

Recenzja

pracy doktorskiej mgr Agnieszki Tąta

nt. „Ocena stanu fizykochemicznego powierzchni metali metodą badania adsorpcji na granicy metal/ciecz z zastosowaniem techniki SERS”

Promotor: Prof. dr hab. Edyta Proniewicz

Temat rozprawy doktorskiej Pani mgr Agnieszki Tąty dotyczy istotnych zagadnień z pogranicza nauki o materiałach, chemii i medycyny. Mianowicie Doktorantka zajmuje się oddziaływaniem pomiędzy polipeptydem jakim jest bombezyna a powierzchnią różnych metali oraz tlenków metali. Bombezyna jest niezbędnym związkiem występującym w organizmie ludzkim, który reguluje wydzielanie wewnętrzne. Z drugiej jednak strony ten ważny neuroprzekaźnik może także stymulować rozwój komórek rakowych np. raka prostaty, żołądka, czy nerwiaka zarodkowego. Z kolei metale takie jak stal nierdzewna, złoto, platyna czy tytan znajdują coraz większe zastosowanie w medycynie czy to na implanty stawowe, zębowe, naczyniowe czy też w postaci nanocząsteczek na nośniki leków. Stąd oddziaływanie pomiędzy powierzchnią biomateriałów a środowiskiem fizjologicznym jest zagadnieniem aktualnym i ważnym zarówno z punktu widzenia biotolerancji implantów a także ich wpływu na właściwości składników komórek, tkanek, czy płynów fizjologicznych organizmów żywych. Z powyższych względów uważam więc wybór tematu rozprawy doktorskiej za trafny i uzasadniony.

Praca ma charakter klasyczny, składa się z sześciu rozdziałów, po których następuje obszerna lista pozycji bibliograficznych. W części literaturowej Autorka omawia materiały, które zastosowała w swoich badaniach w tym również budowę bombezyny, jej występowanie i działanie w organizmie ludzkim. W tej części przedstawione zostały również podstawy głównej metody zastosowanej w badaniach, jaką była spektroskopia Ramana i jej odmiana SERS to jest powierzchniowo wzmocniona

spektrometria Ramana. Metoda Ramana należy do metod spektroskopowych, które nadają się do badań próbek biologicznych. W szczególności spektroskopie oscylacyjne, jaką jest spektroskopia Ramana a także spektroskopia w podczerwieni pozwalają badać nawet bardzo złożone molekuly takie jak białka, kwasy nukleinowe, cukry, dzięki temu, że substancje te dają charakterystyczne dla siebie widma, które zawierają informację o ich budowie. Technika SERS umożliwia badanie procesu adsorpcji cząsteczek na powierzchni metalu. Porównanie widma cząsteczki zaadsorbowanej na powierzchni metalu do jej klasycznego widma ramanowskiego może wskazać na zmianę np. symetrii cząsteczki a co za tym idzie na sposób jej związania z powierzchnią podłoża. W tej części pracy Doktorantka omawia mechanizmy powstawania widma Ramana a także mechanizmy wzmocnienia widma Ramana cząstek zaadsorbowanych na powierzchni metalu. Podaje, że silny efekt wzmocnienia ma miejsce tylko na niektórych metalach (takich jak metale szlachetne, ale także metale przejściowe), czy półprzewodnikach (np. TiO_2) o specjalnie przygotowanej powierzchni. Doktorantka charakteryzuje też inne czynniki, od których zależy efekt wzmocnienia. Wreszcie, na końcu tego rozdziału Autorka omawia zjawisko adsorpcji na granicy faz cało stałe/roztwór ciekły.

Na podstawie dokonanego przeglądu literatury Doktorantka stawia sobie 4 cele pracy jakimi są otrzymanie materiałów badań, zbadanie zjawiska adsorpcji na granicy powierzchni tych materiałów i roztworów wodnych, zbadanie wpływu adsorbantu na procesy korozyjne zachodzące na powierzchni wybranych metali i wreszcie zastosowanie techniki SERS do badań in vivo korozyjnych procesów metali stosowanych na implanty.

W części eksperymentalnej Autorka omawia materiały badań, w których adsorbentem jest bombezyna i jej sześć fragmentów a powierzchniami, na których są one adsorbowane, są nanocząstki złota, platyny, tlenku tytanu o strukturze anatazu, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ oraz płytki tytanu i α -żelaza. Metodami badawczymi jakimi posłużyła się Doktorantka były skaningowa mikroskopia elektronowa, rentgenowska analiza fazowa, spektroskopia elektronowa UV-VIS, spektroskopia podczerwieni FT-IR-ART oraz spektroskopia Ramana i powierzchniowo wzmocniony efekt Ramana.

Najważniejszym i najobszerniejszym rozdziałem w pracy była analiza otrzymanych wyników badań i ich dyskusja. Na podstawie widm rentgenowskich Autorka określa strukturę badanych materiałów, stwierdza, że nie są one zanieczyszczone innymi fazami a w przypadku nanocząsteczek z szerokości połówkowych linii dyfrakcyjnych szacuje ich średnie rozmiary. Badania skaningowym mikroskopem elektronowym pozwalają Doktorantce stwierdzić obecność adsorbantu na powierzchni metalicznych płytek. Obecność tak jest potwierdzona zarówno poprzez obserwacje powierzchni jak i przez badania EDS. Metodę SEM wykorzystano także do określenia morfologii i wielkości nanocząstek.

Następnie Doktorantka prezentuje wyniki badań powierzchni nanocząstek platyny, tlenku tytanu i tlenku żelaza czystych i po zmieszaniu z roztworem bombezyny metodą UV-VIS, co pozwala Jej stwierdzić, że adsorpcja bombezyny na powierzchni nanocząstek jest skuteczna. Świadczy o tym przesunięcie maksimum absorpcji w kierunku dłuższych fal. Badania powierzchni nanocząstek metodami FT-IR-ART oraz spektroskopii Ramana potwierdziły wyniki badań strukturalnych metodą rentgenowskiej analizy fazowej.

Wreszcie, Pani mgr Agnieszka Tąta prezentuje serię wyników badań powierzchni wszystkich próbek z osadzonymi na nich bombezyną i różnymi jej fragmentami metodą SERS. Uzyskane widma powierzchniowo wzmocnionej spektroskopii Ramana pozwoliły Doktorantce na stworzenie modeli geometrii poszczególnych związków zaadsorbowanych na danej powierzchni i określenie w jaki sposób te związki są powiązane z powierzchnią. Stwierdzono między innymi, że w wyniku adsorpcji na badanych powierzchniach bombezyna zmienia swą drugorzędową strukturę z nieuporządkowanej na uporządkowaną. Ustalono również, że adsorpcja badanych związków na powierzchni żelaza i tytanu nie powoduje korozji tych powierzchni.

Przeprowadzona powyżej charakterystyka rozprawy doktorskiej pozwala stwierdzić, że Doktorantka wykazała się dobrą znajomością metod badawczych służących do badań procesów zachodzących na granicy fazy ciała stałe/ciecz a w szczególności metody spektroskopii Ramana i SERS i stosuje je z powodzeniem do badań oddziaływania związków występujących w organizmie żywym a powierzchnią ciała obcego wprowadzonego do organizmu.

Szczegółowa analiza recenzowanej pracy doktorskiej pozwala na wysunięcie szeregu pytań czy też zastrzeżeń. Pierwszym, co nasuwa się podczas lektury jest fakt, że praca napisana jest wyjątkowo niedbale, zawiera wiele literówek, zdań nie mających orzeczenia a także w wielu miejscach stosowana jest niewłaściwa terminologia, wzięta z bezpośredniego tłumaczenia z języka angielskiego. Przykładowo: nie ma "sześciennego układu krystalograficznego", jest "układ regularny", a więc nie można pisać o strukturze sześciennej ale o strukturze regularnej. Termin "szerokość w połowie wysokości pasma" ma swój odpowiednik w języku polskim, jest to "szerokość połówkowa" i można by dodać wiele innych przykładów. Nie są to być może poważne błędy, ale ich mnogość zwyczajnie utrudnia czytanie a czasem i zrozumienie tego, co Autorka chciała powiedzieć. Ponadto, w pracy występuje szereg błędów merytorycznych, które choć nie wpływają na końcową jakość wyników i ich analizę, nie powinny się znaleźć w takiej rozprawie jak praca doktorska. Przykładowo:

1. Odmiany polimorficzne tlenku tytanu jakimi są rutil i anataz są opisane jako krystalizujące w układach heksagonalnym (rutil) i regularny (anataz), podczas gdy zarówno rutil jak i anataz mają struktury z układu tetragonalnego.

2. Hematyt nie ma struktury romboedrycznej a heksagonalną. Ponadto, tlenek Fe_3O_4 nie może się zaliczać do form tlenku Fe_2O_3 , nawet jeśli te ostatnie są w postaci nanocząstek!

3. Na rysunkach przedstawiających widma UV-VIS powinna na skali być długość fali a nie liczba falowa, z kolei na widmach FT-IR powinna być liczba falowa a nie częstość.

4. Podobnie na widmach Ramana nie używa się częstości a liczby falowej, bądź przesunięcia Ramana.

5. Linie na widmach rentgenowskich opisane są jako płaszczyzny krystalograficzne. Nie jest to prawda, są to refleksy dyfrakcyjne o odpowiednim rzędzie odbicia i opisuje się je bez nawiasów okrągłych, które są zarezerwowane dla rodziny płaszczyzn krystalograficznych.

6. Określono wielkości nanocząstek, np. 19 nm - nasuwa się pytanie jaka jest niepewność pomiarowa? Czy była w ogóle wyznaczana?

7. Tytan jest metalem, który ulega szybkiej samopasywacji. Zawsze na jego powierzchni znajduje się nanometryczna warstwa tlenku tytanu. Czy powierzchnia płytki została w odpowiedni sposób przygotowana przed badaniami SERS tak, aby uniknąć powstania warstwy tlenkowej? Jeśli nie, to jak wytłumaczyć różnice w adsorpcji polipeptydu na powierzchni tlenku tytanu i płytki tytanowej? Autorka twierdzi, że różnice te świadczą o braku korozji, ale w obu przypadkach mamy do czynienia z adsorpcją na tlenku tytanu.

Jednakże, w mojej opinii najpoważniejszym uchybieniem pracy jest brak jasno postawionego problemu badawczego, który Doktorantka chce rozwiązać. Prowadzenie badań dla samych badań nie jest poprawnym celem. W jednym z celów pracy Autorka sugeruje, że chce sprawdzić czy metoda SERS nadaje się do badań in vivo korozji metali stosowanych na implanty. Jednak dwa z materiałów, które wybiera do badań nie są stosowane w implantologii. Są to $\alpha\text{-Fe}$ i Fe_2O_3 . Związek prowadzonych badań z materiałami używanymi na implanty jest w podsumowaniu pracy zawarty w jednym, dość niejasnym zdaniu, które mówi, że: "istnieje potencjalna aplikacja medyczna techniki SERS do ustalenia czy w pobliżu wszczepu znajdują się warstwa TiO_2 , Fe_2O_3 , Fe, Ti, Au lub Pt". Co oznacza sformułowanie "w pobliżu wszczepu"? W jakiej odległości od wszczepu??? Czy po to prowadzono tak

wnikliwe badania procesu adsorpcji bombezyny i jej fragmentów na różnych powierzchniach, aby je podsumować tak enigmatycznym stwierdzeniem?

Pomimo powyższych zastrzeżeń uważam, że praca jest bardzo wartościowa a Autorka właściwie dobiera techniki badawcze do badań procesów adsorpcji związków białkowych na powierzchniach materiałów metalicznych i tlenkowych. Wykazała się również taką znajomością tych metod, która pozwoliła Jej na staranną analizę uzyskanych wyników i wyciągnięcie poprawnych wniosków.

Biorąc pod uwagę powyższe stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Agnieszki Tąta zatytułowana „Ocena stanu fizykochemicznego powierzchni metali metodą badania adsorpcji na granicy faz metal/ciecz z zastosowaniem techniki SERS” spełnia wymagania ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (*Ustawa z dnia 14 marca 2003 r., tekst ujednolicony z dnia 29 września 2014 r. wraz późniejszymi rozporządzeniami*). Wnoszę więc o dopuszczenie jej Autorki do publicznej obrony.

Dawida Szost