

Prof. dr hab. inż. Maciej Sitarz

Kraków 20.11.2025

Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica
Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
Katedra Chemii Krzemianów i Związków Wielkocząsteczkowych
30-059 Kraków
Al. Mickiewicza 30

OCENA

rozprawy doktorskiej mgr Vladlensa Grebnevs pt. „*Modification of titanium and its alloys' surfaces in phosphate and carbonate-based suspensions with use of plasma electrolytic oxidation*” opracowana na zlecenie Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Śląskiej

1. Charakterystyka pracy

Rozprawa doktorska Pana mgr Vladlensa Grebnevs poświęcona jest projektowaniu, otrzymywaniu oraz charakterystyce powłok na bazie węglanu wapnia (CC) i hydroksyapatytu (HA) na podłożach tytanowych metodą plazmowego utleniania elektrolitycznego (PEO), z przeznaczeniem do zastosowań biomedycznych.

W dzisiejszych czasach o znaczeniu implantów metalicznych, w tym w szczególności tych na bazie tytanu i jego stopów, w szeroko rozumianej medycynie nikogo nie trzeba przekonywać. Implanty metaliczne w stosunku do implantów ceramicznych czy polimerowych charakteryzują się znacznie większą stabilnością mechaniczną pozwalającą na ich wykorzystanie również w przypadku konieczności przenoszenia znacznych obciążeń mechanicznych – głównie chirurgia ortopedyczna i stomatologia. Żeby jednak nie było tak kolorowo ich wykorzystanie nastręcza również wiele problemów związanych głównie ze: 1) Zbyt wysoką sztywnością średnio około cztery razy przekraczającą sztywność kości ludzkiej. To niedopasowanie prowadzi do zjawiska ekranowania obciążeń, polegającym na ich przenoszeniu wyłącznie przez implant przy odciążeniu otaczających tkanek, co prowadzi do stopniowego zaniku tkanki kostnej w wyniku osteolizy, 2) Niezadawalającą odpornością na korozję w środowisku organizmu, co poza stopniową utratą własności użytkowych implantu, prowadzi do przedostawania się do organizmu różnych jonów, wywołując często

neurotoksyczność i reakcje zapalne, 3) Niezadawalającą bioaktywnością i biokompatybilnością. Implanty metaliczne zazwyczaj są inertne, czego konsekwencją są duże problemy z ich fiksacją z tkanką kostną. W pierwszym przypadku najbardziej logicznym rozwiązaniem jest wywołanie odpowiedniej porowatości, która pozwala na obniżenie sztywności implantów metalicznych. W pozostałych dwóch przypadkach stosuje się różnego rodzaju zabiegi pozwalające na modyfikację powierzchni implantu w kierunku jej dostosowania do wymagań użytkowych. Obecnie najczęściej są to różnego rodzaju funkcjonalne warstwy, głównie na bazie fosforanów wapnia, pozwalające wyeliminować lub przynajmniej ograniczyć wspomniane powyżej ewidentne wady implantów metalicznych. W tym zakresie inżynieria powierzchni może pochwalić się wieloma sukcesami, gdyż obecnie trudno jest nawet zliczyć rodzaje proponowanych i już wykorzystywanych warstw oraz metody ich otrzymywania.

Mając to wszystko na uwadze oraz problemy związane z wykorzystaniem warstw na bazie fosforanów wapnia, wynikające w głównej mierze z ich ograniczonej rozpuszczalności, Autor zaproponował otrzymywanie, nowych warstw (na podłożach tytanowych) na bazie węglanu wapnia oraz hydroksyapatytu, metodą PEO. Biorąc pod uwagę ewidentne braki proponowanych obecnie warstw na implanty metaliczne, uważam podjęcie takiego tematu za jak najbardziej uzasadnione i co niemniej istotne interesujące zarówno z naukowego jak i docelowo użytkowego punktu widzenia.

Układ pracy jest klasyczny i zawiera sześć głównych rozdziałów tj. Wstęp, Cel badań, Materiały i metody, Wyniki i dyskusję, Podsumowanie i perspektywy oraz Bibliografię. Do pracy dołączony jest również skrótowy opis dotychczasowego dorobku naukowego Doktoranta.

2. Ocena merytoryczna pracy

We wstępie Autor przedstawił najistotniejsze informacje związane z tematyką rozprawy. Autor uwzględnił gigantyczną liczbę odnośników literaturowych, aż 589!!!, z których praktycznie wszystkie ukazały się po 2010 roku. Tak duża liczba cytowań oraz ich „świeżość” świadczą zarówno o aktualności podjętej tematyki jak i dokładnym jej poznaniu przez Doktoranta. Rozdział podzielono na sześć podrozdziałów opisujących kolejno zagadnienia związane z: ogólnym tłem badań (1), implantami biomedycznymi

(2), plazmowym utlenianiem elektrolitycznym (3), wykorzystaniem węglanów w PEO (4), metodami syntezy węglanu wapnia (5), metodami badawczymi (6).

W pierwszym podrozdziale, przedstawiono cały kontekst pracy związany z poszukiwaniem nowych, biokompatybilnych i bioaktywnych powłok ceramicznych na podłoża tytanowe. Obecnie każdy implant metaliczny składa się z metalowego rdzenia zapewniającego odpowiednie parametry mechaniczne oraz funkcjonalnej warstwy poprawiającej odporność na korozję, biokompatybilność i bioaktywność powierzchni, które są kluczowe z punktu widzenia osteointegracji, i co za tym idzie długoterminowej stabilności implantu. Stosowane najczęściej warstwy na bazie fosforanów wapnia mają duże ograniczenia związane przede wszystkim z niedostateczną bioaktywnością, wynikającą z ich ograniczonej rozpuszczalności, czego konsekwencją jest brak dostatecznej ilości jonów wapnia i co za tym idzie skutecznej regeneracji kości. Stąd też wynika zaproponowane podejście polegające na utworzeniu warstw na bazie fosforanów z dodatkiem węglanu wapnia charakteryzującego się znacznie większą rozpuszczalnością, co ma zapewnić dostępność jonów wapnia. Problemem pozostającym do rozwiązania jest właściwe wprowadzenie do warstwy węglanu wapnia bez wywołania degradacji fazowej, wynikającej głównie z jego ograniczonej stabilności termicznej. Aby to przezwyciężyć zaproponowano otrzymywanie warstw metodą PEO z wykorzystaniem elektrolitów fosforanowych z zawieszonymi cząstkami węglanu wapnia. Ma to pozwolić na bezpośrednie wprowadzenie węglanu wapnia do warstwy z ominięciem problemu związanego z jego rozkładem termicznym.

Kolejne dwa podrozdziały przedstawiają podstawowe zagadnienia związane z implantami metalicznymi i sposobami modyfikacji ich powierzchni oraz wybranymi metodami otrzymywania warstw. Modyfikacja powierzchni implantów metalicznych jest obecnie nieodzownym zabiegiem, a na tym tle, ze względu na przyspieszanie uwalniania jonów wapnia, niezwykle atrakcyjnie wyglądają powłoki fosforanowe z dodatkiem węglanu wapnia. Możliwość regulacji dynamiki uwalniania jonów wapnia jest kluczowa z punktu widzenia wczesnej adhezji i proliferacji komórek kostnych. Poza tym, słaba zasadowość węglanu wapnia pozwala na regulację pH, poprzez neutralizację kwaśnych mikrośrodków powstających wokół implantów, co łagodzi stany zapalne.

Obecnie istnieją dziesiątki różnych metod otrzymywania warstw na podłożach metalicznych, niemniej jednak większość z nich, ze względu na swoją specyfikę oraz ograniczoną trwałość termiczną węglanu wapnia, nie gwarantuje otrzymania trwałych warstw fosforanowo-węglanowych o założonym składzie fazowy. W tym zakresie wiele zalet posiada metoda PEO pozwalająca na otrzymywanie chemicznie różnorodnych, niezwykle trwałych, wielowarstwowych powłok bez konieczności ich obróbki po osadzeniu. Ponadto, krótkotrwały i zlokalizowany charakter mikrowyładowań plazmowych w trakcie procesu pozwala na włączanie do warstw faz wrażliwych termicznie - np. węglanu wapnia. Oczywiście metoda ta sprawia również wiele problemów, z których najistotniejsze (poza kosztami) to trudności w uzyskiwaniu jednorodnych powłok na złożonych geometriach. Stąd też, aby osiągnąć sukces konieczne jest przeprowadzenie żmudnej optymalizacji obejmującej zarówno dobór elektrolitu (skład chemiczny, kształt i wielkość cząstek, stężenie, pH, temperatura, lepkość) jak i warunków przebiegu samego procesu (gęstości prądu, napięcie, częstotliwość impulsów, czas trwania). Biorąc pod uwagę złożoność całego procesu oraz skład warstw, Autor stwierdził, że z punktu widzenia rozprawy kluczowe jest opracowanie odpowiednich konfiguracji kąpeli, które umożliwią jednoczesną aktywację i inkorporację zarówno węglanu wapnia, jak i fosforanów. Aby to osiągnąć konieczna jest szczegółowa znajomość zarówno procesów zachodzących na elektrodach jak i możliwych oddziaływań w kąpeli w układzie węglan wapnia – fosforany.

Z przeglądu literatury wynika, że wielkość, kształt i forma polimorficzna cząstek węglanu wapnia zawieszonych w kąpeli są kluczowe z punktu widzenia całego procesu. W związku z tym w dalszej części poświęcono wiele uwagi metodom otrzymywania węglanu wapnia. Po dokonaniu krytycznej oceny Autor stwierdził, że najbardziej odpowiednia, z uwagi na: prostotę, otrzymywanie stabilnych zawiesin, możliwość regulacji wielkości cząstek oraz czystość jest metoda karbonatyzacji.

W ostatnich podrozdziałach wstępu przedstawiono opis użytych w pracy metod badawczych w celu charakterystyki składu chemicznego, struktury, mikrostruktury i wybranych własności użytkowych otrzymanych warstw oraz charakterystyki kąpeli używanych w trakcie procesu PEO.

Podsumowując, z przedstawionych w całym rozdziale informacji jasno wynika istotność zaproponowanej tematyki jak również łatwo można zrozumieć czym kierował się Autor przy wyborze materiałów, metod ich otrzymywania oraz metod badawczych.

Zasadniczą część rozprawy doktorskiej, obejmującą ponad 65 % tekstu, stanowią rozdziały 2-5 opisujące cele pracy, przeprowadzone eksperymenty oraz interpretację wyników badań.

Na podstawie analizy literatury Autor sformułował cel prowadzonych badań (rozdział 2), którym było opracowanie i otrzymanie odpornych na korozję, bioaktywnych i funkcjonalnych warstw (na podłożach tytanowych) zawierających węglan wapnia i hydroksyapatyt, otrzymywanych metodą PEO.

W pierwszym rozdziale części doświadczalnej (rozdział 3) przedstawiono szczegółowy opis wszystkich procedur eksperymentalnych prowadzących do uzyskania zaplanowanych materiałów oraz ich wieloaspektowej charakterystyki. Analiza tego rozdziału pozwala uświadomić sobie złożoność i czasochłonność tych eksperymentów.

Kluczowy w całej rozprawie rozdział 4 zawiera szczegółową analizę uzyskanych wyników badań. Autor podzielił cały rozdział na trzy części obejmujące kolejno: I) analizę wpływu różnych zmiennych na przebieg procesu PEO w elektrolitach węglanowych i fosforanowych, II) analizę wpływu krystaliczności cząstek fosforanów oraz III) otrzymywanie docelowych powłok w układzie węglan wapnia – hydroksyapatyt. Takie metodyczne podejście, polegające na stopniowej analizie wybranych czynników, uważam za niezwykle logiczne i uzasadnione z uwagi na mnogość czynników mających wpływ na otrzymywanie warstw metodą PEO, zwłaszcza z udziałem cząstek stałych w kąpielach.

W pierwszej kolejności przeprowadzono proces optymalizacji kąpeli fosforanowych. Szczegółowa analiza wpływu stężenia, przewodności oraz pH dla trzech różnych soli fosforanowych, na mikrostrukturę otrzymywanych warstw wykazała, że każdorazowo otrzymywano warstwy o korzystnej mikrostrukturze, co jednoznacznie wskazuje na ich użyteczność. Niemniej jednak z praktycznego punktu widzenia do dalszych badań wytypowano Na_2HPO_4 , gdyż spośród trzech analizowanych zapewnia stabilność chemiczną węglanu wapnia oraz hydroksyapatytu.

W kolejnym kroku przystąpiono do analizy wpływu stężenia oraz stosunku węglanów do innych rozpuszczalnych składników kąpeli (na bazie wybranego wcześniej fosforanu) na mikrostrukturę otrzymywanych warstw. Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów stwierdzono, że jony węglanowe obecne w kąpeli działają jako pochłaniacze energii mikrołuku podczas nagrzewania w strefie wyładowania, głównie na skutek rozkład $\text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{CO}_2$. Uwalniany gaz zmienia lokalną fazę plazmy i tym samym obniża temperaturę kanału, co w konsekwencji prowadzi do zaburzenia przebiegu całego procesu. Na tej podstawie wyciągnięto ogólny wniosek dotyczący „gaszenia” plazmy przez węglany (niezależnie od ich źródła), co prowadzi do otrzymywania mniej porowatych i cieńszych warstw. Niemniej jednak wykazano, że to niekorzystane zjawisko nie ma większego znaczenia przy umiarkowanych stężeniach jonów węglanowych w kąpielach.

Niemniej istotnym było wykazanie braku przydatności komercyjnie dostępnych cząstek węglanu wapnia do zaplanowanych eksperymentów. Wynika to z nieodpowiednich rozmiarów cząstek wynoszących średnio około $50\mu\text{m}$, co znacząco przekracza optymalne rozmiary w granicach $500\text{nm} - 3\mu\text{m}$. W związku z tym, w kolejnych etapach pracy, konieczne okazało się zaplanowanie i przeprowadzenie syntezy cząstek węglanu wapnia o odpowiednich rozmiarach i morfologii. Jest to jak najbardziej logiczne posunięcie, gdyż dobór wielkości i morfologii cząstek jest kluczowy dla zapewnienia odpowiednich warunków procesu PEO. Użyte cząstki muszą być wystarczająco duże, aby zminimalizować szybkie topnienie i możliwe przemiany fazowe węglanu wapnia, a jednocześnie wystarczająco małe, aby były porównywalne z wymiarami tworzących się w warstwie porów.

W drugiej części rozdziału 4 przeprowadzono szczegółową analizę wpływu krystaliczności cząstek fosforanowych na mikrostrukturę i wybrane własności fizykochemiczne warstw otrzymywanych na czystym tytanie oraz stopie Ti6Al4V. Przeprowadzanie tej analizy jest również jak najbardziej uzasadnione, gdyż z punktu widzenia bioaktywnych powłok, krystaliczność odgrywa niezmiernie istotną rolę w kontrolowaniu zarówno kinetyki degradacji, jak i szybkości osteointegracji. Na wstępie przeprowadzono kompleksową charakterystykę wybranych proszków tj.

komercyjnego, krystalicznego hydroksyapatytu (HA) oraz amorficznego fosforanu wapnia (TCP) otrzymanego na drodze klasycznego strącania na mokro. Przeprowadzone testy wykazały, że właściwości badanych materiałów korelują z ich krystalicznością a różnice w wielkość cząstek i innych kluczowych parametrów są pomijalne. Wykazano również, że zawiesiny przygotowane z tymi cząstkami wykazywały niemal identyczną przewodność elektryczną i stężenia jonów wapnia. W związku z tym założono, że jedynym parametrem, mającym wpływ na jakość otrzymywanych warstw, będzie krystaliczności fazy fosforanowej z pominięciem wpływu pozostałych parametrów cząstek i zawiesin.

Kompleksowa analiza mikrostruktury i wybranych własności fizykochemicznych warstw otrzymanych z użyciem kąpieli zawierających HA i TCP pozwoliła stwierdzić, że obecność cząstek fosforanów w dowolnej formie znacząco wpływa na ich mikrostrukturę. Wykazano również różnice w zachowaniu się cząsteczek fosforanów wynikające z ich krystaliczności - amorficzne cząstki TCP gromadziły się głównie na powierzchni powłok, podczas gdy krystaliczne cząstki HA były w przeważającej mierze włączane do środkowych warstw otrzymywanych powłok. Zjawisko to logicznie powiązano z różnicami w rozmiarze oraz morfologii cząstek i następnie odniesiono do zauważonych różnic w chropowatości i zwilżalności. Powłoki otrzymane z wykorzystaniem amorficznego TCP charakteryzowały się lepszą zwilżalnością, zwiększoną mikrochropowatości przy zmniejszonej całkowitej porowatości, co przypisano charakterystyce powierzchni amorficznych cząstek TCP, która ułatwia ich bardziej aktywną inkorporację do warstw powierzchniowych. Autor stwierdził, że włączenie tych cząstek do elektrolitów wydaje się korzystniejsze dla poprawy właściwości biologicznych powłok, gdyż należy spodziewać się, że takie modyfikacje będą skuteczniej promować adhezję, przyleganie i proliferację komórek, co ostatecznie doprowadzi do lepszej osteointegracji. Co więcej wykazano, że włączenie cząstek amorficznych do elektrolitu prowadzi do znacznego wzrostu zawartości wapnia w otrzymywanych powłokach, co jest korzystne z punktu widzenia bioaktywności.

Podsumowując tą część rozprawy należy jednoznacznie stwierdzić, że krystaliczność cząstek trzeba traktować jako jeden z głównych parametrów mających wpływ na właściwości funkcjonalne powłok PEO.

Trzecia część rozdziału 4 poświęcona jest otrzymywaniu i charakterystyce docelowych powłok PEO otrzymywanych na bazie fosforanowego elektrolitu z zawieszonymi cząsteczkami węglanu wapnia. Ta prosta strategia współosadzania zakładająca interakcję węglanu wapnia z elektrolitem fosforanowym jest interesująca z punktu widzenia otrzymywania powłok w układzie CC-HA, gdyż z definicji eliminuje potrzebę oddzielnej syntezy cząstek HA, ich oczyszczania i dodatkowego zawieszania, co znacząco upraszcza cały proces.

Aby otrzymać założone powłoki w pierwszej kolejności przeprowadzono optymalizację trzech kluczowych parametrów tj. stężenia wybranego wcześniej elektrolitu fosforanowego, stężenia zawieszonych cząstek CC oraz przyłożonego napięcia. Przeprowadzone eksperymenty z wykorzystaniem elektrolitów fosforanowych o różnym stężeniu wykazały, że optymalne, z punktu widzenia przebiegu procesu (poziom przewodnictwa, topienie powierzchni) i jakości otrzymywanych warstw (wielkość i rozkład porów), jest stężenie na poziomie 46 mM Na_2HPO_4 . W kolejnym kroku, dla tak dobranego stężenia elektrolitu zoptymalizowano stężenie CC w zawieszinie na poziomie 60–65 mM oraz przykładane w trakcie procesu PEO napięcie na poziomie 440–460 V.

W dalszej części wiele uwagi poświęcono procesowi otrzymywania cząstek CC metoda karbonatyzacji oraz docelowych kąpieli roboczych w układzie CC-HA, przy zoptymalizowanych wcześniej stężeniach (elektrolitu i CC) oraz rozmiarach cząstek CC. Aby świadomie zaprojektować i otrzymać docelową zawiesinę w układzie CC-HA, konieczne było przeanalizowanie możliwych oddziaływań pomiędzy cząstkami CC i fosforanowym elektrolitem. Przeprowadzone z dużym rozmach eksperymenty z analizą wielu zmiennych i wykorzystaniem wielu zaawansowanych metod badawczych pozwoliły nie tylko przeanalizować wspomniane oddziaływania, ale co najważniejsze zaproponować ich mechanizmy. Autor stwierdził, że napędzane są one głównie przez dwa równoległe mechanizmy: chemisorpcję na powierzchni cząstek CC oraz

rozpuszczanie-strącanie, przy czym ten ostatni dodatkowo napędza heterokoagulację CC z współstrącanymi cząstkami HA.

Kolejnym etapem pracy była analiza procesu PEO oraz otrzymywanych warstw w układzie CC-HA. Analiza SEM przekrojów poprzecznych wykazała typowy dwuwarstwowy charakter powłok tj. zwartą warstwę wewnętrzną (kilku mikrometrów) oraz znacznie grubsza porowatą warstwę zewnętrzną zawierającą zarówno zamknięte, jak i otwarte pory. Oprócz tego wykazano obecność dodatkowej cienkiej warstwy barierowej (kilkaset nanometrów) na granicy faz metal/tlenek powstającej podczas początkowych etapów utleniania. Przeprowadzona analiza rozkładu pierwiastków jednoznacznie wykazała wbudowanie zarówno cząstek CC jak i HP na całej głębokości warstwy. Potwierdzenie tych obserwacji z uszczegółowieniem rozkładu poszczególnych faz, w tym również fazy TiO_2 , uzyskano na podstawie zaawansowanych badań Ramanowskich z wykorzystaniem mapowania głębokościowego. Wszystkie te badania pozwoliły na podjęcie próby określenia mechanizmu wzrostu warstw. Jest to zadanie niezwykle skomplikowane, gdyż cząsteczki fazy stałej wywołują różnego rodzaju interakcje, które znacząco wpływają na wyładowania i wbudowywanie substancji chemicznych w powłokę. Aby ułatwić to zadanie analizę wzrostu docelowych warstw przeprowadzono w odniesieniu do warstw bez cząstek stałych. Autor wykazał, że proces formowania powłok CC-HA składa się z czterech etapów: I – przebicie i formowanie się warstwy początkowej wraz z zapoczątkowaniem inkorporacji fosforu i wydzielania gazu anodowego kontynuowanego przez cały proces. Ten etap jest praktycznie identyczny jak w przypadku układu niezawierającego cząstek stałych tj. bez włączenia cząstek stałych z uwagi na brak dostępnych średnich i/lub dużych porów. II - początek włączenia cząstek. Na tym etapie najmniejsze cząstki CC-HA zostały osadzone w rosnącej matrycy tlenkowej, podczas gdy większe cząstki zaczęły przylegać do powierzchni lub częściowo wnikać. Jednakże, całkowite włączenie tych większych cząstek było ograniczone przez wciąż umiarkowaną energię wyładowań. III - pełnoskalowe wbudowywanie cząstek i dywersyfikacja strukturalna. Nasilenie mikrowyładowań umożliwiło wbudowywanie zawieszonych cząstek CC-HA w całym spektrum rozmiarów. IV - dojrzewanie strukturalne mające kluczowe znaczenie z punktu widzenia

charakterystyki porów, a wynikające z częściowego zamykania się porów powierzchniowych spowodowane lokalnym stopieniem i ponownym zestaleniem. Na tym etapie następował również częściowy rozkład termiczny HA, któremu potencjalnie towarzyszyły przemiany fazowe, skutkujące skurczem objętościowym i przegrupowaniem strukturalnym w powłoce.

W celu uzupełnienia charakterystyki warstw powierzchniowych przeprowadzono dodatkowo badania z wykorzystaniem XRD i XPS. Badania te pozwoliły na określenie zarówno stopnia krystaliczności jak i rodzaju faz fosforanowych i węglanowych.

Podsumowując wykazano, że zaproponowane procedury pozwalają na wprowadzenie węglanów do warstw PEO. Wprowadzenie do elektrolitów fosforanowych cząsteczek CC prowadzi do otrzymywania znacznie grubszych warstw o zmniejszonej ogólnej porowatości oraz zmiany w strukturze porów tj. obecność większych mikroporów wypełnionych odpowiednimi osadami. Zmniejszona ogólna porowatość oraz wzrost grubości warstwy (około trzykrotny) są korzystne z punktu widzenia odporności na korozję, natomiast szeroki rozkład wielkości porów jest korzystny z punktu widzenia implantologii, gdyż zapewnia miejsca nukleacji, adsorpcji białek, tym samym ułatwiając jednocześnie adhezję i przyłączanie komórek.

Końcowym etapem pracy było określenie własności fizyko-chemicznych otrzymanych warstw z punktu widzenia ich przeznaczenia. W pierwszej kolejności przeanalizowano kinetykę uwalniania jonów wapnia w PBS. Na podstawie przeprowadzonych testów można stwierdzić, że wprowadzenie cząstek CC pozwala stymulować/kontrolować ilość i dynamikę uwalnianych jonów wapnia, zwłaszcza na newralgicznych początkowych etapach procesu. Jest to niezmiernie istotne, gdyż ciągła obecność jonów wapnia w środowisku zewnątrzkomórkowym odgrywa kluczową rolę we wszystkich fazach osteointegracji.

Kolejnymi kluczowymi parametrami powłok są odporność na korozję oraz przyczepność do podłoża. Przeprowadzone badania odporności na korozję z wykorzystaniem EIS i PDP, wykazały znaczącą poprawę odporności tytanu na korozję po zastosowaniu powłok PEO, zwłaszcza w przypadku użycia cząstek CC-HP. Z kolei

przeprowadzone testy zarysowań powłok z układu CC-HA nie wykazały spadku ich przyczepności pomimo wprowadzenia, z natury kruchych, cząsteczek CC-HA.

Ostatnim etapem pracy była ocena biogodności, bakteriobójczości oraz potencjału zeta powierzchni otrzymanych powłok. Przeprowadzone testy wykazały, że powierzchnia modyfikowana CC-HA (w stosunku do materiałów referencyjnych) wykazywała ciągły wzrost proliferacji komórek od 1 do 7 dnia testu, co logicznie powiązano ze zwiększoną zawartością wapnia wynikającą z wprowadzenia CC, co stymuluje adhezję i wzrost komórek. Wspomniane już stałe uwalnianie jonów wapnia i fosforanów z powierzchni przyczynia się do obserwowanej poprawy aktywności komórkowej. Przeprowadzone testy adhezji bakteryjnej powłoki modyfikowanej CC-HA wykazały, że nie posiadają one cech antybakteryjnych, ale jednocześnie nie nasilają kolonizacji bakteryjnej w porównaniu z powierzchniami niepowlekanymi lub powlekanymi konwencjonalnie. Wyznaczony potencjał zeta powłoki CC-HA (ok -22 mV) przy fizjologicznym pH jest umiarkowanie ujemny, co jest zakresem ogólnie uważanym za korzystny dla implantów biomedycznych, gdyż poprzez oddziaływania elektrostatyczne przyciąga osteoblasty nie doprowadzając do spłaszczenia błony komórkowej lub uwięzienia komórek.

Podsumowując można stwierdzić, że modyfikacja cząsteczkami CC-HP korzystnie wpływa na większość kluczowych parametrów użytkowych powłok PEO.

Rozprawa doktorska kończy się krótkim, ale bardzo treściwym podsumowaniem (rozdział 5).

Oceniając całość pracy należy stwierdzić, że stanowi ona bardzo oryginalne, głęboko przemyślane i całościowe podejście do projektowania, otrzymywania oraz badań nad funkcjonalizacją powierzchni implantów tytanowych poprzez otrzymywanie metodą plazmowego utleniania elektrolitycznego powłok na bazie hydroksyapatytu i węglanu wapnia. Szczegółowy opis przeprowadzonych eksperymentów i bardzo klarowny sposób interpretacji uzyskanych wyników badań wskazują na bardzo dobre przygotowanie Doktoranta zarówno w zakresie chemii jak i inżynierii materiałowej.

Recenzowano pracę, jak każda tego typu praca, zawiera oczywiście kilka drobnych wad i niezręcznych sformułowań. Z poważniejszych uwag redakcyjnych, merytorycznych i polemicznych wymienilibym następujące:

- 1) Co Doktorant rozumie pod pojęciem mikrostruktury i struktury? W pracy pojęcia te używane są zamiennie. Jednak według mnie nie są to pojęcia tożsame.
- 2) W spektroskopii oscylacyjnej (Raman, FTIR) zawsze należy używać pojęcia pasmo a nie pik.
- 3) Strona 68, 69 i 70 „(Examining... ..” – powtórzone trzykrotnie całe akapity ze strony 67??? To chyba jakiś błąd przy końcowym redagowaniu tekstu.
- 4) Do badań XRD otrzymanych powłok korzystniejsze byłoby wykonanie badań w układzie GID-XRD. Taki układ pozwoliłby na zbadanie warstwy powierzchniowej przy jednoczesnej minimalizacji wpływu podłoża.
- 4) Czy przy pomiarach kąta zwilżania pojawiały się problemy z rejestracją wynikające z wysokiej porowatości badanych warstw?
- 5) Przeprowadzenie dodatkowych pomiarów kąta zwilżania z użyciem diiodometanu, w połączeniu z otrzymanymi w pracy wynikami badań dla wody, pozwoliłoby obliczyć swobodną energię powierzchniową, będącą miarą oddziaływania podłoża stałego z cieczą zwilżającą materiał.
- 6) Do oceny porowatości otrzymanych warstw wykorzystano zdjęcia SEM z odpowiednią analizą statystyczną. Oczywiście na tej podstawie można wyciągnąć wiele interesujących wniosków, ale w moim przekonaniu obarczona jest dość dużym błędem. Proszę zaproponować bardziej precyzyjną metodę pozwalającą określić zarówno całkowitą porowatość jak i rozkład wielkości porów.
- 7) W pracy dużo uwagi i czasu poświęcono syntezie cząstek węgla wapnia o odpowiednich rozmiarach. Czy brano pod uwagę zakup dostępnych komercyjnie cząstek i domieszczenie do odpowiednich rozmiarów?
- 8) Na stronie 74 czytamy „Additional weaker signals detected in the 860–880 cm^{-1} and 1350–1650 cm^{-1} regions suggested the presence of carbonates within the molecular structure of both CaPs” To stwierdzenie jest w większości prawdziwe, jednak drugi

- z podanych zakresów jest zbyt szeroki bowiem pasmo przy ok. 1640 cm^{-1} związane jest z draniami zginającymi wiązań O-H w cząsteczkach wody, a nie grupami węglanowymi.
- 9) Co Autor ma na myśli pisząc „...smoother appearance of the vibrational signals”. W spektroskopii oscylacyjnej zawsze posługujemy się pojęciem szerokości połówkowej.
- 10) Do analizy składu chemicznego poszczególnych warstw w rozdziale 4.2 korzystne byłoby przedstawienie map rozkładu poszczególnych pierwiastków.
- 11) Na stronie 115 przedstawiono reakcje prowadzące do utworzenia warstwy. W opisie Autor stwierdza, że równanie 14 przedstawia utlenianie, a równania 15 i 16 wydzielanie gazów – czy aby na pewno?
- 12) Na stronie 122 czytamy „XRD oferuje uzupełniające zalety spektroskopii Ramana w identyfikacji faz, w szczególności w rozróżnianiu różnych faz CaP ze względu na ich odrębne sygnatury krystalograficzne”. Nie do końca zgadzam się z tym stwierdzeniem, gdyż większość fosforanów ma bardzo podobne rentgenogramy.
- 13) Proszę pokusić się o ocenę perspektywy praktycznego wykorzystania otrzymanych warstw w kontekście szeroko rozumianej implantologii.

Wymienione przeze mnie drobne potknięcia w żadnym stopniu nie umniejszają mojej bardzo wysokiej oceny recenzowanej pracy. W tym miejscu chciałbym również podkreślić bogaty, jak na ten etap kariery, dorobek naukowy Pana mgr Vladlensa Grebnevsa.

3. Wniosek końcowy

Opiniowana praca spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w ustawie Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz. U. 2018 poz. 1668) i na tej podstawie wnioskuję o dopuszczenie Pana mgr Vladlensa Grebnevsa do publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

Z uwagi na bardzo wysoki poziom naukowy recenzowanej rozprawy, jak również bogaty dorobek naukowy Doktoranta, poparty publikacjami w renomowanych czasopismach naukowych, zgłaszam wniosek o wyróżnienie pracy.

Podpisano odręcznie przez autora