

Uniwersytet Zielonogórski
Instytut Inżynierii Materiałowej i Biomedycznej

Rozprawa doktorska

TECHNOLOGIA WYTWARZANIA KOMPOZYTOWYCH PODŁOŻY
CZUJNIKÓW ELEKTROCHEMICZNYCH Z NANOCZĄSTEK SREBRA
I NANORUREK DITLENKU TYTANU

Mgr inż. Marta Nycz

Promotor: prof. dr hab. inż. Dorota Genowefa Pijanowska

Promotor pomocniczy: dr inż. Katarzyna Arkusz

Zielona Góra, 2021

Niniejsza rozprawa doktorska została częściowo zrealizowana dzięki wsparciu ze środków Narodowego Centrum Nauki – grant Preludium nr 2017/27/N/ST7/01702, Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach programu „Regionalna Inicjatywa Doskonałości” nr 003/RID/2018/19 oraz dotacji małograntowej Uniwersytetu Zielonogórskiego.

STRESZCZENIE

Czujniki elektrochemiczne to klasa czujników, w których sygnał chemiczny jest konwertowany na elektryczny, którego wartość jest zależna od stężenia analitu. Czujniki elektrochemiczne najczęściej wykorzystywane są w sektorze wytwórczym, chemicznym, morskim i motoryzacyjnym do monitorowania procesów produkcyjnych, maszyn, gazów czy efektywności paliwowej oraz w zastosowaniach biomedycznych, w tym diagnostyce medycznej, w ramach których są podejmowane badania nad nowymi metodami, przyrządami i systemami diagnostycznymi i monitorowania leczenia, w tym do badań w miejscu pobrania próbki (ang. *point of care systems*, POCs). Obecnie rozwój czujników elektrochemicznych skupia się na poszukiwaniu nowych materiałów oraz stosowaniu innowacyjnych połączeń materiałów - tworzenie materiałów kompozytowych i hybrydowych, w celu poprawy określonych właściwości przyrządów analitycznych, tj. czułość, selektywność, granica wykrywalności, powtarzalność oraz stabilność. Dlatego też, obserwuje się niesłabnące zainteresowanie nanostrukturami i nanomateriałami, których istotną cechą jest wysoki stosunek powierzchni do objętości zapewniający właściwe rozwinięcie powierzchni aktywnej. Ciekawym materiałem stosowanym w układach czujników elektrochemicznych są nanorurki ditlenku tytanu (TNT), który charakteryzuje stabilność i odporność chemiczna, jak i termiczna, biokompatybilność, dobre przewodnictwo elektryczne oraz niskie koszty wytwarzania i możliwość doboru warunków procesu wytwarzania zależnie od zastosowania.

Mimo iż w literaturze znaleźć można szereg prac dotyczących wykorzystania nanorurek TiO_2 jako podłoży różnego rodzaju czujników, jedynie nieliczne doniesienia dotyczą ich zastosowania w tym obszarze w połączeniu z nanocząstkami srebra (AgNPs). Dotychczas opracowane kompozytowe czujniki elektrochemiczne oparte na AgNPs/TNT umożliwiły detekcję nadtlenu wodoru oraz glukozy. Warto podkreślić, że podłoże to nie zostało użyte w układach, w których detekcja analitu oparta jest na interakcji przeciwciało-antygen. W związku z tym podjęto badania, które zmierzają do potwierdzenia możliwości zastosowania tego nanokompozytu AgNPs/TNT w takich układach. Na podstawie badań literaturowych stwierdzono ponadto, iż brakuje metod wytwarzania kulistych dobrze zdyspergowanych, niezaglomerowanych nanocząstek srebra o wysokiej czystości na podłożach TNT na drodze szybkich jednoetapowych procesów. Proponowane dotychczas w literaturze procedury skutkowały uzyskaniem nanosrebra na nanorurkach TiO_2 w postaci nanoprzewodów, nanodendrytów, czy też nanostruktur fraktalnych o różnym stopniu

złożoności (aglomeratów) oraz nierzadko o bardzo niejednorodnej, nierównomierniej, chaotycznej dyspersji. Ponadto metody te często wymagały użycia czynników redukujących, stabilizujących i innych, których dodatek zanieczyszczał nanocząstki. W przypadku zastosowania kompozytu jako podłoża czujnika należy jednak unikać tworzenia aglomeratów, gdyż ich obecność może blokować kanały nanorurek powodując zmniejszenie powierzchni właściwej. Natomiast obecność zanieczyszczeń (związków pozostałych po procesie wytwarzania AgNPs) często wpływa niekorzystnie na właściwości nanomateriałów.

W związku z powyższym celem badań realizowanych w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej było wytworzenie kompozytowego podłoża czujnika elektrochemicznego opartego na nanorurkach ditlenku tytanu oraz kulistych nanocząstkach srebra na drodze szybkiej, jednoetapowej, bezpośredniej syntezy nanocząstek na TNT bez konieczności stosowania innych substancji pomocniczych oprócz prekursora AgNPs.

Przedstawiono następujące tezy badawcze:

- **możliwe jest wytworzenie kulistych nanocząstek srebra na nanorurkach ditlenku tytanu w jednoetapowym procesie syntezy bez potrzeby użycia innych czynników oprócz prekursora AgNPs,**
- **możliwe jest polepszenie przewodnictwa elektrycznego i właściwości adsorpcyjnych nanorurek ditlenku tytanu poprzez ich modyfikację nanocząstkami srebra,**
- **wytworzone kompozyty AgNPs/TNT mogą być stosowane jako podłoża czujników elektrochemicznych.**

Przeprowadzono następujące badania mające na celu opracowanie metod:

- wytworzenia podłoża czujnika, tj. nanorurek TiO_2 na folii tytanowej,
- modyfikacji termicznej TNT – w celu określenia wpływu temperatury wyżarzania na właściwości materiałowe i elektrochemiczne TNT,
- modyfikacji TNT nanocząstkami srebra – w celu zbadania wpływu parametrów procesu wytwarzania AgNPs na właściwości materiałowe i elektrochemiczne TNT.

Końcowy etap badań dotyczył potwierdzenia możliwości praktycznego zastosowania opracowanego kompozytu AgNPs/TNT jako podłoża czujnika elektrochemicznego na

przykładzie impedancyjnej detekcji białka szoku cieplnego 70 (HSP70) - markera chorób nowotworowych.

TNT zostały wytworzone poprzez anodowanie, które umożliwia wzrost nanorurek na podłożu w postaci folii tytanowej zapewniając ich samoorganizację. W ten sposób uzyskuje się właściwe elektryczne połączenie nanorurek z podłożem oraz ułatwienie dalszej obróbki. Na podstawie literatury wybrano zakres średnic badanych nanorurek TiO_2 od 25 do 75 nm ze względu na bardzo dobre właściwościami adsorpcyjne dla białek i komórek. Ażeby możliwie zwiększyć powierzchnię właściwą nanorurek dobrano takie warunki ich wytwarzania, które umożliwiły uzyskanie jak najdłuższych TNT, unikając jednocześnie tworzenia na ich powierzchni nieuporządkowanej warstwy cienkich igłopodobnych struktur zwanych „nanograss”, które powstają w wyniku chemicznego rozpuszczania wierzchołków nanorurek TiO_2 i załamywania się ich pocienionych ścianek. Ponieważ w literaturze nie przedstawiono badań dotyczących wpływu średnicy nanorurek (przy zachowaniu jednakowej wysokości warstwy TNT) na ich właściwości materiałowe i elektrochemiczne, to w badaniach przyjęto stałą ich wysokość, która wynosiła 1000 nm.

Kolejny etap był związany z badaniami nad poprawą właściwości przewodzących TNT poprzez obróbkę termiczną powstającego w procesie anodowania amorficznego TiO_2 skutkującą jego przemianą w strukturę krystaliczną. TiO_2 występuje w trzech odmianach polimorficznych: anatazu, rutylu i brukitu. Do modyfikacji termicznej nanorurek TiO_2 wybrano atmosferę argonu oraz zakres temperatur wyżarzania od 450°C do 550°C . Jak wykazano w literaturze, warunki te nie powodują zmian morfologii nanorurek, a ponadto prowadzą do uzyskania struktury w przewodzie złożonej z anatazu, który wykazuje najwyższą ruchliwość elektronów i ma lepsze właściwości adsorpcyjne od rutylu. W wyniku badań ustalono, że TNT o średnicy 50 nm i wysokości 1000 nm, wyżarzone w 450°C charakteryzują się zwiększoną o około 50% przewodnością elektryczną w stosunku do form amorficznych. Dzięki obróbce termicznej uzyskano zwiększenie odtwarzalności i powtarzalności wytworzonych elektrod.

Ostatnim etapem badań było opracowanie metodyki wytwarzania na TNT kulistych, niezaglomerowanych nanocząstek srebra metodą napyłania próżniowego oraz foto- i elektroredukcji bez konieczności użycia innych substancji oprócz prekursora AgNPs. Czynnikiem determinującym pokrycie nanocząstkami srebra jest obecność na powierzchni nanorurek ditlenku tytanu wytworzone centra zarodkowania, które zwykle występują na krawędziach nanorurek. Im więcej centrów tym większe upakowanie AgNPs na powierzchni. Na podstawie wyników XPS (rentgenowska spektrometria fotoelektronów)

zaproponowano mechanizm procesu osadzenia nanocząstek srebra, w którym w wyniku redukcji jonów srebra w pobliżu powierzchni TiO_2 dochodzi do utworzenia wiązania $\text{Ti} - \text{Ag}$ oraz $\text{Ti} - \text{O} - \text{Ag}$.

Poprzez modyfikację parametrów procesu wytwarzania AgNPs otrzymano nanokompozyty o przewodności elektrycznej większej o około 50% od wyżarzonych TNT bez nanocząstek srebra. Ponadto badania wykazały udoskonalone właściwości adsorpcyjne kompozytów względem białek. AgNPs/TNT umożliwił impedancyjną detekcję modelowego białka HSP70 wykazując liniową odpowiedź w zakresie stężeń od 0,48 do 100 ng/ml. Granica oznaczalności opracowanego czujnika wynosiła 1,61 ng/ml, natomiast czułość 18,16 $\Omega/(\text{ng/ml})$.

Słowa kluczowe: czujniki elektrochemiczne, elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna, nanokompozyty, nanocząstki srebra, nanorurki ditlenku tytanu

SUMMARY

Electrochemical sensors are a class of sensors in which a chemical signal is converted into electrical whose value depends on the concentration of the analyte. Electrochemical sensors are most often used in the manufacturing, chemical, marine, and automotive sectors to monitor production processes, machines, gases, and fuel efficiency, as well as in biomedical applications including medical diagnostics, in the frame of which research on new diagnostics and therapies monitoring methods, devices and systems, such as point of care systems (POCs) is undertaken. Currently, the development of electrochemical sensors focuses on the search for new materials and the use of innovative material combinations - the production of composite and hybrid materials to improve specific properties of analytical instruments, i.e., sensitivity, selectivity, limit of detection, repeatability, and stability. Therefore, there is an unwavering interest in nanostructures and nanomaterials, which important feature is a high surface-to-volume ratio ensuring the development of the active surface area. An interesting material used in electrochemical sensor systems is titanium dioxide (TNT) nanotubes, characterized by chemical and thermal stability and resistance, biocompatibility, good electrical conductivity, and the possibility of low costs production and the possibility of choosing the conditions of the manufacturing process depending on the application.

Although the literature contains a number of studies on the use of TiO_2 nanotubes as substrates for various types of sensors, only a few reports concern their use in this area in combination with silver nanoparticles (AgNPs). The developed composite electrochemical sensors based on AgNPs/TNT enabled the detection of hydrogen peroxide and glucose. Importantly, this platform has not been used in systems where analyte detection is based on antibody-antigen interaction. Therefore, studies were carried out to confirm the possibility of using this AgNPs/TNT nanocomposite in such systems. Based on literature studies, it was also found that there are no methods of producing spherical, well-dispersed, non-agglomerated silver nanoparticles of high purity on TNT substrates using fast one-step processes. Instead, the procedures proposed in the literature resulted in obtaining nanosilver on TiO_2 nanotubes in the form of nanowires, nanodendrites, or fractal nanostructures with various levels of complexity (agglomerates) and often with very heterogeneous, uneven, and chaotic dispersion. Moreover, these methods often required reducing, stabilizing, and other agents, the addition of which contaminated the nanoparticles. Suppose composite is used as the sensor substrate. In that case, the formation of agglomerates should be avoided

as their presence may block the channels of the nanotubes, resulting in a reduction of the specific surface area. On the other hand, the presence of impurities (compounds remaining after the AgNPs production process) often adversely affects the properties of nanomaterials.

Therefore, the aim of the doctoral dissertation was to produce a composite electrochemical sensor substrate based on titanium dioxide nanotubes and spherical silver nanoparticles (AgNPs) using a fast, one-step, direct synthesis without the need to use auxiliary substances in addition to the silver nanoparticle precursor.

The following research theses were presented:

- **it is possible to produce spherical silver nanoparticles on titanium dioxide nanotubes in a one-step synthesis process without the need to use other factors apart from the AgNPs precursor,**
- **it is possible to improve titanium dioxide nanotubes' electrical conductivity and adsorption properties by modifying them with silver nanoparticles,**
- **produced AgNPs/TNT composites can be used as platforms for electrochemical sensors.**

The following studies were carried out to develop methods of:

- manufacturing of the sensor platform, i.e., TiO₂ nanotubes on a titanium foil,
- thermal modification of TNT - to determine the influence of the annealing temperature on the material and electrochemical properties of TNT,
- modification of TNT with silver nanoparticles - to study the influence of AgNPs production process parameters on the material and electrochemical properties of TNT.

The final stage of the research was to confirm the possibility of the practical application of the developed AgNPs/TNT composite as a platform of an electrochemical sensor, based on the example of impedance detection of heat shock protein 70 (HSP70) - a marker of neoplastic diseases.

TNTs were produced by anodizing, which enables the growth of nanotubes on a titanium foil substrate, ensuring their self-assembly. In this way, the proper electrical connection of the nanotubes with the substrate is achieved, and further processing is facilitated. Based on the literature, the range of diameters of the tested TiO₂ nanotubes from 25 to 75 nm was selected due to the good adsorption properties for proteins and cells.

To increase the specific surface area of the nanotubes as much as possible, the conditions for their production were selected that made it possible to obtain the longest TNT possible while avoiding the formation on their surface of a disorderly layer of thin needle-like structures called "nanoglass", which arise as a result of the chemical dissolution of the tops of TiO₂ nanotubes and the collapse of their thin walls. Since the literature does not present any studies on the influence of the nanotube diameter (while maintaining the same height of the TNT layer) on their material and electrochemical properties, their height was assumed to be constant, which was 1000 nm.

The next stage was related to research on improving the conductive properties of TNT through thermal treatment of amorphous TiO₂ formed in the anodizing process, resulting in its transformation into a crystal structure. TiO₂ occurs in three polymorphs: anatase, rutile, and brookite. An argon atmosphere and annealing temperature range from 450°C to 550°C were selected for the thermal modification of TiO₂ nanotubes. As shown in the literature, these conditions do not change the morphology of nanotubes and lead to a structure composed predominantly of anatase, which offers the highest electron mobility and has better adsorption properties than rutile. As a result of the research, it was found that TNT with a diameter of 50 nm and a height of 1000 nm, annealed at 450°C, has an electrical conductivity increased by about 50% in relation to the amorphous forms. Moreover, the thermal treatment increased the reproducibility and repeatability of the produced electrodes.

The last stage of the research was to develop a methodology for the production of spherical, non-agglomerated silver nanoparticles on TNT using vacuum sputtering and photo- and electro-reduction without the need to use other substances apart from the AgNPs precursor. The factor determining the coverage with silver nanoparticles is the nucleation centers formed on the surface of titanium dioxide nanotubes, which usually occur at the edges of the nanotubes. Based on XPS results (X-ray photoelectron spectrometry), it has been proposed that as a result of the reduction of silver ions near the TiO₂ surface, silver nanoparticles are deposited on TNT through the formation of a Ti – Ag and Ti – O – Ag bond.

By modifying the parameters of the AgNPs production process, AgNPs/TNT nanocomposites were obtained with electrical conductivity greater by about 50% than annealed TNT without silver nanoparticles. In addition, based on the research it has been shown improved adsorption properties of composites. AgNPs/TNT enabled impedimetric detection of the HSP70 protein showing a linear response in the concentration range from

0.48 to 100 ng/ml. The detection limit of the developed sensor was 1.61 ng/ml, while the sensitivity was 18.16 Ω /(ng/ml).

Keywords: electrochemical sensors, electrochemical impedance spectroscopy, nanocomposites, silver nanoparticles, titanium dioxide nanotubes

WYKAZ SKRÓTÓW I OZNACZEŃ

<u>Oznaczenie/skrót</u>	<u>Nazwa</u>
AgNO₃	- azotan srebra
AgNPs	- nanocząstki srebra
Ag₂O	- tlenek srebra(I)
AuNPs	- nanocząstki złota
ALD	- osadzanie warstw atomowych (ang. <i>atomic layer deposition</i>)
BSA	- surowicza albumina wołowa (ang. <i>bovine serum albumin</i>)
CA	- chronoamperometria (ang. <i>chronoamperometry</i>)
CdS	- siarczek kadmu
CdSe	- selenek kadmu
Co₃O₄	- tlenek kobaltu(II) kobaltu(III)
CV	- woltamperometria cykliczna (ang. <i>cyclic voltammetry</i>)
DNA	- kwas deoksyrybonukleinowy (ang. <i>deoxyribonucleic acid</i>)
EDC	- chlorowodorek N-(3-dimetyloaminopropyl)-N'-etylokarbodiimidu
EDS	- rentgenowska spektroskopia energodispersyjna (ang. <i>energy dispersive spectroscopy</i>)
EIS	- elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna (ang. <i>electrochemical impedance spectroscopy</i>)
ELISA	- test immunoenzymatyczny (ang. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
Fe₂O₃	- tlenek żelaza(III)
Fe₃O₄	- tlenek żelaza(II) diżelaza(III)
HCl	- kwas chlorowodorowy
HClO₄	- kwas chlorowy(VII)
HF	- kwas fluorowodorowy
HNO₃	- kwas azotowy (V)
HSP	- białko szoku cieplnego (ang. <i>heat shock protein</i>)
H₂Cr₂O₇	- kwas dichromowy(VI)
H₂SO₄	- kwas siarkowy(VI)
H₃PO₄	- kwas ortofosforowy(V)

IUPAC	- Międzynarodowa Unia Chemii Czystej i Stosowanej (ang. <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
IL	- interleukina (ang. <i>interleukin</i>)
ITO	- tlenek indowo-cynowy
KCl	- chlorek potasu
KOH	- wodorotlenek potasu
K₃[Fe(CN)₆]	- żelazicyjanek potasu
LOD	- granica wykrywalności (ang. <i>limit of detection</i>)
LOQ	- granica oznaczalności (ang. <i>limit of quantification</i>)
NaF	- fluorek sodu
NaOH	- wodorotlenek sodu
Na₂SO₄	- siarczan(VI) sodu
NH₄Cl	- chlorek amonu
NH₄F	- fluorek amonu
NHS	- N-hydroksysukcynimid
NPs	- nanocząstki (ang. <i>nanoparticles</i>)
OCP	- potencjał stacjonarny (ang. <i>open circuit potential</i>)
SD	- odchylenie standardowe (ang. <i>standard deviation</i>)
PBS	- zbuforowany roztwór soli fizjologicznej (ang. <i>phosphate-buffered saline</i>)
PVA	- poli(alkohol winylowy)
RSD	- względne odchylenie standardowe (ang. <i>relative standard deviation</i>)
R²	- współczynnik korelacji
SAM	- samoorganizująca się monowarstwa (ang. <i>self-assembled monolayer</i>)
SARS-CoV-2	- koronawirus zespołu ostrej niewydolności oddechowej 2
SH	- grupa tiolowa
SP	- napyłanie próżniowe (ang. <i>vacuum sputtering</i>)
SDS	- laurylosiarczan sodu
SEM	- elektronowy mikroskop skaningowy (ang. <i>scanning electron microscope</i>)
SnO₂	- tlenek cyny(IV)

SPR	- powierzchniowy rezonans plazmonowy (ang. <i>surface plasmon resonance</i>)
TEM	- elektronowy mikroskop transmisyjny (ang. <i>transmission electron microscope</i>)
TTIP	- tetraizopropanolan tytanu
TiCl₄	- chlorek tytanu(IV)
TiF₄	- fluorek tytanu(IV)
Ti(OiPr)₄	- izopropanolan tytanu
TiO₂	- tlenek tytanu(IV), ditlenek tytanu
Ti₂O₃	- tlenek tytanu(III)
TNT	- nanorurki ditlenku tytanu (ang. <i>titanium dioxide nanotubes</i>)
TTIP	- tetraizopropanolan tytanu(IV)
UV	- fotoredukcja (ang. <i>photoreduction</i>)
XPS	- rentgenowska spektrometria fotoelektronów (ang. <i>X-ray photoelectron spectroscopy</i>)
XRD	- dyfraktometria rentgenowska (ang. <i>X-ray diffraction</i>)
11-MUA	- kwas 11-merkaptoundekanowy
(NH₄)H₂PO₄	- diwodorofosforan(V) amonu
(NH₄)₂SO₄	- siarczan(VI) amonu

WYKAZ SYMBOLI

<u>Symbol</u>	<u>Nazwa</u>
A	- pole powierzchni elektrody
A_i	- powierzchnia całkowita nanorurki
A_{pa}	- powierzchnia elektrochemicznie czynna wyznaczona na podstawie wysokości pików anodowych (I_{pa})
A_{pk}	- powierzchnia elektrochemicznie czynna wyznaczona na podstawie wysokości pików katodowych (I_{pk})
A_s	- powierzchnia właściwa nanorurek
c	- stężenie substancji elektroaktywnej
C	- pojemność
$C_{utl.}$	- stężenie molowe formy utlenionej
$C_{zred.}$	- stężenie molowe formy zredukowanej
D	- współczynnik dyfuzji substancji elektroaktywnej
E	- potencjał
E_{K0}	- potencjał krzyżowy, przy którym srebro zaczyna ulegać redukcji (osadzaniu)
E_{pa}	- potencjał pików anodowych
E_{pk}	- potencjał pików katodowych
E_{stac}	- potencjał stacjonarny
E_Z	- potencjał zarodkowania
E_S^0	- potencjał standardowy
E^0	- potencjał formalny
E_0	- amplituda sygnału
f	- częstotliwość
F	- stała Faradaya
h	- wysokość nanorurek
I	- natężenie prądu
I_A	- natężenie pików dyfrakcyjnych pochodzących od anatazu (101) na rentgenogramach XRD
I_R	- natężenie pików dyfrakcyjnych pochodzących od rutylu (110) na rentgenogramach XRD
I_{pa}	- natężenie prądu pików anodowych

I_{pk}	- natężenie prądu piku katodowego
K	- liczba nanorurek na 1cm^2
L	- indukcyjność
N	- liczba elektronów wymienianych w reakcji połówkowej
P	- porowatość ditlenku tytanu
Q	- element stałofazowy (ang. <i>constant phase element</i>)
R	- rezystancja
S_e	- swobodna energia powierzchniowa (ang. <i>surface free energy</i>)
t	- czas
T	- temperatura
V	- szybkość zmian potencjału elektrody badanej
W	- impedancja Warburga
W_k	- współczynnik kształtu nanorurek
z_A	- zawartość anatazu
z_R	- zawartość rutylu
Z''	- urojona składowa impedancji
Z'	- rzeczywista składowa impedancji
$ Z $	- moduł impedancji
ΔE	- różnica potencjałów
γ	- napięcie powierzchniowe wody destylowanej
θ	- statyczny kąt zwilżania
δ	- kąt fazowy
τ	- stała czasowa
ϕ_0	- średnica zewnętrzna nanorurek
ϕ_1	- średnica wewnętrzna nanorurek
ω	- częstotliwość kołowa

SPIS TREŚCI

STRESZCZENIE	3
SUMMARY	7
WYKAZ SKRÓTÓW I OZNACZEŃ	11
WYKAZ SYMBOLI.....	14
SPIS TREŚCI.....	16
WPROWADZENIE	18
1. Nanorurki ditlenku tytanu	23
1.1. Budowa i właściwości TNT	25
1.2. Metody wytwarzania TNT	27
1.3. Aspekty technologiczne anodowego wytwarzania TNT	33
1.4. Modyfikacja termiczna TNT	38
1.5. Wpływ nanocząstek srebra na właściwości TNT	45
1.6. Obszary zastosowań TNT	49
2. Czujniki elektrochemiczne.....	51
2.1. Materiały stosowane na podłoża czujników elektrochemicznych	53
2.2. Zasada działania czujników elektrochemicznych	55
2.3. Obszary zastosowań czujników elektrochemicznych	64
PODSUMOWANIE, CEL BADAŃ I TEZA PRACY	67
CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA	71
Odczynniki, materiały i aparatura	71
Opis metodyki badań	72
WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA.....	82
3. Wyniki badań TNT niepoddanych modyfikacji termicznej	82
3.1. Analiza mikroskopowa TNT niepoddanych modyfikacji termicznej	82
3.2. Analiza rentgenowska TNT niepoddanych modyfikacji termicznej	84
3.3. Charakterystyka elektrochemiczna TNT niepoddanych modyfikacji termicznej	85
4. Wyniki badań TNT po modyfikacji termicznej	92
4.1. Analiza mikroskopowa TNT po modyfikacji termicznej	92
4.2. Analiza rentgenowska TNT po modyfikacji termicznej	94
4.3. Charakterystyka elektrochemiczna TNT po modyfikacji termicznej	98
5. Badania TNT po modyfikacji nanocząstkami srebra (AgNPs)	108
5.1. Wyniki badań TNT z AgNPs osadzonymi metodą woltamperometrii cyklicznej	108
5.1.1. Mechanizm wytwarzania AgNPs na TNT metodą CV	108
5.1.2. Analiza mikroskopowa TNT po modyfikacji AgNPs metodą CV	111
5.1.3. Charakterystyka elektrochemiczna TNT po modyfikacji AgNPs metodą CV	114
5.2. Wyniki badań TNT z AgNPs osadzonymi metodą chronoamperometrii (CA)	120
5.2.1. Mechanizm wytwarzania AgNPs na TNT metodą CA	120
5.2.2. Analiza mikroskopowa TNT po modyfikacji AgNPs metodą CA	121
5.2.3. Charakterystyka elektrochemiczna TNT po modyfikacji AgNPs metodą CA	123

5.3. Wyniki badań TNT z AgNPs osadzonymi metodą napyłania próżniowego (SP)	126
5.3.1. Analiza mikroskopowa TNT po modyfikacji AgNPs metodą SP	126
5.3.2. Charakterystyka elektrochemiczna TNT po modyfikacji AgNPs metodą SP	128
5.4. Wyniki badań TNT z osadzonymi metodą fotoredukcji (UV)	131
5.4.1. Analiza mikroskopowa TNT po modyfikacji AgNPs metodą UV	131
5.4.2. Charakterystyka elektrochemiczna TNT po modyfikacji AgNPs metodą UV	133
6. Wyniki badań TNT z AgNPs jako podłoża czujników elektrochemicznych	138
6.1. Wyniki badań rentgenowskich funkcjonalizowanych AgNPs podłożu TNT	138
1.2. Charakterystyka powierzchni AgNPs/TNT	143
1.3. Wyniki badań odpowiedzi czujników AgNPs/TNT	155
PODSUMOWANIE	161
WNIOSKI	165
LITERATURA	168
SPIS TABEL	206
SPIS RYSUNKÓW	207
DOROBK NAUKOWY	212

WPROWADZENIE

Czujniki elektrochemiczne to klasa czujników, w których elektroda jest używana jako element przetwornika, w którym sygnał jest konwertowany z chemicznego na elektryczny, którego wartość jest zależna od stężenia analitu. Powszechnie wykorzystywane są do monitorowania oraz analizowania różnych parametrów fizycznych, chemicznych oraz biologicznych. Niektóre przykłady ich zastosowań to monitorowanie środowiska, stanu zdrowia, przemysłowych procesów produkcyjnych, maszyn oraz mediów technologicznych [1].

W raporcie z 2019 roku, dotyczącym rynku czujników elektrochemicznych na świecie, opublikowanym przez Mordor Intelligence [2], oszacowano jego wartość na 6,19 mld dolarów. Zgodnie z przedstawionymi prognozami ma on osiągnąć 11,83 mld dolarów do 2025 r., przy rocznym wzroście wynoszącym 11,4% w okresie prognozy 2020–2025. Największe korzyści z zastosowania tego rodzaju przyrządów przypisuje się sektorowi wytwórczemu, chemicznemu i morskemu przy monitorowaniu toksycznych i palnych gazów, sektorowi motoryzacyjnemu przy kontroli jakości powietrza czy efektywności paliwowej, a także medycynie i diagnostyce medycznej napędzanej koniecznością wdrażania niestandardowych metod diagnostycznych w celu skutecznego rozpoznawania różnych jednostek chorobowych. Niedawny wybuch pandemii COVID-19 wywołanej przez nowy koronawirus zespołu ostrej niewydolności oddechowej 2 (SARS-CoV-2) stanowi zagrożenie dla zdrowia publicznego na całym świecie. Dlatego opracowanie szybkiego, dokładnego i łatwego do wdrożenia systemu diagnostycznego do wykrywania wirusów stał się kluczowy dla kontrolowania źródeł infekcji i monitorowania jej postępowania. Obecnie w Stanach Zjednoczonych opracowywany jest elektrochemiczny czujnik gazu do natychmiastowej diagnostyki wirusa SARS-CoV-2 na podstawie powietrza wydychanego.

Rozwój technologii czujników jest wynikiem postępów w dziedzinie mikroelektroniki, mikroinżynierii, inżynierii materiałowej i nanotechnologii, głównie dzięki produkcji miniaturowych czujników o większej czułości i selektywności oraz przy niższych kosztach produkcji i konserwacji, a także dzięki rozwojowi czujników półprzewodnikowych. W tym kontekście włączenie technik i koncepcji związanych z nanonauką i nanotechnologią ma duży wpływ na szybki rozwój nanoczujników, głównie

ze względu na duży stosunek powierzchni do objętości, dzięki czemu mogą one znacznie poprawić czułość czujników w porównaniu z tradycyjnymi materiałami [1-2].

Nanonauka zajmująca się badaniem zjawisk i manipulacją elementami materii na poziomie atomowym, molekularnym i makromolekularnym oraz nanotechnologia związana z wytwarzaniem struktur, tj. nanocząstki, nanorurki, nanowłókna i nanosfery z różnych materiałów (m.in. polimerów, ceramiki, metali, półprzewodników, kompozytów i biomateriałów), w krótkim czasie stały się bardzo szerokim i interdyscyplinarnym obszarem badań. Obecnie rozwój czujników elektrochemicznych jest ściśle związany z badaniami nowych materiałów oraz zastosowaniu połączeń tych materiałów w celu poprawy ich właściwości, czy też opracowywaniu nowych metod wytwarzania (tańszych, szybszych, niewymagających użycia wielu odczynników i urządzeń) [3].

Do tej pory najczęściej badaniem są nanomateriały węglowodoodne [4]. Odkrycie przez Iijima [5] nanorurek węglowych, na właściwości których można wpływać bezpośrednio zmieniając ich geometrię, spowodowało ogromne zainteresowanie badaczy z wielu dziedzin nauki, w tym chemii, fizyki, inżynierii materiałowej na potrzeby inżynierii mechanicznej itd. Największą jednak wadą większości nanomateriałów węglowych jest ich toksyczność. Dlatego też, przez ostatnie 20 lat obserwuje się niesłabnące zainteresowanie nanorurkami ditlenku tytanu [4, 6-7]. Spośród wszystkich tlenków metali przejściowych ditlenek tytanu (TiO_2) wykazuje szeroki zakres właściwości funkcjonalnych, takich jak stabilność i odporność chemiczna, jak i termiczna, biokompatybilność oraz dobre przewodnictwo elektryczne [8]. Najważniejsze obszary jego zastosowań to przemysł farb i lakierów, kosmetyczny i spożywczy, fotokataliza, fotowoltaika, urządzenia elektrochromowe, czujniki czy też nośniki leków [4, 7]. Nanostrukturalny TiO_2 posiada dodatkowe zalety, których nie wykazuje w skali mikro [9-10], z czego najważniejszą jest duże rozwinięcie powierzchni, interesujące właściwości elektryczne oraz hydrofilowość. Ponadto można go wytwarzać na dużą skalę w łagodnych warunkach i niskimi kosztami [11], stąd też można powiedzieć, że jest to bardzo chętnie wykorzystywany materiał w różnego rodzaju badaniach [3].

Wśród procesów wytwarzania TNT największą kontrolę wymiarów nanorurek zapewnia elektrochemiczne anodowanie tytanu w elektrolicie z dodatkiem jonów fluorkowych [6]. Metoda ta prowadzi do otrzymania uporządkowanego układu nanorurek (samoorganizacji) bezpośrednio przymocowanego do tytanowej folii, co zapewnia ich elektryczne połączenie z podłożem [6, 12, 13]. Pierwsze samoorganizujące się tlenki anodowe w postaci materiałów porowatych zostały wytworzone przez Zwillinga i wsp.

w 1999 roku poprzez zastosowanie rozcieńczonych elektrolitów zawierających jony fluorkowe. Po 2001 roku, w którym wytworzono pierwsze nanorurki, późniejsze prace dążyły do otrzymania struktur lepiej zorganizowanych, a także o regularnym kształcie [7].

Jak powszechnie wiadomo, każdy materiał ma wady i zalety, które różnicują się w zależności od zastosowania danego materiału. Łącząc ze sobą dwa lub więcej komponenty uzyskuje się kompozyty, które mogą charakteryzować się właściwościami będącymi sumą zalet ich składników oraz rekompensować wady każdego z nich [14]. W kontekście nanoTiO₂ w zastosowaniach czujnikowych najczęściej ulepszana jest jego przewodność elektryczna, stąd też wraz z rozwojem nanotechnologii oprócz polepszenia przewodności poprzez obróbkę termiczną, w ostatnich latach popularna stała się ich modyfikacja poprzez dekorowanie metalami przejściowymi (w tym bardzo popularne metale szlachetne, tj. złoto i platyna), niemetalami, ale też nanostrukturami – półprzewodnikowymi kropkami kwantowymi, czy też nanomateriałami węglowymi [15-21].

Innym rodzajem nanomateriałów są nanocząstki srebra. Srebro ma najwyższą przewodność elektryczną wśród metali, dlatego AgNPs mogą ułatwiać przenoszenie elektronów skuteczniej niż inne nanocząstki (NPs) [22]. Ponadto do ich zalet należy prostota wytwarzania i jego niski koszt [23-24] oraz łatwość łączenia się z białkami w reakcji z grupą tiolową (-SH) [25]. Cechy te sprawiają, że AgNPs wydają się być obiecującym materiałem do zastosowania w konstrukcji czujników elektrochemicznych [24, 26-28]. Wykorzystanie platformy AgNPs/TNT do detekcji różnych substancji jest natomiast spotykane bardzo rzadko [29-31]. W literaturze naukowej to połączenie jest najbardziej popularne w kontekście zastosowań fotokatalitycznych oraz bakteriobójczych [32-34]. W tego rodzaju aplikacjach kształt, rozmiar czy stopień dyspersji nanosrebra nie ma kluczowego znaczenia, dlatego też często struktury te występują w postaci nanoprzewodów, nanodendrytów, czy też nanostruktur fraktalnych o różnym stopniu złożoności (często w wyniku aglomeracji) oraz nierzadko o bardzo niejednorodnej, nierównomiernej, chaotycznej dyspersji [35-36]. Jednak przy zastosowaniu nanomateriałów do detekcji różnych substancji należy unikać tworzenia się aglomeratów, gdyż ich obecność często wpływa niekorzystnie na ich właściwości [37]. W przypadku TNT aglomeraty mogą blokować kanały nanorurek, co może prowadzić do pogorszenia przewodności elektrycznej kompozytu [38]. W dalszym ciągu dla badaczy wyzwaniem jest uzyskanie dobrze zdyspergowanych i jednorodnych kulistych nanocząstek srebra w wąskim zakresie ich rozmiarów, które są osadzone na nanorurkach TiO₂ [39].

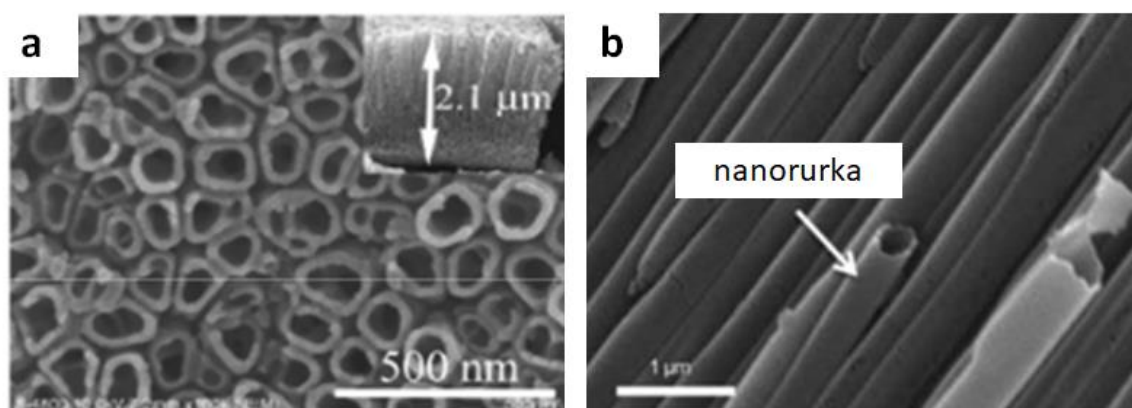
Najczęściej wykorzystywanymi metodami wytwarzania AgNPs jest redukcja chemiczna oraz synteza hydrotermalna [40]. Obecnie obserwuje się również duże zainteresowanie metodami biologicznymi, tzw. zieloną chemią, z uwagi na jej przyjazność dla środowiska [41]. Największą wadą tego rodzaju metod jest brak jednorodności wytworzonych struktur, konieczność użycia odczynników w postaci reduktorów, stabilizatorów i innych substancji pomocniczych, które zanieczyszczają nanocząstki [42-45]. Dodatkowo utrudnieniem jest ich wieloetapowość, jako że po wytworzeniu nanocząstek musi nastąpić ich trwałe związanie z TNT, ponieważ metody te uniemożliwiają bezpośrednie wytwarzanie AgNPs na nanorurkach. Alternatywą mogą być więc metody elektrodpozycji, fotoredukcji oraz napyłania próżniowego, ponieważ gwarantują one szybkie, wysoce produktywne wytwarzanie stabilnych AgNPs bezpośrednio na TNT, a dodatkowo są to techniki bardzo łatwo kontrolowalne i niewymagające stosowania wysokich temperatur. Elektroosadzanie polega na depozycji materiału na podłożu poprzez redukcję jonu obecnego w elektrolicie pod wpływem prądu elektrycznego. W drugim przypadku, redukcja jonów srebra zachodzi pod wpływem promieniowania UV, natomiast w trzecim – nanocząstki są osadzane na podłożu tytanowym w wyniku erozji wysokiej czystości tzw. targetu srebrnego (tarczy) [24, 40, 46].

Mimo iż w literaturze znaleźć można szereg prac dotyczących wykorzystania nanorurek TiO_2 jako podłoży różnego rodzaju czujników, jedynie nieliczne doniesienia dotyczą ich zastosowania w tym obszarze w połączeniu z AgNPs. Co warto podkreślić, podłoże to nie zostało użyte w układach, w których detekcja analitu oparta jest na interakcji przeciwciało-antygen. W związku z tym podjęto badania, które zmierzają do potwierdzenia możliwości jego zastosowania w takich układach. Ponadto wciąż otwartym zagadnieniem jest modyfikacja nanorurek TiO_2 nanocząstkami srebra wytwarzanymi bezpośrednio na tym podłożu bez konieczności stosowania innych odczynników poza prekursorem srebra. Ponadto w dalszym ciągu na łamach czasopism trwa dyskusja dotycząca wpływu temperatury wyżarzania na właściwości elektrochemiczne i materiałowe nanorurek TiO_2 o różnej morfologii. W tym odniesieniu, w ramach przeprowadzonych badań wytworzono TNT o średnicy w zakresie 25-75 nm i wysokości 1000 nm, a następnie zbadano wpływ temperatury wyżarzania na charakterystykę elektrochemiczną oraz materiałową tych struktur. Następnie wytworzono serię platform AgNPs/TNT metodami elektrodpozycji (chronoamperometria oraz woltamperometria cykliczna), napyłania próżniowego oraz fotoredukcji, po czym zbadano wpływ poszczególnych parametrów syntezy na właściwości sensoryczne wytworzonych elektrod. Na podstawie badań wybrano podłoże AgNPs/TNT,

którego możliwość zastosowania w czujnikach elektrochemicznych typu impedancyjnego potwierdzono przy użyciu modelowego białka szoku cieplnego HSP70 – markera chorób nowotworowych.

1. Nanorurki ditlenku tytanu

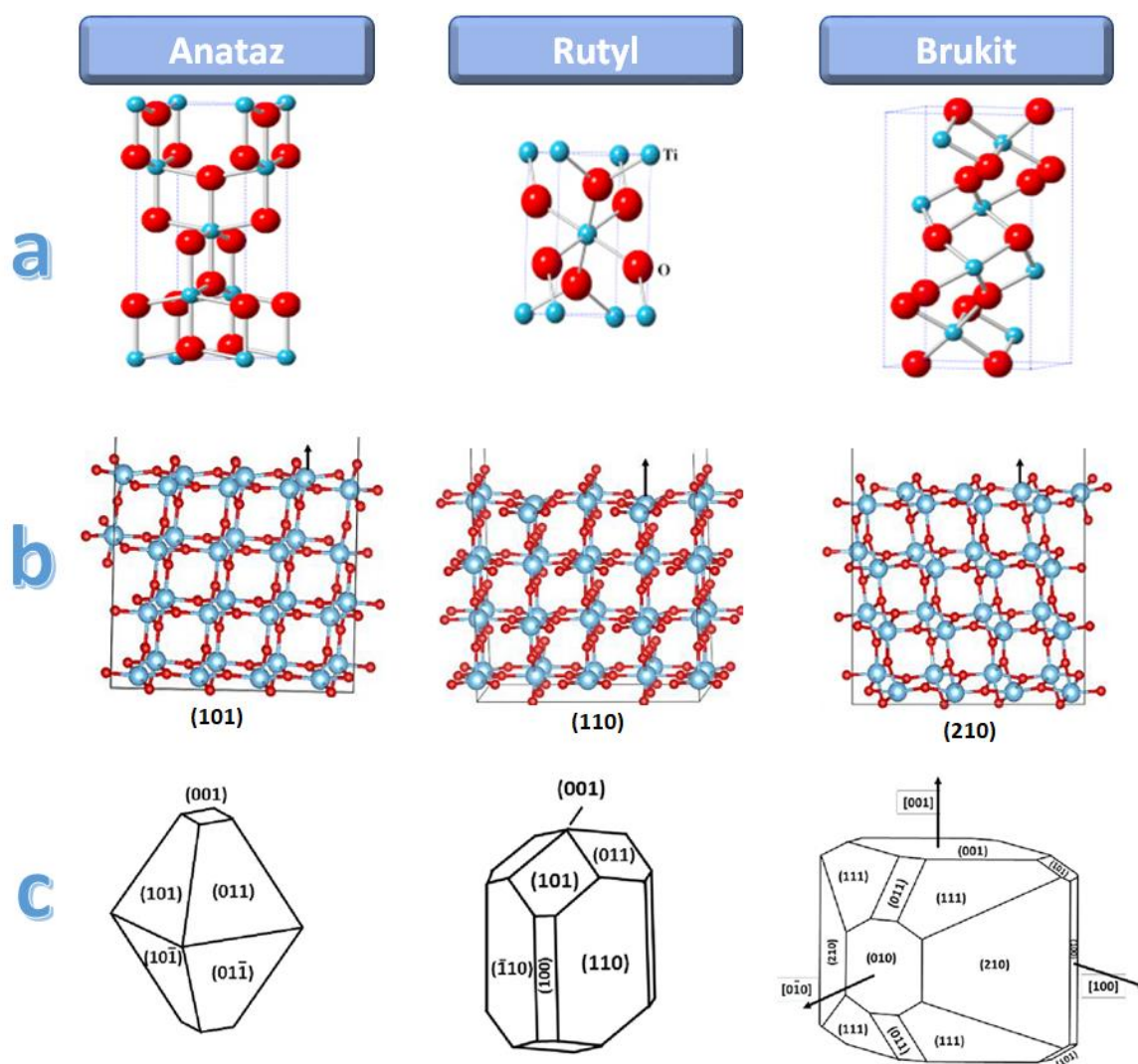
Nanorurki ditlenku tytanu to cylindryczne struktury rurowe o bardzo dużej powierzchni właściwej, które w zależności od metody wytwarzania mogą mieć postać sproszkowaną, zawieszonych w roztworze nanostruktur o niezdefiniowanym ułożeniu lub też występować w wysoce zorganizowanych strukturach zorientowanych prostopadłe do tytanowego podłoża (rysunek 1).



Rysunek 1. Zdjęcia SEM: (widok z góry) samoorganizującej się warstwy nanorurek TiO_2 wytworzonych w procesie anodowania (wstawka: widok z boku) (a), morfologia ścian TNT (b) [47].

Ditlenek tytanu jest najpowszechniejszym i najtrwalszym tlenkiem tytanu. Ma właściwości amfoteryczne i jest rozpuszczalny w wodzie. TiO_2 to nietoksyczny materiał, o dużej stabilności i odporności chemicznej, powszechnie znany jako pigment wykorzystywany ze względu na swoje właściwości kryjące, wzmacniające i rozjaśniające w farbách jako tzw. biel tytanowa. Występuje naturalnie w trzech odmianach polimorficznych: tetragonalnego rutylu i anatazu oraz rombowego brukitu (rysunek 2). Rutyl jest najbardziej stabilną postacią tego tlenku oraz najbardziej rozpowszechnioną w przyrodzie. Anataz powstaje w niższych temperaturach niż rutyl, natomiast brukit jest najrzadziej występującą formą TiO_2 . Brukit i anataz to odmiany metastabilne, które mogą przekształcić się w rutyl pod wpływem temperatury. Transformacja ta jest nieodwracalna i występuje w szerokim zakresie temperatur (od 300 do 1100°C). W strukturze krystalicznej tych trzech minerałów każdy jon tytanu Ti^{4+} jest otoczony sześcioma jonami tlenkowymi O^{2-} tworzącymi naroża oktaedrów TiO_6 . Wzajemne położenie oktaedrów budujących poszczególne odmiany polimorficzne TiO_2 jest różne. Mimo bardzo zbliżonej

długości wiązań Ti-O w anatazy i rutylu, kąty pomiędzy wiązaniami O-Ti-O w anatazy charakteryzują się większym zniekształceniem, w związku z czym struktura tlenku jest bardziej otwarta (rysunek 2). Najbardziej pożądanymi w zastosowaniach katalitycznych, fotokatalitycznych, czujnikowych oraz biomedycznych są anataz i rutyl [48-50].



Rysunek 2. Komórka elementarna (a), najbardziej stabilne termodynamicznie płaszczyzny (b) oraz równowagowy kształt kryształów (c) anatazu, rutylu oraz brukitu [48-50].

Wytwarzanie nanorurek TiO_2 w temperaturze pokojowej prowadzi najczęściej do otrzymania postaci amorficznej tlenku. Krystalizacja zachodzi pod wpływem obróbki cieplnej: w niższych temperaturach powstaje anataz, natomiast w wyższych - rutyl. TiO_2 jest półprzewodnikiem, tzn., że jego przewodnictwo ma charakter elektronowo-dziurowy. Przy występowaniu drobnych odstępstw od składu stechiometrycznego (poprzez obróbkę termiczną lub wprowadzaniu dodatkowych nośników prądu w postaci domieszek) można

uzyskać przewodnik typu n, który charakteryzuje przewodnictwo elektronowe (liczba elektronów w paśmie przewodnictwa przekracza liczbę dziur w paśmie walencyjnym) lub typu p (mający dziury jako nośniki większościowe). Istotnym parametrem charakteryzującym przewodnictwo elektryczne związków w stanie stałym jest szerokość przerwy energetycznej pomiędzy pasmem walencyjnym a pasmem przewodnictwa – tzw. pasmo wzbronione (ang. *band gap*). W przewodnikach pasmo przewodnictwa i walencyjne najczęściej w pewnym stopniu pokrywają, w półprzewodnikach szerokość przerwy wzbronionej może wynosić do około 3 eV, natomiast w izolatorach jest większa od 3 eV. Zestawienie wartości pasma wzbudzenia dla różnych postaci krystalicznych tlenków tytanu oraz pozostałe własności optyczne i elektryczne tych form przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Właściwości odmian krystalicznych ditlenku tytanu [3, 51].

	Rutyl	Anataz	Brukitt
Struktura krystaliczna	Tetragonalna	Tetragonalna	Rombowa
Stała sieci [nm]	A = 0,459 C = 0,296	A = 0,378 C = 0,951	A = 0,918 B = 0,545 C = 0,515
Grupa przestrzenna	<i>P42/mnm</i>	<i>/4₁/amd</i>	<i>Pbca</i>
Długość wiązań Ti-O [Å]	1,949 (4) 1,980 (2)	1,937 (4) 1,965 (2)	1,87 – 2,04
Kąt między wiązaniami O-Ti-O [°]	81,2 90,0	77,7 92,6	77,0 – 105,0
Gęstość [g/cm³]	4,13 – 4,26	3,79 – 3,84	3,99 – 4,11
Pasmo wzbronione [eV]	3,0	3,19	3,11
Twardość (wg skali Mohsa)	6,0 – 6,5	5,0 – 6,5	5,5 – 6,0
Względna przenikalność elektryczna	110 – 117	55	78

1.1. Budowa i właściwości TNT

Nanorurki TiO₂ charakteryzują się następującymi właściwościami:

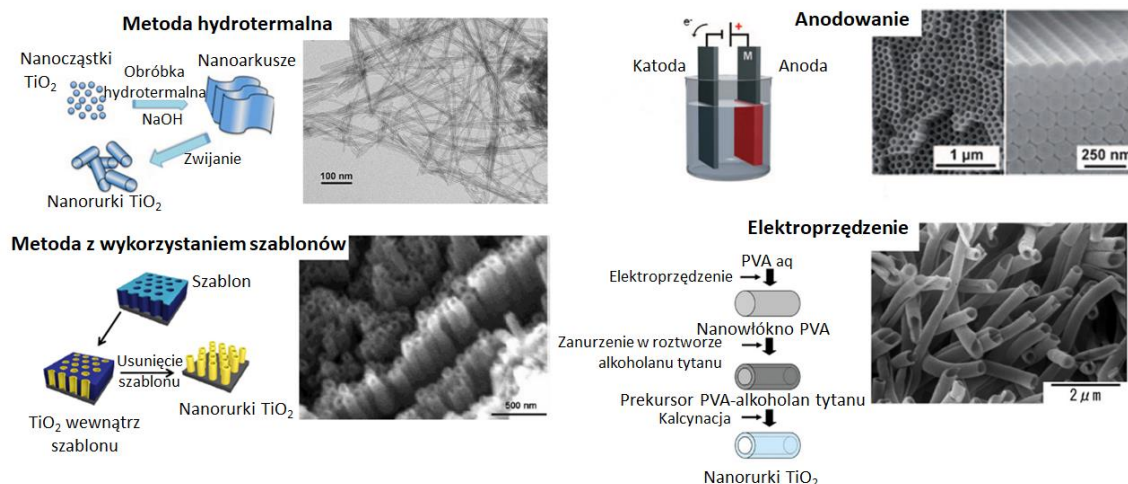
- wysoki współczynnik kształtu (stosunek wysokości nanorurek do średnicy zewnętrznej) oraz duże rozwinięcie powierzchni [52],
- wysoka absorpcja promieniowania UV, co przekłada się na wysoką aktywność fotokatalityczną [49, 52-54],

- działanie antybakteryjne [52],
- biokompatybilność [52-53, 55],
- dobre właściwości adsorpcyjne [53],
- hydrofilowość lub niemal superhydrofilowość – anataz ma bardziej hydrofilowy charakter od nanorurek amorficznych, a zwilżalność maleje wraz ze wzrostem temperatury wyżarzania, co wynika z utraty grup hydroksylowych z powierzchni TNT [53, 56],
- właściwości półprzewodnikowe [54],
- prostota i niskie koszty procesu wytwarzania oraz możliwość wytwarzania struktur o określonej morfologii poprzez zmianę parametrów anodowania [12-13],
- struktura amorficzna TNT posiada słabą stabilność termiczną i mechaniczną, natomiast struktura krystaliczna zapewnia nie tylko lepsze właściwości termiczne i mechaniczne, ale także ulepszone właściwości elektryczne, optyczne i katalityczne [50, 55, 57],
- moduł Younga nanorurek niewyżarzonych zawiera się w przedziale od 2 do 90 GPa, [57-60], dla nanorurek wyżarzonych w temperaturze 450°C w przedziale od 23 do 95 GPa [57, 59-63], a w 650°C wzrasta do od 72 do 105 GPa, [57, 59, 64], co jest bliskie modułowi Younga dla czystego tytanu (105-110 GPa) [65],
- twardość nanorurek zawiera się w przedziale od 0,7 GPa do nawet 10 GPa [57, 60, 63, 66-67] i zwiększa się wraz ze wzrostem temperatury wyżarzania [57, 59, 63, 68],
- międzyfazową wytrzymałość na ścinanie dla TNT niewyżarzonych oszacowano na 163,3 MPa, po wyżarzaniu w temperaturze 250°C na 370,2 MPa, a dla 400°C na 684,5 MPa, natomiast odporność na kruche pękanie szacuje się odpowiednio na: 0,996, 1,433 i 2,803 MPa·m^{1/2} [69].

W rzeczywistości wiele właściwości TiO₂ jest zależnych od występowania defektów sieci krystalicznej, w szczególności od obecności Ti³⁺, a także wakansów tlenowych. Przemianę amorficznego TiO₂ w materiał krystaliczny omówiono w podrozdziale 1.4.

1.2. Metody wytwarzania TNT

Do metod wytwarzania nanorurek ditlenku tytanu zalicza się technikę wykorzystującą szablony [70], hydrotermalną [71, 72], anodowanie [73] oraz elektroprzędzenie [74]. Rysunek 3 przedstawia schematycznie każdy ze sposobów syntezy wraz ze zdjęciami SEM/TEM typowej morfologii otrzymywanych struktur.



Rysunek 3. Zestawienie metod syntezy nanorurek TiO_2 wraz ze zdjęciami SEM/TEM typowych morfologii otrzymywanych nanostruktur [11].

Metoda hydrotermalna opiera się na kilkugodzinnej (do dwóch dni) obróbce proszków TiO_2 w szczelnie zamkniętym naczyniu zawierającym wysoko stężony roztwór (4-20 M) NaOH lub KOH, w temperaturze około 100–200°C. Traktowanie TiO_2 zasadą początkowo powoduje powstawanie nanoarkuszy, które ostatecznie przekształcają się w nanorurki poprzez zwijanie. Otrzymane proszki nanostruktur zwykle przemywa się wodą i roztworem HCl, a następnie odsącza się i suszy. Metoda ta prowadzi do wytworzenia nanorurek o niewielkich średnicach – do około 20 nm [6, 11, 12].

Szablony do tworzenia nanorurek mogą być molekułami o wysokim współczynniku kształtu (celuloza), micelami o pałeczkowatym kształcie lub zorganizowanymi nanostrukturami, tj. nanoporowate membrany z tlenku glinu. Po wprowadzeniu TiO_2 do matrycy (metoda zol-żel lub ALD - osadzanie warstw atomowych (ang. *atomic layer deposition*)) następuje jej usunięcie poprzez selektywne rozpuszczanie lub odparowywanie. W przypadku tej metody forma szablonu warunkuje końcowy efekt, tj. wymiary wytworzonych nanostruktur [11]. Metoda zol-żel opiera się na reakcjach

hydrolizy i kondensacji prekursorów, tj.: alkoholany Ti, TiCl_4 , TiF_4 do momentu powstania polimerowego łańcucha Ti-O-Ti, który podlegając dalszej kondensacji prowadzi do wzrostu gęstości połączeń tlen-metal, aż do chwili rozpoczęcia żelowania. Następnie TiO_2 wprowadza się do porów matrycy. W ALD powierzchnie szablonów można pokrywać warstwa atomowa po warstwie w cyklach, z których na każdy składają się cztery etapy: podanie prekursora (TiCl_4 , $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$), przedmuchiwanie komory gazem obojętnym w celu usunięcia produktów ubocznych reakcji oraz nieprzereagowanych resztek prekursora, podanie drugiego prekursora: wody oraz ponowne przedmuchanie komory gazem [11, 75].

Elektroprzędzenie to proces, w którym pole elektryczne jest wykorzystywane do rozprowadzania cienkiego strumienia polimeru w postaci nanowłókna. Schemat na rysunku 3 przedstawia powstawanie nanorurek przez elektroprzędzenie PVA (poli(alkohol winylowy)), a następnie zanurzenie włókien w roztworze zawierającym tetraizopropanolan tytanu (TTIP) w etanolu. Nanowłókna przemywa się świeżym etanolem, a powstały hybrydowy PVA-TTIP poddaje się kalcynacji w powietrzu w temperaturze 500°C , co powoduje selektywne usuwanie rdzeni PVA, w wyniku tego otrzymuje się pojedyncze nanorurki lub ich skupiska [11].

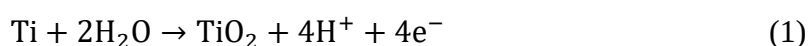
Powyższe metody albo nie nadają się do szybkiej produkcji, albo nie pozwalają na uzyskanie jednorodnych i pionowo zorientowanych nanorurek TiO_2 , ponieważ w ich przypadku otrzymuje się pojedyncze rurki lub aglomeraty rurek często o niejednakowej morfologii (długości i/lub średnicy) [6, 12, 11]. Ponadto metody, w których wykorzystuje się szablony są problematyczne z uwagi na konieczność ich usunięcia, co często powoduje uszkodzenie oraz zanieczyszczenie nanorurek. Żadna z powyższych metod nie zapewnia lepszej kontroli nad wymiarami nanorurek niż anodowanie tytanu w elektrolicie na bazie fluoru [6]. W przeciwieństwie do opisanych metod, anodowanie jest samoorganizujące: prowadzi do otrzymania uporządkowanego układu nanorurek TiO_2 z wysokim współczynnikiem kształtu zorientowanych prostopadle do powierzchni podłoża w jednoetapowym procesie w temperaturze pokojowej. Ponadto rurki są przymocowane do tytanowej folii, co zapewnia ich elektryczne połączenie i ułatwia dalszą obróbkę tych struktur [6, 12-13]. Zastosowanie anodowania pozwala na pokrycie dowolnego kształtu powierzchni tytanowych gęstą i zdefiniowaną warstwą nanorurek, a tym samym jest niezwykle wszechstronnym, łatwym do skalowania procesem strukturyzacji powierzchni [6, 12].

Anodowanie to proces, w wyniku którego na metalowej powierzchni tworzona jest warstwa mająca spełniać funkcję ochronną i/lub dekoracyjną. Zwykle zwiększa ono

zarówno wysokość jak i gęstość warstwy tlenkowej samorzutnie tworzącej się na powierzchni metalu wystawionego na działanie powietrza. W tym celu stosowane są układy dwuelektrodowe, w których element poddawany anodowaniu względem katody, którą zwykle jest elektroda platynowa. Tworzenie się warstwy tlenkowej na powierzchni anodowanej jest możliwe dzięki zastosowaniu odpowiedniego elektrolitu pod wpływem pola elektrycznego, w wyniku czego dochodzi do zainicjowania reakcji utleniania metalu. Ponieważ tlenki metalu częściowo rozpuszczają się we wszystkich elektrolitach, konieczne jest stosowanie takich podłoży, w przypadku których tlenek tworzy się szybciej aniżeli rozpuszcza w kąpeli elektrolitu. Skład elektrolitu warunkuje również charakter powstałego tlenku, bowiem warstwa może mieć różną morfologię - porowatą lub zwartą. Ta druga tworzy się w obojętnych lub lekko zasadowych roztworach, w których ditlenek tytanu jest w dużej mierze nierozpuszczalny. Natomiast porowate warstwy tlenków powstają w kwaśnych elektrolitach z jonami fluorkowymi lub chlorkowymi [13].

Typowa grubość ścianki nanorurki wytworzonej w procesie anodowania wynosi od 5 do 30 nm, wielkość porów od 20 do 350 nm, a wysokość od 0,2 do 1000 μm . Współczynnik kształtu definiowany jako stosunek wysokości nanorurki do średnicy zewnętrznej, który można kontrolować w zakresie od około 10 do około 20000 poprzez dobór odpowiednich zmiennych anodowania [13].

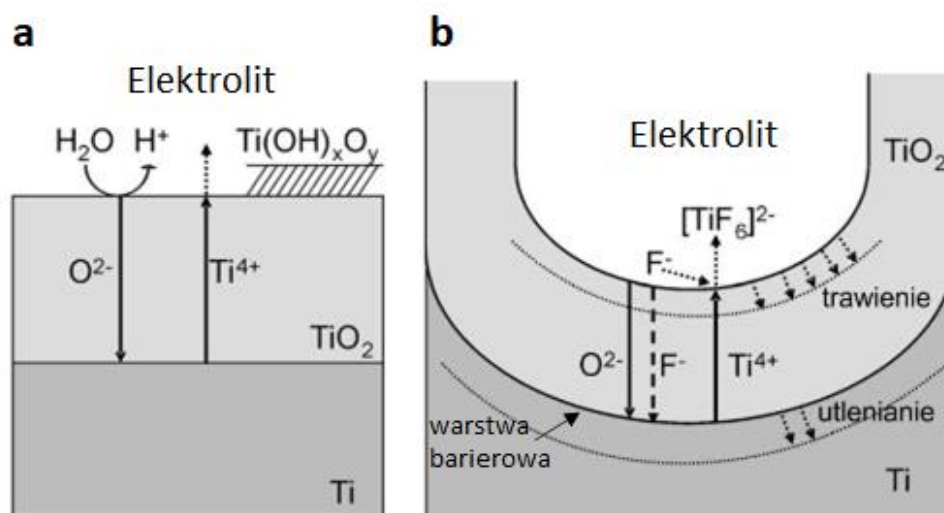
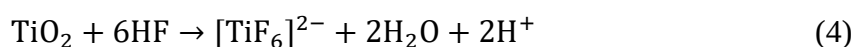
Anodowanie tytanu w elektrolitach niezawierających jonów fluorkowych, któremu towarzyszy wydzielanie wodoru na katodzie, opisują równania (1 i 2) [13]:



W początkowym etapie elektrony kierują się do dodatnio naładowanej elektrody - anody, w wyniku czego dochodzi do rozpuszczenia się powierzchniowej warstwy metalu, a więc uwalniania jonów tego metalu. Utleniony tytan reaguje z jonami O^{2-} pochodzącymi z wody. Dalsze tworzenie tlenku jest kontrolowane przez wspomagany polem elektrycznym transport jonów (O^{2-} i Ti^{4+}) (rysunek 4 a). Natężenie pola elektrycznego w tlenku jest stopniowo redukowane wraz ze wzrostem wysokości warstwy, co prowadzi do wykładniczego zaniku prądu elektrycznego, a w konsekwencji ustabilizowania się jego wartości, w wyniku czego następuje zatrzymanie wzrostu warstwy. Jeśli jony Ti^{4+} docierające do granicy faz tlenek/elektrolit nie tworzą związków rozpuszczalnych

w elektrolizie, w większości elektrolitów powstanie dodatkowo warstwa wodorotlenkowa. Warstwa ta jest zazwyczaj porowata i może utrudniać dyfuzję jonów [54].

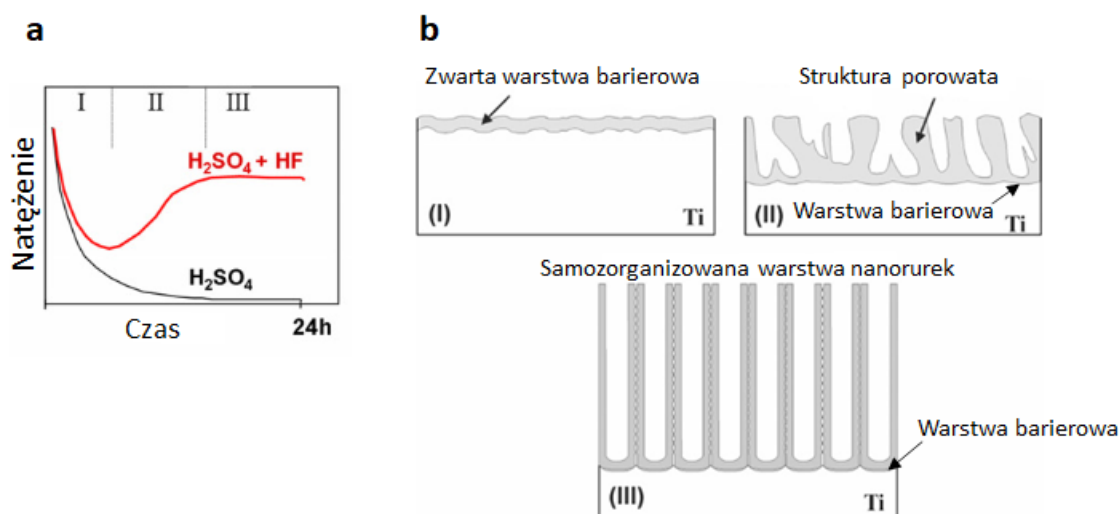
W przypadku elektrolitów zawierających jony fluorkowe tworzenie wodorotlenków $\text{Ti(OH)}_x\text{O}_y$ jest hamowane przez kompleksowanie się tych jonów z migrującymi ku powierzchni jonami Ti^{4+} zgodnie z równaniem (3) [54, 76]. Jony F^- konkurując z jonami O^{2-} migrują w głąb wytworzonej warstwy tlenkowej, co powoduje jej miejscowe rozpuszczanie zgodnie z równaniem (4):



Rysunek 4. Schematyczne przedstawienie anodowania tytanu w elektrolitach nie zawierających jonów fluorkowych (powstanie płaskich warstw zwartych) (a) i w obecności fluorków (powstanie warstwy nanorurek) (b) [54].

Proces ten schematycznie został przedstawiony na rysunku 4 b. W wyniku zajścia tych procesów zależność natężenie prądu-czas (rysunek 5 a) dla elektrolitu zawierającego fluorki odbiega od klasycznego przebiegu, jakim jest wykładniczy spadek natężenia prądu związany ze wzrostem wysokości wytworzonej warstwy w elektrolitach nie zawierających jonów fluorkowych. Proces ten można podzielić na 3 etapy, z których pierwszy, najkrótszy (podobnie jak ma to miejsce w elektrolizie bez jonów fluorkowych) jest związany z wykładniczym zmniejszaniem się natężenia prądu wraz ze wzrostem grubości tworzącej się zwartej warstwy barierowej (rysunek 5 b). Faza druga, w której obserwuje się wzrost

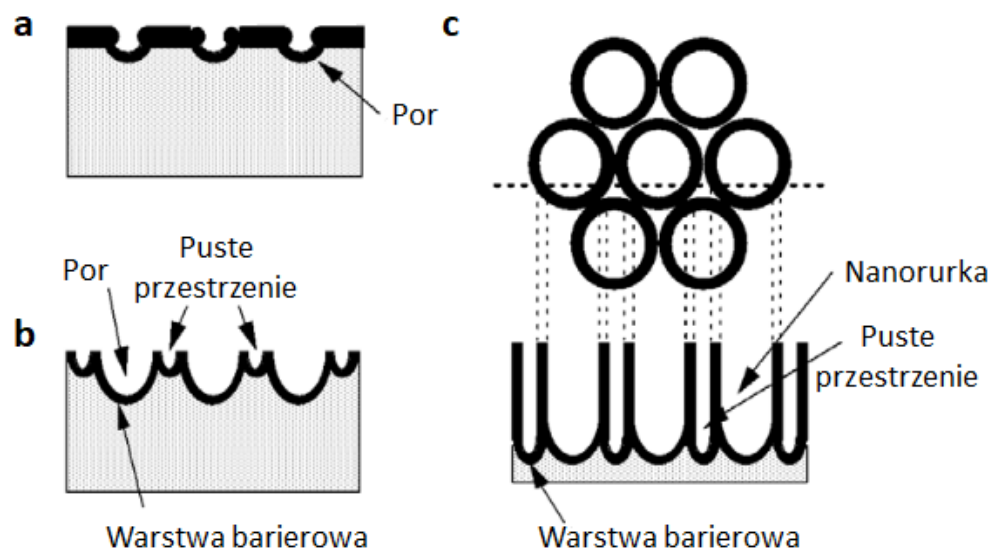
natężenia prądu (tym szybciej im wyższe jest stężenie fluorków) związana jest z interakcją jonów fluorkowych z warstwą tlenkową, które rozpuszczając ją powodują zarodkowanie porów. Wzrost wartości natężenia prądu przypisuje się zmniejszaniu wysokości warstwy tlenkowej na dnie porów, co z kolei powoduje wzrost natężenia pola elektrycznego w pozostałej objętości warstwy barierowej, wspomagając dalszy rozwój porów [77]. Warstwa barierowa stanowi powierzchnię elektrycznie izolującą, która graniczy z nanorurkami i podłożem tytanowym. W miarę trwania dochodzi do równomiernego rozdzielania prądu pomiędzy porami, ustala się ich samoczynne uporządkowanie, a cała struktura staje się bardziej regularna, aż do momentu uzyskania właściwego kształtu nanorurek w fazie trzeciej. Podczas tego etapu natężenie prądu osiąga quasi-stałą wartość. Długość nanorurek zwiększa się do momentu aż szybkość wzrostu porów zrówna się z szybkością rozpuszczania chemicznego górnej powierzchni nanorurek. Po osiągnięciu stanu równowagi wysokość nanorurek staje się niezależna od czasu trwania anodowania [53-54, 76-78].



Rysunek 5. Charakterystyczne przebiegi krzywych anodowych dla elektrolitu zawierającego i niezawierającego jony fluorkowe (a) oraz odpowiadające im etapy zmian morfologii nanorurek TiO₂ (b) [54].

W czasie pogłębiania się pierwszych porów w obszarach między porami dochodzi do zwiększenia natężenia pola elektrycznego inicjując tym samym wspomagany polem elektrycznym wzrost warstwy tlenku, przy jednoczesnym jego rozpuszczaniu przez jony

fluorkowe (rysunek 6). Stąd wraz z porami zaczynają tworzyć się puste przestrzenie międzyporowe, które wzrastają wraz wysokością tworzonych nanorurek [77].



Rysunek 6. Schemat powstawania przestrzeni pomiędzy nanorurkami: tworzenie się porów w warstwie tlenku (a), wzrost porów oraz powstawanie między nimi pustych przestrzeni (b), w pełni rozwinięta matryca nanorurek wraz z widokiem z góry (c) [77].

W 1999 roku Zwilling i wsp. po raz pierwszy opisali samoorganizujące się porowate nanostruktury TiO_2 powstałe w wyniku anodowania tytanu oraz stopu Ti6Al4V w kwaśnym elektrolicie ($\text{pH} = 2$), którego podstawowym składnikiem jest kwas chromowy z dodatkiem kwasu fluorowodorowego [79, 80], wkrótce potem, w 2001 roku, Gong i wsp. wytworzyli wysoce jednorodne matryce nanorurek TiO_2 poprzez anodowanie Ti w wodnym, rozcieńczonym elektrolicie HF [73]. Od tego czasu badania dotyczące anodowania były skupione głównie na doborze optymalnego elektrolitu, a także parametrów eksperymentalnych procesu utleniania elektrochemicznego. Wyniki tych badań wykazały, że strukturę i morfologię nanorurek, w tym ich średnicę, wysokość oraz grubość ścian można kontrolować dostosowując kluczowe parametry, takie jak skład/kształt podłoża tytanowego, rodzaj elektrolitu, jego pH i lepkość, temperatura, napięcie i czas anodowania [12]. Innymi słowy - kontrolując parametry anodowania można uzyskać różne struktury tlenku tytanu, takie jak zwarty tlenek, nieuporządkowana porowata warstwa, wysoce samoorganizująca się porowata warstwa lub wreszcie - wysoce samoorganizująca się warstwa nanorurek [12].

1.3. Aspekty technologiczne anodowego wytwarzania TNT

Jednym z kluczowych czynników wpływających na morfologię, a tym samym na właściwości nanorurek jest skład elektrolitu użytego do anodowania tytanu. Ze względu na rodzaj zastosowanego elektrolitu wyróżniono cztery generacje nanorurek TiO_2 [12-13]:

- 1) Nanorurki pierwszej generacji otrzymywane przy wykorzystaniu wodnych elektrolitów na bazie kwasu fluorowodorowego lub fluorku amonu oraz opcjonalnie z dodatkiem HNO_3 , H_2SO_4 , $\text{H}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, H_3PO_4 o stężeniu nie przekraczającym 1 M, jak również wytwarzane w prawie bezwodnym elektrolicie zawierającym kwas octowy z dodatkiem 0,5% wagowych NH_4F . Wadą anodowania w tego typu elektrolitach jest niemożność uzyskania nanorurek o wysokości przekraczającej 0,5 μm z uwagi na niskie pH roztworu, co powoduje roztwarzanie się powierzchni nanorurek mającej kontakt z elektrolitem.
- 2) Nanorurki drugiej generacji wytwarzane w wodnych roztworach buforowych o stężeniu do 1 M, tj.: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Na_2SO_4 , $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$, z niewielkim dodatkiem NH_4F oraz NaF .

Zastosowanie tego rodzaju elektrolitów spowodowało zwiększenie wysokości nanorurek do około 7 μm poprzez odpowiednią kontrolę pH elektrolitu, zmniejszając tym samym chemiczne rozpuszczanie TiO_2 podczas anodowania. Optymalne pH do tworzenia dłuższych nanorurek to pH 3 do pH 5, przy czym niższe pH umożliwia formowanie krótszych nanorurek o wysokiej czystości. Wyższe pH skutkowało otrzymaniem dłuższych rurek z niepożądanymi wytrąceniami/osadami. Alkaliczne roztwory nie sprzyjają tworzeniu się nanorurek.

- 3) Nanorurki trzeciej generacji uzyskane przy użyciu bezwodnego lub niemal bezwodnego polarnego elektrolitu organicznego, takiego jak formamid, N-metyloformamid, dimetylosulfotlenek, glicerol, glikol etylenowy lub glikol dietylenowy, z dodatkiem jonów fluorkowych (HF – zazwyczaj 1-6% wagowych lub NH_4F - do około 0,6% wagowych). Co ważne, przy tego typu elektrolitach można otrzymać nanorurki w bardzo szerokim zakresie napięć (od 10 do ponad 100 V) oraz czasie anodowania - od kilku do ponad 200 godzin. Kluczem do właściwego wzrostu długich matryc nanorurek jest utrzymanie zawartości wody poniżej 5% wagowych. W przypadku elektrolitów organicznych niewielka zawartość wody (jako źródła tlenu) ogranicza tworzenie się tlenków. Jednocześnie

powoduje to zmniejszenie chemicznego rozpuszczania tlenku (w roztworze elektrolitu zawierającym jony fluorkowe), co sprzyja tworzeniu się dłuższych nanorurek. W przypadku elektrolitów organicznych otrzymuje się regularne, szczelnie upakowane nanorurki o otwartych kanałach i gładkich ścianach zewnętrznych.

Podsumowując, poprzez odpowiedni dobór składu elektrolitu oraz czasu i napięcia anodowania dzięki tej grupie elektrolitów, możliwe jest wytworzenie nanorurek w bardzo szerokim zakresie wysokości (do ponad 2000 μm), średnicy zewnętrznej (od około 20 do prawie 300 nm) oraz grubości ścianek (od kilku do około 30 nm) [7, 13].

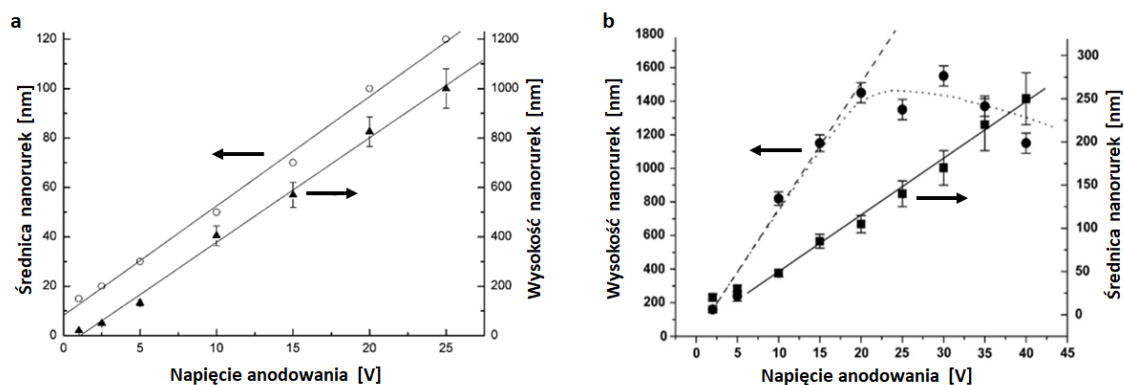
- 4) Czwartą generację zsyntetyzowanych TNT stanowią nanorurki wytworzone przy użyciu elektrolitów niezawierających fluorków, tj.: HClO_4 , kwas szczawiowy, mrówkowy, trichlorooctowy, glukonowy, chlorowodorowy o stężeniu nieprzekraczającym 0,5 M oraz kwas siarkowy o pH około 1,5 i zawartości do około 0,4 M NH_4Cl .

Powstałe nanorurki były niezwykle cienkie (do 40 nm) i długie (do 60 μm), zazwyczaj cechowały się dużym nieuporządkowaniem, a także słabym przytwierdzeniem do tytanowego podłoża.

Jak wspomniano wcześniej wysokość warstwy tlenkowej zależy od szybkości rozpuszczania warstwy anodowego ditlenku tytanu, która z kolei zależy od pH zastosowanego elektrolitu, a więc i stężenia jonów F^- i H^+ , ponieważ na dnie nanorurek występują silnie kwaśne warunki z powodu tworzenia się kompleksu heksafluorotytanu (reakcja (4)). W elektrolitach kwaśnych szybkość rozpuszczania tlenku jest większa (z uwagi na wspomniane zakwaszenie na dnie rurek) niż w elektrolitach obojętnych, stąd wysokość otrzymanej warstwy tlenku jest większa przy zastosowaniu tych drugich. Dlatego też, korzystne jest stosowanie niższych napięć dla elektrolitów kwasowych i wyższych dla elektrolitów organicznych [56, 76-77].

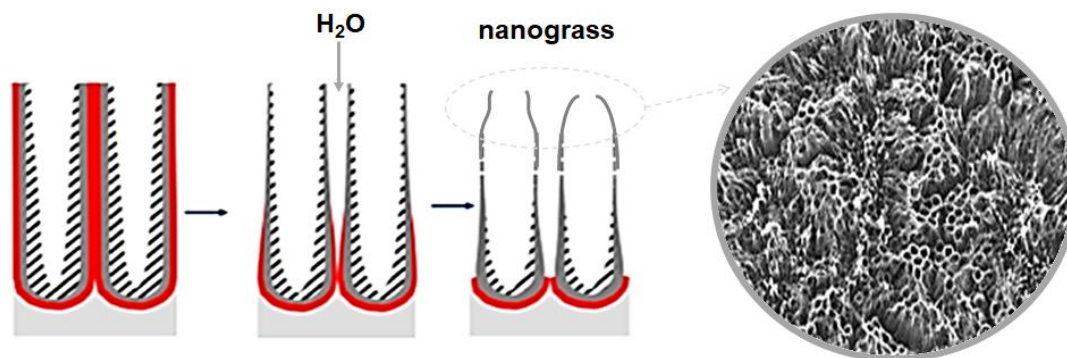
Napięcie anodowania jest istotnym czynnikiem wpływającym na średnicę oraz wysokość nanorurek. Jeśli napięcie jest zbyt niskie, warstwa TiO_2 staje się porowata, natomiast struktury gąbczaste otrzymuje się, gdy napięcie jest zbyt wysokie. W pewnym zakresie napięć obserwuje się liniowy wzrost średnicy oraz wysokości nanorurek. W elektrolitach wodnych zależność ta istnieje w zakresie od 10 do 25 V (rysunek 7 a), natomiast w elektrolitach organicznych liniowy wzrost średnicy nanorurek obserwowano

w zakresie potencjału od 2 do 40 V, natomiast ich wysokości do około 20 V, po czym dla wyższych potencjałów następowała jej stabilizacja (rysunek 7 b). Można to przypisać znacznemu zmniejszaniu się grubości ścian nanorurek i ostatecznie roztoparzaniu ich zewnętrznej części na skutek chemicznego rozpuszczania [4, 13, 52, 56, 81-83].



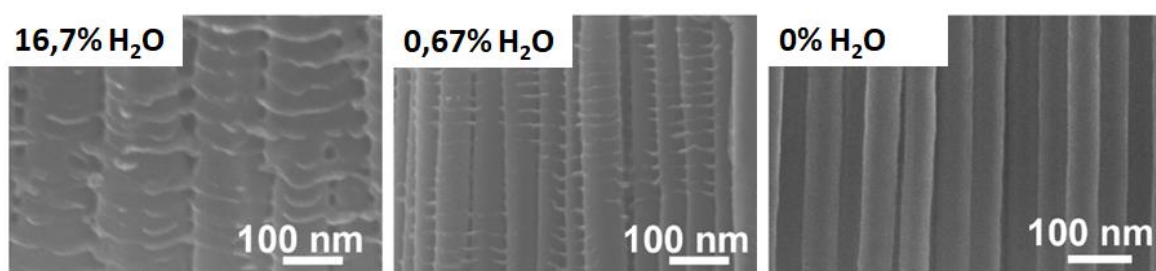
Rysunek 7. Wpływ napięcia anodowania na średnicę i wysokość nanorurek TiO_2 w 1 M kwasie ortofosforowym (V) z 0,3% wagowych HF (a) oraz roztworze wodnym glicerolu (1:1) z 0,27 M NH_4F (b) [82, 83].

Jak wcześniej wspomniano anodowy wzrost nanorurek odbywa się głównie w wyniku konkurencji reakcji (1) oraz reakcji (3) i (4). Chemiczne rozpuszczanie (reakcja (3)) prowadzi do trwałego zmniejszenia grubości ścian rurek w górnych ich częściach - graniczących z elektrolitem (rysunek 8), co w miarę trwania procesu zapobiega dalszemu wzrostowi nanorurek. W przeciwieństwie do elektrolitów organicznych, elektrolity wodno-fluorkowe wykazują wysoki stopień trawienia chemicznego tlenków. W rezultacie stan równowagi między wzrostem nanorurek a ich rozpuszczaniem jest osiągnięty w krótszym czasie i po tym etapie nie obserwuje się już wzrostu wysokości nanorurek. Rozpuszczanie chemiczne wierzchołków nanorurek powoduje powstanie w górnych ich partiach nieuporządkowanej warstwy cienkich struktur igłopodobnych zwaną „nanograss”, która może blokować część otworów nanorurek [4, 11, 83].



Rysunek 8. Schemat powstawania struktur igłopodobnych - „nanograss”, na powierzchni nanorurek TiO_2 .

Rysunek 9 pokazuje wpływ zawartości wody na morfologię ścian nanorurek. W przypadku elektrolitów bezwodnych powstają nanorurki o bardzo gładkich ścianach, podczas gdy nawet niewielki jej dodatek (0,67%) powoduje poprzeczne nierówności, a przy znacznej zawartości wody (16,7%) widoczne są charakterystyczne pierścienie, które tworzą „mostki” pomiędzy sąsiadującymi ze sobą rurkami [83], które sprawiają, że struktura jest znacznie bardziej stabilna mechanicznie [7]. Zaletą nanorurek wytwarzanych w wodnych elektrolitach jest wysoka adhezja tlenku do podłoża metalicznego, co skutkuje wzmocnieniem transportu elektronów w zastosowaniach, w których TNT wykorzystuje się jako materiał elektrodowy. Ponadto dowiedziono, że wraz ze zmniejszającą się ilością wody średnica rurki maleje natomiast wzrasta jej wysokość [83].

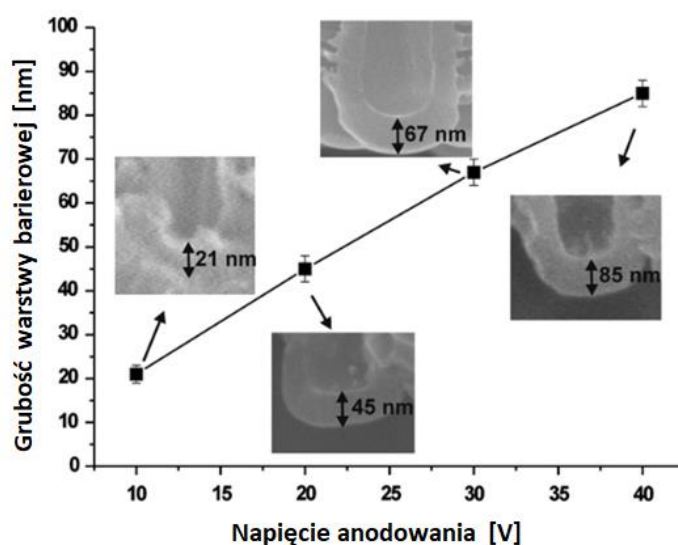


Rysunek 9. Wpływ zawartości wody 16,7%, 0,67% i 0% na morfologię ścian nanorurek TiO_2 wytwarzanych w roztworze wodnym glicerolu z 0,27 M NH_4F [83].

Obecność pofałdowania ścian bocznych została przypisana konkurencji między procesami wzrostu nanorurek i ich chemicznego rozpuszczania w części graniczącej z elektrolitem oraz występowaniu przestrzeni między nanorurkami (rysunek 8). Dlatego

też, tylko w przypadkach, w których zawartość wody jest ograniczona, to znaczy w przypadku elektrolitów organicznych, można wytworzyć wysoce uporządkowane macierze, ze względu na znacznie mniejszą tendencję do tworzenia się przestrzeni między nanorurkami w tych elektrolitach [11-12, 56].

W badaniach prowadzonych przez Macaka i wsp. [83] określono także zależność grubości warstwy barierowej pod nanorurkami od napięcia anodowania (elektrolitem był roztwór wodny glicerolu (1:1) z 0,27 M NH_4F). Zdjęcia SEM wykazały liniowy wzrost grubości warstwy barierowej (rysunek 10).



Rysunek 10. Wpływ napięcia anodowania na grubość warstwy barierowej [83].

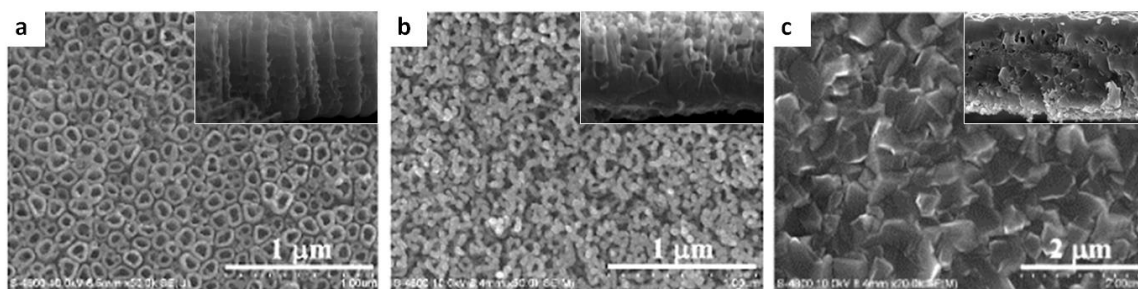
Wang i Lin [84] jako pierwsi porównali wpływ temperatury elektrolitu (kąpiel lodowa lub temperatura pokojowa) na szybkość wzrostu warstwy ditlenku tytanu oraz grubość ścianki nanorurek TiO_2 zarówno w elektrolicie wodnym, jak i bezwodnym. W elektrolicie wodnym (0,5 % wag. roztwór wodny kwasu fluorowodorowego) zaobserwowano jedynie nieznaczne zmniejszenie wewnętrznych średnic nanorurek, podczas gdy rozmiary średnic zewnętrznych pozostały niezmienione. W bezwodnym elektrolicie (glicerol z 0,25 % wag. fluorku amonu) zaobserwowano znaczny wzrost zewnętrznej średnicy nanorurek wraz ze wzrostem temperatury. Może to wynikać z niższej ruchliwości jonów fluoru w elektrolicie o podwyższonej lepkości w niższej temperaturze, co prowadzi do znacznie wolniejszego rozpuszczania nowo powstałego tlenku. Badacze

doszli więc do wniosku, że zwiększenie temperatury przyspiesza szybkość rozpuszczania chemicznego TNT, przez co może dochodzić do destabilizacji ich struktury.

1.4. Modyfikacja termiczna TNT

Amorficzny charakter większości materiałów, w tym nanorurek TiO_2 znacznie ogranicza liczbę ich potencjalnych zastosowań. Skryształizowana struktura zapewnia nie tylko lepsze właściwości termiczne i mechaniczne, ale także ulepszone właściwości elektryczne, optyczne i katalityczne [50]. Powstający w wyniku anodowania tlenek jest najczęściej amorficzny, jednak wydłużając czas anodowania w elektrolitach zawierających jony fluorkowe, może nastąpić przemiana do rutylu, podczas gdy w elektrolitach bez F^- uzyskuje się anataz [52, 56]. Jednak w przeważającej większości przypadków do otrzymania materiału o strukturze krystalicznej niezbędna jest obróbka termiczna. Skład fazowy i przewodnictwo nanorurek TiO_2 , zależą od temperatury oraz atmosfery wyżarzania. Krystalizacja bezpostaciowych nanorurek do anatazu następuje w temperaturze 280-300°C [56], podczas gdy rutyl najczęściej pojawia się już w temperaturze około 400-500°C i wraz ze wzrostem temperatury zwiększa się jego udział w strukturze. Przemiana anataz-rutyl może jednak zajść w szerokim zakresie temperatur, tj. 300-1100°C i jest to zależne od procedury przygotowania materiału, atmosfery wyżarzania oraz domieszek [4, 50, 85].

Wyżarzanie w temperaturze około 450-500°C nie powoduje zmian w morfologii nanorurek, jednak w temperaturze 600°C zaczynają się one deformować w miejscu styku z folią tytanową, po czym dochodzi do zapadnięcia struktury, w wyniku tego ulega ona także wyraźnemu skróceniu, co można przypisać wzrostowi fazy rutylu w warstwie barierowej. Faza ta cechuje się większymi krystalitami, a ich wzrost stopniowo łączy ściany nanorurek z jednoczesnym zapadnięciem się struktury. W temperaturze około 600°C obserwowane jest niekiedy niewielkie zmniejszenie średnicy i wysokości nanorurek oraz wzrost grubości ich ścian, co przypisuje się wzrostowi krystalitów w ścianach TNT. Dalszy ich wzrost w temperaturze 700-800°C powoduje całkowity zanik struktury rurowej pozostawiając posklejane ze sobą ziarna o nieregularnych kształtach, które w przeważającej części składają się z rutylu (rysunek 11) [4, 50, 56, 86, 87].

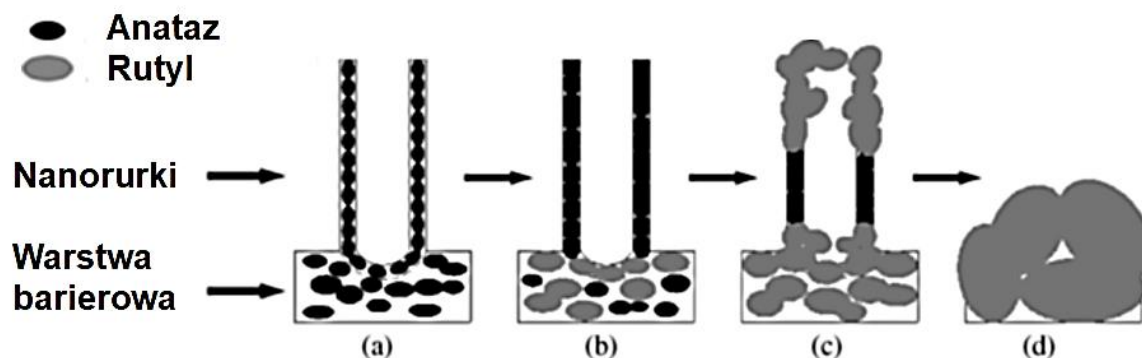


Rysunek 11. Morfologia TNT po wyżarzaniu w temperaturze około 500°C (a), 600°C (b) i 700°C (c) [86-87].

Przemiana fazowa anatazu w rutyl zachodzi najpierw na granicy faz między Ti a TNT, następnie wraz ze wzrostem temperatury w górnej części nanorurek, a ostatecznie w pozostałej ich objętości. Wraz ze wzrostem temperatury obserwuje się wzrost krystalitów anatazu i rutylu, co może skutkować zniszczeniem struktury rurowej i utworzeniem grubej warstwy rutowej (rysunku 12) [50, 86, 88-89].

Należy jednak zaznaczyć, iż temperatury zajścia wspomnianych przemian powinno się traktować umownie, ponieważ opisane zmiany struktury nanorurek zależą od wielu czynników [4, 90]:

- temperatura wyżarzania, przy czym:
 - im większa średnica nanorurek, tym nanorurki są bardziej stabilne na niszczące działanie temperatury [87],
 - im większa ich wysokość, tym w wyższej temperaturze zachodzi przemiana anataz-rutyl [91],
- atmosfera wyżarzania – szybsze zajście przemiany anataz-rutyl następuje w atmosferze gazu redukującego [50],
- rodzaju elektrolitu – przemiana anataz-rutyl zachodzi szybciej dla nanorurek wytworzonych w elektrolitach organicznych [92],
- grubość folii – im cieńsza folia Ti, tym szybciej nagrzewa się ona w całej objętości, a zatem szybciej zachodzi krystalizacja struktury [93].



Rysunek 12. Schemat krystalizacji nanorurek TiO_2 [86].

Rutyl jest uważany za fazę stabilną termodynamicznie, jednak wiele badań eksperymentalnych i teoretycznych, wykazało, że w nanoskali najbardziej stabilną fazą jest anataz i przechodzi on w rutyl przy rozmiarach kryształitów większych od 14 nm [91]. Według Varghese i wsp. [94] biorąc pod uwagę ograniczenia, które determinuje grubość ścian TNT oraz stabilność kryształitów anatazu o rozmiarze mniejszym niż 14 nm, jest prawdopodobne, że anataz w ścianach TNT nie ulegnie przemianie nawet w temperaturze 500-600°C [95-97].

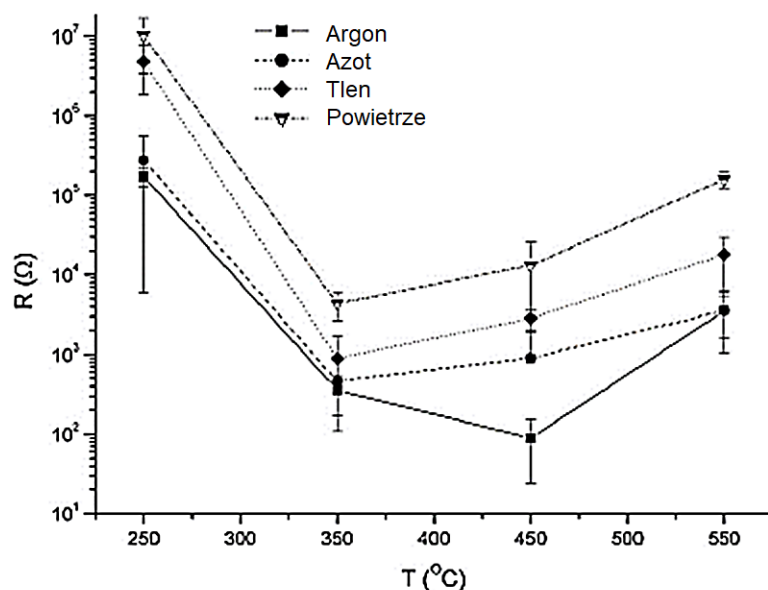
Obróbka termiczna powoduje nie tylko konwersję amorficznych TNT do anatazu i rutylu, ale także termiczne utlenianie warstwy tlenkowej (barierowej) pomiędzy nanorurkami a folią tytanu, co jest wynikiem bezpośredniej przemiany tytanowego podłoża do rutylu. Taka warstwa rutylu pod nanorurkami może niekorzystnie wpływać na ich zastosowanie jako materiału elektrodowego [52, 98]. Badania Albu i wsp. [98] dowiodły, że po wyżarzaniu w powietrzu w tych samych warunkach warstwa barierowa ditlenku tytanu pod nanorurkami jest ponad dwukrotnie grubsza niż warstwa na folii tytanowej bez nanorurek wyżarzonej (tabela 2). Berger i wsp. [52] podają, że wraz ze wzrostem temperatury wyżarzania wzrasta grubość warstwy barierowej, a po wyżarzaniu w atmosferze tlenowej może osiągać grubość wysokość rzędu kilku mikrometrów. Różnice w grubości tlenku przypisuje się obecności jonów fluorkowych w warstwie TNT oraz ich brakiem w strukturze Ti [98].

Tabela 2. Grubość warstwy tlenkowej pod nanorurkami TiO_2 oraz na nieanodowanych powierzchniach tytanowej folii po procesie wyżarzania [98].

Warunki wyżarzania	Grubość warstwy tlenkowej na tytanie bez TNT [nm]	Grubość warstwy tlenkowej pod nanorurkami [nm]
350°C, 3h, 1°C/s	około 20 (rutyl)	około 50 (rutyl)
450°C, 3h, 1°C/s	około 50 (rutyl)	około 140 (rutyl)

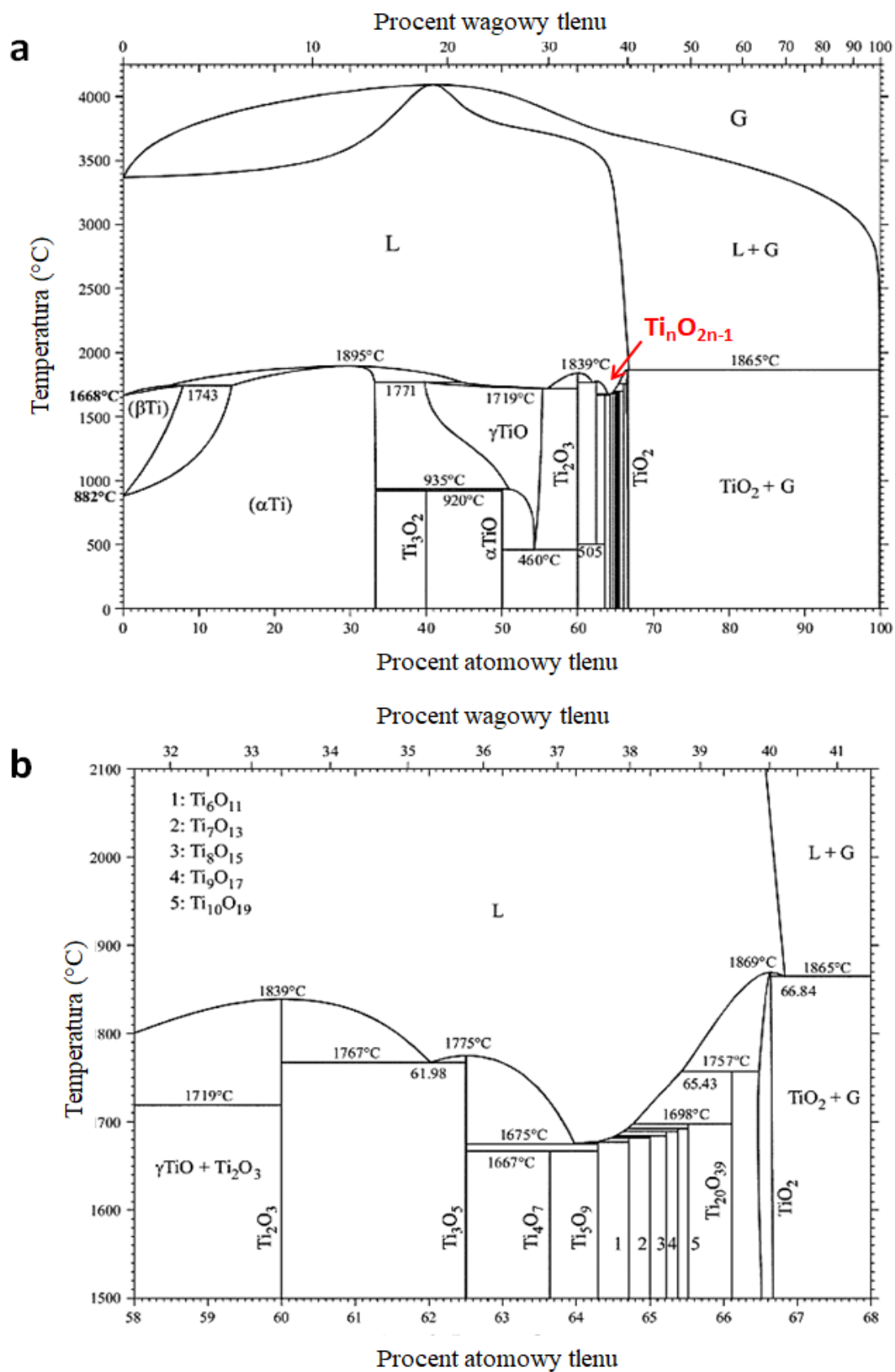
Jony fluorkowe są usuwane z warstwy anodowej podczas obróbki termicznej [52, 54, 90, 99], a im mniejsza wysokość uformowanego tlenku, tym niższa temperatura potrzebna do całkowitego ich usunięcia [88-89]. Amorficzne TNT zawierają zazwyczaj także powierzchniowe grupy wodorotlenowe, których ilość jest redukowana poprzez wyżarzanie [54, 90, 100]. Ponadto w przypadku zastosowania elektrolitu organicznego struktura TiO_2 może zawierać niewielką ilość węgla, który podobnie jak fluor oraz OH^- jest usuwany w wyniku modyfikacji termicznej [52, 90].

Wyżarzanie skutkuje zmniejszeniem rezystancji nanorurek TiO_2 , co wynika z konwersji Ti^{4+} do Ti^{3+} i powstawania wakansów tlenowych. Wyżarzanie w argonie skutkuje większą ochroną ich struktury niż w atmosferach zawierających tlen, ponadto generuje więcej wakansów tlenowych w TNT (rysunek 13). Udowodniono również, że zastosowanie atmosfery beztlenowej przy wyżarzaniu może przyspieszyć przemianę anataz-rutyl i obniżyć temperaturę jej zajścia [85, 101]. Nanorurki amorficzne charakteryzują się najmniejszą przewodnością elektryczną (rysunek 13). W temperaturze około 300°C konwersja do anatazu powoduje znacznie wyższą przewodność TNT. W temperaturze około 450°C obserwowany jest początek tworzenia rutylu. Zwykle wraz ze wzrostem czasu wyżarzania uzyskuje się lepiej skryształizowane struktury. W temperaturach wyższych niż 500°C anataz jest w coraz większym stopniu przekształcany w bardziej oporny rutyl, co prowadzi do znacznego zmniejszenia się przewodności [52].



Rysunek 13. Wpływ atmosfery i temperatury wyżarzania na rezystancję nanorurek TiO₂ [102].

Zastosowanie atmosfery gazu redukującego (np. argon, azot) jest w stanie wywołać częściową redukcję TiO₂ do Ti_nO_{2n-1} ($4 \leq n \leq 10$), znanych jako fazy Magnelliego, które mają bardzo interesujące właściwości. Utworzony zredukowany materiał w obszarze przypowierzchniowym, wykazuje bardzo wysoką przewodność, ponieważ Ti³⁺ jest związkiem będącym donorem elektronów zlokalizowanym w pobliżu pasma przewodnictwa TiO₂. Dla przykładu Ti₄O₇ zawiera trzy ośmiościany TiO₂ i jeden oktaedr TiO z wakansem tlenowym [50-52, 103]. Rysunek 14 a przedstawia wykres fazowy tytan-tlen w funkcji temperatury wyżarzania z zaznaczonym obszarem występowania faz Magnelliego Ti_nO_{2n-1}, natomiast na rysunku 14 b pokazano powiększenie tego wykresu fazowego w obszarze od 58 do 68 procent atomowych tlenu.

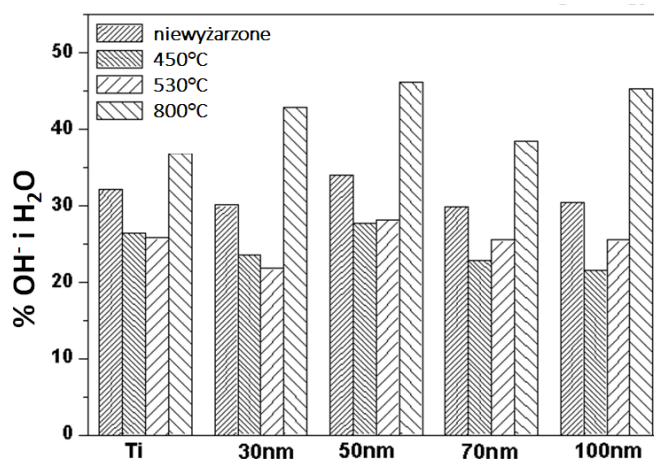


Rysunek 14. Wykres fazowy tytan-tlen w funkcji temperatury wyżarzania [104].

Ponieważ anataz wykazuje najwyższą ruchliwość elektronów, jest to na ogół najbardziej pożądana struktura krystaliczna do wielu zastosowań wymagających dobrej przewodności elektrycznej [11]. Oporność właściwa w zakresie $6,7 \cdot 10^{-2} \Omega \cdot m$ dla nanorurek anatazowych, i $2,7 \Omega \cdot m$ dla TNT składających się z około 10% rutyłu plasuje je na równi z opornością właściwą charakterystyczną dla półmetali. Dla porównania amorficzne nanorurki TiO_2 charakteryzują się rezystywnością na poziomie $2,2 \cdot 10^5 \Omega \cdot m$, natomiast amorficzna zwarta warstwa tlenkowa - $10^8 \div 10^{11} \Omega \cdot cm$, co jest zbliżone do rezystywności charakterystycznej dla izolatorów [103, 105].

Podsumowując, poprzez wyżarzanie można nie tylko kontrolować skład fazowy struktur TNT, ale także ich przewodnictwo, które można zwiększać w zakresie kilku rzędów wielkości, co jest bardzo atrakcyjne przy zastosowaniu TNT jako podłoża czujnika oraz w innych zastosowaniach elektrochemicznych, gdzie wymagane jest zarówno dobre przewodnictwo, jak i odporność chemiczna [50, 52].

Odrębnym zagadnieniem w kontekście składu fazowego TNT jest jego wpływ na hydrofilowość oraz właściwości adsorpcyjne TNT. Badania Huang i wsp. [87] wykazały, że w porównaniu do amorficznych TNT stosunek grup $Ti-OH$ i zaadsorbowanej wody zredukował się w przypadku próbek wyżarzanych w niższych temperaturach ($450-530^\circ C$), ale znacznie wzrósł dla próbek wyżarzanych w temperaturze $800^\circ C$ (rysunek 15). Zmniejszony stosunek grup hydroksylowych i wody przypisano transformacji fazy amorficznej do anatazu, natomiast większą ich ilość w temperaturze $800^\circ C$ powiązano z przewagą fazy rutyłu w strukturze TNT. W wyniku tych różnic w uwodnieniu zmniejszoną adhezję i aktywację płytek krwi obserwowano w przypadku amorficznych i rutyłowych TNT, podczas gdy TNT w większości złożone z fazy anatazu aktywowały tworzenie sieci fibrynowej. Można więc stwierdzić, że bardziej uwodnione warstwy powodują zmniejszenie obszaru kontaktu pomiędzy badanymi substancjami, a tym podłożem. Ponadto udowodniono, że faza anatazu sprzyja formowaniu się i wzrostowi warstwy hydroksyapatytu ze względu na lepsze dopasowanie ich sieci krystalicznych [88, 106]. Raffaini i Ganazzoli [107] za pomocą dynamiki molekularnej, wykazali natomiast że anataz prowadzi do najsilniejszej adsorpcji, zarówno albumin, jak i fibronektyny z uwagi na bardziej otwartą (w porównaniu do rutyłu) topologię sieci krystalicznej, która zapewnia większą liczbę miejsc wiązania białek.



Rysunek 15. Wpływ temperatury wyżarzania na ilość grup OH^- i wody w warstwie powierzchniowej tytanu oraz nanorurek TiO_2 o różnych średnicach [87].

Dodatkowo badania Yu i wsp. [108] wykazały większą adhezję komórek preosteoblastycznych linii MC3T3-E1 do nanorurek o średnicy w zakresie od 20 do 70 nm w porównaniu do TNT o większych średnicach. W przypadku mezenchymalnych komórek macierzystych (hMSCs) średnicę 50 nm uznano za punkt graniczny, poniżej którego znacznie zmniejsza się adhezja tych komórek [109]. Z drugiej strony Kulkarni i wsp. [110] wykazali, że w największej ilości białka osocza adsorbują na powierzchni nanorurek o średnicy 100 nm, następnie 50 nm, a na końcu - 15 nm z uwagi na możliwość ich wnikania do wnętrza nanorurek o większych średnicach, jak i do przestrzeni pomiędzy nimi, podczas gdy w przypadku TNT o mniejszych średnicach białka koncentrowały się głównie na powierzchni podłoża.

1.5. Wpływ nanocząstek srebra na właściwości TNT

Obok modyfikacji termicznej, wprowadzanie innych pierwiastków do struktury TNT jest równie powszechne w celu poprawy właściwości elektrycznych, optycznych lub chemicznych nanorurek TiO_2 [52]. W ostatnich latach wiele zespołów badawczych podjęło próby modyfikacji powierzchni TNT, co poskutkowało poszerzeniem obszaru ich zastosowań.

Badania nad nanocząstkami srebra zarówno występujących w formie wolnej, jak i w postaci kompozytu z TNT wciąż skupiają się przede wszystkim na ich zastosowaniu dezynfekcyjnym, z uwagi na to, iż srebro ma najlepsze działanie przeciwwgrzybicze,

przeciwbakteryjne, a nawet przeciwwirusowe [111-112]. Wyższość AgNPs nad antybiotykami stanowi fakt, że jest mało prawdopodobne, aby drobnoustroje uodporniły się na AgNPs, jak to ma miejsce w przypadku konwencjonalnych antybiotyków o wąskim działaniu, ponieważ zaburzają one funkcjonowanie mikroorganizmów na wielu płaszczyznach [113-114]. AgNPs wykazują swój potencjał przeciwdrobnoustrojowy dzięki wielopłaszczyznowym mechanizmom, które do chwili obecnej nie są w pełni poznane, jednak badacze doszukują się podobieństwa ich działania do sposobu działania jonów srebra. Mowa więc o uwalnianiu Ag^+ , wnikanii do wnętrza drobnoustrojów i łączeniu się z grupami tiolowymi, co może powodować denaturację białek bakterii, a więc i utratę pełnionych przez nie funkcji [115-116]. Kolejnym mechanizmem jest generowanie reaktywnych form tlenu (ang. *reactive oxygen species*) oraz zakłócanie procesu sygnalizacji (ang. *quorum sensing*) jako głównej ścieżki komunikacji bakteryjnej na skutek czego może dochodzić do lizy i śmierci komórek. AgNPs wykazują także większą skłonność do reagowania ze związkami zawierającymi fosfor, takimi jak DNA, przez co mogą zaburzać jego replikację i rekombinację [112-113].

Na skuteczność bójącą AgNPs ma wpływ wiele czynników, tj. rozmiar – im mniejsze nanocząstki, tym lepsze działanie biobójcze [117], kształt - trójkątne nanopłytki wykazywały najsilniejsze działanie biobójcze w porównaniu z nanocząstkami kulistymi i pręcikowymi (*rod-shape*) czy jonami Ag^+ [113] oraz stosunek powierzchni do objętości, którego niewielka wartość może być związana z aglomeracją nanocząstek, co jest zjawiskiem niekorzystnym [118]. Ustalono również, że obecność płaszczyzny sieciowej o dużej gęstości atomów, takiej jak (111) wiąże się z silniejszym działaniem biobójczym w stosunku do form (100) [113]. Badania Li i wsp. [119] wskazują, że to anataz wykazuje najwyższą aktywność przeciwbakteryjną. Większy wpływ ma na nią również średnica nanorurek, a nie ich wysokość. Z tego względu opracowywane są innowacyjne implanty tytanowe lub ze stopów tytanu z AgNPs. Obszerny przegląd autorstwa Coman i wsp. podsumowuje właściwości antybakteryjne kompozytu AgNPs/TNT oraz bardzo drobiazgowo opisuje mechanizm tego działania [120]. Wiele badań wskazuje również na aktywność przeciwnowotworową [121] oraz toksyczne, a ponadto wybiórcze działanie AgNPs na komórki nowotworowe płuc [122], jajnika [123] oraz piersi [112, 124].

AgNPs oprócz silnego działania antydrobnoustrojowego wykazują również powierzchniowy rezonans plazmonowy oraz bardzo często są wykorzystywane do poprawy właściwości katalitycznych i fotokatalitycznych TNT. Najwyższą fotoaktywność obserwuje się dla cząstek o średnicach od 1 do 10 nm [125-129]. Wykazano również, że

nanorurki TiO_2 z AgNPs mają znacznie wyższą aktywność fotochromową [130]. Materiały fotochromowe mają duży potencjał do wykorzystania w wyświetlaczach o dużej skali i optycznych magazynach pamięci.

Powszechnie wiadomo, że srebro ma najwyższą przewodność elektryczną wśród metali. Wykazano, że nanosrebro charakteryzuje się lepszym przewodnictwem elektrycznym w porównaniu do zwykłych folii srebrnych [131] w związku z tym w literaturze odnotowano wiele prób użycia nanosrebra do poprawy przewodności elektrycznej [26-28, 132]. Udowodniono, że jego dodatek do TNT może powodować powstawanie wakansów tlenowych [133], jednak do chwili obecnej opracowano niewiele czujników opartych na kompozycie AgNPs/TNT [29-31, 134].

Metody syntezy nanosrebra można podzielić na: chemiczne, fizyczne oraz biologiczne. Obecnie bardzo szybko rozwijają się metody biologiczne, szczególnie przy wykorzystaniu wytworzonych nanocząstek w zastosowaniach biomedycznych. Metody te nazywane są „zieloną chemią”, a nanocząstki syntetyzuje się przy użyciu drożdży, grzybów oraz bakterii [135]. Największą jednak popularność zyskały metody redukcji chemicznej [135-136] oraz fotoredukcji [130]. Jako prekursor srebra najczęściej wykorzystywany jest azotan(V) srebra (AgNO_3) (około 83% wszystkich syntez), rzadziej octan, nadchloran czy siarczan srebra(I) i inne. Popularność zastosowania AgNO_3 przypisuje się jego niskiej cenie i stabilności chemicznej w porównaniu z pozostałymi solami srebra. Środkiem redukującym mogą być: cukry proste (glukoza, galaktoza), disacharydy (maltoza, laktoza), metanol, etylen, glikol etylenowy, borowodorek sodu, askorbiniany oraz cytryniany, przy czym zastosowanie silnych reduktorów (borowodorek sodu) prowadzi do otrzymania małych cząstek, natomiast słabych (kwas askorbinowy) – dużych cząstek. Najpopularniejszy w tej grupie jest borowodorek sodu (~23%) oraz cytrynian sodu (~10%), co w sumie stanowi około 33% wszystkich syntez, w wyniku których powstają cząstki o ujemnym ładunku powierzchniowym w zakresie pH od 3 do 10. Najczęściej wybieranymi stabilizatorami są poliwinylpirolidon oraz cytrynian sodu. Spośród rozpuszczalników organicznych i nieorganicznych najczęściej wykorzystywana jest woda (80% procesów), a w drugiej kolejności etanol [137]. W przypadku fotoredukcji czynnikiem redukującym jony Ag^+ jest promieniowanie UV. Wielkość nanocząstek jest kontrolowana przez regulację parametrów tj. temperatura, pH, dobór reagentów oraz ich stężenia [128, 138-143].

Podstawowy problem chemicznych i biologicznych metod syntezy to konieczność użycia kosztownych i często toksycznych odczynników w postaci reduktorów,

stabilizatorów i innych substancji pomocniczych (których pozostałości po procesie stanowią zanieczyszczenia AgNPs), a więc i wieloetapowość tych procesów. Ponadto wykazano, że otrzymywane nanocząstki aglomerują łatwiej, gdy są zawieszone w roztworze. Z tego względu zaczęto je osadzać na różnych podłożach, takich jak tlenki metali [144]. Stabilność nanocząstek na nanorurkach TiO_2 przypisywano silnemu oddziaływaniu pomiędzy tymi strukturami [145]. W dalszym ciągu jednak wiele prac przedstawia nanosrebro na TNT w postaci nanoprzewodów, nanostruktur dendrytycznych, czy też fraktalnych (często w wyniku aglomeracji) o bardzo niejednorodnej, nierównomiernej, chaotycznej dyspersji [35-36], która utrudnia możliwość aplikacji tych kompozytów w wielu zastosowaniach. Problemy takie występują znacznie rzadziej w przypadku bezpośredniego wytwarzania nanocząstek Ag na TNT metodami fizycznymi, czy też foto- i elektrochemicznymi [35-36, 45, 146-148]. Poza tym ich przewagą jest konieczność zastosowania jedynie prekursora nanocząstek srebra, bez innych substancji pomocniczych. W tabeli 3 przedstawiono zestawienie metod wytwarzania i osadzania AgNPs na TNT wraz z ich krótką charakterystyką.

Tabela 3. Zestawienie metod wytwarzania AgNPs na TNT.

Metoda	Wnioski	Bibl.
Redukcja chemiczna, Zanurzenie TNT w roztworze koloidu AgNPs, elektrodepozycja	Wieloetapowość, niejednorodny rozmiar i aglomeracja AgNPs	29
Redukcja chemiczna, Zanurzenie TNT w roztworze AgNPs	Konieczność użycia wielu odczynników, długotrwały, trudny do kontrolowania proces, aglomeracja AgNPs	125
Redukcja chemiczna, Zanurzenie TNT w roztworze AgNPs	Konieczność użycia wielu odczynników, długotrwały, trudny do kontrolowania proces	149
Synteza wspomagana mikrofalami w podwyższonej temperaturze	Konieczność użycia wielu odczynników i podwyższonej temperatury	150
Fotoredukcja	Niejednorodny rozmiar i kształty AgNPs, długotrwały proces, wysoka czystość AgNPs	151
Elektrodepozycja	Krótkotrwały, jednoetapowy proces, wysoka czystość AgNPs	152
Napylanie próżniowe	Krótkotrwały proces, wysoka czystość AgNPs	153

Podsumowując, na podstawie tabeli 3 można wykazać, że w większości przypadków metody foto- i elektroredukcji oraz napylania próżniowego umożliwiają wytworzenie

nanocząstek srebra o wysokiej czystości w sposób szybki na drodze jednoetapowego procesu. Elektroosadzanie to technika, której atrakcyjność wynika w dużej mierze z łatwości, z jaką można zarządzać kierunkiem wzrostu nanomateriałów za pomocą różnych parametrów, takich jak warunki prądowe, czas i skład roztworu [154]. Odnosi się to również do metody fotoredukcji oraz napyłania próżniowego, które w porównaniu z metodami „chemii mokrej” pozwalają na otrzymanie cząstek o wysokiej czystości przy precyzyjnej kontroli ich rozmiaru poprzez dostosowanie warunków eksperymentalnych, takich jak stężenie roztworu i czas dla fotoredukcji oraz natężenie prądu i czas dla napyłania próżniowego. Ponadto metody te zapewniają bezpośredni kontakt elektryczny AgNPs z powierzchnią TNT. Pomimo wszechstronności tych procesów osiągnięcie jednorodności wymiarowej AgNPs pozostaje w dalszym ciągu wyzwaniem [136].

1.6. Obszary zastosowań TNT

W ciągu ostatnich lat samoorganizujące nanostruktury TiO_2 były szeroko badane w celu ich zastosowań, takich jak: ogniwa fotowoltaiczne, fotokataliza i kataliza (degradacja zanieczyszczeń, oczyszczanie ścieków, rozszczepianie wody, powłoki samoczyszczące) oraz w urządzeniach wykorzystujących transfer jonów (baterie, urządzenia elektrochromowe). Z uwagi na ich właściwości optyczne wykorzystuje się je również do ochrony przed promieniowaniem UV. Zarówno tytan, jak i jego stopy są uważane za najbardziej biokompatybilne materiały metaliczne w porównaniu ze stałą nierdzewną czy stopami kobaltu, niklu i chromu, ze względu na niewielkie uwalnianie jonów w kontakcie z płynami ustrojowymi, niski moduł sprężystości i stosunkowo wysoką wytrzymałość, a także odporność na korozję. Biokompatybilność tytanu wynika z jego wysokiej reaktywności z tlenem, ponieważ gdy jest on wystawiony na działanie powietrza na jego powierzchni w sposób naturalny powstaje chemicznie stabilna pasywna warstwa tlenku, która zapobiega korozji powierzchniowej i sprawia, że materiał jest bioobojętny. Ponieważ odpowiedź biologiczna na biomateriał zależy głównie od właściwości jego powierzchni, tytan bardzo często poddaje się anodowaniu, a powstające nanorurki przyspieszają wzrost oraz regenerację kości, działają przeciwbakteryjnie i przeciwzapalnie. Poza tym wykazano, że temperatura wyżarzania i skład fazowy nanorurek TiO_2 wpływają na adhezję i aktywację płytek krwi, co opisano w podrozdziale 1.4. TNT jest wykorzystywany jako materiał implantowy w zastosowaniach dentystycznych, ortopedycznych i do osteosyntezy [3, 12, 40, 52, 54-56, 77].

Wysoki stosunek powierzchni do objętości oraz wysoki współczynnik kształtu, a także stabilność w wysokiej temperaturze i odporność na działanie różnych substancji chemicznych sprawia, że TNT mają ogromny potencjał w kontekście zastosowań w elektronice oraz jako podłoża czujników. Pierwsza praca, w której potwierdzono możliwość zastosowania macierzy nanorurek tytanu jako czujników chemicznych ukazała się w roku 2003. Szczegółowo opisano w niej zmiany przewodnictwa elektrycznego nanorurek tytanu po wystawieniu na działanie wodoru. Wykazano, że nanorurki są znacznie bardziej wrażliwe na wodór niż jakikolwiek inny znany materiał [155]. Od tamtego czasu nanorurki w tych zastosowaniach najczęściej wykorzystywane są do wykrywania gazów, tj. wodór, tlen, formaldehyd, etanol, metanol, aceton czy nadtlenek wodoru oraz do pomiarów wilgotności [148, 156-159]. Liczne prace opisują również ich zastosowanie w detekcji substancji biologicznych, często na te potrzeby TNT jest modyfikowane innymi materiałami [160-163]. Kompozytowe czujniki elektrochemiczne oparte na AgNPs/TNT są w literaturze opisywane bardzo rzadko. Dotychczas opracowane [29-31] umożliwiły detekcję nadtlenu wodoru oraz glukozy. Co warto podkreślić, podłoża AgNPs/TNT nie zostało użyte w układach, w których detekcja analitu oparta jest na interakcji przeciwciało-antygen.

2. Czujniki elektrochemiczne

Czujniki elektrochemiczne to największa, najbardziej wszechstronna i wysoce rozwinięta grupa czujników, która zgodnie z definicjami i klasyfikacją IUPAC (Międzynarodowa Unia Chemii Czystej i Stosowanej), stanowi kategorię czujników chemicznych [164], zaprojektowanych poprzez sprzężenie części receptorowej urządzenia z przetwornikiem elektrochemicznym. Część receptorowa reaguje bezpośrednio z analitem, w wyniku czego powstają różnego rodzaju pośrednie sygnały, które przetwornik przekształca na mierzalny sygnał elektryczny. Część przetwornikowa jest również nazywana detektorem lub elektrodą. Zmiany elektryczne mogą być rejestrowane w funkcji mierzonego między elektrodami napięcia, prądu lub zdolności materiału czujnikowego do przenoszenia ładunku. Najczęściej są one wywołane reakcjami redoks (utleniania/redukcji) przebiegającymi na elektrodzie i związanym z tym przeniesieniem elektronów [165-167].

Wykorzystywanie tego rodzaju czujników jest bardzo często opisywane w literaturze ze względu na konkurencyjność cenową, wysoką czułość oraz prostotę konstrukcji. Ponadto są one kompaktowe i mogą dostarczać informacji o próbce w czasie rzeczywistym, bez lub przy minimalnym jej uprzednim przygotowaniu. Te cechy czynią je doskonałym uzupełnieniem lub wręcz alternatywą dla kosztownej, czasochłonnej i wymagającej specjalistycznego laboratorium chromatografii oraz metod spektrometrycznych [168,169]. Metody optyczne cechuje ponadto duża podatność na zakłócenia oraz trudność miniaturyzacji, ponieważ ich większość w dalszym ciągu wymaga użycia spektrofotometru [170].

Historycznie początki stosowania czujników elektrochemicznych sięgają lat 50-tych XX wieku i służyły do monitorowania tlenu przemysłowego. Prawo pracy odnoszące się do zdrowia i bezpieczeństwa pracowników wymagało monitorowania toksycznych gazów i paliw w zamkniętych przestrzeniach, co skłoniło do intensywnych badań nad czujnikami elektrochemicznymi, które mogłyby wykazywać dobrą selektywność przy wykrywaniu tych gazów. Leland C. Clark zaproponował koncepcję czujnika tlenu z wykorzystaniem dwóch elektrod z przepuszczalną dla tlenu membraną oddzielającą elektrody od roztworu elektrolitu. Tlen dyfundował przez membranę i był redukowany na elektrodzie wskaźnikowej. Wywoływało to wzrost prądu proporcjonalnego do stężenia tlenu w próbce. Czujnik tlenu Clarka znalazł szerokie zastosowanie w medycynie oraz monitoringu

środowiskowym i przemysłowym [165]. Na początku lat siedemdziesiątych opracowano natomiast pierwsze sensory chemiczne z wykorzystaniem materiałów półprzewodnikowych i od tego czasu skupiono się na miniaturyzacji czujników [167].

Podstawą działania czujników elektrochemicznych jest wymóg zamkniętego obwodu elektrycznego, a więc zastosowania co najmniej dwóch elektrod tworzących ogniwo elektrochemiczne [167]. Typowy czujnik elektrochemiczny składa się jednak z trzech elektrod [165]:

- pracującej, na której zachodzi badana reakcja utleniania/redukcji,
- pomocniczej, która przyjmuje prąd płynący w układzie,
- odniesienia o znanym, stałym potencjale własnym, niezależnie od składu badanego roztworu, względem której zadawany jest potencjał elektrody pracującej.

Parametry analityczne, które charakteryzują czujnik elektrochemiczny to [167]:

- czułość – stosunek zmiany sygnału analitycznego i wywołującej ją zmiany stężenia analitu,
- selektywność – zdolność czujnika do pomiaru stężenia substancji w obecności innych substancji przeszkadzających (tzw. interferentów),
- granica oznaczalności – najmniejsze stężenie analitu, które może zostać oznaczone daną metodą z akceptowalną dokładnością i poziomem powtarzalności.
- granica wykrywalności – najmniejsze stężenie analitu możliwe do wykrycia z określonym prawdopodobieństwem,
- zakres dynamiczny – zakres stężeń, w którym czułość jest stała i większa od zera,
- czas odpowiedzi – czas, w którym sygnał wyjściowy osiągnie określony procent wartości końcowej, zwykle 95%,
- czas życia – długość czasu poprawnego działania czujnika z dopuszczalną i określoną zmianą czułości.

Pożądanymi cechami czujników elektrochemicznych są [165, 167]:

- wysoka czułość i selektywność,
- stosunkowo niski koszt,
- łatwość miniaturyzacji,
- powtarzalność i dokładność,
- możliwość ponownego użycia oraz długi czas życia.

Obecnie głównym celem badań naukowców jest poprawa selektywności i czułości opracowywanych czujników.

2.1. Materiały stosowane na podłoża czujników elektrochemicznych

W czujnikach elektrochemicznych stosuje się receptory – rozpoznawcze elementy biologiczne (komórki, fragmenty tkanek) i biomimetyczne (aptamery, rybozymy i polimery z nadrukiem molekularnym), które mogą być unieruchamiane na podłożu metodami fizycznymi (immobilizacja oparta na adsorpcji i adhezji, pułapkowanie, kapsułkowanie, zamykanie w komórkach naturalnych lub pomiędzy półprzepuszczalnymi membranami) oraz chemicznymi (immobilizacja poprzez tworzenie wiązań kowalencyjnych lub bez nośnika, a w tym m. in. sieciowanie przestrzenne). Materiały powszechnie stosowane do wytwarzania czujników elektrochemicznych dzieli się na [171]:

- materiały elektrodowe,
- materiały wspomagające właściwości elektroanalityczne elektrod, w tym: nanostruktury zdolne do przenoszenia elektronów, polimery przewodzące,
- materiały tworzące warstwy (bio)receptorowe, np. agar, chitozan, alginiany, polimery, żywice, krzemionki, szkło porowate, węgiel aktywny.

Materiały stosowane na elektrodę czujników elektrochemicznych są zwykle przewodzące, a wśród najczęściej stosowanych można wymienić: metale (platyna, złoto, srebro, nikiel, miedź), tlenki metali (tlenek indowo-cynowy, ITO) materiały węglowe, ceramikę oraz organiczne polimery przewodzące. Bardzo szeroko rozwijającą się grupą materiałów są również nanostruktury, które mogą stanowić zarówno materiał elektrodowy, jak i służyć do modyfikacji elektrod. Modyfikacje elektrod z użyciem nanomateriałów przyczyniają się do poprawy właściwości optycznych, elektrycznych, chemicznych i magnetycznych, co przekłada się na się lepszą czułość i selektywność, a także krótszym czasem odpowiedzi, co jest istotne w przypadku przyrządów czujnikowych i stanowi ulepszenie w stosunku do klasycznych czujników [171-172].

Przewagą materiałów nanostrukturalnych jest bardzo dobrze rozwinięta powierzchnia właściwa, na którą wpływ ma ich wymiarowość [171-173]. Zerowymiarowe nanomateriały posiadają wszystkie trzy wymiary w skali nano i zalicza się do nich nanocząstki i kropki kwantowe. Jeśli jeden z wymiarów przewyższa 100 nm, to otrzymuje się struktury jednowymiarowe, jeśli dwa – struktury dwuwymiarowe, a jeśli wszystkie

– trójwymiarowe, np. nanokompozyty (tabela 4). Należy jednak zaznaczyć, że wymiarowość nanostruktur można kształtować i zmieniać poprzez zmianę parametrów ich syntezy.

Tabela 4. Podział nanostruktur ze względu na liczbę wymiarów wraz z przykładami.

Wymiarowość	Opis	Przykłady
Zerowymiarowe (0-D)	Posiadają wszystkie wymiary w skali nano	Nanocząstki (ang. <i>nanoparticles</i>) Nanoklastry (ang. <i>nanoclusters</i>) Kropki kwantowe (ang. <i>quantum dots</i>)
Jednowymiarowe (1-D)	Posiadają dwa wymiary w skali nano	Nanodruty (ang. <i>nanowires</i>) Nanopręty (ang. <i>nanorods</i>) Nanorurki (ang. <i>nanotubes</i>) Nanowłókna (ang. <i>nanofibers</i>) Nanowstążki (ang. <i>nanoribbons</i>) Nanosprężyny (ang. <i>nanosprings</i>) Nanospirale (ang. <i>nanospirals</i>) Nanoszczotki (ang. <i>nanobrushes</i>)
Dwuwymiarowe (2-D)	Posiadają jeden wymiar w skali nano	Nanoarkusze (ang. <i>nanosheets</i>) Nanopowłoki (ang. <i>nanocoatings</i>) Nanofilmy (ang. <i>nanofilms</i>) Nanowarstwy (ang. <i>nanolayers</i>)
Trójwymiarowe (3-D)	Posiadają wszystkie wymiary poza skalą nano	Nanokolumny (ang. <i>nanopillars</i>) Nanokompozyty (ang. <i>nanocomposites</i>) Polikryształy (ang. <i>polycrystals</i>)

Nanostruktury magnetyczne (posiadające rdzeń z Fe_3O_4), metaliczne (złoto, platyna, pallad, srebro), półmetaliczne (oparte na krzemie), polimerowe (polistyren, polipirol, polianilina), hybrydowe (węglowe lub Fe_3O_4 pokryte różnymi materiałami, takimi jak tlenki metali, polimery) półprzewodnikowe kropki kwantowe (CdS , CdSe) oraz nanomateriały węglowe (w postaci pasty, węgla szklanego, grafenu, fulerenu czy nanocząstek i nanorurek) zwiększają przewodność elektrod oraz wzmacniają sygnał, poprawiając czułość urządzeń elektrochemicznych [171]. Ponadto mogą one zwiększyć powierzchnię przyczepu materiałów do unieruchamiania elementów rozpoznawczych oraz samych receptorów [174]. Spośród wszystkich nanostruktur na szczególną uwagę zasługują materiały nanorurkowe. Najczęściej spotykane w literaturze są nanorurki węglowe oraz oparte na tlenkach takich jak: Co_3O_4 , Fe_2O_3 , SnO_2 i TiO_2 , a także nanorurki platynowe oraz krzemowe [4, 171-172]. Przewaga tych nanostruktur nad pozostałymi polega na możliwości regulowania współczynnika kształtu (stosunek wysokości rurki do średnicy zewnętrznej) w zakresie do kilkudziesięciu tysięcy razy, co w znaczący sposób

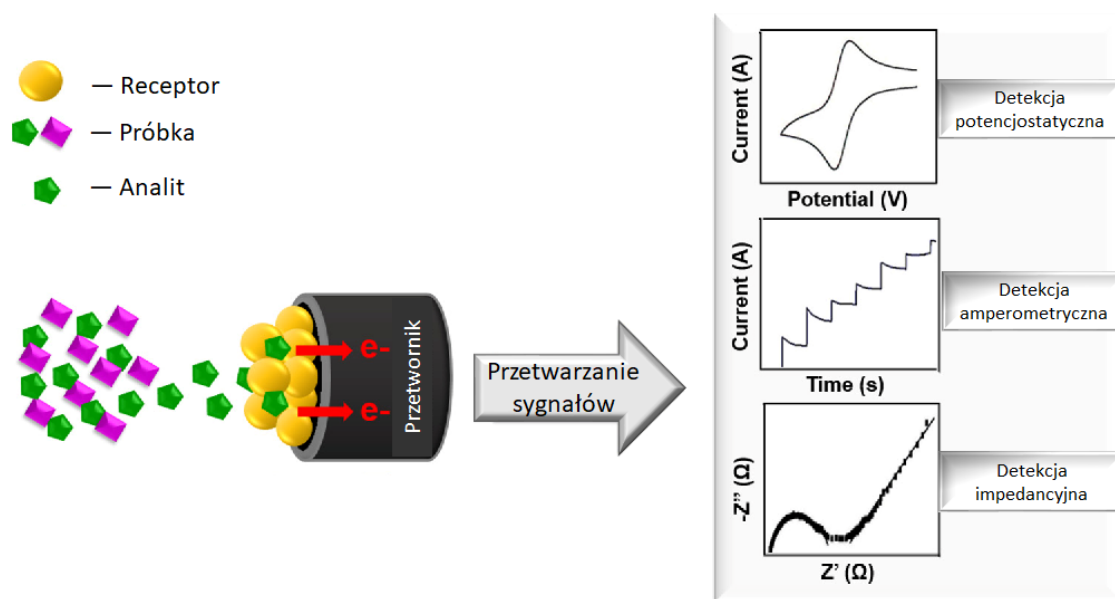
wpływa na ich przewodność. Największą łatwość w osiąganiu/kształtowaniu wymaganych funkcjonalności gwarantują nanorurki ditlenku tytanu, a do ich zalet w kontekście zastosowania jako podłoża czujnika zalicza się [53, 55]:

- możliwość wytwarzania struktur o określonej morfologii poprzez zmianę parametrów anodowania,
- prostota i niskie koszty procesu wytwarzania,
- właściwości adsorpcyjne,
- stabilność termiczna i chemiczna,
- duże rozwinięcie powierzchni,
- dobre przewodnictwo elektryczne, które można ulepszać poprzez wyżarzanie oraz domieszkowanie,
- dobra odporność na korozję,
- obojętność w stosunku do unieruchamianych na podłożu substancji,
- stabilność unieruchomionych na podłożu substancji.

Czujniki elektrochemiczne wykorzystujące TNT często wykazują niską czułość. Do tej pory w celu poprawy czułości i przewodności elektrycznej były one modyfikowane nanostrukturami złota [175], platyny i palladu [176], kobaltu [161], miedzi [162], węgla oraz srebra [177]. Obecnie najczęściej modyfikuje się je nanocząstkami złota, niezwykle rzadko używane jest w tym celu srebro, jednak jego osadzanie na porowatych podłożach jest bardzo powszechnym sposobem na zwiększenie przewodnictwa materiałów [179].

2.2. Zasada działania czujników elektrochemicznych

Działanie czujnika elektrochemicznego polega na reakcji między badanym analitem, a (bio)receptorem zlokalizowanym na zewnętrznej powierzchni elektrody. Oddziaływanie to prowadzi do powstawania sygnałów nieelektrycznych, które przetwornik konwertuje na sygnał elektryczny (rysunek 16).



Rysunek 16. Schemat budowy czujnika elektrochemicznego [179].

Bioreceptory są dobierane w zależności od zastosowania i pożądaných kryteriów wydajności opartych m.in. na interakcji enzym-substrat, przeciwciało-antygen czy hormon-receptor. Najpowszechniejsze i najlepiej rozwinięte systemy detekcji oparte są jednak na enzymach i przeciwciałach [171]. W przypadku metod unieruchamiania bioreceptorów bardzo często wykorzystywana jest technika immobilizacji poprzez tworzenie wiązań kowalencyjnych, ponieważ zwiększa ona stabilność, selektywność i czułość czujników oraz umożliwia ich regenerację. Co ważne, ten rodzaj immobilizacji zapewnia odpowiednią orientację unieruchamianych cząsteczek na powierzchni czujnika, skutkującą wysoką specyficnością detekcji takiego układu [171, 174].

Kryterium klasyfikacji przetworników elektrochemicznych najczęściej stanowi rodzaj mierzonego sygnału elektrycznego. W czujnikach potencjometrycznych, potencjał elektrody wskaźnikowej w warunkach bezprądowych jest mierzony względem elektrody odniesienia, której to potencjał jest stały i niezależny od stężenia oznaczanego analitu. Potencjał elektrody wskaźnikowej zmienia się w funkcji stężenia analitu zgodnie z równaniem Nernsta [180-183]:

$$E = E_S^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{C_{utl.}}{C_{zred.}} \quad (5)$$

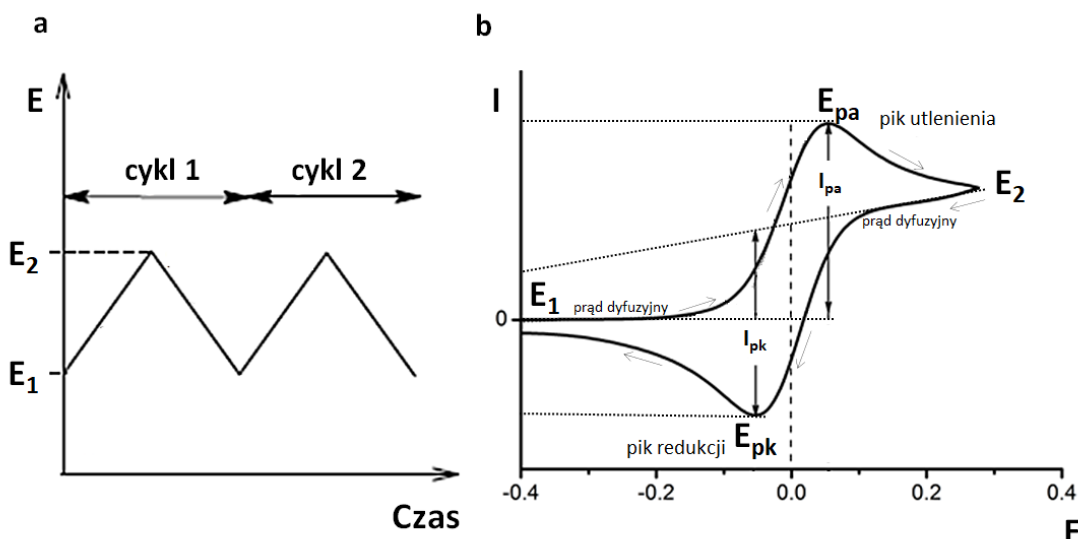
gdzie: E_S^0 – potencjał standardowy elektrody [V], R – stała gazowa równa $8,314 \frac{J}{mol \cdot K}$, T – temperatura [K], n – liczba elektronów wymienianych w reakcji półówkowej, F – stała

Faradaya równa $96485 \frac{C}{mol}$, $C_{utl.}$ – stężenie molowe formy utlenionej [M] i $C_{zred.}$ – stężenie molowe formy zredukowanej analitu [M].

Metody potencjometryczne cechuje jednak niewielka dokładność analizy [180].

Pomiary amperometryczne są zwykle wykonywane w układzie trójelektrodowym. W tego rodzaju czujnikach przyłożony potencjał służy jako siła napędowa reakcji przeniesienia elektronu i powoduje utlenianie lub redukcję substancji elektroaktywnej (depolaryzatora). Odpowiedź elektrody wskaźnikowej jest proporcjonalna do stężenia tego związku. Zaletą tej techniki jest wysoka czułość, precyzyjność i szybkość analizy oraz możliwość jednoczesnego oznaczania kilku analitów. Natężenie prądu może być monitorowane przy stałym potencjale (techniki amperometryczne) lub w funkcji zmiany potencjału (techniki woltamperometryczne). W tej grupie technik woltamperometria cykliczna (ang. *cyclic voltammetry*, CV) jest najczęściej wybierana przez badaczy [148].

W metodzie CV do elektrody roboczej przykładany jest potencjał zmieniający się liniowo ze stałą szybkością (v) w ustalonym zakresie zadanego potencjału (od E_1 do E_2), następnie zmieniany jest kierunek skanowania (od E_2 do E_1), a cały cykl może być powtarzany dowolną ilość razy (rysunek 17 a). Rejestrowana krzywa przedstawiająca wykres natężenia prądu w funkcji zadanego potencjału nazywana jest woltamperogramem cyklicznym (rysunek 17 b). Zmiany natężenia prądu są spowodowane zmianą stężenia substancji elektroaktywnej w obszarze przyelektrodowym, do którego jest ona transportowana na drodze dyfuzji. Jeśli w wyniku reakcji elektrodowej dochodzi do przeniesienia elektronów z tej substancji do elektrody to następuje reakcja utleniania, czemu towarzyszy gwałtowny wzrost prądu anodowego (I_{pa}) przy potencjale pików anodowych (utleniania) (E_{pa}), a jeśli na odwrót, to mowa o reakcji redukcji (I_{pk} , E_{pk}). Po tym etapie produkt reakcji jest transportowany do roztworu lub pozostaje na powierzchni elektrody [181-183].



Rysunek 17. Woltamperometria cykliczna, zmiany potencjału elektrody pracującej w czasie (a) oraz woltamperogram - zależność natężenia prądu od potencjału elektrody pracującej $I = f(E)$ podczas reakcji utleniania/redukcji (b).

Procesy odwracalne charakteryzują się szybszą kinetyką przenoszenia ładunków przez granicę faz elektroda/roztwór w porównaniu do szybkości transportu dyfuzyjnego substancji elektroaktywnej do przestrzeni przyelektrodowej, a więc ich szybkość jest kontrolowana dyfuzyjnie. W przypadku tych procesów nie obserwuje się również przesunięcia potencjału maksimum pików w zależności od szybkości skanowania. W sytuacji odwrotnej, kiedy transport dyfuzyjny jest szybszy od szybkości przeniesienia elektronu to proces jest nieodwracalny, a kiedy są one podobne to analizowana reakcja jest quasi-odwracalna. Dla odwracalnych procesów elektrodowych zachodzących w warunkach standardowych natężenie prądu pików (I_p) opisane jest równaniem Randlesa-Sevcika [181-183]:

$$I_p = 2,72 \cdot 10^5 \cdot n^{3/2} A D^{1/2} v^{1/2} c \quad (6)$$

gdzie: n – liczba elektronów wymienianych w procesie elektrodowym, c – stężenie substancji elektroaktywnej [mol/cm^3], A – pole powierzchni elektrody [cm^2], v – szybkość zmian potencjału elektrody badanej [V/s], D – współczynnik dyfuzji substancji elektroaktywnej [cm^2/s].

Gdy współczynniki dyfuzji formy zredukowanej i utlenionej są do siebie zbliżone, potencjał formalny układu odpowiada średniej arytmetycznej wartości potencjałów, przy których zlokalizowane są maksima pików [181-183]:

$$E^0 = \frac{E_{pa} + E_{pk}}{2} \quad (7)$$

Warunki uznania procesu elektrochemicznego za całkowicie odwracalny są następujące [181-184]:

- różnica potencjałów pików anodowego i katodowego

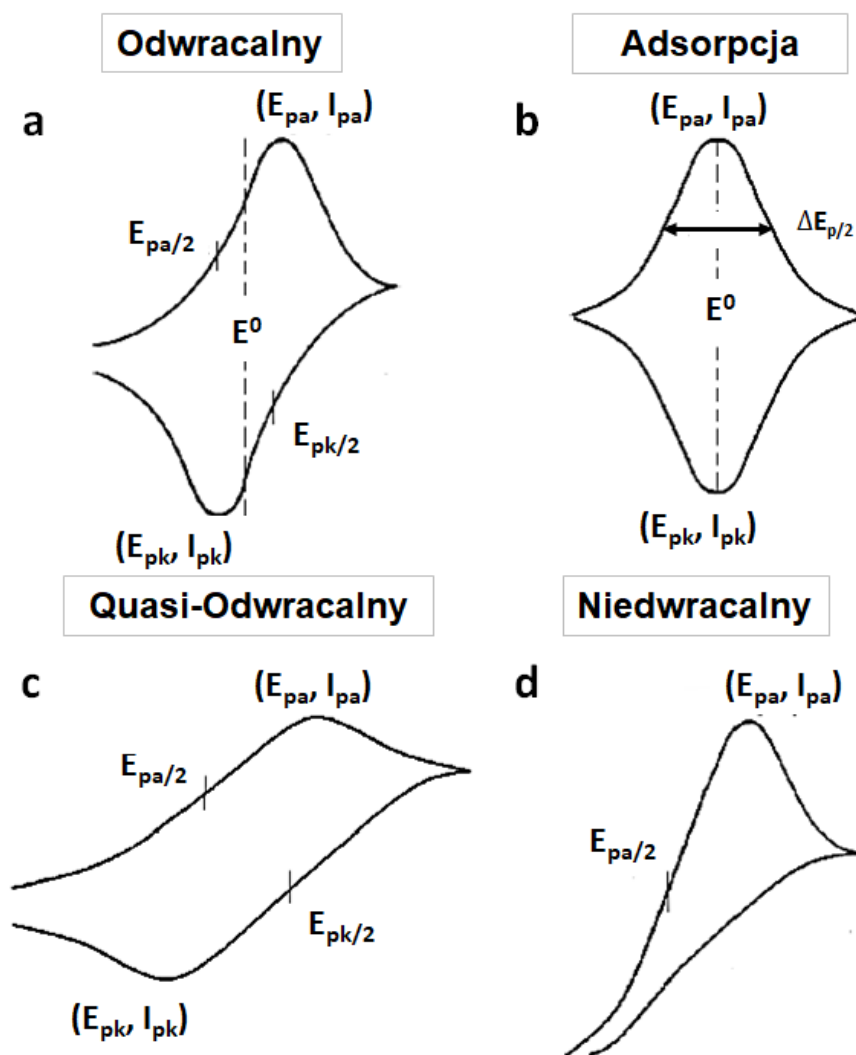
$$\Delta E = E_{pa} - E_{pk} = \frac{0,058}{n} \quad (8)$$

gdzie: n – liczba elektronów wymienianych w procesie elektrodowym.

ΔE wynosi 0,058 V dla procesu jednoelektronowego, dla dwuelektronowego 0,029 V,

- stosunek pików prądu anodowego i katodowego, I_{pa}/I_{pk} wynosi 1.

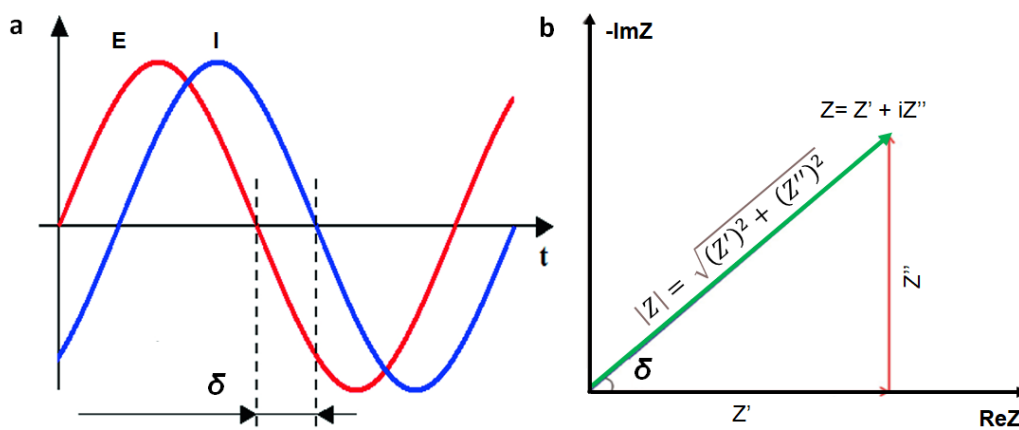
Wyróżnia się cztery główne rodzaje odpowiedzi prądowych elektrod, które jak już wcześniej wspomniano, zależą od odwracalności procesu utleniania/redukcji oraz od tego, czy układ redoks adsorbuje na powierzchni elektrody (rysunek 18). Zależność E_p oraz I_p od szybkości skanowania dostarcza cennych informacji nt. danego procesu elektrochemicznego. E_p nie zmienia się wraz z v dla układów odwracalnych (tzw. Nernstowskich) (rysunek 18 a i 18 b), natomiast dla pozostałych układów wzrasta wraz z szybkością skanowania. I_p zmienia się liniowo z $v^{1/2}$ dla systemów odwracalnych i nieodwracalnych oraz z v dla układu redoks zaadsorbowanego na powierzchni elektrody. Proporcjonalność między I_p a $v^{1/2}$ dla układów quasi-odwracalnych jest zależna od szybkości skanowania i szybkości transferu elektronów. Generalnie nie ma proporcjonalności między I_p a $v^{1/2}$ przy dużych szybkościach skanowania oraz dla reakcji, które wykazują wolną kinetykę przenoszenia elektronów [181-183].



Rysunek 18. Rodzaje odpowiedzi prądowych elektrod dla układu odwracalnego (a), odwracalnego układu redoks zaadsorbowanego na powierzchni elektrody (b), układu quasi-odwracalnego (c) oraz nieodwracalnego (d).

Elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna (ang. *electrochemical impedance spectroscopy*, EIS) to technika polegająca na rejestracji zmian impedancji elektrody na skutek oddziaływania elektroda-analit, której największą zaletą jest możliwość oddzielania reakcji przebiegających na elektrodzie od oddziaływania elektrolitu oraz procesów dyfuzyjnych. Dostarcza ona informacji na temat właściwości elektrochemicznych i korozyjnych materiałów. Pomiary polegają na zaburzeniu równowagi badanego układu przez zmiennoprądowy sygnał o niewielkiej amplitudzie i zmiennej częstotliwości, w wyniku tego otrzymuje się odpowiedź prądową o pomniejszonej amplitudzie i przesuniętej w fazie względem zadanego sygnału w zależności od impedancji próbki

(rysunek 19 a). Uwzględniając przesunięcie fazowe oraz różnice amplitud między sygnałem zadanym a odpowiedzią układu otrzymuje się moduł impedancji $|Z|$ będący wielkością zespoloną, składającą się z części rzeczywistej (Z') i urojonej (Z'') (rysunek 19 b) [181-183].



Rysunek 19. Pobudzający sygnał sinusoidalny wraz z odpowiedzią układu (a) oraz graficzna interpretacja wektora impedancji (b).

Jeśli sygnał zaburzający jest falą sinusoidalną będącą najczęściej stosowanym przebiegiem wejściowym, to [185-186]:

$$E(t) = E_0 \sin(\omega t) \quad (9)$$

gdzie: $E(t)$ – potencjał w czasie t , t – czas, E_0 – amplituda sygnału, ω – częstotliwość kołowa ($\omega = 2\pi f$, f – częstotliwość).

Odpowiedzią układu jest odpowiedź prądowa [185-186]:

$$I(t) = I_0 \sin(\omega t + \delta) \quad (10)$$

gdzie: $I(t)$ – natężenie prądu w czasie t , t – czas, I_0 – amplituda sygnału, ω – częstotliwość kołowa ($\omega = 2\pi f$, f – częstotliwość), δ – przesunięcie fazowe.

Zgodnie z prawem Ohma impedancję można wyrazić wzorem [185-186]:

$$Z = \frac{E(t)}{I(t)} = Z_0 \frac{\sin(\omega t)}{\sin(\omega t + \delta)} \quad (11)$$

gdzie: Z – impedancja, Z_0 – moduł impedancji, δ – przesunięcie fazowe

Przedstawiając impedancję na płaszczyźnie geometrycznej jako wektor o początku w początku układu współrzędnych i końcu w punkcie o współrzędnych (Z' , Z''), nachylony pod kątem zwanym kątem fazowym (δ) (rysunek 19) uzyskuje się podstawowe zależności:

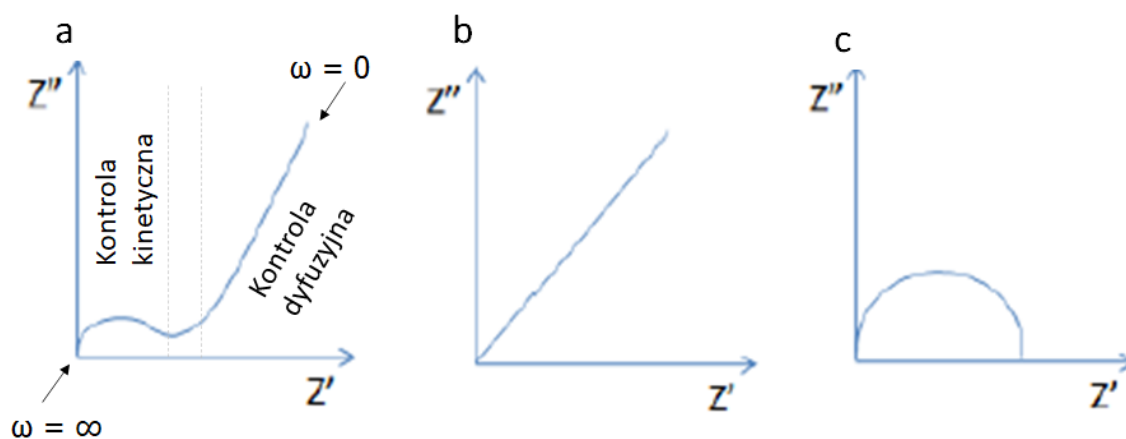
część rzeczywistą impedancji można opisać wzorem (12), część urojoną wzorem (13), natomiast kąt fazowy wzorem (14):

$$Z' = |Z| \cdot \cos\delta \quad (12)$$

$$Z'' = |Z| \cdot \sin\delta \quad (13)$$

$$\delta = \arctan \frac{Z'}{Z''} \quad (14)$$

Wyniki EIS prezentuje się w postaci wykresu Nyquista (w układzie $\text{Re}Z$ i $-\text{Im}Z$) i/lub Bodego (dwie krzywe w układzie: $\log(f)$ i $|Z|$ oraz $\log(f)$ i δ). Typowe charakterystyki dla procesów odwracalnych, quasi-odwracalnych oraz nieodwracalnych przedstawiono na rysunku 20. Najczęściej obserwowane w literaturze widmo impedancyjne Nyquista składa się z półokręgu i linii prostej. Półokrąg obserwowany przy wyższych częstotliwościach reprezentuje ograniczony szybkością proces przeniesienia elektronu na granicy faz elektroda/roztwór, natomiast linia prosta przy niższych częstotliwościach odpowiada reakcji kontrolowanej dyfuzją związaną z przeniesieniem masy. Jeśli układ charakteryzuje się szybkim transportem elektronów mówimy o procesie odwracalnym o liniowej charakterystyce (rysunek 20 b), natomiast im bardziej jest nieodwracalny proces, a tym samym wolniejsze przenoszenie elektronów, tym większa średnica półokręgu i mniejsza część liniowa widma (rysunek 20 c) [185-187].



Rysunek 20. Typowe charakterystyki Nyquista dla procesów quasi-odwracalnych (a), odwracalnych (b) i nieodwracalnych (c).

Zastosowanie techniki EIS wiąże się z możliwością modelowania procesów zachodzących na próbce za pomocą zastępczych obwodów elektrycznych. Polega to na

przyporządkowaniu każdemu procesowi zachodzącemu w danym układzie elementów elektrycznych, przypisaniu im odpowiednich wartości oraz ich połączeniu. Poprawność danego obwodu weryfikuje się poprzez porównanie danych modelowych z danymi doświadczalnymi.

Elementami obwodu elektrycznego mogą być [185-188]:

- rezystor – reprezentujący rezystancję (R), o impedancji wyrażonej wzorem: $Z_R = R$,
- cewka – reprezentująca indukcyjność (L), o impedancji wyrażonej wzorem: $Z_L = (i\omega L)$
- kondensator – reprezentujący pojemność (C), o impedancji wyrażonej wzorem: $Z_C = -1/(i\omega C)$,
- element stałofazowy (ang. *constant phase element*) (Q) i związany z nim współczynnik N odnoszący się do niedoskonałości powierzchni. Impedancję elementu stałofazowego wyraża się wzorem: $Z_Q = 1/Z_0(i\omega)^N$. Wykładnik N może przybierać wartości od -1 do 1, gdy Q wynosi 0, to reprezentuje idealny rezystor, przy $N = 1$ wykazuje zachowanie czysto pojemnościowe, a przy $N = -1$ reprezentuje element indukcyjny. Przy $N = 0,5$ Q odpowiada impedancji Warburga.
- impedancja Warburga (W) – reprezentująca dyfuzyjne ograniczenia układu, wyrażona wzorem: $Z_W = 1/Z_0(i\omega)^{1/2}$.

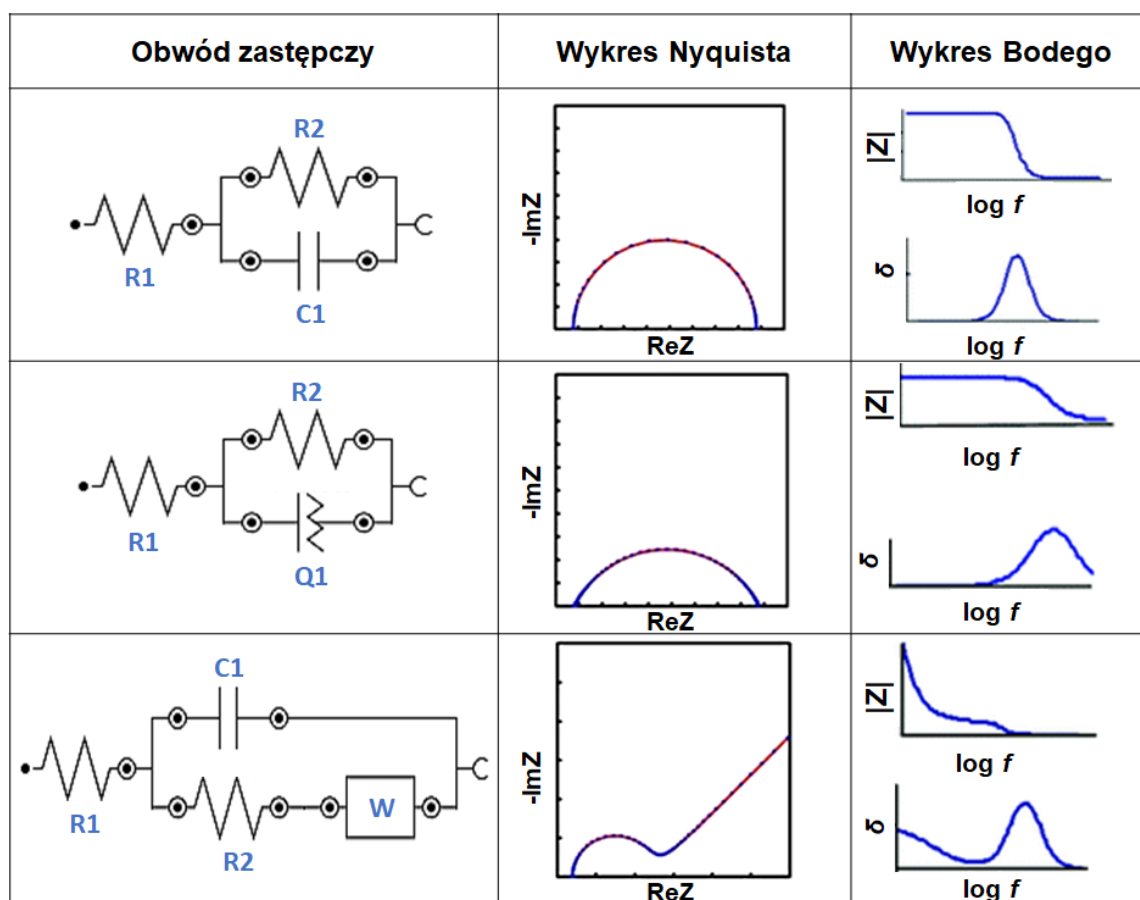
Najprostszy obwód zastępczy umożliwiający modelowanie granicy faz elektroda-roztwór przedstawiono na rysunku 21 a. W tym przypadku R_1 odpowiada rezystancji roztworu, C_1 - pojemności podwójnej warstwy elektrycznej, która jest ładowana w miarę zachodzenia reakcji elektrochemicznej, a R_2 – rezystancję przenoszenia ładunku. Wykres Nyquista przedstawia półokrąg o promieniu $R_2/2$, którego środek znajduje się na osi rzeczywistej w odległości $R_1 + \frac{1}{2}R_2$. W praktyce jednak obserwuje się odstępstwa od idealnego zachowania, zwłaszcza dla zjawisk, które zastępuje się elementem kondensatora. Dla przykładu na rysunku 21 b obserwuje się spłaszczenie półkola, stąd, aby uwzględnić tę niedoskonałość, pojemność w obwodach zastępuje się elementem stałofazowym [188].

Literatura wskazuje kilka przypadków, kiedy konieczne jest zastosowanie elementu stałofazowego [186]:

- niejednorodność i chropowatość powierzchni (struktura 3D) elektrody,
- porowatość elektrody (struktura 3D),
- zmienność grubości i przewodności powłoki powierzchniowej (struktura 3D),
- powolny, nierównomierny proces adsorpcji na powierzchni,
- nierównomierny rozkład potencjału i prądu na powierzchni,

- granice ziaren i fazy krystaliczne na powierzchni elektrody polikrystalicznej.

Te procesy są odpowiedzialne za odchylenia od idealnej odpowiedzi rezystora i kondensatora. W przypadkach bardziej złożonych charakterystyk (rysunek 21 c), w których widmo impedancyjne składa się zarówno z półkola półokręgu (elementy RC), jak i półprostej (element stałofazowy, Q). Gdy nachylenie półprostej do osi Z' wynosi 45° wówczas w układzie zastępczym wprowadzany jest element Q reprezentujący impedancję Warburga. W układach takich często obserwuje się występowanie więcej niż jednego maksimum (kilka stałych czasowych) [188].



Rysunek 21. Typowe opisywane w literaturze obwody zastępcze wraz z charakterystykami impedancyjnymi.

2.3. Obszary zastosowań czujników elektrochemicznych

Rozwój czujników elektrochemicznych był spowodowany dużym zainteresowaniem ze względu na możliwość prowadzenia badań w miejscu pobrania próbki i/lub monitorowania zmian stężenia analitu, na co pozwoliły ich właściwości, tj. wysoka czułość

i selektywność, a także nieograniczona możliwość aplikacji [171]. Zastosowanie czujników elektrochemicznych w systemach pomiarowych, zazwyczaj poprzedza się badaniami podstawowymi, opracowaniem konstrukcji, badaniami związanymi z określeniem parametrów metrologicznych oraz wdrożeniem. Największym odbiorcą tego rodzaju czujników jest przemysł motoryzacyjny oraz medyczny. Przemysł wykorzystuje najczęściej czujniki gazów: tlenu, CO, CO₂, NH₃, NO_x, C_xH_y, SO₂, H₂S oraz wilgotności. Ponadto w pomiarach i kontroli technologicznej najpopularniejszy jest w dalszym ciągu pomiar pH. Postępy w ochronie środowiska w zakresie monitorowania zanieczyszczeń, a także rozwój biotechnologii oraz coraz bardziej rygorystyczna kontrola żywności spowodowały zainteresowanie czujnikami, jako że choroby, zatrucia pokarmowe oraz skażenia środowiska należą do głównych problemów na całym świecie. Ponadto impulsem do rozwoju czujników w ochronie środowiska jest konsekwentna polityka proekologiczna, a tym samym wprowadzanie coraz bardziej restrykcyjnych norm w zakresie emisji zanieczyszczeń, czy też jakości powietrza, wody oraz gleby. Na rynku powszechnie znane są systemy monitorowania stężenia jonów amonowych i azotanowych w czasie rzeczywistym w wodach pitnych oraz gruntowych. W przypadku badania toksyczności bardzo często wykorzystywane są czujniki z elementem biologicznym w części receptorowej np. komórkowym do wykrywania nagłych skażeń środowiska (wody, gleby, atmosfery), ale i do specyficznego rozpoznania danego zanieczyszczenia. Duże znaczenie w badaniach skażeń środowiska mają czujniki enzymatyczne, których istota działania polega na inhibicji enzymu (utrata aktywności) przez różnego rodzaju substancje tj.: metale ciężkie czy pestycydy oraz inne substancje biologicznie aktywne np. leki. Odpowiedź czujnika na analit jest odnoszona do krzywych odpowiedzi (krzywych kalibracji) wyznaczonych w badaniach laboratoryjnych dzięki czemu można określić stężenie tych substancji w środowisku [167, 171, 180].

Oznaczanie stężenia istotnych klinicznie substancji pozabiałkowych (glukoza, cholesterol) oraz białkowych czy też różnego rodzaju jonów w płynach ustrojowych za pomocą czujników elektrochemicznych jest stosowane powszechnie. Jeśli chodzi o analizę kliniczną to rozwój czujników skupiony jest przede wszystkim na opracowywaniu systemów *in vivo*, czyli takich, w których czujnik wprowadza się do organizmu pacjenta w celu ciągłego monitorowania jego stanu. Nowością są bioczujniki implantowane np. glukozy w sztucznej trzustce. Aby umożliwić monitorowanie postępu choroby przy łóżku pacjenta (ang. *point of care testing*, POCT), ale też kontrolę środowiska, żywności czy procesów technologicznych, zmierza się w kierunku projektowania czujników

wykorzystujących nanomateriały ze względu na ich czułość (ng/ml lub niższe stężenia), prostotę użycia i krótki czas analizy [167, 171, 180, 189]. Z tego względu stają się one największą konkurencją dla testów immunoenzymatycznych ELISA (ang. *enzyme-linked immunosorbent assay*) oraz Western blot, powszechnie stosowanych w laboratoryjnych badaniach diagnostycznych wielu jednostek chorobowych [189].

Interesujące wydają się być doniesienia dotyczące białka szoku cieplnego 70 (ang. *heat shock protein 70*, HSP70), które występuje w prawie wszystkich organizmach i jest indukowane przez stresy mikrośrodowiska, tj. podwyższona temperatura, toksyny, metale ciężkie oraz alkohol [190]. Co ważne jednak, jego podwyższony poziom obserwuje się również u chorych ze zdiagnozowaną chorobą nowotworową [191-196]. To sugeruje, że oznaczanie HSP70 może być przydatne zarówno przy diagnozowaniu, jak i monitorowaniu leczenia onkologicznego pacjentów. Szczególnie istotne jest to w kontekście wczesnych stadiów nowotworów, ponieważ wiele powszechnie oznaczanych markerów nowotworowych charakteryzuje się niewielką czułością diagnostyczną w początkowych etapach choroby [196]. Do obecnej chwili opracowano jednak jedynie osiem czujników do oznaczania tych białek (tabela 5). Co ciekawe, do konstrukcji większości z nich zostało użyte złoto, również w formie nanostrukturalnej. Wytworzone czujniki w większości wykorzystywały zjawisko powierzchniowego rezonansu plazmonowego (ang. *surface plasmon resonance*, SPR). Metody optyczne cechuje jednak duża podatność na zakłócenia oraz czasochłonność pomiarów. Opracowane czujniki elektrochemiczne [200-202] wykorzystywały metodę oznaczania woltamperometrycznego oraz impedancyjnego.

Tabela 5. Opracowane czujniki białka HSP70.

Metoda detekcji	Materiał elektrodowy	Bibl.
Optyczna	Czujnik oparty na porowatym krzemie	189
	Czujnik SPR z warstwą złota	190
	SPR z warstwą złota i kulkami magnetycznymi	197
	SPR z warstwą złota pokryta powłoką TiO ₂ z kulkami magnetycznymi	198
	SPR z podłożem szklanym z AuNPs	199
Elektrochemiczna	ITO pokryte politereftalanem etylenu (PET) z AuNPs	200
	Elektroda z węgla szklanego z tlenkiem grafenu	201
	Elektroda z węgla szklanego z fullerem C60	202

PODSUMOWANIE, CEL BADAŃ I TEZA PRACY

Rozwój nanotechnologii spowodował dostępność nowych materiałów zwanych nanomateriałami, których definicję podała Międzynarodowa Organizacja Normalizacyjna (ISO). Nanomateriał jest to materiał, którego jeden z wymiarów zewnętrznych nie przekracza nanoskali lub którego struktura lub struktura powierzchniowa mieści się w nanoskali tj. w zakresie od około 1 nm do 100 nm [203]. Nanomateriały charakteryzują się lepszymi lub też całkowicie nowymi właściwościami, których materiały używane tradycyjnie (skala mikro- i makrometryczna) nie wykazują. To przekłada się na lepsze parametry metrologiczne czujników, niższe granice wykrywalności oraz lepszą czułość i selektywność, co przejawia się mnogością ich aplikacji.

Od roku 2003, w którym nanorurki TiO_2 zostały pierwszy raz zastosowane jako elektroda do oznaczania stężenia wodoru, to połączenie kształtu oraz wynikających z niego interesujących właściwości, na które można wpływać bezpośrednio zmieniając geometrię, spowodowało niegasnące zainteresowanie skutkujące ciągłym poszerzaniem ich możliwości użytkowych. Tym bardziej, że w kolejnych latach okazało się, że możliwe jest łatwe kształtowanie właściwości TNT poprzez obróbkę termiczną, czy też wprowadzanie domieszek do ich struktury. Dowiedziono, że nanokompozyty wykorzystujące nanorurki TiO_2 charakteryzują się lepszymi właściwościami fizykochemicznymi, co przekłada się na ich lepsze właściwości detekcyjne. Obecny trend w badaniach skupia się na domieszkowaniu TNT innymi nanostrukturami - często jest to złoto oraz platyna, jednak pomijane jest nanosrebro.

Połączenie nanocząstek srebra z TNT jest najbardziej popularne w literaturze w zastosowaniach fotokatalitycznych i bakteriobójczych, w przypadku których kształt, rozmiar czy stopień dyspersji AgNPs nie odgrywa istotnego znaczenia. Aby maksymalnie wykorzystać wysoce rozwiniętą powierzchnię TNT w kontekście ich zastosowań jako podłoże czujników elektrochemicznych, konieczne jest jednak unikanie tworzenia aglomeratów nanocząstek czy też depozycja NPs o rozmiarach, które nie spowodują zablokowania kanałów nanorurek. Jak powszechnie wiadomo, srebro ma najlepsze przewodnictwo elektryczne wśród metali, dlatego AgNPs mogą ułatwiać przenoszenie elektronów skuteczniej niż inne nanocząstki. Dotychczas opracowane kompozytowe czujniki elektrochemiczne oparte na AgNPs/TNT umożliwiły detekcję nadtlenu wodoru oraz glukozy. Co warto podkreślić, podłoże to nie zostało użyte w układach, w których

detekcja analitu oparta jest na interakcji przeciwciało-antygen. W związku z tym podjęto badania, które zmierzają do potwierdzenia możliwości jego zastosowania w takich układach. Ponadto z przedstawionego przeglądu literaturowego wynika, iż metodyka wytwarzania kulistych, dobrze zdyspergowanych, a w szczególności niezaglomerowanych nanocząstek srebra o wysokiej czystości na podłożach TNT bez konieczności użycia innych substancji (wyłączając prekursor AgNPs) stanowiących potencjalne zanieczyszczenia poprocesowe, na drodze szybkiego, jednoetapowego procesu, wciąż jest rozwijana.

Przedstawiono następujące tezy badawcze:

- **możliwe jest wytworzenie kulistych nanocząstek srebra na nanorurkach ditlenku tytanu w jednoetapowym procesie syntezy bez potrzeby użycia innych czynników oprócz prekursora AgNPs,**
- **możliwe jest polepszenie przewodnictwa elektrycznego i właściwości adsorpcyjnych nanorurek ditlenku tytanu poprzez ich modyfikację nanocząstkami srebra,**
- **wytworzone kompozyty mogą być stosowane jako podłoża czujników elektrochemicznych.**

Przeprowadzono następujące badania mające na celu opracowanie metod:

- wytworzenia podłoża czujnika, tj. nanorurek TiO_2 na folii tytanowej,
- modyfikacji termicznej TNT – w celu określenia wpływu temperatury wyżarzania na właściwości materiałowe i elektrochemiczne TNT,
- modyfikacji TNT nanocząstkami srebra – w celu zbadania wpływu parametrów procesu wytwarzania AgNPs na właściwości materiałowe i elektrochemiczne TNT.

Końcowy etap badań dotyczył potwierdzenia możliwości praktycznego zastosowania opracowanego kompozytu AgNPs/TNT jako podłoża czujnika elektrochemicznego typu impedancyjnego na przykładzie detekcji białka szoku cieplnego 70.

TNT zostaną wytworzone poprzez anodowanie, które umożliwia wzrost nanorurek na podłożu w postaci folii tytanowej zapewniając ich samoorganizację. W ten sposób uzyskuje się właściwe elektryczne połączenie nanorurek z podłożem oraz ułatwienie dalszej obróbki. Elektrolit w procesie anodowania będzie stanowił glikol etylenowy z dodatkiem NH_4F , gdyż roztwory organiczne dają możliwość wytwarzania nanorurek TiO_2 w dużym zakresie średnic i wysokości. Ponadto trzecia generacja TNT charakteryzuje

się regularnym kształtem oraz szczelnym upakowaniem nanorurek. Dodatek wody do elektrolitu zwiększy adhezję tlenku do podłoża metalicznego, co skutkować będzie jego większą stabilnością mechaniczną oraz przyspieszy transport elektronów.

Najkorzystniejszą atmosferą wyżarzania TNT jest argon, gdyż zapewnia najwyższe przewodnictwo elektryczne TNT z uwagi na efektywniejszą redukcję jonów Ti^{4+} do Ti^{3+} oraz generowanie większej ilości defektów punktowych w postaci wakansów tlenowych. Wybrano zakres temperatur wyżarzania od 450°C do 550°C, ponieważ – jak wykazano w literaturze – temperatury te nie powodują zmian w morfologii nanorurek TiO_2 . Dodatkowo otrzymana struktura krystaliczna TNT będzie w przewodzie składać się z anatazu, który wykazuje najwyższą ruchliwość elektronów, przez co jest to na ogół najbardziej pożądana odmiana polimorficzna TiO_2 do zastosowań wymagających dobrej przewodności elektrycznej. Ponadto w wielu badaniach potwierdzono, że anataz ma również lepsze właściwości adsorpcyjne dla białek i komórek. Biorąc pod uwagę wpływ średnicy TNT na te właściwości, zdecydowano się na wytworzenie nanorurek w zakresie średnic od 25 nm do 75 nm. Ażeby możliwie zwiększyć powierzchnię właściwą TNT dobrano takie warunki ich wytwarzania, które umożliwiają uzyskanie jak najdłuższych nanorurek TiO_2 , jednocześnie unikając tworzenia na ich powierzchni struktur igłopodobnych - „nanograss”. Ponieważ w literaturze nie przedstawiono badań dotyczących wpływu średnicy nanorurek (przy zachowaniu jednakowej wysokości warstwy TNT) na ich właściwości materiałowe i elektrochemiczne, to w badaniach przyjęto stałą ich wysokość, która wynosiła 1000 nm.

Do wytwarzania nanocząstek srebra wybrano metody umożliwiające ich bezpośrednią, jednoetapową syntezę na TNT: foto- i elektroredukcję oraz napyłanie próżniowe. Po szeroko zakrojonej charakterystyce kompozytów zostanie wybrana platforma o najlepszej przewodności elektrycznej. Badania unieruchamiania białka pozwolą ocenić czy funkcjonalizacja podłoża nanocząstkami wspomaga właściwości adsorpcyjne TNT. Unieruchamianie biomolekuł przeprowadzone zostanie poprzez ich bezpośrednią adsorpcję, która zalicza się do najprostszych metod immobilizacji i wykorzystuje do tego oddziaływanie hydrofobowe, jonowe, elektrostatyczne, powinowactwa, siły van der Waalsa, wiązania wodorowe lub też ich kombinacje. Ponadto zakłada się porównanie efektów bezpośredniej adsorpcji z funkcjonalizacją metodą sprzęgania kowalencyjnego, która polega na przyłączaniu grup funkcyjnych danego składnika do podłoża w celu trwałego związania z nim receptora. Do tego celu bardzo często wykorzystywane są związki siarkoorganiczne, które wykazują silne powinowactwo

siarki do podłoża metalicznych, a także związki krzemoorganiczne. Co ważne, funkcjonalizacja podłoża zwiększa selektywność i czułość czujników oraz umożliwia ich regenerację. Oprócz tego metoda ta umożliwi detekcję modelowego białka HSP70, co przyczyni się do potwierdzenia możliwości praktycznego zastosowania kompozytu AgNPs/TNT do detekcji impedancyjnej.

CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

Odczynniki, materiały i aparatura

Folia tytanowa (Ti) (czystość 99,7%, o grubości 0,25 mm), siatka platynowa (czystość 99,9%), glikol etylenowy (GE, czystość 99,8%), fluorek amonu (czystość $\geq 98\%$), żelazicyjanek potasu ($K_3[Fe(CN)_6]$), chlorek potasu (KCl), kwas 11-merkaptoundekanoowy (11-MUA, czystość 95%), chlorowodorek N-(3-dimetyloaminopropyl)-N'-etylokarbodiimidu (EDC, czystość $\geq 98,0\%$), N-hydroksysukcynimid (NHS, czystość 98%), etanoloamina (czystość $\geq 99,0\%$), laurylosiarczan sodu (SDS, czystość $\geq 99\%$), aceton (czystość $\geq 99,9\%$), etanol (czystość 96%), zbuforowany roztwór soli fizjologicznej (0,01 M PBS, 0,0027 M chlorek potasu i 0,137 M chlorek sodu pH 7,4), interleukinę 6 (IL-6, czystość $\geq 98\%$), surowiczą albuminę wołową (BSA, czystość $\geq 98\%$) i monoklonalne przeciwciała BSA (anty-BSA) zakupiono w Sigma-Aldrich (St. Louis, Stany Zjednoczone). Kwas chlorowodorowy (HCl, 35-38% cz.d.a.) zakupiono w POCH (Gliwice, Polska), srebrny target do napylarki próżniowej (czystość 99,97%) w Micro to Nano (Haarlem, Holandia), a azotan srebra ($AgNO_3$, cz.d.a.) w Stanlab (Lublin, Polska). Monoklonalne przeciwciała anty-HSP70 oraz antygeny HSP70 zakupiono w Abcam (Cambridge, Wielka Brytania).

Wszystkie roztwory elementów biologicznych rozcieńczano w 0,01 M PBS, natomiast pozostałe w wodzie dejonizowanej Milli-Q. Wszystkie gazy używane podczas realizacji badań (argon, azot) były zakupione w firmie Air Products (Warszawa, Polska). Eksperymenty przeprowadzano w temperaturze $25 \pm 2^\circ C$, chyba że zaznaczono inaczej.

Aparaturę użytą do badań wraz z opisem jej zastosowania przedstawiono w tabeli 6.

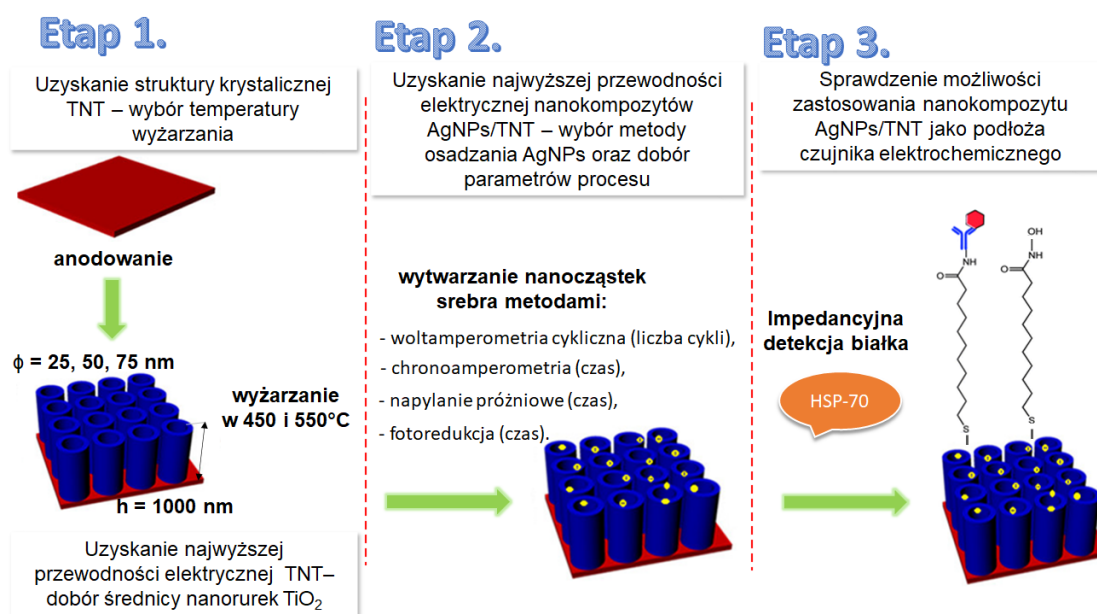
Tabela 6. Aparatura użyta do badań.

Nazwa urządzenia	Zastosowanie
Płuczka ultradźwiękowa	Usunięcie zanieczyszczeń z podłoża TNT
Suszarka SUP-65	Inkubacja białek na podłożach TNT
Potencjostat/galwanostat Autolab 302N	Anodowanie próbek TNT, osadzanie nanocząstek srebra na TNT metodami elektroredukcji, badania elektrochemiczne
Elektroda chlorosrebrowa	Elektroda odniesienia w badaniach elektrochemicznych
Piec AMP	Modyfikacja termiczna TNT

Napylarka Quorum Q150T ES, Quorum Technologies	Depozycja nanocząstek srebra na TNT metodą napylania próżniowego
Lampa UV 254 nm + 366 nm, A. Krüss Optronix	Depozycja nanocząstek srebra na TNT metodą fotoredukcji
Skaningowy Mikroskop Elektronowy JEOL 7600F	Obrazowanie morfologii nanostruktur
Rentgenowski analizator składu EDS INCA Oxford	Ocena składu ilościowego i jakościowego próbek
XRD Panalytical Empyrean	Określenie struktury fazowej próbek
XPS PHI Versa Probe II Scanning XPS system	Analiza ilościowa składu chemicznego oraz określenie stanu chemicznego pierwiastków w warstwie powierzchniowej próbek
Goniometr PG-3	Pomiar kąta zwilżania próbek

Opis metodyki badań

Schemat badań opisanych w niniejszym rozdziale przedstawiono na rysunku 22. Schemat zawiera trzy główne etapy badań: w pierwszym etapie wytworzono nanorurki TiO_2 na folii tytanowej, a następnie wyżarzono je w temperaturach 450°C i 550°C . Kolejny etap polegał na osadzeniu nanocząstek srebra na TNT metodami fotoredukcji, napylania próżniowego, chronoamperometrii i woltamperometrii cyklicznej. W trzech pierwszych metodach zmienną był czas odpowiednio: inkubacji TNT w roztworze prekursora AgNPs, napylania oraz elektroosadzania, natomiast w przypadku woltamperometrii cyklicznej zmienną była liczba cykli. W ostatnim etapie oceniono możliwości praktycznego zastosowania opracowanego nanokompozytu AgNPs/TNT jako podłoża czujnika impedancyjnego na przykładzie detekcji białka szoku cieplnego 70.



Rysunek 22. Schemat badań.

Wytwarzanie nanorurek ditlenku tytanu

Proces anodowania tytanu przeprowadzono w układzie dwuelektrodowym, w którym elektrodę pracującą stanowiła folia tytanowa o wymiarach $1,5 \times 0,5 \times 0,25 \text{ cm}$, a powierzchnia poddana anodowaniu wynosiła $0,5 \text{ cm} \times 0,5 \text{ cm} \times 0,25 \text{ cm}$. Zastosowano przeciwelektrodę w postaci siatki platynowej o wymiarach $1,5 \text{ cm} \times 1,5 \text{ cm} \times 0,25 \text{ cm}$. Parametry procesu anodowania przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7. Parametry procesu anodowania zastosowane w celu wytworzenia nanorurek ditlenku tytanu o różnej średnicy i jednakowej wysokości – 1000 nm.

Rodzaj warstwy	Potencjał [V]	Czas [s]	Stężenie GE [% wagowy]	Stężenie NH_4F [% wagowy]
TNT (h : 1000 nm, ϕ : 25 nm)	10	600	90	0,65
TNT (h : 1000 nm, ϕ : 50 nm)	17	3750	85	
TNT (h : 1000 nm, ϕ : 75 nm)	30	900	90	

Modyfikacja termiczna nanorurek ditlenku tytanu

Modyfikację termiczną przeprowadzono w piecu firmy AMP. Próbkę tytanową z wytworzonymi nanorurkami TiO_2 zostały wyżarzone w atmosferze argonu

w temperaturach 450°C lub 550°C z szybkością nagrzewania i chłodzenia równą 6°C/min. Po osiągnięciu zadanej temperatury wyżarzania, próbki były wygrzewane przez 2 godziny.

Nanocząstki srebra na nanorurkach ditlenku tytanu wytworzono czterema metodami:

a) metodą woltamperometrii cyklicznej (CV)

Osadzanie AgNPs prowadzono w 1 mM roztworze AgNO₃ w zakresie potencjałów od -1,25 do -0,7 V w układzie trójelektrodowym, w którym elektrodę pracującą (1,5 cm × 0,5 cm × 0,25 cm) stanowiły TNT na folii tytanowej, elektrodę odniesienia - elektroda chlorosrebrowa, ($E_{\text{Ag/AgCl}} = 0,222 \text{ V}$) firmy Metrohm, a elektrodę pomocniczą - siatka platynowa (2 cm × 2 cm × 0,25 cm), z szybkością skanowania wynoszącą 50 mV/s oraz liczbą cykli w zakresie od 5 do 30. Po depozycji AgNPs powierzchnię elektrody pracującej przemyto wodą destylowaną (60 ml (3-krotnie po 20 ml) na stronę próbki), a następnie wysuszono w strumieniu azotu.

b) metodą chronoamperometrii (CA)

Osadzanie AgNPs prowadzono w 1 mM roztworze AgNO₃ przy potencjalne -1,2 V w układzie trójelektrodowym opisanym przy metodzie CV, w czasie w zakresie od 30 do 300 sekund. Po osadzeniu AgNPs, powierzchnię elektrody pracującej przemyto wodą destylowaną (60 ml na stronę), a następnie wysuszono w strumieniu azotu.

c) metodą fotoredukcji (UV)

Osadzanie AgNPs polegało na zanurzeniu TNT w 25 mM roztworze AgNO₃ na 1 lub 24 godziny, a następnie przemyciu próbek wodą destylowaną w celu usunięcia nadmiaru prekursora (20 ml na stronę). Fotoredukcję przeprowadzono przy użyciu lampy UV firmy Kamush przy długości fali 254 oraz 366 nm (jednocześnie) przez 1 godzinę (na stronę). Po tym czasie próbki zostały ponownie przemyte wodą destylowaną (60 ml na stronę) i wysuszone w strumieniu azotu. Dodatkowo, aby zbadać wpływ wygrzewania na morfologię otrzymanych AgNPs część próbek po 30 minutach redukcji w lampie UV umieszczono na 10 min w piecu w temperaturze 50°C.

d) metodą napyłania próżniowego (SP)

Do osadzania AgNPs użyto napyłarki próżniowej Quorum Q150T ES (Quorum Technologies, Laughton, Wielka Brytania) wyposażonej w target srebrny (czystość 99,99%). Czas rozpylania wynosił od 10 do 60 sekund przy 50 mA.

Zestawienie nazw elektrod używanych w niniejszej pracy przedstawiono w tabeli 8.

Tabela 8. Zestawienie nazewnictwa elektrod używanego w pracy.

Nazwa	Opis
x_{cv}_AgNPs/TNT	TNT z AgNPs wytworzone metodą CV w 1 mM AgNO ₃ ; gdzie x oznacza liczbę cykli osadzania, x = 5, 10, 15, 20, 25, 30.
x_{ca}_AgNPs/TNT	TNT z AgNPs wytworzone metodą CA w 1 mM AgNO ₃ ; gdzie x oznacza czas depozycji, x = 30, 60, 120, 180, 240, 300 s.
x_{sp}_AgNPs/TNT	TNT z AgNPs wytworzone metodą SP; gdzie x oznacza czas depozycji, x = 10, 20, 40, 60 s.
x_{uv}_AgNPs/TNT	TNT z AgNPs wytworzone metodą UV; gdzie x oznacza czas zanurzenia w roztworze AgNO ₃ , x = 1, 24 h.
Ag/TNT	TNT z warstwą srebra wytworzonego metodą CV w 50 mM AgNO ₃ w 25 cyklach.

Badania mikroskopowe z rentgenowską spektroskopią energodispersyjną (EDS)

Obrazy SEM próbek wykonano za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego z emisją polową JEOL 7600F przy napięciu przyspieszającym 10 keV. Rentgenowski analizator składu EDS INCA Oxford posłużył do analizy składu pierwiastkowego próbek.

Współczynnik kształtu (ang. *aspect ratio*) nanorurek (W_k) obliczono ze wzoru [106]:

$$W_k = \frac{h}{\phi_0} \quad (15)$$

gdzie: ϕ_0 – średnica zewnętrzna nanorurek [cm], h – wysokość nanorurek [cm].

Powierzchnię całkowitą nanorurki (A_i) obliczono ze wzoru [88]:

$$A_i = 2\pi(\phi_0^2 - \phi_1^2) + 2\pi h(\phi_0 + \phi_1) \text{ [cm}^2\text{]} \quad (16)$$

gdzie: ϕ_1 – średnica wewnętrzna nanorurek [cm], ϕ_0 – średnica zewnętrzna nanorurek [cm], h – wysokość nanorurek [cm].

Powierzchnię właściwą nanorurek (A_s) obliczono ze wzoru [88]:

$$A_s = KA_i \text{ [cm}^2\text{]} \quad (17)$$

gdzie: K – liczba nanorurek na 1 cm².

Dla idealnego heksagonalnego ułożenia cylindrycznych porów w warstwie **liczbę porów, tj. nanorurek (K)** na 1 cm² można obliczyć ze wzoru [88, 204]:

$$K = \frac{A_U}{\sqrt{3} \cdot \phi_0^2} \quad (18)$$

gdzie: A_U – 10^{14} nm^2 , ϕ_0 – średnica zewnętrzna nanorurek [nm].

Natomiast **porowatość ditlenku tytanu (P)** obliczono ze wzoru [88, 204]:

$$P = \frac{\pi}{2\sqrt{3}} \left(\frac{\phi_1}{\phi_0} \right)^2 \quad (19)$$

gdzie: ϕ_1 – średnica wewnętrzna nanorurek [cm], ϕ_0 – średnica zewnętrzna nanorurek [cm].

Wymiary nanorurek wyznaczono na podstawie zdjęć SEM.

Badania rentgenowskie

Badania dyfraktometrii rentgenowskiej (XRD) oraz rentgenowskiej spektrometrii fotoelektronów (XPS) próbek TNT oraz AgNPs/TNT wykonano w Akademickim Centrum Materiałów i Nanotechnologii Akademii Górniczo-Hutniczej im. St. Staszica w Krakowie. Badania XPS przeprowadzono w systemie PHI Versa Probe II Scanning XPS z użyciem źródła promieniowania Al $K\alpha$ (1486,6 eV) w próżni na poziomie $<3 \cdot 10^{-9}$ mbar. Oś x na widmach XPS skalibrowano na pikę węgla C1s (C-C) przy 284,8 eV. Dopasowanie widm przeprowadzone przy użyciu oprogramowania PHI MultiPak i metody odejmowania tła stosując funkcję Shirley. Badania XRD przeprowadzono za pomocą dyfraktometru Panalytical Empyrean stosując promieniowanie Cu $K\alpha$ przy 40 kV i 40 mA ($\lambda = 1,540508 \text{ \AA}$).

Zawartość anatazu (z_A) i rutylu (z_R) w strukturze wyżarzonych TNT obliczono ze wzoru Spurra i Myersa [205-206]:

$$z_A = \frac{1}{1 + 1,26 \cdot \left(\frac{I_R}{I_A} \right)} \quad (20)$$

gdzie: I_A – natężenie pikę dyfrakcyjnego pochodzącego od anatazu (101), I_R – natężenie pikę dyfrakcyjnego pochodzącego od rutylu (110) na rentgenogramach XRD.

Badania elektrochemiczne

Badania elektrochemiczne prowadzono w układzie trójelektrodowym, w którym elektrodę pracującą stanowiły TNT lub AgNPs/TNT, elektrodę odniesienia - elektroda chlorosrebrowa ($E_{\text{Ag}/\text{AgCl}} = 0,222 \text{ V}$) firmy Metrohm, a elektrodę pomocniczą siatka platynowa, Badania wykonano w roztworze PBS, w temperaturze $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Wytworzoną warstwę charakteryzowano za pomocą pomiarów:

- potencjału stacjonarnego (OCP, czas pomiaru: 1800 s),
- elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej:
 - zakres częstotliwości: od 10^5 do 0,1 Hz - 100 pkt. pomiarowych,
 - amplituda sygnału pobudzającego 10 mV.
- woltamperometrii cyklicznej:
 - szybkość skanowania: 50 mV/s,
 - liczba cykli: 10,
 - zakres: od -1 do 1 V.
- woltamperometrycznej detekcji żelazicyjanku potasu:
 - szybkość skanowania: 50 mV/s,
 - liczba cykli: 10,
 - zakres: od -1 do 1 V,
 - roztwór: 1 mM $K_3[Fe(CN)_6]$ w 0,1 M KCl.

Wszystkie pomiary elektrochemiczne były 3-krotnie powtarzane. Na wykresach OCP, EIS, CV przedstawione zostały typowe krzywe.

Powierzchnię elektrochemicznie czynną nanorurek wyżarzonych (A_{pk} i A_{pa}) na podstawie woltamperogramów z detekcji żelazicyjanku potasu obliczono przy użyciu równania Randlesa–Ševcika, które dla układów quasi-odwracalnych przyjmuje postać [207-209]:

$$I_{pk/a} = 2,65 \cdot 10^5 \cdot n^{3/2} A_{pk/a} D^{1/2} v^{1/2} c \quad (21)$$

gdzie: n – liczba elektronów wymienianych w procesie elektrodowym ($n = 1$), c – stężenie substancji elektroaktywnej [mol/cm^3], A_{pk} i A_{pa} – powierzchnia elektrochemicznie czynna wyznacza na podstawie wysokości pików katodowego (I_{pk}) lub pików anodowego (I_{pa}) [cm^2], v – szybkość zmian potencjału elektrody badanej [V/s], D – współczynnik dyfuzji substancji elektroaktywnej - dla 1 mM $K_3[Fe(CN)_6]$ w 0,1 M KCl wynosi $7,6 \cdot 10^{-6}$ [cm^2/s] [210].

Badanie własności adsorpcyjnych podłoża

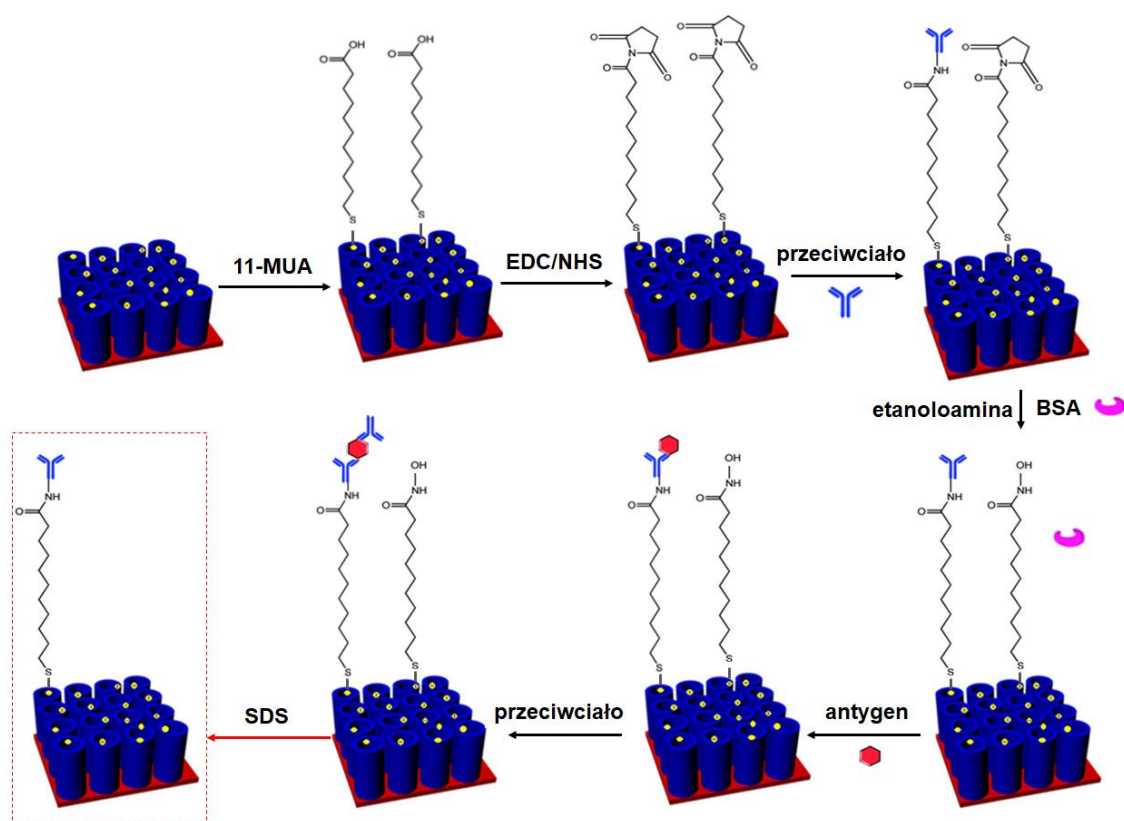
5 μl roztworu BSA o stężeniu 1 mg/ml nakroplono na powierzchnię elektrod TNT i AgNPs/TNT. Inkubacja trwała 0,5 lub 1 godzinę w temperaturze $40 \pm 2^\circ\text{C}$. Następnie próbki płukano dwukrotnie w 4 ml PBS przy użyciu mieszadła elektromagnetycznego przez 30 sekund, aby usunąć niezwiązane z podłożem molekuly. Pomiary EIS wykonano

po każdym płukaniu w celu oceny stabilności wiązania BSA z elektrodami. Skuteczność unieruchomienia BSA analizowano poprzez określenie procentowej zmiany wartości parametrów impedancyjnych przed i po procesem immobilizacji. Kolejnym krokiem było oszacowanie selektywności elektrod względem kompleksu BSA–anty-BSA po naniesieniu na elektrodę kolejnej biomolekuły. W tym celu 5 μ l roztworu IL-6 o stężeniu 1 mg/ml naniesiono na powierzchnię elektrod z unieruchomionym kompleksem i po godzinnej inkubacji IL-6 ponownie przeprowadzono pomiary EIS.

Funkcjonalizacja podłoża

Do funkcjonalizacji podłoża wykorzystano procedurę unieruchamiania białek opartą na metodzie kowalencyjnego wiązania (rysunek 23):

1. inkubacja AgNPs/TNT w 1 mM roztworze 11-MUA w etanolu (minimum 10 h),
- próbki trzykrotnie przemyto etanolem oraz wodą destylowaną, a następnie wysuszono w strumieniu azotu,
 2. inkubacja w roztworze zawierającym 0,4 M EDC i 0,1 M NHS EDC/NHS (1:1) (1 h),
- próbki trzykrotnie przemyto wodą destylowaną,
 3. unieruchomienie przeciwciał anti-HSP70 (1000 ng/ml, 1 h),
 4. dezaktywacja powierzchni 1 M roztworem etanoloaminy w 1 M HCl o pH = 8,5 (1 h),
 5. blokowanie powierzchni BSA (1 mg/ml, 1 h),
 6. unieruchomienie antygenów HSP70 o stężeniach w zakresie od 0,1 do 100 ng/ml (1h),
 7. unieruchomienie przeciwciał anti-HSP70 (1000 ng/ml, 1 h),
 8. regeneracja powierzchni 0,1% SDS w PBS (1 h),
- Po etapach 3 – 7 próbki trzykrotnie przemyto PBS.



Rysunek 23. Schemat funkcjonalizacji podłoża elektrody.

Przedstawiona procedura stanowi standardową metodę funkcjonalizacji stosowaną powszechnie w literaturze, a także była wybierana najczęściej do modyfikacji powierzchni czujników do oznaczania HSP70 (tabela 9). Opracowania protokołów funkcjonalizacji podłoża, ustalenia czasów inkubacji próbek (w zakresie od kilku do kilkudziesięciu godzin), jak i stężenia użytych roztworów dokonano na podstawie własnych doświadczeń oraz analizy literatury, której skrócony przegląd przedstawiono w tabeli 9.

Karaboga i wsp. [200] przeprowadzili badania związane z optymalizacją czasu unieruchomienia oraz stężenia i składu roztworu zawierającego przeciwciała HSP70. Uznano, że należy stosować stężenia nie mniejsze niż 1 $\mu\text{g/ml}$ oraz czas unieruchomienia do 60 min, ponieważ większe stężenia, a także dłuższy niż 60 min czas unieruchomienia białek powodują przesycenie powierzchni elektrody białkami, co może wpływać na pojawienie się niespecyficznych interakcji białko-białko. Ozcan i wsp. [201] zbadali wpływ czasu unieruchomienia przeciwciał i antygenów HSP70 w przedziale od 30 do 75 min. Dla obu biomolekuł wybrano czas unieruchomienia wynoszący 60 min, ponieważ uznano, że krótszy był niewystarczający do pełnego pokrycia powierzchni. Demirbakan i wsp. [202] sprawdzali czas inkubacji przeciwciał HSP70 w zakresie od 30 do 90 minut.

Zaobserwowano, że po naniesieniu przeciwciał, odpowiedzi elektrody po 45 i 60 minutach inkubacji były prawie jednakowe, dlatego uwzględniając oszczędność czasu wybrano krótszy z nich. Biorąc pod uwagę przedstawione wyniki uznano, że optymalnym czasem dla osadzania przeciwciał i antygenów HSP70 będzie 60 minut.

W związku z tym, że stężenie HSP70 w serum osób zdrowych przyjmuje wartości do 6,5 ng/ml, a w chorobach nowotworowych sięga nawet do około 100 ng/ml, zdecydowano się na wykonanie serii pomiarów EIS w zakresie stężeń od 0,1 do 100 ng/ml [191-196].

Tabela 9. Szczegóły procedur funkcjonalizacji wykorzystanych przy opracowywaniu czujników do oznaczania białka HSP70 (b.d. oznacza brak danych).

Czas inkubacji [min]				Bufor regeneracyjny	Bibl.
EDC/NHS	Anty-HSP70	BSA	HSP70		
inna metoda	b.d.	30	60	b.d.	189
15	60	30	40	0,3 mol/l bufor cytrynianowy (pH 2,7)	190
inna metoda	cała noc	cała noc	20	roztwór wodorotlenku tetrametyloamoniowego (pH 12)	197
b.d.	40	b.d.	20	milli-Q, 20 min	198
60	do 200	50	do 200	glicyna w HCl (pH 2), 50 min	199
inna metoda	60-75	b.d.	60	b.d.	200
60	60	b.d.	60	b.d.	201
60	45-60	b.d.	30	b.d.	202

Granice wykrywalności (LOD) obliczono ze wzoru [211]:

$$LOD = \frac{3.3\sigma}{s} \quad (22)$$

gdzie: σ – odchylenie standardowe wyników dla serii próbek ślepych, s – współczynnik kierunkowy krzywej kalibracyjnej.

Granice oznaczalności (LOQ) obliczono ze wzoru [211]:

$$LOQ = \frac{10\sigma}{s} \quad (22)$$

gdzie: σ – odchylenie standardowe wyników dla serii próbek ślepych, s – współczynnik kierunkowy krzywej kalibracyjnej.

Pomiar kąta zwilżania

Pomiary kąta zwilżania przeprowadzono za pomocą goniometru PG2 (Fibro Systems). Cieczą nakraplaną była woda destylowana, a objętość kropli wynosiła 3 μl . Pomiary powtarzano 3-krotnie.

Swobodną energię powierzchniową (S_e) obliczono ze wzoru [95]:

$$S_e = \gamma \cos \theta \quad (23)$$

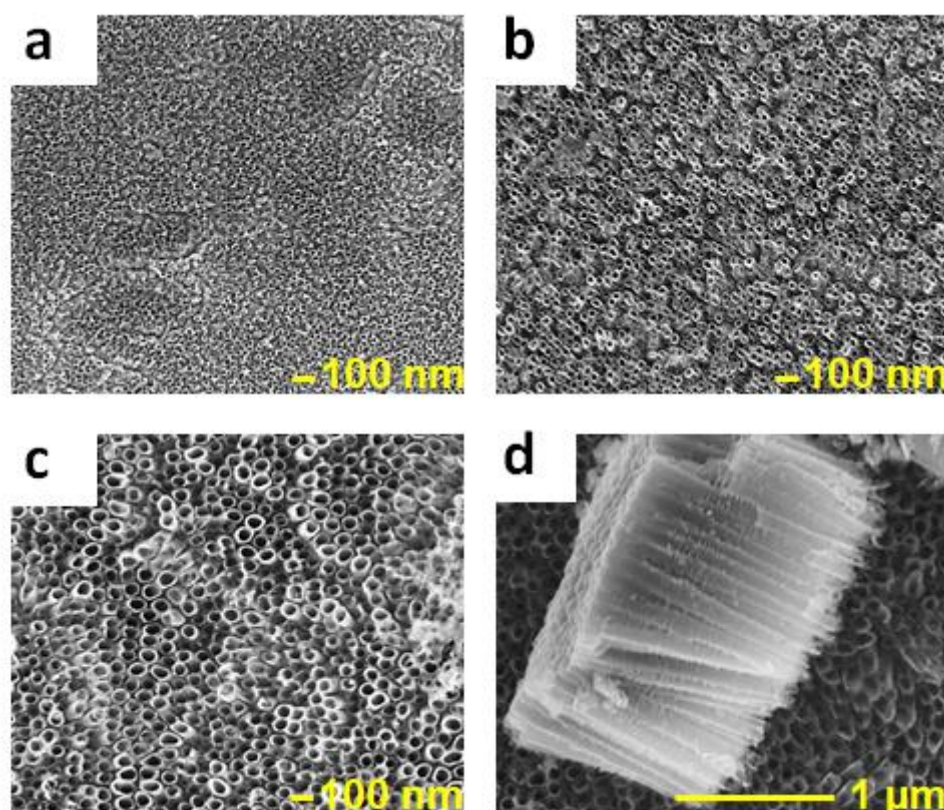
gdzie: γ – napięcie powierzchniowe wody destylowanej (72,8 mJ/m²), θ – statyczny kąt zwilżania [°].

WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

3. Wyniki badań TNT niepoddanych modyfikacji termicznej

3.1. Analiza mikroskopowa TNT niepoddanych modyfikacji termicznej

Obserwacje przeprowadzone za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (rysunek 24) wykazały, że anodowanie tytanu prowadzi do wytworzenia warstwy nanorurek ditlenku tytanu zorientowanej prostopadle do tytanowej folii. Nanorurki TiO_2 były otwarte od góry, zamknięte od dołu, posiadały regularny, cylindryczny kształt, przylegały do siebie krawędziami i posiadały pierścienie, tzw. mostki pomiędzy sąsiadującymi nanorurkami [83]. Wymiary wytworzonych nanorurek TiO_2 oraz wyniki mikroanalizy EDS podano w tabeli 10.



Rysunek 24. Zdjęcia SEM (widok z góry) nanorurek TiO_2 o średnicy: 25 (a), 50 (b) i 75 (c) nm oraz typowy widok TNT z boku (d).

Mikroanaliza EDS (tabela 10) wykazała obecność tytanu, tlenu oraz fluoru w warstwie anodowej. Zawartość fluoru wynika z użycia fluorku amonu jako składnika elektrolitu do anodowania. Wytworzone TNT charakteryzowały się jednakową wysokością 1000 nm oraz średnicą zewnętrzną: 25, 50 i 75 nm. Grubość ścianek nanorurek TiO₂ wzrastała wraz ze wzrostem średnicy, co potwierdzają badania Munirathinama i Neelakantana [88].

Tabela 10. Wymiary wytworzonych nanorurek TiO₂ oraz wyniki analizy EDS.

Wysokość TNT [nm]	1000 ± 68		
Średnica zewnętrzna (średnica wewnętrzna) [nm]	25 ± 3 (21 ± 1)	50 ± 7 (40 ± 3)	75 ± 9 (58 ± 2)
Ti [% wagowy]	72,9 ± 2,13	65,9 ± 1,95	62,1 ± 4,53
O [% wagowy]	15,8 ± 3,30	25,6 ± 2,37	26,9 ± 1,94
F [% wagowy]	11,4 ± 1,65	8,6 ± 2,19	11,0 ± 1,86

Biorąc pod uwagę parametry procesu anodowania (tabela 7), a także wyniki obserwacji SEM (rysunek 24) oraz analizy EDS (tabela 10) można zauważyć, że:

- wraz ze wzrostem napięcia anodowania wzrasta średnica nanorurek TiO₂, co pozostaje w zgodzie z wynikami uzyskanymi przez Li i wsp. [212],
- wzrost napięcia anodowania nie spowodował wzrostu wysokości warstwy TNT, co biorąc pod uwagę mechanizm formowania TNT oraz wyniki badań Macaka i wsp. [83] sugeruje, że wzrost ich wysokości byłby obserwowany w zakresie napięć do około 10 V,
- większa lepkość roztworów do anodowania użytych do wytworzenia nanorurek TiO₂ o średnicy 25 i 75 nm (90% wagowych GE) skutkuje odpowiednio cztero- i sześciokrotnym skróceniem czasu wytwarzania TNT, w porównaniu do nanorurek TiO₂ o średnicy 50 nm (85% wagowych GE). Może mieć to związek z wolniejszą dyfuzją jonów fluorkowych z i do wnętrza TNT,
- prawdopodobnie w wyniku wspomnianych wyżej różnic w lepkości elektrolitów, w przypadku TNT o średnicach 25 i 75 nm obserwuje się wyższą zawartość fluoru w strukturze.

Wymiary nanorurek TiO_2 posłużyły do obliczenia podstawowych parametrów charakteryzujących wytworzone struktury, a w tym współczynnika kształtu, porowatości oraz powierzchni właściwej. Wyniki zamieszczone w tabeli 11 pokazują, że wartości wymienionych parametrów zmniejszają się wraz ze wzrostem średnicy TNT. TiO_2 charakteryzował się porowatością w zakresie od 54 do 64%. Korelacja ujemna porowatości ze średnicą nanorurek TiO_2 jest zgodna z wynikami uzyskanymi przez Hoseinzadeh i wsp. [81]. Powierzchnia tytanu poddana anodowaniu wynosiła $0,25 \text{ cm}^2$, podczas gdy powierzchnia właściwa nanorurek TiO_2 o średnicach 25, 50 i 75 nm oraz wysokości 1000 nm, wytworzonych na tym obszarze malała wraz ze wzrostem średnicy i wynosiła odpowiednio około 22, 33 i 67 cm^2 , a więc anodowanie spowodowało wzrost powierzchni właściwej odpowiednio około 88, 132 i 268-krotnie.

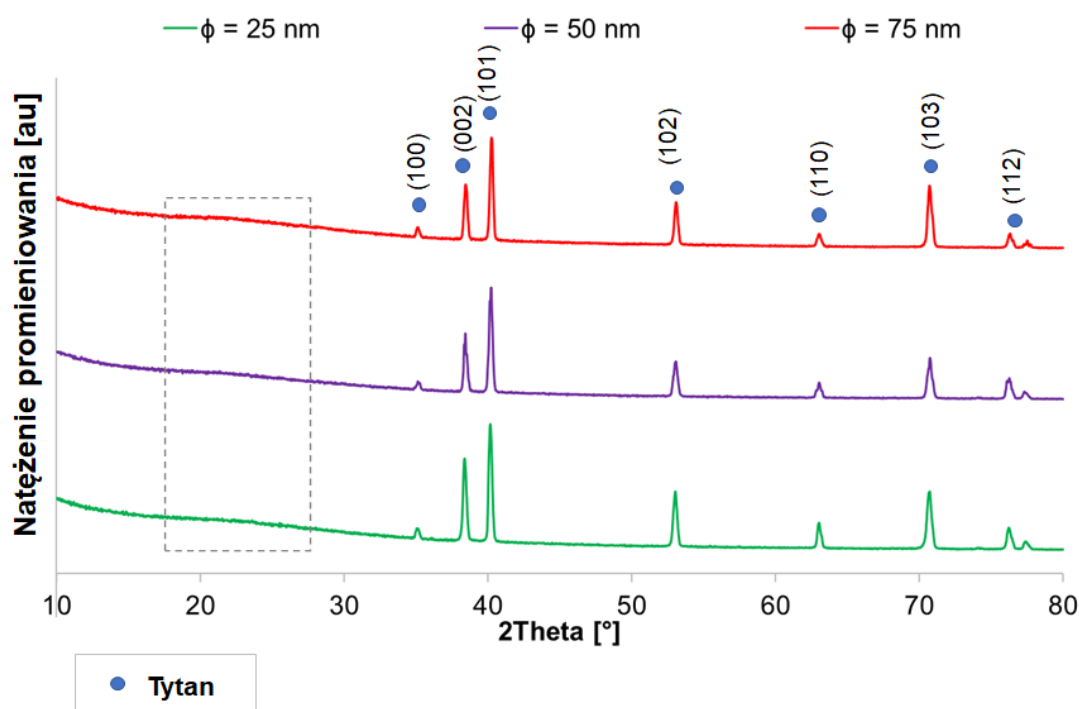
Tabela 11. Podstawowe wielkości charakteryzujące wytworzone warstwy nanorurek TiO_2 .

ϕ [nm]	Współczynnik kształtu	Porowatość	Powierzchnia geometryczna (anodowana)	Powierzchnia całkowita nanorurki	Powierzchnia właściwa	Powierzchnia właściwa na powierzchni anodowanej
	wzór (15)	wzór (19)	[cm^2]	wzór (16) $A_t \cdot 10^{-9} [\text{cm}^2]$	wzór (17) $A_s [\text{cm}^2]$	w przeliczeniu na $0,25 \text{ cm}^2$
25	40,0	0,64	0,25	2,90	267,92	66,98
50	20,0	0,58		5,71	131,83	32,96
75	13,(3)	0,54		8,49	87,19	21,80

3.2. Analiza rentgenowska TNT niepoddanych modyfikacji termicznej

Dyfraktogramy XRD zarejestrowane dla niewyżarzonych TNT wraz z opisem pików odpowiadających płaszczyznom krystalograficznym przedstawiono na rysunku 25. Analiza wykazała obecność pików pochodzących od tytanowego podłoża, a także zaznaczone przerywaną linią bardzo słabo zarysowane podniesienie tła wskazujące na obecność w próbkach amorficznego TiO_2 [213]. Materiały amorficzne rozpraszają promieniowanie

rentgenowskie, co objawia się na dyfraktogramach szerokimi garbami. Główny pik dyfrakcyjny tytanu (101) występuje dla $40,16^\circ$ w przypadku TNT o średnicy 25 nm, dla $40,21^\circ$ w przypadku TNT o średnicy 50 nm oraz dla $40,24^\circ$ w przypadku TNT o średnicy 75 nm, a jego natężenie wynosi odpowiednio: 11889, 10559, 10475, a więc można zauważyć, że wraz ze wzrostem średnicy i grubości ścian nanorurek TiO_2 się ono zmniejsza w wyniku zwiększenia zawartości tlenu w strukturze TNT. Średnica ma również wpływ na przesunięcie maksimów pików.



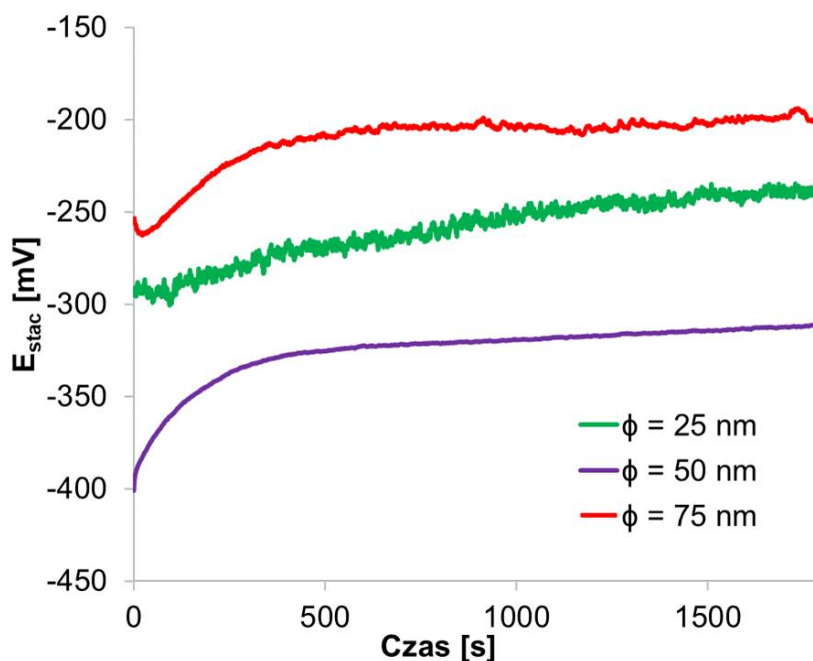
Rysunek 25. Dyfraktogramy XRD zarejestrowane dla nanorurek TiO_2 niewyżarzonych.

3.3. Charakterystyka elektrochemiczna TNT niepoddanych modyfikacji termicznej

Charakterystykę elektrochemiczną próbek przeprowadzono zgodnie z metodyką opisaną w części eksperymentalnej pracy w roztworze PBS o stężeniu 0,01 M powszechnie stosowanym jako roztwór buforowy, którego osmolalność i stężenia jonów są podobne do płynów ustrojowych człowieka. Z tego powodu znajduje on zastosowanie w badaniach elektrochemicznych oraz gdy dane podłoże ma być potencjalnie wykorzystywane do oznaczania analitów biologicznych lub do charakteryzowania oddziaływań biomolekuł [214-215]. Pomiar potencjału stacjonarnego daje informację na temat podatności

i odporności korozyjnej materiału. W przypadku tytanu odporność ta przewyższa wiele powszechnie stosowanych podłoży metalicznych (np. stal 316L). Głównym powodem doskonałej odporności jest silne powinowactwo tytanu do tlenu, co skutkuje powstaniem wysoce odpornej i samoregenerującej się pasywnej warstwy [216]. Z tych względów tytan oraz jego stopy wykorzystywane są jako materiały konstrukcyjne w lotnictwie, technikach wojskowych, czy transporcie morskim.

Rysunek 26 przedstawia krzywe przebiegu potencjału stacjonarnego rejestrowane w czasie 1800 sekund w roztworze PBS dla warstw TNT o różnej średnicy. Na początku pomiaru OCP przesuwają się w kierunku anodowym, a jego wartość względnie stabilizuje się po upływie około 400 sekund. Wszystkie próbki charakteryzują się ujemną wartością potencjału stacjonarnego (rysunek 26, tabela 12). Krzywe zarejestrowane dla nanorurek TiO_2 o większych średnicach charakteryzują się mniejszymi oscylacjami mierzonego sygnału. Oscylacje te mogą świadczyć o lokalnych reakcjach tworzenia się i rozpuszczania warstwy tlenkowej [217]. Równowaga między tymi procesami jest trudna do ustalenia z uwagi na obecność fluoru w strukturze nanorurek TiO_2 , szczególnie w przypadku TNT o średnicy 25 i 75 nm, w przypadku których analiza EDS wykazała większą zawartość fluoru (tabela 10).



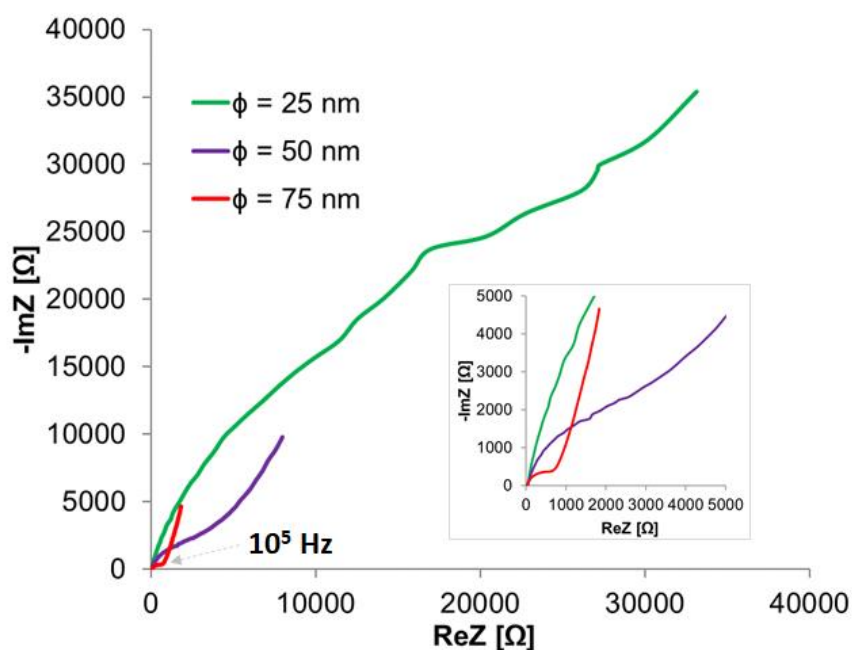
Rysunek 26. Krzywe OCP zarejestrowane dla nanorurek TiO_2 niewyżarzonych.

Twierdzi się, że znaczącą rolę w odporności korozyjnej należy przypisywać warstwie barierowej znajdującej się pod nanorurkami TiO_2 , a będącej w bezpośrednim kontakcie z powierzchnią metalu [218]. Jej wysokość wzrasta wraz z napięciem anodowania [83], a więc największą osiąga się w przypadku nanorurek TiO_2 o średnicy 75 nm, co potwierdzają wyniki badań OCP, gdyż ta struktura charakteryzuje się najwyższym potencjałem stacjonarnym (tabela 12). Biorąc jednak pod uwagę rozrzut wartości E_{stac} (tj. uwzględniając wartości odchyłeń standardowych), korelacja między rozmiarem średnicy TNT, czy też pozostałymi parametrami geometrycznymi TNT a potencjałem stacjonarnym nie została jasno określona [217].

Tabela 12. Wartości średnie E_{stac} oraz parametrów impedancyjnych dla nanorurek TiO_2 niewyżarzonych.

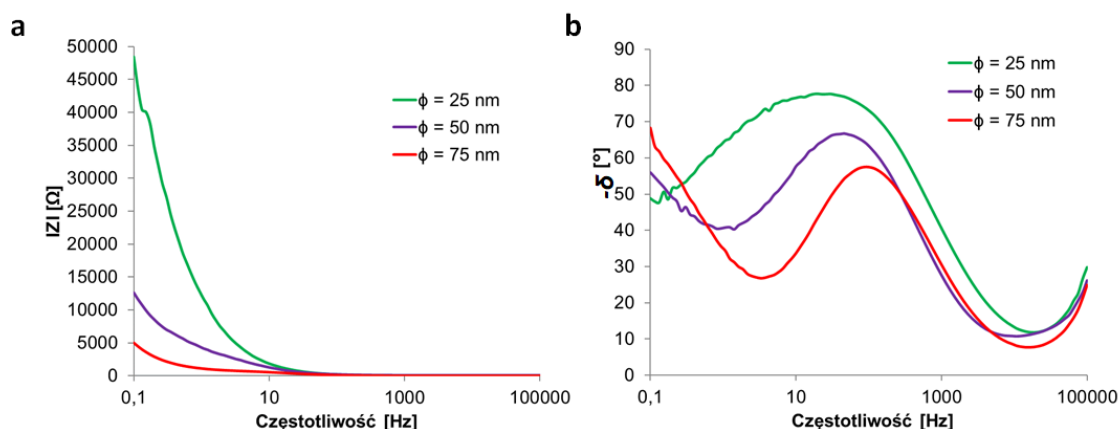
ϕ [nm]	E_{stac} [mV]	$-\delta$ [°]	$-\text{Im}Z$ [Ω]	$\text{Re}Z$ [Ω]	$ Z $ [Ω]
25	-233 ± 26	$26,5 \pm 2,9$	26225 ± 8918	28969 ± 14289	39407 ± 15751
50	-282 ± 27	$26,3 \pm 0,7$	9844 ± 853	7190 ± 824	12207 ± 1084
75	-181 ± 40	$25,1 \pm 0,6$	4818 ± 472	1981 ± 439	5214 ± 607

Krzywe Nyquista (rysunek 27) uzyskane dla najniższych częstotliwości przedstawiają fragmenty nie w pełni ukształtowanych, charakterystycznych dla warstw tlenkowych półkoli [219-223], co odpowiada oporowi przenoszenia ładunku pomiędzy elektrodą a elektrolitem, który zmniejsza się wraz ze wzrostem średnicy TNT [96]. Zarówno całkowity opór czynny ($\text{Re}Z$), jak i bierny ($-\text{Im}Z$), a więc i wypadkowa impedancja warstw TNT koreluje dodatnio ze średnicą nanorurek TiO_2 : wraz ze wzrostem średnicy obserwuje się wzrost parametrów impedancyjnych. Największym przewodnictwem elektrycznym charakteryzują się nanorurki TiO_2 o średnicy 75 nm.



Rysunek 27. Wykres Nyquista zarejestrowany dla nanorurek TiO₂ niewyżarzonych w zakresie częstotliwości od 0,1 do 10⁵ Hz.

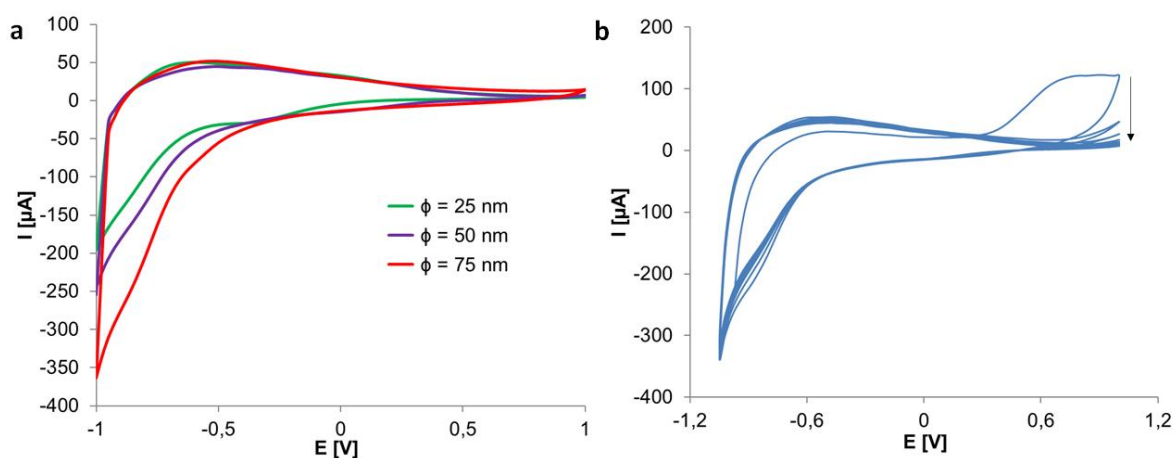
Wykresy Bodego na rysunku 28 pokazują wzrost wartości modułu impedancji oraz zmniejszanie się wartości kąta fazowego dla najwyższej częstotliwości wraz ze wzrostem średnicy TNT. Kąt fazowy dla tej częstotliwości charakteryzuje część elektrody pozostającej w kontakcie z elektrolitem, co jest związane z niedoskonałością powierzchni próbki [224], a w przypadku nanorurek TiO₂ odnosi się do porowatości tego podłoża. Wraz ze wzrostem porowatości obserwuje się wzrost kąta fazowego dla najwyższej częstotliwości. Obecność dwóch maksimów kąta fazowego na wykresie fazowym (rysunek 28 b) świadczy o istnieniu pod TNT warstwy tlenku barierowego [88, 96]. W przypadku zwartych warstw TiO₂ występuje jedynie jedno maksimum, co potwierdzają zarówno badania własne [225], jak i badania innych autorów [218]. Różnice w wartościach częstotliwości, przy których występują przegięcia są związane z różną grubością i morfologią (którą determinuje średnica wytworzonych nanorurek TiO₂) warstwy barierowej [83, 217].



Rysunek 28. Wykresy Bodego uzyskane dla niewyżarzonych nanorurek TiO₂.

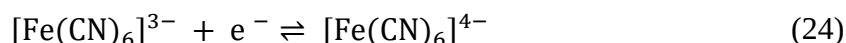
Wartości odchyłeń standardowych parametrów elektrochemicznych przedstawione w tabeli 12 jednoznacznie wskazują, że niewyżarzony TNT charakteryzuje się niewielką powtarzalnością, na co z całą pewnością duży wpływ ma ich struktura amorficzna.

Woltamperogramy cykliczne przedstawione na rysunku 29 a pokazują znaczne zmiany prądowe w zakresie potencjałów od -1 V do -0,7 V, które są związane z wydzielaniem wodoru, natomiast w zakresie wysokich potencjałów z utlenianiem powierzchni – wydzielaniem tlenu [226-227]. Im większa jest separacja prądów pomiędzy krzywą utleniania, a redukcji, tym lepsza jest przewodność danego podłoża, a więc wzrasta ona wraz ze wzrostem średnicy TNT. Stabilność elektrod była oceniana za pomocą pomiaru odpowiedzi prądowej przez 10 cykli (rysunek 29 b). Wszystkie próbki przedstawiały podobne zachowanie, a ich wspólną cechą jest wysoka stabilność podłoża, ponieważ rejestrowane przebiegi z wyjątkiem pierwszego cyklu niemal się pokrywają [228].

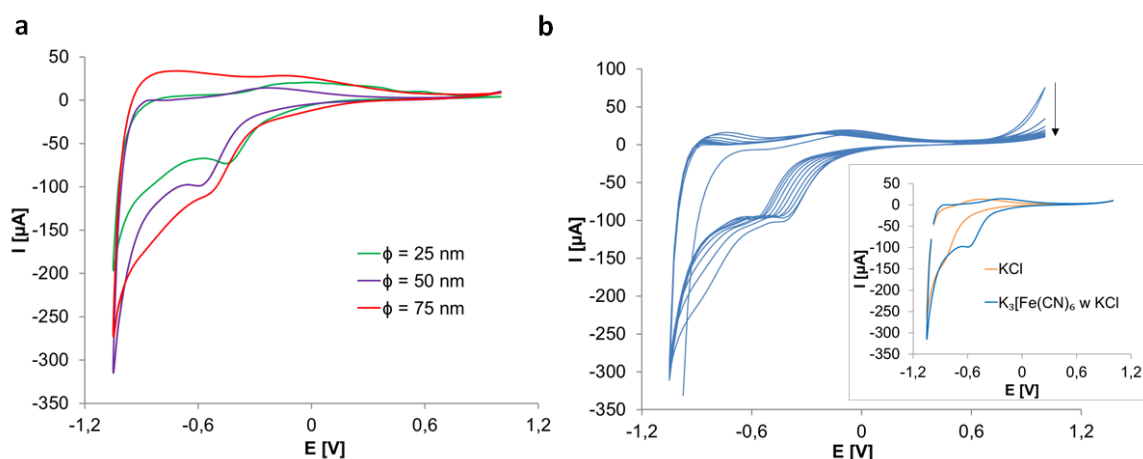


Rysunek 29. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla nanorurek TiO₂ niewyżarzonych (a) oraz dziesięć cykli dla TNT o średnicy 50 nm (b) zarejestrowane w roztworze PBS.

$\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ ($E_S^0 = -0,36 \text{ V}$) jest jedną z najczęściej analizowanych par redoks w elektrochemii. Proces redukcji/utleniania wyraża równanie [209]:



Analizowane próbki (rysunek 30 a), oprócz opisanych wcześniej pików związanych z adsorpcją i desorpcją wodoru i tlenu, wykazywały pik redukcji w zakresie od -0,45 do -0,6 V i słabo ukształtowany pik anodowy w zakresie od -0,1 do 0 V. W przypadku TNT o średnicy 75 nm obserwuje się największą separację krzywych prądowych. Rysunek 30 b pokazuje, że już w pierwszym cyklu skanowania występują wyraźne piki redoks, co świadczy o szybkim czasie odpowiedzi elektrod. Względna powtarzalność cykli informuje o stabilności podłoża. Stosunek $I_{pa}/I_{pk} \neq 1$, wskazuje na nieodwracalność reakcji, a tym samym na niską przewodność elektryczną amorficznych TNT [228].



Rysunek 30. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla nanorurek TiO_2 niewyżarzonych o różnej średnicy (a) oraz dziesięć cykli dla TNT o średnicy 50 nm (b) zarejestrowane w roztworze żelazicyjanku potasu w chlorku potasu.

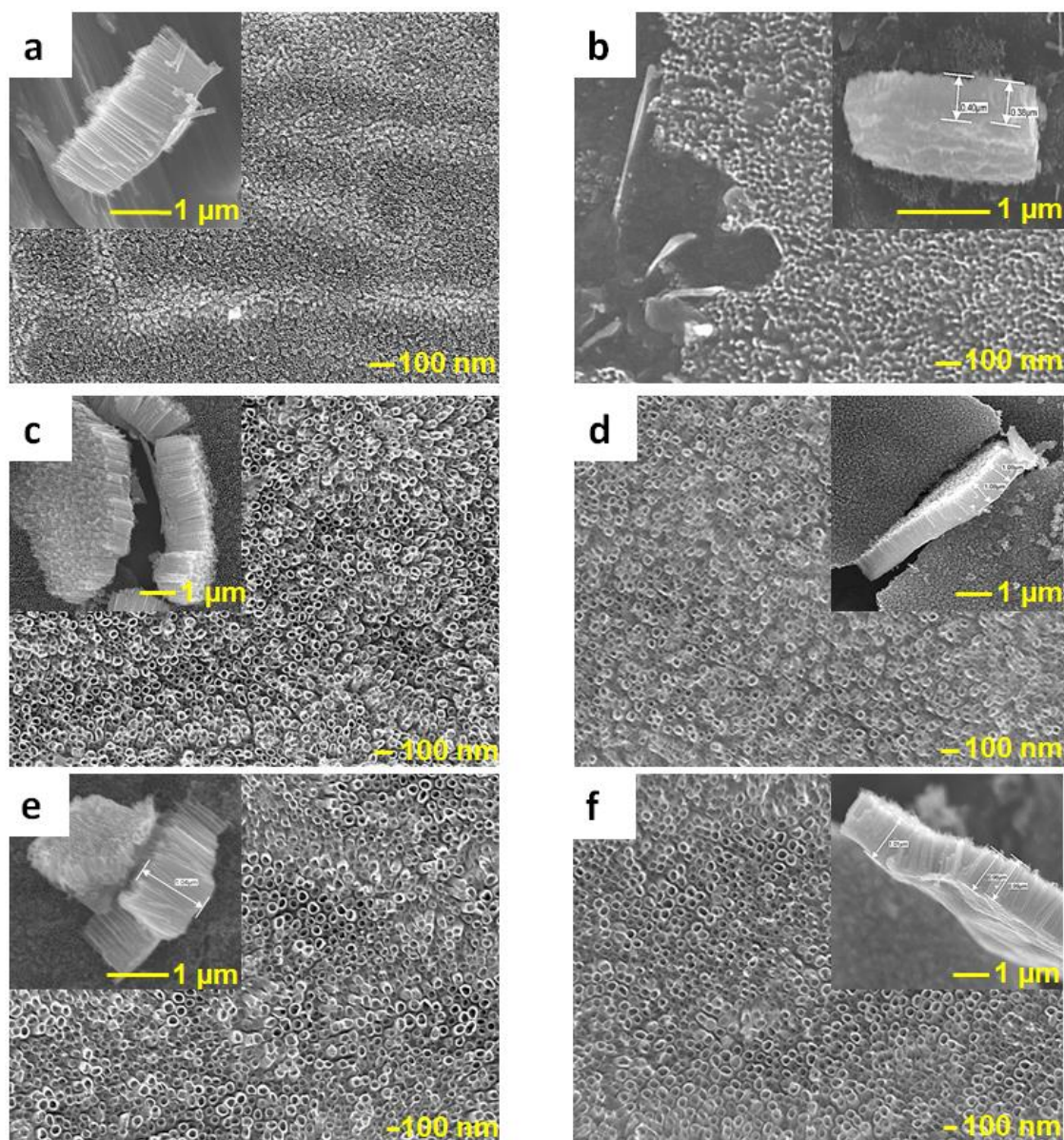
Uzyskane charakterystyki elektrochemiczne amorficznych nanorurek ditlenku tytanu wykazały, że wraz ze wzrostem średnicy TNT zmniejsza się: opór czynny i bierny, moduł impedancji, kąt fazowy, a także zwiększa się separacja krzywych anodowych i katodowych w badaniach woltamperometrycznych, a więc i przewodność elektryczna. Stabilność odpowiedzi elektrod w kolejnych cyklach badań woltamperometrycznych potwierdziła możliwość użycia TNT jako podłoża czujnika elektrochemicznego, jednak biorąc pod uwagę nieodwracalny charakter reakcji redoks $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$, a także wysokie wartości odchyłeń standardowych wyznaczonych parametrów elektrochemicznych (tabela 11),

konieczna jest ich modyfikacja. W pierwszej kolejności będzie to obróbka termiczna. Oczekuje się, że spowoduje ona zmniejszenie rozrzutu uzyskiwanych parametrów oraz przewodności elektrycznej TNT, gdyż skutkuje ona przekształceniem materiału amorficznego na krystaliczny o uporządkowanej strukturze. W kolejnych etapach TNT zostanie zmodyfikowane AgNPs, stąd zastosowanie wyżarzania jest również istotne, ponieważ Liang i wsp. [125] wskazują, na słabszą przyczepność nanocząstek srebra do niewyżarzanych powierzchni nanorurek TiO_2 .

4. Wyniki badań TNT po modyfikacji termicznej

4.1. Analiza mikroskopowa TNT po modyfikacji termicznej

Analiza mikroskopowa TNT modyfikowanych termicznie (rysunek 31) wykazała, że wyżarzanie w temperaturze 450°C nie spowodowało uszkodzenia ich struktury czy też zmiany wymiarów, co pozostaje w zgodzie z badaniami Zhu i wsp. [229] oraz Yu i wsp. [230]. Obróbka termiczna w temperaturze 550°C okazała się niszcząca jedynie w przypadku próbek o średnicy 25 nm. Obrazy SEM tej struktury (rysunek 31 b) pokazują skrócenie warstwy TNT z 1000 do około 300 nm o morfologii przypominającej tlenek porowaty, a także obszary z tlenkiem zwartym. Morfologia pozostałych struktur została nienaruszona, a więc można stwierdzić, że im większa jest średnica nanorurek TiO_2 (oraz grubość ich ścian), tym są one bardziej odporne na niszczące działanie temperatury.



Rysunek 31. Zdjęcia SEM nanorurek TiO_2 : o średnicy 25 nm wyżarzonych w temperaturach 450°C (a) i 550°C (b), o średnicy 50 nm wyżarzonych w temperaturach 450°C (c) i 550°C (d) oraz o średnicy 75 nm wyżarzonych w temperaturach 450°C (e) i 550°C (f).

Huang i wsp. [87] obserwowali zniszczenie struktury nanorurek TiO_2 o średnicy 30 i 50 nm (wysokość 100 nm) w temperaturze 530°C. W przypadku niniejszych badań TNT o średnicy 50 nm nie uległy uszkodzeniu prawdopodobnie dzięki ok 10-krotnie większej wysokości warstwy TNT. Badania Zhu i wsp. [229] wykazały natomiast, że w przypadku nanorurek TiO_2 o średnicy 30 nm i 2 razy większej wysokości nawet temperatura 600°C nie spowodowało ich uszkodzenia. Sreekantan i wsp. [106] zaobserwowali, że deformacja TNT o wysokości 1000 nm i średnicy 85 nm nastąpiła

w temperaturze 600°C, dlatego też można się spodziewać, że temperatura ta okazałaby się niszcząca również dla nanorurek TiO₂ o średnicy 75 nm. Wyniki te wskazują, że wysokość warstwy TNT jest istotnym czynnikiem w procesie przemiany fazowej.

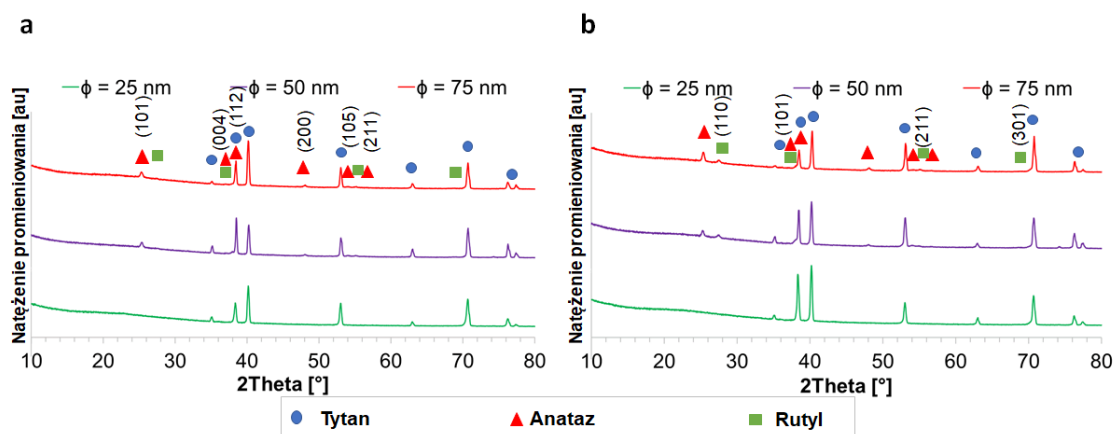
Zestawienie wyników analizy EDS przedstawiono w tabeli 13. Wyżarzanie skutkowało usunięciem jonów fluorkowych ze struktury TNT [89, 229]. Stosunek Ti/O jest niestechiometryczny, co może wskazywać na obecność Ti³⁺ w tlenkach [96].

Tabela 13. Wyniki analizy EDS nanorurek TiO₂ wyżarzonych w temperaturach 450°C i 550°C.

Temperatura wyżarzania [°C]	450			550		
Średnica TNT [nm]	25	50	75	25	50	75
Ti [% wagowy]	78,18	72,49	61,10	63,47	58,69	67,24
± SD	1,44	2,01	1,41	0,88	1,07	1,75
O [% wagowy]	19,78	24,53	36,48	35,01	39,42	29,98
± SD	0,75	1,39	1,45	0,91	1,16	1,47

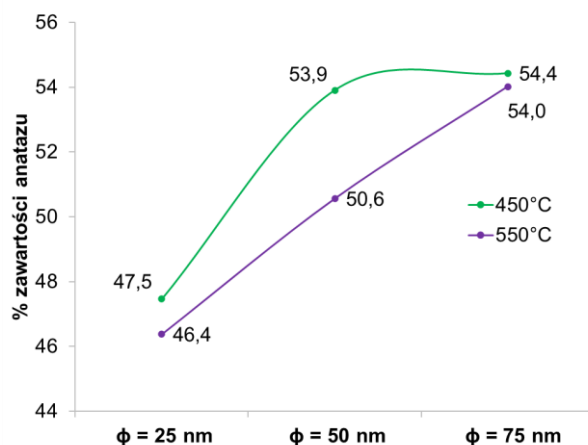
4.2. Analiza rentgenowska TNT po modyfikacji termicznej

Dyfraktogramy XRD zarejestrowane dla wyżarzonych TNT wraz z opisem pików odpowiadających płaszczyznom krystalograficznym przedstawiono na rysunku 32, przy czym dla lepszej czytelności rysunków płaszczyzny krystalograficzne anatazu opisano na rysunku 32 a, a rutyłu na rysunku 32 b, natomiast tytanu na rysunku 25. Rentgenogramy XRD wykazały obecność pików pochodzących od tytanowego podłoża, a także dwóch odmian krystalicznych TiO₂: anatazu i rutyłu. Główny piki dyfrakcyjny anatazu (101) osiąga swoje maksimum około 25,5°, a rutyłu (110) około 27,5° [151, 152, 231]. Główny piki dyfrakcyjny podłoża tytanowego (101), dla którego największą wartość natężenia obserwuje się około 40° zaczyna zmniejszać się w temperaturze 550°C wraz ze wzrostem natężenia pików rutyłowego. Zachowanie to tłumaczy się bezpośrednim przekształcaniem w rutył warstwy zwartej na tytanowej folii [97]. Obecność rutyłu w próbkach wyżarzanych w temperaturze 450°C pozostaje w zgodzie z doniesieniami literaturowymi [94-95], w których odnotowano jego obecność w strukturze TNT po obróbce termicznej w temperaturach 430°C i 450°C.



Rysunek 32. Dyfraktogramy XRD zarejestrowane dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C (a) i 550°C (b).

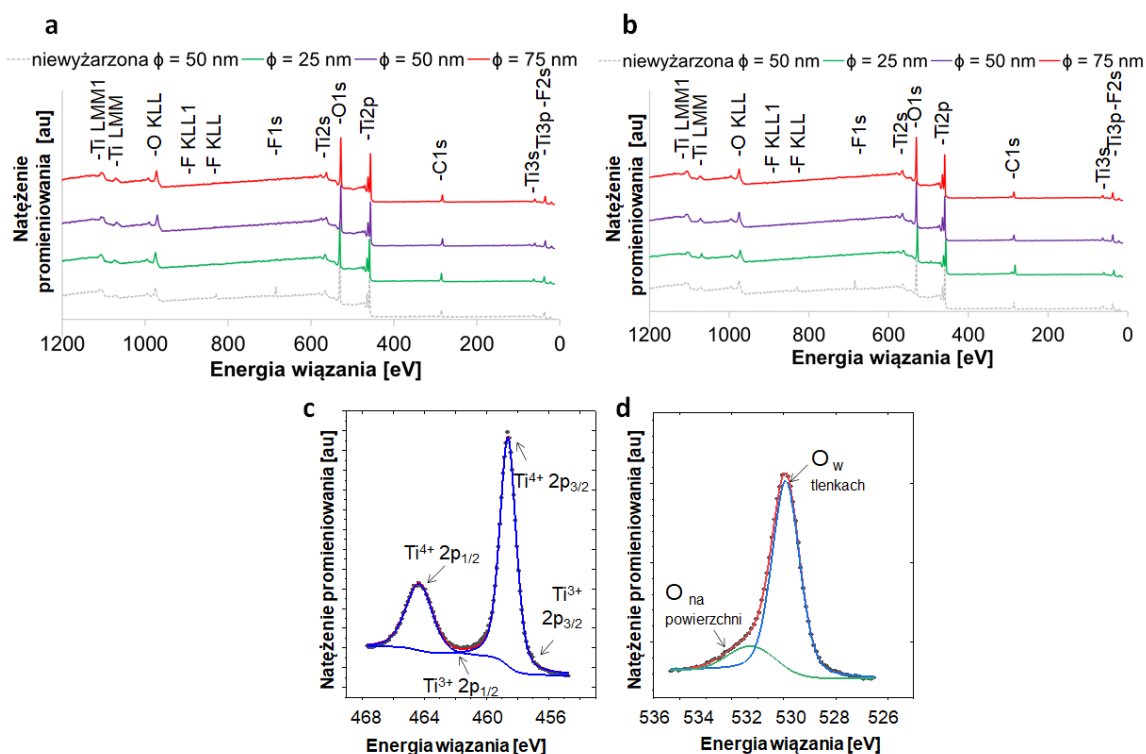
Rysunek 33 pokazuje zawartość procentową anatazu w poszczególnych próbkach TNT po wyżarzaniu w temperaturach 450°C i 550°C obliczoną ze wzoru Spurra i Myersa (równanie (17)). Prezentowane wyniki pozostają w zgodzie z rezultatami uzyskanymi przez Huanga i wsp. [87], zgodnie z którymi im większa średnica TNT i grubość ich ścian, tym niezbędna jest wyższa temperatura inicjująca zajście przemiany anatazu w rutyl. Autorzy wykazali, że TNT wyżarzone w temperaturach 450°C i 530°C o średnicy 30 nm zawierały w przewodzie rutyl, natomiast te o większych średnicach (50-100 nm) anataz, co pokrywa się z uzyskanymi wynikami. Stwierdzono, że strukturalne zapadnięcie nanorurek TiO_2 można przypisać zarodkowaniu rutylu w warstwie barierowej. Faza rutylu cechuje się bowiem większymi krystalitami, a ich wzrost stopniowo łączy ściany nanorurek TiO_2 czemu towarzyszy zapadnięcie ich struktury. Jednakże w tym miejscu warto wspomnieć, że według Ohtani'ego i wsp. [205] analiza XRD powinna służyć jedynie do jakościowego określania składu fazowego próbek, ponieważ nie można wykluczyć obecności fazy amorficznej w strukturze, która nie daje sygnału w postaci pików na dyfraktogramie, a jedynie słabo zarysowane podniesienie tła, którego można doszukiwać się około 22° . Możliwe, że z tego względu w wielu pracach nie obliczano zawartości procentowej faz na podstawie rentgenogramów XRD.



Rysunek 33. Procentowa zawartość anatazu w nanorurkach TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C i 550°C .

Widma XPS zarejestrowane dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C i 550°C przedstawiono na rysunku 34 a i 34 b. Ponadto dla porównania, oba rysunki zawierają widmo XPS uzyskane dla TNT niewyżarzonych o średnicy 50 nm. W próbkach wyżarzonych wykryto trzy pierwiastki: węgiel, tlen i tytan, natomiast w niewyżarzonych dodatkowo fluor. Maksimum pików dla fluoru (orbital 1s) obserwuje się dla 684,2 eV. Jako że jest on obecny jedynie w strukturze niewyżarzonej można stwierdzić, że występuje w postaci jonów F^- fizycznie zaadsorbowanych do TNT [232-233], a obróbka termiczna prowadzi do ich usunięcia ze struktury. Piki składowe reprezentujące Ti 2p osiągają maksimum dla 458,6 i 464,3 eV o separacji równej około 5,7 eV, co wskazuje na obecność Ti^{4+} w tlenku TiO_2 . Ponadto niewielkie odchylenia od dopasowania widm na rysunku 34 c mogą wskazywać na obecność Ti^{3+} w tlenku Ti_2O_3 , (z maksimum około 457,1-457,6 eV i separacją pików około 5,6 eV) [234-236]. Widma tlenu O 1s (rysunek 34 d) zostały rozłożone na dwa maksima: pierwsze przy około 530 eV, które przypisuje się tlenowi w tlenku tytanu (jony O^{2-} w sieci krystalicznej) [237-238], natomiast drugie około 531 eV odpowiada przypowierzchniowym grupom OH^- lub zaadsorbowanej wodzie w miejscach defektów punktowych (wakansów tlenowych) [235, 237-239]. Maksimum występujące dla 531 eV można też przypisać tlenowi w zanieczyszczeniu węglowym, które jest rozpoznawane na powierzchni większości próbek wystawionych na działanie powietrza [236]. Stąd też obecność pików C 1s przy 284,8-290 eV odpowiadających wiązaniom C-C, C-O, O-C=O.

Co więcej, w przypadku TNT o średnicy 25 nm po wyżarzaniu w temperaturze 550°C obserwuje się zmniejszenie wysokości pików pochodzących od tytanu oraz tlenu, co potwierdza zmniejszenie wysokości warstwy tlenkowej.



Rysunek 34. Zestawienie widm XPS zarejestrowanych dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C (**a**) i 550°C (**b**), oraz widmo Ti 2p (**c**) i O 1s (**d**) uzyskanych dla TNT o średnicy 50 nm wyżarzonych w temperaturze 450°C.

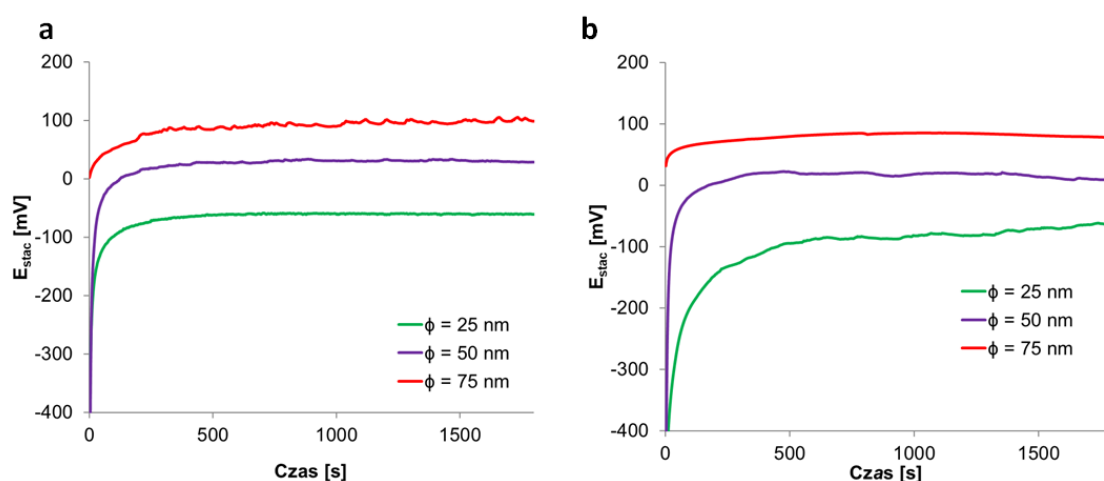
Analiza składu chemicznego (tabela 14) przeprowadzona na podstawie widm XPS zarejestrowanych dla TNT o średnicy 50 nm przed i po wyżarzaniu w obu temperaturach (450°C i 550°C), wykazała wzrost zawartości tlenu w tlenkach oraz ubytek tlenu w warstwie przypowierzchniowej wraz ze wzrostem temperatury wyżarzania, co pozostaje w zgodzie z literaturą [100]. Stosunek tlenu w tlenkach do tytanu jest niestechiometryczny, co może wskazywać na obecność innych niż TiO_2 tlenków tytanu.

Tabela 14. Skład chemiczny (% atomowy) powierzchni TNT o średnicy 50 nm przed i po wyżarzaniu w temperaturach 450°C i 550°C obliczony na podstawie widm XPS.

$\phi = 50 \text{ nm}$	C całkowity	F	O w tlenkach	O na powierzchni	Ti
TNT (niewyżarzone)	21,9	7,0	39,2	10,6	21,3
TNT (450°C)	16,8	-	47,1	8,8	21,7
TNT (550°C)	19,1	-	50,1	7,4	23,4

4.3. Charakterystyka elektrochemiczna TNT po modyfikacji termicznej

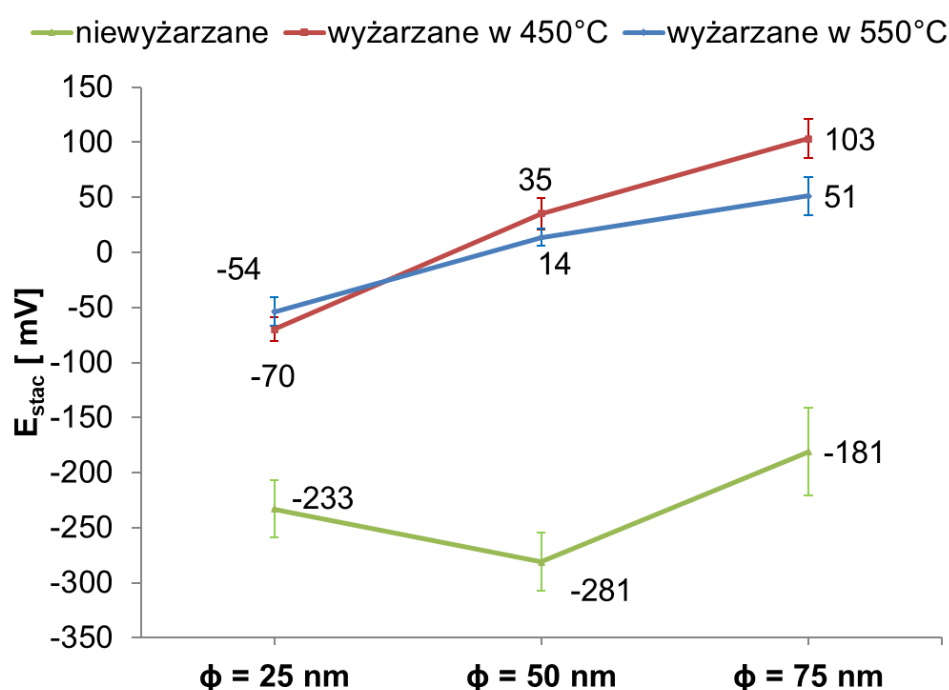
Przedstawione na rysunku 35 krzywe OCP zarejestrowane dla próbek wyżarzonych w temperaturach 450°C i 550°C charakteryzują się dużo mniejszymi oscylacjami mierzonego sygnału w porównaniu z przebiegami uzyskanymi dla amorficznych TNT (rysunek 26). Jest to prawdopodobnie wynikiem usunięcia z ich struktury rozтворяjących tlenek jonów fluorkowych, a także zmniejszenia ilości tlenu przypowierzchniowego (w grupach OH), co zwiększa zwilżalność powierzchni (tabela 12 i 13) i powoduje przyspieszenie względnej stabilizacji OCP wraz ze wzrostem temperatury wyżarzania. Nieregularności na krzywej OCP rejestrowanej dla TNT o średnicy 25 nm wyżarzonych w temperaturze 550°C mogą potwierdzać wykazane w badaniach SEM zniszczenie warstwy, natomiast dla TNT o średnicy 75 nm wyżarzonych w niższej temperaturze przypuszczalnie wskazują na obecność w ich strukturze tlenu amorficznego.



Rysunek 35. Krzywe OCP zarejestrowane dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C (a) i 550°C (b).

Na rysunkach 36, 38 i 40 przedstawiono zestawienia średnich wartości parametrów elektrochemicznych charakteryzujących TNT przed i po wyżarzaniu w temperaturach 450°C i 550°C. Rysunek 36 pokazuje, że obróbka termiczna powoduje wzrost wartości E_{stac} , a więc i poprawę odporności korozyjnej nanorurek TiO_2 [218], która zwiększa się wraz ze wzrostem średnicy, ale też zawartości anatazu w ich strukturze. Stanowisko badaczy na temat wpływu składu fazowego na odporność korozyjną TNT jest podzielone - część z nich zdaje się potwierdzać, że korzystniejsza jest przewaga zawartości anatazu

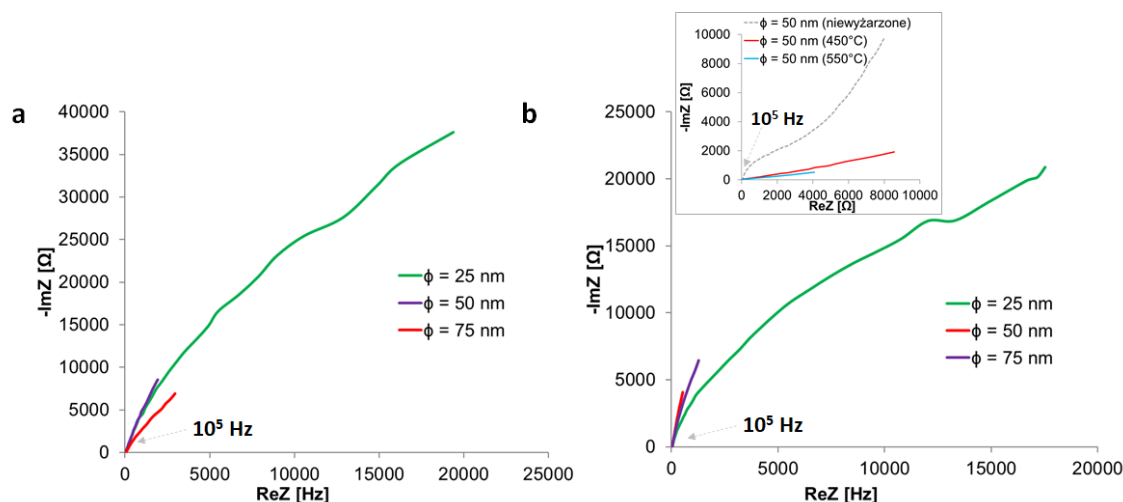
[88], natomiast badania Mazare wykazały, że wraz ze wzrostem temperatury wyżarzania, a więc i ilości rutyłu w strukturze, zwiększa się odporność korozyjna TNT [95]. Uszkodzenie struktury TNT (25 nm wyżarzone w 550°C) spowodowało wzrost wartości E_{stac} , co wskazuje, że warstwy zwarte charakteryzują się lepszą odpornością korozyjną [225]. Obróbka termiczna spowodowała również zmniejszenie rozrzutu uzyskanych wyników.



Rysunek 36. Zestawienie wartości średnich potencjału stacjonarnego nanorurek TiO_2 niewyżarzonych i wyżarzonych.

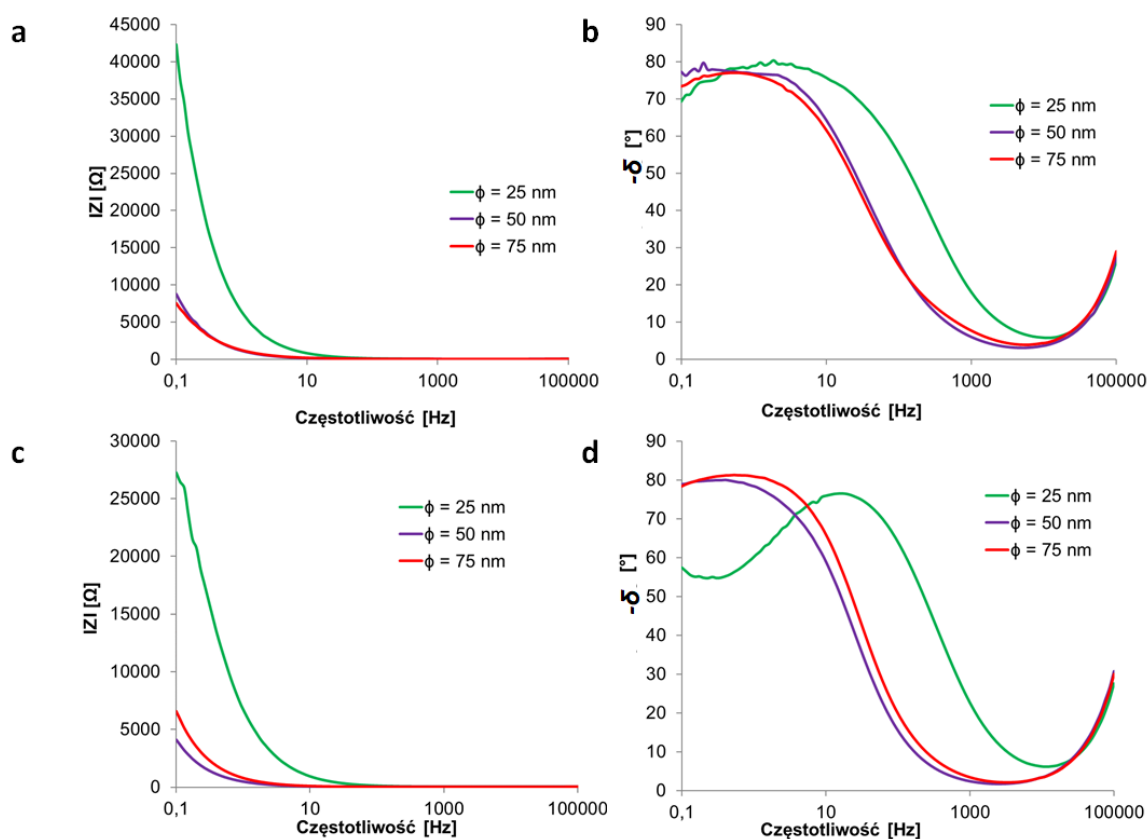
Wykresy Nyquista (rysunek 37) zarejestrowane dla próbek wyżarzonych w temperaturach 450°C i 550°C pokazują zależne od średnicy zmiany modułu impedancji TNT. Wstawka na rysunku 37 b pokazuje, że TNT modyfikowane termicznie, z uwagi na liniową charakterystykę, ułatwiają transfer elektronów. Polepszenie przewodności wynika z powstawania wakansów tlenowych oraz obecności jonów Ti^{3+} , które zachowują się w strukturze jak domieszki (ang. *self-doping*): tworzą poziom donorowy obniżając w ten sposób pasmo przewodnictwa TiO_2 , a więc i zmniejszając szerokość pasma wzbronionego. Dzięki obróbce termicznej może zostać zredukowanych około 1% atomów sieci krystalicznej [240-241]. Jako że w przypadku próbek TNT o średnicy 50 i 75 nm różnice

w wartości modułu impedancji są niewielkie, dla ułatwienia interpretacji wyników na rysunku 39 przedstawiono zestawienie średnich wartości modułu impedancji.



Rysunek 37. Krzywe Nyquista zarejestrowane dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C (a) i 550°C (wstawka przedstawia zestawienie charakterystyk Nyquista dla TNT o średnicy 50 nm TNT przed i po wyżarzaniu) (b) w zakresie częstotliwości od 0,1 do 10^5 Hz.

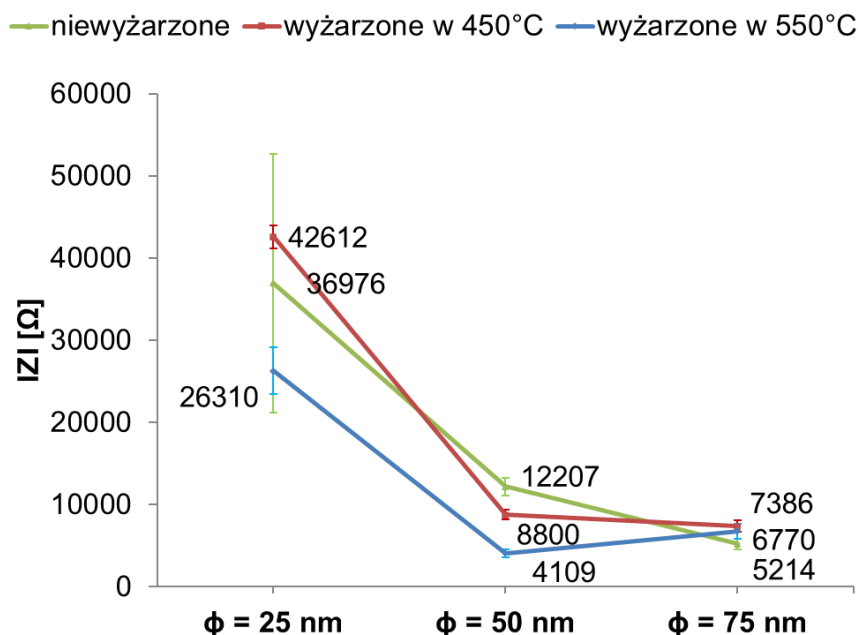
Rysunek 38 przedstawia charakterystykę Bodego uzyskaną dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C i 550°C. Krzywe na rysunku 38 b i 38 d pokazują istnienie dwóch maksimów kąta fazowego, z których pierwsze zlokalizowane jest dla najwyższej częstotliwości, co odpowiada warstwie TNT [88, 96, 218], podczas gdy maksimum przy częstotliwości 10 Hz (TNT wyżarzony w 450°C) oraz przy częstotliwości około 5 Hz (TNT o średnicy 50 i 75 nm) i około 100 Hz (TNT o średnicy 25 nm) w przypadku próbek wyżarzonych w 550°C przypisuje się warstwie barierowej. Występowanie przegięcia w zakresie wyższych częstotliwości w przypadku TNT o średnicy 25 nm w porównaniu do pozostałych nanostruktur wskazuje na większy opór przenoszenia elektronów. Odbiegająca od pozostałych charakterystyka uzyskana dla tej próbki (rysunek 38 d) jest związana z częściowym zniszczeniem struktury TNT i potwierdza jej większą odporność korozyjną.



Rysunek 38. Wykresy Bodego uzyskane dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C (a-b) i 550°C (c-d).

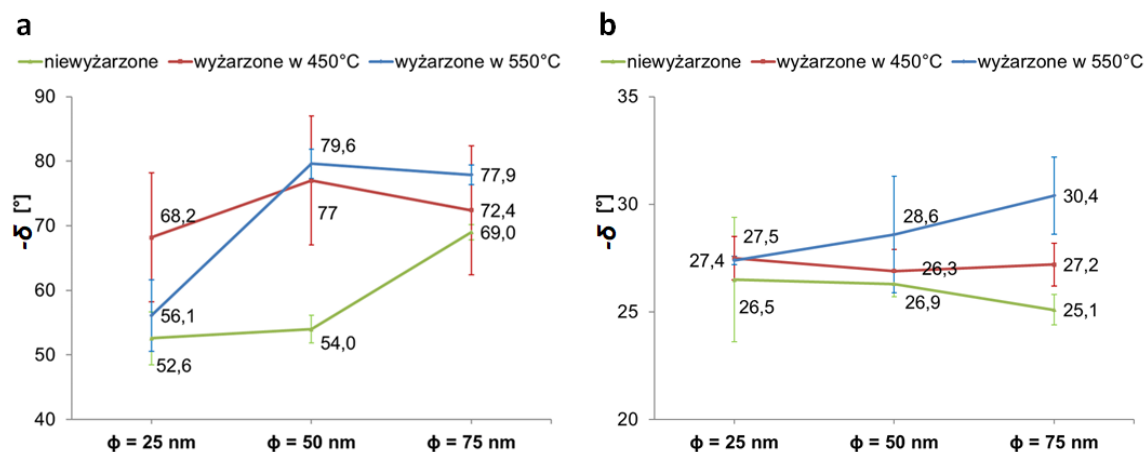
W przypadku TNT o średnicy 50 nm wraz ze wzrostem temperatury wyżarzania obserwuje się wzrost przewodności elektrycznej, co można powiązać z większą zawartością rutylu w strukturze (rysunek 39). Natomiast w przypadku nanorurek TiO_2 o średnicy 75 nm obróbka termiczna spowodowała niewielkie zmiany modułu impedancji, co wskazuje, że zastosowane temperatury wyżarzania okazały się niewystarczające do zajścia przemiany fazowej w całej objętości struktury, stąd jej część może mieć charakter amorficzny. Co ciekawe, uszkodzenie struktury TNT o średnicy 25 nm nie spowodowało drastycznego wzrostu modułu impedancji, jak sugerują wyniki badań Salari i wsp. [96]. Obróbka termiczna powoduje również zmniejszenie rozrzutu uzyskanych wyników.

W przypadku wpływu składu fazowego na przewodność próbek ponownie w literaturze nie znajduje się jednoznacznego stanowiska. Większa część badaczy zdaje się wskazywać na wyższą przewodność struktur składających się w przewadze z anatazu [11, 52, 103-104], jednak wyniki uzyskane przez Salari i wsp. [96] pozostają w opozycji. Można więc przypuszczać, że struktura krystaliczna nie jest jedynym czynnikiem, który ma wpływ na przewodność elektryczną TNT.



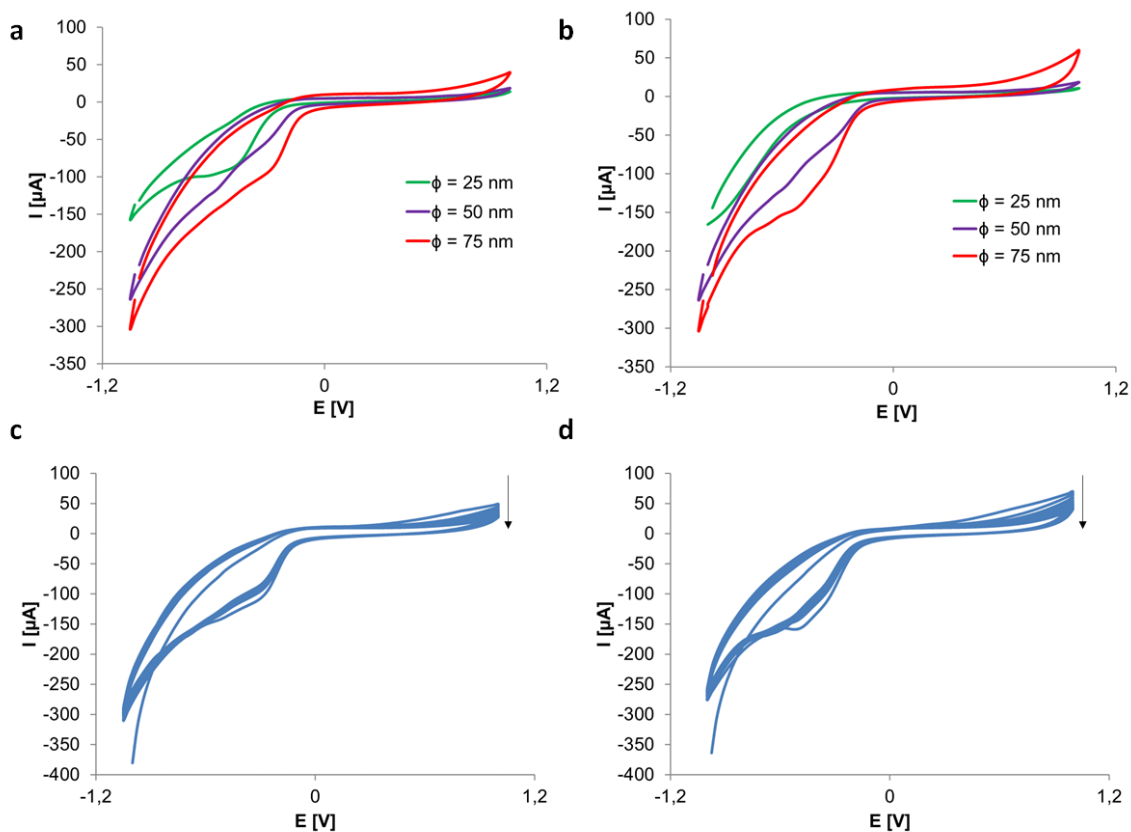
Rysunek 39. Zestawienie wartości średnich modułu impedancji nanorurek TiO_2 niewyżarzonych i wyżarzonych.

Na rysunku 40 przedstawiono zestawienie średniej wartości kąta fazowego TNT przed i po wyżarzaniu w temperaturach 450°C i 550°C . Ogólnie ujmując, obróbka termiczna powoduje wzrost wartości kąta fazowego, jednak w obszarze wysokich częstotliwości, które odpowiadają TNT, zmiany te są dużo mniejsze (rysunek 40 b), co może dowodzić, że obróbka termiczna nie wpływa na morfologię nanorurek TiO_2 . Dużo większe różnice w wartości kąta fazowego zaobserwowano dla najniższej częstotliwości, co wskazuje na zmiany strukturalne w warstwie barierowej, a więc jej przemianę do rutylu (co jest zgodne ze schematem transformacji fazowej przedstawionym na rysunku 12). Kąt fazowy dla najniższych częstotliwości po wyżarzaniu jest bliższy 90° (dla idealnego kondensatora), co wskazuje na pojemnościowy charakter tej warstwy.



Rysunek 40. Zestawienie wartości średniej kąta zwilżania nanorurek TiO_2 niewyżarzonych i wyżarzonych przy częstotliwości: 0,1 Hz (a) i 100000 Hz (b).

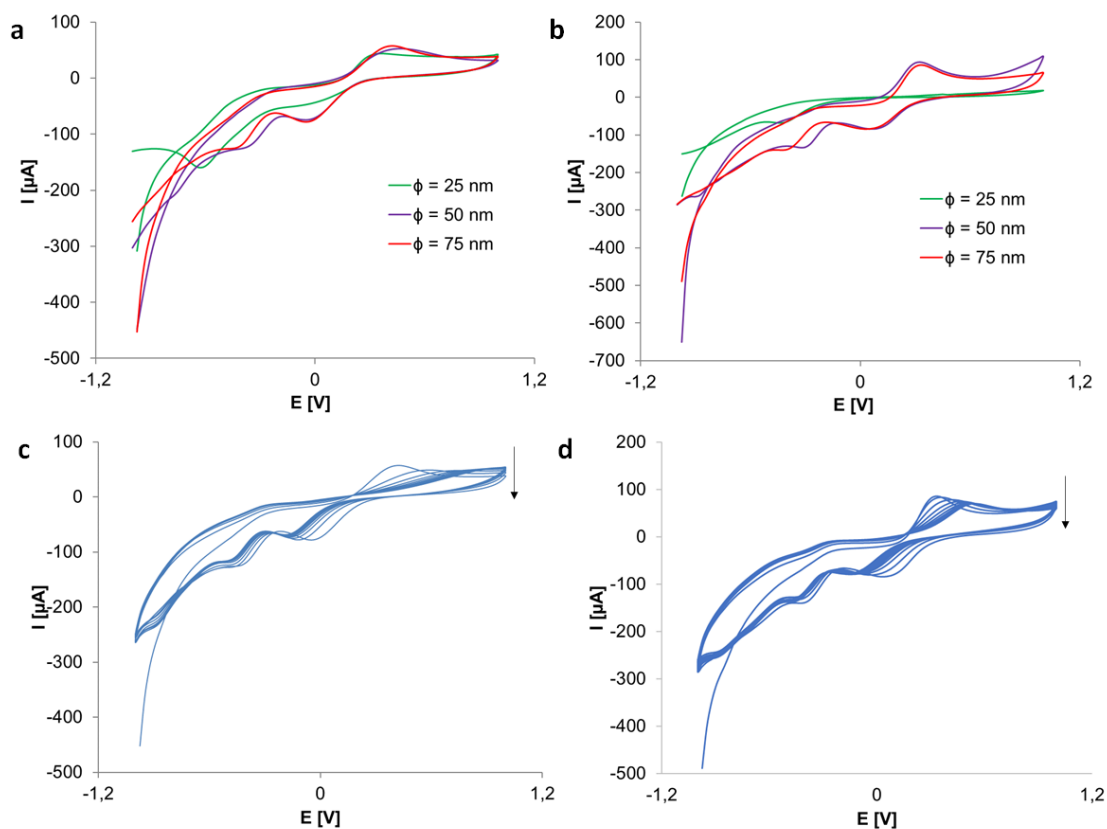
Wyniki badań przeprowadzonych metodą woltamperometrii cyklicznej w roztworze PBS przedstawiono na rysunku 41. Pik katodowy przy około -0,5 V można opisać jako redukcję Ti^{4+} do Ti^{3+} połączoną z wydzielaniem wodoru H_2 przy niższych potencjałach, natomiast gwałtowny wzrost prądu na krzywej anodowej wskazuje na reakcję utleniania H_2 , a niewielki pik przy -0,2 V odpowiada utlenianiu jonów Ti^{3+} [54]. Najbardziej płaskie krzywe prądowe obserwowane były w przypadku próbki, która uległa zniszczeniu podczas wyżarzania (TNT o średnicy 25 nm wyżarzane w 550°C). Wzrost prądu w zakresie wyższych potencjałów (1 V) można przypisać wydzielaniu tlenu [54, 226, 242]. Separacja prądów pomiędzy krzywą anodową i katodową wzrasta wraz ze wzrostem średnicy nanorurek TiO_2 , co świadczy o najlepszej przewodności TNT o największej średnicy. Stabilność elektrod była oceniana za pomocą pomiaru odpowiedzi prądowej przez 10 cykli. Przykładowe wyniki uzyskane dla TNT o średnicy 75 nm przedstawiono na rysunku 41 c i 41 d. Można stwierdzić, że w przypadku wszystkich próbek nakładanie się rejestrowanych krzywych woltamperometrycznych nastąpiło już po pierwszym cyklu, co wskazuje na wysoką stabilność podłoża.



Rysunek 41. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C (**a**) i 550°C (**b**) oraz dziesięć cykli dla TNT o średnicy 75 nm wyżarzonych w 450°C (**c**) i 550°C (**d**) zarejestrowane w roztworze PBS.

Woltamperogramy przedstawione na rysunku 42 zarejestrowane dla detekcji żelazicyjanku potasu wykazują quasi-odwracalne zachowanie. W przypadku TNT wyżarzonych w 450°C piki utleniania i redukcji występują odpowiednio przy około 0,4 V i 0 V, natomiast w przypadku nanorurek TiO_2 o średnicy 50 nm i 75 nm wyżarzanych w temperaturze 550°C piki te zlokalizowane były przy około 0,3 V i 0,1 V, a więc mniejsza wartość ΔE wskazuje na bardziej odwracalny charakter procesu [228]. Wysokość pików prądowych rośnie wraz ze wzrostem temperatury wyżarzania i średnicy nanorurek TiO_2 . Brak pików redoks $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ w przypadku TNT o średnicy 25 nm wyżarzonych w temperaturze 550°C jest związana z uszkodzeniem struktury nanorurek TiO_2 . Przebiegi zarejestrowane dla tych próbek (rysunek 42 b) przedstawiają kształt zbliżony do charakterystyk uzyskiwanych dla TNT niewyżarzonych, stąd można stwierdzić, że uszkodzenie TNT spowodowało zmniejszenie szybkości transportu elektronów. Wyniki przykładowych pomiarów stabilności TNT o średnicy 50 nm przedstawiono na rysunku 42

c i 42 d. Można stwierdzić, że w przypadku wszystkich próbek stabilizacja rejestrowanych krzywych woltamperometrycznych następowała po około pięciu cyklach.



Rysunek 42. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C (a) i 550°C (b) oraz dziesięć cykli dla TNT o średnicy 50 nm wyżarzonej w 450°C (c) i 550°C (d) zarejestrowane w roztworze żelazicyjanku potasu w chlorku potasu.

Powierzchnie elektrochemicznie czynne nanorurek TiO_2 (A_{pk} i A_{pa}) po modyfikacji termicznej wyznaczono na podstawie woltamperogramów zarejestrowanych dla detekcji żelazicyjanku potasu zgodnie z równaniem Randlesa-Ševcika dla układów quasi-odwracalnych (równanie (18)). Wartości A_{pk} i A_{pa} przedstawione w tabeli 15 obliczono przez wyznaczenie wysokości pików prądu katodowego (I_{pk}) i anodowego (I_{pa}). Najlepszą przewodność elektryczną ze względu na stosunek $I_{pk}/I_{pa} \approx 1$ wykazują TNT o średnicy 50 i 75 nm wyżarzone w temperaturze 450°C [228]. Największą dysproporcję w wysokościach pików redoks zaobserwowano w przypadku TNT o średnicy 25 nm, a w drugiej kolejności dla próbek wyżarzonych w temperaturze 550°C . Podsumowując, wyżarzanie poprawia kinetykę przenoszenia elektronów, co potwierdza, że powierzchnia aktywna elektrody po

wyżarzaniu składa się z większej liczby obszarów przewodzących [210]. Zwiększenie zawartości rutylu w strukturze wpływa natomiast negatywnie na szybkość transportu ładunku.

Tabela 15. Średnie wartości pików prądu katodowego (I_{pk}) i anodowego (I_{pa}) oraz powierzchnia elektrochemicznie czynna (A_{pk} - wyznaczone z I_{pk} , a także A_{pa} wyznaczona z I_{pa}) wyżarzonych TNT.

Temp · [°C]	ϕ [nm]	I_{pk} [·10 ⁻⁵ A]	I_{pa} [·10 ⁻⁵ A]	I_{pk}/I_{pa}	A_{pk} [cm ²]	A_{pa} [cm ²]
450	25	1,12 ± 0,02	2,70 ± 0,11	0,41 ± 0,18	0,61 ± 0,01	1,48 ± 0,06
	50	2,78 ± 0,03	3,45 ± 0,23	0,81 ± 0,13	1,52 ± 0,02	1,89 ± 0,13
	75	3,75 ± 0,04	3,94 ± 0,18	0,95 ± 0,22	2,05 ± 0,02	2,16 ± 0,10
550	25	1,63 ± 0,47	-	-	0,89 ± 0,26	-
	50	4,06 ± 0,15	6,98 ± 0,12	0,58 ± 1,25	2,22 ± 0,08	3,82 ± 0,07
	75	4,34 ± 0,17	7,34 ± 0,20	0,59 ± 0,85	2,37 ± 0,09	4,02 ± 0,11

Przedstawione badania wykazały, że jedynie TNT o średnicy 25 nm wyżarzone w wyższej temperaturze tj. 550°C uległy zniszczeniu, a dokładniej - zapadnięciu struktury (skróceniu z 1 µm do 300 nm) i zmianie morfologii tlenku na porowatą. Uszkodzenie to objawiło się w charakterystyce elektrochemicznej wzrostem oporności próbki oraz brakiem pików na woltamperogramach.

Dowiedziano, że w wyniku modyfikacji termicznej TNT zwiększa się wartość potencjału stacjonarnego próbek, a tym samym ich odporność korozyjna. Badania impedancyjne wykazały, że obróbka termiczna przyspiesza transfer elektronów, a zatem poprawia przewodność elektryczną TNT [225, 243]. Co ciekawe, w przypadku nanorurek TiO₂ o największej średnicy modyfikacja termiczna spowodowała niewielkie zmiany w module impedancji. Można więc przypuszczać, że zastosowane temperatury wyżarzania okazały się niewystarczające do zajścia transformacji fazowej w całej objętości próbki.

Woltamperogramy z pomiarów w PBS uzyskane dla próbek wyżarzonych wykazały obecność pików Ti^{4+/3+}, które były nieobecne na krzywych zarejestrowanych dla próbek niewyżarzonych. Ponadto w przypadku detekcji żelazicyjanku potasu zarejestrowano mniejsze wartości ΔE świadczące o reakcji quasi-odwracalnej w porównaniu do nieodwracalnego zachowania pary redoks na elektrodach TNT niemodyfikowanych termicznie.

Biorąc pod uwagę niewielkie zmiany parametrów impedancyjnych przed i po wyżarzaniu w przypadku TNT o średnicy 75 nm (a więc prawdopodobną wysoką zawartość

amorficznego tlenku) oraz niską przewodność elektryczną próbek o średnicy 25 nm, do dalszych badań polegających na modyfikacji TNT nanocząstkami srebra wybrano nanorurki TiO₂ o średnicy 50 nm. Kolejnym etapem był wybór temperatury wyżarzania tej struktury.

Za wyborem wyższej temperatury wyżarzania (550°C) przemawiał dużo niższy moduł impedancji uzyskiwany dla TNT (4109 Ω po wyżarzaniu w 550°C vs. 8800 Ω po wyżarzaniu w 450°C), natomiast za wyborem temperatury 450°C - bliższy jedności stosunek prądów I_{pk}/I_{pa} , który wskazuje na bardziej odwracalny charakter analizowanej reakcji redoks. Zdecydowano się więc na porównanie dokładności, a w tym: odtwarzalności i powtarzalności wytworzonych elektrod [244]. Testy odtwarzalności polegały na trzykrotnym powtórzeniu pomiarów impedancyjnych na tej samej elektrodzie, natomiast powtarzalności na trzykrotnych pomiarach EIS przy użyciu różnych elektrod z tej samej serii produkcyjnej. Wyniki przedstawione w tabeli 16 pokazują, że najmniejsze wartości względnych odchyłeń standardowych (ang. *relative standard deviation*, RSD) parametrów impedancyjnych zarówno w przypadku testów powtarzalności jak i odtwarzalności otrzymano dla struktury wyżarzonej w 450°C. Mniejszy rozrzut wyników jest kluczowy w przypadku zastosowań platformy jako podłoża czujnika, a poza tym świadczy o niezawodności procedury jego wytwarzania.

Tabela 16. Wartości procentowe względnych odchyłeń standardowych (RSD) parametrów impedancyjnych nanorurek TiO₂ o średnicy 50 nm niewyżarzonych oraz wyżarzonych w temperaturach 450°C i 550°C.

	niewyżarzone		450°C		550°C	
	na różnych próbkach	na tej samej próbce	na różnych próbkach	na tej samej próbce	na różnych próbkach	na tej samej próbce
RSD ReZ [%]	14,5	15,3	3,3	2,3	28,6	4,1
RSD -ImZ [%]	8,0	8,9	6,8	1,9	10,8	1,6
RSD Z [%]	10,3	9,8	6,5	1,9	11,2	1,5
RSD -δ [%]	3,1	7,1	0,7	0,4	2,7	0,4

Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki, a także wyniki badań Lianga i wsp. [125], które wskazują, że struktura rutylu może opóźniać tworzenie się nanocząstek srebra, do badań polegających na modyfikacji nanorurek TiO₂ nanocząstkami srebra wybrano strukturę TNT o średnicy 50 nm wyżarzoną w 450°C. Ponadto Yu i wsp. [108], Oh i wsp. [109]

oraz Kulkarni i wsp. [110] udowodnili, że średnica ta ma również bardzo dobre właściwości adsorpcyjne dla białek i komórek.

5. Badania TNT po modyfikacji nanocząstkami srebra (AgNPs)

5. 1. Wyniki badań TNT z AgNPs osadzonymi metodą woltamperometrii cyklicznej

5.1.1. Mechanizm wytwarzania AgNPs na TNT metodą CV

Elektroosadzanie poprzez redukcję jonów metalu z elektrolitu można przeprowadzić dwoma sposobami, podczas których:

- a) elektrony są dostarczane z zewnętrznego źródła zasilania,
- b) proces przebiega bezprądowo, a depozycja odbywa się dzięki obecności reduktora w elektrolicie.

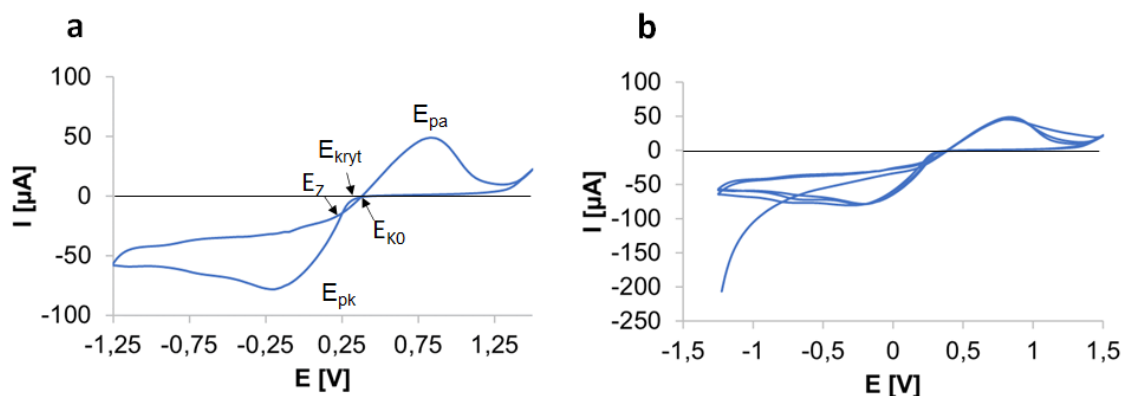
Łatwiejszą kontrolę nad osadzaniem oraz wyższą czystość nanostruktur otrzymuje się wykorzystując pierwszą z metod.

Podczas elektroosadzania zachodzą dwa podstawowe procesy: zarodkowanie i wzrost. Aby zawęzić rozkład wielkości cząstek korzystny jest szybki proces zarodkowania i powolny ich wzrost. W metodach woltamperometrycznych i potencjostatycznych gęste i równomiernie rozmieszczone jądra mogą być szybko generowane przy wysokim potencjale zarodkowania i niskim stężeniu prekursora nanocząstek. Dzięki temu osadzanie jest powtarzalne, a morfologia NPs może być modyfikowana poprzez zmianę parametrów osadzania, składu i stężenia elektrolitu [245]. Aby rozpocząć osadzanie elektrochemiczne, elektroda pracująca musi być spolaryzowana bardziej ujemnie w stosunku do potencjału, przy którym rozpoczyna się redukcja. Kationy prekursora redukują się do atomów Ag^0 (atomów zaadsorbowanych do powierzchni), które w miarę trwania procesu łączą się tworząc jądra. Jeśli jednak nie osiągną one tzw. rozmiaru krytycznego, który jest rozmiarem stabilnym, dochodzi do ich rozpuszczenia. Z tego względu, aby osiągnąć trwały rozmiar, potencjał musi być bardziej ujemny od potencjału krytycznego [46, 136], co szczegółowo opisano w dalszej części pracy.

Rysunek 43 a przedstawia woltamperogram cykliczny zarejestrowany dla elektrody TNT w roztworze AgNO_3 . Jego analiza jest przydatna do zrozumienia reakcji zaangażowanych w proces osadzania AgNPs. Potencjał, przy którym następuje spadek rejestrowanego prądu (0,3 V) to potencjał krytyczny nukleacji (E_{kryt}), co oznacza, że

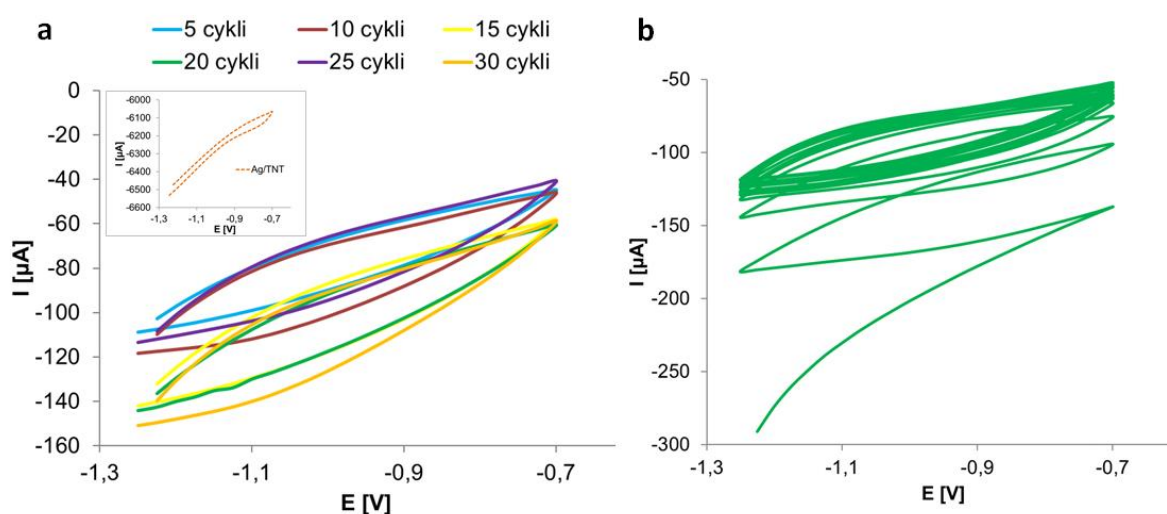
osadzanie srebra nie może nastąpić przy potencjałach bardziej dodatnich [246]. Prąd katodowy przy potencjale 0,25 V wskazuje na początek zarodkowania. Pik katodowy (E_{pk}) przy -0,2 V odpowiada maksymalnej redukcji srebra, po czym prąd maleje, co jest związane ze zubożeniem ilości srebra na granicy elektrolit/powierzchnia i wskazuje na mechanizm zarodkowania i wzrostu kontrolowany przez dyfuzję. Przy potencjale -1 V niewielki wzrost natężenia prądu przypisuje się reakcji wydzielania wodoru. Po zmianie kierunku skanowania powstają dwa przecięcia krzywych (E_Z i E_{K0}). Potencjał E_Z (0,2 V) jest potencjałem, przy którym zarodkowanie i wzrost zachodzą z mierzalną szybkością znaną jako nadpotencjał nukleacji (zarodkowania) [247-248]. Podczas gdy potencjał E_{K0} (0,35 V) jest definiowany jako potencjał krzyżowy, przy którym srebro zaczyna ulegać redukcji (osadzaniu). Różnica w potencjale między E_Z i E_{K0} wynika z niedopasowania krystalograficznego między Ag a Ti. Przy potencjałach bardziej dodatnich niż E_{K0} srebro zaczyna się rozpuszczać, a prąd rośnie do momentu powstania piku anodowego (E_{pa}) przy 0,8 V, następnie spada, jednak natężenie prądu w gałęzi anodowej nie osiąga 0 μ A. Kolejne cykle CV (rysunek 43 b) nie pokrywają się całkowicie, ze względu na pozostałe centra zarodkowania. Potwierdza to, że w momencie odwrócenia kierunku skanowania nie zaszło całkowite rozpuszczenie cząstek srebra [247, 249-251].

Wyniki badań Bian i wsp. [245] dotyczące elektroosadzania AgNPs na ITO wykazały, że wraz ze wzrostem nadpotencjału depozycji zwiększyła się gęstość nanocząstek i zmniejszył się ich rozmiar, a największą gęstość wytworzonych cząstek (co jest związane z większą ilością aktywowanych na powierzchni obszarów) i niewielki rozrzut ich wielkości uzyskano dla wysokich wartości nadpotencjału w zakresie od -1,2 do -1,4 V. Ponadto badania Plyasowa i wsp. [252] dotyczące osadzania nanoplatyny na węglu szklistym i złocie dowiodły, że gdy depozycja zachodzi w zakresie potencjałów, przy których dochodzi także do reakcji adsorpcji i wydzielania wodoru, to proces ten na zasadzie konkurencyjności hamował wzrost cząstek platyny. Stąd w niniejszych badaniach zdecydowano się na wytwarzanie nanocząstek Ag w zakresie potencjałów od -1,25 do -0,7 V.



Rysunek 43. Krzywa woltamperometryczna uzyskana dla TNT o średnicy 50 nm wyżarzonych w 450°C (a) oraz zestawienie trzech cykli (b) zarejestrowanych w roztworze AgNO_3 .

Rysunek 44 a przedstawia ostatnie z cykli osadzania AgNPs na TNT, gdzie zmienną była ich ilość. Pierwsze cykle osadzania zarejestrowane dla wszystkich próbek rozpoczynały się przy natężeniu prądu około -300 μA , z każdym kolejnym rejestrowane prądy zmniejszały się, a ich względna stabilizacja następowała po około 4 cyklach przy $\sim 50 \mu\text{A}$ (rysunek 44 b). Zmniejszenie wartości natężenia prądu w miarę trwania procesu można tłumaczyć zarodkowaniem i wzrostem rozmiaru AgNPs [253]. Zwiększenie stężenia prekursora z 1mM do 50 mM AgNO_3 (Ag/TNT), powoduje zwiększenie prądu do ok -6,1 mA (wstawka na rysunku 44 a).



Rysunek 44. Ostatnie woltamperogramy z elektrodpozycji zarejestrowane dla próbek różniących się liczbą cykli osadzania AgNPs na TNT (wstawka: ostatni cykl osadzania dla elektrody (Ag/TNT) (a) oraz 15 cykli osadzania dla próbki 15cv_AgNPs/TNT (b).

5.1.2. Analiza mikroskopowa TNT po modyfikacji AgNPs metodą CV

Na rysunku 45 przedstawiono zdjęcia SEM nanocząstek srebra o kulistym i quasi-kulistym kształcie osadzonych na TNT za pomocą metody woltamperometrii cyklicznej ze zmienną liczbą cykli. Proces depozycji AgNPs nie uszkodził uporządkowanej struktury TiO_2 , a także nie zmienił wymiarów TNT. Jedynie platformy wytworzone w 20 i 25 cyklach nie zawierały aglomeratów srebra. AgNPs koncentrowały się głównie wokół krawędzi nanorurek TiO_2 , co może być spowodowane wyższą gęstością prądu elektrycznego w tych miejscach [29, 254]. AgNPs w mniejszym stopniu wypełniały również przestrzeń między nanorurkami TiO_2 . Ponadto rysunek 45 g i 45 h pokazuje, że niektóre cząstki Ag wniknęły do nanorurek TiO_2 i osadziły się na ich wewnętrznych ścianach.

Mechanizm powstawania AgNPs i osadzania na TNT polega na tworzeniu jąder srebra zgodnie z równaniem (21) oraz (22):

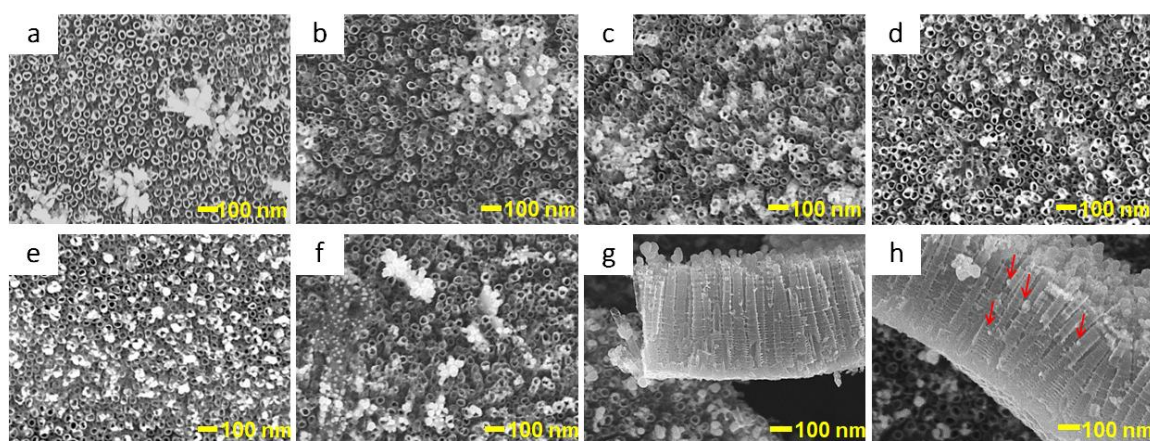


Ag^+ otrzymuje elektrony w pobliżu podłoża i ulega redukcji. W miarę trwania procesu stężenie jonów srebra wokół elektrody zmniejsza się, co powoduje powstanie gradientu stężeń między roztworem a powierzchnią TNT. Pod wpływem gradientu stężeń jony przesuwają się w kierunku elektrody, a w konsekwencji na jej powierzchni tworzy się więcej zredukowanych Ag^0 [254]. Wolne atomy zderzają się ze sobą i tworzą kilkunanometrowe jądra stając się miejscami zarodkowania i wzrostu nanocząstek srebra poprzez dalszą redukcję kationów. Samoorganizacja TNT zapewnia jednolite środowisko osadzania atomów i wzrostu jąder Ag, a górne krawędzie nanorurek TiO_2 gwarantują mnogość miejsc zarodkowania nanocząstek. Co ciekawe, badania Yang i wsp. [255] wykazały, że przy zachowaniu tych samych warunków depozycji, w przypadku braku TNT, na folii tytanowej nie utworzyła się żadna nanocząstka, co wskazuje, że nanorurki TiO_2 wspomagają ich depozycję.

Wydłużenie czasu osadzania skutkuje zwiększeniem ilości miejsc zarodkowania i zapobiega aglomeracji struktur [245, 256]. W początkowym etapie procesu w miejscach zarodkowania dochodzi do nabudowywania srebra i tworzenia aglomeratów, jednak przy zachowaniu zadanych warunków prądowych, po pewnym czasie dochodzi do ich

równomiernego rozmieszczenia na TNT. W miarę trwania procesu może mieć miejsce ich ponowne łączenie się, a więc tworzenie aglomeratów w wyniku wysycenia podłoża. Z tego powodu próbki 5–15cv_AgNPs/TNT (rysunek 45 b – 45 d) zawierały aglomeraty, które po 20–25 cyklach rozłożyły się, w wyniku czego rozmieszczenie AgNPs na podłożu nanorurek TiO_2 było najbardziej równomierne. Warstwa uległa przesyceniu po około 30 cyklach. Podobny mechanizm jest opisywany w przypadku wytwarzania AgNPs na TNT poprzez redukcję chemiczną [125]. Co więcej, proces ten przypomina sposób tworzenia się nanorurek TiO_2 na tytanie, które w początkowym etapie przypominają wysoce nieuporządkowaną porowatą strukturę, po czym w wyniku równego rozdzielenia prądu pomiędzy porami warstwa samoorganizuje się, co objawia się stabilizacją prądu. Wydłużenie czasu anodowania powoduje jednak roztrzaskanie górnych granic nanorurek TiO_2 i powstawanie nieuporządkowanej warstwy cienkich struktur igłopodobnych - „nanograss”.

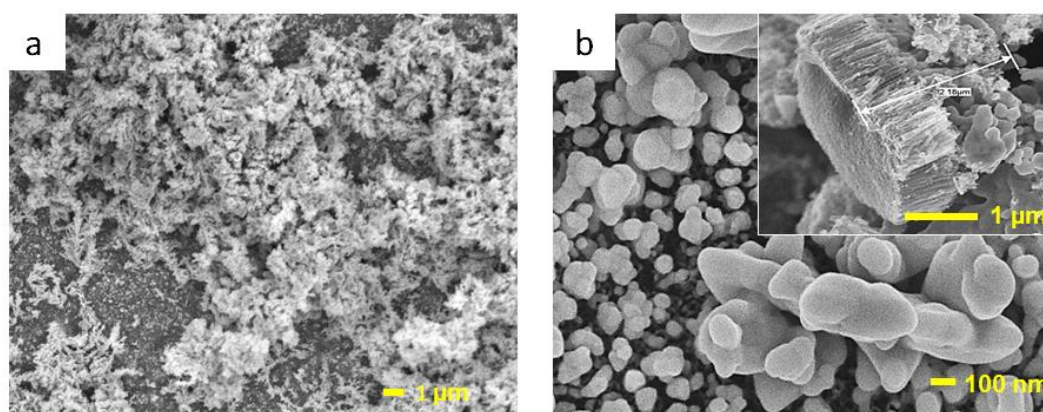
Aglomerację AgNPs można wyjaśnić różnicą ładunku cząstek Ag o różnych rozmiarach, co zostało opisane przez Redmonda i Brusa [257] oraz Farkhondehfa i wsp. [47]. Większe cząstki Ag mają częściowy ładunek ujemny, a mniejsze dodatni, zatem na powierzchni TNT większa nanocząstka przyjmuje elektron z sąsiedniej mniejszej cząstki przez przewodzące podłoże. W tym czasie mniejsza nanocząstka staje się bardziej naładowana dodatnio i przywraca równowagę elektryczną poprzez rozpuszczenie jonu Ag^+ . Rezultatem jest aglomeracja większych nanocząstek Ag i rozpuszczanie mniejszych (rodzaj dojrzewania Ostwalda).



Rysunek 45. Zdjęcia SEM (widok z góry) nanocząstek srebra wytworzonych na nanorurkach TiO_2 metodą woltamperometrii cyklicznej w 5 (a), 10 (b), 15 (c), 20 (d), 25 (e) i 30 cyklach (f), a także typowy widok z boku TNT z nanocząstkami Ag (strzałkami zaznaczono nanocząstki wewnątrz struktury TNT).

Aby zbadać wpływ nanocząstek srebra na przewodność nanorurek TiO_2 w porównaniu do srebra mikrometrycznego (którego udział wagowy w strukturze jest w przewodzie) zwiększając stężenie prekursora AgNO_3 wytworzono struktury odniesienia (rysunek 46). Obrazy SEM pokazują, że wraz ze wzrostem jego stężenia zwiększał się rozmiar osadzonych cząstek srebra, co powodowało zatykanie kanałów TNT skutkując oczywistym zmniejszeniem ich powierzchni właściwej. Rysunek 46 a pokazuje strukturę otrzymaną w 15 cyklach elektrodpozycji w 10 mM roztworze AgNO_3 (przewodność = 2,65 mS/cm), która zawiera połączone ze sobą cząstki o kształcie dendrytycznym, natomiast rysunek 46 b przedstawia platformę otrzymaną w 25 cyklach CV w roztworze o stężeniu 50 mM (przewodność = 9,09 mS/cm), która zawierała cząstki o rozmiarze mikrometrycznym. Wyniki te pozostają w zgodzie z badaniami Chenga i wsp. dotyczącymi depozycji nanosrebra na ITO [258], w których w wyniku ewolucji morfologicznej otrzymano struktury fraktalne o silnie rozgałęzionych dendrytach z wielopoziomowymi odgałęzieniami. Yang i wsp. [255] oraz Grujicic i Pesic [259] sugerują, że wyższa przewodność roztworu prekursora przyspiesza zarodkowanie i szybkość wzrostu cząstek ułatwiając tworzenie się cząstek o dużych rozmiarach, a w tym dendrytów.

Obrazy SEM potwierdzają jedynie, że za pomocą metody CV niemożliwe jest uzyskanie równomiernego, warstwowego pokrycia TNT srebrem, ponieważ morfologia nanorurek TiO_2 determinuje tę niejednorodność. Jako że większe pokrycie srebrem ($63,18 \pm 8,60\%$ wagowych) uzyskano w wyniku osadzania w roztworze o 50-krotnie wyższym stężeniu prekursora od stężenia użytego do wytwarzania nanocząstek (1mM, przewodność = 433 $\mu\text{S/cm}$), strukturę tę przyjęto za odniesienie (zwane dalej Ag/TNT), które podobnie jak elektrody AgNPs/TNT zostało scharakteryzowane elektrochemicznie.



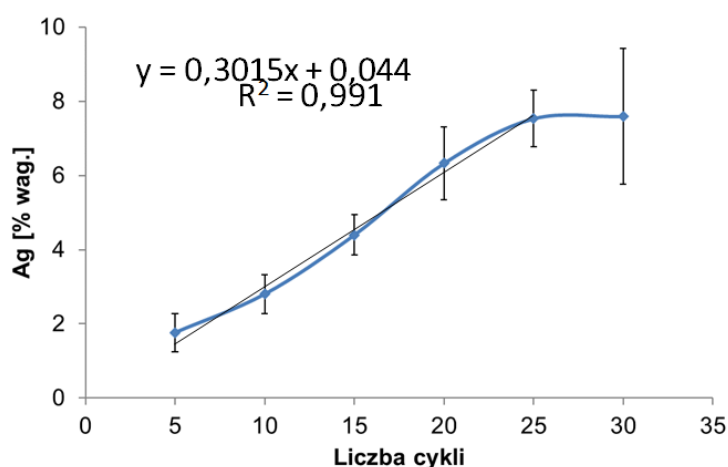
Rysunek 46. Zdjęcia SEM struktur AgNPs/TNT wytworzonych w 15 cyklach osadzania w 10 mM roztworze prekursora (a) oraz w 25 cyklach depozycji w roztworze 50 mM (b).

Tabela 17 przedstawia zakres rozmiarów nanocząstek Ag wytworzonych na TNT metodą woltamperometrii cyklicznej. Wraz ze wzrostem liczby cykli zwiększała się jednorodność rozmiaru AgNPs aż do momentu ponownego pojawienia się aglomeratów. Platformy niezawierające aglomeratów charakteryzowały się mniejszym rozrzutem wielkości nanocząstek.

Tabela 17. Rozmiary nanocząstek srebra na TNT wytworzonych metodą woltamperometrii cyklicznej ze zmienną liczbą cykli (^a oznacza platformy z aglomeratami srebra).

	AgNPs/TNT						Ag/TNT
Liczba cykli	5	10	15	20	25	30	25
Rozmiar AgNPs	5-80 ^a nm	5-50 ^a nm	5-40 ^a nm	5-40 nm	5-40 nm	5-70 ^a nm	quasi-warstwa ^a

Rysunek 47 pokazuje liniowy wzrost zawartości srebra wraz ze wzrostem liczby cykli osadzania ze współczynnikiem korelacji (R^2) wynoszącym 0,991, podczas gdy po 30 cyklach zawartość srebra osiągnęła stałą wartość z powodu przesylenia warstwy.



Rysunek 47. Wykres zależności zawartości srebra od liczby cykli osadzania nanocząstek srebra na TNT metodą woltamperometrii cyklicznej.

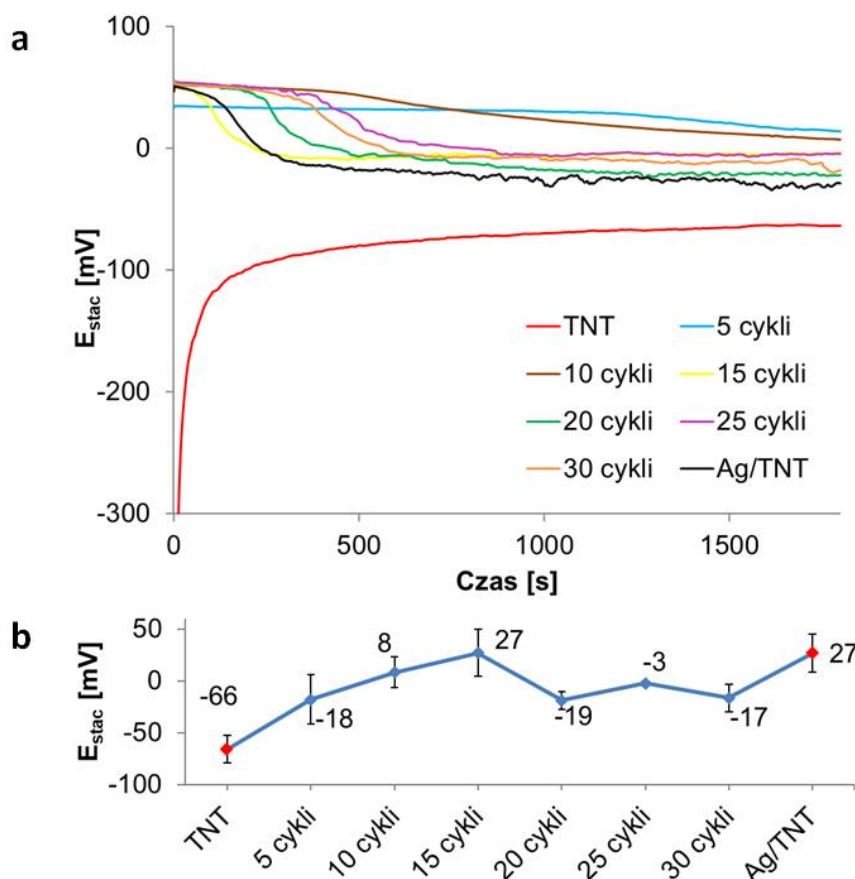
5.1.3. Charakterystyka elektrochemiczna TNT po modyfikacji AgNPs metodą CV

Wyniki badań elektrochemicznych prezentowane w dalszej części pracy oprócz przebiegów uzyskanych dla struktur AgNPs/TNT dla porównania będą zawierały również

krzywe przedstawiające charakterystyki TNT (wyżarzonych w 450°C) bez nanocząstek oraz struktury Ag/TNT (TNT z quasi-warstwą srebra mikrometrycznego).

Na rysunku 48 przedstawiono krzywe OCP elektrod AgNPs/TNT wytworzonych metodą woltamperometrii cyklicznej, które pokazują, że depozycja srebra powoduje wzrost wartości potencjału stacjonarnego, a więc poprawia odporność korozyjną nanorurek TiO₂ [146]. Krzywe uzyskane dla próbek zawierających mniejszą ilość srebra przedstawiają dużo łagodniejsze oscylacje mierzonego sygnału. Oscylacje te świadczą o procesach zachodzących na elektrodach, tj. utlenianiu srebra na powierzchni czujnika. Różnice między wartością początkową a końcową E_{stac} zwiększają się wraz ze wzrostem ilości srebra w strukturze. Może to wynikać z reakcji jonów srebra z jonami chlorkowymi pochodzącymi z PBS. Z tego względu dla tych próbek potrzebny jest dłuższy czas na osiągnięcie stanu równowagi [257, 260-262].

Zestawienie wartości średnich E_{stac} na rysunku 48 b pokazuje, że struktury zawierające aglomeraty na ogół charakteryzują się wyższą jego wartością, w porównaniu do platform 20-25cv_AgNPs/TNT (bez aglomeratów), co może wynikać z występowania większej ilości niezredukowanych jonów srebra w tych strukturach. Większą wartość odchyłeń standardowych obliczoną dla TNT z aglomeratami można przypisać większej niejednorodności i wielowarstwowości tych platform, co potwierdzają wyniki badań Pargara i wsp. [261].

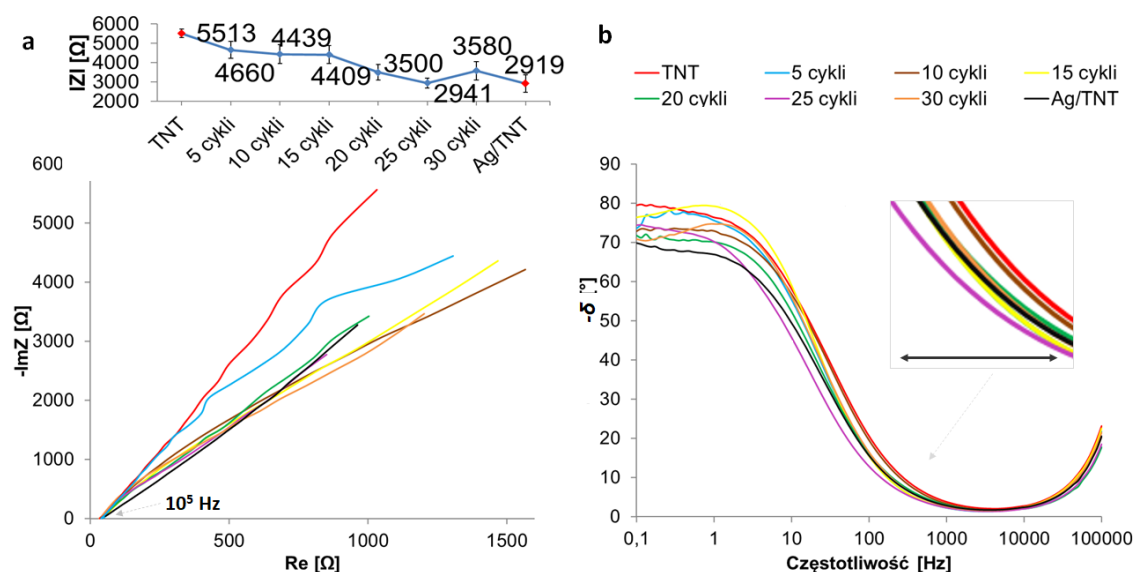


Rysunek 48. Zarejestrowane krzywe OCP (a) oraz zestawienie wartości średnich E_{stac} (b) platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą woltamperometrii cyklicznej ze zmienną liczbą cykli osadzania.

Rysunek 49 przedstawia wykresy Nyquista oraz Bodego zarejestrowane dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą woltamperometrii cyklicznej, natomiast wstawka na rysunku 49 a przedstawia zestawienie średnich wartości modułu impedancji. Na wykresie Nyquista największe zmiany obserwuje się w obszarze niskich częstotliwości, co oznacza że dodatek AgNPs powoduje znaczące zmiany w rezystancji przenoszenia ładunku TNT oraz świadczy o tym, że nanocząstki zostały zdeponowane również w głębszych warstwach nanorurek TiO_2 . Najwyższą wartość modułu impedancji, wskazującą na najmniejsze przewodnictwo elektryczne, zaobserwowano w przypadku warstwy TNT bez AgNPs. Z kolei najwyższe wartości przewodnictwa (wzrost o około 50% w porównaniu do TNT) zaobserwowano w przypadku platformy 25cv_AgNPs/TNT oraz elektrody odniesienia Ag/TNT. Oba podłoża charakteryzują się podobną wartością modułu impedancji, jednak platforma 25cv_AgNPs/TNT zawierała około 56% mniej srebra niż Ag/TNT, co wskazuje, że nanocząstki Ag bardziej efektywnie zwiększają przewodność TNT [263]. Uzyskane

wyniki pozostają w zgodzie z wynikami opisanymi w literaturze, w których dodatek nanocząstek srebra osadzonych na: nanorurkach TiO_2 [264], nanorurkach węglowych ze zredukowanym tlenkiem grafenu [265], elektrodach z pasty grafitowej [266], czy elektrodach złotych [267-268] spowodował zmniejszenie modułu impedancji wytworzonego kompozytu, w niektórych przypadkach nawet o ponad 50%. Struktury powstałe w 5, 10, 15 i 30 cyklach osadzania charakteryzowały się mniejszą przewodnością, prawdopodobnie z powodu obecności aglomeratów, które blokując kanały nanorurek TiO_2 utrudniają przenoszenie elektronów oraz zmniejszają powierzchnię właściwą TNT [29, 269].

Rysunek 49 b przedstawia dwa maksima kąta fazowego, z których pierwsze, dla najwyższych częstotliwości, związane jest z najbardziej zewnętrzną warstwą TNT z nanocząstkami Ag (lub TNT bez AgNPs w przypadku próbki TNT bądź z Ag i TNT w przypadku próbki Ag/TNT), natomiast dla niższych częstotliwości (około 5 Hz) z warstwą barierową. Występowanie przegięcia w rejonie niższych częstotliwości w przypadku próbki 25_AgNPs/TNT (wstawka na rysunku 49 b) wskazuje na jej wyższą przewodność elektryczną. Różnice w zarejestrowanych krzywych w obszarze niższych częstotliwości potwierdzają, że nanocząstki srebra osadziły się również w głębszych warstwach TNT [270]. Modyfikacja TNT nanocząstkami srebra powoduje zmniejszenie wartości kąta fazowego zarówno w obszarze najwyższych, jak i najniższych częstotliwości, co pozostaje w zgodzie z wynikami badań impedancyjnych na porowatym tytanie z AgNPs uzyskanymi przez Fadlallaha i wsp. [271]. Idealne właściwości pojemnościowe dla niskich częstotliwości występuje w przypadku, gdy kąt fazowy wynosi 90° . Kompozyty z niewielką ilością srebra wykazują zachowanie zbliżone do TNT, natomiast Ag/TNT wykazuje najmniejszą wartość rezystancji i pojemności, co wskazuje na mechanizm przenoszenia ładunku bez jego gromadzenia się i skutkuje zmniejszeniem pojemności [38].



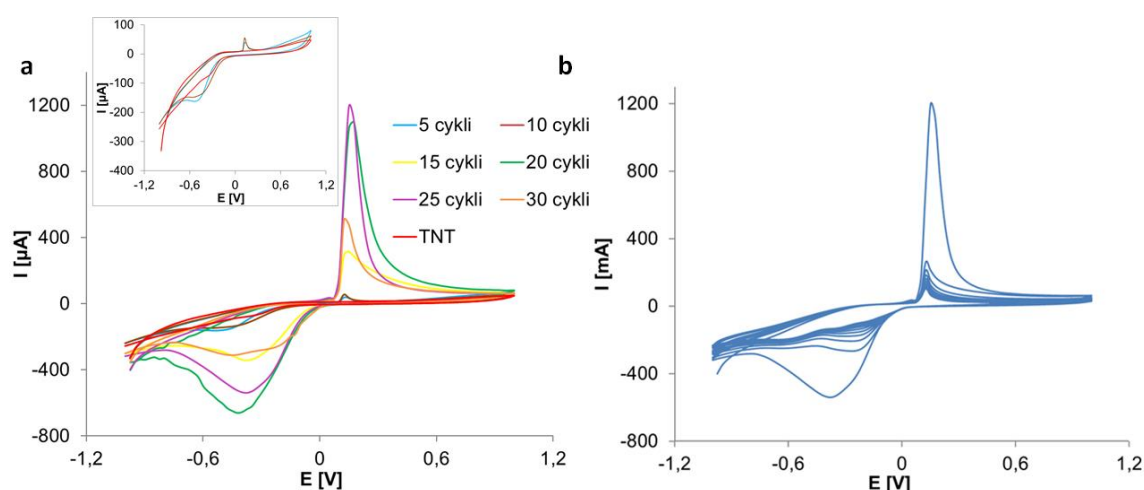
Rysunek 49. Wykres Nyquista (wstawka: zestawienie wartości średnich $|Z|$) (a) i Bodego (b) zarejestrowany dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą voltamperometrii cyklicznej ze zmienną liczbą cykli osadzania w zakresie częstotliwości od 0,1 do 10^5 Hz.

Podobnie jak w przypadku TNT bez nanocząstek srebra – zwiększenie przewodnictwa jest związane z powstawaniem wakansów tlenowych oraz obecnością jonów Ti^{3+} [240]. W strukturach AgNPs/TNT Ag^+ , podobnie jak Ti^{3+} , jest donorem elektronów zlokalizowanym poniżej pasma przewodnictwa, stąd jego dodatek zmniejsza wielkość przerwy wzbronionej TiO_2 , zwiększając tym samym przewodność elektryczną kompozytu [272-273].

Wyniki badań voltamperometrii cyklicznej elektrod AgNPs/TNT w roztworze PBS przedstawiono na rysunku 50, przy czym rysunek 50a przedstawia zestawienie pierwszych cykli zarejestrowanych dla tych próbek, natomiast rysunek 50b pełne 10 cykli uzyskanych dla nanokompozytu 20cv_AgNPs/TNT. Podobnie jak w przypadku TNT, na wykresach obserwowany jest pik katodowy (-0,5 V) związany z redukcją Ti^{4+} do Ti^{3+} oraz następujące po nim wydzielanie wodoru (przy niższych potencjałach), natomiast gwałtowny wzrost prądu na krzywej anodowej wskazuje na reakcję utleniania H_2 , a delikatny pik anodowy (-0,2 V) świadczy o utlenianiu jonów trójwartościowych Ti [54, 146]. Różnice w przebiegach pomiędzy TNT a AgNPs/TNT w zakresie niskich potencjałów, wskazuje, że Ag (szczególnie w postaci niezaglomerowanej) wykazuje dużo wyższą wydajność katalityczną w zakresie wydzielania wodoru [35]. Dodatkowo przy 0,2 V widoczny jest wyraźny pik utleniania związany z powstawaniem jonów Ag^+ , którego wysokość maleje o około 80% już w drugim cyklu (rysunek 50 b). W przypadku elektrod 15-30cv_AgNPs/TNT

obserwuje się również rozszczepienie piku katodowego, które przy $-0,2$ V przypisywane jest reakcji redukcji Ag^+ [274]. W przypadku elektrod z mniejszą zawartością srebra obserwowany jest jedynie nieodwracalny pik anodowy, dlatego można powiedzieć, że większa liczba cykli osadzania skutkuje uzyskaniem elektrod ze zwiększoną liczbą centrów aktywnych na powierzchni. Separacja prądów pomiędzy krzywą utleniania, a redukcji jest większa w przypadku próbek z AgNPs, co wskazuje na większą przewodność tych elektrod [125]. Ponadto największą separację prądów anodowych i katodowych obserwuje się w przypadku próbek AgNPs/TNT bez aglomeratów (20-25cv_AgNPs/TNT), a więc ponownie można potwierdzić, że ich obecność zmniejsza przewodność TNT. Co ciekawe, badania Lianga i wsp. dowiodły, że powierzchnia elektrochemicznie czynna AgNPs/TNT w środowisku zasadowym jest większa niż w środowisku kwaśnym [125]. Brak dodatkowych pików na woltamperogramach wskazuje, że na podłożu nie tworzą się żadne produkty uboczne, wynikające z reakcji składników roztworu z badanymi podłożami [125]. Wyniki pomiarów odpowiedzi prądowej elektrod cv_AgNPs/TNT przez 10 cykli (rysunek 50 b) pokazują, że stabilizacja rejestrowanych krzywych następowała po około czterech cyklach.

Niewielkie wartości prądu zarejestrowane przy bardziej dodatnim potencjale w przypadku próbek TNT są związane z tym, że ścianki nanorurek TiO_2 zostały całkowicie pozbawione swobodnego nośnika ładunku, a transport elektronów był kontrolowany przez barierę Schottky'ego utworzoną w warstwie tlenku barierowego (zwartego) u podstawy TNT [43, 275]. Dodatek srebra powoduje przyspieszenie transportu elektronów.



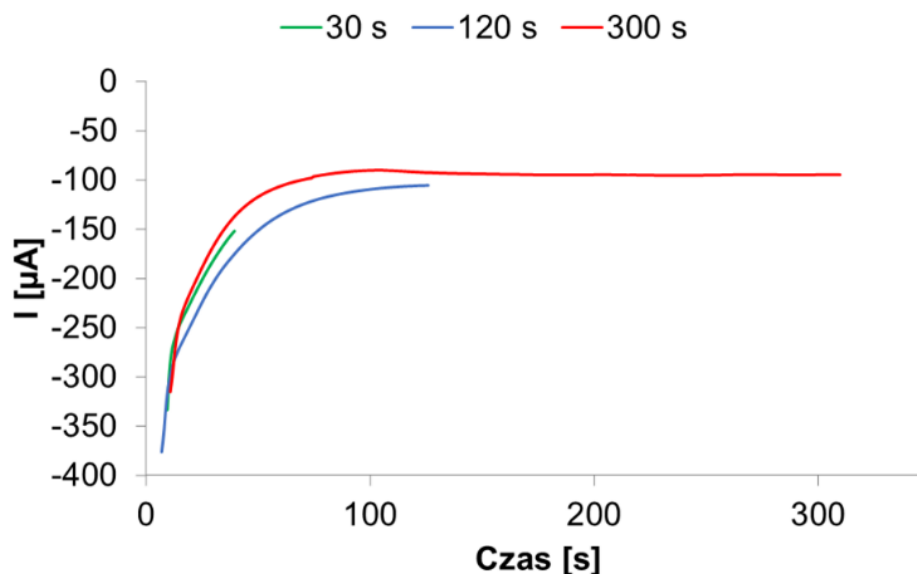
Rysunek 50. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą woltamperometrii cyklicznej (a) oraz 10 cykli dla próbki 20cv_AgNPs/TNT (b) zarejestrowane w roztworze PBS.

5.2. Wyniki badań TNT z AgNPs osadzonymi metodą chronoamperometrii (CA)

5.2.1. Mechanizm wytwarzania AgNPs na TNT metodą CA

Biorąc pod uwagę mechanizm osadzania srebra na TNT opisany w podrozdziale 5.1.1., a także doniesienia literaturowe wskazujące, że wraz ze wzrostem nadpotencjału nukleacji zwiększa się liczba jąder zarodkowania i zmniejsza rozmiar osadzonych nanocząstek, a także, że osadzanie nanostruktur w zakresie potencjałów, przy których zachodzi dodatkowo adsorpcja i desorpcja wodoru znacznie ogranicza wzrost NPs, ale jednocześnie zwiększa powierzchnię aktywną kompozytów, do depozycji AgNPs na TNT metodą chronoamperometrii wybrano nadpotencjał $-1,2\text{ V}$ [245, 249, 252, 276]. W niniejszych badaniach oceniono wpływ czasu depozycji AgNPs na morfologię i charakterystykę elektrochemiczną wytworzonych kompozytów.

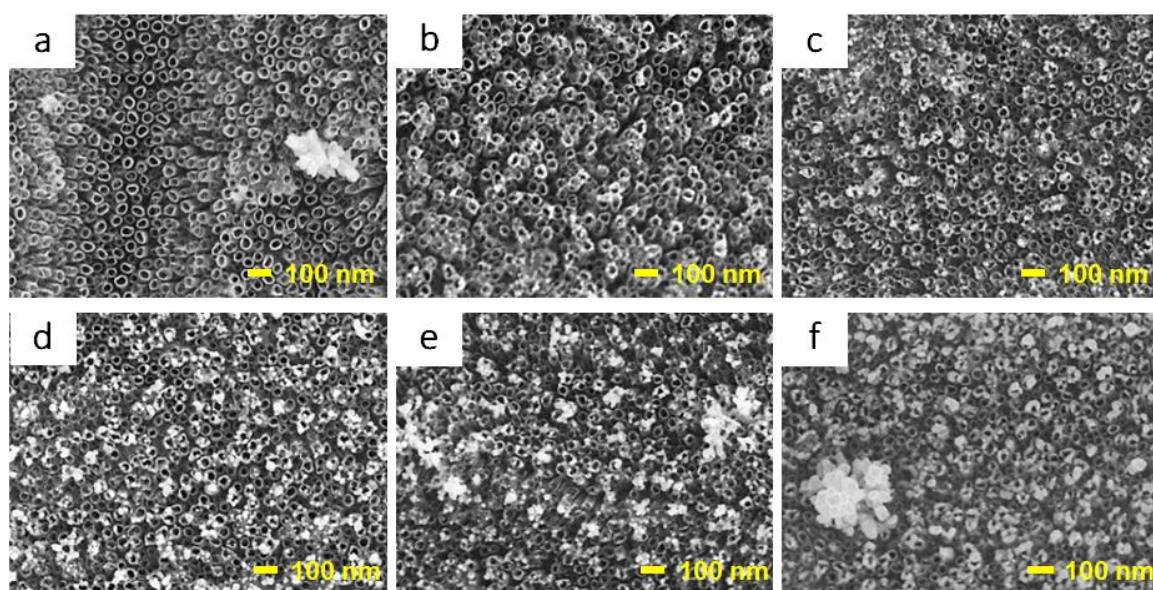
Na rysunku 51 przedstawiono chronoamperometryczne krzywe osadzania srebra przez 30, 120 i 300 sekund na podłożu TNT. Pierwsze sekundy wskazują na ładowanie warstwy podwójnej. Początkowo stopniowy wzrost prądu odpowiadał natychmiastowemu procesowi zarodkowania pierwszych jąder Ag na elektrodzie oraz wzrostowi krystalitów srebra [277]. Po około 60 sekundach następowała stabilizacja prądu przy około $-100\text{ }\mu\text{A}$. Podobną tendencję obserwowano w przypadku wszystkich czasów osadzania, z niewielką różnicą w zakresie rejestrowanego prądu, co może wynikać z niedoskonałości powierzchni podłoża. Podobne krzywe zarejestrowano w przypadku osadzaniu miedzi na powierzchni stali nierdzewnej [278]. Ponadto w badaniach tych wykazano, że rozmiar cząstek miedzi wzrasta wraz ze wzrostem czasu osadzania.



Rysunek 51. Wykres elektroosadzania AgNPs na TNT metodą chronoamperometrii ze zmiennym czasem depozycji.

5.2.2. Analiza mikroskopowa TNT po modyfikacji AgNPs metodą CA

Na rysunku 52 przedstawiono zdjęcia SEM kulistych i quasi-kulistych nanocząstek srebra na platformach TNT wytworzonych metodą chronoamperometrii ze zmiennym czasem depozycji. Podobnie jak w przypadku osadzania AgNPs metodą CV można zauważyć, że proces osadzania AgNPs nie uszkodził uporządkowanej struktury TiO_2 , a także nie zmienił wymiarów nanorurek TiO_2 . Jedynie platformy 60–180ca_AgNPs/TNT nie zawierały aglomeratów srebra. AgNPs koncentrowały się głównie wokół krawędzi TNT, a ich większość występowała w górnej części nanorurek. Zdjęcia SEM sugerują, że mechanizm powstawania nanocząstek srebra na drodze elektroredukcji chronoamperometrycznej odpowiada opisanemu w podrozdziale 5.1.1. Koncentracja cząstek na krawędziach nanorurek TiO_2 spowodowana jest większą gęstością prądu w tych miejscach. W miarę trwania procesu rozmieszczenie nanocząstek srebra na TNT samoorganizuje się (rysunek 52 a), a ich rozmiar zwiększa się (rysunek 52 b – 52 d), aż do momentu wystąpienia ponownej aglomeracji srebra (rysunek 52 e – 52 f).



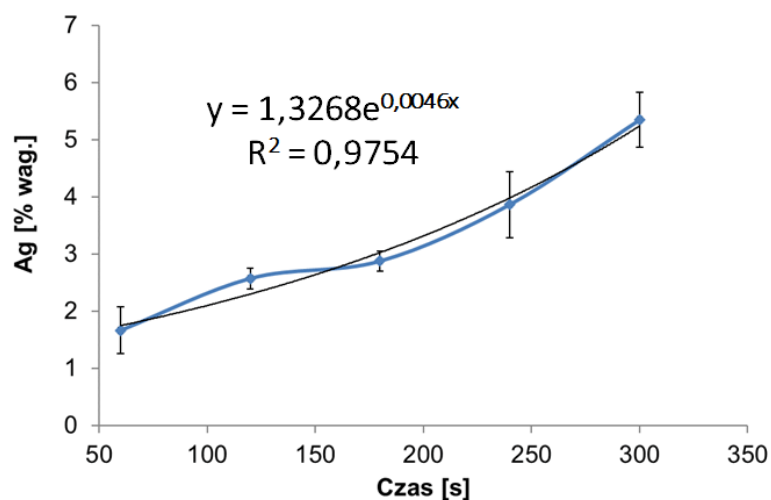
Rysunek 52. Zdjęcia SEM nanocząstek srebra wytworzonych na TNT metodą chronoamperometrii przez 30 (a), 60 (b), 120 (c), 180 (d), 240 (e) i 300 sekund (f).

Tabela 18 przedstawia zakres rozmiarów nanocząstek wytworzonych na TNT metodą chronoamperometrii. Można zauważyć, że wraz ze wzrostem czasu trwania procesu zwiększa się rozrzut wielkości wytworzonych AgNPs, co potwierdza, że w obszarze plateau prądowego (rysunek 51) dochodzi do wzrostu cząstek. Platformy bez aglomeratów charakteryzują się mniejszym rozrzutem ich wielkości.

Tabela 18. Rozmiary nanocząstek srebra na TNT wytworzonych metodą chronoamperometrii ze zmienną liczbą cykli (^a oznacza platformy z aglomeratami srebra).

Czas [s]	30	60	120	180	240	300
Rozmiar AgNPs [nm]	5–70 ^a	5–20	5–35	10–45	10–50	10–70 ^a

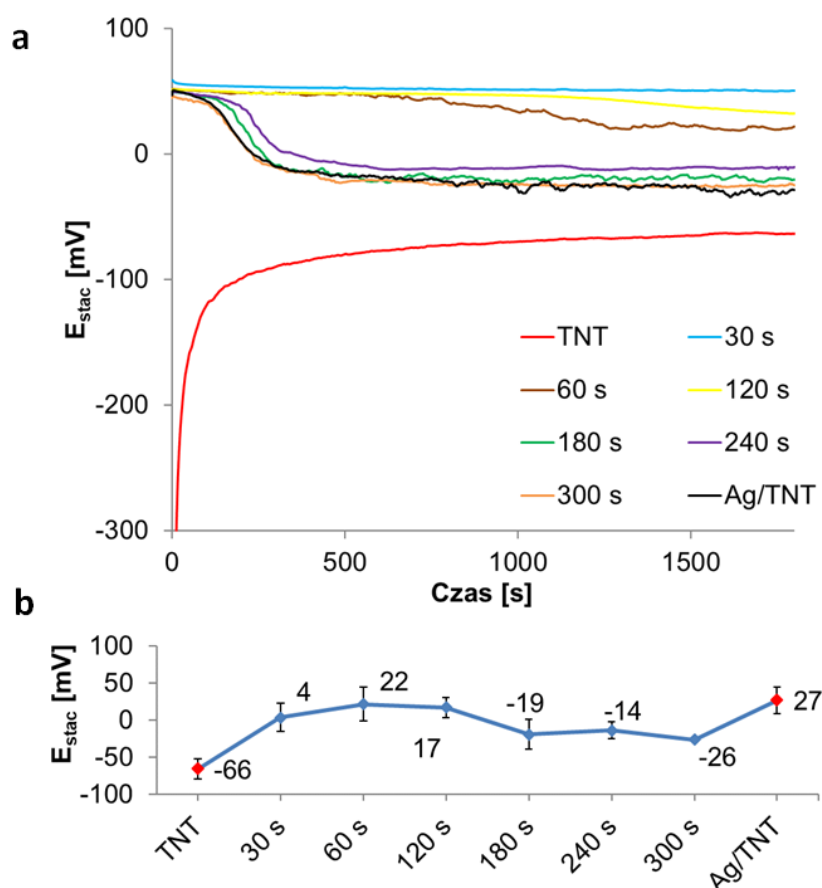
Rysunek 53 przedstawia wykładniczy wzrost ($R^2 = 0,9754$) zawartości srebra wraz ze wzrostem czasu osadzania AgNPs.



Rysunek 53. Wykres zależności zawartości srebra od czasu osadzania nanocząstek srebra na TNT metodą chronoamperometryczną.

5.2.3. Charakterystyka elektrochemiczna TNT po modyfikacji AgNPs metodą CA

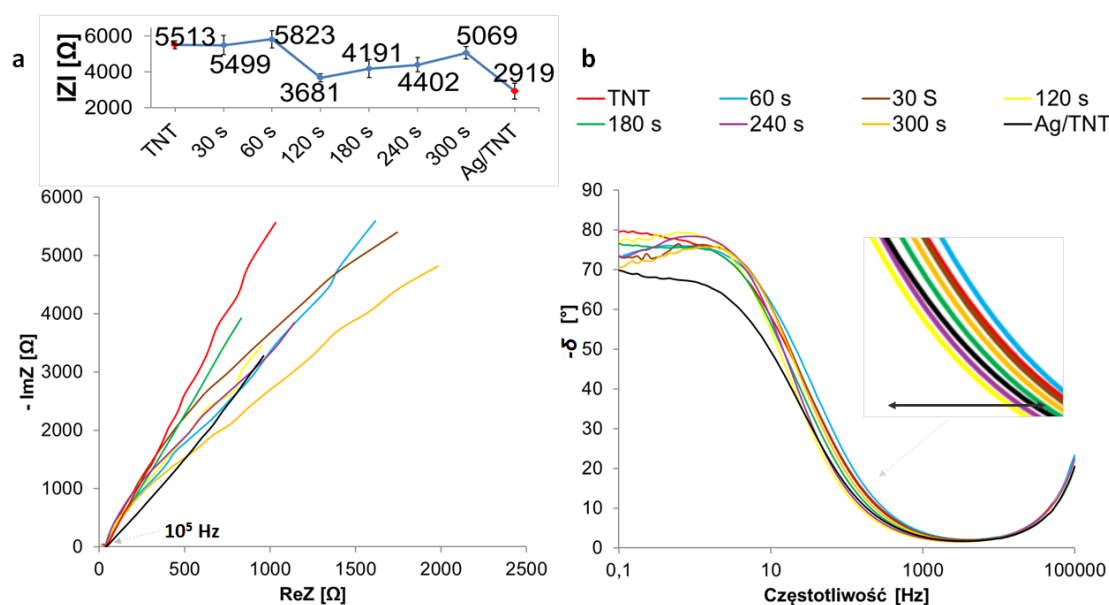
Na rysunku 54 przedstawiono wyniki pomiarów potencjału stacjonarnego platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą chronoamperometrii. Podłoża zawierające srebro charakteryzowały się wyższą wartością E_{stac} w porównaniu do TNT bez nanocząstek. Krzywe zarejestrowane dla próbek zawierających mniejszą ilość srebra przedstawiały dużo łagodniejsze oscylacje mierzonego sygnału. W przypadku tych elektrod (podobnie jak w przypadku CV) obserwowane są mniejsze różnice pomiędzy wartością początkową a końcową E_{stac} .



Rysunek 54. Zarejestrowane krzywe OCP (a) oraz zestawienie wartości średnich potencjału stacjonarnego E_{stac} (b) dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą chronoamperometrii ze zmiennym czasem osadzania.

Rysunek 55 przedstawia wykresy Nyquista oraz Bodego zarejestrowane dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą chronoamperometrii, natomiast wstawka na rysunku 55 a przedstawia zestawienie wartości średnich modułu impedancji. Największe zmiany na wykresie Nyquista obserwuje się w obszarze niskich częstotliwości (podobnie jak w przypadku próbek wytworzonych metodą CV), co oznacza że dodatek AgNPs powoduje znaczące zmiany w rezystancji przenoszenia ładunku TNT oraz świadczy, że nanocząstki srebra zostały zdeponowane również w głębszych warstwach nanorurek TiO_2 [270]. Ogólnie ujmując, obecność srebra powodowała zmniejszenie modułu impedancji, a tym samym poprawę przewodnictwa elektrycznego TNT. Powstawanie aglomeratów i zatykanie nanorurek TiO_2 przez nanocząstki wpływało negatywnie na przewodnictwo kompozytów. Najniższy moduł impedancji świadczący o największej przewodności elektrycznej zanotowano w przypadku platformy Ag/TNT oraz 120cv_AgNPs/TNT.

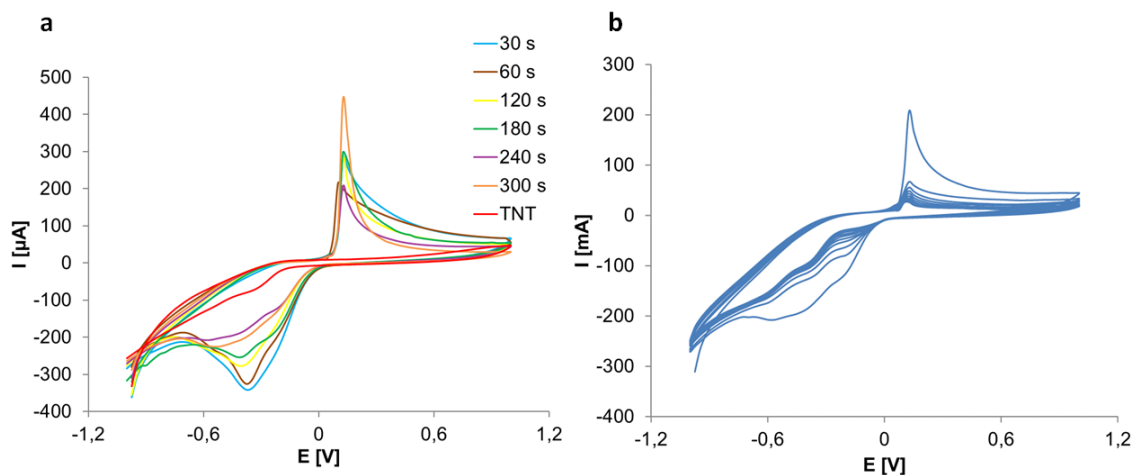
Rysunek 55 b przedstawia dwa maksima kąta fazowego: pierwsze przy najwyższej częstotliwości związane z najbardziej zewnętrzną warstwą TNT z nanocząstkami Ag (lub TNT bez AgNPs w przypadku próbki TNT bądź z Ag i TNT w przypadku próbki Ag/TNT) oraz drugie przy około 5 Hz związane z warstwą barierową. Występowanie przegięcia w rejonie niższych częstotliwości (wstawka na rysunku 55 b) w przypadku próbek z dodatkiem srebra wskazuje na ich wyższą przewodność elektryczną oraz może potwierdzać, że AgNPs osadziły się również w głębszych warstwach TNT. Modyfikacja TNT nanocząstkami Ag powoduje zmniejszenie wartości kąta fazowego zarówno w obszarze najwyższych, jak i najniższych częstotliwości.



Rysunek 55. Wykres Nyquista (wstawka: zestawienie wartości średnich $|Z|$) (a) i Bodego (b) zarejestrowany dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą chronoamperometrii ze zmiennym czasem osadzania w zakresie częstotliwości od 0,1 do 10^5 Hz.

Wyniki badań voltamperometrii cyklicznej próbek ca_AgNPs/TNT w roztworze PBS przedstawiono na rysunku 56, przy czym rysunek 56 a przedstawia zestawienie pierwszych cykli zarejestrowanych dla tych próbek, natomiast rysunek 56b pełne 10 cykli uzyskanych dla podłoża 240ca_AgNPs/TNT. Otrzymane voltamperogramy cykliczne przedstawiają bardzo podobne przebiegi do zarejestrowanych dla elektrod wytworzonych metodą CV: obserwowany jest pik katodowy (-0,5 V) związany z redukcją Ti^{4+} do Ti^{3+} i następujące po nim wydzielanie wodoru, natomiast po odwróceniu kierunku skanowania występują reakcje przeciwne [54, 146, 279]. Różnice w przebiegach w zakresie niskich potencjałów, wskazują na większe wydzielanie wodoru w przypadku próbek z dodatkiem

srebra [35]. Dodatkowo przy potencjale skanowania 0,2 V widoczny jest wyraźny pik związany z utlenianiem srebra, którego wysokość diametralnie maleje już w drugim cyklu, a rozszczepienie piku katodowego przy -0,2 V przypisywane jest reakcji redukcji Ag^+ [274]. Nie zaobserwowano korelacji pomiędzy wysokością pików, a zawartością srebra, jednak najbardziej odwracalne zachowanie (z uwagi na $I_{\text{pk}}/I_{\text{pa}} \approx 1$) wykazują elektrody 120-180ca_AgNPs/TNT, które nie zawierały aglomeratów AgNPs. Ponadto brak dodatkowych pików wskazuje, że na podłożu nie tworzą się żadne produkty uboczne. Wyniki pomiarów odpowiedzi prądowej elektrod ca_AgNPs/TNT przez 10 cykli (rysunek 56 b) pokazują, że stabilizacja rejestrowanych krzywych następowała po około czterech cyklach.



Rysunek 56. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą chronoamperometrii (a) oraz 10 cykli dla próbki 240ca_AgNPs/TNT (b) zarejestrowane w roztworze PBS.

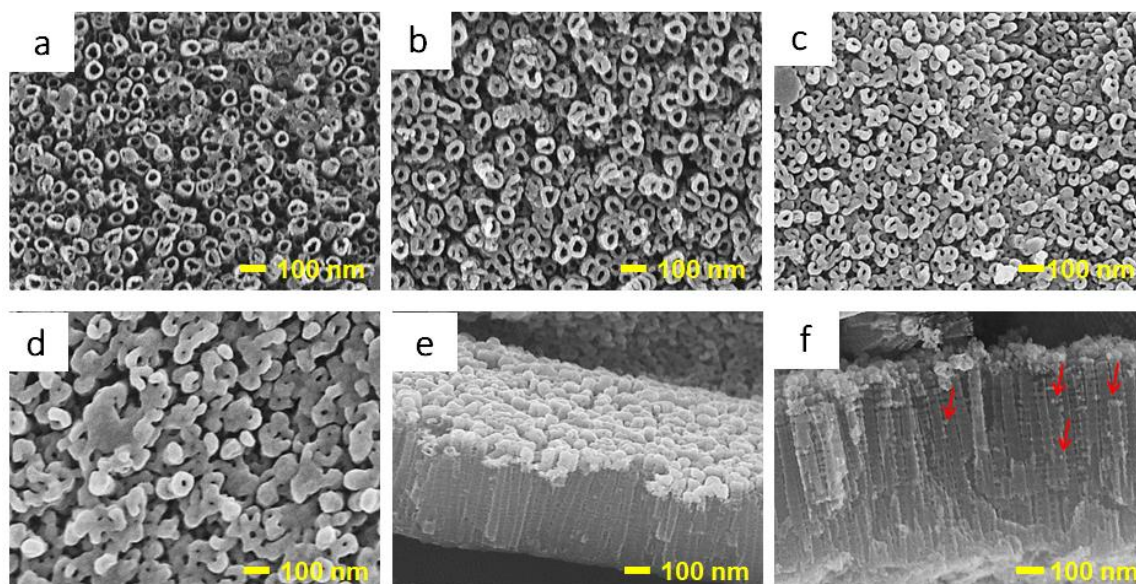
5.3. Wyniki badań TNT z AgNPs osadzonymi metodą napyłania próżniowego (SP)

5.3.1. Analiza mikroskopowa TNT po modyfikacji AgNPs metodą SP

Rysunek 57 przedstawia mikrografie SEM platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą napyłania próżniowego. Nanocząstki skupiały się głównie na krawędziach TNT, w mniejszym stopniu wypełniały również przestrzenie między nanorurkami oraz przenikały do ich wnętrza. Nanocząstki posiadały kulisty oraz quasi-kulisty kształt, a po 20 sekundach napyłania obserwowano tworzenie się aglomeratów. Ich ilość była na tyle duża,

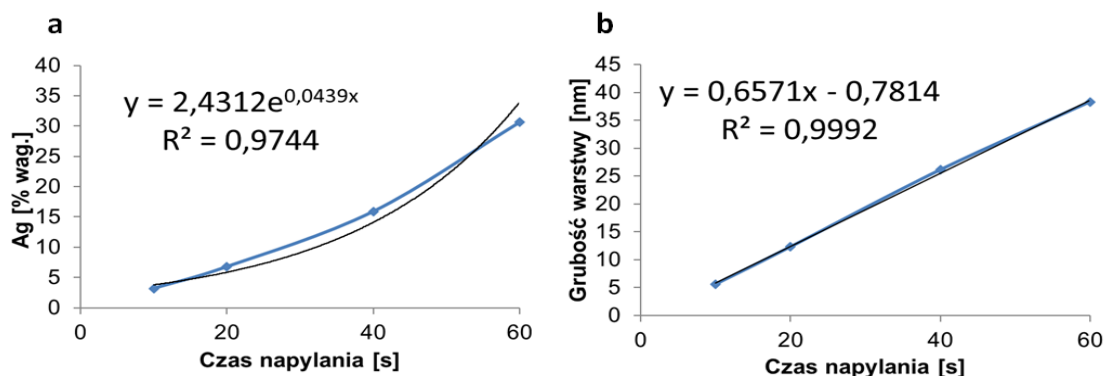
że spowodowała widoczne zmniejszenie średnicy TNT. Wraz ze wzrostem czasu trwania procesu warstwa nanosrebra na nanorurkach TiO_2 zwiększyła swoją grubość doprowadzając do prawie całkowitego zamknięcia rurowej struktury. Rysunek 57 d pokazuje, że srebro pokryło całkowicie wszystkie nanorurki TiO_2 . Podobne zmiany zaobserwowano wraz ze wzrostem natężenia prądu depozycji metodą napyłania próżniowego [47]. Obrazy SEM potwierdzają, że również za pomocą tej metody, podobnie jak w przypadku elektrodpozycji, niemożliwe jest uzyskanie na TNT gładkiej warstwy srebra o jednorodnej grubości, ponieważ nanorurki TiO_2 determinują niejednorodny rozkład Ag na powierzchni kompozytu, co jest zgodne z wynikami przedstawionymi przez Roguską i wsp. [153].

Wcześniejsze badania wykazały, że platyna ma tendencję do zarodkowania w miejscach defektów na nanorurkach węglowych. Defekty te mogą być generowane również podczas procesu osadzania NPs metodą napyłania próżniowego. Miejsca te działają następnie jako centra zarodkowania i wzrostu NPs [280]. Podobny mechanizm zaproponowano również w przypadku osadzania nanozłota na TiO_2 . Udowodniono, że wakanse tlenowe obecne w strukturze TiO_2 sprzyjają zarodkowaniu nanocząstek złota, stąd można przypuszczać, że w przypadku depozycji AgNPs te defekty punktowe działają również jako miejsca zarodkowania dla srebra [281].



Rysunek 57. Zdjęcia SEM (widok z góry) nanocząstek srebra wytworzonych na nanorurkach TiO_2 metodą napyłania próżniowego przez 10 (a), 20 (b), 40 (c) i 60 sekund (d), a także typowy widok z boku nanokompozytu AgNPs/TNT (próbka 20sp_AgNPs/TNT) (e) i (f) (strzałkami zaznaczono nanocząstki wewnątrz struktury TNT).

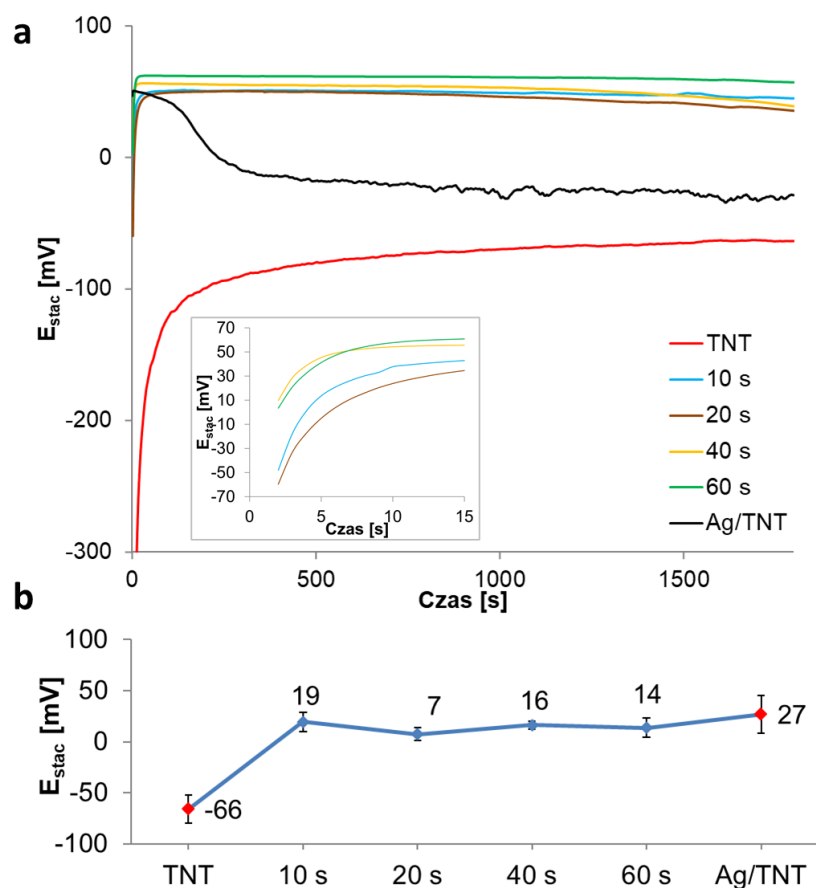
Rysunek 58 przedstawia wykładniczy wzrost zawartości srebra ($R^2 = 0,9744$) oraz liniowy ($R^2 = 0,9992$) wzrost grubości warstwy srebra (odczyt z napylarki) wraz ze wzrostem czasu trwania depozycji.



Rysunek 58. Wykres zależności zawartości srebra (a) oraz grubości warstwy srebra (b) od czasu depozycji metodą napylania próżniowego.

5.3.2. Charakterystyka elektrochemiczna TNT po modyfikacji AgNPs metodą SP

Na rysunku 59 przedstawiono wyniki pomiarów potencjału stacjonarnego platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą napylania próżniowego. Dodatek srebra spowodował wzrost wartości potencjału stacjonarnego kompozytów. Próbki AgNPs/TNT wykazują całkiem odmienne zachowanie od odniesienia Ag/TNT otrzymanego metodą elektrochemiczną, ponieważ w ich przypadku obserwowana jest niemal natychmiastowa stabilizacja potencjału standardowego, co świadczy o większej stabilności nanosrebra. Wartości odchyłeń standardowych E_{stac} (rysunek 59 b) wskazują, że metoda ta skutkuje otrzymaniem struktur o dużej powtarzalności elektrochemicznego zachowania.

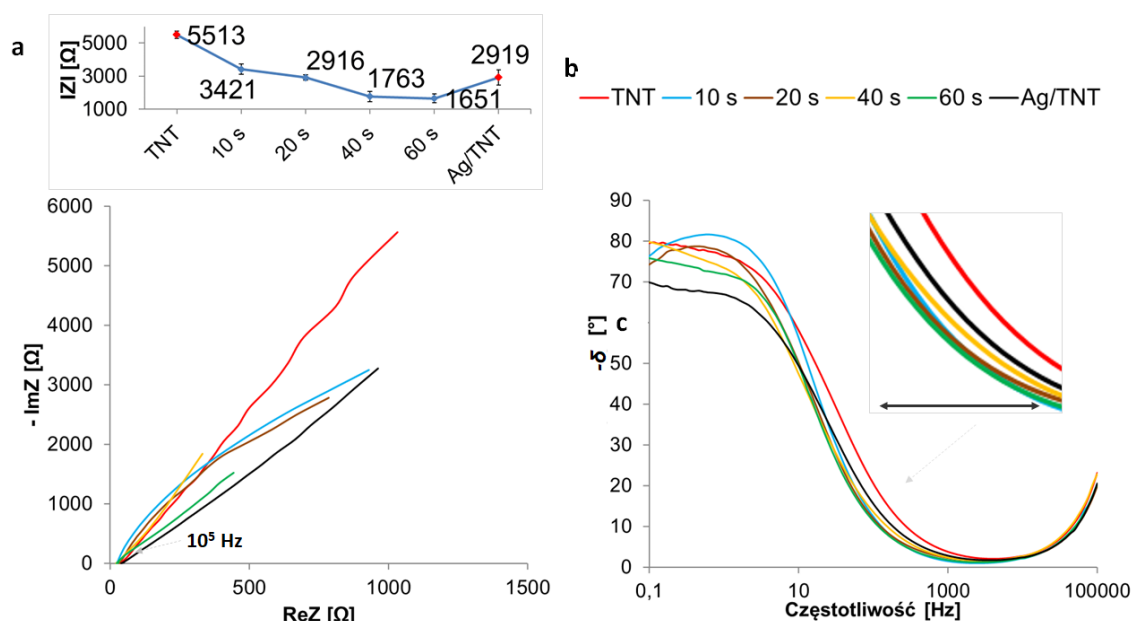


Rysunek 59. Zarejestrowane krzywe OCP (a) oraz zestawienie wartości średnich potencjału stacjonarnego E_{stac} (b) platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą napyłania próżniowego ze zmiennym czasem depozycji.

Rysunek 60 a przedstawia wykresy Nyquista oraz Bodego zarejestrowane dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą napyłania próżniowego, natomiast wstawka na rysunku 60 a przedstawia zestawienie średnich wartości modułu impedancji. Wraz ze wzrostem czasu depozycji obserwuje się zmniejszenie modułu impedancji, a w przypadku próbki 60sp_AgNPs/TNT jego wartość jest dwukrotnie mniejsza niż $|Z|$ odniesienia Ag/TNT. Kompozyt 60sp_AgNPs/TNT zgodnie z wynikami analizy EDS zawierał około 50% srebra mniej niż próbka odniesienia. Wskazuje to, że utrzymanie otwartej struktury rurowej jest niezbędne do zapewnienia szybkiego transportu elektronów.

Rysunek 60 b przedstawia dwa maksima kąta fazowego: pierwsze w zakresie najwyższych częstotliwości, co jest związane z warstwą AgNPs z TNT (lub z TNT bez AgNPs w przypadku próbki TNT bądź z Ag i TNT w przypadku próbki Ag/TNT) oraz drugie dla niższych częstotliwości (około 5 Hz) odpowiadające warstwie barierowej TiO_2 . Występowanie przegięcia w rejonie niższych częstotliwości (wstawka na rysunku 60 b)

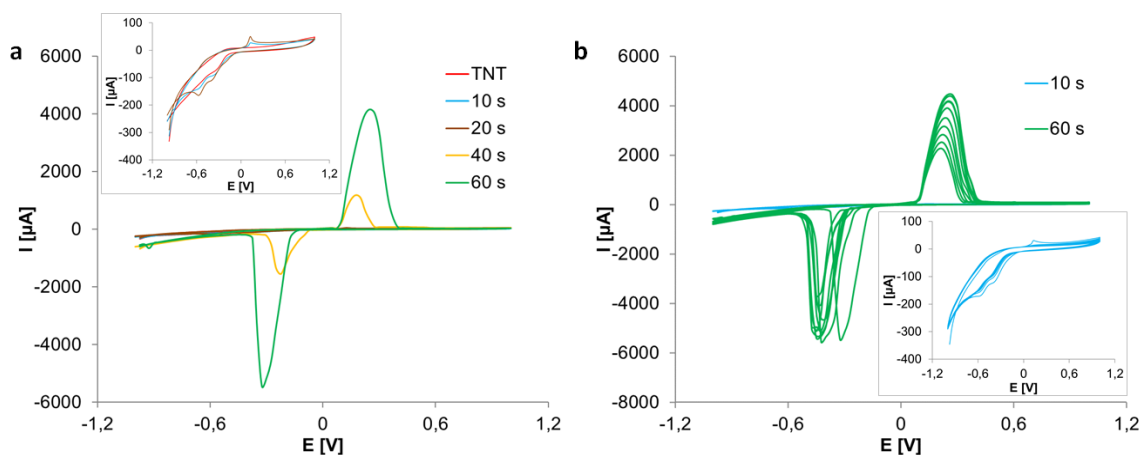
w przypadku próbek z dodatkiem srebra wskazuje, że Ag przyspiesza transfer elektronów oraz może potwierdzać, że AgNPs osadziły się również w głębszych warstwach nanorurek TiO₂ [270]. Modyfikacja TNT nanocząstkami Ag powoduje zmniejszenie wartości kąta fazowego zarówno w obszarze najwyższych, jak i najniższych częstotliwości.



Rysunek 60. Wykres Nyquista (wstawka: zestawienie wartości średnich $|Z|$) (a) i Bodego (b) zarejestrowany dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą napyłania próżniowego ze zmiennym czasem depozycji w zakresie częstotliwości od 0,1 do 10⁵ Hz.

Wyniki badań woltamperometrii cyklicznej w roztworze PBS warstw AgNPs/TNT ze zmiennym czasem depozycji srebra metodą napyłania próżniowego przedstawiono na rysunku 61, przy czym rysunek 61 a przedstawia zestawienie pierwszych cykli zarejestrowanych dla tych próbek, natomiast rysunek 61 b - pełne 10 cykli uzyskanych dla podłoża 10sp_AgNPs/TNT. W przypadku 10-20sp_AgNPs/TNT obserwowany jest pik katodowy (-0,5 V) związany z redukcją Ti⁴⁺, połączony z wydzielaniem wodoru przy niższych potencjałach. Wzrost prądu po odwróceniu kierunku skanowania i pik przy anodowy przy -0,2 V odpowiada reakcjom przeciwnym. Ponadto widoczny jest niewielki pik utleniania Ag⁰ (0,2 V) i redukcji (-0,3 V) jonów Ag⁺. W przypadku podłoża 40-60sp_AgNPs/TNT (z uwagi na pełne pokrycie TNT srebrem) zaobserwowano jedynie piki związane z adsorpcją i desorpcją wodoru oraz dodatkowo przy około 0,3 V wyraźny pik anodowy odpowiadający utlenianiu srebra oraz pik katodowy przy około -0,3 V. Wyniki pomiarów odpowiedzi prądowej elektrod cv_AgNPs/TNT przez 10 cykli (rysunek 61 b)

pokazują, że stabilizacja rejestrowanych krzywych dla próbki z mniejszą zawartością srebra (10sp_AgNPs/TNT) następowała znacznie szybciej (już po pierwszym cyklu) w porównaniu z nanokompozytem 60sp_AgNPs/TNT, w przypadku których z każdym kolejnym cyklem obserwowany był postępujący spadek rejestrowanego prądu.



Rysunek 61. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla AgNPs/TNT wytworzonych metodą napyłania próżniowego (a) oraz 10 cykli dla próbek 10sp_AgNPs/TNT i 60sp_AgNPs/TNT (b) zarejestrowane w roztworze PBS.

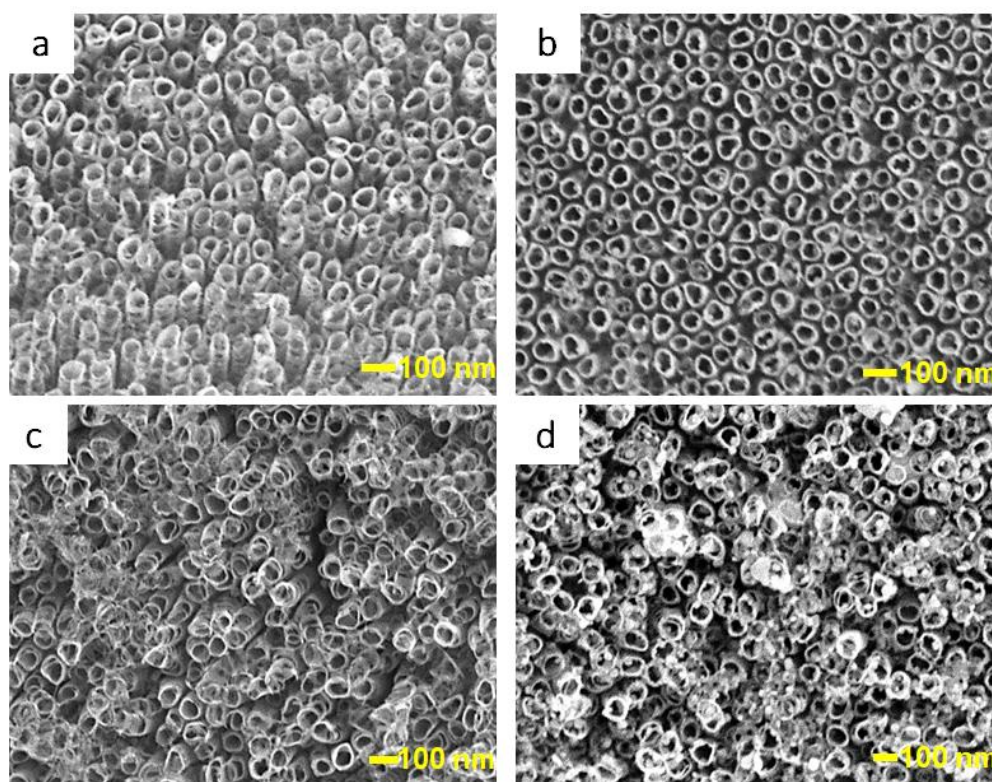
5.4. Wyniki badań TNT z osadzonymi metodą fotoredukcji (UV)

5.4.1. Analiza mikroskopowa TNT po modyfikacji AgNPs metodą UV

Rysunek 62 a i 62 b prezentuje zdjęcia SEM powierzchni elektrod wytworzonych metodą fotoredukcji, gdzie zmienną był czas zanurzenia TNT (1 i 24 h) w roztworze prekursora AgNPs. Wytworzone AgNPs posiadały kulisty kształt, co pozostaje w zgodzie z literaturą dowodzącą, że w zakresie promieniowania UV otrzymuje się struktury kuliste [282]. Rozmiar nanocząstek Ag zawierał się w przedziale od 5 do 20 nm jednak większą jednorodność rozmiarową uzyskano w przypadku struktury 24uv_AgNPs/TNT. Zawartość srebra wzrastała wraz ze wzrostem czasu inkubacji TNT w AgNO_3 i wynosiła odpowiednio: $0,8 \pm 0,2\%$ wagowych i $1,5 \pm 0,2\%$ wagowych. Rysunek 62 c i 62 d przedstawia natomiast podłoża, które po etapie fotoredukcji zostały dodatkowo wygrzane przez 30 minut w temperaturze 50°C . Obróbka termiczna spowodowała wzrost średnicy nanocząstek srebra. Podobnie jak w przypadku poprzednich metod wytwarzania AgNPs, nanocząstki były skupione wokół krawędzi nanorurek TiO_2 , głównie w zewnętrznej ich

warstwie, jednak zgodnie z wynikami badań Lan i wsp. [147] biorąc pod uwagę niewielki rozmiar nanocząstek można spodziewać się, że część z nich została osadzona wewnątrz TNT.

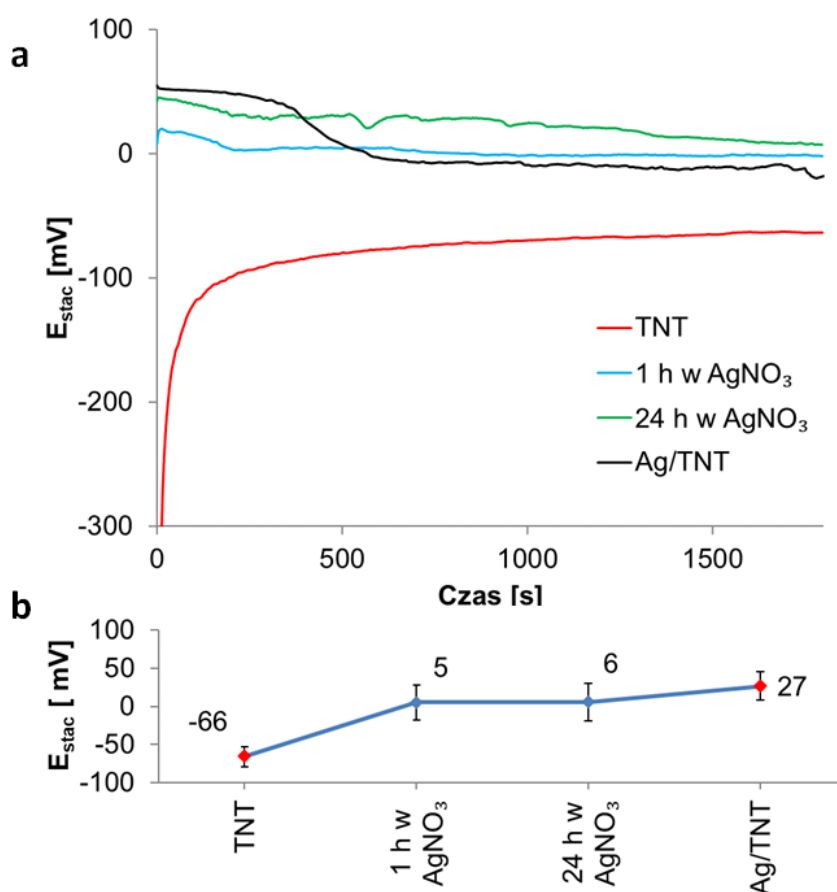
Przegląd wyników analiz XPS nanocząstek srebra przedstawiony przez Kanga i Sohna [283] informuje, że przy połączeniu metody UV z wygrzewaniem dochodzi do powstawania dużej ilości tlenków srebra zmniejszających przewodność elektryczną TiO_2 , dlatego w kolejnych podrozdziałach zaprezentowano jedynie charakterystykę próbek przedstawionych na rysunku 62 a oraz 62 b, nazywanych dalej odpowiednio: 1uv_AgNPs/TNT oraz 24uv_AgNPs/TNT.



Rysunek 62. Zdjęcia SEM nanocząstek srebra wytworzonych na nanorurkach TiO_2 metodą fotoredukcji po 1 (a) i 24 godzinach zanurzenia TNT w roztworze prekursora (b), oraz fotoredukcji połączonej z wygrzewaniem w piecu po wcześniejszym 1- (c) i 24-godzinnym (d) zanurzeniu TNT w AgNO_3 .

5.4.2. Charakterystyka elektrochemiczna TNT po modyfikacji AgNPs metodą UV

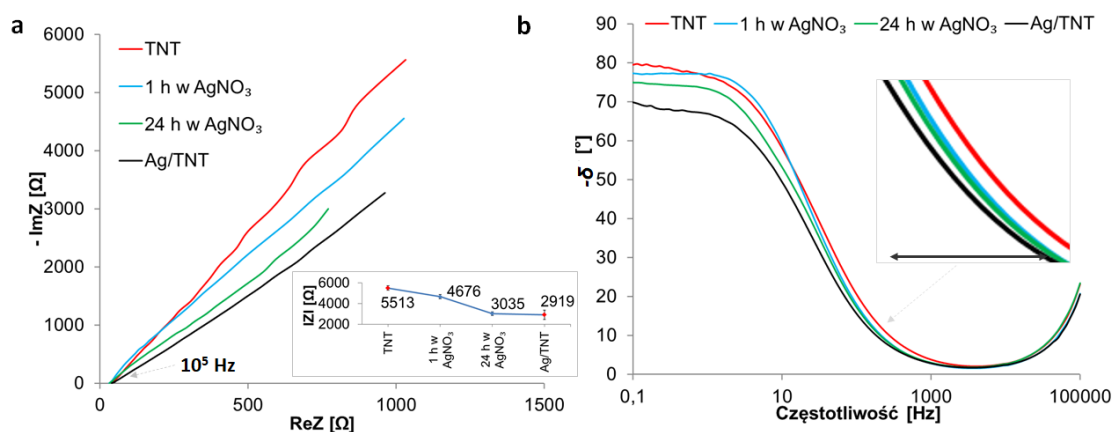
Na rysunku 63 a przedstawiono wyniki pomiarów potencjału stacjonarnego uzyskane dla AgNPs/TNT wytworzonych metodą fotoredukcji ze zmiennym czasem zanurzenia w roztworze AgNO_3 . Krzywe zarejestrowane dla próbek zawierających mniejszą ilość srebra przedstawiają dużo łagodniejsze oscylacje mierzonego sygnału, a także szybciej osiągają stan równowagi. Depozycja srebra powoduje wzrost wartości E_{stac} (rysunku 63 b). Próbki uv_AgNPs/TNT wykazują niższą wartość potencjału stacjonarnego, w porównaniu do Ag/TNT z uwagi na ponad 40-krotnie mniejszą zawartość srebra.



Rysunek 63. Zarejestrowane krzywe OCP (a) oraz zestawienie wartości średnich potencjału stacjonarnego E_{stac} (b) platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą fotoredukcji ze zmiennym czasem zanurzenia TNT w roztworze prekursora (AgNO_3).

Rysunek 64 przedstawia wykresy Nyquista oraz Bodego zarejestrowane dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą fotoredukcji, natomiast wstawka na rysunku 64 a

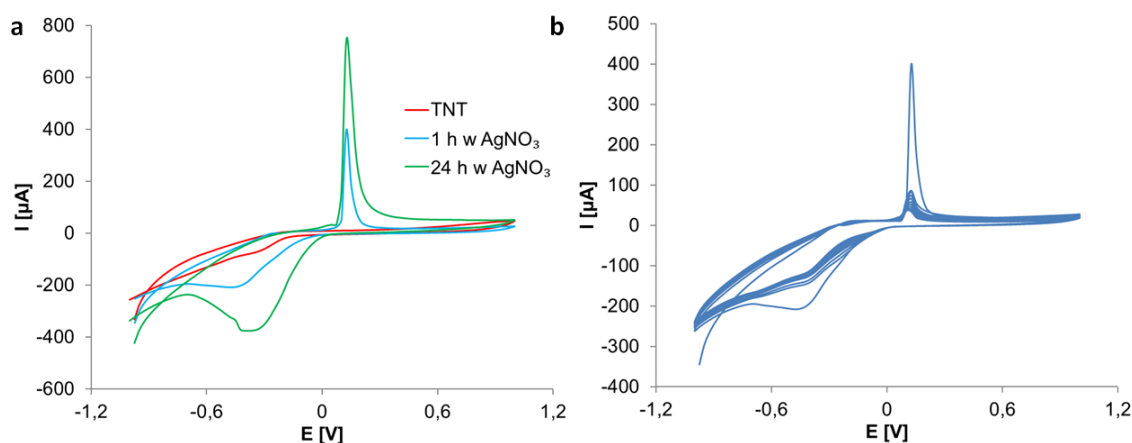
przedstawia zestawienie wartości średnich modułu impedancji. Dodatek nanocząstek Ag spowodował zmniejszenie modułu impedancji, a tym samym poprawę przewodnictwa elektrycznego próbek. Ponadto podobnie jak w przypadku elektrod wytworzonych metodami elektrowytrącenia i napyłania próżniowego największe zmiany w przebiegach obserwowane są dla najniższych częstotliwości. Co ciekawe, platformy 24uv_AgNPs/TNT charakteryzują się modulem impedancji bardzo zbliżonym do próbki odniesienia, która miała ponad 40 razy większą zawartość srebra. To potwierdza, że nanocząstki Ag zwiększając powierzchnię właściwą wpływają na poprawę przewodności elektrycznej bardziej efektywnie niż srebro w skali mikro (Ag/TNT). Wykres fazowy na rysunku 64 b przedstawia dwa maksima kąta fazowego: w rejonie najwyższych częstotliwości związane warstwą TNT z nanocząstkami srebra (lub z TNT bez AgNPs w przypadku próbki TNT) bądź z Ag i TNT w przypadku próbki Ag/TNT) oraz dla niższych częstotliwości (około 5 Hz) związane z warstwą barierową ditlenku tytanu. Obecność srebra powoduje spadek wartości kąta fazowego zarówno przy najniższych, jak i najwyższych częstotliwościach. Występowanie przegięcia dla tych próbek obserwuje się w rejonie niższych częstotliwości (wstawka na rysunku 64 b), co wskazuje na lepszą przewodność elektryczną tych podłoży.



Rysunek 64. Wykres Nyquista (wstawka: zestawienie wartości średnich $|Z|$) (a) i Bodego (b) zarejestrowane dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą fotoredukcji ze zmiennym czasem zanurzenia TNT w roztworze prekursora w zakresie częstotliwości od 0,1 do 10^5 Hz.

Wyniki badań woltamperometrii cyklicznej elektrod AgNPs/TNT w roztworze PBS przedstawiono na rysunku 65, przy czym rysunek 65a przedstawia zestawienie pierwszych cykli zarejestrowanych dla tych próbek, natomiast rysunek 65b pełne 10 cykli uzyskanych

dla nanokompozytu 1uv_AgNPs/TNT. W przypadku wszystkich podłoży obserwowany jest pik katodowy (około -0,5 V) związany z redukcją Ti^{4+} , a także występujący po nim pik świadczący o wydzielaniu wodoru. Wzrost prądu w rejonie niskich potencjałów oraz pik anodowy (-0,2 V) reprezentują reakcje przeciwne [54, 146]. W przypadku próbek zawierających AgNPs obserwowany jest dodatkowo pik utleniania Ag^0 (0,2 V) i redukcji (-0,2 V) jonów Ag^+ . Separacja prądów pomiędzy krzywą utleniania, a redukcji jest większa w przypadku próbek z AgNPs, co wskazuje na większą przewodność tych elektrod. Wyniki pomiarów odpowiedzi prądowej elektrod uv_AgNPs/TNT przez 10 cykli (rysunek 65 b) pokazują, że stabilizacja rejestrowanych krzywych następowała już po jednym cyklu.



Rysunek 65. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą fotoredukcji (a) oraz 10 cykli dla próbki 1uv_AgNPs/TNT (b) zarejestrowane w roztworze PBS.

Podsumowując, największymi zaletami napyłania próżniowego, fotoredukcji i elektroosadzania nanocząstek srebra na TNT jest jednoetapowość, prostota i łatwa kontrola nad morfologią otrzymanych kompozytów poprzez zmianę warunków depozycji. Dodatkowo wymienione metody nie wymagają użycia odczynników stabilizujących i redukujących, a więc zapewniają czystość wytworzonych AgNPs. Fotoredukcja wymaga jednak poświęcenia znacznie więcej czasu od pozostałych metod, ponieważ osadzanie nanocząstek poprzez CV, CA lub SP trwa maksymalnie do kilku minut. Jest to również najmniej efektywna metoda, gdyż nawet w przypadku próbek po 24 h zanurzeniu w roztworze AgNO₃ uzyskiwano kompozyty o zawartości srebra nie przekraczającej około 1,5% wagowych. Wytworzone kuliste AgNPs koncentrowały się głównie w górnej części nanorurek TiO₂ wokół ich krawędzi, a w mniejszym stopniu wypełniały przestrzeń między

TNT i przenikały do ich wnętrza. Wraz ze wzrostem czasu osadzania (lub zanurzenia TNT w roztworze prekursora) obserwowano wzrost zawartości srebra.

Ogólnie ujmując, dodatek srebra powodował zwiększenie wartości E_{stac} kompozytów, zmniejszenie kąta fazowego, oporu czynnego i biernego, a tym samym modułu impedancji (do około 50% w porównaniu z TNT) a więc wzrost przewodnictwa elektrycznego wytworzonych platform. Każda z metod osadzania AgNPs pozwoliła na wytworzenie kompozytów, których moduł impedancji był zbliżony do wartości modułu impedancji podłoża referencyjnego Ag/TNT, a w tym:

- 25cv_AgNPs/TNT,
- 120ca_AgNPs/TNT,
- 10sp_AgNPs/TNT,
- 20sp_AgNPs/TNT,
- 24uv_AgNPs/TNT.

Warto jednak zaznaczyć, że wymienione kompozyty zawierały odpowiednio: 8-, 25-, 14-, 9- i 42-krotnie mniejszą zawartość srebra od Ag/TNT, co jedynie potwierdza znaczne rozwinięcie powierzchni aktywnej elektrod z AgNPs. Próbką 24uv_AgNPs/TNT zawierała najmniej srebra i jednocześnie nanocząstki o najmniejszym rozmiarze, stąd można jednoznacznie stwierdzić, że niezamykanie kanałów nanorurek TiO_2 przez nanocząstki jest kluczowe w przyspieszaniu transferu elektronów.

Dodatkowo, aby porównać wpływ nanocząstek srebra na dokładność, a w tym: odtwarzalność i powtarzalność wytworzonych elektrod wykonano testy odtwarzalności polegające na trzykrotnym powtórzeniu pomiarów impedancyjnych na tej samej elektrodzie, natomiast powtarzalności na trzykrotnych pomiarach EIS przy użyciu różnych elektrod z tej samej serii produkcyjnej [244]. W porównaniu do TNT bez nanocząstek (tabela 16) obserwuje się większe wartości względnych odchyłeń standardowych (RSD) parametrów impedancyjnych w badaniach powtarzalności i mniejsze wartości w testach odtwarzalności (lepiej stabilność) (tabela 19). Większe wartości RSD pomiędzy różnymi elektrodami z tej samej serii można tłumaczyć większą heterogenicznością struktury kompozytowej AgNPs/TNT.

Tabela 19. Wartości procentowe względnych odchyłeń standardowych (RSD) parametrów impedancyjnych wybranych kompozytów AgNPs/TNT.

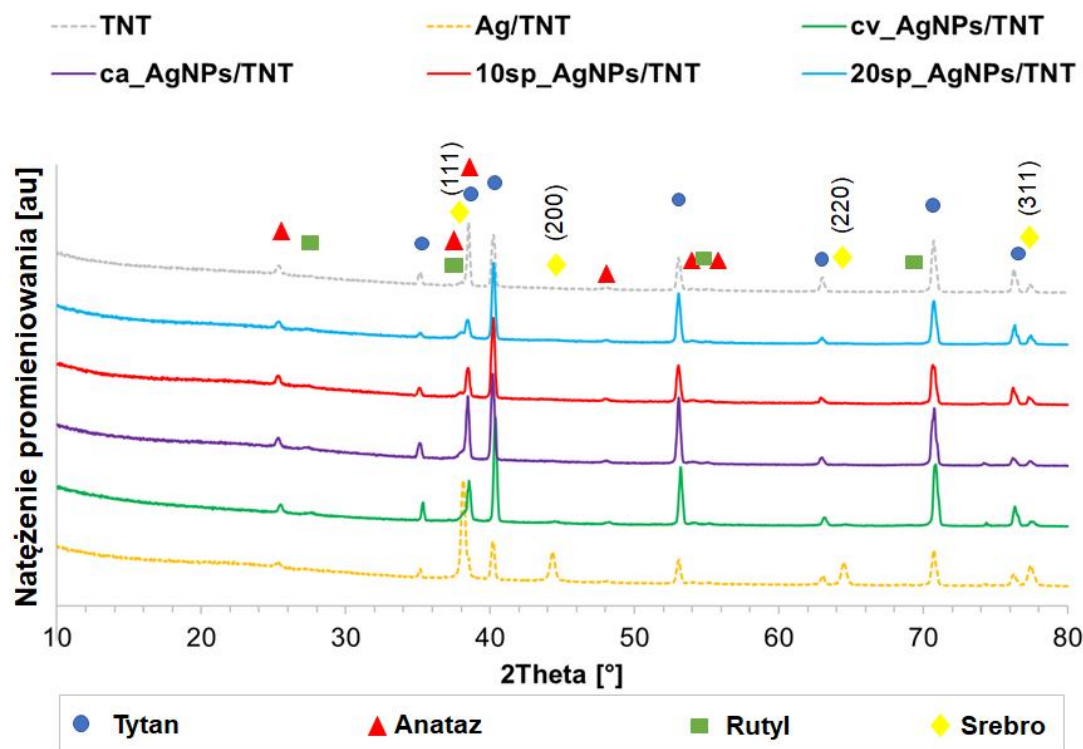
	25cv_AgNPs/TNT		120ca_AgNPs/TNT		10sp_AgNPs/TNT		20sp_AgNPs/TNT		24uv_AgNPs	
	na różnych próbkach	na tej samej próbce	na różnych próbkach	na tej samej próbce	na różnych próbkach	na tej samej próbce	na różnych próbkach	na tej samej próbce	na różnych próbkach	na tej samej próbce
RSD ReZ [%]	8,7	0,8	6,1	1,5	9,3	2,3	5,3	0,9	6,1	2,3
RSD -ImZ [%]	9,0	1,2	6,3	0,3	8,1	0,9	6,2	0,2	7,0	0,8
RSD Z [%]	8,7	1,1	13,0	0,3	11,5	0,8	5,1	0,1	6,4	0,6
RSD -δ [%]	1,4	0,3	2,0	0,3	2,2	0,5	2,1	0,2	3,0	0,5

Biorąc pod uwagę powyższe, do dalszych badań polegających na potwierdzeniu możliwości praktycznego zastosowania opracowanych kompozytów w czujnikach elektrochemicznych wybrano cztery z pięciu wskazanych powyżej podłoży o najlepszej przewodności elektrycznej, tj.: 25cv_AgNPs/TNT (zwane dalej cv_AgNPs/TNT), 120ca_AgNPs/TNT (zwane dalej ca_AgNPs/TNT), 10sp_AgNPs/TNT, 20sp_AgNPs/TNT. Na tym etapie zdecydowano zrezygnować z wytwarzania nanocząstek srebra za pomocą fotoredukcji z uwagi na dużo większą czasochłonność i najmniejszą efektywność tej metody.

6. Wyniki badań TNT z AgNPs jako podłoży czujników elektrochemicznych

6.1. Wyniki badań rentgenowskich funkcjonalizowanych AgNPs podłoży TNT

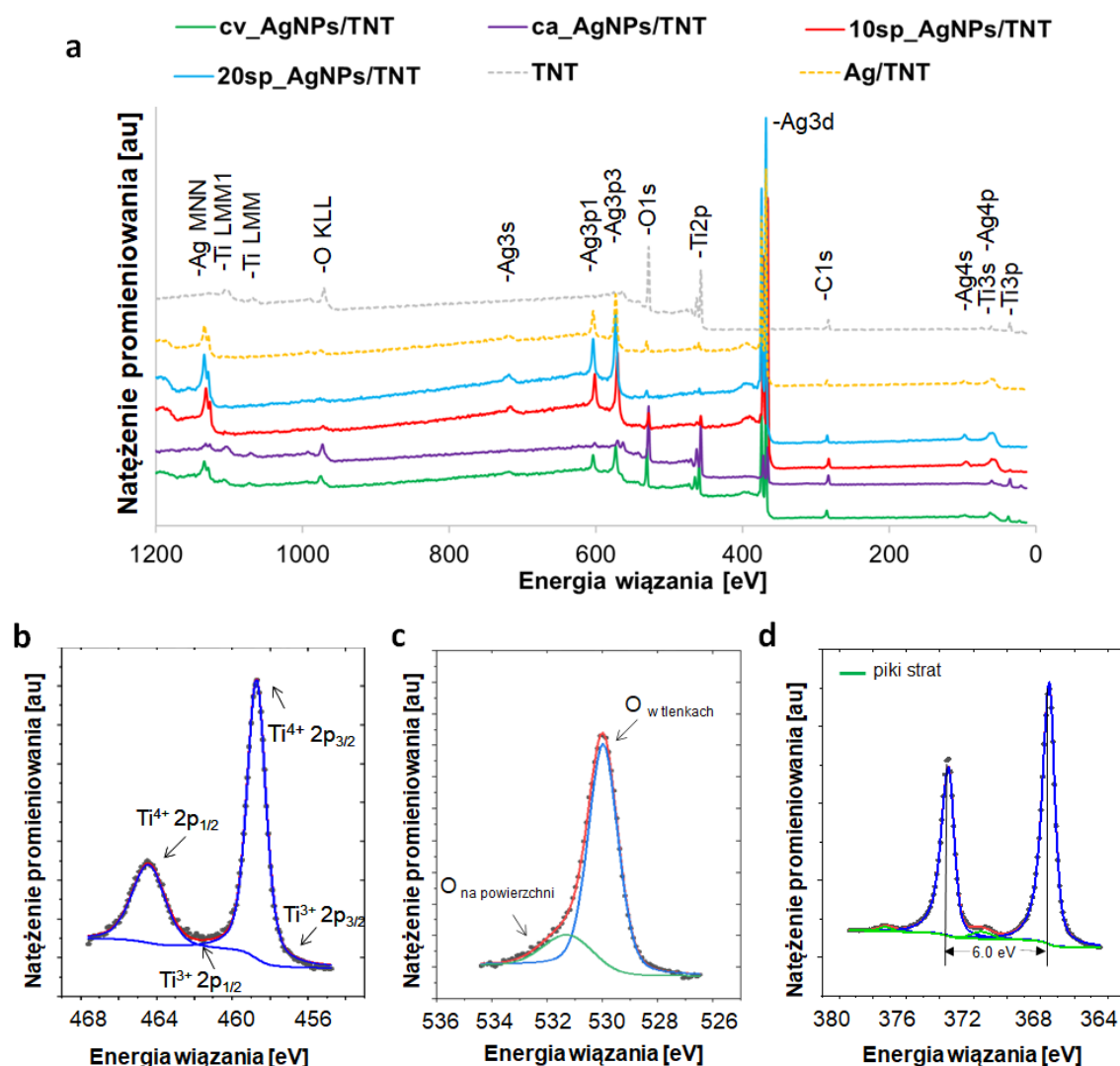
Dyfraktogramy XRD z opisem pików odpowiadających płaszczyznom krystalograficznym zarejestrowane dla wybranych platform AgNPs/TNT oraz odniesienia (TNT i Ag/TNT) przedstawiono na rysunku 66, przy czym dla lepszej czytelności rysunku opisano na nim jedynie płaszczyzny krystalograficzne srebra, ponieważ płaszczyzny krystalograficzne rutylu, anatazu i tytanu zostały oznaczone na rysunkach 25 oraz 31. Wykazano obecność pików pochodzących od tytanowego podłoża, dwóch odmian krystalicznych TiO_2 : anatazu i rutylu, a także srebra w postaci metalicznej. Główny piki dyfrakcyjny srebra (111 - płaszczyzna sieci krystalicznej o geometrii regularnej, ściennie centrowanej fcc), który pokrywa się zarówno z pikiem tytanu (002), jak i anatazu (112) swoje maksimum osiąga około 38° [119, 151-152, 284-285]. Największa wartość natężenia tego pików wskazuje, że płaszczyzna (111) była najbardziej preferowaną orientacją z uwagi na jej najniższą energię swobodną, ponieważ atomy Ag miały wystarczającą energię do poruszania się [125]. Wraz ze wzrostem zawartości srebra w strukturze AgNPs/TNT zmniejsza się natężenie pików pochodzących od tytanowego podłoża, a zwiększa wysokość pików srebra (tabela 20). Co ważne, nie zaobserwowano pików charakterystycznego dla Ag_2O ($32,85^\circ$), co potwierdza brak obecności utlenionych form Ag [146, 279, 286]. Wyniki XRD udowodniły, że osadzanie AgNPs nie spowodowało utworzenia niepożądanych produktów ubocznych, ponieważ na rentgenogramach nie występują żadne nieznane piki [151].



Rysunek 66. Dyfraktogramy XRD zarejestrowane dla wybranych elektrod AgNPs/TNT oraz odniesienia w postaci TNT i Ag/TNT.

Widma XPS zarejestrowane dla wybranych platform AgNPs/TNT oraz odniesienia TNT i Ag/TNT przedstawiono na rysunku 67 a. We wszystkich próbkach wykryto trzy pierwiastki: węgiel, tlen i tytan, natomiast w próbkach AgNPs/TNT oraz Ag/TNT dodatkowo srebro. Piki składowe reprezentujące Ti 2p osiągają maksimum dla 458,3 eV z separacją równą około 5,7 eV wskazującą na obecność TiO_2 , natomiast niewielkie odchylenia od dopasowania mogą wskazywać na obecność Ti^{3+} w tlenku Ti_2O_3 (rysunek 67 b) [234]. Widma tlenu O 1s uzyskane dla wszystkich próbek są do siebie podobne, ich asymetria wskazuje na więcej niż jeden rodzaj wiązań, dlatego zostały rozłożone na dwa maksima: pierwsze około 530 eV, które przypisuje się tlenowi w tlenkach tytanu [237-238], natomiast drugie około 531 eV odpowiadające przypowierzchniowym grupom OH^- lub zaadsorbowanej wodzie w miejscach wakansów tlenowych, albo też tlenowi w zanieczyszczeniu węglowym (rysunek 67 c) [235-239]. Piki Ag 3d wykryto we wszystkich próbkach oprócz TNT bez AgNPs, a jego widma są do siebie podobne: wykazują strukturę dubletu 3d (separacja $d_{5/2}$ - $d_{3/2}$ wynosi 6,0 eV), co wskazuje na metaliczny stan srebra. Dodatkowo w widmie Ag 3d widoczne są dwa piki strat typowe dla Ag^0 [151]. Pik $3d_{5/2}$ jest ujemnie przesunięty w stosunku do standardowej energii wiązania

(368,4 eV) ze względu na fakt, iż kuliste nanocząstki mają większą liczbę nieskoordynowanych atomów powierzchniowych, co zmniejsza ich energię wiązania [287-288].



Rysunek 67. Zestawienie widm XPS zarejestrowanych dla wybranych elektrod AgNPs/TNT oraz odniesienia w postaci TNT i Ag/TNT (a) oraz widma Ti 2p (b), O 1s (c) i Ag 3d (d) uzyskane dla próbki cv_AgNPs/TNT.

Tabela 20 przedstawia wyniki analizy XPS składu chemicznego wybranych elektrod. Próbkę wytworzone metodami elektrowytworzenia zawierają więcej tlenu oraz tytanu niż elektrody sp_AgNPs/TNT, co wskazuje na ich bardziej równomierne pokrycie nanocząstkami Ag. Ponadto obserwuje się duże różnice w zawartości srebra pomiędzy wynikami uzyskanymi dzięki metodzie EDS i XPS. Analiza XPS daje jednak informacje

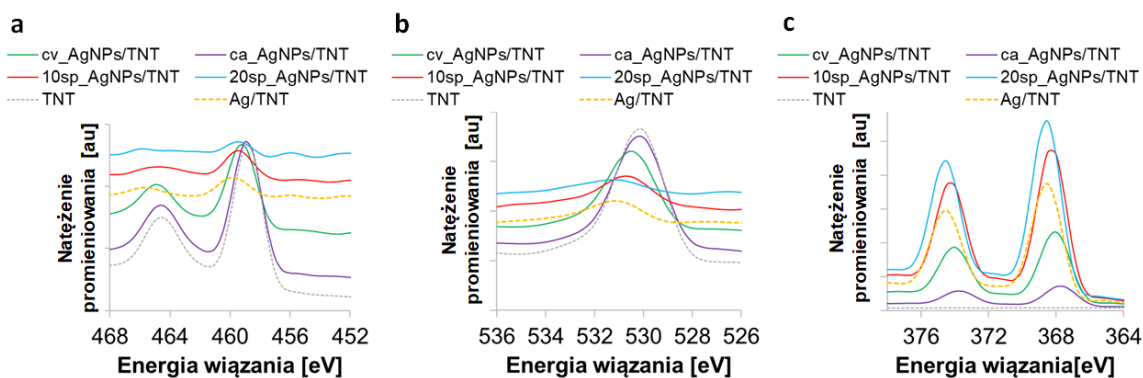
o składzie warstwy wierzchniej, podczas gdy w przypadku EDS materiał analizowany jest na głębokość do kilku mikrometrów. Różnice te wskazują, że struktura nanorurek TiO_2 została zmodyfikowana AgNPs w większości na ich powierzchni.

Tabela 20. Skład chemiczny powierzchni (% at.) obliczony na podstawie widm XPS.

	C całkowity	O w tlenkach	O na powierzchni	Ti	Ag ⁰ (NPs)
TNT	19,1	47,1	8,8	21,7	-
cv_AgNPs/TNT	21,8	32,4	7,0	16,2	22,6
ca_AgNPs/TNT	23,8	41,9	8,1	20,7	5,6
10sp_AgNPs/TNT	26,4	13,6	4,7	6,7	48,6
20sp_AgNPs/TNT	25,1	7,7	3,2	3,8	60,4
Ag/TNT	22,9	12,5	4,9	6,0	53,8

Rysunek 68 pokazuje, że w przypadku kompozytów AgNPs/TNT występuje przesunięcie maksimum pików na wyższą energię wiązania w porównaniu do czystego TNT. Wynika to z silnego oddziaływania pomiędzy Ag a TiO_2 i wskazuje na transfer elektronów pomiędzy strukturami [289-292]. Zgodnie z literaturą zjawisko to wynika z wyrównywania się poziomów Fermiego w wyniku kontaktu srebra z nanorurkami TiO_2 [289, 293]. Co więcej, energia wiązania, a także spłaszczenie maksimum Ti 2p zwiększa się wraz z ilością osadzonego na TNT srebra, co można interpretować jako częściową redukcję Ti^{4+} na powierzchni w wyniku tworzenia się wiązania metal-metal pomiędzy Ag i Ti [289].

W widmie O 1s (rysunek 68 b) po osadzeniu Ag uzyskuje się oczywiste zmniejszenie natężenia tego pików, podczas gdy jego przesunięcie w kierunku wyższych energii wiązania można przypisywać powierzchniowemu wiązaniu O – Ag. Przesunięcia te nie są jednak wskaźnikiem utleniania srebra (co potwierdziła również analiza XRD) ale częściowej redukcji jonów Ti^{4+} w wyniku wiązania Ag – Ti, w związku z czym srebro przypuszczalnie przylacza się do Ti również poprzez wiązanie z tlenem [100, 127, 289]. Ponadto można zauważyć, że natężenie pików srebra (rysunek 68 c) wzrasta wraz z ilością srebra w strukturze (tabela 20), co koreluje odwrotnie z natężeniem pików tytanu i tlenu: wraz ze wzrostem ilości srebra maleje ich natężenie. To potwierdza, że srebro osadziło się w większości na powierzchni TNT.

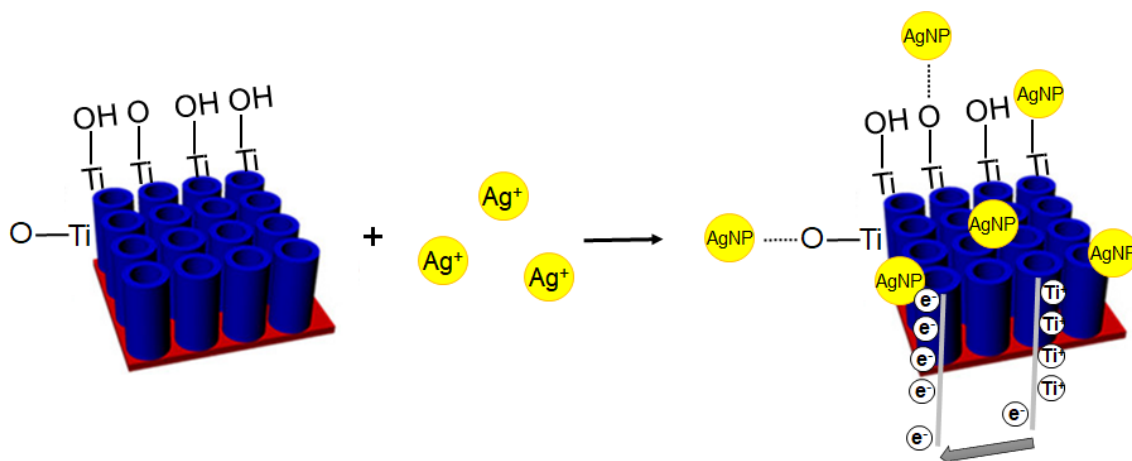


Rysunek 68. Zestawienia widm Ti 2p (a), O 1s (b) zarejestrowanych dla wybranych elektrod AgNPs/TNT oraz odniesienia w postaci TNT i Ag/TNT.

Zgodnie z powyższymi wynikami oraz faktem, że na widmach XPS oraz XRD nie zarejestrowano żadnych dodatkowych sygnałów, które mogłyby wskazywać na inne rodzaje wiązań, na rysunku 69 zapropomowano wspólny dla zastosowanych metod wytwarzania AgNPs mechanizm łączenia nanocząstek srebra z nanorurkami ditlenku tytanu zgodnie z równaniem (23):



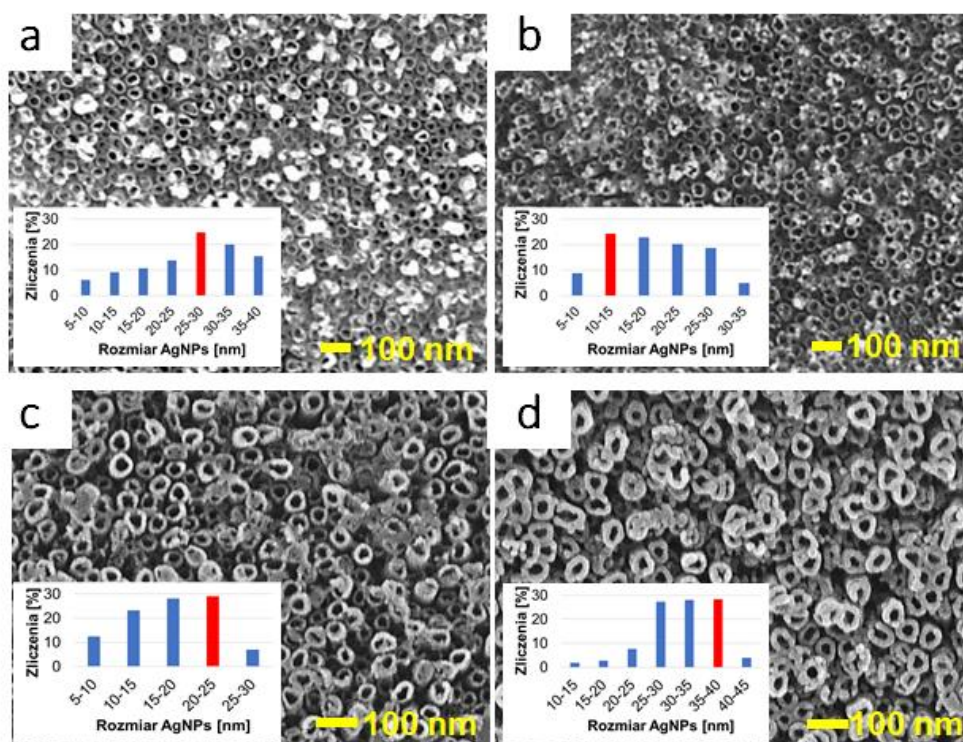
Jony srebra w pobliżu powierzchni TiO_2 wychwytyują elektrony i osadzają się na powierzchni w postaci nanocząstek srebra, tworząc wiązania Ti – Ag oraz Ti – O – Ag.



Rysunek 69. Schematyczne przedstawienie wiązania srebra z nanorurkami TiO_2 .

1.2. Charakterystyka powierzchni AgNPs/TNT

Rysunek 70 przedstawia obrazy SEM wybranych elektrod wraz z histogramami wielkości nanocząstek srebra sporządzonymi na podstawie pomiarów 500 średnic nanocząstek na zdjęciach SEM [294]. AgNPs znajdują się głównie w górnej części nanorurek TiO_2 , wokół ich krawędzi, a w mniejszym stopniu również w przestrzeniach pomiędzy nanorurkami oraz w ich wnętrzu. W przypadku próbki 20sp_AgNPs/TNT zaobserwowano tworzenie się aglomeratów, co skutkowało obserwowalnym zmniejszeniem średnicy TNT. Próbka cv_AgNPs/TNT zawierała najwięcej nanocząstek Ag o średnicy w zakresie od 25 do 30 nm (około 25%), natomiast w zakresie od 20 do 40 nm stanowiły 75% wszystkich. Wśród próbek ca_AgNPs/TNT dominowały średnice z przedziału od 10 do 15 nm (około 24%). W przypadku 10sp_AgNPs/TNT ponad 50% stanowiły nanocząstki o średnicy od 15 do 25 nm. 20sp_AgNPs/TNT zawierał ponad 50% nanocząstek o wielkości od 30 do 40 nm.

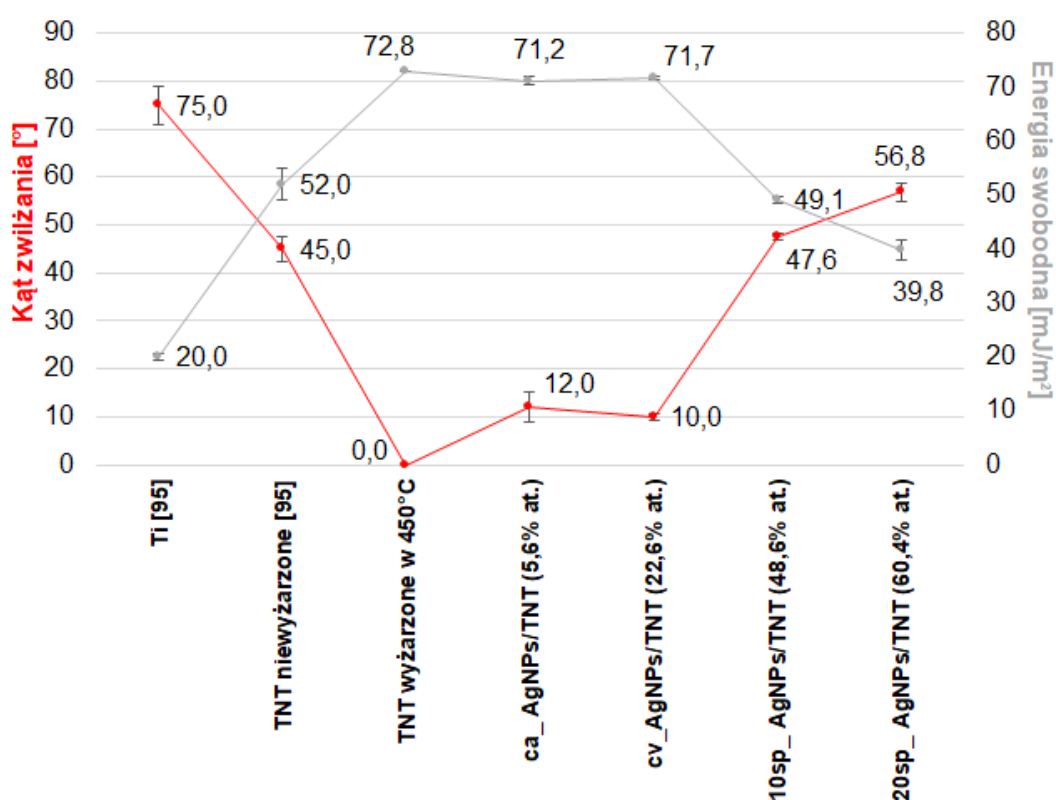


Rysunek 70. Zdjęcia SEM platform: cv_AgNPs/TNT (a), ca_AgNPs/TNT (b), 10sp_AgNPs/TNT (c) oraz 20sp_AgNPs/TNT (d) wraz z histogramami rozkładu wielkości nanocząstek.

Na zwilżalność i swobodną energię powierzchniową wpływa zarówno topografia, jak i fizykochemia powierzchni podłoża [295]. Szczególnie w przypadku wykorzystywania nanorurek TiO_2 w zastosowaniach biomedycznych jednym z aspektów, który należy wziąć pod uwagę jest zwilżalność, czyli wodorophilowość (hydrofilowość/hydrofobowość) danego materiału oraz wynikające z tego właściwości adsorpcyjne. Kąt zwilżania powyżej 90° wskazuje na hydrofobowy charakter powierzchni [296], a jego zmniejszenie oprócz zmian w składzie chemicznym może wskazywać na obecność polarnych grup funkcyjnych na powierzchni [295]. Biorąc pod uwagę, że powierzchnie hydrofilowe wzmacniają interakcje z płynami biologicznymi, komórkami i tkankami oraz mają lepszą odporność na adhezję bakterii, takie powierzchnie mogą zwiększać biokompatybilność *in vitro* i *in vivo*. Co więcej, na powierzchniach wyżarzanych nanomateriałów o wyższych energiach powierzchniowych łatwiej zachodzi adsorpcja i wiele reakcji [95].

Rysunek 71 przedstawia zestawienie danych literaturowych oraz badań własnych kąta zwilżania wybranych podłoży wraz z obliczonymi dla nich wartościami powierzchniowych energii swobodnych. W porównaniu do Ti, nanorurki TiO_2 wykazują dużo bardziej hydrofilowy charakter, a wyżarzanie skutkuje uzyskaniem struktur superhydrofilowych, natomiast po dodaniu AgNPs kąt zwilżania wzrasta [297]. Hydrofilowy charakter TNT przypisuje się dużej ilości grup hydroksylowych na ich powierzchni [87], co potwierdziły badania XPS (tabela 20). Dodatek srebra zmniejsza ilość zaadsorbowanej wody/grup OH^- stąd próbki te charakteryzowały się większą wartością kąta zwilżania. Jednocześnie wyżarzanie skutkuje zmniejszeniem ilości zanieczyszczeń węglowych na TNT, natomiast po osadzeniu AgNPs jest ich więcej, co wg Lee i wsp. wpływa na zwilżalność [295]. Wraz ze wzrostem zawartości srebra obserwuje się zmniejszenie kąta zwilżania. Podobne zależności uzyskano w wielu badaniach dotyczących wpływu nanocząstek srebra oraz złota na chropowatość i zwilżalność powierzchni TNT [254, 298-299]. Autorzy obserwowali, że wraz ze wzrostem zawartości domieszek zwiększała się chropowatość kompozytów, co powodowało wzrost wartości kąta zwilżania. W rezultacie zmniejszała się porowatość TiO_2 , ponieważ nanocząstki osadzały się głównie na krawędziach nanorurek TiO_2 oraz w pewnym stopniu wnikały do ich wnętrza, co blokowało możliwość wnikania wody i w konsekwencji zmniejszało zwilżalność powierzchni.

W przypadku powierzchniowej energii swobodnej obserwowano odwrotne korelacje: tj. im niższy kąt zwilżania, tym wyższa energia swobodna. Energia powierzchniowa ma znaczący wpływ na właściwości adsorpcyjne podłoża. TNT w porównaniu do Ti posiada więcej punktów adhezji, co powoduje wzrost ich energii swobodnej. Niewielki dodatek AgNPs powoduje również zwiększenie ilości miejsc kontaktu, jednak kiedy cząstek jest w strukturze w nadmiarze, zaczynają one blokować kanały nanorurek TiO_2 , co zmniejsza ilość miejsc wiązania, a więc i energię powierzchniową [254].

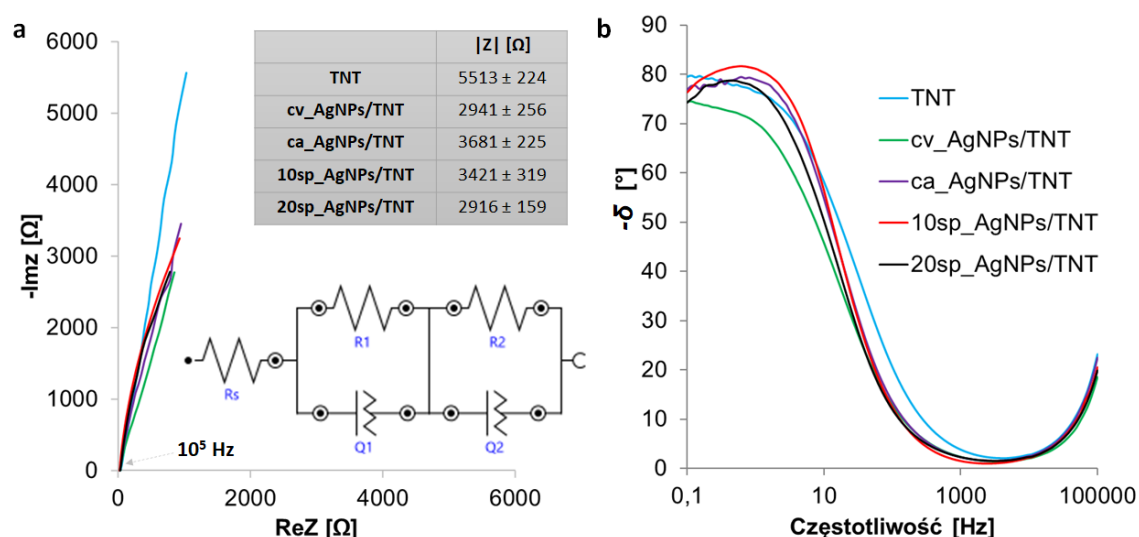


Rysunek 71. Zestawienie wartości kąta zwilżania oraz energii swobodnej dla wybranych próbek AgNPs/TNT na podstawie badań własnych oraz literaturowych dla Ti oraz TNT niewyżarzonego (w nawiasie podano zawartość procentową srebra) [95].

Na rysunku 72 przedstawiono wyniki badań impedancyjnych zestawione dla wybranych elektrod AgNPs/TNT. Częstym elementem analizy tych danych jest modelowanie próbek za pomocą najprostszego elektrycznego obwodu zastępczego, którego poprawność weryfikuje się poprzez porównanie zgodności otrzymanej teoretycznej odpowiedzi elektrycznej modelu z danymi eksperymentalnymi. Właściwości elektryczne półprzewodnikowych TNT można opisać obwodem składającym się z równoległego połączenia rezystora i kondensatora. Wykres Nyquista takiego układu RC

przedstawia jednak pełne półkole ze środkiem położonym na osi ReZ. W większości przypadków dane eksperymentalne ujawniają znaczące odchylenie od tego zachowania RC, uwidaczniające się w deformacji półkola na wykresie Nyquista. Powszechne podejście badaczy polega na opisywaniu poszerzonych półkoli przez równoległe połączenie rezystora i elementu stałofazowego (Q). Zastąpienie kondensatora przez Q i zachowanie rezystora w obwodzie ma tę zaletę, że przewodnictwo można nadal określić przez dopasowanie parametru R. Tym bardziej w przypadku niejednorodności chropowatych powierzchni elektrod nieidealne zachowanie wskazuje na konieczność zastosowania Q. Ponieważ w większości przypadków wyniki eksperymentalne zgadzają się dość dobrze z obwodem zastępczym RQ jest to często stosowany model [186, 300]. W literaturze używanych jest co najmniej kilka różnych obwodów zastępczych do dopasowania wyników impedancyjnych charakteryzujących TNT, jednak najczęściej stosowanym jest obwód $[R_s(R_1Q_1)(R_2Q_2)]$ [96, 264, 279, 301]. Ten sam obwód stosowany jest w przypadku układu AgNPs/TNT [264].

Podsumowując, ze względu na wartość kąta fazowego dla najniższej częstotliwości odbiegającą od 90° dla idealnego kondensatora oraz nachylenie krzywej na wykresie Nyquista dalekie od 45° dla impedancji Warburga [188], zdecydowano się na zastosowanie elementu stałofazowego uwzględniającego nieidealną pojemność [96]. Widma impedancyjne (rysunek 72) wskazują, że model obwodu zastępczego powinien składać się z części opisującej wewnętrzne zwarte tlenki TiO_2 i zewnętrzną część z nanorurkami TiO_2 oraz AgNPs. Biorąc pod uwagę powyższe, do dopasowania uzyskanych wyników impedancyjnych charakteryzujących zarówno TNT jak i nanokompozyty AgNPs/TNT zastosowano obwód $[R_s(R_1Q_1)(R_2Q_2)]$ (wkładka na rysunku 72 a), dla którego uzyskano najlepsze dopasowania. Zaproponowany obwód zastępczy składa się z R_s (rezystancji elektrolitu), kombinacji R_1Q_1 odpowiadającej rezystancji R_1 i elementowi stałofazowemu Q_1 dla TNT z lub bez AgNPs oraz kombinacji R_2Q_2 , która reprezentuje warstwę barierową TiO_2 .



Rysunek 72. Wykresy Nyquista (**a**) i Bodego (**b**) zarejestrowane dla elektrod TNT i AgNPs/TNT wytworzonych metodami elektroredukcji i napyłania próżniowego (wstawka: obwód zastępczy używany do dopasowania danych EIS) w zakresie częstotliwości od 0,1 do 10^5 Hz w roztworze PBS.

Parametry wyznaczone przez dopasowanie danych eksperymentalnych EIS podsumowano w tabeli 21. Opór elektrolitu odpowiadają przesunięciu krzywej od punktu (0,0) na wykresie Nyquista. Wartości R_s były mniejsze w przypadku elektrod z AgNPs, co wskazuje na dobrą przewodność kompozytów. Dużo niższa wartość rezystancji przenoszenia ładunku R_1 na granicy faz elektrolit/elektroda w porównaniu do R_2 oznacza, że nanocząstki i/lub nanorurki TiO_2 wykazują lepsze przewodnictwo elektryczne od warstwy tlenku barierowego. To pozostaje w zgodzie z doniesieniami literaturowymi, że warstwa barierowa odpowiada głównie za odporność korozyjną TiO_2 . Dodatek nanocząstek Ag zmniejsza wartość rezystancji R_1 o 50%, dodatkowo, obserwuje się podobne zmiany rezystancji R_2 , co potwierdza, że AgNPs muszą osadzać się również w bardziej wewnętrznych warstwach nanorurek TiO_2 i docierać do zwartej warstwy tlenkowej [279].

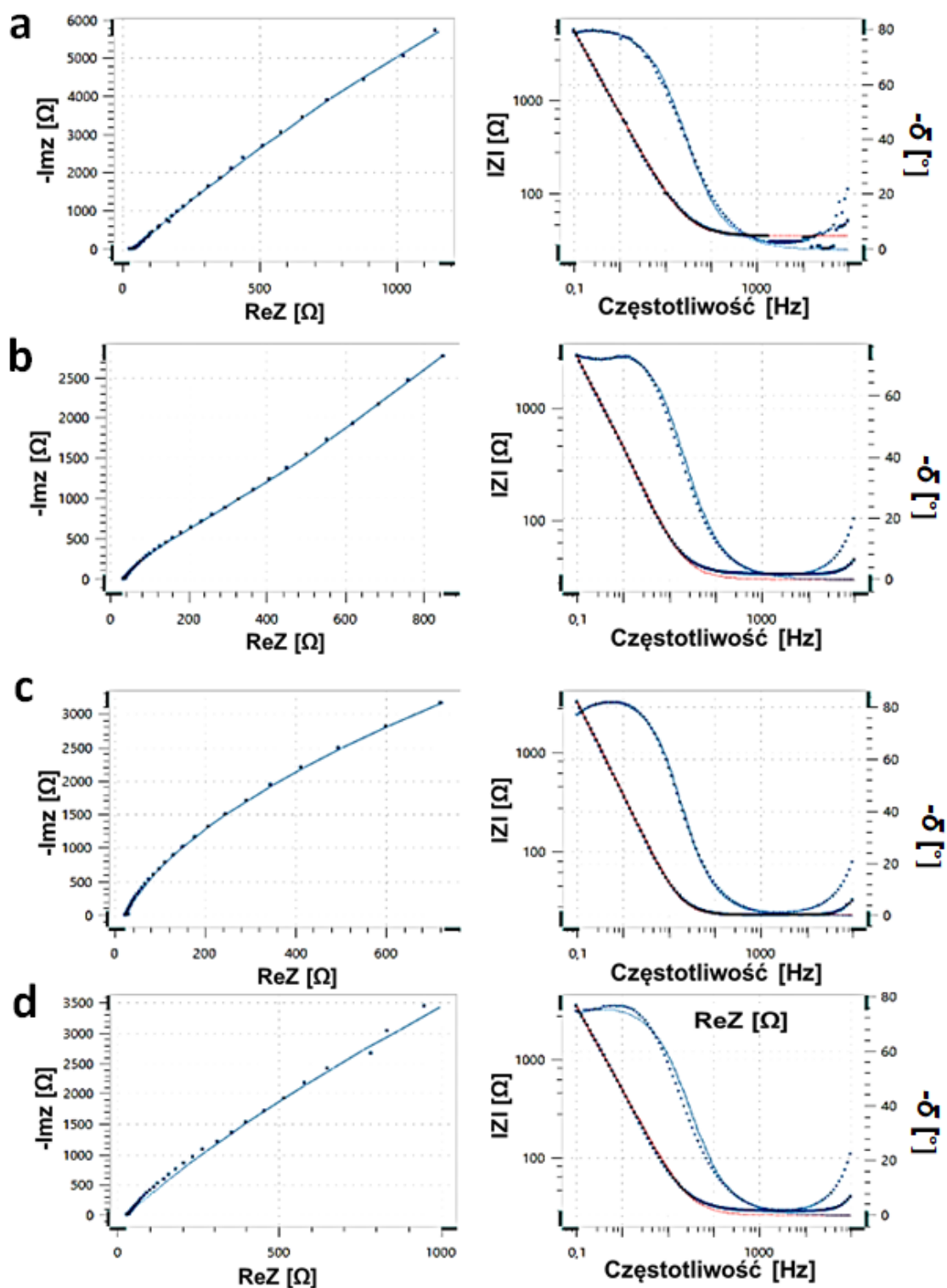
Stałe czasowe określają zdolność do gromadzenia i uwalniania ładunków elektrycznych. Ogólnie rzecz biorąc im bardziej ułatwiony jest przepływ prądu, tym krótszy czas ładowania i rozładowania struktury. Stała czasowa τ_1 obliczona dla R_1C_1 osiąga najmniejsze wartości w przypadku AgNPs/TNT wytworzonych metodą elektroredukcji, następnie w przypadku TNT oraz elektrod wytworzonych metodą napyłania próżniowego. Można więc wnioskować, że depozycja większej ilości srebra ma niekorzystny wpływ na τ_1 . Stała czasowa τ_2 obliczona dla R_2C_2 (odpowiadająca warstwie

barierowej) osiąga najwyższą wartość w przypadku TNT, a w przypadku platform AgNPs/TNT malała wraz ze wzrostem dominującej średnicy AgNPs (rysunek 70) i osiąga najmniejszą wartość w przypadku 20sp_AgNPs/TNT. Co ważne, jest to próbka zawierająca największą zawartość Ag⁰. Parametr *N* elementu *Q* świadczy o niejednorodności i wynosi ~0,95, co potwierdza poprawność zastosowania elementu stałofazowego. Uzyskane wartości dopasowania przedstawiają zależności, które zostały już odnotowane w literaturze, tj. obniżone wartości rezystancji wynikające z dodatku nanocząstek srebra do TNT [244, 264, 302-303]. Podsumowując, można zauważyć, że rozmiar, rozmieszczenie oraz ilość AgNPs ma ogromny wpływ na odpowiedź impedancyjną elektrod. Powyższe wyniki potwierdziły, że dodatek do półprzewodnika metalicznych NPs zwiększa przewodność elektryczną struktur poprzez ułatwienie transportu elektronów (i zmniejszenie rezystancji przenoszenia ładunku), jednak należy pamiętać, że zbyt duża zawartość domieszek może zmniejszać powierzchnię aktywną TNT [38].

Tabela 21. Wartości elementów obwodu zastępczego oraz odpowiadające im błędy modelowania (X^2) uzyskane dla podłoży TNT oraz AgNPs/TNT.

	TNT	cv_AgNPs/TNT	ca_AgNPs/TNT	10sp_AgNPs/TNT	20sp_AgNPs/TNT
R_s [$\Omega \cdot \text{cm}^2$]	8,35	7,45	8,125	8,05	7,60
$R1 \cdot 10^3$ [$\Omega \cdot \text{cm}^2$]	0,40	0,23	0,28	0,39	0,30
$C1 \cdot 10^{-3}$ [F/cm²]	4,40	4,8	4,36	5,68	6,44
$N1$	0,94	0,96	0,96	0,96	0,96
$\tau1=R1C1$ [s]	1,77	1,09	1,21	2,20	1,93
$R2 \cdot 10^3$ [$\Omega \cdot \text{cm}^2$]	21,94	9,26	11,45	10,57	8,00
$C2 \cdot 10^{-3}$ [F/cm²]	1,48	2,88	2,68	2,96	3,08
$N2$	0,94	0,96	0,96	0,96	0,96
$\tau2=R2C2$ [s]	32,45	26,68	30,69	31,38	24,65
X^2	0,088	0,093	0,057	0,099	0,090

Wyniki modelowania charakterystyk impedancyjnych podłoży AgNPs/TNT przedstawiono również jako dopasowania danych doświadczalnych na wykresach Nyquista i Bodego na rysunku 73. Kropkowane linie przedstawiają zarejestrowane dane eksperymentalne, natomiast linie ciągłe obrazują dopasowania modelu.



Rysunek 73. Wyniki dopasowania danych EIS uzyskane dla próbek TNT (a), cv_AgNPs/TNT (b), 10sp_AgNPs/TNT (c), ca_AgNPs/TNT (d), oraz 20sp_AgNPs/TNT (e) do obwodu $[Rs(R1Q1)(R2Q2)]$.

W celu określenia wpływu elementów biologicznych na charakterystykę impedancyjną elektrod, a także ich zdolności adhezyjne zdecydowano się wykorzystać dwie procedury unieruchomienia biomolekuł:

- szybką i prostą bezpośrednią metodę nakroplenia,
- funkcjonalizację metodą sprzęgania kowalencyjnego.

Pierwszą z nich wykonano na przykładzie BSA, które jest białkiem modelowym powszechnie stosowanym w badaniach biologicznych, elektrochemicznych i materiałowych [304]. Związanie białka z podłożem polega na jego adsorpcji na drodze oddziaływań międzycząsteczkowych. Wśród nich najsilniejsze są oddziaływania elektrostatyczne, które mają miejsce pomiędzy dwoma różnoimiennie naładowanymi obiektami. BSA w roztworze PBS mają ładunek ujemny (pH punktu izoelektrycznego BSA wynosi 5,4), stąd spodziewana jest adsorpcja większej ilości białka na podłożach z AgNPs/TNT, co wynika z dodatniej wartości E_{stac} tych elektrod (spowodowanego zarówno modyfikacją termiczną, jak i zawartością srebra) (tabela 22).

Tabela 22. Zestawienie średnich wartości E_{stac} elektrod TNT i AgNPs/TNT.

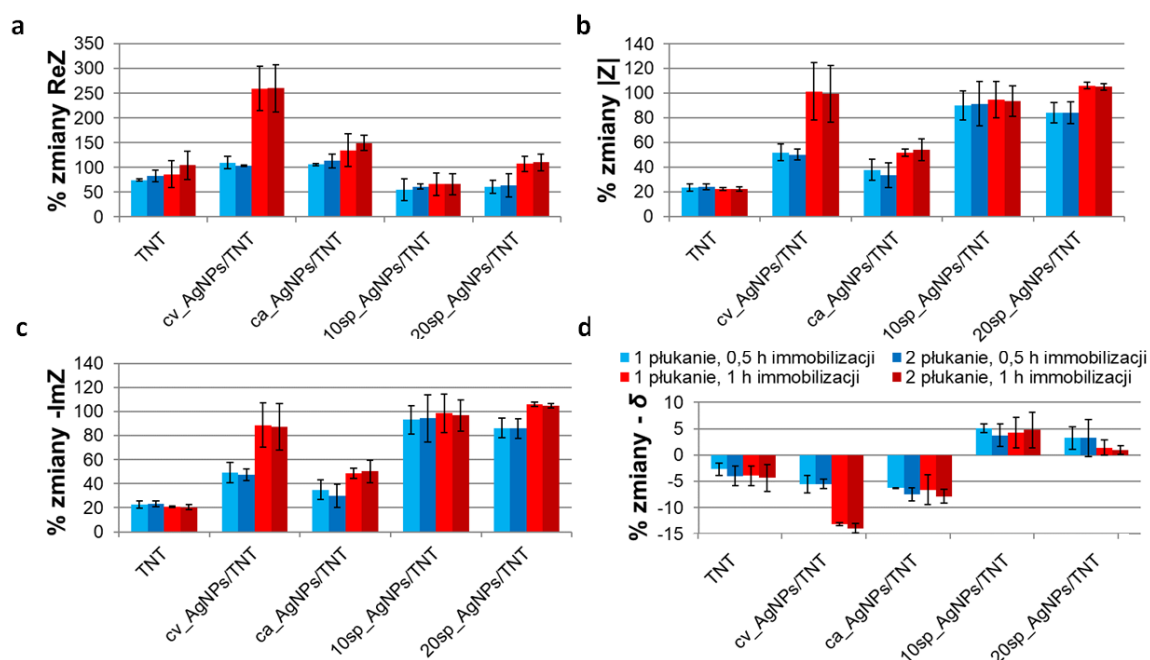
Elektroda	E_{stac} [mV]	$\pm$ SD [mV]
TNT	-66,0	14
cv_AgNPs/TNT	-2,6	2
ca_AgNPs/TNT	17,2	13
10sp_AgNPs/TNT	19,0	9
20sp_AgNPs/TNT	7,4	6

Pomiary EIS przeprowadzono po 0,5 i 1 godzinie od nakroplenia BSA na powierzchnię elektrod, z których każdy powtórzono dwukrotnie, po kolejnych płukaniach podłoży w celu oceny stabilności wiązania. Rysunek 74 przedstawia wykresy procentowej zmiany parametrów impedancyjnych po osadzeniu białek. Obecność BSA spowodowała oczekiwany wzrost rezystancji przenoszenia ładunku poprzez zatkanie kanałów TNT, stąd obserwuje się wzrost rzeczywistej i urojonej części impedancji, a tym samym modułu impedancji. Najniższą jego wartość odnotowano w przypadku próbki TNT i co istotne była ona zbliżona w przypadku obu czasów unieruchomienia, co świadczy o całkowitym

wysyceniu warstwy nanorurek TiO_2 już po 0,5 h osadzania BSA. Podobnie jak w przypadku TNT porównywalne zmiany parametrów impedancji w przypadku obu czasów unieruchomienia były rejestrowane dla elektrody 10sp_AgNPs/TNT. Po 0,5 h unieruchamiania BSA obserwowano zwiększenie $|Z|$ wraz ze wzrostem zawartości srebra (tabela 20), stąd można stwierdzić, że srebro poprawia właściwości adsorpcyjne elektrod. W przypadku dłuższego czasu unieruchomienia, odmiennie niż poprzednio, zaobserwowano że ilość związanych białek korelowała dodatnio z dominującą średnicą AgNPs w strukturze TNT (rysunek 70), a nie z zawartością srebra. To może wskazywać na istnienie różnych mechanizmów interakcji białka z podłożem. Brak istotnych statystycznie zmian parametrów impedancyjnych po kolejnych płukaniach platform potwierdza stabilność związania białek z powierzchnią. Podobne wyniki dotyczące stabilności po przepłukaniu uzyskano na podłożach TNT po unieruchomieniu białka IgG (immunoglobulina G) [110].

Największą zmianę $|Z|$ po 1 godzinie osadzania BSA zaobserwowano w przypadku próbki cv_AgNPs/TNT (około 100%), a ReZ uzyskany dla tej próbki wzrósł o 260%, dlatego wydaje się, że elektroda ta zawiera najwięcej obszarów, do których mogły przyłączać się białka. Co ciekawe, wyniki badań Zhao i wsp. [45], w których ilość związanych z TNT i AgNPs/TNT białek oznaczano metodą kolorymetryczną, wykazały że dodatek AgNPs w bardzo niewielkim stopniu poprawił adsorpcję białek, jednak maksymalna zawartość nanocząstek srebra w wytworzonych strukturach (określona na podstawie analizy XPS) wynosiła 2%. W niniejszych badaniach zawartość srebra w strukturze nanokompozytów była natomiast co najmniej trzykrotnie większa.

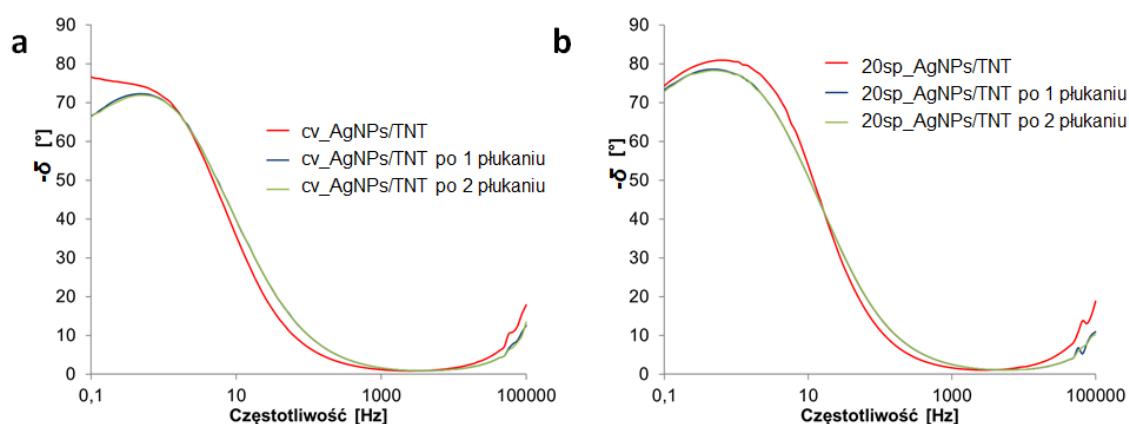
Spśród platform nanokompozytowych, w przypadku których AgNPs wytworzono metodami elektroredukcji, największą zmianę parametrów impedancyjnych uzyskanych dla obu czasów unieruchomienia BSA zarejestrowano dla próbki cv_AgNPs/TNT. Wynika to z większej zawartości srebra na tym podłożu. Natomiast w przypadku napyłania próżniowego obie elektrody wykazały porównywalne zmiany parametrów impedancyjnych z niewielką przewagą dla próbki 20sp_AgNPs/TNT. Wskazuje to, że dodatek większej ilości srebra nie spowodowałby poprawy właściwości adsorpcyjnych platform. Największe wartości odchyłeń standardowych parametrów impedancyjnych uzyskanych dla próbki cv_AgNPs/TNT mogą świadczyć o niepełnym wysyceniu elektrody (białko adsorbuje się w różnych ilościach) i/lub tendencji BSA do agregacji [305].



Rysunek 74. Wykresy procentowej zmiany parametrów impedancji wynikających z unieruchomienia BSA na elektrodach TNT i AgNPs/TNT przez 0,5 h i 1 h dla: części rzeczywistej impedancji (a), modułu impedancji (b), urojonej części impedancji (c) oraz kąta fazowego dla najniższych częstotliwości (d) po 1 i 2 płukaniach.

Platformy AgNPs/TNT wytworzone metodą elektrowydepcji charakteryzowały się ponadto dużo większymi wzrostami oporu czynnego (około trzykrotnie) (rysunek 74 a), natomiast w przypadku próbek sp_AgNPs/TNT obserwowany był dużo większy wzrost oporu biernego impedancji (około dwukrotny) (rysunek 74 c). Dodatkowo w przypadku wszystkich próbek obserwowano obniżenie wartości kąta fazowego dla najwyższych częstotliwości, co związane jest z obecnością BSA na powierzchni. Próbkę tę jednak różniły się wartościami kąta fazowego w zakresie niższych częstotliwości: w przypadku cX_AgNPs/TNT (gdzie X = a lub v) rejestrowane było zmniejszenie jego wartości, a w przypadku sp_AgNPs/TNT praktycznie pomijalny wzrost (rysunek 74 d oraz 75). To wskazuje, że prawdopodobnie większa ilość białek wniknęła w porowatą strukturę podłoża cX_AgNPs/TNT (rysunek 76 c – 76 d oraz 76 g – 76 h) natomiast w przypadku nanokompozytów sp_AgNPs/TNT białka koncentrowały się głównie na ich powierzchni (rysunek 76 e – 76 f oraz 76 i – 76 j). Próbkę TNT (rysunek 76 a – 76 b) wykazała podobną charakterystykę elektrochemiczną do podłoża cX_AgNPs/TNT (tzn. że po naniesieniu BSA na TNT także odnotowano obniżenie wartości kąta fazowego dla najniższych częstotliwości), jako że jej struktura umożliwiała migrację BSA w głąb TNT, co w literaturze definiuje się jako „efekt kieszeni” (ang. *pocket effect*) będący konsekwencją

wiązania białek z wewnętrznymi powierzchniami nanorurek TiO₂ [110]. Białko BSA ma masę cząsteczkową 66,5 kDa i rozmiar 7 nm [306]. W warunkach niesprzyjających (stresowych) wykazuje naturalną tendencję do dimeryzacji (łączenia), a jego dimery wykazują masę cząsteczkową 132 kDa. Możliwe więc, że zwiększona ilość srebra powoduje odpowiedź stresową białka.

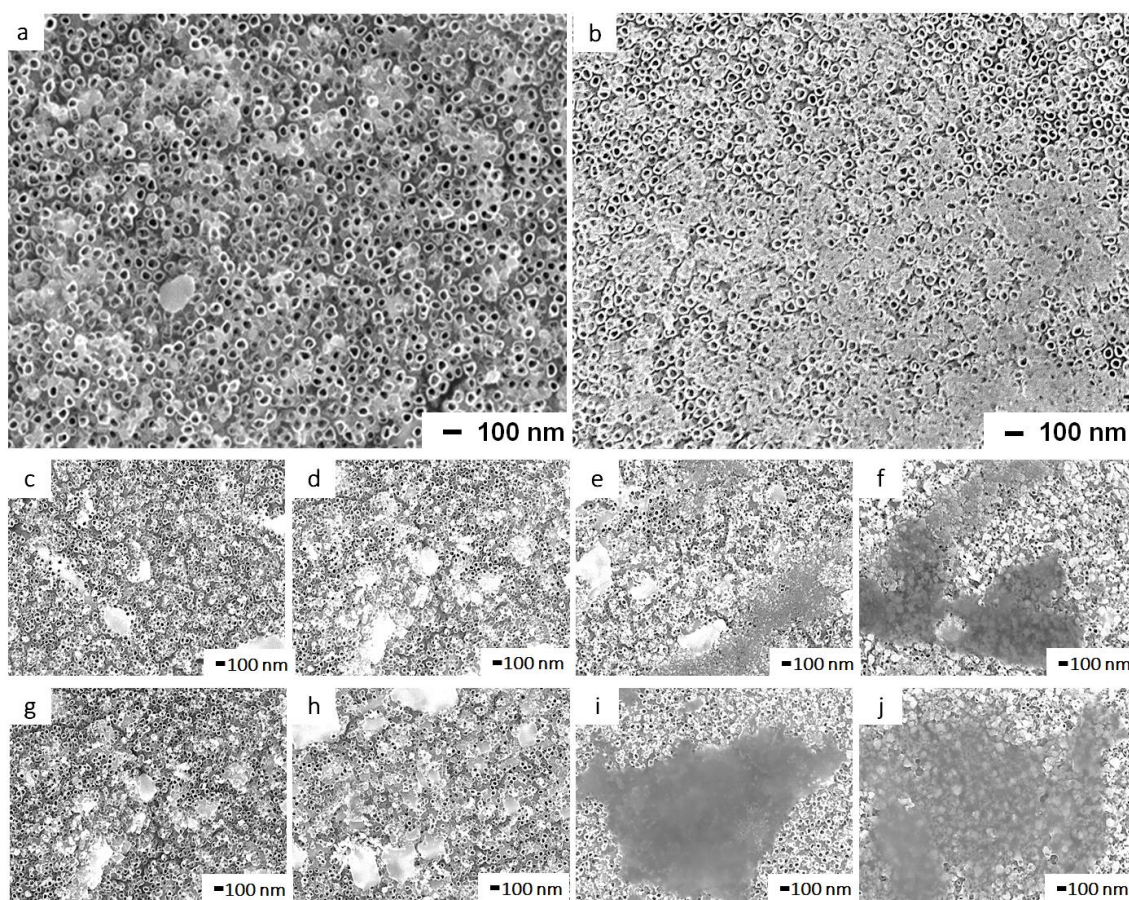


Rysunek 75. Wykres Bodego przed i po 1 h osadzaniu BSA zarejestrowany dla: cv_AgNPs/TNT (a) oraz 20sp_AgNPs/TNT (b).

Jak pokazano na rysunku 76 białka na podłożach sp_AgNPs/TNT tworzyły duże konglomeraty. Zhao i wsp. [307] dowiódł, że wynika to z wysokiej zawartości srebra na tych platformach, co w większym stopniu zmienia strukturę molekularną BSA. Różnice w sposobie pokrycia AgNPs/TNT białkiem są wynikiem dwóch wzorców wiązania BSA ze srebrem. Przy niskim stosunku Ag/BSA wzajemne oddziaływanie między nimi opiera się na siłach van der Waalsa oraz wiązaniach wodorowych, podczas gdy przy wysokim stosunku przeważają oddziaływania elektrostatyczne.

W przypadku zastosowania TNT, jako materiału implantowanego biorąc pod uwagę, że zarówno powierzchnia TNT, jak i błony komórkowe są naładowane ujemnie [110, 308] dodatek odpowiedniej ilości mediatora w postaci AgNPs może wspomagać adhezję, a tym samym wpływać korzystnie na osteointegrację. Nie należy zapominać również o antybakteryjnych właściwościach AgNPs, które nie wpływa cytotoksycznie na organizm w stężeniu nie przekraczającym 10 mg/dm³ [309-310]. Biorąc pod uwagę, że główny pik dyfrakcyjny srebra na dyfraktogramach XRD był zlokalizowany przy 38°, co wskazywało na obecność płaszczyzny sieciowej o dużej gęstości atomów, tj. (111) można spodziewać

się dużo silniejszego działania bójezowego tych kompozytów, aniżeli w przypadku przewagi płaszczyzn (100) [113].

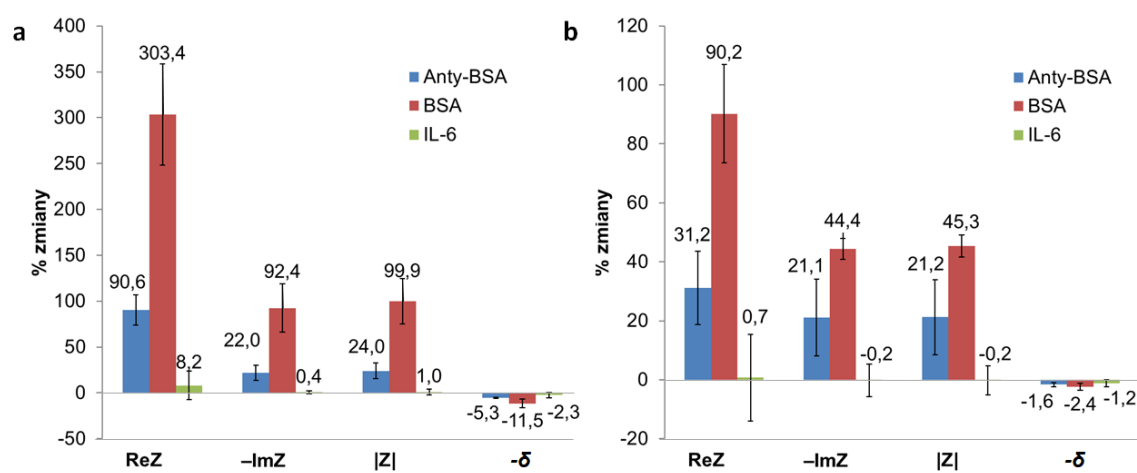


Rysunek 76. Obrazy SEM próbek TNT po 0,5 h (a) i 1 h (b) osadzania BSA oraz (c) i (g) cv_AgNPs/TNT, (d) i (h) ca_AgNPs/TNT (e) i (i) 10sp_AgNPs/TNT, (f) i (j) 20sp_AgNPs/TNT. W przypadku próbek (c)-(f) osadzanie BSA trwało 0,5h, a dla pozostałych 1h.

Do dalszych badań mających na celu ocenę selektywności podłoży wybrano elektrody cv_AgNPs/TNT oraz 20sp_AgNPs/TNT z uwagi na ich najlepsze właściwości adsorpcyjne. W tym celu po związaniu z podłożem przeciwciała i antygeny BSA, w trzecim etapie nakroplona została interleukina 6. Zmiana parametrów impedancji po naniesieniu IL-6 świadczyłaby o wystąpieniu nieswoistej adsorpcji [312].

Na rysunku 77 przedstawiono procentowy wykres zmian parametrów impedancyjnych, po każdym etapie unieruchomienia biomolekuł. Zmiany parametrów impedancyjnych po dodaniu interleukiny 6 (25 kDa) były mniejsze niż wartości odchyłeń standardowych, można więc wnioskować, że w tym układzie nie występowało

niespecyficzne wiązanie IL-6, co potwierdza wysoką selektywność AgNPs/TNT. Większe zmiany parametrów impedancyjnych odnotowano dla platformy cv_AgNPs/TNT, a więc wykazuje ona lepsze właściwości adsorpcyjne. Z powyższego wynika, że nie tylko ilość srebra w strukturze AgNPs/TNT, ale także rozkład AgNPs na TNT (między innymi niezamykanie kanałów nanorurek TiO₂), wielkość AgNPs (korzystne są nanocząstki o mniejszych średnicach) oraz brak ich aglomeratów ma znaczący wpływ na adhezję substancji biologicznych do powierzchni elektrod.



Rysunek 77. Wykresy procentowej zmiany parametrów impedancji po osadzeniu przeciwciał skierowanych przeciwko BSA (anty-BSA), BSA oraz IL-6 na: cv_AgNPs/TNT (a) i 20sp_AgNPs/TNT (b).

Do dalszych badań polegających na potwierdzeniu możliwości zastosowania elektrod AgNPs/TNT do detekcji białek szoku cieplnego HSP70 z zastosowaniem funkcjonalizacji metodą sprzęgania kowalencyjnego wybrano podłoże cv_AgNPs/TNT z uwagi na niemal identyczną przewodność elektryczną, jednak lepsze właściwości adsorpcyjne w stosunku do 20sp_AgNPs/TNT.

1.3. Wyniki badań odpowiedzi czujników AgNPs/TNT

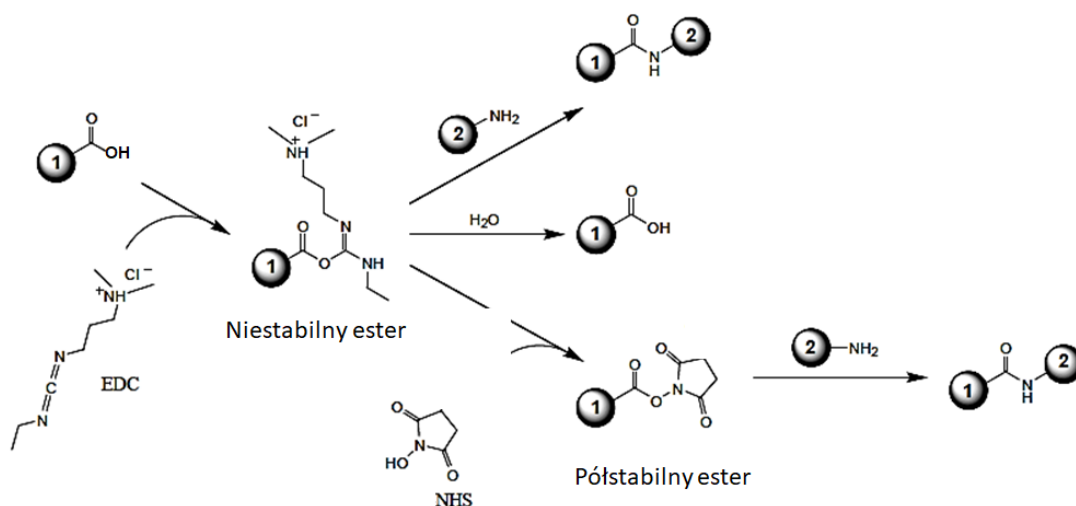
Do funkcjonalizacji podłoża AgNPs/TNT wybrano powszechnie stosowaną procedurę sprzężenia kowalencyjnego zgodnie ze schematem i metodyką opisaną w części

eksperymentalnej. Podsumowując wyniki zaprezentowanych dotychczas badań, AgNPs zostały wykorzystane do opracowania czujnika z trzech powodów:

- ich obecność powoduje zwiększenie przewodności TNT,
- zwiększają one liczbę miejsc wiązania na powierzchni TNT,
- łatwo tworzą wiązania z grupą tiolową -SH, co ułatwia ich wiązanie z cząsteczkami zawierającymi tę grupę (i jest pomocne w przypadku zastosowania ich w systemach biodetekcji).

Pierwszym etapem modyfikacji elektrody było pokrycie powierzchni samoorganizującą się monowarstwą (SAM) z końcami -COOH poprzez inkubację w 11-MUA i utworzeniu wiązań S-Ag (rysunek 78). Następnie próbki umieszczono w mieszaninie EDC/NHS. EDC jest aktywatorem grup karboksylowych, natomiast NHS zwiększa wydajność sprzęgania. Aktywacja grup -COOH prowadzi do otrzymania niestabilnego związku pośredniego, który pod wpływem wody ulega hydrolizie (powstała wolna grupa -COOH nie reaguje z -NH₂). Dodatek NHS skutkuje natomiast utworzeniem bardziej stabilnego estru (NHS zmniejsza jego rozpuszczalność w wodzie). Ester ten reaguje z pierwszorzędową grupą aminową obecną w białku HSP70, co powoduje utworzenie stabilnego wiązania amidowego [202, 313]. Nieprzereagowane grupy aminowe zablokowano etanoloaminą przez co stają się one niereaktywne [314], co ma celu zapobieżenia niespecyficznego wiązania do tych miejsc antygenów. Następnie na próbkę naniesiono BSA w celu sprawdzenia czy wszystkie wolne miejsca wiązania zostały zablokowane. Po tym etapie unieruchomiono na powierzchni antygeny i jeszcze raz przeciwciała HSP70. Ponowne osadzenie przeciwciał HSP70 miało być dodatkowym potwierdzeniem utworzenia kompleksu antygen-przeciwciało w kroku poprzednim. Ostatnim etapem była regeneracja powierzchni SDS w celu sprawdzenia możliwości ponownego użycia elektrody. SDS powinien powodować usunięcie antygenów z podłoża, dzięki czemu nie ma potrzeby jego ponownego funkcjonalizowania 11-MUA, EDC/NHS oraz przeciwciałami.

Po każdym etapie funkcjonalizacji i nanoszenia biomolekuł czujnik był kilkakrotnie przepłukiwany, aby usunąć nadmiar reagentów, a także fizycznie zaadsorbowane cząsteczki HSP70. Pomiar EIS został wykonany po każdym wymienionym powyżej kroku modyfikacji czujnika w celu monitorowania zarówno kolejnych etapów jego wytwarzania, jak i procesu detekcji.



Rysunek 78. Reakcje z udziałem EDC i NHS, gdzie: (1) oznacza podłoże AgNPs/TNT z SAM, a (2) stanowi przeciwciało HSP70 [315].

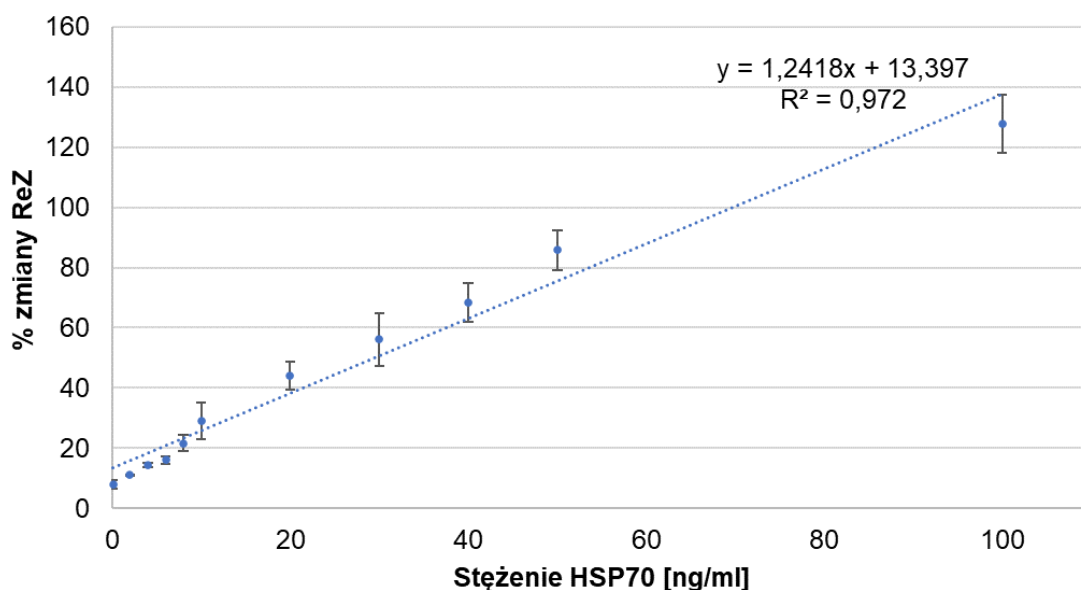
Tabela 23 przedstawia zmiany parametrów impedancji w kolejnych krokach funkcjonalizacji elektrody cv_AgNPs/TNT, a także unieruchomienia przeciwciał oraz antygenów HSP70. Najmniejszą wartość modułu impedancji otrzymano w przypadku niemodyfikowanego AgNPs/TNT, co świadczy o dobrej przewodności tego podłoża. Po inkubacji próbki w 11-MUA nastąpił wzrost wartości oporu czynnego, biernego, a więc i $|Z|$ oraz spadek wartości kąta fazowego, co świadczy o powstaniu na elektrodzie SAM. Dodatek EDC/NHS również powodował blokowanie kinetyki przenoszenia elektronów. Podobne zmiany zaobserwowano po unieruchomieniu przeciwciał, a także zablokowaniu miejsc reaktywnych podłoża etanoloaminą. Brak zmian w parametrach impedancyjnych po naniesieniu białka BSA potwierdza skuteczność blokowania podłoża. Po unieruchomieniu antygeny wraz ze wzrostem jego stężenia, następował wzrost wartości oporu czynnego, biernego, a więc i modułu impedancji oraz spadek wartości kąta fazowego, co świadczy o utworzeniu kompleksu przeciwciało-antygen. Ponowne unieruchomienie przeciwciał HSP70 i spodziewane zmiany parametrów impedancyjnych były potwierdzeniem unieruchomienia antygenów na podłożu w kroku wcześniejszym, co również spowodowało zwiększenie grubości warstwy izolacyjnej. Wykazane zmiany parametrów impedancyjnych po zastosowaniu użytej procedury funkcjonalizacji potwierdzają poprawność jej przeprowadzenia [200-202]. Dodatek SDS, spowodował powrót parametrów impedancyjnych do rejestrowanych po inkubacji próbki w 11-MUA. To wskazuje, że SDS spowodował usunięcie unieruchomionych przeciwciał, a więc nastąpiła

hydroliza wiązania amidowego, co jest związane z niestabilnością estru, ponieważ ma on krótki okres półtrwania (pH roztworu PBS, w którym wykonywane były badania EIS wynosiło 7,4) [313].

Tabela 23. Zmiany parametrów impedancji w kolejnych etapach funkcjonalizacji podłoża oraz unieruchomienia kompleksu anty-HSP70–HSP70 dla stężenia antygenu - 100 ng/ml.

	Re [Ω]	-Im [Ω]	 Z [Ω]	-δ [$^\circ$]
AgNPs/TNT	291	4279	4289	86
+11-MUA	501	4502	4530	84
+EDC/NHS	1000	4901	5002	78
+antyHSP70	1271	5883	6018	78
+etanoloamina	1395	5674	5843	76
+BSA	1365	5680	5842	76
+HSP70	2938	8733	9214	71
+antyHSP70	3575	10625	11210	71
+SDS	424	4722	4741	85

Krzywa kalibracyjna HSP70 (rysunek 79) została utworzona na podstawie zależności pomiędzy parametrem impedancyjnym ReZ (oporem czynnym) podłoża AgNPs/TNT, a stężeniami oznaczanego białka HSP70. Na osi Y umieszczono procentową zmianę wartości parametru ReZ przed i po etapie unieruchomienia na podłożu antygenu. Krzywa kalibracyjna przedstawia liniową odpowiedź rezystancyjną elektrody ze współczynnikiem korelacji R^2 wynoszącym 0,972. Wyniki przeprowadzonych pomiarów potwierdzają, że elektroda cv_AgNPs/TNT może być stosowana jako impedancyjna platforma czujnikowa [316]. Co warto podkreślić, podłoże to nie zostało do tej pory użyte w układach, w których detekcja analitu oparta jest na interakcji przeciwciało-antygen, a więc i do detekcji HSP70. Nie użyto do tego celu również żadnego z jego komponentów.



Rysunek 79. Krzywa kalibracyjna czujnika impedancyjnego AgNPs/TNT do oznaczania HSP70.

Większość z ośmiu opracowanych czujników białka HSP70 (tabela 24) wykorzystywała zjawisko powierzchniowego rezonansu plazmonowego. Granica wykrywalności (ang. *limit of detection*, LOD) czterech z nich przekraczała fizjologiczny poziom HSP70, o minimum rząd wielkości i wynosiła od 0,062 do 0,3 $\mu\text{g/ml}$. Norma w osoczu osób zdrowych przyjmuje wartości do 6,5 ng/ml [317]. Metody optyczne ponadto wymagają specjalistycznego laboratorium, stąd są dużo bardziej kosztowne, czasochłonne oraz trudne do miniaturyzacji. Natomiast wytworzone do dziś trzy rodzaje [200-202] czujników elektrochemicznych charakteryzowały się granicą wykrywalności na poziomie femtogramów. To znaczy, że ich granica wykrywalności jest niższa niż LOD opracowanego czujnika AgNPs/TNT o kilka rzędów, jednak do ich konstrukcji użyto wysoce przewodzące materiały, takie jak ITO z AuNPs, czy węgiel szklisty (tabela 24). Z drugiej strony biorąc pod uwagę, że poziom białek szoku cieplnego 70 w chorobach nowotworowych wzrasta nawet do kilkudziesięciu ng/ml [317] można zauważyć, że detekcję w takim zakresie stężeń umożliwia jedynie czujnik opracowany przez Denomme [199] oraz proponowany w niniejszej pracy. Granica oznaczalności opracowanego czujnika wynosi 1,61 ng/ml, natomiast czułość 18,16 $\Omega/(\text{ng/ml})$.

Tabela 24. Porównanie parametrów czujników do detekcji białka HSP70.

Metoda detekcji	Materiał elektrodowy	LOD	LOQ	Zakres liniowy	Bibl.
Optyczna	Czujnik oparty na porowatym krzemie	1,29 µg/ml	-	3 – 500 µg/ml	189
	Czujnik SPR z warstwą złota	0,1 µg/ml	-	0,1 – 10 µg/ml	190
	SPR z warstwą złota i kulkami magnetycznymi	0,3 µg/ml	-	0,3 – 30 µg/ml	197
	SPR z warstwą złota pokryta powłoką TiO ₂ z kulkami magnetycznymi	0,062 µg/ml	-	0,2 – 30 µg/ml	198
	SPR z podłożem szklanym z AuNPs	0,00092 µg/ml	-	0,00092 – 4 µg/ml	199
Elektrochemiczna	ITO pokryte politereftalanem etylenu (PET) z AuNPs	0,0618 fg/ml	0,206 fg/ml	1 – 166 fg/ml	200
	Elektroda z węgla szklanego z tlenkiem grafenu	0,765 fg/ml	2,55 fg/ml	12 – 144 fg/ml	201
	Elektroda z węgla szklanego z fulerenem C60	273 fg/ml	909 fg/ml	800 – 12800 fg/ml	202
	Nanorurki ditlenku tytanu z nanocząstkami srebra	0,48 ng/ml	1,61 ng/ml	0,48 – 100 ng/ml	Badania własne

PODSUMOWANIE

Nanorurki ditlenku tytanu (TNT) są wykorzystywane w systemach do detekcji elektrochemicznej z uwagi na szereg zalet, takich jak stabilność i odporność chemiczna oraz termiczna, biokompatybilność, duże rozwinięcie powierzchni, dobre przewodnictwo elektryczne oraz niskie koszty wytwarzania i możliwość doboru warunków procesu wytwarzania zależnie od zastosowania.

Do tej pory zostały one wykorzystane w czujnikach do pomiarów wilgotności, oznaczania gazów, substancji pozabiałkowych (glukoza, cholesterol) oraz białkowych, mikroorganizmów, leków czy toksyn. Domieszkowanie nanorurek w celu ulepszenia ich właściwości detekcyjnych jest stosowane powszechnie jednak jedynie nieliczne doniesienia dotyczą ich zastosowania w tym obszarze w połączeniu z nanocząstkami srebra (AgNPs). Jak jednak wiadomo srebro ma najwyższą przewodność elektryczną wśród metali, dlatego AgNPs mogą ułatwiać przenoszenie elektronów skuteczniej niż inne nanocząstki, co sprawia, że wydają się być one obiecującym materiałem do zastosowania w konstrukcji czujników elektrochemicznych. Dotychczas opracowane kompozytowe czujniki elektrochemiczne oparte na AgNPs/TNT umożliwiły detekcję nadtlenu wodoru oraz glukozy. Co warto podkreślić, podłoże to nie zostało użyte w systemach, w których detekcja analitu oparta jest na interakcji przeciwciało-antygen. W związku z tym podjęto badania, które zmierzają do potwierdzenia możliwości jego zastosowania w takich układach. Motywacją podjęcia badań nad opracowaniem szybkiego, jednoetapowego procesu był istniejący w literaturze problem związany z wytwarzaniem kulistych dobrze zdyspergowanych, a w szczególności niezaglomerowanych nanocząstek srebra na TNT bez konieczności użycia innych substancji, wyłączając prekursor AgNPs, stanowiących potencjalne zanieczyszczenia poprocesowe. Zagadnienie to wciąż jest rozwijane, ponieważ proponowane dotychczas procedury skutkowały uzyskaniem nanosrebra na nanorurkach TiO_2 w postaci nanostruktur o różnym stopniu złożoności (często w wyniku aglomeracji) oraz nierzadko o bardzo nierównomiernej dyspersji. Ponadto często wymagały użycia czynników redukujących, stabilizujących i innych, których dodatek zanieczyszczał nanocząstki.

W związku z powyższym celem badań, realizowanych w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej, było opracowanie technologii wytworzenia kompozytowego podłoża czujnika elektrochemicznego opartego na nanorurkach ditlenku tytanu oraz kulistych nanocząstkach srebra na drodze szybkiej, jednoetapowej, bezpośredniej syntezy nanocząstek srebra na

TNT bez konieczności stosowania innych substancji pomocniczych poza prekursorem nanocząstek Ag, a także sprawdzenie możliwości zastosowania tej platformy jako podłoża czujnika elektrochemicznego typu impedancyjnego.

W pierwszym etapie badań wytworzono samoorganizujące się warstwy nanorurek ditlenku tytanu na folii tytanowej w procesie anodowania. Następnie opracowano metodę obróbki termicznej nanorurek TiO_2 i zmodyfikowano je nanocząstkami srebra poprzez bezpośrednią syntezę nanocząstek na TNT metodami woltamperometrii cyklicznej, chronoamperometrii, napyłania próżniowego oraz fotoredukcji. Na końcu – w celu sprawdzenia możliwości użycia AgNPs/TNT jako platformy czujnika elektrochemicznego – opracowane podłoże zastosowano do impedancyjnej detekcji markera nowotworowego – białka szoku cieplnego 70 (HSP70).

Powstałe w wyniku elektrochemicznego utleniania amorficzne nanorurki TiO_2 o różnej morfologii, tj. wysokości 1000 nm i średnicy 25, 50 i 75 nm zostały scharakteryzowane pod kątem właściwości elektrochemicznych. Uzyskane charakterystyki elektrochemiczne wykazały, że wraz ze wzrostem średnicy TNT zmniejsza się: opór czynny i bierny, moduł impedancji, kąt fazowy, a także zwiększa się separacja krzywych anodowych i katodowych w badaniach woltamperometrycznych, a więc i przewodność elektryczna TNT. Stabilność odpowiedzi elektrod w kolejnych cyklach badań woltamperometrycznych potwierdziła możliwość użycia TNT jako podłoża czujnika elektrochemicznego.

Nanorurki TiO_2 poddano wyżarzaniu w temperaturach 450°C i 550°C. Wyżarzanie spowodowało przemianę materiału amorficznego w strukturę krystaliczną (zawierającą anataz i rutyl), tym samym zwiększając przewodność elektryczną podłoża, co było związane z powstawaniem wakansów tlenowych (defektów) oraz jonów trójwartościowych Ti. Ti^{3+} jest donorem elektronów zlokalizowanym poniżej pasma przewodnictwa, stąd jego obecność zmniejsza wielkość przerwy wzbronionej TiO_2 , zwiększając tym samym przewodność elektryczną TNT. Dowiedziono, że w wyniku modyfikacji termicznej TNT zwiększa się wartość potencjału stacjonarnego próbek, a tym samym ich odporność korozyjna. Badania impedancyjne wykazały, że obróbka termiczna przyspiesza transfer elektronów. Co ciekawe, w przypadku nanorurek TiO_2 o największej średnicy (75 nm) modyfikacja termiczna spowodowała niewielkie zmiany w module impedancji. Można więc przypuszczać, że zastosowane temperatury wyżarzania okazały się niewystarczające do zajścia transformacji fazowej w całej objętości tej próbki. W przypadku TNT o najmniejszej średnicy (25 nm) temperatura 550°C okazała się natomiast niszcząca dla

nanorurek. Ustalono, że TNT o średnicy 50 nm i wysokości 1000 nm, wyżarzone w 450°C charakteryzują się najlepszymi właściwościami detekcyjnymi. Co ważne, wyniki te uzupełniły lukę literaturową dotyczącą wpływu temperatury wyżarzania na charakterystykę elektrochemiczną nanorurek TiO_2 różniących się średnicą (25, 50, 75 nm), przy zachowaniu jednakowej wysokości TNT (1000 nm). Ponadto badania dokładności wytworzonych elektrod dowiodły, że obróbka termiczna w temperaturze 450°C poprawia odtwarzalność i powtarzalność wytworzonych elektrod.

Ostatnim etapem badań było opracowanie metodyki wytwarzania kulistych, niezaglomerowanych nanocząstek srebra na TNT, z roztworu którego jedynym składnikiem jest prekursor AgNPs na drodze jednoetapowego procesu fotoredukcji i elektrowyparowania próżniowego, co stanowiło potwierdzenie **tezy pierwszej** pracy. Fotoredukcja okazała się jednak najbardziej czasochłonnym procesem, ponieważ osadzanie nanocząstek metodami elektrowyparowania i elektrowyparowania trwało maksymalnie do kilku minut, podczas gdy redukcja z wykorzystaniem promieniowania UV wymaga poświęcenia kilkudziesięciu godzin. Jest to również najmniej efektywna metoda, gdyż nawet w przypadku próbek po 24 h zanurzeniu w roztworze AgNO_3 uzyskiwano kompozyty o zawartości srebra nie przekraczającej około 1,5% wagowych. Czynnikiem determinującym pokrycie nanocząstkami srebra jest obecność na powierzchni nanorurek ditlenku tytanu wytworzone centra zarodkowania, które zwykle występują na krawędziach nanorurek.

Ogólnie ujmując, dodatek srebra powodował zwiększenie wartości potencjału stacjonarnego nanokompozytów. Poprzez modyfikację parametrów procesu wytwarzania AgNPs otrzymano nanokompozyty o przewodności elektrycznej większej o około 50% od wyżarzonych TNT (bez AgNPs) oraz o udoskonalonych właściwościach adsorpcyjnych, co natomiast potwierdziło **tezę drugą**. Dodatek srebra powodował punktowe zaburzenia struktury krystalicznej TiO_2 w wyniku silnego oddziaływania między Ag – TNT. Ag^+ podobnie jak Ti^{3+} , było w tym układzie donorem elektronów. Srebro przyczynia się również do częściowej redukcji jonów Ti^{4+} , w wyniku tworzenia wiązania metal-metal. Na podstawie tych wyników zaproponowano wyjaśnienie, w którym wskazuje się, że w wyniku redukcji jonów srebra w pobliżu powierzchni TiO_2 dochodzi do osadzenia nanocząstek srebra na TNT poprzez utworzenie wiązania Ti – Ag oraz Ti – O – Ag.

Zastosowanie nanokompozytu jako podłoża impedancyjnego czujnika elektrochemicznego do detekcji białek szoku cieplnego 70 potwierdziło **tezę trzecią** pracy. AgNPs/TNT umożliwił oznaczenie HSP70 wykazując liniową odpowiedź w zakresie

stężeń od 0,48 do 100 ng/ml. Granica oznaczalności opracowanego czujnika wynosiła 1,61 ng/ml, natomiast czułość 18,16 Ω /(ng/ml). Warto zaznaczyć, że nanokompozyt AgNPs/TNT zostało po raz pierwszy wykorzystany w układach detekcji opartych na interakcji przeciwciało-antygen, a w szczególności do detekcji białka HSP70.

WNIOSKI

Tematyka niniejszej rozprawy doktorskiej obejmuje zagadnienia związane z technologią wytwarzania oraz badaniami właściwości materiałowych i elektrochemicznych kompozytowego podłoża impedancyjnego czujnika opartego na nanorurkach ditlenku tytanu oraz nanocząstkach srebra. Przeprowadzony szereg badań miał na celu optymalizację procedury jego wytwarzania pod kątem polepszenia właściwości przewodzących nanokompozytu skutkującego poprawą parametrów pomiarowych czujnika.

Zakres badań obejmował wytworzenie podłoża czujnika, tj. nanorurek TiO_2 na folii tytanowej w procesie anodowania, modyfikację termiczną TNT – w celu określenia wpływu temperatury wyżarzania na właściwości materiałowe i elektrochemiczne TNT oraz ich modyfikację nanocząstkami srebra – w celu zbadania wpływu parametrów procesu wytwarzania AgNPs na wyżej wymienione właściwości. Co istotne, opracowana metodyka wytwarzania AgNPs umożliwiła jednoczesne osadzenie wysokiej czystości nanocząstek srebra na podłożach TNT bez konieczności użycia innych substancji, oprócz prekursora AgNPs, których pozostałości stanowią potencjalne zanieczyszczenia poprocesowe, na drodze szybkiego, jednoetapowego procesu. W pracy porównano także zwilżalność oraz właściwości adsorpcyjne TNT oraz AgNPs/TNT. Końcowy etap badań dotyczył potwierdzenia możliwości praktycznego zastosowania opracowanego kompozytu AgNPs/TNT jako podłoża czujnika elektrochemicznego.

Najważniejsze wyniki badań to:

- ✓ ustalenie wpływu parametrów morfologicznych oraz temperatury wyżarzania na charakterystykę materiałową i elektrochemiczną TNT,
- ✓ opracowanie technologii wytworzenia kulistych niezaglomerowanych nanocząstek srebra na TNT metodą jednoetapowej syntezy bez użycia substancji zanieczyszczających nanocząstki,
- ✓ określenie wpływu AgNPs na charakterystykę materiałową i elektrochemiczną TNT,
- ✓ optymalizacja procesu wytwarzania AgNPs/TNT w kierunku uzyskania podłoża charakteryzujących się dobrymi właściwościami detekcyjnymi, a w szczególności wysoką czułością wobec wybranego analitu,

- ✓ potwierdzenie możliwości praktycznego zastosowania AgNPs/TNT w czujniku elektrochemicznym do oznaczeń markerów nowotworowych na przykładzie białka szoku cieplnego HSP70.

W badaniach elektrochemicznych przeprowadzonych w roztworze PBS (zawierającym jony chlorkowe) wykazano, że zastosowane zabiegi modyfikacji: obróbka termiczna TNT oraz domieszkowanie ich nanocząstkami srebra zwiększają potencjał stacjonarny podłoża, a tym samym ich odporność korozyjną, stąd też dowodzi to, że wytworzony materiał może znaleźć zastosowanie w układach narażonych na pracę w środowisku zawierającym składniki powodujące/przyspieszające korozję, np. w transporcie morskim. Ponadto badania impedancyjne wykazały, że obróbka termiczna, a także dodatek nanocząstek srebra poprawia przewodność elektryczną TNT oraz możliwość wykorzystania nanokompozytu AgNPs/TNT w układach czujnikowych do detekcji elektrochemicznej. W związku z powyższym przypuszcza się, iż nanokompozyt może być wykorzystany również jako podłoże czujnika do monitorowania toksycznych i palnych gazów, zanieczyszczeń, jakości paliw oraz w pomiarach wilgotności. Wyniki badań woltamperometrycznych pokazały natomiast, że kompozyty AgNPs/TNT (szczególnie te bez aglomeratów) wykazywały dużo wyższą wydajność katalityczną w zakresie wydzielania wodoru. To wskazuje na konieczność przeprowadzenia szeroko zakrojonych badań zmierzających do zastosowania AgNPs/TNT jako alternatywnego źródła pozyskiwania H_2 . Oprócz właściwości elektrokatalitycznych, bardzo dobrze są rozpoznane i opisane w literaturze są właściwości fotokatalityczne $nanoTiO_2$, również w połączeniu z nanosrebrem. Interesującym więc zagadnieniem jest ocena ich wykorzystania w opartych na fotokatalizie procesach samooczyszczania powietrza, wody, ścieków oraz różnych powierzchni, m. in. maszyn, pojazdów, elewacji. Badania zwilżalności TNT oraz AgNPs/TNT wykazały, że oba podłoża mają charakter hydrofilowy, natomiast niższy kąt zwilżania powierzchni odnotowano dla wyżarzonych nanorurek TiO_2 , a jego wartość wynosi zero stopni, co wskazuje na superhydrofilowość tych platform. W przypadku obu nanostruktur należy jednak pamiętać o zwiększaniu hydrofilowości powierzchni i występowaniu zjawiska superhydrofilowości pod wpływem promieniowania UV, dlatego też w dalszej kolejności istotne byłoby skupienie się na ocenie właściwości zwilżania powierzchni, w szczególności długookresowej superhydrofilowości TNT oraz nanokompozytu AgNPs/TNT. Dodatkowo na podstawie badań wykazano także ulepszone właściwości adsorpcyjne nanokompozytu, dlatego biorąc pod uwagę jego potencjalne

zastosowanie w układach samooczyszczających się należałoby ocenić zmiany tych właściwości w czasie oraz zbadać możliwość przywracania tych właściwości powierzchni poprzez naświetlanie, np. promieniowaniem UV.

W kontekście właściwości antybakteryjnych AgNPs/TNT, w literaturze w dalszym ciągu przedstawiane są wyniki badań związane z wydłużaniem czasu uwalniania srebra ze struktury kompozytu. W przypadku zastosowania nanokompozytu AgNPs/TNT jako materiału implantacyjnego istotnym jest nanoszenie dodatkowych warstw zwiększających biogodność, takich jak warstwa apatytowa, która poza ułatwieniem integracji implantu z kością pełniłaby również funkcję hamującą uwalnianie nanocząstek srebra, ich utlenianie i uwalnianie jonów Ag^+ . Idąc dalej, istotne byłoby również porównanie właściwości mechanicznych struktur przed i po naniesieniu warstw apatytowych.

Określenie właściwości mechanicznych nanostruktur, w tym nanorurek ditlenku tytanu przed i po wymienionych powyżej procesach modyfikacji jest zagadnieniem bardzo problematycznym, związanym z wymiarem i geometrią TNT. Trudności te mają swoje odzwierciedlenie w dużej rozbieżności prezentowanych w literaturze wyników nanoindentacji, które są rezultatem braku powszechnie przyjętej metodyki badań oraz interpretacji krzywych siłowych. Problem ten można by rozwiązać opracowując odpowiednie protokoły badań uwzględniające również wykonanie większej liczby pomiarów skomplikowanych niejednorodnych układów w celu uzyskania wiarygodnych wyników oraz/lub uzupełnienie eksperymentu o modelowanie komputerowe nanoindentacji.

Biorąc pod uwagę silne powinowactwo tytanu oraz srebra do tlenu istotnym jest oznaczenie w kolejnych badaniach stabilność długoterminową opracowanego nanokompozytu oraz opracowanie warunków jego przechowywania, a także ocena możliwości regeneracji powierzchni w zależności od warunków, w których stosowane są układy wykorzystujące opracowany nanokompozyt. Zastosowanie nanostruktur w konstrukcji statków powietrznych, okrętownictwie, przemyśle zbrojeniowym oraz kosmonautyce wiąże się przede wszystkim z potrzebą minimalizowania masy pojazdów, urządzeń, czujników, uzbrojenia oraz ekwipunku. Istotny w tym kontekście jest fakt, iż zmniejszeniu masy urządzenia towarzyszy poprawa właściwości fizykochemicznych i mechanicznych.

LITERATURA

- [1] F. R. Simoes, M.G. Xavier, Electrochemical sensors, nanoscience and its applications, Micro and Nano Technologies, 2017, 155-178, DOI:10.1016/B978-0-323-49780-0.00006-5.
- [2] Electrochemical sensor market - growth, trends, and forecast (2020-2025), Mordor Intelligence, 2020.
- [3] I. Ali, M. Suhail, Z. A. Alothman, A. Alwarthan, Recent advances in syntheses, properties and applications of TiO₂ nanostructures, RSC Advances, 2018, 8, 30125-30147, DOI:10.1039/C8RA06517A.
- [4] Y. Fu, A. Mo, A Review on the electrochemically self-organized titania nanotube arrays: synthesis, modifications, and biomedical applications, Nanoscale Research Letters, 2018, 13, 187, DOI:10.1186/s11671-018-2597-z.
- [5] S. Iijima, Synthesis of carbon nanotubes. Nature, 1991, 354, 56-58. DOI:10.1038/354056a0.
- [6] C. Boyle, N. Skillen, H.Q. N. Gunaratne, P.K. Sharma, J. A. Byrne, P. K.J. Robertson, The use of titanium dioxide nanotubes as photoanodes for chloride oxidation, Materials Science in Semiconductor Processing, 2020, 109, 104930, DOI:10.1016/j.mssp.2020.104930.
- [7] D. Kowalski, D. Kim, P. Schmuki, TiO₂ nanotubes, nanochannels and mesosponge: self-organized formation and applications, Nano Today, 2013, 8, 235-264, DOI:10.1016/j.nantod.2013.04.010.
- [8] J. S. Khaw, M. Curioni, P. Skeldon, C. R. Bowen, S. H. Cartmell, A novel methodology for economical scale-up of TiO₂ nanotubes fabricated on Ti and Ti alloys, Journal of Nanotechnology, 2019, 5902346, DOI:10.1155/2019/5902346.
- [9] S. Jafari, B. Mahyad, H. Hashemzadeh, S. Janfaza, T. Gholikhani, L. Tayebi, Biomedical applications of TiO₂ nanostructures: recent advances, International Journal of Nanomedicine, 2020, 15, 3447-3470, DOI:10.2147/IJN.S249441.

- [10] R. Melechow, K. Tubielewicz, W. Błaszczuk, Tytan i jego stopy: gatunki, właściwości, zastosowanie, technologia obróbki, degradacja, Politechnika Częstochowska, 2004.
- [11] K. Lee, A. Mazare, P. Schmuki, One-dimensional titanium dioxide nanomaterials: nanotubes, Chemical Reviews, 2014, 114, 9385-9454, DOI:10.1021/cr500061m.
- [12] J. Y. Huang, K. Q. Zhang, Y. K. Lai, Fabrication, modification, and emerging applications of TiO₂ nanotube arrays by electrochemical synthesis: a review, International Journal of Photoenergy, 2013, 761971, DOI:10.1155/2013/761971.
- [13] C. A. Grimes, G. K. Mor, Fabrication of TiO₂ nanotube arrays by electrochemical anodization: four synthesis generations. TiO₂ Nanotube Arrays, Springer, 2009, 1-66, 10.1007/978-1-4419-0068-5_1.
- [14] S. Zhao, J. Li, D. Cao, G. Zhang, J. Li, K. Li, Y. Yang, W. Wang, Y. Jin, R. Sun, C.P. Wong, Recent advancements in flexible and stretchable electrodes for electromechanical sensors: strategies, materials, and features, ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 9, 12147-12164, DOI:10.1021/acsami.6b13800.
- [15] N.V. Hieu, N.V. Duy, P.T. Huy and N.D. Chien, Inclusion of SWCNTs in Nb/Pt co-doped TiO₂ thin-film sensor for ethanol vapor detection, Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures, 2008, 40, 2950-2958, DOI:10.1016/j.physe.2008.02.018.
- [16] P. Mazierski, M. Nischk, M. Gołkowska, W. Lisowski, M. Gazda, M. J. Winiarski, T. Klimczuk, A. Zaleska-Medyńska, Photocatalytic activity of nitrogen doped TiO₂ nanotubes prepared by anodic oxidation: The effect of applied voltage, anodization time and amount of nitrogen dopant, Applied Catalysis B: Environmental, 2016, 196, 77-88, DOI:10.1016/j.apcatb.2016.05.006.
- [17] Y. G. Guo, J. S. Hu, H. P. Liang, L. J. Wan, C. L. Bai, TiO₂-based composite nanotube arrays prepared via layer-by-layer assembly. Advanced Functional Materials, 2005, 15, 196-202, DOI:10.1002/adfm.200305098.
- [18] Z. Wang, Y. Tang, M. Lia, Y. Zhu, M. Li, L. Bai, M. Luoshan, W. Lei, X. Zhao, Plasmonic enhancement of the performance of dye-sensitized solar cells by incorporating

TiO₂ nanotubes decorated with Au nanoparticles, *Journal of Alloys and Compounds*, 2017, 714, 89-95, DOI:10.1021/am403280r.

[19] L. Wang, W. Gu, P. Sheng, Z. Zhang, B. Zhang, Q. Cai, A label-free cytochrome c photoelectrochemical aptasensor based on CdS/CuInS₂/Au/TiO₂ nanotubes, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 281, 1088-1096, DOI:10.1016/j.snb.2018.11.004.

[20] H. Malekzad, P. S. Zangabad, H. Mirshekari, M. Karimi, M. R. Hamblin, Noble metal nanoparticles in biosensors: recent studies and applications, *Nanotechnology Reviews*, 2017, 27, 301-329, DOI:10.1515/ntrev-2016-0014.

[21] R. Abdel-Karim, Y. Reda, A. A. Fattah, Review-nanostructured materials-based nanosensors, *Journal of the Electrochemical Society*, 2020, 167, 037554, DOI:10.1149/1945-7111/ab67aa.

[22] I. Narang, N. Chauhan, P. Jain, C.S. Pundir, Silver nanoparticles/multiwalled carbon nanotube/polyaniline film for amperometric glutathione biosensor, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2012, 50, 672-678, DOI:10.1016/j.ijbiomac.2012.01.023.

[23] J. Wen, S. Huang, L. Jia, F. Ding, H. Li, L. Chen, X. Liu, Visible colorimetric oxygen indicator based on ag-loaded tio₂ nanotubes for quick response and real-time monitoring of the integrity of modified atmosphere packaging, *Advanced Materials Technologies*, 2019, 201292478, DOI:10.1002/admt.201900121.

[24] M. Arvand, M. F. Habibi, S. Hemmati, A novel one-step electrochemical preparation of silver nanoparticles/poly(3-methylthiophene) nanocomposite for detection of galantamine in human cerebrospinal fluid and narcissus, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2017, 785, 220-228, DOI:10.1016/j.jelechem.2016.12.048.

[25] J. Swanner, R. Singh, Synthesis, purification, characterization, and imaging of Cy3-functionalized fluorescent silver nanoparticles in 2D and 3D tumor models, *Methods in Molecular Biology*, 2018, 1790, 209-218. DOI:10.1007/978-1-4939-7860-1_16.

[26] R. F. Ngece, N. West, P. M. Ndangili, R. A. Olowu, A. Williams, N. Hendricks, S. Mailu, P. Baker, E. Iwuoha, A silver nanoparticle/poly (8-anilino-1-naphthalene sulphonic acid) bioelectrochemical biosensor system for the analytical determination of ethambutol, *International Journal of Electrochemical Society*, 2011, 6, 1820-1834.

- [27] G. H. Chang, Y. L. Luo, W. B. Lu, F. Liao, X. P. Sun, Hydrothermal synthesis of ultra-highly concentrated, well-stable Ag nanoparticles and their application for enzymeless hydrogen peroxide detection. *Journal of Nanoparticles*, 2011, 13, 2689-2695, DOI:10.1007/s11051-011-0408-x.
- [28] M. J. Khan, Q. Husain, S. A. Ansari, Polyaniline-assisted silver nanoparticles: a novel support for the immobilization of α -amylase, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97, 1513-1522, DOI:10.1007/s00253-012-4384-6.
- [29] Y. Jiang, B. Zheng, J. Du, G. Liu, Y. Guo, D. Xiao, Electrophoresis deposition of Ag nanoparticles on TiO₂ nanotube arrays electrode for hydrogen peroxide sensing, *Talanta*, 2013, 112, 129-135, DOI:10.1016/j.talanta.2013.03.015.
- [30] W. Wang, Y. Xie, C. Xia, H. Du, F. Tian, Titanium dioxide nanotube arrays modified with a nanocomposite of silver nanoparticles and reduced graphene oxide for electrochemical sensing, *Microchimica Acta*, 2014, 181, 1325–1331, DOI:10.1007/s00604-014-1258-x.
- [31] C. Feng, G. Xu, H. Liu, J. Lv, Z. Zheng, Y. Wu, Glucose biosensors based on Ag nanoparticles modified TiO₂ nanotube arrays. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 2014, 18, 163-171, DOI:10.1007/s10008-013-2257-2.
- [32] T. H. M. Wint, M. F. Smith, N. Chanlek, F. Chen, T. Zaw, P. Songsiriritthigul, Physical origin of diminishing photocatalytic efficiency for recycled TiO₂ nanotubes and Ag-loaded TiO₂ nanotubes in organic aqueous solution, *Catalysts*, 2020, 10, 737, DOI:10.3390/catal10070737.
- [33] A. Roguska, A. Belcarz, T. Piersiak, M. Pisarek, G. Ginalska, M. Lewandowska, Evaluation of the antibacterial activity of Ag-loaded TiO₂ nanotubes, *European Journal of Inorganic Chemistry* 2012, 5199-5206, DOI:10.1002/ejic.201200508.
- [34] M. Motola, M. Caplovicova, M. Krbal, H. Sopha, G. K. Thirunavukkarasu, M. Gregor, G. Plesch, J. M. Macak, Ti³⁺ doped anodic single-wall TiO₂ nanotubes as highly efficient photocatalyst, *Electrochimica Acta*, 2020, 331, 135374, DOI:10.1016/j.electacta.2019.135374.

- [35] E. Baran, B. Yazici, Effect of different nano-structured Ag doped TiO₂-NTs fabricated by electrodeposition on the electrocatalytic hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy* 2016, 41, 2498–2511, DOI:10.1016/j.ijhydene.2015.12.028.
- [36] M. F. Brugnera, M. Miyata, C. Q. F. Leite, M. V. B. Zanoni, Silver ion release from electrodes of nanotubes of TiO₂ impregnated with Ag nanoparticles applied in photoelectrocatalytic disinfection. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2014, 278, 1-8. DOI:10.1016/j.jphotochem.2013.12.020.
- [37] A. Alberto, A. Arcos, M. Miranda-Hernandez, Electrochemical formation of silver nanoparticles and nanoclusters on multiwall carbon nanotube electrode films, *Silver Nanoparticles - Fabrication, Characterization and Applications*, 2018, DOI:10.5772/intechopen.74056.
- [38] K. N. Chaudhari, S. Chaudhari, J. S. Yu, Synthesis and supercapacitor performance of Au-nanoparticle decorated MWCNT, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2016, 761, 98-105, DOI:10.1016/j.jelechem.2015.12.020.
- [39] Y. C. Liang, C.C. Wang, C. C. Kei, Y. C. Hsueh, W.H. Cho, T.P. Perng, Photocatalysis of Ag-Loaded TiO₂ nanotube arrays formed by atomic layer deposition, *The Journal of Physical Chemistry C* 2011, 115, 9498-9502, DOI:10.1021/jp202111p.
- [40] S. Chen, R. Yuan, F. Chai, F. Hu, Electrochemical sensing of hydrogen peroxide using metal nanoparticles: a review, *Microchimica Acta* 2013, 180, 15-32, DOI:10.1007/s00604-012-0904-4.
- [41] M. Ehsan T. Yazdi, M. S. Amiri, H. A. Hosseini, R. K. Oskuee, H. Mosawee, K. Pakravanan, M. Darroudi, Plant-based synthesis of silver nanoparticles in *Handelia trichophylla* and their biological activities, *Bulletin of Materials Science*, 2019, 42, 1-8, DOI:10.1007/s12034-019-1855-8.
- [42] U. F. Gunpath, H. Le, R. D. Handy, C. Tredwin, Anodised TiO₂ nanotubes as a scaffold for antibacterial silver nanoparticles on titanium implants, *Materials Science and Engineering: C*, 2018, 91, 638-644, DOI:10.1016/j.msec.2018.05.074.

- [43] K. Syrek, J. Grudzień, A. Sennik-Kubiec, A. Brudzisz, G. D. Sulka, Anodic titanium oxide layers modified with gold, silver, and copper nanoparticles. *Journal of Nanomaterials* 2019, 110. DOI:10.1155/2019/9208734.
- [44] Q. Wang, X. Yang, D. Liu, L. Chi, Ag and CdS nanoparticles co-sensitized TiO₂ nanotubes for enhancing visible photoelectrochemical performance, *Electrochimica Acta*, 2012, 83, 140-145, DOI:10.1016/j.electacta.2012.07.092.
- [45] L. Zhao, H. Wang, K. Huo, L. Cui, W. Zhang, H. Ni, Y. Zhang, Z. Wu, P. K. Chu, Antibacterial nanostructured titania coating incorporated with silver nanoparticles. *Biomaterials*, 2011, 32, 5706-5716, DOI:10.1016/j.biomaterials.2011.04.040.
- [46] D. A. Crespo-Yapur, A. S. Elizondo, M. Videa, Galvanostatic electrodeposition of silver nanoparticles: nucleation and growth studies, *Materials Today: Proceedings*, 2020, DOI:10.1016/j.matpr.2020.04.760.
- [47] M. Bencina, A. Iglic, M. Mozetic, I. Junkar, Crystallized TiO₂ nanosurfaces in biomedical applications, *nanomaterials* (Basel), 2020, 10, 1121, DOI:10.3390/nano10061121.
- [48] A. S. Malik, T. Liu, M. Dupuis, R. Li, C. Li, Water Oxidation on TiO₂: A comparative DFT study of 1e⁻, 2e⁻, and 4e⁻ processes on rutile, anatase, and brookite, *The Journal of Physical Chemistry*, 2020, 124, 8094-8100, DOI:10.1021/acs.jpcc.9b11450.
- [49] F. Pellegrino, F. Sordello, M. Minella, C. Minero, V. Maurino, The role of surface texture on the photocatalytic H₂ production on TiO₂, *Catalysts*, 2019, 9, 32, DOI:10.3390/catal9010032.
- [50] V. Etacheri, C. D. Valentin, J. Schneider, D. Bahnemann, S. C. Pillai, Visible-light activation of TiO₂ photocatalysts: advances in theory and experiments, *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 2015, 25, 1-29, DOI:10.1016/j.jphotochemrev.2015.08.003.
- [51] M. Landmann, E. Rauls, W. G. Schmidt, The electronic structure and optical response of rutile, anatase and brookite TiO₂, *Journal of Physics: Condensed Matter* 2012, 24, 195503 DOI:10.1088/0953-8984/24/19/195503.

- [52] S. Berger, R. Hahn, P. Roy, P. Schmuki, Self-organized TiO₂ nanotubes: factors affecting their morphology and properties, *Physica Status Solidi (b)*, 2010, 247, 2424-2435, DOI:10.1002/pssb.201046373.
- [53] P. Roy, S. Berger, P. Schmuki, TiO₂ Nanotubes: synthesis and applications, *Angewandte Chemie*, 2011, 50, 2904-2939, DOI:10.1002/anie.201001374.
- [54] J.M. Macak, H. Tsuchiya, A. Ghicov, K. Yasuda, R. Hahn, S. Bauer, TiO₂ nanotubes: Self-organized electrochemical formation, properties and applications, *Current Opinion in Solid State & Materials Science*, 2007, 11, 3-18, DOI:10.1016/j.cossms.2007.08.004.
- [55] S. Wu, Z. Weng, X. Liu, K. W. K. Yeung, P. K. Chu, Functionalized TiO₂ based nanomaterials for biomedical applications, *Advanced Functional Materials*, 24, 2014, 5464-5481, DOI:10.1002/adfm.201400706.
- [56] K. Indira, U. K. Mudali, T. Nishimura, N. Rajendran, A Review on TiO₂ Nanotubes: influence of anodization parameters, formation mechanism, properties, corrosion behavior, and biomedical applications. *Journal of Bio- and Tribo-Corrosion*, 2015, 1, DOI:10.1007/s40735-015-0024-x.
- [57] B. Munirathinam, L. Neelakantan, Role of crystallinity on the nanomechanical and electrochemical properties of TiO₂ nanotubes, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2016, 770, 73-83, DOI:10.1016/j.jelechem.2016.03.032.
- [58] S. H. Kang, T. H. Fang, T. H. Chen, Y. J. Hsiao, Z. H. Hong, C. H. Chuang, L. Riccobono, Size effect on mechanical properties of TiO₂ capped nanotubes investigated using in situ transmission electron microscopy, *Microsystem Technologies*, 2014, 20, 515-520, DOI:10.1007/s00542-013-1939-0.
- [59] S. Stassi, A. Lamberti, I. Roppolo, A. Casu, S. Bianco, D. Scaiola, A. Falqui, C. F. Pirri, C. Ricciardi, Evolution of nanomechanical properties and crystallinity of individual titanium dioxide nanotube resonators, *Nanotechnology*, 2018, 29, 085702, DOI:10.1088/1361-6528/aaa46c.
- [60] A. C. C. A. Fontes, L. Sopchenski, C. A. H. Laurindo, R. D. Torres, K. C. Popat, P. Soares, Annealing Temperature Effect on Tribocorrosion and Biocompatibility

Properties of TiO₂ Nanotubes, Journal of Bio- and Tribo-Corrosion, 6, 2-12, DOI:10.1007/s40735-020-00363-w.

[61] T. Shokuhfar, G. K. Arumugam, P. A. Heiden, R. S. Yassar, C. Friedrich, Direct compressive measurements of individual titanium dioxide nanotubes, ACS Nano, 2009, 3, 3098-3102, DOI:10.1021/nn900202x.

[62] G. A. Crawford, N. Chawla, K. Das, S. Bose, A. Bandyopadhyay, Microstructure and deformation behavior of biocompatible TiO₂ nanotubes on titanium substrate, Acta Biomaterialia, 2007, 3, 359-367, DOI:10.1016/j.actbio.2006.08.004.

[63] S. Baradaran, W. J. Basirun, E. Zalnezhad, M. Hamdi, A. D. Ahmed, Y. Sarhan, Alias, Fabrication and deformation behavior of multilayer Al₂O₃/Ti/TiO₂ nanotube arrays, Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2013, 20, 272-282, DOI:10.1016/j.jmbbm.2013.01.020.

[64] M. Pisarek, A. Roguska, L. Marcon, M. Andrzejczuk, Biomimetic and electrodeposited calcium-phosphates coatings on Ti - formation, surface characterization, biological response, Biomedical Engineering - Technical Applications in Medicine, 2012, DOI:10.5772/48693.

[65] M. Kikuchi, M. Takahashi, O. Okuno, Elastic moduli of cast Ti–Au, Ti–Ag, and Ti–Cu alloys, Dental Materials, 2006, 22, 641-646, DOI:10.1016/j.dental.2005.05.015.

[66] F. S. Stein, S. Thiemann, S. Berger, R. Hahn, P. Schmuki, Mechanical properties of anatase and semi-metallic TiO₂ nanotubes, Acta Materialia, 2010, 58, 6317-6323, DOI:10.1016/j.actamat.2010.07.053.

[67] T. Dikici, M. Toparli, Microstructure and mechanical properties of nanostructured and microstructured TiO₂ films, Materials Science and Engineering: A, 2016, 661, 19-24, DOI:10.1016/j.msea.2016.03.023.

[68] Y. Yoon, J. Park, The effects of nanostructures on the mechanical and tribological properties of TiO₂ nanotubes, Nanotechnology, 2018, 29, 165705, DOI:10.1088/1361-6528/aaae3d.

- [69] J. P. Zou, R. Z. Wang, Crack initiation, propagation and saturation of TiO₂ nanotube film, Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 2012, 22, 627-633, DOI:10.1016/S1003-6326(11)61224-7.
- [70] P. Hoyer, Formation of a titanium dioxide nanotube array, Langmuir, 1996, 12, 1411-1413 DOI:10.1021/la9507803.
- [71] T. Kasuga, M. Hiramatsu, A. Hoson, T. Sekino, K. Niihara, Formation of titanium oxide nanotube, Langmuir, 1998, 14, 3160-3163, DOI:10.1021/la9713816.
- [72] L. B. Fen, T. K. Han, M. Nee, B. C. Ang, M. R. Johan, Physico-chemical properties of titania nanotubes synthesized via hydrothermal and annealing treatment, Applied Surface Science, 2011, 258, 431-435, DOI:10.1016/j.apsusc.2011.08.115.
- [73] D. Gong, C. A. Grimes, O. K. Varghese, W. Hu, R. S. Singh, Z. Chen, E. C. Dickey, Titanium oxide nanotube arrays prepared by anodic oxidation, Journal of Materials Research, 2001, 16, 3331-3334, DOI:10.1557/JMR.2001.0457.
- [74] K. Nakane, N. Shimada, T. Ogihara, N. Ogata, S. Yamaguchi, Formation of TiO₂ nanotubes by thermal decomposition of poly(vinyl alcohol)-titanium alkoxide hybrid nanofibers, Journal of Materials Science, 2007, 42, 4031-4035, DOI:10.1007/s10853-006-0241-2.
- [75] M. Knez, K. Nielsch, L. Niinisto, Synthesis and Surface Engineering of Complex Nanostructures by Atomic Layer Deposition, Advanced Materials, 19, 2007, 3425-3438, DOI:10.1002/adma.200700079.
- [76] B. Munirathinam, H. Pydimukkala, N. Ramaswamy, L. Neelakantan, Influence of crystallite size and surface morphology on electrochemical properties of annealed TiO₂ nanotubes, Applied Surface Science, 2015, 355, 1245-1253, DOI:10.1016/j.apsusc.2015.08.017.
- [77] K. Mor, O. K. Varghese, M. Paulose, K. Shankar, C. A. Grimes, A review on highly ordered, vertically oriented TiO₂ nanotube arrays: Fabrication, material properties, and solar energy applications, Gopal Solar Energy Materials & Solar Cells, 2006, 90, 2011-2075 DOI:10.1016/j.solmat.2006.04.007.

- [78] A. Haring, A. Morris, M. Hu, Controlling morphological parameters of anodized titania nanotubes for optimized solar energy applications, *Materials*, 2012, 5, 1890-1909, DOI:10.3390/ma5101890.
- [79] V. Zwillling, E. Darque-Ceretti, A. Boutry-Forveille, D. David, M. Y. Perrin, M. Aucouturier, Structure and physicochemistry of anodic oxide films on titanium and TA6V alloy, *Surface and Interface Analysis*, 1999, 27, 629-637, DOI:10.1002/(SICI)1096-9918(199907)27:7<629::AID-SIA551>3.0.CO;2-0.
- [80] V. Zwillling, M. Aucouturier, E. Darque-Ceretti, Anodic oxidation of titanium and TA6V alloy in chromic media. An electrochemical approach. *Electrochim Acta*, 1999, 45, 921-929, DOI:10.1016/S0013-4686(99)00283-2.
- [81] T. Hoseinzadeh, Z. Ghorannevis, M. Ghorannevis, A. H. Sari & M. K. Salem, Effects of various applied voltages on physical properties of TiO₂ nanotubes by anodization method, *Journal of Theoretical and Applied Physics*, 2017, 11, 243-248, DOI:10.1007/s40094-017-0257-9.
- [82] S. Bauer, S. Kleber, P. Schmuki, TiO₂ nanotubes: tailoring the geometry in H₃PO₄/HF electrolytes, *Electrochemistry Communications*, 2006, 8, 1321-1325, DOI:10.1016/j.elecom.2006.05.030.
- [83] J. M. Macak, H. Hildebrand, U. Marten-Jahns, P. Schmuki, Mechanistic aspects and growth of large diameter self-organized TiO₂ nanotubes, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2008, 621, 254-266, DOI:10.1016/j.jelechem.2008.01.005.
- [84] J. Wang, Z. Lin, Anodic formation of ordered TiO₂ nanotube arrays: effects of electrolyte temperature and anodization potential, *The Journal of Physical Chemistry C*, 2009, 113, 4026-4030, DOI:10.1021/jp811201x.
- [85] Y. Wang, S. Liu, K. Huang, D. Fang, S. Zhuang, Electrochemical properties of freestanding TiO₂ nanotube membranes annealed in Ar for lithium anode material, *Journal of Solid State Electrochemistry*, 2012, 16, 723-729, DOI:10.1007/s10008-011-1417-5.
- [86] J. Yu, B. Wang, Effect of calcination temperature on morphology and photoelectrochemical properties of anodized titanium dioxide nanotube arrays, *Applied Catalysis B: Environmental*, 2010, 94, 295-302, DOI:10.1016/j.apcatb.2009.12.003.

- [87] Q. Huang, Y. Yang, D. Zheng, R. Song, Y. Zhang, P. Jiang, E. A. Vogler, C. Lin, Effect of construction of TiO₂ nanotubes on platelet behaviors: structure-property relationships, *Acta Biomaterialia*, 2017, 51, 505-512, DOI:10.1016/j.actbio.2017.01.044.
- [88] B. Munirathinam, L. Neelakantan, Titania nanotubes from weak organic acid electrolyte: fabrication, characterization and oxide film properties, *Materials Science and Engineering: C*, 2015, 49, 567-578, DOI:10.1016/j.msec.2015.01.045.
- [89] D. Regonini, A. Jaroenworarluck, R. Stevens, C. R. Bowen, Effect of heat treatment on the properties and structure of TiO₂ nanotubes: phase composition and chemical composition, *Surface and Interface Analysis*, 2010, 42, 139-144, DOI:10.1002/sia.3183.
- [90] C. A. Grimes, G. K. Mor, Material properties of TiO₂ nanotube arrays: structural, elemental, mechanical, optical and electrical, *TiO₂ Nanotube Arrays*. Springer, 2009, 67-113, DOI:10.1007/978-1-4419-0068-5_2.
- [91] N. K. Allam, M. A. El-Sayed, Photoelectrochemical water oxidation characteristics of anodically fabricated TiO₂ nanotube arrays: structural and optical properties, *The Journal of Physical Chemistry C*, 2010, 114, 12024-12029, DOI:10.1021/jp1037014.
- [92] D. A. H. Hanaor, C. C. Sorrell, Review of the anatase to rutile phase transformation, *Journal of Materials Science*, 2011, 46, 855-874, DOI:10.1007/s10853-010-5113-0.
- [93] J. M. Low, B. Curtain, M. Philipps, Z. Q. Liu, M. Ionescu, High temperature diffraction study of in-situ crystallization of TiO₂ photocatalysts, *Journal of the Australian Ceramic Society*, 2012, 48, 198-204., DOI:10.1002/9781118095362.ch17.
- [94] O. K. Varghese, D. Gong, M. Paulose, C. A. Grimes, E. C. Dickey, Crystallization and high-temperature structural stability of titanium oxide nanotube arrays, *Journal of Materials Research*, 2003, 18 , 15616-5, DOI:10.1557/JMR.2003.0022.
- [95] A. Mazare, G. Totea, C. Burnei, P. Schmuki, I. Demetrescu, D. Ionita, Corrosion, antibacterial activity and haemocompatibility of TiO₂ nanotubes as a function of their annealing temperature, *Corrosion Science*, 2016, 103, 215-222, DOI:10.1016/j.corsci.2015.11.021.

- [96] M. Salari, S. H. Aboutalebi, A. T. Chidembo, I. P. Nevirkovets, K. Konstantinova, H. K. Liu, Enhancement of the electrochemical capacitance of TiO₂ nanotube arrays through controlled phase transformation of anatase to rutile, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2012, 14, 4770-4779, DOI:10.1039/C2CP40410A.
- [97] Y. Sun, K. Yan, G. Wang, W. Guo, T. Ma, Effect of annealing temperature on the hydrogen production of TiO₂ nanotube arrays in a two-compartment photoelectrochemical cell, *The Journal of Physical Chemistry C*, 2011, 115, 12844-12849, DOI:10.1021/jp1116118.
- [98] S. P. Albu, H. Tsuchiya, S. Fujimoto, P. Schmuki, TiO₂ Nanotubes – annealing effects on detailed morphology and structure, *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2010, 27, 4351-4356, DOI:10.1002/ejic.201000608.
- [99] J. M. Macak, S. Aldabergerova, A. Ghicov, P. Schmuki, Smooth anodic TiO₂ nanotubes: annealing and structure, *Physica Status Solidi*, 2006, 203, R67-R69, DOI:10.1002/pssa.200622214.
- [100] Y. Y. Song, H. Hildebrand, P. Schmuki, Optimized monolayer grafting of 3-aminopropyltriethoxysilane onto amorphous, anatase and rutile TiO₂, *Surface Science*, 2010, 604, 346-353, DOI:10.1016/j.susc.2009.11.027.
- [101] M. Salari, K. Konstantinova, H. K. Liu, Enhancement of the capacitance in TiO₂ nanotubes through controlled introduction of oxygen vacancies, *Journal of Materials Chemistry*, 2011, 21, 5128-5133, DOI:10.1039/C0JM04085A.
- [102] Praca doktorska: Alexei Tighineanu, Electrical conductivity of TiO₂ nanotubes, 2014.
- [103] A. Tighineanu, T. Ruff, S. Albu, R. Hahn, P. Schmuki, Conductivity of TiO₂ nanotubes: Influence of annealing time and temperature, *Chemical Physics Letters*, 2010, 494, 260-263, DOI:10.1016/j.cplett.2010.06.022.
- [104] H. Okamoto, O-Ti (Oxygen-Titanium), *Journal of Phase Equilibria and Diffusion*, 2011, 32, 473-474. DOI:10.1007/s11669-011-9935-5.

- [105] H. Tang, K. Prasad, R. Sanjines, P. E. Schmid, F. Levy, Electrical and optical properties of TiO₂ anatase thin films, *Journal of Applied Physics*, 1994, 75, 2042. DOI:10.1063/1.356306.
- [106] S. Sreekantan, K. A. Saharudin, L. C. Wei, Formation of TiO₂ nanotubes via anodization and potential applications for photocatalysts, biomedical materials, and photoelectrochemical cell, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 2011, 21, 012002, DOI:10.1088/1757-899X/21/1/012002.
- [107] G. Raffaini, F. Ganazzoli, Molecular modelling of protein adsorption on the surface of titanium dioxide polymorphs, *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, 2012, 370, 1444-1462, DOI:10.1098/rsta.2011.0266.
- [108] W. Q. Yu, X. Q. Jiang, F. Q. Zhang, L. Xu, The effect of anatase TiO₂ nanotube layers on MC3T3-E1 preosteoblast adhesion, proliferation, and differentiation, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2010, 94A, 1012-1022, DOI:10.1002/jbm.a.32687.
- [109] S. Oh, K. S. Brammer, Y. S. J. Li, D. Teng, A. J. Engler, S. Chien, S. Jin, Stem cell fate dictated solely by altered nanotube dimension, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 106, 2130-2135, DOI:10.1073/pnas.0813200106.
- [110] M. Kulkarni, A. Flasker, M. Lokar, K. Mrak-Poljsak, A. Mazare, A. Artenjak, S. Cucnik, S. Kralj, A. Velikonja, P. Schmuki, V. Kralj-Iglic, S. Sodin-Semrl, A. Iglic, Binding of plasma proteins to titanium dioxide nanotubes with different diameters, *International Journal of Nanomedicine*, 2015, 10, 1359-1373, DOI:10.2147/IJN.S77492.
- [111] H. D. Beyene, A. A. Werkneh, H. K. Bezabh, T. G. Ambaye, Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review, *Sustainable Materials and Technologies*, 2017, 13, 18-23, DOI:10.1016/j.susmat.2017.08.001.
- [112] L. Z. Flores-Lopez, H. Espinoza-Gomez, R. Somanathan, Silver nanoparticles: electron transfer, reactive oxygen species, oxidative stress, beneficial and toxicological effects. Mini review, *Journal of Applied Toxicology*, 2019, 39, 16-26, DOI:10.1002/jat.3654.
- [113] S. Pal, Y. K. Tak, J. M. Song, Does the Antibacterial Activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? a study of the gram-negative bacterium

Escherichia Coli, *Applied Environmental Microbiology*, 2007, 73, 1712-1720.
DOI:10.1128/AEM.02218-06.

[114] M. R. Almofti, T. Ichikawa, K. Yamashita, H. Terada, Y. Shinohara, Silver ion induces a cyclosporine a-insensitive permeability transition in rat liver mitochondria and release of apoptogenic cytochrome c, *The Journal of Biochemistry*, 2003, 134, 43-49, DOI:10.1093/jb/mvg111.

[115] Z. M. Xiu, J. Ma, P. J. J. Alvarez, Differential effect of common ligands and molecular oxygen on antimicrobial activity of silver nanoparticles versus silver ions, *Environmental Science & Technology*, 2011, 45, 9003-9008, DOI:10.1021/es201918f.

[116] C. N. Lok, C. M. Ho, R. Chen, Q. Y. He, W. Y. Yu, H. Sun, P. K. H. Tam, J. F. Chiu, C. M. Che, Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles, *Journal of Proteome Research* 2006, 5, 916-924, DOI:10.1021/pr0504079.

[117] J. Thiel, L. Pakstis, S. Buzby, M. Raffi, C. Ni, D. J. Pochan, S. I. Shah, Antibacterial properties of silver-doped titania, *Micro and Nano: No Small Matter*, 2007, 3, 799-803, DOI:10.1002/sml.200600481.

[118] A. Ivask, I. Kurvet, K. Kasemets, I. Blinova, V. Aruoja, S. Suppi, H. Vija, A. Kakinen, T. Titma, M. Heinlaan, M. Visnapuu, D. Koller, V. Kisand, A. Kahru, Size-dependent toxicity of silver nanoparticles to bacteria, yeast, algae, crustaceans and mammalian cells in vitro, *PLoS ONE*, 2014, 9, 102108, DOI:10.1371/journal.pone.0102108.

[119] H. Li, Q. Cui, B. Feng, J. Wang, X. Lu, J. Weng, Antibacterial activity of TiO₂ nanotubes: influence of crystal phase, morphology and Ag deposition, *Applied Surface Science*, 2013, 284, 179-183, DOI:10.1016/j.apsusc.2013.07.076.

[120] A. N. Coman, A. Mare, C. Tanase, E. Bud, A. Rusu, Silver-deposited nanoparticles on the titanium nanotubes surface as a promising antibacterial material into implants, *Metals*, 2021, 11, 92, DOI:10.3390/met11010092.

[121] K. Venugopal, H. Ahmad, E. Manikandan, K. Thanigai Arul, K. Kavitha, M. K. Moodley, K. Rajagopal, R. Balabhaskar, M. Bhaskar, The impact of anticancer activity upon *Beta vulgaris* extract mediated biosynthesized silver nanoparticles (ag-NPs) against

human breast (MCF-7), lung (A549) and pharynx (Hep-2) cancer cell lines, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2017, 173, 99-107, DOI:10.1016/j.jphotobiol.2017.05.031.

[122] S. Gurunathan, J. K. Jeong, J. W. Han, X. F. Zhang, J. H. Park, J. H. Kim, Multidimensional effects of biologically synthesized silver nanoparticles in helicobacter pylori, helicobacter felis, and human lung (L132) and lung carcinoma A549 cells, *Nanoscale Research Letters*, 2015, 10, DOI:10.1186/s11671-015-0747-0.

[123] Y. J. Choi, J. H. Park, J. W. Han, E. Kim, O. J. Wook, S. Y. Lee, J. H. Kim, S. Gurunathan, Differential cytotoxic potential of silver nanoparticles in human ovarian cancer cells and ovarian cancer stem cells, *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 12, 2077, DOI:10.3390/ijms17122077.

[124] U. Jinu, M. Gomathi, I. Saiqa, N. Geetha, G. Benelli, P. Venkatachalama, Green engineered biomolecule-capped silver and copper nanohybrids using *Prosopis cineraria* leaf extract: Enhanced antibacterial activity against microbial pathogens of public health relevance and cytotoxicity on human breast cancer cells (MCF-7), *Microbial Pathogenesis*, 2017, 105, 86-95, DOI:10.1016/j.micpath.2017.02.019.

[125] Y. Q. Liang, Z. D. Cui, S. L. Zhu, Y. Liu, X. J. Yang, Silver nanoparticles supported on TiO₂ nanotubes as active catalysts for ethanol oxidation, *Journal of Catalysis*, 2011, 278, 276-287, DOI:10.1016/j.jcat.2010.12.011.

[126] S. Hamed, S. A. Shojaosadati, Rapid and green synthesis of silver nanoparticles using *Diospyros lotus* extract: evaluation of their biological and catalytic activities, *Polyhedron*, 2019, 171, 172-180, DOI:10.1016/j.poly.2019.07.010.

[127] A. S. Mazheika, T. Bredow, V. E. Matulis, O. A. Ivashkevich, Theoretical study of adsorption of Ag clusters on the anatase TiO₂(100) surface, *Journal of Physical Chemistry C*, 2011, 115, 17368–17377, DOI:10.1021/jp200575u.

[128] N. Chouhan, Silver nanoparticles: synthesis, characterization and applications, *Silver nanoparticles - fabrication, characterization and applications*, IntechOpen, 2018, DOI:10.5772/intechopen.75611.

- [129] Y. Zhang, F. M. Liu, Tunable optical properties of Ag–TiO₂ nanorod composites based on interparticle plasmon coupling, 2016, 11, 1650110, DOI:10.1142/S1793292016501101.
- [130] I. Paramasivam, J. M. Macak, A. Ghicov, P. Schmuki, Enhanced photochromism of Ag loaded self-organized TiO₂ nanotube layers, Chemical Physics Letters 445, 2007, 233-237, DOI:10.1016/J.CPLETT.2007.07.107.
- [131] M. Tan, X. Wang, Y. Hao, Y. Deng, Novel Ag nanowire array with high electrical conductivity and fast heat transfer behavior as the electrode for film devices, Journal of Alloys and Compounds, 2017, 701, 49-54, DOI:10.1016/J.JALLCOM.2017.01.086.
- [132] M. Diantoro, T. Suprayogi, U. Sa'adah, N. Mufti, A. Fuad, A. Hidayat, H. Nur, Modification of electrical properties of silver nanoparticle, Silver nanoparticles - fabrication, characterization and applications, IntechOpen, 2018, DOI:10.5772/intechopen.75682.
- [133] D. B. Shikandar, N. P. Shetti, R. M. Kulkarni and S. D. Kulkarni, Silver-doped titania modified carbon electrode for electrochemical studies of furantril, Journal of Solid State Science and Technology, 2018, 7, Q3215, DOI:10.1149/2.0321807jss.
- [134] H. H. Hamdan, G. H. Mohammed, Hydrogen Gas Sensing Properties of AgNPs-doped titania nanotubes by electroless deposition, International Journal of Science and Research, 2016, 5, 2224-2233, DOI:10.21275/v5i2.3021605.
- [135] K. Gudikandula, S. C. Maringanti, Synthesis of silver nanoparticles by chemical and biological methods and their antimicrobial properties, Journal of Experimental Nanoscience, 2016, 11, 1-8, DOI:10.1080/17458080.2016.1139196.
- [136] L. Xu, Y. Y. Wang, J. Huang, C. Y. Chen, Z. X. Wang, H. Xie, Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety, Theranostics 2020, 10, 8996-9031, DOI:10.7150/thno.45413.
- [137] T. M. Tolaymat, A. M. El Badawy, A. Genaidy, K. G. Scheckel, T. P. Luxton, M. Suidan, An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: A systematic review and critical appraisal of

peer-reviewed scientific papers, *Science of The Total Environment*, 2010, 408, 999-1006, DOI:10.1016/j.scitotenv.2009.11.003.

[138] C. S. Shivananda, K. N. Reddy, Y. Sangappa, UV – Radiation induced nucleation and growth of colloidal silver nanoparticles: characterization and their antibacterial properties, *AIP Conference Proceedings*, 2020, 2220, 020024, DOI:10.1063/5.0001148.

[139] Jun Natsuki, Toshiaki Natsuki, Yoshio Hashimoto, A Review of Silver Nanoparticles: Synthesis Methods, Properties and Applications, *International Journal of Materials Science and Applications* 4, 2015, 325-332, DOI:10.11648/j.ijmsa.20150405.17.

[140] Praca doktorska: M. Tejamaya, Synthesis, characterization and stability test of silver nanoparticles in ecotoxicology media, 2013.

[141] N. L. Pacioni, C. D. Borsarelli, V. Rey, A. V. Veglia, Synthetic routes for the preparation of silver nanoparticles, *Silver nanoparticle applications*, 2015, 13-46, DOI:10.1007/978-3-319-11262-6_2.

[142] S. Iravani, H. Korbekandi, S. V. Mirmohammadi, B. Zolfaghari, Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods, *Research in Pharmaceutical Sciences*, 2014, 9, 385-406.

[143] R. Guzel, G. Erdal, Synthesis of silver nanoparticles, *Silver nanoparticles - fabrication, characterization and applications*, IntechOpen, 2018, DOI:10.5772/intechopen.75363.

[144] M. Jose, P. Sienkiewicz, K. Szymańska, D. Darowna, D. Moszyński, Z. Lendzion-Bieluń, K. Szymański, S. Mozia, Influence of preparation procedure on physicochemical and antibacterial properties of titanate nanotubes modified with silver, *Nanomaterials*, 2019, 9, DOI:10.3390/nano9050795.

[145] R. Ma, T. Sasaki, Y. Bando, Layer-by-layer assembled multilayer films of titanate nanotubes, Ag- or Au-loaded nanotubes, and nanotubes/nanosheets with polycations, *Journal of the American Chemical Society*, 2004, 126, 10382–10388, DOI:10.1021/ja048855p.

- [146] X. Wei, P. S. Nbelayim, G. Kawamura, H. Muto, A. Matsuda, Ag nanoparticle-filled TiO₂ nanotube arrays prepared by anodization and electrophoretic deposition for dye-sensitized solar cells, *Nanotechnology*, 2017, 28, 135207, DOI:10.1088/1361-6528/aa5f11.
- [147] M. Y. Lan, C. P. Liu, H. H. Huang, S. W. Lee, Both enhanced biocompatibility and antibacterial activity in Ag-decorated TiO₂ nanotubes, *PLoS ONE*, 2013, 8, e75364, DOI:10.1371/journal.pone.0075364.
- [148] N. P. Shetti, S. D. Bukkitgar, K. R. Reddy, C. V. Reddy, T. M. Aminabhavi, Nanostructured titanium oxide hybrids-based electrochemical biosensors for healthcare applications, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2019, 178, 385-394, DOI:10.1016/j.colsurfb.2019.03.013.
- [149] Z. Li, Y. Zhang, J. Ye, M. Guo, J. Chen, W. Chen, Nonenzymatic glucose biosensors based on silver nanoparticles deposited on TiO₂ nanotubes, *Journal of Nanotechnology*, 2016, 2, 1-7, DOI:10.1155/2016/9454830.
- [150] P. A. Gross, N. Javahiraly, N. G. Sabat, T. Cottineau, E. R. Savinova, V. Keller, Theoretical and photo-electrochemical studies of surface plasmon induced visible light absorption of Ag loaded TiO₂ nanotubes for water splitting, *Applied Physics Letters*, 2016, 109, 153903, DOI:10.1063/1.4964827.
- [151] N. A. Jani, C. Haw, W. Chiu, S. A. Rahman, P. Khiew, Y. Lim, R. Abd-Shukor, M. A. A. Hamid, Photodeposition of Ag nanocrystals onto TiO₂ nanotube platform for enhanced water splitting and hydrogen gas production, *Journal of Nanomaterials*, 2020, 1-11, DOI:10.1155/2020/7480367.
- [152] L. Zhang, L. Zhang, Y. Yang, W. Zhang, H. Lv, F. Yang, C. Lin, P. Tang, Inhibitory effect of super-hydrophobicity on silver release and antibacterial properties of super-hydrophobic Ag/TiO₂ nanotubes, *Journal of Biomedical Materials Research*, 2016, 104, 1004-1012, DOI:10.1002/jbm.b.33454.
- [153] A. Roguska, A. Kudelski, M. Pisareka, M. Opara, M. Janik-Czachora, Raman investigations of SERS activity of Ag nanoclusters on a TiO₂-nanotubes/Ti substrate, *Vibrational Spectroscopy*, 2011, 55, 38-43, DOI:10.1016/j.vibspec.2010.07.003.

- [154] L. Guadagnini, D. Tonelli, Carbon electrodes unmodified and decorated with silver nanoparticles for the determination of nitrite, nitrate and iodate, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2013, 188, 806-814, DOI:10.1016/j.snb.2013.07.077.
- [155] O. K. Varghese, D. Gong, M. Paulose, K. G. Ong, E. C. Dickey, C. A. Grimes, Extreme changes in the electrical resistance of titania nanotubes with hydrogen exposure, *Advanced Materials*, 2003, 15, 624-627, DOI:10.1002/adma.200304586.
- [156] H. Lensch, J. Doerr, A. Schutze, T. Sauerwald, Selective high temperature humidity sensing using fast impedance spectroscopy on titania sensors, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2020, 321, 128497, DOI:10.1016/j.snb.2020.128497.
- [157] V. Galstyan, E. Comini, G. Faglia, G. Sberveglieri, TiO₂ nanotubes: recent advances in synthesis and gas sensing properties, *Sensors (Basel)*, 2013, 13, 14813-14838, DOI:10.3390/s131114813.
- [158] K. Zakrzewska, M. Radecka, TiO₂-based nanomaterials for gas sensing—influence of anatase and rutile contributions, *Nanoscale Research Letters* 2017, 12, DOI:10.1186/s11671-017-1875-5.
- [159] D. Manovah, P. Wilson, V. Manju, C. Ramesh, A. Palaniappan, P. Sagayaraj, Electrocatalytic investigation of group X metal nanoparticles loaded TiO₂ nanotubes powder prepared by rapid breakdown anodization for selective H₂O₂ sensing, *Journal of The Electrochemical Society*, 2017, 164, B356-B365, DOI:10.1149/2.0611707jes.
- [160] K. Arkusz, E. Paradowska, Impedimetric detection of femtomolar levels of interleukin 6, interleukin 8, and tumor necrosis factor alpha based on thermally modified nanotubular titanium dioxide arrays, *Nanomaterials (Basel)*, 2020, 10, 2399, DOI:10.3390/nano10122399.
- [161] B. S. Vadlamani, T. Uppal, S. C. Verma, M. Misra, functionalized TiO₂ nanotube-based electrochemical biosensor for rapid detection of SARS-CoV-2, *Sensors (Basel)*, 2020, 20, 5871, DOI:10.3390/s20205871.
- [162] N. Khaliq, M. A. Rasheed, G. Cha, M. Khan, S. Karim, P. Schmuki, G. Alic, Development of non-enzymatic cholesterol bio-sensor based on TiO₂ nanotubes decorated

with Cu₂O nanoparticles, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2020, 302, 127200, DOI:10.1016/j.snb.2019.127200.

[163] M. Hussain, N. Khaliq, A. A. Khan, M. Khan, G. Ali, M. Maqbool, Synthesis, characterization and electrochemical analysis of TiO₂ nanostructures for sensing l-Cysteine and hydrogen peroxide, *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 2020, 128, 114541, DOI:10.1016/j.physe.2020.114541.

[164] G. Hanrahan, D. G. Patil, J. Wang, Electrochemical sensors for environmental monitoring: design, development and applications, *Journal of Environmental Monitoring*, 2004, 6, 657–664, DOI:10.1039/B403975K.

[165] K. Islam, S. Haider, M. Hafiqul, *Sensors and low power signal processing*, Springer, 2010, DOI:10.1007/978-0-387-79392-4.

[166] E. Bakker, Electrochemical sensors, *Analytical Chemistry*, 2004, 76, 3285-3298, DOI:10.1021/ac049580z.

[167] Z. Brzózka, W. Wróblewski, *Sensory chemiczne*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, 1999.

[168] A. C. Power, B. Gorey, S. Chandra, J. Chapman, Carbon nanomaterials and their application to electrochemical sensors: a review, *Nanotechnology Reviews*, 2017, 7, DOI:10.1515/ntrev-2017-0160.

[169] R. Savinell, K. Ota, G. Kreysa, Electrochemical sensors for environmental analysis, *Encyclopedia of Applied Electrochemistry*, Springer, 2011, DOI:10.1007/SpringerReference_303978.

[170] M.I. Barton, *Sensors for environment, health and security, advanced materials and technologies*, Springer, 2009, DOI:10.1007/978-1-4020-9009-7.

[171] R. Sandulescu, M. Tertis, C. Cristea, E. Bodoki, New materials for the construction of electrochemical biosensors, *Biosensors - Micro and Nanoscale Applications*, IntechOpen, 2015, DOI:10.5772/60510.

- [172] I. Moldoveanu, R. I. van Stefan-Staden, J. F. van Staden, *Electrochemical Sensors Based on Nanostructured Materials*, Handbook of Nanoelectrochemistry, Springer, 2015, 1-15, DOI:10.1007/978-3-319-15207-3_47-1.
- [173] J. Liu, J. Liu, S. Attarilar, C. Wang, M. Tamaddon, C. Yang, K. Xie, J. Yao, L. Wang, C. Liu, Y. Tang, Nano-modified titanium implant materials: a way toward improved antibacterial properties, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2020, 8, 576969, DOI:10.3389/fbioe.2020.576969.
- [174] C. Toyos-Rodríguez, F. J. García-Alonso, A. de la Escosura-Muñiz, Electrochemical biosensors based on nanomaterials for early detection of alzheimer's disease, *Sensors*, 2020, 20, 4748, DOI:10.3390/s20174748.
- [175] S. H. Han, W. Y. Rho, B. H. Jun, Au-nanoparticle-embedded open-ended freestanding TiO₂ nanotube arrays in dye-sensitized solar cells for better electron generation and electron transport, *ACS Omega*, 2019, 4, 20346-20352, DOI:10.1021/acsomega.9b02903.
- [176] P. Bindra, A. Hazra, Electroless deposition of Pd/Pt nanoparticles on electrochemically grown TiO₂ nanotubes for ppb level sensing of ethanol at room temperature, *Analyst*, 2021, DOI:10.1039/D0AN01757D.
- [177] J. Tian, Z. Mu, J. Wang, J. Zhou, Y. Yuan, L. Bai, Electrochemical aptasensor for ultrasensitive detection of lipopolysaccharide using silver nanoparticles decorated titanium dioxide nanotube/functionalized reduced graphene oxide as a new redox nanoprobe, *Mikrochimica Acta*, 2021, 188, 31, DOI:10.1007/s00604-020-04695-9.
- [178] I. Sultana, M. Idrees, M. Y. Rafique, S. Ilyas, S. Q. Hussain, A. A. Kahn, A. Razaq, Electrodeposition of silver (Ag) nanoparticles on MnO₂ nanorods for fabrication of highly conductive and flexible paper electrodes for energy storage application, *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 2018, 29, 20588-20594, DOI:10.1007/s10854-018-0194-7.
- [179] F. S. Omar, N. Duraisamy, K. Ramesh, S. Ramesh, Conducting polymer and its composite materials based electrochemical sensor for Nicotinamide Adenine Dinucleotide

(NADH), *Biosensors and Bioelectronics* 2016, 79, 763-775, DOI:10.1016/j.bios.2016.01.013.

[180] M. Stoytcheva, R. Zlatev, *Electrochemical Sensors for Environmental Analysis*, Encyclopedia of Applied Electrochemistry, Springer, 2014, DOI:10.1007/978-1-4419-6996-5_449.

[181] A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochemical methods: fundamentals and applications*, Wiley, 2000.

[182] C. M. A. Brett, A. M. O. Brett, *Electrochemistry: principles, methods, and applications*, Oxford University, 1993.

[183] R. Greef, L. M. Peter, D. Pletcher, J. Robinson, *Instrumental methods in electrochemistry*, Woodhead Publishing, 1985.

[184] A. K. Das, M. K. Manna, B. Agrawal, S. Mukherjee, Synergistic assembly of peptide-metal hydroxide hybrid nanostructures for electrochemical capacitors, *Chemistry Select*, 2016, 1, 715-722, DOI:10.1002/slct.201600104.

[185] D. Qu, G. Wang, J. Kafle, J. Harris, L. Crain, Z. Jin, D. Zheng, Electrochemical impedance and its applications in energy-storage systems, *Small Methods*, 2018, 2, 1700342, DOI:10.1002/smtd.201700342.

[186] V. F. Lvovich, *Impedance spectroscopy: applications to electrochemical and dielectric phenomena*, Wiley, 2012.

[187] B. Pejicic, R. De Marco, Impedance spectroscopy: Over 35 years of electrochemical sensor optimization, *Electrochimica Acta*, 2006, 51, 6217-6229, DOI:10.1016/j.electacta.2006.04.025.

[188] H. Cesiulis, N. Tsyntsar, A. Ramanavicius, G. Ragoisha, The study of thin films by electrochemical impedance spectroscopy, *Nanostructures and Thin Films for Multifunctional Applications*, 2016, 3-42, DOI:10.1007/978-3-319-30198-3_1.

[189] N. H. Maniya, D. N. Srivastava, S. Andreescu, Fabrication of porous silicon based label-free optical biosensor for heat shock protein 70 detection, *Materials Science in Semiconductor Processing*, 2020, 115, 105126, DOI: 10.1016/j.mssp.2020.105126.

- [190] Y. Sun, X. Liu, D. Song, Y. Tian, S. Bi, H. Zhang, Sensitivity enhancement of wavelength modulation surface plasmon resonance biosensor by improving the baseline solution, *Analytica Chimica Acta*, 2006, 569, 21-26, DOI:10.1016/j.aca.2006.04.001.
- [191] H. Wang, J. Xing, F. Wang, W. Han, H. Ren, T. Wu, W. Chen, Expression of Hsp27 and Hsp70 in lymphocytes and plasma in healthy workers and coal miners with lung cancer, *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*, 2010, 30, 415-420. DOI:10.1007/s11596-010-0441-5.
- [192] T. T. Wu, S. H. Zhou, Nanoparticle-based targeted therapeutics in head-and-neck cancer, *International Journal of Medical Sciences*, 2015, 12, 187-200, DOI:10.7150/ijms.10083.
- [193] S. Breuninger, J. Erl, C. Knape, S. Gunther, I. Regel, F. Rodel, U. S. Gaipf, J. Thorsteinsdottir, L. Giannitrapani, A. M. Dickinson, G. Multhoff, Quantitative Analysis of Liposomal Heat Shock Protein 70 (Hsp70) in the Blood of Tumor Patients Using a Novel LipHsp70 ELISA, *Journal of Clinical & Cellular Immunology*, 5, 5, 2014, 1–10, DOI:10.4172/2155-9899.1000264.
- [194] M. Gunaldi, C. U. Afsar, Y. Okuturlar, A. Gedikbasi, H. Kocoglu, A. Kural, C. Akarsu, U. Gunduz, E. E. Tiken, Elevated serum levels of heat shock protein 70 are associated with breast cancer, *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 2015, 236, 97-102 DOI:10.1620/tjem.236.97.
- [195] S. K. Dutta, M. Girotra, M. Singla, A. Dutta, F. Otis Stephen, P. P. Nair, N. B. Merchant, Serum HSP70: a novel biomarker for early detection of pancreatic cancer, *Controlled Clinical Trial*, 2012, 41, 530–534, DOI:10.1097/MPA.0b013e3182374ace.
- [196] M. Abe, J. B. Manola, W. K. Oh, D. L. Parslow, D. J. George, C. L. Austin, P. W. Kantoff, Plasma levels of heat shock protein 70 in patients with prostate cancer: a potential biomarker for prostate cancer, *Clinical Prostate Cancer*, 2004, 3, 49–53.
- [197] Y. Sun, Y. Bai, D. Song, X. Li, L. Wang, H. Zhang, Design and performances of immunoassay based on SPR biosensor with magnetic microbeads, *Biosensors & Bioelectronics*, 2007, 23, 473-478, DOI:10.1016/j.bios.2007.06.016.

- [198] Y. Sun, N. Bi, D. Song, Y. Bai, L. Wang, H. Zhang, Preparation of titania sol–gel matrix for the immunoassay by SPR biosensor with magnetic beads, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2008, 134, 566-572, DOI:10.1016/j.snb.2008.05.046.
- [199] Praca doktorska: R. Denomme, A label-free biosensor for heat shock protein 70 using localized surface plasmon resonance, 2012.
- [200] M. N. S. Karaboga, C. S. Şimsek, M. K. Sezginturk, AuNPs modified, disposable, ITO based biosensor: Early diagnosis of heat shock protein 70, *Biosensors & Bioelectronics*, 2016, 84, 22-29, DOI:10.1016/j.bios.2015.08.044.
- [201] B. Ozcan, M. K. Sezginturk, Graphene oxide based electrochemical label free immunosensor for rapid and highly sensitive determination of tumor marker HSP70. *Talanta*, 2016, 160, 367-374, DOI:10.1016/j.talanta.2016.07.039.
- [202] B. Demirbakan, M. K. Sezginturk, A novel immunosensor based on fullerene C60 for electrochemical analysis of heat shock protein 70, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2016, 783, 201-207, DOI:10.1016/j.jelechem.2016.11.020.
- [203] ISO/TR 10993-22:2017 Biological evaluation of medical devices — Part 22: Guidance on nanomaterials.
- [204] G. D. Sulka, J. Kapusta-Kołodziej, A. Brzózka, M. Jaskuła, Fabrication of nanoporous TiO₂ by electrochemical anodization, *Electrochimica Acta*, 2010, 55, 4359-4367, DOI:10.1016/j.electacta.2009.12.053.
- [205] B. Ohtani, Preparing articles on photocatalysis—beyond the illusions, misconceptions, and speculation, *Chemistry Letters*, 2008, 208, 216-229, DOI:10.1246/cl.2008.216.
- [206] R. A. Spurr, H. Myers, Quantitative analysis of anatase-rutile mixtures with an X-Ray diffractometer, *Analytical Chemistry*, 1957, 29, 760–762.
- [207] I. Shtepliuk, M. Vagin, R. Yakimova, Insights into the electrochemical behavior of mercury on Graphene/SiC Electrodes, *Journal of Carbon Research*, 2019, 51, DOI:10.3390/c5030051.
- [208] D. A. C. Brownson, C. E. Banks, Interpreting electrochemistry, *The Handbook of Graphene Electrochemistry*, 2014, 23-77, DOI:10.1007/978-1-4471-6428-9_2.

- [209] S. Sirivisoot, T. J. Webster, Multiwalled carbon nanotubes enhance electrochemical properties of titanium to determine in situ bone formation, *Nanotechnology*, 2008, 19, 295101, DOI:10.1088/0957-4484/19/29/295101.
- [210] J. H. Ryu, G. J. Lee, W. S. Kim, H. E. Lim, M. Mativenga, K. C. Park, H. K. Park, All-carbon electrode consisting of carbon nanotubes on graphite foil for flexible electrochemical applications, *Materials*, 2014, 7, 1975-1983, DOI:10.3390/ma7031975.
- [211] A. Shrivastava, V. B. Gupta, Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists* 2011, 2, 21-5, DOI:10.4103/2229-5186.79345.
- [212] D. G. Li, D. R. Chen, J. D. Wang, P. Liang, Effect of acid solution, fluoride ions, anodic potential and time on the microstructure and electronic properties of self-ordered TiO₂ nanotube arrays, *Electrochimica Acta*, 2016, 207, 152-163, DOI:10.1016/j.electacta.2016.04.002.
- [213] G. Hu, S. Chen, Q. Shi, X. He, P. Chen, Determination of the amorphous phase in titania and its influence on photocatalytic properties, 2016 7th International Conference on Mechatronics, Control and Materials (ICMCM 2016), DOI:10.2991/icmcm-16.2016.100.
- [214] D. Wang, W. Hu, Y. Xiong, Y. Xu, C. M. Li, Multifunctionalized reduced graphene oxide-doped polypyrrole/pyrrolepropylic acid nanocomposite impedimetric immunosensor to ultra-sensitively detect small molecular aflatoxin B₁, *Biosensors Bioelectronics*, 2015, 63, 185-189, DOI:10.1016/j.bios.2014.06.070.
- [215] Y. Xiao, C. M. Li, Y. Liu, Electrochemical impedance characterization of antibody-antigen interaction with signal amplification based on polypyrrole-streptavidin, *Biosensors and Bioelectronics*, 2007, 22, 3161-3166, DOI:10.1016/j.bios.2007.02.008.
- [216] K. H. W. Seah, R. Thampuran, S. H. Teoh, The influence of pore morphology on corrosion, *Corrosion Science*, 1998, 40, 547-556, DOI:10.1016/S0010-938X(97)00152-2.
- [217] C. Liu, Y. Wang, M. Wang, W. Huang, P. K. Chu, Electrochemical stability of TiO₂ nanotubes with different diameters in artificial saliva, *Surface and Coatings Technology*, 2011, 206, 63-67, DOI:10.1016/j.surfcoat.2011.06.038.

- [218] W. Q. Yu, J. Qiu, L. Xu, F. Q. Zhang, Corrosion behaviors of TiO₂ nanotube layers on titanium in Hank's solution, *Biomedical Materials*, 2009, 4, 065012, DOI:10.1088/1748-6041/4/6/065012.
- [219] P. Xiao, B. B. Garcia, Q. Guo, D. Liu, G. Cao. TiO₂ nanotube arrays fabricated by anodization in different electrolytes for biosensing, *Electrochemistry Communications* 2007, 9 2441–2447, DOI:10.1016/j.elecom.2007.07.020.
- [220] C. C. Manole, C. Pirvu, A. B. Stoian, J. M. C. Moreno, D. Stanciu, I. Demetrescu the electrochemical stability in NaCl solution of nanotubes and nanochannels elaborated on a new Ti-20Zr-5Ta-2Ag alloy, *Journal of Nanomaterials*, 2015, 521276, DOI:10.1155/2015/521276.
- [221] S. Goodarzi, M. Moztarzadeh, Titanium dioxide nanotube arrays: A novel approach into periodontal tissue regeneration on the surface of titanium implants, *Advanced Materials Letters*, 2016, 7, 209-215, DOI:10.5185/amlett.2016.6014.
- [222] A. Mohamed, A. S. Aljaber, S. Alqaradawi, N. K Allam, TiO₂ Nanotubes with ultrathin walls for enhanced water splitting, *Chemical Communications* 2015, 51, 12617-12620, DOI:10.1039/C5CC04539H.
- [223] M. M. Momeni, Y. Ghayeb, M. Shafiei, Preparation and characterization of CrFeWTiO₂ photoanodes and their photoelectrochemical activities for water splitting, *Dalton Transactions* 2017, 46, 12527-12536, DOI:10.1039/C7DT01596H.
- [224] G. Dutta, S. Siddiqui, H. Zeng, J. A. Carlisle, P. U. Arumugam, The effect of electrode size and surface heterogeneity on electrochemical properties of ultrananocrystalline diamond microelectrode, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2015, 756, 61-68, DOI:10.1016/j.jelechem.2015.08.016.
- [225] M. Nycz, E. Paradowska, K. Arkusz, D. G. Pijanowska, Influence of geometry and annealing temperature in argon atmosphere of TiO₂ nanotubes on their electrochemical properties, *Acta of Bioengineering and Biomechanics*, 2020, 22, 165-177, DOI:10.37190/ABB-01479-2019-03.
- [226] C. Kim, S. Kim, J. Choi, J. Lee, Jin S. Kanga, Y. E. Sunga, J. Lee, W. Choi, J. Yoon, Blue TiO₂ Nanotube Array as an oxidant generating novel anode material fabricated by

simple cathodic polarization, *Electrochimica Acta*, 2014, 214, 113-119, DOI:10.1016/j.electacta.2014.07.062.

[227] T. M. Tseng, R. H. Huang, C. Y. Huang, C. C. Liu, K. L. Hsueh, F. S. Shieu, Carbon felt coated with titanium dioxide/carbon black composite as negative electrode for vanadium redox flow battery, *Journal of The Electrochemical Society*, 2014, 161, A1132-A1138, DOI:10.1149/2.102406jes.

[228] P. Xiao D. Liu, B. B. Garcia, S. Sepehri, Y. Zhang, G. Cao, Electrochemical and photoelectrical properties of titania nanotube arrays annealed in different gases, *Sensors and Actuators B*, 2008, 134, 367-372, DOI:10.1016/j.snb.2008.05.005.

[229] K. Zhu, N. R. Neale, A. F. Halverson, J. Y. Kim, A. J. Frank, Effects of annealing temperature on the charge-collection and light-harvesting properties of TiO₂ nanotube-based dye-sensitized solar cells, *The Journal of Physical Chemistry C*, 2010, 114, 13433-13441, DOI:10.1021/jp102137x.

[230] J. Yu, G. Dai, B. Cheng, Effect of crystallization methods on morphology and photocatalytic activity of anodized TiO₂ nanotube array films, *The Journal of Physical Chemistry C*, 2010, 114, 19378-19385, DOI:10.1021/jp106324x.

[231] T. Anwar, W. Li, R. U. R. Sagar, F. Nosheen, R. Singh, H. M. Jafri, K. Shehzad, L. Tongxiang, Cathodic titania nanotube arrays as anode material for lithium-ion batteries, *Journal of Materials Science* volume, 2017, 52, 323-4332, DOI:10.1007/s10853-016-0530-3.

[232] J. Wang, G. Xu, X. Zhang, J. Lv, X. Zhang, Z. Zhenga, Y. Wu, Electrochemical performance and biosensor application of TiO₂ nanotube arrays with mesoporous structures constructed by chemical etching, *Dalton Transactions*, 2015, 44, 7662-7672, DOI:10.1039/c5dt00678c.

[233] Y. T. Sul, Electrochemical growth behavior, surface properties, and enhanced in vivo bone response of TiO₂ nanotubes on microstructured surfaces of blasted, screw-shaped titanium implants, *International Journal of Nanomedicine*, 2010, 15, 87-100, DOI:10.2147/IJN.S8012.

- [234] M. C. Biesinger, L. W. M. Lau, A. R. Gerson, R. S. C. Smart, Resolving surface chemical states in XPS analysis of first row transition metals, oxides and hydroxides: Sc, Ti, V, Cu and Zn, *Applied Surface Science*, 2010, 257, 887-898, DOI:10.1016/j.apsusc.2010.07.086.
- [235] M. Qiu, Y. Tian, Z. Chen, Z. Yang, W. Li, K. Wang, L. Wang, K. Wang, W. Zhang, Synthesis of Ti^{3+} self-doped TiO_2 nanocrystals based on Le Chatelier's principle and their application in solar light photocatalysis, *RSC Advances*, 2016, 6, 74376-74383, DOI:10.1039/c6ra12674j.
- [236] G. Beamson, D. Briggs, High resolution XPS of organic polymers: the scienta ESCA300 database, *Journal of Chemical Education*, 1993, 70, A25, DOI:10.1021/ed070pA25.5.
- [237] J. C. Dupin, D. Gonbeau, P. Vinatier, A. Levasseur, Systematic XPS studies of metal oxides, hydroxides and peroxides, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2000, 2, 1319-1324. DOI:10.1039/A908800H.
- [238] F. Zhang, G. K. Wolf, X. Wang, X. Liu, Surface properties of silver doped titanium oxide films, *Surface and Coatings Technology*, 2001, 148, 65-70, DOI:10.1016/S0257-8972(01)01305-6.
- [239] Z. Zhang, X. Tan, T. Yu, L. Jia, X. Huang, Time-dependent formation of oxygen vacancies in black TiO_2 nanotube arrays and the effect on photoelectrocatalytic and photoelectrochemical properties, *International Journal of Hydrogen Energy*, 2016, 41, 11634-11643, DOI:10.1016/j.ijhydene.2015.12.200.
- [240] Y. C. Nah, I. Paramasivam, P. Schmuki, Doped TiO_2 and TiO_2 nanotubes: synthesis and applications, *ChemPhysChem*, 2010, 11, 2698-2713, DOI:10.1002/cphc.201000276.
- [241] X. She, J. Wu, H. Xu, Z. Mo, J. Lian, Y. Song, L. Liu, D. Du, H. Li, Enhancing charge density and steering charge unidirectional flow in 2D non-metallic semiconductor-CNTs-metal coupled photocatalyst for solar energy conversion, *Applied Catalysis B: Environmental*, 2017, 202, 112-117, DOI:10.1016/j.apcatb.2016.09.013.
- [242] W. Liao, J. Yang, H. Zhou, M. Murugananthan, Y. Zhang, Electrochemically self-doped TiO_2 nanotube arrays for efficient visible light photoelectrocatalytic degradation of

contaminants, *Electrochimica Acta*, 2014, 136, 310-317, DOI:10.1016/j.electacta.2014.05.091.

[243] K. Arkusz, E. Paradowska, M. Nycz, E. Krasicka-Cydzik, Influence of Thermal Modification and Morphology of TiO₂ Nanotubes on Their Electrochemical Properties for Biosensors Applications, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2018, 18, 3713-3721, DOI:10.1166/jnn.2018.14685.

[244] K. J. Huang, Y. J. Liu, H. B. Wang, Y. Y. Wang, A sensitive electrochemical DNA biosensor based on silver nanoparticles-polydopamine@graphene composite, *Electrochimica Acta*, 2014, 118, 130-137, DOI:10.1016/j.electacta.2013.12.019.

[245] J. C. Bian, Z. Li, Z. D. Chen, H. Y. He, X. W. Zhang, X. Li, G. R. Han, Electrodeposition of silver nanoparticle arrays on ITO coated glass and their application as reproducible surface-enhanced Raman scattering substrate, *Applied Surface Science*, 2011, 258, 1831-1835, DOI:10.1016/j.apsusc.2011.10.055.

[246] A. Yu, Q. Wang, J. Yong, P. J. Mahon, F. Malherbe, F. Wang, H. Zhang, J. Wang, Silver nanoparticle-carbon nanotube hybrid films: preparation and electrochemical sensing, *Electrochimica Acta*, 2012, 74, 111-116, DOI:10.1016/j.electacta.2012.04.024.

[247] J. C. Ballesteros, E. Chainet, P. Ozil, Y. Meas, G. Trejo, Electrocrystallization of copper from non-cyanide alkaline solution containing glycine, *International Journal of Electrochemical Science*, 2011, 6, 1597-1616, hal-02383576.

[248] A. Khor, P. Leung, M. R. Mohamed, C. Flox, Q. Xu, L. An, R. G. A. Wills, J. R. Morante, A. A. Shah, Review of zinc-based hybrid flow batteries: From fundamentals to applications, *Materials Today Energy*, 2018, 8, 80-108, DOI:10.1016/j.mtener.2017.12.012.

[249] G. Sandmann, H. Dietz, W. Plieth, Preparation of silver nanoparticles on ITO surfaces by a double-pulse method, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2000, 491, 78-86, DOI:10.1016/S0022-0728(00)00301-6.

[250] Z. B. Lin, B. G. Xie, J. S. Chen, J. J. Sun, G. N. Chen, Nucleation mechanism of silver during electrodeposition on a glassy carbon electrode from a cyanide-free bath with

2-hydroxypyridine as a complexing agent, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2009, 633, 207-211, DOI:10.1016/j.jelechem.2009.05.015.

[251] A. Basile, A. I. Bhatt, A. P.O. Mullane, S. K. Bhargava, An investigation of silver electrodeposition from ionic liquids: Influence of atmospheric water uptake on the silver electrodeposition mechanism and film morphology, *Electrochimica Acta*, 2011, 56, 2895-2905, DOI:10.1016/j.electacta.2010.12.083.

[252] L. M. Plyasova, I. Yu. Molina, A. N. Gavrilov, S. V. Cherepanova, O. V. Cherstiouk, N. A. Rudina, E. R. Savinova, G. A. Tsirlina, Electrodeposited platinum revisited: tuning nanostructure via the deposition potential, *Electrochimica Acta*, 2006, 51, 4477-4488, DOI:10.1016/j.electacta.2005.12.027.

[253] V. A. Sugiawati, F. Vacandio, T. Djenizian, All-solid-state lithium-ion batteries using self-organized TiO₂ nanotubes grown from Ti-6Al-4V alloy, *Molecules* 2020, 25, 2121, DOI:10.3390/molecules25092121.

[254] Y. Bai, Y. Bai, C. Wang, J. Gao, W. Ma, Fabrication and characterization of gold nanoparticle-loaded TiO₂ nanotube arrays for medical implants, *Journal of Materials Science: Material Medicine*, 2016, 27, 31, DOI:10.1007/s10856-015-5646-5.

[255] L. Yang, S. Luo, F. Su, Y. Xiao, Y. Chen, Q. Ca, Carbon-nanotube-guiding oriented growth of gold shrubs on TiO₂ nanotube arrays, *The Journal of Physical Chemistry C*, 2010, 114, 7694-7699, DOI:10.1021/jp912007g.

[256] B. H. R. Suryanto, C. A. Gunawan, X. Lu, C. Zhao, Tuning the electrodeposition parameters of silver to yield micro/nano structures from room temperature protic ionic liquids, *Electrochimica Acta*, 2012, 81, 98-105, DOI:10.1016/j.electacta.2012.07.066.

[257] P. L. Redmond, A. J. Hallock, L. E. Brus, Electrochemical Ostwald ripening of colloidal Ag particles on conductive substrates, *Nano Letters*, 2005, 5, 131-135, DOI:10.1021/nl048204r.

[258] Z. Cheng, Y. Qiu, Z. Li, D. Yang, S. Ding, G. Cheng, Z. Hao, Q. Wang, Fabrication of silver dendrite fractal structures for enhanced second harmonic generation and surface-enhanced Raman scattering, *Optical Materials Express*, 2019, 9, 860-869, DOI:10.1364/OME.9.000860.

- [259] D. Grujicic, B. Pesic, Electrodeposition of copper: the nucleation mechanisms, *Electrochimica*, 2020, 47, 2901-2912, DOI:10.1016/S0013-4686(02)00161-5.
- [260] K. Arkusz, M. Nycz, E. Paradowska, D. G. Pijanowska, Electrochemical stability of TiO₂ nanotubes deposited with silver and gold nanoparticles in aqueous environment, 2021. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 2021, 15, 1-12, DOI:10.1016/j.enmm.2020.100401.
- [261] F. Pargar, H. Kolev, D. A. Koleva, K. Breugel, Potentiometric response of Ag/AgCl chloride sensors in model alkaline medium, *Advances in Materials Science and Engineering*, 2018, 3, 1-12, DOI:10.1155/2018/8135492.
- [262] C. Pfeiffer, C. Rehbock, D. Huhn, C. Carrillo-Carrion, D. Jimenez de Aberasturi, V. Merk, S. Barcikowski, W. J. Parak, Interaction of colloidal nanoparticles with their local environment: the (ionic) nanoenvironment around nanoparticles is different from bulk and determines the physico-chemical properties of the nanoparticles, *Journal of The Royal Society Interface*, 2014, 11, 20130931, DOI:10.1098/rsif.2013.0931.
- [263] M. Michalska, A. Iwan, M. Andrzejczuk, A. Roguska, A. Sikora, B. Boharewicz, I. Tazbir, A. Hreniak, S. Popłoński, K. P. Korona, Analysis of the surface decoration of TiO₂ grains using silver nanoparticles obtained by ultrasonochemical synthesis towards organic photovoltaics, *New Journal of Chemistry*, 2018, 42, 7340-7354, DOI:10.1039/C7NJ05180H.
- [264] H. S. Kim, M. H. Chun, J. S. Suh, B. H. Jun, W. Y. Rho, Dual functionalized freestanding TiO₂ nanotube arrays coated with Ag nanoparticles and carbon materials for dye-sensitized solar cells, *Applied Sciences*, 2017, 7, 576, DOI:10.3390/app7060576.
- [265] A. Azadbakht, A. R. Abbasi, Z. Derikvand, Z. Karimi, M. Roushani, Surface-renewable AgNPs/CNT/rGO nanocomposites as bifunctional impedimetric sensors, *Nano-Micro Letters*, 2017, 9, 4, DOI:10.1007/s40820-016-0101-9.
- [266] M. A. Khalilzadeh, M. Borzoo, Green synthesis of silver nanoparticles using onion extract and their application for the preparation of a modified electrode for determination of ascorbic acid, *Journal of Food and Drug Analysis*, 2016, 24, 796-803, DOI:10.1016/j.jfda.2016.05.004.

- [267] S. Chawla, R. Rawal, D. Kumar, C. S. Pundir, Amperometric determination of total phenolic content in wine by laccase immobilized onto silver nanoparticles/zinc oxide nanoparticles modified gold electrode, *Analytical Biochemistry*, 2012, 430, 16-23, DOI:10.1016/j.ab.2012.07.025.
- [268] R. Raghav, S. Srivastava, Core-shell gold-silver nanoparticles based impedimetric immunosensor for cancer antigen CA125, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2015, 220, 557-564, DOI:10.1016/j.snb.2015.05.108.
- [269] M. Nycz, K. Arkusz, D. G. Pijanowska, Influence of the silver nanoparticles (AgNPs) formation conditions onto titanium dioxide (TiO₂) nanotubes-based electrodes on their impedimetric response, *Nanomaterials*, 2019, 9, 1-16, DOI:10.3390/nano9081072.
- [270] A. Aliyu, C. Srivastava, Correlation between growth texture, crystallite size, lattice strain and corrosion behavior of copper-carbon nanotube composite coatings, *Surface and Coatings Technology*, 2021, 405, 126596, DOI:10.1016/j.surfcoat.2020.126596.
- [271] S. Fadlallah, S. M. F. Gad El-Rab, E. M. Halwani, Innovative nanoporous titania surface with stabilized antimicrobial Ag-nanoparticles via *Salvadora persica* L. Roots (Miswak) extract for dental applications, *BioNanoScience*, 2020, 10, 998-1009, DOI:10.1007/s12668-020-00765-7.
- [272] U. Olgun, M. Gulfen, F. Ustel, H. Arslan, Electro-optics and band gap energies of nanosilver-coated TiO₂ nanotubes on titanium metal, *Acta Metallurgica Sinica*, 2018, 31, 153-163, DOI:10.1007/s40195-017-0664-6.
- [273] K. Usha, P. Kumbhakar, B. Mondal, Effect of Ag-doped TiO₂ thin film passive layers on the performance of photo-anodes for dye-sensitized solar cells, *Materials Science in Semiconductor Processing*, 2016, 43, 17-24, DOI:10.1016/j.mssp.2015.11.015.
- [274] A. B. Patil, B. M. Bhanage, Shape selectivity using ionic liquids for the preparation of silver and silver sulphide nanomaterials, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2014, 16, 3027-3035, DOI:10.1039/c3cp54382j.
- [275] U. C. Lacnjevac, V. V. Radmilovic, V. R. Radmilovic, N. V. Krstajic, RuOx nanoparticles deposited on TiO₂ nanotube arrays by ion-exchange method as

electrocatalysts for the hydrogen evolution reaction in acid solution, *Electrochimica Acta*, 2015, 168, 178-190, DOI:10.1016/j.electacta.2015.04.012.

[276] M. Asnavandi, B. H. R. Suryanto, C. Zhao, Controlled electrodeposition of nanostructured Pd thin films from protic ionic liquids for electrocatalytic oxygen reduction reactions, *RSC Advances*, 2015, 5, 74017-74023, DOI:10.1039/C5RA13898A.

[277] C.S. Barin, A. N. Correia, S. A. S. Machado, L. A. Avaca, The effect of concentration on the electrocrystallization mechanism for copper on platinum ultramicroelectrodes. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2000, 11, 175-181, DOI:10.1590/S0103-50532000000200013.

[278] N. N. Che Isa, Y. Mohd, M. H. Mohd Zaki, S. A. Syed Mohamad, Characterization of Copper Coating Electrodeposited on Stainless Steel Substrate, *International Journal of Electrochemical Science*, 2017, 12, 6010-6021, DOI:10.20964/2017.07.58.

[279] K. Chen, X. Feng, R. Hu, Y. Li, K. Xie, Y. Li, H. Gu, Effect of Ag nanoparticle size on the photoelectrochemical properties of Ag decorated TiO₂ nanotube arrays, *Journal of Alloys and Compounds*, 2013, 554, 72-79, DOI:10.1016/j.jallcom.2012.11.126.

[280] C. Bittencourt, M. Hecq, A. Felten, J.J. Pireaux, J. Ghijsen, M.P. Felicissimo, P. Rudolf, W. Drube, X. Ke, G. Van Tendeloo, Platinum–carbon nanotube interaction, *Chemical Physics Letters*, 2008, 462, 260–264, DOI:10.1016/j.cplett.2008.07.082.

[281] X. Pan, Y. J. Xu, Fast and spontaneous reduction of gold ions over oxygen vacancy rich TiO₂: A novel strategy to design defect-based composite photocatalysts, *Applied Catalysis A: General* 2013, 2013, 34-40, DOI:10.1016/j.apcata.2013.04.007.

[282] K. G. Stamplecoskie, J. C. Scaiano, Light Emitting Diode Irradiation Can Control the Morphology and Optical Properties of Silver Nanoparticles, *Journal of the American Chemical Society*, 2010, 6, 1825-1827, DOI:10.1021/ja910010b.

[283] J. G. Kang, Y. Sohn, Interfacial nature of Ag nanoparticles supported on TiO₂ photocatalysts, *Journal of Materials Science* 2012, 47, 824-832, DOI:10.1007/s10853-011-5860-6.

- [284] M. S. A. Aboody, Silver/silver chloride (Ag/AgCl) nanoparticles synthesized from *Azadirachta indica* latex and its antibiofilm activity against fluconazole resistant *Candida tropicalis*, *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology an International Journal*, 2019, 47, 2107-2113, DOI:10.1080/21691401.2019.1620257.
- [285] A. Sharma, S. Kumar, P. Tripathi, A facile and rapid method for green synthesis of *Achyranthes aspera* stem extract-mediated silver nano-composites with cidal potential against *Aedes aegypti* L, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2019, 26, 698-708, DOI:10.1016/j.sjbs.2017.11.001.
- [286] V. Vinoth, J. J. Wu, A. M. Asiri, S. Anandan, Sonochemical synthesis of silver nanoparticles anchored reduced graphene oxide nanosheets for selective and sensitive detection of glutathione, *Ultrasonics Sonochemistry*, 2017, 39, 363-373, DOI:10.1016/j.ultsonch.2017.04.035.
- [287] C. A. Huerta-Aguilar, Y. S. Garcia Gutierrez, P. Thangarasu, Crystal plane directed interaction of TiO₂ [101] with AgNPs [111] silver nanoparticles enhancing solar light induced photo-catalytic oxidation of ciprofloxacin: Experimental and theoretical studies, *Chemical Engineering Journal*, 2020, 394, 124286, DOI:10.1016/j.cej.2020.124286.
- [288] C. R. Henry, Surface studies of supported model catalysts, *Surface Science Reports*, 1998, 31, 231-233, 235-325, DOI:10.1016/S0167-5729(98)00002-8.
- [289] M. G. Pena-Juarez, M. Robles-Martinez, K. B. Mendez-Rodriguez, R. Lopez-Esparza, E. Perez, J. A. Gonzalez-Calderon, Role of the chemical modification of titanium dioxide surface on the interaction with silver nanoparticles and the capability to enhance antimicrobial properties of poly(lactic acid) composites, *Polymer Bulletin*, 2020, DOI:10.1007/s00289-020-03235-y.
- [290] D. Hariharana, P. Thangamuniyandi, A. J. Christy, R. Vasantharaja, P. Selvakumar, S. Sagadevan, A. Pugazhendhi, L. C. Nehru, Enhanced photocatalysis and anticancer activity of green hydrothermal synthesized Ag@TiO₂ nanoparticles, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2020, 202, 111636, DOI:10.1016/j.jphotobiol.2019.111636.

- [291] Z. Zhang, Y. Ma, X. Bu, Q. Wu, Z. Hang, Z. Dong, X. Wu, Facile one-step synthesis of TiO₂/Ag/SnO₂ ternary heterostructures with enhanced visible light photocatalytic activity, *Scientific Reports*, 2018, 8, 10532, DOI:10.1038/s41598-018-28832-w.
- [292] X. H. Yang, H. T. Fu, X. C. Wang, J. L. Yang, X. C. Jiang & A. B. Yu, Synthesis of silver-titanium dioxide nanocomposites for antimicrobial applications, *Journal of Nanoparticle*, 2014, 16, 2526, DOI:10.1007/s11051-014-2526-8.
- [293] C. Su, L. Liu, M. Zhang, Y. Zhanga, C. Shao, Fabrication of Ag/TiO₂ nanoheterostructures with visible light photocatalytic function via a solvothermal approach, *CrystEngComm*, 2012, 14, 3989-3999, DOI:10.1039/c2ce25161b.
- [294] S. B. Rice, C. Chan, S. C. Brown, P. Eschbach, L. Han, D. S. Ensor, A. B. Stefaniak, J. Bonevich, A. E. Vladar, A. R. Hight Walker, J. Zheng, C. Starnes, A. Stromberg, J. Ye, E. A. Grulke, Particle size distributions by transmission electron microscopy: an interlaboratory comparison case study, *Metrologia*, 2013, 50, 663, DOI:10.1088/0026-1394/50/6/663.
- [295] M. H. Lee, B. K. Min, J. S. Son, T. Y. Kwon, Influence of different post-plasma treatment storage conditions on the shear bond strength of veneering porcelain to zirconia, *Materials*, 2016, 9, 43, DOI:10.3390/ma9010043.
- [296] G. Liu, K. Du, K. Wang, Surface wettability of TiO₂ nanotube arrays prepared by electrochemical anodization, *Applied Surface Science*, 2016, 388, 313-320, DOI:10.1016/j.apsusc.2016.01.010.
- [297] C. Pan, T. Liu, Y. Yang, T. Liu, Z. Gong, Y. Wei, L. Quan, Z. Yang, S. Liu, Incorporation of Sr²⁺ and Ag nanoparticles into TiO₂ nanotubes to synergistically enhance osteogenic and antibacterial activities for bone repair, *Materials & Design*, 2020, 196, 109086, DOI:10.1016/j.matdes.2020.109086.
- [298] G. Wang, H. Feng, W. Jin, A. Gao, X. Peng, W. Li, H. Wu, Z. Li, P. K. Chu, Long-term antibacterial characteristics and cytocompatibility of titania nanotubes loaded with Au nanoparticles without photocatalytic effects, *Applied Surface Science*, 2017, 414, 230-237, DOI:10.1016/j.apsusc.2017.04.053.

- [299] A. Radtke, M. Grodzicka, M. Ehlert, T. M. Muzioł, M. Szkodo, M. Bartmański, P. Piszczek, Studies on silver ions releasing processes and mechanical properties of surface-modified titanium alloy implants, *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19, 3962, DOI:10.3390/ijms19123962.
- [300] M. R. S. Abouzari, F. Berkemeier, G. Schmitz, D. Wilmer, On the physical interpretation of constant phase elements, *Solid State Ionics*, 2009, 180, 922-927, DOI:10.1016/j.ssi.2009.04.002.
- [301] X. Shi, A. Tian et al. Electrochemical properties of Ti^{3+} Doped Ag-Ti nanotube arrays coated with hydroxyapatite, *Applied Surface Science*, 2018, 436, 579-584, DOI:10.1016/j.apsusc.2017.12.048.
- [302] V.S. Simi, N. Rajendran. Influence of tunable diameter on the electrochemical behavior and antibacterial activity of titania nanotube arrays for biomedical applications, *Materials Characterization* 2017, 129, 67-79, DOI:10.1016/j.matchar.2017.04.019.
- [303] Q. Xu, G. Wang, M. Zhang, G. Xu, J. Lin, X. Luo, Aptamer based label free thrombin assay based on the use of silver nanoparticles incorporated into self-polymerized dopamine. *Microchimica Acta* 2018, 185, 1-7, DOI:10.1007/s00604-018-2787-5.
- [304] M. Nycz, K. Arkusz, D. G. Pijanowska, Electrodes based on a titanium dioxide nanotube–spherical silver nanoparticle composite for sensing of proteins, *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2021, 7, 105-113, DOI:10.1021/acsbiomaterials.0c01207.
- [305] M. B. Saab, E. A. Ahmar, E. Estephan, Biosensing using a simple resistor: the effect of functionalization on sensing devices, *Journal of Sensors*, 2019, 1-8, DOI:10.1155/2019/6291389.
- [306] H. P. Erickson, Size and shape of protein molecules at the nanometer level determined by sedimentation, gel filtration, and electron microscopy, *Biological Procedures*, 2009, 11, 32-51, DOI:10.1007/s12575-009-9008-x.
- [307] X. Zhao, R. Liu, Y. Teng, X. Liu, The interaction between Ag^+ and bovine serum albumin: a spectroscopic investigation, *Science of The Total Environment*, 2011, 409, 892-897, DOI:10.1016/j.scitotenv.2010.11.004.

- [308] E. Gongadze, D. Kabaso, S. Bauer, T. Slivnik, P. Schmuki, U. Rienen, A. Iglic, Adhesion of osteoblasts to a nanorough titanium implant surface, *International Journal of Nanomedicine*, 2011, 6, 1801-1816, DOI:10.2147/IJN.S21755.
- [309] Z. Guo, C. Chen, Q. Gao, Y. Li, L. Zhang, Fabrication of silver-incorporated TiO₂ nanotubes and evaluation on its antibacterial activity, *Materials Letters*, 2014, 137, 464-467, DOI:10.1016/j.matlet.2014.09.081.
- [310] K. Arkusz, E. Paradowska, M. Nycz, J. Mazurek-Popczyk, K. Baldy-Chudzik, Evaluation of the antibacterial activity of Ag- and Au-nanoparticles loaded TiO₂ Nanotubes, *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2020, 16, 1416-1425, DOI:10.1166/jbn.2020.2979.
- [311] N. Gade, R. K. Mahapatra, A. Sonawane, V. K. Singh, R. Doreswamy, M. Saini, Molecular characterization of heat shock protein 70-1 gene of goat (*Capra Hircus*), *Molecular Biology International*, 2010, 108429, DOI:10.4061/2010/108429.
- [312] K. Arkusz, M. Nycz, E. Paradowska, E. Krasicka-Cydzik, Electrochemical detection method for interleukin-6 on titania nanotube platforms, *Engineering of Biomaterials*, 2014, 17, 21-29.
- [313] J. Condel, J. T. Dias, V. Grazu, M. Moros, P. V. Baptista, J. M. de la Fuente, Revisiting 30 years of biofunctionalization and surface chemistry of inorganic nanoparticles for nanomedicine, *Frontiers in Chemistry*, 2014, 2, DOI:10.3389/fchem.2014.00048.
- [314] R. Zheng, B. W. Park, D. S. Kim, B. D. Cameron, Development of a highly specific amine-terminated aptamer functionalized surface plasmon resonance biosensor for blood protein detection, *Biomedical Optics Express*, 2011, 2, 2731-2740, DOI:10.1364/BOE.2.002731.
- [315] User Guide: NHS and Sulfo-NHS, Thermo Fisher Scientific, Rockford, USA, 2011.
- [316] M. Nycz, K. Arkusz, D. G. Pijanowska, Fabrication of electrochemical biosensor based on titanium dioxide nanotubes and silver nanoparticles for heat shock protein 70 detection, *Materials*, 2021, 14, 3767, DOI:10.3390/ma14133767.

[317] S. Breuninger, J. Erl, C. Knape, S. Gunther, I. Regel, F. Rödel, U. S. Gaip, J. Thorsteinsdottir, L. Giannitrapani, A. M. Dickinson, G. Multhoff, Quantitative Analysis of Liposomal heat shock protein 70 (Hsp70) in the blood of tumor patients using a novel LipHsp70 ELISA., *Clinical & Cellular Immunology*, 2014, 5, 1-10, DOI:10.4172/2155-9899.1000264.

SPIS TABEL

Tabela 1. Właściwości odmian krystalicznych ditlenku tytanu [3, 51].....	25
Tabela 2. Grubość warstwy tlenkowej pod nanorurkami TiO_2 oraz na nieanodowanych powierzchniach tytanowej folii po procesie wyżarzania [98].....	40
Tabela 3. Zestawienie metod wytwarzania AgNPs na TNT.	48
Tabela 4. Podział nanostruktur ze względu na liczbę wymiarów wraz z przykładami.	54
Tabela 5. Opracowane czujniki białka HSP70.....	66
Tabela 6. Aparatura użyta do badań.....	71
Tabela 7. Parametry procesu anodowania zastosowane w celu wytworzenia nanorurek ditlenku tytanu o różnej średnicy i jednakowej wysokości – 1000 nm.....	73
Tabela 8. Zestawienie nazewnictwa elektrod używanego w pracy.....	75
Tabela 9. Szczegóły procedur funkcjonalizacji wykorzystanych przy opracowywaniu czujników do oznaczania białka HSP70 (b.d. oznacza brak danych).....	80
Tabela 10. Wymiary wytworzonych nanorurek TiO_2 oraz wyniki analizy EDS.	83
Tabela 11. Podstawowe wielkości charakteryzujące wytworzone warstwy nanorurek TiO_2	84
Tabela 12. Wartości średnie E_{stac} oraz parametrów impedancyjnych dla nanorurek TiO_2 niewyżarzonych.	87
Tabela 13. Wyniki analizy EDS nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C i 550°C.....	94
Tabela 14. Skład chemiczny (% atomowy) powierzchni TNT o średnicy 50 nm przed i po wyżarzaniu w temperaturach 450°C i 550°C obliczony na podstawie widm XPS.....	97
Tabela 15. Średnie wartości pików prądu katodowego (I_{pk}) i anodowego (I_{pa}) oraz powierzchnia elektrochemicznie czynna (A_{pk} - wyznaczone z I_{pk} , a także A_{pa} wyznaczona z I_{pa}) wyżarzonych TNT.....	106
Tabela 16. Wartości procentowe względnych odchyleń standardowych (RSD) parametrów impedancyjnych nanorurek TiO_2 o średnicy 50 nm niewyżarzonych oraz wyżarzonych w temperaturach 450°C i 550°C.	107
Tabela 17. Rozmiary nanocząstek srebra na TNT wytworzonych metodą woltamperometrii cyklicznej ze zmienną liczbą cykli (^a oznacza platformy z aglomeratami srebra).....	114
Tabela 18. Rozmiary nanocząstek srebra na TNT wytworzonych metodą chronoamperometrii ze zmienną liczbą cykli (^a oznacza platformy z aglomeratami srebra).....	122
Tabela 19. Wartości procentowe względnych odchyleń standardowych (RSD) parametrów impedancyjnych wybranych kompozytów AgNPs/TNT.	137
Tabela 20. Skład chemiczny powierzchni (% at.) obliczony na podstawie widm XPS.....	141
Tabela 21. Wartości elementów obwodu zastępczego oraz odpowiadające im błędy modelowania (X^2) uzyskane dla podłoża TNT oraz AgNPs/TNT.	148
Tabela 22. Zestawienie średnich wartości E_{stac} elektrod TNT i AgNPs/TNT.....	150
Tabela 23. Zmiany parametrów impedancji w kolejnych etapach funkcjonalizacji podłoża oraz unieruchomienia kompleksu anty-HSP70–HSP70 dla stężenia antygenu - 100 ng/ml.....	158
Tabela 24. Porównanie parametrów czujników do detekcji białka HSP70.	160

SPIS RYSUNKÓW

Rysunek 1. Zdjęcia SEM: (widok z góry) samoorganizującej się warstwy nanorurek TiO_2 wytworzonych w procesie anodowania (wstawka: widok z boku) (a), morfologia ścian TNT (b) [47].	23
Rysunek 2. Komórka elementarna (a), najbardziej stabilne termodynamicznie płaszczyzny (b) oraz równowagowy kształt kryształów (c) anatazu, rutyłu oraz brukitu [48-50].	24
Rysunek 3. Zestawienie metod syntezy nanorurek TiO_2 wraz ze zdjęciami SEM/TEM typowych morfologii otrzymywanych nanostruktur [11].	27
Rysunek 4. Schematyczne przedstawienie anodowania tytanu w elektrolitach niezawierających jonów fluorkowych (powstanie płaskich warstw zwartych) (a) i w obecności fluorków (powstanie warstwy nanorurek) (b) [54].	30
Rysunek 5. Charakterystyczne przebiegi krzywych anodowych dla elektrolitu zawierającego i niezawierającego jony fluorkowe (a) oraz odpowiadające im etapy zmian morfologii nanorurek TiO_2 (b) [54].	31
Rysunek 6. Schemat powstawania przestrzeni pomiędzy nanorurkami: tworzenie się porów w warstwie tlenku (a), wzrost porów oraz powstawanie między nimi pustych przestrzeni (b), w pełni rozwinięta matryca nanorurek wraz z widokiem z góry (c) [77].	32
Rysunek 7. Wpływ napięcia anodowania na średnicę i wysokość nanorurek TiO_2 w 1 M kwasie ortofosforowym (V) z 0,3% wagowych HF (a) oraz roztworze wodnym glicerolu (1:1) z 0,27 M NH_4F (b) [82, 83].	35
Rysunek 8. Schemat powstawania struktur igłopodobnych - „nanograss”, na powierzchni nanorurek TiO_2 .	36
Rysunek 9. Wpływ zawartości wody 16,7%, 0,67% i 0% na morfologię ścian nanorurek TiO_2 wytwarzanych w roztworze wodnym glicerolu z 0,27 M NH_4F [83].	36
Rysunek 10. Wpływ napięcia anodowania na grubość warstwy barierowej [83].	37
Rysunek 11. Morfologia TNT po wyżarzaniu w temperaturze około 500°C (a), 600°C (b) i 700°C (c) [86-87].	39
Rysunek 12. Schemat krystalizacji nanorurek TiO_2 [86].	40
Rysunek 13. Wpływ atmosfery i temperatury wyżarzania na rezystancję nanorurek TiO_2 [102].	42
Rysunek 14. Wykres fazowy tytan-tlen w funkcji temperatury wyżarzania [104].	43
Rysunek 15. Wpływ temperatury wyżarzania na ilość grup OH^- i wody w warstwie powierzchniowej tytanu oraz nanorurek TiO_2 o różnych średnicach [87].	45
Rysunek 16. Schemat budowy czujnika elektrochemicznego [179].	56
Rysunek 17. Woltamperometria cykliczna, zmiany potencjału elektrody pracującej w czasie (a) oraz woltamperogram - zależność natężenia prądu od potencjału elektrody pracującej $I = f(E)$ podczas reakcji utleniania/redukcji (b).	58
Rysunek 18. Rodzaje odpowiedzi prądowych elektrod dla układu odwracalnego (a), odwracalnego układu redoks zaadsorbowanego na powierzchni elektrody (b), układu quasi-odwracalnego (c) oraz nieodwracalnego (c).	60
Rysunek 19. Pobudzający sygnał sinusoidalny wraz z odpowiedzią układu (a) oraz graficzna interpretacja wektora impedancji (b).	61
Rysunek 20. Typowe charakterystyki Nyquista dla procesów quasi-odwracalnych (a), odwracalnych (b) i nieodwracalnych (c).	62
Rysunek 21. Typowe opisywane w literaturze obwody zastępcze wraz z charakterystykami impedancyjnymi.	64
Rysunek 22. Schemat badań.	73

Rysunek 23. Schemat funkcjonalizacji podłoża elektrody.....	79
Rysunek 24. Zdjęcia SEM (widok z góry) nanorurek TiO_2 o średnicy: 25 (a), 50 (b) i 75 (c) nm oraz typowy widok TNT z boku (d).	82
Rysunek 25. Dyfraktogramy XRD zarejestrowane dla nanorurek TiO_2 niewyżarzonych.	85
Rysunek 26. Krzywe OCP zarejestrowane dla nanorurek TiO_2 niewyżarzonych.....	86
Rysunek 27. Wykres Nyquista zarejestrowany dla nanorurek TiO_2 niewyżarzonych w zakresie częstotliwości od 0,1 do 10^5 Hz.	88
Rysunek 28. Wykresy Bodego uzyskane dla niewyżarzonych nanorurek TiO_2	89
Rysunek 29. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla nanorurek TiO_2 niewyżarzonych (a) oraz dziesięć cykli dla TNT o średnicy 50 nm (b) zarejestrowane w roztworze PBS.....	89
Rysunek 30. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla nanorurek TiO_2 niewyżarzonych o różnej średnicy (a) oraz dziesięć cykli dla TNT o średnicy 50 nm (b) zarejestrowane w roztworze żelazicyjanku potasu w chlorku potasu.....	90
Rysunek 31. Zdjęcia SEM nanorurek TiO_2 : o średnicy 25 nm wyżarzonych w temperaturach 450°C (a) i 550°C (b), o średnicy 50 nm wyżarzonych w temperaturach 450°C (c) i 550°C (d) oraz o średnicy 75 nm wyżarzonych w temperaturach 450°C (e) i 550°C (f).	93
Rysunek 32. Dyfraktogramy XRD zarejestrowane dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C (a) i 550°C (b).	95
Rysunek 33. Procentowa zawartość anatazu w nanorurkach TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C i 550°C.....	96
Rysunek 34. Zestawienie widm XPS zarejestrowanych dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C (a) i 550°C (b), oraz widmo Ti 2p (c) i O 1s (d) uzyskanych dla TNT o średnicy 50 nm wyżarzonych w temperaturze 450°C.....	97
Rysunek 35. Krzywe OCP zarejestrowane dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C (a) i 550°C (b).	98
Rysunek 36. Zestawienie wartości średnich potencjału stacjonarnego nanorurek TiO_2 niewyżarzonych i wyżarzonych.	99
Rysunek 37. Krzywe Nyquista zarejestrowane dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C (a) i 550°C (wstawka przedstawia zestawienie charakterystyk Nyquista dla TNT o średnicy 50 nm TNT przed i po wyżarzaniu) (b) w zakresie częstotliwości od 0,1 do 10^5 Hz.....	100
Rysunek 38. Wykresy Bodego uzyskane dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C (a-b) i 550°C (c-d).	101
Rysunek 39. Zestawienie wartości średnich modułu impedancji nanorurek TiO_2 niewyżarzonych i wyżarzonych.	102
Rysunek 40. Zestawienie wartości średniej kąta zwilżania nanorurek TiO_2 niewyżarzonych i wyżarzonych przy częstotliwości: 0,1 Hz (a) i 100000 Hz (b).	103
Rysunek 41. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C (a) i 550°C (b) oraz dziesięć cykli dla TNT o średnicy 75 nm wyżarzonej w 450°C (c) i 550°C (d) zarejestrowane w roztworze PBS.....	104
Rysunek 42. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla nanorurek TiO_2 wyżarzonych w temperaturach 450°C (a) i 550°C (b) oraz dziesięć cykli dla TNT o średnicy 50 nm wyżarzonej w 450°C (c) i 550°C (d) zarejestrowane w roztworze żelazicyjanku potasu w chlorku potasu.	105
Rysunek 43. Krzywa woltamperometryczna uzyskana dla TNT o średnicy 50 nm wyżarzonych w 450°C (a) oraz zestawienie trzech cykli (b) zarejestrowanych w roztworze AgNO_3	110
Rysunek 44. Ostatnie woltamperogramy z elektrodepozycji zarejestrowane dla próbek różniących się liczbą cykli osadzania AgNPs na TNT (wstawka: ostatni cykl osadzania dla elektrody (Ag/TNT) (a) oraz 15 cykli osadzania dla próbki 15cv_AgNPs/TNT (b).	110

Rysunek 45. Zdjęcia SEM (widok z góry) nanocząstek srebra wytworzonych na nanorurkach TiO_2 metodą woltamperometrii cyklicznej w 5 (a), 10 (b), 15 (c), 20 (d), 25 (e) i 30 cyklach (f), a także typowy widok z boku TNT z nanocząstkami Ag (strzałkami zaznaczono nanocząstki wewnątrz struktury TNT).	112
Rysunek 46. Zdjęcia SEM struktur AgNPs/TNT wytworzonych w 15 cyklach osadzania w 10 mM roztworze prekursora (a) oraz w 25 cyklach depozycji w roztworze 50 mM (b).	113
Rysunek 47. Wykres zależności zawartości srebra od liczby cykli osadzania nanocząstek srebra na TNT metodą woltamperometrii cyklicznej.....	114
Rysunek 48. Zarejestrowane krzywe OCP (a) oraz zestawienie wartości średnich E_{stac} (b) platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą woltamperometrii cyklicznej ze zmienną liczbą cykli osadzania.	116
Rysunek 49. Wykres Nyquista (wstawka: zestawienie wartości średnich $ Z $) (a) i Bodego (b) zarejestrowany dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą woltamperometrii cyklicznej ze zmienną liczbą cykli osadzania w zakresie częstotliwości od 0,1 do 10^5 Hz.....	118
Rysunek 50. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą woltamperometrii cyklicznej (a) oraz 10 cykli dla próbki 20cv_AgNPs/TNT (b) zarejestrowane w roztworze PBS.	119
Rysunek 51. Wykres elektroosadzania AgNPs na TNT metodą chronoamperometrii ze zmiennym czasem depozycji.....	121
Rysunek 52. Zdjęcia SEM nanocząstek srebra wytworzonych na TNT metodą chronoamperometrii przez 30 (a), 60 (b), 120 (c), 180 (d), 240 (e) i 300 sekund (f).....	122
Rysunek 53. Wykres zależności zawartości srebra od czasu osadzania nanocząstek srebra na TNT metodą chronoamperometryczną.....	123
Rysunek 54. Zarejestrowane krzywe OCP (a) oraz zestawienie wartości średnich potencjału stacjonarnego E_{stac} (b) dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą chronoamperometrii ze zmiennym czasem osadzania.....	124
Rysunek 55. Wykres Nyquista (wstawka: zestawienie wartości średnich $ Z $) (a) i Bodego (b) zarejestrowany dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą chronoamperometrii ze zmiennym czasem osadzania w zakresie częstotliwości od 0,1 do 10^5 Hz.	125
Rysunek 56. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą chronoamperometrii (a) oraz 10 cykli dla próbki 240ca_AgNPs/TNT (b) zarejestrowane w roztworze PBS.....	126
Rysunek 57. Zdjęcia SEM (widok z góry) nanocząstek srebra wytworzonych na nanorurkach TiO_2 metodą napyłania próżniowego przez 10 (a), 20 (b), 40 (c) i 60 sekund (d), a także typowy widok z boku nanokompozytu AgNPs/TNT (próbka 20sp_AgNPs/TNT) (e) i (f) (strzałkami zaznaczono nanocząstki wewnątrz struktury TNT).	127
Rysunek 58. Wykres zależności zawartości srebra (a) oraz grubości warstwy srebra (b) od czasu depozycji metodą napyłania próżniowego.	128
Rysunek 59. Zarejestrowane krzywe OCP (a) oraz zestawienie wartości średnich potencjału stacjonarnego E_{stac} (b) platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą napyłania próżniowego ze zmiennym czasem depozycji.....	129
Rysunek 60. Wykres Nyquista (wstawka: zestawienie wartości średnich $ Z $) (a) i Bodego (b) zarejestrowany dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą napyłania próżniowego ze zmiennym czasem depozycji w zakresie częstotliwości od 0,1 do 10^5 Hz.....	130
Rysunek 61. Krzywe woltamperometryczne uzyskane dla AgNPs/TNT wytworzonych metodą napyłania próżniowego (a) oraz 10 cykli dla próbek 10sp_AgNPs/TNT i 60sp_AgNPs/TNT (b) zarejestrowane w roztworze PBS.	131

Rysunek 62. Zdjęcia SEM nanocząstek srebra wytworzonych na nanorurkach TiO_2 metodą fotoredukcji po 1 (a) i 24 godzinach zanurzenia TNT w roztworze prekursora (b), oraz fotoredukcji połączonej z wygrzewaniem w piecu po wcześniejszym 1- (c) i 24-godzinnym (d) zanurzeniu TNT w AgNO_3 .	132
Rysunek 63. Zarejestrowane krzywe OCP (a) oraz zestawienie wartości średnich potencjału stacjonarnego E_{stac} (b) platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą fotoredukcji ze zmiennym czasem zanurzenia TNT w roztworze prekursora (AgNO_3).	133
Rysunek 64. Wykres Nyquista (wstawka: zestawienie wartości średnich $ Z $) (a) i Bodego (b) zarejestrowane dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą fotoredukcji ze zmiennym czasem zanurzenia TNT w roztworze prekursora w zakresie częstotliwości od 0,1 do 10^5 Hz.	134
Rysunek 65. Krzywe voltamperometryczne uzyskane dla platform AgNPs/TNT wytworzonych metodą fotoredukcji (a) oraz 10 cykli dla próbki Iuv_AgNPs/TNT (b) zarejestrowane w roztworze PBS.	135
Rysunek 66. Dyfraktogramy XRD zarejestrowane dla wybranych elektrod AgNPs/TNT oraz odniesienia w postaci TNT i Ag/TNT .	139
Rysunek 67. Zestawienie widm XPS zarejestrowanych dla wybranych elektrod AgNPs/TNT oraz odniesienia w postaci TNT i Ag/TNT (a) oraz widma Ti 2p (b), O 1s (c) i Ag 3d (d) uzyskane dla próbki cv_AgNPs/TNT .	140
Rysunek 68. Zestawienia widm Ti 2p (a), O 1s (b) zarejestrowanych dla wybranych elektrod AgNPs/TNT oraz odniesienia w postaci TNT i Ag/TNT .	142
Rysunek 69. Schematyczne przedstawienie wiązania srebra z nanorurkami TiO_2 .	142
Rysunek 70. Zdjęcia SEM platform: cv_AgNPs/TNT (a), ca_AgNPs/TNT (b), 10sp_AgNPs/TNT (c) oraz 20sp_AgNPs/TNT (d) wraz z histogramami rozkładu wielkości nanocząstek.	143
Rysunek 71. Zestawienie wartości kąta zwilżania oraz energii swobodnej dla wybranych próbek AgNPs/TNT na podstawie badań własnych oraz literaturowych dla Ti oraz TNT niewyżarzzonego (w nawiasie podano zawartość procentową srebra) [95].	145
Rysunek 72. Wykresy Nyquista (a) i Bodego (b) zarejestrowane dla elektrod TNT i AgNPs/TNT wytworzonych metodami elektrowytrącenia i napyłania próżniowego (wstawka: obwód zastępczy używany do dopasowania danych EIS) w zakresie częstotliwości od 0,1 do 10^5 Hz w roztworze PBS.	147
Rysunek 73. Wyniki dopasowania danych EIS uzyskane dla próbek TNT (a), cv_AgNPs/TNT (b), 10sp_AgNPs/TNT (c), ca_AgNPs/TNT (d), oraz 20sp_AgNPs/TNT (e) do obwodu $[\text{Rs}(\text{R1Q1})(\text{R2Q2})]$.	149
Rysunek 74. Wykresy procentowej zmiany parametrów impedancji wynikających z unieruchomienia BSA na elektrodach TNT i AgNPs/TNT przez 0,5 h i 1 h dla: części rzeczywistej impedancji (a), modułu impedancji (b), urojonej części impedancji (c) oraz kąta fazowego dla najniższych częstotliwości (d) po 1 i 2 płukaniach.	152
Rysunek 75. Wykres Bodego przed i po 1 h osadzaniu BSA zarejestrowany dla: cv_AgNPs/TNT (a) oraz 20sp_AgNPs/TNT (b).	153
Rysunek 76. Obrazy SEM próbek TNT po 0,5 h (a) i 1 h (b) osadzania BSA oraz (c) i (g) cv_AgNPs/TNT , (d) i (h) ca_AgNPs/TNT (e) i (i) 10sp_AgNPs/TNT , (f) i (j) 20sp_AgNPs/TNT . W przypadku próbek (c)-(f) osadzanie BSA trwało 0,5h, a dla pozostałych 1h.	154
Rysunek 77. Wykresy procentowej zmiany parametrów impedancji po osadzaniu przeciwciał skierowanych przeciwko BSA (anty-BSA), BSA oraz IL-6 na: cv_AgNPs/TNT (a) i 20sp_AgNPs/TNT (b).	155
Rysunek 78. Reakcje z udziałem EDC i NHS, gdzie: (1) oznacza podłoże AgNPs/TNT z SAM, a (2) stanowi przeciwciało HSP70 [315].	157

Rysunek 79. Krzywa kalibracyjna czujnika impedancyjnego AgNPs/TNT do oznaczania HSP70.	159
--	-----

I. Artykuły w czasopismach

1. **M. Nycz**, K. Arkusz, D. G. Pijanowska, Fabrication of electrochemical biosensor based on titanium dioxide nanotubes and silver nanoparticles for heat shock protein 70 detection, *Materials*, 2021, 14, 3767.
2. K. Arkusz, **M. Nycz**, E. Paradowska, D. G. Pijanowska, Electrochemical stability of TiO₂ nanotubes deposited with silver and gold nanoparticles in aqueous environment, *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 2021, 15, 1-12.
3. **M. Nycz**, K. Arkusz, D. G. Pijanowska, Electrodes based on a titanium dioxide nanotube–spherical silver nanoparticle composite for sensing of proteins, *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2021, 7, 105-113.
4. K. Arkusz, E. Paradowska, **M. Nycz**, J. Mazurek-Popczyk, K. Baldy-Chudzik, Evaluation of the antibacterial activity of Ag- and Au-nanoparticles loaded TiO₂ Nanotubes, *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2020, 16, 1416-1425.
5. **M. Nycz**, E. Paradowska, K. Arkusz, D. G. Pijanowska, Influence of geometry and annealing temperature in argon atmosphere of TiO₂ nanotubes on their electrochemical properties, 2020, *Acta of Bioengineering and Biomechanics*, 22, 165-177.
6. K. Arkusz, **M. Nycz**, E. Paradowska, Electrochemical evaluation of the compact and nanotubular oxide layer destruction under ex vivo Ti6Al4V ELI transpedicular screw implantation, 2020, *Materials*, 13, 1-16.
7. **M. Nycz**, K. Arkusz, D. G. Pijanowska, Influence of the silver nanoparticles (AgNPs) formation conditions onto titanium dioxide (TiO₂) nanotubes-based electrodes on their impedimetric response, 2019, *Nanomaterials*, 9, 8, 1-16.
8. E. Paradowska, **M. Nycz**, B. Kudliński, Elżbieta Krasicka-Cydzik, Impedimetric method to monitor biological layer formation on central venous catheters for hemodialysis made of carbothane, *Biomechanics in Medicine and Biology: Proceedings of the International Conference of the Polish Society of Biomechanics*, Springer Nature Switzerland (Advances in Intelligent Systems and Computing 831), 2019, 45-55.
9. **M. Nycz**, E. Paradowska, K. Arkusz, B. Kudliński, E. Krasicka-Cydzik, Surface analysis of long-term hemodialysis catheters made of carbothane

(poly(carbonate)urethane) before and after implantation in the patients' bodies, *Acta of Bioengineering and Biomechanics*, 2018, 20, 165-177.

10. K. Arkusz, E. Paradowska, **M. Nycz**, E. Krasicka-Cydzik, Influence of Thermal Modification and Morphology of TiO₂ Nanotubes on Their Electrochemical Properties for Biosensors Applications, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2018, 18, 3713-3721.
11. M. Lechów, H. Piatek, E. Paradowska, **M. Nycz**, Examination of deteriogenic biofilms on building facades with scanning electron microscopy, *Civil and Environmental Engineering Reports*, 2016, 20, 79-88.
12. K. Arkusz, **M. Nycz**, E. Paradowska, E. Krasicka-Cydzik, Electrochemical detection method for interleukin-6 on titania nanotube platforms, *Engineering of Biomaterials*, 2014, 17, 21-29.

II. Konferencje

1. K. Arkusz, **M. Nycz**, E. Paradowska, D. G. Pijanowska, Corrosive and antibacterial properties of titanium nanotubes surface-modified thermally and with silver nanoparticles, XXII Polish Conference on Biocybernetics and Biomedical Engineering, Warszawa, Polska, 2021.
2. K. Arkusz, **M. Nycz**, E. Paradowska, K. Marcinowicz, właściwości antybakteryjne nanorurek ditlenku tytanu modyfikowanych nanocząstkami srebra, II Ogólnopolska Konferencja Naukowa IMPLANTY 2019: "Nowoczesna implantologia - dylematy i nadzieje", Gdańsk, Polska, 2019.
3. E. Paradowska, **M. Nycz**, K. Arkusz, D. G. Pijanowska, Wpływ metod osadzania nanocząsteczek złota na właściwości elektrochemiczne podłoża nanorurek ditlenku tytanu, IX Krajowa Konferencja Nanotechnologii - NANO 2019, Wrocław, Polska, 2019.
4. **M. Nycz**, E. Paradowska, K. Arkusz, D. G. Pijanowska, Wpływ nanocząsteczek srebra na charakterystykę elektrochemiczną elektrod na bazie nanorurek ditlenku tytanu, IX Krajowa Konferencja Nanotechnologii – NANO 2019, Wrocław, Polska, 2019.
5. E. Paradowska, **M. Nycz**, K. Arkusz, B. Kudliński, E. Krasicka-Cydzik, Impedimetric method to monitor biological layer formation on central venous catheters for

- hemodialysis made of carbothane, International Conference of the Polish Society of Biomechanics - BIOMECHANICS 2018, Zielona Góra, Polska, 2018.
6. E. Paradowska, **M. Nycz**, B. Kudliński, E. Krasicka-Cydzik, Evaluation of hemodialysis catheters by SEM and impedimetric analysis, International Conference Cybernetic Modelling of Biological Systems - MCSB 2015, Kraków, Polska, 2015.
 7. **M. Nycz**, E. Paradowska, K. Arkusz, B. Kudliński, E. Krasicka-Cydzik, O przyczynach powstawania biofilmu w długoterminowych cewnikach hemodializacyjnych, Biocybernetyka i inżynieria biomedyczna, XIX krajowa konferencja naukowa, Warszawa, Polska, 2015.

III. Projekty badawcze

1. **Kierownik** grantu NCN o numerze 2017/27/N/ST7/01702, Elektrochemiczna metoda oznaczania poziomu białek szoku cieplnego z wykorzystaniem biocujników opartych na podłożu nanorurek ditlenku tytanu na folii tytanowej modyfikowanym nanocząsteczkami srebra, 2018-2021.
2. **Wykonawca** w grantie MNiSW o numerze 003/RID/2018/19, Laboratorium inżynierii badań materiałowych, 2019-2022.
3. **Wykonawca** w grantie NCBiR o numerze DODR-BIO4/022/13149/2013, Analiza traumatologicznych skutków destrukcji układu kostno-stawowego pod wpływem obciążeń impulsowych, 2015.