

Prof. dr hab. Grzegorz Sulka
Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii
Zespół Elektrochemii
ul. Gronostajowa 2
30-387 Kraków
Tel: 12 686 25 15
e-mail: sulka@chemia.uj.edu.pl



**Uniwersytet Jagielloński
w Krakowie**

OCENA

pracy doktorskiej Pani mgr inż. Anny Majchrowicz

Praca doktorska Pani mgr inż. Anny Majchrowicz zatytułowana „*Wytwarzanie i charakterystyka warstw tlenkowych o strukturze nanorurkowej na stopach tytanu β do zastosowań biomedycznych*” powstała w Zakładzie Projektowania Materiałów na Wydziale Inżynierii Materiałowej Politechniki Warszawskiej pod kierunkiem prof. dr. hab. inż. Małgorzaty Lewandowskiej.

Zakres tematyczny pracy

Tematyka pracy doktorskiej Pani mgr inż. Anny Majchrowicz dotyczy ważnych zagadnień związanych z opracowaniem nowych biokompatybilnych materiałów metalicznych wykazujących doskonałą równowagę między właściwościami biofunkcjonalnymi, mechanicznymi i fizykochemicznymi, dzięki czemu z powodzeniem mogą być zastosowane jako implanty wszczepienne. Jest to o tyle istotne, że wraz z rozwojem cywilizacji i poprawą jakości życia w wielu rejonach świata, wydłużeniu uległo ludzkie życie. Niestety wraz ze starzejącą się populacją, ludzkość jest narażona na coraz większą liczbę chorób cywilizacyjnych, zwłaszcza tych związanych z podeszłym wiekiem. Jedną z takich chorób jest osteoporoza, choroba związana z utratą gęstości kości i jej specyficznej mikrostruktury, która powoduje m.in. zwiększoną podatność kości na złamanie. To z kolei rodzi zapotrzebowanie na implanty kostne, a właściwie opracowanie nowych,

wielofunkcyjnych materiałów i metod ich wytwarzania.

Jednym z najbardziej rozpowszechnionych materiałów stosowanych w implantach kostnych i stomatologicznych jest tytan, a właściwie jego stopy, z uwagi na ich wysoką biokompatybilność, wytrzymałość mechaniczną i odporność na korozję w środowisku płynów fizjologicznych. Biokompatybilność implantów na bazie tytanu wynika głównie z dużej odporności tytanu na korozję oraz obecności na jego powierzchni trwałej i stosunkowo niereaktywnej warstwy tlenku tytanu(IV), która sprzyja procesowi osteointegracji pomiędzy biomateriałem a otaczającą go tkanką. Ostatnie dziesięciolecie to okres intensywnych poszukiwań nowej generacji stopów tytanu, nie zawierających glinu i wanadu oraz posiadających właściwości mechaniczne zbliżone do tkanki kostnej, jako materiałów do potencjalnych zastosowań w implantologii. Niezaprzeczalną zaletą stopów tytanu jest łatwa możliwość modyfikacji ich powierzchni poprzez wytworzenie warstwy tlenku tytanu(IV) w formie nanoporów lub nanorurek w prostych procesach anodowego utleniania.

W świetle rozwijających się współcześnie badań nad nowoczesnymi materiałami wszczepialnymi na bazie stopów Ti, podjęcie tematyki rozprawy doktorskiej jest jak najbardziej uzasadnione, a przygotowana przez Panią mgr inż. Annę Majchrowicz praca jest interesującą propozycją sytuującą się w najnowszych nurtach badawczych inżynierii materiałowej. Doktorantka za cel badawczy pracy postawiła sobie wytworzenie warstwy tlenku tytanu(IV) w formie nanorurek na powierzchni stopów tytanu o dużej zawartości fazy β i obniżonym module Younga, a mianowicie Ti-24Nb-4Zr-8Sn i Ti-13Nb-13Zr, w procesie ich anodowego utleniania. Zadanie to z pozoru może wydawać się dość banalnym (zwłaszcza jeśli rozpatruje się jako substrat stosunkowo czysty tytan), jednak należy zwrócić uwagę, że dodatki stopowe mocno modyfikują procesy anodyzacji metali, a przez to wpływają na morfologię anodowej warstwy powierzchniowej determinując także ich właściwości fizykochemiczne. Istotnym celem badawczym było także określenie bioaktywności wytworzonych materiałów, w szczególności ocena niepożądanego uwalniania jonów metali z materiałów, zwilżalności powierzchni oraz adhezji komórek linii MC3T3-1 będących komórkami prekursorowymi osteoblastów.

Analiza formalna i merytoryczna rozprawy

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Anny Majchrowicz ma układ klasyczny, zaczyna się od krótkiego przeglądu literaturowego, po którym następuje sformułowanie celu i zakresu pracy oraz przedstawienie części doświadczalnej, a kończy się posumowaniem i spisem cytowanej

literatury.

W części literaturowej Doktorantka starała się przybliżyć aspekty związane z właściwościami fizykochemicznymi tytanu i jego stopów jako materiałów do zastosowań biomedycznych. W tym kontekście przedstawiała ich podział ze względu na strukturę fazową oraz omówiła stopy jednofazowe β i dwufazowe z dużą zawartością fazy β , skupiając się zwłaszcza na tych, które wykorzystywane były przez nią w badaniach. Zwróciła uwagę na tworzenie się warstwy tlenku na ich powierzchni i jej rolę w procesach biologicznych, w tym jej wpływ na biokompatybilność materiału i osteointegrację w obrębie styku implantu z kością. Doktorantka scharakteryzowała procesy biologiczne zachodzące na powierzchni biomateriału, poczynając od tworzenia biofilmu, adhezji komórek, zapobieganiu zużyciu ściernemu implantu i uzyskaniu lepszej wytrzymałości mechanicznej połączenia, a skończywszy na odporności na korozję. W dalszej części Doktorantka omówiła szczegółowo proces modyfikacji powierzchni tytanu i jego stopów metodą utleniania elektrochemicznego. W tym aspekcie przedstawiła reakcje zachodzące w trakcie narastania warstwy tlenkowej oraz czynniki wpływające na morfologię tworzącej się warstwy, w tym te uwzględniające zarówno substrat i jego uprzednie przygotowanie (wielkość ziaren, orientacja krystalograficzna, skład fazowy i obecność pierwiastków stopowych) jak i sam proces anodyzacji (typ i skład elektrolitu, stosowane napięcie anodyzacji, czas trwania procesu, temperatura elektrolitu itp.). Część literaturową pracy kończą rozdziały, w których zamieszczony został przegląd literaturowy dotyczący warstw tlenkowych w formie nanorurek wytworzonych na stosowanych w pracy doktorskiej stopach tytanowych oraz charakterystyka właściwości biologicznych nanorurek tlenku tytanu(IV). W tym ostatnim aspekcie Doktorantka omówiła szczegółowo doniesienia literaturowe dotyczące zwilżalności powierzchni nanorurek i odpowiedzi komórkowej w zależności od ich średnicy i struktury krystalograficznej oraz możliwość tworzenia hydroksyapatytu w rozworach symulujących płyny ustrojowe. Wprawdzie część literaturowa została przygotowana stosunkowo harmonijnie, jednak brak omówienia i szerszej dyskusji dostępnych w literaturze mechanizmów wzrostu warstw tlenkowych w formie nanoporów/nanorurek pozostawia pewien niedosyt. Zwieńczeniem części literaturowej było podsumowanie i przedstawienie celu i zakresu pracy doktorskiej.

W rozdziale pracy obejmującej opis metodyki pomiarowej Doktorantka krótko przedstawiła sposób przygotowania materiałów do badań, układ do anodyzacji, warunki syntezy nanorurek tlenku tytanu(IV) w stosowanych elektrolitach na bazie propano-1,2,3-triolu, formamidu i etano-

1,2-diolu oraz omówiła preparatykę i metody stosowane do charakterystyki fizykochemicznej otrzymanych materiałów (np.: skaningową mikroskopię elektronową, transmisyjną mikroskopię elektronową, spektroskopię fotoelektronów i elektronów Augera, dyfraktometrię rentgenowską) oraz oceny ich aktywności biologicznej (pomiar kąta zwilżania, adhezja komórek).

Cześć doświadczalna pracy poświęcona omówieniu wyników uzyskanych w trakcie badań składa się z kilku podrozdziałów, a ich struktura odzwierciedla poszczególne etapy prowadzenia prac badawczych.

Pierwsza część badań koncentrowała się na syntezie nanorurek na stopie jednofazowym Ti-24Nb-4Zr-8Sn (rozdział 8.1). Doktorantka przebadła wpływ warunków procesu anodowego utleniania, takich jak: typ i skład chemiczny elektrolitu, napięcie i czas anodyzacji, na morfologię otrzymywanych nanorurek w szczególności ich średnicę. Badania te pozwoliły jej wybrać optymalne warunki procesu anodyzacji (elektrolit na bazie etano-1,2-diolu z dodatkiem 10% NH_4F oraz 3% H_2O , czas 120 min, napięcie 20 V), które prowadziły do otrzymania uporządkowanych i stabilnych mechanicznie układów nanorurek składających się z mieszaniny tlenków stechiometrycznych (TiO_2 , Nb_2O_5 , ZrO_2 i SnO_2) pochodzących od składników stopowych substratu. W dalszym toku badań Pani mgr inż. Anna Majchrowicz zbadła zwilżalność warstw tlenkowych otrzymanych po procesie anodyzacji i porównała ją z materiałem wyjściowym.

W kolejnej części prac badawczych (rozdział 8.2) Doktorantka skupiła się na porównaniu morfologii i właściwości nanorurek uzyskanych na stosunkowo czystym tytanie (99,5%), stopie jednofazowym (Ti-24Nb-4Zr-8Sn) i stopie dwufazowym (Ti-13Nb-13Zr) w uprzednio zoptymalizowanych warunkach. Stwierdziła, że stopień uporządkowania nanorurek na powierzchni substratów oraz ich średnica i wysokość (grubość warstwy tlenkowej) silnie zależą od stosowanego podłoża, a powierzchnia tlenków jest superhydrofilowa, zwłaszcza ta otrzymana na stopach.

W części doświadczalnej poświęconej badaniu wpływu mikrostruktury substratu na wzrost i morfologię warstwy tlenkowej (rozdział 8.3), Doktorantka przeprowadziła anodyzacje obu badanych stopów uprzednio wygrzewanych w 3 różnych temperaturach (400, 650 i 700 °C). Stwierdziła, że morfologia warstw tlenkowych (między innymi uporządkowanie nanorurek, ich wysokość i średnica) silnie zależy od mikrostruktury podłoża (co jest konsekwencją stosowania różnych temperatur wygrzewania i zachodzenia preferencyjnej segregacji składników stopowych), w szczególności od kształtu i wielkości wydzieleni fazy α . Wykazała także, że większa grubość warstwy tlenkowej zasadniczo koreluje się z wyższą zawartością fazy β w stopach. Ciekawą

obserwacją było uzyskanie krystalicznej lub częściowo krystalicznej postaci TiO_2 po anodyzacji stopu dwufazowego (Ti-13Nb-13Zr) wygrzewanego w wyższych temperaturach w przeciwieństwie do niewygrzewanego substratu lub stopu jednofazowego gdzie obserwowano tylko amorficzną warstwę tlenków.

W dalszych etapach badań Doktorantka zrealizowała prace badawcze mające na celu uzyskanie nanorurek o wysokim stopniu uporządkowania na obu typach stopów. W tym celu przeprowadziła anodyzacje dwustopniowe i określiła wpływ drugiego stopnia anodyzacji na poprawę morfologii tworzonych warstw tlenkowych. Uzyskane tą metodą nanorurki tlenkowe wytworzone na powierzchni stopów zostały także poddane ocenie aktywności biologicznej (rozdział 8.5). Stwierdzono hydrofilowy charakter nanostrukturalnej powierzchni tlenków, przy czym kąt zwilżania na obu stopach po dwóch stopniach anodyzacji równy był zero, a po dodatkowym wygrzewaniu w temperaturze $650\text{ }^\circ\text{C}$ przez 3 h nieznacznie wzrósł do wartości około $16 - 18^\circ$. W część badań poświęconych roztwarzaniu warstw tlenkowych w roztworze NaCl i uwalnianiu poszczególnych jonów metali wchodzących w skład warstwy anodowej, Doktorantka zauważyła, że procesy te szybciej zachodziły na stopie dwufazowym. W ostatnim etapie badań oceniła wstępnie adhezję i proliferację (po 2 dniach hodowli) komórek linii MC3T3-1 na anodowych warstwach w formie nanorurek uzyskanych bezpośrednio po anodyzacji i tych dodatkowo wygrzewanych w temperaturze $650\text{ }^\circ\text{C}$. Zauważyła, że wytworzone podłoża sprzyjają adhezji i proliferacji komórek w porównaniu z substratami stopowymi niepoddawany anodyzacji.

Cześć doświadczalną pracy zamyka rozdział podsumowujący i przedstawiający zwięźle wnioski z przeprowadzonych prac badawczych oraz spis cytowanej literatury naukowej.

Uwagi dyskusyjne

Jeśli chodzi o stronę edytorską, to stwierdzam, że praca doktorska Pani mgr inż. Anny Majchrowicz napisana jest starannie, choć oczywiście jak w każdym obszernym opracowaniu, także i tu pojawiają się drobne usterki językowe i błędy typograficzne. Oczywiście nie zamierzam wymieniać szczegółowo wszystkich tych drobnych uchybień, bo w żadnym wypadku nie umniejszają one wartości tej pracy. Wspomnę jedynie o stosowaniu nazw zwyczajowych związków chemicznych (glikol etylenowy, gliceryna) lub nieidentyfikujących je jednoznacznie (np. kwas fosforowy na str. 35) lub brakujących indeksach dolnych we wzorach związków chemicznych w spisie cytowanej literatury. Niemniej jednak w kwestii dotyczącej uwag merytorycznych

i edytorskich chciałbym poruszyć kilka spraw, które z pewnością mogą być wyjaśnione w trakcie publicznej obrony pracy.

1. Na stronie 26 Autorka wskazuje V. Zwillinga i jego współpracowników (ref. 48) jako tych, którzy po raz pierwszy otrzymali porowate warstwy na Ti w procesie anodyzacji. Niestety ta opinia jest dość powszechnie powielana w literaturze i nie uwzględnia wcześniejszej pracy opublikowanej przez M. Assefpour-Dezfuly (M. Assefpour-Dezfuly, C. Vlachos, E.H. Andrews, J. Mater. Sci. 19 (1984) 3626-3639), w której można znaleźć charakterystykę porowatych warstw anodowych na Ti uzyskanych po anodyzacji w kwasie chromowym(VI). Co więcej, już w 1980 roku W.L. Baun (W.L. Baun, Surf. Technol., 11 (1980) 421-430) opublikował syntezę porowatych warstwy anodowych na stopie Ti-6Al-4V w 0.1 M roztworze kwasu fosforowego(V).
2. Cztery pierwsze równania reakcji przedstawione na stronie 27 opisują procesy zachodzące w trakcie anodyzacji na anodzie i katodzie. Równania te są zapisane w formie równań równowagowych, ale procesy zachodzące w trakcie anodyzacji takowymi nie są. Procesy te są wymuszone przyłożonym napięciem i dlatego strzałki w tych równaniach powinny być skierowane tylko w jedną stronę, w prawo. Ponadto w równaniu 4 błędnie zapisano wartościowość jonu tytanu, a z kolei równanie 5 jest w ogóle błędnie zapisane.
3. Rys. 7 zamieszczony na str. 29 przedstawia zależność gęstości prądu od czasu rejestrowaną w trakcie tworzenia się anodowej warstwy zwartej i porowatej na powierzchni metalu. W tekście dyskutującym etap II tworzenia się warstw porowatych, znajdują pewną niekonsekwencje, a mianowicie stosowane jest sformułowanie „warstwy nanorurkowe”. W przypadku niektórych metali lub określonych warunków prowadzenia procesu anodyzacji wykres przedstawiony na rys. 7 jest zbieżny z rzeczywistością i dlatego obserwuje się „warstwy porowate” po zakończeniu procesu. Natomiast w przypadku warunków stosowanych przez Doktorantkę tak nie jest, a obserwowana morfologia warstwy anodowej w formie nanorurek jest wynikiem dodatkowych procesów. Byłbym wdzięczny za podjęcie dyskusji i wyjaśnienie tych rozbieżności.
4. Na str. 39 Doktorantka podaje wartości liczbowe dotyczące szybkości trawienia chemicznego Nb₂O₅ i TiO₂, ale nie podaje źródła tych informacji.
5. Czas pierwszego stopnia anodyzacji został ustalony jako 1 s (str. 50). Ciekawi mnie przyczyna zastosowania tak krótkiego czasu anodyzacji w pierwszym stopniu. Moim zdaniem

jest on zbyt krótki, aby utworzyła się porowata warstwa tlenku i aby powstająca po tym stopniu tekstura powierzchni determinowała uporządkowanie porów w drugim stopniu anodowego utleniania.

6. Na str. 78 różnice w wartości kąta zwilżania są tłumaczone między innym tym, że *„nanorurki na stopach są znacznie wyższe niż nanorurki na tytanie, co zwiększa powierzchnię właściwą warstwy”*. Moim zdaniem nie jest to najtrafniejsze tłumaczenie, a głównym czynnikiem wpływającym na zwilżalność jest różnica w chropowatości powierzchni i topografii. Grubość warstwy (rzędu mikrometrów, czyli w skali prezentowanej w pracy doktorskiej) nie ma zasadniczego znaczenia, jeśli pod uwagę bierze się zjawiska zachodzące na jej powierzchni.
7. W tekście pracy znalazłem kilka niezbyt szczęśliwych sformułowaniach np.:
 - a) „tlenkowe modyfikacje nanorurkowe” (str. 12) lepiej chyba zastąpić innym sformułowaniem np. „warstwą tlenku w formie nanorurek”;
 - b) „sól fluoru” i (str. 30) zastąpiłbym raczej „sól fluorkowa” lub „sól zawierająca jony F⁻”. Podobnie „jony fluoru” (str. 30) zastąpiłbym poprawnym nazewnictwem „jony fluorkowe”, które zresztą jest stosowane przez Doktorantkę w dalszej części pracy (np. str. 32, 33);
 - c) „roztwory zawierające fluor” (str. 76). Fluor w warunkach pokojowych jest gazem, więc to sformułowanie może sugerować wysycenie roztworów gazowym fluorem, a raczej nie to Doktorantka miała na myśli;
 - d) „platynowa elektroda odniesienia stanowi katodę” (str. 26 i 48). To sformułowanie może wprowadzać w błąd, dlatego, że „elektroda odniesienia” (inaczej referencyjna) stosowana jest w układzie trójelektrodowym, w którym potencjał elektrody wskaźnikowej (pracującej) jest mierzony względem (w odniesieniu) do elektrody referencyjnej. W układzie dwuelektrodowym stosujemy nazewnictwo katoda i anoda, a mierzymy lub przykładamy różnice potencjałów pomiędzy nimi (napięcie);
 - e) „warstwa barierowa” (str. 28, 31, 33 i dalej) lepiej może to zastąpić „warstwą zaporową”, aby uniknąć stosowania kalki angielskiej;
 - f) „w postaci pustek w stopie” (str. 78) lepiej chyba zastąpić „w postaci pustych przestrzeni w stopie”.

8. Mam także drobne uwagi do niepełnych podpisów zamieszczonych pod rysunkami 8, 9 i 11. W podpisie pod tymi rysunkami nie odnalazłem informacji o warunkach (skład elektrolitu, czas anodyzacji itp.) w jakich uzyskano te zależności i dane pomiarowe.

Pomimo powyższych uwag mających charakter dyskusyjny, chciałbym wyrazić moje uznanie dla wkładu pracy Pani mgr inż. Anny Majchrowskiej w badania nad nowymi biomateriałami, podkreślić praktyczne znaczenie uzyskanych wyników i ocenić recenzowaną pracę doktorską bardzo pozytywnie.

Wnioski końcowe

Praca doktorska Pani mgr inż. Anny Majchrowicz dotyczy aktualnego i ważnego zagadnienia z zakresu modyfikacji powierzchni stopów tytanu, poprzez wytworzenie nanostrukturalnej warstwy tlenku tytanu(IV) na ich powierzchni, w celu zastosowania ich jako potencjalnych materiałów na implanty kostne. Doktorantka wykazała się znajomością doniesień literaturowych z zakresu przedmiotu badań oraz zaplanowała i przeprowadziła w sposób kompetentny doświadczenia stosując komplementarne techniki badawcze. W wyniku tego uzyskała i scharakteryzowała uzyskane materiały o ciekawych właściwościach użytecznych z punktu widzenia możliwości ich zastosowania w implantologii. Większość wyników uzyskanych w ramach pracy doktorskiej została już opublikowana w specjalistycznych czasopismach naukowych. Warto także podkreślić, że część badań wchodzących w zakres pracy doktorskiej sfinansowana została przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu Preludium, którego kierownikiem była Doktorantka.

Biorąc pod uwagę powyższe uważam, że spełnione są warunki ustawy o stopniach i tytułach naukowych z dnia 14 marca 2003r. (Dz. Ustaw z dnia 16 kwietnia 2003 r. z późniejszymi zmianami) i wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Inżynieria Materiałowa Politechniki Warszawskiej o dopuszczenie Pani mgr inż. Anny Majchrowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kraków, 24 luty 2022 roku

