

**POLITECHNIKA POZNAŃSKA**  
**WYDZIAŁ TECHNOLOGII CHEMICZNEJ**

**Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej**

**Zakład Technologii Chemicznej**



**ROZPRAWA DOKTORSKA**

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

**mgr inż. Małgorzata Stanisz**

*Praca doktorska wykonana w ramach projektu  
Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „NanoBioTech”  
i przedłożona Radzie Dyscypliny Nauki Chemiczne  
Politechniki Poznańskiej  
w celu uzyskania stopnia doktora*

**Promotor:**

prof. dr hab. inż. Teofil Jesionowski

Poznań 2022



Rzeczpospolita  
Polska



Unia Europejska  
Europejski Fundusz Społeczny



Rozprawa doktorska została wykonana w ramach uczestnictwa w projekcie *Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „NanoBioTech”*, realizowanym wspólnie przez trzy jednostki:

- Politechnikę Poznańską,
- Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu,
- Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk,

w ramach Umowy o dofinansowanie nr POWR.03.02.00-00-I011/16.

Projekt *Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „NanoBioTech”* jest współfinansowany przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój 2014 – 2020.



***Pragnę złożyć serdeczne podziękowania***

Promotorowi – ***prof. dr. hab. inż. Teofilowi Jesionowskiemu***,  
za umożliwienie realizacji pracy doktorskiej, konsultacje naukowe,  
poświęcony czas oraz udzielone wsparcie.

***dr. hab. inż. Łukaszowi Klapiszewskiemu, prof. PP***,  
za pomoc podczas realizacji pracy doktorskiej, cenne rady  
oraz poświęcony czas.

***Wszystkim Współautorom artykułów naukowych składających się na niniejszą rozprawę***,  
za pomoc podczas realizacji badań.

***Współpracownikom z Zespołu:***

***dr. hab. inż. Filipowi Ciesielczykowi, prof. PP***,

***dr inż. Agnieszce Kołodziejczak-Radzimskiej***,

***dr hab. inż. Katarzynie Siwińskiej-Ciesielczyk***,

***dr inż. Monice Stasiewicz***,

***dr. inż. Marcinowi Wysokowskiemu***,

***dr. hab. inż. Jakubowi Zdarta***

za okazaną pomoc podczas realizacji pracy doktorskiej.

Osobne podziękowania składam,

***mgr inż. Karolinie Bachosz*** oraz ***mgr inż. Ewelinie Weidner***,

za nieocenione towarzystwo oraz przyjaźń.

Pracę dedykuję,

*moim Rodzicom,*

bez **Was** ta praca by nie powstała.

Dziękuję za wiarę we mnie, okazaną cierpliwość  
oraz bezgraniczne wsparcie.



## Spis treści

Wykaz skrótów i symboli .....	6
Aktywność naukowa .....	9
Lista publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej .....	15
1. Streszczenie .....	19
2. Abstract .....	25
3. Wprowadzenie.....	30
3.1. Otrzymywanie oraz charakterystyka sferycznych cząstek .....	30
3.1.1. Rodzaje sferycznych cząstek .....	30
3.1.2. Materiały stosowane do syntezy struktur sferycznych .....	35
3.1.3. Metody otrzymywania sferycznych materiałów.....	45
3.2. Obszary zastosowań sferycznych struktur .....	53
3.3. Podsumowanie części teoretycznej.....	62
4. Cel i zakres badań .....	64
5. Opis rezultatów badań na podstawie opublikowanych prac .....	67
5.1. Sferyczne struktury z udziałem biopolimerów – rozwój technologii .....	67
5.2. Synteza i charakterystyka otrzymanych sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft .....	70
5.3. Aspekty aplikacyjne otrzymanych materiałów sferycznych.....	81
5.4. Podsumowanie części doświadczalnej.....	104
6. Podsumowanie .....	106
7. Bibliografia.....	110
8. Kopie artykułów naukowych stanowiących podstawę dysertacji doktorskiej.....	127
Publikacja D1 .....	127
Publikacja D2.....	156
Publikacja D3.....	177
Publikacja D4.....	191
Publikacja D5.....	205
Publikacja D6.....	215
Publikacja D7.....	229
Publikacja D8.....	250
9. Oświadczenia współautorów.....	273

## Wykaz skrótów i symboli

<b><i>A<sub>BET</sub></i></b>	– powierzchnia właściwa wg Brunauera-Emmetta-Tellera (BET)
<b>CALB</b>	– lipaza typu B z <i>Candida antarctica</i>
<b>CTAB</b>	– bromek heksadecylotrimetyloamoniowy
<b>CIL</b>	– cilazapril
<b>CIL@LC-2a (1:1)</b>	– połączone sferyczne cząstki z udziałem ligniny kraft z cilazapriem w stosunku wagowym 1:1 ( <b>publikacja D2</b> )
<b>CIL-DB</b>	– emulsja utworzona z czystego cilazaprilu ( <b>publikacja D3</b> )
<b>DMSO</b>	– dimetylosulfotlenek
<b>FTIR</b>	– spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera
<b>G0</b>	– sferyczne cząstki utworzone z ligniny i chlorku choliny w pH 3 ( <b>publikacja D7</b> )
<b>G1</b>	– sferyczne cząstki utworzone z ligniny i chlorku choliny w pH 5 ( <b>publikacja D7</b> )
<b>G2</b>	– sferyczne cząstki utworzone z ligniny i chlorku choliny w pH 7 ( <b>publikacja D7</b> )
<b>G3</b>	– sferyczne cząstki utworzone z ligniny i chlorku choliny w pH 10 ( <b>publikacja D7</b> )
<b>HAp</b>	– hydroksyapatyt
<b>HepG2</b>	– ludzka linia komórek raka wątroby
<b>HIV</b>	– ludzki wirus niedoboru odporności
<b>HT-29</b>	– ludzka linia komórek raka okrężnicy
<b>HSV</b>	– wirus opryszczki pospolitej
<b>Jtk</b>	– jednostka tworząca kolonię
<b>KL-SM</b>	– sferyczne cząstki z udziałem ligniny kraft otrzymane z zastosowaniem ekstraktu z <i>Sapindus mukorossi</i> ( <b>publikacja D5</b> )
<b>KL-SO</b>	– sferyczne cząstki z udziałem ligniny kraft otrzymane z zastosowaniem ekstraktu z <i>Saponaria officinalis</i> L. ( <b>publikacja D5</b> )
<b>LC-2a (1:1)</b>	– sferyczne cząstki z udziałem ligniny oraz CTAB otrzymane podczas mieszania przez 2 godziny, w stosunku wagowym 1:1 ( <b>publikacja D2</b> )

- LC-2a (2:1)** – sferyczne cząstki z udziałem ligniny oraz CTAB otrzymane podczas mieszania przez 2 godziny, w stosunku wagowym 2:1 (**publikacja D2**)
- LC-2a (4:1)** – sferyczne cząstki z udziałem ligniny oraz CTAB otrzymane podczas mieszania przez 2 godziny, w stosunku wagowym 4:1 (**publikacja D2**)
- LC-2b (1:1)** – sferyczne cząstki z udziałem ligniny oraz CTAB otrzymane podczas mieszania przez 2 godziny, w stosunku wagowym 1:1 z wcześniejszym przefiltrowaniem ligniny (**publikacja D2**)
- LC-2b (2:1)** – sferyczne cząstki z udziałem ligniny oraz CTAB otrzymane podczas mieszania przez 2 godziny, w stosunku wagowym 2:1 z wcześniejszym przefiltrowaniem ligniny (**publikacja D2**)
- LC-2b (4:1)** – sferyczne cząstki z udziałem ligniny oraz CTAB otrzymane podczas mieszania przez 2 godziny, w stosunku wagowym 4:1 z wcześniejszym przefiltrowaniem ligniny (**publikacja D2**)
- LC-4 (1:1)** – sferyczne cząstki z udziałem ligniny oraz CTAB otrzymane podczas mieszania przez 4 godziny, w stosunku wagowym 1:1 (**publikacja D2**)
- LC-4 (2:1)** – sferyczne cząstki z udziałem ligniny oraz CTAB otrzymane podczas mieszania przez 4 godziny, w stosunku wagowym 2:1 (**publikacja D2**)
- LC-4 (4:1)** – sferyczne cząstki z udziałem ligniny oraz CTAB otrzymane podczas mieszania przez 2 godziny, w stosunku wagowym 4:1 (**publikacja D2**)
- LC-DB** – emulsja utworzona z cilazaprilu i sferycznych cząstek z udziałem ligniny (**publikacja D3**)
- L-CTAB** – sferyczne cząstki z udziałem ligniny oraz CTAB otrzymane podczas mieszania przez 2 godziny, w stosunku wagowym 2:1 (**publikacja D4**)
- LIG-DB** – emulsja utworzona z cilazaprilu i ligniny kraft (**publikacja D3**)
- Lig-IL (10:1)** – sferyczne cząstki otrzymane z udziałem ligniny kraft oraz wodorosiarczanu 1-(propoksymetylo)1H-imidazoliowego w stosunku wagowym 10:1 (**publikacja D6**)

<b>Lig-IL (4:1)</b>	– sferyczne cząstki otrzymane z udziałem ligniny kraft oraz wodorosiarczanu 1-(propoksymetylo)1H-imidazoliowego w stosunku wagowym 4:1 ( <b>publikacja D6</b> )
<b>Lig-IL (2:1)</b>	– sferyczne cząstki otrzymane z udziałem ligniny kraft oraz wodorosiarczanu 1-(propoksymetylo)1H-imidazoliowego w stosunku wagowym 2:1 ( <b>publikacja D6</b> )
<b>Lig-IL (4:3)</b>	– sferyczne cząstki otrzymane z udziałem ligniny kraft oraz wodorosiarczanu 1-(propoksymetylo)1H-imidazoliowego w stosunku wagowym 4:3 ( <b>publikacja D6</b> )
<b>Lig-IL (1:1)</b>	– sferyczne cząstki otrzymane z udziałem ligniny kraft oraz wodorosiarczanu 1-(propoksymetylo)1H-imidazoliowego w stosunku wagowym 1:1 ( <b>publikacja D6</b> )
<b>MDA-MB-231</b>	– komórki gruczołaka piersi
<b>MTX</b>	– metotreksat
<b>PAAS</b>	– poliakrylan sodu
<b>PdI</b>	– indeks polidispersyjności
<b>PEG</b>	– glikol polietylenowy
<b>pH<sub>IEP</sub></b>	– punkt izoelektryczny
<b><i>p</i>-NP</b>	– <i>para</i> -nitrofenol
<b><i>p</i>-NPP</b>	– palmitynian <i>para</i> -nitrofenylu
<b>PTFE</b>	– poli(tetrafluoroetylen)
<b>PVP</b>	– poliwinylpirolidon
<b>Saos 2</b>	– osteoblasty
<b>SDS</b>	– laurylosiarczan sodu
<b>SEM</b>	– skaningowa mikroskopia elektronowa
<b><i>S<sub>p</sub></i></b>	– wielkość porów
<b>TEM</b>	– transmisyjna mikroskopia elektronowa
<b>TEOS</b>	– tetraetoksysilan
<b><i>V<sub>p</sub></i></b>	– całkowita objętość porów

## Aktywność naukowa

### Publikacje:

1. Ł. Klapiszewski, T. J. Szalaty, B. Kurc, **M. Stanisz**, A. Skrzypczak, T. Jesionowski, Functional hybrid materials based on manganese dioxide and lignin activated by ionic liquids and their application in the production of lithium ion batteries, *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(7), 1509-1–1509-28. IF (2017): 3,687; IF 5-letni: 6,628; MEN: 140.
2. Ł. Klapiszewski, T. J. Szalaty, B. Kurc, **M. Stanisz**, B. Zawadzki, A. Skrzypczak, T. Jesionowski, Development of acidic imidazolium ionic liquids for activation of kraft lignin by controlled oxidation: Comprehensive evaluation and practical utility, *ChemPlusChem*, 2018, 83(5), 361–374. IF (2018): 3,441; IF 5-letni: 3,138; MEN: 100.
3. T. J. Szalaty, Ł. Klapiszewski, **M. Stanisz**, D. Moszyński, A. Skrzypczak, T. Jesionowski, Catalyst-free activation of kraft lignin in air using hydrogen sulfate ionic liquids, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 119, 431–437. IF (2018): 4,784; IF 5-letni: 7,626; MEN: 100.
4. **M. Stanisz**, Ł. Klapiszewski, T. Jesionowski, Recent advances in the fabrication and application of biopolymer-based micro- and nanostructures: A comprehensive review, *Chemical Engineering Journal*, 2020, 397, 125409. IF (2020): 13,273; IF 5-letni: 14,610; MEN: 200.
5. **M. Stanisz**, Ł. Klapiszewski, D. T. Młynarczyk, B. J. Stanisz, T. Jesionowski, Lignin-based spherical structures and their use for improvement of cilazapril stability in solid state, *Molecules*, 2020, 25(14), 3150. IF (2020): 4,411, IF 5-letni: 5,110; MEN: 140.
6. **M. Stanisz**, W. Smulek, K. Popielski, Ł. Klapiszewski, E. Kaczorek, T. Jesionowski, Sustainable design of lignin-based spherical particles with the use of green surfactants and its application as sorbents in wastewater treatment, *Chemical Engineering Research and Design*, 2021, 172, 34–42. IF (2021): 4,119; IF 5-letni: 4,060; MEN: 140.
7. **M. Stanisz**, Ł. Klapiszewski, D. Kołodyńska, T. Jesionowski, Development of functional lignin-based spherical particles for the removal of vanadium(V) from an aqueous system, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 186, 181–193. IF (2021): 8,025; IF 5-letni: 7,626; MEN: 100.
8. **M. Stanisz**, Ł. Klapiszewski, A. Dobrowolska, A. Piasecki, K. Czaczyk, T. Jesionowski, The practical utility of imidazolium hydrogen sulfate ionic liquid in fabrication of lignin-

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

- based spheres: Structure characteristic and antibacterial activity, *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10, 946665. IF (2021): 5,545; IF 5-letni: 5,869; MEN: 100.
9. **M. Stanisz**, Ł. Klapiszewski, D. Moszyński, B. J. Stanisz, T. Jesionowski, Evaluation of cilazapril release profiles with the use of lignin-based spherical particles, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2022, 75, 103636. IF (2021): 5,062; IF 5-letni: 4,624 MEN: 70.
  10. **M. Stanisz**, K. Bachosz, K. Siwińska-Ciesielczyk, Ł. Klapiszewski, J. Zdarta, T. Jesionowski, Tailoring lignin-based spherical particles as a support for lipase immobilization, *Catalysts*, 2022, 12(9), 1031. IF (2021): 4,501; IF 5-letni: 4,641; MEN: 100.
  11. **M. Stanisz**, Ł. Klapiszewski, M. N. Collins, T. Jesionowski, Recent progress in biomedical and biotechnological applications of lignin-based spherical nano- and microstructures: A comprehensive review, *Materials Today Chemistry*, 2022, 26, 101198. IF (2021): 7,613; IF 5-letni: 7,916; MEN: 70.

**Rozdziały w książkach:**

1. T. J. Szalaty, **M. Stanisz**, A. Skrzypczak, Ł. Klapiszewski, T. Jesionowski, Lignina krafta aktywowana z wykorzystaniem nowatorskich, przyjaznych dla środowiska wodorosiarczanowych cieczy jonowych, BioOrg 2017 - II Ogólnopolskie Sympozjum Chemii Bioorganicznej, Organicznej i Biomateriałów, Materiały konferencyjne. Wydział Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej 2017, 186-188, ISBN 978-83-916087-5-3.
2. **M. Stanisz**, W. Kaźmierski, Ł. Klapiszewski, T. Jesionowski, Mikro- i nanokontenery - otrzymywanie, właściwości i zastosowanie, środowisko i przemysł. Tom 8, red. G. Schroeder, P. Grzesiak, Cursiva, 2018, 34-66, ISBN 978-83-62108-42-8.
3. **M. Stanisz**, Ł. Klapiszewski, T. Jesionowski, Sferyczne materiały z udziałem ligniny otrzymywane z wykorzystaniem układu micelnarnego, BioOrg 2019 - III Ogólnopolskie Sympozjum Chemii Bioorganicznej, Organicznej i Biomateriałów, Materiały konferencyjne. Wydział Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej 2019, 459-461, ISBN 978-83-955437-0-8.
4. **M. Stanisz**, Ł. Klapiszewski, T. Jesionowski, Spherical particle technology and engineering: Fabrication and practical utility, practical aspects of chemical engineering

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

- selected contributions from PAIC 2019, red. M. Ochowiak, S. Woziwodzki, P. T. Mitkowski, M. Doligalski, Springer, 2020, 430-440.
5. **M. Stanisz**, E. Weidner, G. Kaszuba, A. Piasecki, Ł. Kłapiszewski, F. Ciesielczyk, T. Jesionowski, Sferyczne struktury z udziałem biopolimerów do efektywnego usuwania jonów wanadu, *Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości*, Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, 2020, 379-382, ISBN 978-83-227-9369-5.
  6. **M. Stanisz**, W. Smulek, K. Popielski, Ł. Kłapiszewski, E. Kaczorek, T. Jesionowski, Sferyczne cząstki z udziałem ligniny otrzymane metodą miękkiego odwzorowania z użyciem biosurfaktantów, *Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości*, Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, 2020, 383-386, ISBN 978-83-227-9369-5.
  7. **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, A. Piasecki, T. Jesionowski, Sferyczne mikrostruktury otrzymane z udziałem ligniny kraft i cieczy jonowych, *Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości*, Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, 2021, 264-267, ISBN 978-83-227-9504-0.
  8. **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, D. Kołodyńska, T. Jesionowski, Zastosowanie sferycznych cząstek wytworzonych z ligniny kraft jako potencjalnych sorbentów, *Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości*, Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, 2021, 380-385, ISBN 978-83-227-9504-0.
  9. E. Weidner, **M. Stanisz**, T. Jesionowski, F. Ciesielczyk, Wpływ dodatku wanadu na właściwości fizykochemiczne układów hybrydowych ZrO<sub>2</sub>/V, *Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości*, Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, 2021, 248-251, ISBN 978-83-227-9504-0.
  10. **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, B. J. Stanisz, T. Jesionowski, Sferyczne cząstki z udziałem ligniny jako nośniki do dostarczania substancji leczniczych, *BioOrg 2022 - IV Ogólnopolskie Sympozjum Chemii Bioorganicznej, Organicznej i Biomateriałów, Materiały konferencyjne*. Wydział Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej, 2022, 537-540, ISBN 978-83-955437-2-2.

**Wykaz wystąpień konferencyjnych:**

1. T. J. Szalaty, Ł. Kłapiszewski, **M. Stanisz**, T. Jesionowski, Aktywacja ligniny krafta z zastosowaniem wodorosiarczanowych cieczy jonowych, II Interdyscyplinarna Konferencja Nano(&)Biomateriały – od teorii do aplikacji, Toruń, 29-31 maja 2017.
2. T. J. Szalaty, Ł. Kłapiszewski, **M. Stanisz**, A. Skrzypczak, T. Jesionowski, Wykorzystanie metod spektroskopowych do oceny stopnia modyfikacji struktury ligniny z zastosowaniem wodorosiarczanowych cieczy jonowych, Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości, Lublin, 21-23 czerwca 2017.
3. **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, T. Jesionowski, Synthesis of inorganic hollow spheres using micelle-based soft templates, interfacial phenomena in theory and practice; XIVth Summer School for Postgraduate Students and Young Researchers, Kościerzyna, 24-28 czerwca 2019.
4. **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, A. Piasecki, T. Jesionowski, Sferyczne mikrostruktury otrzymane z udziałem ligniny kraft i cieczy jonowych, Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości, Lublin, 29-30 czerwca 2021.

**Wykaz posterów konferencyjnych:**

1. T. J. Szalaty, **M. Stanisz**, A. Skrzypczak, Ł. Kłapiszewski, T. Jesionowski, Lignina krafta aktywowana z wykorzystaniem nowatorskich, przyjaznych dla środowiska wodorosiarczanowych cieczy jonowych, II Ogólnopolskie Sympozjum Chemii Bioorganicznej, Organicznej i Biomateriałów, Poznań, 2 grudnia 2017.
2. **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, T. Jesionowski, Nieorganiczne mikrokontenery otrzymywane z wykorzystaniem metody twardego odwzorowania, IV Interdyscyplinarna Konferencja Nano(&)Biomateriały – od teorii do aplikacji, Toruń, 6-7 czerwca 2019.
3. **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, T. Jesionowski, Otrzymywanie oraz praktyczne wykorzystanie cząstek sferycznych, Drugie Seminarium Praktyczne Aspekty Inżynierii Chemicznej PAIC 2019, Zaniemyśl, 16-17 września 2019.
4. **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, T. Jesionowski, Sferyczne materiały z udziałem ligniny otrzymywane z wykorzystaniem układu micelarnego, III Ogólnopolskie Sympozjum Chemii Bioorganicznej, Organicznej i Biomateriałów, Poznań, 7 grudnia 2019.
5. **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, D. Kołodyńska, T. Jesionowski, Zastosowanie sferycznych cząstek wytworzonych z ligniny kraft jako potencjalnych sorbentów, Nauka i przemysł



## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

- metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości, Lublin, 29-30 czerwca 2021.
6. E. Weidner, **M. Stanisz**, T. Jesionowski, F. Ciesielczyk, Wpływ dodatku wanadu na właściwości fizykochemiczne układów hybrydowych  $ZrO_2/V$ , Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości, Lublin, 29-30 czerwca 2021.
  7. **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, A. Piasecki, T. Jesionowski, Wpływ pH na morfologię otrzymywania sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft, 63. Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Łódź, 13-17 września 2021.
  8. **M. Stanisz**, W. Smulek, Ł. Kłapiszewski, E. Kaczorek, T. Jesionowski, Zastosowanie sferycznych cząstek z udziałem biosurfaktantów jako materiału sorpcyjnego do usuwania wybranych substancji z roztworów wodnych, 45. Międzynarodowe Seminarium Naukowo – Techniczne „Chemistry for Agriculture”, Karpacz, 21-24 listopada 2021.
  9. **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, B. J. Stanisz, T. Jesionowski, Sferyczne cząstki z udziałem ligniny jako nośniki do dostarczania substancji leczniczych, IV Ogólnopolskie Sympozjum Chemii Bioorganicznej, Organicznej i Biomateriałów, Poznań, 3 grudnia 2022.

### **Udział w projektach naukowych:**

1. Wykonawca w projekcie badawczym Iuventus Plus finansowanym przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, nr IP2015 032574.
2. Wykonawca w projekcie badawczym OPUS 18 finansowany przez Narodowe Centrum Nauki, nr DEC-2019/35/B/ST8/02535.
3. Uczestniczka projektu ORBIS – Open Research Biopharmaceutical Internships Support, finansowany przez European Union’s Horizon 2020 research and innovation programme under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No 778051.
4. Uczestniczka projektu Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „NanoBioTech”, POWR.03.02.00-00-I011/16.

**Staże naukowe:**

1. APC Ltd. Dublin (Irlandia) – 03.02.2020-17.03.2020 oraz 18.05.2022-03.07.2022.
2. Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności – 23.08.2021-23.11.2021.

**Nagrody i stypendia:**

1. Stypendium naukowe finansowane przez Rektora Politechniki Poznańskiej dla najlepszych doktorantów, 2018/2019, 2020/2021, 2021/2022, 2022/2023.
2. Wyróżnienie w konkursie na Nagrodę Poznańskiego Oddziału Polskiej Akademii Nauk za najlepszą oryginalną pracę twórczą, opublikowaną w 2020 roku, której wiodącym autorem jest doktorant z terenu Oddziału – nauki techniczne.

**Wyróżniona praca:** M. Stanisław, Ł. Kłapiszewski, T. Jesionowski, Recent advances in the fabrication and application of biopolymer-based micro- and nanostructures: A comprehensive review, *Chemical Engineering Journal*, 2020, 397, 125409-1–125409-28.

## Lista publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej

Ustawa o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2003 Nr 65 poz. 595) - 2. Rozprawa doktorska może mieć formę maszynopisu książki, książki wydanej lub spójnego tematycznie zbioru rozdziałów w książkach wydanych, spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych lub przyjętych do druku w czasopismach naukowych, określonych przez ministra właściwego do spraw nauki na podstawie przepisów dotyczących finansowania nauki (...).

Nr	Publikacja	IF*	IF 5-letni**	Punktacja MEN
D1	<p><b>M. Stanisz</b>, Ł. Klapiszewski, T. Jesionowski, Recent advances in the fabrication and application of biopolymer-based micro- and nanostructures: A comprehensive review, <i>Chemical Engineering Journal</i>, 2020, 397, 125409.</p> <p><b>Małgorzata Stanisz</b> zaplanowała manuskrypt, przeprowadziła przegląd dostępnej literatury, napisała manuskrypt oraz wykonała odpowiedzi do recenzentów.</p>	13,273	14,610	200
D2	<p><b>M. Stanisz</b>, Ł. Klapiszewski, D. T. Młynarczyk, B. J. Stanisz, T. Jesionowski, Lignin-based spherical structures and their use for improvement of cilazapril stability in solid state, <i>Molecules</i>, 2020, 25(14), 3150.</p> <p><b>Małgorzata Stanisz</b> otrzymała oraz przeprowadziła charakterystykę sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft, napisała manuskrypt oraz wspomagała proces publikacyjny.</p>	4,411	5,110	140
D3	<p><b>M. Stanisz</b>, Ł. Klapiszewski, D. Moszyński, B. J. Stanisz, T. Jesionowski, Evaluation of</p>	5,062	4,624	70

cilazapril release profiles with the use of lignin-based spherical particles, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2022, 75, 103636.

**Małgorzata Stanisz** otrzymała oraz przeanalizowała nośnik z udziałem ligniny, przygotowała oraz scharakteryzowała otrzymane emulsje, wykonała konieczne obliczenia, napisała manuskrypt oraz przeprowadziła dyskusję z recenzentami.

---

<b>D4</b>	<b>M. Stanisz</b> , Ł. Kłapiszewski, D. Kołodyńska, T. Jesionowski, Development of functional lignin-based spherical particles for the removal of vanadium(V) from an aqueous system, <i>International Journal of Biological Macromolecules</i> , 2021, 186, 181–193.	8,025	7,626	100
-----------	---	-------	-------	-----

**Małgorzata Stanisz** zsyntezowała oraz sporządziła charakterystykę materiału, przygotowała manuskrypt, a także odpowiedziała recenzentom na ich uwagi w cyklu publikacyjnym.

---

<b>D5</b>	<b>M. Stanisz</b> , W. Smulek, K. Popielski, Ł. Kłapiszewski, E. Kaczorek, T. Jesionowski, Sustainable design of lignin-based spherical particles with the use of green surfactants and its application as sorbents in wastewater treatment, <i>Chemical Engineering Research and Design</i> , 2021, 172, 34–42.	4,119	4,060	140
-----------	--	-------	-------	-----

**Małgorzata Stanisz** zaplanowała badania, otrzymała oraz wykonała charakterystykę

---

---

układów, przeprowadziła proces sorpcji, a także napisała manuskrypt oraz zredagowała odpowiedzi do recenzentów.

---

- D6** **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, A. Dobrowolska, 5,545 5,898 100  
A. Piasecki, K. Czaczyk, T. Jesionowski, The practical utility of imidazolium hydrogen sulfate ionic liquid in fabrication of lignin-based spheres: Structure characteristic and antibacterial activity, *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10, 946665.

**Małgorzata Stanisz** zsyntezowała oraz przeanalizowała sferyczne struktury otrzymane z ligniną kraft i wodorosiarczanowymi cieczami jonowymi, współuczestniczyła w przeprowadzeniu badań przeciwbakteryjnych, napisała manuskrypt oraz odpowiedzi do recenzentów.

- 
- D7** **M. Stanisz**, K. Bachosz, K. Siwińska-Ciesielczyk, Ł. Kłapiszewski, J. Zdarta, T. Jesionowski, Tailoring lignin-based spherical particles as a support for lipase immobilization, *Catalysts*, 2022, 12(9), 1031.

**Małgorzata Stanisz** zaplanowała syntezę sferycznych cząstek oraz przeprowadziła ich charakterystykę fizykochemiczną i mikrostrukturalną, przeprowadziła ponadto proces immobilizacji, wykonała analizę wyników oraz napisała manuskrypt.

- 
- D8** **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, M. N. Collins, T. Jesionowski, Recent progress in biomedical and biotechnological applications of lignin-
-

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

---

based spherical nano- and microstructures: A  
comprehensive review, *Materials Today  
Chemistry*, 2022, 26, 101198.

**Malgorzata Stanisz** zaproponowała temat  
pracy przeglądowej, napisała ją oraz  
uczestniczyła w procesie publikacyjnym.

---

---

<b>RAZEM:</b>	<b>52,549</b>	<b>54,125</b>	<b>920</b>
---------------	---------------	---------------	------------

---

\* dane IF z roku opublikowania pracy

\*\* IF 5-letni z lat 2017-2021

## **1. Streszczenie**

Sferyczne cząstki pochodzenia naturalnego cechują się wyjątkowymi właściwościami ze względu na swój kształt, strukturę oraz możliwość połączenia z innymi materiałami. Bardzo często zastosowany naturalny surowiec jest produktem odpadowym prężnie rozwijającego się przemysłu, który po przeprowadzeniu niezbędnych modyfikacji zyskuje nowe, unikalne cechy charakterystyczne. Lignina kraft została zastosowana do otrzymywania sferycznych struktur, gdyż jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych biopolimerów na świecie, a dodatkowo cechuje się brakiem toksyczności, obecnością wielu grup funkcyjnych oraz biokompatybilnością. Biorąc pod uwagę wszystkie dostępne informacje, podczas realizacji pracy doktorskiej wykonano badania, których celem było otrzymanie sferycznych cząstek z udziałem ligniny oraz zaproponowanie potencjalnych możliwości wdrożenia ich jako nowoczesne materiały w medycynie, ochronie środowiska, a także procesach biotechnologicznych. Badania do pracy doktorskiej można podzielić na kilka najważniejszych etapów: (i) zaprojektowanie i synteza sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft, (ii) charakterystyka otrzymanych materiałów oraz (iii) zaproponowanie odpowiedniego zastosowania. Początkowo przeprowadzono charakterystykę dyspersyjno-mikrostrukturalną otrzymanych materiałów, w celu określenia ich kształtu i rozmiaru przy zastosowaniu skaningowej (SEM) oraz transmisyjnej (TEM) mikroskopii elektronowej, a także zbadano rozkłady wielkości cząstek. Dodatkowo, podczas analizy widm spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) oraz osłabionego całkowitego odbicia w podczerwieni (ATR), wyników potencjału elektrokinetycznego, analizy termicznej (TGA/DTG), oceny parametrów struktury porowatej (BET), analizy elementarnej, a także testów toksyczności wykorzystujących bakterie *A. fisheri* określono charakterystykę materiałów i zweryfikowano potencjał użytkowy sferycznych cząstek z udziałem ligniny.

W publikacji D1 pod tytułem „**Recent advances in the fabrication and application of biopolymer-based micro- and nanostructures: A comprehensive review**” (M. Stanis, Ł. Kłapiszewski, T. Jesionowski, *Chemical Engineering Journal*, 2020, 397, 125409) zaprezentowano w formie pracy przeglądowej najnowsze doniesienia dotyczące otrzymywania sferycznych struktur z udziałem biopolimerów. Opisano wybrane formy, w których mogą występować cząstki biopolimerowe, w tym jako: lite struktury, materiały typu rdzeń-powłoka, wielowarstwowe, a także puste w środku. Przedstawiono możliwe materiały naturalne, z których obecnie otrzymywane są cząstki, włączając ligninę, chitynę,

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

celulozę, a także kolagen. Opisano najbardziej pożądane właściwości, którymi powinna cechować się sferyczna cząstka, w celu wykorzystania jej w wielu wybranych gałęziach nauki i przemysłu. Dodatkowo, zostały zebrane wiadomości dotyczące zastosowania materiałów, jako systemów do dostarczania leków, w ochronie środowiska, elektrochemii, a także podczas biodruku 3D i 4D.

Pierwsze badania doświadczalne, zaprezentowano w **publikacji D2** zatytułowanej „**Lignin-based spherical structures and their use for improvement of cilazapril stability in solid state**” (M. Stanisz, Ł. Kłapiszewski, D. T. Młynarczyk, B. J. Stanisz, T. Jesionowski, *Molecules*, 2020, 25(14), 3150). Przedstawiono w niej otrzymywanie sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft i kationowego surfaktantu – bromku heksadecylotrimetyloamoniowego (CTAB). Zastosowany surfaktant jest bardzo często wykorzystywany do syntezy sferycznych materiałów, dlatego wybrano go jako modelowy związek. W wyniku prowadzonych badań sprawdzono wybrane parametry procesowe, w tym stosunek wagowy ligniny i surfaktantu, sposób przygotowania ligniny, szybkość dozowania wody, a także długość czasu trwania eksperymentu. Przeprowadzono analizę mikrostrukturalną i do dalszych badań wybrano układy dyspersyjne o najbardziej sferycznym kształcie. Ponadto, w pierwszej kolejności przeprowadzono badania dotyczące toksyczności otrzymanego materiału, a następnie wyselekcjonowany układ zastosowano do poprawy stabilności modelowego leku – cilazaprilu (CIL). Badania przeprowadzono przy zmiennych wartościach temperatury i wilgotności, a na ich podstawie zaobserwowano, że dodatek otrzymanych sferycznych cząstek ma znaczący wpływ na poprawę stabilności zastosowanej substancji.

W pierwszej części badań dotyczących syntezy cząstek z udziałem ligniny kraft i syntetycznego surfaktantu otrzymano sferyczne cząstki o niewielkim rozmiarze i dużej homogeniczności. Zaobserwowano bardzo dużą powtarzalność metody syntezy, dlatego kontynuowano dalsze badania dotyczące zastosowania cząstek w medycynie. W **publikacji D3** pt. „**Evaluation of cilazapril release profiles with the use of lignin-based spherical particles**” (M. Stanisz, Ł. Kłapiszewski, D. Moszyński, B. J. Stanisz, T. Jesionowski, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2022, 75, 103636) otrzymano sferyczne cząstki z udziałem ligniny, które następnie zostały połączone z modelowym lekiem cilazaprilem. Otrzymany materiał został poddany badaniom w celu określenia możliwości zastosowania biopolimerowych sfer jako nośników substancji leczniczych. Wykonano trzy układy, które kolejno składały się z cilazaprilu, ligniny lub sferycznych cząstek połączonych z substancją leczniczą, a następnie wymieszano je z płynną bazą w celu otrzymania emulsji.



## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

Ocena profili uwalniania substancji leczniczych została wykonana przy zastosowaniu metody dializy membranowej, a badania wykonano przy różnych zakresach pH. Dodatek sferycznych cząstek z udziałem ligniny umożliwił na szybsze i bardziej efektywne rozpuszczenie się leku, co umożliwia na zastosowanie mniejszej dawki substancji leczniczej.

Sferyczne cząstki z udziałem ligniny kraft oraz CTAB cechują się obecnością wielu reaktywnych grup funkcyjnych, m.in.: karboksylowych oraz karbonylowych. Dodatkowo cząstki są stabilne elektrokinetycznie w roztworach wodnych. Ze względu na przeprowadzoną charakterystykę zaproponowano zastosowanie materiału jako biosorbentu do usuwania jonów wanadu(V) ze środowiska wodnego. W **publikacji D4** zatytułowanej „**Development of functional lignin-based spherical particles for the removal of vanadium(V) from an aqueous system**” (M. Stanisławski, Ł. Kłapiszewski, D. Kołodyńska, T. Jesionowski, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 186, 181–193) sprawdzono, czy na efektywny proces usuwania jonów ma wpływ struktura porowata materiału, występujące charakterystyczne grupy funkcyjne, jak również rozmiar otrzymanych cząstek. Ponadto, zbadano warunki, które mogą mieć wpływ na efektywność usuwania jonów wanadu(V). Stwierdzono, że sorpcja jonów wanadu(V) na powierzchni sferycznych cząstek jest procesem heterogenicznym, endotermicznym oraz spontanicznym.

W pierwszej części badań z powodzeniem otrzymano sferyczne cząstki z udziałem ligniny kraft oraz kationowego związku powierzchniowo czynnego. W kolejnym etapie badań postanowiono zastosować naturalne surfaktanty do otrzymywania biopolimerowych struktur. W tym celu jako związki powierzchniowo czynne zastosowano ekstrakty z mydlnicy lekarskiej (*Saponaria officinalis* L.) oraz z orzecha z drzewa *Sapindus mukorossi*, a otrzymane wyniki opublikowano w **publikacji D5** zatytułowanej „**Sustainable design of lignin-based Spherical particles with the use of green surfactants and its application as sorbents in wastewater treatment**” (M. Stanisławski, W. Smulek, K. Popielski, Ł. Kłapiszewski, E. Kaczorek, T. Jesionowski, *Chemical Engineering Research and Design*, 2021, 172, 34–42). W ramach **publikacji D5** otrzymano cząstki o sferycznym kształcie, dodatkowo niektóre z nich cechowały się otworem w swoim wnętrzu (z ang. *doughnut-like particles*), które następnie zostały zastosowane do usuwania substancji modelowej z roztworów wodnych – dichlorowodoru cetyryzyny. Podczas badań sprawdzono jak czas, pH środowiska oraz stężenie substancji zanieczyszczającej wpływają na efektywność usuwania modelowego związku przez otrzymane sferyczne materiały. Otrzymane układy mogą w przyszłości znaleźć zastosowanie jako przyjazne środowisku materiały nieszkodliwie i bezpieczne substancje.

## Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

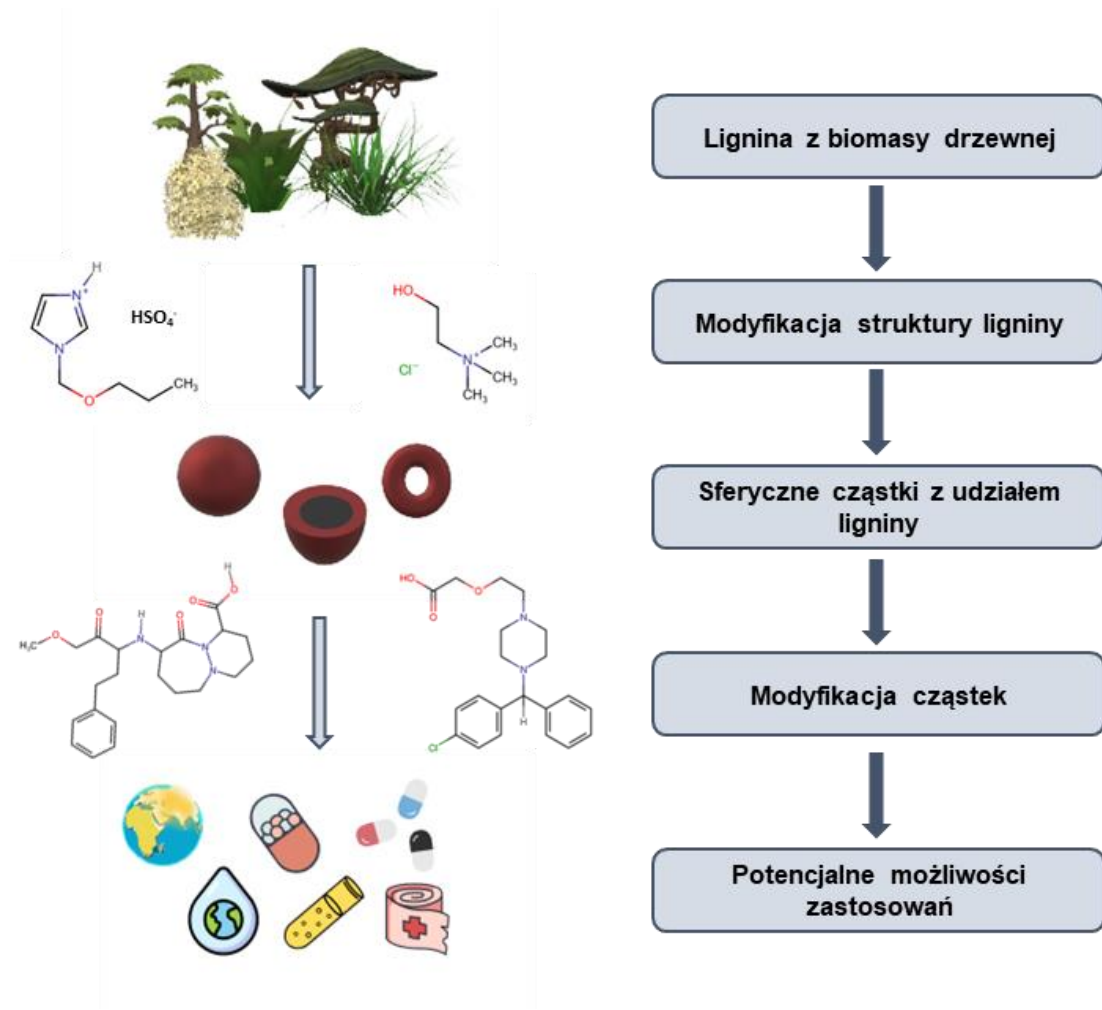
W kolejnym etapie badań zastosowano ciecze jonowe jako matryce do otrzymywania sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft. Zastosowanie ILs jako matrycy umożliwiło na zwiększenie potencjalnych możliwości zastosowań otrzymanych układów. Badania przedstawiono w publikacji D6 „**The practical utility of imidazolium hydrogen sulfate ionic liquid in fabrication of lignin-based spheres: Structure characteristic and antibacterial activity**” (M. Stanisław, Ł. Klapiszewski, A. Dobrowolska, A. Piasecki, K. Czaczyk, T. Jesionowski, *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10, 946665). W ramach publikacji D6 otrzymano sferyczne cząstki z udziałem ligniny i cieczy jonowej – wodorosiarczany 1-(propoksymetylo)1H-imidazoliowego, które zostały połączone ze sobą w różnych stosunkach wagowych. Sprawdzone właściwości antybakteryjne otrzymanych materiałów stosując bakterie gram-dodatnią *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) oraz gram-ujemną *Escherichia coli* (*E. coli*). Ponadto, podczas badań sprawdzono, czy ilość dodanej cieczy jonowej ma wpływ na właściwości powstałych układów. Stwierdzono, że wszystkie otrzymane materiały cechują się właściwościami antybakteryjnymi przeciwko bakteriom gram-dodatnim.

Podczas przeprowadzenia badań, w których zastosowano syntetyczne oraz naturalne surfaktanty, a także ciecze jonowe otrzymano sferyczne cząstki o dużej homogeniczności. W ostatnim etapie prac eksperymentalnych połączono ligninę kraft wraz z chlorkiem choliny, dodatkowo syntezę przeprowadzono w wybranych warunkach pH, od 2 do 10, a otrzymane rezultaty zostały opublikowane w publikacji D7 pt. „**Tailoring lignin-based Spherical particles as a support for lipase immobilization**” (M. Stanisław, K. Bachosz, K. Siwińska-Ciesielczyk, Ł. Klapiszewski, J. Zdzarta, T. Jesionowski, *Catalysts*, 2022, 12(9), 1031). Po przeprowadzonej syntezie wybrano najlepsze układy, cechujące się sferycznym kształtem oraz dużą homogenicznością. Otrzymane materiały zostały poddane procesowi immobilizacji, którego ważnym etapem był właściwy dobór warunków prowadzenia doświadczenia, m.in.: czasu trwania procesu, pH, temperatury, ilości nośnika, a także stężenia zastosowanego białka. Dodatkowo, przeprowadzono badania dotyczące aktywności katalitycznej materiałów po immobilizacji, podczas których sprawdzono wpływ temperatury, stabilności termicznej, pH oraz możliwości ponownego użycia zimmobilizowanego układu wykorzystując modelową reakcję hydrolizy palmitynianu *para*-nitrofenylu (*p*-NPP) do *para*-nitrofenolu (*p*-NP). Stwierdzono, że materiały otrzymane z zastosowaniem chlorku choliny mogą zostać wykorzystane jako nośniki do immobilizacji enzymów w wybranych działach przemysłu.

Ostatnim artykułem składającym się na zaprezentowany cykl pracy doktorskiej jest publikacja D8 pt. „**Recent progress in biomedical and biotechnological applications of lignin-based spherical nano- and microstructures: A comprehensive review**” (M. Stanisław, Ł. Kłapiszewski, M. N. Collins, T. Jesionowski, *Materials Today Chemistry*, 2022, 26, 101198), w której przedstawiono ostatnie doniesienia dotyczące zastosowania sferycznych cząstek z udziałem ligniny w biomedycynie oraz biotechnologii. Jako jedne z najbardziej obiecujących zastosowań wyróżnia się sfery, jako nośniki substancji leczniczej, które mogą zostać wykorzystane w terapii celowanej do leczenia wielu chorób, w tym nowotworów złośliwych. Dodatkowo, cząstki zmodyfikowane za pomocą wybranych pierwiastków, takich jak złoto lub srebro, mogą zostać użyte do przyśpieszenia gojenia się ran, a także zahamowania wzrostu wybranych szczepów bakterii. Podkreślono, że sferyczne cząstki z udziałem ligniny mogą zostać wykorzystane w przemyśle agrochemicznym, gdyż materiał wykazuje zdolność do enkapsulacji pestycydów oraz fungicydów, zmniejszając tym samym możliwość zwiększonego zanieczyszczenia środowiska. Przedstawiona praca przeglądowa powstała w celu podkreślenia pozytywnego znaczenia ligniny w wybranych działach nauki i przemysłu, co w przyszłości może umożliwić na dalsze zintensyfikowane wykorzystanie tego surowca.

W przedłożonej rozprawie doktorskiej zaprezentowano otrzymywanie sferycznych cząstek z udziałem ligniny z wykorzystaniem związków powierzchniowo czynnych pochodzenia syntetycznego, naturalnego, a także cieczy jonowych. Wszystkie zaprezentowane układy umożliwiają na otrzymanie sferycznych układów o dużej homogeniczności. W trakcie badań szczególną uwagę zwrócono na parametry procesu, które mogą mieć wpływ na kształt i morfologię otrzymywanych materiałów. Podczas analizy charakterystyki wybranych układów podjęto próbę aplikacji sferycznych cząstek. Stwierdzono, że materiały z udziałem ligniny kraft mogą być zastosowane: (i) w medycynie jako nośnik substancji leczniczych, który dodatkowo poprawia stabilność leku, (ii) jako sorbent szkodliwych substancji, w tym związków organicznych oraz jonów metali, a także (iii) jako nośnik do immobilizacji enzymów. Ponadto, przy zastosowaniu odpowiedniej miękkiej matrycy, otrzymane sfery cechują się właściwościami antybakteryjnymi. Zaproponowana metoda syntezy umożliwia na otrzymanie przyjaznych środowisku sferycznych materiałów z wykorzystaniem surowca odpadowego, które cechują się unikalnymi właściwościami i znacznym potencjałem umożliwiającym ich zastosowanie w wielu dziedzinach nauki i przemysłu.

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**



**Rysunek 1.1.** Schematyczny proces przeprowadzonych badań, na podstawie publikacji D2–D7

## **2. Abstract**

Spherical particles of natural origin are characterized by unique properties due to their shape, structure and the possibility of being combined with other materials. The used natural material is very often a waste product of a dynamically developing industry, which, after carrying out the necessary modifications, exhibits new, unique characteristics. Kraft lignin was used for preparation of lignin-based spherical particles, because it is one of the most known biopolymers. Moreover, it can be characterized by lack of toxicity, the presence of reactive functional groups and biocompatibility. Additionally, it has many functional groups on its surface and exhibit good biocompatibility. Combining all the information presented, during the doctoral dissertation, the extended research was carried out to obtain spherical particles with the use of lignin and to propose the possibility to apply them as modern materials in medicine, environmental protection and biotechnology. Research for the presented doctoral dissertation can be divided into several basic stages: *(i)* design and synthesis of spherical particles with the use of kraft lignin, *(ii)* characterization of the obtained materials and *(iii)* selection of the best application routes. First, the dispersion and microstructure characteristics of the obtained materials were carried out in order to determine their shape and size using scanning (SEM) and transmission (TEM) electron microscopy and particle size distribution. Additionally, when analyzing spectra from Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and attenuated total infrared reflection (ATR), electrokinetic potential results, thermal analysis (TGA / DTG), porous structure parameters (BET), elemental analysis, as well as toxicity tests with the use of *A. fisheri* bacteria, the characterization of the materials was presented and the possibilities of using spherical particles with the use of lignin were proposed.

In **publication D1** entitled „**Recent advances in the fabrication and application of biopolymer-based micro- and nanostructures: A comprehensive review**” (M. Stanisz, Ł. Klapiszewski, T. Jesionowski, *Chemical Engineering Journal*, 2020, 397, 125409) the up-to-date research about the synthesis of lignin-based spherical particles was presented. Different forms of lignin particles were described, including solid ones, core-shell and multi-layer materials, as well as hollow spheres. Moreover, the information about different feedstocks including lignin, chitin, cellulose or collagen was presented. Therefore, spherical particles can be obtained with the use of a variety of biopolymers. Moreover, the most valuable properties of materials were also described. Additionally, the information about the

application of spherical particles as drug delivery systems, environmental protection, electrochemistry, as well as 3D and 4D bio-printing was also presented.

First experimental research was presented in **publication D2 „Lignin-based spherical structures and their use for improvement of cilazapril stability in solid state”** (M. Stanisz, Ł. Kłapiszewski, D. T. Młynarczyk, B. J. Stanisz, T. Jesionowski, *Molecules*, 2020, 25(14), 3150) the synthesis of lignin-based spherical particles with the use of surfactant – hexadecyl(trimethyl)ammonium bromide (CTAB). This substance is commonly used for preparation of spherical particles therefore it was chosen as a model compound. During the research different parameters including biopolymer and surfactant ratios, water addition, and experimental time were evaluated. The microstructural analysis was performed and the best samples with spherical shape were chosen for further research. Their acute toxicity was tested and the material was applied for the stability improvement of model drug – cilazapril (CIL). Tests were conducted at different temperature and humidity values and it was observed that addition of lignin-based spherical particles has a significant influence on the improvement of stability of the model drug.

Lignin-based spherical particles were obtained in the first step of experimental research. Materials were in spherical shape and showed great homogeneity. The good repeatability of presented method was also observed therefore the further studies of particles were conducted. In **publication D3** entitled **„Evaluation of cilazapril release profiles with the use of lignin-based spherical particles”** (M. Stanisz, Ł. Kłapiszewski, D. Moszyński, B. J. Stanisz, T. Jesionowski, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2022, 75, 103636) lignin based spherical particles were fabricated and then they were also combined with cilazapril. Prepared material was then used as drug delivery system. Three different mixtures with cilazapril, kraft lignin and spherical particles were prepared to form emulsions. The drug releasing profiles were carried out with the use of dialysis bag method, and the experiments were conducted at different pH values. The addition of lignin-based spherical particles enables the faster and more effective dissolution of the model drug, which may result in use of a smaller doses of the active substance.

Synthesized biopolymeric spherical particles show many reactive functional groups including carbonyl and carboxyl ones. Moreover, they are electrokinetically stable in aqueous solutions therefore lignin-based spherical particles prepared with the use of CTAB were also used as a biosorbent for removal of vanadium(V) from an aqueous system. In **publication D4** entitled **„Development of functional lignin-based spherical particles for the removal of vanadium(V) from and aqueous system”** (M. Stanisz,

Ł. Klapiszewski, D. Kołodyńska, T. Jesionowski, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 186, 181–193) it was tested, if the porous structure, functional groups of a sorbent or the particles size have the influence on the removal efficiency of ions. In addition, conditions that may affect the efficiency of vanadium(V) removal were also investigated. It was found that the adsorption of vanadium(V) ions on the surface of spherical particles is a heterogeneous, endothermic and spontaneous process.

Lignin-based spherical particles with the use of cationic surfactant were successfully presented. In the next step, natural extracts were used as a soft template for preparation of materials. Two different extracts derived from *Saponaria officinalis* L. and soap nuts of the *Sapindus mukorossi* tree, and the obtained results were presented in the **publication D5** „Sustainable design of lignin-based Spherical particles with the use of green surfactants and its application as sorbents in wastewater treatment” (M. Stanis, W. Smulek, K. Popielski, Ł. Klapiszewski, E. Kaczorek, T. Jesionowski, *Chemical Engineering Research and Design*, 2021, 172, 34–42). Spherical-shaped particles were obtained and additionally some of them were in doughnut-like shape. Particles were then used to remove the model substance from wastewater - cetirizine dihydrochloride. During the research, it was tested how the time, pH of the environment and the concentration of the pollutant affect the efficiency of removing the model compound. Presented spherical materials can be used in the future as environmentally friendly materials that absorb harmful substances.

Ionic liquids were also used for preparation of lignin-based spherical particles. This is a novel group of substances, which show additional benefits during synthesis of materials. In **publication D6** entitled „The practical utility of imidazolium hydrogen sulfate ionic liquid in fabrication of lignin-based spheres: Structure characteristic and antibacterial activity” (M. Stanis, Ł. Klapiszewski, A. Dobrowolska, A. Piasecki, K. Czaczyk, T. Jesionowski, *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10, 946665) the lignin based spherical particles with the use of 1-(propoxymethyl)-1H imidazolium hydrogen sulfate, which were combined in different weight ratios. The antibacterial properties were examined with the use of gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E. coli*), a gram-negative one. It was also tested, if the amount of ionic liquid has an influence on antibacterial properties of obtained materials. It was concluded, that all prepared samples show antibacterial properties against gram-positive bacterium.

Synthetic and natural surfactants as well as ionic liquids were used for preparation of lignin-based spherical particles with great homogeneity. In the last step of experimental

research, choline chloride was chosen as a soft template and the synthesis was carried out at different pH from 2 to 10 and the results were presented in **publication D7 „Tailoring lignin-based Spherical particles as a support for lipase immobilization”** (M. Stanis, K. Bachosz, K. Siwińska-Ciesielczyk, Ł. Kłapiszewski, J. Zdarta, T. Jesionowski, *Catalysts*, 2022, 12(9), 1031). After the synthesis, the best particles with spherical shape and great homogeneity were chosen for further investigation. The obtained materials were subjected to the immobilization process, The important stage of the research was the proper selection of the conditions for conducting the experiment, e.g. duration of the process, pH, temperature, support mass, as well as the concentration of the used protein. In addition, studies on the catalytic activity of materials after immobilization were carried out, during which the influence of temperature, thermal stability, pH and the possibility of reusing the immobilized system were evaluated using the hydrolysis model reaction of *para*-nitrophenyl palmitate (*p*-NPP) to *para*-nitrophenol (*p*-NP). It was noted, that the synthesized material with the use of choline chloride can be used as carriers for the immobilization of enzymes in selected branches of industry.

Finally, the last article **publication D8** entitled **„Recent progress in biomedical and biotechnological applications of lignin-based spherical nano- and microstructures: A comprehensive review”** (M. Stanis, Ł. Kłapiszewski, M. N. Collins, T. Jesionowski, *Materials Today Chemistry*, 2022, 26, 101198), in which the latest reports on the use of spherical particles with lignin in biomedicine and biotechnology were presented. One of the most promising applications are spheres which can be used as carriers for medicinal substances including targeted therapy to treat many diseases. In addition, particles modified with selected elements, such as gold or silver, can be used to accelerate wound healing, as well as inhibit the growth of selected bacterial strains. In addition, it was emphasized that lignin-based spherical particles can be used in the agrochemical industry, because the material has the ability to encapsulate pesticides and fungicides, with the reduction possibility of increased environmental pollution. The presented review was created to emphasize the positive importance of lignin in selected scientific and industrial patches, which may enable the further use of this raw material in the future.

It was shown, that lignin-based spherical particles can be prepared with the use of natural and synthetic surfactants as well as ionic liquids. Particles exhibit narrow sizes with spherical shape and great homogeneity. In the presented doctoral dissertation, lignin-based spherical particles with the use of the soft-templating method were presented. Different surface-active compounds including synthetic and natural ones, as well as ionic liquids were employed as



**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

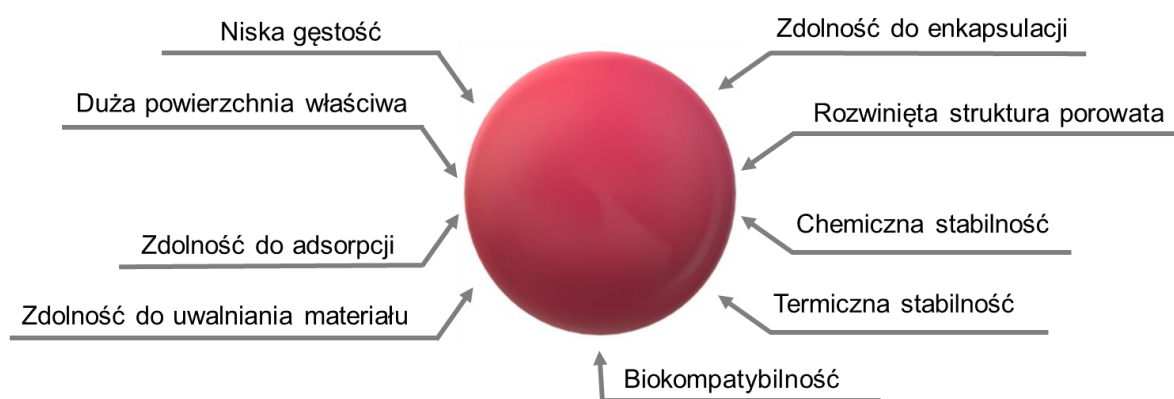
matrices. During the research, it was noted that the process parameters may affect the shape and morphology of the obtained materials. During the characteristic analysis of selected materials, an attempt was made to apply spherical particles in different industrial sectors. It was found that materials with the use of kraft lignin can be used in medicine as a carrier of different substances, which can additionally improve the stability of the drug, a sorbent of harmful substances, including organic compounds and metal ions and as a carrier for the immobilization of enzymes. Moreover, with the use of an appropriate soft matrix, the obtained spheres are characterized by antibacterial properties, which enables their future potential application in biotechnology. The proposed synthesis method enables the fabrication of environmentally friendly spherical materials with the use of by-waste feedstocks, which are characterized by outstanding properties and show the significant potential for their application in many scientific and industrial routes.

### 3. Wprowadzenie

#### 3.1. Otrzymywanie oraz charakterystyka sferycznych cząstek

##### 3.1.1. Rodzaje sferycznych cząstek

Sferyczne cząstki mogą cechować się zróżnicowaną morfologią [1]. Najistotniejsze właściwości materiałów zostały zaprezentowane na rysunku 3.1.1.1. Dodatkowo, wpływ charakterystyki układów na potencjalne właściwości zastosowań zebrano w tabeli 3.1.1.1. Do najbardziej popularnych zalicza się lite struktury, o budowie typu rdzeń-powłoka, charakteryzujące się pustym wnętrzem lub wielowarstwową budową [2].



**Rysunek 3.1.1.1.** Właściwości sferycznych cząstek

Lite cząstki (rysunek 3.1.1.2 a) występują w postaci tub, kostek, piramid, a także wyróżnia się struktury o nieregularnym kształcie [3]. Możliwość przemieszczania się materiału w układzie zależy nie tylko od sił grawitacyjnych oraz magnetycznych, ale także m.in. od sił van der Waalsa. Potencjalne zastosowanie materiału zależy bezpośrednio od termalnych, magnetycznych, optycznych oraz elektrycznych właściwości cząstek [4,5]. Ponadto, lite sfery często są wykorzystywane do otrzymywania innych wybranych typów cząstek, w tym materiałów typu rdzeń-powłoka (z ang. *core-shell particles*). Lite cząstki można otrzymać z każdego materiału stosując odpowiednią metodę syntezy. Przykładowo, Baruah wraz ze współpracownikami otrzymali struktury z udziałem węgla, stosując metodę hydrotermalną. Produkt cechował się rozwiniętą powierzchnią właściwą, co umożliwiło zastosowanie jego w elektrochemii, do otrzymywania superkondensatorów. Cząstki wykazywały znakomitą stabilność nawet po wykonaniu 5000 cykli katalitycznych [6]. Lite struktury otrzymano również z ligniny kraft. Zaprezentowano układy o średniej wielkości 739 nm, które następnie zastosowano jako dodatek do folii poliwinylowej. Materiał

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

cechował się właściwościami ochronnymi przed szkodliwym promieniowaniem słonecznym, dobrą stabilnością termiczną oraz mechaniczną [7].

**Tabela 3.1.1.1.** Właściwości wpływające na możliwości zastosowania cząstek

<b>Właściwości</b>	<b>Zastosowanie</b>	<b>Lit.</b>
<b>Powierzchnia właściwa</b>	ochrona środowiska, systemy do dostarczania substancji leczniczej	[8]
<b>Struktura porowata</b>	adsorpcja, systemy do dostarczania substancji leczniczej	[9]
<b>Grubość ścianki</b>	sensory, systemy do dostarczania substancji leczniczej	[10]
<b>Aktywność katalityczna</b>	sensory, oczyszczanie wody, adsorpcja	[11]
<b>Puste wnętrze (dla cząstek o pustej strukturze)</b>	przechowywanie energii, systemy do dostarczania substancji leczniczej, baterie, adsorpcja	[11]

Cząstki typu rdzeń-powłoka (rysunek 3.1.1.2. b) są bardzo interesującymi układami, w których zarówno rdzeń oraz powłoka są otrzymane z dwóch różnych materiałów. Połączenie substancji o różnych właściwościach umożliwia na syntezę cząstek o unikalnej charakterystyce i zwiększonych potencjalnych możliwościach zastosowania [12]. Powłoka chroni aktywną substancję umieszczoną wewnątrz cząstek przed niesprzyjającymi warunkami środowiska oraz przenosi materiał do określonego miejsca. Grubość powłoki ma duże znaczenie i determinuje właściwości produktu. Ponadto, wielkość tego parametru można regulować oraz kontrolować podczas procesu syntezy. Rdzeń wypełniający materiał może być płynny lub stały [10]. Jednym z najczęściej stosowanych płynnych substancji są oleje, które są chronione wewnątrz cząstek przed szybkim i niepożądanym rozkładem, ale także przed światłem, powietrzem i ciepłem [13]. Natomiast jako lite rdzenie najczęściej stosuje się krzemionkę, materiały węglowe oraz polimery, takie jak: styren oraz żywice [14]. Rdzeń determinuje późniejszy kształt otrzymanych cząstek. Zhang wraz ze współpracownikami otrzymali cząstki typu rdzeń-powłoka, w których tlenek cezu(IV) zastosowano jako powłokę, natomiast tlenek manganu(IV) jako rdzeń. Układy zostały

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

wykorzystane do procesu denitryfikacji. Dostrzeżono, że cząstki cechują się lepszą zdolnością do konwersji NO, gdy jako prekursor zastosowano  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ , w porównaniu do układów otrzymanych z wykorzystaniem  $MnC_4H_6O_4 \cdot 4H_2O$ , a także  $MnN_2O_6 \cdot 4H_2O$  [15]. Cząstki z pluronika F127 oraz chitozanu zostały otrzymane w celu enkapsulacji metotreksatu (MTX). W tym celu wykorzystano technikę micelizacji oraz żelowania i zsyntezowano cząstki o średnicach w zakresie od 181 do 417 nm. Zaobserwowano, że enkapsulacja leku przebiegła z dużą wydajnością od 80,14 do 85,54%. Układy są bezpieczne i biokompatybilne, dlatego mogą być zastosowane jako nowoczesne i selektywne systemy do dostarczania substancji leczniczych, w celu efektywnego leczenia reumatyzmu [16]. Banaee wraz ze współpracownikami wyekstrahowali gliadynę z glutenu, która następnie została połączona z pektyną, w celu enkapsulacji kurkuminy. Naturalna substancja aktywna cechuje się zmniejszoną bioaktywnością, z kolei połączenie jej z biopolimerowym nośnikiem zwiększa jej biokompatybilność. Otrzymane układy są wrażliwe na zmiany pH, dlatego najlepszą wydajność procesu uwalniania kurkuminy (87%) zaobserwowano w czasie 240 minut, w kwasowym pH środowiska reakcji. Biokompozyt cechuje się cytotoksycznością względem linii komórkowych NCF7 (80,02%) oraz Saos2 (78,06%) dlatego stanowi on obiecujący system podczas leczenia nowotworów [17]. Z drugiej strony, Sathiyaseelan wraz ze współpracownikami otrzymali cząstki ze srebra i platyny, które następnie były naniesione na bawełnianą gazę zmodyfikowaną chitozaniem. Otrzymany materiał cechował się zwiększoną aktywnością antyoksydacyjną oraz przeciwbakteryjną. Właściwości przeciwdrobnoustrojowe otrzymanych metalicznych cząstek były znacząco wyższe w porównaniu do komercyjnych substancji [18]. Asgari i inni otrzymali cząstki typu rdzeń-powłoka zbudowane z krzemionki oraz tlenku cynku. Układy zostały wykorzystane jako urządzenie do wykrywania etanolu, tlenku węgla, toluenu oraz propanu w podwyższonej temperaturze (270-420°C). Cząstki cechują się zwiększoną stabilnością oraz szybkością reakcji na obecność badanych gazów nawet w warunkach podwyższonej wilgotności powietrza [19]. Dodatkowo, materiał ten można modyfikować, w celu jego najlepszego połączenia z powłoką. Wnętrze cząstki typu rdzeń-powłoka można usunąć, aby otrzymać materiał o pustym wnętrzu.

Sferyczne cząstki o pustym wnętrzu (rysunek 3.1.1.1. c) cechują się dobrą możliwością enkapsulacji substancji i rozwiniętą strukturą porowatą, a także dobrą chemiczną i termiczną stabilnością [20]. Dodatkowo, szczególna uwaga jest zwrócona na ich mechaniczne właściwości, ze względu na strukturę materiału zapewniając stabilność oraz integralność układu [21]. Powłoka cząstki jest bardzo ważną częścią produktu, gdyż ma ona bezpośredni

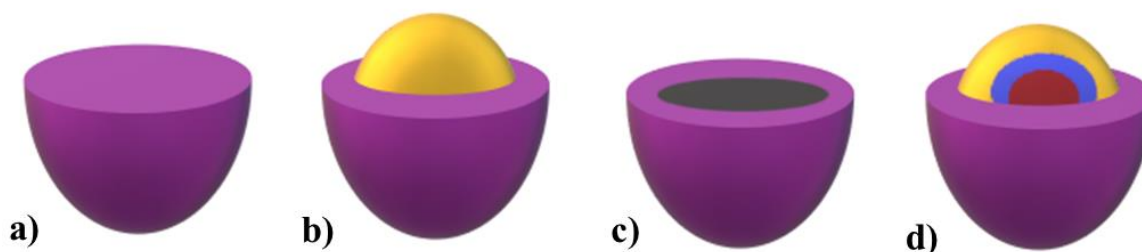
## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

wpływ na uwolnienie substancji aktywnej z wnętrza struktury. Stwierdzono, że jakość powłoki tworzącej cząstkę zależy od trzech głównych czynników: (i) ilości warstw tworzących cząstkę, (ii) przepuszczalności substancji aktywnej przez strukturę oraz (iii) grubości ścianki [22]. Wang wraz ze współpracownikami utworzyli sferyczne cząstki z udziałem węglowych nanowarstw, które cechowały się znaczną zdolnością do zarówno redukcji oraz otrzymywania tlenu, dlatego z powodzeniem mogą zostać wykorzystane w akumulatorach cynkowo-powietrznych [23]. Watanabe i inni otrzymali sferyczne cząstki z udziałem krzemionki. Zastosowana została metoda samoorganizacji, a jako substancję ochronną struktury wybrano polietylenoiminę (PEI). Stwierdzono, że dodatek modyfikatora, zastosowane pH oraz sposób rozpuszczenia krzemionki ma znaczący wpływ na otrzymanie sferycznych cząstek o pustym wnętrzu [24]. Analogiczne układy zbudowane z krzemionki zostały również zmodyfikowane nanocząstkami srebra. Materiał cechował się wielkością cząstek równą 120 nm, o rozwiniętej powierzchni właściwej ok. 76,5 m<sup>2</sup>/g oraz dobrą dystrybucją cząstek srebra w strukturze. Układy zostały wykorzystane do reakcji katalitycznych *p*-nitrofenolu, czerwieni Kongo oraz rodaminę B w obecności NaBH<sub>4</sub>. Zaobserwowano, że cząstki mogą z powodzeniem zostać wykorzystane do oczyszczania wód powierzchniowych z wybranych organicznych zanieczyszczeń [25]. Nikolić wraz ze współpracownikami otrzymali sferyczne cząstki z dodatkiem glinu, które zostały zmodyfikowane przy pomocy polietylenoiminy. Ze względu na dużą zawartość grup aminowych na powierzchni materiału, cząstki cechowały się bardzo dobrą pojemnością adsorpcyjną jonów Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> oraz As<sup>5+</sup>, a także diklofenaku z roztworów wodnych. Cząstki można wykorzystać do pięciu cykli adsorpcji oraz desorpcji bez zauważalnego zużycia się adsorbentu [26]. Wang wraz ze współpracownikami utworzyli sferyczne cząstki o pustym wnętrzu z udziałem krzemionki, które następnie zostały zmodyfikowane termoplastycznym elastomerem mocznika poliuretanowego (TPUU). Zauważono, że dodatek sferycznych struktur o pustym wnętrzu znacząco poprawia mechaniczne oraz termiczne właściwości TPUU, które wzrastają wraz ze zmniejszeniem się średnicy nanocząstek SiO<sub>2</sub>. Dodatkowo, układy SiO<sub>2</sub>-TPUU są bardziej odporne na pęknięcia wraz ze zmniejszeniem się wielkości cząstek [27]. Al-Khafaji wraz ze współpracownikami otrzymali sferyczne cząstki z udziałem krzemionki, które cechowały się zwiększoną porowatością oraz pustym wnętrzem. Dodatkowo, zbadano wpływ parametrów procesowych na charakter tworzenia się powłoki cząstek. Zaobserwowano, że wraz ze zwiększeniem stężenia 1,2-bis(trietoksylo)etanu (BTEE), bromku heksadecylotrimetyloamoniowego (CTAB) oraz amoniaku nastąpiło również zwiększenie grubości powłoki cząstek. Zastosowanie większej ilości prekursorów

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

proceedzi również do otrzymania cząstek o mniejszej średnicy [28]. Sferyczne cząstki  $\beta$ -SiC zostały otrzymane poprzez spalanie argonu, stosując krzem oraz poli(tetrafluoroetylen) (PTFE). Morfologia cząstek może być kontrolowana przez zastosowanie odpowiedniego stosunku molowego prekursorów. Gdy jest on równy 3 to zostają otrzymane sferyczne układy, natomiast, gdy parametr ten jest większy lub równy 5, otrzymane cząstki SiC są lite. Metoda ta nie wymaga użycia wcześniej przygotowanego sferycznego szablonu, a przedstawiony proces syntezy jest krótki [29]. Z drugiej strony, Hassan wraz ze współpracownikami otrzymali cząstki o pustym wnętrzu zbudowane z żelaza i kobaltu z dodatkiem azotu oraz węgla. Układy zostały zastosowane jako elektrokatalizator w superkondensatorach oraz w reakcjach redukcji tlenu. Bardzo wysoka wydajność procesów może być związana z mezo- oraz makroporowatym wnętrzem cząstek, a także zwiększoną powierzchnią właściwą [30].

Wielowarstwowe cząstki (rysunek 3.1.1.2. d) cechują się rozbudowaną morfologią z wieloma tunelami oraz porami w swojej strukturze. Jednym z ich najważniejszych zalet jest zwiększona gęstość cząstki oraz bardziej efektywna możliwość do enkapsulacji aktywnych związków w swoim wnętrzu [31].

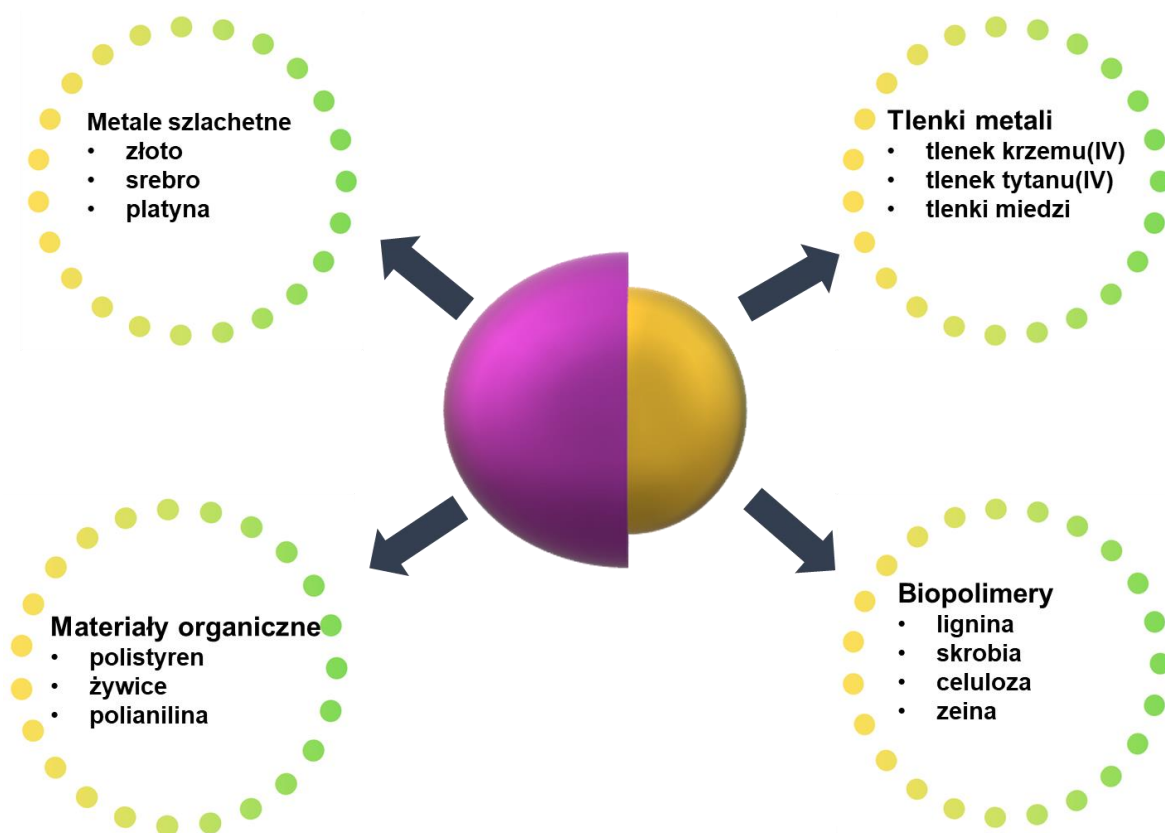


**Rysunek 3.1.1.2.** Wybrane rodzaje sferycznych cząstek: a) lite struktury, b) cząstki typu rdzeń-powłoka, c) układy o pustym wnętrzu oraz d) wielopowłokowe struktury

W porównaniu do cząstek zbudowanych z jednej warstwy, wielowarstwowe układy cechują się bardzo rozbudowaną strukturą wewnętrzną [32]. Mogą one znaleźć szczególne zastosowanie jako elektrody, baterie jonowo litowe oraz baterie słoneczne [33]. Sheng i inni otrzymali cząstki, w których rdzeń zbudowany był z glinu i krzemu, natomiast wielowarstwowa powłoka z tlenku glinu(IV) oraz miedzi. Zaprezentowane układy cechowały się integralnością nawet po 100 cyklach prowadzenia reakcji topnienia i krzepnięcia, z niskim ubytkiem rozpadu cząstek ok. 1,7%. Stwierdzono, że materiały mogą być zastosowane w procesach, w których stosuje się wysoką temperaturę [34].

### 3.1.2. Materiały stosowane do syntezy struktur sferycznych

Sferyczne cząstki mogą zostać przygotowane z wykorzystaniem szeregu różnych materiałów, w tym: metali szlachetnych, tlenków metali, związków organicznych oraz biopolimerów. Przykłady materiałów, które można zastosować do otrzymywania sferycznych cząstek zaprezentowano na rysunku 3.1.2.1. Bardzo często cząstki są otrzymywane ze związków organicznych, gdyż cechują się łatwością w przygotowaniu, nierozpuszczalnością w wodzie oraz zwiększoną możliwością do modyfikacji ich struktury [35].



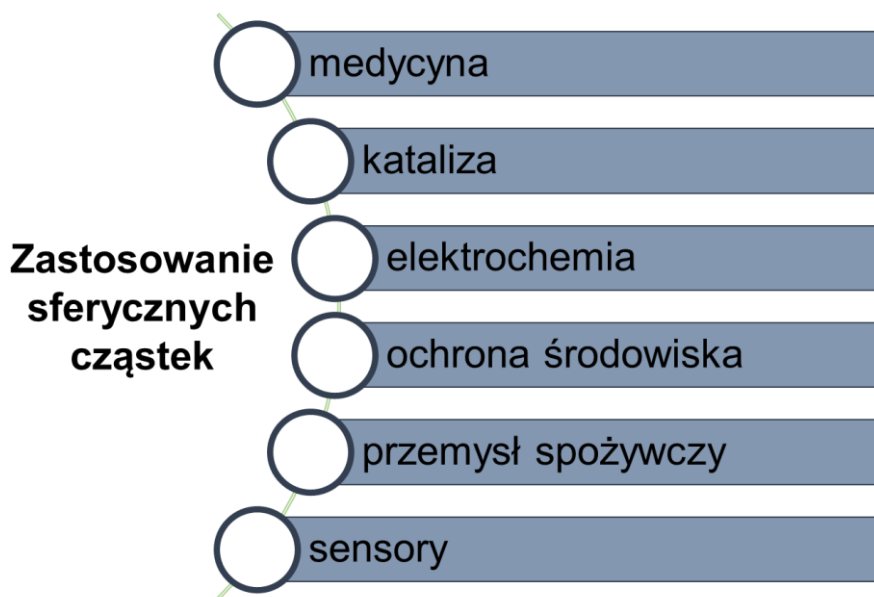
**Rysunek 3.1.2.1.** Wybrane materiały stosowane do otrzymywania sferycznych cząstek

Z drugiej strony, cząstki można otrzymać z nieorganicznych związków, takich jak: tlenki manganu, cynku, cyny oraz miedzi [36–38]. Ponadto, bardzo ważną grupą są materiały otrzymywane z metali szlachetnych, gdyż znajdują one szerokie zastosowanie w wielu gałęziach nauki i przemysłu [39]. Warto zwrócić uwagę, że cząstki złota mają bardzo dobre właściwości optyczne, katalityczne oraz biologiczne i często są stosowane do modyfikacji powierzchni wybranych materiałów. Jednak, konieczne jest zwrócenie uwagi na wielkość syntezowanych produktów, gdyż te o mniejszej średnicy (ok. 1-2 nm) wykazują właściwości toksyczne względem komórek, natomiast większe z nich (3-100 nm) są bezpieczne do

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

stosowania dla organizmów żywych [40]. Dobór właściwego materiału umożliwia na zastosowanie cząstek w licznych technologiach (rysunek 3.1.2.2. oraz 3.1.2.3.).

Mzwd wraz ze współpracownikami otrzymali cząstki z udziałem złota przy wykorzystaniu lasera. Jest to przyjazna środowisku metoda, która umożliwia fizyczne połączenie się nanomateriałów. Zaprezentowano cząstki ze złota utworzone w roztworze gumy arabskiej, które następnie zostały zastosowane jako środek kontrastujący w tomografii komputerowej oraz podczas terapii celowanej względem wybranych nowotworów. Obecność gumy arabskiej ma znaczący wpływ na wielkość otrzymanego produktu. Dodanie tej substancji pochodzenia roślinnego, jako stabilizatora, zmniejsza wielkość oraz zdolność do agregacji finalnych cząstek [41]. Cząstki złota zostały również zmodyfikowane cytrynianem sodu oraz glikolem polietylenowym w celu otrzymania materiału wrażliwego na zmiany wartości pH środowiska. Otrzymano nanocząstki w rozmiarach ok. 9 nm, o wielkości porów 2,1 nm i powierzchni właściwej 18 m<sup>2</sup>/g. Materiał cechował się relatywnie krótkim czasem reakcji ok. 0,5 sekundy i dobrą zdolnością do ochrony enkapsulowanej substancji aktywnej [42].



**Rysunek 3.1.2.2.** Wybrane możliwości zastosowań sferycznych struktur

Sferyczne cząstki z udziałem srebra cechują się wyróżniającymi właściwościami antybakteryjnymi. Dodatkowo, pomimo zwiększonej cytotoksyczności względem bakterii gram-dodatnich oraz gram-ujemnych, nanocząstki srebra są bezpieczne do stosowania jako substancje wspomagające leczenie w biomedycynie [43]. Warto zwrócić również uwagę, że cząstki te charakteryzują się bardzo dobrą stabilnością w roztworach wodnych [44]. Basavarajappa wraz ze współpracownikami otrzymali nanocząstki srebra, które zostały



## Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

zsyntezowane przy zastosowaniu ekstraktu z liści *Passiflora vitifolia* (*P. vitifolia*), pełniącego rolę reduktora oraz stabilizatora. Produkt cechował się bardzo dobrymi właściwościami przeciwdrobnoustrojowymi oraz antyoksydacyjnymi względem wolnych rodników. Warto zwrócić uwagę, że materiał wykazywał również aktywność przeciwnowotworową względem makrofagowej linii komórkowej RAW-264,7 z  $IC_{50}$  równym  $57,63 \mu\text{m}/\text{dm}^3$  [45]. Podobna metoda syntezy cząstek z udziałem srebra została przedstawiona przez Moges i innych. W tym celu został wykorzystany ekstrakt z liści i jagód *Hippophae salicifolia*. Zwrócono uwagę, że pH, temperatura oraz czas procesu mają znaczący wpływ na wielkość otrzymywanych materiałów. Cząstki o najbardziej sferycznym kształcie otrzymano w pH środowiska reakcji 9 oraz 11, w zakresie temperatur od 50 do 60°C, gdy proces prowadzono przez 46 godzin. Produkty, w rozmiarach od 7,87 do 13,86 nm, cechowały się bardzo dobrymi właściwościami przeciwutleniającymi, większymi niż czysty kwas askorbinowy [46]. Sferyczne cząstki z udziałem srebra, w rozmiarach od 25 do 35 nm, otrzymano również z ekstraktu z liści *Kigelia africana*. Badania przeprowadzono na linii komórkowej gruczolaka wysepkowatego, wydzielającego w nadmiernej ilości insulinę. Zauważono, że otrzymane próbki cechują się zdolnością do zahamowania zbyt dużej produkcji tego hormonu oraz zapobiegania powstawania cukrzycy [47].

Chen i inni otrzymani sferyczne cząstki platyny z wykorzystaniem kwasu chlorogenowego, jako czynnika redukującego oraz stabilizującego. Zaprezentowana metoda jest przyjazna środowisku i tania, a otrzymane cząstki można wykorzystać w nanomedycynie oraz w ochronie środowiska. Zastosowano wybrane stosunki molowe kwasu chloroplatynowego ( $\text{H}_2\text{PtCl}_6$ ) oraz kwasu chlorogenowego, tj.: 1:1, 1:2, 1:3 oraz 1:4 i otrzymano odpowiednio cząstki w rozmiarach:  $16,9 \pm 4,7$ ,  $13,3 \pm 4,0$ ,  $10,8 \pm 3,4$ , and  $7,5 \pm 2,3$  nm. Stwierdzono, że wielkość cząstek można kontrolować w zależności od ilości zastosowanych substratów reakcji. Otrzymane układy zastosowano do usuwania wolnych rodników, co wskazuje że mogą one zostać potencjalnie wykorzystane w biomedycynie oraz procesach katalitycznych [48]. Sathiyaraj i inni zastosowali czerwone algi *Halymenia dilatata* do otrzymania sferycznych cząstek z udziałem platyny o średniej wielkości równej  $15,0 \pm 1,7$  nm. Materiał wyróżniał się bardzo dobrymi właściwościami przeciwbakteryjnymi przeciwko bakterii gram-dodatniej *Streptococcus pneumonia* oraz gram-ujemnej *Aeromonas hydrophila*, a także dużą cytotoksycznością względem linii komórek nowotworowych MDA-MB-231. Warto również podkreślić, że otrzymane cząstki cechowały się niewielką toksycznością względem *Artemia nauplii* nawet w dużych stężeniach materiału, dlatego stwierdzono, że są one bezpieczne dla środowiska [49]. Podobną syntezę cząstek z platyny

## Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

z zastosowaniem materiałów pochodzenia naturalnego zaprezentował Fanoro wraz ze współpracownikami. Do otrzymywania sfer zastosowano ekstrakt z liści *Combretum erythrophyllum*, który pełnił funkcję zarówno bio-reduktora, jak i stabilizatora reakcji. Otrzymano układy o średnicach  $1,04 \pm 0,26$  nm, które były bardzo dobrze zdyspergowane. Cząstki miały bardzo dobre właściwości antibakteryjne przeciwko *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella oxytoca*, a także *Klebsiella aerogenes* [50]. Eltaweil i inni otrzymali sferyczne cząstki platyny z wykorzystaniem wodnego ekstraktu liści *Atriplex halimus* jako reduktora. Układy były stabilne w roztworze aż do trzech miesięcy wykazując zdolność do redukcji błękitu metylenowego oraz aktywność antibakteryjną względem bakterii gram-ujemnych [51]. Cząstki krzemionki modyfikowane platyną zostały również zastosowane do redukcji błękitu metylenowego, rodamininy B oraz *p*-nitrofenolu. Układy charakteryzowały się zwiększoną aktywnością katalityczną względem zastosowanych substancji i dlatego stwierdzono, że zsyntezowany materiał może być zastosowany jako katalizator podczas remediacji środowiska [52]. Garlyyev i inni zaprezentowali otrzymywanie cząstek platyny z dodatkiem węgla, w celu zastosowania ich jako alternatywnego napięcia do makroskopowych struktur z udziałem platyny, takich jak dysków czy drutów. Zauważono, że rozmiar i kształt cząstek może być modyfikowany wraz ze zmieniającym się potencjałem i częstotliwością napięcia, a także stężeniem elektrolitu. Im mniejsza amplituda zastosowanego prądu przemiennego tym otrzymano mniejsze cząstki. Układ platyna-węgiel cechował się dwukrotnie większą zdolnością do redukcji tlenu, w porównaniu do komercyjnych materiałów [53].

Tlenki nieorganiczne są grupą, która jest często wykorzystywana do otrzymywania sferycznych cząstek. Możliwości zastosowania układów otrzymanych z tlenków nieorganicznych przedstawiono w tabeli 3.1.2.1. Jednym z najczęściej stosowanych materiałów tlenkowych do produkcji sferycznych cząstek jest krzemionka. Dat Mai wraz ze współpracownikami otrzymali mezoporowate sferyczne cząstki z udziałem krzemionki, jako selektywne nośniki do dostarczania substancji leczniczych. Zaprezentowane homogeniczne układy, o średnicy cząstek ok. 50 nm zostały połączone z paklitakselem, hydrofobowym lekiem przeciwnowotworowym. Próbkę cechowała znakomitą zdolnością do enkapsulacji leku ok. 602 mg/g, a proces uwolnienia substancji leczniczej przebiegał w dwóch etapach. Początkowo dostarczanie leku przebiegało szybko, a następnie wraz z wydłużeniem czasu trwania procesu, wolniej przechodząc w stan równowagi [54]. Nguen wraz ze współpracownikami również otrzymali sferyczne cząstki o pustym wnętrzu z udziałem krzemionki. W tym celu jako związek stabilizujący zastosowano glikol

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

polietylenowy (PEG). Zwrócono uwagę, że wraz ze wzrostem masy cząsteczkowej lub stężenia PEGu nastąpiło zwiększenie się grubości ścianki budującej sferę. Przy zastosowaniu 2% PEG 600 cząstki charakteryzowały się wielkością ok. 95 nm, z grubością powłoki ok. 14 nm. Badania te są bardzo istotne, gdyż możliwość modyfikacji charakterystyki sferycznych cząstek, a w szczególności grubości ścianki je budujących pozwala na zastosowanie utworzonego materiału jako selektywnego systemu do dostarczania substancji leczniczych [55]. Liu wraz ze współpracownikami przedstawili otrzymywanie sferycznych cząstek z udziałem krzemionki, stosując metodę Stöbera przy wykorzystaniu sonikacji (80, 120 oraz 500 kHz). Potwierdzono, że z wykorzystaniem tej metody można skrócić czas trwania reakcji oraz kontrolować wielkość powstających produktów. Zaobserwowano, że wielkość cząstek wzrasta wraz ze wzrostem czasu sonikacji oraz objętości, w której prowadzono syntezę, co jest korzystne podczas powiększania skali produkcyjnej [56]. Sferyczne cząstki z udziałem krzemionki o pustym wnętrzu mogą zostać również wykorzystane do adsorpcji uranu z roztworów wodnych. Materiał cechował się pojemnością adsorpcji równą 123,3 mg/g w pH 6 oraz w 25°C [57].

Kolejnym, bardzo często stosowanym tlenkiem do otrzymywania sferycznych cząstek jest tlenek tytanu(IV). Bardzo interesujące badania zostały zaprezentowane przez Xiang i innych, w których stosując metodę mikrofalową otrzymano sferyczne cząstki z udziałem  $\text{TiO}_2$  zmodyfikowane pierwiastkami ziem rzadkich. Czas trwania syntezy jest krótki (10 minut), bez konieczności stosowania matrycy lub surfaktantu. Otrzymano cząstki o dużej stabilności z relatywnie wąskim zakresem wielkości cząstek. Poprzez modyfikację mikrosfer zwiększone zostają jej możliwości aplikacyjne, m.in.: biologiczne lub środowiskowe [58]. Shoyiga ze współpracownikami otrzymali nanokompozyt złożony ze sferycznych, bardzo krystalicznych cząstek  $\text{TiO}_2$ , które połączono z tlenkiem grafenu. Materiał cechował się zmniejszoną przerwą energetyczną, zdolnością do absorpcji fotonów oraz wzbudzania elektronów. Podkreślono, że hydrotermalna synteza nanokompozytu umożliwia na otrzymanie materiału o właściwościach fotoelektronicznych, zwiększających ich możliwości zastosowań w nanoelektronice [59]. Sferyczne materiały można również otrzymać z zastosowaniem tlenku cynku. Alahdal i inni zaprezentowali proekologiczną oraz tanią metodę otrzymywania nanocząstek  $\text{ZnO}$  z zastosowaniem ekstraktu z liści *P. austroarabica*, jako naturalnej substancji redukującej. Przedstawiono sferyczne cząstki o średnicy 14 nm, charakteryzujące się znaczną zdolnością do rozkładu związków organicznych, a także bardzo dobrymi właściwościami przeciwutleniającymi.

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

Zaproponowano również zastosowanie otrzymanych cząstek do detekcji szkodliwych substancji oraz jako katalizator podczas usuwania szkodliwych substancji [60].

**Tabela 3.1.2.1.** Zastosowanie sferycznych cząstek z udziałem tlenków nieorganicznych

<b>Nieorganiczny materiał</b>	<b>Struktura</b>	<b>Właściwości</b>	<b>Zastosowanie</b>	<b>Lit.</b>
<b>Cyna</b>	pusta wewnętrzna struktura	dobra zdolność do magazynowania energii	baterie jonowo-litowe	[61]
<b>Tlenek cyny</b>	pusta wewnętrzna struktura	aktywność elektrokatalityczna	katalityczne nanoreaktory, sensory gazów	[61]
<b>Tlenek kobaltu(II) oraz (III)</b>	porowata	dobra stabilność, możliwość wielokrotnego zastosowania	sensory acetonu	[62]
<b>Tlenek żelaza(II)</b>	pusta wewnętrzna struktura	dobra stabilność termiczna	systemy do dostarczania leków	[63]
<b>Tlenek miedzi(I)</b>	struktura wielowarstwowa, o pustym wnętrzu	dobra stabilność	systemy do dostarczania leków	[38]
<b>Tlenek miedzi(II)</b>	stałe cząstki lub pusta wewnętrzna struktura	rozkład barwników, aktywność fotokatalityczna	ochrona środowiska, materiały energetyczne	[64]

Cząstki tlenku cynku otrzymano również stosując wodny roztwór ekstraktu z nasion *Melia azedarach*. Potwierdzono, że produkt otrzymany klasycznymi metodami jest bardziej toksyczny względem komórek raka wątroby (HepG2), natomiast cechuje się dobrymi właściwościami antibakteryjnymi, szczególnie względem bakterii gram-ujemnych [65]. Podobne wnioski przedstawione zostały przez Alshraiedeha wraz ze współpracownikami. Podczas badań otrzymano nanocząstki tlenku cynku o rozmiarze ok. 100 nm. Materiał

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

cechował się bardzo dobrymi właściwościami antybakteryjnymi względem *Pseudomonas aeruginosa* [66].

Cząstki lipidowe wyróżniają się zdolnością do tworzenia monowarstwy umożliwiając zastosowanie ich jako środków ochronnych i nawilżających w kosmetykach dla bardzo wrażliwej skóry. Dodatkowo, charakteryzują się znaczną stabilnością i zdolnością do uwalniania substancji aktywnych, dlatego zostały również zastosowane do ochrony leków przed ich degradacją oraz jako systemy do dostarczania substancji leczniczych. Warto zwrócić uwagę, że dodanie cząstek lipidowych do kremów przeciwsłonecznych, powoduje wzmocnioną ochronę przed promieniowaniem UV bez nadmiernego występowania reakcji ubocznych. Niektóre leki ze względu na swoją niską biodostępność mogą cechować się niską przepuszczalnością przez tkanki oraz ulegać szybkiemu rozkładowi [67]. Zastosowanie lipidowych cząstek umożliwia na zwiększone wykorzystanie olejku rumiankowego, który tworzy specjalną warstwę na powierzchni materiału. Otrzymany układ typu rdzeń-powłoka poprawia biodostępność olejku rumiankowego z jednoczesnym przyspieszeniem tworzenia się kolagenu, co przyspiesza gojenie się ran [68]. Cząstki lipidowe można także zastosować do przenoszenia karotenoidów, prekursorów witaminy A, ze względu na swoją biokompatybilność, zdolność do kontrolowanego uwolnienia substancji leczniczej oraz ochronę przez niekorzystnymi warunkami środowiska [69]. Wu wraz ze współpracownikami otrzymali cząstki z fosforanu wapnia, które zostały otoczone lipidową monowarstwą. Stwierdzono, że cząstki są nietoksyczne oraz cechują się dobrą biokompatybilnością. Ponadto, w ich wnętrzu umieszczono doksorubicynę oraz paklitaksel, umożliwiając na zniszczenie komórek nowotworu płuc [70].

W ostatnich latach ze względu na rozwój technologii, a tym samym zwiększenie się ilości materiałów odpadowych do produkcji sferycznych cząstek zaczęto wykorzystywać biopolimery, pochodzące od organizmów żywych i innych naturalnych źródeł [71]. Wyróżnia się wiele grup biopolimerów, m.in.: polinukleotydy, białka, a także polisacharydy, które mogą być stosowane w wielu gałęziach nauki i przemysłu (tabela 3.1.2.2.). Choć polimery syntetyczne cechują się wieloma zaletami, m.in.: łatwością w przygotowaniu cząstek, bardzo dobrymi właściwościami mechanicznymi oraz kontrolowaną szybkością rozpadu materiału [72], to jednak, ze względu na stale rosnące zainteresowanie ochroną środowiska podjęto próbę zastąpienia komercyjnych cząstek ich biopolimerowymi odpowiednikami.

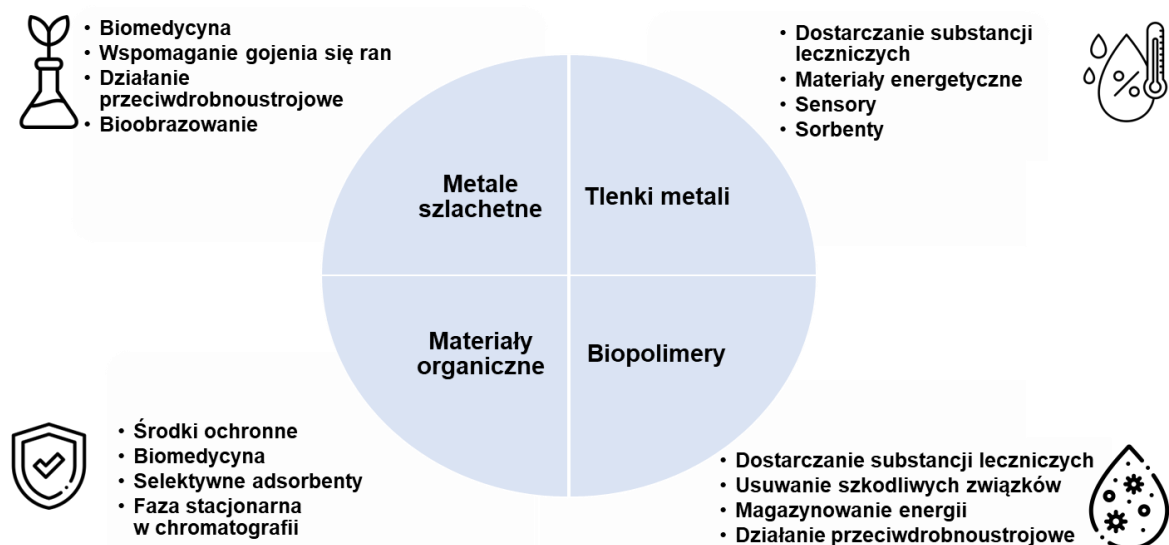
**Tabela 3.1.2.2.** Zastosowanie cząstek z udziałem biopolimerów

<b>Biopolimer</b>	<b>Struktura</b>	<b>Zastosowanie</b>	<b>Lit.</b>
<b>Zeina</b>	rdzeń-powłoka	możliwość formowania stabilnej dyspersji	[73]
<b>Zeina i guma arabska</b>	rdzeń-powłoka	kontrolowane uwalnianie substancji aktywnej	[74]
<b>Kolagen</b>	cząstki o pustym wnętrzu	długoterminowe uwalnianie substancji aktywnej	[75]
<b>Lignina</b>	lita	usuwanie pestycydów	[76]
<b>Lignina</b>	rdzeń-powłoka	dostarczanie leków oraz antyoksydantów	[77]
<b>Lignina</b>	cząstki o pustym wnętrzu	adsorpcja	[78]
<b>Chityna</b>	lita	adsorpcja barwników	[79]
<b>Celuloza</b>	lita	elektrochemia i elektronika	[80]

Jednym z biopolimerów, który w ostatnich latach jest coraz częściej wykorzystywany do produkcji sferycznych cząstek jest zeina. Li wraz ze współpracownikami otrzymali cząstki z udziałem zeiny oraz kwasu taninowego, w celu zahamowania procesu utleniania olejku z pestek porzeczki. Otrzymano cząstki o rozmiarach mniejszych niż 200 nm oraz zaobserwowano, że oba naturalne prekursorzy zostały ze sobą połączone poprzez elektrostatyczne oraz hydrofobowe oddziaływania, a także wiązania wodorowe. Cząstki utworzyły zbity film na powierzchni międzyfazowej olej – woda, co umożliwiło na zmniejszenie zawartości tlenu, a tym samym zahamowanie procesu utleniania [81]. Xia oraz inni otrzymali sferyczne cząstki z udziałem zeiny, w których wnętrzu umieszczono olejek z *Litsea cubeba*. Oba prekursorzy zostały połączone ze sobą poprzez wiązania wodorowe. Warto podkreślić, że materiał cechował się bardzo dobrymi właściwościami antibakteryjnymi względem bakterii gram-dodatnich. Ponadto, olejek z *Litsea cubeba* został uwolniony szybciej z wnętrza cząstek w pH 4,5 niż 7, co umożliwia na stwierdzenie, że cząstki są wrażliwe na zmiany pH środowiska. Otrzymany produkt został przetestowany w celu konserwacji mięsa wieprzowego. Zauważono, że dodanie sferycznych cząstek opóźnia zmianę koloru mięsa, pH oraz zapobiega przedwczesnemu utlenianiu się badanej próbki [82]. Podobne badania dotyczące przechowywania produktów spożywczych zostały

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

przeprowadzone przez zespół Zhenga. Podczas badań otrzymane zostały sferyczne cząstki z zeiny oraz kazeiny, w których wnętrzu enkapsulowano karwakrol. Produkty cechowały się wielkością cząstek od 50 do 200 nm oraz bardzo dobrą stabilnością układu. Warto podkreślić, że dodanie otrzymanego materiału do poliwinylowej folii przedłuża świeżość zapakowanych z jej pomocą produktów spożywczych. Zaobserwowano wydłużenie trwałości jedzenia, a tym samym zapobieganie niepożądanego marnowania produktów [83]. Z drugiej strony, Yang wraz z współpracownikami otrzymali kompozytowe cząstki z zeiny oraz polisacharydu z *Mesona chinensis*, w celu zwiększenia stabilności oraz bioaktywności kurkuminy, umieszczonej wewnątrz biopolimerowych cząstek. Zwrócono uwagę na bardzo dobrą efektywność enkapsulacji materiału (powyżej 94%), natomiast produkt cechował się wielkością cząstek ok. 223 nm oraz gładką powierzchnią sfer. Podczas badań *in vitro* stwierdzono, że otrzymane układy mogą zostać wprowadzone do wnętrza komórek raka wątroby, a tym samym powodować ich apoptozę oraz zapoczątkować produkcję tlenu rodnikowego. Sferyczne cząstki mogą znaleźć zastosowanie jako nowoczesne nośniki kurkuminy [84].



**Rysunek 3.1.2.3.** Możliwości zastosowania sferycznych cząstek z udziałem wybranych materiałów

Kolejnym biopolimerem stosowanym do produkcji sferycznych cząstek jest skrobia, która jest polisacharydem występującym w roślinach jako źródło magazynowania energii. Jest to nietoksyczny materiał cechujący się bardzo dobrą reaktywnością chemiczną. Morán wraz z współpracownikami otrzymali sferyczne nanocząstki z udziałem skrobi, z zastosowaniem metody mikroemulsji. Produkt o średnicy od 30 do 40 nm zmodyfikowano tlenkiem żelaza, w celu uzyskania magnetycznych właściwości układu. Materiały będzie

## Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

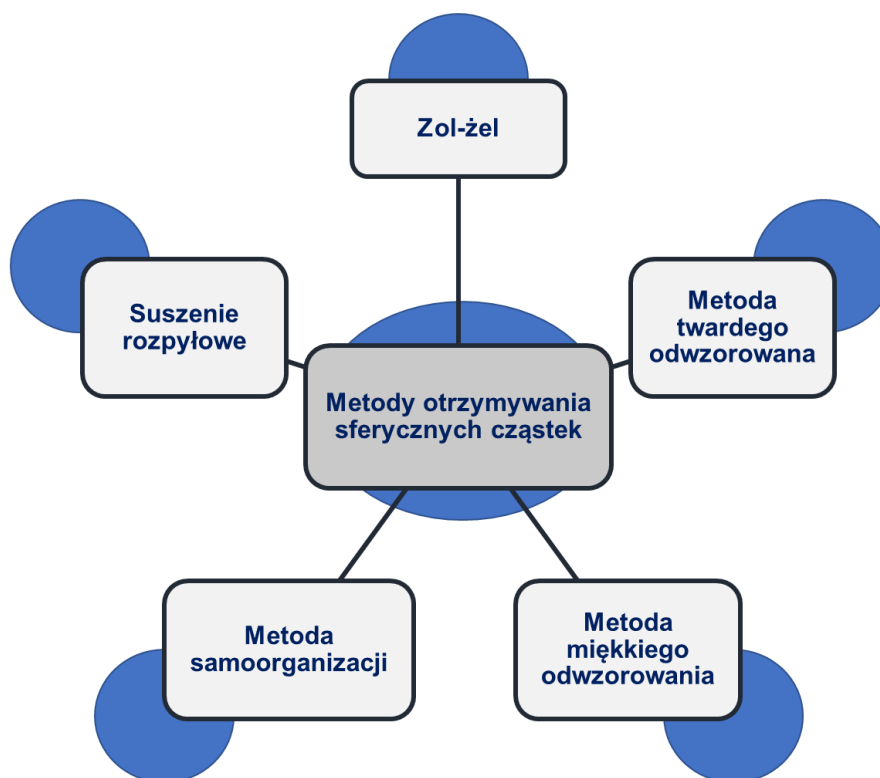
można w przyszłości zastosować w biomedycynie jako selektywne systemy do dostarczania substancji leczniczej oraz markery podczas określenia jednostki chorobowej [85]. Skrobia może być również wykorzystana do enkapsulacji hydrofobowych substancji. Hoyos-Leyva wraz ze współpracownikami umieścili olejek migdałowy wewnątrz sferycznych cząstek z udziałem skrobi. Większa zawartość olejku umożliwiła na bardziej efektywną enkapsulację substancji. Produkt cechował się bardzo dobrą porowatością struktury, powłoka umożliwiła na ochronę oleju przed utlenieniem z jednoczesnym długotrwałym uwolnieniem aktywnego związku [86]. Ten sam zespół porównał również układy otrzymane ze skrobi, w których umieszczona została substancja hydrofobowa (olejek migdałowy) lub hydrofilowa (kwas askorbinowy). Zaobserwowano, że enkapsulacja związków hydrofobowych zmniejsza ich szybkość dyfuzji z wnętrza cząstki, w porównaniu do hydrofilowej substancji [87].

Celuloza jest kolejnym biopolimerem, który można zastosować do otrzymywania sferycznych cząstek. Materiał cechuje się dobrą biodegradowalnością oraz biokompatybilnością, a także zwiększoną powierzchnią właściwą. Xu oraz Chen otrzymali cząstki z celulozy przygotowane z pulpy eukaliptusowej z zastosowaniem ksylanazy oraz celulazy do hydrolizy enzymatycznej. Stwierdzono, że pH środowiska ma znaczący wpływ na proces powstawania cząstek. W środowisku kwasowym cząstki ulegają zestaleniu i nanokryształy celulozy mogą zostać z powodzeniem odseparowane z mieszaniny. Otrzymano cząstki o wielkości 30 nm, cechujące się lepszą stabilnością termiczną w porównaniu do materiałów wytworzonych przy pomocy innych, komercyjnych metod [88]. Z drugiej strony, Sha wraz z współpracownikami otrzymali nanocząstki celulozy, które następnie zostały umieszczone w końcówkach do pipet jako hydrofilowa faza stacjonarna. Ponadto, otrzymany został kompozyt złożony z nanosferycznych cząstek srebra i celulozy. Biopolimer został zastosowany nie tylko jako środek redukujący, ale także jako nośnik metalicznych cząstek, umożliwiając ich bardzo dobrą dystrybucję na powierzchni. Produkt cechował się wyróżniającymi właściwościami antybakteryjnymi względem *E. coli* oraz *S. aureus*. Warto również zwrócić uwagę, że cząstki odznaczały się właściwościami katalitycznymi, umożliwiającymi na degradację *para*-nitrofenolu [89]. Biswal wraz ze współpracownikami otrzymali sferyczne nanocząstki z udziałem celulozy, do których przygotowania zastosowano biomasę z drzewa *Diospyros melanoxylon*. Materiały wykorzystano do usuwania tetrazyny, żółtego barwnika, znajdującego się w roztworach wodnych. Podkreślono, że organiczny związek został usunięty w ponad 95%, a proces adsorpcji przebiega ze względu na oddziaływania polarno-niepolarne [90].



### 3.1.3. Metody otrzymywania sferycznych materiałów

Rodzaj zastosowanej metody otrzymywania sferycznych cząstek ma duży wpływ na właściwości zsyntezowanych cząstek, w szczególności na ich mieszalność, stabilność oraz właściwości magnetyczne. Dodatkowo, możliwe jest również zaprojektowanie kształtu, wielkości, a także wybranych cech charakterystycznych, w tym ilości powłok tworzących cząstkę oraz obecności porów i tuneli w strukturze układu [91,92]. Wyróżnić można chemiczne oraz mechaniczne metody, które stosuje się do otrzymywania sferycznych materiałów (rysunek 3.1.3.1).



**Rysunek 3.1.3.1.** Metody stosowane do otrzymywania sferycznych cząstek

Metoda zol-żel jest dobrze poznaną procedurą do otrzymywania nie tylko litych cząstek zbudowanych z tlenków krzemu(IV), tytanu, cyrkonu oraz cynku. Proces ten jest tani, może być przeprowadzony w warunkach standardowych, a otrzymane cząstki cechują się gładką powierzchnią zewnętrzną [93]. Metoda ta pozwala również na naniesienie jednej lub wielu warstw określonej substancji na stałym szablonie, w celu otrzymania cząstek typu rdzeń-powłoka lub materiałów o pustym wnętrzu. Proces ten można prowadzić w środowisku wodnym lub w obecności związków organicznych, takich jak etanol. Niezbędny tlen jest zazwyczaj dostarczany wraz z rozpuszczalnikiem, w którym zachodzą reakcje hydrolizy i kondensacji. Stwierdzono, że oczekiwaną wielkość, kształt oraz morfologię układu

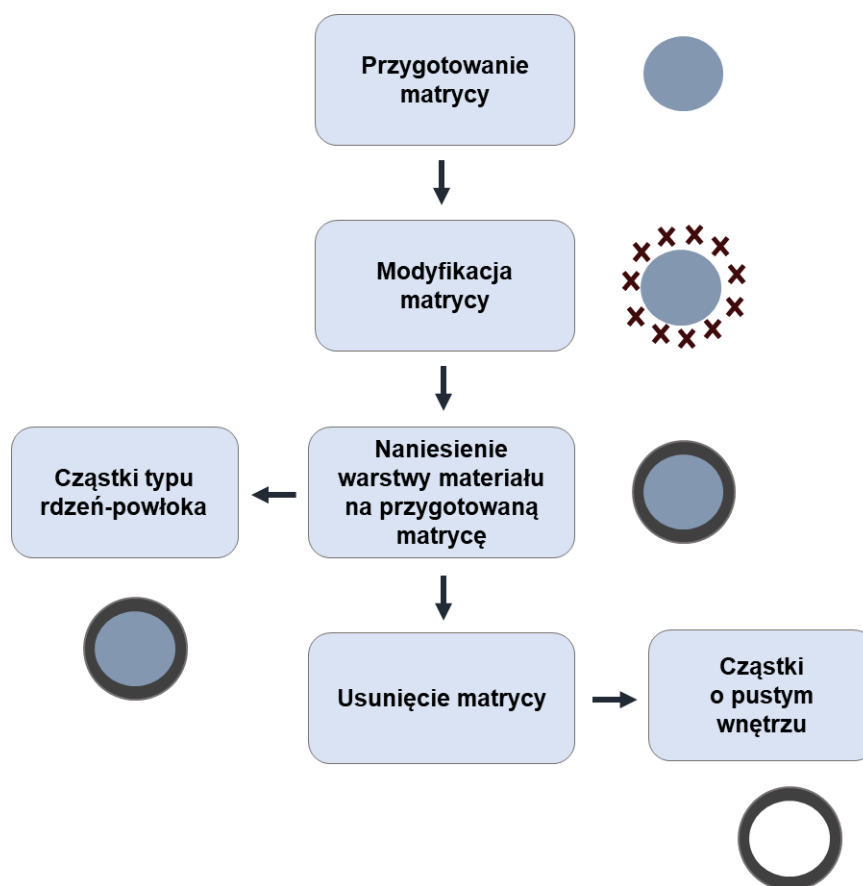
## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

zaobserwowano stosując rozpuszczalniki niepolarne. Powszechnie znana metoda Stöbera umożliwia otrzymanie sferycznych cząstek krzemionki. Proces ten składa się z dwóch etapów, w pierwszej kolejności następuje hydroliza, a następnie kondensacja związków silanowych. Rodzaj zastosowanego katalizatora ma znaczący wpływ na kształt utworzonego produktu. Prowadzenie procesu w środowisku zasadowym prowadzi do otrzymania sferycznych cząstek, natomiast w kwasowym bardziej liniowego produktu [94]. Stwierdzono, że zawartość poszczególnych związków użytych podczas syntezy ma wpływ na finalną charakterystykę otrzymanych cząstek. Wraz ze zwiększeniem ilości amoniaku wytworzone zostały materiały o rozmiarze 478-875 nm, natomiast mniejsze cząstki, poniżej 300 nm, powstały przy większym zadozowaniu TEOSu [95]. Selvaraj wraz ze współpracownikami zsyntezowali sferyczne cząstki siarczku cynku (ZnS) stosując proces zol-żel. Jako prekursorzy zostały zastosowane: chlorek cynku ( $ZnCl_2$ ) oraz siarczek sodu ( $Na_2S \cdot H_2O$ ). Proces prowadzono w kwasowym środowisku przez 12 godzin, a otrzymane cząstki wysuszono i kalcynowano w piecu, w  $200^\circ C$  [96]. Larkunthod i inni otrzymali sferyczne cząstki z udziałem krzemionki wykorzystując w tym celu łuski ryżu zdyspergowane w 0,5 M roztworze NaOH, podgrzewając mieszaninę do  $100^\circ C$  przez 4 godziny. Następnie, za pomocą 10-procentowego roztworu kwasu siarkowego(VI) obniżono pH do 7 i pozostawiono na 24 godziny w celu stopniowego wytrącenia się cząstek krzemionki. Otrzymany materiał został zliofilizowany w celu pozbycia się nadmiaru wody [97]. Z drugiej strony, Lee wraz ze współpracownikami otrzymali mezoporowate sferyczne cząstki z niklu oraz warstwowych krzemianów. Zastosowano hydrotermalny proces zol-żel w środowisku zasadowym. Ponadto, do produkcji materiału wykorzystano CTAB w celu nadania odpowiedniego kształtu cząstkom. Otrzymany produkt przefiltrowano i wysuszono, a następnie kalcynowano w  $550^\circ C$  przez 5 godzin [98]. Nanokryształy  $Ca_2Fe_2O_5$  zostały również otrzymane z zastosowaniem metody zol-żel. Sole prekursorów zmieszano w stosunku molowym 1:2 i podgrzano do  $90^\circ C$  podczas ciągłego mieszania. Otrzymany produkt został poddany kalcynacji w temperaturze 600 oraz  $800^\circ C$  przez 10 godzin w celu uzyskania finalnego produktu [99]. Mariappan wraz ze współpracownikami otrzymali nanocząstki tlenku tytanu(IV) oraz hydroksyapatytu zmodyfikowanego srebrem. Proces przeprowadzono w środowisku zasadowym, przy ciągłym mieszaniu otrzymanego roztworu, tak długo aż nie powstał pożądany żel. Materiał następnie wysuszono w  $110^\circ C$ , a kolejno kalcynowano w piecu w  $500^\circ C$  w atmosferze powietrza. Otrzymany homogeniczny proszek poddano dalszym analizom [100]. Dodatkowo, cząstki  $CoFe_2O_4$  zostały otrzymane przy zastosowaniu metody zol-żel wspomaganej ultradźwiękami. Proces przeprowadzono

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

w temperaturze 600°C w celu przeniesienia kationu z czworo- i ośmiościennej struktury materiału, zmieniając jego właściwości optyczne oraz magnetyczne [101].

Metoda z zastosowaniem twardej matrycy jest bardzo często stosowana w celu otrzymania cząstek typu rdzeń-powłoka oraz o pustym wnętrzu (rysunek 3.1.3.2). W pierwszej kolejności konieczne jest zaprojektowanie oraz otrzymanie sferycznego materiału, który posłuży jako matryca do nanoszenia dalszych warstw substancji [102].



**Rysunek 3.1.3.2.** Schemat otrzymywania sferycznych cząstek z wykorzystaniem twardej matrycy

Lite cząstki bardzo często poddaje się procesowi modyfikacji przed naniesieniem pierwszej warstwy powłoki. Najczęściej jako matryce stosuje się krzemionkę, polistyren, węgiel, a także węgiel wapnia. Modyfikacja powierzchni jest zazwyczaj konieczna w celu poprawienia zdolności przyłączania się wybranych substancji, a tym samym zwiększenia efektywności przeprowadzanego procesu. Zastosowana matryca ma wpływ na przyszły kształt cząstek, natomiast grubość powłoki budującej finalny materiał bezpośrednio zależy od zastosowanej metody syntezy. W celu nabudowania kolejnej warstwy zazwyczaj stosuje się proces zol-żel oraz hydrotermalny. Sferyczne cząstki o pustym wnętrzu zostają

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

zsyntezowane poprzez usunięcie twardej matrycy z układu. Zastosowany szablon można usunąć poprzez chemiczne wytrawianie, kalcynację, a także bezpośrednio rozpuszczanie. Sposób przeprowadzenia tego procesu musi być ściśle dopasowany do materiału, z którego zostały otrzymane sferyczne cząstki, gdyż niepoprawne usunięcie matrycy może prowadzić do zniszczenia finalnego układu [20].

Wu wraz ze współpracownikami zaprezentowali cząstki puste w środku wykorzystując platynę, tlenek tytanu(IV), siarczek kadmu oraz tlenek kobaltu(II) i (III). Jako twardą matrycę zastosowano polistyren, który następnie zmodyfikowano platyną. Kolejno naniesiono warstwy pozostałych prekursorów, w celu uzyskania materiału typu rdzeń-powłoka. W ostatnim etapie produkt został poddany kalcynacji otrzymując cząstki o pustym wnętrzu. Struktury zostały wykorzystane podczas chemicznej reakcji rozłożenia wody na wodór i tlen. Podkreślono, że układ poprawia wydajność procesu, otrzymując 62,2  $\mu\text{mol/g}$   $\text{H}_2$  oraz 29,7  $\mu\text{mol/g}$   $\text{O}_2$  [103]. Sferyczne cząstki o pustym wnętrzu, z udziałem krzemionki, zostały otrzymane przy zastosowaniu polisiloksyenu zmodyfikowanego merkaptopropylem jako porowatej matrycy (Mp-P). Właściwości Mp-P w tym ich rozmiar oraz wielkość porów można modyfikować poprzez zmianę pH środowiska, w której zostały utworzone cząstki. Na ich powierzchnię zostały nałożone warstwy tetraetoksyilanu. W ostatnim etapie, układ został poddany procesowi kalcynacji, w celu otrzymania finalnego produktu. Cząstki cechowały się zwiększoną wielkością porów oraz dobrymi właściwościami mechanicznymi. Materiał został zastosowany jako faza stacjonarna w chromatografii do rozdzielania wybranych białek, takich jak insulina, cytochromy C oraz surowiczej albuminy wołowej [104]. Sun wraz ze współpracownikami utworzyli sferyczne cząstki otrzymane z azotku tytanu do enkapsulacji siarki i zastosowania ich jako baterii litowo-siarkowych. Jako matryca została wykorzystana krzemionka, na którą została naniesiona warstwa tlenku tytanu(IV). W celu usunięcia matrycy cząstki mieszano w roztworze kwasu chlorowodorowego. Następnie cząstki zostały umieszczone w piecu, w temperaturze 800°C, w atmosferze amoniaku, przez 4 godziny otrzymując finalny produkt [105]. Bardzo innowacyjnym sposobem było zastosowanie wodorotlenku żelaza(III) jako twardej matrycy do otrzymania sferycznych cząstek z udziałem węgla. Metoda twardego odwzorowania jest bardzo często wykorzystywana do syntezy porowatych produktów, jednak zazwyczaj niezbędne jest stosowanie drogich materiałów. Xi oraz inni wykorzystali alginian sodu, jako źródło węgla, który został naniesiony na cząstki  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ . Stosując wybraną matrycę umożliwiono na powstanie cząstek, w których strukturze znajduje się wiele mikrokanalów oraz porów. Układy cechowały się bardzo dobrą stabilnością

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

katalityczną, dlatego mogą być zastosowane jako elektrody w superkondensatorach [106]. Bardzo ciekawą syntezę cząstek metalicznych zaproponował Shin wraz z współpracownikami, gdyż jako twardą matrycę zastosowano pyłek kwiatowy. Między matrycą a jonami metalu występowały oddziaływania elektrostatyczne umożliwiając na otrzymanie cząstek, o rozbudowanej powierzchni, na której występuje wiele cząsteczek tlenu. Zauważono, że układ można zastosować do rozkładu z dużą wydajnością związków organicznych, przeprowadzając proces w zakresie światła widzialnego [107].

Metoda z zastosowaniem miękkiej matrycy jest bardzo często wykorzystywana do otrzymywania cząstek o pustym wnętrzu. Do ich otrzymywania najczęściej stosuje się polimery, krzemionkę, tlenki metali, węgiel oraz materiały kompozytowe. Podczas syntezy można kontrolować nie tylko morfologię cząstek, ale także ich strukturę wewnątrz i na zewnątrz materiału. W czasie procesu stosuje się miękkie matryce, takie jak: emulsje, micelle oraz bąbelki gazu [108]. Metoda ta jest bardziej przyjazna środowisku, gdyż zazwyczaj nie wymaga stosowania szkodliwych substancji w celu usunięcia matrycy z wnętrza cząstek [109]. Xu wraz z współpracownikami otrzymali sferyczne cząstki z węgla grafitowego. W tym celu jako miękką matrycę zastosowano pluronic 123, który pełnił funkcję zwiększenia odległości pomiędzy kolejnymi warstwami węgla. Zbyt bliska odległość pomiędzy warstwami powoduje silne oddziaływania  $\pi$ - $\pi$ , których występowanie może zmniejszyć powierzchnię właściwą cząstek, a tym samym pogorszyć ich pojemność. Otrzymane cząstki z zastosowaniem pluronica 123 można zastosować jako elektrody w superkondensatorach oraz innych wybranych urządzeniach do przechowywania energii [110]. Z drugiej strony, pluronic F127 został również zastosowany jako miękka matryca do otrzymywania cząstek węgla z dodatkiem niklu oraz rutyłu. Zaprezentowane układy cechowały się bardzo dobrą stabilnością oraz możliwością ponownego zastosowania, dlatego zaproponowano ich potencjalne wykorzystanie podczas konwersji biomasy [111]. Tang oraz inni utworzyli sferyczne cząstki z udziałem lignosulfonianu sodu wykorzystując w tym celu bromek heksadecylotrimetyloamoniowy. Materiał został utworzony poprzez oddziaływania hydrofobowe oraz elektrostatyczne. Cząstki połączono z polietylenem w celu utworzenia folii, odpornej na działanie promieniowania ultrafioletowego. Kompozyt cechował się zmniejszoną lepkością oraz zwiększoną możliwością do późniejszego przetworzenia produktu [112]. Wang wraz z współpracownikami również zastosowali CTAB do otrzymywania cząstek typu rdzeń-powłoka otrzymanych z siarczku molibdenu, azotu oraz węgla. Synteza produktu jest bardzo prosta, bez konieczności przeprowadzenia zaawansowanego procesu usuwania matrycy. Warstwa molibdenu jest chroniona przez

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

węgiel oraz azot występujący w strukturze zapobiegające jego przedwczesnemu rozpuszczeniu. Cząstki zastosowano jako anodę o zwiększonej stabilności oraz możliwości do wielokrotnego użytku (do 1000 cykli) [113]. Zespół Yi przedstawił otrzymywanie sferycznych cząstek z udziałem węgla z zastosowaniem szeregu surfaktantów, m.in.: poliwinylpirolidonu (PVP), laurylosiarczanu sodu (SDS), związków typu F127 oraz P123. Podkreślono, że dodanie surfaktantu ma znaczący wpływ na strukturę porowatą oraz rozmiar utworzonych cząstek. Szczególnie układy otrzymane z zastosowaniem PVP cechowały się bardzo rozbudowaną powierzchnią i nanometryczną średnicą produktu [114].

Metoda samoorganizacji ze względu na niski koszt i prostotę przygotowania jest jednym z najczęściej stosowanych procesów do otrzymywania cząstek o pustym wnętrzu. Dzieli się ją na dwa główne etapy: (i) w pierwszym z nich konieczne jest wybranie odpowiedniej matrycy, zbudowanej z materiału, z którego ma powstać finalny układ oraz (ii) w drugim jej modyfikacja w celu otrzymania sferycznej cząstki o pustym wnętrzu [115]. Dodatkowo, morfologia finalnego produktu może również być kontrolowana. W celu przygotowania sferycznych układów stosuje się kontrolowane wytrawianie, dyfuzję oraz skurcz heterogeniczny [22]. Levi wraz z współpracownikami zaproponowali otrzymanie makroskopowych sferycznych materiałów wykorzystując z amfifilowe oraz kationowe peptydy, które spontanicznie łączą się z negatywnie naładowanym alginianem sodu. Cząstki cechują się bardzo dużą stabilnością w temperaturze 37°C przez wiele dni, dlatego mogą zostać wykorzystane jako matryca do obserwowania komórek rakowych oraz testowania nowych potencjalnych terapii przeciwnowotworowych [116]. Układy otrzymane z chitozanu zostały zmodyfikowane z dodatkiem poli(metakrylanu metylu) przy zastosowaniu metody samoorganizacji. Cząstki cechowały się bardzo dobrą zdolnością do enkapsulacji doksorubicyny (64%) poprzez oddziaływania elektrostatyczne. Przeprowadzając analizę profili uwalniania substancji aktywnej stwierdzono, że ponad 60% leku zostało uwolnione z wnętrza cząstki przez pierwsze 10 godzin trwania procesu, natomiast jego zakończenie nastąpiło po upływie dwóch dni. Otrzymane układy mogą w przyszłości znaleźć zastosowanie jako selektywne systemy do dostarczania substancji leczniczych [117]. Metoda samoorganizacji umożliwia na otrzymanie cząstek o bardzo dobrze zdefiniowanej strukturze. W tym celu wykorzystywane są występujące między cząsteczkami oddziaływania elektrostatyczne oraz  $\pi$ - $\pi$ , siły van der Waalsa oraz wiązania wodorowe. Manisekaran wraz z współpracownikami przygotowali sferyczne cząstki z udziałem ligniny stosując metodę samoorganizacji. Stwierdzono, że większa ilość dodanego przeciwrozpuszczalnika umożliwia na otrzymanie mniejszych cząstek. Zwrócono

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

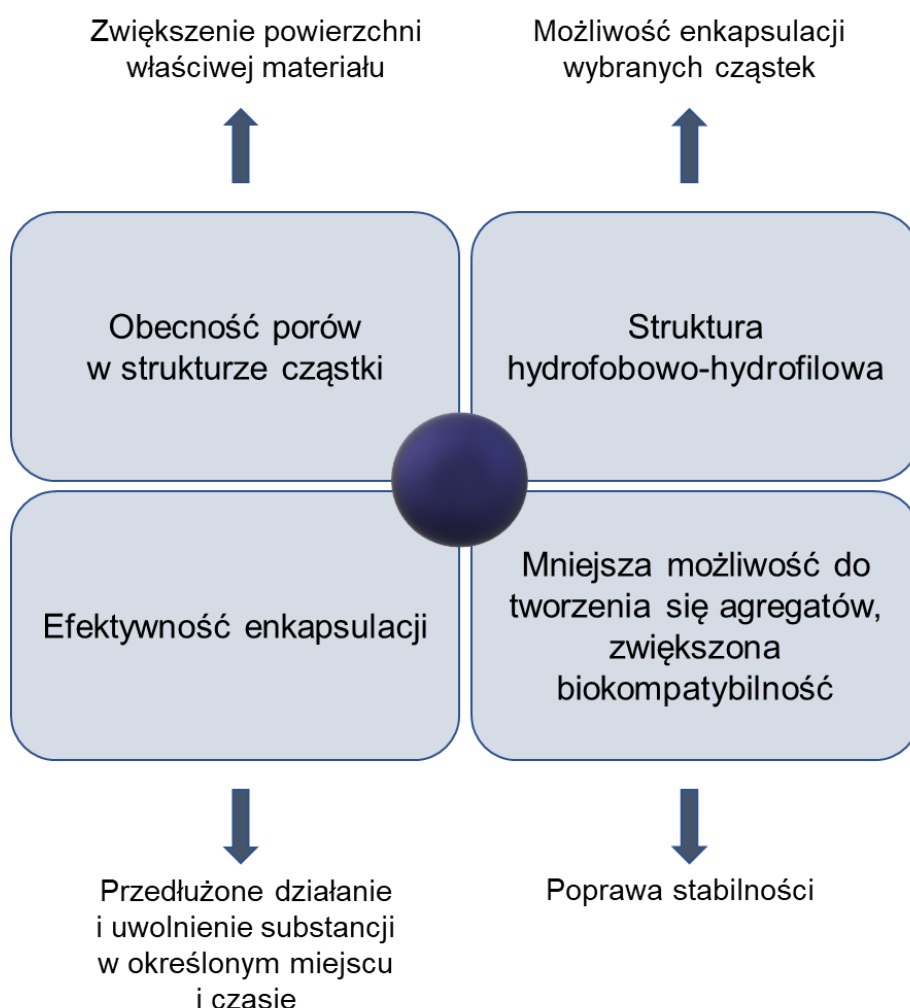
również uwagę, że wielkość produktu zależy od zastosowanego rozpuszczalnika, w którym została zdyspergowana lignina. Najmniejsze cząstki otrzymano stosując dimetylosulfotlenek (DMSO) oraz tetrahydrofuran [118].

Suszenie rozpyłowe wykorzystywane jest do otrzymywania cząstek o różnej morfologii, gdyż jest to tani proces, podczas którego syntezowane są cząstki o dużej stabilności. Ponadto, proces ten może być również stosowany do enkapsulacji substancji aktywnych oraz do otrzymywania cząstek o nowych właściwościach i możliwościach zastosowań. Podczas syntezy można z powodzeniem kontrolować kształt oraz wielkość cząstek, tak, aby otrzymać cząstki, które znajdą wykorzystanie jako selektywne systemy do dostarczania substancji leczniczych. Proces suszenia rozpyłowego można podzielić na kilka etapów w tym przygotowanie dyspersji, jej homogenizację oraz rozpylenie mieszaniny. W pierwszej kolejności płynna faza jest rozpylona w formie kropli, a następnie szybko wysuszona w ciepłym strumieniu gazu. Cząstki otrzymane z zastosowaniem tej metody cechują się mniejszą zdolnością do tworzenia agregatów i aglomeratów [119]. Tardy wraz ze współpracownikami otrzymali sferyczne cząstki z udziałem ligniny kraft, wykorzystując w tym celu metodę suszenia rozpyłowego. Otrzymane cząstki cechowały się rozmiarami między 330 a 1050 nm, które wykorzystano do produkcji układów o pustym wnętrzu [120]. Guo i inni otrzymali sferyczne materiały z udziałem chitozanu, w których wnętrzu została enkapsulowana insulina. Równolegle zsyntezowano cząstki, w których dodano mannitol jako krioprotektant. Produkty cechowały się średnicą równą 376 nm, niskim indeksem polidispersyjności (0,200) oraz bardzo dobrą wydajnością enkapsulacji, powyżej 98,7%. Nanocząstki otrzymane podczas suszenia rozpyłowego bez dodatku mannitolu mają szybszą zdolność do uwalniania leku, z równoczesnym szybszym działaniem substancji na wybrane komórki w organizmie. Przy pomocy suszenia rozpyłowego można otrzymać cząstki bez konieczności zastosowania krioprotektantu, ze dobrą zdolnością do enkapsulacji substancji aktywnej, przy zmniejszonych kosztach produkcji [121]. Sipos wraz ze współpracownikami stosując suszenie rozpyłowe zaprezentowali polimerowe cząstki, w których wnętrzu umieszczono indometacynę. Materiał mógł być przyjmowany doustnie, zwiększając przepuszczalność oraz szybkość dostarczania aktywnej substancji. Sferyczne cząstki cechowały się wielkością ok. 7,21  $\mu\text{m}$  i dobrą zdolnością do enkapsulacji leku, powyżej 80%. Dodatkowo, stwierdzono, że nowa forma przyjmowania substancji nie zwiększa początkowej toksyczności indometacyny [122]. Podczas syntezy układów utworzonych z hydroksyapatytu (HAP) oraz poliakrylanu sodu (PAAS) zaobserwowano, że masowy stosunek obu prekursorów ma wpływ na wielkość cząstek oraz potencjał dzeta otrzymanych

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

struktur. Wraz ze zwiększeniem się masowego stosunku HAP do PAAS zaobserwowano zwiększenie się średnicy cząstek, powyżej 2  $\mu\text{m}$  oraz zmniejszenie się potencjału elektrokinetycznego, poniżej 20 mV [123]. Hussain wraz ze współpracownikami stwierdzili, że pozycja igły, przez którą rozpylana jest dyspersja ma znaczący wpływ na późniejszą morfologię otrzymanych sferycznych cząstek. Zbyt bliskie umiejscowienie igły przy wlocie powietrza powoduje, że rozpylone krople znajdują się w zbyt wysokiej temperaturze i zostają nadmiernie „nadmuchane”, co powoduje deformację ich kształtu [124].

Zastosowanie odpowiedniej metody syntezy oraz materiału umożliwia na otrzymanie cząstek o określonych właściwościach, dlatego wybrane cechy charakterystyczne zostały zebrane na rysunku 3.1.3.3.

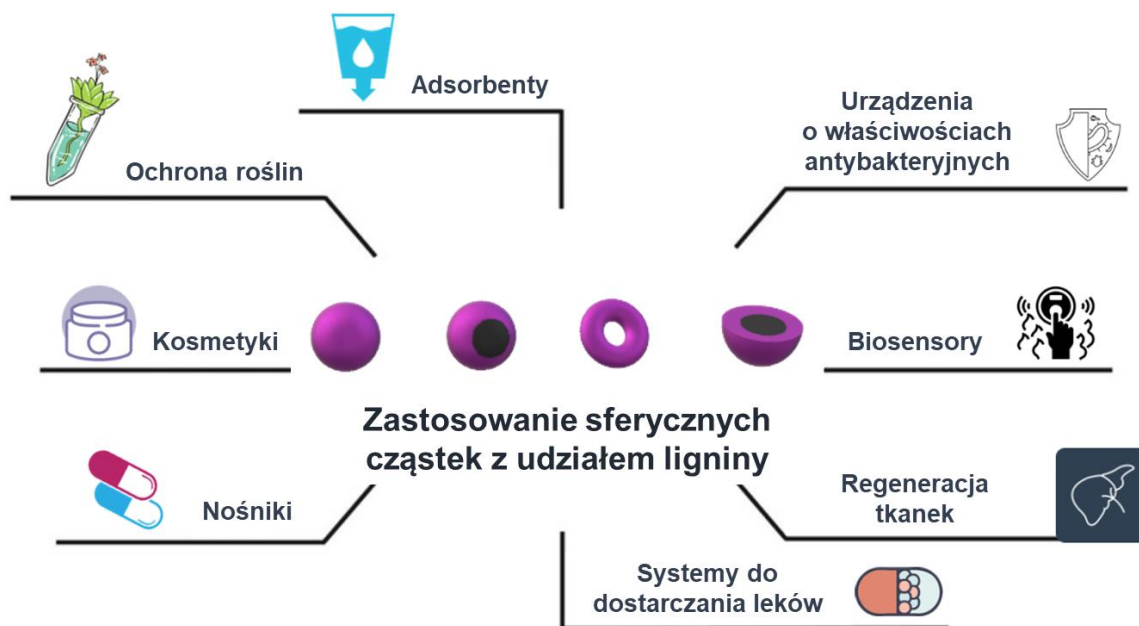


**Rysunek 3.1.3.3.** Właściwości sferycznych cząstek, które mają wpływ na możliwości zastosowań materiału



### 3.2. Obszary zastosowań sferycznych struktur

Wykorzystywanie materiałów z udziałem ligniny jest dość innowacyjnym sposobem na zastąpienie komercyjnie występujących cząstek, tymi pochodzenia naturalnego. Ważne jest, podkreślenie ich unikalnej charakterystyki oraz obecnych potencjalnych kierunków zastosowań tak, aby jeszcze lepiej poznać ich możliwości, a tym samym wykorzystać w nowych gałęziach przemysłu (rysunek 3.2.1).



**Rysunek 3.2.1.** Przykłady zastosowań sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft

Lignina kraft jest jednym z najbardziej znanych amorficznym biopolimerów, o trójwymiarowej budowie. W roślinach pełni ona funkcję ochronną oraz umożliwia na przenoszenie wody oraz składników odżywczych [125]. Składa się z fenylopropanowych monomerów, cechując się obecnością aromatycznych i alifatycznych grup hydroksylowych, a także estrowych, karboksylowych oraz karbonylowych. Grupy funkcyjne charakterystyczne dla omawianego biopolimeru, zapewniają na uzyskanie wybranych właściwości, m.in.: antibakteryjnych oraz antyoksydacyjnych [126]. Ponadto, lignina ma zdolność do generowania elektronów, usuwania wolnych rodników oraz niszczenia ścian komórkowych tkanek nowotworowych, a także wybranych mikroorganizmów. Warto podkreślić, że jest ona odnawialnym biopolimerem oraz produktem odpadowym przemysłu celulozowo-papierniczego. Cechuje się niewielką rozpuszczalnością, zdolnością do ochrony przed promieniowaniem UV oraz dużą stabilnością [127]. Dodatkowo, jest wrażliwa na zmiany pH środowiska, co umożliwia na zastosowanie jej w biomedycynie, szczególnie jako

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

selektywne systemy do dostarczania substancji leczniczych oraz regeneracji tkanek. Często konieczna jest modyfikacja struktury ligniny przed procesem przygotowania nowych produktów o zaawansowanych właściwościach i nowych potencjalnych kierunkach zastosowań [128].

Otrzymywanie sferycznych cząstek z udziałem ligniny jest nowym sposobem na zastosowanie tego odpadowego materiału (tabela 3.2.1.). Modyfikowane produkty zazwyczaj wyróżniają się obecnością bardziej reaktywnych grup funkcyjnych, w porównaniu do natywnego biopolimeru. Morfologia oraz struktura cząstek zależą od ilości hydroksylowych alifatycznych, metoksyowych oraz fenolowych grup funkcyjnych, a także od obecności wiązań  $\beta$ -O-4 [129]. Sfery są zazwyczaj otrzymywane poprzez wiązania wodorowe pomiędzy pierścieniami aromatycznymi występującymi w strukturze biopolimeru oraz oddziaływania typu  $\pi$ - $\pi$  [130]. Podczas tworzenia cząstek typu rdzeń-powłoka zostały potwierdzone amfifilowe właściwości biopolimeru, dlatego może on także zostać zastosowany jako surfaktant [131]. Warto również podkreślić, że lignina może tworzyć cienką warstwę na powierzchni międzyfazowej woda-olej umożliwiając zamknięcie wewnątrz swojej struktury cząsteczek oleju, a tym samym ich stabilizację. Kształt oraz wielkość utworzonych produktów jest bardzo ważna, gdyż ma wpływ na właściwości koloidalne układu, w tym aglomerację cząstek, ich upakowanie oraz możliwości poruszania się w środowisku reakcji. Natomiast stabilność cząstek z udziałem ligniny bezpośrednio zależy od pH oraz siły jonowej [132,133].

Cząstki z udziałem ligniny mogą zostać wykorzystane w biomedycynie do dostarczania substancji leczniczych (tabela 3.2.2.), podczas wspomagania procesu gojenia ran oraz jako materiał o właściwościach antybakteryjnych i przeciwwirusowych. Sferyczne materiały wykorzystano również do usuwania jonów szkodliwych substancji, zmniejszając potencjalne zanieczyszczenie środowiska [134].

Dodatek ligniny znacząco ułatwia enkapsulację zarówno hydrofobowych oraz hydrofilowych związków, ze względu na amfifilowy charakter biopolimeru. Dodatkowo, jak zostało wspomniane wcześniej, materiał cechuje się właściwościami antybakteryjnymi, przeciwutleniającymi oraz ochroną przeciwko promieniowaniu UV. Ponadto, sferyczne cząstki mogą pełnić funkcję ochronną aktywnej substancji, przed niekorzystnymi warunkami środowiska oraz poprawiać biodostępność, a także rozpuszczalność związków, takich jak kurkumina i resweratrol.

**Tabela 3.2.1.** Charakterystyka cząstek z udziałem ligniny kraft

<b>Rodzaj cząstek</b>	<b>Właściwości</b>	<b>Rozmiar cząstek</b>	<b>Metoda syntezy</b>	<b>Lit.</b>
<b>Lignina-cholesterol</b>	zdolność do enkapsulacji, a następnie uwolnienia kwasu foliowego, hydrofobowe,	320 nm	metoda samoorganizacji	[135]
<b>Mikrosfery z ligniny</b>	gładka budowa cząstek, duża zawartość węgla, pochłanianie promieniowania UV,	3,7 $\mu\text{m}$	metoda hydrotermalna	[136]
<b>Lignina-chitozan</b>	wrażliwe na zmiany pH, zdolność do dyspergowania, dodatnio naładowana powierzchnia materiału,	180 nm		[137]
<b>Nanocząstki z ligniny</b>	tanie i przyjazne środowisku materiały, które można zastosować do enkapsulacji wybranych substancji	160–1348 nm	metoda samoorganizacji	[138]
<b>Cząstki ligniny o pustym wnętrzu</b>	hydrofobowa powłoka oraz hydrofilowy rdzeń, zwiększona biodostępność materiału, dobre właściwości dyspersyjne	300 nm		[139]

Warto podkreślić, że układy zwiększają wydajność adsorpcji substancji, ułatwiają jej przenoszenie oraz kontrolowane dostarczenie do wybranego miejsca [140,141].

Cząstki ligniny zostały otrzymane z wykorzystaniem metody samoorganizacji, podczas której został również enkapsulowany ibuprofen oraz witamina E. Podkreślono, że hydrofobowe cząsteczki substancji aktywnych łączą się z ligniną poprzez oddziaływania  $\pi$ - $\pi$ , występujące szczególnie między pierścieniami benzenowymi. Zaobserwowano, że

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

uwolnienie leku, z układu nastąpiło ok. 5 razy szybciej w modelowym środowisku jelita cienkiego niż żołądka. Cząstki były wrażliwe na zmiany pH środowiska reakcji oraz nietoksyczne względem zdrowych komórek. Wykazywały natomiast zdolność do zahamowania wzrostu komórek raka jelita grubego (HT-29) [142]. Podobne badania zostały przeprowadzone przez Liu wraz ze współpracownikami, którzy zaprezentowali nanocząstki (50 nm) ligniny. Jako modelowy lek, również wybrano ibuprofen, który został umieszczony we wnętrzu materiału. Zaobserwowano bardzo dobrą zdolność materiału do enkapsulacji substancji aktywnych, od 50 do 68%. Wartość ta ulegała zwiększeniu, wraz ze wzrostem stężenia ibuprofenu. Podczas badań *in vitro*, stwierdzono, że cząstki są również wrażliwe na zmiany pH środowiska, a bardziej efektywne uwolnienie substancji leczniczej nastąpiło w jelicie cienkim. Efektywne działanie grupy leków, takich jak ibuprofen w dalszych etapach przewodu pokarmowego jest bardziej preferowane, ze względu na mniejszą możliwość występowania skutków ubocznych, m.in. zapalenia ściany żołądka [143]. Wang wraz ze współpracownikami otrzymali nanocząstki ligniny z wykorzystaniem metody próżniowego odparowania rozpuszczalnika. Układ był homogeniczny i stabilny w roztworach wodnych. Dodatkowo, zaobserwowano znaczną zdolność do enkapsulacji ibuprofenu ze względu na obecność zdeprotonowanych karbonylowych oraz hydroksylowych grup funkcyjnych [144]. Bardzo ciekawe badania zostały opublikowane przez Pourmoazen i innych, w których cząstki ligniny zostały zmodyfikowane prekursorem cholesterolu otrzymując struktury o bardzo dużej hydrofobowości. Do produktów dodano kwas foliowy i sprawdzono jego działanie w trzech wybranych zakresach pH. Wraz ze wzrostem wartości pH została uwolniona większa ilość substancji leczniczej. Najlepsze wyniki otrzymano w pH 8,0 podczas 8-godzinnej prowadzenia procesu, z wydajnością do 50%. Oddziaływania hydrofobowo-hydrofilowe pomiędzy cholesterolem i kwasem foliowym ulegały zmniejszeniu w środowisku zasadowym powodując szybsze i łatwiejsze uwolnienie modelowego leku [135]. Sargazi i inni otrzymali mikroemulsję, w której zmieszano ligninę oraz kwas walproinowy, w celu zwiększenia biodostępności leku przeciwpadaczkowego [145]. Rahdar wraz ze współpracownikami otrzymali mikroemulsję olej/woda, w której zawieszono ligninę oraz doksorubicynę. Modelowy lek cechował się większą biodostępnością oraz znaczną zdolnością do inhibicji komórek raka piersi. Niestety, pomimo zwiększonej zdolności do enkapsulacji doksorubicyny oraz bardziej zrównoważonego uwolnienia leku, otrzymana mikroemulsja wykazywała taką samą toksyczność względem zdrowych komórek, jak czysta substancja lecznicza. Przeprowadzone badania, są podstawą do dalszych doświadczeń dotyczących zastosowania

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

mikroemulsji jako systemów do dostarczania substancji leczniczych, szczególnie do tkanek nowotworowych. Jest to konieczne w celu otrzymania bezpiecznych dla zdrowia układów [149].

**Tabela 3.2.2.** Zastosowanie sferycznych cząstek, jako systemów do dostarczania substancji leczniczej

<b>Material</b>	<b>Modelowy lek</b>	<b>Wielkość cząstek [nm]</b>	<b>pH</b>	<b>Wydajność procesu [%]</b>	<b>Lit.</b>
<b>Lignina-polimetakrylan</b>		100	1,5	15,6	[142]
			7,4	81,8	
<b>LS-CTAB</b>	Ibuprofen	50	1,2	15,0	[143]
			7,3	75,0	
<b>Nanosfery ligniny</b>		100–400	1,2	18,0	[144]
			7,5	90,0	
<b>Lignina-cholesterol</b>	Kwas foliowy	320	5,5	39,0	[135]
			7,4	54,0	
			8,0	57,0	
<b>Lignina-chitozan</b>	Docetaksel (DTX) Kurkumina (CCM)	180	5,4	51,0	[137]
			7,4	31,0	
			5,4	50,0	
			7,4	27,0	
<b>Hydrolizowana lignina-chitozan</b>	Cytarabina	176–790	6,0	97,0	[141]
			7,4	40,0	
<b>Nanocząstki ligniny</b>	Enrofloksacyna	117	7,4	100,0	[146]
<b>Mikrosfery ligniny</b>	Doksorubicyna	396–405	5,5	55,0	[147]
			7,4	68,0	
<b>Lignina-mepakryna</b>	Mepakryna	138	5,5	65,0	[148]
			7,4	40,0	

Zhou wraz ze współpracownikami przedstawili otrzymywanie koloidalnych cząstek z udziałem ligniny kraft, które cechowały się znaczną stabilnością przez wiele dni, bez tworzenia się agregatów i aglomeratów. Układy charakteryzowały się porowatą strukturą oraz właściwościami hydrofobowymi. Cząstki zostały połączone z doksorubiciną i potwierdzono, że ze względu na występowanie oddziaływań typu  $\pi$ - $\pi$  możliwa jest

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

enkapsulacja substancji leczniczej z dużą efektywnością [147]. Dodatkowe badania zostały zaprezentowane również przez zespół Zhou. Cząstki ligniny zostały zmodyfikowane tlenkiem żelaza(II) i (III) oraz kwasem foliowym, a następnie dodano do ich wnętrza dokсорubicynę. Podczas przeprowadzonych badań zaobserwowano poprawę profili uwalniania leku oraz zwiększone właściwości przeciwnowotworowe [150].

Bardzo interesujące badania zostały przedstawione przez zespół Yanga, który zaprezentował nową metodę leczenia bezsenności. Małe cząstki ligniny zostały połączone z honokiolem, w celu poprawienia jego biodostępności. Podczas badań zaobserwowano, że jakość snu została poprawiona po zastosowaniu otrzymanych układów. Cząstki były nietoksyczne oraz umożliwiały na wydłużone uwolnienie leku w przewodzie pokarmowym [151].

Lignina cechuje się bardzo dobrymi właściwościami antybakteryjnymi [152,153]. Dodanie biopolimeru do układów m.in. złożonych z tlenków lub metali szlachetnych, poprawia finalne zdolności materiału do zahamowania wzrostu oraz zmniejszenia ilości występowania patogenów (tabela 3.2.3.). Lignina, która została wyekstrahowana ze skórki od banana cechuje się właściwościami przeciwutleniającymi i antybakteryjnymi przeciwko bakterii *Escherichia coli* [154]. W innych badaniach, omawiany biopolimer został połączony z polilaktydem w celu uformowania innowacyjnej, stabilnej termicznie folii. Dodatek substancji naturalnej umożliwił nie tylko na zahamowanie wzrostu bakterii gram-dodatnich, ale także spowolnił proces utleniania tłuszczów. Otrzymany materiał można z powodzeniem zastosować w przemyśle opakowaniowym [155]. Z drugiej strony, lignina została wykorzystana do otrzymania nanokompozytu z dodatkiem tlenku cynku. Otrzymany system zastosowano do produkcji kremów blokujących promieniowanie ultrafioletowe. Podkreślono, że materiał cechował się nie tylko bardzo dobrą zdolnością do pochłaniania promieni słonecznych, ale również właściwościami antybakteryjnymi [156]. Dodatkowo, Jose wraz ze współpracownikami otrzymali cząstki z udziałem ligniny i tlenku cynku, które zostały przetestowane względem zdolności do inhibicji wybranych szczepów grzybów. Ligninę użyto również jako środek stabilizujący i redukujący podczas otrzymywania cząstek srebra. Zaobserwowano zwiększone właściwości antybakteryjne oraz cytotoksyczne względem komórek nowotworowych. Co ciekawe, materiał można zastosować również jako detektor do wykrywania szkodliwych jonów, takich jak żelazo czy ołów [161]. Yun wraz ze współpracownikami podkreślili w swoich badaniach, że lignina o niższej masie cząsteczkowej cechuje się obecnością większej ilości fenolowych grup hydroksylowych, a tym samym posiada właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Cząstki biopolimeru miały

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

zdolność do zniszczenia ściany komórkowej bakterii i tym samym hamowały ich dalszy rozwój [157]. Lignina, która została poddana procesowi acetylowania może być zastosowana do enkapsulacji małych cząsteczek m.in. porfiryn w celu remediacji środowiska [162].

**Tabela 3.2.3.** Właściwości antybakteryjne materiałów otrzymanych z udziałem ligniny kraft

Rodzaj materiału	Rodzaj bakterii	Redukcja/zahamowanie wzrostu bakterii [%]	Lit.
<b>Lignina frakcjonowana</b>	<i>E. coli</i>	95,6	[157]
	<i>Salmonella</i>	89,6	
	<i>Streptococcus</i>	66,6	
	<i>S. aureus</i>	64,7	
<b>Lignina-porfiryny</b>	<i>S. aureus</i>	99,9	[158]
	<i>S. epidermidis</i>		
	<i>E. faecalis</i>		
<b>Lignina-srebro</b>	<i>E. coli</i>	99,9	[159]
	<i>S. aureus</i>	99,9	
<b>Lignina z PLLA oraz ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub></b>	<i>S. aureus</i>	60,0	
	<i>E. coli</i>	35,0	
<b>Lignina z PLLA oraz Ag<sub>2</sub>O</b>	<i>S. aureus</i>	60,0	[160]
	<i>E. coli</i>	5,0	
<b>Lignina z PLLA oraz Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	<i>S. aureus</i>	40,0	
<b>Lignina z PLLA oraz WO<sub>3</sub></b>	<i>E. coli</i>	5,0	

Mezoporowate cząstki otrzymane z łupiny orzechów ziemnych cechowały się właściwościami antybakteryjnymi względem *Escherichia coli*, *Chromobacterium violaceum* oraz *Bacillus cereus*. Otrzymane układy umożliwiają zahamowanie wzrostu mikroobów oraz zastosowanie ich jako systemów do dostarczania substancji leczniczych, a także w bioobrazowaniu [163]. Cząstki ligniny wzbogacone czwartorzędowymi solami amoniowymi oraz połączone z jonami srebra zostały zastosowane do inhibicji wzrostu *S. aureus* oraz *E. coli*. Biopolimerowy materiał cechował się dodatnim ładunkiem powierzchni, natomiast drobnoustroje ujemnym, co w konsekwencji doprowadziło do

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

oddziaływań elektrostatycznych, a tym samym do zahamowania rozwoju drobnoustrojów. Warto podkreślić, że w celu uzyskania dobrej wydajności procesu, konieczny był jedynie krótki czas kontaktu (5 minut) cząstek z bakteriami [159]. Zespół Chandny otrzymał struktury ligniny, które następnie zostały zmodyfikowane nanocząstkami srebra i złota, a także ekstraktem z róży bengalskiej. Struktury były bardzo stabilne w fizjologicznych warunkach, aż do 72 godzin, dlatego następnie zostały połączone z hydrożelem o przeciwdrobnoustrojowych i fotodynamicznych właściwościach. Układy cechowały się większymi właściwościami przeciwrzybicznymi przeciwko *Candida tropicalis* niż czyste cząstki nanometaliczne [164]. Bardzo ciekawe badania zostały przedstawione przez zespół Panga. Otrzymane zostały kompozytowe mikrokapsułki złożone z ligniny i polimocznika, do których dodano awermektynę. Dodanie biopolimeru zapobiega procesowi fotolizy i niweluje możliwość rozkładu substancji czynnej. Warto zwrócić również uwagę, że wraz ze wzrostem ilości dodanej ligniny następowało szybsze uwolnienie awermektyny z wnętrza materiału. Sferyczne cząstki z udziałem ligniny, ze względu na swoje antybakteryjne właściwości mogą również zostać wykorzystane do przygotowania materiałów przyspieszających gojenie się ran [165]. Abudula wraz z zespołem przygotował kriożel o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych oraz przeciwutleniających. Biopolimerowe struktury zostały połączone z żelatyną i zaobserwowano zahamowanie wzrostu patogenów, które najczęściej występują w ranach [166]. Dodatkowo, Xu wraz z współpracownikami zaprezentowali otrzymanie termoaktywnego żelu, który nie był cytotoksyczny względem zdrowych komórek i dlatego można go zastosować podczas leczenia ran po oparzeniach [167]. Z drugiej strony, Alqahtani wraz z zespołem zaprezentował cząstki ligniny, które zostały połączone z kurkumina. Układ cechował się właściwościami przeciwutleniającymi oraz przeciwzapalnymi. Podkreślono, że umieszczenie aktywnej substancji wewnątrz biopolimerowej struktury poprawia jej stabilność oraz zdolność do przenikania przez skórę. Zastosowanie otrzymanego materiału pozwoliło na szybsze leczenie się ran oraz tworzenie zdrowej tkanki. Zaobserwowano ich właściwości antybakteryjne względem bakterii *S. aureus*, która bardzo często znajduje się w ranach [168]. Warto również zwrócić szczególną uwagę, że cząstki ligniny cechują się również właściwościami przeciwwirusowymi, szczególnie względem wirusa niedoboru odporności (HIV) oraz opryszczki pospolitej (HSV) [169]. Dodatkowo, może być zastosowana w celu zapobiegania infekcji oraz wejścia wirusa w strukturę wybranych zdrowych komórek. Srisapome wraz z zespołem zaprezentowali cząstki ligniny, które wspomagały zahamowanie wzrostu wirusa choroby żółtej głowy u krewetek. Ponadto, materiały z udziałem ligniny, można również



## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

wykorzystać jako środek wspomagający przygotowanie szczepionek [170]. Alqahtani wraz ze współpracownikami umieścili białko występujące w jajku kurzym w strukturze sferycznych cząstek. Otrzymano bezpieczne dla organizmów żywych materiały, które były stabilne przez 14 dni w soli fizjologicznej. Zaobserwowano, że struktura może być zastosowana do wywoływania wydłużonej odpowiedzi organizmu, gdyż albumina znajdująca się wewnątrz biopolimerowych cząstek cechowała się bardziej efektywną interakcją z wybranymi komórkami niż wolne antygeny. Podkreślono również, że cząstki z udziałem ligniny, mogą zostać zastosowane jako materiał biodegradowalny umożliwiający na oczyszczanie wody z patogenów oraz substancji organicznych [171]. Rivière wraz z zespołem przygotował dodatnio naładowane cząstki ligniny i zastosował je do usuwania wirusów o negatywnie naładowanej powierzchni. Drobnoustroje zostały przyłączone i zglomerowane na powierzchni biopolimeru, a następnie mogły zostać z łatwością usunięte z wody [172].

Sferyczne cząstki z udziałem ligniny mogą również zostać zastosowane jako adsorbenty w procesach oczyszczania wody [108,173]. Zazwyczaj, przed procesem adsorpcji konieczna jest chemiczna modyfikacja materiału, w celu poprawienia jego właściwości, w tym ułatwienia usuwania adsorbentu ze środowiska reakcji, a także umożliwienie na ponowne zastosowanie materiału [174]. Lignina może być modyfikowana chemicznie w celu dodania nowych grup funkcyjnych lub aktywacji już istniejących. Umożliwia to na przeprowadzenie bardziej wydajnego procesu. Na powierzchni biopolimeru występują hydroksylowe, karbonylowe oraz karboksylowe grupy funkcyjne, które po przeprowadzeniu modyfikacji mogą wspomagać proces adsorpcji [175,176]. Kim wraz ze współpracownikami otrzymali sferyczne cząstki z udziałem ligniny oraz alginianu sodu. Układy cechowały się bardzo dużą zdolnością do adsorpcji kationowych barwników, szczególnie błękitu metylenowego, ze względu na oddziaływania elektrostatyczne między adsorbentem a substancją usuwaną. Przeprowadzono również proces desorpcji zmieniając pH środowiska i podkreślono, że nowy funkcjonalny adsorbent charakteryzuje się możliwością ponownego zastosowania do 5 cykli katalitycznych, utrzymując 80% wydajności [177]. Do usuwania błękitu metylenowego zostały również wykorzystane cząstki lignina - chitozan, które cechowały się pojemnością adsorpcyjną ok 36,25 mg/g [178]. Zespół Kwaka zsyntezował sferyczne cząstki z udziałem ligniny kraft zmodyfikowanej polietylenoiminą. Poprawie uległy mechaniczne właściwości materiału oraz jego stabilność w wodzie. Struktury zostały użyte do usuwania jonów chromu(VI) poprzez dyfuzję międzycząsteczkową, adsorpcję oraz powstanie wiązań kowalencyjnych między związkami. Materiały mogły być wielokrotnie wykorzystane

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

z bardzo dobrą wydajnością procesu [179]. Zespół Xie zaprezentował badania, podczas których otrzymane zostały nanocząstki z udziałem ligniny o średnim rozmiarze 50 nm. Materiał cechował się zwiększoną obecnością grup karboksylowych na powierzchni materiału. Układy wykorzystano do usuwania jonów ołowiu(II) oraz miedzi(II). Częstki charakteryzowały się dobrą pojemnością adsorpcyjną oraz łatwością ich separacji z roztworów wodnych [180]. Warto podkreślić, że sferyczne układy z udziałem ligniny, zmodyfikowane trietylenotetraaminą oraz żelazem(III) zostały zastosowane do usuwania związków fosforanu, zapobiegając tym samym eutrofizacji wód powierzchniowych [181]. Lee wraz z zespołem otrzymał sferyczne cząstki z udziałem ligniny oraz srebra do selektywnego wykrywania nadtlenu wodoru oraz jonów rtęci(II), a także konwersji *para*-nitrofenolu oraz nitrobenzenu. Zaprezentowane procesy są proekologiczne oraz tanie, a ich przebieg nie wymaga zastosowania szkodliwych substancji [182].

### **3.3. Podsumowanie części teoretycznej**

Struktury o mikro- i nanorozmiarach stały się w ostatnim czasie bardzo popularnymi materiałami stosowanymi w nauce i wybranych gałęziach przemysłu. Po raz pierwszy zostały one odkryte w środowisku naturalnym, w postaci glinki, błota, a także popiołu wulkanicznego. Obecnie, cząstki mogą być otrzymane z metali szlachetnych oraz substancji nieorganicznych lub organicznych. Relatywnie nową grupą są struktury zsyntezowane z materiałów biopolimerowych, takich jak: celuloza, skrobia, zeina oraz lignina. Związki te są zazwyczaj materiałami odpadowymi o ograniczonych możliwościach zastosowań. Przez lata zostały udoskonalone metody syntezy cząstek, w celu otrzymania jak najlepszych materiałów o unikalnych właściwościach. Najczęściej stosuje się metodę miękkiego oraz twardego odwzorowania, a także samoorganizacji. Dobranie odpowiedniego procesu syntezy wspomaga otrzymywanie jak najlepszego materiału o nowych właściwościach oraz morfologii. Ponadto, odpowiedni dobór prekursorów, warunków oraz metody syntezy umożliwia na otrzymane litych struktur, cząstek typu rdzeń-powłoka, o pustym wnętrzu, a także złożony z wielu warstw. Warto również zwrócić uwagę, że właściwości struktur można poprawić stosując modyfikacje chemiczne oraz fizyczne.

Morfologia cząstek determinuje ich późniejsze zastosowanie. Uwaga naukowców skupia się na zaprezentowaniu nowych możliwości użytkowych sferycznych cząstek z dodatkiem biopolimerów, a w szczególności ligniny kraft. Materiały o małej średnicy, dużej stabilności oraz dobrej biodostępności mogą być wykorzystane jako selektywne systemy do dostarczania substancji leczniczej. Innowacyjne cząstki do zastosowań biomedycznych są

### **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

w szczególności poszukiwane, gdyż umożliwi to na udoskonalenie obecnych terapii, a tym samym poprawi komfort leczenia pacjentów. Ponadto, cząstki zmodyfikowane dodatkiem jonów złota lub srebra mogą hamować wzrost oraz rozwój bakterii. Sfery cechują się właściwościami przeciwbakteryjnymi, przeciwgrzybiczymi oraz antyoksydacyjnymi powodując uszkodzenie ściany komórkowej patogenów. Znajdują one zastosowanie między innymi w opatrunkach i maściach przyspieszających gojenie się ran. Odnaleźć można również doniesienia, w których sferyczne struktury zastosowano do usuwania szkodliwych substancji z roztworów wodnych. Cząstki cechowały się dużą stabilnością, możliwością ponownego wykorzystania oraz łatwą separacją z roztworu reakcyjnego.

Sferyczne cząstki otrzymane z udziałem biopolimerów wymagają przeprowadzenia wielu badań w celu syntezy układów o najlepszej strukturze. Jednak, wieloletnie doświadczenia mogą w przyszłości umożliwić na zastąpienie komercyjnych materiałów, tymi produkowanymi z materiałów odnawialnych, biodegradowalnych i bezpiecznych dla środowiska naturalnego. W przyszłości spodziewane jest jeszcze większe zainteresowanie tego typu materiałami, umożliwiając na zaproponowanie nowych zastosowań w wybranych gałęziach nauki i przemysłu.

## **4. Cel i zakres badań**

Nadrzędnym celem poznawczym jest zaprojektowanie, a następnie otrzymanie nowatorskich cząstek z udziałem ligniny kraft, przy zastosowaniu metody miękkiego odwzorowania. Realizowane badania stanowią ważny wkład w dalszy rozwój nauk chemicznych oraz są podstawą do zastosowania otrzymanych cząstek w wybranych dziedzinach.

Podstawowym założeniem stanowiącym hipotezę badawczą jest stwierdzenie, że zastosowanie związków powierzchniowo czynnych, jako miękkich matryc, umożliwia otrzymanie sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft o unikalnych właściwościach i dużym potencjale użytkowym. Otrzymane materiały w zależności od wykorzystanej matrycy mogą znaleźć zastosowanie jako: *(i)* selektywne nośniki do usuwania szkodliwych substancji, takich jak leki oraz jony metali, *(ii)* do immobilizacji enzymów, a także *(iii)* jako materiały o właściwościach antybakteryjnych.

Podjęty temat jest bardzo istotnym zagadnieniem, gdyż lignina jest materiałem odpadowym i konieczne jest poszukiwanie nowych sposobów jej zagospodarowania. Dodatkowo, wraz z rozwojem nauki, a w szczególności mikro- i nanotechnologii zaczęto poszukiwanie nowych, tanich, a także przyjaznych środowisku sferycznych materiałów, przy użyciu których, możliwe będzie udoskonalenie oraz unowocześnienie obecnie stosowanych metod w wybranych gałęziach przemysłu.

Podjęte w ramach dysertacji doktorskiej badania można podzielić na dwa podstawowe etapy: *(i)* syntezę sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft, a następnie *(ii)* przeprowadzenie badań zgodnie z zasadami Gospodarki Obiegu Zamkniętego. Bardzo ważnym i fundamentalnym etapem pracy było zaprojektowanie i otrzymanie sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft. Podstawowym założeniem była modyfikacja biopolimeru, w celu otrzymania cząstek w rozmiarach mikro- i nanometrycznych, o sferycznym kształcie, obecności wybranych grup funkcyjnych, a także zwiększonej porowatości, w porównaniu do natywnego biopolimeru. Dodatkowo, szczególna uwaga została zwrócona na aspekt ekologiczny otrzymywanych materiałów, aby zminimalizować odpady, które mogłyby negatywnie wpływać na środowisko.

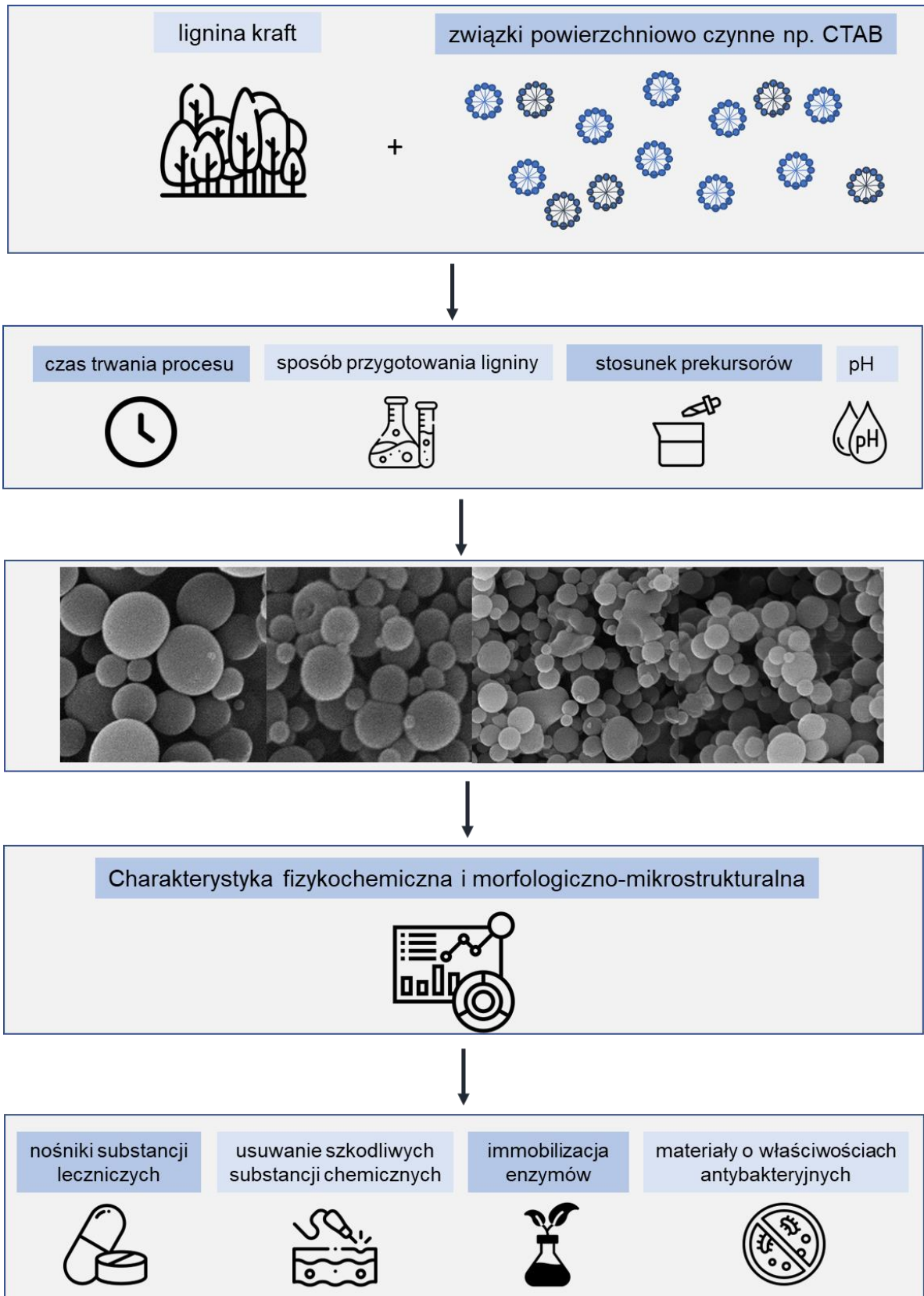
W celu potwierdzenia określonych założeń, podczas badań do pracy doktorskiej wykonano szereg badań, które można podzielić na kilka podstawowych etapów:

1. zaprojektowanie oraz synteza sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft i wybranych związków powierzchniowo czynnych:

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

- określenie wybranych warunków procesowych, tj.: czas prowadzenia doświadczenia, sposób przygotowania ligniny kraft, stosunek wagowy zastosowanych prekursorów, a także pH środowiska reakcji;
2. wyselekcjonowanie najlepszych warunków otrzymywania materiału biopolimerowego, aby otrzymać cząstki o założonych właściwościach;
  3. charakterystyka mikrostrukturalna oraz fizykochemiczna otrzymanych układów w celu wytypowania materiałów o najkorzystniejszych właściwościach:
    - otrzymywanie cząstek o sferycznym kształcie, cechujących się dużą homogenicznością, zdefiniowanymi parametrami struktury porowatej, niskim indeksem polidispersyjności oraz brakiem zdolności do tworzenia agregatów oraz aglomeratów;
    - układy zawierające w swojej strukturze reaktywne grupy funkcyjne oraz charakteryzujące się zwiększoną stabilnością dyspersyjną w roztworze;
  4. zaproponowanie zastosowania wybranych układów:
    - medycyna – otrzymanie nietoksycznych cząstek, które można wykorzystać do zwiększenia trwałości substancji leczniczej oraz jako selektywne systemy do dostarczania aktywnego związku;
    - ochrona środowiska – cząstki cechujące się zdolnością do adsorpcji szkodliwych jonów metali oraz związków organicznych;
    - biotechnologia – układy o zwiększonej aktywności antybakteryjnej oraz immobilizacja lipazy z wykorzystaniem sferycznych cząstek jako nośnika;
  5. przeprowadzenie dodatkowych analiz, w celu potwierdzenia skuteczności zaplanowanych doświadczeń:
    - otrzymanie profili uwalniania substancji leczniczej w wybranych zakresach pH, w celu określenia najlepszych warunków środowiska reakcji;
    - sprawdzenie pojemności oraz wydajności procesu adsorpcji stosując wybrane zakresy pH, zmieniając czas prowadzenia procesu oraz stężenie wyjściowe zanieczyszczeń;
    - określenie aktywności antybakteryjnej układów przeciwko *Staphylococcus aureus* oraz *Escherichia coli*;
    - sprawdzenie wpływu czasu, temperatury, początkowego stężenia białka oraz ilości nośnika na proces immobilizacji enzymu z wykorzystaniem sferycznych cząstek, a także zbadanie właściwości katalitycznych układów;

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**



**Rysunek 4.1.** Schematyczne przedstawienie idei badań zaprezentowanych w pracy doktorskiej

## 5. Opis rezultatów badań na podstawie opublikowanych prac

### 5.1. Sferyczne struktury z udziałem biopolimerów – rozwój technologii

W publikacjach D2–D7 uwaga została skupiona na otrzymaniu sferycznych cząstek i zaproponowaniu ich potencjalnych możliwości zastosowań. Ponadto, w pracach D1 oraz D8 zostały zebrane, w formie przeglądu aktualnego stanu wiedzy, najnowsze informacje dotyczące otrzymywania, morfologii, charakterystyki oraz zastosowania sferycznych cząstek z udziałem biopolimerów, w tym przede wszystkim ligniny.

Bardzo ważnym etapem każdego badania był właściwy dobór zastosowanej miękkiej matrycy, jak również dostosowanie najkorzystniejszych warunków procesu syntezy. Sprawdzono czy na efektywność otrzymywania sferycznych cząstek ma wpływ stosunek wagowy prekursorów, długość trwania procesu, sposób przygotowania ligniny kraft, jak również warunki pH środowiska podczas prowadzenia reakcji. Ponadto, dla każdego przygotowanego układu została przeprowadzona charakterystyka morfologiczno-mikrostrukturalna. Przedstawiona praca doktorska dostarcza wielu informacji na temat zastosowania otrzymanych układów. Cząstki wykorzystano jako materiał stabilizujący i transportujący wybraną substancję leczniczą (publikacje D2 oraz D3). Ponadto, układy zastosowano do usuwania szkodliwych jonów oraz związków organicznych (publikacje D4 oraz D5), wykazano ich działanie przeciwbakteryjne (publikacja D6) oraz wskazano ich potencjał podczas immobilizacji enzymów (publikacja D7).

W przedłożonym cyklu publikacyjnym zaprezentowano wszystkie otrzymane wyniki badań dotyczące zarówno sposobu syntezy, jak również zaproponowanego zastosowania, które zostały wnikliwie przeanalizowane, w celu wykorzystania dostępnych materiałów w nowoczesnych oraz zrównoważonych technologiach.

W pierwszym etapie prac, związanych z badaniami dotyczącymi realizacji pracy doktorskiej, dokonano analizy dostępnych informacji naukowych, a sformułowane wnioski zostały zebrane w opublikowanej publikacji D1. Informacje zawarte w artykule zostały podzielone na kilka kluczowych części. W pierwszej z nich dokonano prezentacji sferycznych cząstek ze względu na ich budowę. Wyróżniono lite cząstki, sfery typu rdzeń-powłoka oraz wielowarstwowe, a także materiały cechujące się pustym wnętrzem. Dodatkowo stwierdzono, że charakterystyka oraz możliwości zastosowań ściśle zależą od metody syntezy, zastosowanego materiału oraz budowy cząstki. Sfery mogą zostać otrzymane z nieorganicznych i organicznych materiałów, w tym z metali m.in.: złota, srebra

## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

czy platyny, tlenków metali, polistyrenu, żywic, a także polianiliny. Ponadto, biopolimery są jedną z najszybciej i najprętniej rozwijających się grup, z których można otrzymać materiały sferyczne. Do tych celów najczęściej stosuje się polisacharydy, białka a także ligninę. Podczas sporządzania pracy przeglądowej wskazano, że sferyczne cząstki mogą być zastosowane w medycynie jako systemy do dostarczania leków, jako biokontrast oraz w chemioterapii. Zwrócono uwagę, że cechują się niską toksycznością i dobrą biodegradowalnością ze znaczącymi zdolnościami do przyłączania oraz uwalniania substancji leczniczej. Przy pomocy nośnika można kontrolować temperaturę oraz pH, w którym dana substancja może zostać uwolniona do organizmu. Stwierdzono, że ze względu na wybrane parametry, nowoczesne systemy do dostarczania leków mogą być wykorzystywane w terapii celowanej, która umożliwia na leczenie zainfekowanego miejsca, bez niepożądanych skutków ubocznych wobec zdrowych tkanek. Kolejno, cząstki o zwiększonej powierzchni właściwej i porowatości, można zastosować w biotechnologii oraz ochronie środowiska, gdyż cechują się dobrymi właściwościami sorpcyjnymi wobec organicznych i reaktywnych barwników, a także substancji zanieczyszczających wody gruntowe. Zwrócono szczególną uwagę, że wybrane sfery można zastosować do rozkładu antybiotyków, a także immobilizacji enzymów. Sferyczne cząstki zastosowano także jako sensory wybranych gazów m.in.: tlenku węgla, wodoru, a także jonów rtęci czy miedzi. Otrzymane cząstki znalazły również zastosowanie jako detektory ciśnienia cechujące się krótkim czasem reakcji oraz możliwością wielokrotnego wykorzystania. Kolejną bardzo ważną dziedziną przemysłu, w której zastosowano opisywane materiały jest elektrochemia. Otrzymano struktury składające się z polielektrolitów oraz polimerów przewodzących w celu wykorzystania do produkcji elektrod kompozytowych oraz materiałów o właściwościach antykorozyjnych. Bardzo ważną częścią było zaprezentowanie możliwości zastosowań cząstek z udziałem biopolimerów podczas druku 3D oraz 4D, a także podczas przygotowywania mikrouządzeń, które następnie można wykorzystać do produkcji nowoczesnych organizmów (z ang. *organ-on-a-chip*) oraz laboratorium (z ang. *lab-on-a-chip*). Zaprezentowane mikrouządzenia znajdują zastosowanie m.in.: podczas regeneracji tkanek, zminimalizowania testowania na zwierzętach, a także zmniejszenia możliwości wystąpienia ludzkich błędów, w tym zanieczyszczenia próbek podczas przeprowadzania określonego procesu. Podczas zbierania oraz analizowania literatury zauważono, że nastąpił znaczny wzrost zainteresowania materiałami z udziałem biopolimerów, w szczególności ligniny kraft. Ponadto, zdobyta wiedza podczas przygotowywania publikacji przeglądowej stała się inspiracją do przeprowadzenia własnych



## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

badania dotyczących otrzymywania i możliwości zastosowania sferycznych cząstek, a uzyskane wyniki zostały opisane w **publikacjach D2–D7**.

Dokonując przeglądu literaturowego prac doświadczalnych dotyczących zastosowania sferycznych cząstek z udziałem ligniny zauważono wzmożone zainteresowanie związane z możliwościami wykorzystania otrzymanego materiału w medycynie i biotechnologii. Tematyka ta jest bardzo ważna, gdyż każdego dnia zostają odkryte nowe choroby, których sposoby leczenia nie są jeszcze poznane. Zwrócono uwagę, że lignina kraft, z której otrzymywane są sferyczne materiały również znalazła zastosowanie podczas enkapsulacji wybranych substancji leczniczych umożliwiając kontrolowane uwalnianie leku. Biopolimer ten można także zastosować jako substancję wypełniającą podczas syntezy tabletek. Podczas badań do pracy doktorskiej podjęto kolejną próbę zebrania najnowszych informacji dotyczących tego zagadnienia, a otrzymane wiadomości zostały opublikowane w artykule przeglądowym (**publikacja D8**). Mikro- i nanocząstki z udziałem ligniny można z powodzeniem zastosować jako systemy do dostarczania substancji leczniczych, które eliminują możliwość wystąpienia reakcji niepożądanych jednocześnie utrzymując bardzo dobrą efektywność transportu leków do określonych miejsc w organizmie. Opracowując publikację przeglądową stwierdzono, że sferyczne materiały z udziałem ligniny mogą być nośnikami wielu substancji, w szczególności ibuprofenu, kwasu foliowego, kurkuminy, a także chlorowodoru doksorubicyny. Cząstki te mogą również być toksyczne wobec komórek nowotworowych, pozostając jednocześnie obojętnym wobec zdrowej tkanki. Zwrócono uwagę również, że materiał biopolimerowy można zastosować jako inhibitor wzrostu wielu patogenów, a także może być on użyty do enkapsulacji małych cząstek, w tym porfiryn do zastosowania w remediacji środowiska. Kolejno, podkreślono, że cząstki z udziałem ligniny mogą być z powodzeniem zastosowane do produkcji materiałów przyspieszających gojenie się ran, bez konieczności dodatkowego użycia antybiotyków, wspomagając tym samym tworzenie się tkanek. Zauważono również, że lignina ma także właściwości przeciwwirusowe i dlatego można ją z powodzeniem zastosować w celu zahamowania występującej infekcji. Bardzo interesującym podejściem jest dodanie cząstek z udziałem ligniny jako stabilizatora i substancji emulgującej podczas produkcji emulsji stabilizowanych cząstkami stałymi znajdującymi się na powierzchni kropelek roztworu. W przedstawionej publikacji przeglądowej zaprezentowano, że materiał biopolimerowy cechuje się niską toksycznością, dużą biodegradowalnością i właściwościami umożliwiającymi na biokompatybilność z innymi materiałami. Utworzone emulsje charakteryzują się zwiększonymi właściwościami termalnymi, wysoką stabilnością

oksydacyjną oraz ochroną przed promieniowaniem UV. Otrzymane emulsje nie wykazują zdolności do tworzenia się agregatów oraz aglomeratów. Kolejnym nowatorskim podejściem jest wykorzystanie cząstek z udziałem ligniny do dostarczania wybranych substancji w tym związków przeciwgrzybiczych i pestycydów u roślin, dlatego poświęcono temu zagadnieniu znaczną część redagowanej publikacji. Zaznaczono, że lignina ma pozytywny i stymulujący wpływ na wzrost nasion oraz systemów korzennych. Zamknięcie wybranych związków wewnątrz biopolimerowej cząstki umożliwia na celowane dostarczenie substancji do konkretnej części w roślinie bez konieczności nadmiernego zanieczyszczania środowiska. W końcowej części sporządzania pracy przeglądowej, zwrócono również uwagę na bezpieczeństwo i ewentualne zagrożenia z nadmiernego stosowania sferycznych cząstek z udziałem ligniny. Podkreślono, że konieczne są dodatkowe badania, które umożliwią na zrozumienie i określenie bezpiecznych warunków podczas stosowania zsyntezowanych materiałów, a także ich akumulacji w organizmach żywych.

Informacje zebrane w przedstawionych publikacjach przeglądowych umożliwiają na stwierdzenie, że rozwój mikro- i nanostruktur jest z udziałem biopolimerów jest intensywny i w przyszłości będą powstawały nowe rozwiązania, w których klasyczne materiały zostaną zastąpione przez te pochodzenia naturalnego. Bardzo ważne jest prowadzenie badań naukowych, pozwalających na syntezę materiałów o unikalnych właściwościach i nowych, potencjalnych możliwościach zastosowań.

## **5.2. Synteza i charakterystyka otrzymanych sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft**

Sferyczne cząstki z udziałem biopolimerów, a w szczególności z zastosowaniem ligniny kraft stały się popularne ze względu na zintensyfikowany w ostatnim czasie rozwój mikro- i nanotechnologii, a także konieczności wykorzystania materiałów odpadowych. Sfery otrzymane z ligniną cechują się niską toksycznością, biodegradowalnością oraz obecnością wybranych grup funkcyjnych w swojej strukturze [183,184]. Materiały te dodatkowo powinny być odporne na działanie mikroorganizmów, stabilne w trudnych warunkach środowiska, a także cechować się dużą porowatością układu [185–187]. Zauważono, że podczas syntezy można kontrolować kształt oraz morfologię materiału [188].

Podczas badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej zostały zaproponowane nowe metody otrzymywania sferycznych cząstek z zastosowaniem ligniny kraft oraz związków powierzchniowo czynnych. Określono ich morfologię oraz właściwości fizykochemiczne.

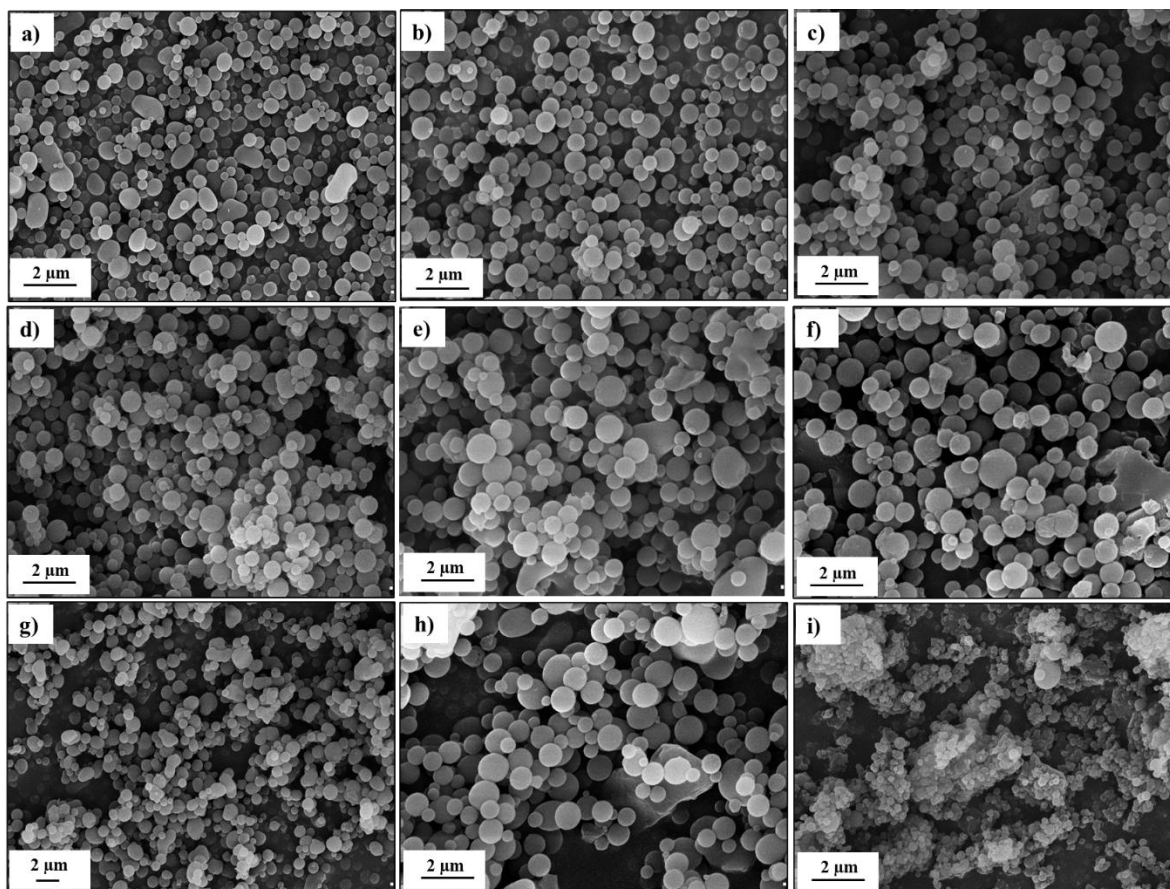
## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

Pierwszym etapem prac eksperymentalnych było sprawdzenie jak wybrane warunki procesowe, w tym długość czasu trwania procesu, stosunek wagowy prekursorów oraz sposób przygotowania ligniny mają wpływ na morfologię otrzymywanych materiałów. W **publikacji D2** podjęto próbę otrzymania sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft oraz kationowego związku powierzchniowo czynnego – chlorku heksadecylotrimetyloamoniowego (CTAB). W celu określenia najkorzystniejszych warunków procesowych, wykonano szereg doświadczeń z wykorzystaniem trzech różnych metod, w celu wybrania najbardziej efektywnej z nich, a otrzymane wyniki umożliwiły przeprowadzenie dalszych zaawansowanych badań. Początkowo lignina została zdyspergowana w alkoholu etylowym i mieszana z etanolem z roztworem CTAB przez 2 godziny (próbki LC-2a (1:1), LC-2a (2:1), LC-2a (4:1)) lub 4 godziny (próbki LC-4 (1:1), LC-4 (2:1) oraz LC-4 (4:1)). Odrębną modyfikacją sposobu syntezy było uprzednie przefiltrowanie dyspersji ligniny i następnie dodanie jej do roztworu CTAB, a całość była mieszana również przez 2 godziny (próbki LC-2b (1:1), LC-2b (2:1) oraz LC-2b (4:1)). Ponadto, w każdym procesie sprawdzono jak stosunek wagowy poszczególnych prekursorów wpływa na efektywność syntezy zaprojektowanego materiału. Sprawdzono trzy stosunki wagowe ligniny kraft do chlorku heksadecylotrimetyloamoniowego (1:1, 2:1 oraz 4:1). Pierwszym podstawowym etapem była ocena morfologicznych oraz mikrostrukturalnych właściwości otrzymanych produktów. Ten ważny etap pozwolił na sprawdzenie, które z zaproponowanych warunków procesowych umożliwiają otrzymanie oczekiwanego produktu, tym samym zwiększając jego możliwości aplikacyjne. Dla otrzymanych produktów została wykonana analiza mikrostrukturalna z wykorzystaniem skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) oraz rozkłady wielkości cząstek wraz z określeniem indeksów polidispersyjności. Uzyskane zdjęcia zostały przedstawione na rysunku 5.2.1, natomiast dane wielkości cząstek zebrano w tabeli 5.2.1.

Stwierdzono, że sferyczne cząstki z udziałem ligniny można otrzymać w każdej z zaprezentowanych metod. Wszystkie cząstki charakteryzują się sferycznym bądź elipsoidalnym kształtem. Produkty otrzymane w stosunku wagowym 1:1 cechują się największą homogenicznością oraz sferycznością powstałych cząstek, a dodatkowo nie zaobserwowano żadnych pozostałości po syntezie, wynikających z obecności nieprzereagowanych prekursorów. Analizując próbki powstałe podczas procesu prowadzonego przez 4 godziny, a także przy stosunku wagowym 2:1 oraz 4:1 ligniny kraft do surfaktantu, dostrzeżono występowanie również nieregularnych cząstek, pochodzących

## Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

od substancji wyjściowych. Wnioskowano zatem, że wydłużone mieszanie zastosowanych prekursorów ma negatywny wpływ na sposób łączenia się biopolimeru i CTAB.



**Rysunek 5.2.1.** Zdjęcia SEM materiałów: a) LC-2a (1:1), b) LC-2a (2:1), c) LC-2a (4:1), d) LC-2b (1:1), e) LC-2b (2:1), f) LC-2b (4:1), g) LC-4 (1:1), h) LC-4 (2:1 wt./wt.) oraz i) LC-4 (4:1)

Dodatkowo, zaobserwowano, że zbyt długie prowadzenie procesu oraz zbyt duży stosunek ligniny do surfaktantu powodują zwiększoną tendencję do tworzenia się agregatów i aglomeratów. Ponadto, wszystkie otrzymane produkty cechują się cząstkami mniejszymi niż 1 μm, z wyjątkiem materiału LC-2b (4:1), dla którego zaobserwowano dwa zakresy wielkości cząstek od 106 do 1106 nm oraz od 4145 do 6439 nm. Najmniejsze cząstki otrzymano dla materiału LC-2a (2:1) w przedziale od 220 do 531 nm. Dodatkowa uwaga została zwrócona również na niskie wartości indeksu polidispersyjności, poniżej 0,350, dla wszystkich otrzymanych materiałów. Najniższe wartości zaobserwowano dla materiałów LC-2b (2:1) oraz LC-2a (1:1), odpowiednio 0,111 oraz 0,186. Niskie wartości uzyskanego indeksu polidispersyjności wraz z zaprezentowanymi zdjęciami SEM umożliwiają na

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

wnioskowanie, że zaproponowany proces syntezy sferycznych cząstek z udziałem ligniny, z wykorzystaniem metody miękkiego odwzorowania, jest poprawny i efektywny.

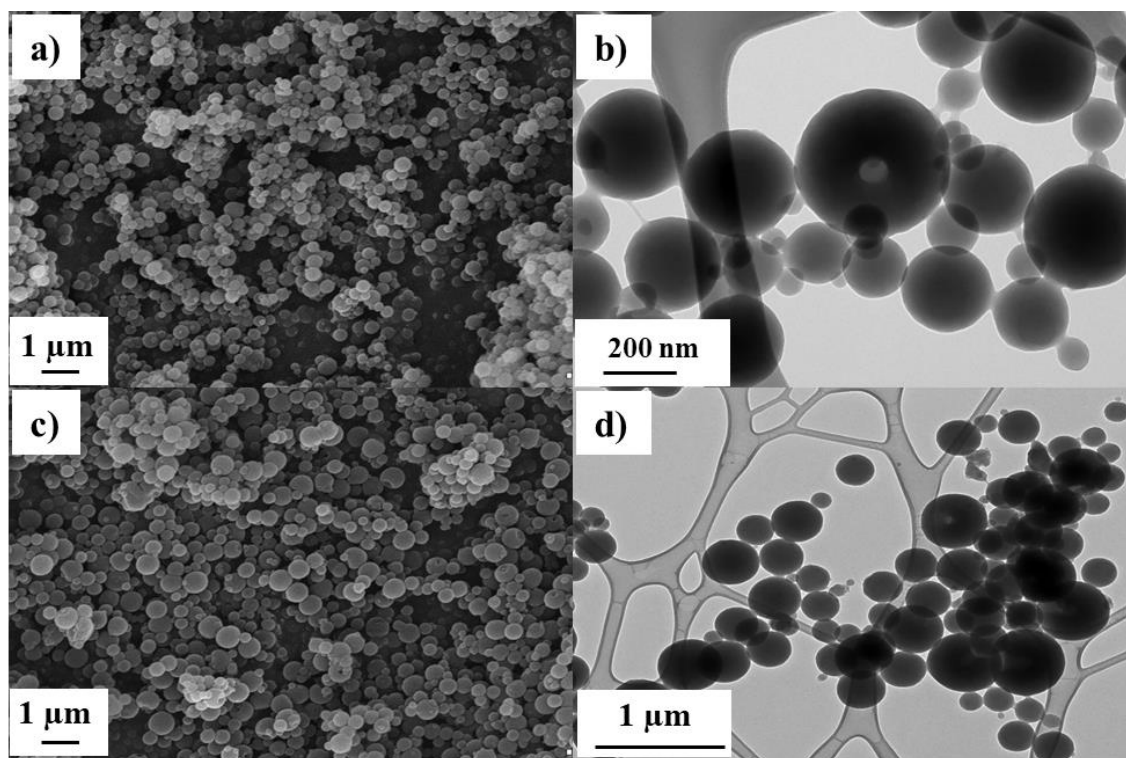
**Tabela 5.2.1.** Rozkład wielkości cząstek wraz z indeksami polidispersyjności dla wszystkich otrzymanych produktów

Nazwa próbki	Rozkład wielkości cząstek [nm]	Maksymalny udział cząstek [%]	Indeks polidispersyjności PDI
LC-2a (1:1)	295–825	531 nm – 28,3	0,186
LC-2a (2:1)	220–531	342 nm – 27,1	0,219
LC-2a (4:1)	255–615	369 nm – 29,1	0,330
LC-2b (1:1)	255–615	369 nm – 27,3	0,315
LC-2b (2:1)	255–615	459 nm – 30,8	0,111
LC-2b (4:1)	106–1106; 4145–6439	295 nm – 9,2 5560 nm – 12,4	0,284
LC-4 (1:1)	220–712	396 nm – 27,8	0,238
LC-4 (2:1)	255–825	396 nm – 24,5	0,352
LC-4 (4:1)	220–955	396 nm – 20,8	0,218

W związku z otrzymaniem obiecujących wyników syntezy sferycznych cząstek z zastosowaniem syntetycznego surfaktantu przeprowadzono dalsze badania, w których wykorzystano dwa naturalne związki powierzchniowo czynne, ekstrakty z *Saponaria officinalis* L. oraz z owoców z drzewa *Sapindus mukkorosi*. Jest to innowacyjny sposób syntezy sferycznych materiałów, ze względu iż zastosowane naturalne ekstrakty zazwyczaj pochodzą z odnawialnego surowca i są przygotowywane z wykorzystaniem mikroorganizmów [189]. Dodatkowo, utrzymują one swoje właściwości w trudnych warunkach środowiska, przy dużych zmianach pH oraz temperatury, a ponadto ulegają rozkładowi i są nietoksyczne [190]. W **publikacji D5** zostały zaprezentowane układy KL-SO oraz KL-SM, otrzymane odpowiednio z użyciem ekstraktu z *Saponaria officinalis* L. oraz owoców z drzewa *Sapindus mukkorosi*. Dla otrzymanych próbek przeprowadzono charakterystykę mikrostrukturalną z wykorzystaniem skaningowej oraz transmisyjnej mikroskopii elektronowej, analizę rozkładu wielkości cząstek wraz z określenia indeksów polidispersyjności, ocenę struktury porowatej, analizę otrzymanych widm FTIR oraz potencjału elektrokinetycznego.

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

Na podstawie otrzymanych zdjęć SEM oraz TEM (rysunek 5.2.2.) stwierdzono, że wszystkie otrzymane cząstki charakteryzują się sferycznym kształtem bez zwiększonej zdolności do tworzenia się agregatów oraz aglomeratów. Dodatkowo, zaobserwowano, że niezależnie od zastosowanego naturalnego surfaktantu, oprócz sferycznych, litych cząstek, występują również materiały z otworami w swojej strukturze (z ang. *doughnut-like particles*). Cząstki KL-SM cechują się wielkością cząstek w zakresie od 122 do 531 nm, w przeciwieństwie do materiału KL-SO, dla którego zarejestrowano wymiary w dwóch zakresach wielkości (142–825 nm oraz 3580–6439 nm). Ponadto, na podstawie przedstawionych zdjęć można stwierdzić, że materiały tworzą homogeniczne układy, co także zostało potwierdzone podczas analizy indeksów polidispersyjności, które zarejestrowano poniżej 0,200 (0,146 dla materiału KL-SO oraz 0,178 dla KL-SM).



**Rysunek 5.2.2.** Zdjęcia SEM oraz TEM próbek: a) i b) KL-SM oraz c) i d) KL-SO

W wyniku analizy struktury porowatej stwierdzono, że oba otrzymane produkty cechują się podobnymi właściwościami. Lignina kraft ma relatywnie niską wartość powierzchni właściwej BET równą  $1 \text{ m}^2/\text{g}$ , z kolei podczas analizy danych uzyskanych dla otrzymanych materiałów stwierdzono, że parametr ten uległ znacznej poprawie, w porównaniu do niezmodyfikowanego biopolimeru. Dla próbki KL-SM zaobserwowano wartości  $18 \text{ m}^2/\text{g}$  natomiast dla KL-SO  $14 \text{ m}^2/\text{g}$ . Cząstki cechują się wielkością porów odpowiednio 30 nm oraz 26 nm dla produktów otrzymanych odpowiednio z zastosowaniem ekstraktów

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

z owoców z drzewa *Sapindus mukorrosi* oraz *Saponarii officinalis* L. Ponadto, wykonano również analizę widm FTIR dla otrzymanych materiałów. Stwierdzono, że obie próbki cechują się obecnością tożsamy grup funkcyjnych w tym pasm rozciągających pochodzących od –OH w maksimum liczby falowej 3450 cm<sup>-1</sup>. Zaobserwowano charakterystyczne pasma przy liczbach falowych 2900 cm<sup>-1</sup> oraz 2800 cm<sup>-1</sup> pochodzące od pasm rozciągających grupy –CH. Zaobserwowano charakterystyczne pasma pochodzące od ligniny, w tym od grupy karbonylowej (1550 cm<sup>-1</sup>) oraz pierścienia aromatycznego (1450-1200 cm<sup>-1</sup>). Należy także dodać, że zaprezentowane wyniki są porównywane z wartościami otrzymanymi w wyniku przeprowadzenia analizy elementarnej (tabela 5.2.2). Zaobserwowano znaczny wzrost zawartości węgla w materiale KL-SM (63,8%) oraz KL-SO (64,7%), w porównaniu do natywnej ligniny kraft (36,1%). Ponadto, próbki cechują się zmniejszoną zawartością siarki (1,1%) oraz znaczącym wzrostem zawartości wodoru (6,7%) porównując z niezmodyfikowanym biopolimerem (2,7%). Mniejsza procentowa zawartość siarki w produkcie może być związana z częściową depolimeryzacją biopolimeru podczas tworzenia etanolowej dyspersji. Zwiększona zawartość wodoru oraz węgla może być związana z obecnością naturalnego związku powierzchniowo czynnego w strukturze cząstki. Przeprowadzenie analiz FTIR oraz elementarnej umożliwiło na potwierdzenie, częściowa depolimeryzacja ligniny kraft podczas procesu syntezy, ułatwia połączenie biopolimeru z wybranym związkiem powierzchniowo czynnym [76].

**Tabela 5.2.2.** Zawartość procentowa poszczególnych pierwiastków dla produktów KL-SO oraz KL-SM

Nazwa próbki	Zawartość procentowa [%]			
	N	C	H	S
KL-SO	0,2	64,7	6,7	1,1
KL-SM	0,2	63,8	6,7	1,1
Lignina kraft	-	36,1	5,7	2,7

Dodatkowo, przeprowadzono analizę elektrokinetyczną otrzymanych materiałów i zaobserwowano dla obu z nich występowanie punktu izoelektrycznego (pH<sub>IEP</sub>) w pH 2,0 dla materiału KL-SO oraz w pH 2,7 dla KL-SM. Oba materiały wykazują stabilność elektrokinetyczną ( $\leq -30$  mV) w pH poniżej 3,0. Ze względu na znaczną obecność grup hydroksylowych na powierzchni otrzymanych materiałów, najniższą wartość potencjału dzeta równą  $-54$  mV dla obu materiałów zaobserwowano w pH 10,0. Ponadto stwierdzono,

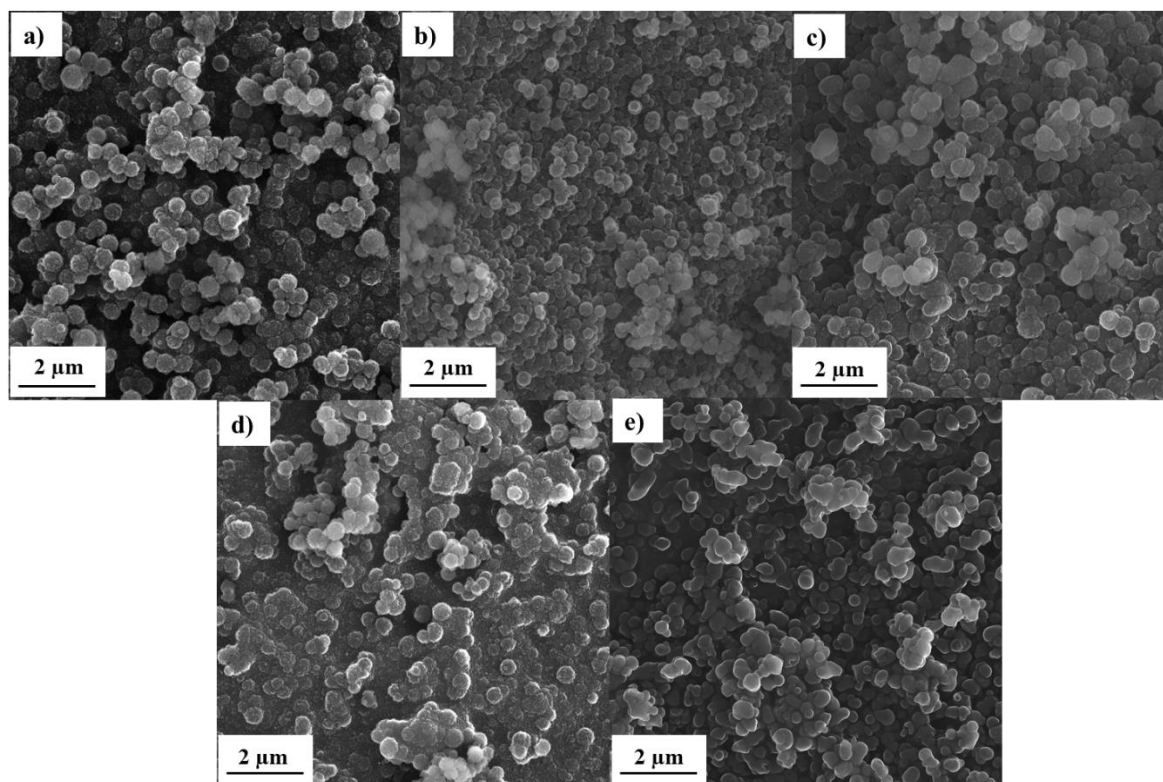
## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

że dodatek naturalnych surfaktantów zwiększa wartości potencjału dzeta w kwasowych warunkach w porównaniu dla parametrów otrzymanych dla niezmodyfikowanej ligniny kraft. Podkreślono, że dodatek naturalnych środków powierzchniowo czynnych zmienia właściwości potencjału elektrokinetycznego ligniny kraft. Zsyntezowane cząstki cechują się większą stabilnością dyspersyjną w wodnych roztworach, w zakresie pH od 2 do 10, co zwiększa ich potencjalne możliwości zastosowań.

Podczas przeprowadzonych badań do pracy doktorskiej, zaprezentowano również syntezę sferycznych cząstek z udziałem cieczy jonowych. Jest to oryginalna metoda, która umożliwia nie tylko na częściową depolimeryzację biopolimeru, ale także, na otrzymanie materiału o wyjątkowej mikrostrukturze. Ze względu na możliwość syntezy cieczy jonowych o określonym składzie, otrzymane sferyczne cząstki mogą również cechować się interesującymi właściwościami, co znacznie zwiększa ich potencjalne możliwości zastosowań [191]. Wodorosiarczanową ciecz jonową zastosowano do otrzymywania sferycznych cząstek z udziałem ligniny, a otrzymane wyniki zaprezentowano w **publikacji D6**. Podczas badań sprawdzono, jak wybrany stosunek wagowy ligniny kraft do wodorosiarczanu 1-(propoksymetylo)-1H-imidazoliowego wpływa na morfologię otrzymanych materiałów. W tym celu zaproponowano proporcje prekursorów: 1:1, 4:3, 2:1, 4:1 oraz 10:1 i otrzymano kolejno produkty, które oznaczono jako Lig-IL (1:1), Lig-IL (4:3), Lig-IL (2:1), Lig-IL (4:1) oraz Lig-IL (10:1). Na podstawie uzyskanych zdjęć SEM (rysunek 5.2.3) oraz danych (tabela 5.2.3.) przeprowadzono charakterystykę morfologiczno-mikrostrukturalną cząstek.

Sferyczne cząstki otrzymano bez względu na sposób przeprowadzonej syntezy, jednak podczas analizy rezultatów można stwierdzić, że ilość dodanej cieczy jonowej ma znaczny wpływ na kształt i formowanie się materiałów. Próbkę otrzymaną z wykorzystaniem mniejszej ilości substancji powierzchniowo czynnej wykazują większą tendencję do tworzenia się agregatów oraz aglomeratów, dlatego poszczególne cząstki próbek Lig-IL (4:1) oraz Lig-IL (10:1) łączą się ze sobą tworząc większe struktury bez wyodrębnionego kształtu pojedynczej sfery. Materiały otrzymane z dodatkiem większej ilości wodorosiarczanowej cieczy jonowej cechują się bardziej jednolitym oraz sferycznym kształtem. Najmniejsze cząstki zaobserwowano dla materiału Lig-IL (1:1) w zakresie od 91 do 295 nm, natomiast największe dla Lig-IL (4:3) od 122 do 615 nm. Warto podkreślić, że wszystkie materiały cechują się wartościami indeksu polidispersyjności poniżej 0,100, co również pośrednio potwierdza poprawność zaprezentowanej metody syntezy sferycznych materiałów.





**Rysunek 5.2.3.** Zdjęcia SEM: a) Lig-IL (1:1), b) Lig-IL (4:3), c) Lig-IL (2:1), d) Lig-IL (4:1) oraz e) Lig-IL (10:1)

Dodatkowo, dla otrzymanych materiałów wykonano analizę struktury porowatej, w której zaobserwowano wyraźny wzrost powierzchni właściwej BET dla wszystkich materiałów od 12 do 17 m<sup>2</sup>/g w porównaniu do niezmodyfikowanego biopolimeru (1 m<sup>2</sup>/g). Ponadto, zauważono sześciokrotne zmniejszenie się wielkości porów otrzymanych materiałów, z 12,0 nm dla ligniny kraft do ok. 2,0 nm dla poszczególnych otrzymanych cząstek. Najwyższą wartość powierzchni właściwej otrzymano dla materiału Lig-IL (2:1) równą 17 m<sup>2</sup>/g, natomiast najmniejszą wielkość porów (2,1 nm) dla Lig-IL (10:1). Niezależnie od zastosowanego stosunku wagowego obu prekursorów, podczas syntezy otrzymano materiały o niewielkim rozmiarze oraz oczekiwanej mikrostrukturze.

Ponadto, w wyniku przeprowadzenia analizy elementarnej zaobserwowano podobny udział procentowy wybranych pierwiastków w otrzymanych próbkach, niezależnie od sposobu ich przygotowania. Prawdopodobnie jest to spowodowane tym, że tylko określona część biopolimeru może zostać efektywnie połączona z zastosowanym związkami powierzchniowo czynnym. Dlatego wnioskowano, że nie ma jednoznacznego powinowactwa między ilością udziału pierwiastków w próbce, a ilością dodanej cieczy jonowej. Zauważono natomiast, że w porównaniu do niezmodyfikowanej ligniny kraft, we wszystkich próbkach zaobserwowano obecność azotu oraz zwiększenie się ilości siarki,

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

węgla i wodoru. Umożliwia to na potwierdzenie, że w strukturze otrzymanych sfer występuje także kation oraz anion zastosowanej wodorosiarczanowej cieczy jonowej.

**Tabela 5.2.3.** Rozkład wielkości cząstek oraz parametry struktury porowatej dla otrzymanych materiałów

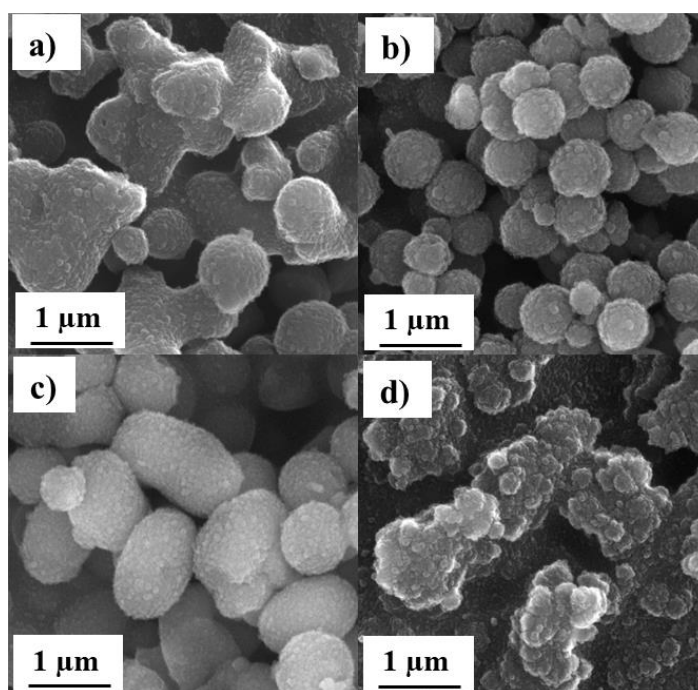
Nazwa próbki	Rozkład wielkości cząstek [nm]	Indeks poldispersyjności PdI	Parametry struktury porowatej		
			$A_{BET}$ [m <sup>2</sup> /g]	$V_p$ [cm <sup>3</sup> /g]	$S_p$ [nm]
Lig-IL (1:1)	91–295	0,099	15	0,006	2,1
Lig-IL (4:3)	122–615	0,067	14	0,006	2,2
Lig-IL (2:1)	122–531	0,060	17	0,008	2,1
Lig-IL (4:1)	91–531	0,076	14	0,005	2,1
<b>Lig-IL (10:1)</b>	91–324	0,095	12	0,003	2,1

Zostało to również potwierdzone podczas analizy widm FTIR dla wszystkich otrzymanych materiałów. Stwierdzono niewielkie różnice w intensywności poszczególnych pasm, które mogą być związane ze zdolnością do depolimeryzacji i oksydacji ligniny w obecności cieczy jonowej. Zaobserwowano również oprócz charakterystycznych dla biopolimeru pasm pochodzących od grupy hydroksylowej (3600 do 3100 cm<sup>-1</sup>), alkilowej (3000 cm<sup>-1</sup>) także drgania pochodzące od grupy –N<sup>+</sup>R przy maksimum długości falowej w 2600 cm<sup>-1</sup> oraz silne pasma związane z obecnością grupy HOSO<sub>3</sub><sup>-</sup> (1200 cm<sup>-1</sup>) oraz O=S=O (1145 cm<sup>-1</sup>). Przeprowadzona analiza umożliwiła na stwierdzenie, że otrzymane cząstki charakteryzują się obecnością grup funkcyjnych w swojej strukturze, które pochodzą zarówno od ligniny kraft oraz zastosowanej wodorosiarczanowej cieczy jonowej. Dodatkowo, szczególną uwagę zwrócono na właściwości elektrokinetyczne otrzymanych materiałów. Zaobserwowano, że wszystkie materiały charakteryzują się dobrą stabilnością elektrokinetyczną w pH powyżej 3, dodatkowo otrzymano ujemne wartości potencjału dzeta w całym analizowanym zakresie pH. Ponadto, zaobserwowano niewielkie różnice w poszczególnych wartościach potencjału elektrokinetycznego dla wszystkich próbek. Na wyróżnienie zasługuje próbka Lig-IL (4:1), która cechuje się najniższymi wartościami tego parametru, co umożliwia na stwierdzenie, że na jej powierzchni występują szczególnie grupy funkcyjne, które są zdolne do jonizacji. Ze względu na otrzymanie ujemnych wartości potencjału dzeta dla wszystkich materiałów, dostrzeżono, że mają one zdolność do

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

przyciągania w szczególności cząstek o dodatnim potencjale „powierzchniowym” [119]. Podobne badania zostały zaprezentowane przez zespół Li, podczas których stwierdzono, że cząstki były stabilne elektrokinetycznie w zakresie pH od 4 do 12 [192]. Warto również zwrócić uwagę na wyniki zaprezentowane przez Yan i współpracowników, którzy zsyntezowali produkty cechujące się ujemnymi wartościami potencjału dzeta, podkreślając że im niższa wartość tego parametru tym mniejsza zdolność materiału do tworzenia agregatów [193].

Dodatkowo, w ramach prowadzonych badań, szczególna uwaga została zwrócona na otrzymywanie sferycznych cząstek w środowisku reakcji o wybranych wartościach pH. W **publikacji D7** przeprowadzono proces syntezy cząstek z udziałem ligniny połączonej z chlorkiem choliny w celu określenia, w jakim środowisku reakcji o pH od 3 do 10 zostaną utworzone materiały o sferycznym kształcie oraz homogenicznej strukturze, a tym samym braku zdolności do tworzenia się agregatów i aglomeratów. Utworzono cztery rodzaje materiałów: G0 (pH 3), G1 (pH 5), G2 (pH 7) oraz G3 (pH 10). W pierwszej kolejności określono ich charakterystykę morfologiczno-mikrostrukturalną analizując zdjęcia ze skaningowej mikroskopii elektronowej, zakresy rozkładu wielkości cząstek oraz indeksy polidispersyjności. Otrzymane zdjęcia zaprezentowano na rysunku 5.2.4., natomiast wyniki rozkładu wielkości cząstek przedstawiono w tabeli 5.2.4. Na podstawie tychże danych dowiedziono, że próbka G1 cechuje się największą homogenicznością, bez zwiększonej tendencji do tworzenia się agregatów oraz aglomeratów.



Rysunek 5.2.4. Zdjęcia SEM: a) G0, b) G1, c) G2 oraz d) G3

## Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

Przy zastosowaniu pH środowiska równego 5 otrzymano najmniejsze cząstki w zakresie od 255 nm do 1484 nm. Jednocześnie, tożsame wyniki uzyskano dla próbki G2, różniące się jedynie bardziej elipsoidalnym kształtem w porównaniu do próbki G1 oraz większym zakresem wielkości cząstek (342–1990 nm). Zwrócono również szczególną uwagę na indeksy polidispersyjności otrzymanych produktów, który nie przekroczył 0,100 dla obu próbek. Ponadto, podczas analizy materiałów G0 oraz G3 otrzymanych kolejno w pH 3 oraz 10 zaobserwowano cząstki charakteryzujące się bardziej nieregularnym kształtem, zwiększonym zakresem wielkości cząstek i wysokim indeksem polidispersyjności (PdI – 1,000).

**Tabela 5.2.4.** Rozkłady wielkości cząstek oraz indeksy polidispersyjności dla otrzymanych materiałów G0–G4

Nazwa próbki	Rozkład wielkości cząstek [nm]	Indeks polidispersyjności PdI
G0	459–1718	1,000
G1	255–1484	0,091
G2	342–1990	0,064
G3	91–712; 3580–6439	1,000

Grupy fenolowe oraz karbonylowe ulegają z łatwością procesowi deprotonacji oraz jonizacji w pH ok. 9, co powoduje deformację sferycznych cząstek [194]. Podobne wyniki zostały otrzymane przez zespół Azimvanda. Stwierdzono, że podczas zmiany pH cząstki wykazują zdolność do koagulacji oraz agregacji [195]. Podobnie, Ma wraz ze współpracownikami otrzymali większe cząstki w pH 3 oraz powyżej 10 [196].

Przygotowanie materiału w środowisku zasadowym skutkuje otrzymaniem materiału ze znaczną zdolnością do tworzenia się agregatów i aglomeratów, w porównaniu do próbki otrzymanej w środowisku kwasowym. Materiały zsyntezowane w niesprzyjających warunkach reakcji umożliwiają na otrzymanie znacznie większych cząstek. Ze względu na otrzymanie homogenicznych i sferycznych układów w pH środowiska 5 oraz 7 dalsze badania dotyczące analizy struktury porowatej, grup funkcyjnych występujących na powierzchni materiału oraz potencjału elektrokinetycznego przeprowadzono jedynie na materiałach o pożądanej mikrostrukturze. Dla obu otrzymanych materiałów zaobserwowano wzrost powierzchni właściwej, 17 m<sup>2</sup>/g dla próbki G1 oraz 12 m<sup>2</sup>/g dla G2 w porównaniu do ligniny kraft, wraz ze znacznym zmniejszeniem się wielkości porów z 12,0 nm do ok. 2,1 nm dla obu produktów. W wyniku analizy grup funkcyjnych stwierdzono, że oba materiały

## Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

cechują się podobnymi pasmami pochodzącymi od ligniny kraft niezależnie od zastosowanego pH reakcji. Dostrzeżono szerokie pasmo przy liczbie falowej  $3400\text{ cm}^{-1}$  pochodzące od drgań rozciągających grup  $\text{-OH}$ . Przy liczbie falowej  $2950\text{ cm}^{-1}$  zauważono maksimum pasma odpowiadającego drganiom rozciągającym  $\text{-CH}$ . Wyizolowane pasmo pochodzące od grupy  $\text{C=O}$  zaobserwowano w maksimum liczby falowej  $1710\text{ cm}^{-1}$ , może być one związane z częściową depolimeryzacją biopolimeru podczas procesu otrzymywania sferycznych cząstek. Z kolei, pasma w zakresie  $1450\text{--}1350\text{ cm}^{-1}$  odpowiadają drganiom pochodzącym od pierścienia aromatycznego, dodatkowo występują pasma w zakresie  $1200\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$  odpowiadające wiązaniom  $\text{-C-O(H)}$  oraz  $\text{-C-O(Ar)}$ .

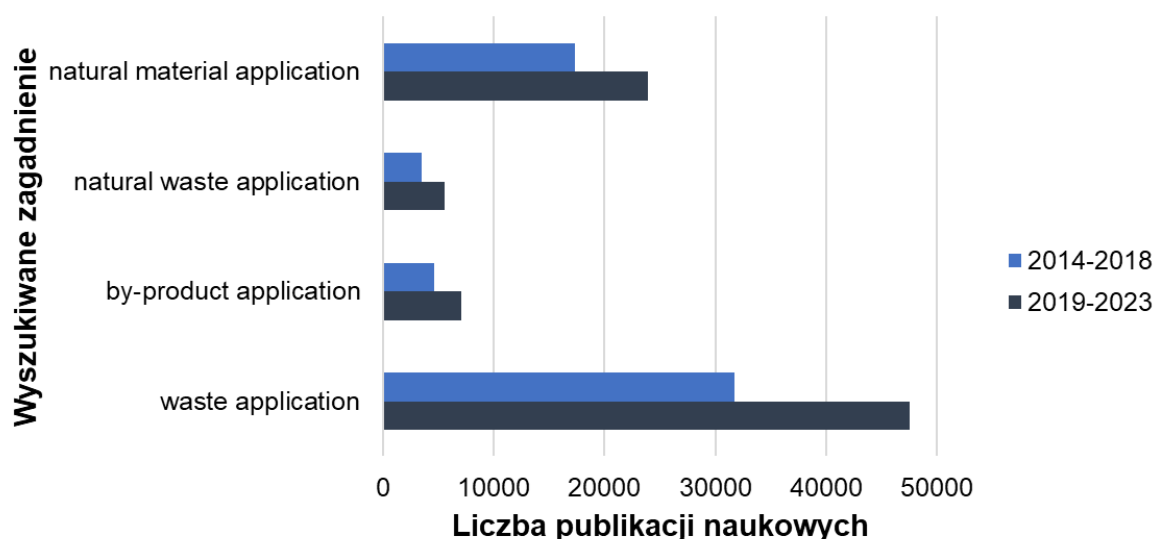
Przeprowadzając analizę elektrokinetyczną otrzymanych próbek stwierdzono, że oba materiały cechują się bardzo dobrą stabilnością dyspersyjną w zasadowych warunkach ze względu na jonizację grup występujących na powierzchni cząstek. Materiały są stabilne elektrokinetycznie w pH większym niż 2. Najniższe wartości potencjału zaobserwowano w pH 10 osiągając wartości  $-65\text{ mV}$  oraz  $-55\text{ mV}$ , odpowiednio dla materiału G1 i G2. Obie próbki cechują się negatywnym potencjałem dzeta w całym badanym zakresie pH, co może być związane z charakterystyką mikrostrukturalną produktów. Materiały nie wykazują tendencji do agregacji i aglomeracji, umożliwiając tym samym wzajemne oddziaływania między poszczególnymi cząstkami [195,196].

### 5.3. Aspekty aplikacyjne otrzymanych materiałów sferycznych

W ostatnim czasie można dostrzec zintensyfikowane badania, które umożliwiają zaproponowanie nowych zastosowań dla materiałów odpadowych. Efekt ten zobrazowano na rysunku 5.3.1., na którym przedstawiono liczbę artykułów naukowych w latach 2014-2018 oraz 2019-2023 dla wybranych zagadnień, tj.: zastosowanie odpadów (z ang. *waste application*), produktów ubocznych (z ang. *by-product application*), naturalnych odpadów (z ang. *natural waste application*) oraz naturalnych materiałów (z ang. *natural material application*). Cząstki otrzymane z surowców naturalnych mają mniejszy wpływ na środowisko oraz organizmy żywe, w porównaniu do swoich syntetycznych odpowiedników [197,198]. Sferyczne cząstki z udziałem ligniny mogą znaleźć zastosowanie w medycynie, elektrochemii, ochronie i remediacji środowiska, a także w biotechnologii [120,199].

W publikacjach D2–D7 zaprezentowano wyniki badań umożliwiające zastosowanie nowo zaprojektowanych materiałów w nowoczesnych technologiach i rozwój tzw. technologii przyjaznych środowisku.

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie



**Rysunek 5.3.1.** Liczba artykułów naukowych w latach 2014-2018 oraz 2019-2023 dla zagadnień: zastosowanie odpadów (z ang. *waste application*), produktów ubocznych (z ang. *by-product application*), naturalnych odpadów (z ang. *natural waste application*) oraz naturalnych materiałów (z ang. *natural material application*), na podstawie danych z bazy Scopus (dane na dzień 26.11.2022 r.)

W **publikacji D2** zaprezentowano metodę otrzymywania sferycznych cząstek z udziałem ligniny przy wykorzystaniu metody miękkiego odwzorowania. Sprawdzono wybrane warunki procesowe, w tym czas mieszania, sposób przygotowania ligniny, jak również wpływ stosunku wagowego poszczególnych prekursorów. Do dalszych badań wybrano układy LC-2a (1:1), LC-2b (2:1), LC-4 (1:1) oraz LC-4 (2:1), które cechowały się sferycznym kształtem, małą wielkością cząstek i wysoką homogenicznością. W pierwszym etapie przeprowadzono badania dotyczące oceny ich toksyczności stosując test Microtox<sup>®</sup>, z wykorzystaniem bioluminescencyjnych bakterii *Aliivibrio fischeri*, o popękanej ścianie komórkowej (tabela 5.3.1.). Podczas tego badania można określić toksyczność ostrą wywołaną przez substancję lub roztwór. Materiał jest uważany za nietoksyczny, jeśli po 15-minutowej ekspozycji mikroorganizmów na daną substancję, ich zahamowanie wzrostu wynosi mniej niż 20% [200]. Po upływie 5 minut stwierdzono, że próbki LC-2a (1:1) oraz LC-4 (1:1) nie są toksyczne. Natomiast, zauważono znaczny spadek żywotności bakterii podczas przeprowadzania analizy dla materiałów LC-2b (2:1) oraz LC-4 (2:1). Może to być związane ze sposobem syntezy, a tym samym połączenia się ligniny kraft z bromkiem heksadecylotrimetyloamoniowym. Podczas dalszego prowadzenia eksperymentu, zaobserwowano, że po upływie 15 minut jedynie materiał LC-2a (1:1) był nietoksyczny,

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

dlatego do dalszych badań zastosowano sferyczne cząstki z udziałem ligniny otrzymane w stosunku wagowym prekursorów 1:1.

**Tabela 5.3.1.** Zahamowanie metabolizmu mikroorganizmów *A. fischeri* przez LC-2a (1:1), LC-2b (2:1), LC-4 (1:1) oraz LC-4 (2:1)

Nazwa próbki	Zahamowanie wzrostu bakterii <i>A. fischeri</i>	
	Wpływ po 5 minutach [%]	Wpływ po 15 minutach [%]
<b>LC-2a (1:1)</b>	14	18
<b>LC-2b (2:1)</b>	33	37
<b>LC-4 (1:1)</b>	18	22
<b>LC-4 (2:1)</b>	22	24

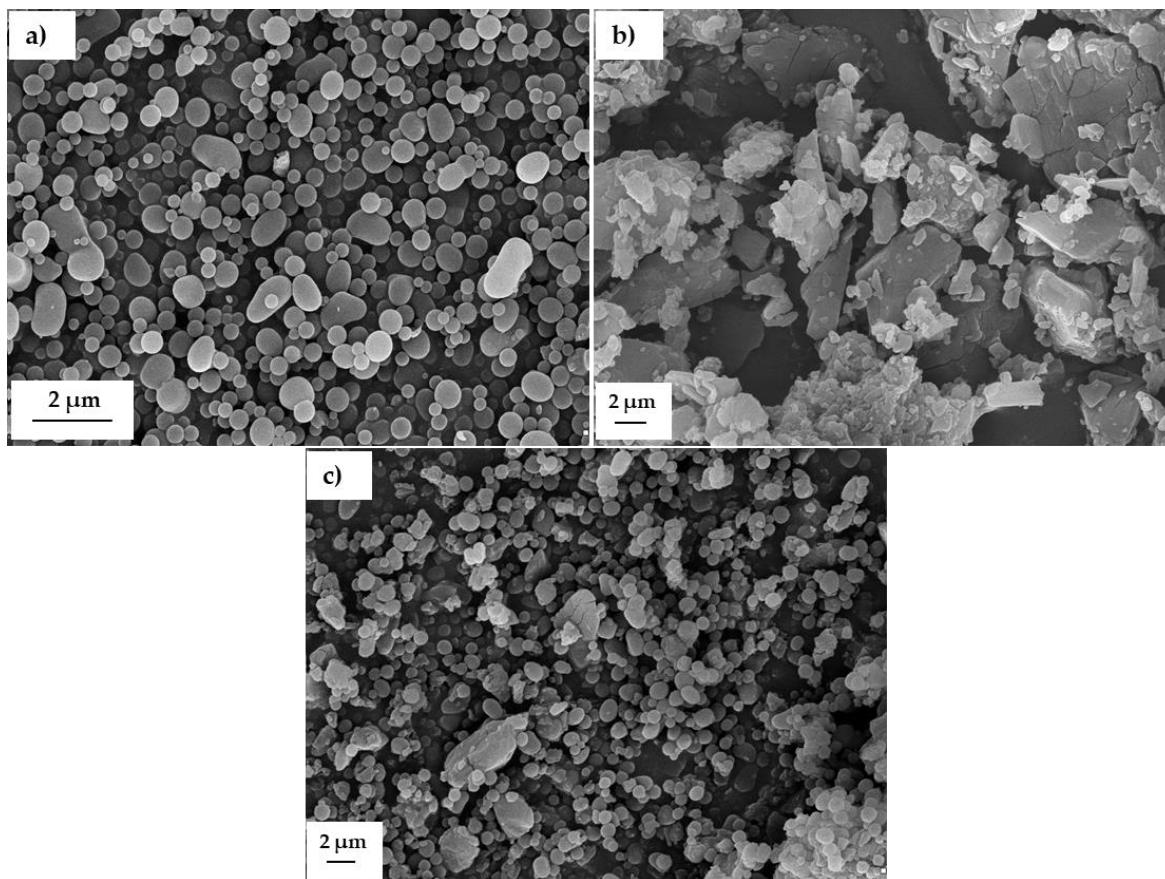
Podczas badań aplikacyjnych połączono sferyczne cząstki z modelowym lekiem, cilazapilem (CIL), z zastosowaniem metody mechanicznej. Oba materiały zostały utarte ze sobą w stosunku wagowym 1:1 i otrzymano materiał CIL@LC-2a (1:1). W pierwszej kolejności przeprowadzono charakterystykę morfologiczno-mikrostrukturalną otrzymanego materiału w celu potwierdzenia efektywności przeprowadzonego połączenia obu związków.

Wykonano analizę zdjęć SEM otrzymanej próbki (rysunek 5.3.2.) i zaobserwowano obecność cząstek pochodzących od obu prekursorów, tj. większe, nieregularne cząstki leku jak również mniejsze, charakterystyczne dla otrzymanych sfer z udziałem ligniny. Kształt sferycznego materiału podczas mechanicznej modyfikacji nie uległ zmianie i dlatego można je zaobserwować obok większych cząstek leku. Ponadto, układy charakteryzują się zdolnością do tworzenia większych aglomeratów, dlatego zarejestrowano, że ich wielkości mieszczą się w zakresie od 164 do 3091 nm. Warto zwrócić uwagę również na wartość indeksu polidispersyjności materiału CIL@LC-2a (1:1) wynoszącą 0,363, jest to mniejsza wartość niż ta zarejestrowana dla samego cilazaprilu (0,821) natomiast większa niż dla próbki LC-2a (1:1), dlatego wnioskowano, że proces mechanicznego połączenia materiałów został przeprowadzony poprawnie.

Analizując widmo FTIR materiału CIL@LC-2a (1:1) zaobserwowano obecność pasm o podobnych długościach falowych pochodzących od cilazaprilu, jak i LC-2a (1:1). Wyróżniono pasmo przy maksimum liczby falowej  $3600\text{ cm}^{-1}$  pochodzące od fizycznie związanej wody, dodatkowo kolejne sygnały zarejestrowano w  $3400\text{ cm}^{-1}$  oraz w zakresie  $3100\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$  związane z obecnością grup hydroksylowych. Pasma pochodzące od grup alkilowych zarejestrowano przy maksimach liczb falowych wynoszących kolejno

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

2950  $\text{cm}^{-1}$  oraz 2900  $\text{cm}^{-1}$ . Ponadto, wyróżniono również sygnały związane z obecnością grupy karbonylowej w strukturze otrzymanego materiału, przy maksimum w 1750  $\text{cm}^{-1}$  oraz 1650  $\text{cm}^{-1}$ .



**Rysunek 5.3.2.** Zdjęcia SEM produktów: a) LC-2a (1:1), b) cilazaprilu, c) CIL@LC-2a (1:1)

W wyniku analizy potencjału dzeta zaobserwowano, że niezależnie od badanej próbki wraz ze wzrostem pH nastąpiła zmiana wartości z dodatniej na ujemną. Materiał LC-2a (1:1) cechuje się dużą stabilnością w zakresie pH poniżej 2,5 oraz powyżej 7 oraz występowaniem punktu izoelektrycznego w pH 4. Warto zwrócić uwagę, że dla materiału CIL@LC-2a (1:1) zaobserwowano występowanie tego punktu w tym samym miejscu, co dla sferycznych cząstek. Dodatkowo można zaobserwować, że połączenie cząstek LC-2a (1:1) z aktywną substancją poprawia jego stabilność elektrokinetyczną w pH powyżej 7.

Po wykonaniu wszystkich analiz, zaproponowano zastosowanie otrzymanych sferycznych cząstek do poprawy stabilności cilazaprilu. Zbadano wpływ temperatury oraz podwyższonej wilgotności względnej, w wybranych zakresach czasu, a pozostałą po badaniu ilość leku wykorzystano do określenia rzędowości reakcji rozkładu materiału CIL@LC-2a (1:1). Stwierdzono, że jest to reakcja pierwszego rzędu i występuje jedynie jeden produkt



**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

rozkładu – cilazaprilat. Proces ten występuje zazwyczaj podczas hydrolizy karbonylowych grup funkcyjnych. Badania wykonano w zakresie temperatur od 65 do 90°C. Obliczono również energię aktywacji dla cilazaprilu oraz CIL@LC-2a (1:1), opisującą siłę rozerwania wiązań w wybranych cząsteczkach podczas ich rozkładu (tabela 5.3.2.).

Materiał CIL@LC-2a (1:1) cechuje się większą energią aktywacji równą  $303,79 \pm 62,51$  kJ/mol w porównaniu do czystej substancji aktywnej  $166,49 \pm 20,83$  kJ/mol. Warto podkreślić, że wraz ze wzrostem wartości energii aktywacji oraz zmniejszeniem parametru stałej degradacji  $k$  otrzymany produkt jest bardziej stabilny i bezpieczny do stosowania przez dłuższy okres czasu. Stwierdzono, że dodatek sferycznych cząstek z udziałem ligniny poprawia stabilność połączonego cilazaprilu, w porównaniu do jego niezwiązanej formy.

**Tabela 5.3.2.** Parametry kinetyczne oraz termodynamiczne otrzymane dla cilazaprilu oraz CIL@LC-2a (1:1 wt./wt.)

Temperatura (°C/K)	$k \pm \Delta k$ (1/s)	Liniowa zależność	
		Arrheniusa $f(1/T) = \ln K$	Parametry termodynamiczne
<b>Cilazapril</b>			
<b>65/338</b>	$(1,217 \pm 0,059) \cdot 10^{-7}$	$a = -20025,29 \pm$	$E_a = 166,49 \pm 20,83$
<b>70/343</b>	$(7,607 \pm 0,418) \cdot 10^{-7}$	2500,30	(kJ/mol)
<b>80/353</b>	$(1,662 \pm 0,129) \cdot 10^{-6}$	$s_a = 785,75$	$\Delta H^\ddagger = 1664,02 \pm$
<b>85/358</b>	$(2,963 \pm 0,202) \cdot 10^{-6}$	$b = 44,21 \pm 7,22$	23,32 (kJ/mol)
<b>90/363</b>	$(1,941 \pm 0,106) \cdot 10^{-5}$	$s_b = 2,26$	$\Delta S^\ddagger = 122,68 \pm$
		$r = 0,998$	185,11 (J/mol·K)
<b>CIL@LC-2a (1:1 wt./wt.)</b>			
<b>65/338</b>	$(2,230 \pm 0,119) \cdot 10^{-9}$	$a = -36538,78 \pm$	$E_a = 303,79 \pm 62,51$
<b>70/343</b>	$(2,259 \pm 0,406) \cdot 10^{-8}$	7522,82	(kJ/mol)
<b>80/353</b>	$(6,199 \pm 0,701) \cdot 10^{-8}$	$s_a = 2709,96$	$\Delta H^\ddagger = 306,26 \pm$
<b>85/358</b>	$(4,169 \pm 0,601) \cdot 10^{-7}$	$b = 87,70 \pm 21,45$	65,04 (kJ/mol)
<b>90/363</b>	$(3,880 \pm 0,117) \cdot 10^{-6}$	$s_b = 7,72$	$\Delta S^\ddagger = 484,25 \pm 66,98$
		$r = 0,991$	(J/mol·K)

Parametry:  $k$  – stała rozkładu,  $\Delta H^\ddagger$  – entalpia aktywacji,  $\Delta S^\ddagger$  – entropia aktywacji oraz  $E_a$  – energia aktywacji

Ponadto, zbadano wpływ wilgotności na stabilność otrzymanego materiału CIL@LC-2a (1:1) w temperaturze 90°C ze zmienną wilgotnością względną, w granicach od

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

25,0 do 76,4% (tabela 5.3.3.). Otrzymany układ cechował się niższym nachyleniem prostej  $0,0304 \pm 0,0068$ , w porównaniu do czystej substancji aktywnej ( $0,0361 \pm 0,0062$ ), co umożliwia na stwierdzenie, że otrzymane cząstki CIL@LC-2a (1:1) charakteryzują się mniejszą wrażliwością na wilgoć. Jest to ważna informacja, gdyż grupy estrowe obecne w strukturze leku ulegają reakcji hydrolizy w wilgotnych warunkach, dlatego można stwierdzić, że sferyczne cząstki wspomagają ochronę aktywnej substancji, ułatwiając tym samym ich warunki przechowywania.

**Tabela 5.3.3.** Wpływ wilgotności na stabilność cilazaprilu oraz CIL@LC-2a (1:1) w 90°C

	<b>Cilazapril</b>	<b>CIL@LC-2a (1:1 wt./wt.)</b>
<b>RH [%]</b>	<b><math>k \pm \Delta k</math> (1/s)</b>	
<b>25,0</b>	$(3,270 \pm 0,241) \cdot 10^{-6}$	$(7,564 \pm 0,574) \cdot 10^{-7}$
<b>50,9</b>	$(7,922 \pm 0,964) \cdot 10^{-6}$	$(1,545 \pm 0,705) \cdot 10^{-6}$
<b>60,5</b>	$(1,189 \pm 0,068) \cdot 10^{-5}$	$(1,999 \pm 0,421) \cdot 10^{-6}$
<b>66,5</b>	$(1,583 \pm 0,143) \cdot 10^{-5}$	$(2,367 \pm 0,248) \cdot 10^{-6}$
<b>76,4</b>	$(1,941 \pm 0,106) \cdot 10^{-5}$	$(3,883 \pm 0,634) \cdot 10^{-6}$
<b>Zależność liniowa <math>\ln k = f(\text{RH})</math></b>		
<b>a</b>	$0,0361 \pm 0,0062$	$0,0304 \pm 0,0068$
<b>SD<sub>a</sub></b>	0,0020	0,0024
<b>b</b>	$-13,526 \pm 0,231$	$-14,904 \pm 0,462$
<b>SD<sub>b</sub></b>	0,102	0,143
<b>r</b>	0,997	0,990

Parametry: a – nachylenie prostej, SD<sub>a</sub> – odchylenie standardowe nachylenia prostej a, b – punkt przecięcia prostej z osią x, SD<sub>b</sub> – odchylenie standardowe b oraz k – współczynnik korelacji

Obiecujące wyniki otrzymane w **publikacji D2** umożliwiły na przeprowadzenie dalszych, bardziej rozbudowanych badań, w którym otrzymane sfery z udziałem ligniny i cilazaprilu (LC-CIL) przetestowano jako nośniki do dostarczania substancji leczniczej (**publikacja D3**). Do przeprowadzenia badań wybrano metodę analizy z użyciem worka dialitycznego. Do badań przygotowano trzy różne wodne emulsje z użyciem gotowej bazy Ora-Blend®. W celu porównania, otrzymano emulsję z samym cilazaprilem (CIL-DB) jako próbkę odniesienia oraz układy z ligniną kraft (LIG-DB), a także ze sferycznymi cząstkami (LC-DB) połączone z cilazaprilem. W pierwszej kolejności przeprowadzono charakterystykę otrzymanych emulsji i stwierdzono, że podczas 14 dni od momentu przygotowania formulacji nie zaobserwowano zmian w kolorze oraz zapachu. Sprawdzone

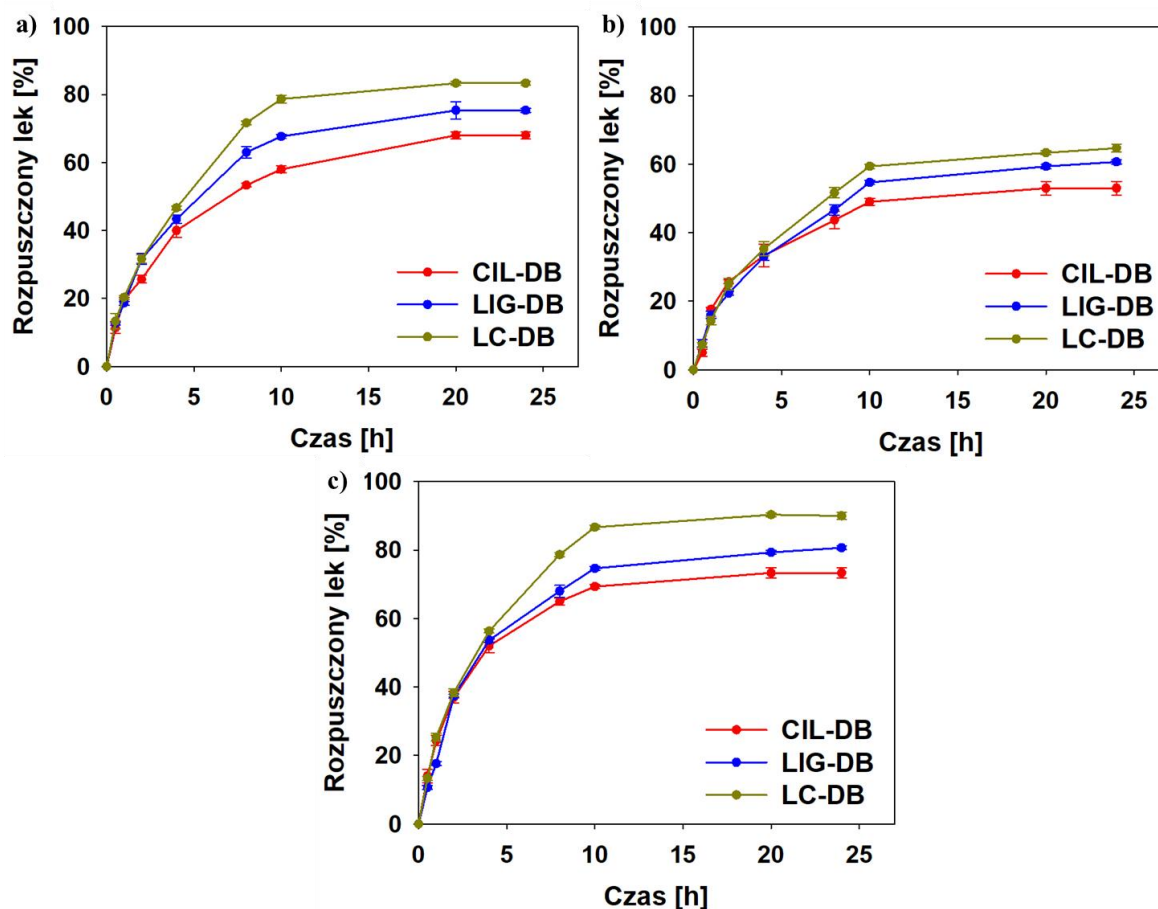
## **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

również stężenie substancji aktywnej w każdej z próbek i wynosiło ono więcej niż 98%, co jest zgodne z wytycznymi Agencji Żywności i Leków [201].

W kolejnym etapie badań, wykonano doświadczenia dotyczące uwalniania substancji leczniczej z otrzymanych emulsji, a wyniki zaprezentowano na rysunku 5.3.3. Proces przeprowadzono w trzech zakresach pH, tj.: 2,0, 5,8 oraz 6,8 w celu odtworzenia warunków środowiska skóry oraz układu pokarmowego. Podczas analizy otrzymanych profili uwalniania dla CIL-DB, LIG-DB oraz LC-DB zaobserwowano, że uwolnienie leku następuje w dwóch etapach. Dodatkowo, zaprezentowane profile uwalniania substancji leczniczej są bardzo do siebie podobne. Jednak najważniejszym celem badań było zwiększenie możliwości rozpuszczalności cilazaprilu, gdyż stosowanie mniejszych, bardziej efektywnie działających dawek, zmniejsza możliwości ewentualnego zatrucia, a także obniża koszty prowadzonej terapii. W pierwszym etapie uwolnienie cilazaprilu następuje poprzez szybką dyfuzję, gdyż zerwaniu ulegają słabe wiązania między nośnikiem a substancją leczniczą, następnie występuje powolny rozkład nośnika z uwolnieniem leku [202]. Zaobserwowano także, że sferyczne cząstki z udziałem ligniny są wrażliwe na zmieniające się pH, a ilość leku zależy od warunków środowiska reakcji. Najmniejsze uwolnienie leku zaobserwowano dla emulsji CIL-DB, otrzymanej bez dodatkowego nośnika biopolimerowego. Dodanie czystej ligniny kraft umożliwia na bardziej efektywne uwolnienie substancji leczniczej w porównaniu do emulsji CIL-DB, jednak duża wielkość cząstek i mała powierzchnia właściwa powodują ograniczenia w uwolnieniu materiału z emulsji. Najlepszą rozpuszczalność leku otrzymano, gdy podczas przygotowania emulsji zastosowano sferyczne cząstki (LC-DB), dlatego stwierdzono, że zaprezentowany materiał może znaleźć zastosowanie jako systemy do dostarczania substancji leczniczej. Podsumowując, emulsje LIG-DB oraz LC-DB umożliwiają na bardziej zrównoważone oraz bardziej efektywne uwolnienie cilazaprilu, w porównaniu do CIL-DB, niezależnie od zastosowanego pH środowiska. Dodatkowo, cilazapril charakteryzuje się najlepszą rozpuszczalnością w pH środowiska 6,8, gdzie maksymalne uwolnienie leku zarejestrowano podczas 24-godzinnego prowadzenia procesu i wynosiło ono 73%, 80% oraz 90% dla kolejno CIL-DB, LIG-DB, oraz LC-DB. Zhou wraz z współpracownikami otrzymali cząstki z udziałem ligniny o pustym wnętrzu, które zostały zmodyfikowane  $\beta$ -cyklodekstryną. Dodatkowo, w ich wnętrzu enkapsulowano kamptotecynę. Utworzona emulsja była stabilna w pH 7,4 przez 6 dni i umożliwiała na efektywne uwolnienie leku [203]. Z drugiej strony, lignosulfonian sodu, 4-amino-2,2,6,6-tetrametylo-4-piperidyna oraz CTAB zostały użyte do otrzymania emulsji, w której stabilizowana była awermectyna. Zaobserwowano, że emulsja

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

charakteryzowała się cząstkami o sferycznym kształcie, z przedłużonym czasem uwalniania substancji leczniczej. Równowaga procesu została osiągnięta po 72 godzinach, proces ten jest 5,3 razy wolniejszy niż dla komercyjnej emulsji [204].



**Rysunek 5.3.3.** Profile uwalniania cilazaprilu w pH: a) 2,0, b) 5,8 oraz c) 6,8

Obliczono również parametry kinetyczne dla zaprezentowanego procesu uwalniania cilazaprilu, w tym obliczenie regresji liniowej oraz współczynnik korelacji ( $R^2$ ). Najlepsze rezultaty zaobserwowano dla modelu Higuchiego, gdzie wartości współczynnika  $R^2$  wynosiły od 0,964 do 0,996 w zależności od przeprowadzonego procesu, co może sugerować, iż uwalnianie substancji leczniczej odbywa się poprzez kontrolowaną dyfuzję [205,206]. Dodatkowo zaprezentowany model jest odpowiedni dla charakteryzowania substancji leczniczej, która ulega rozpuszczeniu w wodzie oraz nie następuje znaczne pęcznienie układu, umożliwiając na stwierdzenie, że uwolnienie substancji leczniczej nastąpiło w ramach dyfuzji Ficka. Wykonano analizę czynników różnicy i podobieństwa w celu porównania profili uwalniania substancji leczniczych. Obliczono czynniki  $f_1$  (wartość różnicy) oraz  $f_2$  (wartość podobieństwa) i stwierdzono, że w zależności od warunków reakcji i rodzaju materiału występują różnice, w porównaniu dla krzywych wyliczonych dla czystej

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

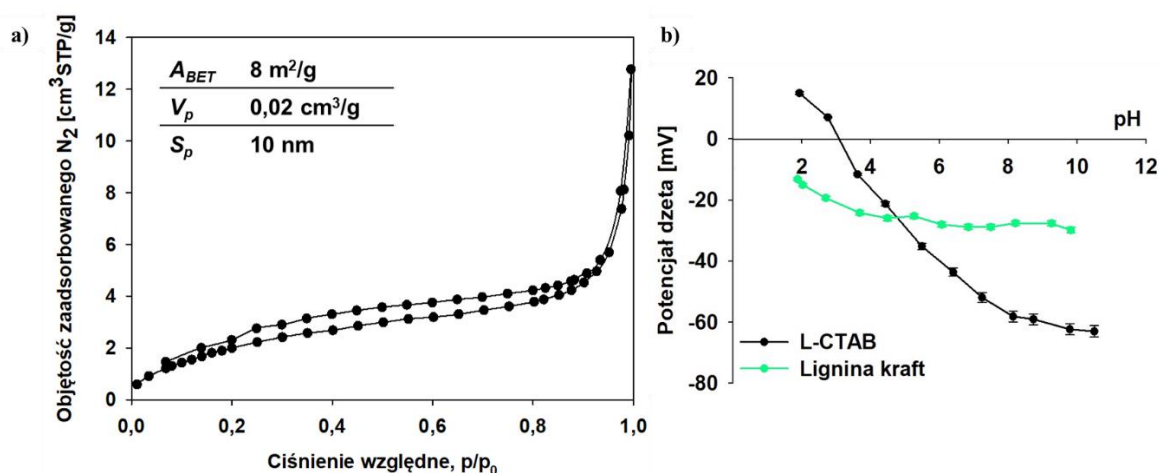
substancji leczniczej. Czynniki  $f_1$  oraz  $f_2$  odgrywają bardzo ważną rolę podczas porównywania profili uwalniania. Krzywe otrzymane dla formułacji LC-DB cechują się podobieństwem w pH 5,8, wartości  $f_1/f_2$  równe 11/66, natomiast w pH reakcji 2,0 oraz 6,8 zaobserwowano różnice w przebiegu procesu, wartości  $f_1/f_2$  równe 19/49 oraz 17/49. Sugeruje to poprawne przeprowadzenie procesu, gdyż wartość czynnika  $f_2$  jest mniejsza niż 50 [207]. Natomiast emulsja LIG-DB cechuje się podobieństwem profili uwalniania niezależnie od zastosowanego pH środowiska.

W **publikacji D4** zastosowano otrzymane podczas wcześniejszych badań (**publikacja D2**) cząstki z udziałem ligniny kraft oraz bromku heksadecylotrimetyloamoniowego, otrzymane w stosunku wagowym prekursorów 2:1. Dla otrzymanych materiałów przeprowadzono charakterystykę fizykochemiczną, w tym analizę obecnych grup funkcyjnych, struktury porowatej, potencjału dzeta a także spektroskopii fotoelektronów wzbudzonych promieniowaniem rentgenowskim (XPS). Zaobserwowano, że analizowany materiał cechuje się zwiększoną powierzchnią właściwą ( $8 \text{ m}^2/\text{g}$ ), w porównaniu do czystej ligniny kraft ( $1 \text{ m}^2/\text{g}$ ), dodatkowo cząstki charakteryzują się wielkością porów rzędu 10 nm oraz objętością  $0,02 \text{ cm}^3/\text{g}$ . Otrzymaną izotermę adsorpcji-desorpcji zakwalifikowano jako drugiego typu, charakterystyczną dla nieporowatych oraz makroporowatych materiałów, bez zaznaczonej pętli histerezy (rysunek 5.3.4. a). W strukturze otrzymanego materiału można zaobserwować charakterystyczne pasma pochodzące zarówno od biopolimeru, jak i kationowego surfaktantu. Występuje szerokie pasmo przy maksimum liczby falowej  $3420 \text{ cm}^{-1}$ , charakterystyczne dla grupy hydroksylowej, ponadto zaobserwowano pasmo drgań rozciągających w maksimum liczby falowej  $2950 \text{ cm}^{-1}$  oraz  $2840 \text{ cm}^{-1}$  pochodzące kolejno od alifatycznych oraz metoksylowych grup funkcyjnych. Występuje również przy maksimum liczby falowej  $1650 \text{ cm}^{-1}$  niewielkie pasmo pochodzące od grup karbonylowych oraz pasma charakterystyczne dla pierścienia aromatycznego ( $1500\text{--}1300 \text{ cm}^{-1}$ ) a także dla wiązania eterowego ( $1000 \text{ cm}^{-1}$ ). Natomiast, niewielkie pasmo o maksimum  $650 \text{ cm}^{-1}$  pochodzące od wiązania C–S potwierdza obecność siarki w strukturze sferycznych cząstek. W wyniku analizy widm XPS stwierdzono występowanie węgla, tlenu, azotu i siarki w strukturze otrzymanego materiału. Zaobserwowano duże pasmo C 1s o energii wiązania 285,0 eV oraz kolejne charakterystyczne pasmo O 1s przy 533,0 eV. Występują także sygnały o niewielkiej intensywności N 1s (402,5 eV) oraz S 2p (163,5 eV), które potwierdzają zastosowanie ligniny kraft (siarka) oraz CTAB (azot) jako prekursorów do otrzymywania sferycznych cząstek. Stosunek tlenu do węgla dla sferycznych cząstek wynosi 0,2 i jest on mniejszy niż teoretycznie obliczona wartość dla ligniny kraft. Potwierdzono

## Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

również obecność atomów węgla pochodzących od pierścienia aromatycznego (285,0 eV), grup funkcyjnych, w którym węgiel jest połączony z jednym atomem tlenu (286,0 eV), a także grupy karbonylowej (288,0 eV). Obliczono, że 81,6% węgla obecnego na powierzchni analizowanej struktury pochodzi od karbonylowych, karboksylowych a także aromatycznych grup funkcyjnych.

Przeanalizowano również właściwości elektrokinetyczne otrzymanych sferycznych cząstek. Materiał L-CTAB cechuje się obecnością punktu elektrokinetycznego w pH 3,1 co umożliwia na stwierdzenie, że hydrofobowość związku w tym punkcie jest największa, natomiast hydrofilowość najmniejsza (rysunek 5.3.4. b). Materiał cechuje się dodatnimi wartościami potencjału dzeta poniżej pH 3 oraz uzyskuje stabilność elektrokinetyczną w pH powyżej 5. Otrzymanie wyżej wymienionych wyników może być związane z modyfikacją oraz częściową depolimeryzacją ligniny kraft, a także obecnością grup hydrofobowych. Najniższą wartość potencjału dzeta zarejestrowano w pH 10 (–62,0 mV), która jest dwukrotnie niższa niż ta zaobserwowana dla niezmodyfikowanej ligniny kraft (–30,0 mV).

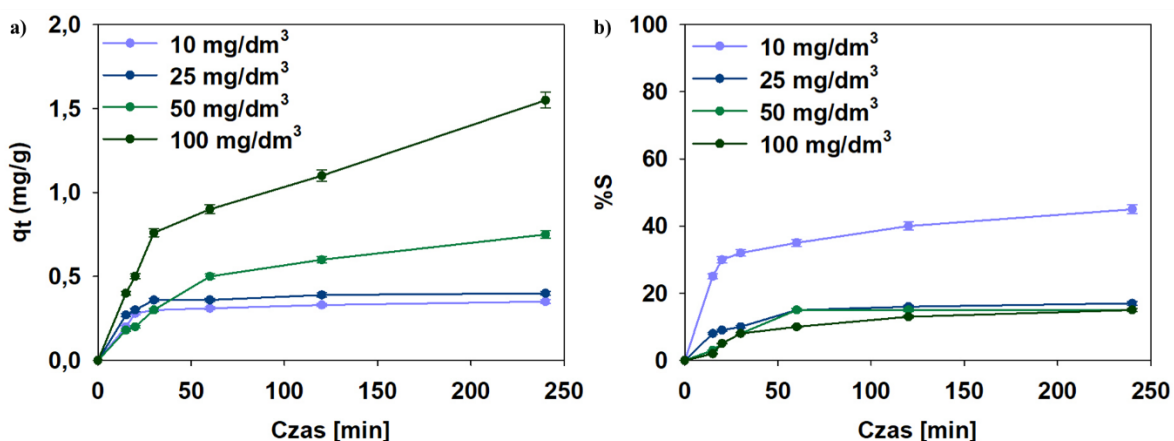


**Rysunek 5.3.4.** a) Izotermy adsorpcji/desorpcji oraz parametry struktury porowatej dla L-CTAB oraz b) krzywe potencjału dzeta dla L-CTAB oraz ligniny kraft

Otrzymane cząstki z udziałem ligniny kraft zastosowano jako potencjalne sorbenty do usuwania jonów wanadu(V). Stwierdzono, że mimo relatywnie niskiej wartości powierzchni właściwej (8 m<sup>2</sup>/g), możliwości sorpcyjne są również związane z obecnością grup funkcyjnych umożliwiających efektywne oddziaływanie z zanieczyszczeniami, a tym samym z ich usunięciem z wodnego środowiska reakcji. Przeprowadzono procesy adsorpcji, w których oceniono wybrane warunki prowadzenia tego procesu, w tym: czas kontaktu (1–240 minut), pH środowiska (2–12), początkowe stężenie jonów wanadu (10–100 mg/dm<sup>3</sup>) masa sorbentu (0,1–0,5) oraz temperaturę (293–333 K). Określenie najlepszych

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

warunków procesu jest bardzo istotne w celu zaprezentowania najbardziej efektywnego systemu umożliwiającego usuwanie zanieczyszczeń z dużą wydajnością. W pierwszej kolejności zbadano wpływ pH na proces usuwania jonów wanadu(V). Badanie przeprowadzono w czasie 240 minut z wykorzystaniem stężenia  $50 \text{ mg/dm}^3$  jonów V(V). Stwierdzono, że proces przeprowadzony w pH 5 jest najbardziej efektywny, dlatego wszystkie pozostałe badania zostały wykonane w tych warunkach środowiska. Wpływ masy sorbentu na efektywność usuwania jonów wanadu(V) przeprowadzono z zastosowaniem początkowego stężenia  $C_0 = 50 \text{ mg/dm}^3$ , w pH 5,0 oraz czasie trwania procesu 240 minut. Próbkę o masie 0,1 g cechowała się najlepszą zdolnością do efektywnej adsorpcji zanieczyszczeń. Ponadto, wraz ze wzrostem początkowego stężenia jonów wanadu(V) z 10 do  $100 \text{ mg/dm}^3$  i wraz ze wzrostem czasu trwania procesu od 1 do 240 minut nastąpił również stopniowy wzrost pojemności adsorpcyjnej ( $q_t$ ). Podczas zmiany stężenia zaobserwowano wzrost tego parametru z 0,34 do  $1,61 \text{ mg/g}$  (rysunek 5.3.5.).



**Rysunek 5.3.5.** Wpływ stężenia oraz czasu sorpcji na efektywność usuwania jonów wanadu(V) przez L-CTAB

Dodatkowo, szybkość usuwania zanieczyszczeń ulegała zwiększeniu wraz ze zmniejszeniem wartości stężenia początkowego, ze względu na większą obecność niezajętych miejsc aktywnych znajdujących się na powierzchni sorbentu. Szybkość adsorpcji zmalała, gdy uzyskana została równowaga układu. Wydajność przeprowadzonego procesu (%S) jest ściśle związana ze stężeniem początkowym zanieczyszczeń. Wraz ze zmianą stężenia początkowego z 10 do  $1000 \text{ mg/dm}^3$ , przez 240 minut trwania procesu usuwania jonów V(V) przez sferyczne cząstki, wydajność adsorpcji uległa zmniejszeniu z 45 do 13%. Zaprezentowane wyniki porównano ze zdolnością do usuwania jonów wanadu przez wybrane materiały otrzymane z biomasy (tabela 5.3.2.). Równowaga adsorpcji została

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

uzyskana po 20 lub 30 minutach dla początkowego stężenia zanieczyszczeń równego odpowiednio 10 lub 25 mg/dm<sup>3</sup>.

**Tabela 5.3.2.** Porównanie zdolności do usuwania jonów wanadu z zastosowaniem wybranych adsorbentów otrzymanych z biomasy

Adsorbent	Adsorbat	pH	Efektywność	
			adsorpcji [%]	Literatura
<b>Biomasa otrzymana z alg</b> <i>Galdieria sulphuraria</i>	V(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	2,5	30,0	[208]
<b>Chitozan-cyrkon</b>	NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	4,0	65,0	[209]
<b>Nanoceluloza otrzymana z kokosa</b>		5,0	93,6	[210]
<b>L-CTAB</b>	NaVO <sub>3</sub>	5,0	45,0	D3

Wykonano również analizę parametrów kinetycznych, równowagowych oraz termodynamicznych procesu adsorpcji. Kinetykę procesu adsorpcji jonów wanadu(V) z wykorzystaniem sferycznych cząstek z udziałem ligniny przeprowadzono stosując modele pseudo-pierwszego rzędu, pseudo-drugiego rzędu, Webera-Morrisa oraz Dumwalda-Wagnera. Podkreślono, że model pseudo-pierwszego rzędu znajduje swoje zastosowanie jedynie dla pierwszej fazy prowadzonego procesu, natomiast równanie modelu pseudo-drugiego rzędu opisuje proces adsorpcji w całym analizowanym zakresie. Zaobserwowano wysoki współczynnik korelacji  $R^2 \geq 0,99$  w zależności o stężenia substancji wyjściowej. Uzyskanie mniejszych wartości  $\chi^2$  umożliwia na stwierdzenie, że obliczone  $q_{e,cal}$  tj. ilość zaadsorbowanych jonów V(V) przypadających na jednostkę masy L-CTAB jest bardzo podobna do wartości eksperymentalnych ( $q_{e,exp}$ ). Według modelu Webera-Morrisa dostrzeżono, że proces adsorpcji jonów wanadu(V) na powierzchni sferycznych cząstek jest nie tylko kontrolowany przez dyfuzję wewnątrzcząsteczkową, ale także przez inne możliwe rodzaje dyfuzji [26]. Podobne wnioski zostały przedstawione przez zespół Li, który otrzymał piankę poliuretanową z udziałem ligniny, a następnie układ został wykorzystany do adsorpcji oleju [211]. Etap determinujący szybkość reakcji określono przy zastosowaniu modelu Dumwalda-Wagnera i stwierdzono, że proces usuwania zanieczyszczeń kontrolowany jest przez dyfuzję przez warstwę [212]. Dodatkowo, na podstawie danych eksperymentalnych zaobserwowano, że proces adsorpcji przebiega zgodnie z modelem izotermy Langmuira. Współczynnik korelacji  $R^2$  zawierał się w zakresie 0,972–0,998, co



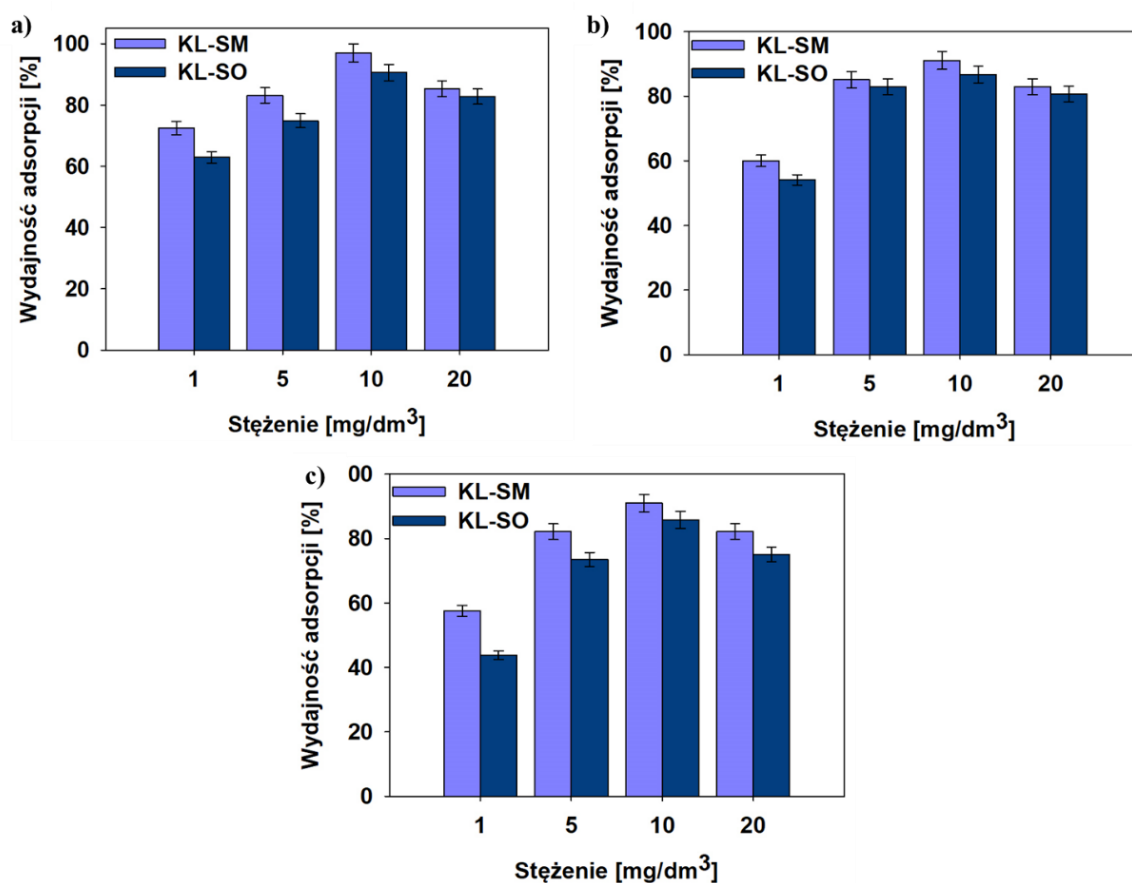
### **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

umożliwia na stwierdzenie, że nastąpiło uformowanie się pojedynczej warstwy jonów wanadu(V) na powierzchni sferycznych cząstek z udziałem ligniny, a maksimum pojemności adsorpcji zostało obliczone jako 10,79 mg/g. Wyliczono również parametry termodynamiczne dla zaprezentowanego układu. Otrzymano ujemną wartość  $\Delta G^\circ$  potwierdzającą spontaniczny przebieg procesu połączenia jonów wanadu(V) oraz L-CTAB. Natomiast dodatnia wartość  $\Delta H^\circ$  (0,003 kJ/mol) umożliwia na stwierdzenie, że główną rolę podczas procesu sorpcji odgrywają oddziaływania jonowe między cząsteczkami, dodatkowo ujemna wartość  $\Delta S^\circ$  (-18,9 J/mol·K) potwierdza, że nie zaobserwowano znacznych zmian wewnątrz struktury sferycznych cząstek podczas procesu adsorpcji [213]. Warto zwrócić uwagę, że przeprowadzono również proces desorpcji w 1 M roztworze HCl z efektywnością procesu równą 91%. Oddziaływania odpychające pomiędzy oksyanionami a powierzchnią sorbentu umożliwiają na przeprowadzenie szybszego procesu desorpcji [214]. Yu wraz ze współpracownikami zaobserwowali jedynie 9% zdolność kwasu humusowego do desorpcji jonów wanadu(V), dlatego cechuje się on mniejszą zdolnością do ponownego wykorzystania [215]. Wykonano również badania efektywności procesu adsorpcji jonów wanadu(V) w wodnym roztworze zawierającym sole: NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaNO<sub>3</sub>, Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> oraz Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Ponadto, początkowe stężenie V(V) oraz Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> oraz H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> wynosiło 50 mg/dm<sup>3</sup>, natomiast pH reakcji 5,5. Stwierdzono, że wydajność adsorpcji jonów wanadu(V) zmalała z 13 do 8%, w porównaniu do środowiska wodnego. Wykonano również badania zdolności sorpcyjnej materiału L-CTAB z zastosowaniem roztworów otrzymanych po ługowaniu katalizatora wanadowego. Wybrano cztery roztwory zawierające kolejno 5% HCl, 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 15% NaOH oraz 15% KOH, natomiast zawartość V(V) w każdym z nich wynosiła ok. 5 g/dm<sup>3</sup>. Ponadto, wszystkie roztwory zawierały również jony Fe(III). Najbardziej efektywny proces usuwania jonów wanadu(V) zaobserwowano z zastosowaniem roztworu zawierającego 5% HCl, a wydajność usuwania zanieczyszczeń wynosiła ok. 35% dla V(V) oraz 37% dla Fe(III). Z drugiej strony, dostrzeżono, że podczas zastosowania mikro- i makroporowatych sferycznych sorbentów największą efektywność usuwania jonów wanadu zaobserwowano stosując 15% KOH [214]. Podobne badania zostały przeprowadzone przez zespół Yu, podczas których jako adsorbent jonów wanadu zastosowano kwas humusowy. Stwierdzono, że obecność jonów NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup> oraz NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> nie ma wpływu na proces adsorpcji wanadu. Aniony CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + Cl<sup>-</sup> oraz NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> znacząco poprawiały przebieg procesu usuwania wanadu z gleby. Kationy wapnia oraz glinu obecne w strukturze kwasu humusowego mogą reagować z jonami SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> oraz Cl<sup>-</sup> powodując zwiększoną obecność miejsc aktywnych, do których mogą przyłączać się jony

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

wanadu(V) [215]. Z drugiej strony, zespół Salehi potwierdził, że obecność jonów  $\text{SO}_4^{2-}$  spowalniało proces usuwania V(V) z wykorzystaniem chitozanu. Różnice pomiędzy założeniami dotyczącymi poprawienia efektywności adsorpcji wynikają z zastosowania różnych adsorbentów, warunków prowadzenia procesu i form wanadu [216].

W badaniach opublikowanych w **publikacji D5** zostały utworzone sferyczne materiały z udziałem ligniny oraz naturalnych ekstraktów pochodzących z *Saponaria officinalis* L. (KL-SO) oraz owoców z drzewa *Sapindus mukorosi* (KL-SM). Po wykonaniu charakterystyki fizykochemicznej oraz mikrostrukturalnej otrzymanych produktów, zaproponowano ich zastosowanie jako sorbentów do usuwania szkodliwych związków z roztworów wodnych. Jako modelowy związek do badań wykorzystano dichlorowodorek cetyryzyny, który jest lekiem często występującym w ściekach, ze względu na jego szerokie zastosowanie oraz łatwą rozpuszczalność w wodzie [217]. Badania przeprowadzono w trzech zakresach pH, tj.: 6,2, 7,0 oraz 7,8 (rysunek 5.3.6.) stosując wybrane stężenia wyjściowe substancji leczniczej ( $1\text{--}20\text{ mg/dm}^3$ ) w zadanym przedziale czasowym (0–360 minut).



**Rysunek 5.3.6.** Wpływ wydajności adsorpcji dichlorowodorku cetyryzyny przeprowadzonej w pH: a) 6,2, b) 7,0 oraz c) 7,8

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

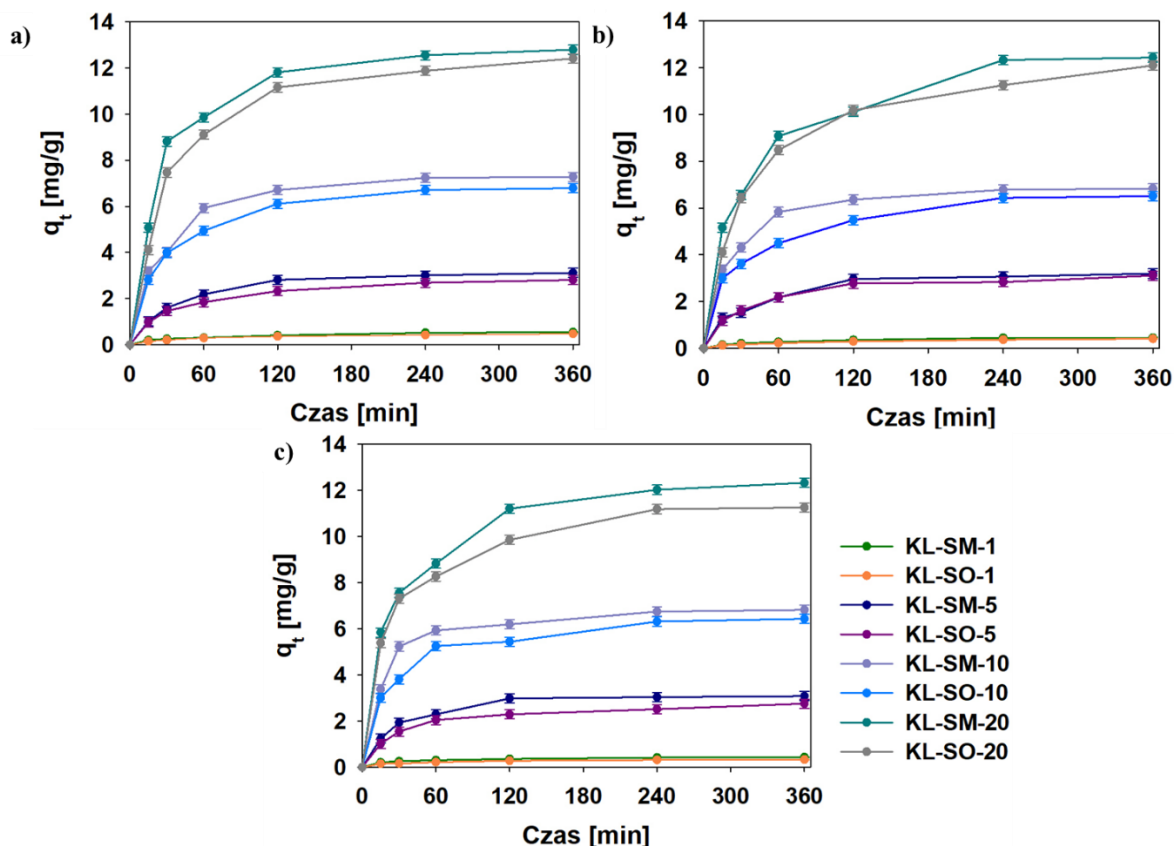
Zaobserwowano najlepszą efektywność adsorpcji podczas prowadzenia procesu w pH środowiska 6,2 dla obu materiałów. Obie próbki charakteryzują się negatywnym potencjałem dzeta oraz oddziaływaniami elektrostatycznymi pomiędzy cząstkami w utworzonym układzie. Najmniejszą zdolność do adsorpcji cetyryzyny przez sferyczne materiały z udziałem ligniny dostrzeżono przy zastosowaniu pH reakcji 7,8. Największą różnicę zaobserwowano dla procesu przeprowadzonego przy stężeniu cetyryzyny 1 mg/dm<sup>3</sup>. Wraz ze zwiększaniem się pH z 6,2 do 7,8 zaobserwowano nagłe zmniejszenie się efektywności adsorpcji z 72 do 57% dla materiału KL-SM oraz z 63 do 43% dla KL-SO. Stwierdzono, że usuwanie organicznych zanieczyszczeń jest najbardziej efektywne w pH ścieków wodnych zbliżonym do neutralnego [218]. Dodatkowo stwierdzono, że niezależnie od zastosowanego pH najlepszymi zdolnościami do efektywnej adsorpcji cechują się cząstki otrzymane z dodatkiem ekstraktu z orzechów z drzewa *Sapindus mukorossi*, co może być również pośrednio związane z większą powierzchnią właściwą BET materiału (18 m<sup>2</sup>/g), w porównaniu do cząstek KL-SO (14 m<sup>2</sup>/g). Ponadto, przeanalizowano wpływ stężenia dichlorowodoru cetyryzyny na efektywność procesu adsorpcji. Stwierdzono, że wraz ze wzrostem stężenia substancji adsorbowanej, z 1 do 10 mg/dm<sup>3</sup> ilość usuwanej substancji również uległa zwiększeniu. Natomiast, przy zwiększeniu stężenia substancji do 20 mg/dm<sup>3</sup> zaobserwowano znaczne zmniejszenie efektywności adsorpcji.

Warto zwrócić również uwagę, że pojemność adsorpcyjna zwiększa się wraz ze wzrostem początkowego stężenia substancji usuwanej, jednak wydajność procesu jest większa przy niższych stężeniach cetyryzyny. Nagły spadek wydajności procesu może być związany ze wzrostem ilości cząstek modelowego leku w środowisku reakcji, które konkurują o miejsca aktywne znajdujące się na powierzchni adsorbentu. Wraz ze wzrostem początkowego stężenia cetyryzyny, pojemność adsorpcyjna materiałów wzrasta od 0,54 do 12,80 mg/g dla KL-SM oraz z 0,47 do 12,41 mg/g dla KL-SO (rysunek 5.3.7.).

Zbadano także wpływ czasu na szybkość prowadzonego procesu i podkreślono, że niezależnie od zastosowanego sorbentu biopolimerowego, adsorpcja przebiegała szybko na początku prowadzonego doświadczenia i wraz z postępem jego trwania zwalniała. Prawdopodobnie jest to związane z zajęciem miejsc aktywnych występujących na powierzchni sferycznych cząstek, co może skutkować również redukcją sił umożliwiających na szybki proces usuwania substancji modelowej. Równowagę prowadzonego procesu zaobserwowano po upływie 240 minut, a uzyskana pojemność sorpcyjna wynosiła 7,24 mg/g dla KL-SM oraz 6,71 mg/g dla materiału KL-SO. Dodatkowo dostrzeżono, że wraz ze

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

wzrostem pH środowiska, pojemność sorpcyjna uległa zmniejszeniu po upływie 360 minut, z 7,28 mg/g do 6,82 mg/g dla KL-SM oraz 6,79 mg/g do 6,43 mg/g dla KL-SO.



**Rysunek 5.3.7.** Wpływ czasu na proces usuwania dichlorowodoru cetyryzyny w różnym pH środowiska: a) 6,2, b) 7,0 oraz c) 7,8

Zaprezentowano również zdolności do adsorpcji substancji leczniczych przez wybrane materiały z udziałem ligniny kraft, a otrzymane wyniki zaprezentowano w tabeli 5.3.3. i porównano je z wynikami otrzymanymi w **publikacji D5**. Dostrzeżono, że lignina kraft może z powodzeniem być wykorzystywana do usuwania substancji leczniczych z roztworów wodnych, szczególnie w środowisku kwasowym, z bardzo dużą efektywnością adsorpcji (89-100%). Warunki prowadzenia procesu mają wpływ na efektywność usuwania związków leczniczych. Materiały KL-SM oraz KL-SO cechują się także bardzo dobrą zdolnością do eliminacji materiałów aktywnych, także w środowisku o pH zbliżonym do neutralnego.

Na podstawie przeprowadzonej analizy literaturowej stwierdzono, że sferyczne cząstki z udziałem ligniny nie były wcześniej wykorzystywane do usuwania cetyryzyny z roztworów wodnych. Dodatkowo, stwierdzono, że materiały z udziałem ligniny cechują się dobrą zdolnością do sorpcji związków organicznych, co umożliwia na przeprowadzenie

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

dalszych badań w celu zastosowania tego surowca do usuwania różnych szkodliwych substancji.

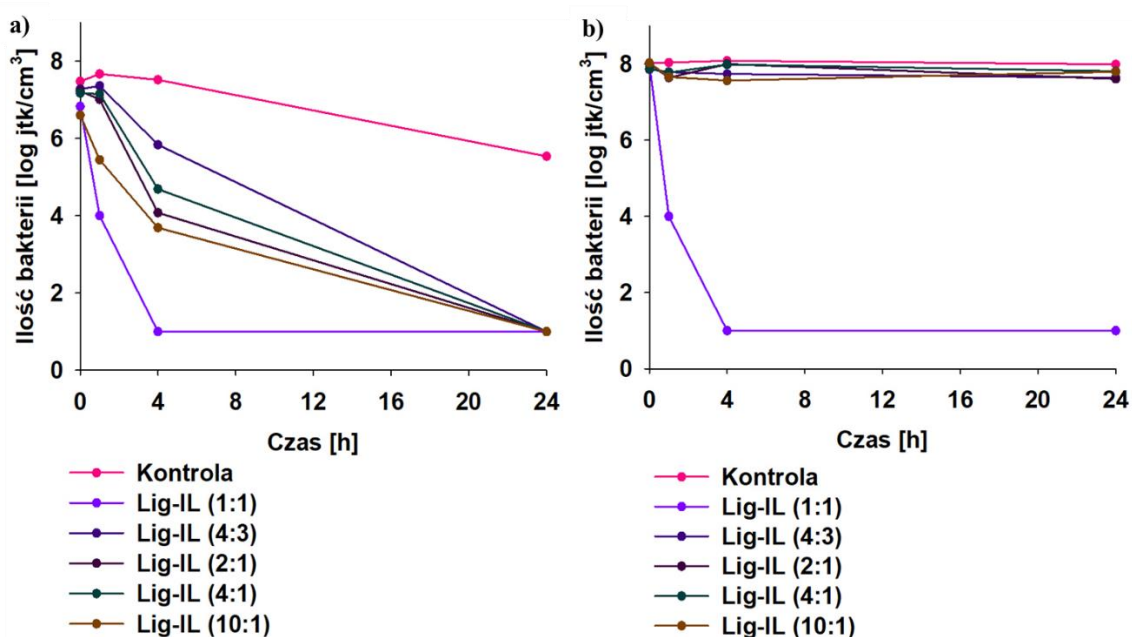
**Tabela 5.3.3.** Porównanie efektywności adsorpcyjnej wybranych materiałów z udziałem ligniny kraft

Adsorbent	Adsorbat	Stężenie	pH	Efektywność	
				adsorpcji [%]	Literatura
<b>Chitina zmodyfikowana ligniną kraft</b>	Ibuprofen	1000 μg/dm <sup>3</sup>	6,0	89	[219]
<b>Węgiel aktywny otrzymany z masy lignocelulozowej</b>	Sulfametoksazol	250 mg/dm <sup>3</sup>	4,0	100	[220]
<b>Kompozyt lakaza- GO/algininian</b>	Dichlorowodorek	40 mg/dm <sup>3</sup>	4,5	98	[217]
<b>KL-SM</b>	cetyryzyny	10	6,2	97	D5
<b>KL-SO</b>		mg/dm <sup>3</sup>		91	

W badaniach opublikowanych w **publikacji D6** zaprezentowano zsyntezowane cząstki z udziałem ligniny kraft oraz cieczy jonowej – wodorosiarczanu 1-(propoksymetylo)-1H-imidazoliowego. W celu określenia potencjalnej aktywności antybakteryjnej cząstek zastosowano metodę kolbkową z wytrząsaniem. Wykonano analizę potencjału dzeta dla wszystkich otrzymanych materiałów i stwierdzono, że cechują się one bardzo dobrą stabilnością elektrokinetyczną w środowisku wodnym o odczynie zarówno kwasowym, jak i zasadowym. Badania przeciwbakteryjne przeprowadzono na dwóch szczepach bakterii: gram-dodatniej *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) oraz gram-ujemnej *Escherichia coli* (*E. coli*). Doświadczenia wykonano wykorzystując wszystkie otrzymane układy, różniące się między sobą ilością zastosowanej wodorosiarczanowej cieczy jonowej podczas syntezy, a zaprezentowane wyniki przedstawiono na rysunku 5.3.8. Dodatkowo, podczas badań monitorowano również liczbę komórek bakterii, jako próbę kontrolną. Najlepsze wyniki zaobserwowano dla materiału Lig-IL (1:1), który został otrzymany w równowagowych stosunkach masowych. Zauważono, 50-proc. redukcję mikroorganizmów gram-dodatniej bakterii po upływie jednej godziny od początku

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

przewodzenia procesu, natomiast po 4 godzinach liczba bakterii uległa zmniejszeniu z początkowego 8 log jtk/cm<sup>3</sup> do 1 log jtk/cm<sup>3</sup> i pozostała na tym samym poziomie aż do momentu zakończenia eksperymentu, po 24 godzinach od początku prowadzenia doświadczenia. Pozostałe materiały uzyskane w proporcjach 4:3, 2:1, 4:1 oraz 10:1 ligniny kraft do wodorosiarczanowej cieczy jonowej charakteryzują się mniejszą aktywnością antybakteryjną, jednak po upływie 24 godzin kontaktu otrzymanego materiału z *S. aureus*, liczba mikroorganizmów również uległa zmniejszeniu do 1 log jtk/cm<sup>3</sup>. Przeprowadzając analizę wyników działania przeciwbakteryjnego wszystkich otrzymanych materiałów wobec *Escherichia coli* zaobserwowano, że jedynie materiał Lig-IL (1:1) wykazuje wysoką aktywność antybakteryjną wobec tego szczepu bakterii. Warto zwrócić uwagę, że przebieg procesu degradacji obu mikroorganizmów przy zastosowaniu Lig-IL (1:1) jest bardzo podobny. Podobne badania zostały przeprowadzone przez zespół Winotapun, podczas których otrzymano kompozyt chitozan-lignina, w formie sferycznych cząstek. Dostrzeżono bardzo dużą aktywność antybakteryjną przeciwko *S. aureus* oraz *E. coli*, która wynosiła powyżej 2 log jtk/cm<sup>3</sup> z prawie 100-proc redukcją bakterii [221]. Dodatkowo, Zou wraz z współpracownikami otrzymali folie z chitozanu, które następnie zmodyfikowano sferycznymi cząstkami ligniny. Podkreślono dużą aktywność antybakteryjną (2,37 log jtk/cm<sup>3</sup>), w porównaniu do materiałów o podobnej charakterystyce [222].



**Rysunek 5.3.8.** Aktywność antybakteryjna wszystkich materiałów Lig-IL względem: a) *Staphylococcus aureus* oraz b) *Escherichia coli*

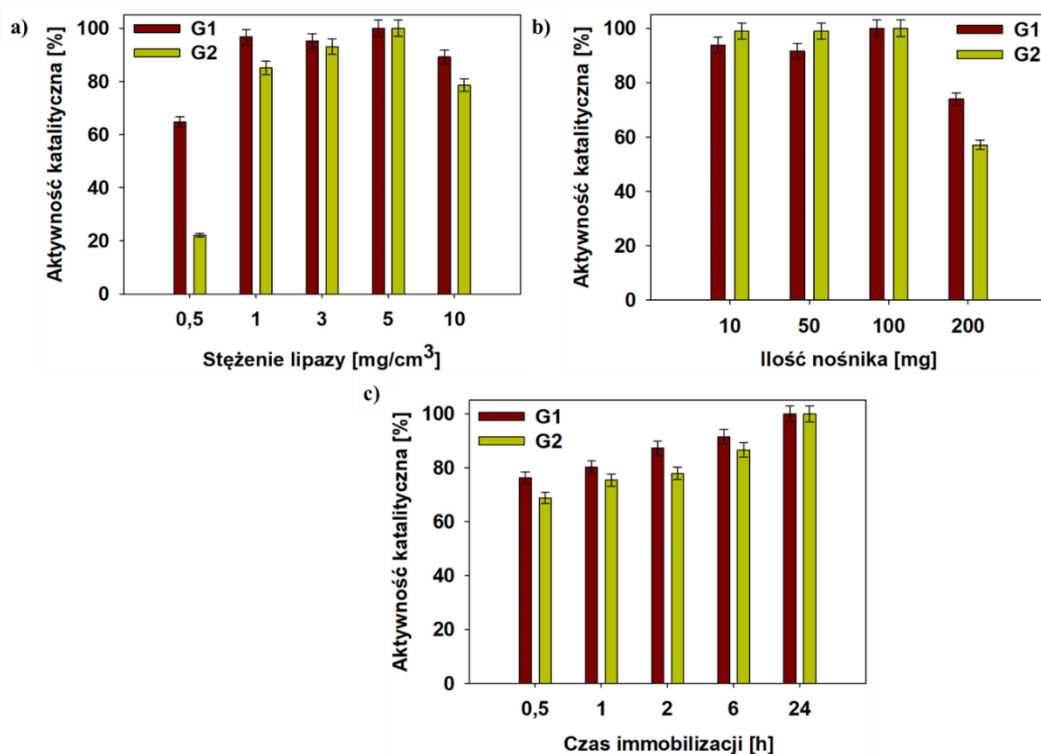
## Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

Stwierdzono, że różnica w aktywności przeciwbakteryjnej wobec poszczególnych szczepów bakterii może być związana z budową ich ściany komórkowej. Bakteria *E. coli* zawiera w swojej strukturze lipopolisacharydową membranę, która ochrania jej zewnętrzną ścianę komórkową, natomiast *S. aureus* nie cechuje się obecnością zewnętrznej membrany lipidowej. Podczas kontaktu sferycznych cząstek z wybranymi szczepami bakterii może nastąpić ich adsorpcja na powierzchni biopolimerowego materiału, a następnie zniszczenie zewnętrznej membrany ściany komórkowej bakterii przez obecną w strukturze materiału wodorosiarczanową ciecz jonową. Na powierzchni sferycznej ligniny mogą występować reaktywne formy tlenu, które mogą powodować uszkodzenie ściany komórkowej bakterii, co również może wpływać na zwiększone właściwości przeciwbakteryjne otrzymanych materiałów [193,223].

W publikacji D7 zaprezentowano układy otrzymane z ligniną kraft oraz chlorkiem choliny. Początkowe badania przeprowadzono w wybranych zakresach pH i stwierdzono, że w środowisku reakcji zbliżonym do neutralnego (pH 5 i 7) można otrzymać cząstki o sferycznym kształcie, niewielkim rozmiarze oraz dużej homogeniczności. Otrzymane cząstki cechują się obecnością wielu reaktywnych grup funkcyjnych w swojej strukturze i z tego względu, zaproponowano zastosowanie uzyskanych materiałów G1 (pH 5) oraz G2 (pH 7) jako nośników do immobilizacji lipazy typu B z *Candida antarctica* (CALB). Stosując wybrane analizy do oceny właściwości fizykochemicznych oraz mikrostrukturalnych potwierdzono przyłączenie enzymu na powierzchni sferycznych cząstek. Ponadto, przeprowadzono badania dotyczące aktywności katalitycznej układów po immobilizacji, która ma wpływ na potencjalne zastosowanie otrzymanych systemów. W celu jej określenia zastosowano reakcję hydrolizy palmitynianu *para*-nitrofenylu (*p*-NPP) do *para*-nitrofenolu (*p*-NP). Proces ten jest katalizowany przez lipazę unieruchomioną na powierzchni nośnika. W pierwszym etapie badań przeanalizowano wpływ czasu, stężenie początkowe białka oraz ilość nośnika na efektywność procesu immobilizacji lipazy (rysunek 5.3.9.). Przetestowano wybrane ilości nośnika od 10 do 200 mg i stwierdzono, że zastosowanie 100 mg otrzymanych sfer umożliwia na uzyskanie największej aktywności katalitycznej niezależnie od typu wykorzystanych cząstek z udziałem ligniny. Dodatkowo, zauważono, że proces immobilizacji z użyciem materiału G2 umożliwia na wyższą aktywność lipazy w całym analizowanym zakresie, w porównaniu do zastosowanego nośnika G1 o takiej samej masie. Stwierdzono również, że aktywność enzymu ulega zmniejszeniu od 100% do kolejno 76% oraz 60% dla G1 i G2 przy zastosowaniu 200 mg nośnika. Warto również zwrócić uwagę, że zimmobilizowany materiał G1 cechował się

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

mniejszą aktywnością katalityczną przy zastosowaniu mniejszych ilości nośnika od 10 mg do 100 mg, w porównaniu do próbki G2. Zastosowanie większej ilości może spowodować ograniczenie oddziaływań pomiędzy enzymem oraz grupami funkcyjnymi obecnymi na powierzchni sferycznych cząstek z udziałem ligniny.



**Rysunek 5.3.9.** Aktywność katalityczna zimmobilizowanej lipazy w zależności od: a) stężenia białka, b) ilości nośnika oraz c) czasu immobilizacji

Następnie, sprawdzono wpływ stężenia od 0,5 do 10 mg/cm<sup>3</sup> zastosowanego białka na aktywność układu. Najmniejszą aktywność lipazy zaobserwowano dla stężenia 0,5 mg/cm<sup>3</sup>, w szczególności dla układu G2. Niska aktywność enzymu może być związana z niedostateczną ilością lipazy przyłączonej do struktury sfery w celu otrzymania wysokiej aktywności katalitycznej. Dla obu uzyskanych systemów stwierdzono, że największą aktywność katalityczną otrzymano z wykorzystaniem roztworu lipazy o stężeniu 5 mg/cm<sup>3</sup>. Dodatkowo, niezależnie od zastosowanego stężenia białka, zaobserwowano, że produkt G1 cechuje się większą zdolnością do przyłączania enzymu, w porównaniu do układu G2. Może to być związane z bardziej hydrofobowym charakterem nośnika, co utrudnia połączenie materiału z białkiem skutkując zmniejszoną aktywnością katalityczną otrzymanego układu. Ostatnim, jednak również istotnym parametrem, jest czas prowadzenia procesu immobilizacji. Badania prowadzono w czasie od 0,5 do 24 godzin i stwierdzono, że można

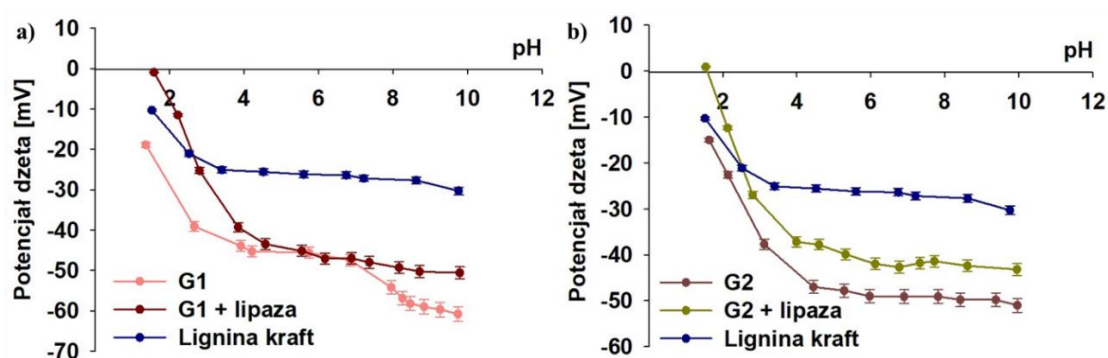


## Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

zaobserwować liniową zależność pomiędzy czasem trwania procesu immobilizacji a aktywnością katalityczną enzymu.

Dla najlepszych otrzymanych układów przeprowadzono również charakterystykę fizykochemiczną oraz mikrostrukturalną z wykorzystaniem analiz FTIR, potencjału elektrokinetycznego oraz struktury porowatej, w celu potwierdzenia poprawności przeprowadzonego procesu i efektywnego połączenia się sferycznych cząstek z zastosowanym białkiem. Podczas analizy obecności wybranych grup funkcyjnych zaobserwowano zwiększenie intensywności pasm pochodzących od grup  $-OH$  oraz  $-CH$ . Warto zwrócić uwagę także na obecność nowego pasma przy maksimum liczby falowej  $1640\text{ cm}^{-1}$ , które jest związane z wiązaniami rozciągającymi pochodzącymi od pierwszorzędowej grupy amidowej, co potwierdza na efektywne połączenie między sferycznymi cząstkami a białkiem. Ponadto, zaobserwowano pasma charakteryzujące się długością liczby falowej przy  $1600\text{ cm}^{-1}$  oraz  $1256\text{ cm}^{-1}$  dla kolejno drugorzędowej i trzeciorzędowej grupy amidowej.

Analizując wyniki potencjału dzeta materiałów G1 i G2 przed i po procesie immobilizacji stwierdzono, że dodatek lipazy powoduje zmianę wielkości parametru potencjału dzeta w określonych warunkach pH środowiska reakcji (rysunek 5.3.10.). W pH 10 zaobserwowano zmianę wielkości potencjału dzeta z  $-65\text{ mV}$  do  $-50\text{ mV}$  dla materiału G1 oraz z  $-55\text{ mV}$  do  $-45\text{ mV}$  dla G2, potwierdzając poprawność przeprowadzonego procesu immobilizacji lipazy z wykorzystaniem sferycznych struktur, jako nośników. Oddziaływania elektrostatyczne mogą odgrywać znaczącą rolę podczas przyłączania się enzymu do powierzchni struktury biopolimeru [195,196].



**Rysunek 5.3.10.** Krzywe potencjału dzeta: a) G1 oraz b) G2

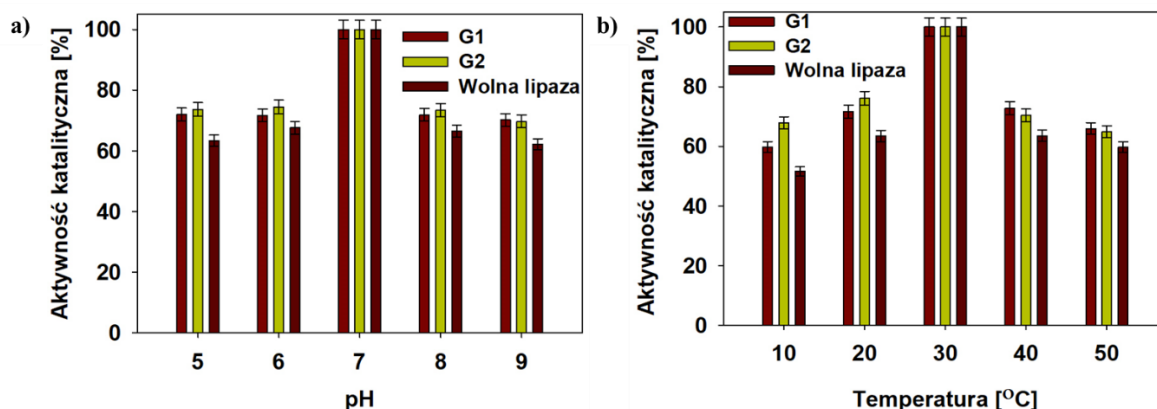
Wykonano również porównanie analizy struktury porowatej dla materiałów G1 i G2 przed i po procesie immobilizacji. Dla obu próbek zaobserwowano zmniejszenie wartości powierzchni właściwej BET z  $17$  do  $5\text{ m}^2/\text{g}$  dla G1 oraz z  $12$  do  $8\text{ m}^2/\text{g}$  dla G2. Materiał G1,

### **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

ze względu na właściwości struktury porowatej, może cechować się większą zdolnością do immobilizowania enzymów, w porównaniu do próbki G2. Dodatkowo, zmniejszeniu uległa całkowita objętość oraz wielkość porów. Na podstawie przeprowadzonych analiz fizykochemicznych można stwierdzić, że nastąpiło efektywne połączenie enzymu z otrzymanym materiałem sferycznym.

Przeprowadzono również badania, w których sprawdzono wpływ pH oraz temperatury na aktywność katalityczną zimmobilizowanych systemów (rysunek 5.3.11). Dla otrzymanych układów przeprowadzono reakcję hydrolizy *p*-NPP do *p*-NP w pH środowiska od 5 do 9, a otrzymane wyniki porównano z aktywnością katalityczną wolnego enzymu. Zaobserwowano, że zastosowanie sferycznych cząstek z udziałem ligniny, jako nośników, podwyższa aktywność zimmobilizowanego enzymu o ok. 10% w całym badanym zakresie, w porównaniu do wolnej lipazy. Maksymalną aktywność zimmobilizowanej lipazy, równą 100%, zaobserwowano podczas prowadzenia reakcji w pH 7. Zastosowanie sferycznego, biopolimerowego nośnika umożliwiło na ochronę materiału przed zmianami deformacyjnymi oraz na poprawę stabilności enzymu w środowisku reakcji. Przeanalizowano również zmiany aktywności katalitycznej zimmobilizowanej lipazy oraz formy natywnej w zakresie temperatur od 10 do 50°C. Największą aktywność lipazy zaobserwowano w temperaturze 30°C, niezależnie od zastosowanego nośnika, natomiast wraz ze zmianą temperatury wartość analizowanego parametru malała. Podobne wyniki zostały otrzymane przez Qin oraz współpracowników, na podstawie których potwierdzono, że lipaza zimmobilizowana na hydrożelu cechuje się również najlepszą aktywnością w 30°C i wraz ze wzrostem temperatury drastycznie maleje [224]. Ponadto, zaobserwowano, że większą aktywność katalityczną w niższym zakresie temperatur (10 oraz 20°C) uzyskano poprzez zimmobilizowanie białka na materiale G2, natomiast w podwyższonych temperaturach procesu (40 oraz 50°C) lepszymi właściwościami katalitycznymi cechuje się układ G1. Może to być związane z procesem syntezy cząstek (pH środowiska reakcji 5), a także z mniejszym rozmiarem wybranego materiału. Warto również zwrócić uwagę, że w całym analizowanym zakresie temperatur zimmobilizowany enzym na wybranych sferycznych nośnikach cechuje się większą aktywnością katalityczną, w porównaniu do wolnego enzymu.

### Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie



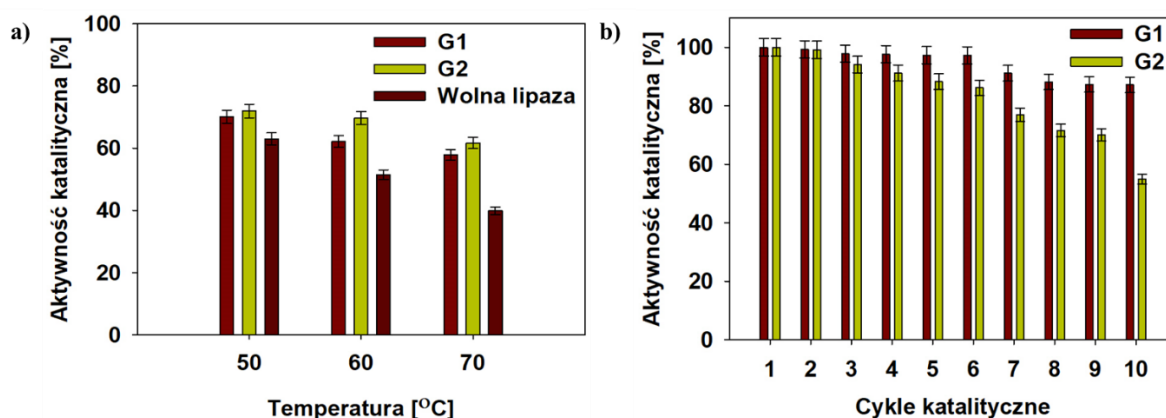
**Rysunek 5.3.11.** Wpływ a) pH oraz b) temperatury na aktywność katalityczną wolnej oraz zimmobilizowanej lipazy

Dodatkowo, przeprowadzono badania dotyczące stabilności termicznej, w których wybrane układy G1, G2, a także wolny enzym przechowywano w podwyższonej temperaturze 50, 60, 70°C przez 3 godziny (rysunek 5.3.12 a). Proces immobilizacji lipazy na powierzchni sferycznych cząstek zwiększył aktywność katalityczną zastosowanego białka. Lipaza zimmobilizowana na materiale G2 utrzymuje swoją aktywność katalityczną na podobnym poziomie (75%) w temperaturze 50 oraz 60°C, natomiast wraz ze wzrostem temperatury do 70°C zauważono jej nieznaczne zmniejszenie do 62%. Warto zwrócić uwagę, że wraz ze wzrostem temperatury od 50 do 70°C aktywność wolnego enzymu zmniejszyła się z 62 do 40%. Podczas procesu immobilizacji zostają otrzymane układy biokatalityczne, które cechują się mniejszą wrażliwością na działanie temperatury. Natomiast, zwiększenie stabilności termicznej enzymu pozwala na zastosowanie zimmobilizowanego białka w wybranych reakcjach katalitycznych. Ponadto, największe różnice w aktywności katalitycznej pomiędzy wolnym a zimmobilizowanym enzymem zaobserwowano w temperaturze 70°C, gdyż wartość tego parametru dla układów G1 oraz G2 wynosiła kolejno 58 oraz 62% natomiast dla wolnej lipazy ok. 40%. Podobne wyniki zostały otrzymane przez Lu i współpracowników, którzy zimmobilizowali lipazę na nośniku  $\text{SiO}_2\text{-Fe}_3\text{O}_4$  z dodatkiem poliakrylonitrylu. Związany enzym cechował się aktywnością katalityczną powyżej 50% w temperaturach od 50 do 60°C [225].

W trakcie badań, bardzo ważnym etapem było sprawdzenie możliwości ponownego zastosowania układu (rysunek 5.3.12 b). Dla obu zimmobilizowanych układów wykonano 10 cykli katalitycznych. Zaobserwowano, że podczas 10 cykli aktywność katalityczna zmniejszyła się i wynosi odpowiednio 87% oraz 55% kolejno dla materiału G1 oraz G2. W pracy zaprezentowanej przez zespół Tomke, lipaza została zimmobilizowana na

## Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie

rozdrobnionych łupinach z kokosa oraz orzechów ziemnych i zaobserwowano, że otrzymany system można użyć do 5 cykli z wydajnością do 58% [226]. Większa zdolność do ponownego wykorzystania biokatalizatora G1 może być związana z bardziej rozbudowaną powierzchnią porowatą, co może umożliwiać na łatwiejsze przyłączenie się enzymu do powierzchni sferycznych cząstek. Dodatkowo, mogą zostać wytworzone stabilne połączenia między lipazą a sferycznymi cząstkami z udziałem ligniny, tym samym zapewniając lepszą ochronę enzymu, w tym także zapobieganiu szybkiego wymycia się białka z powierzchni nośnika.



**Rysunek 5.3.12.** a) Stabilność termiczna wolnej oraz zimmobilizowanej lipazy przechowywanej w 50, 60 oraz 70°C oraz b) zmiany aktywności katalitycznej lipazy zimmobilizowanych z zastosowaniem sferycznych cząstek podczas kolejnych cykli katalitycznych

### 5.4. Podsumowanie części doświadczalnej

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że odpowiednia ilość surfaktantu, jako miękkiej matrycy, ma znaczący wpływ na formowanie się materiału. Dodanie zbyt małej ilości związku powierzchniowo czynnego skutkuje tworzeniem się cząstek o bardziej nieregularnym kształcie ze zwiększoną zdolnością do łączenia się w agregaty i aglomeraty. Ponadto, utworzenie dyspersji ligniny oraz dodatek surfaktantu, w szczególności cieczy jonowej, może spowodować częściową depolimeryzację jej struktury oraz rozerwanie wiązań, w szczególności  $\beta$ -O-4. Modyfikacja ligniny kraft wpływa nie tylko na jej kształt, ale również parametry struktury porowatej, zakres wielkości cząstek oraz na stabilność elektrokinetyczną utworzonego układu.

Z powodzeniem zaproponowano potencjalne możliwości zastosowań, dla wszystkich otrzymanych materiałów, tj. w medycynie, ochronie środowiska oraz biotechnologii:

### **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

1. zastosowanie sferycznych cząstek umożliwiło na poprawienie stabilności modelowej substancji leczniczej, zmniejszając jej wrażliwość na podwyższoną temperaturę oraz wilgotność, zapewniając ochronę aktywnej substancji;
2. materiały mogą być zastosowane jako nośniki substancji leczniczych poprawiając szybkość rozpuszczania się leku w określonym czasie. Efektywne uwolnienie cilazaprilu nastąpiło w pH 6,8, podczas 24-godzinnego prowadzenia procesu i maksymalnie wynosiło 90%;
3. struktury zastosowano również do usuwania szkodliwych jonów metali oraz organicznych związków. Efektywność procesu zależała od zastosowanego pH reakcji, ilości nośnika oraz stężenia substancji początkowej. Stwierdzono, że środowisko reakcji ok. 6,2 dla ceturyzyny oraz ok. 5,0 dla jonów wanadu(V) umożliwia na przeprowadzenie procesu adsorpcji ze znaczną wydajnością. Wraz ze wzrostem stężenia początkowego zwiększeniu ulega również pojemność adsorpcyjna;
4. cząstki z udziałem wodorosiarczanowej cieczy jonowej cechują się właściwościami przeciwbakteryjnymi, szczególnie względem bakterii gram-dodatnich (*Staphylococcus aureus*);
5. układy z dodatkiem chlorku choliny zastosowano do immobilizacji enzymów. Stwierdzono, że zimmobilizowana lipaza cechuje się podwyższoną stabilnością w trudnych warunkach środowiska oraz możliwością ponownego zastosowania układu. Najlepszymi właściwościami katalitycznymi cechuje się układ otrzymany z zastosowaniem 100 mg nośnika podczas 24-godzinnego prowadzenia procesu immobilizacji.

Zaprezentowane badania oraz rozwój nauki z pewnością umożliwią na dalsze poszukiwania najbardziej efektywnej metody otrzymywania naturalnych sferycznych cząstek o nowych funkcjach użytkowych.

## **6. Podsumowanie**

W pierwszej części badań otrzymano sferyczne cząstki z udziałem ligniny kraft oraz wybranych związków powierzchniowo czynnych, w tym celu zastosowano: (i) chlorek heksadecylotrimetyloamoniowy, (ii) naturalne ekstrakty z *Saponaria officinalis* L. oraz z orzechów z drzewa *Sapindus mukorossi*, (iii) worodorosiarczanu 1-(propoksymetylo)-1H-imidazolowego, a także (iv) chlorku choliny. Warto zaznaczyć, że podczas badań wykorzystano popularne syntetyczne substancje, jak również związki, które nie zostały wcześniej użyte do syntezy sferycznych materiałów. Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano uniwersalne wnioski, które mogą wspomóc dalsze udoskonalanie procesu syntezy materiału:

1. stosując wybrane surfaktanty naturalne oraz syntetyczne, a także ciecze jonowe można otrzymać sferyczne cząstki z udziałem ligniny kraft;
2. obecność zastosowanej miękkiej matrycy w strukturze cząstki ma niewielki wpływ na charakterystykę materiału. Wyjątek stanowią ciecze jonowe, które znacząco poprawiają właściwości antibakteryjne otrzymanego produktu;
3. lignina kraft ulega częściowej depolimeryzacji oraz aktywacji podczas procesu przygotowania biopolimeru oraz otrzymywania sferycznych cząstek. Zaobserwowano m.in. poprawę właściwości elektrokinetycznych zsyntezowanych struktur względem zastosowanego organicznego prekursora;
4. wraz ze postępem trwania procesu, zaobserwowano większe prawdopodobieństwo tworzenia się agregatów oraz aglomeratów, a także cząstek o nieregularnym kształcie;
5. niewłaściwie dobrany stosunek wagowy pomiędzy ligniną a wybranym związkiem powierzchniowo czynnym może negatywnie wpływać na kształt powstających cząstek. Zwrócono uwagę, że stosując syntetyczne surfaktanty istnieje konieczność zastosowania większej ilości związku, w porównaniu do ich naturalnych odpowiedników oraz cieczy jonowych;
6. silnie kwasowe lub zasadowe środowisko, a także zbyt mała objętość dodanej wody uniemożliwia poprawne otrzymanie sferycznych materiałów.

Wszystkie zaprezentowane wyniki zostały szczegółowo omówione w **publikacjach D2-D7**, dodatkowo zostały opublikowane dwie prace przeglądowe (**publikacja D1 oraz D8**). Warto zwrócić szczególną uwagę, że z wykorzystaniem wszystkich zaproponowanych metod można otrzymać sferyczne cząstki z udziałem ligniny kraft, które z sukcesem zostały

### **Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów: otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

zastosowane w medycynie, ochronie środowiska oraz biotechnologii (tabela 6.1). Umożliwia to na stwierdzenie, że naturalne, sferyczne struktury z udziałem biopolimerów mogą być interesującą alternatywą dla obecnie stosowanych materiałów. Wnioski zdobyte podczas przeprowadzonych badań otwierają drogę do dalszego rozwoju technologii oraz w przyszłości dadzą z pewnością możliwość zwiększania skali procesu. Naturalne, sferyczne układy z udziałem biopolimerów, szczególnie z dodatkiem ligniny kraft, cechują się szeregiem zalet. Warto zwrócić uwagę na fakt, że są otrzymywane z materiału odpadowego, o niskiej szkodliwości oraz dużej biokompatybilności. Produkt w zależności od potencjalnego zastosowania może być modyfikowany ze względu na obecność reaktywnych grup funkcyjnych w strukturze cząstek. Jednak, ze względu na obecnie szybki rozwój mikro- i nanotechnologii zaobserwowano pewne zagrożenia, które w przyszłości będą wymagały dodatkowych badań. Nanocząstki mogą ingerować w strukturę białka, a ich niepoprawne zastosowanie może mieć negatywny wpływ na środowisko oraz powodować ich nagromadzenie w żywych organizmach. Z drugiej strony syntetyczne prekursorzy stosowane do otrzymywania sferycznych cząstek mogą również ingerować w środowisko, dlatego ich eliminacja w dalszym toku badań jest konieczna.

Mikro- i nanocząstki są częścią rozwoju obecnej technologii, co umożliwi poprawę obecnych procesów, w tym dozowania substancji leczniczych, ochrony roślin oraz zanieczyszczenia środowiska. Zaprezentowane badania oraz wnioski mogą w przyszłości wspomóc poszukiwanie nowych zastosowań sferycznych struktur.

**Tabela 6.1.** Porównanie wszystkich materiałów otrzymanych podczas realizacji pracy doktorskiej

Nr publikacji	Nazwa materiału	Rozkład wielkości cząstek [nm]	Indeks polidispersyjności [PDI]	Parametry struktury porowatej			Potencjał dzeta [mV]			Zastosowanie	
				$A_{BET}$ [m <sup>2</sup> /g]	$V_p$ [cm <sup>3</sup> /g]	$S_p$ [nm]	pH <sub>IEP</sub>	2,5	7,5		10,0
D3	LC	285–825	0,186	–	–	–	3,0	9,1 (±0,2)	–36,0 (±1,0)	–49,7 (±1,7)	Systemy uwalniania substancji leczniczej
D4	L-CTAB	220–531	0,217	8	0,020	10,0	3,1	9,8 (±0,3)	–54,0 (±1,6)	–61,7 (±1,9)	Usuwanie jonów wanadu(V) z roztworów wodnych
D5	KL-SO	142–825; 3580–6439	0,146	14	0,090	26,0	2,0	–7,0 (±0,2)	–45,1 (±1,4)	–54,0 (±1,6)	Usuwanie dichlorowodoru cetyryzyny z roztworów wodnych
	KL-SM	122–531	0,178	18	0,130	30,0	2,7	1,46 (±0,1)	–46,9 (±1,4)	–54,1 (±1,6)	
D6	Lig-IL (1:1)	91–295	0,099	15	0,006	2,1	–	–30,1 (±0,9)	–48,3 (±1,4)	–51,7 (±1,5)	Działanie przeciwbakteryjne
	Lig-IL (4:3)	122–615	0,067	14	0,006	2,2	–	–24,5 (±0,7)	–49,5 (±1,4)	–54,2 (±1,5)	
	Lig-IL (2:1)	122–531	0,060	17	0,008	2,1	–	–36,1 (±1,1)	–51,6 (±1,5)	–56,4 (±1,7)	
	Lig-IL (4:1)	91–531	0,076	14	0,005	2,1	–	–34,1 (±1,0)	–60,8 (±1,8)	–64,1 (±1,9)	
	Lig-IL (10:1)	91–324	0,095	12	0,003	2,1	–	–23,7 (±0,7)	–51,2 (±1,5)	–60,0 (±1,8)	
D7	G1	255–1484	0,091	17	0,009	2,1	–	–36,0 (±1,1)	–51,1 (±1,5)	–61,0 (±1,8)	



**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

G2	342–1990	0,064	12	0,004	2,0	–	–29,1 (±0,9)	–48,8 (±1,5)	–50,9 (±1,5)	Immobilizacja lipazy B z <i>Candida antarctica</i>
Lignina kraft	255–825; 3580–6439	0,138	1	0,011	12,0	–	–20,2 (±0,6)	–27,2 (±0,8)	–31,3 (±0,9)	Otrzymywanie sferycznych materiałów

## **7. Bibliografia**

1. Wen, W.; Huang, T.; Guan, S.; Zhao, Y.; Chen, A. Self-assembly of single chain janus nanoparticles with tunable liquid crystalline properties from stilbene-containing block copolymers. *Macromolecules* **2019**, *52*, 2956–2964, doi:10.1021/acs.macromol.9b00154.
2. Österberg, M.; Sipponen, M. H.; Mattos, B. D.; Rojas, O. J. Spherical lignin particles: A review on their sustainability and applications. *Green Chem.* **2020**, *22*, 2712–2733, doi:10.1039/D0GC00096E.
3. Matijević, E. Preparation and properties of uniform size colloids. *Chem. Mater.* **1993**, *5*, 412–426, doi:10.1021/cm00028a004.
4. Poškas, R.; Sirvydas, A.; Jouhara, H.; Poškas, P. Investigation of characteristics of solid particles from a mixture of sewage sludge and wood pellets synthetic gas and their clean-up. *Waste Manage.* **2018**, *78*, 1–7, doi:10.1016/j.wasman.2018.05.025.
5. Daddi-Moussa-Ider, A.; Lisicki, M.; Gekle, S. Hydrodynamic mobility of a solid particle near a spherical elastic membrane. II. Asymmetric motion. *Phys. Rev. E* **2017**, *95*, 1–16, doi:10.1103/PhysRevE.95.053117.
6. Baruah, P.; Das, B. K.; Bora, M.; Saikia, B. K.; Mahanta, D. Hydrothermally prepared sugar-derived carbon spheres for all-solid-state symmetric electrochemical capacitors. *Mater. Today Commun.* **2022**, *33*, 104219, doi:10.1016/j.mtcomm.2022.104219.
7. Hararak, B.; Winotapun, C.; Inyai, J.; Wannid, P.; Prahsarn, C. Production of UV-shielded spherical lignin particles as multifunctional bio-additives for polyvinyl alcohol composite films. *J. Nanoparticle Res.* **2021**, *23*, 193–208, doi:10.1007/s11051-021-05308-z.
8. Shan, G.; Surampalli, R. Y.; Tyagi, R. D.; Zhang, T. C. Nanomaterials for environmental burden reduction, waste treatment, and nonpoint source pollution control: A review. *Front. Environ. Sci. Eng. China* **2009**, *3*, 249–264, doi:10.1007/s11783-009-0029-0.
9. Cauley, A. N.; Wilson, J. N. Functionalized lignin biomaterials for enhancing optical properties and cellular interactions of dyes. *Biomater. Sci.* **2017**, *1*, 2114–2121, doi:10.1039/C7BM00518K.
10. Mirzaei, A.; Kim, J. H.; Kim, H. W.; Kim, S. S. How shell thickness can affect the gas sensing properties of nanostructured materials: Survey of literature. *Sens. Actuators B Chem.* **2018**, *258*, 270–294, doi:10.1016/j.snb.2017.11.066.
11. Xia, L.; Zhao, H.; Liu, G.; Hu, X.; Liu, Y.; Li, J.; Yang, D.; Wang, X. Degradation of dyes using hollow copper microspheres as catalyst. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **2011**, *384*, 358–362, doi:10.1016/j.colsurfa.2011.04.016.
12. Sadjadi, S.; Malmir, M.; Heravi, M. M. A green approach to the synthesis of Ag doped nano magnetic  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3\text{@SiO}_2\text{-CD}$  core-shell hollow spheres as an efficient and heterogeneous catalyst for ultrasonic-assisted  $\text{A}^3$  and  $\text{KA}^2$  coupling reactions. *RSC Adv.* **2017**, *7*, 36807–36818, doi:10.1039/c7ra04635a.
13. Madene, A.; Jacquot, M.; Scher, J.; Desobry, S. Flavour encapsulation and controlled release - A review. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2006**, *41*, 1–21, doi:10.1111/j.1365-2621.2005.00980.x.
14. Li, Z.; Wanjala, B.; Cernigliaro, G.; Nawrocki, D.; Gu, Z. Synthesis of  $\text{Zn}_2\text{SiO}_4\text{@ZnO}$  core-shell nanoparticles and the effect of shell thickness on band-gap transition. *Mater. Chem. Phys.* **2019**, *240*, 122144–122149, doi:10.1016/j.matchemphys.2019.122144.
15. Zhang, L.; Han, Z.; Jia, Y.; Han, Y. Preparation of  $\text{MnO}_2\text{@CeO}_2$  core-shell catalyst and its application in SCO denitration performance. *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.* **2022**, *128*,

1–9, doi:10.1007/s00339-022-05543-8.

16. Shafiq, A.; Madni, A.; Khan, S.; Sultana, H.; Sumaira; Shah, H.; Khan, S.; Rehman, S.; Nawaz, M. Core-shell Pluronic F127/chitosan based nanoparticles for effective delivery of methotrexate in the management of rheumatoid arthritis. *Int. J. Biol. Macromol.* **2022**, *213*, 465–477, doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.05.192.
17. Banaee, F.; Poureini, F.; Mohammadi, M.; Najafpour, G. D.; Moghadamnia, A. A. Encapsulation of curcumin in gliadin-pectin in a core-shell nanostructure for efficient delivery of curcumin to cancer cells *in vitro*. *Colloid Polym. Sci.* **2022**, *300*, 1063–1073, doi:10.1007/s00396-022-04998-8.
18. Sathiyaseelan, A.; Saravanakumar, K.; Wang, M. H. Bimetallic silver-platinum (AgPt) nanoparticles and chitosan fabricated cotton gauze for enhanced antimicrobial and wound healing applications. *Int. J. Biol. Macromol.* **2022**, *220*, 1556–1569, doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.09.045.
19. Asgari, M.; Saboor, F. H.; Amouzesh, S. P.; Coull, M. W.; Khodadadi, A. A.; Mortazavi, Y.; Hyodo, T.; Shimizu, Y. Facile ultrasonic-assisted synthesis of SiO<sub>2</sub>/ZnO core/shell nanostructures: A selective ethanol sensor at low temperatures with enhanced recovery. *Sens. Actuators B Chem.* **2022**, *368*, 132187, doi:10.1016/j.snb.2022.132187.
20. Hu, J.; Chen, M.; Fang, X.; Wu, L. Fabrication and application of inorganic hollow spheres. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5472–5491, doi:10.1039/C1CS15103G
21. Wang, X.; Feng, J.; Bai, Y.; Zhang, Q.; Yin, Y. Synthesis, properties, and applications of hollow micro-/nanostructures. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 10983–11060, doi:10.1021/acs.chemrev.5b00731.
22. Yu, L.; Wu, H. Bin; Lou, X. W. D. Self-templated formation of hollow structures for electrochemical energy applications. *Acc. Chem. Res.* **2017**, *50*, 293–301, doi:10.1021/acs.accounts.6b00480.
23. Wang, H. F.; Chen, L.; Wang, M.; Liu, Z.; Xu, Q. Hollow spherical superstructure of carbon nanosheets for bifunctional oxygen reduction and evolution electrocatalysis. *Nano Lett.* **2021**, *21*, 3640–3648, doi:10.1021/acs.nanolett.1c00757.
24. Watanabe, K.; Kuroda, K.; Nagao, D. Polyethylenimine-assisted synthesis of hollow silica spheres without shape deformation. *Mater. Chem. Phys.* **2021**, *262*, 124267, doi:10.1016/j.matchemphys.2021.124267.
25. Xu, P.; Wu, Z.; Dai, W.; Wang, Y.; Zheng, M.; Su, X.; Teng, Z. Hollow mesoporous organosilica nanospheres with multiple tiny silver nanoparticles: A polymer mediated growth approach and catalytic application. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2020**, *117*, 287–293, doi:10.1016/j.jtice.2020.12.015.
26. Nikolić, V.; Tomić, N.; Bugarčić, M.; Sokić, M.; Marinković, A.; Veličković, Z.; Kamberović, Ž. Amino-modified hollow alumina spheres: effective adsorbent for Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, As(V), and diclofenac removal. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2021**, *28*, 27174, doi:10.1007/s11356-020-12157-1.
27. Wang, X.; Huang, H. Synthesis and modification of spherical SiO<sub>2</sub> nanoparticles with different particle sizes and morphologies and their effects on the properties of thermoplastic polyurethane urea elastomers. *Polym. Compos.* **2022**, *43*, 1494–1504, doi:10.1002/pc.26469.
28. Al-Khafaji, M. A.; Gaál, A.; Jezsó, B.; Mihály, J.; Bartczak, D.; Goenaga-Infante, H.; Varga, Z. Synthesis of porous hollow organosilica particles with tunable shell thickness. *Nanomaterials* **2022**, *12*, 1–13, doi:10.3390/nano12071172.
29. Wang, L.; He, G.; Sun, S.; Fang, S.; Li, Z.; Yang, Z.; Li, J. Preparation of hollow SiC spheres

- by combustion synthesis. *J. Am. Ceram. Soc.* **2022**, *105*, 5373–5379, doi:10.1111/jace.18472.
30. Hassan, M.; Wang, M.; Hussain, S.; Zhang, X.; Lei, S.; Jin, M.; Qiao, G.; Liu, G. Synchronized integration of iron/cobalt dual-metal in nitrogen-doped carbon hollow spheres for enriched supercapacitive and oxygen reduction reaction performances. *J. Energy Storage* **2022**, *56*, 105895, doi:10.1016/j.est.2022.105895.
  31. Wu, H.; Wang, Y.; Zheng, C.; Zhu, J.; Wu, G.; Li, X. Multi-shelled NiO hollow spheres: Easy hydrothermal synthesis and lithium storage performances. *J. Alloys Compd.* **2016**, *685*, 8–14, doi:10.1016/j.jallcom.2016.05.264.
  32. Qi, J.; Lai, X.; Wang, J.; Tang, H.; Ren, H.; Yang, Y.; Jin, Q.; Zhang, L.; Yu, R.; Ma, G.; Su, Z.; Zhao, H.; Wang, D. Multi-shelled hollow micro-/nanostructures. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 6749–6773, doi:10.1039/c5cs00344j.
  33. Kumar, S.; Srivastava, R.; Pak, D.; Chattopadhyay, J. Synthesis and energy applications of multi-shell micro/nano-spheres. *Int. J. Energy Res.* **2021**, *45*, 14389–14413, doi:10.1002/er.6771.
  34. Sheng, N.; Zhu, C.; Sakai, H.; Akiyama, T.; Nomura, T. Synthesis of Al-25 wt% Si@Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@Cu microcapsules as phase change materials for high temperature thermal energy storage. *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* **2019**, *191*, 141–147, doi:10.1016/j.solmat.2018.11.013.
  35. Roy, S.; Liu, Z.; Sun, X.; Gharib, M.; Yan, H.; Huang, Y.; Megahed, S.; Schnabel, M.; Zhu, D.; Feliu, N.; Chakraborty, I.; Sanchez-Cano, C.; Alkilany, A. M.; Parak, W. J. Assembly and degradation of inorganic nanoparticles in biological environments. *Bioconjug. Chem.* **2019**, *30*, 2751–2762, doi:10.1021/acs.bioconjchem.9b00645.
  36. Wang, Y.; Ding, P. S.; Zou, M. G.; Guo, W. Bin; Wang, D. X.; Zhang, F. C. Synthesis of nanosheet-based MnO<sub>2</sub> hollow capsules and their application in lithium batteries. *Ferroelectrics* **2018**, *522*, 75–79, doi:10.1080/00150193.2018.1392209.
  37. Yu, J.; Yu, X. Hydrothermal synthesis and photocatalytic activity of zinc oxide hollow spheres. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 4902–4907, doi:10.1021/es800036n.
  38. Xu, H.; Wang, W. Template synthesis of multishelled Cu<sub>2</sub>O hollow spheres with a single-crystalline shell wall. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2007**, *46*, 1489–1492, doi:10.1002/anie.200603895.
  39. Konował, E.; Modrzejewska-Sikorska, A.; Motylenko, M.; Klapiszewski, Ł.; Wysokowski, M.; Bazhenov, V. V.; Rafaja, D.; Ehrlich, H.; Milczarek, G.; Jesionowski, T. Functionalization of organically modified silica with gold nanoparticles in the presence of lignosulfonate. *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, *85*, 74–81, doi:10.1016/j.ijbiomac.2015.12.071.
  40. Dykman, L. A.; Khlebtsov, N. G. Gold nanoparticles in biology and medicine: Recent advances and prospects. *Acta Naturae* **2011**, *3*, 34–55, doi:10.32607/20758251-2011-3-2-34-56.
  41. Mzwd, E.; Ahmed, N. M.; Suradi, N.; Alsaee, S. K.; Altowyan, A. S.; Almessiere, M. A.; Omar, A. F. Green synthesis of gold nanoparticles in Gum Arabic using pulsed laser ablation for CT imaging. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 1–11, doi:10.1038/s41598-022-14339-y.
  42. Alshoaibi, A.; Islam, S. Fast responsive optically functionalized mesoporous gold nanostructures for pH sensing. *Opt. Mater. (Amst).* **2022**, *133*, 112877–112886, doi:10.1016/j.optmat.2022.112877.
  43. Alshameri, A. W.; Owais, M.; Altaf, I.; Farheen, S. Rumex nervosus mediated green synthesis of silver nanoparticles and evaluation of its in vitro antibacterial, and cytotoxic activity. *OpenNano* **2022**, *8*, 100084–100097, doi:10.1016/j.onano.2022.100084.

44. Calderón-Jiménez, B.; Montoro Bustos, A. R.; Pereira Reyes, R.; Paniagua, S. A.; Vega-Baudrit, J. R. Novel pathway for the sonochemical synthesis of silver nanoparticles with near-spherical shape and high stability in aqueous media. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 1–17, doi:10.1038/s41598-022-04921-9.
45. Basavarajappa, D. S.; Kumar, R. S.; Almansour, A. I.; Chakraborty, B.; Bhat, M. P.; Nagaraja, S. K.; Hiremath, H.; Perumal, K.; Nayaka, S. Biofunctionalized silver nanoparticles synthesized from *Passiflora vitifolia* leaf extract and evaluation of its antimicrobial, antioxidant and anticancer activities. *Biochem. Eng. J.* **2022**, *187*, 108517, doi:10.1016/j.bej.2022.108517.
46. Moges, A.; Goud, V. V. Optimization, characterization, and evaluation of antioxidant and antibacterial activities of silver nanoparticles synthesized from *Hippophae salicifolia* D. Don. *Inorg. Chem. Commun.* **2022**, *146*, 110086, doi:10.1016/j.inoche.2022.110086.
47. Sengani, M.; V, B.; Banerjee, M.; Choudhury, A. A.; Chakraborty, S.; Ramasubbu, K.; Rajeswari V, D.; Al Obaid, S.; Alharbi, S. A.; Subramani, B.; Brindhadevi, K. Evaluation of the anti-diabetic effect of biogenic silver nanoparticles and intervention in PPAR $\gamma$  gene regulation. *Environ. Res.* **2022**, *215*, 114408, doi:10.1016/j.envres.2022.114408.
48. Chen, R.; Wu, S.; Meng, C. Size-tunable green synthesis of platinum nanoparticles using chlorogenic acid. *Res. Chem. Intermed.* **2021**, *47*, 1775–1787, doi:10.1007/s11164-020-04377-4.
49. Sathiyaraj, G.; Vinosha, M.; Sangeetha, D.; Manikandakrishnan, M.; Palanisamy, S.; Sonaimuthu, M.; Manikandan, R.; You, S. G.; Prabhu, N. M. Bio-directed synthesis of Pt-nanoparticles from aqueous extract of red algae *Halymenia dilatata* and their biomedical applications. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **2021**, *618*, 126434, doi:10.1016/j.colsurfa.2021.126434.
50. Fanoro, O. T.; Parani, S.; Maluleke, R.; Lebepe, T. C.; Varghese, R. J.; Mgedle, N.; Mavumengwana, V.; Oluwafemi, O. S. Biosynthesis of smaller-sized platinum nanoparticles using the leaf extract of *Combretum erythrophyllum* and its antibacterial activities. *Antibiotics* **2021**, *10*, 1–10, doi:10.3390/antibiotics10111275.
51. Eltaweil, A. S.; Fawzy, M.; Hosny, M.; Abd El-Monaem, E. M.; Tamer, T. M.; Omer, A. M. Green synthesis of platinum nanoparticles using *Atriplex halimus* leaves for potential antimicrobial, antioxidant, and catalytic applications. *Arab. J. Chem.* **2022**, *15*, 103517, doi:10.1016/j.arabjc.2021.103517.
52. Daware, K. D.; Shinde, R. N.; Khedkar, C. V.; Patil, S. I.; Pandey, A. K.; Ashokkumar, M.; Gosavi, S. W. Enhanced catalytic activity of platinum decorated silica nanocrystals in rapid reduction of organic dyes. *Chem. Phys. Impact* **2022**, *5*, 100109, doi:10.1016/j.chphi.2022.100109.
53. Garlyyev, B.; Watzel, S.; Fichtner, J.; Michalička, J.; Schökel, A.; Senyshyn, A.; Perego, A.; Pan, D.; El-Sayed, H. A.; Macak, J. M.; Atanassov, P.; Zenyuk, I. V.; Bandarenka, A. S. Electrochemical top-down synthesis of C-supported Pt nano-particles with controllable shape and size: Mechanistic insights and application. *Nano Res.* **2021**, *14*, 2762–2769, doi:10.1007/s12274-020-3281-z.
54. Mai, N. X. D.; Nguyen, T. H. T.; Nguyen, D. H.; Nguyen, L. H. T.; Nguyen, H. T.; Phan, T. B.; Tamanoi, F.; Vong, L. B.; Doan, T. L. H. Engineering biodegradable periodic mesoporous functionalized-organosilica nanocarriers for efficient paclitaxel delivery. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **2023**, *656*, 130405–130414, doi:10.1016/j.colsurfa.2022.130405.
55. Nguyen, N. H.; Tran, D. L.; Truong-Thi, N. H.; Nguyen, C. K.; Tran, C. T.; Nguyen, D. H. Simply and effectively control the shell thickness of hollow mesoporous silica nanoparticles by polyethylene glycol for drug delivery applications. *J. Appl. Polym. Sci.* **2022**, *139*, 1–12,

doi:10.1002/app.53126.

56. Liu, X.; Wu, Z.; Manzoli, M.; Jicsinszky, L.; Cavalli, R.; Battaglia, L.; Cravotto, G. Medium-high frequency sonication dominates spherical-SiO<sub>2</sub> nanoparticle size. *Ultrason. Sonochem.* **2022**, *90*, 106181–106190, doi:10.1016/j.ultsonch.2022.106181.
57. Wang, Z.; Zhu, G.; Wang, Q.; Ding, K.; Tong, Y.; Gao, C. Preparation of hollow granules as micro-adsorber for uranium extraction from aqueous solutions. *Sep. Purif. Technol.* **2022**, *301*, 122046–122058, doi:10.1016/j.seppur.2022.122046.
58. Xiang, L.; Liu, X.; Yang, C.; Lei, Q.; Zhao, J.; Zhao, X. Ultrafast synthesis of anatase TiO<sub>2</sub> microspheres doped with rare-earth by one-step microwave method. *Inorg. Chem. Commun.* **2021**, *127*, 108532–108540, doi:10.1016/j.inoche.2021.108532.
59. Shoyiga, H. O.; Martincigh, B. S.; Nyamori, V. O. Hydrothermal synthesis of reduced graphene oxide-anatase titania nanocomposites for dual application in organic solar cells. *Int. J. Energy Res.* **2021**, *45*, 7293–7314, doi:10.1002/er.6313.
60. Alahdal, F. A. M.; Qashqoosh, M. T. A.; Manea, Y. K.; Salem, M. A. S.; Khan, A. M. T.; Naqvi, S. Eco-friendly synthesis of zinc oxide nanoparticles as nanosensor, nanocatalyst and antioxidant agent using leaf extract of *P. austroarabica*. *OpenNano* **2022**, *8*, 100067–100081, doi:10.1016/j.onano.2022.100067.
61. Zhao, Q.; Gao, Y.; Bai, X.; Wu, C.; Xie, Y. Facile synthesis of SnO<sub>2</sub> hollow nanospheres and applications in gas sensors and electrocatalysts. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, *2006*, 1643–1648, doi:10.1002/ejic.200500975.
62. Cao, J.; Wang, S.; Zhang, H.; Zhang, T. Facile construction of Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> porous microspheres with enhanced acetone gas sensing performances. *Mater. Sci. Semicond. Process.* **2019**, *101*, 10–15, doi:10.1016/j.mssp.2019.05.014.
63. Valladares, L. D. L. S.; León Félix, L.; Espinoza Suarez, S. M.; Bustamante Dominguez, A. G.; Mitrelias, T.; Holmes, S.; Moreno, N. O.; Albino Aguiar, J.; Barnes, C. H. W. Preparation and crystallization of hollow  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> microspheres following the gas-bubble template method. *Mater. Chem. Phys.* **2016**, *169*, 21–27, doi:10.1016/j.matchemphys.2015.11.021.
64. Liu, R.; Yin, J.; Du, W.; Gao, F.; Fan, Y.; Lu, Q. Monodisperse CuO hard and hollow nanospheres as visible-light photocatalysts. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2013**, *2013*, 1358–1362, doi:10.1002/ejic.201200975.
65. Dinga, E.; Mthiyane, D. M. N.; Marume, U.; Botha, T. L.; Horn, S.; Pieters, R.; Wepener, V.; Ekennia, A.; Onwudiwe, D. C. Biosynthesis of ZnO nanoparticles using *Melia azedarach* seed extract: Evaluation of the cytotoxic and antimicrobial potency. *OpenNano* **2022**, *8*, 100068–100080, doi:10.1016/j.onano.2022.100068.
66. Alshraiedeh, N. H.; Ammar, O. F.; Masadeh, M. M.; Alzoubi, K. H.; Al-Fandi, M. G.; Oweis, R. J.; Alsharedeh, R. H.; Alabed, R. A.; Hayajneh, R. H. Comparative study of antibacterial activity of different ZnO nanoparticles, nanoflowers, and nanoflakes. *Curr. Nanosci.* **2022**, *18*, 758–765, doi:10.2174/1573413718666220303153123.
67. Jose, J.; Netto, G. Role of solid lipid nanoparticles as photoprotective agents in cosmetics. *J. Cosmet. Dermatol.* **2019**, *18*, 315–321, doi:10.1111/jocd.12504.
68. Gad, H. A.; Abd El-Rahman, F. A. A.; Hamdy, G. M. Chamomile oil loaded solid lipid nanoparticles: A naturally formulated remedy to enhance the wound healing. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2019**, *50*, 329–338, doi:10.1016/j.jddst.2019.01.008.
69. Rostamabadi, H.; Falsafi, S. R.; Jafari, S. M. Nanoencapsulation of carotenoids within lipid-based nanocarriers. *J. Control. Release* **2019**, *298*, 38–67, doi:10.1016/j.jconrel.2019.02.005.

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

70. Wu, C.; Xu, J.; Hao, Y.; Zhao, Y.; Qiu, Y.; Jiang, J.; Yu, T.; Ji, P.; Liu, Y. Application of a lipid-coated hollow calcium phosphate nanoparticle in synergistic co-delivery of doxorubicin and paclitaxel for the treatment of human lung cancer A549 cells. *Int. J. Nanomed.* **2017**, *12*, 7979–7992, doi:10.2147/IJN.S140957.
71. George, A.; Sanjay, M. R.; Srisuk, R.; Parameswaranpillai, J.; Siengchin, S. A comprehensive review on chemical properties and applications of biopolymers and their composites. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *154*, 329–338, doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.03.120.
72. Gupta, S.; Bissoyi, A.; Bit, A. A review on 3D printable techniques for tissue engineering. *Bionanoscience* **2018**, *8*, 868–883, doi:10.1007/s12668-018-0525-4.
73. Chen, Y.; Shu, M.; Yao, X.; Wu, K.; Zhang, K.; He, Y.; Nishinari, K.; Phillips, G. O.; Yao, X.; Jiang, F. Effect of zein-based microencapsules on the release and oxidation of loaded limonene. *Food Hydrocoll.* **2018**, *84*, 330–336, doi:10.1016/j.foodhyd.2018.05.049.
74. Chen, G.; Fu, Y.; Niu, F.; Zhang, H.; Li, X.; Li, X. Evaluation of the colloidal/chemical performance of core-shell nanoparticle formed by zein and gum arabic. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **2019**, *560*, 130–135, doi:10.1016/j.colsurfa.2018.10.006.
75. Kraskiewicz, H.; Breen, B.; Sargeant, T.; McMahon, S.; Pandit, A. Assembly of protein-based hollow spheres encapsulating a therapeutic factor. *ACS Chem. Neurosci.* **2013**, *4*, 1297–1304, doi:10.1021/cn400080h.
76. Li, Y.; Zhou, M.; Pang, Y.; Qiu, X. Lignin-based microsphere: Preparation and performance on encapsulating the pesticide avermectin. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2017**, *5*, 3321–3328, doi:10.1021/acssuschemeng.6b03180.
77. Chen, N.; Dempere, L. A.; Tong, Z. Synthesis of pH-responsive lignin-based nanocapsules for controlled release of hydrophobic molecules. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2016**, *4*, 5204–5211, doi:10.1021/acssuschemeng.6b01209.
78. Li, Y.; Wu, M.; Wang, B.; Wu, Y.; Ma, M.; Zhang, X. Synthesis of magnetic lignin-based hollow microspheres: A highly adsorptive and reusable adsorbent derived from renewable resources. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2016**, *4*, 5523–5532, doi:10.1021/acssuschemeng.6b01244.
79. He, C.; Shi, L.; Lou, S.; Liu, B.; Zhang, W.; Zhang, L. Synthesis of spherical magnetic calcium modified chitosan micro-particles with excellent adsorption performance for anionic-cationic dyes. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *128*, 593–602, doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.01.189.
80. Zhang, S.; Zhang, F.; Jin, L.; Liu, B.; Mao, Y.; Liu, Y.; Huang, J. Preparation of spherical nanocellulose from waste paper by aqueous NaOH/thiourea. *Cellulose* **2019**, *26*, 5177–5185, doi:10.1007/s10570-019-02434-9.
81. Li, S.; Li, S.; Gong, M.; Zhang, H.; Fan, L.; Liu, X.; Zhou, J. Development of zein/tannic acid nanoparticles as antioxidants for oxidation inhibition of blackberry seed oil emulsions. *Food Chem.* **2023**, *403*, 134236, doi:10.1016/j.foodchem.2022.134236.
82. Xia, Y.; Wang, Y.; Lou, S.; Wen, M.; Ni, X. Fabrication and characterization of zein-encapsulated Litsea cubeba oil nanoparticles and its effect on the quality of fresh pork. *Food Biosci.* **2022**, *49*, 101834, doi:10.1016/j.fbio.2022.101834.
83. Zheng, H.; Wang, J.; You, F.; Zhou, M.; Shi, S. Fabrication, characterization, and antimicrobial activity of carvacrol-loaded zein nanoparticles using the pH-driven method. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 1–15, doi:10.3390/ijms23169227.
84. Yang, J.; Lin, J.; Chen, X.; Rong, L.; Shen, M.; Wang, Y.; Xie, J. Mesona chinensis polysaccharide/zein nanoparticles to improve the bioaccessibility and in vitro bioactivities of

- curcumin. *Carbohydr. Polym.* **2022**, *295*, 119875, doi:10.1016/j.carbpol.2022.119875.
85. Morán, D.; Gutiérrez, G.; Mendoza, R.; Rayner, M.; Blanco-López, C.; Matos, M. Synthesis of controlled-size starch nanoparticles and superparamagnetic starch nanocomposites by microemulsion method. *Carbohydr. Polym.* **2023**, *299*, 120223, doi:10.1016/j.carbpol.2022.120223.
86. Hoyos-Leyva, J. D.; Bello-Pérez, L. A.; Agama-Acevedo, E.; Alvarez-Ramirez, J. Thermodynamic analysis for assessing the physical stability of core materials microencapsulated in taro starch spherical aggregates. *Carbohydr. Polym.* **2018**, *197*, 431–441, doi:10.1016/j.carbpol.2018.06.012.
87. Hoyos-Leyva, J. D.; Bello-Perez, L. A.; Agama-Acevedo, J. E.; Alvarez-Ramirez, J.; Jaramillo-Echeverry, L. M. Characterization of spray drying microencapsulation of almond oil into taro starch spherical aggregates. *Lwt* **2019**, *101*, 526–533, doi:10.1016/j.lwt.2018.11.079.
88. Xu, J.-T.; Chen, X.-Q. Preparation and characterization of spherical cellulose nanocrystals with high purity by the composite enzymolysis of pulp fibers. *Bioresour. Technol.* **2019**, *291*, 121842–121848, doi:10.1016/j.biortech.2019.121842.
89. Zhang, S.; Xu, X.; Ye, Z.; Liu, Y.; Wang, Q.; Chen, Q.; Jiang, Y.; Qi, J.; Tian, D.; Xu, J.; Wu, F.; Feng, X.; Lu, Y. A large-nanosphere/small-nanosphere (cellulose/silver) antibacterial composite with prominent catalytic properties for the degradation of *p*-nitrophenol. *Appl. Surf. Sci.* **2023**, *608*, 155192–155205, doi:10.1016/j.apsusc.2022.155192.
90. Kumar Biswal, A.; Sahoo, M.; Kumar Suna, P.; Panda, L.; Lenka, C.; Kumari Misra, P. Exploring the adsorption efficiency of a novel cellulosic material for removal of food dye from water. *J. Mol. Liq.* **2022**, *350*, 118577–118591, doi:10.1016/j.molliq.2022.118577.
91. Si, Y.; Chen, M.; Wu, L. Syntheses and biomedical applications of hollow micro-/nanospheres with large-through-holes. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 690–714, doi:10.1039/c5cs00695c.
92. Beisl, S.; Miltner, A.; Friedl, A. Lignin from micro- to nanosize: Production methods. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18*, 1–31, doi:10.3390/ijms18061244.
93. Rao, B. G.; Mukherjee, D.; Reddy, B. M. Novel approaches for preparation of nanoparticles. In *Nanostructures for Novel Therapy: Synthesis, Characterization and Applications*; 2017; pp. 1–36, ISBN 9780323461481.
94. Stöber, W.; Fink, A.; Bohn, E. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *J. Colloid Interface Sci.* **1968**, *26*, 62–69, doi:10.1016/0021-9797(68)90272-5.
95. Klapiszewski, Ł.; Królak, M.; Jesionowski, T. Silica synthesis by the sol-gel method and its use in the preparation of multifunctional biocomposites. *Cent. Eur. J. Chem.* **2014**, *12*, 173–184, doi:10.2478/s11532-013-0370-9.
96. Selvaraj, V.; Mahboub, H. H.; Ganapathi, U.; Chandran, S. K.; Al-Onazi, W.; Al-Mohaimed, A. M.; Chen, T. W.; Faggio, C.; Paulraj, B. Enhanced photodegradation of methylene blue from aqueous solution using Al-doped ZnS nanoparticles. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2022**, *29*, 73528, doi:10.1007/s11356-022-20634-y.
97. Larkunthod, P.; Boonlakhorn, J.; Pansarakham, P.; Pongdontri, P.; Thongbai, P.; Theerakulpisut, P. Synthesis and characterization of silica nanoparticles from rice husk and their effects on physiology of rice under salt stress. *Chil. J. Agric. Res.* **2022**, *82*, 412–425, doi:10.4067/S0718-58392022000300412.
98. Lee, J. H.; Cho, E. B. High hydrothermal stability of mesoporous Ni-phyllsilicate spherical particles. *Appl. Surf. Sci.* **2022**, *590*, 153114, doi:10.1016/j.apsusc.2022.153114.



99. Okpara, E. C.; Wojuola, O. B.; Fayemi, O. E.; Oyewo, O. A.; Onwudiwe, D. C. Sol–gel synthesis and electrochemical sensing properties of brownmillerite calcium ferrite–CaFe<sub>2</sub>O<sub>5</sub> nanoparticles. *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.* **2022**, *32*, 3445–3458, doi:10.1007/s10904-022-02397-8.
100. Mariappan, A.; Pandi, P.; Rajeswarapalanichamy, R.; Neyvasagam, K.; Sureshkumar, S.; Gatasheh, M. K.; Hatamleh, A. A. Bandgap and visible-light-induced photocatalytic performance and dye degradation of silver doped HAp/TiO<sub>2</sub> nanocomposite by sol-gel method and its antimicrobial activity. *Environ. Res.* **2022**, *211*, 113079, doi:10.1016/j.envres.2022.113079.
101. Dubey, K.; Dubey, S.; Sahu, V.; Parry, R. A.; Modi, A.; Gaur, N. K. Structural, optical and magnetic properties of CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticle synthesized by ultrasonication-assisted sol–gel technique. *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.* **2022**, *128*, 1–11, doi:10.1007/s00339-022-05681-z.
102. Xu, P.; Wu, Z.; Dai, W.; Wang, Y.; Zheng, M.; Su, X.; Teng, Z. Synthesis of multiple Ag nanoparticles loaded hollow mesoporous carbon spheres for highly efficient and recyclable catalysis. *Microporous Mesoporous Mater.* **2021**, *314*, 110856, doi:10.1016/j.micromeso.2020.110856.
103. Wu, K.; Wu, P.; Li, Z.; Ma, Y.; Peng, X.; Yang, X.; Cheng, S.; Guo, M.; Zhu, J.; Li, B.; Liu, Z. An efficient photocatalyst with Pt/TiO<sub>2</sub>@CdS/Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> hollow core–shell nanostructure for overall water splitting. *JOM* **2022**, *74*, 4441–4448, doi:10.1007/s11837-022-05496-6.
104. Jing, Y.; Guo, X.; Qi, C.; Chen, L. Fabrication of silica microspheres for HPLC packing with narrow particle size distribution and different pore sizes by hard template method for protein separation. *Chromatographia* **2022**, *85*, 985–995, doi:10.1007/s10337-022-04200-9.
105. Sun, H.; Ning, D.; Cheng, J.; Guo, J.; Hou, H.; Wang, Q. The fig-like hierarchical double-shelled hollow TiN particles as sulfur host for lithium-sulfur batteries. *J. Colloid Interface Sci.* **2022**, *628*, 562–573, doi:10.1016/j.jcis.2022.07.163.
106. Xi, Y.; Xiao, Z.; Lv, H.; Sun, H.; Wang, X.; Zhao, Z.; Zhai, S.; An, Q. Template-assisted synthesis of porous carbon derived from biomass for enhanced supercapacitor performance. *Diam. Relat. Mater.* **2022**, *128*, 109219, doi:10.1016/j.diamond.2022.109219.
107. Shin, J.; Andreas Hutomo, C.; Kim, J.; Jang, J.; Beum Park, C. Natural pollen exine-templated synthesis of photocatalytic metal oxides with high surface area and oxygen vacancies. *Appl. Surf. Sci.* **2022**, *599*, 154064, doi:10.1016/j.apsusc.2022.154064.
108. Saha, D.; Payzant, E. A.; Kumbhar, A. S.; Naskar, A. K. Sustainable mesoporous carbons as storage and controlled-delivery media for functional molecules. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5*, 5868–5874, doi:10.1021/am401661f.
109. Liu, J.; Liu, F.; Gao, K.; Wu, J.; Xue, D. Recent developments in the chemical synthesis of inorganic porous capsules. *J. Mater. Chem.* **2009**, *19*, 6073–6084, doi:10.1039/b900116f.
110. Xu, Z.; Kong, L.; Wang, H.; Ma, Q.; Shen, X.; Wang, J.; Premlatha, S. Soft-template assisted preparation of hierarchically porous graphitic carbon nitride layers for high-performance supercapacitors. *J. Appl. Polym. Sci.* **2022**, *139*, 1–11, doi:10.1002/app.52947.
111. Xi, R.; Tang, Y.; Smith, R. L.; Liu, X.; Liu, L.; Qi, X. Selective hydrogenation of glucose to sorbitol with tannic acid-based porous carbon sphere supported Ni–Ru bimetallic catalysts. *Green Energy Environ.* **2022**, *1*, 1–9, doi:10.1016/j.gee.2022.04.003.
112. Tang, Q.; Zhou, M.; Yang, D. Preparation of uniform lignosulfonate-based colloidal spheres for UV-absorbing thermoplastics. *Int. J. Biol. Macromol.* **2022**, *219*, 663–671, doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.07.231.

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

113. Wang, F.; Li, F.; Wang, J.; Zheng, M. Synthesis of few-layer MoS<sub>2</sub>@N-doped carbon core-shell hollow spheres using a cationic surfactant as a template for highly stable lithium-ion storage. *Mater. Adv.* **2022**, *3*, 265–271, doi:10.1039/d1ma00504a.
114. Yi, Y.; Wu, S.; Luo, H.; He, L.; Yang, Y.; Xue, T.; Xu, J.; Wen, Y.; Wang, P. Soft template assisted hydrothermal synthesis of phosphorus doped porous carbon spheres with tunable microstructure as electrochemical nanozyme sensor for distinguishable detection of two flavonoids coupled with derivative voltammetry. *J. Electroanal. Chem.* **2021**, *897*, 115563, doi:10.1016/j.jelechem.2021.115563.
115. Mrinalini, M.; Prasanthkumar, S. Recent advances on stimuli-responsive smart materials and their applications. *ChemPlusChem* **2019**, *84*, 1103–1121, doi:doi.org/10.1002/cplu.201900365.
116. Levi, T.; Yosefi, G.; Bitton, R.; Rapaport, H. Macroscopic membranes self-assembled by alginate and a cationic and amphiphilic peptide for cell culture. *Polym. Adv. Technol.* **2022**, *33*, 3832–3841, doi:10.1002/pat.5657.
117. Li, J.; Li, Y.; Zhong, Z.; Fu, X.; Li, Z. One-pot self-assembly fabrication of chitosan coated hollow sphere for pH/ glutathione dual responsive drug delivery. *Colloids Surf. B. Biointerfaces* **2022**, *218*, 112773, doi:10.1016/j.colsurfb.2022.112773.
118. Manisekaran, A.; Gryan, P.; Duez, B.; Schmidt, D. F.; Lenoble, D.; Thomann, J.-S. Solvents drive self-assembly mechanisms and inherent properties of Kraft lignin nanoparticles (<50 nm). *J. Colloid Interface Sci.* **2022**, *626*, 178–192, doi:10.1016/J.JCIS.2022.06.089.
119. Cao, K. L. A.; Rahmatika, A. M.; Kitamoto, Y.; Nguyen, M. T. T.; Ogi, T. Controllable synthesis of spherical carbon particles transition from dense to hollow structure derived from Kraft lignin. *J. Colloid Interface Sci.* **2021**, *589*, 252–263, doi:10.1016/j.jcis.2020.12.077.
120. Tardy, B. L.; Richardson, J. J.; Guo, J.; Lehtonen, J.; Ago, M.; Rojas, O. J. Lignin nano- and microparticles as template for nanostructured materials: Formation of hollow metal-phenolic capsules. *Green Chem.* **2018**, *20*, 1335–1344, doi:10.1039/c8gc00064f.
121. Guo, Y.; Baldelli, A.; Singh, A.; Fathordoobady, F.; Kitts, D.; Pratap-Singh, A. Production of high loading insulin nanoparticles suitable for oral delivery by spray drying and freeze drying techniques. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 1–11, doi:10.1038/s41598-022-13092-6.
122. Sipos, B.; Csóka, I.; Ambrus, R.; Schelz, Z.; Zupkó, I.; Balogh, G. T.; Katona, G. Spray-dried indomethacin-loaded polymeric micelles for the improvement of intestinal drug release and permeability. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2022**, *174*, 106200, doi:10.1016/j.ejps.2022.106200.
123. Huang, Y.; Yan, S.; Zhang, S.; Yin, Q.; Chen, X.; Wu, W. D. Spray dried hydroxyapatite-based supraparticles with uniform and controllable size and morphology. *Colloids Surf. B. Biointerfaces* **2022**, *217*, 112610, doi:10.1016/j.colsurfb.2022.112610.
124. Hussain, F.; Chen, K.; Jaskulski, M.; Piatkowski, M.; Tsotsas, E. Experimental study of the parametric impact on size growth of maltodextrin particles in counter-current spray dryer. *Powder Technol.* **2022**, *409*, 117792–117803, doi:10.1016/j.powtec.2022.117792.
125. Vásquez-Garay, F.; Carrillo-Varela, I.; Vidal, C.; Reyes-Contreras, P.; Faccini, M.; Mendonça, R. T. A review on the lignin biopolymer and its integration in the elaboration of sustainable materials. *Sustainability* **2021**, *13*, 1–15, doi:10.3390/su13052697.
126. Klapiszewski, Ł.; Szalaty, T. J.; Kubiak, A.; Skrzypczak, A.; Dobrowolska, A.; Czaczyk, K.; Jesionowski, T. The controlled oxidation of kraft lignin in mild conditions using ionic liquid as a crucial point in fabrication of antibacterial hybrid materials. *J. Mol. Liq.* **2019**, *274*, 370–378, doi:10.1016/j.molliq.2018.10.145.
127. Pirzada, T.; Mathew, R.; Guenther, R. H.; Sit, T. L.; Opperman, C. H.; Pal, L.; Khan, S. A.

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

- Tailored lignocellulose-based biodegradable matrices with effective cargo delivery for crop protection. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2020**, *8*, 6590–6600, doi:10.1021/acssuschemeng.9b05670.
128. Sugiarto, S.; Leow, Y.; Tan, C. L.; Wang, G.; Kai, D. How far is lignin from being a biomedical material? *Bioact. Mater.* **2022**, *8*, 71–94, doi:10.1016/J.BIOACTMAT.2021.06.023.
  129. Pylypchuk, I. V.; Riazanova, A.; Lindström, M. E.; Sevastyanova, O. Structural and molecular-weight-dependency in the formation of lignin nanoparticles from fractionated soft- and hardwood lignins. *Green Chem.* **2021**, *23*, 3061–3072, doi:10.1039/d0gc04058d.
  130. Yang, Y.; Xu, J.; Zhou, J.; Wang, X. Preparation, characterization and formation mechanism of size-controlled lignin nanoparticles. *Int. J. Biol. Macromol.* **2022**, *217*, 312–320, doi:10.1016/J.IJBIOMAC.2022.07.046.
  131. Jiang, Y.; Chen, Y.; Tian, D.; Shen, F.; Wan, X.; Xu, L.; Chen, Y.; Zhang, H.; Hu, J.; Shen, F. Fabrication and characterization of lignin-xylan hybrid nanospheres as pesticide carriers with enzyme-mediated release property. *Soft Matter* **2020**, *16*, 9083–9093, doi:10.1039/d0sm01402h.
  132. Cui, Y.; Lawoko, M.; Svagan, A. J. High value use of technical lignin. Fractionated lignin enables facile synthesis of microcapsules with various shapes: Chemisphere, bowl, mini-tablets, or spheres with single holes. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2020**, *8*, 13282–13291, doi:10.1021/acssuschemeng.0c03521.
  133. Li, S. X.; Zhao, J.; Lu, P.; Xie, Y. Maximum packing densities of basic 3D objects. *Chinese Sci. Bull.* **2010**, *55*, 114–119, doi:10.1007/S11434-009-0650-0.
  134. Sipponen, M. H.; Farooq, M.; Koivisto, J.; Pellis, A.; Seitsonen, J.; Österberg, M. Spatially confined lignin nanospheres for biocatalytic ester synthesis in aqueous media. *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 2300, doi:10.1038/s41467-018-04715-6.
  135. Pourmoazzen, Z.; Sadeghifar, H.; Yang, G.; Lucia, L. Cholesterol-modified lignin: A new avenue for green nanoparticles, meltable materials, and drug delivery. *Colloids Surf. B. Biointerfaces* **2020**, *186*, 110685–110691, doi:10.1016/j.colsurfb.2019.110685.
  136. Cha, Y. L.; Alam, A. M.; Park, S. M.; Moon, Y. H.; Kim, K. S.; Lee, J. E.; Kwon, D. E.; Kang, Y. G. Hydrothermal-process-based direct extraction of polydisperse lignin microspheres from black liquor and their physicochemical characterization. *Bioresour. Technol.* **2020**, *297*, 122399–122345, doi:10.1016/j.biortech.2019.122399.
  137. Chai, Y.; Wang, Y.; Li, B.; Qi, W.; Su, R.; He, Z. Microfluidic synthesis of lignin/chitosan nanoparticles for the pH-responsive delivery of anticancer drugs. *Langmuir* **2021**, *37*, 7219–7226, doi:10.1021/acs.langmuir.1c00778.
  138. Maldonado-Carmona, N.; Ouk, T. S.; Villandier, N.; Calliste, C. A.; Calvete, M. J. F.; Pereira, M. M.; Leroy-Lhez, S. Photophysical and antibacterial properties of porphyrins encapsulated inside acetylated lignin nanoparticles. *Antibiotics* **2021**, *10*, 1–26, doi:10.3390/antibiotics10050513.
  139. Zhou, Y.; Han, Y.; Li, G.; Xiong, F.; Chu, F. Lignin-based fluorescence hollow nanoparticles: Their preparation, characterization, and encapsulation properties for doxorubicin. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *165*, 2136–2142, doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.10.092.
  140. Dai, L.; Liu, R.; Hu, L. Q.; Zou, Z. F.; Si, C. L. Lignin nanoparticle as a novel green carrier for the efficient delivery of resveratrol. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2017**, *5*, 8241–8249, doi:10.1021/acssuschemeng.7b01903.
  141. Chen, K.; Qian, Y.; Wang, C.; Yang, D.; Qiu, X.; Binks, B. P. Tumor microenvironment-

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

- responsive, high internal phase Pickering emulsions stabilized by lignin/chitosan oligosaccharide particles for synergistic cancer therapy. *J. Colloid Interface Sci.* **2021**, *591*, 352–362, doi:10.1016/j.jcis.2021.02.012.
142. Cheng, L.; Deng, B.; Luo, W.; Nie, S.; Liu, X.; Yin, Y.; Liu, S.; Wu, Z.; Zhan, P.; Zhang, L.; Chen, J. pH-Responsive lignin-based nanomicelles for oral drug delivery. *J. Agric. Food Chem.* **2020**, *68*, 5249–5258, doi:10.1021/acs.jafc.9b08171.
  143. Liu, D.; Liu, J.; Zhou, Y.; Chen, J.; Zhan, P.; Yang, G.; Wu, Z. Assembly of lignin-based colloidal particles: Effects of cationic surfactants, molecular weight, and solvent on morphology. *RSC Adv.* **2020**, *10*, 18594–18600, doi:10.1039/d0ra01444c.
  144. Wang, M.; Yang, D.; Xu, Q.; Li, P.; Yi, C.; Qian, Y.; Qiu, X. Highly efficient evaporation method to prepare pH-responsive lignin-hollow-nanosphere with controllable size and its application in oral drug delivery. *Ind. Crops Prod.* **2021**, *162*, 113230–113238, doi:10.1016/j.indcrop.2020.113230.
  145. Sargazi, S.; Hajinezhad, M. R.; Barani, M.; Rahdar, A.; Shahraki, S.; Karimi, P.; Cucchiarini, M.; Khatami, M.; Pandey, S. Synthesis, characterization, toxicity and morphology assessments of newly prepared microemulsion systems for delivery of valproic acid. *J. Mol. Liq.* **2021**, *338*, 116625–116637, doi:10.1016/j.molliq.2021.116625.
  146. Paudel, S.; Peña-Bahamonde, J.; Shakiba, S.; Astete, C. E.; Louie, S. M.; Sabliov, C. M.; Rodrigues, D. F. Prevention of infection caused by enteropathogenic *E. coli* O157:H7 in intestinal cells using enrofloxacin entrapped in polymer based nanocarriers. *J. Hazard. Mater.* **2021**, *414*, 125454–125464, doi:10.1016/j.jhazmat.2021.125454.
  147. Zhou, Y.; Han, Y.; Li, G.; Chu, F. Effects of lignin-based hollow nanoparticle structure on the loading and release behavior of doxorubicin. *Materials* **2019**, *12*, 1694, doi:10.3390/MA12101694.
  148. Etman, S. M.; Abdallah, O. Y.; Mehanna, R. A.; Elnaggar, Y. S. R. Lactoferrin/hyaluronic acid double-coated lignosulfonate nanoparticles of quinacrine as a controlled release biodegradable nanomedicine targeting pancreatic cancer. *Int. J. Pharm.* **2020**, *578*, 119097–119102, doi:10.1016/j.ijpharm.2020.119097.
  149. Rahdar, A.; Sargazi, S.; Barani, M.; Shahraki, S.; Sabir, F.; Aboudzadeh, M. A. Lignin-stabilized doxorubicin microemulsions: Synthesis, physical characterization, and in vitro assessments. *Polymers* **2021**, *13*, 641, doi:10.3390/polym13040641.
  150. Zhou, Y.; Han, Y.; Li, G.; Yang, S.; Xiong, F.; Chu, F. Preparation of targeted lignin-based hollow nanoparticles for the delivery of doxorubicin. *Nanomaterials* **2019**, *9*, 188, doi:10.3390/nano9020188.
  151. Yang, Y.; Wang, T.; Guan, J.; Wang, J.; Chen, J.; Liu, X.; Qian, J.; Xu, X.; Qu, W.; Huang, Z.; Zhan, C. Oral delivery of honokiol microparticles for nonrapid eye movement sleep. *Mol. Pharm.* **2019**, *16*, 737–743, doi:10.1021/acs.molpharmaceut.8b01016.
  152. Ndaba, B.; Roopnarain, A.; Daramola, M. O.; Adeleke, R. Influence of extraction methods on antimicrobial activities of lignin-based materials: A review. *Sustain. Chem. Pharm.* **2020**, *18*, 100342, doi:10.1016/J.SCP.2020.100342.
  153. Low, L. E.; Teh, K. C.; Siva, S. P.; Chew, I. M. L.; Mwangi, W. W.; Chew, C. L.; Goh, B. H.; Chan, E. S.; Tey, B. T. Lignin nanoparticles: The next green nanoreinforcer with wide opportunity. *Environ. Nanotechnology, Monit. Manag.* **2021**, *15*, 100398, doi:10.1016/J.ENMM.2020.100398.
  154. de Sousa Nascimento, L.; da Mata Vieira, F. I. D.; Horácio, V.; Marques, F. P.; Rosa, M. F.; Souza, S. A.; de Freitas, R. M.; Uchoa, D. E. A.; Mazzeto, S. E.; Lomonaco, D.; Avelino, F. Tailored organosolv banana peels lignins: Improved thermal, antioxidant and antimicrobial

- performances by controlling process parameters. *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, *181*, 241–252, doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.03.156.
155. Chaubey, A.; Aadil, K. R.; Jha, H. Synthesis and characterization of lignin-poly lactic acid film as active food packaging material. *Mater. Technol.* **2021**, *36*, 585–593, doi:10.1080/10667857.2020.1782060.
156. Kaur, R.; Thakur, N. S.; Chandna, S.; Bhaumik, J. Development of agri-biomass based lignin derived zinc oxide nanocomposites as promising UV protectant-cum-antimicrobial agents. *J. Mater. Chem. B* **2020**, *8*, 260–269, doi:10.1039/c9tb01569h.
157. Yun, J.; Wei, L.; Li, W.; Gong, D.; Qin, H.; Feng, X.; Li, G.; Ling, Z.; Wang, P.; Yin, B. Isolating high antimicrobial ability lignin from bamboo kraft lignin by organosolv fractionation. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2021**, *9*, 1–11, doi:10.3389/fbioe.2021.683796.
158. Maldonado-Carmona, N.; Marchand, G.; Villandier, N.; Ouk, T. S.; Pereira, M. M.; Calvete, M. J. F.; Calliste, C. A.; Žak, A.; Piksa, M.; Pawlik, K. J.; Matczyszyn, K.; Leroy-Lhez, S. Porphyrin-loaded lignin nanoparticles against bacteria: A photodynamic antimicrobial chemotherapy application. *Front. Microbiol.* **2020**, *11*, 1–17, doi:10.3389/fmicb.2020.606185.
159. Wang, Y.; Li, Z.; Yang, D.; Qiu, X.; Xie, Y.; Zhang, X. Microwave-mediated fabrication of silver nanoparticles incorporated lignin-based composites with enhanced antibacterial activity via electrostatic capture effect. *J. Colloid Interface Sci.* **2021**, *583*, 80–88, doi:10.1016/j.jcis.2020.09.027.
160. Lizundia, E.; Armentano, I.; Luzi, F.; Bertoglio, F.; Restivo, E.; Visai, L.; Torre, L.; Puglia, D. Synergic effect of nanolignin and metal oxide nanoparticles into poly(L-lactide) bionanocomposites: Material properties, antioxidant activity, and antibacterial performance. *ACS Appl. Bio Mater.* **2020**, *3*, 5263–5274, doi:10.1021/acsabm.0c00637.
161. Jose, L. M.; Kuriakose, S.; Thomas, S. Fabrication, characterization and *in vitro* antifungal property evaluation of biocompatible lignin-stabilized zinc oxide nanoparticles against selected pathogenic fungal strains. *Bionanoscience* **2020**, *10*, 583–596, doi:10.1007/s12668-020-00748-8.
162. Marchand, G.; Fabre, G.; Maldonado-Carmona, N.; Villandier, N.; Leroy-Lhez, S. Acetylated lignin nanoparticles as a possible vehicle for photosensitizing molecules. *Nanoscale Adv.* **2020**, *2*, 5648–5658, doi:10.1039/d0na00615g.
163. Yallappa, S.; Deepthi, D. R.; Yashaswini, S.; Hamsanandini, R.; Chandraprasad, M.; Ashok Kumar, S.; Hegde, G. Natural biowaste of *Groundnut* shell derived nano carbons: Synthesis, characterization and its *in vitro* antibacterial activity. *Nano-Structures and Nano-Objects* **2017**, *12*, 84–90, doi:10.1016/j.nanoso.2017.09.009.
164. Chandna, S.; Thakur, N. S.; Kaur, R.; Bhaumik, J. Lignin-bimetallic nanoconjugate doped pH-responsive hydrogels for laser-assisted antimicrobial photodynamic therapy. *Biomacromolecules* **2020**, *21*, 3216–3230, doi:10.1021/acs.biomac.0c00695.
165. Pang, Y.; Qin, Z.; Wang, S.; Yi, C.; Zhou, M.; Lou, H.; Qiu, X. Preparation and application performance of lignin-polyurea composite microcapsule with controlled release of avermectin. *Colloid Polym. Sci.* **2020**, *298*, 1001–1012, doi:10.1007/s00396-020-04664-x.
166. Abudula, T.; Colombani, T.; Alade, T.; Bencherif, S. A.; Memić, A. Injectable lignin-co-gelatin cryogels with antioxidant and antibacterial properties for biomedical applications. *Biomacromolecules* **2021**, *22*, 4110–4121, doi:10.1021/acs.biomac.1c00575.
167. Xu, J.; Xu, J. J.; Lin, Q.; Jiang, L.; Zhang, D.; Li, Z.; Ma, B.; Zhang, C.; Li, L.; Kai, D.; Yu, H. D.; Loh, X. J. Lignin-incorporated nanogel serving as an antioxidant biomaterial for wound healing. *ACS Appl. Bio Mater.* **2021**, *4*, 3–13, doi:10.1021/acsabm.0c00858.

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

168. Alqahtani, M. S.; Alqahtani, A.; Kazi, M.; Ahmad, M. Z.; Alahmari, A.; Alsenaidy, M. A.; Syed, R. Wound-healing potential of curcumin loaded lignin nanoparticles. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2020**, *60*, 102020–102031, doi:10.1016/j.jddst.2020.102020.
169. Oeyen, M.; Noppen, S.; Vanhulle, E.; Claes, S.; Myrvold, B. O.; Vermeire, K.; Schols, D. A unique class of lignin derivatives displays broad anti-HIV activity by interacting with the viral envelope. *Virus Res.* **2019**, *274*, 197760, doi:10.1016/j.virusres.2019.197760.
170. Srisapoom, P.; Hamano, K.; Tsutsui, I.; Iiyama, K. Immunostimulation and yellow head virus (YHV) disease resistance induced by a lignin-based pulping by-product in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Linn.). *Fish Shellfish Immunol.* **2018**, *72*, 494–501, doi:10.1016/j.fsi.2017.11.037.
171. Alqahtani, M. S.; Kazi, M.; Ahmad, M. Z.; Syed, R.; Alsenaidy, M. A.; Albraiki, S. A. Lignin nanoparticles as a promising vaccine adjuvant and delivery system for ovalbumin. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *163*, 1314–1322, doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.07.026.
172. Rivière, G. N.; Korpi, A.; Sipponen, M. H.; Zou, T.; Kostianen, M. A.; Österberg, M. Agglomeration of viruses by cationic lignin particles for facilitated water purification. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2020**, *8*, 4167–4177, doi:10.1021/acssuschemeng.9b06915.
173. Ahsan, M. A.; Jabbari, V.; Islam, M. T.; Kim, H.; Hernandez-Viezcas, J. A.; Lin, Y.; Díaz-Moreno, C. A.; Lopez, J.; Gardea-Torresdey, J.; Noveron, J. C. Green synthesis of a highly efficient biosorbent for organic, pharmaceutical, and heavy metal pollutants removal: Engineering surface chemistry of polymeric biomass of spent coffee waste. *J. Water Process Eng.* **2018**, *25*, 309–319, doi:10.1016/j.jwpe.2018.08.005.
174. Jin, Y.; Zeng, C.; Lü, Q. F.; Yu, Y. Efficient adsorption of methylene blue and lead ions in aqueous solutions by 5-sulfosalicylic acid modified lignin. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *123*, 50–58, doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.10.213.
175. Laurichesse, S.; Avérous, L. Chemical modification of lignins: Towards biobased polymers. *Prog. Polym. Sci.* **2014**, *39*, 1266–1290, doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.11.004.
176. Ge, Y.; Qin, L.; Li, Z. Lignin microspheres: An effective and recyclable natural polymer-based adsorbent for lead ion removal. *Mater. Des.* **2016**, *95*, 141–147, doi:10.1016/j.matdes.2016.01.102.
177. Kim, J.-C.; Kim, J.; Park, J.; Oh, J.-K.; Choi, I.-G.; Kwak, H. W. Highly efficient and sustainable alginate/carboxylated lignin hybrid beads as adsorbent for cationic dye removal. *React. Funct. Polym.* **2021**, *161*, 104839, doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2021.104839.
178. Albadarin, A. B.; Collins, M. N.; Naushad, M.; Shirazian, S.; Walker, G. M.; Mangwandi, C. Activated lignin – chitosan extruded blends for efficient adsorption of methylene blue. *Chem. Eng. J.* **2016**, *307*, 264–275, doi:https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.08.089.
179. Kwak, H. W.; Lee, H.; Lee, K. H. Surface-modified spherical lignin particles with superior Cr(VI) removal efficiency. *Chemosphere* **2020**, *239*, 124733, doi:10.1016/j.chemosphere.2019.124733.
180. Xie, B.; Hou, Y.; Li, Y. Modified lignin nanosphere adsorbent for lead and copper ions. *BioResources* **2021**, *16*, 249–262, doi:10.15376/biores.16.1.249-262.
181. Luo, X.; Liu, C.; Yuan, J.; Zhu, X.; Liu, S. Interfacial solid-phase chemical modification with mannich reaction and Fe(III) chelation for designing lignin-based spherical nanoparticle adsorbents for highly efficient removal of low concentration phosphate from water. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2017**, *5*, 6539–6547, doi:10.1021/acssuschemeng.7b00674.
182. Lee, S. J.; Begildayeva, T.; Yeon, S.; Naik, S. S.; Ryu, H.; Kim, T. H.; Choi, M. Y. Eco-friendly synthesis of lignin mediated silver nanoparticles as a selective sensor and their

- catalytic removal of aromatic toxic nitro compounds. *Environ. Pollut.* **2021**, *269*, 116174–116182, doi:10.1016/j.envpol.2020.116174.
183. Champion, J. A.; Katare, Y. K.; Mitragotri, S. Particle shape: A new design parameter for micro- and nanoscale drug delivery carriers. *J. Control. Release* **2007**, *121*, 3–9, doi:10.1016/j.jconrel.2007.03.022.
184. Wang, H.; Zhao, L.; Song, G.; Tang, G.; Shi, X. Organic-inorganic hybrid shell microencapsulated phase change materials prepared from SiO<sub>2</sub>/TiC-stabilized pickering emulsion polymerization. *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* **2018**, *175*, 102–110, doi:10.1016/j.solmat.2017.09.015.
185. Sipponen, M. H.; Lange, H.; Ago, M.; Crestini, C. Understanding lignin aggregation processes. A case study: Budesonide entrapment and stimuli controlled release from lignin nanoparticles. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2018**, *6*, 9342–9351, doi:10.1021/acssuschemeng.8b01652.
186. Österberg, M.; Sipponen, M. H.; Mattos, B. D.; Rojas, O. J. Spherical lignin particles: A review on their sustainability and applications. *Green Chem.* **2020**, *22*, 2712–2733, doi:10.1039/d0gc00096e.
187. Zhao, D.; Yang, N.; Xu, L.; Du, J.; Yang, Y.; Wang, D. Hollow structures as drug carriers: Recognition, response, and release. *Nano Res.* **2021**, *15*, 739–757, doi:10.1007/S12274-021-3595-5.
188. Qomariyah, L.; Widiyastuti, W.; Winardi, S. Effect of colloidal properties on the particle characteristics in the flame-assisted spray-drying process. *Chem. Pap.* **2020**, *74*, 285–296, doi:10.1007/s11696-019-00878-8.
189. Jahan, R.; Bodratti, A. M.; Tsianou, M.; Alexandridis, P. Biosurfactants, natural alternatives to synthetic surfactants: Physicochemical properties and applications. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2020**, *275*, 102061–102083, doi:10.1016/j.cis.2019.102061.
190. De, S.; Malik, S.; Ghosh, A.; Saha, R.; Saha, B. A review on natural surfactants. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 65757–65767, doi:10.1039/c5ra11101c.
191. Huang, D.; Li, R.; Xu, P.; Li, T.; Deng, R.; Chen, S.; Zhang, Q. The cornerstone of realizing lignin value-addition: Exploiting the native structure and properties of lignin by extraction methods. *Chem. Eng. J.* **2020**, *402*, 126237–126261, doi:10.1016/j.cej.2020.126237.
192. Liu, C.; Li, Y.; Hou, Y. A simple environment-friendly process for preparing high-concentration alkali lignin nanospheres. *Eur. Polym. J.* **2019**, *112*, 15–23, doi:10.1016/j.eurpolymj.2018.12.031.
193. Yan, Z.; Liao, G.; Zou, X.; Zhao, M.; Wu, T.; Chen, Y.; Fang, G. Size-controlled and super long-term stable lignin nanospheres through a facile self-assembly strategy from kraft lignin. *J. Agric. Food Chem.* **2020**, *68*, 8341–8349, doi:10.1021/ACS.JAFC.0C01262/SUPPL\_FILE/JF0C01262\_SI\_001.PDF.
194. Guo, Y.; Xu, L.; Shen, F.; Hu, J.; Huang, M.; He, J.; Zhang, Y.; Deng, S.; Li, Q.; Tian, D. Insights into lignocellulosic waste fractionation for lignin nanospheres fabrication using acidic/alkaline deep eutectic solvents. *Chemosphere* **2022**, *286*, 131798, doi:10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.131798.
195. Azimvand, J.; Didehban, K.; Mirshokrai, S. A. Preparation and characterization of lignin polymeric nanoparticles using the green solvent ethylene glycol: Acid precipitation technology. *BioResources* **2018**, *13*, 2887–2897, doi:10.15376/BIORES.13.2.2887-2897.
196. Ma, Q.; Chen, L.; Wang, R.; Yang, R.; Zhu, J. Y. Direct production of lignin nanoparticles (LNPs) from wood using *p*-toluenesulfonic acid in an aqueous system at 80 °C:

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

- Characterization of LNP morphology, size, and surface charge. *Holzforschung* **2018**, *72*, 933–942, doi:10.1515/HF-2018-0033.
197. Pang, T.; Wang, G.; Ge, J.; Wei, N.; Sui, W.; Parvez, A. M.; Si, C. Novel surfactant-assisted hydrothermal fabrication of a lignin microsphere as a green reducer and carrier for Pd nanoparticles. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2021**, *9*, 17085–17095, doi:10.1021/acssuschemeng.1c06170.
  198. Gaboy, K.; Oja, T.; Deguchi, T.; Fallarero, A.; Fardim, P. Preparation, characterization and antimicrobial application of hybrid cellulose-lignin beads. *Cellulose* **2017**, *24*, 641–658, doi:10.1007/s10570-016-1172-y.
  199. Nielsen, L. H.; Rades, T.; Boyd, B.; Boisen, A. Microcontainers as an oral delivery system for spray dried cubosomes containing ovalbumin. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2017**, *118*, 13–20, doi:10.1016/j.ejpb.2016.12.008.
  200. Johnson, B. T. Microtox® acute toxicity test. In *Small-Scale Freshwater Toxicity Investigations: Volume 1 - Toxicity Test Methods*; Blaise, C., Férard, J.-F., Eds.; Springer, Dordrecht, 2005; pp. 69–105, ISBN 140203119X.
  201. Tran, J.; Gervase, M. A.; Evans, J.; Deville, R.; Dong, X. The stability of quetiapine oral suspension compounded from commercially available tablets. *PLoS One* **2021**, *16*, 1–12, doi:10.1371/journal.pone.0255963.
  202. Zhang, X.; Guan, G.; Wang, Z.; Lv, L.; Chávez-Madero, C.; Chen, M.; Yan, Z.; Yan, S.; Wang, L.; Li, Q. Drug release evaluation of Paclitaxel/Poly-L-Lactic acid nanoparticles based on a microfluidic chip. *Biomed. Microdevices* **2021**, *23*, 56–69, doi:10.1007/s10544-021-00596-7.
  203. Zhou, Y.; Han, Y.; Li, G.; Yang, S.; Chu, F. Lignin-based hollow nanoparticles for controlled drug delivery: Grafting preparation using  $\beta$ -cyclodextrin/enzymatic-hydrolysis lignin. *Nanomaterials* **2019**, *9*, 997, doi:10.3390/nano9070997.
  204. Zhou, M.; Wang, D.; Peng, R.; Yang, D.; Qiu, X.; Qian, Y. Synthesis of a hindered amine-grafted lignin-based emulsifier and its application in a green emulsifiable concentrate. *J. Agric. Food Chem.* **2019**, *67*, 11129–11136, doi:10.1021/acs.jafc.9b02970.
  205. Freire, M. C. L. C.; Alexandrino, F.; Marcelino, H. R.; Picciani, P. H. de S.; e Silva, K. G. de H.; Genre, J.; de Oliveira, A. G.; do Egito, E. S. T. Understanding drug release data through thermodynamic analysis. *Materials* **2017**, *10*, 651, doi:10.3390/ma10060651.
  206. Wójcik-Pastuszka, D.; Krzak, J.; Macikowski, B.; Berkowski, R.; Osiński, B.; Musiał, W. Evaluation of the release kinetics of a pharmacologically active substance from model intra-articular implants replacing the cruciate ligaments of the knee. *Materials* **2019**, *12*, 1202, doi:10.3390/ma12081202.
  207. Mishra, D.; Nagpal, K.; Singh, S.; Mathur, V. Comparative release profile of sustained release matrix tablets of verapamil HCl. *Int. J. Pharm. Investig.* **2013**, *3*, 60–66, doi:10.4103/2230-973x.108965.
  208. Jalali, F.; Fakhar, J.; Zolfaghari, A. Investigation on biosorption of V(III), Ti(IV), and U(VI) ions from a contaminated effluent by a newly isolated strain of *Galdieria sulphuraria*. *Sep. Sci. Technol.* **2019**, *54*, 2222–2239, doi:10.1080/01496395.2018.1543323.
  209. Zhang, L.; Liu, X.; Xia, W.; Zhang, W. Preparation and characterization of chitosan-zirconium(IV) composite for adsorption of vanadium(V). *Int. J. Biol. Macromol.* **2014**, *64*, 155–161, doi:10.1016/j.ijbiomac.2013.11.040.
  210. Daniel, A. B.; Zahir, E.; Asghar, M. A. Remediation of vanadium (V) and chromium (III) ions from aqueous media by modified nanocellulose obtained from coconut coir. *J.*



- Macromol. Sci. Part B Phys.* **2021**, *60*, 1–21, doi:10.1080/00222348.2020.1870300.
211. Li, J.; Wang, B.; Chen, K.; Tian, X.; Zeng, J.; Xu, J.; Gao, W. The use of lignin as cross-linker for polyurethane foam for potential application in adsorbing materials. *BioResources* **2017**, *12*, 8653–8671, doi:10.15376/biores.12.4.8653-8671.
  212. Kołodyńska, D.; Araucz, K. New titanium oxide sorbent for As(V) and Cr(VI) removal as well as La(III) and Nd(III) recovery. *J. Mol. Liq.* **2020**, *315*, 113720–113732, doi:10.1016/j.molliq.2020.113720.
  213. Mthombeni, N. H.; Mbakop, S.; Ochieng, A.; Onyango, M. S. Vanadium (V) adsorption isotherms and kinetics using polypyrrole coated magnetized natural zeolite. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2016**, *66*, 172–180, doi:10.1016/j.jtice.2016.06.016.
  214. Wołowicz, A.; Hubicki, Z. Vanadium(V) removal from aqueous solutions and real wastewaters onto anion exchangers and lewatit AF5. *Molecules* **2022**, *27*, 5432, doi:10.3390/molecules27175432.
  215. Yu, Y.; Liu, M.; Yang, J. Characteristics of vanadium adsorption on and desorption from humic acid. *Chem. Ecol.* **2018**, *34*, 548–564, doi:10.1080/02757540.2018.1452915.
  216. Salehi, S.; Anbia, M. Performance comparison of chitosan–clinoptilolite nanocomposites as adsorbents for vanadium in aqueous media. *Cellulose* **2019**, *26*, 5321–5345, doi:10.1007/s10570-019-02450-9.
  217. Sharifi-Bonab, M.; Arjomandi Rad, F.; Talat Mehrabad, J. Preparation of laccase-graphene oxide nanosheet/alginate composite: Application for the removal of cetirizine from aqueous solution. *J. Environ. Chem. Eng.* **2016**, *4*, 3013–3020, doi:10.1016/j.jece.2016.06.012.
  218. Singh, C.; Chaudhary, R.; Gandhi, K. Preliminary study on optimization of pH, oxidant and catalyst dose for high COD content: Solar parabolic trough collector. *Iran. J. Environ. Heal. Sci. Eng.* **2013**, *10*, 1–10, doi:10.1186/1735-2746-10-13.
  219. Żółtowska-Aksamitowska, S.; Bartczak, P.; Zembrzuska, J.; Jesionowski, T. Removal of hazardous non-steroidal anti-inflammatory drugs from aqueous solutions by biosorbent based on chitin and lignin. *Sci. Total Environ.* **2018**, *612*, 1223–1233, doi:10.1016/j.scitotenv.2017.09.037.
  220. Camiré, A.; Espinasse, J.; Chabot, B.; Lajeunesse, A. Development of electrospun lignin nanofibers for the adsorption of pharmaceutical contaminants in wastewater. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2020**, *27*, 3560–3573, doi:10.1007/s11356-018-3333-z.
  221. Winotapun, C.; Hararak, B.; Treetong, A.; Chaloeijitkul, K.; Sane, A. Self-assembly of colloidal lignin nanosphere particles blended with chitosan composite coated bagasse paper: An eco-friendly food packaging with antimicrobial properties. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **2022**, *655*, 130207–130219, doi:10.1016/j.colsurfa.2022.130207.
  222. Zou, Z.; Ismail, B. B.; Zhang, X.; Yang, Z.; Liu, D.; Guo, M. Improving barrier and antibacterial properties of chitosan composite films by incorporating lignin nanoparticles and acylated soy protein isolate nanogel. *Food Hydrocoll.* **2022**, *134*, 108091–108105, doi:10.1016/j.foodhyd.2022.108091.
  223. Huang, L.; Chen, R.; Luo, J.; Hasan, M.; Shu, X. Synthesis of phytonic silver nanoparticles as bacterial and ATP energy silencer. *J. Inorg. Biochem.* **2022**, *231*, 111802, doi:10.1016/j.jinorgbio.2022.111802.
  224. Qin, Z.; Feng, N.; Li, Y.; Fei, X.; Tian, J.; Xu, L.; Wang, Y. Hydrogen-bonded lipase-hydrogel microspheres for esterification application. *J. Colloid Interface Sci.* **2022**, *606*, 1229–1238, doi:10.1016/J.JCIS.2021.08.147.

**Nano- i mikrostruktury z udziałem biopolimerów:  
otrzymywanie, charakterystyka i praktyczne zastosowanie**

225. Lu, J.; Li, Y.; Zhu, H.; Shi, G. SiO<sub>2</sub>-coated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>Nanoparticle/polyacrylonitrile beads for one-step lipase immobilization. *ACS Appl. Nano Mater.* **2021**, *4*, 7856–7869, doi:10.1021/ACSANM.1C01181/SUPPL\_FILE/AN1C01181\_SI\_001.PDF.
226. Tomke, P. D.; Rathod, V. K. A novel step towards immobilization of biocatalyst using agro waste and its application for ester synthesis. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *117*, 366–376, doi:10.1016/J.IJBIOMAC.2018.05.005.

## 8. Kopie artykułów naukowych stanowiących podstawę dysertacji doktorskiej

### Publikacja D1

M. Stanisław, Ł. Kłapiszewski, T. Jesionowski

**Recent advances in the fabrication and application of biopolymer-based micro- and nanostructures: A comprehensive review**

*Chemical Engineering Journal*, 2020, 397, 125409

IF (2020): 13,273; IF 5-letni: 14,610; MEN: 200

## Publikacja D2

M. Stanisz, Ł. Kłapiszewski, D. T. Młynarczyk, B. J. Stanisz, T. Jesionowski

**Lignin-based spherical structures and their use for improvement of cilazapril  
stability in solid state**

*Molecules*, 2020, 25(14), 3150

IF (2020): 4,411, IF 5-letni: 5,110: MEN: 140

## **Publikacja D3**

**M. Stanisz, Ł. Kłapiszewski, D. Moszyński, B. J. Stanisz, T. Jesionowski**

**Evaluation of cilazapril release profiles with the use of lignin-based spherical particles**

*Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2022, 75, 103636

IF (2021): 5,062; IF 5-letni: 4,624 MEN: 70

## Publikacja D4

M. Stanisław, Ł. Kłapiszewski, D. Kołodyńska, T. Jesionowski

**Development of functional lignin-based spherical particles for the removal of vanadium(V) from an aqueous system**

*International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 186, 181–193

IF (2021): 8,025; IF 5-letni: 7,626; MEN: 100

## **Publikacja D5**

**M. Stanisz, W. Smulek, K. Popielski, Ł. Klapiszewski, E. Kaczorek, T. Jesionowski**

**Sustainable design of lignin-based spherical particles with the use of green surfactants  
and its application as sorbents in wastewater treatment**

*Chemical Engineering Research and Design*, 2021, 172, 34–42

IF (2021): 4,119; IF 5-letni: 4,060; MEN: 140

## Publikacja D6

M. Stanisław, Ł. Kłapiszewski, A. Dobrowolska, A. Piasecki, K. Czaczyk, T. Jesionowski

**The practical utility of imidazolium hydrogen sulfate ionic liquid in fabrication of lignin-based spheres: Structure characteristic and antibacterial activity**

*Frontiers in Chemistry*, 2022, 10, 946665

IF (2021): 5,545; IF 5-letni: 5,869; MEN: 100



## **Publikacja D7**

**M. Stanisz, K. Bachosz, K. Siwińska-Ciesielczyk, Ł. Kłapiszewski, J. Zdarta,  
T. Jesionowski**

**Tailoring lignin-based spherical particles as a support for lipase immobilization**

*Catalysts*, 2022, 12(9), 1031

IF (2021): 4,501; IF 5-letni: 4,641; MEN: 100

## **Publikacja D8**

**M. Stanisz, Ł. Kłapiszewski, M. N. Collins, T. Jesionowski**

**Recent progress in biomedical and biotechnological applications of lignin-based spherical nano- and microstructures: A comprehensive review**

*Materials Today Chemistry*, 2022, 26, 101198

IF (2021): 7,613; IF 5-letni: 7,916; MEN: 70

## **9. Oświadczenia współautorów**



mgr inż. Małgorzata Stanisz  
Wydział Technologii Chemicznej  
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej  
Zakład Technologii i Inżynierii Chemicznej  
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań  
tel. +48 61 665 3748  
e-mail: malgorzata.m.stanisz@doctorate.put.poznan.pl

Poznań, 05.12.2022 r.

### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że jestem wiodącym autorem zaprezentowanych poniżej publikacji naukowych:

1. **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, T. Jesionowski, Recent advances in the fabrication and application of biopolymer-based micro- and nanostructures: A comprehensive review, Chemical Engineering Journal, 2020, 397, 125409.

Mój udział polegał na zaplanowaniu całej pracy, przeprowadzeniu przeglądu dostępnej literatury, napisaniu publikacji oraz wykonaniu odpowiedzi do recenzentów.

2. **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, D. T. Młynarczyk, B. J. Stanisz, T. Jesionowski, Lignin-based spherical structures and their use for improvement of cilazapril stability in solid state, Molecules, 2020, 25(14), 3150.

Mój udział w przygotowaniu publikacji naukowej polegał na zaplanowaniu procesu syntezy, otrzymaniu produktu, dobraniu najlepszych parametrów syntezy oraz przeprowadzeniu charakterystyki sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft, a finalnie napisaniu publikacji oraz wspomaganiu procesu redakcyjnego.

3. **M. Stanisz**, Ł. Kłapiszewski, D. Moszyński, B. J. Stanisz, T. Jesionowski, Evaluation of cilazapril release profiles with the use of lignin-based spherical particles, Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2022, 75, 103636.

Mój udział w przygotowaniu publikacji naukowej polegał na otrzymaniu oraz przeanalizowaniu nośnika z udziałem ligniny, przygotowaniu oraz scharakteryzowaniu otrzymanych emulsji,

wykonaniu koniecznych obliczeń, napisaniu publikacji oraz przeprowadzeniu dyskusji z recenzentami.

4. **M. Stanisz**, Ł. Klapiszewski, D. Kołodyńska, T. Jesionowski, Development of functional lignin-based spherical particles for the removal of vanadium(V) from an aqueous system, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 186, 181–193.

Mój udział podczas przygotowania publikacji polegał na zsyntezowaniu oraz sporządzeniu charakterystyki materiału, przygotowaniu pierwotnej wersji artykułu, a także na wykonaniu odpowiedzi dla recenzentów na ich uwagi w cyklu publikacyjnym.

5. **M. Stanisz**, W. Smulek, K. Popielski, Ł. Klapiszewski, E. Kaczorek, T. Jesionowski, Sustainable design of lignin-based spherical particles with the use of green surfactants and its application as sorbents in wastewater treatment, *Chemical Engineering Research and Design*, 2021, 172, 34–42.

Mój udział podczas przygotowania publikacji polegał na zaplanowaniu badań, zsyntezowaniu produktów oraz wykonaniu charakterystyki wszystkich układów. Dodatkowo, współuczestniczyłam w przeprowadzeniu proces sorpcji, a także w napisaniu artykułu oraz zredagowaniu odpowiedzi do recenzentów.

6. **M. Stanisz**, Ł. Klapiszewski, A. Dobrowolska, A. Piasecki, K. Czaczyk, T. Jesionowski, The practical utility of imidazolium hydrogen sulfate ionic liquid in fabrication of lignin-based spheres: Structure characteristic and antibacterial activity, *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10, 946665.

Mój udział podczas przygotowania pracy polegał na zaplanowaniu badań, zsyntezowaniu oraz wykonaniu charakterystyki sferycznych struktur otrzymanych z ligniną kraft i wodorosiarczanowymi cieczami jonowymi, Dodatkowo, współuczestniczyłam w przeprowadzeniu badań przeciwbakteryjnych, w napisaniu artykułu oraz odpowiedzi do recenzentów.

7. **M. Stanisz**, K. Bachosz, K. Siwińska-Cieselczyk, Ł. Klapiszewski, J. Zdarta, T. Jesionowski, Tailoring lignin-based spherical particles as a support for lipase immobilization, *Catalysts*, 2022, 12(9), 1031.

Mój udział podczas przygotowania pracy polegał na zaplanowaniu syntezy sferycznych cząstek, doborze najlepszych parametrów procesowych oraz przeprowadzeniu charakterystyki fizykochemicznej i mikrostrukturalnej materiałów. Dodatkowo, współuczestniczyłam w przeprowadzeniu procesu immobilizacji, wykonaniu analizy wyników oraz napisaniu manuskryptu.

8. **M. Stanis**, Ł. Kłapiszewski, M. N. Collins, T. Jesionowski, Recent progress in biomedical and biotechnological applications of lignin-based spherical nano- and microstructures: A comprehensive review, *Materials Today Chemistry*, 2022, 26, 101198.

Mój udział podczas przygotowania pracy przeglądowej polegał na zaproponowaniu obszaru pracy, napisaniu jej oraz uczestniczeniu w procesie publikacyjnym.

Magdalena Stanis





---

## POLITECHNIKA POZNAŃSKA

---

prof. dr hab. inż. Teofil Jesionowski  
Członek korespondent PAN  
Wydział Technologii Chemicznej  
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej  
Zakład Technologii Chemicznej  
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań  
tel. +48 61 665 3720  
e-mail: teofil.jesionowski@put.poznan.pl

Poznań, 05.12.2022 r.

### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że brałem czynny udział w przygotowaniu zaprezentowanych poniżej publikacji:

1. M. Stanisz, Ł. Kłapiszewski, **T. Jesionowski**, Recent advances in the fabrication and application of biopolymer-based micro- and nanostructures: A comprehensive review, *Chemical Engineering Journal*, 2020, 397, 125409.
2. M. Stanisz, Ł. Kłapiszewski, D. T. Młynarczyk, B. J. Stanisz, **T. Jesionowski**, Lignin-based spherical structures and their use for improvement of cilazapril stability in solid state, *Molecules*, 2020, 25(14), 3150.
3. M. Stanisz, Ł. Kłapiszewski, D. Moszyński, B. J. Stanisz, **T. Jesionowski**, Evaluation of cilazapril release profiles with the use of lignin-based spherical particles, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2022, 75, 103636.
4. M. Stanisz, Ł. Kłapiszewski, D. Kołodyńska, **T. Jesionowski**, Development of functional lignin-based spherical particles for the removal of vanadium(V) from an aqueous system, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 186, 181–193.
5. M. Stanisz, W. Smulek, K. Popielski, Ł. Kłapiszewski, E. Kaczorek, **T. Jesionowski**, Sustainable design of lignin-based spherical particles with the use of green surfactants and its application as sorbents in wastewater treatment, *Chemical Engineering Research and Design*, 2021, 172, 34–42.
6. M. Stanisz, Ł. Kłapiszewski, A. Dobrowolska, A. Piasecki, K. Czaczyk, **T. Jesionowski**, The practical utility of imidazolium hydrogen sulfate ionic liquid in fabrication of lignin-based spheres: Structure characteristic and antibacterial activity, *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10, 946665.

7. M. Stanisz, K. Bachosz, K. Siwińska-Ciesielczyk, Ł. Klapiszewski, J. Zdarta, **T. Jesionowski**, Tailoring lignin-based spherical particles as a support for lipase immobilization, *Catalysts*, 2022, 12(9), 1031.
8. M. Stanisz, Ł. Klapiszewski, M. N. Collins, **T. Jesionowski**, Recent progress in biomedical and biotechnological applications of lignin-based spherical nano- and microstructures: A comprehensive review, *Materials Today Chemistry*, 2022, 26, 101198.

Mój udział w przygotowaniu wyszczególnionych artykułów polegał na pomocy podczas opracowywania koncepcji badań, nadzorze merytorycznym oraz ostatecznym sprawdzeniu publikacji. W pracach tych, jako promotor Doktorantki, pełniłem funkcję autora korespondencyjnego.







---

## POLITECHNIKA POZNAŃSKA

---

mgr inż. Karolina Bachosz  
Zakład Technologii Chemicznej  
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej  
Wydział Technologii Chemicznej  
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań  
tel. +48 61 665 3747  
e-mail: karolina.h.bachosz@doctorate.put.poznan.pl

Poznań, 30.11.2022 r.

### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że mój udział w pracy: M. Stanisławski, **K. Bachosz**, K. Siwińska-Ciesielczyk, Ł. Kłapiszewski, J. Zdzarta, T. Jesionowski, Tailoring lignin-based spherical particles as a support for lipase immobilization, Catalysts, 2022, 12(9), 1031, obejmował pomoc w zaplanowaniu oraz przeprowadzeniu badań immobilizacji lipazy z zastosowaniem sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft, analizę otrzymanych wyników oraz edycję wstępnej wersji artykułu.

*Karolina Bachosz*

Limerick, 05th of December 2022

**STATEMENT OF CO-AUTORSHIP**

I confirm the participation in the following publication: M. Stanisz, Ł. Klapiszewski, **M. N. Collins**, T. Jesionowski, Recent progress in biomedical and biotechnological applications of lignin-based spherical nano- and microstructures: A comprehensive review, *Materials Today Chemistry*, 2022, 26, 101198, which included coordination and the critical reviewing of the manuscript.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Marie N. Collins". The signature is written in a cursive style with a period at the end.



Poznań, 05.12.2022 r.

## OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że mój udział w pracy: M. Stanisławski, Ł. Kłapiszewski, A. Dobrowolska, A. Piasecki, **K. Czaczyk**, T. Jesionowski, The practical utility of imidazolium hydrogen sulfate ionic liquid in fabrication of lignin-based spheres: Structure characteristic and antibacterial activity, *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10, 946665, obejmował zaplanowanie oraz przeprowadzenie badań antybakteryjnych sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft i wodorosiarczanowej cieczy jonowej, nadzór merytoryczny, a także edycję wstępnej wersji artykułu.

*K. Czaczyk*



Poznań, 05.12.2022 r.

## OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że mój udział w pracy: M. Stanisz, Ł. Kłapiszewski, **A. Dobrowolska**, A. Piasecki, K. Czaczyk, T. Jesionowski, The practical utility of imidazolium hydrogen sulfate ionic liquid in fabrication of lignin-based spheres: Structure characteristic and antibacterial activity, *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10, 946665, obejmował przeprowadzenie badań antybakteryjnych sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft i wodorosiarczanowej cieczy jonowej oraz edycję wstępnej wersji artykułu.





---

## POLITECHNIKA POZNAŃSKA

---

prof. dr hab. inż. Ewa Kaczorek  
Wydział Technologii Chemicznej  
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej  
Zakład Chemii Organicznej  
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań  
tel. +48 61 665 3671  
e-mail: ewa.kaczorek@put.poznan.pl

Poznań, 05.12.2022 r.

### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że mój udział w pracy: M. Stanisławski, W. Smulek, K. Popielski, Ł. Kłapiszewski, **E. Kaczorek**, T. Jesionowski, Sustainable design of lignin-based spherical particles with the use of green surfactants and its application as sorbents in wastewater treatment, Chemical Engineering Research and Design, 2021, 172, 34–42, obejmował nadzór merytoryczny oraz edycję wstępnej wersji artykułu.

*E. Kaczorek*



---

## POLITECHNIKA POZNAŃSKA

---

dr hab. inż. Łukasz Kłapiszewski, prof. PP  
Wydział Technologii Chemicznej  
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej  
Zakład Technologii Chemicznej  
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań  
tel. +48 61 665 3748  
e-mail: lukasz.klapiszewski@put.poznan.pl

Poznań, 05.12.2022 r.

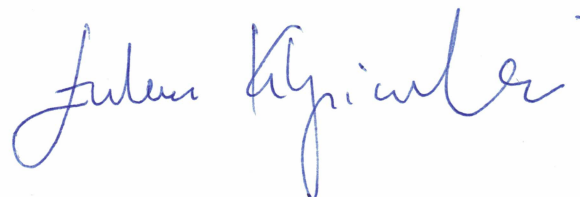
### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że brałem udział w przygotowaniu zaprezentowanych poniżej publikacji:

1. M. Stanis, **Ł. Kłapiszewski**, T. Jesionowski, Recent advances in the fabrication and application of biopolymer-based micro- and nanostructures: A comprehensive review, *Chemical Engineering Journal*, 2020, 397, 125409.
2. M. Stanis, **Ł. Kłapiszewski**, D. T. Młynarczyk, B. J. Stanis, T. Jesionowski, Lignin-based spherical structures and their use for improvement of cilazapril stability in solid state, *Molecules*, 2020, 25(14), 3150.
3. M. Stanis, **Ł. Kłapiszewski**, D. Moszyński, B. J. Stanis, T. Jesionowski, Evaluation of cilazapril release profiles with the use of lignin-based spherical particles, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2022, 75, 103636.
4. M. Stanis, **Ł. Kłapiszewski**, D. Kołodyńska, T. Jesionowski, Development of functional lignin-based spherical particles for the removal of vanadium(V) from an aqueous system, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 186, 181–193.
5. M. Stanis, W. Smulek, K. Popielski, **Ł. Kłapiszewski**, E. Kaczorek, T. Jesionowski, Sustainable design of lignin-based spherical particles with the use of green surfactants and its application as sorbents in wastewater treatment, *Chemical Engineering Research and Design*, 2021, 172, 34–42.
6. M. Stanis, **Ł. Kłapiszewski**, A. Dobrowolska, A. Piasecki, K. Czaczyk, T. Jesionowski, The practical utility of imidazolium hydrogen sulfate ionic liquid in fabrication of lignin-based spheres: Structure characteristic and antibacterial activity, *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10, 946665.
7. M. Stanis, K. Bachosz, K. Siwińska-Ciesielczyk, **Ł. Kłapiszewski**, J. Zdarta, T. Jesionowski, Tailoring lignin-based spherical particles as a support for lipase immobilization, *Catalysts*, 2022, 12(9), 1031.

8. M. Stanisz, **L. Kłapiszewski**, M. N. Collins, T. Jesionowski, Recent progress in biomedical and biotechnological applications of lignin-based spherical nano- and microstructures: A comprehensive review, *Materials Today Chemistry*, 2022, 26, 101198.

Mój udział w przygotowaniu prac naukowych polegał na pomocy podczas opracowywania metodologii badań, analizy oraz dyskusji otrzymanych wyników.





UMCS

UNIWERSYTET MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ W LUBLINIE  
Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, Zakład Chemii Nieorganicznej

Prof. dr hab. Dorota Kołodyńska | Kierownik Katedry

L.dz.48/KChN/2022

Lublin, 05.12.2022

### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że mój udział w pracy: M. Stanisławski, Ł. Kłapiszewski, **D. Kołodyńska**, T. Jesionowski, Development of functional lignin-based spherical particles for the removal of vanadium(V) from an aqueous system, International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 186, 181–193, obejmował wykonanie badań materiałów z wykorzystaniem spektroskopii fotoelektronów wzbudzonych promieniowaniem rentgenowskim (XPS), sorpcji jonów wanadu(V) na otrzymanym sferycznym materiale oraz opisu analizy otrzymanych wyników, a także edycję wstępnej wersji artykułu.

*D. Kołodyńska*





Dariusz Młynarczyk  
Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych  
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, 05.12.2022 r.

### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że mój udział w pracy: M. Stanisławski, Ł. Kłapiszewski, **D. T. Młynarczyk**, B. J. Stanisławski, T. Jesionowski, *Lignin-based spherical structures and their use for improvement of cilazapril stability in solid state*, *Molecules*, 2020, 25(14), 3150, doi: 10.3390/molecules25143150 polegał na przeprowadzeniu badań toksyczności ostrej z zastosowaniem testu Microtox® oraz analizy otrzymanych wyników, a także edycji wstępnej wersji artykułu.



Szczecin, 06.12.2022 r.

Dariusz Moszyński  
Zachodniopomorski Uniwersytet  
Technologiczny w Szczecinie  
ul. Puławskiego 10  
70-322 Szczecin

### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że mój udział w pracy: M. Stanisz, Ł. Klapiszewski, **D. Moszyński**, B. J. Stanisz, T. Jesionowski, Evaluation of cilazapril release profiles with the use of lignin-based spherical particles, Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2022, 75, 103636, obejmował wykonanie analizy materiałów z wykorzystaniem spektroskopii fotoelektronów wzbudzonych promieniowaniem rentgenowskim (XPS) wraz z opisem otrzymanych wyników.

*Dariusz Moszyński*



---

## POLITECHNIKA POZNAŃSKA

---

dr inż. Adam Piasecki  
Instytut Inżynierii Materiałowej  
Wydział Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej  
ul. Jana Pawła II 24, 60-965 Poznań  
tel. +48 61 665 3777  
e-mail: adam.piasecki@put.poznan.pl

Poznań, 05.12.2022 r.

### OŚWIADCZENIE

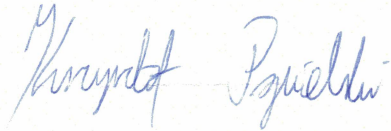
Oświadczam, że mój udział w pracy: M. Stanisz, Ł. Klapiszewski, A. Dobrowolska, **A. Piasecki**, K. Czaczyk, T. Jesionowski, The practical utility of imidazolium hydrogen sulfate ionic liquid in fabrication of lignin-based spheres: Structure characteristic and antibacterial activity, *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10, 946665, obejmował wykonanie zdjęć z użyciem skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM).

*Adam Piasecki*

Poznań, 05.12.2022 r.

## OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że mój udział w pracy: M. Stanisz, W. Smulek, **K. Popielski**, Ł. Klapiszewski, E. Kaczorek, T. Jesionowski, Sustainable design of lignin-based spherical particles with the use of green surfactants and its application as sorbents in wastewater treatment, Chemical Engineering Research and Design, 2021, 172, 34–42, obejmował pomoc podczas syntezy sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft oraz wstępne przygotowanie charakterystyki otrzymanych materiałów.





---

## POLITECHNIKA POZNAŃSKA

---

dr. hab. inż. Katarzyna Siwińska-Ciesielczyk  
Zakład Technologii Chemicznej  
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej  
Wydział Technologii Chemicznej  
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań  
tel. +48 61 665 3626  
e-mail: katarzyna.siwinska-ciesielczyk@put.poznan.pl

Poznań, 30.11.2022 r.

### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że mój udział w pracy: M. Stanisz, K. Bachosz, **K. Siwińska-Ciesielczyk**, Ł. Kłapiszewski, J. Zdarta, T. Jesionowski, Tailoring lignin-based spherical particles as a support for lipase immobilization, Catalysts, 2022, 12(9), 1031, obejmował wykonanie badań właściwości struktury porowatej.

*K. Siwińska-Ciesielczyk*





---

## POLITECHNIKA POZNAŃSKA

---

dr inż. Wojciech Smulek  
Wydział Technologii Chemicznej  
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej  
Zakład Chemii Organicznej  
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań  
tel. +48 61 665 3671  
e-mail: wojciech.smulek@put.poznan.pl

Poznań, 05.12.2022 r.

### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że mój udział w pracy: M. Stanisławski, **W. Smulek**, K. Popielski, Ł. Kłapiszewski, E. Kaczorek, T. Jesionowski, Sustainable design of lignin-based spherical particles with the use of green surfactants and its application as sorbents in wastewater treatment, *Chemical Engineering Research and Design*, 2021, 172, 34–42, obejmował syntezę naturalnych ekstraktów z mydlnicy lekarskiej *Saponaria officinalis* L. oraz z orzecha z drzewa *Sapindus mukorossi*, a także współuczestniczenie w procesie sorpcji oraz edycji wstępnej wersji przygotowywanego artykułu.

Wojciech Smulek



Poznań, 5.12.2022

### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że brałam czynny udział w przygotowaniu zaprezentowanych poniżej publikacji:

1. M. Stanisiz, Ł. Klapiszewski, D. T. Młynarczyk, **B. J. Stanisiz**, T. Jesionowski, Lignin-based spherical structures and their use for improvement of cilazapril stability in solid state, *Molecules*, 2020, 25(14), 3150.
2. M. Stanisiz, Ł. Klapiszewski, D. Moszyński, **B. J. Stanisiz**, T. Jesionowski, Evaluation of cilazapril release profiles with the use of lignin-based spherical particles, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2022, 75, 103636.

Mój udział w przygotowaniu wyżej wyszczególnionych publikacji obejmował przeprowadzenie badań stabilności cilazaprilu wraz z interpretacją wyników. Ponadto, dokonałam analizy z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Dodatkowo, pełniłam nadzór merytoryczny oraz brałam udział w redagowaniu, a także sprawdzeniu wstępnej wersji artykułów.

UNIwersytet Medyczny  
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu  
Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej

*Beata Stanisiz*  
Prof. dr hab. Beata J. Stanisiz



---

## POLITECHNIKA POZNAŃSKA

---

dr. hab. inż. Jakub Zdarta  
Zakład Technologii Chemicznej  
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej  
Wydział Technologii Chemicznej  
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań  
tel. +48 61 665 3747  
e-mail: jakub.zdarta@put.poznan.pl

Poznań, 30.11.2022 r.

### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że mój udział w pracy: M. Stanisz, K. Bachosz, K. Siwińska-Ciesielczyk, Ł. Kłapiszewski, **J. Zdarta**, T. Jesionowski, Tailoring lignin-based spherical particles as a support for lipase immobilization, *Catalysts*, 2022, 12(9), 1031, obejmował pomoc w opracowaniu koncepcji badań oraz metodologii immobilizacji lipazy z zastosowaniem sferycznych cząstek z udziałem ligniny kraft, a także recenzję oraz edycję wstępnej wersji artykułu.