

Autoreferat

dr Mateusz Dulski

Wydział Nauk Ścisłych i Technicznych
Uniwersytet Śląski w Katowicach

Katowice 2022

1. Imię i nazwisko

Mateusz Dulski

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

Dyplom: licencjat nauk przyrodniczych

Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Biologii i ochrony środowiska, Katedra geokologii, 2015; Kierunek: Ochrona środowiska

Tytuł: „The ecological condition for the occurrence of *Drosera rotundifolia* from Silesian Upland and its impact on biometric parameters”

Dyplom: magister nauk przyrodniczych

1) Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Matematyki-Fizyki-Chemii, Instytut Fizyki, 2009; Kierunek: Geologia; Specjalność: Fizyka

Tytuł: „Badanie zjawiska mutarotacji w przechłodzonej D-fruktozie z wykorzystaniem metod optycznych”

2) Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Matematyki-Fizyki-Chemii, Instytut Fizyki, 2009; Kierunek: Geologia; Specjalność: Geofizyka

Tytuł: „Rozpoznanie metodami geofizycznymi wybranego odcinka doliny Przemszy”

Dyplom: doktor nauk fizycznych

Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Matematyki-Fizyki-Chemii, 2015; Kierunek: Fizyka

Tytuł: „Badania własności fizykochemicznych rzadkich minerałów Ca z jonami Cl⁻ oraz F⁻ w pustkach strukturalnych”

Promotorzy: dr hab. Roman Wrzalik, Prof. UŚ; prof. dr hab. Evgeny V. Galuskin

Recenzenci: prof. zw. dr. hab. Alicja Ratuszna; prof. dr hab. inż. Maciej Sitarz

Data nadania stopnia doktora nauk fizycznych: 13.01.2015 roku.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

01.10.2014 - 31.09.2015 Stanowisko: asystent,
Uczelnia: Uniwersytet Śląski w Katowicach,
Wydział: Wydział Informatyki i Nauki o Materiałach.

01.10.2015 - 30.09.2019 Stanowisko: adiunkt,
Uczelnia: Uniwersytet Śląski w Katowicach,
Wydział: Wydział Informatyki i Nauki o Materiałach.

- 01.10.2019 - 30.11.2019 Stanowisko: adiunkt,
Uczelnia: Uniwersytet Śląski w Katowicach,
Wydział: Wydział Nauk Ścisłych i Technicznych.
- 01.12.2019 - Stanowisko: profesor uczelni,
Uczelnia: Uniwersytet Śląski w Katowicach,
Wydział: Wydział Nauk Ścisłych i Technicznych.

4. Omówienie osiągnięć.

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego:

Opracowanie technologii wytwarzania i charakterystyka nieorganicznych materiałów kompozytowych oraz wielofunkcyjnych powłok złożonych na stopach NiTi.

4.2. Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wraz z określeniem indywidualnego wkładu w ich powstanie:

[A1] K. Dudek, M. Pławecki, **M. Dulski**, J. Kubacki, „Multifunctional layers formation on the surface of NiTi SMA during β -tricalcium phosphate deposition”, *Materials Letters*, 157, 295-298, 2015.

(Impact Factor: 2.590, Liczba punktów MNiSW: 35, Liczba cytowań wg Scopus: 12 | wg WoS: 12)

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na opracowaniu metodologii pozwalającej na monitorowanie zmienności fazowej w mikroobszarze dzięki zastosowaniu obrazowania ramanowskiego. Wykorzystując spektroskopię rozproszenia Ramana, opracowałem także metodologię pozwalającą na określenie wielkości cząstek stanowiących materiał budulcowy powłoki wytworzonej na stopie NiTi. Uczestniczyłem w przygotowaniu rysunków oraz opracowaniu wyników pomiarowych. Nadałem ostateczny kształt publikacji.

[A2] J. Peszke, **M. Dulski**, A. Nowak, K. Balin, M. Zubko, S. Sułowicz, B. Nowak, Z. Piotrowska-Seget, E. Talik, M. Wojtyniak, A. Mrozek-Wilczkiewicz, K. Malarz, J. Szade, “Unique properties of silver and copper silica-based nanocomposites as antimicrobial agents”, *RSC Advances*, 7, 28092-28104, 2017.

(Impact Factor: 3.108, Liczba punktów MNiSW: 30, Liczba cytowań wg Scopus: 25|wg WoS: 27)

Współuczestniczyłem w procesie syntezy. Wykorzystując metody spektroskopii podczerwieni oraz rozproszenia Ramana wykonałem szczegółowe badania nanokompozytu metal-krzemionka, w tym przeanalizowałem wpływ modyfikatora

metalicznego na własności nośnika krzemionkowego. Przeanalizowałem także wpływ stężenia na własności strukturalne całego kompozytu, zarówno w zależności od zawartości srebra lub miedzi. Przygotowałem rysunki oraz opracowałem wyniki pomiarowe uzyskane z badań spektroskopowych. Byłem jednym z pomysłodawców oraz autorem hipotezy badawczej. Przygotowałem wstępną oraz byłem odpowiedzialny za ostateczną wersję artykułu.

[A3] **M. Dulski**, K. Dudek, M. Grelowski, J. Kubacki, J. Hertlein, M. Wojtyniak, T. Goryczka, “Impact of annealing on features of BCP coating on NiTi shape memory alloy: Preparation and physicochemical characterization”, *Applied Surface Science* 437, 28-40, 2018. (*Impact Factor: 4.439, Liczba punktów MNiSW: 35, Liczba cytowań wg Scopus: 9|wg WoS: 9*)

Byłem pomysłodawcą badań oraz autorem hipotezy badawczej. Przeprowadziłem analizę wyników XPS, AES wraz z ich opisem. Scharakteryzowałem stany powierzchniowe materiału powłokotwórczego porównując zmiany jakie zaszły w materiale przed i po procesie obróbki termicznej. Określiłem skład chemiczny, wpływ temperatury na zawartość indywidualnych pierwiastków oraz zmiany Ca/P oraz O/Ca. Przygotowałem wstępną oraz byłem odpowiedzialny za ostateczną wersję artykułu.

[A4] K. Dudek, **M Dulski**, T. Goryczka, A. Gerle, “Structural changes of hydroxyapatite coating electrophoretically deposited on NiTi shape memory alloy”, *Ceramics International*, 44, 10, 11292-11300, 2018.

(*Impact. Factor: 3.057, Liczba punktów MNiSW: 40, Liczba cytowań wg Scopus: 12|wg WoS: 13*)

Byłem pomysłodawcą nowego podejścia do szacowania chropowatości powierzchni za pomocą tzw. profilowania ramanowskiego. Pomagałem przygotować ostateczny kształt publikacji. Mój wkład w powstanie publikacji związany był z wykorzystaniem spektroskopii rozproszenia Ramana do monitorowania jednorodności rozkładu materiału w badanym obszarze. Wykorzystując uzyskane dane oraz opracowane w pracy [A1] podejście, określiłem rozmiar cząstek stanowiący materiał powłokotwórczy, Monitorowałem zmiany strukturalne oraz fazowe zachodzące na skutek obróbki termicznej wykorzystując spektroskopię rozproszenia Ramana. Przygotowałem rysunki oraz przeprowadziłem analizę wyników wraz z ich opisem. Pomagałem przygotować ostateczną wersję publikacji.

[A5] **M. Dulski**, K. Dudek, D. Chalon, J. Kubacki, S. Sulowicz, Z. Piotrowska-Seget, A. Mrozek-Wilczkiewicz, R. Gawecki, Anna Nowak, “Toward the Development of an Innovative Implant: NiTi Alloy Functionalized by Multifunctional β -TCP+Ag/SiO₂ Coatings”, *ACS Applied Bio Materials* 2, 3, 987-998, 2019.

(Impact Factor: -, Liczba punktów MNiSW: 0, Liczba cytowań wg Scopus: 3 | wg WoS: 3)

Byłem pomysłodawcą badań oraz autorem hipotezy badawczej. Współuczestniczyłem w procesie wytwarzania warstw. Największym osiągnięciem przedstawionym w pracy było wykorzystanie spektroskopii rozproszenia Ramana do monitorowania zmian strukturalnych oraz fazowych w obrębie materiału powłokotwórczego. Opracowałem hipotezę pozwalającą wyjaśnić wpływ zmian strukturalnych zachodzących na granicy powłoka – podłoże na skutek funkcjonalizacji powierzchni stopu NiTi metodami osadzania elektroforetycznego. Pokazałem silny wpływ nanocząstek srebra, efektów kawitacyjnych oraz wpływ materii organicznej na wzrost adhezji powłoki do podłoża stopu. Wykonałem analizę wyników spektroskopowych oraz mikroskopowych, a także przygotowałem publikację od strony graficznej, wstępną oraz ostateczną wersję publikacji.

[A6] **M. Dulski**, J. Peszke, J. Włodarczyk, S. Sulowicz, Z. Piotrowska-Seget, K. Dudek, J. Podwórny, K. Malarz, A. Mrozek-Wilczkiewicz, M. Zubko, A. Nowak, “Physicochemical and structural features of heat treated silver-silica nanocomposite and their impact on biological properties”, *Materials Science and Engineering C*, 103, 109790, 2019.

(Impact Factor: 4.959, Liczba punktów MNiSW: 140, Liczba cytowań wg Scopus: 4 | wg WoS: 3)

Byłem pomysłodawcą badań oraz autorem hipotezy badawczej. Współuczestniczyłem w procesie wytwarzania syntezy. Metodami spektroskopii rozproszenia Ramana monitorowałem wpływ srebra na strukturę nośnika krzemionkowego. Zmodyfikowałem empiryczne wzory dostępne w literaturze opracowując nowe podejście pozwalające na oszacowanie procentowej zawartości srebra oraz fazy amorficznej w odniesieniu do kompozytu Ag-SiO₂. Podobne badania i analizy wykonałem w odniesieniu do próbek wygrzewanych w zmiennych warunkach temperatury. W konsekwencji wykorzystując metody dyfrakcyjne, spektroskopowe oraz mikroskopowe opracowałem model zmian strukturalnych w obrębie kompozytu, a dane zestawiałem na tzw. „diagramie pseudofazowym”. Wyjaśniłem wpływ zmian strukturalnych i chemicznych na własności biologiczne. Uczestniczyłem od strony

graficznej w przygotowaniu rysunków oraz przeanalizowałem i opisałem wyniki. Przygotowywałem wstępną oraz ostateczną wersję publikacji.

[A7] **M. Dulski**, K. Dudek, J. Podwórny, S. Sułowicz, Z. Piotrowska-Seget, K. Malarz, A. Mrozek-Wilczkiewicz, K. Wolnica, K. Matus, J. Peszke, A. Nowak, „Impact of temperature on the physicochemical, structural and biological features of copper-silica nanocomposites” *Materials Science and Engineering C*, 107, 110274, 2020.

(Impact Factor: 5.880, Liczba punktów MNiSW: 140, Liczba cytowań wg Scopus: 1 | wg WoS: 1)

Byłem pomysłodawcą badań oraz autorem hipotezy badawczej pracy. Współuczestniczyłem w procesie syntezy. Metodami spektroskopii podczerwieni monitorowałem wpływ miedzi na strukturę nośnika krzemionkowego, stopień utlenienia metalu oraz stwierdziłem obecność kompleksu metaloorganicznego, moolooitu. Podobne rozważania przeprowadziłem w odniesieniu do próbek wygrzewanych w zmiennych warunkach temperatury monitorując zmiany stopnia utlenienia miedzi oraz określając temperaturę rozkładu moolooitu. W konsekwencji wykorzystując metody dyfrakcyjne, spektroskopowe oraz mikroskopowe opracowałem model zmian strukturalnych, skorelowałem zmiany zachodzące w kompozycie z własnościami biologicznymi. Przygotowałem wstępną oraz ostateczną wersję artykułu.

[A8] K. Dudek, **M. Dulski**, B. Losiewicz, „Functionalization of the NiTi Shape Memory Alloy Surface by HAp/SiO₂/Ag Hybrid Coatings Formed on SiO₂-TiO₂ Glass Interlayer”, *Materials* 13, 7, 1648, 2020.

(Impact Factor: 3.623, Liczba punktów MNiSW: 140, Liczba cytowań wg Scopus: 5 | wg WoS: 4)

Opracowałem hipotezę badawczą pracy, współuczestniczyłem w procesie wytwarzania warstw oraz wykorzystując spektroskopię rozproszenia Ramana monitorowałem zmiany strukturalne oraz fazowe w obrębie materiału powłokotwórczego. Opracowałem hipotezę pozwalającą wyjaśnić zmiany strukturalne zachodzące, na granicy powłoka - podłoże na skutek funkcjonalizacji powierzchni stopu NiTi metodami osadzania elektroforetycznego. Podobnie do wyników uzyskanych w pracy [A5] pokazałem silny wpływ nanocząstek srebra na tworzenie między-warstwy SiO₂-TiO₂ pomiędzy materiałem powłokotwórczym oraz podłożem. Wykonałem analizę uzyskanych wyników spektroskopowych oraz mikroskopowych, a także przygotowałem publikację od strony graficznej, oraz wstępną i ostateczną wersję artykułu.

[A9] **M. Dulski**, K. Malarz, M. Kuczak, K. Dudek, K. Matus, S. Sułowicz, A. Mrozek-Wilczkiewicz, A. Nowak, „An organic-inorganic hybrid nanocomposite as a potential new biological agent” *Nanomaterials*, 10, 12, 2551, 2020.

(Impact Factor: 4.446, Liczba punktów MNiSW: 70, Liczba cytowań wg Scopus: 0 | wg WoS: 1)

Byłem autorem hipotezy badawczej, wykonałem syntezę nanomateriałów oraz wykorzystując metody spektroskopii rozproszenia Ramana monitorowałem wpływ zewnętrznych modyfikatorów (nanocząstki metaliczne, polimery organiczne) na strukturę krzemionki i własności fizykochemiczne oraz biologiczne kompozytu. Przygotowałem publikację od strony graficznej, a także wykonałem analizę danych pomiarowych otrzymanych z metod spektroskopowych oraz mikroskopowych. Przygotowywałem wstępną wersję oraz finalną wersję artykułu.

[A10] **M. Dulski**, J. Balcerzak, W. Simka, K. Dudek, "Innovative bioactive Ag-SiO₂/TiO₂ coating on a NiTi-shaped memory alloy: Structure and mechanism of its formation", *Materials*, 14, 1, 99, 2021.

(Impact Factor: 3.623, Liczba punktów MNiSW: 140, Liczba cytowań wg Scopus: 1 | wg WoS: 1)

Współuczestniczyłem w procesie wytwarzania warstw. Wykorzystując metodę spektroskopii rozproszenia Ramana przeanalizowałem zmiany strukturalne oraz fazowe zachodzące w obrębie materiału powłokotwórczego. Na podstawie uzyskanych wyników, potwierdziłem postawioną hipotezę, dotychczas tylko częściowo wyjaśnioną w pracach [A5, A8], na temat wpływu nanocząstek srebra na zmiany strukturalne zachodzące, na granicy powłoka - podłoże na skutek funkcjonalizacji powierzchni stopu NiTi. Wykonałem analizę uzyskanych wyników spektroskopowych oraz mikroskopowych, a także przygotowałem publikację od strony graficznej, wstępną wersją artykułu oraz byłem odpowiedzialny za ostateczną wersję publikacji.

[A11] **M. Dulski**, R. Gawecki, S. Sułowicz, M. Cichomski, A. Kazek-Kęsik, M. Wala, K. Leśniak, W. Simka, A. Mrozek-Wilczkiewicz, M. Gaweda, M. Sitarz, K. Dudek, "Key properties of bioactive Ag-SiO₂/TiO₂ coating on NiTi shape memory alloy important for biomedical application", *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 2, 507, 2021.

(Impact Factor: 5.923, Liczba punktów MNiSW: 140, Liczba cytowań wg Scopus: 1 | wg WoS: 0)

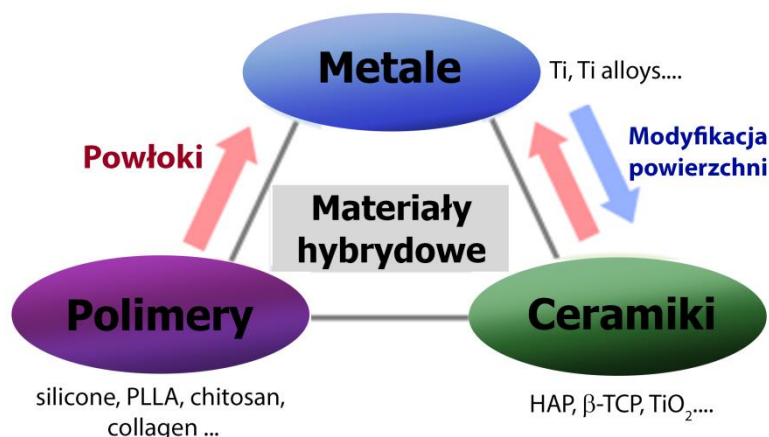
Byłem pomysłodawcą badań. Współuczestniczyłem w procesie wytwarzania warstw. Opracowałem dane pomiarowe tj. kąt zwilżenia, swobodna energia powierzchniowa, migracja jonów, topografia powierzchni etc. Skorelowałem wyniki uzyskane z różnych

metod opracowując zawartą w tytule publikacji hipotezę, zakładającą wykorzystanie nietypowego materiału jako potencjalnie nowego rozwiązania stanowiącego modyfikację powierzchni stopu NiTi. Przygotowywałem wstępną oraz ostateczną wersją artykułu, a także opracowałem publikację od strony graficznej.

4.3. Omówienie celu naukowego oraz wyników uzyskanych na podstawie zebranego dorobku naukowego:

Wprowadzenie

Dynamiczny rozwój inżynierii materiałowej, obserwowany w ostatnich kilkunastu latach przyczynia się do opracowywania coraz bardziej zaawansowanych, wielofunkcyjnych materiałów, o szerokim spektrum zastosowań¹⁻³. W tym ujęciu, jednym z najszybciej rozwijających się rynków jest sektor biomedyczny, którego wartość szacuje się na około 530 mld USD w 2050 roku, przy czym ponad 50% aplikacji w ramach tego sektora będzie skoncentrowana na opracowaniu nowoczesnych biomateriałów wykorzystywanych do implantologii (Rys. 1). Rola konkretnych biomateriałów w rozwoju gospodarki światowej wydaje się zatem kluczowa, a zrozumienie wszystkich ich własności decydujące w opracowaniu konkretnego rozwiązania.



Rys. 1 Podział materiałów inżynierskich wykorzystywanych w medycynie i towarzyszących im naukach biologicznych.

Ogromne zainteresowanie biomateriałami wynika z faktu ich fizjologicznej i biologicznej akceptacji przez żywy organizm^{4,5}. Z uwagi na przyszłe możliwości aplikacyjne, najbardziej interesującymi materiałami, z mojego punktu widzenia, okazały się: stopy metali, ceramiki oraz kompozyty:

Metale i ich stopy ze względu na swoje własności (wysoka wytrzymałość mechaniczna, odporność na zużycie ścierne, jednorodność) już od ponad 65 lat cieszą się nieślabnącą

popularnością w implantologii (np. implanty szczękowo-twarzowe, protezy kręgów lędźwiowych, etc.)⁶⁻¹¹. Dominującą rolę spośród dostępnych na rynku biomateriałów metalicznych odgrywają implanty oparte o stopy tytanu (np. Ti6Al4V, NiTi) stwarzające możliwość zespolenia lub zastępowania uszkodzonej kości. Z tego grona, najbardziej perspektywicznymi materiałami okazały się stopy NiTi o składzie chemicznym bliskim równowagowemu (50,6 %at. Ni i 49,4 %at. Ti), wykazujące jednokierunkowy i/lub dwukierunkowy efekt pamięci kształtu, oraz pseudosprężystość. Odnaczają się przy tym parametrami zbliżonymi do właściwości mechanicznych kości (np. moduł Younga), wysoką odpornością na korozję, biokompatybilnością, etc.^{12,13}. Niestety, poważnym ograniczeniem stosowalności NiTi jest uwalnianie jonów niklu do środowiska, na skutek długotrwałego ich oddziaływania z płynami ustrojowymi w warunkach *in vivo*, co może prowadzić do odczynów alergicznych, a w konsekwencji powstania stanów zapalnych^{12,13}.

Materiały ceramiczne (np. ceramika fosforanowo-wapniowa, CaP lub ceramika krzemionkowa, SiO₂) ze względu na wysoką biokompatybilność z tkanką kostną od wielu lat uważane są za najpowszechniejsze materiały w medycynie, głównie w leczeniu ubytków kości (np. biodra, kolana i kręgosłupa, etc.)²⁸⁻³⁰. Wynika to z faktu, że *ceramika fosforanowo-wapniowa* odznacza się wysoką wytrzymałością na ściskanie, twardością, oraz biotolerancją. Uważana jest za potencjalny materiał powłokotwórczy o własnościach ochronnych, barierowych. CaP wspomaga odporność korozyjną metalowych implantów, oraz ich odporność na ścieranie¹⁴⁻¹⁶, a także stanowi rusztowanie sprzyjające regeneracji tkanek¹⁷. Niestety, wykazuje słabe właściwości mechaniczne tj. kruchość (mała odporność na pękanie), niską odkształcalność, niewielki moduł Weibulla¹⁸⁻²¹ oraz nie chroni przed rozwojem biofilmu bakteryjnego (np. *E. coli*)^{14,22-24}. Ceramika krzemionkowa z kolei uważana jest za materiał obojętny, ogranicza efekty rozpuszczania i zwiększa stabilność jonowych form metali czy też struktur metalicznych (np. Ag, Cu)²⁵⁻²⁷. Własności fizykochemiczne (np. obecność grup hydroksylowych) oraz strukturalne (np. ilość niewysyconych wiązań) powodują, że SiO₂ tworzy stabilne i trwałe powłoki, wpływając na wzrost odporności korozyjnej podłoża. Niestety w wyniku obróbki termicznej, struktura krzemionki może ulegać modyfikacji strukturalnej, która może prowadzić do zmian jej właściwości fizykochemicznych.

Negatywne własności związane z pojedynczymi materiałami inżynierskimi powodują, że coraz częściej poszukuje się nowego typu biomateriałów tj. dwuskładnikowe kompozyty, przy czym każdy element składowy powinien odznaczać się różnymi własnościami fizykochemicznymi²⁸. W efekcie odpowiedni dobór składu oraz techniki ich wytwarzania

pozwole na uzyskanie materiałów m.in. o wyższej odporności na pękanie czy też wytrzymałości mechanicznej na zginanie, ściskanie, rozciąganie. Kompozyty takie mogą wykazywać lepsze własności osteokondukcyjne (=rusztowanie dla tworzenia nowej tkanki kostnej), bakteriostatyczne, czy też odznaczać się niższymi parametrami modułu Younga, dłuższym czasem życia i większą niezawodnością w warunkach *in vitro* jak i *in vivo*.

Pewien nowy kierunek, zwłaszcza w kontekście rozwoju nowych kompozytów, wyznacza **nanotechnologia**. Zgodnie z definicją podaną przez US Nanotechnology Initiative w 2001, „*nanotechnologia to ogół procesów zmierzających do wytworzenia materiałów, które dzięki swoim rozmiarom, kształtom, własnościami powierzchni czy też strukturze wewnętrznej odznaczają się nowymi właściwościami fizycznymi, chemicznymi oraz biologicznymi*”³¹. Biorąc to pod uwagę, obiecującymi materiałami, które można wykorzystać do modyfikacji powierzchni stopu NiTi mogą być **nanokompozyty** w postaci kombinacji *cząstek metalicznych* (np. srebro, miedź) o rozmiarach nanometrycznych (1-20 nm) i *cząstek ceramicznych* (np. fosforanowa, krzemionkowa) o rozmiarach submikronowych oraz składzie chemicznym i fazowym zbliżonym do składu kości^{14,22-24}. Niestety, pewnym ograniczeniem proponowanego rozwiązania może być nadmierne aglomerowanie metalu lub niekontrolowane uwalnianie jonów z powierzchni nanocząstki. Inne problemy dotyczą trudności z wykorzystaniem nanokompozytów jako składowych przy funkcjonalizacji powierzchni innych materiałów, w tym z uzyskaniem jednorodnych powłok / warstw / filmów, zwłaszcza w kontekście ich grubości oraz stężenia poszczególnych pierwiastków. Powoduje to, że wykorzystanie nanokompozytów jako potencjalnie nowych materiałów powłokotwórczych do zastosowań biomedycznych nie jest trywialne. Idealnym rozwiązaniem byłoby uzyskanie struktur o korzystnych właściwościach z racji ich potencjalnego zastosowania, a jednocześnie stanowiących alternatywę dla powszechnie używanych materiałów konstrukcyjnych np. przy funkcjonalizacji dowolnego typu powierzchni (płaskie, o zróżnicowanej chropowatości, wygięte, oraz do metali i ich stopów etc).

Podsumowując, funkcjonalizacja powierzchni stopu NiTi za pomocą hybrydowych kompozytów będących kombinacją materiałów ceramicznych (CaP, SiO₂) oraz nanocząstek metali (Ag, Cu) powinna zapewnić skuteczniejszą adhezję powłoki oraz ograniczyć migrację jonów niklu z podłoża do organizmu. Na chwilę obecną wstępne wyniki omówione w autoreferacie pokazały, że kompozyty Cu-SiO₂ nie pozwalają na uzyskanie stabilnych powłok o właściwościach pożądanym w implantologii. W rezultacie wykonano i przebadano hybrydowe układy kompozytowe w postaci β -TCP+X-SiO₂/TiO₂/NiTi, HAp+X-SiO₂/TiO₂/NiTi,

referencyjne $X\text{-SiO}_2/\text{TiO}_2/\text{NiTi}$, $\beta\text{-TCP}/\text{TiO}_2/\text{NiTi}$, $\text{HAp}/\text{TiO}_2/\text{NiTi}$ gdzie ($X = \text{Ag}$) oraz $\text{BCP}/\text{TiO}_2/\text{NiTi}$. Uzyskane wyniki stanowiły także podstawowy element projektu SONATA pt.: „Opracowanie technologii wytwarzania oraz charakterystyka nieorganicznych materiałów kompozytowych i wielofunkcyjnych powłok złożonych na stopach NiTi”. Badania prowadzono w zespole interdyscyplinarnym w kooperacji z różnymi jednostkami naukowymi:

- Badania strukturalne, fizykochemiczne, korozyjne oraz ocena cytotoksyczności wykonane zostały w laboratoriach znajdujących się na Wydziale Nauk Ścisłych i Technicznych ulokowanym w Śląskim Międzywydziałowym Centrum Edukacji i Badań Interdyscyplinarnych przy Uniwersytecie Śląskim w Katowicach.
- Badania mikrobiologiczne zostały przeprowadzone na Wydziale Nauk Przyrodniczych przy Uniwersytecie Śląskim w Katowicach.
- Inne prace laboratoryjne oraz badania wykonywano we współpracy z Siecią Badawczą ŁUKASIEWICZ - Instytutem Ceramiki i Materiałów Budowlanych (funkcjonalizacja powierzchni, SEM-EDS, XRD), AGH (analiza kątów zwilżenia, adhezja), Uniwersytetem Łódzkim (AFM, trybologia, analiza kątów zwilżania), Politechniką Łódzką (XPS) oraz Politechniką Śląską w Gliwicach (ICP-OES, biokompatybilność).

Przyjęto także hipotezę, w myśl której funkcjonalizacja powierzchni stopu NiTi za pomocą powłok $X\text{-SiO}_2+\text{CaP}/\text{TiO}_2$ nie wpłynie na efekt pamięci kształtu podłoża, a finalny biomateriał okaże się bezpieczny dla pacjenta w długofalowym leczeniu i wpłynie na skrócenie okresu jego rekonwalescencji. Koszty wytworzenia biomateriału powinny być przy tym znacznie niższe niż literaturowo dostępnych rozwiązań, co zwiększy dostępność zaproponowanego rozwiązania dla szerszej części populacji.

Wyniki badań

Opisane we wstępie problemy badawcze dotyczące materiałów inżynierskich w myśl idei Alberta Szen-György’ego „Innowacja polega na tym, że widząc to co wszyscy inni, dostrzega się to czego nikt nie zauważył” stały się podstawą moich zainteresowań w momencie zatrudnienia na Uniwersytecie Śląskim w Katowicach. W tym czasie wraz z zespołem badawczym podjąłem prace nad funkcjonalizacją powierzchni stopu NiTi z wykorzystaniem powszechnie dostępnych fosforanów wapnia (hydroksyapatyt, trójfosforan wapnia), a jednocześnie rozpocząłem prace nad opracowaniem układów kompozytowych, w których nanocząstki metalu ($X = \text{Ag}, \text{Cu}$) rozmieszczone były jednorodnie w obrębie nośnika krzemionkowego (SiO_2). Materiały takie w dalszym etapie miały stanowić podstawę koncepcji nowego typu hybrydowego układu wielofunkcyjnego o założonej strukturze

molekularnej. Uzyskane w trakcie prac badawczo-rozwojowych wyniki przełożyły się na przygotowanie 11 tematycznych prac naukowych podsumowujących dotychczasowe osiągnięcia badawcze. Należy także podkreślić, że realizacja hipotezy badawczej była kilkietapowa, a każdy z etapów wynikał z uprzednio prowadzonych prac. Wyniki były publikowane w różnym czasie ze względu na ich wielowątkowy charakter, wynikający z prowadzonych badań w trakcie realizacji projektu SONATA. Poniżej przedstawiono etapy prac wraz z odpowiednimi artykułami naukowymi:

- | | |
|---------|---|
| Etap 1. | Funkcjonalizacja powierzchni stopu NiTi z wykorzystaniem ceramiki fosforanowej tj. trójfosforany wapnia (β -TCP), hydroksyapatyt (HAp) oraz ceramiki dwuskładnikowej (BCP) [A1, A3, A4]. |
| Etap 2. | Wytworzenie i charakterystyka nanomateriałów hybrydowych zbudowanych w oparciu o matrycę krzemionkową domieszkowaną nanocząstkami srebra oraz miedzi ($X\text{-SiO}_2$; $X = \text{Ag, Cu}$) [A2, A6, A7, A9]. |
| Etap 3. | Modyfikacja powierzchni stopu NiTi przy zastosowaniu nanostruktur krzemionkowych oraz kombinacji ceramiki fosforanowej i układów $X - \text{SiO}_2$. $X = \text{Ag}$ [A5, A8, A10, A11]. |

Etap 1:

Funkcjonalizacja powierzchni stopu NiTi z wykorzystaniem ceramiki fosforanowej tj. trójfosforany wapnia (β -TCP), hydroksyapatyt (HAp) oraz ceramiki dwuskładnikowej (BCP).

Badania w ramach etapu pierwszego koncentrowały się na rozwijaniu idei zaproponowanej w literaturze. W tym ujęciu funkcjonalizację powierzchni stopu NiTi przeprowadzono z użyciem komercyjnie dostępnych, nieorganicznych materiałów, takich jak resorbowalny trójfosforan wapnia (β -TCP: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) [A1], nieresorbowalny hydroksyapatyt (HAp: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) [A4] oraz kombinacji HAp+ β -TCP (BCP) [A3]. Powłoki CaP wytwarzano wykorzystując metodę tzw. osadzania elektroforetycznego (EPD)³²⁻³⁷. Metoda EPD w odróżnieniu od wielu innych technik opisywanych w literaturze (np. zol-żel, napyłania plazmowe, CVD, PVD, natryskiwanie termiczne, rozpylanie jonowe lub magnetronowe, utlenianie, osadzanie jarzeniowe, implantacja jonów, etc.) pozwala na wytwarzanie powłok o kontrolowanych parametrach grubości oraz chropowatości, bez konieczności stosowania złożonej aparatury badawczej, uniknięcia wysokiej próżni, czy też podwyższonej temperatury. EPD okazuje się być procesem, relatywnie szybkim oraz ekonomicznym, nie wpływającym na modyfikację własności podłoża (nadsprężystość, efekt pamięci kształtu) ani na

dekompozycję osadzanych materiałów ^{32,38-43}. Niestety, wymagana jest optymalizacja parametrów osadzania (czas, napięcie), a powłoki wytworzone metodami EPD odznaczają się niską stabilnością mechaniczną oraz adhezją do podłoża. Ograniczenia te powodują, że metaliczny implant po funkcjonalizacji wymaga obróbki termicznej w celu poprawy kontaktu chemicznego powłoki z podłożem. Obróbka termiczna może dodatkowo wpłynąć na strukturę materiałów powłokotwórczych, ich skład chemiczny oraz fazowy ³⁸, a także skutkować rozkładem fazy macierzystej stopu NiTi (B2) na fazy równowagowe (Ni₃Ti, Ti₂Ni) bądź nierównowagowe, które nie wykazują efektu pamięci kształtu.

Badania na etapie pierwszym rozpoczęto od pasywacji stopu i wytworzenia TiO₂ oraz następnie na wytworzeniu powłok β-TCP [A1]. Przetestowano szereg zmiennych parametrów osadzania (czas: 30 s, 60 s, 90 s, napięcie: 20 V, 60 V, 80 V) i pokazano, że zbyt niskie wartości napięcia lub zbyt krótki czas osadzania prowadzą do uzyskania powłok o dużej heterogeniczności rozkładu cząstek β-TCP. Z kolei, powłoki uzyskane przy zbyt wysokich wartościach napięcia oraz dłuższych czasach osadzania odznaczały się zbyt dużym upakowaniem materiału powłokotwórczego oraz grubością (~kilka μm). Najbardziej perspektywicznymi powłokami okazały się te uzyskane przy 20 V i 30 s, w których duże cząstki β-TCP były rozlokowane w matrycy zbudowanej z bardzo drobnych cząstek trójfosforanu wapnia. Podobne podejście zastosowano w przypadku hydroksyapatytu (HAp) [A4] i kombinacji HAp+β-TCP (BCP) [A2]. Powłoki HAp wytworzono przy znacznie większym zakresie napięć (20 V, 40 V, 80 V, 300 V, 500 V), ale podobnych czasach osadzania (30 s, 60 s, 120 s), podczas gdy powłoki BCP przy zmiennych wartościach napięć (40V, 60V, 80 V), ale stałym czasie osadzania (60 s). Najkorzystniejszymi parametrami osadzania okazały się napięcie 40 V i czas 120 s (HAp) ⁴⁴ oraz 80 V i 60 s (BCP) ⁴⁵. Powłoki te zbudowane były w oparciu o kombinację drobnych cząstek HAp oraz cząstek HAp lub β-TCP tworzących większe aglomeraty, zwykle o nieregularnych kształtach [A2, A4].

Badania strukturalne wykonane metodami dyfrakcji rentgenowskiej (XRD) oraz spektroskopii rozproszenia Ramana (RS) potwierdziły obecność trójfosforanu wapnia, hydroksyapatytu oraz stopu NiTi w fazie beta [A1, A3, A4], oraz dodatkowo w niewielkiej ilości pirofosforan (CPP) wapnia [A3]. Obecność warstwy pasywnej (TiO₂), ze względu na niską jej krystaliczność, potwierdzono tylko metodą RS [A1]. Proces funkcjonalizacji nie wpłynął na modyfikację struktury osadzonych biomateriałów, czego efektem były zbliżone parametry komórki elementarnej (XRD) oraz podobne widma ramanowskie dla materiałów przed i po procesie modyfikacji powierzchni stopu. Zastosowanie obrazowania ramanowskiego w wybranym obszarze próbki pozwoliło na opracowanie mapy

przestrzennego rozkładu fosforanów wapnia oraz oszacowanie wielkości cząstek β -TCP \sim 500 nm [A1] i HAp \sim 200 nm [A4]. Uzyskane rezultaty wielkości cząstek CaP okazały się być zgodne z wynikami otrzymanymi metodami dynamicznego rozpraszania światła (DLS) [A1] oraz z mikroskopii sił atomowych (AFM) [A3].

Analiza stanów powierzchniowych (głębokość analizy \sim 1-5 nm) przeprowadzona metodami spektroskopii elektronów Auger (AES) i spektroskopii fotoelektronów w zakresie promieniowania X (XPS), a w szczególności otrzymana wartość O/Ca \sim 3,96, potwierdziła utworzenie cienkiej warstwy CaP na powierzchni stopu NiTi bez względu na rodzaj osadzanego materiału [A1, A3]. Uzyskane wartości stosunku atomowego wapnia do fosforu były zbliżone bez względu na rodzaj materiałów, z których wykonano powłoki (1,35 dla β -TCP/TiO₂/NiTi < Ca/P < 1,48 dla HAp/TiO₂/NiTi). W tym ujęciu oszacowana wartość Ca/P \sim 1,41 wyznaczona dla BCP/TiO₂/NiTi okazała się być najbardziej zbliżona do wartości obserwowanej dla naturalnej kości. W niektórych fragmentach próbki (zwykle pomiędzy aglomeratami β -TCP, zarówno dla β -TCP/TiO₂/NiTi oraz BCP/TiO₂/NiTi) zaobserwowano sygnał pochodzący od tytanu, wskazując na lokalnie występujące nieciągłości powłoki.

Niska adhezja powłok CaP do podłoża NiTi wymusiła konieczność obróbki termicznej biomateriału. Najkorzystniejsze warunki spiekania stwierdzono dla 800°C/2h (HAp, BCP) oraz 1000°C/2h (β -TCP). W wyniku spiekania zaobserwowano zmianę sekwencji odwracalnej przemiany martenzytycznej stopu NiTi z jednostopniowej (B2 \rightarrow B19') na dwustopniową (B2 \rightarrow R \rightarrow B19'). Zmianę tę powiązano ze zmianą lokalnej niejednorodności składu chemicznego podłoża wynikającą z krystalizacji Ni₄Ti₃, Ti₂Ni [A3, A4]. Należy jednak podkreślić, że funkcjonalizacja powierzchni za pomocą CaP nie wpłynęła na zablokowanie przemiany martenzytycznej powiązanej z efektem pamięci kształtu, co potwierdzono metodami kalorymetrii różnicowej (DSC).

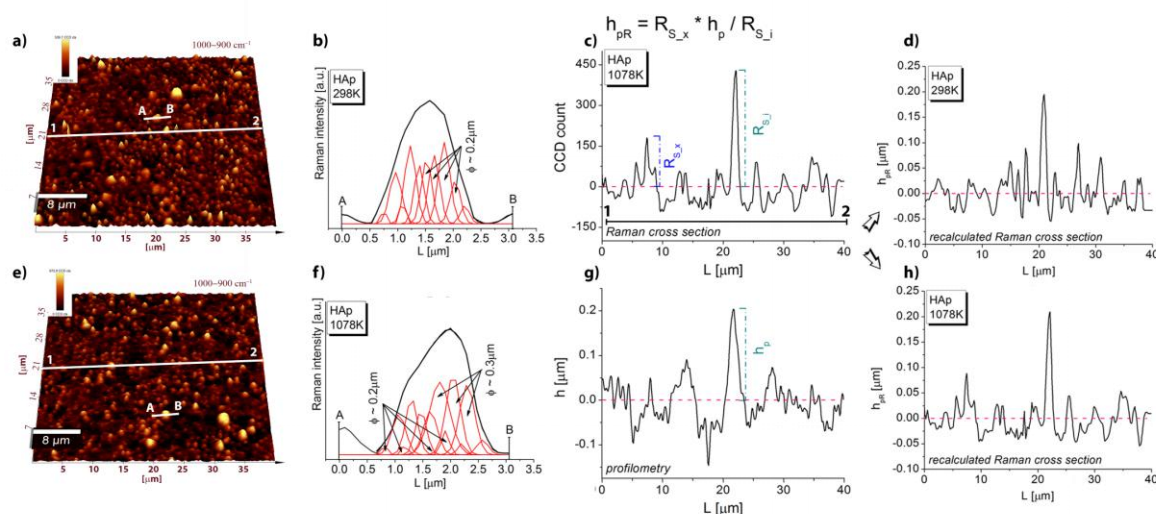
Kolejnym krokiem było sprawdzenie wpływu temperatury na modyfikację powierzchni materiału powłokotwórczego, w tym na morfologię, strukturę, własności mechaniczne (moduł Younga) oraz stany chemiczne pierwiastków powłokotwórczych. W przypadku powłok β -TCP zauważono zmiany mikrostruktury powierzchni, szczególnie dobrze widoczne w obszarach pomiędzy większymi skupiskami cząstek β -TCP. Efekt ten powiązano z rekrytalizacją TiO₂ oraz powstawaniem drobnych aglomeratów β -TCP. Badania składu atomowego przeprowadzone przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego z przystawką do mikroanalizy rentgenowskiej (SEM-EDS) pokazały obecność Ca, P, O, Ti w obrębie całej powierzchni materiału oraz lokalnie Ni sugerując częściową delaminację powłoki.

Bardziej perspektywiczne z uwagi na ciągłość, morfologię powierzchni oraz jednorodność rozkładu pierwiastków okazały się powłoki wykonane z HAp i BCP. W przypadku obu typu powłok, cząstki hydroksyapatytu [A4] oraz hydroksyapatytu i trójfosforanu wapnia [A3] ulegały koalescencji na skutek obróbki termicznej, co zapewniło ciągłość materiału powłokotwórczego w mikroskali [A3]. Powłoki te odznaczały się przy tym relatywnie niewielką grubością sięgającą $\sim 2.4 \mu\text{m}$ (HAp/TiO₂/NiTi) oraz $\sim 5 \mu\text{m}$ (BCP/TiO₂/NiTi) ⁴⁴. Technika AFM stwierdzono nieznaczny wzrost chropowatości (R_a) od 130 nm do 150 nm ⁴⁴ w przypadku HAp, podczas gdy dla powłok BCP zaobserwowano spadek chropowatości od 3,1 nm do 1,3 nm, odpowiednio przed i po obróbce termicznej [A3]. Zgodnie z literaturą wyższe wartości R_a wpływają na lepszą adhezję komórek i tkanek do powierzchni powłoki ⁴⁶, a niższe prowadzą do bardziej swobodnego dostępu cząsteczek kolagenu i pomagają w tworzeniu naturalnego hydroksyapatytu kościotwórczego ⁴⁷. W przypadku powłok BCP badania AFM pozwoliły na oszacowanie wartości modułu Younga (E), który przed wygrzewaniem wynosił on $E_1 = 24,2 \text{ GPa}$ dla hydroksyapatytu ^{48,49} i $E_2 = 155,8 \text{ GPa}$ dla trójfosforanu wapnia ⁵⁰, natomiast po wygrzewaniu odpowiednio $E_1 = 44,2 \text{ GPa}$ i $E_2 = 191,8 \text{ GPa}$ [A3]. Wyniki te korelują z wartościami E uzyskanymi dla fosforanów wapnia o parametrach typowych dla cementu kostnego ⁵¹.

Badania powierzchni powłok wykonane dla BCP przy zastosowaniu XPS oraz AES pokazały, że procesy wygrzewania wysokotemperaturowego mają silny wpływ na modyfikację powierzchni materiału powłokotwórczego, w tym na migrację jonów Ca i P czy też pojawienie się sferycznych ziaren hydroksyapatytu o nanometrycznych rozmiarach [A3]. W wyniku spiekania wysokotemperaturowego stwierdzono lokalny wzrost zawartości tytanu wskazujący na pojawienie się nieciągłości w powłoce BCP oraz na wytworzenie warstwy zbudowanej z: niestechiometrycznych kryształów trójfosforanu wapnia zawierających grupy (HPO₄)³⁻ oraz hydroksyapatytu zawierających grupy węglanowe (CO₃)²⁻. Zgodnie z doniesieniami literaturowymi powłoki tego typu powinny wspomagać procesy osteogenezy ⁵²⁻⁵⁵.

Technikami XRD oraz RS wykazano brak wpływu zastosowanych warunków wygrzewania na własności strukturalne osadzonego materiału, przy czym obróbka cieplna skutkowała częściowym rozkładem NiTi na fazy równowagowe: Ti₂Ni i Ni₄Ti₃ (HAp/TiO₂/NiTi, BCP/TiO₂/NiTi) [A3, A4]. W przypadku powłok HAp stwierdzono obecność strukturalnie zmienionego hydroksyapatytu z wbudowanymi grupami węglanowymi (CO₃)²⁻ [A4], podczas gdy w przypadku powłok BCP, ze względu na niską zawartość węgla lub obecność trójfosforanu wapnia uniemożliwiającego inkorporację węgla do struktury

hydroksyapatytu nie stwierdzono grup $(\text{CO}_3)^{2-}$ [A3]. Spektroskopia ramanowska pozwoliła oszacować wielkość cząstek HAp ($\Phi \sim 200 - 300 \text{ nm}$) oraz chropowatość powłoki HAp/TiO₂/NiTi ($R_a \sim 80 - 150 \text{ nm}$) [A2]. Wartości R_a były w tym przypadku zbliżone do tych otrzymanych z klasycznego profilometru (rys. 2) i przy pomocy mikroskopii AFM [A4]. Opracowana metoda „profilometrii ramanowskiej” pozwoliła na uzyskiwanie wyników porównywalnych z klasyczną profilometrią, co powoduje, że może zostać wykorzystana do określenia parametrów chropowatości dla powłok niewygrzewanych lub znaleźć zastosowanie w odniesieniu do dowolnego typu materiału powłokotwórczego.



Rys. 2. Obrazowanie ramanowskie wykonane dla powłoki niewygrzanej (a) i wygrzanej (e). Wyniki uzyskano na podstawie analizy całkowania pasma w zakresie 1000-900 cm^{-1} . AB - przekrój przez aglomerat HAp, 1-2 - przekrój przez analizowaną powierzchnię. (b, f) Oszacowanie rzeczywistego rozmiaru cząstek HAp na podstawie dopasowania przekroju przez aglomerat cząstek za pomocą funkcji Gaussa. (c) Profil wykonany na podstawie danych ze spektroskopii rozproszenia Ramana (w zliczeniach CCD) oraz (g) profil uzyskany z danych profilometrycznych, przy czym oba były zmierzone po spiekaniu w 1078 K. (d, h) Profile ramanowskie dla powłok HAp przed i po obróbce cieplnej po uwzględnieniu parametrów morfologicznych oraz zastosowaniu wzoru przeliczeniowego [A4].

Podsumowanie etapu I

W pracach [A1, A3, A4] pokazano skuteczną funkcjonalizację powierzchni stopu NiTi przy wykorzystaniu osadzania elektroforetycznego. Opracowano optymalne parametry osadzania tj. czas i napięcie. Wykorzystując fizykochemiczne metody badawcze scharakteryzowano własności powierzchni metalicznego implantu sfunkcjonalizowanego za pomocą powłok wykonanych z trójfosforanu wapnia (β -TCP), hydroksyapatytu (HAp) lub ich kombinacji (BCP). Pokazano, że proces osadzania elektroforetycznego nie wpływa na zmianę własności

składowych materiału powłokotwórczego oraz podłoża. Określono najlepsze warunki obróbki termicznej, pozwalające na uzyskanie trwałych biomateriałów. Wykazano brak wpływu zaproponowanych parametrów obróbki termicznej na własności strukturalne materiału powłokotwórczego. Stwierdzono, że powłoki β -TCP odznaczały się gorszymi parametrami fizykochemicznymi i strukturalnymi, w porównaniu do powłok zbudowanych z HAp i BCP. Zaobserwowano liczne pęknięcia w obrębie powłoki β -TCP/TiO₂, a także sygnał pochodzący od niklu, wskazujący na delaminację powłoki. W przypadku powłok HAp i BCP stwierdzono dużą jednorodność rozłożenia pierwiastków powłokotwórczych, brak sygnału od Ni oraz lokalnie występujące obszary z Ti, wskazując na ciągłość powłoki w mikroskali. Zmiany te powiązano z procesem konsolidacji materiału w wyniku wygrzewania. W przypadku powłok HAp zaobserwowano dodatkowo obecność podstawień izomorficznych $\text{OH}^- \leftrightarrow (\text{CO}_3)^{2-}$ prowadzących do zmian strukturalnych implikujących tworzenie węglanowego hydroksyapatytu. W przypadku powłok BCP zaobserwowano niewielki wzrost zawartości C i Ca w warstwie przypowierzchniowej, a także częściowy rozkład materiału powłokotwórczego prowadzący do utworzenia nanocząstek hydroksyapatytu. Podsumowując, powłoki wykonane z β -TCP wydają się mało praktyczne, podczas gdy analogiczne powłoki bazujące na HAp i BCP wydają się być bardzo perspektywiczne przy opracowywaniu nowego typu biokompatybilnych materiałów implantologicznych.

Mój udział w publikacjach i osiągnięcia naukowe:

- opracowałem metodykę pozwalającą, przy wykorzystaniu spektroskopii rozproszenia Ramana, analizować wielkość cząstek trójfosforanu wapnia [A1] i hydroksyapatytu [A4],
- opracowałem metodykę analizy chropowatości powierzchni przy użyciu tzw. „profilometrii ramanowskiej” [A4],
- wykorzystując XPS oraz AES wykonałem szczegółową charakterystykę powierzchni materiału powłokotwórczego, w tym powierzchniową analizę składu chemicznego oraz stanów chemicznych pierwiastków wchodzących w skład powłoki [A3],
- przeprowadziłem analizę korelacji własności powierzchni (chropowatość, wielkość cząstek) z parametrami strukturalnymi oraz mechanicznymi materiałów tworzących powłokę BCP [A3].

Etap 2:

Wytworzenie i charakterystyka nanomateriałów hybrydowych zbudowanych w oparciu o matrycę krzemionkową domieszkowaną nanocząstkami srebra oraz miedzi ($X\text{-SiO}_2$; $X = \text{Ag}, \text{Cu}$) [A2, A6, A7, A9].

Badania etapu drugiego skoncentrowane były na opracowaniu nowego typu materiałów kompozytowych, w szczególności na połączeniu nanocząstek (ang. nanoparticles, NP) metalu (Ag, Cu) z ditlenkiem krzemu jako nośnikiem [A2, A6, A7, A9]. Układy te w zamierzeniu powinny oddziaływać na bakterie, a przy tym wykazywać maksymalnie wysoką neutralność względem organizmu człowieka.

Nanocząstki srebra lub miedzi wykazują własności przeciwdrobnoustrojowe, a ich działanie opiera się na kilku mechanizmach działania: 1) mechaniczne uszkodzenie błony komórkowej ⁵⁶, 2) interakcja z enzymami zawierającymi grupy tiolowe w swoich centrach aktywnych ⁵⁷ lub 3) generowanie wolnych rodników lub grup hydroksylowych ⁵⁸. Właściwości biobójcze zazwyczaj silnie zależą od kształtu, stopnia utlenienia, wielkości cząstek ⁵⁹, aglomeracji ⁶⁰, czy też szybkości uwalniania jonów metali z powierzchni nanocząstki do środowiska reakcyjnego ⁶¹. Przykładowo, nanocząstki o rozmiarach do 10 nm są bardziej toksyczne niż te o wielkości powyżej 15 nm, gdyż część jonów metalu z powierzchni nanocząstki zostaje praktycznie natychmiastowo, w zetknięciu z płynami ustrojowymi uwolniona do otoczenia. Z kolei skutkiem nadmiernego aglomerowania się nanocząstek metalicznych jest wzrost lokalnego nagromadzenia metalu w środowisku ⁶²⁻⁶⁴. Pewnym pomysłem mającym na celu zapobiegnięcie aglomerowaniu się nanocząstek metalicznych może być wytworzenie struktur złożonych, w których nanocząstka zostaje zamknięta wewnątrz kapsuły lub osadzona na matrycy zbudowanej z organicznego lub nieorganicznego materiału tj. polimer, ceramika lub szkło ⁶⁵. Z grona tych materiałów, najbardziej perspektywiczny okazał się inertny, posiadający właściwości antykorozyjne ⁶⁶ oraz wysoką stabilność termiczną ditlenek krzemu (krzemionka, SiO_2) o nieuporządkowanej strukturze wewnętrznej. Co więcej w połączeniu z modyfikatorem metalicznym powinien on, w stosunku do metalicznych nanomateriałów referencyjnych, zapewnić wydłużenie okresu uwalniania jonów z powierzchni nanocząstki, a tym samym zapewnić poprawę właściwości bakteriostatycznych (system oparty na srebrze) ^{62,67} i mykostatycznych (system oparty na miedzi) ^{68,69}. Spodziewam się, że kompozyty tego typu mogą stanowić podstawę nowego typu powłok, zapewniając końcowemu biomateriałowi korzystne własności fizykochemiczne, mechaniczne, oraz przeciwdrobnoustrojowe.

Własności fizykochemiczne nanokompozytów zbudowanych w oparciu o zaproponowaną kombinację składników silnie zależy od technik ich wytwarzania tj.: 1) synteza chemiczna ⁷⁰⁻⁷², 2) zol-żel ⁷³ lub 3) naparowywanie ⁷⁴. Każda z technik stanowi bardzo wydajny sposób wytwarzania materiałów o zakładanych własnościach strukturalnych oraz fizykochemicznych. W moich badaniach zdecydowano się wykorzystując metodę syntezy chemicznej wytworzyć kompozyty dwuskładnikowe bazujące na kombinacji metal-krzemionka ($X-SiO_2$; $X = Ag, Cu$). Metoda ta okazała się być bardziej ekonomiczna niż pozostałe, pozwalając na otrzymanie układów z jednorodnie rozmieszczonymi nanocząstkami metalu w matrycy. Procedura syntezy została szczegółowo przedstawiona w pracach [A2, A6, A7, A9], przy czym w każdej syntezie wykorzystano komercyjnie zakupioną krzemionkę o nieuporządkowanej strukturze, azotan srebra [A6, A9], octan srebra [A2] lub octan miedzi [A7].

Badania rentgenowskie wykonane na nowo wytworzonym materiale potwierdziły obecność fazy amorficznej oraz struktur krystalicznych, w tym: Ag^0 [A2, A6], Ag_2O współwystępujący z $AgCO_3$ [A9], $Ag_6Si_2O_7$ [A9] oraz Cu^0 współistniejącej z kompleksem miedziowym, $Cu_2O_nH_2O$ ($n < 1$ (moolooite) [A7]. W przypadku jednej syntezy na obrazie dyfrakcyjnym zaobserwowano sygnał pochodzący od nieprzereagowanego octanu srebra [A2], co świadczy o konieczności każdorazowej weryfikacji procesu syntezy oraz precyzyjnego przygotowania środowiska reakcji. Z kolei, brak sygnału pochodzącego od miedzi w odniesieniu do jednego z kompozytów powiązано z jej niską zawartością i niejednorodnością rozmieszczenia w kompozycie [A2]. Na niektórych dyfraktogramach pojawiły się także refleksy pochodzące od krystalicznych form krzemionki [A2, A6].

Oszacowana na podstawie badań elektronowym mikroskopem transmisyjnym (TEM) średnica nanocząstek srebra, zgodnie z założeniami wahała się od 7,5 nm do 12,5 nm [A2, A6, A9], podczas gdy w przypadku miedzi przedział zmienności wielkości nanocząstek wynosił od 1,0 nm do 12,5 nm [A2, A7]. W przypadku wszystkich otrzymanych układów stwierdzono, sferyczny kształt nanocząstek metalu, co stanowiło dodatkowe potwierdzenie skuteczności zastosowanej metody syntezy. Ponadto, jak pokazały pomiary SEM-EDS, wszystkie układy cechowały się wysoką czystością – zawierały tylko Si, O, Ag/Cu oraz niewielkie ilości węgla pochodzącego z materiału filtracyjnego. We wszystkich układach zaobserwowano obszary, w których stwierdzono silniejszy sygnał pochodzący od metalu wskazujący na obecność aglomeratów srebra lub miedzi. Wyniki te potwierdziły postawioną hipotezę o słuszności stosowania nośnika jako czynnika ograniczającego aglomerację nanocząstek.

Badania powierzchni (3-5nm) nanokompozytów z wykorzystaniem spektroskopii fotoelektronów (XPS) pokazały znacznie mniejsze stężenie metalu niż w przypadku badań prowadzonych metodami objętościowymi (SEM-EDS). W efekcie zawartość metalu oszacowano w granicy 0,1 - 2,0 %at. (XPS) lub 1,0 - 13,0 %at. (SEM-EDS) dla Ag-SiO₂ [A2, A6, A9] i 0,5 - 2,5%at. (XPS) lub 2,0 - 6,0 %at. (SEM-EDS) dla Cu-SiO₂ [A2, A7]. W przypadku Ag-SiO₂ stwierdzono obecność metalicznego srebra [A6], tlenku srebra(I) (Ag₂O) [A2] oraz srebra w formie klastra utworzonego z jonów metalu [A6, A9]. Znacznie trudniejsza okazała się analiza próbek Cu-SiO₂, w których nie udało się jednoznacznie rozróżnić metalicznej miedzi (Cu⁰), tlenku miedzi(I) (Cu₂O), tlenku miedzi (II) (CuO) oraz wodorotlenku miedzi (Cu(OH)₂). Widma XPS wszystkich badanych próbek Cu-SiO₂ zawierały dwa komponenty wskazujące na obecność sugerowanych stanów chemicznych metalu [A2, A7]. Obecność tzw. „satelitów” na widmie fotoemisyjnym miedzi potwierdziła obecność różnych rodzajów tlenków miedzi oraz dodatkowo zasugerowała utworzenie warstwy tlenku miedzi Cu_xO wokół rdzenia nanocząstek Cu⁰ lub Cu₂O na skutek utleniania powierzchniowego. Analiza widm wszystkich układów Ag/Cu-SiO₂ pokazała także współwystępowanie niestechiometrycznego (SiO_{2-δ}) oraz stechiometrycznego ditlenku krzemu (SiO₂) [A2, A6, A7, A9].

Wzajemne oddziaływania pomiędzy poszczególnymi składowymi kompozytu analizowano wykorzystując technikę spektroskopii podczerwieni (FTIR) [A2, A7] oraz rozproszenia Ramana (RS) [A2, A6, A9]. Wyniki przeanalizowano skupiając się na dwóch regionach obejmujących drgania Si-O-Si (200 - 600 cm⁻¹) oraz drgania Si-O (800 - 1250 cm⁻¹) w obrębie tetraedru krzemowo-tlenowego. Drgania te oznaczane były jako Qⁿ, gdzie n = 0-4 oznacza ilość mostków przypadających na tlen w tetraedrze SiO₄. Obecność srebra i miedzi wpłynęła na pojawienie się dodatkowych pasm pochodzących od drgań X-O, X = Ag, Cu. W tym ujęciu drgania grupy Ag-O przypisano do pasm leżących w zakresie 200 - 300 cm⁻¹ (RS), a drgania Cu-O związane z pasmami w zakresie 250 - 650 cm⁻¹ (RS) lub 400 - 700 cm⁻¹ (FTIR) [A2, A6, A7, A9]. RS wykorzystano także do określenia zawartości amorficznej krzemionki oraz srebra w układzie Ag-SiO₂ oraz do oszacowania powierzchni aktywnej nanokompozytu [A6]. I tak, modyfikacja empirycznego wzoru dostępnego w literaturze ⁷⁵ pozwoliła na oszacowanie zawartości srebra na poziomie 4,1 % oraz amorficznej krzemionki 95,0 %. Uzyskane wyniki okazały się zgodne z wcześniejszymi rezultatami otrzymanymi metodą XRD [A6]. Na podstawie położenia oraz intensywności tzw. pasma R (467 cm⁻¹), związanego z drganiami Si-O-Si, oszacowano powierzchnię właściwą kompozytu na poziomie 350 m²/g [A6], co było zgodne z danymi podawanymi przez producenta.

Wykorzystując spektroskopię podczerwieni w odniesieniu do układów Cu-SiO₂ stwierdzono obecność drgań grupy C=O cząsteczki polimeru dodawanego na etapie syntezy kompozytu (dodawanego celem uniknięcia aglomeracji i oksydacji miedzi) [A2] lub cząsteczki szczawianu miedzi (moolooite) [A7].

Wyznaczenie własności strukturalnych oraz fizykochemicznych stanowiło podstawę prowadzonych na późniejszym etapie badań oddziaływania materiałów na mikroorganizmy (bakterie, drożdże, grzyby) [A2, A6, A7, A9], komórki tkanki nabłonka ludzkiego (NHDF) [A2, A6, A7, A9] oraz komórki nowotworowe [A9].

Badania biologiczne wykonane za pomocą zmodyfikowanej procedury tzw. spot testu ⁷⁶ przy użyciu szczepów bakterii: *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, *Arthrobacter globiformis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Lactobacillus plantarum*; drożdży: *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Candida albicans*, oraz grzybów mikroskopowych: *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Scopulariopsis brevicaulis*, pokazały, że aktywność biologiczna konkretnych układów wynikała ze wzajemnej relacji pomiędzy zawartością metalu w kompozycie (objętościowo oraz powierzchniowo), wielkością nanocząstek metalu, oraz ich stanami chemicznymi [A2, A6, A7, A9]. Wyniki każdorazowo porównywano z rezultatami uzyskanymi dla niedomieszkowanej krzemionki, azotanu srebra oraz siarczanu lub octanu miedzi. Testy biologiczne przeprowadzone dla:

- Ag-SiO₂ pokazały, że najwyższą aktywnością biologiczną cechowały się układy, w których stwierdzono obecność sferycznych nanocząstek srebra o średnicy $7,8 \pm 0,3$ nm i stężeniu metalu 12,6 %at. (objętościowo) oraz 1,6 %at. (powierzchniowo). Srebro w tak przygotowanych kompozytach występowało w postaci kombinacji czterech stanów chemicznych: Ag⁰, Ag₂O, Ag₂CO₃ oraz jonowej tworzącej specyficzne klastery srebra [A9]. Nieco słabsze własności bakteriostatyczne wykazywały układy, w których stwierdzono obecność sferycznych nanocząstek srebra o średnicy $8,3 \pm 0,4$ nm i stężeniu 1,7 %at. (objętościowo) oraz 0,1 %at. (powierzchniowo) [A6]. Zwiększenie rozmiaru nanocząstek do wartości $12,5 \pm 0,4$ nm, ale przy nieco wyższej zawartości metalu rzędu 3,4 %at. (objętościowo) i 0,1 %at. (powierzchniowo) skutkowało znacznym osłabieniem własności biologicznych względem wszystkich testowanych mikroorganizmów [A2]. Kompozyty Ag-SiO₂ okazały się być skuteczne w przypadku bakterii, podczas gdy w odniesieniu do drożdży [A2, A6, A9] lub grzybów [A2] były nieaktywne lub bardzo słabo oddziaływały na te mikroorganizmy.
- Cu-SiO₂ pokazały, że kombinacja nanocząstek Cu⁰ i CuO o średnicy $4,2 \pm 0,8$ nm, oraz zawartości miedzi w kompozycie na poziomie 11,7 %at. (objętościowo) oraz 1,0 %at.

(powierzchniowo), bardzo mocno wpływa na zahamowanie wzrostu zarówno bakterii, drożdży i grzybów [A2]. Nieco słabsze własności biologiczne cechowały układy, w których średni rozmiar metalicznych nanocząstek znaleziono na poziomie $1,1 \pm 0,5$ nm, oraz zawartości miedzi 5,6 %at. (objętościowo) lub 2,2 %at. (powierzchniowo) [A7]. Zwiększenie rozmiaru nanocząstek do $12,4 \pm 0,5$ nm wraz ze zmianą stopnia utlenienia miedzi z metalicznej do tlenku miedzi(I) i zmniejszeniem jej stężenia w kompozycie do poziomu 2,5 %at. przy jednoczesnym ograniczeniu frakcji dostępnej przy powierzchni do 0,6 %at. znacząco obniżyło aktywność biologiczną kompozytu [A2].

Kolejnym etapem badań biologicznych było sprawdzenie cytotoksyczności wytworzonych kompozytów X-SiO₂ (X = Ag, Cu) względem NHDF. Wykonane badania pokazały brak wpływu Ag-SiO₂ na wzrost i morfologię fibroblastów [A2, A6], podczas gdy układy zbudowane w oparciu o Cu-SiO₂ okazały się być nieznacznie bardziej cytotoksyczne zwłaszcza przy wyższej zawartości miedzi w kompozycie [A2, A7].

Wyniki te sugerują, że bardziej perspektywicznymi układami do zastosowań biomedycznych ze względu na relatywnie wysoką skuteczność bakteriostatyczną oraz brak lub tylko minimalny wpływ na fibroblasty, będą te zbudowane w oparciu o kombinację nanocząstek srebra i krzemionkę. Stwierdzono, że układy Cu-SiO₂ mogą stanowić alternatywę dla ich odpowiedników ze srebrem, ale dopiero przy precyzyjnie dobranej zawartości miedzi w kompozycie.

Innymi rozważanymi zagadnieniami, istotnymi z punktu widzenia zastosowań badanych kompozytów i omawianymi w literaturze, było określenie wpływu zanieczyszczenia materiału, efektów starzenia⁷⁷, stabilności termicznej⁷⁸, stopnia utleniania metalu⁶³, oraz zmiana morfologii, koalescencja nanocząstek czy też wpływ nanocząstek na strukturę nośnika⁷⁹⁻⁸¹. Wszystkie powyższe efekty są szczególnie istotne przy aplikacyjnym wykorzystaniu kompozytów X-SiO₂ (X = Ag, Cu) np. gdy funkcjonalizują powierzchni metalicznych implantów ma na celu modyfikacje skuteczności biologicznej, głównie względem mikroorganizmów, fibroblastów lub komórek nowotworowych. Mając to na uwadze, kolejne badania prowadzono dwutorowo, a mianowicie analizowano wpływ temperatury (573 K, 873 K, 1173 K, 1473 K/2h) [A6, A7] i zewnętrznego modyfikatora (polimery organiczne: karboksymetyloceluloza, alginian sodu) [A9] na własności kompozytu zbudowanego na bazie ditlenku krzemu. Zaproponowany wybór temperatur podyktowany był koniecznością określenia wpływu wygrzewania na zmiany własności kompozytów oraz potrzebą znalezienia optymalnych warunków wytwarzania, które umożliwiłyby zastosowanie tych materiałów

jako elementów konstrukcyjnych dla produkcji trwałych, stabilnych powłok kompozytowych [A6, A7]. Z kolei, zastosowanie organicznych polimerów doprowadziło do opracowania nowej klasy aktywnych biologicznie kompozytów Ag-SiO₂, które odznaczały się niezwykle silnymi własnościami bakteriostatycznymi oraz przeciwnowotworowymi [A9].

Prace badawcze zostały rozdzielone na dwa osobne zagadnienia: wpływ temperatury oraz obecności polimeru na własności kompozytów. Szczegółowo omówiony został jednak tylko wpływ temperatury, gdyż wnioski płynące z tych analiz mają kluczowe znaczenie przy modyfikowaniu powierzchni stopu NiTi.

Wpływ temperatury na zmiany strukturalne, fizykochemiczne oraz biologiczne układu Ag-SiO₂ [A6]

Analiza danych eksperymentalnych umożliwiła prześledzenie procesu temperaturowej ewolucji nanocząstek srebra oraz zmian zachodzących w obrębie całego kompozytu Ag-SiO₂. Zaobserwowano, że w wyniku stopniowego wzrostu temperatury wygrzewania systematycznie rośnie wielkość nanocząstek, a ich kształt zmienia się z pierwotnie sferycznego na elipsoidalny (TEM) (rys. 3). Nanocząstki srebra pozostawały jednorodnie rozproszone w kompozycie, przy czym ich średnica zmieniała się z temperaturą wygrzewania: $56,3 \pm 6,8$ nm dla 573K, $31,8 \pm 2,6$ nm dla 873 K, $173,4 \pm 5,7$ nm dla 1173 K. Powyżej, w wyniku tzw. „efektu pączkowania”, średnica spadła do wartości $12,7 \pm 0,7$ nm (1473 K), porównywalnej z próbką niewygrzewaną [A6]. Analiza przeprowadzona za pomocą SEM pokazała zbliżoną mikrostrukturę Ag-SiO₂ wygrzewanego w temperaturach 573 K, 873 K, 1173 K w odniesieniu do materiału wyjściowego. Z kolei materiał wygrzewany w 1473 K uległ znacznym modyfikacjom, w wyniku których zaobserwowano pojawienie się dużych, nieregularnych aglomeratów krzemionkowych.

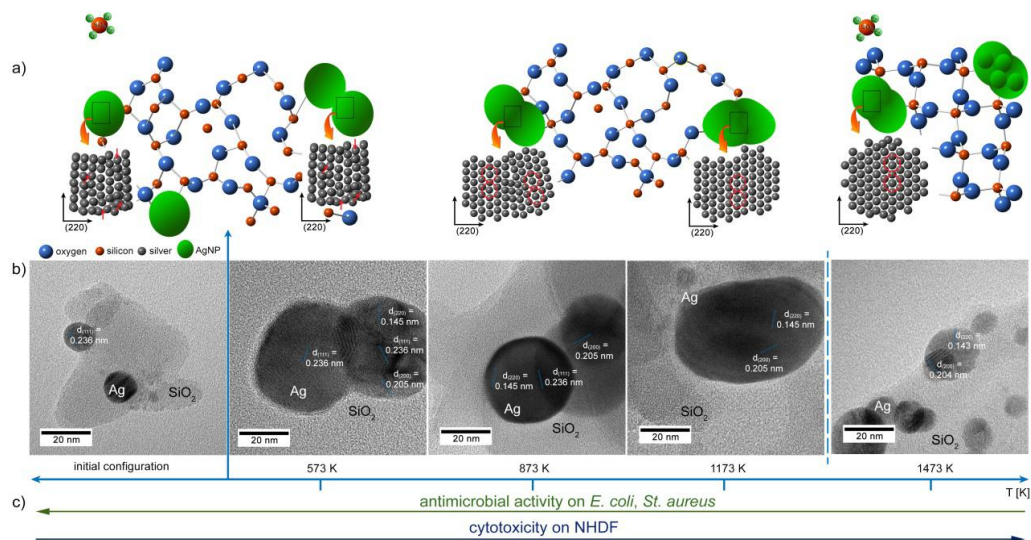
Analiza składu wykonana techniką SEM-EDS uwidoczniała stopniowy spadek zawartości srebra w objętości materiału wraz ze wzrostem temperatury wygrzewania (od 0,7 %at. w 573K do 0,2 %at. w 1473K), podczas gdy badania z użyciem XPS, które dostarczają informacji z 3-5nm, pokazały praktycznie niezmienną zawartość srebra ok. 0,1 %at. Badania XPS dostarczyły również informacji o stanach elektronowych srebra, potwierdzając obecność Ag⁰ lub Ag⁺ (Ag₂O) oraz Ag²⁺ (AgO) w kompozytach wygrzewanym w temperaturach 573 K i 873 K, a także wskazały na tworzenie się sub-nanometrowych klasterów srebra powstających przy temperaturach wygrzewania powyżej 1000 K^{82,83}. W każdym kompozycie zaobserwowano dwa stany chemiczne krzemionki wskazujące na obecność niestechiometrycznego SiO_{2-δ} i stechiometrycznego SiO₂.

W wyniku badań XRD stwierdzono, że wszystkie kompozyty poddane obróbce cieplnej aż do temperatury wygrzewania 1173 K charakteryzują się obecnością metalicznego srebra, fazy amorficznej, oraz niewielką zawartością krystalicznej formy krzemionki - krystobalitu. Wykorzystując RS potwierdzono stopniowy spadek zawartości srebra od 4,1% (298 K) do 1,5% (1473 K) aż do temperatury 1173 K oraz wykorzystując odpowiednio zmiany zachodzące na paśmie R (467 cm^{-1}) oszacowano prawie trzykrotny spadek wartości powierzchni aktywnej kompozytu do $130\text{ m}^2/\text{g}$ (1173 K) [A6]. Z kolei w próbce wygrzanej w 1473 K wykorzystując XRD oraz RS zaobserwowano pełną rekrytalizację amorficznej krzemionki w strukturę krystobalitu i trydymitu [A6]. Wnikliwa analiza refleksów pochodzących od nanocząstek srebra ukazała także stopniowy wzrost krystalitów Ag w kierunku [111] i spadek ich rozmiarów w kierunkach [200], [220]. Zmiany te skorelowano ze wzrostem odkształcenia sieci w kierunkach [200] i [220] w stosunku do [111] dla Ag-SiO₂ wygrzewanych powyżej 1000 K, sugerując stopniowe spłaszczenia pierwotnie sferycznych nanocząstek w dwóch kierunkach krystalograficznych.

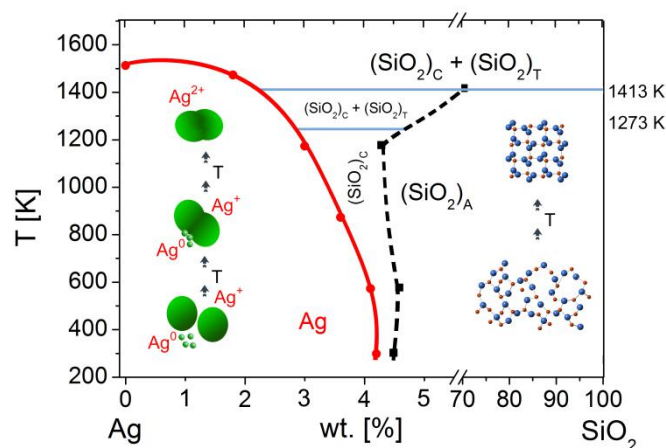
Wszystkie omówione zmiany chemiczne i strukturalne zachodzące w wyniku wygrzewania zestawiono na specjalnie opracowanym „diagramie pseudofazowym” (rys. 4), co pomogło znaleźć temperatury przemian strukturalnych w układzie Ag-SiO₂. Opracowano także model zmian aktywności biologicznej pokazując, że w miarę wzrostu temperatury wygrzewania dochodzi do stopniowego zmniejszenia korzystnych właściwości bakteriostatycznych Ag-SiO₂. Zmiany te powiązano ze spadkiem zawartości srebra, zmianami stopnia utlenienia metalu^{61,84,85} oraz wzrostem średniej wielkości nanocząstek^{86,87} wynikającej z konsolidacji nośnika krzemionkowego. Nie zaobserwowano znaczących różnic w odniesieniu do drożdży oraz grzybów mikroskopowych (rys. 3). Zaobserwowano także znaczny wzrost efektu cytotoksycznego, Ag-SiO₂ wygrzewanych w coraz wyższych temperaturach (573 K, 873 K, 1173 K) względem fibroblastów. Efekt ten powiązano z tworzeniem nieregularnych aglomeratów srebra o rozmiarach znacznie powyżej wartości obserwowanych dla materiału referencyjnego ($d = \sim 8\text{ nm}$), które wydają się efektywniej wnikać do komórek na drodze endocytozy. Maksymalną cytotoksyczność zaobserwowano w przypadku próbek wygrzewanych w 1473 K, w których następuje znaczący spadek zawartości srebra. Wydaje się to wiązać z redukcją wielkości nanocząstek srebra (zachodzącą na skutek częściowej degradacji dużych cząstek) oraz z obecnością SiO₂-AgO/Ag⁺ (wpływających na wzrost poziomu reaktywnych form tlenu). O poprawności wnioskowania świadczą również rezultaty badań cytotoksyczności wykonane dla czystej krzemionki

poddanej analogicznym warunkom termicznym jak badany kompozyt, w przypadku których nie zaobserwowano negatywnego wpływu tak wytworzonych materiałów na badane komórki.

W oparciu o uzyskaną wiedzę stwierdzono, że badane kompozyty mogą stanowić element składowy materiału powłokotwórczego dowolnego biomateriału, w tym także stopu NiTi. Hipoteza taka stała u podstaw dalszych moich działań badawczych, których rezultaty przedstawiono w kolejnym rozdziale autoreferatu.



Rys. 3 a) Model modyfikacji strukturalnej układu srebro-krzemionka opracowany w oparciu o wyniki uzyskane po wygrzewaniu próbki w 573, 873, 1173, 1473K / 2h. Zielone kule reprezentują nanocząstki srebra, natomiast kule szare to atomy srebra w strukturze krystalicznej metalu. b) Obrazy HRTEM układów Ag-SiO₂ uzyskane przy różnych temperaturach wygrzewania próbki. Na obrazach TEM zaznaczono płaszczyzny i odległości międzypłaszczyznowe dla nanocząstek srebra. c) Graficzne przedstawienie zmian aktywności biologicznej obserwowanej dla bakterii *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* oraz NHDF [A6].



Rys. 4 „Diagram pseudofazowy” Ag-SiO₂ z charakterystycznymi temperaturami strukturalnej przemiany fazowej SiO₂. Zmiany zachodzące w obrębie struktury krystalicznej srebra i sieci

krzemionki zaprezentowano w postaci schematycznych ilustracji. Ag^0 , Ag^+ , Ag^{2+} oznaczają różne stopnie utlenienia srebra, natomiast $(\text{SiO}_2)^A$, $(\text{SiO}_2)^C$, $(\text{SiO}_2)^T$ oznaczają różne fazy krzemionki, tj. odpowiednio krzemionkę amorficzną, krystobalit i trydymit. Duże zielone kule oznaczają nanocząstki, podczas gdy mniejsze są odpowiadają jonom srebra [A6].

Wpływ temperatury na zmiany strukturalne, fizykochemiczne oraz biologiczne układu Cu-SiO₂ [A7]

Kompleksowe badania kompozytu opartego na połączeniu miedzi i amorficznej krzemionki (Cu-SiO₂) umożliwiły, podobnie jak przedstawiono powyżej dla Ag-SiO₂, opracowanie modelu ewolucji temperaturowej takich struktur.

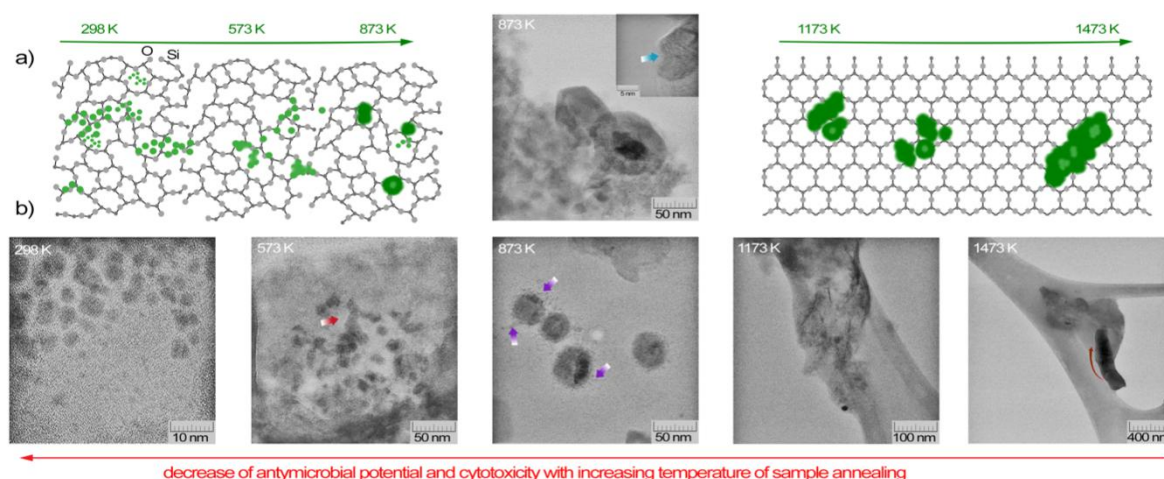
Obrazy TEM w nanoskali dla próbek wygrzewanych w temperaturze 573 K pokazały dużą tendencję nanocząstek miedzi do koalescencji prowadzącej do wzrostu średniego ich rozmiaru do $19,7 \pm 1,8$ nm (rys. 5). W przypadku próbek wygrzewanych w 873 K stwierdzono bimodalny rozkład wielkości cząstek z dwoma dobrze widocznymi maksimami przy $2,8 \pm 0,3$ nm oraz $35,8 \pm 0,7$ nm. Rozkład ten wyjaśniono postulując: (1) powstawanie dyslokacji w pobliżu zewnętrznej powierzchni najmniejszych nanocząstek miedzi umożliwiającą koalescencją cząstek ale tylko do momentu przekroczenia krytycznej temperatury topnienia metalu prowadzącą do „odpączkowania” cząstek o różnej średnicy⁸⁸, lub (2) tworzenie się skupisk miedzi w obszarze przypowierzchniowym na skutek metastabilnego charakteru nanocząstek miedzi⁸⁹. W próbkach wygrzewanych w temperaturach powyżej 1000 K zauważono obiekty o nieregularnych, dendrytycznych kształtach i rozmiarach przekraczających 500 nm (rys. 4).

Analiza chemiczna przeprowadzona metodą SEM-EDS ukazała nieznaczny spadek zawartości miedzi od 5,6 %at. dla próbek niewygrzewanych aż do 3,8 %at. dla wygrzewanych w 1173 K oraz wzrost zawartości miedzi do 7,4 %at. na skutek wygrzewania w 1473 K. Z kolei badania XPS dostarczające informacji z mniejszej głębokości (ok. 3-5nm) uwidocznily stopniowy spadek zawartości miedzi od 2,2 %at. (298 K) do 0,2 %at. (1473 K). Zmiany te powiązano z: 1) migracją metalu w głąb nośnika krzemionkowego, 2) częściowym jej odparowaniem lub 3) relatywnie niską stabilnością termiczną nanocząstek sprzyjającą efektem koalescencji^{90,91}. Widma XPS ukazały także współwystępowanie stechiometrycznego SiO₂ i niestechiometrycznego SiO_{2-δ}.

XRD oraz FTIR uwidocznily stopniowe porządkowanie struktury kompozytu w zewnętrznych warstwach krzemionki w przypadku układów wygrzewanych w 573 K i 873 K, oraz całkowitą rekrytalizację amorficznej krzemionki do mieszaniny trydymitu i krystobalitu

dla próbek wygrzewanych powyżej 1000 K. Krystalizacja do postaci trydymitu następowała zgodnie z diagramem fazowym krzemionki (1273 K), natomiast pojawienie się krystobalitu w temperaturach niższych niż na diagramie fazowym (1673K) wyjaśniono wpływem potasu lub wysokiej reaktywności niskorozmiarowych nanocząstek miedzi. Temperatura topnienia nanocząstek metalu okazała się być przy tym niższa niż dla materiału objętościowego, skutkując powstaniem obiektów o silnie nieregularnym kształcie.

Analizy strukturalne oraz chemiczne umożliwiły wskazanie ścieżki termicznego rozkładu uwodnionego szczawianu miedzi: moolooite (298 K) → Cu₂O lub Cu(OH)₂ (~500 K) → CuO (~ 873 K). Całkowity rozkład moolooitu stwierdzono w temperaturach wyższych niż zakładane na podstawie danych literaturowych 618 K, co powiązano z nierównomiernym rozkładem uwodnionego szczawianu miedzi w objętości materiału lub nierównomiernym rozkładem temperatur w piecu. Dwutlenek węgla i woda, które stanowiły produkt rozkładu moolooitu, zostały usunięte w trakcie wygrzewania próbki.



Rys. 5 a) Model modyfikacji strukturalnej układu miedź-krzemionka w wyniku wygrzewania próbki w 573 K, 873 K, 1173 K, 1473 K / 2h. Zielone kulki/kształty odpowiadają nanocząstkom miedzi osadzonej w obrębie amorficznej (298 - 873 K) lub krystalicznej (1173 - 1473 K) krzemionki. b) Obrazy STEM korespondujące z danymi uzyskanymi z próbek wygrzanych w odpowiednich temperaturach. Kolorowe strzałki wskazują na koalescencję cząstek (czerwony), rozpad (fiolet) lub wtopienie miedzi do matrycy krzemionkowej (niebieski) [A7].

Wszystkie omówione zmiany własności fizykochemicznych (redukcja, procesy utleniania, zmiany stężenia miedzi), wynikające ze zmian temperatury wygrzewania kompozytów, doprowadziły do silnych modyfikacji aktywności biologicznej układów Cu-SiO₂. W efekcie pokazano wzrost potencjału przeciwdrobnoustrojowego układu wygrzanego w temperaturze 573 K na skutek utworzenia nanocząstek typu rdzeń-powłoka z powierzchniową warstwą

tlenku wokół metalicznego rdzenia lub powstania dodatkowych jonów Cu_2O na skutek rozpadu uwodnionego szczawianu miedzi ⁹². Efekty utleniania metalicznej miedzi do tlenku miedzi stymulowały tworzenie wolnych rodników lub reaktywnych form tlenu ⁹³. Niewielki spadek własności mikrobiologicznych w przypadku układu wygrzanego w 873 K powiązano ze spadkiem zawartości miedzi w kompozycie oraz utworzeniem agregatów miedzi, które ograniczyły efekt oddziaływania metalu na błonę komórkową mikroorganizmów. Z kolei zmiany strukturalne i morfologiczne zaobserwowane w układach poddanych obróbce termicznej w temperaturach 1173 K i 1473 K znacząco pogorszyły własności biologiczne kompozytów Cu-SiO_2 względem mikroorganizmów. Pokazano także, że efekt cytotoksyczny względem NHDF obserwowany dla kompozytów poddanych obróbce termicznej znacząco malał w porównaniu do materiału referencyjnego, nawet przy wysokiej zawartości Cu-SiO_2 w medium hodowlanym. Stwierdzono przy tym także brak cytotoksycznego działania względem mikroorganizmów oraz NHDF czystej krzemionki wygrzewanej w analogicznych temperaturach jak badany kompozyt.

Pomimo niekorzystnych własności biologicznych niewygrzewanego Cu-SiO_2 wydaje się, że po odpowiedniej obróbce termicznej kompozyt ten może znaleźć zastosowanie jako materiał powłokotwórczy. Jednakże dla osiągnięcia tego celu konieczne jest znalezienie innych niż opisane powyżej warunków spiekania kompozytu zapewniających odpowiedni balans pomiędzy własności strukturalnymi, fizykochemicznymi, biologicznymi.

Podsumowanie etapu II

W wyniku zastosowania metod syntezy chemicznej, opisanych w pracach [A2, A6, A7, A9], otrzymano stabilny i biologicznie aktywny kompozyt metal-krzemionka (X-SiO_2 , $\text{X} = \text{Ag}, \text{Cu}$), w którym nanocząstki metalu o średnicy nie większej niż 12,5 nm okazały się być rozmieszczone jednorodnie w obrębie nośnika. Wnikliwa analiza wyników przeprowadzonych badań strukturalnych oraz spektroskopowych, pokazała że nanocząstki tworzą trwałe połączenie z nośnikiem krzemionkowym, co spowodowane jest depolimeryzacją sieci SiO_2 oraz obecnością niewysyconych wiązań $-\text{Si-O}^*$ sprzyjających tworzeniu Si-O-X . Kompozyty X-SiO_2 cechowały się różną aktywnością mikrobiologiczną zależną od metalicznego modyfikatora, jego stężenia oraz stanów chemicznych, przy czym układy Ag-SiO_2 [A2,A6,A9] wykazywały głównie własności bakteriostatyczne, podczas gdy Cu-SiO_2 także mykostatyczne [A2,A7].

W serii badań przeanalizowano wpływ temperatury na właściwości fizykochemiczne (struktura, morfologia, wielkość cząstek, utlenianie itp.) oraz biologiczne materiałów Ag-SiO_2

oraz Cu-SiO₂. Wykazano, że kompozyty z nanocząstkami srebra są stabilniejsze termicznie niż ich odpowiedniki z nanocząstkami miedzi. Pokazano całkowitą rekrytalizację amorficznej krzemionki do krystobalitu oraz trydymitu w temperaturze 1473 K dla Ag-SiO₂ [A6], podczas gdy dla Cu-SiO₂ taka zmiana nastąpiła w 1173 K [A7]. Dla obu materiałów zaobserwowano wzrost wielkości cząstek metalu: do temperatury 1173 K dla Ag-SiO₂ [A6] oraz do 1473 K w przypadku miedzi [A7]. Stwierdzono, że Ag-SiO₂ wygrzewane w 1473 K charakteryzują się średnią wielkością cząstek zbliżoną do układu niewygrzewanego, co wyjaśniono wykorzystując tzw. „mechanizm pączkowania” [A6]. Ponadto zaobserwowano stopniowe utlenianie srebra wraz ze wzrostem temperatury wygrzewania skutkujące utworzeniem klasterów SiO₂-AgO/Ag⁺ [A6], a w przypadku Cu-SiO₂ określono wpływ temperatury na stopień utlenienia miedzi [A7].

W badaniach biologicznych stwierdzono spadek własności bakteriobójczych zarówno Ag-SiO₂, jak i Cu-SiO₂ oraz własności grzybobójczych (Cu-SiO₂) w miarę wzrostu temperatury wygrzewania materiałów. W przypadku komórek NHDF zaobserwowano wzrost efektu cytotoksycznego dla Ag-SiO₂ i Cu-SiO₂.

Osiągnięcia naukowe i mój udział w omawianych pracach:

- wytworzyłem układy Ag-SiO₂ [A6, A9] oraz Cu-SiO₂ [A7],
- zaproponowałem hipotezę wyjaśniającą wpływ zewnętrznego modyfikatora (nanocząstki lub polimery organiczne) na własności strukturalne, fizykochemiczne oraz własności biologiczne [A6, A7, A9],
- przeprowadziłem badania temperaturowe próbek pod kątem ich potencjalnego zastosowania jako materiału powłokotwórczego,
- zaproponowałem wyjaśnienie mechanizmów tworzenia się krystobalitu i trydymitu w warunkach innych niż wynikające z diagramu fazowego [A6, A7],
- przygotowałem model opisujący wpływ warunków wygrzewania na własności strukturalne, fizykochemiczne Ag-SiO₂ [A6] i Cu-SiO₂ [A7] oraz wyjaśniłem wpływ własności fizykochemicznych na właściwości biologiczne wytworzonych materiałów,
- opracowałem „diagram pseudofazowy” układu Ag-SiO₂ [A6].

Etap 3:

Funkcjonalizacja powierzchni stopu NiTi przy zastosowaniu nanostruktur krzemionkowych oraz kombinacji ceramiki fosforanowej i układów X-SiO₂. X = Ag [A5, A8, A10, A11].

Badania w ramach etapu trzeciego oparto na rozwinięciu koncepcji przedstawionej w trakcie analizy wyników etapu pierwszego (str. 12-17) z wykorzystaniem materiałów opracowanych w ramach etapu drugiego (str. 18-29). Zgodnie z wynikami badań etapu drugiego najbardziej perspektywiczne w dalszych pracach rozwojowych okazały się układy zawierające nanocząstki srebra. W efekcie funkcjonalizację powierzchni stopu NiTi wykonano przy zastosowaniu kombinacji Ag-SiO₂ z resorbowalnym β -TCP: Ca₃(PO₄)₂ [A5], oraz nieresorbowalnym HAp: Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ [A8], a wyniki porównywano z powłokami referencyjnymi: Ag-SiO₂ oraz CaP: β -TCP, HAp [A10, A11].

Podobnych rozwiązań w literaturze na chwilę obecną jest stosunkowo niewiele, przy czym w przypadku stopów NiTi funkcjonalizacja za pomocą zaproponowanej kombinacji materiałów została wykonana po raz pierwszy. Pomysł opracowania warstw hybrydowych wynikał z analizy wcześniejszych danych, pokazujących, że powłoki wytworzone z czystych fosforanów wapnia narażone są na działanie mikroorganizmów, a cząstki CaP ulegają silnej konsolidacji na skutek wygrzewania, przyczyniając się (przy niektórych warunkach spiekania) do powstawania nieciągłości lub delaminacji powłoki⁹⁴. Wydaje się, że zastosowanie krzemionki powinno polepszyć adhezję CaP do podłoża, a obecność nanocząstek metalu wpłynie na wytworzenie mikrobiologicznie aktywnej warstwy ochronnej dookoła implantu^{95,96}. Należy zaznaczyć, że kluczowym aspektem w tym momencie jest określenie granicznej wartości stężenia srebra w obrębie materiału powłokotwórczego, ponieważ zbyt wysokie jego stężenie (> 3%at.) znacząco zwiększyłoby toksyczność całego układu względem bakterii, jak i komórek ludzkich^{97,98}.

Zaproponowana koncepcja wydaje się także o tyle ciekawa, że układy oparte na krzemionce stanowią, podobnie jak fosforany wapnia, podłoże umożliwiające tworzenie struktur kostnych, a jednocześnie ograniczają efekty rozpuszczania i zwiększają stabilność jonowych form metali (np. Ag, Cu)²⁶. Własności te powodują, że powłoki hybrydowe w odniesieniu do stopu NiTi powinny odznaczać się lepszymi własnościami ochronnymi niż te bazujące na CaP, a przy tym usprawnić procesy regeneracji ubytków kostnych np. kości biodra, kolan i kręgosłupa po wszczepie takiego materiału do organizmu człowieka, oraz umożliwić długotrwałą pracę całego implantu^{99,100}.

Hybrydowe powłoki podobnie jak w przypadku powłok CaP, wytworzono metodą EPD. Zmodyfikowano przy tym parametry osadzania tj. czas i napięcie oraz dobrano parametry spiekania tak, aby zwiększyć adhezję powłoki do powierzchni stopu NiTi. Każdorazowo określono własności strukturalne, fizykochemiczne, mechaniczne, bioaktywność, osteointegrację, zwilżalność, stopień migracji jonów z podłoża / powłoki do środowiska, oraz

chropowatość powierzchni ¹⁰¹. Wszystkie te czynności miały prowadzić do uzyskania biomateriału zapewniającego maksymalnie trwałe połączenie pomiędzy tkanką, a biomateriałem ¹⁰²⁻¹⁰⁴, zwiększającego aktywność enzymatyczną komórek (fibroblastów / osteoblastów) oraz wpływającego na ilość i rodzaj syntezowanych przez nie białek ¹⁰⁵.

Badania rozpoczęto od przeprowadzenia pasywacji powierzchni stopu NiTi w celu wytworzenia amorficznej warstwy TiO₂, a następnie na wykonaniu funkcjonalizacji powierzchni tak przygotowanego stopu NiTi przy zastosowaniu Ag-SiO₂ i β-TCP [A5]. Przetestowano szereg parametrów osadzania i stwierdzono, że najkorzystniejsze parametry uzyskuje się dla napięcia 40 V i czasu osadzania 300 s. Pokazano także, że mikrostruktura powłok Ag-SiO₂+β-TCP nie zależy od zastosowanych warunków osadzania oraz wzajemnych proporcji pomiędzy Ag-SiO₂ i β-TCP (1:1, 1:5, 1:10) w roztworze koloidalnym [A5].

Znacznie trudniejsze okazało się uzyskanie powłok zbudowanych z Ag-SiO₂ oraz HAp. W tym podobnie jak poprzednio wytworzono warstwę TiO₂ na NiTi, a następnie przetestowano szereg kombinacji parametrów osadzania: napięcie - czas (5 - 60 V, 30 s - 5 min [A8]). Funkcjonalizację powierzchni stopu NiTi wykonywano, podobnie jak poprzednio, przy zmiennej zawartości Ag-SiO₂ do HAp w roztworze koloidalnym (1:1, 1:5, 1:10) [A8]. W zależności od wzajemnych stosunków pomiędzy składowymi zawiesiny oraz parametrami osadzania, powłoki Ag-SiO₂+HAp odznaczały się zmiennymi własnościami rozwinięcia powierzchni. Okazało się, że przy niskich napięciach (5 - 30 V) i krótkich czasach osadzania (30 - 90 s) uzyskiwano powłoki o niekorzystnych parametrach. Z kolei zbyt duże napięcia, zwykle już powyżej 60 V skutkowało pojawianiem się pęknięć oraz nieciągłości, eliminując takie powłoki z dalszych badań. Za najlepsze warunki wytwarzania powłok uznano (napięcie, czas osadzania, (proporcje składników)): 50 V i 240 s (1:1), 50 V i 120 s (5:1), 40 V i 90 s (10:1).

Obserwacje mikroskopowe SEM pokazały, że wszystkie otrzymane powłoki hybrydowe Ag-SiO₂+CaP pozbawione były pęknięć i nieciągłości, bez względu na zastosowane warunki osadzania. Ich grubość wahała się od 650 nm dla Ag-SiO₂+β-TCP [A5] aż do 5 μm w przypadku Ag-SiO₂+HAp [A8]. Badania SEM-EDS pokazały jednorodny rozkład Ag, Si, O oraz Ca i P w przypadku rozpatrywanych powłok Ag-SiO₂+CaP. Z kolei pomiary XPS uwidocznily na powierzchni obecność dwóch stanów chemicznych srebra: Ag⁰ i kompleksu srebro-organika. Potwierdziły przy tym występowanie stechiometrycznej oraz niestechiometrycznej krzemionki [A5, A10], a także trójfosforanu wapnia, pirofosforanu wapnia [A5] oraz HAp (wyniki w trakcie przygotowywania).

Powłoki referencyjne wykonane z CaP wytworzono zgodnie z danymi opisanym w czasie badań wykonanych na etapie pierwszym (str. 12-17), podczas gdy powłoki Ag-SiO₂ wytworzono na TiO₂/NiTi przy napięciu 5 V i czasie osadzania od 1 do 15 min, przy czym powłoki cechujące się jednorodnością pokrycia podłoża w całej jego objętości otrzymano dla czasu dopiero 15 min [A10]. Mikrostruktura tak wytworzonych powłok zbadana za pomocą mikroskopii SEM cechowała się obecnością dużych nieregularnych aglomeratów zbudowanych z submikronowych i nanometrowych cząstek rozmieszczonych niejednorodnie w całej powłoce. Obszar pomiędzy aglomeratami tworzyły jednorodnie rozmieszczone submikronowe cząstki o kulistym kształcie. Badania SEM-EDS Ag-SiO₂/TiO₂/NiTi uwidocznily jednorodny rozkład pierwiastków w obrębie materiału powłokotwórczego, natomiast XPS potwierdził obecność metalicznego srebra oraz SiO₂ i SiO_{2-δ}.

Badania XRD pokazały, że parametry sieciowe krystalicznych faz kompozytów osadzonych na implancie są zbliżone do parametrów dla materiałów wyjściowych. Na tej podstawie stwierdzono, że metoda EPD nie prowadzi do deformacji strukturalnej osadzanego materiału. Z kolei analiza widm RS, wykonana dla zakresów charakterystycznych dla drgań: (i) Ag-O (~210 - 260 cm⁻¹), (ii) Si-O-Si (440 - 550 cm⁻¹), (iii) Ti-O lub Ti-O-Si (550 - 900 cm⁻¹), (iv) (CO₃)²⁻ (1045 - 1095 cm⁻¹), (v) (PO₄)³⁻ (950 - 1100 cm⁻¹), (vi) C-C (1300 - 1600 cm⁻¹), pokazała zmienność fazową oraz chemiczną w obrębie materiału powłokotwórczego. Należy nadmienić, iż w zależności od typu osadzonego materiału analizie podlegały tylko wybrane zakresy, ponieważ w przypadku nie każdego materiału obserwowano wszystkie wymienione typy drgań. Przykładowo analiza pasm dla Ag-SiO₂+HAp/TiO₂/NiTi wykonana w zakresach (i), (ii) i (v) ujawniła obecność obszarów wzbogaconych w Ag-SiO₂, z dominującym wkładem hydroksyapatytu oraz obszarów o stosunkowo niewielkiej zawartości Ag-SiO₂ i hydroksyapatytu. Znacznie bardziej skomplikowana okazała się interpretacja widm w przypadku powłok Ag-SiO₂+β-TCP, dla których zaobserwowano pasma (i), (ii), (iii), (v) i (vi), co świadczy o bardzo zróżnicowanym składzie fazowym powierzchni tego materiału powłokotwórczego [A5]. Między innymi stwierdzono obecność dwóch strukturalnie różnych fosforanów wapnia: β-TCP, CPP oraz zasugerowano utworzenie faz strukturalnie nieuporządkowanych, zbudowanych w oparciu o elementy składowe zawiesiny koloidalnej (Ag-SiO₂, CaP) i/ oraz materiału powłokotwórczego i podłoża (Ag-SiO₂, CaP, TiO₂). Pochodzenie tych faz wyjaśniono poprzez tzw. „efekt sonochemiczny”¹⁰⁶ prowadzący do częściowego nadtapiania powierzchni krzemionki i/lub cząstek fosforanów wapnia na skutek interakcji z nanocząstkami srebra. Efekt ten wpłynął na modyfikację strukturalną materiałów powłokotwórczych, doprowadzając do zaburzenia ich struktury krystalicznej, depolimeryzacji

sieci i tworzenia wiązań Si-O i P-O ¹⁰⁷. Podobnie, na skutek częściowego topienia powierzchni SiO₂, CaP, oraz TiO₂, osadzany materiał powłokotwórczy uległ konsolidacji z warstwą pasywną na stopie NiTi, prowadząc do utworzenia wiązań Si-O-Ti, P-O-Ti, Ca-O-Ti. Srebro w tym ujęciu wbudowało się w podsieć nowo powstałej struktury SiO₂-TiO₂ lub SiO₂-TiO₂-CaO, przekładając się na wysokie wartości adhezji powłoki Ag-SiO₂+β-TCP do podłoża TiO₂/NiTi (~37.3 kN), i eliminując konieczność dalszej obróbki termicznej biomateriału [A5].

Analiza pasm w regionach (i), (ii) i (iv) dla powłoki referencyjnej Ag-SiO₂ ujawniła jednorodny rozkład składowych w jej obrębie. Obecność pasm pochodzących od Ag-O i SiO₂ była spodziewana, natomiast pochodzenie grup węglanowych wyjaśniono postulując działanie dwóch mechanizmów. Pierwszy zakładał utworzenie Ag₂CO₃ już na etapie syntezy nanokompozytu srebro-krzemionka, co było skutkiem reakcji wymiany między azotanem srebra, a mieszaniną wodorotlenku sodu z węglanem sodu. Drugi postulowany mechanizm zakładał silną reakcję układu srebro-krzemionka z dwutlenkiem węgla z powietrza lub dwutlenkiem węgla powstałym w wyniku częściowego utlenienia etanolu do dwutlenku węgla podczas osadzania kataforetycznego [A10]. Obecność na widmach dodatkowych pasm w zakresach 2100 - 2200 cm⁻¹ oraz 2800 - 2950 cm⁻¹ powiązano, odpowiednio, z adsorpcją cząsteczek CO na nisko koordynacyjnych nanocząstkach metalicznego srebra oraz z obecnością materii organicznej stanowiącej potencjalne zanieczyszczenie próbki. Wszystkie te obserwacje pokazują wysoką reaktywność środowiska w jakim tworzyła się powłoka, co potwierdzały też wcześniejsze analizy XPS.

Adhezja powłok Ag-SiO₂+HAp oraz Ag-SiO₂ do powierzchni TiO₂/NiTi okazała się być relatywnie słaba, co wymusiło konieczność zastosowania obróbki termicznej w celu jej zwiększenia [A8, A10]. Określono najkorzystniejsze parametry spiekania: 700 °C / 2h, przy których można spodziewać się uzyskania odpowiednio wysokiej wartości adhezji materiału do podłoża przy jednoczesnym braku wpływu temperatury na degradację strukturalną materiału. Zastosowane warunki spiekania w przypadku powłok Ag-SiO₂ doprowadziły do konsolidacji materiału powłokotwórczego [A10], podczas gdy w dla Ag-SiO₂+HAp koalescencji drobnych cząstek fosforanów wapnia, która korespondowała z nadtapianiem się powierzchni większych cząstek HAp. Ponadto powłoki Ag-SiO₂+HAp wytworzone w stosunku 1:1 (HAp: Ag-SiO₂) okazały się być wrażliwe na warunki obróbki termicznej, co skutkowało pojawieniem się pęknięć oraz lokalną delaminacją powłoki. Z tych powodów dalsze badania prowadzono tylko dla Ag-SiO₂+HAp/TiO₂/NiTi wytworzonych przy niższej zawartości Ag-SiO₂ względem HAp (1:5, 1:10).

Wykorzystując mikroskopię SEM-EDS pokazano jednorodne rozmieszczenie O, Si, Ag (Ag-SiO₂/TiO₂/NiTi) oraz O, Si, Ag, Ca, P (Ag-SiO₂+HAp/TiO₂/NiTi), przy czym średnia zawartość srebra zmieniała się od 2,4 %at. (Ag-SiO₂) przez 1,5 %at. (HAp: Ag-SiO₂ → 5:1) do 0,5 %at. (HAp: Ag-SiO₂ → 10:1) [A8, A10]. Badania XPS, które dostarczają informacji z warstwy powierzchniowej (3-5nm) ujawniły dla wszystkich typów powłok [A10] obecność tlenku srebra, który współwystępował ze srebrem w postaci metalicznej lub jonowej. Z kolei analiza linii krzemu i tytanu pokazała obecność dwóch komponentów, przy czym jeden z nich związany z obecnością niestechiometrycznej krzemionki oraz zdefektowanego TiO₂, co sugeruje powstanie wiązań Si-O-Ti, podczas gdy drugi wynikał z obecności stechiometrycznego SiO₂ oraz TiO₂ (rutyl).

Metodami XRD potwierdzono, w obu rodzajach powłok, obecność fazy krystalicznej B2 TiNi oraz Ti₂Ni, co było skutkiem częściowej dekompozycji materiału podłoża [A8, A10]. W przypadku powłok Ag-SiO₂ znaleziono sygnał pochodzący od fazy amorficznej [A10], natomiast w powłoce Ag-SiO₂+HAp zarejestrowano dodatkowo także sygnał pochodzący od hydroksyapatytu i tlenku tytanu. Zasugerowano, że obecność ziaren hydroksyapatytu sprzyjała powstawaniu lokalnie występujących nano/mikropęknięć prowadzących do rekrytalizacji rutylu [A8].

Dla powłok wygrzewanych, analogicznie do wcześniej opisanych powłok niewygrzewanych, dokonano obrazowania powierzchni metodami spektroskopii rozproszenia Ramana. Skupiono się przy tym na analizie pasm związanych z drganiami: (i) Ag-O (~210 - 260 cm⁻¹), (ii) Si-O-Si (440 - 550 cm⁻¹), (iii) Ti-O lub Ti-O-Si (550 - 900 cm⁻¹) dla obu typu powłok, oraz (iv) (CO₃)²⁻ (1045 - 1095 cm⁻¹) dla Ag-SiO₂ i, (v) (PO₄)³⁻ (950 - 1100 cm⁻¹) dla Ag-SiO₂+HAp [A8, A10]. Na podstawie analizy map integracyjnych wykazano jednorodne rozmieszczenie indywidualnych składowych materiału powłokotwórczego w objętości powłoki, przy czym nie stwierdzono sygnału pochodzącego od grup węglanowych [A10]. Zaobserwowano powstanie nieuporządkowanej, amorficznej struktury SiO₂-TiO₂, która powstaje w wysokiej temperaturze na skutek oddziaływania srebra (postać jonowa, metaliczna lub utleniona) i niestechiometrycznych postaci tlenku tytanu i krzemionki [A8, A10]. Opracowany mechanizm powstania takiej struktury zakłada współlistnienie niestabilnych termicznie, nieuporządkowanych faz SiO₂ i TiO₂, które na skutek oddziaływania srebra ulegają nadtapianiu w temperaturach niższych niż przewidywane w oparciu o diagramy fazowe SiO₂ i TiO₂. Srebro wbudowywane w utworzony materiał stabilizuje nowo powstałą strukturę [A8, A10]. Warto podkreślić jest, że obserwowane podobne procesy zaobserwowano w Ag-SiO₂+β-TCP/TiO₂/NiTi [A5].

Własności strukturalne oraz fizykochemiczne powłok determinują własności mechaniczne i biologiczne całego kompozytu. Wykazano, że proces osadzania elektroforetycznego nie prowadzi do zahamowania przemiany martenzytycznej, która pozostała jednostopniowa w przypadku Ag-SiO₂+β-TCP/TiO₂/NiTi [A5] i uległa zmianie na dwustopniową dla Ag-SiO₂/TiO₂/NiTi oraz Ag-SiO₂+HAp/TiO₂/NiTi [A8, A10]. Stop NiTi cechował się także wyższą odpornością korozyjną po procesie jego funkcjonalizacji za pomocą Ag-SiO₂ oraz Ag-SiO₂+HAp (5:1, 10:1 gdzie HAp: Ag-SiO₂), a tylko nieznacznie niższą w odniesieniu do materiału referencyjnego HAp/TiO₂/NiTi oraz stopu przed funkcjonalizacją powierzchni. Badania impedancji wykonane dla Ag-SiO₂+HAp/TiO₂/NiTi uwidoczniły obecność warstwy SiO₂-TiO₂ oraz hybrydowej powłoki właściwej [A8]. Podobne wyniki uzyskano dla Ag-SiO₂/TiO₂/NiTi, przy czym dane na tą chwilę jeszcze nie zostały opublikowane.

Badania migracji jonów, istotne z punktu widzenia aplikacji implantu, wykonane dla Ag-SiO₂/TiO₂/NiTi wykazały tylko niewielki procent srebra, tytanu (0.01%) i krzemu (0.2%), które uwalniały się do roztworu, nawet po 28 dniach prowadzonego eksperymentu [A11]. Poziom niklu uwalnianego do środowiska w przypadku powłok hybrydowych okazał się być o rząd wielkości niższy niż dla materiału wyjściowego i porównywalny do poziomu rejestrowanego dla HAp/TiO₂/NiTi [A11]. W przypadku Ag-SiO₂+HAp/TiO₂/NiTi zmierzono bardzo zbliżone zawartości uwolnionych jonów (wyniki tych badań nie zostały jeszcze opublikowane). Biomateriał odznaczał się przy tym wysoką biogodnością, co związane było z faktem, że na powłokach zawierających kompozyt srebro-krzemionka narastała warstwa krystalicznego hydroksyapatytu (Ca/P ~ 1,68), o cechach porównywalnych do wartości hydroksyapatytu powstającego na powłokach zbudowanych w oparciu o czyste fosforany wapnia [A11].

Powierzchnia Ag-SiO₂/TiO₂/NiTi charakteryzowała się chropowatością 112 ± 3 nm, wartością kąta zwilżania $74,8 \pm 1,6^\circ$, oraz swobodnej energii powierzchniowej: $45,4$ mJ/m². Wartości te okazały się być zbliżone do zmierzonych dla biomateriałów referencyjnych HAp/TiO₂/NiTi, tj.: 141 ± 5 nm, $70,6 \pm 1,2^\circ$ i $46,8$ mJ/m² [A11]. Wartości chropowatości w przypadku Ag-SiO₂+HAp/TiO₂/NiTi (5:1, 10:1, gdzie HAp:Ag-SiO₂) były, w odniesieniu do powłok referencyjnych, prawie dwukrotnie wyższe i wynosiły 235 ± 2 nm dla powłoki 5:1 i 265 ± 3 nm dla 10:1. Kąty zwilżania były niższe osiągając wartości $52,5 \pm 1,2^\circ$ dla powłoki 5:1 i $61,1 \pm 2,1^\circ$ dla 10:1, natomiast wartości swobodnej energii potencjalnej wynosiły odpowiednio: $79,9$ mJ/m² (5:1) i $61,4$ mJ/m² (10:1). Wartości wyznaczonych parametrów powierzchni wytworzonych powłok hybrydowych, zbliżone do próbek referencyjnych,

sugerują możliwość uzyskania skuteczniejszej proliferacji komórek fibroblastów lub osteoblastów oraz lepszą ich adhezję do podłoża, a ze względu na obecność srebra także wyższą aktywność biologiczną.

W celu sprawdzenia tej hipotezy badania biologiczne w ujęciu powłok hybrydowych i referencyjnych wykonano dla wymienionych wcześniej mikroorganizmów i komórek [A5, A11]. Analizując wyniki obserwacji stwierdzono, że powłoki Ag-SiO₂+β-TCP powodują pojawienie się znacznej strefy zahamowania wzrostu *Escherichia coli* oraz niewielkiej w przypadku *Staphylococcus aureus* [A5]. Największą strefę zahamowania zaobserwowano w dla powłok wykonanych przy proporcjach β-TCP do Ag-SiO₂ wynoszących 1:1 i 5:1. Znaczny wzrost zawartości β-TCP względem Ag-SiO₂ wynoszący 10:1 wpłynął na obniżenie efektu bakteriostatycznego. Należy podkreślić, że wszystkie powłoki hybrydowe cechują się znacznie lepszymi własnościami bakteriostatycznymi niż β-TCP [A5]. Nieopublikowane dotychczas dane otrzymane dla Ag-SiO₂+HAp/TiO₂/NiTi pokazują, że Ag-SiO₂+HAp/TiO₂/NiTi (5:1 oraz 10:1) chroni przed rozwojem *Staphylococcus aureus*. oraz *Escherichia coli*, ale tylko w przypadku powłok zbudowanych tylko z Ag-SiO₂+HAp (5:1, gdzie HAp:Ag-SiO₂). Oznacza to, że wzajemne proporcje pomiędzy składowymi powłoki są kluczowe dla uzyskania pożądaných efektów bakteriostatycznych. I tak oszacowana zawartość srebra w materiale powłokotwórczym powinna być wyższa niż 2 %at. ale niższa niż 3%at. ponieważ przy niższych wartościach biomateriały cechują się parametrami zbliżonymi do materiału referencyjnego, a przy wyższych znacznie wyższą toksycznością [A5, A11].

W przypadku powłok Ag-SiO₂ zaobserwowano znacznie mniejsze strefy zahamowania wzrostu bakterii *Escherichia coli* oraz *Staphylococcus aureus* [A11], przy czym efekt bakteriostatyczny utrzymywał się nawet po 28 dniach prowadzonego eksperymentu.

Podsumowując można stwierdzić, że powłoki zbudowane przy współdziałaniu Ag-SiO₂ wydają się skuteczniej chronić stop NiTi przed rozwojem biofilmu bakteryjnego niż biomateriały β-TCP/TiO₂/NiTi [A5] oraz HAp/TiO₂/NiTi [A11]. Zaobserwowany efekt bakteriostatyczny wynika z obecności srebra, które w wyniku oddziaływania z zewnętrzną błoną bakterii prowadzi do zmian w jej przepuszczalności lub w wyniku reakcji z tlenem rozpuszczonym w wodzie generuje reaktywne formy tlenu, w tym rodniki hydroksylowe (OH) lub aniony ponadtlenkowe (O²⁻)¹⁰⁸.

Badania cytotoksyczności względem wybranych komórek ludzkich wykonane w odniesieniu do Ag-SiO₂+β-TCP/TiO₂/NiTi pokazały znacznie wyższą proliferację fibroblastów niż obserwowana dla β-TCP/TiO₂/NiTi oraz HAp/TiO₂/NiTi [A5]. W przypadku

Ag-SiO₂/TiO₂/NiTi wyższą proliferację stwierdzono dla fibroblastów i osteoblastów w porównaniu do biomateriałów referencyjnych [A11]. Podobne, chociaż nieopublikowane dotychczas wyniki otrzymano w przypadku Ag-SiO₂+HAp/TiO₂/NiTi (HAp:SiO₂ 5:1, 10:1). Analiza wszystkich danych eksperymentalnych ukazuje korzystniejszą odpowiedź biologiczną implantów metalicznych funkcjonalizowanych powierzchniowo za pomocą kombinacji ceramiki fosforanowej oraz krzemionkowej, a efekt ten skorelowano z obecnością Si, Ca i P w materiale powłokotwórczym. Pierwiastki te uważane są za stymulujące ekspresję genów, poprawiające metabolizm kości oraz zapewniające wewnątrz- oraz zewnątrzkomórkowy efekt styku pomiędzy biomateriałem, a środowiskiem komórkowym^{109,110}. W przypadku Ag-SiO₂/TiO₂/NiTi działanie na komórki i bakterie związane jest obecnością atomów srebra (~1,7 %at.) oraz z korzystnymi parametrami powierzchni tj. z chropowatością, zwilżalnością oraz wysoką dostępnością rozpuszczalnej krzemionki [A11]. Adhezja fibroblastów oraz osteoblastów do powierzchni powłoki okazała się być porównywalna dla wszystkich badanych biomateriałów [A5, A11].

Podsumowanie etapu III

W badaniach, przedstawionych w pracach [A5, A8, A10, A11], wykorzystując metodę osadzania elektroforetycznego wykonano funkcjonalizację powierzchni TiO₂/NiTi za pomocą kombinacji Ag-SiO₂ i fosforanów wapnia (HAp lub β -TCP). Otrzymany biomateriał scharakteryzowano przy użyciu metod fizykochemicznych, a wyniki porównano z układami referencyjnymi przygotowanymi w postaci powłok Ag-SiO₂ oraz β -TCP lub HAp. Pokazano przy tym, że proces osadzania elektroforetycznego nie wpłynął na zmianę struktury materiału powłokotwórczego oraz podłoża. Powłoka Ag-SiO₂+ β -TCP wytworzona metodą EPD odznaczała się znacznie lepszą adhezją do podłoża niż powłoka wykonana z β -TCP, eliminując konieczność spiekania wysokotemperaturowego. Wzrost adhezji powiązano z powstaniem fazy SiO₂-TiO₂ stabilizowanej nanocząstkami srebra. Mikrostruktura wszystkich powłok, bez względu na wzajemną zawartość β -TCP i Ag-SiO₂ (1:1, 5:1, 10:1), cechowała się obecnością nieregularnych, ale równomiernie rozmieszczonych cząstek β -TCP w matrycy krzemionkowej. Srebro okazało się być jednorodnie rozmieszczone i tylko w niewielkich fragmentach warstw z obserwowano niewielkie aglomeraty. W przypadku powłok Ag-SiO₂ i Ag-SiO₂+HAp (1:1, 5:1, 10:1, gdzie HAp:Ag-SiO₂) niska adhezja wymusiła konieczność spiekania wysokotemperaturowego biomateriału, a tym samym konieczne było określenie wpływu temperatury na właściwości strukturalne i chemiczne finalnego tworzywa. Analiza mikrostruktury uwidoczniała wysoką trwałość powłok 5:1 i 10:1 (HAp:Ag-SiO₂), oraz niską w

przypadku, gdy powłoki były zbudowane przy wzajemnym stosunku HAp:Ag-SiO₂ (1:1). Wszystkie powłoki cechowały się jednorodnością rozkładu pierwiastków powłokotwórczych oraz nieznacznymi, lokalnie występującymi fragmentami, w których widoczny był Ti. Dla próbek Ag-SiO₂/TiO₂/NiTi oraz Ag-SiO₂+HAp/TiO₂/NiTi poddanych obróbce termicznej zaobserwowano, podobnie jak w przypadku Ag-SiO₂+β-TCP/TiO₂/NiTi, utworzenie niestechiometrycznej fazy SiO₂-TiO₂ stabilizowanej nanocząstkami srebra.

Biomateriały Ag-SiO₂/TiO₂/NiTi oraz Ag-SiO₂/HAp/TiO₂/NiTi (5:1, gdzie HAp:Ag-SiO₂) wykazywały, w odniesieniu do materiału referencyjnego, znacznie wyższą skuteczność w hamowaniu wzrostu biofilmu bakteryjnego *Escherichia coli* oraz *Staphylococcus aureus*, przez nawet 28 dni. Wszystkie badane powłoki posiadały zbliżone do powłok referencyjnych własności proliferacji (fibroblasty, osteoblasty) oraz adhezji komórkowej.

Podsumowując, powłoki Ag-SiO₂, Ag-SiO₂+β-TCP, oraz Ag-SiO₂+HAp (5:1, HAp:Ag-SiO₂) odznaczały się korzystniejszymi parametrami fizykochemicznymi oraz biologicznymi, niż powłoki referencyjne wykonane z fosforanów wapnia. Przeprowadzone badania pokazują, że wprowadzenie Ag-SiO₂ do materiału powłokotwórczego prowadzi do uzyskania nowych, biokompatybilnych materiałów implantologicznych.

Osiągnięcia naukowe i mój udział w omawianych pracach:

- opracowałem koncepcję wykorzystania Ag-SiO₂ w wytwarzaniu warstw służących funkcjonalizacji powierzchni stopu NiTi [A5, A8, A10, A11],
- wykorzystując spektroskopię rozproszenia Ramana zbadałem i opisałem mechanizm tworzenia powłok zbudowanych w oparciu o Ag-SiO₂ [A10] i/ oraz fosforany wapnia [A5, A8], ,
- z pomocą spektroskopii rozproszenia Ramana przeprowadziłem szczegółową charakterystykę fazową materiału powłokotwórczego oraz analizę powierzchni;
- powiązałem i wykazałem korelacje między chropowatością i zwilżalności powierzchni powłok oraz migracją jonów a własnościami bakteriostatycznymi oraz proliferacją i adhezją komórkową [A5, A11],
- przeprowadziłem analizę i interpretację stanów chemicznych oraz składu chemicznego powierzchni z wykorzystaniem metod XPS i SEM-EDS [A5, A8].

Literatura

- (1) Gunatillake, P. A.; Adhikari, R. Biodegradable Synthetic Polymers for Tissue Engineering. *Eur Cell Mater* **2003**, *5*, 1–16; discussion 16. <https://doi.org/10.22203/ecm.v005a01>.
- (2) Hutmacher, D. W.; Goh, J. C.; Teoh, S. H. An Introduction to Biodegradable Materials for Tissue Engineering Applications. *Ann Acad Med Singap* **2001**, *30* (2), 183–191.
- (3) Patel, M.; Fisher, J. P. Biodegradable Materials for Tissue Engineering. *Access Science* **2008**. <https://doi.org/10.1036/1097-8542.YB080510>.
- (4) Lee, E. J.; Kasper, F. K.; Mikos, A. G. Biomaterials for Tissue Engineering. *Ann Biomed Eng* **2014**, *42* (2), 323–337. <https://doi.org/10.1007/s10439-013-0859-6>.
- (5) Guarino, V.; Iafisco, M.; Spriano, S. 1 - Introducing Biomaterials for Tissue Repair and Regeneration. In *Nanostructured Biomaterials for Regenerative Medicine*; Guarino, V., Iafisco, M., Spriano, S., Eds.; Woodhead Publishing Series in Biomaterials; Woodhead Publishing, 2020; pp 1–27. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102594-9.00001-2>.
- (6) Itin, V. I.; Gyunter, V. E.; Shabalovskaya, S. A.; Sachdeva, R. L. C. Mechanical Properties and Shape Memory of Porous Nitinol. *Materials Characterization* **1994**, *32* (3), 179–187. [https://doi.org/10.1016/1044-5803\(94\)90087-6](https://doi.org/10.1016/1044-5803(94)90087-6).
- (7) Silberstein, B. M.; Gunter, V. Shape-Memory Implants in Spinal Surgery: Long-Term Results (Experimental and Clinical Studies). In *Shape Memory Implants*; Yahia, L., Ed.; Springer: Berlin, Heidelberg, 2000; pp 147–152. https://doi.org/10.1007/978-3-642-59768-8_10.
- (8) Bansiddhi, A.; Sargeant, T. D.; Stupp, S. I.; Dunand, D. C. Porous NiTi for Bone Implants: A Review. *Acta Biomater* **2008**, *4* (4), 773–782. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.02.009>.
- (9) Fischer, H.; Vogel, B.; Welle, A. Applications of Shape Memory Alloys in Medical Instruments. *Minimally Invasive Therapy & Allied Technologies* **2004**, *13* (4), 248–253. <https://doi.org/10.1080/13645700410018046>.
- (10) Ayers, R.; Burkes, D.; Gottoli, G.; Yi, H. C.; Moore, J. J. The Application of Self-Propagating High-Temperature Synthesis of Engineered Porous Composite Biomedical Materials. *Materials and Manufacturing Processes* **2007**, *22* (4), 481–488. <https://doi.org/10.1080/10426910701235967>.
- (11) Taheri Andani, M.; Saedi, S.; Turabi, A. S.; Karamooz, M. R.; Haberland, C.; Karaca, H. E.; Elahinia, M. Mechanical and Shape Memory Properties of Porous Ni 50.1 Ti 49.9 Alloys Manufactured by Selective Laser Melting. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* **2017**, *68*, 224–231. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.01.047>.
- (12) Lelaćko, J. Characterization of Low-Temperature Nitrided NiTi Shape Memory Alloy. *INŻYNIERIA MATERIAŁOWA* **2019**, *1* (3), 16–23. <https://doi.org/10.15199/28.2019.3.3>.
- (13) Mohd Jani, J.; Leary, M.; Subic, A.; Gibson, M. A. A Review of Shape Memory Alloy Research, Applications and Opportunities. *Materials & Design (1980-2015)* **2014**, *56*, 1078–1113. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2013.11.084>.
- (14) Dorozhkin, S. V. Calcium Orthophosphate Coatings, Films and Layers. *Prog Biomater* **2012**, *1* (1), 1. <https://doi.org/10.1186/2194-0517-1-1>.

- (15) Maleki-Ghaleh, H.; Khalil-Allafi, J.; Khalili, V.; Shakeri, M. S.; Javidi, M. Effect of Hydroxyapatite Coating Fabricated by Electrophoretic Deposition Method on Corrosion Behavior and Nickel Release of NiTi Shape Memory Alloy. *Materials and Corrosion* **2014**, *65* (7), 725–732. <https://doi.org/10.1002/maco.201206950>.
- (16) Katić, J.; Metikoš-Huković, M.; Babić, R. Synthesis and Characterization of Calcium Phosphate Coatings on Nitinol. *J Appl Electrochem* **2014**, *44* (1), 87–96. <https://doi.org/10.1007/s10800-013-0604-8>.
- (17) de Groot, K.; Wolke, J. G. C.; Jansen, J. A. Calcium Phosphate Coatings for Medical Implants. *Proc Inst Mech Eng H* **1998**, *212* (2), 137–147. <https://doi.org/10.1243/0954411981533917>.
- (18) Machado, L. G.; Savi, M. A. Medical Applications of Shape Memory Alloys. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **2003**, *36* (6), 683–691. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2003000600001>.
- (19) LeGeros, R. Z. Calcium Phosphate-Based Osteoinductive Materials. *Chem Rev* **2008**, *108* (11), 4742–4753. <https://doi.org/10.1021/cr800427g>.
- (20) Dorozhkin, S. V. Calcium Orthophosphates: Occurrence, Properties, Biomineralization, Pathological Calcification and Biomimetic Applications. *Biomater* **2011**, *1* (2), 121–164. <https://doi.org/10.4161/biom.18790>.
- (21) Elliott, J. C. *Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates*; Elsevier Science: Amsterdam etc, 2014.
- (22) Malysheva, A. Yu.; Beletskii, B. I. Biocompatibility of Apatite-Containing Implant Materials. *Inorganic Materials* **2001**, *37* (2), 180–183. <https://doi.org/10.1023/A:1004174030633>.
- (23) Dorozhkin, S. V. Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine. *Materials* **2009**, *2* (2), 399–498. <https://doi.org/10.3390/ma2020399>.
- (24) Dorozhkin, S. V. Calcium Orthophosphate Deposits: Preparation, Properties and Biomedical Applications. *Materials Science and Engineering: C* **2015**, *55*, 272–326. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.05.033>.
- (25) Chen, W.; Oh, S.; Ong, A. p.; Oh, N.; Liu, Y.; Courtney, H. s.; Appleford, M.; Ong, J. l. Antibacterial and Osteogenic Properties of Silver-Containing Hydroxyapatite Coatings Produced Using a Sol Gel Process. *J. Biomed. Mater. Res.* **2007**, *82A* (4), 899–906. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.31197>.
- (26) Pielichowska, K.; Blazewicz, S. Bioactive Polymer/Hydroxyapatite (Nano)Composites for Bone Tissue Regeneration. In *Biopolymers: Lignin, Proteins, Bioactive Nanocomposites*; Abe, A., Dusek, K., Kobayashi, S., Eds.; Advances in Polymer Science; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2010; pp 97–207. https://doi.org/10.1007/12_2010_50.
- (27) *Medical Coatings and Deposition Technologies*, 1st Edition.; Glocker, D., Ranade, S., Eds.; Wiley-Scrivener: Hoboken, New Jersey : Salem, Massachusetts, 2016.

- (28) Lemons, J.; Ratner, B. D.; Hoffman, A. S.; Schoen, F. J. *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*; Academic Press: San Diego London Boston New York Sydney Tokyo Toronto, 1996.
- (29) Chaikof, E. L.; Matthew, H.; Kohn, J.; Mikos, A. G.; Prestwich, G. D.; Yip, C. M. Biomaterials and Scaffolds in Reparative Medicine. *Ann N Y Acad Sci* **2002**, *961*, 96–105. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb03057.x>.
- (30) Gasser, B. About Composite Materials and Their Use in Bone Surgery. *Injury* **2000**, *31 Suppl 4*, 48–53. [https://doi.org/10.1016/s0020-1383\(00\)80023-6](https://doi.org/10.1016/s0020-1383(00)80023-6).
- (31) Khare, S.; Williams, K.; Gokulan, K. Nanotechnology. In *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*; Batt, C. A., Tortorello, M. L., Eds.; Academic Press: Oxford, 2014; pp 893–900. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00406-7>.
- (32) Ma, J.; Liang, C. H.; Kong, L. B.; Wang, C. Colloidal Characterization and Electrophoretic Deposition of Hydroxyapatite on Titanium Substrate. *J Mater Sci Mater Med* **2003**, *14* (9), 797–801. <https://doi.org/10.1023/a:1025092506583>.
- (33) Stappers, L.; Zhang, L.; Van der Biest, O.; Fransaer, J. The Effect of Electrolyte Conductivity on Electrophoretic Deposition. *J Colloid Interface Sci* **2008**, *328* (2), 436–446. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2008.09.022>.
- (34) Meng, X.; Kwon, T.-Y.; Yang, Y.; Ong, J. L.; Kim, K.-H. Effects of Applied Voltages on Hydroxyapatite Coating of Titanium by Electrophoretic Deposition. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* **2006**, *78* (2), 373–377. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30497>.
- (35) Mondragón-Cortez, P.; Vargas-Gutiérrez, G. Electrophoretic Deposition of Hydroxyapatite Submicron Particles at High Voltages. *Materials Letters* **2004**, *58* (7), 1336–1339. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2003.09.024>.
- (36) Xiao, X. F.; Liu, R. F. Effect of Suspension Stability on Electrophoretic Deposition of Hydroxyapatite Coatings. *Materials Letters* **2006**, *60* (21), 2627–2632. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2006.01.048>.
- (37) Wang, C.; Ma, J.; Cheng, W.; Zhang, R. Thick Hydroxyapatite Coatings by Electrophoretic Deposition. *Materials Letters* **2002**, *57* (1), 99–105. [https://doi.org/10.1016/S0167-577X\(02\)00706-1](https://doi.org/10.1016/S0167-577X(02)00706-1).
- (38) Boccaccini, A. R.; Keim, S.; Ma, R.; Li, Y.; Zhitomirsky, I. Electrophoretic Deposition of Biomaterials. *Journal of The Royal Society Interface* **2010**, *7* (Suppl 5), S581–S613. <https://doi.org/10.1098/rsif.2010.0156.focus>.
- (39) Boccaccini, A. R.; Zhitomirsky, I. Application of Electrophoretic and Electrolytic Deposition Techniques in Ceramics Processing. *Current Opinion in Solid State and Materials Science* **2002**, *6* (3), 251–260. [https://doi.org/10.1016/S1359-0286\(02\)00080-3](https://doi.org/10.1016/S1359-0286(02)00080-3).

- (40) Zhitomirsky, I. Cathodic Electrodeposition of Ceramic and Organoceramic Materials. Fundamental Aspects. *Advances in Colloid and Interface Science* **2002**, 97 (1), 279–317. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(01\)00068-9](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(01)00068-9).
- (41) *Surface Coating and Modification of Metallic Biomaterials*, 1st edition.; Wen, C., Ed.; Woodhead Publishing: Amsterdam, 2015.
- (42) Albayrak, O.; El-Atwani, O.; Altintas, S. Hydroxyapatite Coating on Titanium Substrate by Electrophoretic Deposition Method: Effects of Titanium Dioxide Inner Layer on Adhesion Strength and Hydroxyapatite Decomposition. *Surface and Coatings Technology* **2008**, 202 (11), 2482–2487. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2007.09.031>.
- (43) Ferrari, B.; Moreno, R. EPD Kinetics: A Review. *Journal of the European Ceramic Society* **2010**, 30 (5), 1069–1078. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2009.08.022>.
- (44) Dudek, K.; Goryczka, T. Electrophoretic Deposition and Characterization of Thin Hydroxyapatite Coatings Formed on the Surface of NiTi Shape Memory Alloy. *Ceramics International* **2016**, 42 (16), 19124–19132. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.09.074>.
- (45) Goryczka, T.; Dudek, K. Structure of Multi-Functional Calcium Phosphates/TiO₂ Layers Deposited on NiTi Shape-Memory Alloy. *Powder Diffraction* **2017**, 32 (S1), S99–S105. <https://doi.org/10.1017/S0885715617000239>.
- (46) Novaes Jr, A. B.; Souza, S. L. S. de; Barros, R. R. M. de; Pereira, K. K. Y.; Iezzi, G.; Piattelli, A. Influence of Implant Surfaces on Osseointegration. *Braz. Dent. J.* **2010**, 21, 471–481. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402010000600001>.
- (47) Olszta, M. J.; Cheng, X.; Jee, S. S.; Kumar, R.; Kim, Y.-Y.; Kaufman, M. J.; Douglas, E. P.; Gower, L. B. Bone Structure and Formation: A New Perspective. *Materials Science and Engineering: R: Reports* **2007**, 58 (3), 77–116. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2007.05.001>.
- (48) Metsger, D. S.; Rieger, M. R.; Foreman, D. W. Mechanical Properties Of. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **1999**, 10 (1), 9–17. <https://doi.org/10.1023/A:1008883809160>.
- (49) Suchanek, W.; Yoshimura, M. Processing and Properties of Hydroxyapatite-Based Biomaterials for Use as Hard Tissue Replacement Implants. *Journal of Materials Research* **1998**, 13 (1), 94–117. <https://doi.org/10.1557/JMR.1998.0015>.
- (50) Chicot, D.; Tricoteaux, A.; Lesage, J.; Leriche, A.; Descamps, M.; Rguiti-Constantin, E. Mechanical Properties of Porosity-Free Beta Tricalcium Phosphate (β -TCP) Ceramic by Sharp and Spherical Indentations. *New Journal of Glass and Ceramics* **2013**, 3 (1), 16–28. <https://doi.org/10.4236/njgc.2013.31004>.
- (51) Teraoka, K.; Ito, A.; Maekawa, K.; Onuma, K.; Tateishi, T.; Tsutsumi, S. Mechanical Properties of Hydroxyapatite and OH-Carbonated Hydroxyapatite Single Crystals. *J Dent Res* **1998**, 77 (7), 1560–1568. <https://doi.org/10.1177/00220345980770071201>.

- (52) Suetsugu, Y.; Hirota, K.; Fujii, K.; Tanaka, J. Compositional Distribution of Hydroxyapatite Surface and Interface Observed by Electron Spectroscopy. *JOURNAL OF MATERIALS SCIENCE* **1996**, *31* (17), 4541–4544. <https://doi.org/10.1007/BF00366349>.
- (53) Yamada, S.; Heymann, D.; Bouler, J.-M.; Daculsi, G. Osteoclastic Resorption of Calcium Phosphate Ceramics with Different Hydroxyapatite/ β -Tricalcium Phosphate Ratios. *Biomaterials* **1997**, *18* (15), 1037–1041. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(97\)00036-7](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(97)00036-7).
- (54) McLeod, K.; Kumar, S.; Smart, R. S. C.; Dutta, N.; Voelcker, N. H.; Anderson, G. I.; Sekel, R. XPS and Bioactivity Study of the Bisphosphonate Pamidronate Adsorbed onto Plasma Sprayed Hydroxyapatite Coatings. *Applied Surface Science* **2006**, *5* (253), 2644–2651. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2006.05.031>.
- (55) Xin, R.; Leng, Y.; Chen, J.; Zhang, Q. A Comparative Study of Calcium Phosphate Formation on Bioceramics in Vitro and in Vivo. *Biomaterials* **2005**, *26* (33), 6477–6486. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.04.028>.
- (56) Li, F.; Lei, C.; Shen, Q.; Li, L.; Wang, M.; Guo, M.; Huang, Y.; Nie, Z.; Yao, S. Analysis of Copper Nanoparticles Toxicity Based on a Stress-Responsive Bacterial Biosensor Array. *Nanoscale* **2012**, *5* (2), 653–662. <https://doi.org/10.1039/C2NR32156D>.
- (57) Jung, W. K.; Koo, H. C.; Kim, K. W.; Shin, S.; Kim, S. H.; Park, Y. H. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of the Silver Ion in Staphylococcus Aureus and Escherichia Coli. *Appl Environ Microbiol* **2008**, *74* (7), 2171–2178. <https://doi.org/10.1128/AEM.02001-07>.
- (58) Trapalis, C. C.; Vaimakis, T.; Kharlamov, A.; Kokkoris, M.; Kordas, G. Nanostructured MeSiO₂ (Me=Ag, Cu) Coatings with Antibacterial Activity. In *Nanostructured Materials and Coatings for Biomedical and Sensor Applications*; Gogotsi, Y. G., Uvarova, I. V., Eds.; NATO Science Series; Springer Netherlands: Dordrecht, 2003; pp 41–49. https://doi.org/10.1007/978-94-010-0157-1_4.
- (59) Morones, J. R.; Elechiguerra, J. L.; Camacho, A.; Holt, K.; Kouri, J. B.; Ramírez, J. T.; Yacaman, M. J. The Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles. *Nanotechnology* **2005**, *16* (10), 2346–2353. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/16/10/059>.
- (60) Choi, W. S.; Koo, H. Y.; Park, J.-H.; Kim, D.-Y. Synthesis of Two Types of Nanoparticles in Polyelectrolyte Capsule Nanoreactors and Their Dual Functionality. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (46), 16136–16142. <https://doi.org/10.1021/ja053981u>.
- (61) Xiu, Z.; Zhang, Q.; Puppala, H. L.; Colvin, V. L.; Alvarez, P. J. J. Negligible Particle-Specific Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles. *Nano Lett.* **2012**, *12* (8), 4271–4275. <https://doi.org/10.1021/nl301934w>.
- (62) Durán, N.; Durán, M.; de Jesus, M. B.; Seabra, A. B.; Fávaro, W. J.; Nakazato, G. Silver Nanoparticles: A New View on Mechanistic Aspects on Antimicrobial Activity. *Nanomedicine* **2016**, *12* (3), 789–799. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.016>.

- (63) Lok, C.-N.; Ho, C.-M.; Chen, R.; He, Q.-Y.; Yu, W.-Y.; Sun, H.; Tam, P. K.-H.; Chiu, J.-F.; Che, C.-M. Silver Nanoparticles: Partial Oxidation and Antibacterial Activities. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2007**, *12* (4), 527–534. <https://doi.org/10.1007/s00775-007-0208-z>.
- (64) Zhang, X.-F.; Liu, Z.-G.; Shen, W.; Gurunathan, S. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *Int J Mol Sci* **2016**, *17* (9), E1534. <https://doi.org/10.3390/ijms17091534>.
- (65) Guerrero-Martínez, A.; Pérez-Juste, J.; Liz-Marzán, L. M. Recent Progress on Silica Coating of Nanoparticles and Related Nanomaterials. *Adv. Mater. Weinheim* **2010**, *22* (11), 1182–1195. <https://doi.org/10.1002/adma.200901263>.
- (66) College of Environment and Safety Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao, 266042, P. R. China; Li, S. Epoxy/Nano-SiO₂ Anticorrosion Coatings Synthesized by Different Molar Ratio of Tetraethyl Orthosilicate (TEOS) and Tetramethyl Orthosilicate (TMOS). *International Journal of Electrochemical Science* **2019**, 11641–11650. <https://doi.org/10.20964/2019.12.06>.
- (67) Dong, Y.; Liu, T.; Sun, S.; Chang, X.; Guo, N. Preparation and Characterization of SiO₂/Polydopamine/Ag Nanocomposites with Long-Term Antibacterial Activity. *Ceramics International* **2014**, *40* (4), 5605–5609. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2013.10.153>.
- (68) Kim, Y. H.; Lee, D. K.; Cha, H. G.; Kim, C. W.; Kang, Y. C.; Kang, Y. S. Preparation and Characterization of the Antibacterial Cu Nanoparticle Formed on the Surface of SiO₂ Nanoparticles. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110* (49), 24923–24928. <https://doi.org/10.1021/jp0656779>.
- (69) Boonruang, K.; Sundarapura, P.; Siriwatwechakul, W. Long-Term Study of Cu/SiO₂ Microspheres as Antimicrobial Additives in Paints. *Chiang Mai J. Sci.* **2019**, *46* (3), 523–536.
- (70) Nowak, A.; Szade, J.; Talik, E.; Ratuszna, A.; Ostafin, M.; Peszke, J. Structural, Spectroscopic and Biological Investigation of Copper Oxides Nanoparticles with Various Capping Agents. *Materials Chemistry and Physics* **2014**, *145* (3), 465–470. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2014.02.049>.
- (71) Nowak, A.; Szade, J.; Talik, E.; Zubko, M.; Wasilkowski, D.; Dulski, M.; Balin, K.; Mrozik, A.; Peszke, J. Physicochemical and Antibacterial Characterization of Ionocytic Ag/Cu Powder Nanoparticles. *Materials Characterization* **2016**, *117*, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.matchar.2016.04.013>.
- (72) Peszke, J.; Nowak, A.; Szade, J.; Szurko, A.; Zygadło, D.; Michałowska, M.; Krzyściak, P.; Zygoń, P.; Ratuszna, A.; Ostafin, M. M. Effect of Silver/Copper and Copper Oxide Nanoparticle Powder on Growth of Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria and Their Toxicity against the Normal Human Dermal Fibroblasts. *J Nanopart Res* **2016**, *18* (12), 355. <https://doi.org/10.1007/s11051-016-3671-z>.

- (73) Li, Z.; Jia, L.; Li, Y.; He, T.; Li, X.-M. Ammonia-Free Preparation of Ag@SiO₂ Core/Shell Nanoparticles. *Applied Surface Science* **2015**, *345*, 122–126. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.03.159>.
- (74) Asanithi, P.; Chaiyakun, S.; Limsuwan, P. Growth of Silver Nanoparticles by DC Magnetron Sputtering. *Journal of Nanomaterials* **2012**, *2012*, e963609. <https://doi.org/10.1155/2012/963609>.
- (75) Pazesh, S.; Lazorova, L.; Berggren, J.; Alderborn, G.; Gråsjö, J. Considerations on the Quantitative Analysis of Apparent Amorphicity of Milled Lactose by Raman Spectroscopy. *International Journal of Pharmaceutics* **2016**, *511* (1), 488–504. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.07.001>.
- (76) Suppi, S.; Kasemets, K.; Ivask, A.; Künnis-Beres, K.; Sihtmäe, M.; Kurvet, I.; Aruoja, V.; Kahru, A. A Novel Method for Comparison of Biocidal Properties of Nanomaterials to Bacteria, Yeasts and Algae. *Journal of Hazardous Materials* **2015**, *286*, 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.027>.
- (77) Sarathy, V.; Tratnyek, P. G.; Nurmi, J. T.; Baer, D. R.; Amonette, J. E.; Chun, C. L.; Penn, R. L.; Reardon, E. J. Aging of Iron Nanoparticles in Aqueous Solution: Effects on Structure and Reactivity. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112* (7), 2286–2293. <https://doi.org/10.1021/jp0777418>.
- (78) Sotiriou, G. A.; Pratsinis, S. E. Engineering Nanosilver as an Antibacterial, Biosensor and Bioimaging Material. *Curr Opin Chem Eng* **2011**, *1* (1), 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.coche.2011.07.001>.
- (79) Yoon, S. H.; Lee, J. H.; Lee, P. C.; Nam, J. D.; Jung, H.-C.; Oh, Y. S.; Kim, T. S.; Lee, Y. kwan. Sintering and Consolidation of Silver Nanoparticles Printed on Polyimide Substrate Films. *Macromol. Res.* **2009**, *17* (8), 568–574. <https://doi.org/10.1007/BF03218910>.
- (80) Lei, Z. W.; Liu, M.; Ge, W.; Fu, Z. P.; Reinhardt, K.; Knize, R. J.; Lu, Y. Morphology and Optical Absorption Change of Ag/SiO₂ Core-Shell Nanoparticles under Thermal Annealing. *Appl. Phys. Lett.* **2012**, *101* (8), 083903. <https://doi.org/10.1063/1.4747803>.
- (81) Pourali, P.; Baserisalehi, M.; Afsharnezhad, S.; Behravan, J.; Ganjali, R.; Bahador, N.; Arabzadeh, S. The Effect of Temperature on Antibacterial Activity of Biosynthesized Silver Nanoparticles. *Biomaterials* **2013**, *26* (1), 189–196. <https://doi.org/10.1007/s10534-012-9606-y>.
- (82) Peyser, L. A.; Vinson, A. E.; Bartko, A. P.; Dickson, R. M. Photoactivated Fluorescence from Individual Silver Nanoclusters. *Science* **2001**, *291* (5501), 103–106. <https://doi.org/10.1126/science.291.5501.103>.
- (83) Zheng, J.; Dickson, R. M. Individual Water-Soluble Dendrimer-Encapsulated Silver Nanodot Fluorescence. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (47), 13982–13983. <https://doi.org/10.1021/ja0282821>.
- (84) Ivask, A.; ElBadawy, A.; Kaweeteerawat, C.; Boren, D.; Fischer, H.; Ji, Z.; Chang, C. H.; Liu, R.; Tolaymat, T.; Telesca, D.; Zink, J. I.; Cohen, Y.; Holden, P. A.; Godwin, H. A. Toxicity Mechanisms in Escherichia Coli Vary for Silver Nanoparticles and Differ from Ionic Silver. *ACS Nano* **2014**, *8* (1), 374–386. <https://doi.org/10.1021/nn4044047>.

- (85) Zhang, T.; Wang, L.; Chen, Q.; Chen, C. Cytotoxic Potential of Silver Nanoparticles. *Yonsei Med J* **2014**, *55* (2), 283–291. <https://doi.org/10.3349/ymj.2014.55.2.283>.
- (86) Prabhu, S.; Poullose, E. K. Silver Nanoparticles: Mechanism of Antimicrobial Action, Synthesis, Medical Applications, and Toxicity Effects. *Int Nano Lett* **2012**, *2* (1), 32. <https://doi.org/10.1186/2228-5326-2-32>.
- (87) Li, J.; Rong, K.; Zhao, H.; Li, F.; Lu, Z.; Chen, R. Highly Selective Antibacterial Activities of Silver Nanoparticles against *Bacillus Subtilis*. *J Nanosci Nanotechnol* **2013**, *13* (10), 6806–6813. <https://doi.org/10.1166/jnn.2013.7781>.
- (88) Yeshchenko, O. A.; Dmitruk, I. M.; Alexeenko, A. A.; Dmytruk, A. M. Size-Dependent Melting of Spherical Copper Nanoparticles Embedded in a Silica Matrix. *Phys. Rev. B* **2007**, *75* (8), 085434. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.75.085434>.
- (89) Battaglin, G.; Cattaruzza, E.; Gonella, F.; Polloni, R.; Scremin, B. F.; Mattei, G.; Mazzoldi, P.; Sada, C. Structural and Optical Properties of Cu:Silica Nanocomposite Films Prepared by Co-Sputtering Deposition. *Applied Surface Science* **2004**, *1–3* (226), 52–56. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2003.11.030>.
- (90) Lai, S. L.; Guo, J. Y.; Petrova, V.; Ramanath, G.; Allen, L. H. Size-Dependent Melting Properties of Small Tin Particles: Nanocalorimetric Measurements. *Physical Review Letters* **1996**, *77* (1), 99–102. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.77.99>.
- (91) Loulijat, H.; Zerradi, H.; Mizani, S.; Achhal, E. mehdi; Dezairi, A.; Ouaskit, S. The Behavior of the Thermal Conductivity near the Melting Temperature of Copper Nanoparticle. *Journal of Molecular Liquids* **2015**, *211*, 695–704. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.07.074>.
- (92) Delgado, K.; Quijada, R.; Palma, R.; Palza, H. Polypropylene with Embedded Copper Metal or Copper Oxide Nanoparticles as a Novel Plastic Antimicrobial Agent. *Lett Appl Microbiol* **2011**, *53* (1), 50–54. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03069.x>.
- (93) Das, D.; Nath, B. C.; Phukon, P.; Dolui, S. K. Synthesis and Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Behavior of CuO Nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2013**, *101*, 430–433. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.07.002>.
- (94) Fu, S. Z.; Wang, X. H.; Guo, G.; Shi, S.; Fan, M.; Liang, H.; Luo, F.; Qian, Z. Y. Preparation and Properties of Nano-Hydroxyapatite/PCL-PEG-PCL Composite Membranes for Tissue Engineering Applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* **2011**, *97B* (1), 74–83. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31788>.
- (95) Qu, J.; Lu, X.; Li, D.; Ding, Y.; Leng, Y.; Weng, J.; Qu, S.; Feng, B.; Watari, F. Silver/Hydroxyapatite Composite Coatings on Porous Titanium Surfaces by Sol-Gel Method. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* **2011**, *97* (1), 40–48. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31784>.
- (96) Eraković, S.; Janković, A.; Veljović, D.; Palcevskis, E.; Mitrić, M.; Stevanović, T.; Janačković, D.; Mišković-Stanković, V. Corrosion Stability and Bioactivity in Simulated Body Fluid of

- Silver/Hydroxyapatite and Silver/Hydroxyapatite/Lignin Coatings on Titanium Obtained by Electrophoretic Deposition. *J Phys Chem B* **2013**, *117* (6), 1633–1643. <https://doi.org/10.1021/jp305252a>.
- (97) *Biomedical and Pharmaceutical Applications of Electrochemistry*; Djokić, S., Ed.; Modern Aspects of Electrochemistry; Springer International Publishing, 2016.
- (98) Feng, Q. L.; Cui, F. Z.; Kim, T. N.; Kim, J. W. Ag-Substituted Hydroxyapatite Coatings with Both Antimicrobial Effects and Biocompatibility. *Journal of Materials Science Letters* **1999**, *18* (7), 559–561. <https://doi.org/10.1023/A:1006686713882>.
- (99) Lee, J. N.; Jiang, X.; Ryan, D.; Whitesides, G. M. Compatibility of Mammalian Cells on Surfaces of Poly(Dimethylsiloxane). *Langmuir* **2004**, *20* (26), 11684–11691. <https://doi.org/10.1021/la048562+>.
- (100) Peltola, T.; Jokinen, M.; Veittola, S.; Rahiala, H.; Yli-Urpo, A. Influence of Sol and Stage of Spinnability on in Vitro Bioactivity and Dissolution of Sol–Gel-Derived SiO₂ Fibers. *Biomaterials* **2001**, *22* (6), 589–598. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00219-2](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00219-2).
- (101) Monteiro, D. R.; Arias, L. S.; Fernandes, R. A.; Straioto, F. G.; Barros Barbosa, D.; Pessan, J. P.; Delbem, A. C. B. Role of Tyrosol on Candida Albicans, Candida Glabrata and Streptococcus Mutans Biofilms Developed on Different Surfaces. *Am J Dent* **2017**, *30* (1), 35–39.
- (102) He, H. W.; Liu, M. L.; Zhu, Z. L.; Yang, M. Z.; Li, Q. L.; Chen, Z. Q. Influence of Surface Morphology of CpTi on the Adsorption and Attachment of Collagen/Chitosan. *Applied Surface Science* **2008**, *255* (2), 509–511. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2008.06.063>.
- (103) Cai, K.; Lai, M.; Yang, W.; Hu, R.; Xin, R.; Liu, Q.; Sung, K. L. P. Surface Engineering of Titanium with Potassium Hydroxide and Its Effects on the Growth Behavior of Mesenchymal Stem Cells. *Acta Biomater* **2010**, *6* (6), 2314–2321. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.11.034>.
- (104) Le Guéhennec, L.; Soueidan, A.; Layrolle, P.; Amouriq, Y. Surface Treatments of Titanium Dental Implants for Rapid Osseointegration. *Dent Mater* **2007**, *23* (7), 844–854. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2006.06.025>.
- (105) Stanford, C. M.; Keller, J. C. The Concept of Osseointegration and Bone Matrix Expression. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* **1991**, *2* (1), 83–101. <https://doi.org/10.1177/10454411910020010601>.
- (106) Perkas, N.; Shuster, M.; Amirian, G.; Kolytyn, Y.; Gedanken, A. Sonochemical Immobilization of Silver Nanoparticles on Porous Polypropylene. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2008**, *46* (5), 1719–1729. <https://doi.org/10.1002/pola.22513>.
- (107) Plotnichenko, V. G.; Sokolov, V. O.; Koltashev, V. V.; Dianov, E. M. On the Structure of Phosphosilicate Glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids* **2002**, *306* (3), 209–226. [https://doi.org/10.1016/S0022-3093\(02\)01172-9](https://doi.org/10.1016/S0022-3093(02)01172-9).
- (108) Yamamoto N. Classification and Antimicrobial Mechanism of Inorganic Antimicrobial Agents. *Inorganic materials* **1999**, *6* (283), 468–473. <https://doi.org/10.11451/mukimate1994.6.468>.

- (109) Hoppe, A.; Güldal, N. S.; Boccaccini, A. R. A Review of the Biological Response to Ionic Dissolution Products from Bioactive Glasses and Glass-Ceramics. *Biomaterials* **2011**, *32* (11), 2757–2774. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.01.004>.
- (110) Jones, J. R.; Ehrenfried, L. M.; Saravanapavan, P.; Hench, L. L. Controlling Ion Release from Bioactive Glass Foam Scaffolds with Antibacterial Properties. *J Mater Sci Mater Med* **2006**, *17* (11), 989–996. <https://doi.org/10.1007/s10856-006-0434-x>.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

- Université du Mans, Le Mans, Francja, maj - czerwiec 2012 rok - wykonanie pomiarów do pracy doktorskiej,
- Sandton Conversion Center, Gauteng, Johannesburg, RPA oraz Pegmatites and Industrial Minerals w ramach IMA2014, Namibia - wrzesień 2014 rok - badania terenowe o charakterze naukowo-badawczym mające na celu zebranie materiału badawczego do pracy doktorskiej,
- WITec Company GMBH, Ulm, Niemcy, październik 2018 rok - szkolenie i warsztaty ze spektroskopii rozproszenia Ramana.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

6.1. Osiągnięcia dydaktyczne

Zajęcia dydaktyczne prowadziłem w języku polskim dla studentów I i II stopnia studiów stacjonarnych i niestacjonarnych na różnych specjalnościach i kierunkach:

- *Geologia*, specjalność Geofizyka; Wydział Nauk o Ziemi, Uniwersytet Śląski w Katowicach
- *Fizyka medyczna*; Wydział Matematyki-Fizyki-Chemii oraz Wydział Nauk Ścisłych i Technicznych, Uniwersytet Śląski w Katowicach
- *Biofizyka*; Wydział Matematyki-Fizyki-Chemii oraz Wydział Nauk Ścisłych i Technicznych, Uniwersytet Śląski w Katowicach
- *Inżynieria materiałowa*; Wydział Matematyki-Fizyki-Chemii, Uniwersytet Śląski w Katowicach

Przeprowadzone zajęcia dydaktyczne ze studentami:

- **Wykłady autorskie:** Mechanika techniczna 2: Kinematyka i Dynamika, Wybrane zagadnienia z fizyki molekularnej i fizyki ciała stałego.
- **Laboratoria:** Pierwsza pracownia fizyczna: Mechanika, Termodynamika, Optyka.
- **Ćwiczenia rachunkowe:** Materiałoznawstwo, Podstawy statystycznej analizy danych, Statystyczne metody opracowania danych doświadczalnych.
- **Pracownie specjalistyczne:** Wybrane zagadnienia z fizyki molekularnej i fizyki ciała stałego, Zastosowanie spektroskopii wibracyjnej w badaniach substancji leczniczych, Fizyka z elementami biofizyki.

Uczestnictwo w zajęciach edukacyjnych dla uczestników w wieku od 12 do 16 lat:

- tutor w projekcie "Uniwersytet Młodego Odkrywcy w Śląskim Międzyuczelnianym Centrum Edukacji i Badań Interdyscyplinarnych – UMO SMCEBI"

6.2. Promotorstwo, recenzje prac

Promotor 4 prac dyplomowych:

- dwóch prac inżynierskich

„Wytworzenie i charakterystyka kompozytu krzemionka-srebro do zastosowań medycznych”

„Charakterystyka nanokompozytów opartych o nanosrebro i tlenek tytanu - badania z wykorzystaniem spektroskopii Ramana oraz mikroskopii elektronowej”

- dwóch prac magisterskich

„Wpływ nośnika krzemionkowego na właściwości układu metal-ceramika”

„Wpływ obróbki cieplnej na właściwości kompozytu krzemionka-miedź”

Recenzent dwóch prac dyplomowych:

„Charakterystyka i podstawy fizyczne działania wybranych laserów stosowanych w medycynie”

„Charakterystyka przejść fazowych ciekło-krystalicznych dimerów z modulowaną fazą nematyczną metodami optycznymi oraz spektroskopii w podczerwieni”

6.3. Działalność organizacyjna

- współorganizator święta liczby Pi;

- współorganizator Chorzowskiego Festiwalu Nauki;

- współorganizator warsztatów dla dzieci i młodzieży pt. "Być jak Sherlock" obejmujących: (1) poszukiwanie pozostałości białkowych w kościach pradawnych gadów żyjących w okresie od Triasu do Kredy, (2) określenie śladu białkowego charakterystycznego dla naszej skóry oraz włosów;

- współorganizator XI edycji Krajowego Sympozjum Użytkowników Promieniowania Synchronotronowego organizowanego w dniach 1-4 września 2015 roku w Chorzowie.

6.4. Działalność popularyzatorska

- współautor (J. Ożdżeński, F. Ożdżeński, M. Dulski, R. Wrzalik) artykułu popularnonaukowego „Róg nosorożca” wydanego przez czasopismo Polski Jubiler
- współautor (M. Dulski, A. Nowak) notatki popularnonaukowej:
<https://atlasofscience.org/impact-of-temperature-on-physicochemical-and-biological-properties-of-silver-silica-nanocomposite/>;
- współautor (M. Dulski, K. Dudek) notatki popularnonaukowej:
<https://rzecz.pl/nowe-bioaktywne-powloki-kompozytowe-poprawia-funkcjonalnosc-implantow-kostnych/>;
- współautor (D. Surmik, A. Boczarowski, J. Szade, K. Balin, M. Dulski, B. Kremer, R. Pawlicki) notatki popularnonaukowej:
<http://naukawpolsce.pap.pl/aktualnosci/news,408892,odkrycie-polskich-paleontologow-otwiera-nowe-drzwi-w-nauce.html>,
<http://www.focus.pl/czlowiek/polscy-naukowcy-opisali-naczynia-krwionosne-z-bialkami-sprzed-cwierc-miliarda-lat-13801>.

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

- * Dodatkowe informacje ilustrujące osiągnięcia uzyskane przez cały okres kariery naukowej w latach 2009 - 2015 (okres przed uzyskaniem stopnia doktora) oraz 2015 - 2021 (okres po uzyskaniu stopnia doktora)

NAGRODY I WYRÓŻNIENIA

- 2007-2009 - Stypendium naukowe dla najlepszego studenta
- 2009-2010 - Stypendium doktoranckie przyznawane przez rektora Uniwersytetu Śląskiego
- 2010-2013 - Stypendium w ramach projektu naukowego „UPGOW – Uniwersytet Partnerem Gospodarki Opartej na Wiedzy” (studia doktoranckie)
- 2012-2014 - Stypendium w ramach dotacji na dofinansowanie zadań projakościowych
- 2012/2013 - Stypendium dla najlepszych doktorantów
- 2012/2013 - Stypendium Rektora za osiągnięcia w nauce
- 2012/2013 - Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego za wybitne osiągnięcia naukowe
- 2014/2015 - Stypendium w ramach projektu CITTRFUŚ - „Współpraca drogą do innowacji” pt. „Wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw”

- 2014 - Wyróżnienie Rektora JM Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach
- 2015 - trzecie miejsce w **międzynarodowym konkursie na najlepszą pracę doktorską** w dziedzinie Inżynieria materiałowa, Materiały badawcze, Ostrava, Czechy
- 2016 - Nagroda II stopnia Rektora dla Nauczycieli Akademickich
- 2017 - Nagroda I stopnia Rektora dla Nauczycieli Akademickich
- 2018-2020 - Nagroda II stopnia Rektora Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach dla Nauczycieli Akademickich
- 2018-2021 - Stypendium dla Wybitnych Młodych Naukowców
- 2020 - Polska Nagroda Inteligentnego Rozwoju: Naukowiec Przyszłości

** Badania naukowe przedstawione w postaci cyklu 11 publikacji w recenzowanych czasopismach naukowych stanowią niewielki wycinek wszystkich badań realizowanych w okresie całej kariery zawodowej zarówno przed jak i po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. W tym aspekcie 23 publikacje naukowe opublikowane zostały przed uzyskaniem stopnia doktora, podczas gdy pozostałe 77 prac niewchodzące w cykl publikacji, ale opublikowane już po uzyskaniu stopnia doktora można pogrupować w zależności od charakteru prowadzonych badań:

I. *Charakterystyka miękkiej materii i układów ograniczonych przestrzennie:*

[A1-6, A8-11, A15-13, A27, A29-31, A34, A40-42, A47-48, A50-51, A57, A60-65, A70, A73-75, A86-87, A98-99, A102, A105-108, A111];

II. *Badania nowych minerałów:*

[A7, A25-26, A35-37, A43-44, A49, A56, A67-69, A80-81, A89, A96, A103];

III. *Obliczenia kwantowo-mechaniczne:*

[A13, A76, A101];

IV. *Badania nad opracowaniem nieorganicznych materiałów luminescencyjnych:*

[A14, A28];

V. *Badania biologiczne na pograniczu paleontologii i biologii roślin:*

[A24, A45, A54-55, A58-59, A112];

VI. *Opracowanie nowoczesnych, wielofunkcyjnych materiałów inżynierskich:*

[A38-39, A46, A52-53, A77, A82-85, A92-95];

VII. *Badania własności modyfikowanych fulerenów:*

[A90-91, A104]

VIII. *Inne:*

[A12, A33, A79]

Poniżej przedstawiam kilka, moim zdaniem najistotniejszych zagadnień badawczych, poruszonych w publikacjach z przedstawionego powyżej zbioru, a nie włączonych do cyklu habilitacyjnego.

Ad. I Charakterystyka miękkiej materii i układów ograniczonych przestrzennie

Przez dłuższy okres mojej kariery naukowej jednym z wiodących zagadnień badawczych była charakterystyka wiązań wodorowych, izomerów oraz tautomerów, analiza procesów mutarotacji, krystalizacji oraz zmian konformacyjnych i polimorficznych w układach czynnych farmakologicznie. W swoich badaniach poza technikami spektroskopii IR i Ramana wykorzystywałem kwantowe metody obliczeniowe (głównie DFT), które umożliwiły na analizę geometrii i widm oscylacyjnych prostych układów molekularnych. Obliczone widma podczerwone i ramanowskie doprowadziły do interpretacji widm eksperymentalnych, co w istotny sposób przyczyniło się do pełniejszego opisu oddziaływań i dynamiki badanych układów molekularnych i zrozumienia mechanizmów przejścia ciecz-ciecz przechłodzona-szkło. Część badań była prowadzona w ramach projektu TEAM „*From Study of Molecular Dynamics in Amorphous Medicines at Ambient and Elevated Pressure to Novel Applications in Pharmacy*” (m.in. we współpracy z działem Preformulacji R&D Zakładów Farmaceutycznych Polpharma S. A oraz Gdańskim Uniwersytetem Medycznym). W badaniach stosowałem różnorodne techniki pomiarowe i obliczeniowe:

- Techniki spektroskopowe (podczerwień, Raman) pozwoliły udowodnić, że wiązania wodorowe i powiązane z nimi oddziaływania inter- oraz intramolekularne odgrywają znaczną rolę przy zmianie własności fizykochemicznych badanych związków (tj. rozpuszczalność, stabilność, trwałość substancji aktywnych oraz ich przewodność jonowa) [m.in. A1, A6, A21, A29, A63]. Pokazaliśmy jako pierwsza grupa na świecie, że oddziaływania molekularne pojawiające się w mieszaninach binarnych (np farmaceutyk + cukier modyfikowany chemicznie) wpływają na polepszenie własności oraz stabilność obecnie używanych farmaceutyków. Okazało się także, że wprowadzenie zmodyfikowanych cukrów do związku tworzącego w fazie krystalicznej trwałe ugrupowania dimerowe, wpływa na osłabienie tego oddziaływania, i w konsekwencji obniża zdolność badanego materiału do rekrytalizacji [m. in. A17, A31, A60, A99].
- Połączenie obliczeń teoretycznych oraz danych spektroskopowych potwierdziło, że obecność konkretnych izomerów / tautomerów, pojawiających się w wyniku przejścia związku do fazy szklistej wpływa na zwiększenie rozpuszczalności czy też na aktywność biologiczną związku w porównaniu do ich odpowiedników powszechnie występujących w formie krystalicznej. Efekty te skorelowano ze wzrostem stabilności chemicznej substancji

czynnych przygotowanych w fazie amorficznej [A1, A11, A18, A21, A29, A57]. Innym ważnym aspektem badań było dokładne poznanie kinetyki procesów reakcji transferu protonu w przypadku zasad azotowych (tj. urydyna, guanina). Uzyskane wyniki mają ogromne znaczenie przy ocenie procesów mutacji punktowych w sekwencji kodującej nici DNA jak również podczas procesów transkrypcji i translacji, prowadząc do uszkodzenia komórek i pojawienia się chorób genetycznych tj. Alzheimer czy Parkinson [A8].

- Spektroskopia w podczerwieni, rozproszenia Ramana oraz obliczenia kwantowo-mechaniczne były elementem nieodzownym także przy charakterystyce procesów dynamiki / kinetyki monosacharydów (tj. D-ryboza, D-fruktoza, D-fukoza, D-sorboza), oraz pozwoliły opracować mechanizm zmian konformacyjnych w ujęciu inter- oraz intramolekularnych ruchów molekularnych [A2, A3, A9, A22, A42, A50, A70, A87]. Pokazaliśmy jako pierwsi w świecie, że reakcja mutarotacji może zachodzić bez udziału rozpuszczalnika, a sama reakcja nabiera cech przemiany autokatalicznej. Okazało się, że proces konwersji i równowagowania poszczególnych anomerów zmienia się nawet trzykrotnie w zależności od tego czy proces przebiega powyżej tzw. temperatury zeszklenia (układ o mniejszej lepkości) czy poniżej tej temperatury (układ o dużej lepkości). Wyniki te są przełomowe dla zrozumienia procesu mutarotacji oraz dają możliwość pełniejszego opisu zjawisk, przemian, czy też reakcji chemicznych zachodzących w związkach organicznych w metastabilnej cieczy przechodzonej. Spektroskopia optyczna pozwoliła także na monitorowanie procesów mutarotacji w aspekcie lokalnym tj. rozpatrując zmiany zachodzące w obrębie poszczególnych anomerów. Wyniki te stanowią ogromną przewagę nad innymi technikami, które traktowały takie procesy w sposób objętościowy, a przez to bardziej globalny.
- Technikami spektroskopowymi wspierałem także analizę procesów zachodzących w fazie przechłodzonej w układach, w których główną rolę zaczynają odgrywać efekty związane z ograniczoną geometrią (ang. confined geometry) [A23, A34, A48, A62, A65, A73, A86, A102, A108]. Badania te stanowią milowy krok w celu zrozumienia zmian konformacyjnych i ich wpływu na procesy kinetyki, dynamiki, czy też przejścia fazowe. Szereg systematycznych badań pokazał, że gwałtowny wzrost siły oddziaływań między-molekularnych pomiędzy matrycą/podłożem, a molekułami badanego związku, wpływa na znaczące zmiany parametrów kinetycznych tj. temperatura przejścia szklistego czy też temperatura topnienia w odniesieniu do układów litych (objętościowych lub makroskopowych). Interesującym wynikiem było także to, że przesunięcia parametrów kinetycznych czy też procesów krystalizacji związków organicznych oraz nieorganicznych okazały się być silnie skorelowane z wielkością porów w membranach, albo grubością

wytworzonej nanowarstwy na podłożu. W konsekwencji układy czynne farmakologicznie, czy też silnie krystalizujące z fazy amorficznej lub roztworu (np. nifedypina, salol, glibenklamid) wykazywały znacznie dłuższą stabilność chemiczną. Innym niepublikowanym wcześniej wynikiem była analiza procesu kinetyki reakcji polikondensacji. Pokazaliśmy tutaj, że obecność grup hydroksylowych obecnych powoduje zmianę charakteru reakcji z autokatalitycznego na eksponencjalny, a sama reakcja staje się znacznie szybsza i zmienia się wraz z rozmiarem średnicy porów czy grubością warstwy.

Ad. II Badania nowych minerałów

Ważny element w kształtowaniu moich zainteresowań badawczych [A43-44] stanowiły badania własności strukturalnych nowych minerałów (okrytych i opisanych po raz pierwszy przez zespół naukowców pod kierunkiem dr hab. I. Galuskiny, prof. UŚ oraz prof. dr hab. E. Galuskina) [A7, A25-26, A35-37, A56, A67-69, A80-81, A89, A96, A103], a także wpływ podstawień izomorficznych na pole krystaliczne oraz obecność defektów strukturalnych / punktowych. Badania wspierałem technikami spektroskopowymi w tym głównie spektroskopii podczerwieni oraz rozproszenia Ramana. Uczestniczyłem dzięki temu w okryciu i opisie 7 nowych minerałów (patrz poniżej). Najciekawszym elementem wynikającym z tych badań było opracowanie modelu hydratacji powiązanego z tworzeniem tzw. defektów hydrogranatowych w minerałach o strukturze zeolitów [A35-37, A49, A67]. Pokazaliśmy temperaturowy zakres stabilności nowego typu klatratu, a opracowany model pozwolił na wyjaśnienie warunków jakie panowały w ośrodku skalnym w danym okresie geologicznym. Informacje te posłużyły przy tym do opracowania tzw. termometru geologicznego oraz stanowiły element realizowanej pracy doktorskiej pt: „*Badanie własności fizyko-chemicznych rzadkich minerałów Ca z jonami Cl⁻ i F⁻ w pustkach strukturalnych*”. Udowodniliśmy także po raz pierwszy możliwość całkowitego podstawienia jonami chloru, grup hydroksylowych w minerałach, które do tej pory uważane były za fazy silnie uwodnione. Zgłoszenia nowych minerałów i powiązane publikacje:

1. chlorellestadite - nowy minerał o wzorze krystalochemicznym $\text{Ca}_5(\text{SiO}_4)_{1.5}(\text{SO}_4)_{1.5}\text{Cl}$;

- data i miejsce rejestracji - 04.05.2017 w School of Science and Health, University of Western Sydney, Locked Bag 1797.
- zasięg rejestracji - międzynarodowy
- autorstwo - współautor
- *cytowanie*: D. Środek, M. Książek, I. O. Galuskina, J. Kusz, **M. Dulski**, V. Gazeev, E. Galuskin, E. (2017) Chlorellestadite, IMA 2017-013. CNMNC Newsletter No. 37, June 2017, page 741; Mineralogical Magazine, 81, 737–742.

2. qatranaite – nowy minerał o wzorze krystalochemicznym $[\text{Ca}(\text{OH})_2][\text{Zn}_2(\text{OH})_6]$;

- data i miejsce rejestracji - 08.06.2016 w School of Science and Health, University of Western Sydney, Locked Bag 1797.
 - zasięg rejestracji - międzynarodowy
 - autorstwo - współautor
 - *cytowanie*: M. Stasiak, E.V. Galuskin, J. Kusz, I. O. Galuskina, T. Krzykawski, Ye Vapnik, M. Murashko, **M. Dulski**, (2016) Qatranaita, IMA 2016-024. CNMNC Newsletter No. 32, August 2016, page 918; Mineralogical Magazine, 80, 915-922.
3. dargaite - nowy minerał z grupy mayenitów o wzorze krystalochemicznym $\text{BaCa}_{12}(\text{SiO}_4)_4(\text{SO}_4)_2\text{O}_3$;
- data i miejsce rejestracji - 18.08.2015 w School of Science and Health, University of Western Sydney, Locked Bag 1797.
 - zasięg rejestracji - międzynarodowy
 - autorstwo - współautor
 - *cytowanie*: F. Gfeller, I.O. Galuskina, E.V. Galuskin, T. Armbruster, Ye. Vapnik, **M. Dulski**, M. Gardocki, L. Jeżak and M. Murashko, (2015) Dargaite, IMA2015-068. CNMNC Newsletter No. 28, December 2015, page 1860; Mineralogical Magazine, 79, 1859–1864.
4. silicocarnotite – nowy minerał z grupy mayenitów o wzorze krystalochemicznym $\text{Ca}_{12}\text{Al}_{14}\text{O}_{32}[(\text{H}_2\text{O})_4\text{Cl}_2]$;
- data i miejsce rejestracji - 2.03.2014 w School of Science and Health, University of Western Sydney, Locked Bag 1797.
 - zasięg rejestracji - międzynarodowy
 - autorstwo - współautor
 - *cytowanie*: E.V. Galuskin, J. Kusz, F. Gfeller, I.O. Galuskina, Y. Vapnik, **M. Dulski**, P. Dzierżanowski, (2014) Silicocarnotite, IMA 2013-139. CNMNC Newsletter No. 20, June 2014, page 553; Mineralogical Magazine, 78, 549-558.
5. hydroxyledgrewite – nowy minerał o wzorze krystalochemicznym $\text{Ca}_9(\text{SiO}_4)_4(\text{OH})_2$;
- data i miejsce rejestracji - 2.03.2012 w School of Science and Health, University of Western Sydney, Locked Bag 1797.
 - zasięg rejestracji - międzynarodowy
 - autorstwo - współautor
 - *cytowanie*: E.V. Galuskin, T. Armbruster, N.N. Pertsev, I.O. Galuskina, B. Lazic, V.M. Gazeev, R. Włodyka, **M. Dulski**, P. Dzierżanowski, A.E. Zadov, L. Dubrovinsky, (2012) Hydroxyledgrewite, IMA 2011-113. CNMNC Newsletter No. 13, June 2012, page 812; Mineralogical Magazine, 76, 807-817.
6. fluorchegemite – nowy minerał o wzorze krystalochemicznym $\text{Ca}_7(\text{SiO}_4)_3\text{F}_2$
- data i miejsce rejestracji - 2.03.2012 w School of Science and Health, University of Western Sydney, Locked Bag 1797.
 - zasięg rejestracji - międzynarodowy

- autorstwo – współautor

- *cytowanie*: I.O. Galuskina, B. Lazić, E.V. Galuskin, T. Armbruster, V.M. Gazeev R. Wlodyka, A. E. Zadov, **M. Dulski**, P. Dzierzanowski, (2012) Fluorchegemite, IMA 2011- 112. CNMNC Newsletter No. 13, June 2012, page 812; Mineralogical Magazine, 76, 807- 817.

7. kyuygenite – nowy minerał z grupy mayenitów o wzorze krystalochemicznym $\text{Ca}_{12}\text{Al}_{14}\text{O}_{32}[(\text{H}_2\text{O})_4\text{Cl}_2]$;

- data i miejsce rejestracji - 18.09.2012 w School of Science and Health, University of Western Sydney, Locked Bag 1797.

- zasięg rejestracji - międzynarodowy

- autorstwo - współautor

- *cytowanie*: E.V. Galuskin, I.O. Galuskina, J. Kusz, T. Armbruster, R. Bailau, **M. Dulski**, V.M. Gazeev, N.N. Pertsev, A.E. Zadov, P. Dzierzanowski, (2013) Kyuygenite, IMA 2012- 046. CNMNC Newsletter No. 15, February 2013, page 2; Mineralogical Magazine, 77, 1-12.

Ad. IV Badania nad opracowaniem nieorganicznych materiałów luminescencyjnych

Opracowanie metody wytwarzania oraz charakterystyka nieorganicznych materiałów luminescencyjnych stanowiła główny element mojej pracy doktorskiej pt: „*Badanie własności fizyko-chemicznych rzadkich minerałów Ca z jonami Cl^- i F^- w pustkach strukturalnych*”. Skupiłem się na rondorficie i minerałach pokrewnych o podobnej strukturze krystalicznej (domieszkowane lub nie jonami z grupy ziem rzadkich). Prowadziłem systematyczne badania tych materiałów wykorzystując techniki spektroskopowe, w tym spektroskopię fluorescencyjną, UV-Vis, rozproszenie Ramana, spektroskopię podczerwieni oraz XPS. Zanim jednak poświęciłem większą ilość uwagi na poznanie tego elementu musiałem poznać własności strukturalne minerału. W wyniku badań rentgenograficznych potwierdziłem wcześniejsze wyniki pokazujące, że jednostką strukturalną stanowiącą podstawę całego układu jest pentamer magnezowo-krzemianowy $\text{Si}_4\text{MgO}_{16}$ zbudowany z czterech tetraedrów krzemowych $(\text{SiO}_4)^{4-}$ połączonych kationem Mg^{2+} które tworzą nietypowy tetraedr magnezowy $(\text{MgO}_4)^{6-}$. Pole krystaliczne uzupełniają atomy wapnia w pozycjach, tetraedrycznych Ca(I) otoczone przez sześć tlenów oraz poliedrycznych Ca(II), w których atomy wapnia otoczone są przez sześć tlenów i dwa atomy chloru. Cała struktura krystaliczna okazała się być bilansowana poprzez jony Cl^- zajmujące pozycje w tzw. pustkach strukturalnych. W wyniku bardziej szczegółowych prac eksperymentalnych pokazałem, że materiał niedomieszkowany generuje samoistną fluorescencję wynikającą z zaburzenia idealnej struktury krystalicznej (ustalonej na podstawie badań rentgenograficznych) na skutek obecności punktowych defektów strukturalnych, w tym nierównowagowej pozycji chloru w pustkach strukturalnych. Obecność niewielkiej ilości grup hydroksylowych okazała się mieć

znaczący wpływ na rotacje tetraedru krzemowo-tlenowego względem położenia równowagi. Z kolei, niewielkie zawartości glinu oraz żelaza wpływały na zmiany długości wiązań oraz kątów płaskich w obrębie podjednostek krzemowo-tlenowych.

Udało mi się także wytworzyć układ syntetyczny o strukturze oraz składzie chemicznym identycznym jak w przypadku materiału naturalnego. W przypadku układu domieszkowanego pokazałem, że domieszki obsadzają głównie pozycję wapnia w strukturze. Co więcej, obsadzenie pozycji Ca(I) przez domieszkę nie wpływa na zmianę symetrii w obrębie CaO₆, która pozostaje bliska oktaedrycznej. Obsadzenie z kolei pozycji Ca(II) wpływa na znaczną deformację oktaedru CaO₆ prowadząc do silnego skomplikowania poziomów energetycznych g_e i g₂ oraz znaczącego poszerzenie pasma emisyjnego. Pokazałem także, że obsadzenie pozycji Ca(I) lub Ca(II) przez domieszkowany pierwiastek wpływa na pojawienie się dwóch różnych centrów emisyjnych w zakresie światła od zielonego do fioletowego, co czyni go potencjalnym materiałem do produkcji nowego typu diod LED. Wyniki te stanowiły element projektu naukowego PRELUDIUM pt: „*Minerały grupy rondorfitu - Ca₈Mg(SiO₄)₄Cl₂ jako prototypy nowych materiałów technologicznych*”.

Ad. V Badania biologiczne na pograniczu paleontologii i biologii roślin

Poszukiwanie sygnału organicznego [A45], analiza wpływu warunków środowiskowych na procesy mineralizacji w komórkach kostnych [A112] czy też zmian strukturalnych w odniesieniu do paleopatologicznie zmienionych kości [A54] stanowiło jedno z ciekawszych zagadnień, w których techniki spektroskopii podczerwieni oraz rozproszenia Ramana odegrały kluczową rolę. Badaniom tym towarzyszą pomiary realizowane w ramach międzynarodowego projektu ERA-CAPS pt.: "*Rola mechanicznej regulacji lokalnej zmienności w formowaniu powtarzalnych organów roślinnych*" umożliwiające korelację chemiczno-strukturalną z własnościami mikroskopowymi, oraz mechanicznymi w odniesieniu do roślin z rodziny astrowatych [A24, A55] oraz kapustowatych. W badaniach:

- przez wykorzystanie wyżej wymienionych technik pomiarowych potwierdziliśmy obecność pozostałości białkowych w kościach gadów triasowych żyjących ~265 mln lat temu [A45]. Obecność związków zawierających reszty aminokwasowe oraz fragmenty lipidowe skorelowaliśmy z materiałem współcześnie występującego kolagenu kostnego. W naszym rozumieniu uzyskane wyniki stanowią pierwszy krok przy opisie procesów diagenety czy też sposobu zachowania materiału białkowego w kościach kopalnych zwierząt. Warte podkreślenia jest także to, że uzyskane wyniki były przedmiotem burzliwych dyskusji i komentarzy w prasie popularnonaukowej, mediach

społecznościowych oraz radiu i telewizji w Polsce oraz na całym świecie. Poniżej prezentuję odniesienia do stron szeroko komentujących te doniesienia:

<http://naukawpolsce.pap.pl/aktualnosci/news,408892,odkrycie-polskich-paleontologow-otwiera-nowe-drzwi-w-nauce.html>

<http://www.focus.pl/czlowiek/polscy-naukowcy-opisali-naczynia-krwionosne-z-bialkami-sprzed-cwierc-miliarda-lat-13801>

- przeprowadzona charakterystyka strukturalna zmian w obrębie proksymalnej powierzchni stawowej kości udowej gada morskiego *Pistosaurus longaevus* ze środkowego triasu Polski i Niemiec ukazała zachowanie najstarszej martwicy septycznej związanej z zapaleniem stawów w zapisie kopalnym na świecie. Wykazaliśmy także rolę rodników hydroksylowych w patofizjologii septycznego zapalenia stawów, które dodatkowo skonstrastowano z martwicą jałową związaną z zespołem dekompresyjnym [A54].
- technika spektroskopii rozproszenia Ramana była bardzo przydatna w opisie mineralizacji w komórkach kostnych (osteocytach), które na przestrzeni setek milionów lat była wywołana lokalnymi warunkami mikrośrodowiskowymi. Pokazaliśmy, że mineralizacja sprzyjała wytrącaniu się różnorodnych faz żelaza od mało stabilnych maghemitu, magnetytu aż po hematyt lub getyt. Niestety opisane procesy spowodowały, że w osteocytach nie zachował się sygnał wskazujący na obecność cząsteczek organicznych, co powiązaliśmy z faktem, że pierwotne komórki kostne musiały ulec autolizie lub innym procesom degradacji w procesach przed mineralizacją lub w jej trakcie [A112].
- spektroskopia rozproszona Ramana posłużyła także do opisu mechanizmu funkcjonowania i zmian zachowania blaszki liściowej roślin z rodzaju astrowatych w zależności od wpływu środowiska (uwodnienie, nasłonecznienie) [A24], a także opisu krok po kroku preparatyki próbek biologicznych pod konkretne zastosowanie w ujęciu analiz chemiczno-strukturalnych [A55]. Powiązaliśmy własności mechaniczne z typem komórek oraz rozmieszczeniem polimerów organicznych (pektyn, celuloz, hemiceluloz, kalozy, ligniny) w poszczególnych fragmentach ściany komórkowej. Pokazaliśmy, że stopień lignifikacji zależy od rodzaju komórek (komórki grubościenne oraz cienkościenne), a ułożenie mikrofibryl celulozowych uwarunkowane jest układem przestrzennym komórek w przekroju całej blaszki liściowej. Wszystkie te elementy determinują zachowanie blaszki liściowej i wymuszają jej nietypowe zachowanie w zależności od dostępności wody czy nasłonecznienia.

Ad. VI Opracowanie nowoczesnych, wielofunkcyjnych materiałów inżynierskich

Opracowanie nowoczesnych mezoporowatych układów bazujących na różnych rodzajach krzemionki stanowi jednej z bardziej interesujących elementów z zakresu inżynierii materiałowej. Badania prowadzone były w ramach współpracy z IFJ PAN w Krakowie i umożliwiły opracowanie materiałów hybrydowych w formie proszku oraz w postaci cienkich filmów o grubości nie przekraczającej 100 nm. Mezoporowate układy krzemionkowe przygotowane w postaci proszku oparto o krzemionkę SBA-15 o średnicy porów 5 i/lub 10 nm pozwalającą na funkcjonalizację jonami Ag, Cu, Ni [A53, A92, A93], sferyczne nanocząstki krzemionki funkcjonalizowane jonami Mn₁₂-st [A82, A94-95, A101], podczas gdy cienkie filmy o grubości nieprzekraczającej 100 nm zbudowano w oparciu o krzemionkę typu MCM41 z heksagonalnie rozłożonymi w przestrzeni kanałami o średnicy 4 nm, które dodatkowo aktywowane zostały pojedynczymi jonami miedzi [A39, A52, A77, A84-85]. Użyte w badaniach spektroskopia podczerwieni oraz rozproszenia Ramana pomogły określić wpływ funkcjonalizacji na własności strukturalne matrycy krzemionkowej i monitorować wpływ stężenia jonów na stopień uporządkowania sieci krzemionkowej oraz zmiany konformacyjne w obrębie grup kotwiczących. Podobne pomiary poprowadziłem dla układów wygrzewanych monitorując ich stabilność struktury, a także określając wpływ wygrzewania na sposób zachowania grup kotwiczących i ich możliwą rekrytalizację zachodzącą pod wpływem zmiennych warunków temperaturowych. Okazało się, że przygotowane materiały przez wzbogacone o atomy Ag lub Cu uzyskują bardzo dobre własności bakteriostatyczne, natomiast domieszkowanie jonami Ni sprawia, że takie hybrydowe systemy nabywają własności optycznych korzystnych z punktu widzenia zastosowań w optyce nieliniowej. Podobne cechy jak układy proszkowe wykazują także cienkie filmy domieszkowane jonami Ag i Cu. Funkcjonalizacja powierzchni krzemionki jonami Mn₁₂-st powoduje, że układy nabywają własności magnetycznych, a same układy stają się tzw. magnesami molekularnymi. Pokazaliśmy także, że w wyniku wygrzewania, mezoporowate i sfunkcjonalizowane jonami Ag, Ni układy nabywają cech tzw. reaktorów molekularnych, w których dochodzi do rekrytalizacji struktur nieuporządkowanych strukturalnie o rozmiarach nie przekraczających średnicy pora, czyli 5 nm.

.....

(podpis wnioskodawcy)