



Poznań, 4 grudnia 2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Katarzyny Leśniak-Ziółkowskiej  
pt.

**„Nowa generacja powierzchni bakteriostatycznych/antybakteryjnych  
otrzymywanych metodą PEO w zawiesinach związków srebra, miedzi i cynku na  
implantach dedykowanych tkance twardej”**

(opracowana na zlecenie Rady Dyscypliny Inżynieria Chemiczna Politechniki Śląskiej)  
(pismo z dnia 11.10.2023 r.)

**Informacje ogólne**

Przesłana do recenzji rozprawa doktorska, pani mgr inż. Katarzyny Leśniak-Ziółkowskiej, dotyczy uzyskania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria chemiczna. Promotorem powyższej rozprawy doktorskiej jest prof. dr hab. inż. Wojciech Simka a promotorem pomocniczym dr hab. inż. Alicja Kazek-Kęsik.

Recenzowana rozprawa doktorska przygotowana jest w klasycznej formie rozprawy doktorskiej, w postaci monografii. Obejmuje ona łącznie 135 strony i pogrupowana jest na 6 rozdziałów obejmujące takie elementy jak: wstęp, cel pracy, metodyka badawcza, wyniki badań i ich omówienie, podsumowanie i literatura. Praca zawiera również na początku streszczenie w języku polskim i angielskim. Rozprawa napisana w tej formie zawiera 6 tabel, 38 rysunków i zakończona jest bogatym, 171 punktowym spisem literatury.

Autorka rozprawy doktorskiej podjęła się przeprowadzenia kompleksowych badań powierzchni wybranych stopów tytanu charakteryzujących się działaniem antybakteryjnym a również cytokompatybilnością z wykorzystaniem związków cynku, miedzi i srebra w procesie plazmowego utleniania elektrochemicznego. Celem tych działań było powierzchniowe modyfikowanie stopów tytanu w celu wytworzenia porowatych warstw tlenkowych na modyfikowanych powierzchniach. Poszukiwanie odpowiedniej klasy stopów tytanu z odpowiednio zmodyfikowaną powierzchnią poprzez wprowadzenie warstw tlenkowych z takimi dodatkami jak cynk, miedź, czy srebro jest istotnym elementem w poszukiwaniu innowacyjnych biomateriałów znajdujących swoje zastosowanie w implantologii medycznej.

Motorem tego typu badań, zawartych w recenzowanej rozprawie, jest niewątpliwie ciągła potrzeba poszukiwania nowej klasy biomateriałów implantacyjnych charakteryzujących się odpowiednimi parametrami mechanicznymi, trwałością, odpowiednimi właściwościami bakteriostatycznymi, a przy okazji jak największą cytokompatybilnością w celu jak najlepszej możliwości narastania na

powierzchni implantu materiału biologicznego (np. odbudowa kości, itp.). Zatem wyzwanie naukowe postawione przez Autorkę rozprawy jest bardzo ambitne, a poza tym wpisujące się w bardzo ważne trendy badawcze w zakresie inżynierii materiałowej, technologii chemicznej, inżynierii biomedycznej. Stąd charakter rozprawy ma charakter bardzo interdyscyplinarny, co w dobie współczesnych wyzwań naukowych stanowi ogromny atut.

### Ocena rozprawy doktorskiej

We wstępie rozprawy Autorka odnosi się do opisu biomateriałów, w tym biomateriałów tytanowych opisując klasy tych materiałów, wymagania stawiane materiałom implantacyjnym jak: biogodność, cechy jego powierzchni jak chropowatość i zwilżalność oraz właściwości mechaniczne jak twardość, kruchość, elastyczność, odporność na ścieranie i zginanie oraz optymalny moduł Younga. Autorka przedstawia krótki rys historyczny rozwoju tego typu materiałów z wyróżnieniem podstawowych trzech generacji biomateriałów i aktualnemu rozwojowi trzeciej generacji biomateriałów. W dalszej części znaleźć można klasyfikację biomateriałów w zależności od przeznaczenia materiału implementacyjnego. Opis tej części jest bardzo przejrzysty i wprowadza czytelnika w zakres wiedzy, na którym w dalszej części oparta jest rozprawa doktorska. Dalsza część wstępu pracy poświęcona jest opisowi czynników wpływających na bioaktywność wybranych implantów tytanowych, do których zasadniczo odnosi się rozprawa.

W dalszej części sporo materiału poświęcono na opis plazmowego utleniania elektrochemicznego (PEO) jako metody modyfikacji powierzchni stopów tytanu, która to metoda jest podstawową metodą modyfikacji powierzchni tytanowych w tym uzyskania na ich powierzchni odpowiednich warstw tlenkowych. Warstwy te zmieniają właściwości fizyko-chemiczne, jak również bakteriostatyczne modyfikowanej warstwy stopu tytanu w celu poprawy warunków osteointegracji implantu z tkanką kostną poprzez m.in. zwiększenie jej porowatości i zwiększenie odporności korozyjnej. Autorka rozprawy szczegółowo opisała i scharakteryzowała wszystkie etapy procesu plazmowego utleniania elektrochemicznego.

W tej części nasunęły się pewne pytania wynikające z zapisanych treści przez Autorkę. Doktorantka w opisie procesu PEO używa pojęcia „warstwa dielektryczna” i „podwójna warstwa elektryczna”. Z punktu widzenia fizykochemii fazy skondensowanej pojęcie dielektryka a tym samym warstwy dielektrycznej (izolującej) jest pojęciem oczywistym, natomiast pojęcie „podwójnej warstwy elektrycznej” jest pojęciem tutaj niewyjaśnionym, a dotyczącym struktury pojawiającej się na granicy faz. Prosiłbym o wyjaśnienie i scharakteryzowanie właściwości tej warstwy i jej parametrów.

W części tej natknąłem się na niewielkie niedociągnięcia językowe typu: „skutkuje w lokalnym wrzeniu”, raczej poprawnie byłoby „skutkuje lokalnym wrzeniem” lub podobnie „skutkuje w spadku natężenia” a poprawniej chyba byłoby „skutkuje spadkiem natężenia”.

Kończącą część wstępu Autorka przeznaczyła na opis metod leczenia zakażeń septycznych kości i właściwościom bakteriostatycznym i bakteriobójczym stosowanych związków cynku, miedzi i srebra.

W kolejnej części pracy Autorka przedstawia cel pracy, którym jest funkcjonalizacja powierzchni wybranych stopów tytanu w celu otrzymania warstw o właściwościach bioaktywnych i antyseptycznych i określenie możliwości wykorzystania nierozpuszczalnych związków cynku, miedzi i srebra w procesie plazmowego utleniania elektrochemicznego wybranych stopów tytanu. W tym rozdziale Autorka rozprawy opisuje stawiany zakres prac badawczych, który poza określeniem najodpowiedniejszych parametrów PEO wymienia zaplanowane w eksperymencie techniki badawcze w celu charakteryzacji powierzchni modyfikowanych implantów. Zaliczyć do nich możemy skaningową mikroskopię elektronową (SEM), zwilżalność powierzchni (pomiar kąta zwilżania), spektroskopia rentgenowska z dyspersją energetyczną (EDX), spektroskopię Ramana.

Wszystkie zaproponowane eksperymenty są dobrze zaplanowane i przemyślane w celu kompleksowej charakteryzacji otrzymanych warstw po procesie PEO: jak morfologia i chropowatość powierzchni, hydrofilowość powierzchni, skład chemiczny warstw tlenkowych po procesie PEO, czy też grubość warstw tlenkowych. Dodatkowo Autorka do charakteryzacji włącza badania mające na celu określenie stężenia uwalnianych jonów pierwiastków stopowych oraz tych o potencjalnym działaniu antyseptycznym jak miedź, cynk i srebro. Na zakończenie badań Autorka proponuje badania bioaktywności i antyseptyczności zrealizowane na drodze badań adhezji dwóch grup mikroorganizmów. Tak kompleksowe zaplanowanie badań od samego procesu PEO po właściwości bioaktywności warstw przez ich właściwości biogodności świadczy o dojrzałości naukowej doktorantki i dobrze przemyślanej i zaplanowanej metodologii badawczej.

Kolejny rozdział to właśnie metodyka badawcza i opis wykonanych działań dotyczących samej syntezy związków cynku, miedzi i srebra, przygotowanie powierzchni stopów tytanu i samego procesu utleniania elektrochemicznego. Po tej części Autorka przechodzi do zastosowanych metod badawczych charakteryzujących właściwości fizykochemicznych powłok, z opisem zastosowanych technik, użytych eksperymentów i ich parametrów technicznych oraz samej metodologii przeprowadzonych pomiarów.

W tej części pojawia się pytanie dotyczące eksperymentu związanego z wyznaczeniem zwilżalności powierzchni z wykorzystaniem goniometru. W rozprawie można przeczytać, że na powierzchnię wybranych stopów nanoszono wodę destylowaną oraz symulowany roztwór fizjologiczny (SBF). Czy pisząc o wodzie destylowanej Autorka miała na myśli ultraczystą wodę otrzymaną za pomocą złoża jonowymiennego np. z wykorzystaniem systemu Mili-Q Water Purification System, czy inny rodzaj wody? Drugie pytanie dotyczy w tym przypadku wyników zwilżalności dla „czystej” wody i roztworu SBF. Czy były one porównywane i jakie są różnice? Trzecie pytanie w tym obszarze dotyczy temperatury i wilgotności względnej otoczenia, w której wykonywano ten pomiar. Parametry te mogą mieć istotny wpływ na wielkości otrzymanych rezultatów. Czy były one kontrolowane i powtarzalne dla wszystkich wykonanych badań zwilżalności?

W kolejnym rozdziale Autorka przedstawia wyniki przeprowadzonych badań i ich analizę jakościową i ilościową. Jest to rozdział, na którą czytelnik/badacz najbardziej czeka, gdyż weryfikuje on postawione tezy badawcze i oczekiwane wyniki, w szczególności w pracach badawczych, gdzie pośrednio wytwarza się materiał o oczekiwanych właściwościach, które określają miarę realnej użyteczności materiału w konkretnych warunkach ich stosowania. Stąd też rozdział ten jest najobszerniejszy, co również stanowi o odpowiednim doborze treści doktoratu i relacji pomiędzy

zagadnieniami teoretycznymi i metodologicznymi a wynikami przeprowadzonych badań i ich opisowi. Omówiono tu dobór optymalnych parametrów technicznych w procesie PEO a tym samym dobór najodpowiedniejszych parametrów, dla których w dalszej części prowadzono zasadnicze badania modyfikujące powierzchnię wybranego stopu tytanu. Został on również wybrany w drodze empirycznego doboru, jednego z 4 wybranych stopów tytanu. Wybrany stop tytanu Ti-15Mo podyktowany został również unikalnymi właściwościami tego materiału, w tym brakiem wanadu i glinu w jego składzie, odpowiednim modułem Younga oraz obecnością molibdenu sprzyjającego integracji tkanki kostnej z powierzchnią implantu.

W opisie otrzymanych wyników ponownie odnoszę się do wyników zwilżalności powierzchni badanego stopu Ti-15Mo a mianowicie w przypadku próbki odniesienia przygotowanie warstwy czynnej do badań po wyszlifowaniu czyli oczyszczenia powierzchni. Samo odpowiednie oczyszczenie powierzchni materiału wybranymi metodami chemicznymi może zmieniać z natury hydrofobowość lub hydrofilowość powierzchni a szlifowanie może modyfikować również powierzchnię poprzez osadzanie się materiału ściernego w strukturę przygotowywanej powierzchni. Chętnie usłyszałbym, podczas obrony pracy doktorskiej, informacje dotyczące tego jakże istotnego obszaru przygotowania próbek, które w konsekwencji determinują cały zbiór przygotowanych materiałów badawczych.

Rysunek 15 przedstawia kąt zwilżania materiałów z cynkiem. Można tu zaobserwować nieciągłości (uskoki) w zachowaniu charakterystyki w funkcji czasu, czego nie obserwujemy dla pozostałych próbek z miedzią i srebrem. Czy jest to efekt fizyczny, skok kąta zwilżania, czy efekty aparaturowe? Kolejne badania dotyczą analizy przekrojów poprzecznych warstw tlenkowych. Widoczne są różnice w powstawaniu grubości warstw zawierających np. związki cynku (warstwy najgrubsze) czy w przypadku związków ze srebrem (warstwy najcieńsze). Autorka szczegółowo opisuje mechanizmy tego zachowania, wpływające na grubość warstw w odniesieniu do procesu PEO. Zagadnienia te są tutaj szczegółowo wyjaśnione i zobrazowane obrazami SEM przekrojów poprzecznych warstw tlenkowych jak również w końcowej części analizą map otrzymanych techniką EDX.

Kolejny etap badań i przedstawione wyniki dotyczą składu chemicznego warstw tlenkowych. W tym przypadku Autorka posłużyła się technikami EDX oraz spektroskopią ramanowską. W przypadku badań EDX eksperyment był bardzo dobrze zaplanowany a uzyskane wyniki odzwierciedlają oczekiwany skład chemiczny oraz przedstawiają w postaci obrazów SEM jakość warstw, gdzie uzyskujemy jednorodne powierzchnie w przypadku warstw ze związkami miedzi a w przypadku związków srebra lokalne defekty spowodowane agregacją i aglomeracją srebra na powierzchni modyfikowanego stopu tytanu. W opisie rysunków wdarł się drobny błąd, gdzie rysunek 22 ma zły podpis, gdyż obrazy SEM i widma EDX dotyczą obecności związków srebra a nie miedzi jak jest w podpisie pod rysunkiem.

Do określenia składu chemicznego wykorzystano również spektroskopię Ramana, czemu Autorka poświęca część wyników związanych ze składem warstw będącą weryfikacją wyników z wykorzystaniem EDX. Autorka zamieszcza widma Ramana dla serii próbek ze związkami cynku i miedzi a nie przedstawia wyników dla serii próbek ze związkami srebra. Jaka jest tego przyczyna? W poprzednich analizach wyniki dotyczyły wszystkich trzech wykorzystanych związków Zn, Cu i Ag. Przedstawione widma, jak myślę, są pojedynczymi punktowymi widmami z wybranego miejsca na próbce, co przy analizie powierzchni, a tego dotyczy rozprawa, wydaje się być zbyt skrótowe. Widma

„od miejsca do miejsca” mogą zasadniczo się różnić, zwłaszcza przy zastosowanej technice ramanowskiej z rozdzielczością przestrzenną rzędu 1-2  $\mu\text{m}$ . Czy wykonano więcej statystycznych pomiarów potwierdzających powtarzalność wyników? Rysunek 25 dotyczy już map ramanowskich (dla próbek ze związkami srebra), o których padło pytanie powyżej. Podpis pod rysunkiem jest błędny. Rysunek przedstawia mapy intensywności integralnej a nie integralne mapy intensywności. Mapa ramanowska jest wykreślona/otrzymana na podstawie wyznaczonej w drodze eksperymentu i dopasowania numerycznego integralnej intensywności pasma ramanowskiego, stąd mapa intensywności integralnej pasma. To oczywiście drobiazg natury nazewnictwa a Autorka nie jest zapewne specjalistką w dziedzinie spektroskopii rozproszeniowej, ale w przyszłych badaniach podpis pod rysunkiem z pewnością będzie już oddawać rzeczywistą zmierzoną wartość. Czytając tekst i opis uzyskanych profili ramanowskich nie bardzo zrozumiałem w jaki sposób Autorka wyznaczyła wzmiankowane profile. Profile, z wykorzystaniem techniki konfokalnej, można uzyskać na podstawie wybranego pasma/pasm ramanowskich. Nie doczytałem tego w tekście i poproszę o drobne wyjaśnienie.

Całość tej analizy, zarówno techniką EDX i Ramana jest bardzo poprawnie przeprowadzona i wnosi bardzo istotne informacje o warstwach i ich składzie, w celu doboru najbardziej oczekiwanych warstw, a krytyczne uwagi są raczej natury eksperymentalnej a nie interpretacyjnej. Niemniej, taka między innymi jest rola recenzenta rozprawy doktorskiej by w morzu doskonałości znaleźć i uchybienia.

Końcowa część wyników badawczych dotyczy badań w roztworze Ringera w celu określenia występowania procesów korozyjnych, właściwości bakteriostatycznych warstw a tym samym antyseptyczności oraz cytokompatybilności warstw z komórkami osteoblastopodobnymi. Te podrozdziały dokładnie analizują wszystkie serie próbek ze związkami Cu, Zn i Ag i wskazują różnice pomiędzy zmianami pomiędzy bakteriostatycznością a cytokompatybilnością badanych materiałów. Wszystkie te kompleksowe badania pozwalają na wyselekcjonowanie najodpowiedniejszego materiału spełniającego oczekiwane właściwości zarówno pod względem mechanicznym, bakteriostatycznym i biogodnym.

W mojej opinii Autorka rozprawy doktorskiej, poprzez bardzo dobrze zaplanowane kompleksowe badania i zaproponowane rozwiązania w oczywisty sposób wykazuje zalety i wady otrzymanych warstw modyfikowanych w procesie plazmowego utleniania elektrochemicznego z wykorzystaniem związku cynku, miedzi i srebra. Praca przedstawia duże walory poznawcze, jak również aplikacyjne.

### **Wniosek końcowy**

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi spójną i dobrze przygotowaną pracę w formie monografii, zawierająca wszystkie elementy stawiane tego typu opracowaniom i charakteryzuje się wysokim poziomem naukowym, zarówno w części analizy teoretycznej, jak i eksperymentalnej. Doktorantka wykazała, że potrafi zaprojektować program badań do rozwiązania konkretnego problemu naukowego, stawiając jasne cele i je w pełni realizując, stosując odpowiednie techniki badawcze i wyciągać z wykonanych badań właściwe wnioski. Uzyskane wyniki badań mają

zarówno ciekawe cechy poznawcze jak również, w moim mniemaniu, aplikacyjne. Przedstawione w recenzji uwagi, jak i zapytania, zadane w recenzji, w żaden sposób nie umniejszają wysokiej wartości naukowej recenzowanej rozprawy j doktorskiej.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Katarzyny Leśniak-Ziółkowskiej pt. *„Nowa generacja powierzchni bakteriostatycznych/antybakteryjnych otrzymanych metodą PEO w zawiesinach związków srebra, miedzi i cynku na implantach dedykowanych tkance twardej”* spełnia wymagania ustawowe stawiane rozprawom doktorskim i zgodnie z przepisami określonymi w Prawie o Szkolnictwie Wyższym i Nauce, z 20 lipca 2018, art. 187 (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668 ze zm.) wnoszę o dopuszczenie jej do publicznej obrony.

Dodatkowo, ze względu na wysoki warsztat naukowy, interesujące wyniki badawcze i wnikliwą interpretację badań oraz całokształt pracy doktorskiej wykonanej na bardzo wysokim poziomie naukowym, wnoszę o wyróżnienie wyżej wymienionej rozprawy.

