układu (dolna krzywa na Rys. 18b), poza

pasmem drgań zginających cząsteczki wody, widoczne jest jeszcze pasmo przy 1385 cm^{-1} oraz dublet z maksimum przy 1474 i 1462 cm^{-1} .

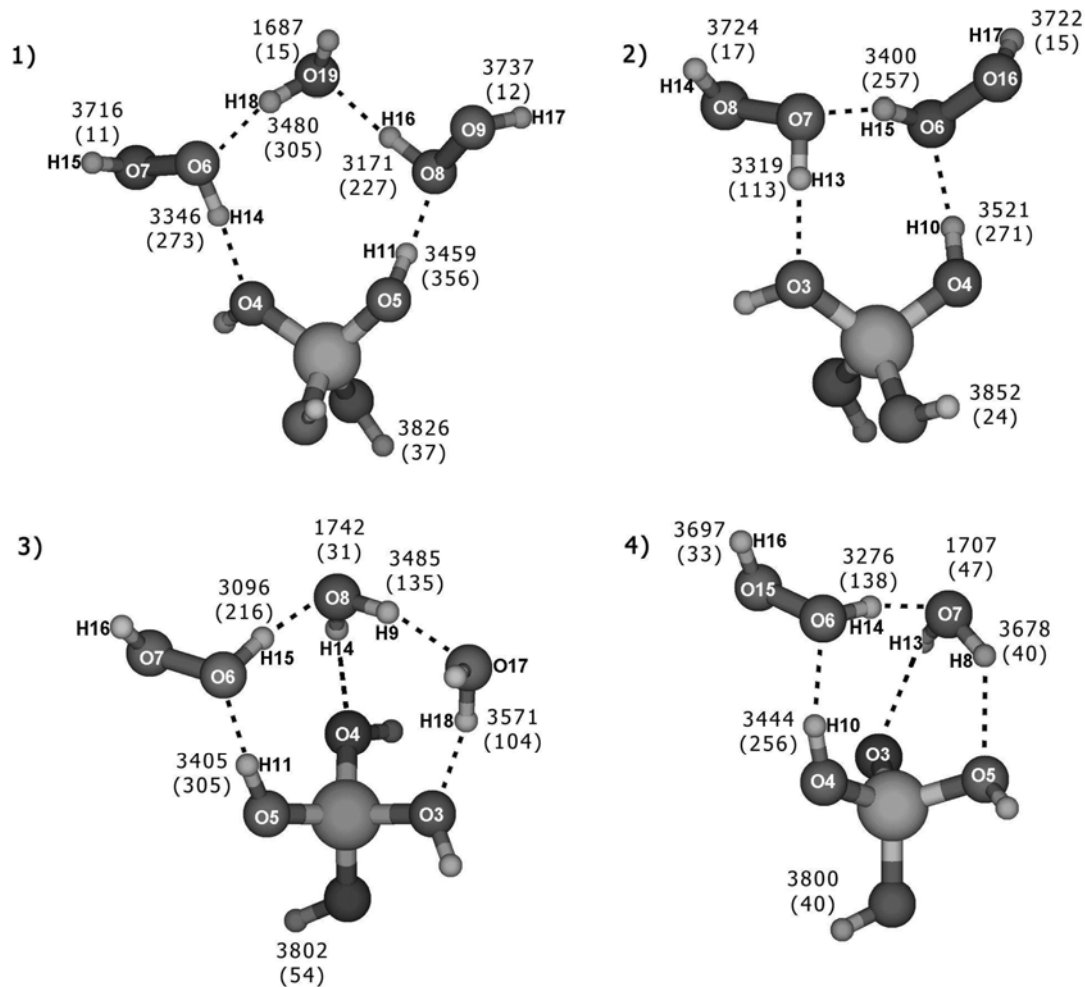
Dominujące w zakresie drgań szkieletowych pasmo przy 460 cm^{-1} stanowi efekt drgań atomu tlenu mostka siloksanowego, prostopadłych do płaszczyzny Si–O–Si [101]. Tak duża intensywność pasma w tym zakresie widmowym (górną krzywą na rys. 2c) wynika z faktu, że poza drganiami szkieletu krzemionkowego oraz jego oddziaływaniem z cząsteczkami H_2O_2 i H_2O , niezależną aktywność absorpcyjną w zakresie $900 - 400\text{ cm}^{-1}$ wykazują również cząsteczki nadtlenu wodoru i wody w fazie ciekłej [102, 103]. Pasma przy 874 cm^{-1} , będące wynikiem drgań rozciągających mostka O–O nadtlenu wodoru, zanika zupełnie w ślad za desorpcją H_2O_2 , natomiast dwa pasma umiejscowione przy 719 i 710 cm^{-1} są obecne także w stanie ustabilizowanym (por. dolną krzywą na Rys. 18c).

IV.3.2. Obliczenia kwantowo-chemiczne

Geometrie klastrów cząsteczek $\text{Si}(\text{OH})_4$, H_2O_2 i H_2O

Całkowicie zoptymalizowane geometrycznie struktury równowagowe klastrów $\text{Si}(\text{OH})_4 \cdots 2\text{H}_2\text{O}_2 \cdots \text{H}_2\text{O}$, $\text{Si}(\text{OH})_4 \cdots 2\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{Si}(\text{OH})_4 \cdots \text{H}_2\text{O}_2 \cdots 2\text{H}_2\text{O}$, oraz $\text{Si}(\text{OH})_4 \cdots \text{H}_2\text{O}_2 \cdots \text{H}_2\text{O}$, będące rzeczywistymi minimami energetycznymi (metoda obliczeniowa B3LYP/6-31++G(d,p)) przedstawiono na Rys. 19, a ich najważniejsze parametry geometryczne zaprezentowano w Tabeli 8.

Dziesięcioczłonowy pierścień utworzony przez molekuly wchodzące w skład struktury **1**, po utracie cząsteczki wody ulega przekształceniu w bardziej naprężony pierścień ośmioczłonowy (struktura **2**). Kąty wiązań wodorowych obecnych w strukturze **1** mieszczą się w zakresie $167,3 - 177,1^\circ$ (blisko optymalnej dla wiązania wodorowego wartości 180°), podczas gdy wiązania wodorowe w strukturze **2** są nieco bardziej naprężone ($161,1 - 170,3^\circ$). Utrata cząsteczki wody powoduje ponadto wydłużenie wiązań wodorowych nadtlenu wodoru związanego z grupami hydroksylowymi kwasu krzemowego z $1,720\text{ \AA}$ w strukturze **1** do $1,741\text{ \AA}$ w strukturze **2** (Si–OH jako akceptor protonu) i odpowiednio z $1,759$ do $1,800\text{ \AA}$ (Si–OH jako donor protonu).



Rys. 19. Zoptymalizowane geometrie klasterów cząsteczek $\text{Si}(\text{OH})_4$, H_2O_2 i H_2O (metoda obliczeniowa B3LYP/6-31++G(d,p)). Przedstawione wartości liczbowe odpowiadają drganiom rozciągającym grup O–H, oraz drganiom zginającym cząsteczek H_2O (ν , cm^{-1}) wraz z ich względnymi intensywnościami (w nawiasach).

Porównanie geometrii wiązań wodorowych w obrębie przedstawionych klasterów może być podstawą do wyjaśnienia zarówno zjawiska desorpcji nadtlenu wodoru, jak i obserwowanego „wysuszenia” układu w czasie rejestrowania widma IR. Najdłuższe, a więc najsłabsze wiązania wodorowe obecne w strukturze **1**, oznaczone jako $\text{O}_6 \cdots \text{H}_{18} - \text{O}_{19}$ oraz $\text{O}_5 - \text{H}_{11} \cdots \text{O}_8$, powinny zostać rozerwane w pierwszej kolejności podczas naświetlania promieniowaniem podczerwonym uwalniając dimer $\text{H}_2\text{O} - \text{H}_2\text{O}_2$. Potwierdzeniem tej hipotezy jest równoczesny zanik pasma wibracyjnego wody oraz nadtlenu wodoru w widmie kompozytu (Rys. 18).

Tabela 8. Parametry geometryczne zoptymalizowanych struktur 1, 2, 3, 4 (metoda obliczeniowa B3LYP/6-31++G(d,p))^a.

Struktura	Długość wiązania O–H ^b	Kąt wiązania O–H···O	Długość wiązania wodorowego	Długość wiązania O–O	Kąt dwuścienny H–O–O–H
1	O ₅ –H ₁₁ : 0.985	O ₅ –H ₁₁ ···O ₈ : 177.1°	H ₁₁ ···O ₈ : 1.759	O ₆ –O ₇ : 1.455	H ₁₄ –O ₆ –O ₇ –H ₁₅
	O ₆ –H ₁₄ : 0.991	O ₆ –H ₁₄ ···O ₄ : 169.5°	H ₁₄ ···O ₄ : 1.720		114.7°
	O ₈ –H ₁₆ : 1.001	O ₈ –H ₁₆ ···O ₁₉ : 170.2°	H ₁₆ ···O ₁₉ : 1.671	O ₈ –O ₉ : 1.457	H ₁₆ –O ₈ –O ₉ –H ₁₇
	O ₁₉ –H ₁₈ : 0.984	O ₁₉ –H ₁₈ ···O ₆ : 167.3°	H ₁₈ ···O ₆ : 1.806		–117.7°
2	O ₄ –H ₁₀ : 0.982	O ₄ –H ₁₀ ···O ₆ : 170.3°	H ₁₀ ···O ₆ : 1.800	O ₆ –O ₁₆ : 1.455	H ₁₅ –O ₆ –O ₁₆ –H ₁₇
	O ₆ –H ₁₅ : 0.990	O ₆ –H ₁₅ ···O ₇ : 161.1°	H ₁₅ ···O ₇ : 1.781		–116.8°
	O ₇ –H ₁₃ : 0.991	O ₇ –H ₁₃ ···O ₃ : 167.3°	H ₁₃ ···O ₃ : 1.741	O ₇ –O ₈ : 1.456	H ₁₃ –O ₇ –O ₈ –H ₁₄
					120.3°
3	O ₅ –H ₁₁ : 0.988	O ₅ –H ₁₁ ···O ₆ : 173.2°	H ₁₁ ···O ₆ : 1.740	O ₆ –O ₇ : 1.454	H ₁₅ –O ₆ –O ₇ –H ₁₆
	O ₆ –H ₁₅ : 1.007	O ₆ –H ₁₅ ···O ₈ : 166.5°	H ₁₅ ···O ₈ : 1.654		–110.6°
	O ₈ –H ₉ : 0.985	O ₈ –H ₉ ···O ₁₇ : 164.4°	H ₉ ···O ₁₇ : 1.823		
	O ₈ –H ₁₄ : 0.974	O ₈ –H ₁₄ ···O ₄ : 150.6°	H ₁₄ ···O ₄ : 2.012		
	O ₁₇ –H ₁₈ : 0.979	O ₁₇ –H ₁₈ ···O ₃ : 164.7°	H ₁₈ ···O ₃ : 1.869		
4	O ₄ –H ₁₀ : 0.983	O ₄ –H ₁₀ ···O ₆ : 165.2°	H ₁₀ ···O ₆ : 1.805	O ₆ –O ₁₅ : 1.455	H ₁₄ –O ₆ –O ₁₅ –H ₁₆
	O ₆ –H ₁₄ : 0.998	O ₆ –H ₁₄ ···O ₇ : 165.4°	H ₁₄ ···O ₇ : 1.725		–113.3°
	O ₇ –H ₈ : 0.974	O ₇ –H ₈ ···O ₅ : 139.2°	H ₈ ···O ₅ : 2.103		
	O ₇ –H ₁₃ : 0.974	O ₇ –H ₁₃ ···O ₃ : 137.8°	H ₁₃ ···O ₃ : 2.109		

^a Długości wiązań w angstromach (Å), ^b grupa O–H włączona w wiązanie wodorowe O–H···O.

W strukturze **2**, najkrótsze wiązanie wodorowe powstaje pomiędzy grupą O–H kwasu krzemowego (akceptor protonu), a cząsteczką H₂O₂ (dł. wiązania wodorowego 1,741 Å, kąt wiązania wodorowego 167,3°). Wiązanie wodorowe pomiędzy dwiema liniowo związanymi cząsteczkami H₂O₂, tworzącymi warstwę solwatacyjną cząsteczki kwasu krzemowego (dł. wiązania wodorowego 1,781 Å, kąt wiązania wodorowego 161,1°), jest krótsze i mniej naprężone w porównaniu do tego w cyklicznym dimerze, (H₂O₂)₂ (1,918 Å i 154,6°) [104].

W strukturze **3**, warstwa solwatacyjna kwasu ortokrzemowego składa się z cząsteczki nadtlenu wodoru liniowo połączonej z dwiema cząsteczkami wody, a całość tworzy dwa połączone pierścienie ośmiocłonowe. Cząsteczka H₂O₂ jest tu silnie związana z grupą O–H kwasu krzemowego (dł. wiązania wodorowego 1,740 Å, kąt wiązania wodorowego 173,2°), natomiast obie cząsteczki wody znacznie słabiej wiążą się (jako donory protonu) z grupami hydroksylowymi kwasu. Podobnie jak ma to miejsce w strukturze **1**, najkrótsze wiązanie wodorowe występuje w układzie HOOH···HOH, w którym cząsteczka wody jest akceptorem

protonu. Pomimo korzystniejszej geometrii w analogicznym wiązaniu wodorowym w strukturze **1**, (oznaczonym jako $O_8-H_{16}\cdots O_{19}$), to właśnie bardziej naprężone wiązanie wodorowe w **3** (oznaczone jako $O_6-H_{15}\cdots O_8$), jest krótsze. Dzieje się tak, ponieważ oba protony w rozważanej cząsteczce wody (struktura **3**) są zaangażowane w tworzenie wiązań wodorowych. W konsekwencji gęstość elektronowa na atomie tlenu (oznaczonym jako O8) jest większa niż na atomie tlenu w cząsteczce wody obecnej w strukturze **1**, gdzie tylko jeden proton jest włączony w wiązanie wodorowe. Opisane zjawisko dodatkowej polaryzacji cząsteczki wody znane jest jako efekt kooperatywny wiązania wodorowego, będący istotnym czynnikiem stabilizującym roztwory wodne [105], czy spiralną strukturę peptydów [106].

Struktura **4** w porównaniu do **3** jest pomniejszona o jedną cząsteczkę wody. Porównanie obu struktur tak jak poprzednio ukazuje osłabienie wiązań wodorowych w układzie pomniejszonym o cząsteczkę wody, co przejawia się wydłużeniem wiązań wodorowych i wzrostem naprężeń pierścieni. W szczególności, obserwuje się znaczne osłabienie oddziaływań: woda – kwas krzemowy.

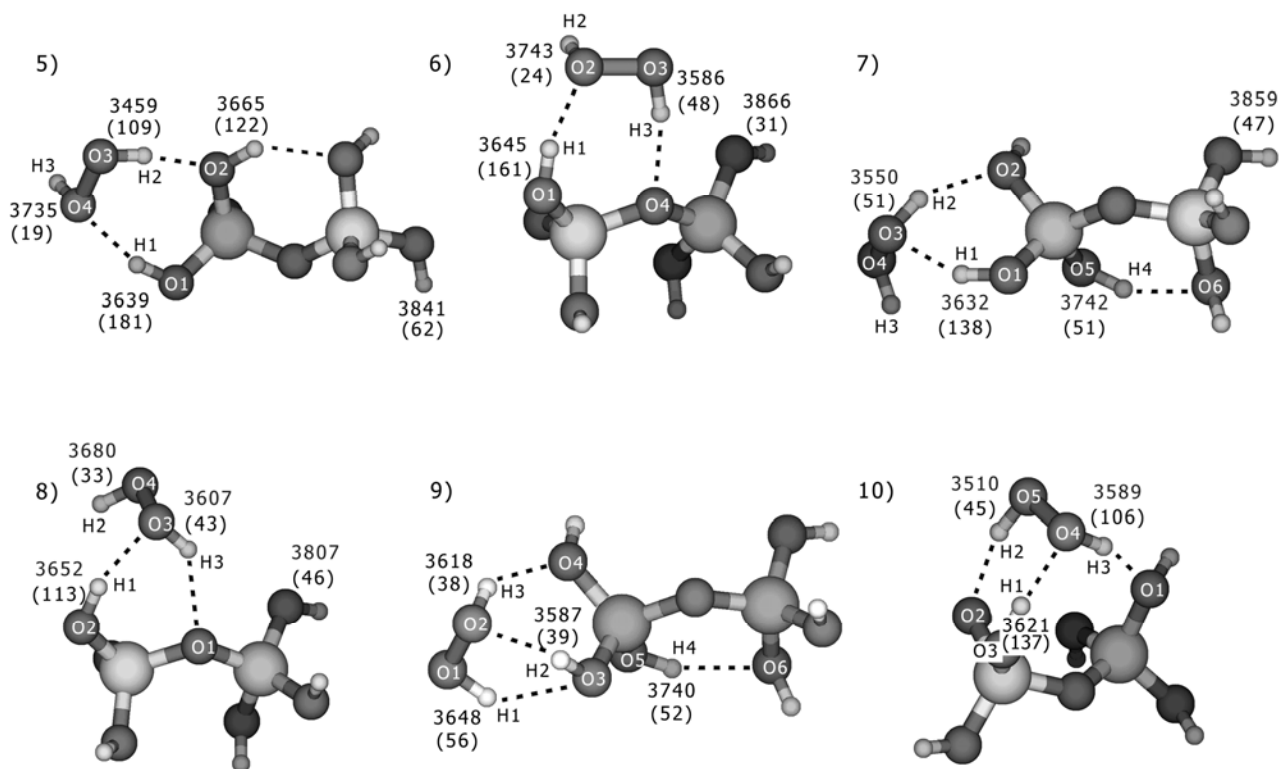
Z porównania układów **1-4** wynika, że nadtlenek wodoru tworzy najsilniejsze wiązania wodorowe jako donator protonu. Z drugiej strony, cząsteczka H_2O_2 silniej wiąże się z grupami hydroksylowymi kwasu krzemowego jako akceptor protonu w porównaniu z cząsteczkami wody będącymi donorami protonu (struktury **3** i **4**).

Geometrie cząsteczek nadtlenu wodoru w strukturach **1-4** ulegają nieznacznej deformacji w porównaniu z izolowaną cząsteczką H_2O_2 . Największe wydłużenie wiązania kowalencyjnego w obrębie grupy O–H nadtlenu wodoru, funkcjonującej jako donator protonu, jest widoczne w strukturze **3** w wiązaniu O_6-H_{15} (dł. wiązania 1,007 Å), podczas gdy długość wiązania O–O pozostaje w tych warunkach prawie niezmienną.

Biorąc pod uwagę fakt, że nadtlenek wodoru jest związkiem chiralnym, możliwe jest rozróżnienie cząsteczki H_2O_2 na enancjomery M (minus) i P (plus) [15]. W układach **1-4**, kąt dwuścienny w cząsteczce zmienia się w zakresie od -110.6° do -117.7° (enancjomery M), oraz od 114.7° do 120.3° (enancjomery P), pozostając nadal w granicach minimum energetycznego dla cząsteczki H_2O_2 [107].

Analiza konformacyjna kompleksu $[(HO)_3SiOSi(OH)_3]\cdots H_2O_2$

Na Rys. 20 przedstawiono sześć całkowicie zoptymalizowanych geometrycznie struktur równowagowych kompleksu (1:1) $[(HO)_3SiOSi(OH)_3]\cdots H_2O_2$, będących rzeczywistymi minimami energetycznymi (metoda obliczeniowa B3LYP/6-31++G(d,p)). Poszczególne



Rys. 20. Zoptymalizowane geometrie kompleksu (1:1) $[(\text{HO})_3\text{SiOSi}(\text{OH})_3]\text{-H}_2\text{O}_2$ (metoda obliczeniowa B3LYP/6-31++G(d,p)). Przedstawione wartości liczbowe odpowiadają drganiom rozciągającym grup O–H (ν , cm^{-1}) wraz z ich względnymi intensywnościami (w nawiasach).

konformacje kompleksu oznaczono jako **5**, **6**, **7**, **8**, **9** i **10**, a najważniejsze parametry geometryczne układów zaprezentowano w Tabeli 9.

Struktury **5** i **6** tworzą pierścienie siedmioczłonowe, gdzie nadtlenek wodoru jest związany z cząsteczką kwasu dikrzemowego dwoma wiązaniami wodorowymi. W strukturze **5** obecne jest również jedno wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe utworzone pomiędzy grupami hydroksylowymi kwasu dikrzemowego. W rezultacie wzrasta gęstość elektronowa na atomie tlenu (oznaczonym jako O2), co z kolei powoduje wzmocnienie wiązania $\text{O}_3\text{-H}_2\cdots\text{O}_2$. W strukturze **6**, w wiązania wodorowe zaangażowane są: grupa hydroksylowa Si–OH, oraz atom tlenu mostka siloksanowego, Si–O–Si. Struktury **7** i **8** składają się z nieco bardziej naprężonych pierścieni sześcioczłonowych, gdzie wiązania wodorowe są udziałem jednej grupy O–H cząsteczki nadtlenu wodoru, podczas gdy druga pozostaje niezwiązana. W **7**, obecne jest też wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe w obrębie struktury kwasu dikrzemowego. Cząsteczki kompleksu w strukturze **9** połączone są ze sobą trzema względnie

słabymi wiązaniami wodorowymi tworząc dwa naprężone pierścienie (pięcio- i sześcioczłonowy). Obecne jest także wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe, podobne do tego w **7**. W strukturze **10**, trzy wiązania wodorowe łączą nadtlenek wodoru z grupami hydroksylowymi kwasu dikrzemowego tworząc pierścień siedmio- oraz ośmioczłonowy.

Tabela 9. Parametry geometryczne zoptymalizowanych struktur **5**, **6**, **7**, **8**, **9**, **10** (metoda obliczeniowa B3LYP/6-31++G(d,p))^a.

Struktura	Długość wiązania O–H ^b	Kąt wiązania O–H ^b –O	Długość wiązania wodorowego	Długość wiązania O–O	Kąt dwuścienny H–O–O–H	Kąt Si–O–Si
5	O ₁ –H ₁ : 0.976	O ₁ –H ₁ –O ₄ : 159.3°	H ₁ –O ₄ : 1.887	1.452	–102.7°	132.1°
	O ₃ –H ₂ : 0.985	O ₃ –H ₂ –O ₂ : 166.2°	H ₂ –O ₂ : 1.820			
6	O ₁ –H ₁ : 0.976	O ₁ –H ₁ –O ₂ : 159.9°	H ₁ –O ₂ : 1.872	1.452	–102.5°	127.0°
	O ₃ –H ₃ : 0.979	O ₃ –H ₃ –O ₄ : 167.6°	H ₃ –O ₄ : 1.985			
7	O ₁ –H ₁ : 0.973	O ₁ –H ₁ –O ₃ : 148.7°	H ₁ –O ₃ : 1.996	1.456	119.9°	132.2°
	O ₃ –H ₂ : 0.982	O ₃ –H ₂ –O ₂ : 149.5°	H ₂ –O ₂ : 1.900			
	O ₅ –H ₄ : 0.970	O ₅ –H ₄ –O ₆ : 141.3°	H ₄ –O ₆ : 2.138			
8	O ₂ –H ₁ : 0.975	O ₂ –H ₁ –O ₃ : 151.2°	H ₁ –O ₃ : 1.912	1.453	104.5°	126.0°
	O ₃ –H ₃ : 0.977	O ₃ –H ₃ –O ₁ : 135.8°	H ₃ –O ₁ : 2.138			
9	O ₁ –H ₁ : 0.976	O ₁ –H ₁ –O ₃ : 129.8°	H ₁ –O ₃ : 2.231	1.455	93.7°	133.7°
	O ₃ –H ₂ : 0.976	O ₃ –H ₂ –O ₂ : 136.9°	H ₂ –O ₂ : 1.936			
	O ₂ –H ₃ : 0.979	O ₂ –H ₃ –O ₄ : 138.7°	H ₃ –O ₄ : 2.021			
	O ₅ –H ₄ : 0.969	O ₅ –H ₄ –O ₆ : 143.7°	H ₄ –O ₆ : 2.092			
10	O ₃ –H ₁ : 0.978	O ₃ –H ₁ –O ₄ : 152.0°	H ₁ –O ₄ : 1.905	1.454	92.1°	131.8°
	O ₅ –H ₂ : 0.982	O ₅ –H ₂ –O ₂ : 159.8°	H ₂ –O ₂ : 1.905			
	O ₄ –H ₃ : 0.980	O ₄ –H ₃ –O ₁ : 158.4°	H ₃ –O ₁ : 1.918			

^a Długości wiązań w angstrmach (Å), ^b grupa O–H włączona w wiązanie wodorowe O–H^b–O.

Kąt dwuścienny w cząsteczce H₂O₂, włączonej w struktury **5-10** odbiega od wyznaczonego eksperymentalnie dla nadtlenu wodoru w fazie gazowej (111.8°) [9]. Największe naprężenie cząsteczki ma miejsce w strukturach **9** i **10** (odpowiednio 93,7° i 92,1°), podczas gdy najbliższa wartości eksperymentalnej jest geometria cząsteczki H₂O₂ w układach **7** i **8**, gdzie kąt dwuścienny ma wartość odpowiednio 119,9° i 104,5°.

Energia stabilizacji składników kompleksu [(HO)₃SiOSi(OH)₃]⋯H₂O₂

W Tabeli 10 przedstawiono wartości energii stabilizacji (tzn. zysk energetyczny układu wynikający ze zbliżenia molekuł i utworzenia wiązań wodorowych) w kompleksie: kwas dikrzemowy – nadtlenek wodoru. Zaprezentowane wartości ΔE stanowią różnicę pomiędzy energią kompleksu a sumą energii jego składników. Energie obliczono dla struktur **5–10** stosując metody: HF, B3LYP oraz MP2, na bazie funkcyjnej 6-31++G(d,p). Obliczeń dokonano dla układów całkowicie zoptymalizowanych na poszczególnych poziomach teorii.

Tabela 10. Energia stabilizacji składników kompleksu (1:1) [(HO)₃SiOSi(OH)₃] – H₂O₂ obliczona metodami HF, B3LYP oraz MP2 dla bazy funkcyjnej 6-31++G(d,p)

Struktura	ΔE^a (kcal/mol)	ΔE_{BSSE}^b (kcal/mol)	BSSE ^c (%)	ΔE (kcal/mol)	ΔE_{BSSE} (kcal/mol)	BSSE (%)	ΔE (kcal/mol)	ΔE_{BSSE} (kcal/mol)	BSSE (%)
	HF/6-31++G(d,p)			B3LYP/6-31++G(d,p)			MP2/6-31++G(d,p)		
5	-8,26	-8,24	0,26	-10,15	-10,12	0,25	-14,59	-14,56	0,24
6	-6,07	-6,05	0,36	-7,94	-7,91	0,32	-12,84	-12,80	0,27
7	-4,05	-4,02	0,54	-6,11	-6,09	0,42	-9,46	-9,42	0,36
8	-3,51	-3,49	0,62	-5,45	-5,43	0,47	-9,72	-9,68	0,35
9	-4,50	-4,48	0,49	-6,63	-6,61	0,39	-10,77	-10,74	0,32
10	-9,55	-9,53	0,23	-12,50	-12,47	0,20	-18,72	-18,69	0,18

^a Wartości energii bez uwzględnienia błędu superpozycji bazy (ang. *basis set superposition error*, BSSE), ^b wartości energii z korekcją BSSE, ^c (%) BSSE.

Zgodnie z przedstawionymi w tabeli 3 wartościami energii, stabilność sześciu analizowanych konformacji kompleksu maleje w następującym porządku: **10** > **5** > **6** > **9** > **7** > **8** niezależnie od zastosowanej metody obliczeniowej. Struktura **10** zawdzięcza swą największą stabilność obecności pomiędzy oddziaływującymi molekułami trzech względnie silnych wiązań wodorowych. Dzieliąc wartość energii oddziaływań przez liczbę międzycząsteczkowych wiązań wodorowych, najwyższą średnią energię dla pojedynczego wiązania uzyskano dla struktury **5** ($\Delta E = 7,3$ kcal/mol; metoda MP2/6-31++G(d,p)). Przedstawiony powyżej porządek stabilności układów **5–10** łatwo zrozumieć biorąc pod uwagę fakt, że struktury **5** i **6** to mniej naprężone pierścienie siedmioczłonowe w porównaniu z sześcioczłonowymi strukturami **7** i **8**. W rozpatrywanych strukturach, dla takiej samej wielkości pierścienia, słabsze oddziaływania występują w układach w których jedno wiązanie wodorowe jest formowane z udziałem atomu tlenu mostka Si–O–Si. Jakkolwiek, czynnikiem przeważającym przy tworzeniu bardziej stabilnego kompleksu jest wielkość pierścienia, co

ilustruje wyższa wartość energii stabilizacji w **6** w porównaniu do **7**. Porównując układy o najwyższej energii (struktury **5** i **10**) można oczekiwać, że w sieci żelu krzemionkowego dominować będą dwie tendencje: do maksymalizowania liczby wiązań wodorowych oraz minimalizowania naprężeń układu.

Porównanie liczb falowych obliczonych dla modelowych asocjatów z widmem eksperymentalnym

Widma wibracyjne dla struktur **1–10** obliczono metodą B3LYP DFT dla układu będącego w idealizowanej fazie gazowej (bez uwzględnienia efektów anharmoniczności, nadtonów, czy przejść kombinacyjnych).

Najbardziej interesujące drgania rozciągające grup O–H w modelowych asocjatach pokazano na Rys. 19 i 20. Na Rys. 19, zaprezentowano również wartości drgań zginających cząsteczek wody tworzących warstwę solwatacyjną kwasu krzemowego.

Większość obliczonych wartości drgań rozciągających grup O–H w cząsteczkach tworzących modelowe klastery pokrywa się z widmem eksperymentalnym. Niemniej jednak, w widmie teoretycznym obecne są również częstości powyżej 3700 cm^{-1} (wartość graniczna dla eksperymentu), generowane przez zewnętrzne grupy O–H nadtlenku wodoru i kwasu krzemowego. Wynika to z faktu, że obliczone drgania odnoszą się do izolowanych klaserów, nie oddziałujących z otoczeniem. Z tego względu, częstości obliczone dla wolnych, zewnętrznych grup O–H są wyższe od wartości eksperymentalnych.

Z porównania górnej krzywej w widmie IR (rys. 18a) z obliczonymi częstościami (Rys. 19 i 20) wynika, że dominującą rolę we współtworzeniu pasma w rozpatrywanym zakresie widmowym odgrywają grupy O–H nadtlenku wodoru związane jednocześnie z grupą hydroksylową kwasu krzemowego i cząsteczki wody (struktury **1**, **3** i **4**). Jest również prawdopodobne, że cząsteczki nadtlenku wodoru będą adsorbowane na żelu krzemionkowym liniowo, bez udziału cząsteczki wody w warstwie solwatacyjnej (struktura **2**).

Podobne porównanie dla dolnej krzywej w zakresie $3700 - 3420\text{ cm}^{-1}$ pozwala wysnuć wniosek, że poza przeważającym udziałem drgań żelu krzemionkowego, prawdopodobnie wkład w powstanie tego pasma mają również izolowane cząsteczki nadtlenku wodoru związane z matrycą kserożelu (struktury **5–10**).

Wartości drgań zginających, obliczone dla cząsteczek H_2O włączonych w warstwę solwatacyjną kwasu krzemowego, są przesunięte w stronę wyższych liczb falowych w porównaniu do dobrze znanego pasma przy 1630 cm^{-1} (charakterystycznego dla wody w fazie

ciekłej), w strukturach **1**, **4** i **3** usytuowane odpowiednio przy 1687, 1707 i 1742 cm^{-1} . W widmie eksperymentalnym (Rys. 18b), lewe ramię głównego pasma wody z maksimum przy 1630 cm^{-1} złożone jest z kilku mniejszych pasm, które najprawdopodobniej odpowiadają przedstawionym powyżej drganiom zginającym silnie związanej wiązaniami wodorowymi cząsteczki wody. Wartości drgań zginających cząsteczek H_2O_2 włączonych w wiązania wodorowe w strukturach **1-10** przedstawiono w Tabeli 11.

Tabela 11. Liczby falowe (ν , cm^{-1}) nadtlenu wodoru w strukturach 1–10 w zakresie drgań zginających (metoda obliczeniowa B3LYP/6-31++G(d,p)). Względne intensywności drgań przedstawiono w nawiasach.

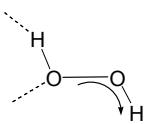
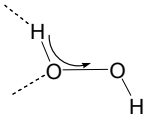
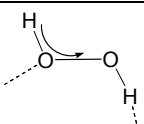
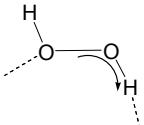
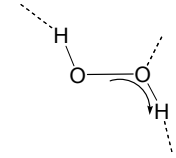
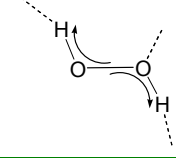
Typ wiązania wodorowego H_2O_2^a	ν (I)	Struktura
	1372 (39)	1
	1373 (12)	
	1365 (48)	2
	1373 (39)	
	1378 (19)	3
	1385 (19)	4
	1357 (25)	7
	1378 (26)	8
	1560 (6)	1
	1603 (5)	
	1519 (9)	2
	1557 (6)	
	1573 (15)	3
	1568 (7)	4
	1519 (2)	7
	1343 (17)	5
	1353 (18)	6
	1553 (12)	5
	1504 (7)	6
	1517 (11)	9

Tabela 11. c.d.

	1446 (15)	10
	1430 (12) 1475 (3)	9

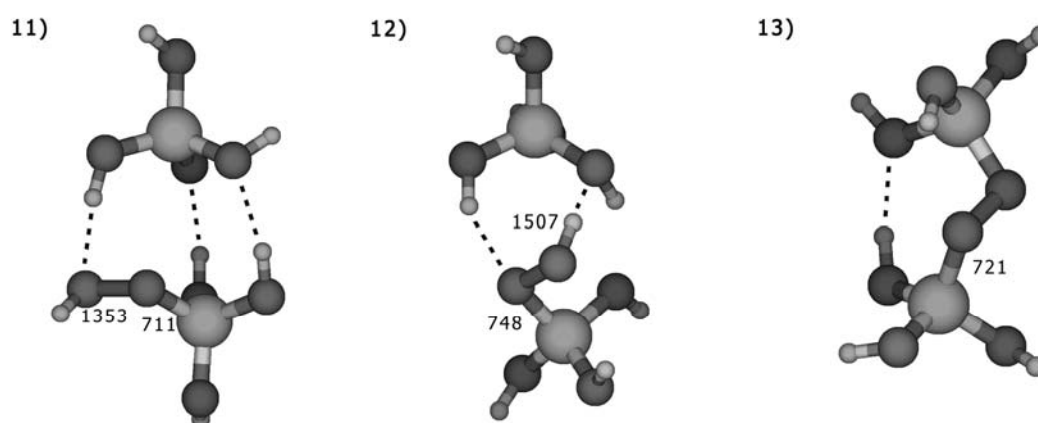
^a Strzałka pokazuje który fragment H–O–O cząsteczki nadtlenu wodoru ulega drganiu zginającemu przy danej częstotliwości.

Porównanie górnej krzywej na Rys. 18b z obliczonymi drganiami zginającymi nadtlenu wodoru prowadzi do wniosku, że zestaw pasm w zakresie 1570-1490 cm^{-1} jest wynikiem drgań zginających grupy H–O–O, której atom wodoru bierze udział w tworzeniu wiązania wodorowego. Cząsteczka H_2O_2 może absorbować promieniowanie podczerwone również przy niższych liczbach falowych (drgania zginające z maksimum przy 1385 i 1343 cm^{-1}), gdy proton grupy H–O–O nie uczestniczy w tworzeniu wiązania wodorowego.

Zarówno kształt, jak i rozmiary dolnej krzywej w rozważanym zakresie drgań zginających wskazują, że w wyniku naświetlania większość zaadsorbowanych indywiduów opuściło matrycę kserożelu. Pasma zginające wody (1630 cm^{-1}) staje się wąskie, wskazując na brak silnych oddziaływań pomiędzy nadtlentkiem wodoru i wodą podobnych do przedstawionych w strukturach **1**, **3** i **4**. Ustalenie to jest zgodne z rozważaniami dotyczącymi pochodzenia grup hydroksylowych w zakresie drgań rozciągających.

Warto zauważyć, że chociaż większość pasm w zakresie drgań zginających H_2O_2 całkowicie znika po 20 minutach naświetlania, nadal jednak pozostaje dublet usytuowany przy 1474 i 1462 cm^{-1} oraz pasmo przy 1385 cm^{-1} . Najbliżej eksperymentalnego dubletu są teoretycznie obliczone częstotliwości drgań dla cząsteczki H_2O_2 związanej trzema wiązaniami wodorowymi z grupami hydroksylowymi kwasu dikrzemowego - struktura **9** (1430 i 1475 cm^{-1}) oraz **10** (1446 cm^{-1}). W tym przypadku oba protony w cząsteczce H_2O_2 włączone są w wiązania wodorowe. Biorąc pod uwagę fakt, że w eksperymentalnym widmie pozostaje również pasmo przy 1385 cm^{-1} oraz dublet przy 710 i 719 cm^{-1} (prawdopodobnie związany z drganiami szkieletowymi klastrów cząsteczek H_2O_2), należy przypuszczać, że w sieci kserożelu (poza wiązaniami wodorowymi) możliwa jest dodatkowa stabilizacja układu polegająca na zamykaniu cząsteczek H_2O_2 w porach żelu. W takim przypadku nawet słabo

związane cząsteczki nadtlenu wodoru o naprężonej (niekorzystnej energetycznie) geometrii nie są w stanie opuścić matrycy kserożelu. Biorąc jednak pod uwagę wyjątkowo duże stężenie nadtlenu wodoru w badanym kompozycie oraz doniesienie literaturowe o prawdopodobnym istnieniu w strukturze krzemionki defektu w postaci mostka peroksokrzemowego (Si–O–O–Si) [108], postanowiłem wygenerować modele kwasu peroksokrzemowego i perokso-dikrzemowego (Rys. 21), a następnie dokonać porównania obliczonych liczb falowych z widmem eksperymentalnym.



Rys. 21. Zoptymalizowane geometrie (metoda B3LYP/6-31++G(d,p)) cząsteczki kwasu peroksokrzemowego skompleksowanego z cząsteczką Si(OH)₄ (struktury **11** i **12**) oraz cząsteczki kwasu perokso-dikrzemowego (struktura **13**). Przedstawione wartości liczbowe odpowiadają drganiom rozciągającym Si–O ugrupowania Si–O–O oraz drganiom zginającym grupy H–O–O (ν , cm⁻¹).

Obliczone dla struktur **11**, **12** i **13** liczby falowe odpowiednio przy 711, 748 i 721 cm⁻¹ odpowiadają drganiom rozciągającym wiązania Si–O grupy Si–O–O. Liczby falowe przy 711 i 721 cm⁻¹ są niemal identyczne z wyznaczonymi eksperymentalnie wartościami drgań przy 710 i 719 cm⁻¹ (dolna krzywa na Rys. 18c). Jednak ze względu na uproszczenie modelowe oraz istnienie wspomnianej wcześniej konkurencyjnej hipotezy na temat genezy omawianych drgań, należy ostrożnie podchodzić do przedstawionej korelacji teorii z eksperymentem. Przedstawione wyniki mogą być jednak zachętą do dalszych studiów nad omawianym zagadnieniem.

V. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Nadtlenek wodoru został zainkorporowany w matrycy kserożelu krzemionkowego metodą zol-żel w zakresie stężeń 3,8 – 68,0% H_2O_2 .

Zarówno wyniki badań stabilności termicznej (DSC), jak również testy trwałości w czasie przechowywania wykazały, że woda obecna w kompozycie stabilizuje cząsteczki H_2O_2 zaadsorbowane na powierzchni żelu krzemionkowego.

Określona została szybkość uwalniania nadtlenku wodoru z kompozytu do roztworu wodnego. W większości przypadków 90% H_2O_2 opuszczało matrycę kserożelu po około 10 minutach (temperatura badania 25°C), a proces ten tylko w niewielkim stopniu zależał od stężenia nadtlenku wodoru i wielkości cząstek kompozytu.

Z porównania wielkości stref zahamowania wzrostu bakterii w obecności roztworu H_2O_2 i badanego kompozytu wynika, że w wilgotnym podłożu nadtlenek wodoru swobodnie dyfunduje z matrycy kserożelu zachowując swoją aktywność bakteriobójczą.

Przeprowadzone testy trwałości pokazują, że w analizowanych kompozytach zawierających początkowo 3,8, 26,4 i 68,0% H_2O_2 , po 63 dniach przechowywania w temperaturze 3°C zawartość nadtlenku wodoru zmniejszyła się odpowiednio o 8,8, 9,7 i 6,2%.

Widmo FTIR kompozytu kserożelu krzemionkowego i nadtlenku wodoru w zakresie $1570 - 1490 \text{ cm}^{-1}$ prezentuje szereg pasm absorpcyjnych o małej intensywności oraz szerokie pasmo o nieregularnym kształcie i dużej intensywności z maksimum przy 1348 cm^{-1} . Pomędzy nimi widoczny jest dublet usytuowany przy 1474 i 1462 cm^{-1} . Wszystkie te pasma należy przypisać drganiom zginającym ugrupowań H-O-O nadtlenku wodoru związanego wiązaniami wodorowymi z powierzchnią żelu krzemionkowego, jak również z cząsteczkami H_2O_2 i H_2O włączonymi w wiązania wodorowe w warstwie solwatacyjnej żelu oraz z ich aglomeratami wewnątrz porów.

Po szczegółowej analizie sześciu zoptymalizowanych struktur konformacyjnych modelowego układu $[(\text{HO})_3\text{SiOSi}(\text{OH})_3]-\text{H}_2\text{O}_2$ można przyjąć, że zaobserwowana w widmie kompozytu absorbanca w zakresie $1570 - 1490 \text{ cm}^{-1}$ pochodzi od cząsteczki H_2O_2 zaangażowanej w dwa wiązania wodorowe, z których jedno musi być utworzone przy udziale atomu wodoru grupy H-O-O . Gdy proton grupy H-O-O nie jest włączony w wiązanie wodorowe, wówczas cząsteczka H_2O_2 absorbuje promieniowanie IR przy niższych wartościach liczb falowych (drgania zginające w zakresie od 1385 do 1343 cm^{-1}). Najbliższe eksperymentalnym liczbom falowym przy 1474 i 1462 cm^{-1} są obliczone wartości drgań:

1430, 1475 i 1446 cm^{-1} , gdzie oba protony cząsteczki H_2O_2 są zaangażowane w utworzenie wiązań wodorowych.

W oparciu o zaproponowane modele, podjąłem próbę wyjaśnienia roli wody w stabilizowaniu nadtlenu wodoru na powierzchni żelu krzemionkowego. Obecność w warstwie solwatacyjnej kwasu ortokrzemowego cząsteczki H_2O silnie związanej z molekułą H_2O_2 pozwala na utworzenie klasteru o korzystniejszej energetycznie geometrii (tzn. mniej naprężonego pierścienia). W ten sposób następuje wzmocnienie wszystkich wiązań wodorowych, także tych wiążących nadtlenek wodoru z żelem krzemionkowym.

Wiadomo, że za właściwości adsorpcyjne żelu krzemionkowego odpowiedzialne są grupy hydroksylowe związane z atomem krzemu, Si-OH . Ze względu na specyficzną geometrię oraz możliwość rotacji wokół wiązania O-O , nadtlenek wodoru może także tworzyć względnie silne wiązanie wodorowe z atomem tlenu mostka siloksanowego, Si-O-Si , kwasu dikrzemowego (struktura **6**). Dodatkowym potwierdzeniem trwałości takiego układu jest jego wysoka energia stabilizacji ($\Delta E = -12,80$ kcal/mol wg metody MP2/6-31++G(d,p)).

Przedstawione rezultaty pokazują, że pomimo zastosowania uproszczonych modeli żelu krzemionkowego, obliczenia kwantowo-chemiczne mogą stanowić istotne wsparcie dla interpretacji eksperymentalnych widm IR kompleksów adsorpcyjnych tego polimeru.

VI. SUMMARY

Hydrogen peroxide was incorporated into silica xerogel matrix over the concentration range from 3.8 to 68.0 wt % *via* the sol-gel route. The obtained composites were characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM) and Differential Scanning Calorimetry (DSC). The release rates of H₂O₂ from the composites into the aqueous phase were examined. In most cases, a 90% release was attained after *ca.* 10 min., and it was only slightly dependent on H₂O₂ concentration and particle size. The antimicrobial activity of the composite containing 3.59% H₂O₂ was evaluated against *Escherichia coli* and *Micrococcus luteus*. A comparative assay was carried out for aqueous solution of H₂O₂ of the same concentration. The results demonstrated a potent microbicidal efficacy of the composite. Furthermore, diffusion range of the hydrogen peroxide from the solid composite into an agar medium matched that of the H₂O₂ in aqueous solution. The stability tests with the xerogels containing 3.8, 26.4, and 68.0% of H₂O₂ showed that after 63 days respective losses of the H₂O₂ at 3°C were 8.8, 9.7, and 6.2%. Both the DSC results and the stability tests have shown that the molecular water present in the pores stabilizes the composite, probably through improving the binding of the H₂O₂ molecules onto the silica surface.

By studying the FTIR spectrum of silica xerogel/hydrogen peroxide composite in the bending region, the low intensity set of bands in the range 1570 – 1490 cm⁻¹ and the high intensity, broad and irregularly shaped band with a maximum at 1348 cm⁻¹ were detected. Between them there is a doublet peaked at 1474 and 1462 cm⁻¹. All those bands have been assigned to bending vibrations of H–O–O functions of hydrogen peroxide H-bonded to silica surface as well as to molecules of H₂O₂ and H₂O involved in hydrogen bonding both in solvation shell of silica and as agglomerates inside the pores.

A detailed inspection of fully B3LYP optimized structures of the [(HO)₃SiOSi(OH)₃]–H₂O₂ system has shown that the absorbance in the 1570 – 1490 cm⁻¹ region comes from H₂O₂ molecule involved in two H-bonds of which one has to be formed with contribution of hydrogen atom of bending H–O–O function. When a proton from the bending H–O–O function is not involved in hydrogen bonding, then H₂O₂ molecule can absorb IR radiation at lower wavenumbers (bending modes from 1385 to 1343 cm⁻¹). Close to experimental vibrational frequencies at 1474 and 1462 cm⁻¹ are computed modes at 1430, 1475 and 1446 cm⁻¹ where three H-bonds exist within one H₂O₂ molecule.

Based on the proposed models, the role of water in stabilizing of hydrogen peroxide adsorbed on the silica surface has been explained. The presence of H₂O molecule, strongly linked to H₂O₂ in the solvation shell of monosilicic acid, improves cluster geometry by forming a less strained ring, thus reinforcing all hydrogen bonds, also those binding hydrogen peroxide with silica.

There is general agreement that hydroxyl functions, Si–OH, are responsible for adsorption properties of silica. I found that owing to its favourable geometry, besides binding to those groups, hydrogen peroxide may form relatively strong hydrogen bond to oxygen of a siloxane bridge, Si–O–Si, of disilicic acid constituting a seven-membered ring cluster. The stability of such structure is supported by the computed fairly high interaction energy ($\Delta E = -12.80$ kcal/mol at MP2/6-31++G(d,p)).

BSE corrected interaction energies calculated at HF, DFT/B3LYP and MP2 level of theory show similar trend. The highest interaction energy (a global minimum, $\Delta E = -18.69$ kcal/mol at MP2/6-31++G(d,p)) has been computed for a structure where three hydrogen bonds bound hydrogen peroxide with hydroxyls of disilicic acid to form seven- and eight-membered rings.

Vibrational analysis of the models of peroxomonosilicic acid and peroxo-bridged disilicic acid suggests, that the new experimental bands at 719 and 710 cm⁻¹ might be generated by fundamental stretching vibrations of the Si–O bond of the Si–O–O moiety. However, obtaining a direct evidence of the existence for such peroxo- function in the silica gel, needs further study.

VII. PIŚMIENICTWO

- [1] M. Yu. Volkov, *Combust. Expl. Shock Waves*, **35** (1999) 462.
- [2] A. McKillop, W.R. Sanderson, *Tetrahedron*, **51** (1995) 6145.
- [3] H.E. Strassler, W. Scherer, J.R. Calamia, *N.Y. State Dent. J.*, **58** (1992) 30.
- [4] R.S. Varma, K.P. Naicker, *Org. Lett.*, **1** (1999) 189.
- [5] J. Żegliński, *Ann. Acad. Med. Gedan.*, **34** (2004) 347.
- [6] S.C. Sweetman, *Martindale: The Complete Drug Reference*, Pharmaceutical Press, London, 2005.
- [7] H. Heaney, *Aldrichimica Acta*, **26** (1993) 35.
- [8] M. Pettersson, S. Tuominen, M. Räsänen, *J. Phys. Chem. A*, **101** (1997) 1166.
- [9] J. Koput, *J. Mol. Spectrosc.*, **115** (1986) 438.
- [10] M. Elango, R. Parthasarathi, V. Subramanian, C.N. Ramahandran, N. Sathyamurthy, *J. Phys. Chem. A*, **110** (2006) 6294.
- [11] S.A. Kulkarni, L.J. Bartolotti, R.K. Pathak, *Chem. Phys. Lett.*, **372** (2003) 620.
- [12] A. Engdahl, B. Nelander, G. Karlström, *J. Phys. Chem. A*, **105** (2001) 8393.
- [13] J.A. Dobado, J. Molina, D. Portal, *J. Phys. Chem. A*, **102** (1998) 778.
- [14] J.M. Molina, J. A. Dobado, M.C. Daza, J.L. Villaveces, *J. Mol. Struct.–Theochem*, **580** (2002) 117.
- [15] Y. Shi, Z. Zhou, *J. Mol. Struct.–Theochem*, **674** (2004) 113.
- [16] Z. Zhou, H. Zhang, Y. Shi, *J. Phys. Chem. A*, **108** (2004) 6520.
- [17] J. Lundell, S. Pehkonen, M. Pettersson, M. Räsänen, *Chem. Phys. Lett.*, **286** (1998) 382.
- [18] A. Engdahl, B. Nelander, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2** (2000) 3967.
- [19] J.R. Goebel, B.S. Ault, J.E. Del Bene, *J. Phys. Chem. A*, **105** (2001) 6430.
- [20] J. Lundell, S. Jolkkonen, L. Khriachtchev, M. Petterson, M. Räsänen, *Chem. Eur. J.*, **7** (2001) 1670.
- [21] A. Engdahl, B. Nelander, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **6** (2004) 730.
- [22] C.W. Jones, *Applications of Hydrogen Peroxide and Derivatives*, RSC, UK, 1999.
- [23] M. Łukasiewicz, J. Pielichowski, *Przem. Chem.*, **81** (2002) 509.
- [24] W.C. Schumb, C.N. Satterfield, R.L. Wentworth, *Hydrogen Peroxide*, ACS Monograph, Reinhold Publishing, New York, 1955.
- [25] K.T. Miyasaki, R.J. Genco, M.E. Wilson, *J. Dent. Res.*, **65** (1986) 1142.
- [26] K.E. Stevenson, B.D. Shafer, *Food Technol.*, **37** (1983) 111.
- [27] D. Steinberg, I. Heling, I. Daniel, I. Ginsburg, *J. Oral Rehabil.* **26** (1999) 151.

- [28] K. Anzai, O. Kunitaka, Y. Goto, H. Yamamoto, T. Ozawa, *Antioxid. Redox Signal.*, **1** (1999) 339.
- [29] M.V. Marshall, L.P. Cancro, S.L. Fischman, *J. Periodontol.*, **66** (1995) 786.
- [30] N. Prilezhaev, *Chem. Ber.*, **42** (1909) 4811.
- [31] C. Venturello, *J. Mol. Catal.*, **32** (1983) 107.
- [32] K. Sato, M. Aoki, S. Ogawa, M. Hashimoto, R. Noyori, *J. Org. Chem.*, **61** (1996) 8310.
- [33] K. Vassilev, R. Stamenova, Ch. Tsvetanov, *React. Func. Polym.* **46** (2000) 165.
- [34] L. Arias, S. Adkins, Ch. Nagel, R. Bach, *J. Org. Chem.*, **48** (1983) 888.
- [35] C. Djerassi, R. Engle, *J. Am. Chem. Soc.*, **75** (1953) 3838.
- [36] P. Lubbecke, P. Boldt, *Angew. Chem.*, **88** (1976) 641.
- [37] A. Leulier, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **47** (1930) 730.
- [38] D.L. Sedlak, A.W. Andern, *Environ. Sci. Technol.*, **25** (1991) 777.
- [39] G. Rupert, R. Bauer, GJ. Heisler, *Photochem. Photobiol. A. Chem.*, **73** (1993) 75.
- [40] O. Legrini, E. Oliveeros, A.M. Braun, *Chem. Rev.*, **93** (1993) 671.
- [41] K. Hatakeda, Y. Ikushima, S. Ito, N. Saito, O. Sato, *Chem. Lett.*, **26** (1997) 245.
- [42] K. Hatakeda, Y. Ikushima, O. Sato, T. Aizawa, N. Saito, *Chem. Eng. Sci.*, **54** (1999) 3079.
- [43] F. Cadena, R.W. Peters, *Journal WPCF*, **60** (1988) 367.
- [44] M.P. Davidson, A.L. Branen, *Antimicrobials in Foods*, 2nd ed. Marcel Dekker, Inc., New York, 1993.
- [45] H.S. Lillard, J.E. Thomson, *J. Food Sci.*, **48** (1983) 125.
- [46] M.G.C. Baldry, *J. Appl. Bacteriol.*, **54** (1983) 417.
- [47] N.A. Klapes, D. Vesley, *Appl. Environ. Microbiol.*, **56** (1990) 503.
- [48] C.F. Forney, R.E. Rij, R. Denis-Arrue, J.L. Smilanick, *HortSci.*, **26** (1991) 1512.
- [49] A. Ito, H. Watanabe, M. Naito, Y. Naito, *Gann.*, **72** (1981) 174.
- [50] T. Takayama, S. Takizawa, *Carcinogenicity Study of Hydrogen Peroxide in Rats*, Annual Report of Cancer Research, Ministry of Health and Welfare, Japan 1980.
- [51] Y. Kurokawa, *Cancer Lett.*, **24** (1984) 299.
- [52] J. Żegliński, dane nieopublikowane.
- [53] T. Coradin, J. Allouche, M. Boissière, J. Livage, *Curr. Nanosci.*, **2** (2006) 219.
- [54] , J.D. Rimer, J.M. Fedeyko, D.G. Vlachos, R.F. Lobo, *Chem. Eur. J.*, **12** (2006) 2926.
- [55] U. Daiminger, W. Lind, M. Mitariten, *Hydrocarbon Eng.*, **11** (2006) 83.
- [56] M. Mueller, *Fundamentals of Quantum Chemistry*, Kluwer Academic Publishers, New York, 2002.

- [57] J.D. Kubicki, S.E. Apitz, G.A. Blake, *Phys. Chem. Minerals*, **22** (1995) 481.
- [58] J.C.G. Pereira, C.R.A. Catlow, G.D. Price, *J. Phys. Chem. A*, **103** (1999) 3252.
- [59] B. J. Teppen, D.M. Miller, S.Q. Newton, L. Schäfer, *J. Phys. Chem.*, **98** (1994) 12545.
- [60] J.K. West, L.L. Hench, B. Zhu, Y.C. Cheng, *J. Non-Cryst. Solids*, **121** (1990) 51.
- [61] K. Kamiya, T. Dohkai, M. Wada, T. Hashimoto, J. Matsuoka, H.H. Nasu, *J. Non-Cryst. Solids*, **240** (1998) 202.
- [62] A. Fidalgo, L.M. Ilharco, *J. Non-Cryst. Solids*, **283** (2001) 144.
- [63] A. Fidalgo, L.M. Ilharco, *Chem. Eur. J.*, **10** (2004) 392.
- [64] B.P. Feuston, S.H. Garofalini, *J. Phys. Chem.*, **94** (1990) 5351.
- [65] K. Yamahara, K. Okazaki, *Fluid Phase Eq.*, **144** (1998) 449.
- [66] N.Z. Rao, L.D. Gelb, *J. Phys. Chem. B*, **108** (2004) 12418.
- [67] I. Tsuchiya, *J. Phys. Chem.*, **86** (1982) 4107.
- [68] P. Hoffmann, E. Knözinger, *Surf. Sci.*, **188** (1987) 181.
- [69] K.M. Davis, M.J. Tomozawa, *Non-Cryst. Solids*, **201** (1996) 177.
- [70] R.M. Almeida, C.G. Pantano, *J. Appl. Phys.*, **68** (1990) 4225.
- [71] S. Hayakawa, L.L. Hench, *J. Non-Cryst. Solids*, **262** (2000) 264.
- [72] A.G. Pelmeshnikov, G. Morosi, A. Gamba, *J. Phys. Chem.*, **96** (1992) 7422.
- [73] A.G. Pelmeshnikov, G. Morosi, A. Gamba, *J. Phys. Chem.*, **96** (1992) 2241.
- [74] J. Björnström, A. Martinelli, J.R.T. Johnson, A. Matic, I. Panas, *Chem. Phys. Lett.*, **380** (2003) 165.
- [75] J.R.T. Johnson, I. Panas, *Chem. Phys.*, **276** (2002) 45.
- [76] M. Kato, K. Sakai-Kato, T. Toyo'oka, *J. Sep. Sci.*, **28** (2005) 1893.
- [77] J.C. Brinker, *Adv. Chem. Ser.*, **234** (1994) 361.
- [78] P. Kortesuso, *Sol-Gel Derived Silica Gel Monoliths and Microparticles as Carrier in Controlled Drug Delivery in Tissue Administration*, PhD Thesis, University of Helsinki, 2001.
- [79] M. Prokopowicz, *Farm. Pol.*, **62** (2006) 295.
- [80] P. Kortesuso, M. Ahola, S. Karlsson, I. Kangasniemi, J. Kiesvaara, A. Yli-Urpo, *J. Biomed. Mater. Res.*, **44** (1999) 162.
- [81] H. Böttcher, P. Slowik, W. Suß, *J. Sol-Gel Sci. Tech.*, **13** (1998) 277.
- [82] P. Kortesuso, M. Ahola, M. Kangas, M. Jokinen, T. Leino, *Biomaterials*, **23** (2002) 2795.
- [83] M. Ahola, P. Kortesuso, I. Kangasniemi, J. Kiesvaara, A. Yli-Urpo, *Int. J. Pharm.*, **195** (2000) 219.

- [84] M.S. Ahola, E.S. Säilynoja, M.H. Raitavuo, M.M. Vaahtio, J.I. Salonen, and A.U.O. Yli-Urpo, *Biomaterials*, **22** (2001) 2163.
- [85] P. Kortesoja, M. Ahola, M. Kangas, T. Leino, S. Laakso, *J. Control. Release*, **76** (2001) 227.
- [86] T.G. Pridham, L.A. Lindenfelser, O.L. Shotwell, F. Stodola, R.G. Benedict, C. Foley, P.W. Jacks, W.J. Zaumeyer, W.H. Perston, J.W. Mitchell, *Phytopathology*, **46** (1956) 275.
- [87] Catalogue of Cultures BCCMTM/LMG Bacteria Collection, Universiteit 452 Gent, 1998.
- [88] G. Rheinheimer, *Ecological Studies*, Springer, Berlin, 1977 (Chapter 25).
- [89] J. Andzelm, E. Wimmer, *J. Chem. Phys.*, **96** (1992) 1280.
- [90] C. Lee, R.G. Parr, W. Yang, *Phys. Rev. B*, **37** (1988) 785.
- [91] N. Godbout, D.R. Salahub, J. Andzelm, E. Wimmer, *Can. J. Chem.*, **70** (1992) 560.
- [92] M.W. Schmidt, K.K. Baldridge, J.A. Boatz, S.T. Albert, M.S. Gordon, J.H. Jensen, S. Koseki, N. Matsunaga, K.A. Nguen, S.J. Su, T.L. Windus, M. Dupuis, J.A. Montgomery, *J. Comput. Chem.*, **14** (1993) 1347.
- [93] A.D. Becke, *J. Chem. Phys.*, **98** (1993) 5648.
- [94] S.F. Boys, F. Bernardi, *Mol. Phys.*, **19** (1970) 553.
- [95] R.L. Redington, W.B. Olson, P.C. Cross, *J. Chem. Phys.*, **36** (1962) 1311.
- [96] R.H. Leonard, A. Sharma, V.B. Haywood, *Quintessence Int.*, **29** (1998) 503
- [97] L.Z. Collins, B. Maggio, A. Gallagher, M. York, F. Schäfer, *J. Dent.*, **32** (2004) 47.
- [98] R.S. McDonald, *J. Phys. Chem.*, **62** (1958) 1168.
- [99] R.L. Miller, D.F. Hornig, *J. Chem. Phys.*, **34** (1961) 265.
- [100] P.A. Giguere, *J. Chem. Phys.*, **18** (1950) 88.
- [101] A. Bertoluzza, C. Fagnano, M.A. Morelli, V. Gottardi, M. Guglielmi, *J. Non-Cryst. Solids*, **48** (1982) 117.
- [102] R.L. Miller, D.F. Hornig, *J. Chem. Phys.*, **34** (1961) 265.
- [103] B. Schrader, W. Meier, *Raman/IR Atlas of Organic Compounds*, Verlag Chemie GmbH, Weinheim, 1975.
- [104] D. Du, A. Fu, Z. Zhou, *Chem. Phys. Lett.*, **392** (2004) 162.
- [105] J.M. Goodfellow, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79** (1982) 4977.
- [106] R. Wiczorek, J.J. Dannenberg, *J. Am. Chem. Soc.*, **125** (2003) 14065.
- [107] E.F. Panarin, K.K. Kalninh, D.V. Pestov, *Eur. Polym. J.*, **37** (2001) 375.
- [108] E.J. Friebel, D.L. Griscom, M. Stapelbroek, *Phys. Rev. Lett.*, **42** (1979) 1346.