

Wydział Inżynierii Metali i Informatyki Przemysłowej

KATEDRA METALOZNAWSTWA I METALURGII PROSZKÓW
Międzynarodowe Centrum Mikroskopii Elektronowej dla Inżynierii Materiałowej

dr hab. inż. Urszula Stachewicz

Tel. +48 12 617 52 30;

e-mail: ustachew@agh.edu.pl

Kraków, 10 grudnia 2019 r.

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Żanety Lewandowskiej, pt.
„Powierzchniowa modyfikacja podłoży tytanowych metodą elektrochemicznego utleniania oraz badania nad zastosowaniem wytwarzanych powłok w medycynie”

wykonanej na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydziale Chemii i Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska, pod kierunkiem dr hab. Piotra Piszczka, prof. UMK i prof. dr hab. Wiesława Kozaka

1. Charakterystyka pracy doktorskiej

Praca doktorska Pani mgr Żanety Lewandowskiej zawiera wyniki badań związane z otrzymywaniem powłok na podłożach tytanowych za pomocą elektrochemicznej metody utleniania anodowego, wraz z ich charakteryzacją fizykochemiczną i aktywnością biologiczną. Cele prace zostały jasno określone jako:

- modyfikacja powierzchni implantu tytanowego polegającej na utworzeniu warstwy ditlenku tytanu w postaci nanorurek TiO_2 (TNT)
- wytworzenie powłok o odpowiednich właściwościach biointegracyjnych i aktywności biologicznej do zastosowań na implanty szczękowo-twarzowe
- określenie właściwości fizykochemicznych, w tym zbadanie morfologii uzyskanych warstw, identyfikacja jakościowa oraz sprawdzenie hydrofilowości powierzchni
- opracowanie metody wzbogacania uzyskanych warstw TNT nanocząstkami srebra z wykorzystaniem metody chemicznego osadzania z fazy gazowej, do wytworzenia materiału kompozytowego TNT/AgNPs charakteryzującego się dobrymi właściwościami biobójczymi

- uzyskane biomateriału o immunologiczne oraz mikrobiologiczne otrzymanych biomateriałów oraz sprawdzono ich stabilność i trwałość w środowisku płynów ustrojowych.

Rozprawa doktorska obejmuje 195 stron i składa się z 12 rozdziałów: wprowadzenie z przeglądem literatury, cele pracy, metody eksperymentalne, wyniki badań wraz z dyskusją i wnioski oraz bibliografię zawierającą 301 pozycji. Ponadto Doktorantka umieściła streszczenie pracy w języku polskim i angielskim oraz wykaz skrótów i oznaczeń. Praca posiada 67 rysunków i 10 tabel. Rozdział pierwszy zawiera wprowadzenie w tematykę badawczą, w tym informacje na temat implantów tytanowych i ich modyfikacji. Części teoretyczną rozpoczęła od definicji biomateriału i implantu, z zarysem historycznym i podziałem na materiały pochodzenia naturalnego i syntetycznego. Podkreśla znaczenie biokompatybilności, wytrzymałości, trwałości i łatwości obróbki materiału i sterylizacji. W dalszej części opisane zostały biomateriały polimerowe, ceramiczne, metale i ich stopy oraz kompozyty. W drugim rozdziale Autorka skupia się na procesie oddziaływania komórek z powierzchnią metalu, opisując proces regeneracji składający się z regeneracji okostnej, procesu resorpcji i procesu przebudowy. Powierzchnia biomateriału i jej własności są niezwykle ważne w procesie adsorpcji białek i tworzeniu macierzy pozakomórkowej. Dokładnie opisała proces oddziaływań na granicy komórka-materiał, podkreślając w ten sposób znacznie na proces odbudowy kości obejmujący osteoindukcję, osteokondukcję i osseointegrację. W kolejnym rozdziale zostały opisane technologie modyfikacji podłoży tytanowych obejmujące mechaniczne, fizyczne, chemiczne i biochemiczne metody modyfikacji podłoży tytanowych. Do najczęściej stosowanych metod chemicznych zaliczamy: zol-żel, trawienie powierzchni podłoża i utlenianie anodowe, a do biochemicznych immobilizację białek ECM, osadzanie białek, generowanie powłok zawierających DNA i modyfikacje enzymatyczne. W pracy została zaznaczona istota problemu aktywności przeciwdrobnoustrojowej, która jest niezwykle ważna w leczeniu implantologicznym, gdzie najczęściej stosowane są nanocząstki srebra. Jednak jak sama Autorka zaznacza, dokładny mechanizm działania bakteriobójczego Ag nie został jeszcze do końca poznany, choć proponowanych jest kilka wariantów. Autorka w jasny sposób przedstawia znaczenie swoich badań w kontekście już innych metod stosowanych na otrzymywanie warstw TNT/AgNPs.

W mojej ocenie zakres przeglądu literatury został dobrany trafnie i rzetelnie przedstawiony, w związku z czym Doktorantka jasno sformułowała cele pracy i zaplanowała badania eksperymentalne. Szeroki i bardzo dobrze zestawiony opis literatury pozwolił Doktorantce w dalszej części pracy przeprowadzić przejrzystą dyskusję otrzymanych wyników.

W części doświadczalnej w rozdziale 5 został opisany został proces wytwarzania nanorurek TiO_2 na podłożach tytanu. Wytworzone warstwy zostały przeanalizowane z użyciem następujących technik: dyfraktometrii, transmisyjnego mikroskopu elektronowego, spektroskopii odbicia rozproszonego w podczerwieni, spektroskopii Ramana, rentgenowskiej spektroskopii fotoelektronów i mikroanalizy rentgenowskiej z dyspersją

energii. Powierzchnia właściwa została scharakteryzowana poprzez izotermy adsorpcji otrzymane metodą BET. Dodatkowo przeanalizowano proces uwalnianie jonów srebra i pełne badania immunologiczne. Dobór technik badawczych potwierdza zrozumienie tematyki i dojrzałość naukową Autorki rozprawy.

Autorka przeprowadziła dyskusję wpływu parametrów procesu anodowania na morfologię otrzymanych warstw nanorurek ditlenku tytanu. Najlepsze wyniki utleniania anodowego powierzchni folii tytanowej uzyskano stosując 0,3% wodny roztwór kwasu fluorowodorowego. Wytworzone powłoki są amorficzne. Jednym z głównych wniosków jest to, że proces tworzenia się i wzrostu nanorurek TiO_2 zależy bezpośrednio od wielkości przyłożonego potencjału w zakresie do 10 V. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem napięcia następuje wzrost średnic nanorurek ditlenku tytanu. Srebro zostało naniesione na powierzchnię z nanorurek TiO_2 metodą chemicznego osadzania z fazy gazowej CVD. Rozmieszczenia ziaren Ag jak ich wielkość są niezwykle ważne bo wpływają na efekt uwalniania jonów srebra.

2. Ocena pracy

Badania zostały przeprowadzone w sposób systematyczny i staranny. Zaletą pracy jest podjęcie bardzo ciekawej tematyki pracy, której celem było opracowanie szybkiej i taniej metody modyfikacji powierzchni implantu. Autorka w swojej pracy proponuje bardzo oryginalne i kompleksowe podejście do badań, które wraz z analizą wyników nie budzą wątpliwości i zostały wykonane poprawnie z naukowym podejściem do problemu.

Po przeczytaniu pracy nasuwa się jednak kilka uwag, przedstawionych w poniżej w punktach:

1. Mimo zaznaczenia celu jako opracowania szybkiej i taniej metody modyfikacji powierzchni implantu Autorka nie odnosi się do kosztów wytworzenia implantu wraz z jego pokryciem. Nie ma też porównania cenowego w stosunku do pozostałych metod.
2. Sposób mierzenia średnicy nanorurek powinien być pokazany w sekcji metod ponieważ ich przekrój nie jest kołem, kształt jest dość nieregularny, przykład na Rys. 17. Sposób pomiaru wpływa na wyniki i ich interpretację.
3. Myślę że ciekawe byłoby pokazanie fitografii warstw, zwłaszcza że mają inne kolory w zależności w jaki sposób i jak długo są wytwarzane.
4. Pod jakim kątem zostały wykonane pomiary XPS i jaki obszar został przeanalizowany?
5. W pracy został pokazany współczynnik chropowatości R_t , czy ten współczynnik może być porównany ze współczynnikiem R_a który jest częściej stosowany w literaturze.

6. Odnośnie katów zwilżania, na wykresie na Rys. 35 zostałaznaczony linia 65° jak granica między hydrofobową a hydrofilową powłoką. Ogólnie uznana granica jest między 80 a 90 °, skąd zatem bierze się granica 65°?
7. Na str. 113, ostateczne zdanie: „Według wykonanych badań XPS, zawartość fluoru jest większa dla próbek otrzymanych z zastosowaniem wyższego przyłożonego napięcia, co wiązałoby się ze zwiększeniem poziomu zwilżalności”
Co to jest poziom zwilżalności i jak właśnie fluor wpływa na kąt zwilżania?
8. Odnośnie badań biokompatybilności nie da się zauważyć braku obserwacji i zdjęć z mikroskopu fluorescencyjnego.
9. Obrazy SEM fibroblastów pokazują wytwarzanie filopodiów jednakże ich kształt pozostaje dalej kulisty a nie spłaszczony. Brak jest dyskusji w tym temacie.
10. Brak informacji o samej preparatyce próbek powłok z komórkami na SEM.
11. Autorka sama zwraca uwagę na konieczność wykonania dalszych badań in vitro na osteoblastach co dałoby większe spektrum analizy powłok w pod względem ich przeszłego zastosowania.
12. W pracy da się zauważyć kilka niedociągnięć edytorskich, takich jak:
 - Inna czcionka przy opisie a Ref. 174 – str. 96
 - Rys. 26 str. 98 słabo widoczna skala – marker i opisu co jest a..b...c
 - Rys. 30, 31, 32 – 33– nie ma oznaczeń a.. b ...
 - Skróty takie jak HRTEM są tłumaczone kilka razy, albo nie używane
 - Opisy niektórych rysunków są dość lakoniczne
 - Rys. 39 widma są prawie nie widoczne
 - Rys. 60 – niewiele wnosi, nie widać komórek?
 - W podsumowaniu niektóre wnioski się zazębiają czyli są powtórzone.

Uwagi o charakterze dyskusyjnym i uwagi redakcyjne zawarte w tej recenzji nie wpływają na pozytywną ocenę pracy. Są one wskazówkami przydanymi w dalszym rozwoju naukowo-badawczym Doktorantki.

3. Ocena końcowa pracy

Po zapoznaniu się z pracą doktorską i przeanalizowaniu wyników stwierdzam, że cele badawcze zostały bardzo dobrze opisane i rozważone. Praca ta jest świetnym przykładem interdyscyplinarnych badań obejmujących metody wywarzania powłok, ich charakteryzację połączoną z odpowiedziami biologicznymi. Z tego względu praca

powinna zostać wyróżniona, ponieważ obejmuje niezwykle ważne tematy z możliwością zastosowania otrzymanych wyników.

Praca Pani mgr Żanety Lewandowskiej pt. „Powierzchniowa modyfikacja podłoża tytanowych metodą elektrochemicznego utleniania oraz badania nad zastosowaniem wytwarzanych powłok w medycynie” zawiera wartościowe wyniki badań i ich dyskusję. Według mojej opinii praca ta spełnia wszystkie kryteria stawiane rozprawom doktorskim, określone ustawą o stopniach i tytułach naukowych. Wniosuję do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o przyjęcie rozprawy doktorskiej i o dopuszczenie Pani mgr Żanety Lewandowskiej do publicznej obrony.

Urszula Stachewicz

