

Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki
Wydział Inżynierii Materiałowej i Fizyki
Szkola Doktorska Politechniki Krakowskiej

ROZPRAWA DOKTORSKA

***Badania nad opracowaniem biomateriałów kompozytowych
do zastosowań w inżynierii i w chirurgii***

mgr inż. Magdalena Bańkosz

Promotor rozprawy

dr hab. inż. Bożena Tylicz, prof. PK

Promotor pomocniczy

dr inż. Dariusz Mierzwiński

Kraków, 2025

Pragnę złożyć serdeczne podziękowania:

Pani dr hab. Bożenie Tylińczak, prof. PK

*za nieocenione wsparcie, merytoryczne wskazówki oraz inspirującą opiekę naukową
Pani otwartość, cierpliwość i ogromna wiedza były dla mnie nie tylko źródłem cennych
naukowych inspiracji, lecz także motywacją do ciągłego rozwoju.*

*Dziękuję za zaufanie, jakim mnie Pani obdarzyła, za konstruktywną krytykę
oraz za czas, który mi Pani poświęciła – mimo licznych obowiązków.
Pani zaangażowanie i życzliwość pozostaną dla mnie wzorem prawdziwej Mentorki.*

Panu dr inż. Dariuszowi Mierzińskiemu

*za cenne uwagi oraz gotowość do dzielenia się swoim doświadczeniem i wiedzą.
Pańska pomoc i zaangażowanie były dla mnie dużym wsparciem, a każda konsultacja
przynosiła nowe spojrzenie na podejmowane przeze mnie zagadnienia.*

Pani Prof. dr hab. inż. Agnieszce Sobczak-Kupiec

*za umożliwienie pracy w projekcie badawczym prowadzonym pod Pani Kierownictwem.
Dzięki Pani zaangażowaniu, życzliwości i naukowemu wsparciu mogłam prowadzić
niezwykle interesujące badania, pogłębiać wiedzę i rozwijać swoje umiejętności.*

dr Karolinie Rudnickiej, prof. UŁ

*za życzliwość i wsparcie podczas realizacji stażu naukowego
oraz warunki do realizacji badań, które wniosły istotny wkład w moją rozprawę.*

Szczególne podziękowania kieruję do mojego Męża

za nieocenione wsparcie, cierpliwość i wiarę we mnie.

*Dziękuję za zrozumienie, motywację i obecność, które miały dla mnie ogromne
znaczenie – nie tylko w chwilach sukcesu, ale szczególnie w momentach zwątpienia.*

Wyniki badań przedstawione w niniejszej rozprawie doktorskiej zostały współfinansowane z projektu „Wielofunkcyjne kompozyty aktywne biologicznie do zastosowań w medycynie regeneracyjnej układu kostnego” zrealizowanego w ramach programu TEAM-NET Fundacji na rzecz Nauki Polskiej finansowanego przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego, POIR.04.04.00-00-16-D7/18.



Rzeczpospolita
Polska



Fundacja na rzecz
Nauki Polskiej

Unia Europejska
Europejski Fundusz
Rozwoju Regionalnego



Spis treści

WYKAZ WAŻNIEJSZYCH SKRÓTÓW I OZNACZEŃ	1
1. WPROWADZENIE.....	9
2. ANALIZA STANU ZAGADNIENIA.....	10
2.1. Biomateriały.....	10
2.1.1. Klasyfikacja biomateriałów	12
2.1.2. Właściwości biomateriałów	18
2.2. Interakcje biomateriałów z tkanką biologiczną	20
2.2.1. Fazy interakcji biomateriału z tkanką	21
2.2.2. Mechanizmy odpowiedzi komórkowej.....	22
2.3. Hydroksyapatyt.....	24
2.3.1. Metody otrzymywania hydroksyapatytu	25
2.3.2. Modyfikacja hydroksyapatytu	29
2.4. Kompozyty ceramiczno-polimerowe.....	31
3. UZASADNIENIE PODJĘCIA TEMATYKI BADAWCZEJ	33
4. TEZA I CEL PRACY.....	35
5. PLAN BADAŃ	36
6. CHARAKTERYSTYKA WYKORZYSTYWANYCH REAGENTÓW	41
7. METODYKA BADAŃ	42
7.1. Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera.....	42
7.2. Spektroskopia Ramana	42
7.3. Dyfrakcja rentgenowska	42
7.4. Oznaczenie zawartości wapnia i fosforu	43
7.5. Analiza wielkości cząstek.....	45
7.6. Pomiar porowatości i powierzchni właściwej	46
7.7. Określenie stabilności zawiesiny hydroksyapatytu	46
7.8. Skaningowa mikroskopia elektronowa z analizą składu pierwiastkowego	47
7.9. Mikroskopia optyczna.....	47
7.10. Analiza chropowatości powierzchni	47
7.11. Analiza właściwości mechanicznych.....	47
7.12. Analiza zwilżalności powierzchni	48

7.13.	Badania trybologiczne	48
7.14.	Badania inkubacyjne w symulowanych płynach ustrojowych	48
7.15.	Wysokosprawna chromatografia cieczowa	49
7.16.	Spektroskopia UV-Vis	49
7.17.	Tomografia komputerowa.....	49
7.18.	Cytotoksyczność	50
7.19.	Aktywność prozapalna.....	50
7.20.	Test gojenia się rany	51
7.21.	Ocena właściwości przeciwdrobnoustrojowych	51
WYNIKI BADAŃ I DISKUSJA.....		52
8.	Część I – SYNTEZA I CHARAKTERYSTYKA FAZY CERAMICZNEJ	52
8.1.	Synteza fazy ceramicznej.....	52
8.2.	Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera.....	54
8.3.	Spektroskopia Ramana	57
8.4.	Dyfrakcja rentgenowska	60
8.5.	Określenie wydajności przeprowadzonej syntezy	68
8.6.	Skaningowa mikroskopia elektronowa	70
8.7.	Mikroskopia optyczna.....	72
8.8.	Analiza wielkości cząstek	73
8.9.	Pomiar porowatości i powierzchni właściwej	76
8.10.	Określenie stabilności zawiesiny hydroksyapatytu	79
8.11.	Oznaczenie zawartości wapnia i fosforu	83
8.12.	Analiza właściwości biologicznych.....	84
8.13.	Podsumowanie części I – faza ceramiczna	91
9.	Część II – SYNTEZA I CHARAKTERYSTYKA MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH.....	93
9.1.	Badanie stabilności zawiesiny HAp w polimerze.....	93
9.2.	Wybór czynnika sieciującego i fotoinicjatora	96
9.3.	Analiza zdolności sorpcyjnych	103
9.4.	Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera.....	108
9.5.	Skaningowa mikroskopia elektronowa z analizą składu chemicznego metodą EDS	111

9.6.	Analiza właściwości biologicznych.....	114
9.7.	Podsumowanie części II – materiał kompozytowy.....	115
10.	Część III– MODYFIKACJA MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH KOLAGENEM.....	118
10.1.	Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera.....	118
10.2.	Analiza zdolności sorpcyjnych	122
10.3.	Badania inkubacyjne w warunkach in vitro.....	125
10.4.	Ocena zwilżalności powierzchni	129
10.5.	Ocena chropowatości powierzchni	133
10.6.	Ocena właściwości mechanicznych.....	137
10.7.	Badanie właściwości tribologicznych.....	142
10.8.	Tomograficzna ocena struktury kompozytów	152
10.9.	Kinetyka uwalniania kolagenu z materiału kompozytowego	157
10.10.	Podsumowanie części III – modyfikacja kolagenem.....	163
11.	Część IV – MODYFIKACJA MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH ANTYBIOTYKIEM	165
11.1.	Wprowadzenie antybiotyku do fazy ceramicznej	165
11.2.	Kinetyka uwalniania antybiotyku z materiału kompozytowego.....	167
11.3.	Ocena właściwości przeciwdrobnoustrojowych	172
11.4.	Podsumowanie części IV – modyfikacja antybiotykiem.....	174
12.	WNIOSKI KOŃCOWE	176
	STRESZCZENIE.....	178
	SUMMARY	179
	LITERATURA.....	180
	SPIS TABEL	202
	SPIS RYSUNKÓW	203
	WYKAZ DOROBKU NAUKOWEGO	208

WYKAZ WAŻNIEJSZYCH SKRÓTÓW I OZNACZEŃ

ATR FT-IR	spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera z wykorzystaniem techniki osłabionego całkowitego odbicia (<i>Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)
BET	metoda oznaczania powierzchni właściwej (<i>Brunauer–Emmett–Teller</i>)
BMP-2	białko morfogenetyczne kości 2 (<i>Bone Morphogenetic Protein-2</i>)
Ca/P	stosunek molowy wapnia do fosforu
CVD	chemiczne osadzanie z fazy gazowej (<i>Chemical Vapor Deposition</i>)
DLS	dynamiczne rozpraszanie światła (<i>Dynamic Light Scattering</i>)
ECM	macierz pozakomórkowa
EDS	spektroskopia dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (<i>Energy Dispersive X-ray Spectroscopy</i>)
FBGCs	olbrzymie komórki ciała obcego (<i>Foreign Body Giant Cells</i>)
GOF	współczynnik dopasowania modelu (<i>Goodness-of-Fit</i>)
HAp	hydroksyapatyt
HPLC	wysokosprawna chromatografia cieczowa (<i>High-Performance Liquid Chromatography</i>)
IL-1 β	Interleukina 1 β , cytokina prozapalna (<i>Interleukin 1β</i>)
IL-6	Interleukina 6, cytokina prozapalna (<i>Interleukin 6</i>)
Kol-r	kolagen rybi
Kol-w	kolagen wołowy
L929	linia komórkowa mysich fibroblastów
MSCs	mezenchymalne komórki macierzyste (<i>Mesenchymal Stem Cells</i>)
MTT	test cytotoksyczności z wykorzystaniem bromku 3-(4,5-dimetylo-2-tiazoły)-2,5-difenylo-tetrazolowego
NF- κ B	jądrowy czynnik transkrypcyjny κ B (<i>Nuclear Factor kappa B</i>)
PCL	poli(ϵ -kaprolakton)
PE	polietylen
PEGDA	diakrylan poli(glikolu etylenowego)
PLA	poli(kwas mlekowy)
PGA	poli(kwas glikolowy)
PTFE	politetrafluoroetylen
PVA	alkohol poliwinylowy
PVP	poliwinylpirolidon
PVD	fizyczne osadzanie z fazy gazowej (<i>Physical Vapor Deposition</i>)
R _a , R _q , R _{sk}	parametry chropowatości powierzchni (odpowiednio: średnia arytmetyczna, średniokwadratowe odchylenie, skośność profilu)

RGD	Sekwencja aminokwasowa argininy (R), glicyny (G) i kwasu asparaginowego (D)
R ²	współczynnik determinacji
Rwp	ważony współczynnik dopasowania (<i>Weighted-pattern R-factor</i>)
SEM	skaningowa mikroskopia elektronowa (<i>Scanning Electron Microscopy</i>)
TGF- β	transformujący czynnik wzrostu β (<i>Transforming Growth Factor Beta</i>)
TNF- α	czynnik martwicy nowotworów α (<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>)
UV-Vis	spektroskopia w zakresie ultrafioletu i światła widzialnego (<i>Ultraviolet-Visible Spectroscopy</i>)
VEGF	naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>)
XRD	dyfrakcja rentgenowska (<i>X-ray Diffraction</i>)
x, y, c, h	czynniki eksperymentalne: wejściowe (x), wyjściowe (y), stałe (c), zakłócające (h)

1. WPROWADZENIE

Postęp w dziedzinie biomateriałów stanowi jeden z kluczowych filarów współczesnej inżynierii materiałowej, odpowiadając na rosnące zapotrzebowanie na nowoczesne materiały do regeneracji tkanek, leczenia ubytków kostnych oraz wsparcia procesów gojenia. Biomateriały, definiowane jako substancje, inne niż lek, zdolne do czasowego lub trwałego kontaktu z organizmem, odgrywają istotną rolę w medycynie regeneracyjnej, protetyce, chirurgii i implantologii. Ewolucja tych materiałów, od pasywnych elementów strukturalnych do funkcjonalnych systemów bioaktywnych, otworzyła nowe możliwości terapeutyczne, stawiając jednocześnie wyzwania w zakresie projektowania, biogodności i bezpieczeństwa.

Jednym ze znacznie rozwijanych obszarów są kompozyty ceramiczno-polimerowe, łączące bioaktywność i sztywność fazy ceramicznej z elastycznością oraz przetwarzalnością polimerów. Hydroksyapatyt, będący mineralnym odpowiednikiem tkanki kostnej, stanowi jeden z najważniejszych komponentów w projektowaniu takich układów, jednak jego ograniczona wytrzymałość mechaniczna i kruchość wymagają integracji z fazami wspomagającymi. Odpowiednie połączenie HAp z naturalnymi lub syntetycznymi polimerami umożliwia uzyskanie struktur hybrydowych o wysokim potencjale aplikacyjnym, jako rusztowania dla wzrostu komórek, nośniki leków czy materiały wspierające osteointegrację.

W kontekście globalnych wyzwań zdrowotnych, takich jak starzenie się populacji i wzrost zachorowań na osteoporozę, potrzeba opracowania materiałów nowej generacji staje się szczególnie pilna. Utrata masy kostnej, zwiększone ryzyko złamań oraz ograniczone zdolności regeneracyjne organizmu sprawiają, że tradycyjne rozwiązania chirurgiczne nie są wystarczające. W tym świetle biomateriały kompozytowe stają się odpowiedzią na współczesne wymagania kliniczne - muszą być nie tylko biogodne, ale także zdolne do kontrolowanego uwalniania substancji czynnych, działania przeciwdrobnoustrojowego i wspierania procesów naprawczych.

Niniejsza rozprawa doktorska koncentruje się na syntezie, modyfikacji oraz charakterystyce biomateriałów kompozytowych opartych na hydroksyapatycie i wybranych polimerach, modyfikowanych składnikami aktywnymi. Celem jest uzyskanie materiałów funkcjonalnych, które znajdą zastosowanie w inżynierii i chirurgii tkanki kostnej, szczególnie w kontekście terapii spersonalizowanej i zapobiegania powikłaniom infekcyjnym. Realizacja tego celu odpowiada na aktualne kierunki badań naukowych oraz potrzeby medycyny praktycznej, a uzyskane wyniki mogą stanowić potencjalny wkład w rozwój materiałów wykorzystywanych w nowoczesnych terapiach regeneracyjnych.

2. ANALIZA STANU ZAGADNIENIA

2.1. Biomateriały

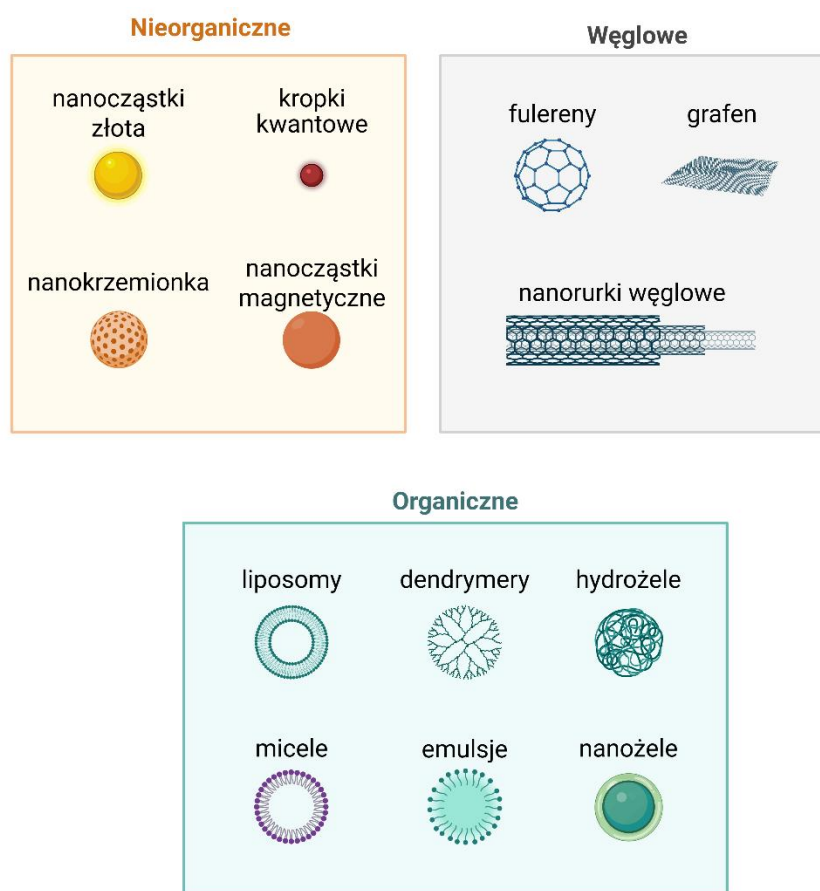
Pojęcie biomateriału od kilku dekad stanowi fundament interdyscyplinarnego obszaru badań łączącego nauki przyrodnicze, inżynierię materiałową oraz medycynę kliniczną. W ujęciu formalnym, zgodnie z definicją przyjętą podczas Konferencji Europejskiego Towarzystwa Biomateriałów (European Society for Biomaterials, ESB), biomateriał to *„substancja inna niż lek, syntetyczna lub naturalnego pochodzenia, która może być używana przez określony czas – całkowicie lub częściowo – jako element systemu mającego na celu leczenie, wspomaganie lub zastępowanie jakiegokolwiek tkanki, narządu bądź funkcji organizmu”* [1–4].

Współcześnie biomateriały definiuje się szerzej jako klasę materiałów syntetycznych, półsyntetycznych lub naturalnych, zaprojektowanych z myślą o zastosowaniach medycznych, mających bezpośredni kontakt z tkankami lub płynami ustrojowymi człowieka [5,6]. Stanowią one nieodzowny element współczesnej medycyny regeneracyjnej, chirurgii, protetyki oraz inżynierii tkankowej. W ostatnich dekadach biomateriały przeszły istotną ewolucję: od biernych, strukturalnych komponentów wspomagających leczenie, do inteligentnych i bioaktywnych systemów zdolnych do interakcji z komórkami i środowiskiem biologicznym na poziomie molekularnym. Postęp ten otwiera nowe możliwości terapeutyczne i stawia jednocześnie wyzwania w zakresie projektowania, bezpieczeństwa i oceny skuteczności nowych rozwiązań materiałowych [7].

Początki stosowania biomateriałów można odnaleźć już w starożytnym Egipcie, gdzie używano lnianych nici do zszywania ran i kości słoniowej do tworzenia protez. Współczesna nauka o biomateriałach została zapoczątkowana w latach 50. XX wieku, wraz z potrzebą odbudowy tkanek uszkodzonych podczas II wojny światowej oraz gwałtownym rozwojem chirurgii rekonstrukcyjnej. Obecnie biomateriały są wykorzystywane w wielu dziedzinach medycyny: ortopedii (endoprotezy stawów), stomatologii (implanty zębowe), kardiologii (zastawki serca), okulistyce (soczewki kontaktowe), chirurgii naczyniowej (stenty, przeszczepy naczyniowe), a także w systemach dostarczania leków i biosensorach [8,9].

Fundamentalnym kryterium klasyfikującym materiał do grupy biomateriałów jest jego biokompatybilność. Termin ten odnosi się do zdolności materiału do długotrwałego kontaktu z organizmem ludzkim bez wywoływania niepożądanych reakcji, takich jak odpowiedź immunologiczna, toksyczność, kancerogenność czy degradacja prowadząca do uszkodzenia tkanek. W kontekście nowoczesnych biomateriałów coraz większe znaczenie przypisuje się również bioaktywności, rozumianej jako zdolność materiału do inicjowania lub wspierania korzystnych reakcji biologicznych, które sprzyjają procesom regeneracyjnym, takim jak gojenie się ran, osteointegracja czy angiogeneza [10,11].

Projektowanie biomateriałów coraz częściej uwzględnia inżynierię powierzchni, czyli zestaw technik umożliwiających modyfikację topografii, składu chemicznego oraz energii powierzchniowej w celu poprawy interakcji materiału z komórkami i tkankami [12–14]. Zmiany te pozwalają na kontrolowanie takich procesów, jak adhezja, proliferacja i różnicowanie komórek, a także na modulowanie odpowiedzi immunologicznej [15]. Modyfikacje powierzchni odgrywają szczególną rolę w projektowaniu rusztowań do regeneracji tkanek, w których biomateriał pełni funkcję tymczasowego szkieletu ułatwiającego odtworzenie uszkodzonych struktur [16–18]. W nowoczesnych biomateriałach coraz częściej wykorzystuje się nanotechnologię [19,20]. Nanomateriały, takie jak nanowłókna, nanocząstki oraz hydrożele supramolekularne, cechują się wysokim stosunkiem powierzchni do objętości, co umożliwia intensywną interakcję z komórkami. Ich struktura sprzyja odwzorowywaniu architektury macierzy pozakomórkowej, co ma istotne znaczenie w kontekście inżynierii tkankowej. Przykładowo, nanowłókna polimerowe zwiększają powierzchnię adhezyjną dla komórek i umożliwiają lepsze odtworzenie środowiska naturalnych tkanek [21–23]. Rysunek 1 przedstawia przykładowe nanomateriały wykorzystywane w inżynierii biomateriałów.



Rysunek 1. Przykłady nanomateriałów wykorzystywanych w inżynierii biomateriałów: podział na struktury nieorganiczne, węglowe i organiczne

Równolegle rozwijany jest obszar tzw. inteligentnych biomateriałów (*smart biomaterials*), zdolnych do dynamicznego reagowania na zmiany środowiska fizykochemicznego, takie jak temperatura, pH, ciśnienie czy obecność określonych enzymów [24]. Materiały te mogą modyfikować swoje właściwości w sposób odwracalny lub trwały, w odpowiedzi na sygnały z otoczenia biologicznego. Znajdują zastosowanie m.in. w systemach kontrolowanego uwalniania substancji czynnych, gdzie odpowiedź materiału umożliwia precyzyjne dawkowanie w miejscu docelowym [25,26]. Przykładem są hydrogele termowrażliwe, które żelują w temperaturze ciała i umożliwiają lokalne podanie substancji aktywnych [27,28].

Integralnym elementem rozwoju biomateriałów są badania przedkliniczne i kliniczne, których celem jest ocena bezpieczeństwa oraz funkcjonalności proponowanych rozwiązań. Obejmują one analizy cytotoksyczności, mutagenności, właściwości hemolitycznych, reakcji zapalnych, a także ocenę parametrów funkcjonalnych, takich jak osteokondukcja i osteoindukcja [29,30]. W perspektywie rozwoju biomateriałów szczególne znaczenie zyskują strategie personalizacji, uwzględniające cechy genetyczne pacjenta, profil molekularny jego tkanek oraz indywidualne potrzeby kliniczne. Równocześnie rośnie rola technologii addytywnych, takich jak druk 3D i biodrukowanie, umożliwiających precyzyjne odwzorowanie struktur biologicznych i wytwarzanie spersonalizowanych implantów lub rusztowań [31,32].

Analiza rozwoju biomateriałów na przestrzeni ostatnich dekad wskazuje na wyraźne przejście od materiałów obojętnych do zaawansowanych struktur zdolnych do aktywnego oddziaływania z otoczeniem biologicznym. Obecne kierunki rozwoju koncentrują się na pogłębianiu zrozumienia zależności między strukturą chemiczną a właściwościami materiałów, co stanowi podstawę do projektowania bezpiecznych i skutecznych rozwiązań dla zastosowań medycznych i farmaceutycznych.

2.1.1. Klasyfikacja biomateriałów

Biomateriały można klasyfikować według różnych kryteriów, w zależności od przyjętej perspektywy badawczej lub aplikacyjnej. Podział ten może uwzględniać m.in. pochodzenie materiału (naturalne, syntetyczne, kompozytowe), jego funkcję biologiczną (bioaktywne, bioobojętne, bioresorbowalne), charakterystykę strukturalną (porowate, jednorodne, wielowarstwowe), a także zastosowanie kliniczne (np. implanty ortopedyczne, systemy dostarczania leków, rusztowania tkankowe) [33,34]. Wielość możliwych podejść klasyfikacyjnych odzwierciedla złożoność tej grupy materiałów oraz interdyscyplinarny charakter badań nad ich właściwościami i zastosowaniem.

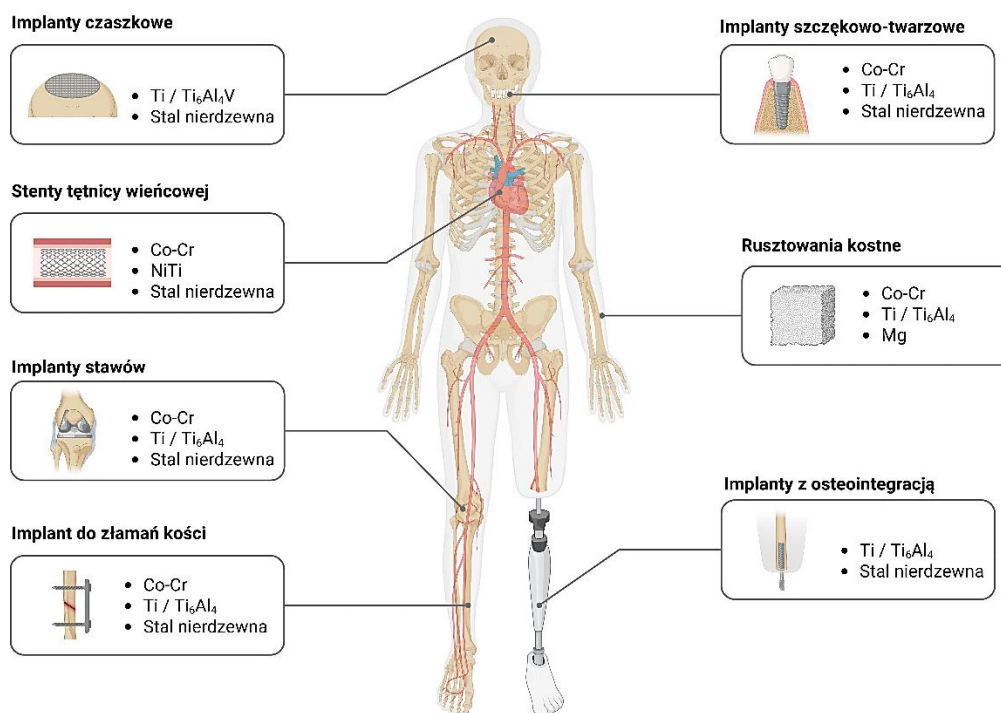
Klasyfikacja biomateriałów ze względu na ich pochodzenie jest jednym z podstawowych podziałów stosowanych w literaturze. Pozwala ona zrozumieć źródło

materiału oraz jego potencjalny wpływ na organizm biologiczny. Biomateriały można podzielić na trzy główne grupy: naturalne, syntetyczne oraz półsyntetyczne [35,36].

- Biomateriały naturalne to materiały pochodzenia biologicznego, pozyskiwane z organizmów zwierzęcych, roślinnych lub ludzkich. Do najczęściej stosowanych należą: kolagen – główny składnik macierzy pozakomórkowej, elastyna – występująca w skórze i naczyniach krwionośnych, chitozan – pozyskiwany z chityny znajdującej się w pancerzach skorupiaków, alginian – polisacharyd izolowany z brunatnic, oraz fibryna – białko osocza powstające podczas procesu krzepnięcia [37,38]. Wśród materiałów pochodzenia ludzkiego stosuje się m.in. autologiczne przeszczepy tkankowe, błony owodniowe oraz preparaty fibryny bogatopłytkowej [39,40]. Biomateriały naturalne cechują się dobrą biozgodnością, zdolnością do integracji z tkankami oraz obecnością miejsc adhezyjnych dla komórek, co sprzyja ich aktywnemu udziałowi w procesach regeneracyjnych. Zazwyczaj są biodegradowalne i wykazują bioaktywność. Do ich ograniczeń należą: zmienność właściwości wynikająca z biologicznego pochodzenia, trudności w standaryzacji i sterylizacji oraz potencjalna immunogenność, szczególnie w przypadku materiałów pochodzenia zwierzęcego lub allogenicznego [41–43].
- Biomateriały syntetyczne to materiały wytwarzane sztucznie, najczęściej w procesach syntezy chemicznej. Do najczęściej stosowanych związków należą: poli(kwas mlekowy) (PLA) [44], poli(kwas glikolowy) (PGA) [45], poli(ε-kaprolakton) (PCL) [46], polietylen (PE) [47], silikon medyczny [48] oraz politetrafluoroetylen (PTFE) [49]. Materiały te charakteryzują się wysoką powtarzalnością właściwości fizykochemicznych, kontrolowaną strukturą oraz łatwością formowania i modyfikacji chemicznej [50,51]. Dzięki tym cechom znajdują zastosowanie w sytuacjach wymagających dużej wytrzymałości mechanicznej, trwałości oraz odporności na działanie środowiska fizjologicznego. Ograniczeniem biomateriałów syntetycznych jest zazwyczaj ograniczona bioaktywność. Z tego względu konieczne jest ich dokładne testowanie pod kątem biokompatybilności, a często również stosowanie strategii modyfikacji powierzchni w celu poprawy interakcji biologicznych [52,53].
- Biomateriały półsyntetyczne to materiały pochodzenia naturalnego, które zostały poddane modyfikacjom chemicznym w celu poprawy ich właściwości fizykochemicznych, mechanicznych lub biologicznej stabilności [54,55]. Przykładowe związki należące do tej grupy to acetylowana celuloza, utleniony kolagen oraz chemicznie zmodyfikowana żelatyna [56]. Materiały te łączą zalety biomateriałów naturalnych, takie jak bioaktywność i biokompatybilność, z korzyściami wynikającymi z kontrolowanej modyfikacji, takimi jak zwiększona rozpuszczalność, trwałość czy odporność na degradację enzymatyczną [57–59].

Kolejnym istotnym kryterium klasyfikacji biomateriałów jest ich skład chemiczny, który stanowi podstawę do oceny i przewidywania właściwości fizycznych, biologicznych oraz technologicznych danego materiału. Tego rodzaju klasyfikacja umożliwia identyfikację związków strukturalnych odpowiadających za wytrzymałość mechaniczną, stabilność chemiczną czy podatność na degradację enzymatyczną, a także pozwala przewidzieć sposób, w jaki materiał będzie oddziaływał z tkankami i płynami ustrojowymi. Dzięki analizie składu chemicznego możliwa jest również racjonalna modyfikacja właściwości materiału w celu dostosowania go do konkretnych zastosowań klinicznych. W tej grupie wyróżnić można:

- Biomateriały ceramiczne, które znajdują szerokie zastosowanie w rekonstrukcji tkanki kostnej, chirurgii ortopedycznej oraz stomatologii. W zależności od interakcji z tkankami biologicznymi, dzieli się je na ceramiki bioinercyjne (np. tlenek glinu, tlenek cyrkonu) [60] oraz ceramiki bioaktywne (np. hydroksyapatyt, bioaktywne szkła fosforanowo-krzemianowe) [61,62]. Ceramiki tego typu charakteryzują się wysoką twardością, odpornością na ścieranie i korozję chemiczną, a także dobrą biogodnością w kontakcie z tkanką kostną. Materiały bioaktywne, takie jak HAp czy bioaktywne szkła, dodatkowo stymulują tworzenie nowej kości poprzez tworzenie wiązania chemicznego z naturalnym apatytowym składnikiem kości. Do głównych ograniczeń biomateriałów ceramicznych należy ich kruchość (niska odporność na obciążenia dynamiczne i udarowe), a także trudności w przetwarzaniu na złożone struktury przestrzenne, co ogranicza ich zastosowanie w niektórych typach implantów czy rusztowań [63–65].
- Metale i ich stopy, które należą do najczęściej stosowanych klas biomateriałów, szczególnie w dziedzinach takich jak ortopedia, chirurgia szczękowo-twarzowa i stomatologia. Do najpowszechniej wykorzystywanych należą: tytan i jego stopy (np. Ti-6Al-4V) [66,67], stal nierdzewna austenityczna (np. 316L) [68,69], stopy kobaltu i chromu (Co-Cr) [70–72], a także stopy zawierające nikiel (np. nitinol) [73]. Materiały te charakteryzują się wysoką wytrzymałością mechaniczną, dobrą odpornością na zmęczenie oraz sprężystością, co czyni je odpowiednimi do zastosowań narażonych na dynamiczne obciążenia. Tytan i jego stopy wykazują ponadto wysoką biogodność, głównie dzięki tworzeniu stabilnej, pasywnej warstwy tlenkowej (TiO_2), która chroni powierzchnię przed korozją i ogranicza interakcje z otoczeniem biologicznym [74,75]. Do potencjalnych ograniczeń biomateriałów metalicznych należy możliwość uwalniania jonów metali, takich jak nikiel, które mogą indukować reakcje zapalne lub alergiczne u wrażliwych pacjentów [76]. Przykłady zastosowań biomateriałów metalicznych w implantologii zaprezentowano na Rysunku 2.



Rysunek 2. Przykłady zastosowań biomateriałów metalicznych w implantologii

- Polimery stanowią jedną z najszerszych klas biomateriałów, obejmując zarówno związki pochodzenia naturalnego jak i syntetycznego. Polimery syntetyczne umożliwiają kontrolowaną degradację, chemiczną funkcjonalizację oraz łatwe przetwarzanie w różne formy użytkowe. Ich właściwości można precyzyjnie dostosować do konkretnych wymagań aplikacyjnych [77,78]. Z kolei polimery naturalne, ze względu na swoją biogodność i podobieństwo do naturalnych składników macierzy pozakomórkowej, sprzyjają korzystnym interakcjom z komórkami, takim jak adhezja i różnicowanie. Ich wadą może być jednak zmienność właściwości fizykochemicznych oraz ograniczona stabilność w warunkach fizjologicznych. Polimery znajdują zastosowanie m.in. w inżynierii tkankowej, materiałach opatrunkowych, nośnikach leków oraz implantach wewnątrzgałkowych, gdzie wymagana jest biogodność i elastyczność materiału [79,80].
- Biomateriały kompozytowe to układy złożone z co najmniej dwóch faz materiałowych o różnych właściwościach fizykochemicznych, których połączenie pozwala na uzyskanie struktury hybrydowej o zoptymalizowanych parametrach użytkowych. Kompozyty są przykładami materiałów, w których dąży się do synergii wytrzymałości mechanicznej, bioaktywności i biodegradowalności. Zastosowanie materiałów kompozytowych umożliwia projektowanie struktur o właściwościach dostosowanych do konkretnych wymagań aplikacyjnych, takich jak rusztowania kostne, implanty stomatologiczne czy elementy protetyczne [81–83].

Tabela 1. Porównanie głównych klas biomateriałów pod względem właściwości i zastosowań [60–83]

Typ biomateriału	Pochodzenie	Przykłady	Zalety	Ograniczenia	Typowe zastosowania
Naturalne	biologiczne	kolagen, chitozan, żelatyna, alginian	biogodność, bioaktywność	zmiennność, trudność w sterylizacji	rusztowania, opatrunki, DDS
Syntetyczne	chemiczna synteza	PLA, PCL, PGA	powtarzalność łatwość przetwarzania	niska bioaktywność	implanty, soczewki, opatrunki, rusztowania
Półsyntetyczne	chemicznie modyfikowane	acetylowana celuloza,	łączenie bioaktywności z trwałością,	ograniczona kontrola degradacji	hydrożele, rusztowania, opatrunki
Metaliczne	metale i ich stopy	Ti6AL-4V, stal 316L, Co-Cr, nitinol	wytrzymałość, trwałość	korozja, uwalnianie jonów metali	endoprotezy, implanty stenty,
Ceramiczne	mineralne lub syntetyczne	HAp, Bioglass, Al ₂ O ₃ , ZrO ₂	twardość, wybrane bioaktywność	kruchość, problemy przetwórcze	implanty kostne, stomatologia
Kompozytowe	co najmniej dwie fazy materiałowe	polimer/ceramika, metal/ceramika	optymalizacja właściwości	złożoność produkcji,	rusztowania kostne, protezy, implanty

Oprócz klasyfikacji biomateriałów ze względu na ich pochodzenie, skład chemiczny czy budowę materiałową (Tabela 1), istotnym kryterium podziału jest również sposób, w jaki oddziałują one z tkankami organizmu po implantacji. Klasyfikacja według funkcji biologicznej odnosi się bezpośrednio do zachowania biomateriałów w środowisku biologicznym i ich zdolności do inicjowania lub unikania interakcji z komórkami i strukturami tkankowymi. Z tej perspektywy wyróżnia się trzy podstawowe grupy: bioinercyjne, bioaktywne oraz biodegradowalne, które różnią się mechanizmem działania, zakresem integracji z tkanką oraz zastosowaniem klinicznym [84].

Biomateriały bioinercyjne są projektowane tak, aby pozostawały chemicznie i biologicznie obojętne wobec środowiska ustrojowego. Po wszczępieniu nie inicjują odpowiedzi komórkowej ani immunologicznej i nie wchodzi w bezpośrednią interakcję z tkanką, dzięki czemu wykazują wysoką stabilność chemiczną i mechaniczną. Przykładami materiałów o takim charakterze są tytan i jego stopy oraz tlenek glinu. Znalazły one zastosowanie przede wszystkim w implantach ortopedycznych, protezach stawowych i sztucznych zastawkach serca. Choć zapewniają trwałość i biogodność, ich wadą może być brak integracji z tkanką, co w niektórych przypadkach prowadzi do tworzenia torebek włóknistych wokół implantu [85,86]. W odróżnieniu od materiałów bioinercyjnych, biomateriały bioaktywne są zdolne do inicjowania specyficznych odpowiedzi biologicznych w miejscu implantacji. Ich interakcja z otaczającymi tkankami prowadzi do powstawania wiązań chemicznych, mineralizacji lub chemotaktycznej migracji komórek, co sprzyja bezpośredniej integracji materiału z tkanką. Do tej grupy należą m.in. bioaktywne szkła, fosforany wapnia takie jak hydroksyapatyt, a także wybrane ceramiki i materiały z chemicznie modyfikowaną powierzchnią. Bioaktywność może być dodatkowo wzmacniana poprzez funkcjonalizację powierzchni cząsteczkami biologicznie czynnymi, takimi jak peptydy adhezyjne, czynniki wzrostu czy nanostruktury. Materiały tego typu znajdują zastosowanie głównie w regeneracji tkanki kostnej i nerwowej oraz w inżynierii tkankowej. Ich zaletą jest zdolność do trwałego połączenia z otaczającą tkanką, jednak wymagają one precyzyjnego dopasowania środowiska implantacji oraz kontroli procesu integracji biologicznej [87,88].

Następną grupę stanowią biomateriały biodegradowalne, które ulegają stopniowej degradacji w środowisku biologicznym w wyniku procesów hydrolizy, działania enzymów lub resorpcji komórkowej [89]. Produkty ich rozkładu powinny być nietoksyczne, łatwo metabolizowane i wydalone przez organizm. Kluczowym aspektem w projektowaniu materiałów biodegradowalnych jest dostosowanie tempa ich degradacji do szybkości regeneracji danej tkanki. Wśród najczęściej stosowanych znajdują się polimery takie jak PLA, PGA, PCL, a także naturalne biopolimery, np. kolagen i chitozan. Biomateriały tej klasy wykorzystywane są m.in. w rusztowaniach dla inżynierii tkankowej, biodegradowalnych stentach naczyniowych, opatrunkach, szwach chirurgicznych oraz systemach kontrolowanego uwalniania leków. Ich główną zaletą

jest brak konieczności chirurgicznego usunięcia implantu po spełnieniu jego funkcji, choć należy uwzględnić zmiany właściwości mechanicznych zachodzące w trakcie procesu degradacji [90].

Przedstawione klasyfikacje biomateriałów, oparte na ich pochodzeniu, składzie chemicznym, budowie materiałowej oraz funkcji biologicznej są wzajemnie uzupełniające. W praktyce cechy tych grup często się przenikają, a granice między nimi stają się płynne w miarę postępu technologicznego. Z punktu widzenia projektowania implantów nowej generacji, coraz częściej dąży się do integracji właściwości bioaktywnych i biodegradowalnych w ramach jednego systemu materiałowego. Przykładem są materiały biodegradowalne, które jednocześnie zawierają fazę bioaktywną stymulującą regenerację tkanki oraz komponenty zapewniające odpowiednią stabilność mechaniczną w czasie gojenia [91,92]. Koncepcje te znajdują odzwierciedlenie w rozwoju funkcjonalnych biomateriałów hybrydowych, projektowanych z uwzględnieniem indywidualnych potrzeb pacjenta oraz specyfiki konkretnego zastosowania klinicznego. Takie podejście sprzyja realizacji strategii medycyny spersonalizowanej i jest jednym z głównych kierunków współczesnych badań [93].

Ponadto, niezależnie od klasyfikacji podstawowej, wszystkie biomateriały mogą być dodatkowo modyfikowane na poziomie mikro- i nanostruktury, właściwości powierzchniowych oraz funkcjonalizacji biologicznej. Zastosowanie takich technik, jak immobilizacja białek, cząsteczek sygnałowych czy czynników wzrostu, pozwala na precyzyjne kształtowanie odpowiedzi biologicznej i zwiększenie skuteczności klinicznej materiału. Tego typu modyfikacje umożliwiają nie tylko poprawę integracji implantu z tkanką, ale również kontrolę procesów gojenia i ograniczenie ryzyka reakcji niepożądanych. W rezultacie współczesne biomateriały stanowią dynamicznie rozwijającą się dziedzinę inżynierii materiałowej o kluczowym znaczeniu dla rozwoju nowoczesnych terapii regeneracyjnych i implantologii [94,95].

2.1.2. Właściwości biomateriałów

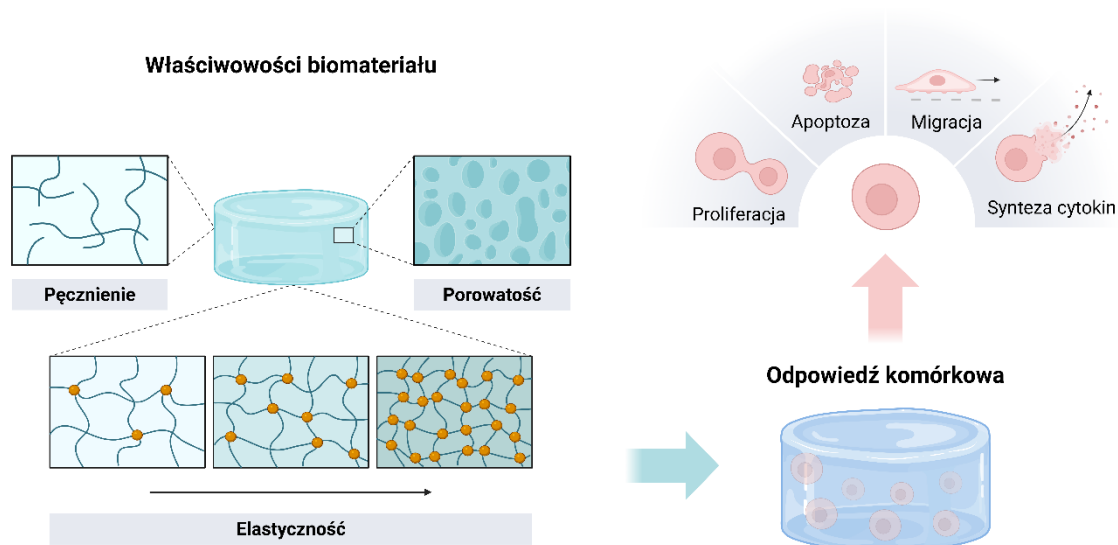
Dobór biomateriału do konkretnego zastosowania medycznego wymaga uwzględnienia szeregu właściwości fizykochemicznych, mechanicznych, biologicznych i powierzchniowych. Cechy te odgrywają kluczową rolę w kształtowaniu odpowiedzi organizmu na implant oraz w długoterminowym funkcjonowaniu materiału w środowisku biologicznym. Właściwości biomateriałów determinują nie tylko efektywność terapeutyczną danego rozwiązania, ale również jego bezpieczeństwo, stabilność chemiczną, podatność na degradację oraz integrację z otaczającymi tkankami. Parametry takie jak wytrzymałość mechaniczna, moduł sprężystości, topografia powierzchni czy bioaktywność muszą być starannie dostosowane do funkcji biologicznej, jaką dany materiał ma pełnić, a także do anatomicznej lokalizacji i warunków biomechanicznych panujących w miejscu implantacji. Wybrane właściwości biomateriałów zostały zaprezentowane w Tabeli 2 [96–103].

Tabela 2. Wybrane właściwości biomateriałów [96–103]

Właściwość	Opis
Wytrzymałość mechaniczna	Biomateriały muszą wykazywać właściwości mechaniczne odpowiednie do miejsca implantacji. Np. implanty ortopedyczne wymagają dużej wytrzymałości na ściskanie i rozciąganie, natomiast rusztowania dla tkanek miękkich powinny być elastyczne i sprężyste.
Hydrofilowość	Wpływa na adsorpcję białek po implantacji, co warunkuje przyczepność komórek. Powierzchnie hydrofilowe lepiej wiążą białka takie jak fibryonektyna, sprzyjając integracji biomateriału z tkanką.
Porowatość	Kluczowe w inżynierii tkankowej. Determinują transport składników odżywczych, migrację komórek i angiogenezę.
Topografia powierzchni	Struktura powierzchni wpływa na zachowania komórek, takie jak adhezja, proliferacja i kierunkowanie różnicowania. Zorganizowana topografia może np. wspierać wzrost komórek nerwowych.
Biodegradacja	Dla materiałów resorbowalnych tempo degradacji powinno być zgodne z tempem regeneracji tkanki. Produkty degradacji muszą być biozgodne, nietoksyczne i łatwe do usunięcia.
Bioaktywność	Zdolność materiału do wywoływania pożądanej odpowiedzi biologicznej, np. tworzenia wiązań z kością lub stymulowania angiogenezy. Przykładem są szkła bioaktywne.
Stabilność chemiczna	Szczególnie istotna dla biomateriałów metalicznych. Chroni przed degradacją w środowisku ustrojowym i uwalnianiem szkodliwych jonów.
Reaktywność powierzchni	Możliwość funkcjonalizacji chemicznej poprzez immobilizację bioaktywnych cząsteczek (np. peptydów RGD, czynników wzrostu), co pozwala na modulowanie odpowiedzi komórkowej.

Zrozumienie i kontrola opisanych właściwości stanowią podstawę racjonalnego projektowania biomateriałów nowej generacji. Optymalizacja takich parametrów, jak bioaktywność, porowatość, kompatybilność immunologiczna czy odporność chemiczna, pozwala nie tylko na poprawę integracji implantu z tkanką, ale także na dostosowanie materiału do zmieniających się warunków biologicznych. Coraz częściej właściwości biomateriałów są dodatkowo modulowane przy użyciu zaawansowanych technologii powierzchniowych oraz funkcjonalizacji biologicznej, co otwiera nowe możliwości w zakresie personalizowanej medycyny regeneracyjnej i implantologii [104].

Przykład takiego podejścia ilustruje Rysunek 3, w którym przedstawiono zależność pomiędzy właściwościami biomateriału a możliwym zachowaniem komórek. Stopień usieciowania materiału wpływa na jego sztywność i strukturę porów, co z kolei warunkuje tempo degradacji, pęcznienia oraz zdolność do transportu składników odżywczych i migracji komórek. Zmiany w tych właściwościach przekładają się bezpośrednio na odpowiedzi komórkowe, takie jak proliferacja, migracja, synteza macierzy zewnątrzkomórkowej czy apoptoza. Tego rodzaju zależności pokazują, jak istotne jest projektowanie biomateriałów w sposób uwzględniający zarówno parametry strukturalne, jak i ich biologiczne konsekwencje.



Rysunek 3. *Możliwy wpływ właściwości biomateriału na odpowiedź komórkową*

2.2. Interakcje biomateriałów z tkanką biologiczną

Interakcje biomateriałów z tkanką biologiczną są fundamentem skutecznego zastosowania klinicznego implantów, rusztowań oraz materiałów regeneracyjnych. Proces ten jest złożony i wieloetapowy, obejmuje zarówno aspekty fizykochemiczne, jak i biologiczne – od poziomu molekularnego po odpowiedź całego organizmu.

2.2.1. Fazy interakcji biomateriału z tkanką

Proces interakcji biomateriału z otaczającą tkanką biologiczną zachodzi etapowo i obejmuje szereg złożonych, dynamicznych mechanizmów fizykochemicznych i biologicznych. Kluczowymi etapami są: adsorpcja białek, adhezja komórkowa, odpowiedź zapalna oraz integracja lub izolacja biomateriału.

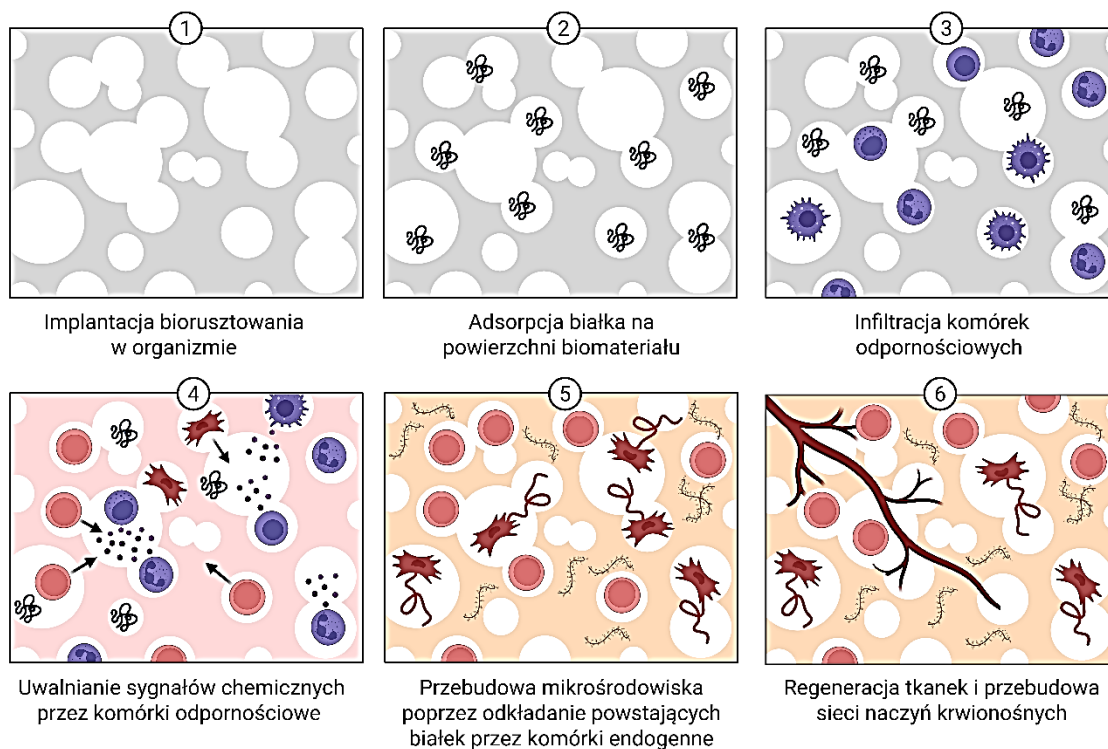
Pierwszym etapem po implantacji biomateriału w środowisku ustrojowym jest adsorpcja białek. W wyniku kontaktu z płynami biologicznymi, takimi jak osocze czy limfa, powierzchnia biomateriału zostaje natychmiast pokryta warstwą adsorbowanych białek, wśród których dominują albumina, fibrynogen, immunoglobuliny, laminina oraz fibryonektyna. Charakterystyka tej warstwy – jej skład, gęstość oraz orientacja przestrzenna cząsteczek – odgrywa kluczową rolę w kształtowaniu dalszej odpowiedzi biologicznej, w szczególności w zakresie adhezji komórek oraz aktywacji układu immunologicznego. Obecność specyficznych sekwencji sygnałowych na powierzchni adsorbowanych białek, takich jak RGD (arginina–glicyna–asparagina), umożliwia integrynozależne przyłączanie się komórek do powierzchni biomateriału, inicjując tym samym procesy związane z jego integracją z tkanką.

Kolejnym etapem po adsorpcji białek jest adhezja komórkowa, polegająca na wiązaniu się komórek z powierzchnią biomateriału. Komórki takie jak fibroblasty, makrofagi czy osteoblasty oddziałują z biomateriałem za pośrednictwem receptorów integrynowych, które rozpoznają specyficzne motywy aminokwasowe obecne w adsorbowanych białkach, zwłaszcza sekwencje RGD. Proces ten jest silnie zależny od chemii powierzchni, jej topografii oraz obecności cząsteczek bioaktywnych. Powierzchnie biomateriałów funkcjonalizowane peptydami adhezyjnymi, białkami macierzy pozakomórkowej lub czynnikami wzrostu, sprzyjają zwiększonej adhezji komórek, a także stymulują ich proliferację, migrację i różnicowanie. Komórki przylegające do powierzchni biomateriału aktywnie wpływają na lokalne mikrośrodowisko poprzez wydzielanie cytokin, chemokin i innych mediatorów odpowiedzi immunologicznej, co z kolei reguluje przebieg dalszych etapów regeneracji lub integracji implantu z tkanką.

Trzecim etapem jest faza zapalna i immunologiczna. Biomateriały wprowadzone do organizmu są rozpoznawane przez komórki układu odpornościowego. Odpowiedź zapalna może mieć charakter przejściowy lub przewlekły. Główne komórki uczestniczące to makrofagi, neutrofile i komórki dendrytyczne. W przypadku przedłużającego się kontaktu z biomateriałem, makrofagi mogą tworzyć tzw. komórki olbrzymie ciała obcego (*foreign body giant cells* – FBGCs), charakterystyczne dla przewlekłej odpowiedzi na ciało obce. Intensywność tej odpowiedzi zależy od właściwości powierzchni, składu chemicznego i kształtu biomateriału.

Ostatnią fazą jest integracja lub izolacja biomateriału. W przypadku materiałów bioinercyjnych, organizm tworzy wokół implantu torebkę włóknistą, ograniczającą kontakt biomateriału z tkankami. Natomiast materiały bioaktywne, jak hydroksyapatyt

czy bioaktywne szkła, wspierają tworzenie nowej tkanki na ich powierzchni – prowadząc do integracji. Biomateriały biodegradowalne, szczególnie te wykorzystywane w rusztowaniach do inżynierii tkankowej, ulegają kontrolowanej degradacji, umożliwiając infiltrację komórek, odbudowę macierzy pozakomórkowej i sukcesywną regenerację uszkodzonej tkanki [105–107].



Rysunek 4. Schemat przebiegu odpowiedzi biologicznej na implantację biomateriału

Implantacja biomateriału inicjuje złożony ciąg procesów biologicznych, których charakter i dynamika zależą bezpośrednio od cech materiału. Jak przedstawiono na Rysunku 4, odpowiedź organizmu obejmuje kolejne etapy: od natychmiastowej reakcji powierzchniowej, przez rekrutację i aktywację komórek układu odpornościowego, po remodeling środowiska tkankowego oraz tworzenie strukturalnych i funkcjonalnych komponentów nowej tkanki. Znajomość tej sekwencji zdarzeń ma kluczowe znaczenie w kontekście przewidywania skuteczności materiału oraz minimalizacji ryzyka reakcji niepożądanych. Współczesne podejścia zakładają aktywne modelowanie tych procesów poprzez odpowiedni dobór i modyfikację właściwości biomateriału na poziomie mikro- i nanostrukturalnym [108,109].

2.2.2. Mechanizmy odpowiedzi komórkowej

Odpowiedź komórkowa na biomateriały odgrywa kluczową rolę w determinowaniu skuteczności wszczepów i systemów terapeutycznych. W zależności od typu biomateriału oraz jego właściwości powierzchniowych, fizykochemicznych i biologicznych, w odpowiedzi tej uczestniczą różne typy komórek, które inicjują,

regulują lub podtrzymują procesy regeneracyjne i immunologiczne. W odpowiedzi na obecność biomateriału w organizmie uruchamiana jest złożona kaskada biologiczna, w której uczestniczą różne typy komórek. Kluczową rolę w pierwszych etapach detekcji i reakcji immunologicznej pełnią makrofagi i monocyty. Komórki te wykazują zdolność do różnicowania w dwa podstawowe fenotypy: prozapalny M_1 , który odpowiada za produkcję cytokin, reaktywnych form tlenu oraz inicjację ostrej fazy zapalnej, oraz regeneracyjny M_2 , wspierający gojenie tkanek i angiogenezę. Równowaga między tymi fenotypami decyduje o kierunku odpowiedzi tkankowej na implant [110,111].

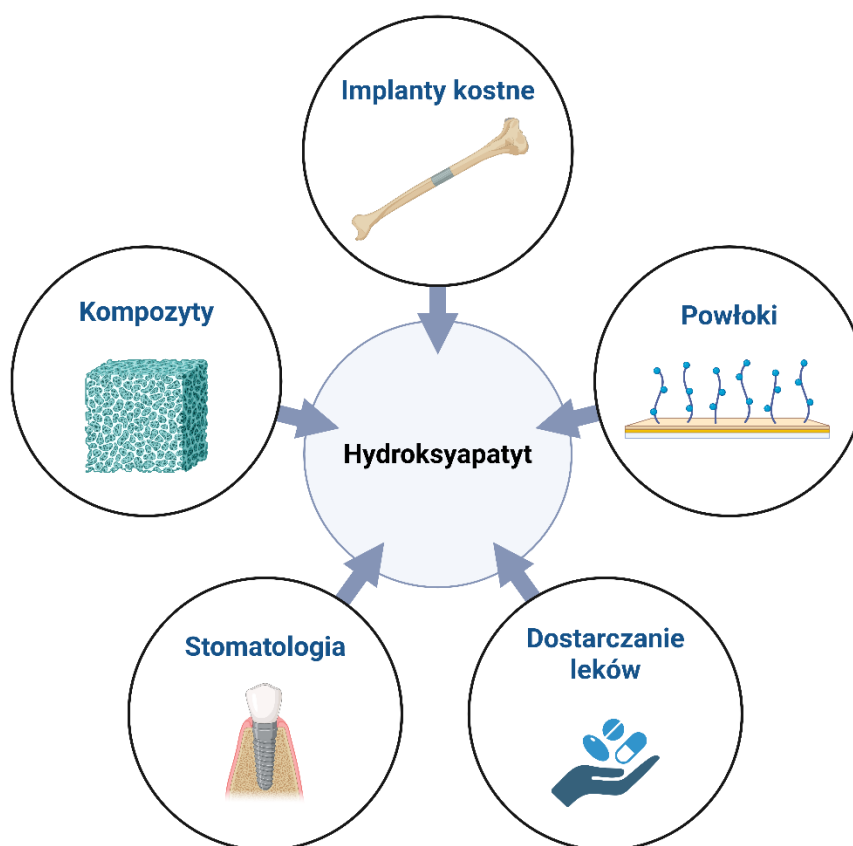
Makrofagi i monocyty są głównymi mediatorami odpowiedzi immunologicznej na biomateriały. Monocyty rekrutowane do miejsca implantacji różnicują się w makrofagi, które pod wpływem sygnałów mikrośrodowiskowych i właściwości biomateriału mogą przyjmować różne fenotypy funkcjonalne. Fenotyp M_1 , związany z odpowiedzią prozapalną, charakteryzuje się zwiększoną fagocytozą oraz wydzielaniem cytokin takich jak $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$ i $IL-6$, co sprzyja eliminacji obcych struktur. Z kolei fenotyp M_2 odpowiada za fazę regeneracyjną, wspierając angiogenezę, produkcję czynników wzrostu (np. $TGF-\beta$, VEGF) oraz przebudowę macierzy pozakomórkowej. Utrzymanie odpowiedniej równowagi między tymi fenotypami jest istotne dla zapobiegania przewlekłemu zapaleniu i dla prawidłowego przebiegu integracji biomateriału z tkanką. W kolejnych fazach odpowiedzi komórkowej istotną rolę odgrywają fibroblasty, które odpowiadają za syntezę składników macierzy pozakomórkowej, takich jak kolagen typu I i III, elastyna czy fibryonektyna. Aktywność fibroblastów może prowadzić do korzystnej przebudowy tkanek, ale w przypadku nadmiernej stymulacji skutkuje tworzeniem blizny i torebki włóknistej, ograniczającej funkcjonalną integrację implantu. Projektowanie biomateriałów o kontrolowanej sztywności i topografii pozwala na modulację zachowania fibroblastów i ograniczenie reakcji fibrotycznych [112,113].

W biomateriałach przeznaczonych do regeneracji tkanek twardych kluczowe znaczenie mają osteoblasty i osteoklasty. Osteoblasty odpowiadają za syntezę i mineralizację macierzy kostnej. Ich aktywność zależy m.in. od sztywności, topografii i bioaktywności powierzchni, a także obecności czynników sygnałowych, takich jak BMP-2. Osteoklasty z kolei biorą udział w fizjologicznej resorpcji kości i remodelingu, jednak ich nadmierna aktywność może prowadzić do degradacji implantu lub osłabienia struktury kostnej. Odpowiednia modulacja tych procesów jest kluczowa dla stabilności długoterminowej wszczepów ortopedycznych i stomatologicznych [114]. W regeneracji tkanek szczególną rolę pełnią również komórki macierzyste, zwłaszcza mezenchymalne komórki macierzyste (MSCs). Ich zdolność do migracji, adhezji i różnicowania w kierunku określonych linii komórkowych – osteoblastów, chondrocytów czy fibroblastów – jest ściśle związana z właściwościami biomateriału. Parametry takie jak sztywność, porowatość, topografia powierzchni czy obecność sekwencji adhezyjnych i czynników wzrostu wpływają na aktywację i kierunek różnicowania MSCs [115].

2.3. Hydroksyapatyt

Hydroksyapatyt, o wzorze chemicznym $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, należy do grupy fosforanów wapnia i stanowi podstawowy składnik mineralny ludzkiej tkanki kostnej i zębów, co czyni go niezwykle ważnym z punktu widzenia inżynierii biomateriałów. Struktura krystaliczna HAp przypomina apatyt biologiczny występujący naturalnie w organizmie człowieka, co warunkuje jego wysoką biogodność oraz bioaktywność. Dzięki tym właściwościom hydroksyapatyt jest zdolny do integracji z żywymi tkankami i inicjowania procesów regeneracyjnych, co znajduje odzwierciedlenie w jego szerokim zastosowaniu klinicznym [116,117].

Jedną z kluczowych cech HAp jest jego zdolność do osteokondukcji, czyli przewodzenia wzrostu nowej tkanki kostnej wzdłuż swojej powierzchni. Dodatkowo, w odpowiednich warunkach, może również wykazywać właściwości osteoindukcyjne, czyli zdolność do indukowania różnicowania komórek w osteoblasty. Te cechy czynią HAp materiałem szczególnie użytecznym w ortopedii, stomatologii i inżynierii tkankowej. Ze względu na swój skład chemiczny i strukturę, HAp jest również zdolny do adsorpcji i immobilizacji różnych czynników biologicznych, takich jak białka, peptydy czy leki, co zwiększa jego funkcjonalność [118].



Rysunek 5. Przykłady zastosowań hydroksyapatytu w medycynie

Pomimo licznych zalet, czysty hydroksyapatyt wykazuje ograniczoną wytrzymałość mechaniczną, zwłaszcza w kontekście naprężeń ścinających i dynamicznych. Jest materiałem kruchym, co ogranicza jego zastosowanie jako samodzielnego implantu w obszarach poddawanych dużym obciążeniom mechanicznym. Aby przezwyciężyć te ograniczenia, HAp często łączy się z innymi materiałami, takimi jak tytan (dla poprawy właściwości mechanicznych), biopolimery (dla zwiększenia elastyczności) oraz szkła bioaktywne i inne ceramiki [119].

Na poziomie strukturalnym HAp może występować w różnych formach – materiału krystalicznego lub amorficznego, a także jako proszki, granulaty, powłoki lub rusztowania trójwymiarowe. Jego właściwości fizykochemiczne mogą być regulowane poprzez kontrolę wielkości cząstek, powierzchni właściwej, porowatości i obecności domieszek jonowych. Wysoka zgodność biologiczna, niska toksyczność, możliwość funkcjonalizacji i integracji z innymi biomateriałami czynią z hydroksyapatytu niezwykle wszechstronny materiał wykorzystywany zarówno w zastosowaniach strukturalnych, jak i funkcjonalnych, takich jak systemy dostarczania leków czy rusztowania do regeneracji kości [120].

2.3.1. Metody otrzymywania hydroksyapatytu

Hydroksyapatyt może być pozyskiwany zarówno z materiałów naturalnych (np. kości zwierzęcych, skorup jaj, zębów) jak i otrzymywany drogą syntezy chemicznej. Metody syntezy chemicznej zapewniają większą czystość i kontrolę nad właściwościami produktu końcowego, takimi jak morfologia cząstek, powierzchnia właściwa i skład fazowy [121]. Do najczęściej stosowanych metod należą:

- Metoda mokrej precypitacji jest najczęściej stosowaną techniką syntezy HAp, umożliwiającą otrzymanie materiału o wysokiej czystości i strukturze zbliżonej do apatytu kostnego. Proces polega na reakcji roztworów soli wapnia (np. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) oraz źródła jonów fosforanowych (np. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ lub H_3PO_4) w środowisku wodnym, przy kontrolowanym pH i temperaturze. W wariancie kwaśnym, reakcję prowadzi się w środowisku o $\text{pH} < 6$, często z dodatkiem kwasu azotowego lub octowego, w temperaturze $60\text{--}90^\circ\text{C}$, co umożliwia kontrolę nad procesem nukleacji i wzrostu kryształów. Wariant zasadowy, prowadzony przy $\text{pH } 8\text{--}11$ (z użyciem NH_4OH lub NaOH), sprzyja formowaniu HAp o wyższej krystaliczności i bioaktywności. Kolejność dodawania reagentów (wapń do fosforu lub odwrotnie) wpływa na morfologię i rozmiar cząstek. Metoda ta jest stosunkowo prosta, tania i łatwa do skalowania, co czyni ją atrakcyjną zarówno w skali laboratoryjnej, jak i półtechnicznej, szczególnie w kontekście zastosowań biomedycznych [122].

- Metoda zol-żel to zaawansowana technika syntezy HAp, umożliwiająca otrzymanie materiałów o wysokiej czystości, jednorodnej mikrostrukturze oraz kontrolowanej porowatości. Proces rozpoczyna się od przygotowania roztworu prekursorowego (zolu), zawierającego związki dostarczające jonów wapnia i fosforanowych (np. alkoksylany wapnia, fosforany organiczne). W wyniku reakcji hydrolizy i kondensacji tworzy się żel – trójwymiarowa sieć zatrzymująca cząsteczki cieczy. Po etapie żelowania materiał poddawany jest starzeniu, suszeniu i kalcynacji, co prowadzi do usunięcia rozpuszczalników i rozwoju krystalicznej struktury HAp. Dzięki możliwości precyzyjnego sterowania parametrami (pH, stężenie, temperatura, czas), metoda ta pozwala uzyskać nanostrukturalny HAp o wysokim stopniu jednorodności. Technika zol-żel znajduje szczególne zastosowanie w otrzymywaniu cienkowarstwowych powłok HAp na powierzchniach implantów. Jej zaletami są niska temperatura syntezy, możliwość modyfikacji bioaktywnymi jonami (np. Sr^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}) oraz dobra kontrola nad strukturą końcowego materiału. Ograniczeniem pozostaje dłuższy czas procesu i trudności w skalowaniu do produkcji przemysłowej [123].
- Metoda hydrotermalna jest techniką, w której proces prowadzony jest w zamkniętych reaktorach ciśnieniowych (autoklawach), w warunkach podwyższonej temperatury (100–250 °C) i ciśnienia (1–10 MPa), co umożliwia kontrolowaną krystalizację z roztworów wodnych zawierających sole wapnia i fosforany. Mimo wysokiej jakości uzyskiwanych materiałów, metoda ta wiąże się z istotnymi ograniczeniami. Wymaga stosowania specjalistycznej aparatury odpornej na korozję, a także dużych nakładów energetycznych związanych z utrzymaniem wysokiego ciśnienia i temperatury przez długi czas syntezy (nawet kilkanaście godzin). Dodatkowo, ze względu na zamknięty charakter układu, trudniejsze jest skalowanie procesu oraz kontrola nad kinetyką reakcji w warunkach przemysłowych [124].
- Metoda mechanochemiczna stanowi technikę opartą na jednoczesnym zastosowaniu sił mechanicznych i reakcji chemicznych zachodzących podczas intensywnego mielenia substratów w młynach kulowych lub planetarnych. Proces ten polega na mechanicznej aktywacji mieszaniny prekursorów wapniowych i fosforanowych – takich jak CaCO_3 , Ca(OH)_2 czy H_3PO_4 – której energia kinetyczna prowadzi do inicjacji reakcji syntezy HA w warunkach suchych lub przy niewielkim udziale rozpuszczalnika (wariant mokro-mechanochemiczny). Zaletą tej metody jest prostota technologiczna, krótki czas reakcji, niska temperatura procesu oraz możliwość łatwego skalowania produkcji. Ponadto, proces ten pozwala na jednoczesne wprowadzanie jonów modyfikujących (np. Mg^{2+} , Sr^{2+} , Zn^{2+}), co rozszerza

właściwości funkcjonalne uzyskanego materiału – nadając mu m.in. cechy osteoindukcyjne lub antybakteryjne. Do głównych ograniczeń metody należy zaliczyć możliwość zanieczyszczenia produktu cząstkami pochodzącymi z elementów mielących, trudność w uzyskaniu jednordnej morfologii oraz ograniczoną kontrolę nad strukturą krystalograficzną [125].

- Metoda osadzania z fazy gazowej (CVD) oraz osadzania fizycznego z fazy gazowej (PVD) to zaawansowane techniki cienkowarstwowe wykorzystywane do nanoszenia HAp na powierzchnie implantów, głównie metalicznych (np. tytanu i jego stopów). Obie metody należą do grupy procesów fizykochemicznych, pozwalających na uzyskanie cienkich, bioaktywnych powłok o kontrolowanej grubości, strukturze i składzie chemicznym. W technice CVD (*Chemical Vapor Deposition*) proces osadzania zachodzi w wyniku reakcji chemicznych par prekursorów, które w wysokiej temperaturze (zwykle 400–1000°C) ulegają rozkładowi lub wzajemnym reakcjom na powierzchni podłoża. Powstaje jednordna warstwa HAp dobrze związana z podłożem, wykazująca wysoką czystość chemiczną i dobrą adhezję. W przypadku PVD (*Physical Vapor Deposition*) materiał źródłowy jest fizycznie odparowywany lub rozpylany, a następnie kondensuje się na powierzchni implantu, tworząc cieką warstwę. Zaletą metod CVD i PVD jest możliwość otrzymywania wysoce zintegrowanych powłok, sprzyjających osteointegracji oraz odporności na degradację w środowisku biologicznym. Ograniczeniami są jednak wysokie koszty operacyjne, złożoność technologiczna oraz konieczność stosowania specjalistycznej aparatury próżniowej lub wysokotemperaturowej [126,127].
- Metoda spalania polega na inicjowaniu szybkiej, silnie egzotermicznej reakcji chemicznej pomiędzy prekursorami zawierającymi wapń i fosfor, zazwyczaj w postaci azotanów oraz związków organicznych (np. moczniku), które pełnią jednocześnie funkcję reduktorów i paliwa. Po osiągnięciu temperatury zapłonu mieszanina samorzutnie ulega spalaniu, co prowadzi do błyskawicznego wzrostu temperatury i utworzenia krystalicznego hydroksyapatytu. Technika ta umożliwia otrzymanie materiału w bardzo krótkim czasie, bez konieczności długotrwałego wypalania, i jest szczególnie przydatna w syntezie proszków nanometrycznych oraz domieszkowanych. Ze względu na intensywność reakcji i szybkość procesu, powstały HAp często cechuje się wysoką czystością, ale też nieregularną morfologią. Do wad zalicza się trudność w precyzyjnym kontrolowaniu struktury i ryzyko powstawania niepożądanych produktów ubocznych, co wymaga starannej optymalizacji składu reagentów i parametrów spalania [128,129].

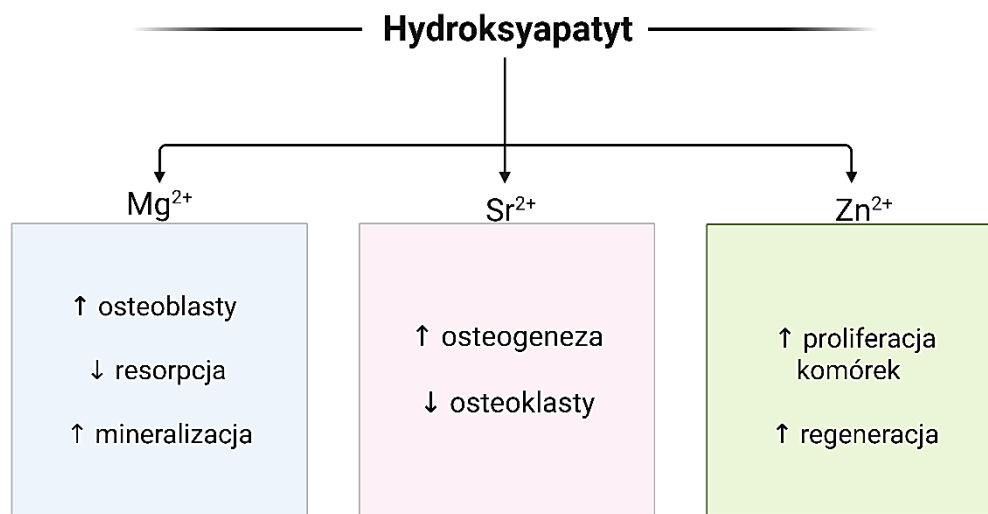
Tabela 3. Podsumowanie metod syntezy hydroksyapatytu – główne cechy, zalety i ograniczenia [121 – 129]

Metoda syntezy	Główne cechy	Zalety	Wady
Mokra precypitacja	Synteza w roztworach wodnych przy kontrolowanym pH i temperaturze	Prosta, tania, łatwa do skalowania; dobra kontrola składu i stechiometrii	Długi czas dojrzewania; niska krystaliczność
Sol-gel	Przekształcenie roztworu w żel i wypalanie	Wysoka czystość, jednorodność, kontrola rozmiaru	Długi czas procesu; ograniczona wydajność
Hydrotermalna	Reakcja pod wysokim ciśnieniem i temperaturą w autoklawie	Wysoka krystaliczność, kontrola morfologii	Wysokie zużycie energii; długi czas syntezy; wymaga autoklawu
Mechanochemiczna	Mielenie substratów w młynach kulowych; na sucho lub mokro	Krótki czas reakcji, skalowalność przemysłowa	Nieregularna morfologia; możliwe zanieczyszczenia z narzędzi mielących
CVD/PVD	Osadzanie cienkich warstw HAp z fazy gazowej lub przez rozpylanie	Cienkie, adhezyjne warstwy; wysoka kontrola grubości i składu	Wysoki koszt sprzętu; skomplikowany proces
Spalania	Egzotermiczna reakcja spalania z udziałem soli i źródeł fosforu	Szybka, tania, wysoka czystość i krystaliczność; brak kalcynacji	Trudna kontrola morfologii; ryzyko powstawania faz wtórnych

2.3.2. Modyfikacja hydroksyapatytu

Hydroksyapatyt, pomimo swojej naturalnej biogodności i podobieństwa do mineralnej frakcji tkanki kostnej, może wykazywać ograniczoną funkcjonalność w kontekście dynamicznych warunków środowiska biologicznego. Dlatego też coraz większą uwagę poświęca się jego modyfikacjom, mającym na celu rozszerzenie spektrum właściwości i dostosowanie go do konkretnych zastosowań klinicznych. Modyfikacje te mogą obejmować zarówno inżynierię składu chemicznego, jak i struktury fizycznej oraz funkcjonalizacji biologicznej [130].

Jednym z najczęściej stosowanych podejść jest domieszkowanie hydroksyapatytu jonami metali, co pozwala modulować jego aktywność biologiczną i właściwości fizykochemiczne. Przykładowo, magnez (Mg^{2+}) wpływa pozytywnie na aktywność osteoblastów i ogranicza resorpcję kostną, podczas gdy stront (Sr^{2+}) działa dwutorowo – stymuluje formowanie nowej tkanki kostnej oraz hamuje aktywność osteoklastów, co znajduje zastosowanie w leczeniu osteoporozy. Cynk (Zn^{2+}) wykazuje działanie przeciwzapalne i wspiera proliferację komórek, a srebro (Ag^+) nadaje materiałowi właściwości przeciwdrobnoustrojowe, redukując ryzyko infekcji okołowszczepowych. Takie jony mogą być wprowadzane zarówno w procesie syntezy, jak i w etapach późniejszej obróbki powierzchniowej, co pozwala na uzyskanie trwałych i stabilnych efektów [131–133].



Rysunek 6. Wpływ wybranych jonów na właściwości biologiczne HAp

Drugim obszarem modyfikacji jest tworzenie kompozytów hydroksyapatytowych, łączących fazę ceramiczną z biopolimerami naturalnymi (np. kolagen, chitozan) lub syntetycznymi (np. PLA, PGA). Takie hybrydowe materiały charakteryzują się lepszą elastycznością, odpornością na pękanie oraz większą bioresorbowalnością w porównaniu do czystego HAp. Obecność matrycy polimerowej sprzyja także lepszej adhezji komórek i wzrostowi tkanek, czyniąc kompozyty

szczególnie obiecującymi w inżynierii tkankowej. Dobór rodzaju polimeru i jego udziału w kompozycji pozwala regulować tempo degradacji, właściwości mechaniczne oraz interakcje z komórkami [134].

Kolejnym kierunkiem zaawansowanej modyfikacji są materiały opierające się na nanotechnologii, w tym integracja HAp z nanomateriałami węglowymi, takimi jak grafen, tlenek grafenu czy nanorurki węglowe. Te dodatki poprawiają przewodnictwo elektryczne oraz zwiększają wytrzymałość mechaniczną materiału, co ma znaczenie szczególnie w kontekście regeneracji tkanek nerwowych i kostnych, gdzie stymulacja elektryczna może wspierać różnicowanie komórek. Ponadto, struktury grafenowe mogą pełnić rolę rusztowania dla wzrostu komórek i nośnika cząsteczek bioaktywnych. Innowacyjnym podejściem jest także wprowadzenie nanocząstek magnetycznych, takich jak nanocząstki Fe_3O_4 , które nadają materiałom zdolność do zdalnej kontroli przy użyciu pola magnetycznego. Modyfikacja taka umożliwia np. kierunkowanie materiału w organizmie, wzrost celowanej akumulacji leku lub stymulację termiczną. W rezultacie powstają wielofunkcyjne systemy, które łączą właściwości strukturalne rusztowania z funkcją terapeutyczną i diagnostyczną [135,136].

Następnie, równie istotnym kierunkiem modyfikacji hydroksyapatytu jest adsorpcja substancji biologicznie czynnych, w szczególności antybiotyków, na jego powierzchni. Dzięki wysokiej powierzchni właściwej oraz zdolności do wiązania cząsteczek organicznych, HAp stanowi efektywny nośnik dla leków przeciwdrobnoustrojowych, takich jak klindamycyna, gentamycyna, wankomycyna czy ciprofloksacyna. Adsorpcja antybiotyków na powierzchni HAp pozwala uzyskać materiał o działaniu miejscowym, który po implantacji uwalnia substancje czynne bezpośrednio w miejscu potencjalnego zakażenia. Taka strategia ogranicza potrzebę systemowego podawania leków, redukuje ryzyko działań niepożądanych i zwiększa skuteczność przeciwdrobnoustrojową. Co więcej, kontrola warunków adsorpcji (np. pH, czasu kontaktu, nośnika polimerowego) umożliwia projektowanie systemów o przedłużonym i kontrolowanym profilu uwalniania. Modyfikacje tego typu są szczególnie istotne w kontekście profilaktyki i leczenia infekcji okołowszczepowych oraz w konstrukcji inteligentnych materiałów przeciwdrobnoustrojowych nowej generacji [137–139].

Modyfikacje hydroksyapatytu nie tylko zwiększają jego funkcjonalność, ale także umożliwiają dostosowanie materiału do specyficznych potrzeb terapeutycznych, od osteointegracji i kontroli infekcji, po zaawansowane zastosowania w medycynie regeneracyjnej i terapii celowanej. Dzięki zastosowaniu strategii wieloskładnikowych, możliwe jest projektowanie inteligentnych i bioaktywnych materiałów nowej generacji.

2.4. Kompozyty ceramiczno-polimerowe

Kompozyty ceramiczno-polimerowe są uznawane za jedną z najbardziej wszechstronnych i adaptowalnych klas biomateriałów, z uwagi na możliwość dostosowania ich właściwości fizycznych, chemicznych, biologicznych i mechanicznych do konkretnych zastosowań klinicznych. Ich struktura opiera się na synergicznym połączeniu dwóch faz: fazy ceramicznej, zapewniającej sztywność i bioaktywność oraz fazy polimerowej, która nadaje materiałowi elastyczność, podatność na degradację oraz łatwość przetwarzania [140].

Faza ceramiczna, najczęściej reprezentowana przez hydroksyapatyt, bioszło, β -TCP (trójfosforan wapnia) czy ceramikę tlenkową (Al_2O_3 , ZrO_2), zapewnia bioaktywność, osteokondukcyjność i możliwość integracji z żywą tkanką kostną. Badania wykazały, że HAp sprzyja wiązaniu z kolagenową macierzą pozakomórkową, a także stymuluje ekspresję markerów osteoblastycznych, takich jak ALP i osteokalcyna. Jednakże ze względu na ich kruchość i ograniczoną odporność na ścinanie, materiały ceramiczne nie są wykorzystywane samodzielnie w miejscach narażonych na obciążenia mechaniczne. Faza polimerowa obejmuje polimery biodegradowalne, takie jak PLA, PGA, PLC, kopolimery PLGA, jak również biopolimery naturalne – kolagen, chitozan, żelatynę. Polimery te zapewniają kontrolowaną biodegradację i pozwalają na formowanie przestrzennie złożonych mikrostruktur wspierających migrację, adhezję i różnicowanie komórek. W połączeniu z komponentami ceramicznymi tworzą materiały, które mogą być dostosowane do indywidualnych potrzeb terapeutycznych [141–143].

Właściwości kompozytów mogą być modyfikowane poprzez regulację składu fazowego, stopnia porowatości, orientacji włókien, domieszkowanie jonami oraz funkcjonalizację powierzchni bioaktywnymi cząsteczkami. Tego typu modyfikacje mogą wspierać angiogenezę, osteogenezę, immunomodulację oraz integrację z tkanką gospodarza. Literatura wskazuje również na możliwość zastosowania domieszek nanoproszków magnetycznych (Fe_3O_4), w celu uzyskania materiałów sterowalnych polem magnetycznym, co może wspomagać kierunkową regenerację tkanek lub kontrolowane uwalnianie leków [144,145]. Współczesne kompozyty ceramiczno-polimerowe są projektowane jako materiały wielofunkcyjne: mogą pełnić funkcję mechaniczną (rusztowania), biologiczną (interakcja z komórkami) oraz terapeutyczną (nośniki leków, czynniki wzrostu). Dzięki swojej konfigurowalności są wykorzystywane w regeneracji tkanki kostnej, chrząstki, tkanek miękkich, jako opatrunki oraz implanty biodegradowalne. Prace przeglądowe i dane eksperymentalne wskazują, że dobrze zaprojektowane kompozyty mogą dorównywać, a nawet przewyższać właściwościami funkcjonalnymi klasyczne implanty metalowe w warunkach klinicznych [143,146,147].

W projektowaniu kompozytów ceramiczno-polimerowych wyróżnia się kilka głównych rodzajów, które przeznaczone są do konkretnych funkcji biologicznych, mechanicznych i terapeutycznych. Najczęściej stosowane są kompozyty o strukturze makro- lub mikroporowatej, w których faza ceramiczna stanowi szkielet sztywny,

a faza polimerowa wypełnia przestrzeń międzycząsteczkową lub pokrywa powierzchnię ceramicznych cząstek. Tego typu konfiguracje znajdują zastosowanie głównie jako rusztowania do regeneracji kości, gdzie istotna jest zarówno nośność strukturalna, jak i bioaktywność wspomagająca kolonizację komórkową [148,149].

Inną kategorię stanowią kompozyty warstwowe, w których poszczególne warstwy pełnią różne funkcje – np. warstwa ceramiczna odpowiada za kontakt z tkanką kostną i jej stymulację, natomiast zewnętrzna warstwa polimerowa kontroluje biodegradację lub pełni funkcję nośnika leków. Struktury te są wykorzystywane m.in. w powłokach implantologicznych oraz w produkcji biodegradowalnych membran barierowych [150,151]. Istnieją również kompozyty gradientowe charakteryzujące się ciągłą zmianą udziału faz ceramicznej i polimerowej w przekroju materiału, co pozwala lepiej dopasować właściwości mechaniczne do warunków fizjologicznych różnych typów tkanek (np. przejście z tkanki miękkiej do kostnej). Pomimo atrakcyjności tego rozwiązania, produkcja materiałów gradientowych pozostaje wyzwaniem technologicznym z uwagi na trudność w uzyskaniu jednorodnego przejścia fazowego oraz stabilności strukturalnej [152]. Dużą grupę stanowią również kompozyty *in situ* formujące się w organizmie, które po aplikacji w formie pasty, hydrożelu lub zawiesiny ulegają żelowaniu, utwardzeniu lub mineralizacji bezpośrednio w miejscu uszkodzenia tkanki. Takie materiały wymagają wysokiej biogodności, odpowiedniej reologii i możliwości dostosowania czasu sieciowania do warunków klinicznych. Ich zaletą jest minimalna inwazyjność oraz możliwość wypełniania nieregularnych ubytków, jednak ograniczeniem może być trudność kontroli nad ich właściwościami mechanicznymi po implantacji [153,154].

Wspólnym wyzwaniem dla większości kompozytów ceramiczno-polimerowych pozostaje optymalizacja granicy fazowej pomiędzy komponentami, różnice w charakterze chemicznym i właściwościach fizycznych (np. hydrofilowość, sztywność) mogą prowadzić do osłabienia adhezji i powstawania defektów mechanicznych. Istotnym ograniczeniem jest także różna kinetyka degradacji fazy polimerowej i resorpcji ceramicznej, co może zaburzyć integralność materiału w czasie gojenia. Dodatkową trudność stanowi zachowanie jednocześnie wysokiej bioaktywności, stabilności mechanicznej i kontrolowanej degradacji.

3. UZASADNIENIE PODJĘCIA TEMATYKI BADAWCZEJ

Dynamiczny rozwój medycyny regeneracyjnej, inżynierii tkankowej oraz nowoczesnej chirurgii wymaga opracowywania innowacyjnych materiałów, które łączą wysoką bioaktywność z odpowiednimi właściwościami mechanicznymi i funkcjonalnymi. W odpowiedzi na te potrzeby szczególne znaczenie zyskują biomateriały kompozytowe, a zwłaszcza kompozyty ceramiczno-polimerowe, które dzięki swojej strukturalnej złożoności i możliwości modyfikacji wykazują potencjał przekraczający możliwości pojedynczych komponentów. Połączenie fazy ceramicznej (zapewniającej sztywność, bioaktywność i osteokondukcyjność) z fazą polimerową (odpowiedzialną za elastyczność, bioresorbowalność i możliwość funkcjonalizacji) pozwala uzyskać materiały wielofunkcyjne, zdolne do jednoczesnego spełniania wymogów strukturalnych i biologicznych.

W świetle aktualnego stanu wiedzy biomateriały takie jak hydroksyapatyt stanowią złoty standard w rekonstrukcji tkanki kostnej, jednak ich kruchość ogranicza zastosowania strukturalne. Z drugiej strony, polimery oferują znakomite właściwości przetwórcze, ale niska bioaktywność ogranicza ich integrację z tkankami. Kompozyty tych dwóch klas stanowią zatem racjonalny i perspektywiczny kierunek rozwoju, łączący zalety obu komponentów. Jednocześnie literatura wskazuje na potrzebę dalszych badań nad modyfikacjami strukturalnymi i powierzchniowymi tego typu materiałów, w celu poprawy właściwości biologicznych, mechanicznych i terapeutycznych. Szczególnie istotne jest opracowanie strategii pozwalających na projektowanie materiałów dostosowanych do konkretnych wskazań klinicznych, z uwzględnieniem medycyny personalizowanej oraz wymagań dotyczących integracji, bezpieczeństwa i skuteczności terapeutycznej.

Oprócz dynamicznego rozwoju inżynierii materiałowej oraz stale rosnących wymagań stawianych nowym, innowacyjnym technologiom biomedycznym – takich jak ich bioaktywność, biodegradowalność, możliwość personalizacji czy zgodność z zasadami zrównoważonego rozwoju – niezwykle istotny pozostaje aspekt społeczny opracowywania biomateriałów nowej generacji. Jednym z głównych wyzwań współczesnej medycyny i zdrowia publicznego jest proces starzenia się społeczeństwa, który postępuje w skali globalnej. Prognozy wskazują, że odsetek osób w wieku ponad 65 lat będzie systematycznie wzrastać. Starzenie się organizmu wiąże się z pogorszeniem funkcji regeneracyjnych, obniżeniem masy kostnej i mięśniowej oraz wzrostem ryzyka urazów i chorób przewlekłych, w tym osteoporozy, zapaleń stawów czy nowotworów układu szkieletowego [155–159].

Osteoporoza, jako jedna z chorób cywilizacyjnych XXI wieku, stanowi szczególnie istotny problem, zarówno kliniczny, jak i społeczny. Charakteryzuje się postępującą utratą masy kostnej oraz zwiększoną podatnością na złamania, które często prowadzą do poważnych powikłań, hospitalizacji, a nawet trwałej utraty samodzielności.

Choroba ta dotyka głównie kobiety po menopauzie i osoby starsze, co czyni ją jednym z najczęstszych wskazań do stosowania biomateriałów kostnych wspomagających leczenie ubytków i rekonstrukcji kości [160–163].



Rysunek 7. Skala problemu osteoporozy, opracowanie własne na podstawie danych International Osteoporosis Foundation (IOF)

W świetle wyzwań związanych z chorobami cywilizacyjnymi, takimi jak osteoporoza, oraz koniecznością poprawy efektywności i bezpieczeństwa terapii implantologicznych, projektowanie materiałów o właściwościach regeneracyjnych, bioaktywnych i dostosowanych do specyfiki zastosowania klinicznego zyskuje coraz większe znaczenie. Nowoczesne podejście do inżynierii materiałowej wymaga uwzględnienia nie tylko parametrów technicznych, ale również aspektów biologicznych, środowiskowych i społecznych. Biomateriały kompozytowe, łączące cechy faz ceramicznych i polimerowych, pozwalają na lepsze dostosowanie właściwości mechanicznych, biologicznych i degradacyjnych do wymagań konkretnych terapii. Analiza stanu zagadnienia potwierdza, iż temat przewodzi rozprawie doktorskiej wpisuje się w aktualne potrzeby zarówno nauki jak i społeczeństwa. Realizacja założonych celów niniejszej pracy może przyczynić się do lepszego zrozumienia zależności między składem, strukturą i funkcją materiału, a także do opracowania rozwiązań mających zastosowanie praktyczne w nowoczesnych terapiach chirurgicznych i implantologicznych.

4. TEZA I CEL PRACY

Na podstawie analizy literatury przeprowadzonej w ramach oceny aktualnego stanu wiedzy sformułowano następującą **tezę naukową pracy**:

Odpowiednio zaprojektowane biomateriały kompozytowe, zawierające fazę ceramiczną oraz fazę polimerową modyfikowaną bioaktywnymi dodatkami, mogą stanowić skuteczne rozwiązanie dla inżynierii i chirurgii regeneracyjnej. Ich właściwości fizykochemiczne, mechaniczne i biologiczne można kształtować poprzez dobór składu i struktury na etapie syntezy. W rezultacie można uzyskać materiały wspomagające regenerację tkanki kostnej oraz minimalizujące ryzyko infekcji, odpowiadające aktualnym wyzwaniom klinicznym związanym z leczeniem osteoporozy i ubytków kostnych.

Celem naukowym niniejszej rozprawy doktorskiej było opracowanie oraz charakterystyka bioaktywnych materiałów kompozytowych opartych na hydroksyapatycie i wybranych polimerach naturalnych oraz syntetycznych, przeznaczonych do zastosowań w inżynierii tkanki kostnej. Praca miała na celu ocenę wpływu składu oraz mikrostruktury kompozytów na ich właściwości fizykochemiczne, mechaniczne, sorpcyjne i bioaktywne, ze szczególnym uwzględnieniem kontrolowanego uwalniania substancji czynnych, interakcji z środowiskiem biologicznym oraz potencjału przeciwdrobnoustrojowego opracowanych systemów.

Celem utylitarnym rozprawy doktorskiej było wytypowanie biomateriału kompozytowego, który – dzięki swoim właściwościom fizykochemicznym, mechanicznym i biologicznym – będzie posiadał realny potencjał do zastosowań w inżynierii i chirurgii tkanki kostnej.

W szczególności, celem jest identyfikacja takiej kompozycji materiałowej, która może być wykorzystana jako:

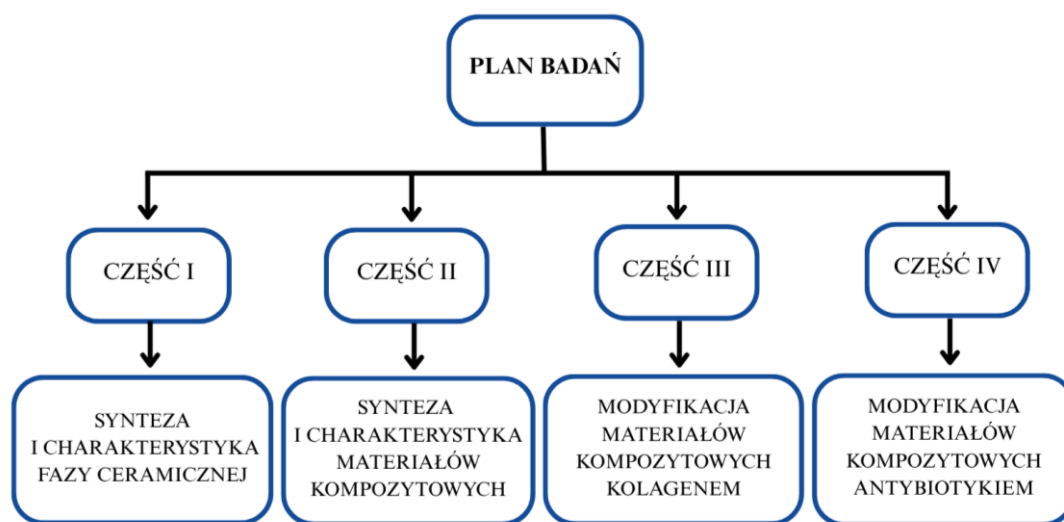
- tymczasowe wypełnienie ubytków kostnych wspierające regenerację,
- lub/i rusztowanie do tworzenia nowej tkanki kostnej,
- lub/i nośnik substancji bioaktywnych (np. antybiotyków), umożliwiający ich kontrolowane uwalnianie w miejscu implantacji.

Ostatecznym efektem będzie wskazanie kompozytu, który spełnia kryteria biogodności, bioaktywności i odpowiednich parametrów aplikacyjnych, co czyni go kandydatem do dalszych prac wdrożeniowych w obszarze medycyny regeneracyjnej.

5. PLAN BADAŃ

W ramach realizacji tematyki niniejszej rozprawy doktorskiej opracowano plan badań obejmujący cztery zasadnicze etapy, które odpowiadają kolejnym fazom rozwoju i modyfikacji materiału kompozytowego.

Część I obejmuje syntezę i charakterystykę fazy ceramicznej – hydroksyapatytu, stanowiącego podstawowy komponent bioaktywny i strukturalny. W Części II przeprowadzono syntezę bazowych materiałów kompozytowych poprzez połączenie fazy ceramicznej z wybranymi polimerami syntetycznymi. Część III poświęcono modyfikacji kompozytów poprzez dodatek kolagenu – składnika naturalnego, mającego na celu poprawę właściwości bioaktywnych. Ostatni etap, Część IV, dotyczył funkcjonalizacji materiału poprzez wprowadzenie antybiotyku, co miało na celu nadanie kompozytowi aktywności przeciwdrobnoustrojowej, istotnej w kontekście zastosowań implantologicznych. Taki układ badań umożliwił systematyczną analizę wpływu kolejnych etapów modyfikacji na właściwości otrzymywanych materiałów oraz pozwolił na identyfikację zależności między składem, strukturą a funkcjonalnością biomateriału. Uproszczony schemat planu badań zaprezentowano na Rysunku 8.

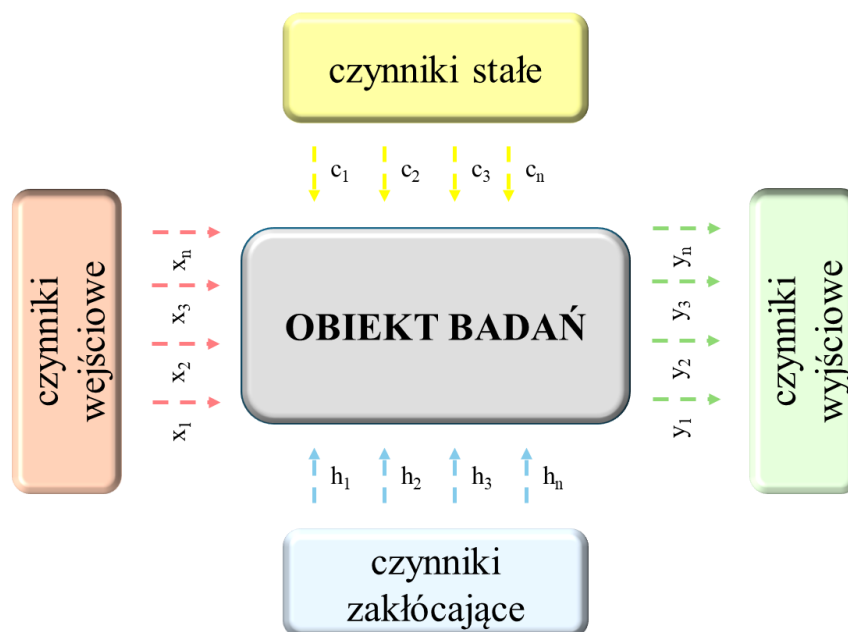


Rysunek 8. Uproszczony schemat planu badań niniejszej rozprawy doktorskiej

Zgodnie z techniką planowania doświadczeń, dla każdej części pracy doktorskiej dokonano identyfikacji i klasyfikacji kluczowych czynników wpływających na przebieg i wyniki badań. W oparciu o przyjętą strukturę eksperymentu, czynniki podzielono na cztery główne grupy:

- x – czynniki wejściowe, celowo modyfikowane w ramach eksperymentu w celu oceny ich wpływu na właściwości materiałów,

- y – czynniki wyjściowe, będące bezpośrednią odpowiedzią układu badawczego na działanie zmiennych wejściowych,
- c – czynniki stałe, których wartości były utrzymywane na niezmiennym poziomie w celu zapewnienia porównywalności wyników,
- h – czynniki zakłócające, stanowiące zmienne losowe lub trudne do pełnej kontroli, mogące wpływać na powtarzalność pomiarów i wiarygodność wyników.



Rysunek 9. Schemat klasyfikacji czynników eksperymentalnych

Zestawienie czynników eksperymentalnych dla Części I, obejmującej syntezę i charakterystykę fazy ceramicznej, podzielono zgodnie z następującą klasyfikacją:

- czynniki wejściowe:
 - x_1 - pH środowiska reakcyjnego (5,5 / 8,0 / 11,0)
 - x_2 - stężenie reagentów względem referencyjnych (% , np. 100–200%)
 - x_3 - rodzaj mieszadła (mechaniczne / magnetyczne)
- czynniki wyjściowe:
 - y_1 - rozmiar krystalitów (nm)
 - y_2 - udział masowy fazy HAp (%)
 - y_3 - powierzchnia właściwa (m^2/g)
 - y_4 - porowatość (cm^3/g)
 - y_5 - stosunek Ca/P (bezwymiarowy)
 - y_6 - cytotoksyczność (% , test MTT)
 - y_7 - tempo sedimentacji (mm/min)
- czynniki stałe:
 - c_1 - temperatura syntezy
 - c_2 - czas dojrzewania osadu

c₃ - metoda suszenia

- czynniki zakłócające:

h₁ - zanieczyszczenia odczynników

h₁ - nierównomierne mieszanie

h₁ - aglomeracja cząstek w zawiesinie

Zestawienie czynników eksperymentalnych dla Części II, obejmującej syntezę i charakterystykę materiałów kompozytowych, podzielono zgodnie z następującą klasyfikacją:

- czynniki wejściowe:

x₁ – stężenie i rodzaj polimeru

x₂ – rodzaj i ilość czynnika sieciującego

x₃ – rodzaj i ilość fotoinicjatora

x₄ – zawartość HAp w kompozycie

- czynniki wyjściowe:

y₁ - szybkość sedymentacji cząstek HAp (mm/min)

y₂ - efektywność fotopolimeryzacji (polimeryzacja pełna/częściowa, brak)

y₃ - współczynnik pęcznienia (g/g po 24, 48, 72 h)

y₄ - morfologia powierzchni (SEM)

y₅ - skład pierwiastkowy (EDS)

y₆ - cytotoksyczność (test MTT, % żywotności)

y₇ - aktywność zapalna (poziom NF-κB)

- czynniki stałe:

c₁ - czas naświetlania UV (120 s)

c₂ - objętość polimeru (10 ml)

c₃ - rodzaj i moc lampy UV (EMITA, 180 W)

c₄ - warunki inkubacji (temperatura)

- czynniki zakłócające:

h₁ - nieplanowane interakcje komponentów

h₂ - niejednorodne rozmieszczenie fazy ceramicznej

h₃ - sedymentacja fazy ceramicznej

Zestawienie czynników eksperymentalnych dla Części III, dotyczącej modyfikacji materiałów kompozytowych kolagenem, podzielono zgodnie z następującą klasyfikacją:

- czynniki wejściowe:

x₁ - rodzaj kolagenu (rybi/wołowy)

x₂ - zawartość kolagenu w kompozycie

x₃ - rodzaj czynnika sieciującego

x₄ - obecność HAp

- x_5 - medium inkubacyjne
- czynniki wyjściowe:
 - y_1 - współczynnik pęcznienia – (g/g)
 - y_2 - zmiana pH medium inkubacyjnego – (jednostki pH)
 - y_3 - kąt zwilżania – ($^{\circ}$)
 - y_4 - składnik polarny/dyspersyjny energii powierzchniowej – (mJ/m²)
 - y_5 - parametry chropowatości R_a , R_q , R_{sk} – (μ m)
 - y_6 - twardość Shore A – (jednostki Shore A)
 - y_7 - wytrzymałość na rozciąganie – (MPa)
 - y_8 - wydłużenie względne przy zerwaniu – (%)
 - y_9 - współczynnik tarcia
 - y_{10} - objętość zużycia – (mm³)
 - y_{11} - całkowita porowatość – (%)
 - y_{12} - procentowa ilość uwolnionego kolagenu – (%)
- czynniki stałe:
 - c_1 - skład matrycy bazowej
 - c_2 - czas naświetlania UV (120 s)
 - c_3 - rodzaj i moc lampy UV (EMITA, 180 W)
- czynniki zakłócające:
 - h_1 - różnice w strukturze molekularnej kolagenu rybiego i wołowego
 - h_2 - lokalna niejednorodność w sieciowaniu
 - h_3 - wrażliwość kolagenu na pH i temperaturę
 - h_4 - ograniczona rozpuszczalność i dyfuzja kolagenu w głębszych warstwach materiału

Zestawienie czynników eksperymentalnych dla Części IV, obejmującej modyfikację materiałów kompozytowych substancją przeciwbakteryjną, podzielono zgodnie z następującą klasyfikacją:

- czynniki wejściowe:
 - x_1 - obecność klindamycyny w kompozycie
 - x_2 - czas inkubacji w badaniu uwalniania
- czynniki wyjściowe:
 - y_1 - procentowa ilość uwolnionej klindamycyny – (%)
 - y_2 - współczynnik determinacji R^2 (dopasowanie do modelu)
 - y_3 - średnica strefy inhibicji wzrostu bakterii – (mm)
- czynniki stałe:
 - c_1 - skład matrycy bazowej
 - c_2 - czas naświetlania UV (120 s)
 - c_3 - rodzaj i moc lampy UV (EMITA, 180 W)
 - c_4 - stężenie klindamycyny

c₅ - gatunek bakterii: *Staphylococcus aureus*

c₆ - warunki inkubacji: temperatura, czas

- czynniki zakłócające:

h₁ - niejednorodność adsorpcji klindamycyny na HAp

h₂ - degradacja antybiotyku podczas inkubacji

h₃ - zmiany w strukturze porowatej kompozytu, wpływające na dyfuzję

h₄ - zmienna aktywność biologiczna bakterii

h₅ - ograniczenia dokładności metod

Plan badań przedstawiony w niniejszej pracy został opracowany w sposób umożliwiający etapową realizację założonych celów eksperymentalnych. Poszczególne etapy badawcze odzwierciedlają kolejne fazy rozwoju materiału kompozytowego – od syntezy fazy ceramicznej, przez projektowanie matrycy, po jej funkcjonalizację z wykorzystaniem substancji bioaktywnych. Przyjęta struktura pozwoliła na systematyczną ocenę wpływu wybranych parametrów na wybrane właściwości otrzymanego opracowywanych materiałów. Jednocześnie, zastosowanie klasyfikacji czynników eksperymentalnych według ustalonego schematu (czynniki wejściowe, wyjściowe, stałe i zakłócające) sprzyjało zachowaniu przejrzystości procesu badawczego oraz umożliwiło identyfikację kluczowych zmiennych wpływających na wynik końcowy.

6. CHARAKTERYSTYKA WYKORZYSTYWANYCH REAGENTÓW

Do syntezy hydroksyapatytu oraz przygotowania materiałów kompozytowych zastosowano odczynniki chemiczne o wysokiej czystości. W syntezie fazy ceramicznej wykorzystano następujące odczynniki: diwodorofosforan amonu ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, czystość ACS, $\geq 98\%$), azotan wapnia tetrawodny ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, czystość ACS, 99%) oraz wodę amoniakalną (NH_4OH , 25%). Wszystkie powyższe związki chemiczne zakupiono w firmie Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA) i stosowano bez dodatkowego oczyszczania. Jako materiał referencyjny wykorzystano komercyjny hydroksyapatyt (proszek, czystość $\geq 90\%$), również pochodzący z oferty Sigma-Aldrich.

W dalszym etapie, podczas otrzymywania materiałów kompozytowych, użyto polimerów: alkoholu poliwinylowego (PVA, krystaliczny proszek, stopień hydrolizy 87–89%, masa cząsteczkowa 13 000–23 000 g/mol) oraz poliwinylolipirolidonu (PVP, proszek, średnia masa cząsteczkowa 10 000 g/mol). W celu sieciowania matrycy zastosowano diakrylan poli(glikolu etylenowego) (PEGDA) o średnich masach cząsteczkowych $M_n = 250$ g/mol, $M_n = 575$ g/mol oraz $M_n = 700$ g/mol. Jako inicjator reakcji fotopolimeryzacji użyto 2-hydroksy-2-metylopropiofenonu (czystość 97%, gęstość 1,077 g/mL) lub tioxanthen-9-on w postaci 0,01% zawiesiny wodnej. Wszystkie wymienione odczynniki pochodziły z firmy Sigma-Aldrich. Dodatkowo, do modyfikacji kompozytów zastosowano hydrolizaty kolagenu: rybiego (masa cząsteczkowa 2000–5000 Da) oraz wołowego (masa cząsteczkowa < 3000 Da), zakupione w firmie Xi'an Gawen Biotechnology Co., Ltd. Jako antybiotyk wykorzystano chlorowoderek klindamycyny (*pharmaceutical primary standard*) również zakupiony w firmie Sigma-Aldrich.

Tabela 4. Zestawienie wybranych reagentów wraz z ich funkcją

Składnik	Funkcja
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	Źródło fosforu w syntezie HAp
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Źródło wapnia w syntezie HAp
NH_4OH	Regulator pH w syntezie HAp
HAp komercyjny	Materiał referencyjny
PVA	Składnik matrycy polimerowej
PVP	Składnik matrycy polimerowej
PEGDA 250 / 575 / 700	Czynnik sieciujący matrycy
2-hydroksy-2-metylopropiofenon	Fotoinicjator sieciowania
Tioxanthen-9-on	Fotoinicjator sieciowania
Kolagen rybi (Kol-r)	Składnik bioaktywny
Kolagen wołowy (Kol-w)	Składnik bioaktywny
Chlorowoderek klindamycyny	Antybiotyk

7. METODYKA BADAŃ

7.1. Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera

Spektroskopia FT-IR została zastosowana na różnych etapach pracy do analizy struktury chemicznej badanych materiałów. W części pierwszej posłużyła do oceny składu fazowego fosforanów wapnia otrzymanych w wyniku syntezy w różnych warunkach reakcyjnych, co umożliwiło identyfikację pasm charakterystycznych dla grup fosforanowych oraz ewentualnych domieszek faz towarzyszących. W kolejnych etapach badania wykorzystano technikę FT-IR do potwierdzenia obecności poszczególnych komponentów w matrycach polimerowych, materiałach kompozytowych oraz próbkach modyfikowanych bioaktywnymi dodatkami – takimi jak hydrolizat kolagenu i klindamycyna.

Widma FT-IR rejestrowano przy użyciu spektrofotometru Thermo Scientific Nicolet iS5 z przystawką ATR iD7 (Loughborough, Wielka Brytania). Analizy prowadzono w zakresie długości fali 4000–500 cm^{-1} , z zastosowaniem 32 skanów dla każdej próbki, przy rozdzielczości 4,0 cm^{-1} i w temperaturze pokojowej.

7.2. Spektroskopia Ramana

Spektroskopia Ramana została zastosowana do analizy proszków fosforanów wapnia. Jej celem była ocena składu fazowego oraz identyfikacja zmian chemicznych zachodzących w materiale w zależności od parametrów reakcji.

Pomiary spektroskopii Ramana przeprowadzono za pomocą spektrometru WITec Alpha M300+ (WITec Corp., Ulm, Niemcy) wyposażonego w mikroskop konfokalny oraz laser Nd-YAG o długości fali 532 nm i mocy 50 mW. Kalibrację aparatu przeprowadzono względem pasma krzemu przy 520 cm^{-1} . Widma rejestrowano przy czasie integracji 2 s oraz 200 akumulacjach, co zapewniało wysoką rozdzielczość sygnału i umożliwiało identyfikację subtelnych zmian chemicznych w analizowanych próbkach.

7.3. Dyfrakcja rentgenowska

Technika XRD została zastosowana w pierwszym etapie badań do analizy składu fazowego proszków HAp otrzymanych w różnych warunkach syntezy. Celem pomiarów była identyfikacja głównych faz krystalicznych oraz oszacowanie parametrów strukturalnych, takich jak rozmiar krystalitów, odkształcenie sieci oraz objętość komórki elementarnej.

Pomiary wykonano za pomocą dyfraktometru Bruker D8 Advance z katodą Cu-K α ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) i detektorem LYNXEYE XE-T, w zakresie 5°–80° 2 Θ , z krokiem 0,02° i prędkością skanowania 4,8°/min. Fazy krystaliczne identyfikowano przy użyciu

programu DIFFRAC.EVA oraz bazy danych COD (Crystallography Open Database). Analiza strukturalna została przeprowadzona metodą Rietvelda w programie TOPAS 6, z wykorzystaniem funkcji pseudo-Voigta do opisu kształtu refleksów. Jako kryteria jakości dopasowania zastosowano współczynniki Rwp (*weighted-pattern R-factor*) oraz GOF (*goodness-of-fit*).

7.4. Oznaczenie zawartości wapnia i fosforu

Oznaczenie zawartości wapnia przeprowadzono zgodnie z normą PN-97/R-64803, stosując metodę kompleksometryczną z wykorzystaniem miareczkowania roztworem EDTA. Celem analizy było porównanie składu chemicznego otrzymanego syntetycznie hydroksyapatytu z materiałem komercyjnym.

Do oznaczeń odważono po około 0,1 g materiału (z dokładnością do 0,001 g) i następnie dodano 10 cm³ roztworu HNO₃ o stężeniu 3 M ogrzewając pod przykryciem przez 8 minut. Po dodaniu 20 cm³ wody destylowanej, mieszaninę poddano dalszemu gotowaniu przez kolejne 5 minut, po czym roztwory ostudzono i przeniesiono ilościowo do kolbek miarowych o objętości 100 cm³. W kolejnym etapie dodano 6,25 cm³ roztworu azotanu(V) bizmutu(III) o stężeniu 0,4 M, a objętość uzupełniono wodą destylowaną do kreski. Roztwory wymieszano, pozostawiono na 3 minuty i przesączono przez podwójny sączek twardy jakościowy, odrzucając pierwsze 20 cm³ przesączu. Do każdej kolby stożkowej odmierzone 25 cm³ przesączu, 25 cm³ wody destylowanej oraz 3 cm³ roztworu 25% trietanolaminy. Mieszaninę zobojętniano 20% roztworem KOH do uzyskania pH w zakresie 5–7, kontrolowanego za pomocą papierka wskaźnikowego. Następnie dodano kolejne 10 cm³ roztworu 20% KOH oraz szczyptę wskaźnika, po czym przeprowadzono miareczkowanie mianowanym roztworem EDTA o stężeniu 0,2 M do momentu zaniku zielonkawej barwy.

Zawartość wapnia (w g/g próbki) obliczano na podstawie zależności:

$$Ca = \frac{V_1 * c * V_2}{V_3 * m} \quad (1)$$

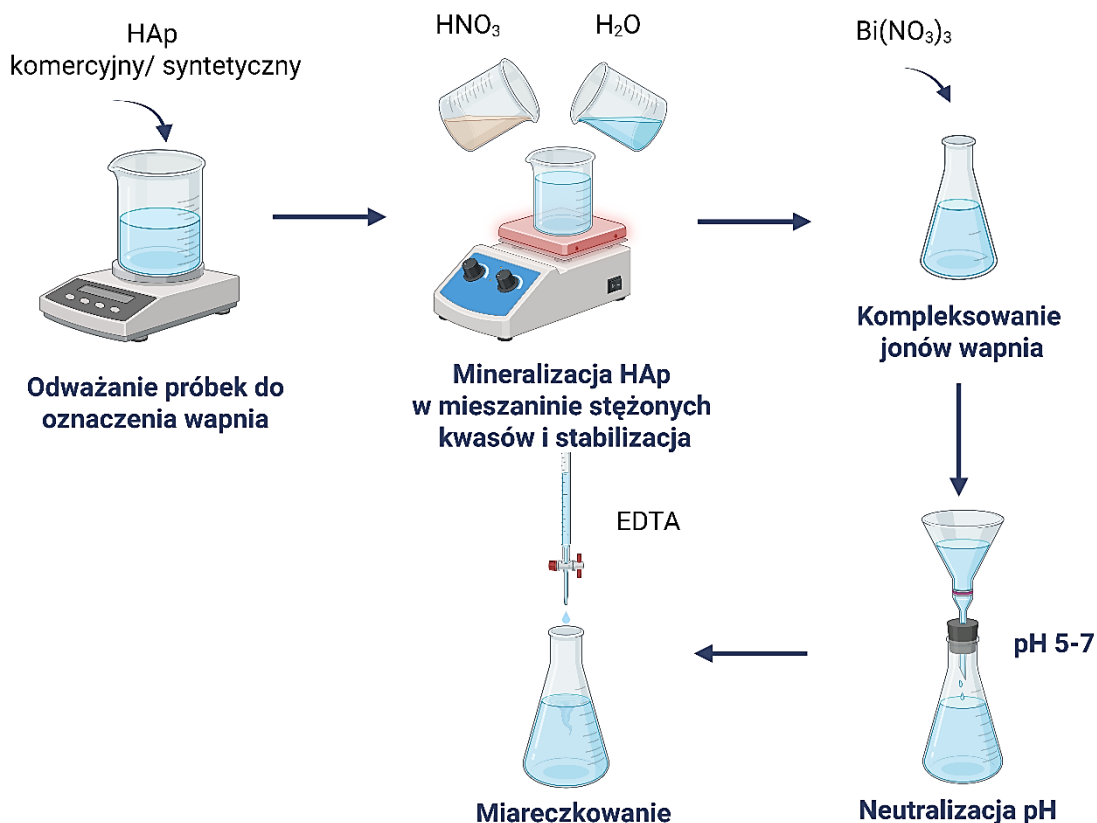
V_1 – objętość roztworu EDTA zużyta podczas miareczkowania (cm³),

c – stężenie roztworu EDTA (mol/dm³),

V_2 – całkowita objętość roztworu próbki (cm³),

V_3 – objętość pobrana do miareczkowania (cm³),

m – masa próbki (g).



Rysunek 10. Uproszczony schemat metody oznaczenia zawartości wapnia

Oznaczenie całkowitej zawartości fosforu przeprowadzono zgodnie z normą PN-80/C-87015, z wykorzystaniem spektrofotometrii UV-Vis. Do oznaczeń odważano około 0,2 g próbki HAp (z dokładnością do 0,001 g), po czym dodawano 15 cm³ 65% HNO_3 oraz 5 cm³ 36% HCl . Mieszaninę poddano ogrzewaniu pod przykryciem do momentu całkowitego odbarwienia par (przejścia barwy z pomarańczowej na bezbarwną), co wskazywało na zakończenie procesu mineralizacji. Po dodaniu 20 cm³ wody destylowanej, roztwór był ponownie gotowany przez 5 minut, ostudzony i przeniesiony ilościowo do kolby miarowej 100 cm³, a następnie uzupełniony wodą destylowaną do kreski. Do oznaczenia fotometrycznego z kolby głównej pobierano 10 cm³ roztworu próbki, dodawano 20 cm³ roztworu D i uzupełniano do objętości 50 cm³ wodą destylowaną. Równolegle przygotowywano próbkę zerową, zawierającą jedynie 20 cm³ roztworu D oraz wodę destylowaną. Po upływie 15 minut od przygotowania, absorbancję roztworów mierzono za pomocą spektrofotometru UV-Vis w odniesieniu do uprzednio przygotowanej krzywej wzorcowej.

Zawartość fosforu w próbce obliczano na podstawie zależności:

$$P = \frac{M_1 * V_1 * 2,29}{V_2 * M} \quad (2)$$

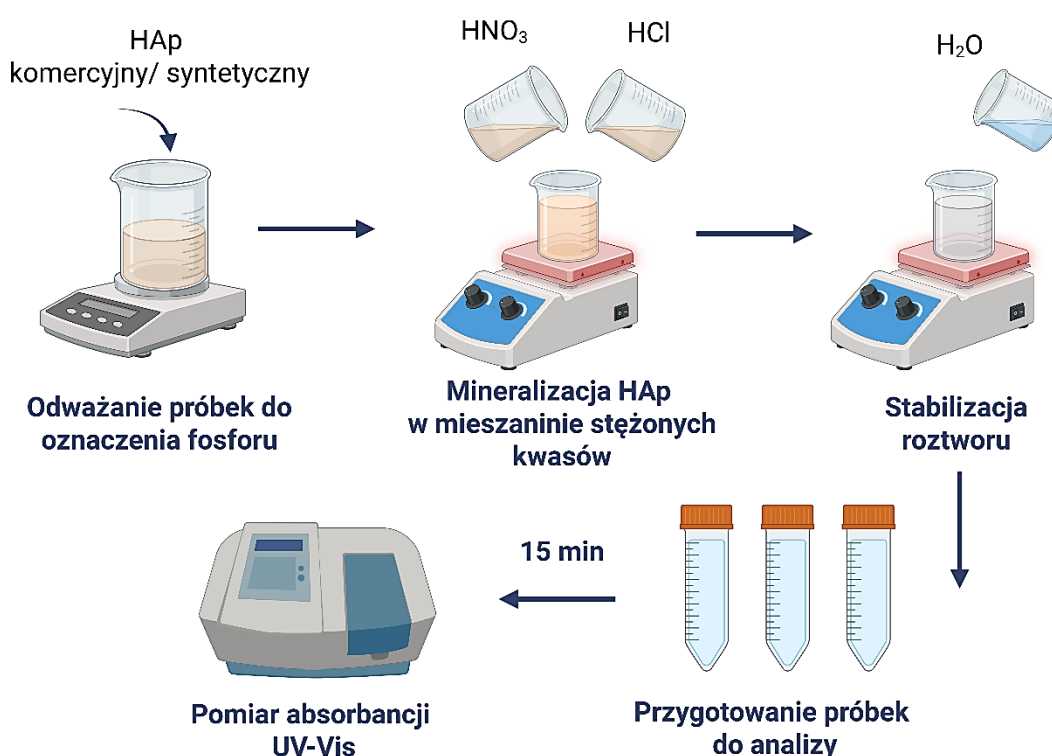
M_1 – zawartość P_2O_5 odczytana z krzywej wzorcowej (mg),

V_1 – objętość roztworu głównego (100 cm^3),

V_2 – objętość roztworu pobranego do pomiaru (10 cm^3),

M – masa próbki (g),

2,29 – współczynnik przeliczeniowy z P_2O_5 na P .



Rysunek 11. Uproszczony schemat oznaczania zawartości fosforu

7.5. Analiza wielkości cząstek

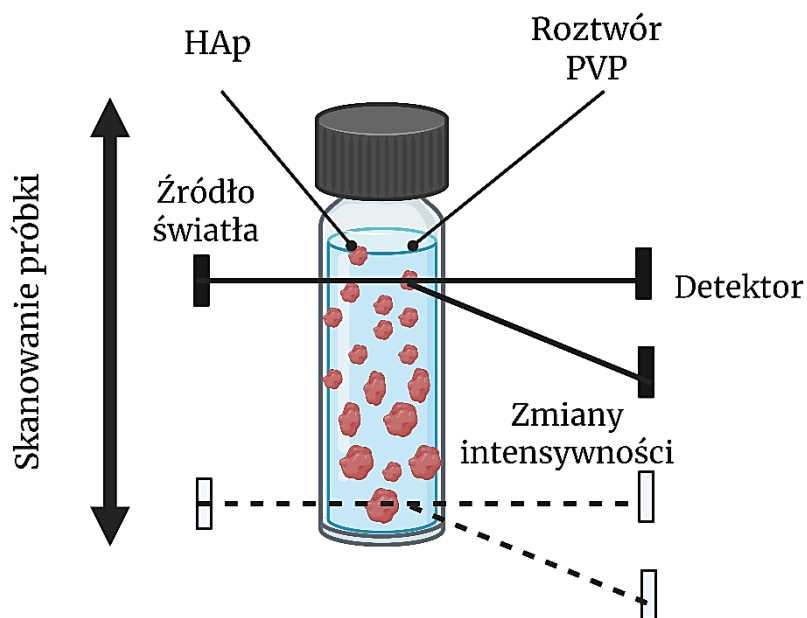
Analizę rozmiaru cząstek przeprowadzono dla hydroksyapatytu syntetycznego i komercyjnego w celu porównania ich rozkładu wielkości oraz stopnia aglomeracji. Pomiary wykonano metodą dyfrakcji laserowej przy użyciu analizatora Anton Paar PSA 1190, w trybie suchej dyspersji, zgodnie z normą ISO 13320. Zakres detekcji wynosił $0,1\text{--}2500\text{ }\mu\text{m}$, a każde oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach. Wyniki analizowano pod kątem średniej wielkości cząstek oraz jednorodności rozkładu.

7.6. Pomiar porowatości i powierzchni właściwej

Następnie, dla porównywanych proszków ceramicznych określono powierzchnię właściwą oraz porowatość. Pomiary przeprowadzono z użyciem analizatora Autosorb-1 (Quantachrome), metodą adsorpcji azotu w temperaturze -196°C . Próbkę przed pomiarem degazowano w próżni w temperaturze 200°C przez 18 godzin. Powierzchnię właściwą określono metodą wielopunktową BET (Brunauer–Emmett–Teller). Objętość i powierzchnię mikroporów wyznaczono metodą t-plot, natomiast objętość i rozkład mezoporów analizowano z wykorzystaniem modeli BJH (Barrett–Joyner–Halenda) oraz DFT (Density Functional Theory).

7.7. Określenie stabilności zawiesiny hydroksyapatytu

Stabilność zawiesin HAp oceniano w wodzie destylowanej porównując sedymentację proszku syntetycznego i komercyjnego a następnie w etapie II w celu optymalizacji stężenia roztworu PVP stosowanego do dalszej syntezy kompozytów. Pomiary przeprowadzono z użyciem systemu analizy stabilności MultiScan MS20 (DataPhysics Instruments, USA), który rejestruje zmiany intensywności transmisji i rozpraszania wstecznego światła, zależne od stężenia zawieszonych cząstek. Analizy prowadzono w temperaturze 25°C , każdorazowo przez 10 minut (30 skanów, 1 skan/20 s).



Rysunek 12. Schemat analizy stabilności zawiesiny hydroksyapatytu w wodzie destylowanej lub roztworze polimeru

7.8. Skaningowa mikroskopia elektronowa z analizą składu pierwiastkowego

Technika SEM–EDS została zastosowana do oceny morfologii powierzchniowej i składu pierwiastkowego badanych materiałów. W pierwszym etapie analizowano proszki HAp syntetycznego i komercyjnego w celu porównania ich struktury. W kolejnym etapie badano materiały polimerowe i kompozyty w celu potwierdzenia obecności fazy ceramicznej oraz jej rozmieszczenia. Analizy SEM wykonano z użyciem mikroskopów: JEOL JSM-7800F (JEOL Ltd., Japonia) dla proszków oraz JEOL 5510LV z detektorem EDS (IXRF System, Niemcy) dla kompozytów. Próbkę przed analizą pokrywano cienką warstwą złota, w celu zapewnienia przewodnictwa. System EDS umożliwił identyfikację pierwiastków charakterystycznych dla fazy HAp (Ca, P), potwierdzając jej obecność w badanych kompozytach.

7.9. Mikroskopia optyczna

Mikroskopię optyczną zastosowano do obserwacji morfologii powierzchni proszków hydroksyapatytu syntetycznego i komercyjnego w celu porównania wielkości i kształtu ziaren. Obrazy wykonano przy użyciu cyfrowego mikroskopu Keyence VHX-7000 w trybie HDR i 4K, z wykorzystaniem funkcji multi-lighting oraz kompozycji głębi ostrości.

7.10. Analiza chropowatości powierzchni

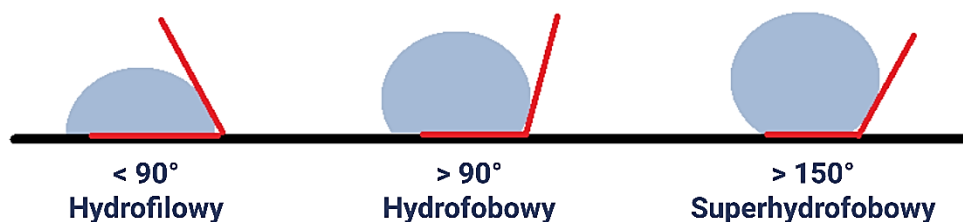
Chropowatość powierzchni określono dla materiałów polimerowych i kompozytowych. Pomiary wykonano przy użyciu profilometru stykowego TALYSURF 6 (Taylor Hobson, USA), zgodnie z normą ISO 4287, w trybie liniowego przesuwu ryłka na długości 4 mm. Analizowano parametry: R_a (średnia arytmetyczna odchyłek profilu), R_q (średniokwadratowe odchylenie) oraz R_{sk} (skośność profilu). Dla każdej próbki wykonano co najmniej trzy pomiary w różnych miejscach. Analizę topografii 3D przeprowadzono za pomocą oprogramowania TalyMap Platinum.

7.11. Analiza właściwości mechanicznych

Właściwości mechaniczne materiałów oceniano na podstawie testu rozciągania oraz pomiaru twardości. Próby rozciągania przeprowadzono zgodnie z normą PN-EN ISO 527, na próbkach w kształcie wiosełek, z wykorzystaniem maszyny wytrzymałościowej Shimadzu AGS-X. Dodatkowo, twardość powierzchni oznaczono metodą Shore’a typu A z wykorzystaniem cyfrowego durometru HDA 100-1 (Sauter, zakres 0–100 ShA, dokładność 0,1 ShA).

7.12. Analiza zwilżalności powierzchni

Zwilżalność powierzchni materiałów polimerowych i kompozytowych oceniano metodą kropli osiadłej, z wykorzystaniem systemu Drop Shape Analysis DSA 10 Mk2 (Krüss, Niemcy). Pomiar kąta zwilżania przeprowadzono dla dwóch cieczy referencyjnych: polarnej (woda ultra czysta, $18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$) oraz niepolarniej (dijodometan, Sigma-Aldrich). Na podstawie uzyskanych wartości kątów kontaktowych obliczono swobodną energię powierzchniową oraz jej składowe polarne i dyspersyjne zgodnie z modelem Owens–Wendta–Rabela–Kaelble (OWRK). Dla każdej próbki wykonano trzy powtórzenia w różnych miejscach.



Rysunek 13. Schemat ilustrujący kąt zwilżania i właściwości powierzchni względem wody: powierzchnia hydrofilowa (kąt $< 90^\circ$), hydrofobowa (kąt $> 90^\circ$) oraz superhydrofobowa (kąt $> 150^\circ$)

7.13. Badania trybologiczne

Właściwości tribologiczne materiałów oceniano za pomocą tribometru NTR2 Nanotribometer (CSM Instruments, Szwajcaria) w układzie kontaktowym kula–tarcza, w trybie ruchu posuwisto-zwrotnego. Pomiary prowadzono przez 60 minut w temperaturze 25°C , przy obciążeniu normalnym 500 mN, prędkości średniej 1 cm/s i długości ścieżki 1 mm. Rejestrowano przebieg współczynnika tarcia w czasie oraz objętość zużycia. Testy przeprowadzono w warunkach suchych (bez smarowania).

7.14. Badania inkubacyjne w symulowanych płynach ustrojowych

Badania inkubacyjne przeprowadzono w celu oceny stabilności chemicznej i potencjalnych interakcji materiałów kompozytowych z symulowanymi płynami fizjologicznymi. Próbkę o masie około 1,0 g umieszczano w 50 mL medium: wody destylowanej, płynu Ringera oraz SBF (simulated body fluid). Inkubację prowadzono przez 14 dni w temperaturze $36,6^\circ\text{C}$, odpowiadającej warunkom fizjologicznym. W trakcie testu co 2 dni monitorowano zmianę pH roztworów. Analizie poddano zarówno próbki zawierające kolagen, jak i niemodyfikowane.

7.15. Wysokosprawna chromatografia cieczowa

W celu określenia ilości klindamycyny uwalnianej z materiałów kompozytowych, analizowano płyny inkubacyjne z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Pomiar przeprowadzono na systemie Shimadzu HPLC (Kyoto, Japonia) wyposażonym w detektor UV-Vis SPD-M20A, termostat kolumnowy CTO-20AC oraz pompę LC-20AD. Rozdział prowadzono na kolumnie odwróconej fazy C18 Kinetex® (250 mm × 4,6 mm, 100 Å, 5 µm) w układzie izokratycznym. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina acetonitrylu i KH₂PO₄ (45:55 v/v, pH = 7,5), z szybkością przepływu 1,0 mL/min. Analiza umożliwiła ilościowe oznaczenie klindamycyny w próbkach na podstawie kalibracji z roztworem wzorcowym.

7.16. Spektroskopia UV-Vis

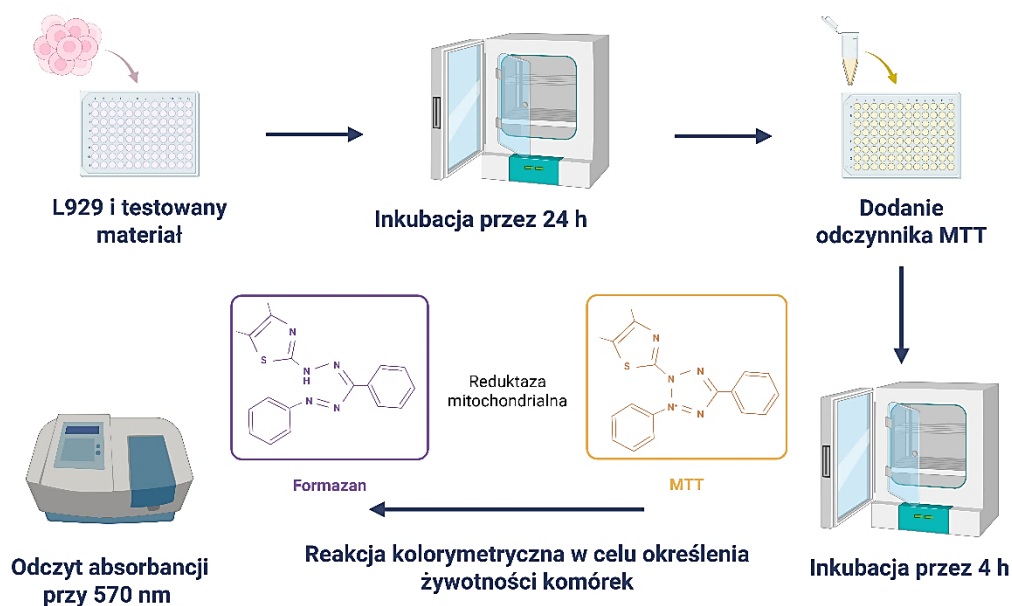
Do analizy ilości kolagenu uwalnianego z materiałów kompozytowych zastosowano spektroskopię UV-Vis. Pomiar absorbancji prowadzono dla płynów inkubacyjnych przy długości fali 290 nm, charakterystycznej dla ugrupowań aromatycznych aminokwasów obecnych w cząsteczkach kolagenu. Analizy wykonano przy użyciu spektrofotometru GENESYS™ 180 UV-Vis (Thermo Scientific, Loughborough, UK). Zawartość białka w próbkach określano na podstawie krzywej kalibracyjnej przygotowanej dla wzorcowego roztworu hydrolizatu kolagenu wołowego.

7.17. Tomografia komputerowa

Tomografia komputerowa została wykorzystana do przestrzennej oceny mikrostruktury materiałów polimerowych i kompozytowych, w szczególności w zakresie analizy objętościowej porowatości oraz kształtu porów (współczynnika kulistości). Porównaniu poddano próbkę referencyjną (matryca PVP/PVA) oraz materiał kompozytowy zawierający hydroksyapatyt. Pomiar przeprowadzono przy użyciu systemu Phoenix V|tome|x M240 (Waygate Technologies, Niemcy) z lampą microfocus 240 kV. W badaniach zastosowano napięcie 180 kV i prąd 300 µA, przy ustawionej czułości detektora równej 1. Obrazowanie wykonano w oparciu o 1500 projekcji, z których każda stanowiła średnią z 5 pojedynczych ekspozycji, przy czasie projekcji wynoszącym 100 ms. Uzyskane dane poddano rekonstrukcji przestrzennej, umożliwiającej ilościowe określenie udziału porów w objętości próbki oraz ocenę ich morfologii.

7.18. Cytotoksyczność

Potencjalną cytotoksyczność materiałów kompozytowych oceniano z wykorzystaniem testu redukcji MTT (3-(4,5-dimetylo-tiazol-2-ylo)-2,5-difenyltetrazolium bromek), zgodnie z normą ISO 10993-5:2009. Badania przeprowadzono na fibroblastach mysich linii L929 (ATCC), hodowanych w podłożu RPMI-1640 z dodatkiem 10% inaktywowanego surowicy płodowej (FBS) oraz antybiotykami. Komórki wysiewano na płytki 96-dołkowe, a po uzyskaniu monowarstwy dodawano badane materiały (HAp lub kompozyt), a następnie inkubowano przez 24 godziny. Po tym czasie do każdego dołka dodawano odczynnik MTT (5 mg/mL) i inkubowano kolejne 4 godziny. Po zakończeniu reakcji formazan rozpuszczano w mieszaninie DMSO i buforu glicynowego, a absorbancję mierzono przy 570 nm za pomocą czytnika Multiskan EX (Thermo Fisher Scientific, USA). Jako kontrolę dodatnią zastosowano hodowle bez dodatku materiału, a jako kontrolę ujemną – hodowle traktowane 2% H₂O₂. Każdy wariant analizowano w czterech powtórzeniach, po osiem replikacji w serii. Wyniki wyrażono jako procent względnej żywotności komórek względem kontroli pozytywnej.



Rysunek 14. Uproszczony schemat metody oznaczenia cytotoksyczności w teście MTT

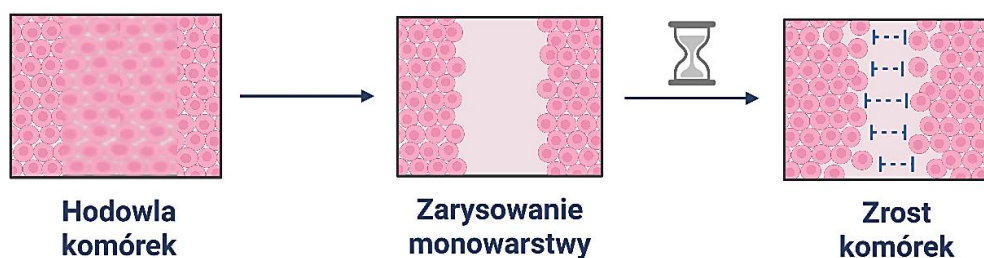
7.19. Aktywność prozapalna

Aktywność prozapalną badanych materiałów oceniano z wykorzystaniem ludzkich komórek monocytarnych THP1-Blue™ NF-κB (InvivoGen, USA), które po aktywacji wydzielają alkaliczną fosfatazę embrionalną (SEAP) do podłoża hodowlanego. Ilość uwolnionego enzymu określano kolorymetrycznie za pomocą odczynnika Quanti-Blue™ (InvivoGen) po 24-godzinnej inkubacji. Komórki hodowano

w podłożu RPMI-1640 z dodatkiem 10% FBS, HEPES, L-glutaminy, blastocydyny, normocyny oraz antybiotyków (penicylina, streptomycyna). Do każdego dołka 96-dołkowej płytki hodowlanej wprowadzano zawiesinę komórek (1×10^5 kom./ml) oraz odpowiednią ilość badanego materiału (odpowiadającą 1/10 powierzchni dołka). Po inkubacji w warunkach standardowych (37 °C, 5% CO₂) przez 24 godziny, supernatant odwirowywano, a 20 µL przenoszono do dołków z odczytnikiem Quanti-Blue™ (180 µL). Po 3 godzinach inkubacji absorbancję mierzono spektrofotometrycznie przy 650 nm (czytnik Multiskan EX, Thermo Fisher Scientific, USA). W doświadczeniu zastosowano kontrolę negatywną (komórki bez dodatku materiału) oraz pozytywną - komórki stymulowane 100 ng/mL PMA (*phorbol 12-myristate 13-acetate*).

7.20. Test gojenia się rany

Zdolność badanych materiałów do wspierania regeneracji została oceniona za pomocą testu migracji fibroblastów mysich L929 w modelu gojenia się rany *in vitro*. Komórki hodowano w warunkach standardowych (37 °C, 5% CO₂, >90% wilgotności) w podłożu RPMI-1640 z 10% FBS i antybiotykami. Po utworzeniu monowarstwy wykonano sztuczną przerwę w hodowli (scratch), po czym dodano próbki materiału (HAp lub kompozyt) i prowadzono inkubację przez 24 godziny. Obserwacje migracji komórek w kierunku szczeliny prowadzono pod mikroskopem, a skuteczność zamykania przerwy oceniano w odniesieniu do kontroli dodatniej (bez materiału) oraz negatywnej.



Rysunek 15. Schemat testu typu "scratch assay": hodowla komórek, celowe uszkodzenie monowarstwy, analiza procentowego zrostu rany

7.21. Ocena właściwości przeciwdrobnoustrojowych

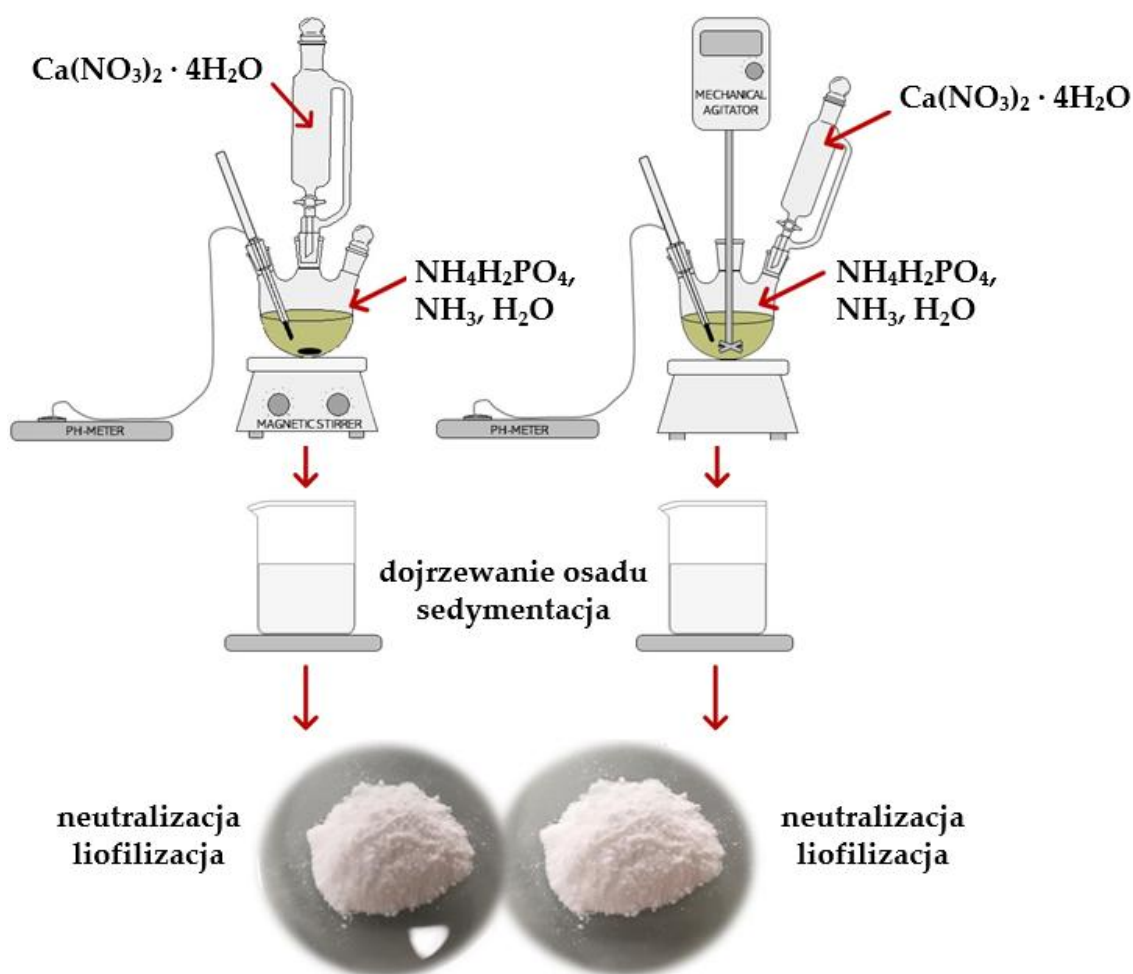
Celem badania była ocena aktywności przeciwdrobnoustrojowej materiałów kompozytowych modyfikowanych klindamycyną wobec *Staphylococcus aureus*. W tym celu wykorzystano płyny inkubacyjne pozyskane z wcześniejszego eksperymentu zawierające klindamycynę uwolnioną z kompozytu. Jałowe krążki bibułowe nasączało każdorazowo 50 µl roztworu i umieszczano na powierzchni podłoża agarowego posianego szczepem referencyjnym *S. aureus* (WDCM 00032 Vitroids™). Po 24-godzinnej inkubacji w 37 °C oceniano średnicę strefy zahamowania wzrostu bakteryjnego wokół krążków jako wskaźnik skuteczności działania antybiotyku.

WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

8. Część I – SYNTEZA I CHARAKTERYSTYKA FAZY CERAMICZNEJ

8.1. Synteza fazy ceramicznej

Hydroksyapatyt (HAp) otrzymano metodą mokrego strącania, wykorzystując jako prekursory jonów fosforanowych i wapniowych odpowiednio diwodorofosforan amonu ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) oraz azotan wapnia tetrawodny ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$). Stosunek molowy jonów Ca^{2+} do PO_4^{3-} został utrzymany na poziomie 1,67, co odpowiada równowadze stechiometrycznej typowej dla hydroksyapatytu [164,165]. Syntezę prowadzono w temperaturze pokojowej, stosując metodę strącania chemicznego. Badano wpływ dwóch kluczowych czynników: pH środowiska reakcyjnego oraz stężenia reagentów na właściwości końcowego produktu. Reakcję przeprowadzono przy trzech wartościach pH: 5,5, 8,0 oraz 11,0, które regulowano przy użyciu wody amoniakalnej. Schemat otrzymywania fazy ceramicznej zaprezentowano na Rysunku 16.



Rysunek 16. Schemat otrzymywania fazy ceramicznej

W celu otrzymania fazy ceramicznej w pierwszym etapie przygotowano roztwór $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ z dodatkiem wody amoniakalnej. Po osiągnięciużądanego pH, do mieszaniny stopniowo wkraplano roztwór $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ w tempie około jednej kropli na sekundę. Proces prowadzono przy stałym mieszaniu, wykorzystując odpowiednio mieszadło magnetyczne lub mechaniczne. Po zakończeniu strącania zawiesinę mieszano przez dodatkowe 30 minut w celu uzyskania jednorodnej dyspersji cząstek. Następnie roztwór pozostawiano na 24 godziny w warunkach statycznych, co umożliwiałodojrzewanie i sedymentację osadu. Otrzymany osad wielokrotnie płukano wodą destylowaną aż do uzyskania neutralnego pH, a następnie liofilizowano przez 24h (liofilizator Alpha 1-2 LD Plus).

Aby zbadać wpływ stężenia reagentów na właściwości końcowego produktu, syntezę przeprowadzono w różnych wariantach. Za punkt odniesienia przyjęto stężenia referencyjne: $C_m = 0,24 \text{ M}$ dla $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ oraz $C_m = 0,40 \text{ M}$ dla $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, które uznano za 100% stężenia reagentów. W kolejnych wariantach stężenia zwiększono w przedziałach od 100% do 200%, z zachowaniem stosunku molowego Ca/P równego 1,67. Warunki syntezy dla poszczególnych prób przedstawiono w Tabeli 5. Oznaczenia próbek wyrażają odpowiednio: procentową wartość stężenia reagentów względem wartości referencyjnych oraz wartość pH środowiska reakcyjnego, przy której prowadzono syntezę (np. 125%_8,0 oznacza próbkę uzyskaną przy 125% stężeniu reagentów i pH = 8,0).

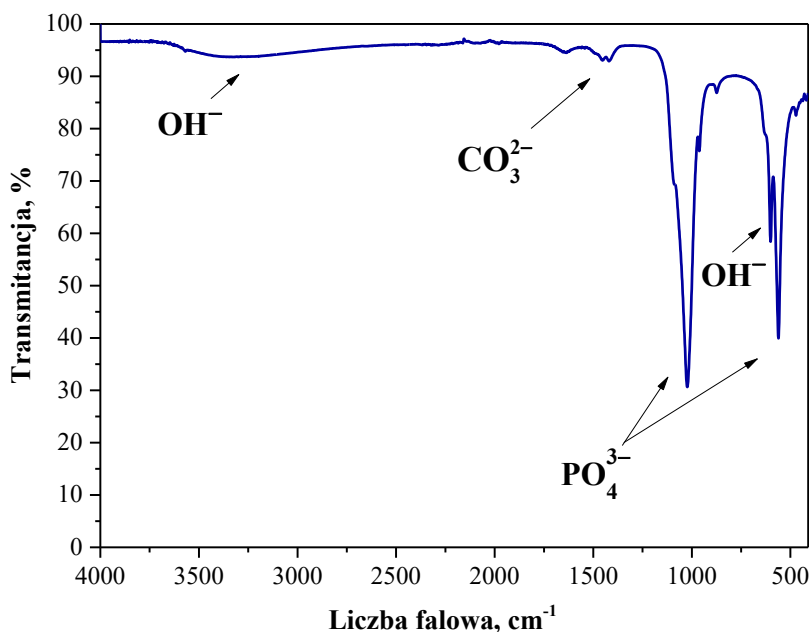
Tabela 5. Zestawienie warunków syntezy fazy ceramicznej

Rodzaj mieszadła	Stężenie reagentów, %	pH	Nazwa próbki
mechaniczne/magnetyczne	100	5,5	100%_5,5
		8,0	100%_8,0
		11,0	100%_11,0
	125	5,5	125%_5,5
		8,0	125%_8,0
		11,0	125%_11,0
	150	5,5	150%_5,5
		8,0	150%_8,0
		11,0	150%_11,0
	175	5,5	175%_5,5
		8,0	175%_8,0
		11,0	175%_11,0
	200	5,5	200%_5,5
		8,0	200%_8,0
		11,0	200%_11,0

Po przeprowadzeniu syntez w różnych warunkach przystąpiono do analizy otrzymanych proszków. W celu oceny składu fazowego i struktury chemicznej materiałów zastosowano dyfrakcję rentgenowską (XRD), spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera (ATR FT-IR) oraz spektroskopię Ramana. Dodatkowo mając na uwadze wytypowanie najbardziej efektywnych parametrów syntezy określono wydajność reakcji dla poszczególnych wariantów.

8.2. Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera

Spektroskopia FT-IR została zastosowana do identyfikacji charakterystycznych grup funkcyjnych oraz analizy składu chemicznego próbek. Widmo referencyjne dla komercyjnego hydroksyapatytu przedstawiono na Rysunku 17, natomiast widma uzyskane dla próbek syntetyzowanych w różnych warunkach zaprezentowano na Rysunkach 18-19.

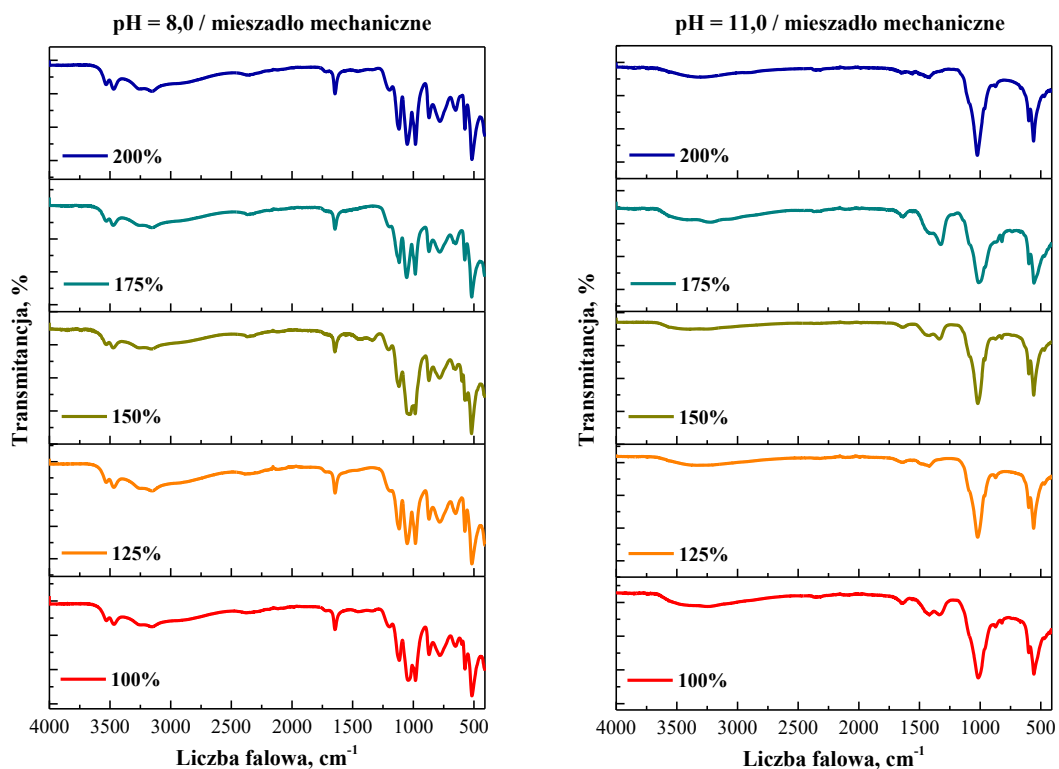


Rysunek 17. Widmo FT-IR referencyjnego hydroksyapatytu komercyjnego

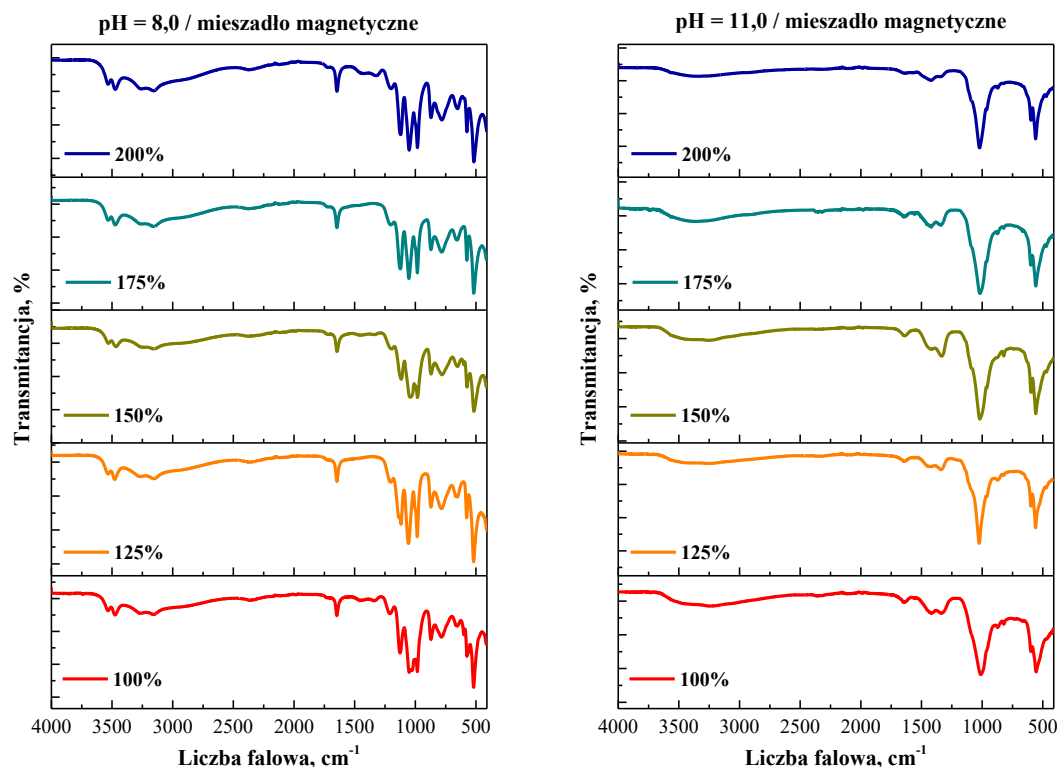
Widmo FT-IR komercyjnego hydroksyapatytu, przedstawione na Rysunku 17, umożliwia analizę struktury chemicznej tego związku na podstawie charakterystycznych pasm absorpcyjnych odpowiadających określonym grupom funkcyjnym. Cząsteczki HAp zawierają w swojej strukturze jony fosforanowe (PO_4^{3-}) oraz hydroksylowe (OH^-), które wykazują aktywność w zakresie widma podczerwieni. Pozwala to na ich detekcję i identyfikację [166,167]. Jony fosforanowe, ze względu na tetraedryczną geometrię, mogą wykazywać cztery podstawowe tryby drgań wibracyjnych: symetryczne drgania rozciągające (ν_1), symetryczne drgania zginające (ν_2), asymetryczne drgania rozciągające (ν_3) oraz asymetryczne drgania zginające (ν_4) [168]. W analizowanym widmie najbardziej

wyraźne pasma związane z obecnością grup fosforanowych zostały zaobserwowane w zakresie liczby falowej około 1025 cm^{-1} oraz 560 cm^{-1} . Pasma zlokalizowane przy 1025 cm^{-1} przypisuje się asymetrycznym drganiom rozciągającym (ν_3) wiązań P–O w tetraedrycznych grupach fosforanowych, co stanowi cechę charakterystyczną hydroksyapatytu o dobrze ukształtowanej strukturze krystalicznej. Z kolei obecność sygnału w zakresie liczby falowej 560 cm^{-1} związana jest z asymetrycznymi drganiami zginającymi (ν_4) wiązania O–P–O w grupach fosforanowych, potwierdzając wysoki stopień uporządkowania struktury krystalicznej [169].

Obecność grup hydroksylowych (OH^-) w analizowanym materiale potwierdzają sygnały o niskiej intensywności zlokalizowane w zakresie liczby falowej $3550 - 2970\text{ cm}^{-1}$, które są związane z drganiami rozciągającymi tych grup. Dodatkowo pasmo obserwowane w okolicach 620 cm^{-1} można przypisać zginającym drganiom grup OH^- [169,170]. Na widmie FT-IR komercyjnego hydroksyapatytu można również zaobserwować sygnały wskazujące na obecność grup węglanowych (CO_3^{2-}). Węglany mogą częściowo zastępować jony fosforanowe lub hydroksylowe w strukturze krystalicznej, prowadząc do powstania hydroksyapatytu węglanowego. Charakterystyczne pasma dla grup CO_3^{2-} zwykle pojawiają się w zakresie liczby falowej około $1450 - 1410\text{ cm}^{-1}$ oraz 875 cm^{-1} . Ich obecność może świadczyć o zanieczyszczeniu materiału węglanami pochodzącymi z otoczenia lub o celowej modyfikacji struktury HAp w celu uzyskania właściwości zbliżonych do naturalnej tkanki kostnej [171].



Rysunek 18. Zestawienie widm FT-IR materiałów otrzymanych w wyniku syntezy z wykorzystaniem mieszadła mechanicznego: pH 8,0 (po lewej) i pH 11,0 (po prawej)



Rysunek 19. Zestawienie widm FT-IR materiałów otrzymanych w wyniku syntezy z wykorzystaniem mieszadła magnetycznego: pH 8,0 (po lewej) i pH 11,0 (po prawej)

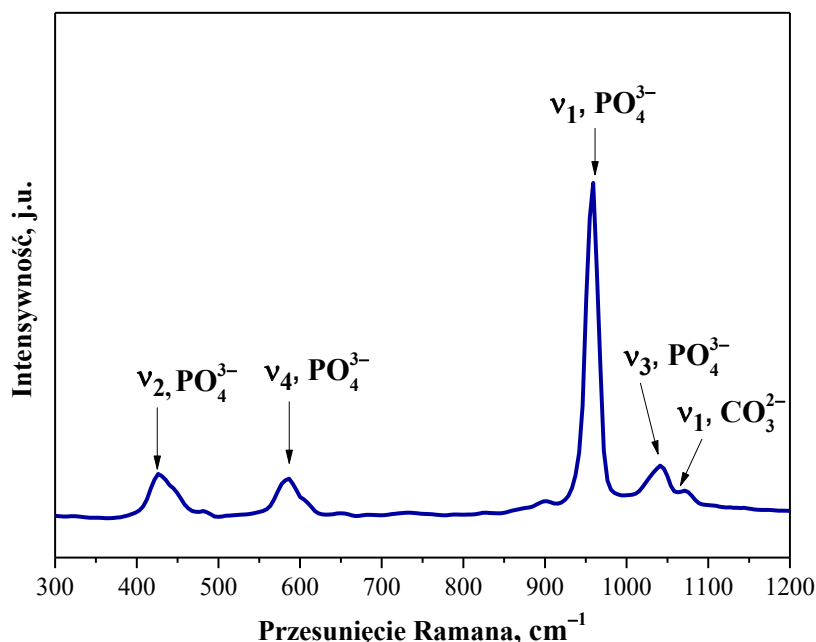
W celu oceny wpływu pH oraz sposobu mieszania na strukturę chemiczną otrzymanych materiałów przeprowadzono analizę widm FT-IR próbek przygotowanych w różnych warunkach syntezy. Wyniki zaprezentowane na Rysunkach 18 - 19 przedstawiają istotne różnice w zależności od wartości pH. Dla próbek uzyskanych w środowisku silnie zasadowym (pH = 11,0), niezależnie od zastosowanej metody mieszania, zaobserwowano obecność wszystkich charakterystycznych pasm absorpcji typowych dla hydroksyapatytu. Wyraźne sygnały związane z obecnością jonów fosforanowych (PO_4^{3-}), zlokalizowane w okolicach 1025 cm^{-1} i 560 cm^{-1} , potwierdzają formowanie się dobrze ukształtowanej struktury krystalicznej HAp [166,172]. Ponadto, analogicznie jak w przypadku produktu komercyjnego, zidentyfikować można również kluczowe sygnały charakterystyczne dla grup OH^- oraz CO_3^{2-} . Na podstawie uzyskanych danych można wnioskować, że synteza przeprowadzona w środowisku o wysokim pH sprzyja formowaniu materiału o wysokiej czystości fazowej.

W przypadku próbek przygotowanych przy pH = 8,0 poza pasmami absorpcji typowymi dla hydroksyapatytu, odnotowano obecność dodatkowych sygnałów. Pojawienie się pasm w zakresie około 945 cm^{-1} i 1120 cm^{-1} sugeruje obecność faz takich jak α -TCP (fosforan α -trójwapniowy) oraz β -TCP (fosforan β -trójwapniowy) [173]. Ponadto, dodatkowe pasma obserwowane w obszarze około 880 cm^{-1} i 1330 cm^{-1} mogą być związane z obecnością DCPD (dwuwodnego fosforanu diwapniowego) [174]. Obecność innych faz wskazuje na obniżoną stabilność hydroksyapatytu przy niższym pH,

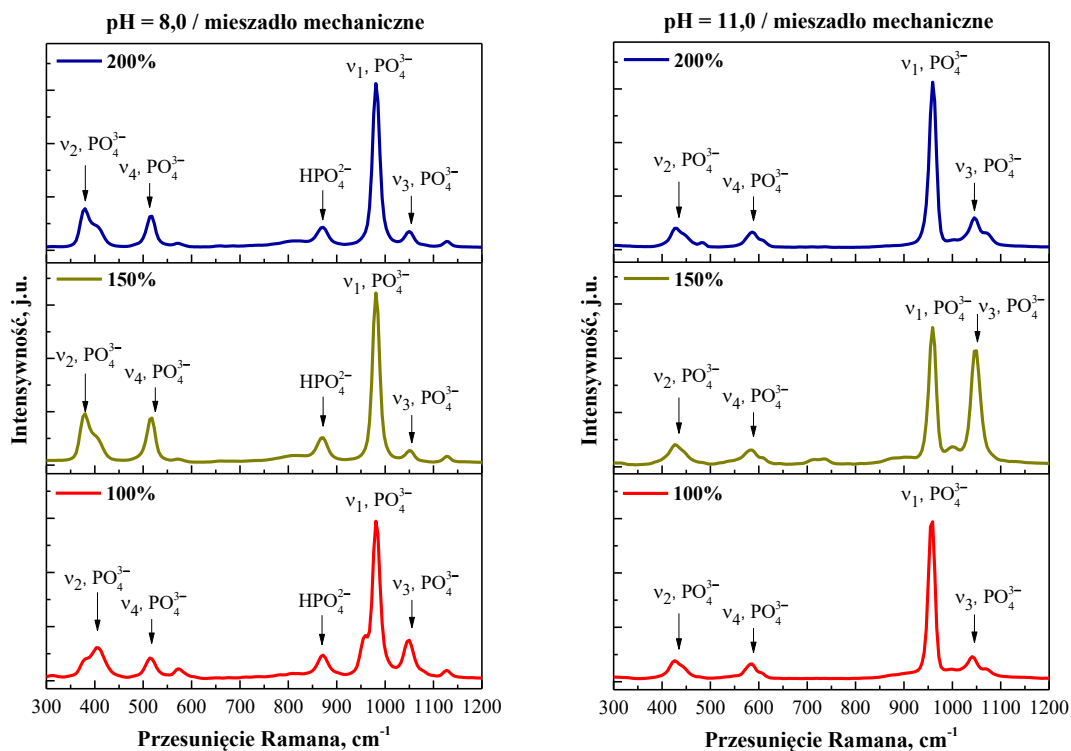
co prowadzi do formowania się wielofazowych układów fosforanów wapnia. Wyniki te potwierdzają, że pH jest kluczowym czynnikiem wpływającym na skład fazowy uzyskanych materiałów. Należy również podkreślić, że dla reakcji przeprowadzonej przy $\text{pH} = 5,5$ nie zaobserwowano żadnych oznak strącania się hydroksyapatytu. W roztworach o $\text{pH} < 7$, w których stężenie jonów wodorowych przewyższa stężenie jonów hydroksylowych, środowisko staje się kwaśne. W takich warunkach, w zależności od stężenia jonów wodorowych, hydroksyapatyt ulega częściowemu lub całkowitemu rozpuszczeniu, co uniemożliwia jego syntezę. Uzyskane wyniki wskazują, że w środowisku o $\text{pH} = 5,5$ proces strącania hydroksyapatytu nie zachodzi, co znajduje potwierdzenie również w innych badaniach [175,176].

8.3. Spektroskopia Ramana

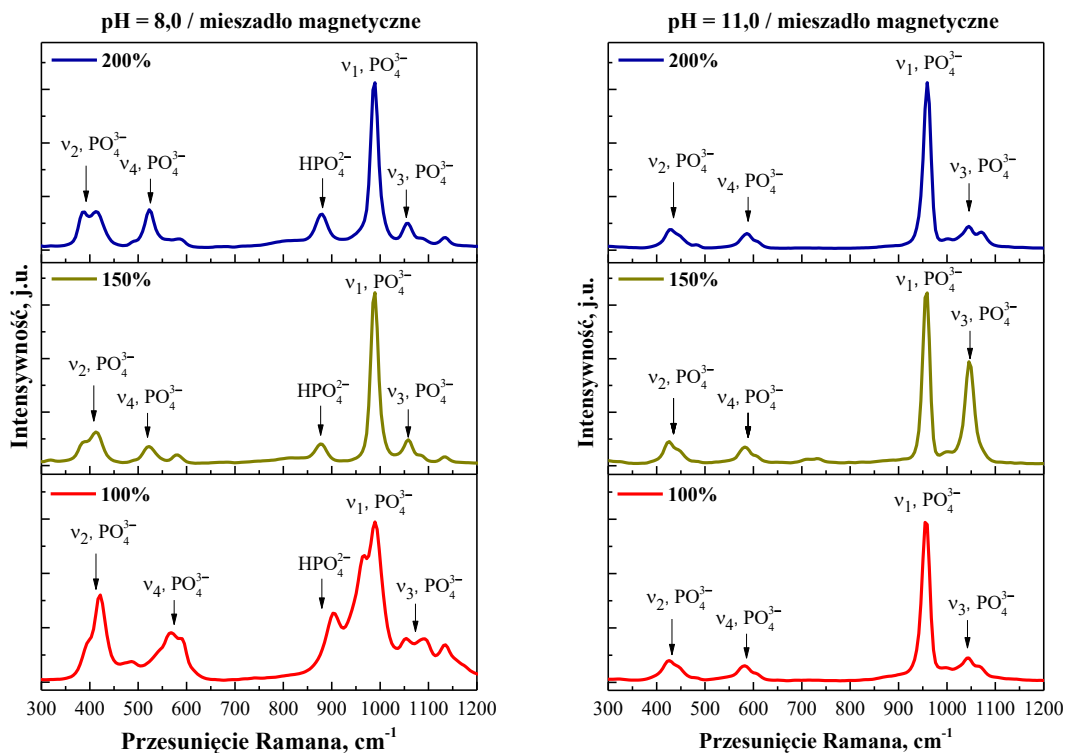
W celu uzupełnienia wyników otrzymanych w metodzie FT-IR przeprowadzono badania spektroskopii Ramana. Jako próbkę referencyjną ponownie wykorzystano HAp komercyjny. Analizę przeprowadzono dla różnych wariantów syntezy tj. zmiennej wartości pH (8,0 i 11,0) oraz z zastosowaniem dwóch różnych metod mieszania: mechanicznego i magnetycznego. Widmo Ramana dla HAp komercyjnego zaprezentowano na Rysunku 20. Z kolei widma fosforanów wapnia syntezowanych przy różnych parametrach zestawiono na Rysunkach 21 - 22.



Rysunek 20. Widmo Ramana referencyjnego hydroksyapatytu komercyjnego



Rysunek 21. Zestawienie widm Ramana materiałów otrzymanych w wyniku syntezy z wykorzystaniem mieszadła mechanicznego: pH 8,0 (po lewej) i pH 11,0 (po prawej)



Rysunek 22. Zestawienie widm Ramana materiałów otrzymanych w wyniku syntezy z wykorzystaniem mieszadła magnetycznego: pH 8,0 (po lewej) i pH 11,0 (po prawej)

Analiza spektroskopii Ramana miała na celu określenie wpływu warunków syntezy na strukturę otrzymanych materiałów fosforanowych. Punkt odniesienia stanowiło widmo Ramana HAp komercyjnego (Rysunek 20), w którym dominującym pasmem jest intensywny i wąski sygnał zlokalizowany w okolicach 960 cm^{-1} , odpowiadający symetrycznym drganiom rozciągającym wiązania P-O ($\nu_1\text{ PO}_4^{3-}$). Obecność tego pasma, wraz z dodatkowymi sygnałami drgań zginających w obszarach $430\text{--}470\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_2\text{ PO}_4^{3-}$), $570\text{--}610\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_4\text{ PO}_4^{3-}$) jak również $1000\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$ (asymetryczne drgania rozciągające ν_3), stanowią charakterystyczny profil dla fazy hydroksyapatytowej [177,178]. W przypadku widma Ramana HAp komercyjnego zidentyfikowano również pasmo w obszarze 1070 cm^{-1} związane z obecnością pozostałości grup węglanowych (CO_3^{2-}), które mogą pochodzić z procesu syntezy hydroksyapatytu, co stanowi spójne wyniki z wcześniej zaprezentowanymi widmami FT-IR [179].

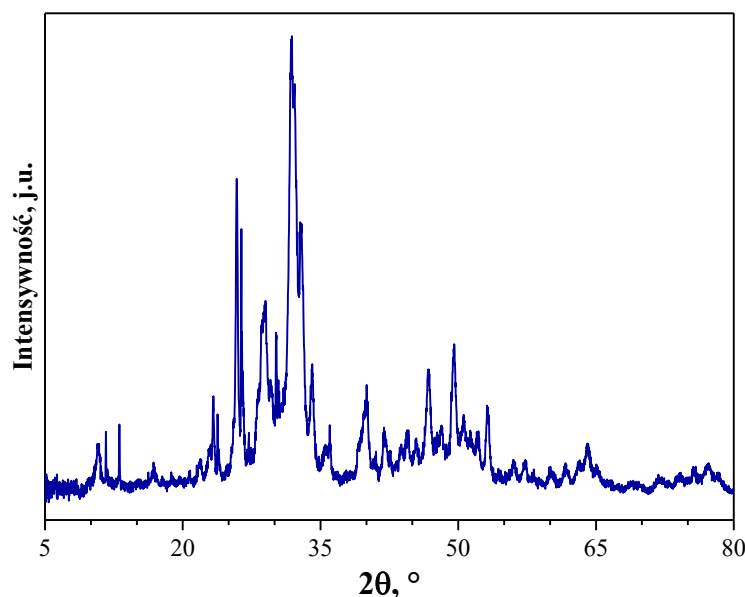
W przypadku wyników dla HAp syntetycznego, przedstawionych na Rysunkach 21 i 22, zaobserwowano wyraźne różnice zależne od warunków syntezy. Widma uzyskane dla materiałów wytworzonych przy $\text{pH} = 11,0$ cechują się wysokim stopniem podobieństwa do próbki referencyjnej – dominujące pasmo przy 960 cm^{-1} pozostaje nienaruszone zarówno pod względem intensywności, jak i położenia, co wskazuje na skuteczne wytrącenie hydroksyapatytu jako dominującej fazy.

W widmach materiałów syntetyzowanych przy $\text{pH} = 8,0$ widoczne są natomiast cechy, które świadczą o obecności produktów ubocznych lub faz pośrednich. Szczególną uwagę zwraca pojawiające się w tych próbkach pasmo w okolicach 870 cm^{-1} , którego brak w materiale referencyjnym. Pasma to, związane z obecnością jonów HPO_4^{2-} , sugeruje, że przy niższym pH synteza nie przebiega z pełnym przekształceniem w fazę hydroksyapatytową. Wskazuje to na obecność struktur takich jak brushyt lub monetyt, które mogą współistnieć z HAp w warunkach ograniczonej zasadowości. Ponadto, w niektórych przypadkach – szczególnie dla próbek otrzymanych przy niższych stężeniach reagentów – widoczne są subtelne zmiany w pozycji pasma ν_1 , a nawet jego podział, co może odzwierciedlać obecność mieszaniny faz lub zakłócenia w regularności sieci krystalicznej. Efekt ten może być związany z obecnością form mniej stabilnych, przejściowych lub niestechiometrycznych, co ma istotne znaczenie w kontekście kontroli jakości otrzymywanego materiału [177,180].

Zestawienie widm Ramana wskazuje jednoznacznie, że podwyższenie pH środowiska reakcyjnego do wartości 11,0 sprzyja formowaniu się fazy hydroksyapatytu, niezależnie od rodzaju zastosowanego mieszania. Natomiast w warunkach o $\text{pH} = 8,0$ obserwuje się większą złożoność układu, z obecnością faz towarzyszących i produktów przejściowych, szczególnie przy niższym stopniu nasycenia reagentami. Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują na silne uzależnienie składu fazowego od parametrów syntezy, co podkreśla znaczenie ich ścisłej kontroli w procesach wytwarzania materiałów fosforanowych.

8.4. Dyfrakcja rentgenowska

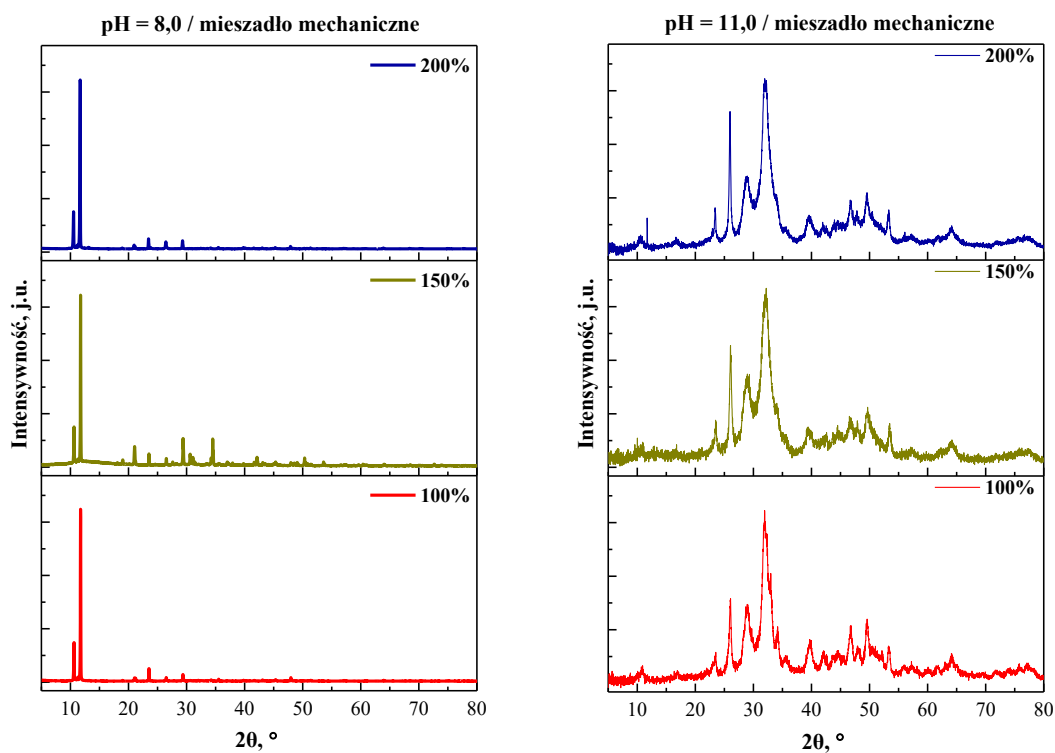
Uzupełnieniem analiz spektroskopowych była dyfrakcja rentgenowska otrzymanych proszków, umożliwiającą jednoznaczną identyfikację faz krystalicznych obecnych w badanych materiałach. Rysunek 23 prezentuje dyfraktogram próbki komercyjnego hydroksyapatytu, natomiast Rysunki 24 i 25 pokazują wyniki dla materiałów otrzymanych w warunkach zmiennego pH (8,0 i 11,0) oraz dwóch różnych metod mieszania.



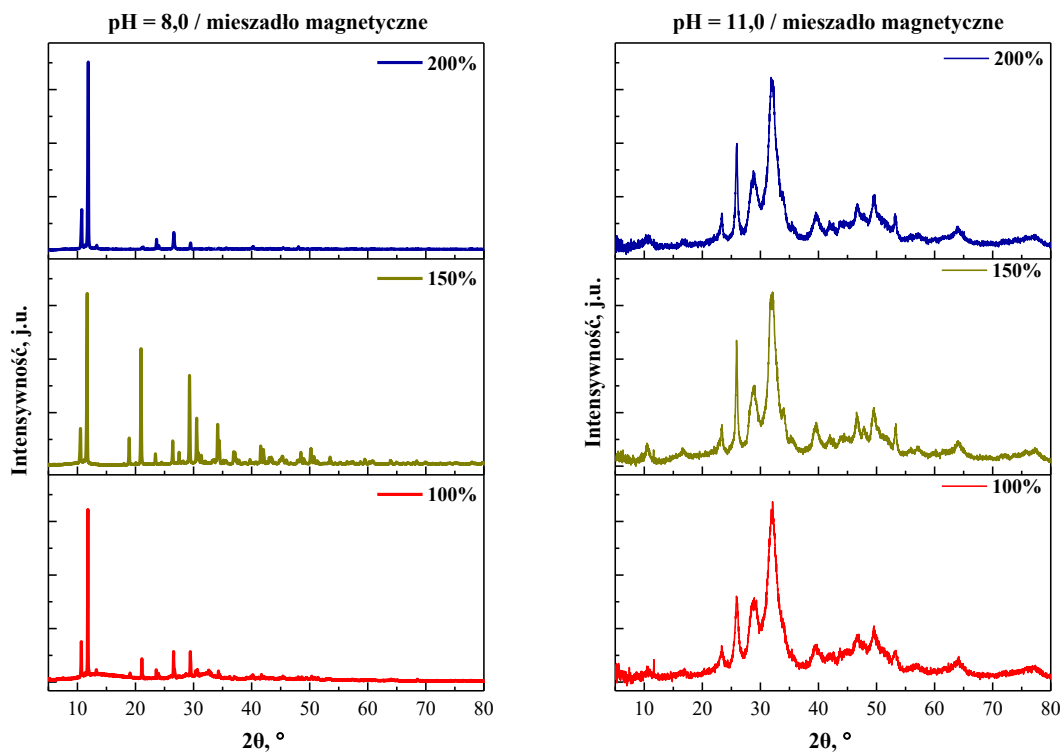
Rysunek 23. Dyfraktogram XRD referencyjnego hydroksyapatytu komercyjnego

Widmo dyfrakcyjne próbki referencyjnej, przedstawione na Rysunku 23, zawiera szereg intensywnych i dobrze zdefiniowanych refleksów, wskazujących na wysoki stopień krystaliczności oraz uporządkowaną strukturę materiału [181,182]. Główne maksima odpowiadają fazie HAp, krystalizującej w układzie heksagonalnym (grupa przestrzenna $P6_3/m$), z charakterystycznymi płaszczyznami takimi jak (002), (211), (112), (300) i (202) [183–185]. Analiza ujawniła również obecność sygnałów przypisywanych fazom towarzyszącym takim jak TTCP oraz monetyt, co świadczy o zróżnicowaniu fazowym próbki komercyjnej.

Na Rysunkach 24 i 25 przedstawiono wyniki dla próbek syntetyzowanych przy pH 8,0 i 11,0, odpowiednio z wykorzystaniem mieszania mechanicznego i magnetycznego. Dla próbek otrzymanych przy pH 8,0 potwierdzono obecność trzech faz: hydroksyapatytu, TTCP oraz monetytu. W przypadku pH 11,0 skład fazowy był bardziej homogeniczny – dominowała faza HAp, a sygnały TTCP były znacznie słabsze, bez widocznych oznak obecności monetytu. Wybrane parametry strukturalne badanych materiałów zestawiono w Tabelach 6 – 8.



Rysunek 24. Zestawienie dyfraktogramów XRD materiałów otrzymanych w wyniku syntezy z wykorzystaniem mieszadła mechanicznego: pH 8,0 (po lewej) i pH 11,0 (po prawej)



Rysunek 25. Zestawienie dyfraktogramów XRD materiałów otrzymanych w wyniku syntezy z wykorzystaniem mieszadła magnetycznego: pH 8,0 (po lewej) i pH 11,0 (po prawej)

Tabela 6. Wybrane parametry strukturalne proszków HAp przygotowanych przy użyciu mieszadła magnetycznego

Nazwa próbki	Zidentyfikowany związek	Grupa przestrzenna	Parametry modelowe, COD, Å	Parametry obliczone, Å	Rozmiar krystalitu, nm	Odkształcenie sieciowe, %	Udział masowy, %
100%_8,0_magnetyczne	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ HAp	P6 ₃ /m	a = b = 9,408, c = 6,888	a= b= 9,627, c = 6,726	>100	0,9	77
	Ca ₄ O(PO ₄) ₂ TTCP	P12 ₁ 1	a = 7,023, b = 11,986, c = 9,473, β = 90,9°	a = 6,718, b = 12,08, c = 9,44, β = 92,17°	89	0,5	9
	Ca(HPO ₄) Monetite	P-1	a = 6,91, b = 6,627, c = 6,998, α = 96,34°, β = 103,82°, γ = 88,33°	a = 6,975, b = 6,343, c = 7,004, α = 100,47°, β = 101,87°, γ = 87,62°	>100	0	14
150%_8,0_magnetyczne	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ HAp	P6 ₃ /m	a = b = 9,408, c = 6,888	a= b = 9,458, c = 6,856	84	0	84
	Ca ₄ O(PO ₄) ₂ TTCP	P12 ₁ 1	a = 7,023, b = 11,986, c = 9,473, β = 90,9°	a = 7,189, b = 11,730, c = 9,495, β = 92,07°	90	0,12	5
	Ca(HPO ₄) Monetite	P-1	a = 6,91, b = 6,627,	a = 6,921, b = 6,569,	>100	0,4	11

			c = 6,998, $\alpha = 96,34^\circ$, $\beta = 103,82^\circ$, $\gamma = 88,33^\circ$	c = 6,989, $\alpha = 97,26^\circ$, $\beta = 102,44^\circ$, $\gamma = 89,09^\circ$			
200%_8,0_magnetyczne	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ HAp	P6 ₃ /m	a = b = 9,408, c = 6,888	a = b = 9,534, c = 6,699	94	0,28	74
	Ca ₄ O(PO ₄) ₂ TTCP	P12 ₁ 1	a = 7,023, b = 11,986, c = 9,473, $\beta = 90,9^\circ$	a = 6,652, b = 12,063, c = 9,618, $\beta = 92,17^\circ$	97	0,32	15
	Ca(HPO ₄) Monetite	P-1	a = 6,91, b = 6,627, c = 6,998, $\alpha = 96,34^\circ$, $\beta = 103,82^\circ$, $\gamma = 88,33^\circ$	a = 6,719, b = 6,315, c = 7,08, $\alpha = 100,75^\circ$, $\beta = 101,72^\circ$, $\gamma = 87,59^\circ$	>100	0,16	11
100%_11,0_magnetyczne	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ HAp	P6 ₃ /m	a = b = 9,408, c = 6,888	a = b = 9,46, c = 6,878	10,8	1,5	96
	Ca ₄ O(PO ₄) ₂ TTCP	P12 ₁ 1	a = 7,023, b = 11,986, c = 9,473, $\beta = 90,9^\circ$	a = 6,63, b = 12,07, c = 9,62, $\beta = 91,9^\circ$	10	0	4
150%_11,0_magnetyczne	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ HAp	P6 ₃ /m	a = b = 9,408, c = 6,888	a = b = 9,446, c = 6,862	19,2	0,86	96

	Ca ₄ O(PO ₄) ₂ TTCP	P12 ₁ 1	a = 7,023, b = 11,986, c = 9,473, β = 90,9°	a = 6,628, b = 12,05, c = 9,612, β = 91,98°	13	0	4
200%_11,0_magnetyczne	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ HAp	P6 ₃ /m	a = b = 9,408, c = 6,888	a = b = 9,425, c = 6,865	20	0,77	95
	Ca ₄ O(PO ₄) ₂ TTCP	P12 ₁ 1	a = 7,023, b = 11,986, c = 9,473, β = 90,9°	a = 6,624, b = 12,06, c = 9,614, β = 92,12°	12	0	5

Tabela 7. Wybrane parametry strukturalne proszków HAp przygotowanych przy użyciu miesadła mechanicznego

Nazwa próbki	Zidentyfikowany związek	Grupa przestrzenna	Parametry modelowe, COD, Å	Parametry obliczone, Å	Rozmiar kryształitu, nm	Odkształcenie sieciowe, %	Udział masowy, %
100%_8,0_mechaniczne	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ HAp	P6 ₃ /m	a = b = 9,408, c = 6,888	a = b = 9,633, c = 6,734	>100	0	70
	Ca ₄ O(PO ₄) ₂ TTCP	P12 ₁ 1	a = 7,023, b = 11,986, c = 9,473, β = 90,9°	a = 6,666, b = 12,10, c = 9,65, β = 92,38°	>100	0	10
	Ca(HPO ₄) Monetite	P-1	a = 6,91, b = 6,627,	a = 6,764, b = 6,319,	93	0,16	14

			c = 6,998, $\alpha = 96,34^\circ$, $\beta = 103,82^\circ$, $\gamma = 88,33^\circ$	c = 7,097, $\alpha = 100,92^\circ$, $\beta = 101,58^\circ$, $\gamma = 87,13^\circ$			
150%_8,0_mechaniczne	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ HAp	P6 ₃ /m	a = b = 9,408, c = 6,888	a = b = 9,505, c = 7,049	94	0	80
	Ca ₄ O(PO ₄) ₂ TTCP	P12 ₁ 1	a = 7,023, b = 11,986, c = 9,473, $\beta = 90,9^\circ$	a = 7,165, b = 11,672, c = 9,524, $\beta = 92,37^\circ$	>100	0	17
	Ca(HPO ₄) Monetite	P-1	a = 6,91, b = 6,627, c = 6,998, $\alpha = 96,34^\circ$, $\beta = 103,82^\circ$, $\gamma = 88,33^\circ$	a = 6,88, b = 6,67, c = 6,96, $\alpha = 97,8^\circ$, $\beta = 102,7^\circ$, $\gamma = 88,4^\circ$	>100	1	3
200%_8,0_mechaniczne	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ HAp	P6 ₃ /m	a = b = 9,408, c = 6,888	a = b = 9,669, c = 6,729	>100	0	76
	Ca ₄ O(PO ₄) ₂ TTCP	P12 ₁ 1	a = 7,023, b = 11,986, c = 9,473, $\beta = 90,9^\circ$	a = 6,668, b = 12,138, c = 9,685, $\beta = 92,37^\circ$	>100	0,02	13
	Ca(HPO ₄) Monetite	P-1	a = 6,91, b = 6,627,	a = 6,759, b = 6,337,	93	0,22	11

			c = 6,998, $\alpha = 96,34^\circ$, $\beta = 103,82^\circ$, $\gamma = 88,33^\circ$	c = 7,106, $\alpha = 100,91^\circ$, $\beta = 101,64^\circ$, $\gamma = 87,40^\circ$			
100%_11,0_mechaniczne	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ HAp	P6 ₃ /m	a = b = 9,408, c = 6,888	a = b = 9,432, c = 6,875	18	0,68	96
	Ca ₄ O(PO ₄) ₂ TTCP	P12 ₁ 1	a = 7,023, b = 11,986, c = 9,473, $\beta = 90,9^\circ$	a = 6,66, b = 12,06, c = 9,64, $\beta = 91,8^\circ$	7	0	4
150%_11,0_mechaniczne	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ HAp	P6 ₃ /m	a = b = 9,408, c = 6,888	a = b = 9,439, c = 6,851	19	0,63	96
	Ca ₄ O(PO ₄) ₂ TTCP	P12 ₁ 1	a = 7,023, b = 11,986, c = 9,473, $\beta = 90,9^\circ$	a = 6,65, b = 12,1, c = 9,61, $\beta = 92^\circ$	5,7	0	4
200%_11,0_mechaniczne	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ HAp	P6 ₃ /m	a = b = 9,408, c = 6,888	a = b = 9,424, c = 6,868	28	0,38	94
	Ca ₄ O(PO ₄) ₂ TTCP	P12 ₁ 1	a = 7,023, b = 11,986, c = 9,473, $\beta = 90,9^\circ$	a = 6,64, b = 12,10, c = 9,63, $\beta = 91,9^\circ$	10	0	6

Tabela 8. Wybrane parametry strukturalne dla komercyjnego HAp

Nazwa próbki	Zidentyfikowany związek	Grupa przestrzenna	Parametry modelowe, COD, Å	Parametry obliczone, Å	Rozmiar krystalitu, nm	Odkształcenie sieciowe, %	Udział masowy, %
HAp komercyjny	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ HAp	P6 ₃ /m	a = b = 9,408, c = 6,888	a = b = 9,415, c = 6,878	35	0,54	93,4
	Ca ₄ O(PO ₄) ₂ TTCP	P12 ₁ 1	a = 7,023, b = 11,986, c = 9,473, β = 90,9°	a = 6,684, b = 12,022, c = 9,646, β = 91,74°	17	0	3,7
	Ca(HPO ₄) Monetite	P-1	a = 6,91, b = 6,627, c = 6,998, α = 96,34°, β = 103,82°, γ = 88,33°	a = 6,969, b = 6,66, c = 6,976, α = 96,83°, β = 103,26°, γ = 87,94°	>100	0,14	2,8

W Tabelach 6-8 zestawiono wybrane parametry strukturalne określone dla komercyjnego HAp oraz próbek syntetyzowanych w różnych warunkach pH i przy zastosowaniu dwóch metod mieszania. W odniesieniu do danych z bazy COD podano wartości parametrów sieci krystalicznej, oszacowane rozmiary krystalitów, odkształcenie sieciowe oraz udział masowy poszczególnych faz.

Analiza wskazuje, że dla próbek otrzymanych przy pH = 11, niezależnie od typu mieszania, udział masowy fazy HAp był najwyższy i wynosił od 94 do 96%, przy obecności jedynie śladowych ilości TTCP. Natomiast próbki syntezowane przy pH = 8 zawierały większy udział faz towarzyszących – zarówno TTCP, jak i monetytu – co potwierdza mniej korzystne warunki do formowania jednorodnej fazy HAp w środowisku o umiarkowanej zasadowości. Ponadto, dla próbek otrzymanych przy pH = 8 rozmiary krystalitów HAp i faz ubocznych były wyraźnie większe (często przekraczające 100 nm) niż dla próbek uzyskanych przy pH = 11, w których wielkość krystalitów HAp wynosiła zazwyczaj 10–30 nm. Taki efekt może być związany z kinetyką procesu krystalizacji oraz ze stabilnością wytrącającej się fazy w zależności od zasadowości środowiska. W przypadku próbek syntetyzowanych przy pH = 11 można także zauważyć korzystną tendencję: wraz ze wzrostem stężenia substratów (od 100 do 200%) obserwowano stopniowy wzrost rozmiarów krystalitów HAp, przy równoczesnym obniżeniu wartości odkształcenia sieciowego. Może to świadczyć o poprawie uporządkowania wewnętrznego struktury i korzystniejszym przebiegu procesu krystalizacji w warunkach wyższego nasycenia reagentami. Zaobserwowaną zależność można uznać za istotną z punktu widzenia możliwości precyzyjnego sterowania parametrami syntezy w celu uzyskania materiału o pożądanej strukturze.

8.5. Określenie wydajności przeprowadzonej syntezy

Na podstawie wyników analiz strukturalnych (XRD) oraz spektroskopowych (FT-IR i Ramana) stwierdzono, że syntezy prowadzone w środowisku o pH = 8,0 skutkowały powstaniem mieszaniny różnych fosforanów wapnia. Z tego względu, z dalszych rozważań wykluczono próbki otrzymane w warunkach umiarkowanej zasadowości. W celu wyboru optymalnych parametrów syntezy, kolejnym etapem była ocena wydajności procesu, przy czym obliczenia przeprowadzono wyłącznie dla próbek otrzymanych przy pH = 11,0. Wydajność wyznaczono jako średnią z pięciu niezależnych powtórzeń dla każdego wariantu. Szczegółowe wyniki przedstawiono w Tabeli 9.

Tabela 9. Wydajność syntezy HAp

Nazwa próbki	Wydajność, %
100%_11,0_mechaniczne	79,86
125%_11,0_mechaniczne	81,12
<u>150% 11,0 mechaniczne</u>	<u>83,42</u>
175%_11,0_mechaniczne	83,73
200%_11,0_mechaniczne	83,56
100%_11,0_magnetyczne	79,21
125%_11,0_magnetyczne	80,92
150%_11,0_magnetyczne	82,26
175%_11,0_magnetyczne	82,43
200%_11,0_magnetyczne	83,35

Wydajność procesu syntezy stanowi istotny parametr technologiczny, bezpośrednio związany z efektywnością wykorzystania reagentów oraz opłacalnością metody [186,187]. Wobec tego w kolejnym etapie dokonano oceny wydajności reakcji chemicznego strącania HAp przeprowadzonej w warunkach silnie zasadowych ($\text{pH} = 11,0$) z zastosowaniem dwóch technik mieszania (mechanicznej i magnetycznej) oraz pięciu poziomów stężeń reagentów (100, 125, 150, 175 i 200%). Obliczeń dokonano dla każdego wariantu na podstawie średniej z pięciu niezależnych powtórzeń, co zapewnia wiarygodność i powtarzalność otrzymanych wartości (Tabela 9).

Otrzymane wyniki wykazały wyraźną zależność pomiędzy stężeniem reagentów a wydajnością syntezy. W przypadku obu metod mieszania zauważono stopniowy wzrost wydajności wraz ze wzrostem stężenia od 100% do 150%, co wskazuje na korzystny wpływ zwiększonego nasycenia środowiska reakcyjnego na przebieg procesu strącania. Dla mieszania mechanicznego wartości wydajności wzrosły w tym zakresie z 79,86% do 83,42%, natomiast dla mieszania magnetycznego – z 79,21% do 82,26%.

Warto jednak zauważyć, że dla wyższych stężeń reagentów (175% i 200%) nastąpiło ustabilizowanie wartości wydajności, co może świadczyć o osiągnięciu granicznej efektywności procesu. W obu przypadkach dalsze zwiększanie ilości substratów nie skutkowało istotnym wzrostem wydajności. Przykładowo, przy stężeniach 175% i 200% uzyskano odpowiednio 83,73% i 83,56% (mieszanie mechaniczne) oraz 82,43% i 83,35% (mieszanie magnetyczne). Różnice między tymi wartościami były marginalne i mieściły się w granicach błędu eksperymentalnego. Oznacza to, że po przekroczeniu pewnego progu, zwiększanie stężenia reagentów przestaje być efektywne i nie przekłada się na realne korzyści w zakresie wydajności. Z praktycznego

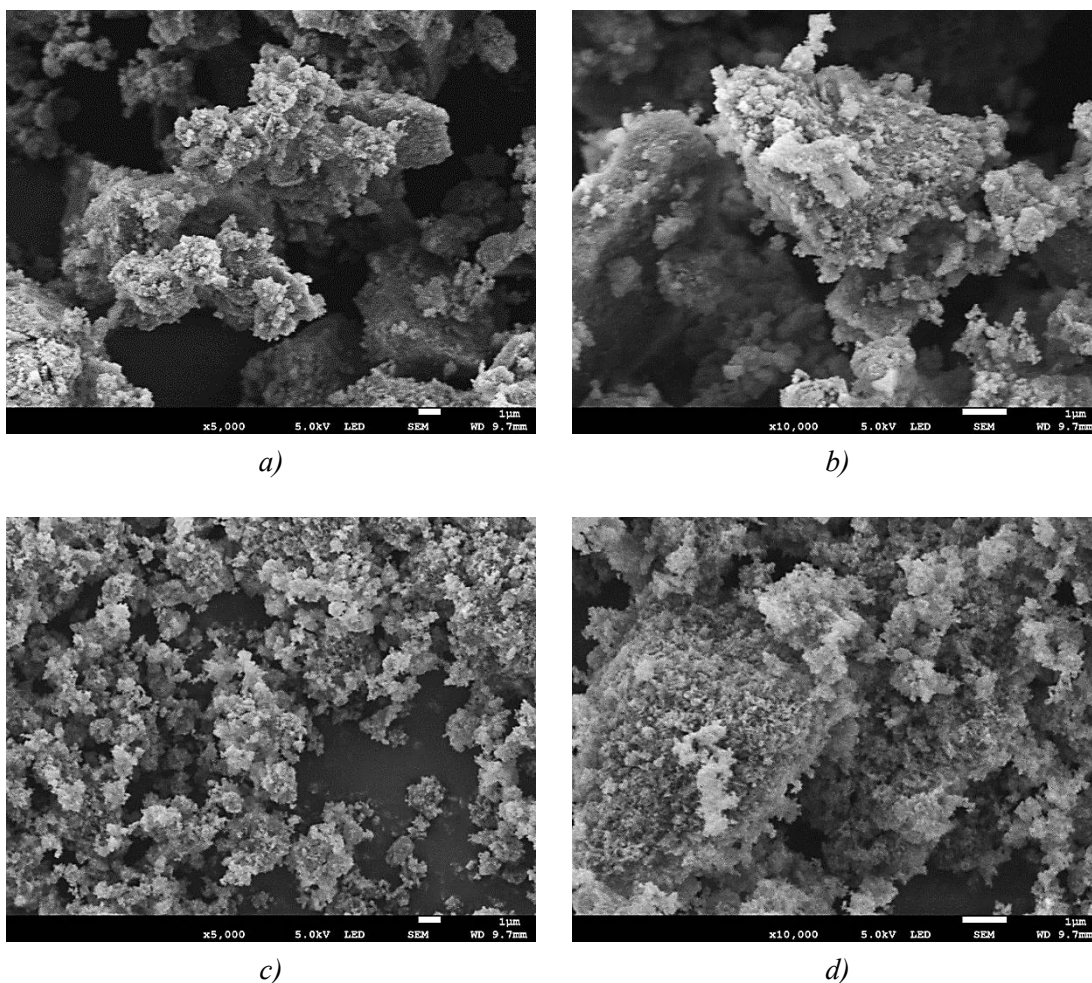
punktu widzenia, dalsze zwiększanie stężenia reagentów ponad poziom 150% należy uznać za niezasadne, szczególnie w kontekście założeń zielonej chemii, której jednym z podstawowych postulatów jest ograniczanie zużycia surowców i minimalizacja ilości odpadów [188,189]. Nadmiar reagentów, który nie przekłada się na wyższy uzysk, może prowadzić do niepotrzebnego obciążenia środowiska oraz zwiększenia kosztów procesu bez poprawy jego efektywności [190]. W związku z powyższym, stężenie 150% uznano za najbardziej racjonalny wybór – zapewniający wysoką wydajność (ponad 83%) przy jednoczesnym ograniczeniu zużycia surowców chemicznych. Dodatkowo, choć różnice w wydajności pomiędzy obiema metodami mieszania były relatywnie niewielkie (rzędu 0,2–0,6%), to w każdym analizowanym przypadku mieszanie mechaniczne prowadziło do nieznacznie wyższych wartości uzysku. Może to wynikać z bardziej efektywnego rozproszenia reagentów oraz intensywniejszego kontaktu substratów w układzie dynamicznym, co prawdopodobnie wpływa na efektywniejszą nukleację i wzrost krystalitów HAp [191–193]. Co istotne, wydajność na zbliżonym poziomie została także uzyskana przez Kamienniak i in., którzy określili 83,7% jako wartość odpowiadającą procesom wysokoefektywnym [194].

Zestawiając wszystkie przeanalizowane parametry – wartość pH, rodzaj mieszania oraz stężenie reagentów – można wskazać najbardziej korzystne warunki syntezy hydroksyapatytu jako próbkę oznaczoną jako 150%_11.0_mechaniczne, która została otrzymana przy pH = 11,0, z użyciem mieszania mechanicznego i stężeniem reagentów wynoszącym 150%. Próbką ta łączy w sobie wysoką wydajność reakcji, homogeniczny skład fazowy (na podstawie wcześniejszych wyników XRD i spektroskopii), dobrą krystaliczność i zgodność strukturalną z fazą referencyjną. Z tego względu została ona wybrana do dalszych badań i oznaczona jako „syntetyczny HAp”. W kolejnych etapach pracy porównano jej właściwości fizykochemiczne z komercyjnym HAp stosowanym jako materiał odniesienia.

8.6. Skaningowa mikroskopia elektronowa

Charakterystyka morfologii materiałów proszkowych stanowi istotny element ich oceny, ponieważ wpływa na właściwości aplikacyjne, takie jak zdolność do wiązania z podłożem biologicznym, rozpuszczalność czy powierzchniowa reaktywność. Różnice w kształcie, wielkości i aglomeracji cząstek mogą mieć bezpośrednie przełożenie na zachowanie materiału w środowisku fizjologicznym oraz jego potencjalne zastosowanie w inżynierii biomateriałów [195–197].

W związku z tym, w celu porównania morfologii obu badanych materiałów – HAp syntetycznego i komercyjnego – przeprowadzono obserwacje z wykorzystaniem skaningowej mikroskopii elektronowej. Uzyskane obrazy przedstawiono na Rysunku 26, przy powiększeniach 5 000× oraz 10 000×, co pozwoliło na bezpośrednią ocenę struktury badanych proszków ceramicznych.



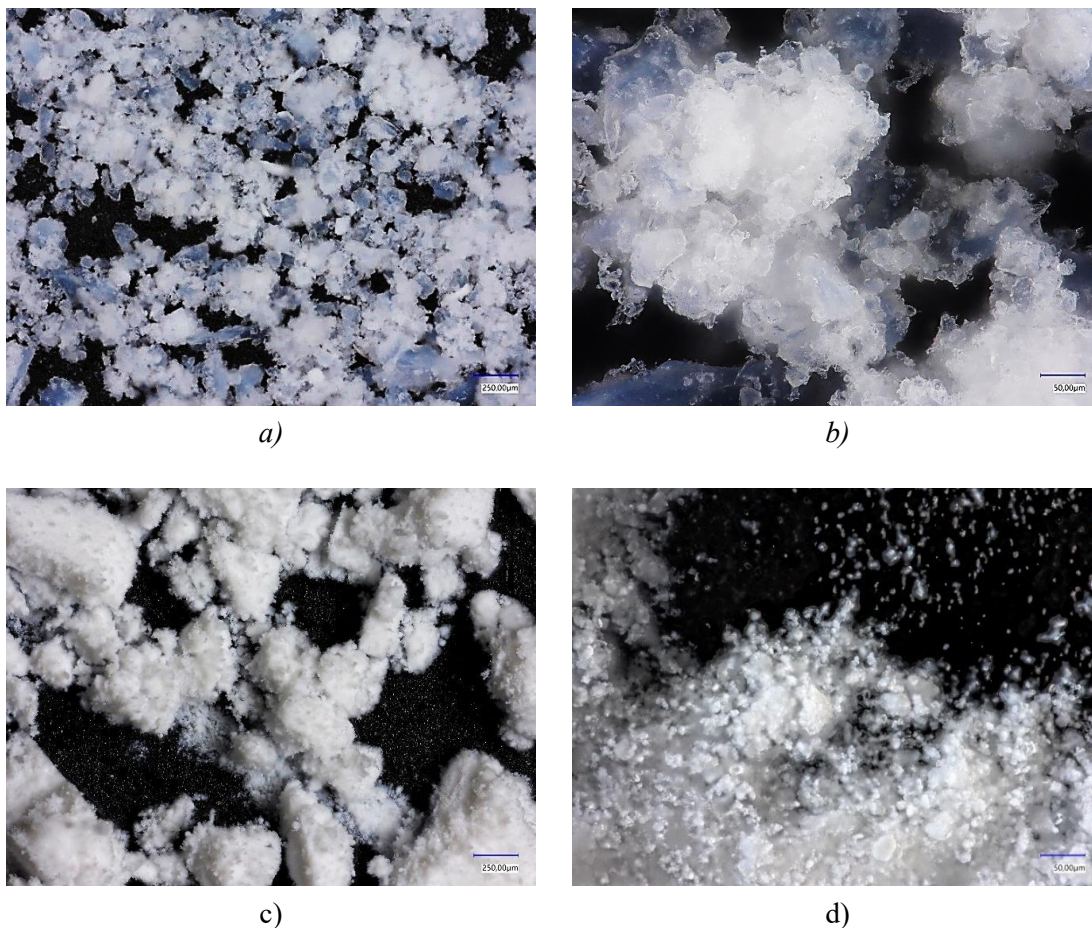
Rysunek 26. Obraz SEM syntetycznego proszku HAp przy powiększeniu 5000x (a) i 10000x (b) oraz komercyjnego proszku HAp przy powiększeniu 5000x (c) i 10000x (d)

Obrazy SEM zaprezentowane na Rysunku 26 ukazują strukturę powierzchniową proszków HAp syntetycznego i komercyjnego w dwóch skalach powiększenia. W obu przypadkach widoczne są cząstki o nieregularnych kształtach, tworzące skupiska o zróżnicowanym stopniu zagęszczenia, co utrudnia wyodrębnienie pojedynczych ziaren. Materiał syntetyczny charakteryzuje się bardziej zwartą i uporządkowaną morfologią, występując w postaci „cząstek/kryształów”. Z kolei proszek komercyjny tworzy struktury bardziej rozproszone, o mniej regularnym konturze i bardziej rozmytej, "kłaczkowatej" powierzchni, co może wskazywać na inny mechanizm formowania lub odmienny sposób suszenia i przetwarzania materiału.

Zaobserwowane różnice w morfologii badanych proszków mogą bezpośrednio wpływać na właściwości użytkowe materiału, w tym powierzchnię właściwą oraz liczbę dostępnych miejsc aktywnych. Te z kolei mają istotne znaczenie w kontekście potencjalnych zastosowań biomedycznych, wpływając m.in. na bioaktywność, zdolność wiązania z tkanką kostną oraz efektywność oddziaływań w środowisku fizjologicznym.

8.7. Mikroskopia optyczna

W celu uzupełnienia charakterystyki morfologicznej badanych proszków przeprowadzono obserwacje z wykorzystaniem mikroskopii optycznej. Uzyskane obrazy, przedstawione na Rysunku 27, umożliwiają ocenę makroskopowej struktury cząstek przy różnych powiększeniach (100x, 500x).



Rysunek 27. Obrazy syntetycznego proszku HAp przy powiększeniach 100× (a) i 500× (b) oraz komercyjnego proszku HAp przy powiększeniach 100× (c) i 500× (d), uzyskane za pomocą mikroskopii optycznej

Obserwacje przeprowadzone za pomocą mikroskopii optycznej umożliwiły ocenę struktury badanych proszków hydroksyapatytu i stanowiły uzupełnienie wcześniejszej charakterystyki morfologicznej uzyskanej przy użyciu SEM. Uzyskane obrazy potwierdzają istnienie wyraźnych różnic pomiędzy materiałem syntetycznym a komercyjnym. Dla obu proszków zaobserwowano niejednorodną strukturę, jednak układ cząstek oraz sposób ich aglomeracji były odmienne. Materiał syntetyczny wykazywał obecność luźno rozproszonych, nieregularnych skupisk o bardziej wyrazistym konturze. W przypadku proszku komercyjnego cząstki układały się w gęstsze, nieregularne struktury, o rozmytej granicy, przypominające luźno zbite

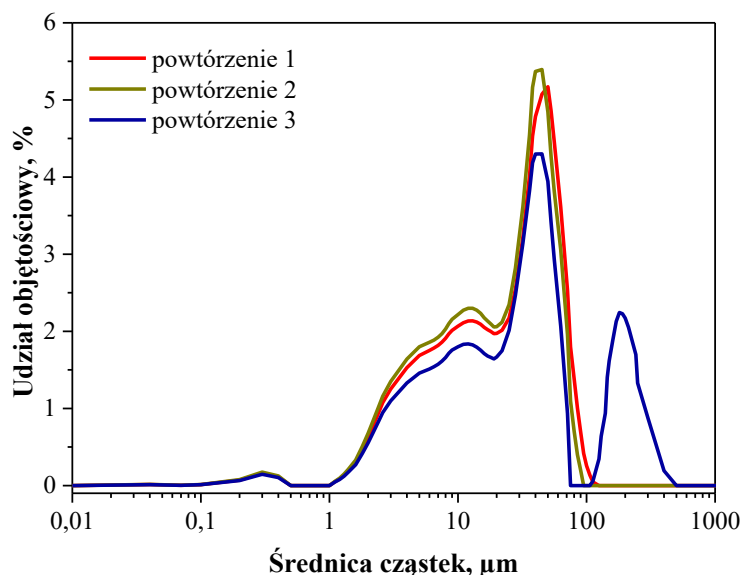
płatki. Zarówno rozmieszczenie, jak i struktura powierzchniowa cząstek potwierdzają obserwacje SEM. Obie techniki wskazują na odmienną morfologię proszków, co może mieć przełożenie na ich właściwości fizykochemiczne, w tym powierzchnię właściwą, porowatość czy stabilność w zawiesinie.

8.8. Analiza wielkości cząstek

W celu określenia rozkładu wielkości cząstek proszków HAp przeprowadzono analizę przy użyciu dyfrakcji laserowej. Pomiar wykonano w trzech niezależnych powtórzeniach w identycznych warunkach analitycznych, a uzyskane wyniki przedstawiono jako wartości charakterystyczne D_{10} , D_{50} i D_{90} , opisujące rozkład objętościowy cząstek w próbce HAp syntetycznego (Tabela 10, Rysunek 28) oraz komercyjnego (Tabela 11, Rysunek 29).

Tabela 10. Charakterystyczne parametry rozkładu wielkości cząstek HAp syntetycznego

Średnica	Pomiar I	Pomiar II	Pomiar III	Średnia	SD
$D_{10}, \mu\text{m}$	3,272	3,148	3,441	3,287	0,1467
$D_{50}, \mu\text{m}$	22,828	20,432	27,710	23,657	3,7090
$D_{90}, \mu\text{m}$	58,222	53,102	175,885	95,736	69,458



Rysunek 28. Rozkład udziału objętościowego cząstek HAp syntetycznego w funkcji średnicy cząstek, uzyskany metodą dyfrakcji laserowej (trzy powtórzenia pomiaru)

Na podstawie uzyskanych wyników określono charakterystyczne parametry świadczące o rozkładzie wielkości cząstek proszków ceramicznych. Parametr D_{10} , oznaczający średnicę cząstek, poniżej której znajduje się 10% objętości całkowitej,

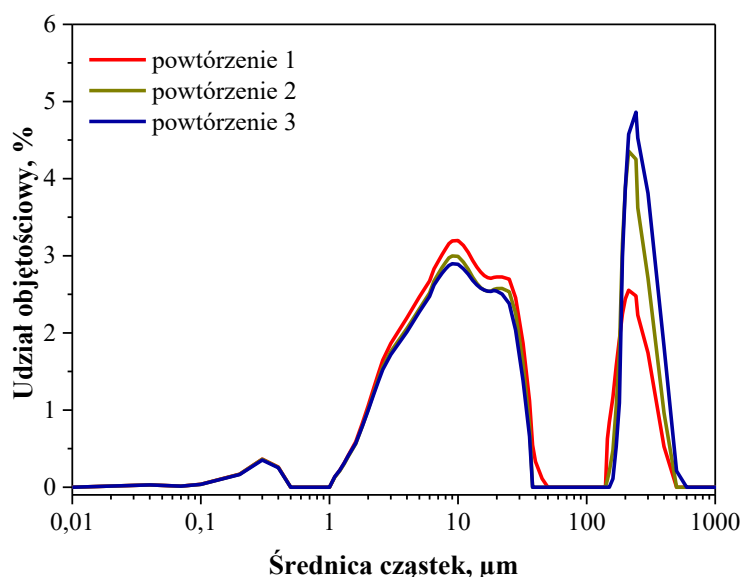
wynosił średnio 3,3 μm , przy stosunkowo niskim odchyleniu standardowym ($\text{SD} = 0,15 \mu\text{m}$), co świadczy o dobrej powtarzalności pomiaru w zakresie najmniejszych cząstek. Mediana rozkładu, określona jako $D_{50} = 23,7 \mu\text{m}$, wskazuje, że połowa objętości wszystkich cząstek znajduje się poniżej tej wartości. Jednocześnie parametr ten odznacza się umiarkowanym rozrzutem ($\text{SD} = 3,7 \mu\text{m}$), co może być wynikiem niewielkich różnic w rozmieszczeniu agregatów pomiędzy analizowanymi porcjami materiału. Wartość D_{90} , reprezentująca średnicę, poniżej której znajduje się 90% całkowitej objętości cząstek, wyniosła średnio 95,7 μm , przy znacznym odchyleniu standardowym równym 69,5 μm . Tak duża zmienność tego parametru wskazuje na obecność w próbce stosunkowo niewielkiej frakcji cząstek o znacznie większych rozmiarach, silnie wpływających na końcowy rozkład objętościowy. Analiza danych cząstkowych wskazuje, że wartości D_{90} dla pomiarów I i II były porównywalne (58,2 μm oraz 53,1 μm), natomiast w pomiarze III odnotowano istotny wzrost tego parametru (175,9 μm), co może świadczyć o obecności pojedynczych, silnie rozwiniętych aglomeratów lub o niepełnym rozproszeniu próbki w zawieszynie podczas przygotowania do pomiaru. Należy przy tym zaznaczyć, że przy dużej czułości metody pomiarowej, nawet niewielka liczba dużych cząstek może w znacznym stopniu zawyżać wartość D_{90} w analizie objętościowej.

Kształt krzywych przedstawionych na Rysunku 28 wskazuje na wielomodalny charakter rozkładu wielkości cząstek, który, jak wykazano również w innych badaniach, często towarzyszy materiałom otrzymywanym metodą mokrego strącania [198,199]. Ogólny profil rozkładu potwierdza obecność cząstek o zróżnicowanych rozmiarach, od frakcji drobnych ($<5 \mu\text{m}$) po większe agregaty przekraczające 150 μm . Największe maksimum udziału objętościowego przypada w zakresie średnic 30 – 100 μm , co świadczy o dominacji cząstek o średnich rozmiarach. Tylko w jednym z powtórzeń zaobserwowano dodatkowy pik w obszarze powyżej 100 μm , co może być związane z wtórną aglomeracją cząstek lub niepełnym rozproszeniem próbki.

Wyniki analizy rozkładu wielkości cząstek dla proszku HAp komercyjnego przedstawiono w Tabeli 11 oraz na Rysunku 29.

Tabela 11. Charakterystyczne parametry rozkładu wielkości cząstek HAp komercyjnego

Średnica	Pomiar I	Pomiar II	Pomiar III	Średnia	SD
D₁₀, μm	2,287	2,353	2,423	2,354	0,06785
D₅₀, μm	10,405	11,599	12,726	11,576	1,1606
D₉₀, μm	204,928	237,581	268,354	236,954	31,718



Rysunek 29. Rozkład udziału objętościowego cząstek HAp komercyjnego w funkcji średnicy cząstek, uzyskany metodą dyfrakcji laserowej (trzy powtórzenia pomiaru)

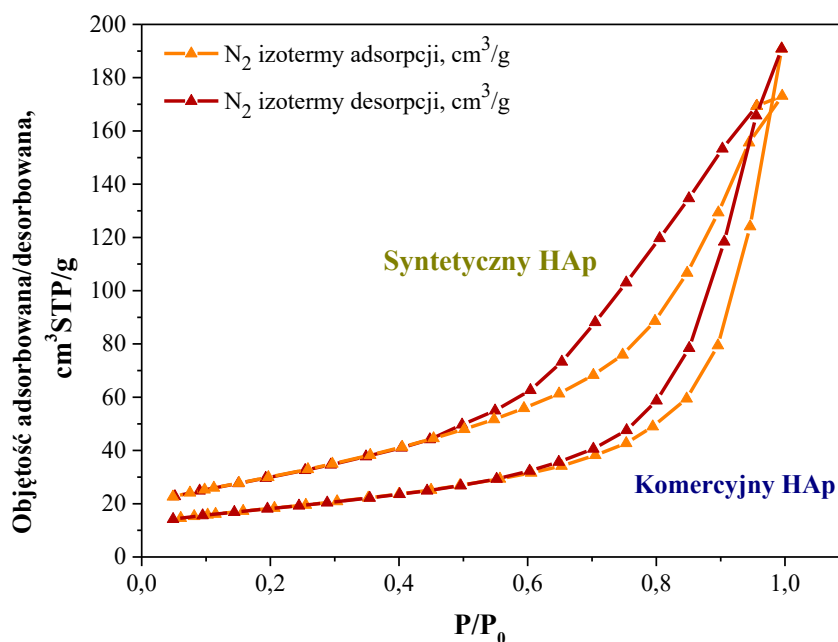
Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono obecność dwóch wyraźnych frakcji o zróżnicowanej średnicy. Główne maksima intensywności znajdują się w zakresie średnic 1 – 40 μm oraz 150 – 600 μm , co potwierdza szeroki zakres rozmiarów obecnych w próbce i wskazuje na jej niejednorodność. Wartość D_{10} wynosząca średnio 2,35 μm wskazuje, że 10% całkowitej objętości cząstek to cząstki bardzo drobne. Mediana rozkładu (D_{50}) określona została na poziomie 11,58 μm , co świadczy o tym, że połowa cząstek (pod względem objętości) ma średnicę mniejszą od tej wartości. Wartość $D_{90} = 236,95 \mu\text{m}$, przy odchyleniu standardowym 31,72 μm , potwierdza obecność cząstek znacznie większych niż w próbce syntetycznej, co może wynikać zarówno z innego mechanizmu formowania, jak i z zastosowania odmiennych technik przetwórczych na etapie produkcji komercyjnej. Wszystkie trzy powtórzenia pomiaru wykazują dobrą powtarzalność, co odzwierciedla zbieżność uzyskanych krzywych rozkładu. Jednocześnie obserwowana obecność dwóch frakcji cząstek wskazuje na niską jednorodność proszku oraz możliwość występowania dużej ilości aglomeratów, co może wpływać na właściwości materiału, takie jak powierzchnia właściwa czy zdolność do formowania jednorodnych zawiesin.

Analiza rozkładów wielkości cząstek dla obu proszków wykazała wyraźne różnice w ich jednorodności. Choć rozkład syntetycznego HAp wykazywał charakter wielomodalny, to główne maksimum objętościowe mieściło się w zakresie 30–100 μm , a dodatkowe odchylenie obserwowane było tylko w jednym z powtórzeń, co może wskazywać na sporadyczną obecność większych aglomeratów. Natomiast proszek komercyjny charakteryzował się jednoznacznie bimodalnym rozkładem, z istotnym udziałem zarówno drobnych cząstek (<40 μm), jak i dużych agregatów

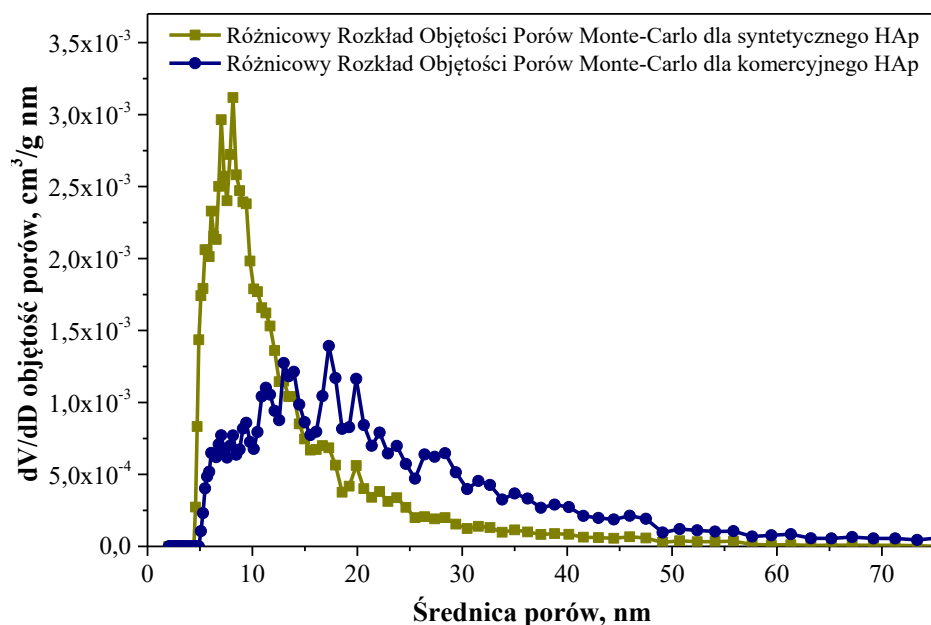
przekraczających 200 μm , co zaobserwowano we wszystkich powtórzeniach. Taki układ wskazuje na niższą jednorodność granulometryczną materiału komercyjnego w porównaniu do syntetycznego, w którym mimo szerokiego zakresu rozmiarów cząstek obserwuje się bardziej regularny przebieg rozkładu i mniejsze rozproszenie wartości skrajnych.

8.9. Pomiar porowatości i powierzchni właściwej

W celu określenia właściwości powierzchniowych oraz charakterystyki porowatości otrzymanych proszków hydroksyapatytu przeprowadzono analizę adsorpcji fizycznej azotu (N_2). Na podstawie uzyskanych danych wyznaczono powierzchnię właściwą metodą Brunauera–Emmetta–Teller (BET) oraz objętość i rozkład wielkości porów z wykorzystaniem teorii funkcjonału gęstości (DFT, ang. Density Functional Theory). Uzyskane izotermy adsorpcji–desorpcji przedstawiono na Rysunku 30, natomiast rozkład wielkości mezoporów zaprezentowano na Rysunku 31. Szczegółowe wartości parametrów sorpcji fizycznej zestawiono w Tabeli 12.



Rysunek 30. Izotermy adsorpcji–desorpcji dla HAp syntetycznego i komercyjnego



Rysunek 31. Różnicowy rozkład wielkości mezoporów wyznaczony metodą DFT

Tabela 12. Parametry wyznaczone na podstawie adsorpcji fizycznej azotu metodą BET i DFT dla HAp syntetycznego i komercyjnego

Nazwa próbki	Powierzchnia właściwa BET, m ² /g	Rozkład wielkości porów DFT, nm	Objętość porów DFT, cm ³ /g	Objętość porów mikroporowatych (Vt), cm ³ /g
HAp syntetyczny	110	6	0,26	0
		7		
		8		
		20		
HAp komercyjny	64	7	0,27	0
		9		
		11		
		13		
		17		
		20		
		22		
		24		
		28		

Uzyskane izotermy adsorpcji–desorpcji (Rysunek 30) pozwoliły określić typ struktury porowatej oraz oszacować parametry powierzchni właściwej i objętości porów z wykorzystaniem modeli BET oraz DFT (Tabela 12).

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że zarówno syntetyczny, jak i komercyjny hydroksyapatyt wykazują izotermy adsorpcji–desorpcji typu IV według klasyfikacji IUPAC, co potwierdza mezoporowaty charakter analizowanych materiałów. Obecność pętli histerezy w obszarze wysokich wartości P/P_0 (powyżej 0,8) jest charakterystyczna dla układów porowatych o nieregularnej strukturze [200,201]. W obu przypadkach obserwuje się pętlę histerezy typu H3, która wskazuje na obecność porów szczelinowych, najczęściej powstających w przypadku cząstek nieregularnych lub pomiędzy agregatami płytkowych [202,203]. Ponadto, można stwierdzić, że uzyskane w niniejszej pracy izotermy adsorpcji–desorpcji typu IV oraz obecność pętli histerezy typu H3 są zgodne z wynikami przedstawionymi przez innych autorów zajmujących się analizą strukturalną hydroksyapatytu. Przykładowo, Lai i wsp. wykazali, że otrzymane przez nich cząstki węglanowego HAp cechowały się typową izotermą IV z histerezą H3, co powiązano z obecnością porów szczelinowych, powstających wskutek agregacji cząstek o strukturze płytkowej [204]. Podobne obserwacje odnotowali Shafiq i wsp., którzy również zaklasyfikowali swoje próbki HAp jako mezoporowate materiały z pętlą histerezy typu H3, wskazującą na obecność porów o nieregularnych szczelinach pomiędzy skupiskami cząstek [205]. Następnie, również Ramli i współautorzy odnotowali występowanie tej samej klasy izoterm oraz typu histerezy w analizowanych materiałach szklistych o właściwościach bioaktywnych, powiązanych z obecnością niejednorodnych porów o szczelinowej morfologii [206]. W związku ze spójnością uzyskanych wyników można je uznać za zgodne z aktualnym stanem wiedzy w zakresie mezoporowatości i charakterystyki teksturalnej hydroksyapatytu.

W nawiązaniu do danych zestawionych w Tabeli 12 można również wskazać wyraźne różnice pomiędzy analizowanymi próbkami. Syntetyczny HAp charakteryzował się wyraźnie wyższą powierzchnią właściwą, osiągającą wartość $110 \text{ m}^2/\text{g}$, podczas gdy powierzchnia próbki komercyjnej wyniosła $64 \text{ m}^2/\text{g}$. Tak znaczna różnica może wynikać zarówno z mniejszego stopnia aglomeracji w przypadku syntetycznej próbki, jak i z drobniejszej frakcji porów, co zostało potwierdzone analizą rozkładu wielkości porów (Rysunek 31). Warto zwrócić uwagę, że pomimo różnic w powierzchni właściwej, całkowite objętości porów określone metodą DFT były porównywalne i wyniosły $0,26 \text{ cm}^3/\text{g}$ dla HAp syntetycznego oraz $0,27 \text{ cm}^3/\text{g}$ dla komercyjnego. Oznacza to, że w obu przypadkach struktura materiału oferuje zbliżoną całkowitą objętość dostępnych przestrzeni porowatych, choć ich rozmieszczenie i rozkład wielkości są odmienne. Objętość mikroporów (o średnicy $<2 \text{ nm}$), oszacowana na podstawie wykresów V_t , była pomijalna ($0 \text{ cm}^3/\text{g}$) dla obu materiałów, co potwierdza dominujący udział mezoporów.

Rysunek 31 przedstawia różnicowy rozkład wielkości porów określony metodą DFT dla analizowanych próbek HAp. W przypadku HAp syntetycznego główne maksimum rozkładu zlokalizowane jest w rejonie średnic około 8 nm , co wskazuje na obecność porów mezoporowatych o stosunkowo jednorodnym zakresie rozmiarów.

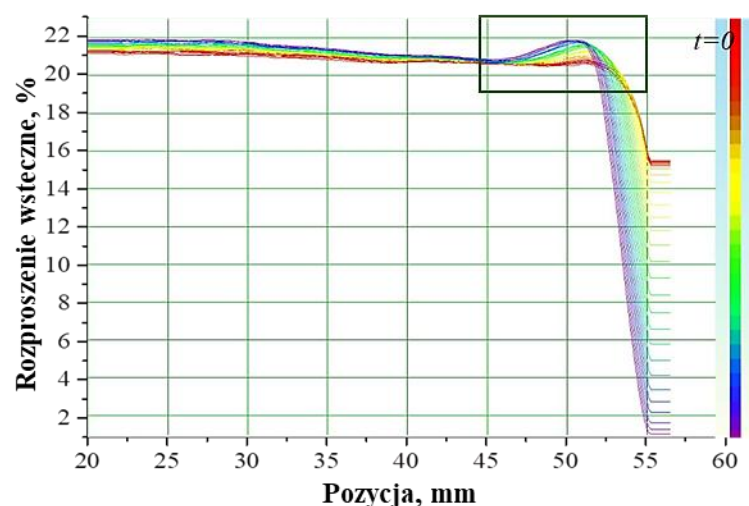
Rozkład ten cechuje się wyraźnie zaznaczonym pojedynczym maksimum oraz gwałtownym obniżeniem udziału objętościowego dla porów o większych średnicach, co może świadczyć dobrze uformowanej i jednorodnej strukturze porowatej. Dla próbki komercyjnej maksimum rozkładu przesunięte jest w kierunku większych średnic i osiąga wartość ok. 17 nm, a sam rozkład wykazuje szerszy zakres, obejmujący również pory o średnicy dochodzącej do 60–70 nm. Taka charakterystyka wskazuje na znacznie większą niejednorodność teksturalną materiału i może wiązać się z potencjalną obecnością porów wtórnych lub przestrzeni międzycząsteczkowych wynikających z aglomeracji. W szerszym ujęciu, obserwowane różnice w rozkładzie porów mogą mieć istotne znaczenie aplikacyjne, szczególnie w kontekście kontroli procesów dyfuzji, kinetyki sorpcji czy stabilności mechanicznej materiału stosowanego jako rusztowanie biomedyczne.

Porównując oba materiały, można zauważyć, że syntetyczny hydroksyapatyt wykazuje korzystniejsze właściwości powierzchniowe – przede wszystkim większą powierzchnię właściwą oraz węższy, bardziej jednorodny rozkład wielkości mezoporów. Taka charakterystyka może mieć istotne znaczenie z punktu widzenia przyszłych zastosowań biomedycznych, szczególnie w obszarach wymagających wysokiej zdolności adsorpcyjnej, dobrej bioresorpcji lub precyzyjnie kontrolowanego uwalniania substancji czynnych. Z kolei HAp komercyjny, mimo porównywalnej całkowitej objętości porów, charakteryzuje się niższą powierzchnią właściwą oraz mniej jednorodnym rozkładem porów, co może ograniczać jego efektywność w niektórych zastosowaniach biomedycznych.

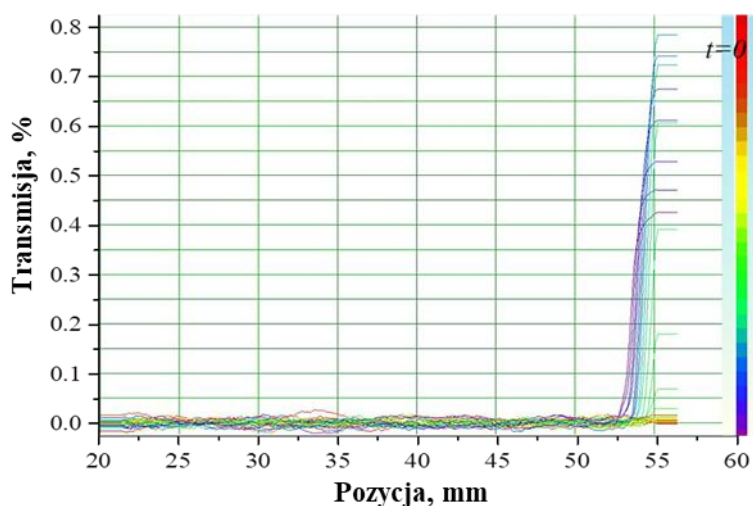
8.10. Określenie stabilności zawiesiny hydroksyapatytu

Jednym z istotnych parametrów charakteryzujących właściwości fizykochemiczne bioaktywnych proszków ceramicznych, zwłaszcza w kontekście ich dalszego przetwarzania, jest stabilność zawiesiny wodnej. Parametr ten ma kluczowe znaczenie w takich procesach jak formowanie past, nanoszenie powłok, spiekanie czy synteza kompozytów. Ponadto, wpływa również na jakość dyspersji w środowisku fizjologicznym. Stabilność zawiesiny zależy m.in. od wielkości cząstek, ich morfologii, ładunku powierzchniowego oraz stopnia aglomeracji. W celu oceny tego aspektu przeprowadzono badanie stabilności układów wodnych zawierających syntetyczny oraz komercyjny hydroksyapatyt.

Wyniki analizy przedstawiono na Rysunkach 32 – 34. Rysunki 32 i 33 prezentują zmiany intensywności rozproszenia wstecznego oraz transmisji światła w funkcji pozycji detekcji w kolumnie zawiesiny. Rysunek 34 ukazuje przebieg zmian położenia granicy sedymentacyjnej w czasie, co pozwala na porównanie dynamiki sedymentacji obu materiałów.



a)



b)

Rysunek 32. Zależność intensywności rozpraszania wstecznego (a) oraz transmisji (b) od pozycji detekcji w kolumnie zawiesiny (HAp syntetyczny)

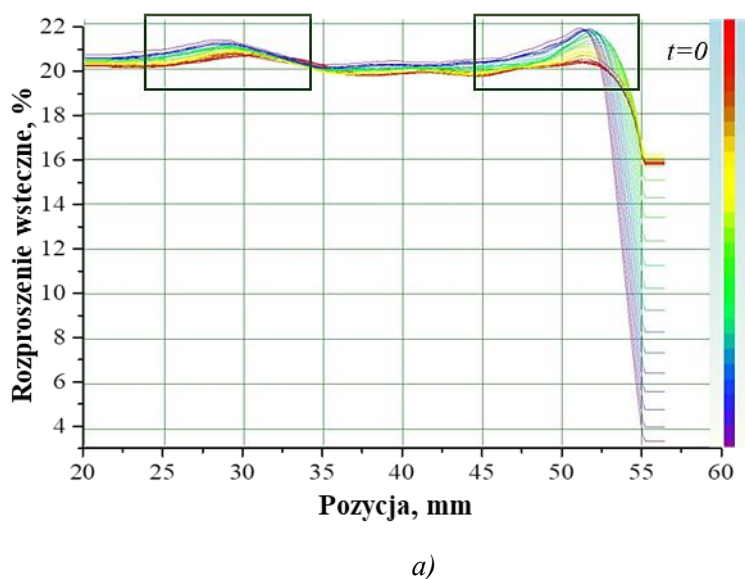
Na Rysunku 32 zaprezentowano wyniki analizy stabilności zawiesiny HAp syntetycznego w wodzie destylowanej, przeprowadzonej metodą pomiaru rozpraszania wstecznego i transmisji światła w funkcji pozycji detekcji w kolumnie pomiarowej. Technika ta pozwala na monitorowanie zmian koncentracji cząstek w zawieszynie zarówno w czasie, jak i w przestrzeni, co umożliwia szczegółowe śledzenie procesu sedymentacji i oceny dyspersyjnych właściwości proszków ceramicznych.

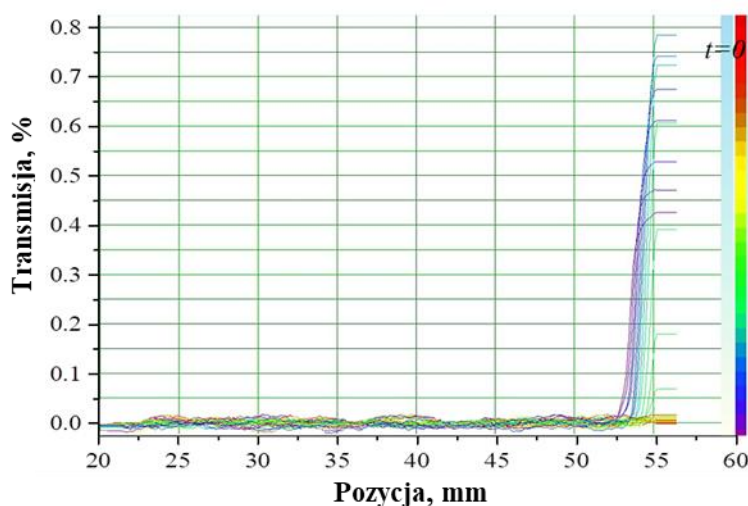
Rysunek 32(a) przedstawia profil intensywności rozpraszania wstecznego światła, które powstaje w wyniku odbicia promieniowania przez cząstki zawieszone w badanym układzie. Intensywność tego sygnału jest silnie skorelowana z lokalną koncentracją cząstek w próbce – im więcej cząstek znajduje się w danym obszarze, tym większe rozpraszanie wsteczne jest rejestrowane. Na osi X oznaczonej jako „pozycja (mm)” odwzorowano wysokość detekcji w kolumnie zawiesiny: wartości ok. 20 mm

odpowiadają dolnej części kuwety pomiarowej, natomiast pozycje w zakresie 55–60 mm reprezentują jej górną część. Na osi pionowej przedstawiono intensywność rozproszenia wyrażoną w procentach. Widoczne na wykresie kolorowe krzywe oznaczają kolejne pomiary wykonywane w odstępach czasowych, od $t = 0$ (kolor czerwony) do zakończenia eksperymentu (kolor fioletowy). Na początku pomiaru krzywe rozpraszania są względnie płaskie, co świadczy o równomiernym rozmieszczeniu cząstek w całej objętości zawiesiny. Z czasem jednak w górnej części kolumny (pozycja > 50 mm) obserwuje się wyraźny spadek sygnału, co jest wynikiem stopniowego oczyszczania tego obszaru z zawieszonych cząstek na skutek ich opadania. Jednocześnie w przedziale 45–52 mm następuje wzrost intensywności rozpraszania, co wskazuje na akumulację cząstek w strefie sedymentacyjnej. Taka dynamika zmian stanowi wyraźny dowód na zachodzący proces separacji faz stałej i ciekłej w badanym układzie.

Na Rysunku 32(b) zaprezentowano zmiany wartości transmisji światła, które – odwrotnie do rozpraszania – wzrastają w miarę zmniejszania się stężenia cząstek. Początkowo transmisja jest bliska zeru w całej kolumnie, natomiast w czasie trwania analizy wyraźnie wzrasta w górnej części kuwety pomiarowej. Wskazuje to na postępujące klarowanie się roztworu w tej strefie, co bezpośrednio potwierdza wcześniejsze obserwacje spadku intensywności rozpraszania. Zaobserwowane zmiany w sygnałach rozpraszania i transmisji potwierdzają zachodzący proces sedymentacji, w którym cząstki hydroksyapatytu opadają na dno naczynia. Pojawienie się wyraźnej granicy sedymentacyjnej w określonym przedziale pozycji detekcji świadczy o ograniczonej stabilności zawiesiny. Jednocześnie dynamika zmian sugeruje, że materiał ten nie tworzy trwałej dyspersji, co może być istotne z punktu widzenia jego aplikacyjności, np. w systemach iniekcyjnych lub nośnikach substancji aktywnych.

Poniżej zaprezentowano wyniki analizy przeprowadzonej dla HAp komercyjnego.



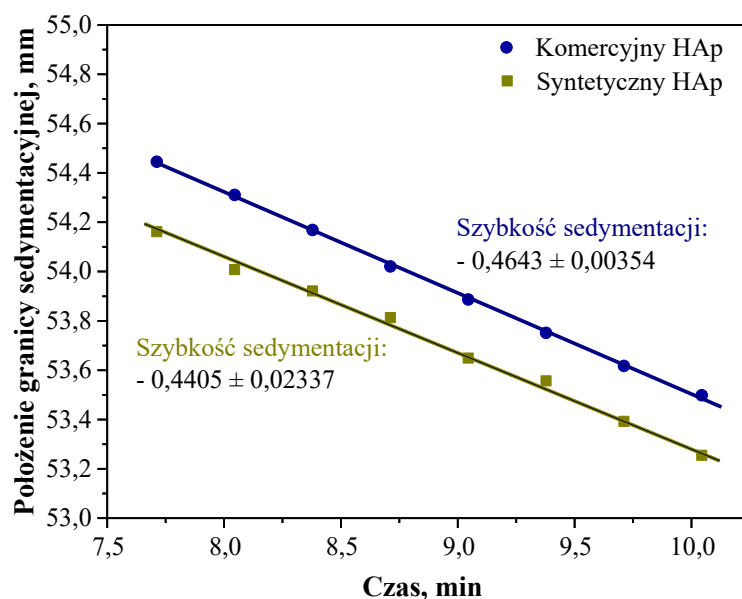


b)

Rysunek 33. Zależność intensywności rozproszenia wstecznego (a) oraz transmisji (b) od pozycji detekcji w kolumnie zawiesiny (HAp komercyjny)

W przypadku analizy HAp komercyjnego uzyskano analogiczne wyniki jak poprzednio. Wraz z upływem czasu obserwuje się charakterystyczny spadek intensywności rozproszenia w górnej części zawiesiny (pozycje > 55 mm), co wskazuje na postępującą sedymentację cząstek HAp. Co istotne, zidentyfikowano jednak dwa odrębne obszary, w których nastąpił wyraźny wzrost wartości rozproszenia – pierwszy zlokalizowany w zakresie 47–53 mm, a drugi niżej, w obszarze 26–33 mm. Obecność dwóch odrębnych frontów sedymentacyjnych może być bezpośrednio powiązana z bimodalnym charakterem rozkładu wielkości cząstek tego proszku, potwierdzonym wcześniej analizą dystrybucji. Najprawdopodobniej większe cząstki, osiągające nawet powyżej $200\ \mu\text{m}$ ($D_{90} = 236,95\ \mu\text{m}$), opadają szybciej, tworząc niższą warstwę osadu, natomiast mniejsze frakcje ($D_{10} = 2,35\ \mu\text{m}$) sedymentują wolniej i zatrzymują się wyżej w kolumnie, co zwiększa lokalne rozproszenie światła. Rysunek 33(b) przedstawiający zmianę transmisji, wskazuje charakterystyczny wzrost w zakresie pozycji 55–60 mm. Wskazuje to na zwiększoną przezroczystość zawiesiny w tej strefie, wynikającą z usunięcia cząstek z górnych partii roztworu, co potwierdza efektywne opadanie fazy stałej. Wartości transmisji utrzymujące się w pozostałym obszarze na bardzo niskim poziomie sugerują obecność cząstek blokujących przechodzenie promieniowania.

Opisane zjawiska, szczególnie podwójna strefa sedymentacyjna oraz znaczna heterogeniczność w zakresie położenia, są spójne z wcześniejszymi obserwacjami morfologicznymi i analizą rozkładu cząstek. Wskazują one na znacznie niższą jednorodność granulometryczną komercyjnego HAp w porównaniu do próbki syntetycznej, co może mieć wpływ na jego stabilność zawiesinową i ograniczać potencjalne zastosowania w sytuacjach wymagających przewidywalnego zachowania materiału w roztworze.



Rysunek 34. Zmiana położenia granicy sedymentacyjnej w funkcji czasu dla analizowanych zawiesin hydroksyapatytu

Na powyższym wykresie zaprezentowano zmianę położenia granicy sedymentacyjnej w funkcji czasu dla zawiesin obu badanych proszków HAp. Linia granicy sedymentacyjnej wyznacza miejsce w kolumnie pomiarowej, gdzie następuje wyraźna zmiana intensywności sygnału rozproszenia lub transmisji światła, odpowiadająca frontowi opadających cząstek w czasie. Dla obu badanych próbek obserwuje się liniowy spadek położenia tej granicy wraz z upływem czasu, co sugeruje stałą prędkość opadania cząstek w badanym przedziale. Na podstawie nachylenia prostych regresji liniowej obliczono prędkości sedymentacji, które wyniosły odpowiednio około 0,4643 mm/min dla HAp komercyjnego i 0,4405 mm/min dla HAp syntetycznego. Pomimo zbliżonych wartości, zawiesina komercyjna wykazuje nieco szybszą sedymentację cząstek, co pozostaje w zgodzie z wcześniejszymi wynikami analizy rozkładu wielkości cząstek. Komercyjny proszek charakteryzował się większym udziałem frakcji o dużej średnicy ($D_{90} \approx 237 \mu\text{m}$), co zgodnie z równaniem Stokesa skutkuje wyższą prędkością opadania w porównaniu do drobniejszych i bardziej jednorodnych cząstek HAp syntetycznego ($D_{90} \approx 96 \mu\text{m}$) [207,208].

8.11. Oznaczenie zawartości wapnia i fosforu

W celu uzupełnienia charakterystyki chemicznej otrzymanych materiałów przeprowadzono oznaczenie zawartości wapnia (Ca) i fosforu (P) – dwóch podstawowych pierwiastków budujących strukturę hydroksyapatytu. Na podstawie uzyskanych wyników wyliczono stosunek molowy Ca/P, który stanowi istotny wskaźnik

stechiometrii i jednorodności chemicznej analizowanych próbek. Odniesienie uzyskanych wartości do teoretycznego stosunku $\text{Ca/P} = 1,67$, charakterystycznego dla stechiometrycznego hydroksyapatytu, umożliwia ocenę poprawności procesu syntezy oraz identyfikację potencjalnych odchyłeń związanych z obecnością dodatkowych form fosforanów wapnia, substytucji jonowych lub niestechiometrycznych struktur [209,210].

Tabela 13. Porównanie stosunku Ca/P ($\pm$ SD) badanych proszków HAp

Nazwa próbki	n Ca	n P	Ca/P (średnia)
HAp komercyjny	1,0285	0,5848	$1,7588 \pm 0,0122$
HAp syntetyczny	0,9738	0,5778	$1,6855 \pm 0,0099$

Wartości stosunku molowego Ca/P , uzyskane na podstawie analizy zawartości wapnia i fosforu (Tabela 13), wskazują, że obie badane próbki odbiegają od wartości teoretycznej dla stechiometrycznego hydroksyapatytu ($\text{Ca/P} = 1,67$), jednak w różnym stopniu. Dla materiału syntetycznego stosunek ten wyniósł $1,6855 \pm 0,0099$, natomiast dla proszku komercyjnego $1,7588 \pm 0,0122$.

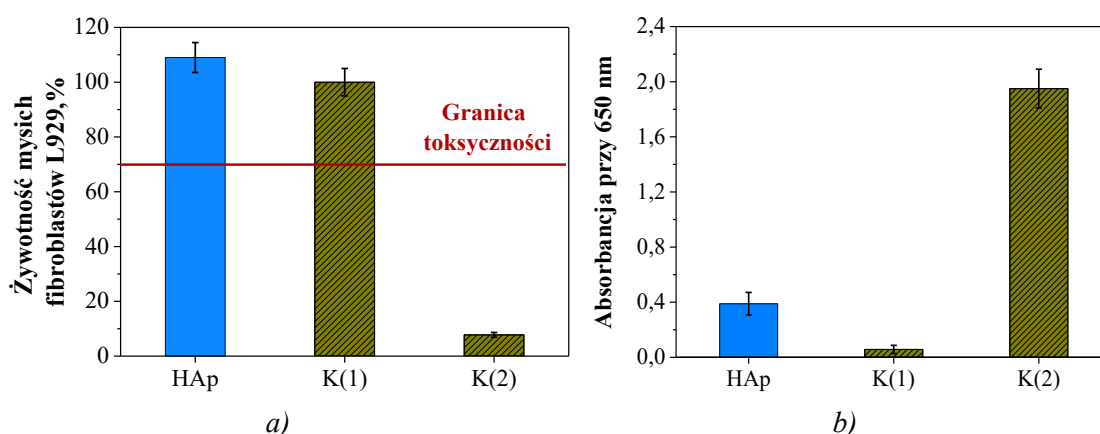
Stosunkowo niewielkie stopień odchylenie od wartości stechiometrycznej ($\text{Ca/P} = 1,67$) w przypadku próbki syntetycznej świadczy o wyższym stopniu zgodności składu chemicznego i potwierdza dominujący udział tej fazy w materiale. W obu przypadkach stosunek molowy Ca/P przewyższa wartość teoretyczną, co może być efektem obecności faz o podwyższonej zawartości wapnia, takich jak TTCP ($\text{Ca/P} = 2,0$). Wyniki te pozostają w zgodzie z analizą dyfrakcyjną, która wykazała większą jednorodność fazową w próbce syntetycznej oraz obecność dodatkowych faz w materiale komercyjnym. Różnice w składzie chemicznym są również zgodne z wynikami analiz spektroskopowych, które ujawniły szersze spektrum pasm w próbce komercyjnej, co może świadczyć o obecności niestechiometrycznych form wapniowo-fosforanowych lub zaburzeniach w strukturze krystalicznej. Jak wynika z literatury, nawet niewielkie odchylenia od teoretycznego stosunku Ca/P mogą wpływać na rozpuszczalność, resorpcję biologiczną oraz zachowanie materiału w środowisku fizjologicznym. W związku z powyższym, kolejnym etapem badań była ocena właściwości biologicznych [211–213].

8.12. Analiza właściwości biologicznych

W nawiązaniu do przeprowadzonych badań strukturalnych, morfologicznych oraz fizykochemicznych, do dalszych etapów niniejszej pracy wybrano syntetyczny hydroksyapatyt jako materiał o najbardziej optymalnych właściwościach. Uzyskany proszek charakteryzował się wysoką czystością fazową, składem chemicznym zbliżonym do HAp stechiometrycznego, większą jednorodnością w morfologii i rozkładzie wielkości cząstek. Ponadto, materiał ten wykazywał wyraźnie wyższą powierzchnię właściwą oraz bardziej rozwiniętą strukturę mezoporowatą w porównaniu do dostępnego

komercyjnie odpowiednika, co może przekładać się na jego większą aktywność powierzchniową i potencjał aplikacyjny, zwłaszcza w kontekście interakcji z tkanką biologiczną.

W celu uzupełnienia kompleksowej charakterystyki wybranego materiału oraz weryfikacji jego bezpieczeństwa biologicznego, przeprowadzono badania cytotoksyczności oraz aktywności prozapalnej. Ocena tych parametrów stanowi kluczowy etap w kontekście potencjalnych zastosowań hydroksyapatytu jako bioaktywnego komponentu w inżynierii tkanki kostnej. Wyniki analizy właściwości biologicznych zaprezentowano na Rysunku 35.



Rysunek 35. Ocena cytotoksyczności metodą MTT (a) oraz aktywności prozapalnej poprzez oznaczenie poziomu aktywacji szlaku NF- κ B (b)

W celu oceny biogodności HAp przeprowadzono badanie cytotoksyczności z wykorzystaniem testu MTT, który umożliwia ilościową ocenę żywotności komórek na podstawie aktywności dehydrogenaz mitochondrialnych. Doświadczenie wykonano wykorzystując standardową linię fibroblastów mysich L929, zgodnie z wymaganiami normy PN-EN ISO 10993-5:2009 („*Biologiczna ocena wyrobów medycznych – Część 5: Badania cytotoksyczności in vitro*”).

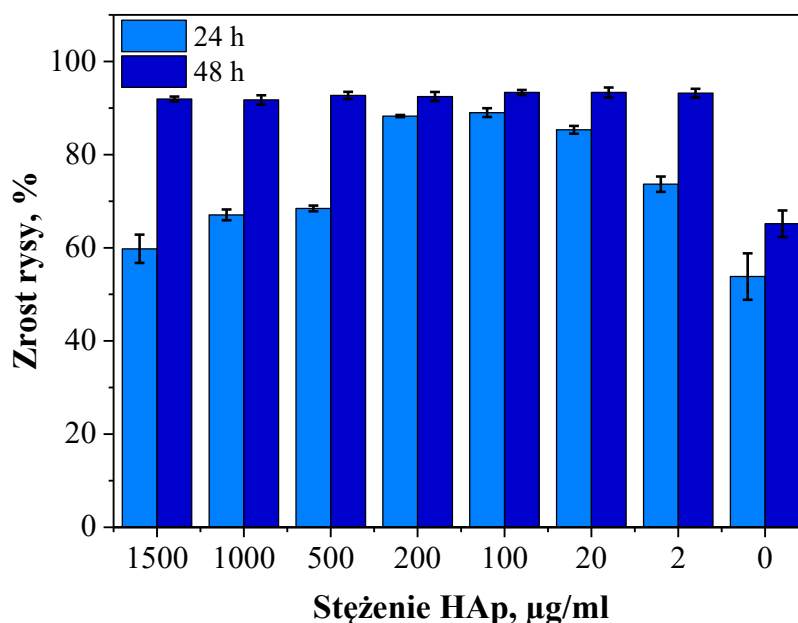
W przeprowadzonym badaniu fibroblasty mysie linii L929 poddano 24-godzinnej ekspozycji na badany materiał. Żywotność komórek, wyrażona jako procent względem kontroli K₁ (wartość odniesienia 100%), wyniosła 109%. Uzyskany wynik jednoznacznie wskazuje na brak właściwości cytotoksycznych badanego proszku HAp. Co istotne, zaobserwowano również efekt stymulacji aktywności metabolicznej fibroblastów, co znajduje odzwierciedlenie w przekroczeniu wartości referencyjnej kontroli. Dla porównania, w kontroli K₂, w której zastosowano czynnik o działaniu cytotoksycznym (2% roztwór nadtlenku wodoru), żywotność komórek spadła do poziomu 7,76%, potwierdzając prawidłowość zastosowanej metodyki. Zgodnie z wytycznymi normy ISO 10993-5, materiał uznaje się za niecytotoksyczny, jeżeli żywotność komórek po kontakcie z badanym materiałem przekracza 70% wartości referencyjnej. Otrzymana wartość 109% nie tylko znacząco przewyższa ten próg,

ale również wskazuje na wysoką biogodność i efekt proliferacyjny. Zaobserwowany efekt zwiększonej aktywności metabolicznej komórek może być związany z właściwościami fizykochemicznymi badanego proszku. Wysoka powierzchnia właściwa, odnotowana wcześniej dla syntetycznego HAp (Rozdział 6.9), prawdopodobnie sprzyja zwiększeniu interakcji na granicy faz materiał–komórka, co może ułatwiać adhezję fibroblastów poprzez zapewnienie większej liczby dostępnych miejsc kontaktu. Takie właściwości fizykochemiczne powierzchni, w tym rozwinięta porowatość oraz odpowiedni rozkład wielkości porów, są czynnikami często powiązanymi z poprawą procesów przyczepności i proliferacji komórek, co zostało potwierdzone w dostępnych badaniach literaturowych [214–216].

W celu oceny potencjalnej aktywności prozapalnej otrzymanego proszku HAp przeprowadzono badanie *in vitro* z wykorzystaniem ludzkich komórek odpornościowych THP1-Blue™ NF-κB. Komórki te w odpowiedzi na aktywację szlaku NF-κB mogą wydzielać do pożywki enzym SEAP (secreted embryonic alkaline phosphatase). Ilość tego enzymu, oznaczana metodą kolorymetryczną przy długości fali 650 nm z użyciem odczynnika Quanti-Blue™, stanowiła wskaźnik poziomu aktywacji szlaku NF-κB wywołanej przez kontakt z badanym materiałem.

W badaniu zastosowano dwie grupy kontrolne K₁, czyli kontrolę negatywną w której komórki hodowano bez udziału materiału oraz kontrolę pozytywną K₂, w przypadku której komórki stymulowano czynnikiem zapalnym PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate) w stężeniu 100 ng/mL. Uzyskane wyniki wykazały, że próbka HAp osiągnęła wartość absorbancji równą 0,389, co jest wyższe niż w przypadku kontroli negatywnej (0,057), jednak znacząco niższe od poziomu odnotowanego dla kontroli pozytywnej, która wyniosła 1,950. Takie wyniki świadczą o tym, że HAp wykazuje pewien poziom aktywacji szlaku NF-κB, czyli nie jest całkowicie biologicznie obojętny w kontakcie z komórkami układu odpornościowego. Niemniej jednak poziom ten jest umiarkowany i nie zbliża się do wartości typowych dla silnych czynników zapalnych. Zaobserwowane wyniki są zgodne z doniesieniami literaturowymi. W pracy Liu i Sun wykazano, że kontakt nanocząstek hydroksyapatytu z komórkami odpornościowymi skutkuje umiarkowaną odpowiedzią zapalną, co przejawiało się zwiększoną ekspresją cytokin prozapalnych [217]. Podobne efekty zaobserwowano w innych badaniach, w których proszek HAp stymulował produkcję cytokin zapalnych w makrofagach, przy czym intensywność reakcji zależała od właściwości fizykochemicznych materiału [218–221].

Kolejnym etapem oceny biologicznej badanego proszku HAp była analiza jego wpływu na proces gojenia ran *in vitro* z wykorzystaniem testu migracji komórkowej typu scratch assay. Badanie to pozwala na ocenę zdolności komórek do regeneracji uszkodzonej warstwy w obecności analizowanego materiału, co stanowi istotny parametr przy ocenie potencjalnej biogodności i przydatności materiału w zastosowaniach związanych z regeneracją tkanek. Wyniki testu zaprezentowano na Rysunkach 36 – 38.



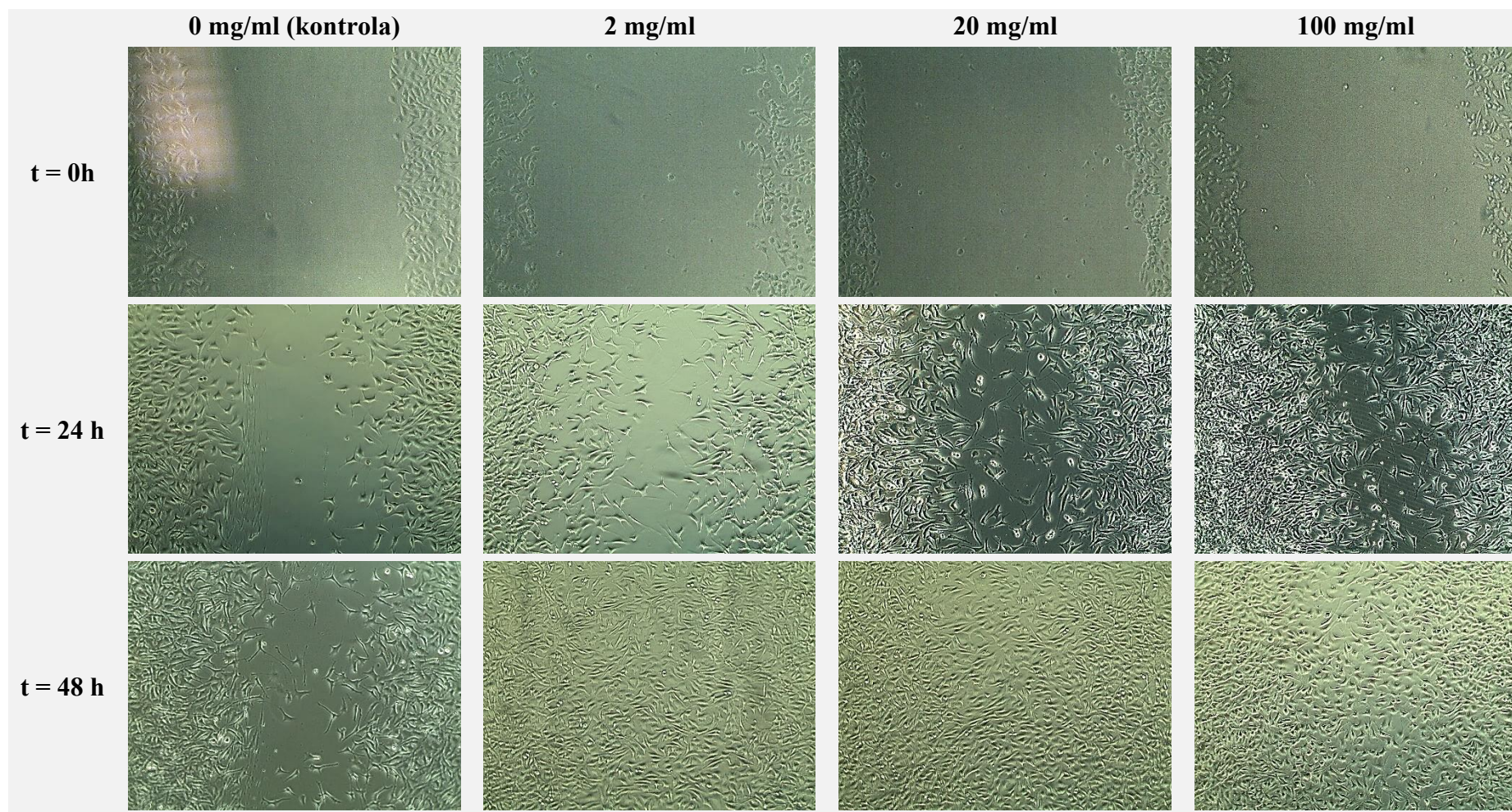
Rysunek 36. Procentowy zrost rasy po 24 h i 48 h w teście scratch assay w obecności różnych stężeń HAp

W celu oceny wpływu syntetycznego proszku HAp na zdolność fibroblastów do odbudowy uszkodzonej monowarstwy komórkowej, przeprowadzono test migracji komórkowej. Analizie poddano zakres stężeń HAp od 2 do 1500 µg/ml, a obserwacje wykonano po 24 h i 48 h od momentu wykonania sztucznej rasy w monowarstwie komórek L929. Procentowy zrost rasy, w zależności od zastosowanego stężenia proszku ceramicznego, przedstawiono na Rysunku 36. Z kolei na Rysunkach 37 oraz 38 zestawiono obrazy z mikroskopii optycznej prezentujący odbudowę uszkodzonej warstwy komórek.

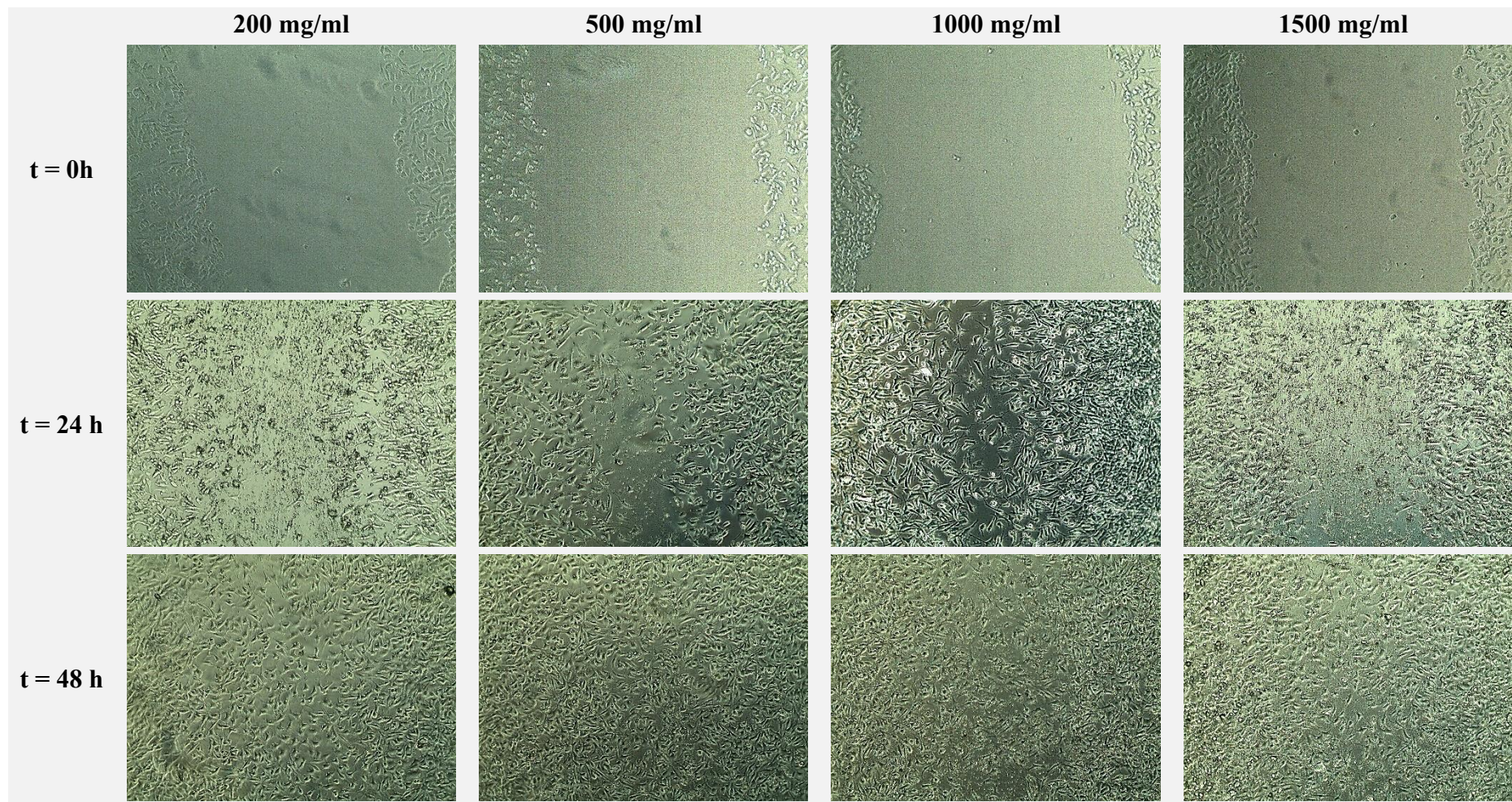
W próbie kontrolnej (0 µg/ml HAp), odpowiadającej naturalnemu tempu regeneracji fibroblastów bez obecności materiału, zrost rasy po 24 h wyniósł ok. 54%, a po 48 h wzrósł do ok. 65%. Wprowadzenie proszku HAp do środowiska hodowlanego skutkowało wyraźnym przyspieszeniem procesów migracyjnych w całym analizowanym zakresie stężeń. Już po 24 godzinach we wszystkich grupach eksperymentalnych uzyskano wartości zrostu istotnie wyższe niż w przypadku kontroli. Szczególnie korzystne wyniki obserwowano dla stężeń 20–200 µg/ml, gdzie tempo zamykania rasy było największe. W grupach o wyższych stężeniach HAp (500–1500 µg/ml) tempo

migracji komórek po 24 h było nieco niższe niż w próbach o stężeniu umiarkowanym, jednak nadal istotnie przewyższało wartości uzyskane w próbie kontrolnej. Po 48 h we wszystkich grupach, niezależnie od stężenia, odnotowano znaczne zwiększenie stopnia zrostu, dochodzące do poziomów 85–100%, co potwierdza pozytywny wpływ HAp na zdolność fibroblastów do zasiedlania uszkodzonego obszaru. Należy podkreślić, że nawet najwyższe zastosowane stężenie materiału (1500 µg/ml) nie wykazywało działania hamującego względem kontroli, a obserwowany zrost po 48 h świadczy o efektywnej regeneracji.

Wyniki te są w pełni spójne z wcześniej uzyskanymi danymi dotyczącymi wysokiej biozgodności HAp potwierdzonej testem MTT, w którym wykazano nie tylko brak cytotoksyczności, ale również efekt stymulacji aktywności metabolicznej komórek. Dodatkowo, przeprowadzona analiza aktywności prozapalnej wykazała jedynie umiarkowaną odpowiedź komórek immunologicznych, co dodatkowo wspiera możliwość zastosowania badanego materiału w kontaktach z tkankami żywymi. Podsumowując, syntetyczny proszek HAp wykazuje bardzo korzystny wpływ na proces regeneracji monowarstwy fibroblastów, niezależnie od zastosowanego stężenia. Obecność materiału w środowisku hodowli komórkowej sprzyjała migracji komórek do obszaru uszkodzenia, a zaobserwowane różnice w dynamice procesu w zależności od stężenia nie wpływały negatywnie na ogólny efekt regeneracyjny. Uzyskane wyniki jednoznacznie potwierdzają duży potencjał badanego HAp jako bioaktywnego komponentu wspomagającego gojenie tkanek w zastosowaniach biomedycznych.



Rysunek 37. Regeneracja monowarstwy fibroblastów L929 w obecności HAp (0–100 $\mu\text{g/ml}$) w czasie 0 h, 24 h i 48 h

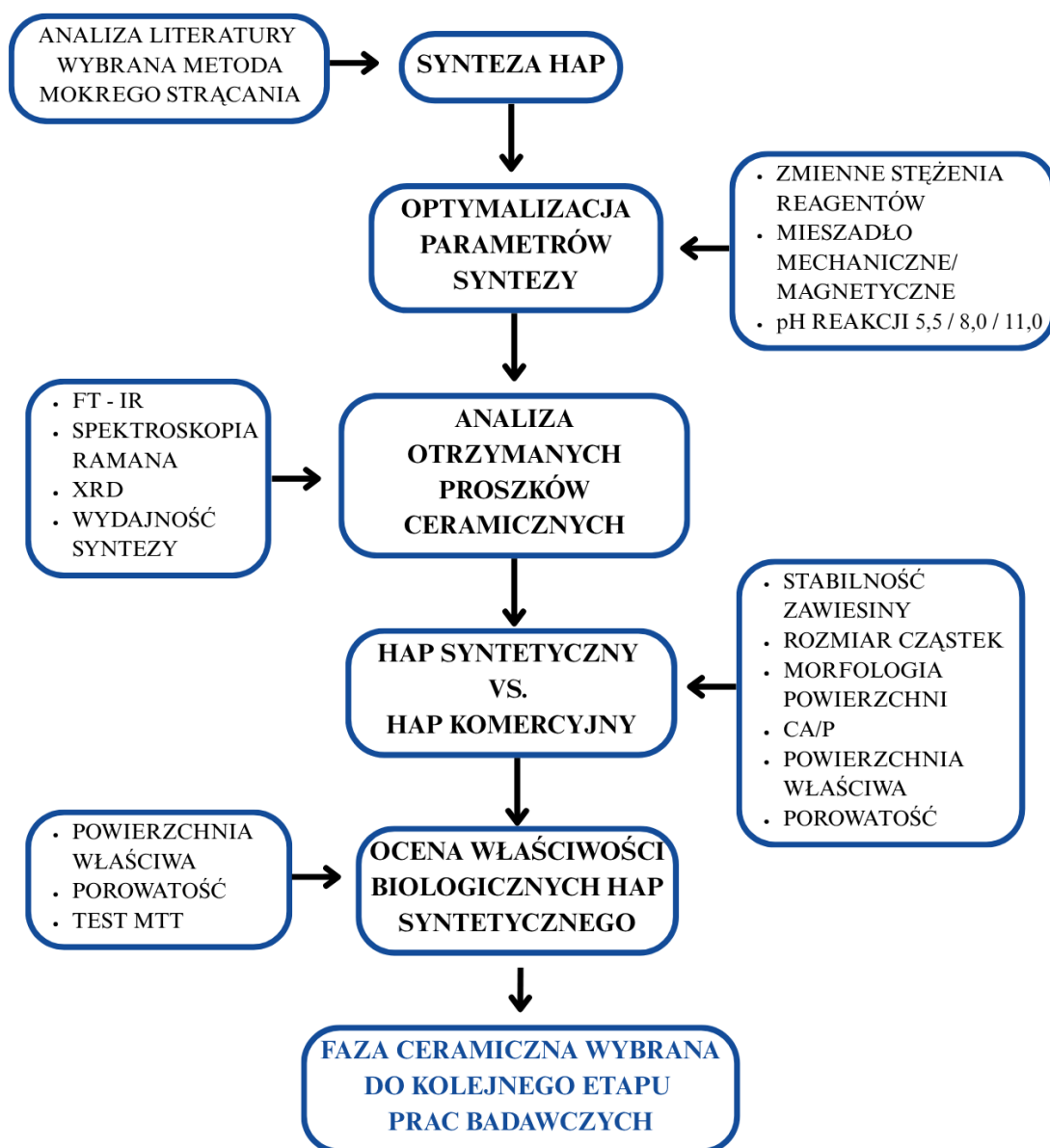


Rysunek 38. Regeneracja monowarstwy fibroblastów L929 w obecności HAp (200 - 1500 $\mu\text{g/ml}$) w czasie 0 h, 24 h i 48 h

8.13. Podsumowanie części I – faza ceramiczna

W ramach pierwszej części pracy (Rysunek 24) przeprowadzono kompleksową syntezę oraz charakterystykę fizykochemiczną i biologiczną hydroksyapatytu otrzymanego metodą mokrego strącania. Analiza parametrów syntezy wykazała, że kluczowym czynnikiem warunkującym jednofazowość i krystaliczność produktu jest zasadowość środowiska reakcyjnego. Syntezy prowadzone przy $\text{pH} = 11,0$ pozwoliły uzyskać proszek o dominującej fazie HAp, wysokim stopniu uporządkowania struktury krystalicznej oraz minimalnym udziale faz towarzyszących, co potwierdzono za pomocą XRD, FT-IR i spektroskopii Ramana. Próby przeprowadzone przy $\text{pH} = 8,0$ prowadziły natomiast do powstania układów wielofazowych, zawierających α/β -TCP oraz monetyt, co wykluczyło je z dalszych etapów badań. W wyniku szczegółowej analizy ustalono optymalne warunki prowadzenia procesu jako $\text{pH} = 11,0$, zastosowanie mieszania mechanicznego oraz stężenie reagentów 0,36 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ i 0,60 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, z zachowanym $\text{Ca/P} = 1,67$. Wybrana próbka – oznaczona jako 150%_11.0_mechaniczne – wykazywała najwyższy stopień czystości fazowej, korzystne parametry strukturalne (niskie odkształcenie sieciowe, dobrze rozwinięte kryształy), a także największą wydajność procesu (ponad 83%). Następnie, dla wybranego materiału przeprowadzono szczegółową analizę porównawczą z materiałem komercyjnym. Określono charakterystykę morfologiczną i teksturalną, wykazującą istotne różnice. Materiał syntetyczny cechował się bardziej jednorodnym rozkładem wielkości cząstek, mniejszym udziałem dużych aglomeratów oraz bardziej zwartą morfologią powierzchni. Uzyskano wyraźnie wyższą powierzchnię właściwą ($110 \text{ m}^2/\text{g}$ vs. $64 \text{ m}^2/\text{g}$) oraz jednorodny rozkład mezoporów o średnicach 6–8 nm, co może skutkować wyższym potencjałem sorpcyjnym i bioaktywnością. Potwierdzono także dobrą stabilność zawieszinową, wskazującą na przewidywalne zachowanie w środowisku wodnym. Skład chemiczny próbki syntetycznej ($\text{Ca/P} = 1,685$) wykazywał bliską zgodność ze stechiometrycznym HAp, co świadczy o wysokiej jednorodności chemicznej. Na podstawie przeprowadzonych badań biologicznych potwierdzono pełną biozgodność wybranego HAp. Test cytotoksyczności MTT wykazał brak działania toksycznego na fibroblasty oraz efekt stymulacji ich aktywności metabolicznej. Aktywność prozapalna mieściła się w zakresie umiarkowanym, charakterystycznym dla tego typu materiałów. Dodatkowo, wyniki testu migracji komórkowej wykazały, że obecność syntetycznego HAp w całym analizowanym zakresie stężeń (2 – 1500 $\mu\text{g/ml}$) wywierała korzystny wpływ na regenerację monowarstwy fibroblastów, przyspieszając proces zamykania rasy względem kontroli.

Całokształt przeprowadzonych analiz potwierdza, że otrzymany syntetyczny proszek HAp łączy w sobie korzystne cechy strukturalne, powierzchniowe i biologiczne, co predysponuje go do dalszych badań aplikacyjnych, w szczególności w kontekście inżynierii tkankowej i biomateriałów do zastosowań w regeneracji tkanek twardych. W związku z tym, materiał ten został wybrany do dalszych etapów niniejszej rozprawy doktorskiej jako składnik fazy ceramicznej w projektowanych układach kompozytowych.



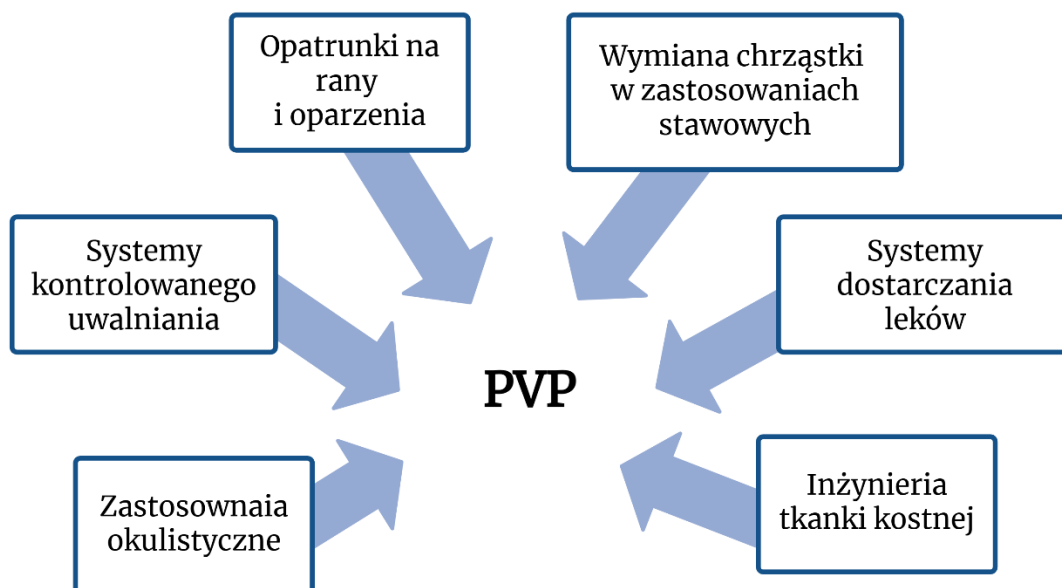
Rysunek 39. Schemat przedstawiający podsumowanie części I - faza ceramiczna

9. Część II – SYNTEZA I CHARAKTERYSTYKA MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH

9.1. Badanie stabilności zawiesiny HAp w polimerze

W dalszej części pracy badawczej skoncentrowano się na fazie polimerowej stanowiącej główny składnik projektowanego biomateriału kompozytowego. Na podstawie analizy literatury przedmiotu, jako bazowy materiał macierzy polimerowej wybrano poliwinylpirolidon (PVP). Wybór ten uzasadniony jest szeregiem korzystnych właściwości fizykochemicznych oraz biologicznych, predysponujących PVP do zastosowań biomedycznych, w tym jako składnik materiałów implantacyjnych i wspomagających regenerację tkanek [222–224].

PVP jest syntetycznym, amorficznym polimerem o charakterze hydrofilowym, wykazującym wysoką biogodność i nietoksyczność, co zostało szeroko udokumentowane w piśmiennictwie. Materiał ten został sklasyfikowany jako substancja bezpieczna do stosowania w produktach farmaceutycznych i biomedycznych. Dzięki obecności grup karbonylowych oraz zdolności do tworzenia wiązań wodorowych, PVP cechuje się dobrą rozpuszczalnością w wodzie oraz właściwościami koloidalnymi, co sprzyja jego przetwarzaniu i integracji z innymi składnikami układów kompozytowych [225–228]. Przykładowe zastosowania polimeru PVP w aspekcie biomedycznym zaprezentowano na Rysunku 40.

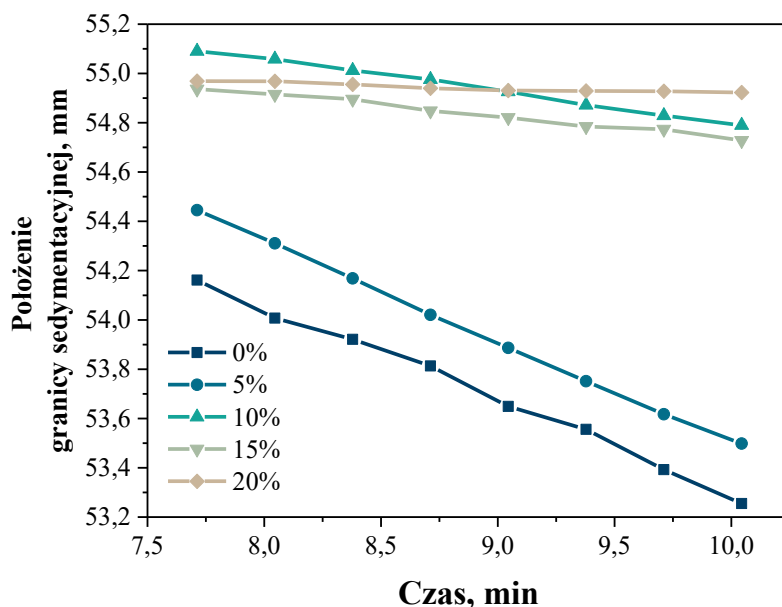


Rysunek 40. *Możliwości wykorzystania polimeru PVP w aplikacjach biomedycznych*

Istotnym aspektem, przemawiającym za zastosowaniem PVP jako fazy organicznej w kompozycie z hydroksyapatytem, jest jego zdolność do formowania stabilnych hydrożeli o wysokiej zdolności do pęcznienia w środowisku wodnym.

Zjawisko to może istotnie wpływać na zdolność uwalniania substancji aktywnych oraz tworzenie mikrośrodowiska sprzyjającego migracji i proliferacji komórek osteoblastycznych. Co więcej, PVP wykazuje zdolność do homogenizacji mieszanin zawierających fazę nieorganiczną, co może zapewnić równomierne rozproszczenie cząstek HAp w matrycy polimerowej, a tym samym przyczynić się do uzyskania kompozytu o jednorodnych właściwościach mechanicznych i strukturalnych [229–231].

Podsumowując, wybór poliwinylpirolidonu jako podstawowego składnika fazy polimerowej jest uzasadniony jego wysoką biogodnością, zdolnością do tworzenia funkcjonalnych układów polimerowych, możliwością połączenia z fazą ceramiczną oraz pozytywnym wpływem na właściwości biologiczne i mechaniczne kompozytu. Uwarunkowania te czynią PVP obiecującym materiałem w kontekście projektowania nowoczesnych biomateriałów do zastosowań w regeneracji tkanki kostnej. W związku z powyższym, w niniejszej pracy podjęto próby wykorzystania PVP jako nośnika dla fazy ceramicznej w celu uzyskania stabilnych i homogenicznych kompozytów. W pierwszym etapie badań skupiono się na określeniu stabilności układów zawieszinowych, w których hydroksyapatyt dyspergowano w roztworach PVP o różnym stężeniu (0, 5, 10, 15 oraz 20% wag.). Działania te miały na celu opracowanie układu o optymalnych właściwościach dyspersyjnych, minimalizujących sedymentację cząstek ceramicznych w trakcie syntezy i umożliwiających równomierne rozproszczenie fazy nieorganicznej w matrycy polimerowej. Zmianę położenia granicy sedymentacyjnej w funkcji czasu dla analizowanych zawiesin HAp w roztworze PVP zaprezentowano na Rysunku 41.



Rysunek 41. Zmiana położenia granicy sedymentacyjnej w funkcji czasu dla analizowanych zawiesin HAp w roztworze PVP o różnych stężeniach



Rysunek 42. Zawiesiny HAp w roztworach PVP bezpośrednio po badaniu
(od lewej: 0%, 5%, 10%, 15% i 20% PVP)

Rysunek 42 przedstawia wygląd zawiesin HAp w roztworach PVP o różnych stężeniach bezpośrednio po zakończeniu eksperymentu, natomiast w Tabeli 14 zestawiono ilościowe dane dotyczące szybkości sedymentacji cząstek w poszczególnych próbach. Obserwacje wizualne oraz pomiary ilościowe umożliwiły ocenę wpływu zawartości polimeru na stabilność zawiesiny i skuteczność dyspersji fazy ceramicznej.

Tabela 14. Szybkość sedymentacji cząstek HAp w roztworze PVP o różnych stężeniach

Stężenie PVP, %	Szybkość sedymentacji, mm/min
0	$0,4405 \pm 0,02337$
5	$0,4243 \pm 0,00354$
10	$0,1329 \pm 0,00311$
15	$0,0292 \pm 0,00362$
20	$0,0161 \pm 0,00103$

Uzyskane wyniki jednoznacznie wykazują istotną zależność pomiędzy stężeniem fazy polimerowej a kinetyką procesu sedymentacji cząstek fazy ceramicznej. W próbie kontrolnej, pozbawionej dodatku PVP (0%), zaobserwowano najwyższą szybkość sedymentacji wynoszącą $0,4405 \pm 0,02337$ mm/min, co wskazuje na wyraźną niestabilność zawiesiny i tendencję cząstek HAp do szybkiego opadania grawitacyjnego. Wprowadzenie PVP w stężeniu 5% wpłynęło na nieznaczną redukcję prędkości sedymentacji ($0,4243 \pm 0,00354$ mm/min), jednak istotne zmiany w charakterystyce układu zaobserwowano dopiero przy stężeniach równych lub wyższych niż 10%. Wartości te uległy istotnemu obniżeniu: odpowiednio do 0,1329 mm/min dla 10%, 0,0292 mm/min dla 15% oraz 0,0161 mm/min przy stężeniu 20% PVP.

Wyniki te jednoznacznie wskazują na rosnącą stabilność układu wraz ze wzrostem stężenia PVP, co jest konsekwencją zwiększenia lepkości medium dyspergującego oraz możliwego tworzenia oddziaływań adsorpcyjnych między cząsteczkami polimeru a powierzchnią kryształów hydroksyapatytu. Zjawisko to może ograniczać proces

koagulacji pierwotnej oraz zmniejszać tendencję do agregacji cząstek, co przekłada się na spowolnienie procesu sedymentacji. Jednocześnie, obserwacje makroskopowe przedstawione na Rysunku 42, wykonane bezpośrednio po zakończeniu badania, korelują z danymi ilościowymi — w zawiesinach o wyższych stężeniach PVP (15% i 20%) widoczny jest wyraźnie jednorodny rozkład fazy stałej w całej objętości próbki oraz brak wyraźnej granicy rozdziału faz, co świadczy o efektywnej stabilizacji zawiesiny.

Zatem, uzyskane wyniki jednoznacznie potwierdzają, iż obecność PVP znacząco wpływa na stabilność zawiesin hydroksyapatytu w środowisku wodnym, a wzrost stężenia polimeru skutkuje istotnym ograniczeniem szybkości sedymentacji cząstek fazy ceramicznej. Mając na uwadze, że w kolejnych etapach pracy zakłada się otrzymywanie kompozytów ceramiczno-polimerowych metodą fotopolimeryzacji, której wstępnie dobrany czas ekspozycji promieniowaniem UV ustalono na 120 s, szczególnie istotne jest zapewnienie odpowiedniej stabilności zawiesiny w tym krótkim przedziale czasowym. W związku z tym, na potrzeby dalszych badań jako optymalne stężenie PVP przyjęto 15%, dla pomiaru w którym wykazano bardzo niską szybkość sedymentacji (0,0292 mm/min), gwarantującą jednorodne rozmieszczenie cząstek HAp w objętości materiału przez cały czas trwania procesu sieciowania. Wybór stężenia 15%, a nie wyższego (20%), podyktowany został również względami zgodnymi z zasadami zielonej chemii, zakładającymi minimalizację ilości stosowanych reagentów oraz ograniczenie zużycia zasobów materiałowych przy zachowaniu wysokiej efektywności procesu. Zastosowanie niższego, lecz wciąż wystarczająco skutecznego stężenia PVP umożliwia zatem nie tylko kontrolę nad strukturą kompozytu, ale także zwiększa zrównoważony charakter opracowywanej technologii.

9.2. Wybór czynnika sieciującego i fotoinicjatora

Kolejnym etapem prowadzonych badań było opracowanie optymalnego składu układu fotopolimeryzującego, obejmującego wybór odpowiedniego czynnika sieciującego oraz fotoinicjatora. Etap ten miał na celu identyfikację takich warunków, które umożliwią efektywne utwardzanie mieszaniny w zadanym czasie syntezy, przy jednoczesnym zachowaniu stabilności oraz jednorodności strukturalnej materiału.

We wszystkich przeprowadzonych próbach jako matrycę bazową zastosowano roztwór PVP o stężeniu 15%, którego objętość w każdej syntezie wynosiła 10 ml. Względem tego niezmiennego składnika oceniano wpływ rodzaju i ilości wybranych czynników sieciujących oraz fotoinicjatorów na efektywność procesu fotopolimeryzacji oraz jakość uzyskanych układów. Jako czynnik sieciujący zastosowano diakrylan poli(glikolu etylenowego) (PEGDA) o trzech różnych masach molowych: 250, 575 oraz 700 g/mol. Dobór tych związków wynikał z ich szerokiego zastosowania w materiałach polimerowych przeznaczonych do zastosowań biomedycznych, wysokiej reaktywności grup akrylowych oraz możliwości kontrolowania gęstości sieciowania

w zależności od długości łańcucha bocznego. PEGDA, jako związek hydrofilowy i biokompatybilny, pozwala również na uzyskanie układów o pożądanych właściwościach mechanicznych i transportowych, co jest kluczowe w kontekście aplikacji w środowisku biologicznym [232–235]. Jako fotoinicjatory zastosowano dwa związki: 2-hydroksy-2-metylopropiofenon (komercyjnie znany m.in. jako Darocur 1173) oraz tioxanthen-9-on (w formie 0,01g/ml zawiesiny wodnej). Oba inicjatory należą do związków efektywnie absorbujących promieniowanie UV w zakresie wykorzystywanym w procesach fotopolimeryzacji i są powszechnie stosowane w układach opartych na akrylanach i winylowych polimerach. Ich wybór podyktowany był również względami toksykologicznymi i fotochemicznymi – cechują się one wysoką skutecznością generowania rodników inicjujących, a ich produkty rozpadu są względnie bezpieczne dla środowiska biologicznego [236–240].

Zmiennymi w przeprowadzonych syntezach były zarówno rodzaj, jak i udział poszczególnych składników układu sieciującego, zgodnie ze spisem przedstawionym w Tabeli 15, w której zastosowano następujące oznaczenia:

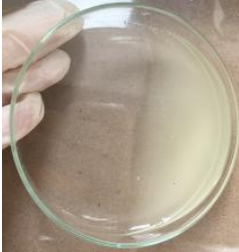
- fotoinicjator A - 2-hydroksy-2-metylopropiofenon;
- fotoinicjator B - tioxanthen-9-on;
- czynniki sieciujące oznaczono ich masą molową odpowiednio 250, 575 lub 700 g/mol.

Syntezy prowadzono poprzez zmieszanie 10 ml polimeru z czynnikiem sieciującym oraz fotoinicjatorem (zgodnie ze składem podanym w tabeli), a następnie umieszczenie mieszaniny reakcyjnej w polu promieniowania UV (lampa EMITA, moc 180 W, czas naświetlania 120 s).

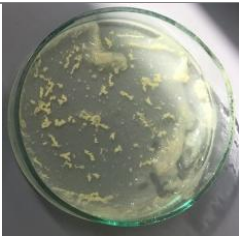
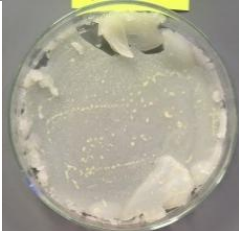
Tabela 15. Zestawienie formulacji PVP z różnymi fotoinicjatorami i sieciownikami

Lp.	Fotoinicjator, ml	Czynnik sieciujący, ml	Zdjęcie próbki	Komentarz
1	0,02_A	1,6_250		Polimeryzacja częściowa, spieniona powierzchnia materiału, kompozycja odrzucona
2	0,05_A	1,6_250		Polimeryzacja częściowa, spieniona powierzchnia materiału, kompozycja odrzucona

3	0,07_A	1,6_250		Polimeryzacja częściowa, spieniona powierzchnia materiału, kompozycja odrzucona
4	0,02_A	1,6_575		<u>Kompozycja wybrana do dalszych badań</u>
5	0,05_A	1,6_575		<u>Kompozycja wybrana do dalszych badań</u>
6	0,07_A	1,6_575		<u>Kompozycja wybrana do dalszych badań</u>
7	0,02_A	1,6_700		Próbka zbyt krucha, kompozycja odrzucona
8	0,05_A	1,6_700		Próbka zbyt krucha, kompozycja odrzucona
9	0,07_A	1,6_700		Próbka zbyt krucha, kompozycja odrzucona

10	0,05_B	1,6_250		Próbka nieusieciowana, kompozycja odrzucona
11	1,50_B	1,6_250		Próbka nieusieciowana, kompozycja odrzucona
12	2,50_B	1,6_250		Próbka nieusieciowana, kompozycja odrzucona
13	0,05_B	1,6_575		Konsystencja żelu, kompozycja odrzucona
14	1,50_B	1,6_575		Nadmiar nieprzereagowanego fotoinicjatora, kompozycja odrzucona
15	2,50_B	1,6_575		Nadmiar nieprzereagowanego fotoinicjatora, kompozycja odrzucona
16	0,05_B	1,6_700		Konsystencja żelu, kompozycja odrzucona

17	1,50_B	1,6_700		Próbka zbyt krucha, kompozycja odrzucona
18	2,50_B	1,6_700		Próbka zbyt krucha, kompozycja odrzucona
19	0,05_A	1,2_250		Polimeryzacja częściowa, spieniona powierzchnia materiału, kompozycja odrzucona
20	0,05_A	2,0_250		Polimeryzacja częściowa, spieniona powierzchnia materiału, kompozycja odrzucona
21	0,05_A	1,2_575		<u>Kompozycja wybrana do dalszych badań</u>
22	0,05_A	2,0_575		<u>Kompozycja wybrana do dalszych badań</u>
23	0,05_A	1,2_700		Konsystencja żelu, kompozycja odrzucona

24	0,05_A	2,0_700		<u>Kompozycja wybrana do dalszych badań</u>
25	1,50_B	1,2_250		Próbka nieusieciowana, kompozycja odrzucona
26	1,50_B	2,0_250		Konsystencja żelu, kompozycja odrzucona
27	1,50_B	1,2_575		Nadmiar nieprzereagowanego fotoinicjatora, kompozycja odrzucona
28	1,50_B	2,0_575		Próbka zbyt krucha, kompozycja odrzucona
29	1,50_B	1,2_700		Próbka nieusieciowana, kompozycja odrzucona
30	1,50_B	2,0_700		Próbka zbyt krucha, kompozycja odrzucona

Analiza wyników wskazuje, że skuteczność fotopolimeryzacji była silnie uzależniona zarówno od rodzaju czynnika sieciującego, jak i rodzaju oraz ilości fotoinicjatora. W przypadku PEGDA o masie molowej 250 g/mol, niezależnie od zastosowanego fotoinicjatora, próby wykazywały niepełną polimeryzację lub znaczne

defekty powierzchniowe, co skutkowało odrzuceniem tych kompozycji. Obserwacje to wskazują na niewystarczającą długość łańcucha sieciującego do utworzenia stabilnej i ciągłej sieci przestrzennej w warunkach zastosowanego procesu. Z kolei zastosowanie PEGDA o średniej masie molowej 575 g/mol przyniosło najbardziej obiecujące rezultaty, zwłaszcza w układach z fotoinicjatorem A (0,02–0,07 ml), gdzie uzyskano próbki o stabilnej strukturze, bez widocznych defektów powierzchniowych ani kruchości. Kompozycje te zostały zakwalifikowane do dalszych etapów badań. Wynik ten sugeruje, że PEGDA 575 zapewnia optymalną równowagę pomiędzy elastycznością łańcucha a gęstością usieciowania, umożliwiając formowanie struktur o dużej jednorodności. PEGDA o masie molowej 700 g/mol, pomimo chemicznego podobieństwa do pozostałych wariantów, w większości analizowanych przypadków prowadził do powstawania struktur nadmiernie kruchych lub żelowych, o obniżonej spoistości i niewystarczającej integralności mechanicznej. Wskazuje to na zbyt dużą elastyczność i wydłużenie łańcucha sieciującego, co mogło ograniczać efektywne tworzenie stabilnej i zwartej sieci przestrzennej w czasie przewidzianym dla procesu fotopolimeryzacji. Niemniej jednak, w kilku układach zawierających PEGDA 700 w połączeniu z fotoinicjatorem A uzyskano próbki o zadawalającej strukturze, które również zostały zakwalifikowane do dalszych etapów badań.

Zastosowanie fotoinicjatora B (tioxanthen-9-on) nie przyniosło pozytywnych rezultatów w żadnej z analizowanych kombinacji. W próbach z jego udziałem zaobserwowano brak usieciowania, konsystencję żelową lub obecność nadmiaru nieprzereagowanego inicjatora, co może wskazywać na niedostateczną aktywność tego związku w danym układzie i czasie ekspozycji UV. Ponadto, niekorzystne zjawiska były obserwowane niezależnie od użytego PEGDA, co jednoznacznie wskazuje na ograniczoną użyteczność fotoinicjatora B w testowanych warunkach.

Podsumowując, na podstawie przeprowadzonego zestawienia wytypowano najbardziej obiecujące kombinacje czynników sieciujących i fotoinicjatorów do dalszych badań. Najlepsze rezultaty uzyskano w układach zawierających PEGDA 575 g/mol lub 700 g/mol oraz 2-hydroksy-2-metylopropiofenon (inicjator A), które umożliwiły wytworzenie jednorodnych, stabilnych i mechanicznie ciągłych próbek w zadanym czasie fotopolimeryzacji. Wyniki te stanowią podstawę do dalszego etapu badań nad właściwościami fizykochemicznymi wybranych kompozycji. Skład ostatecznie wytypowanych kompozycji zestawiono w Tabeli 16.

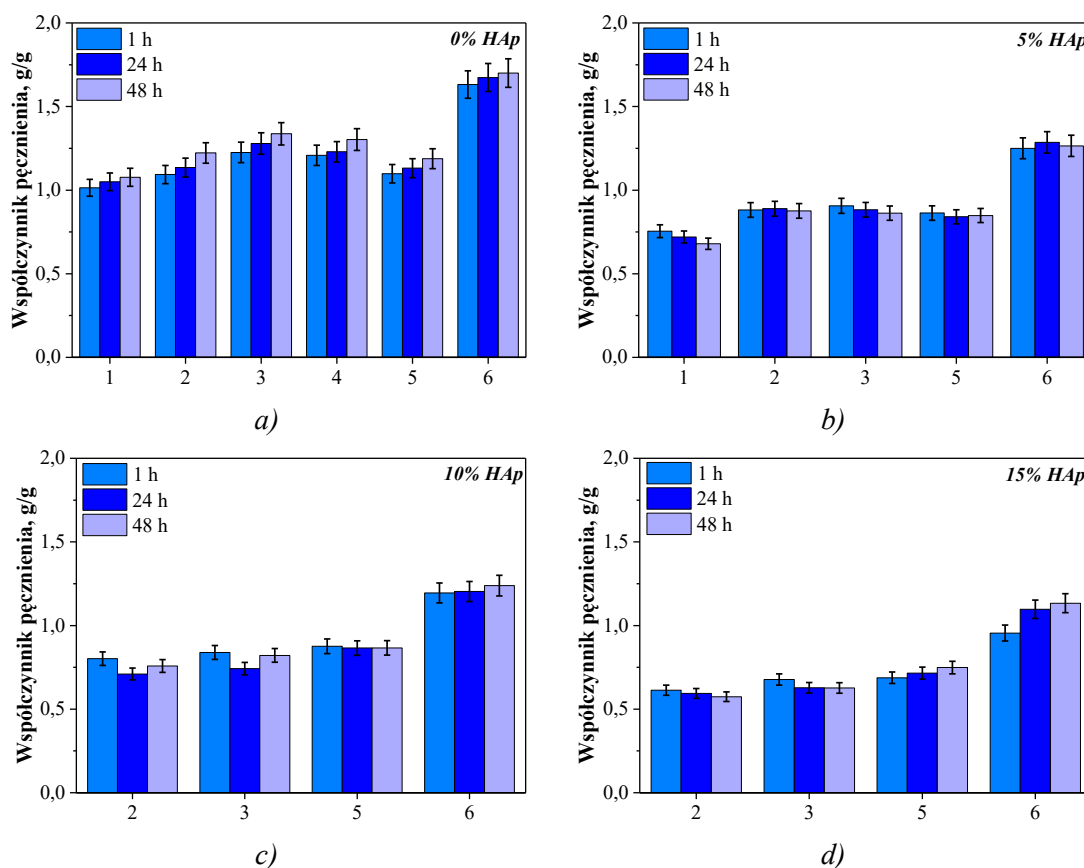
Tabela 16. Skład wytypowanych kompozycji polimerowych

PVP, ml	Fotoinicjator A, ml	Czynnik sieciujący, ml	Oznaczenie próbki
10	0,02		1
	0,05	1,6 PEGDA 575 g/mol	2
	0,07		3
	0,05	1,2 PEGDA 575 g/mol	4
	0,05	2,0 PEGDA 575 g/mol	5
	0,05	2,0 PEGDA 700 g/mol	6

9.3. Analiza zdolności sorpcyjnych

W następnym etapie prac badawczych skupiono się na ocenie właściwości sorpcyjnych wytypowanych wcześniej kompozycji polimerowych, których skład przedstawiono w Tabeli 16. W tym celu dla każdej z sześciu kompozycji przeprowadzono ponowną serię syntez, tym razem modyfikując udział wagowy fazy ceramicznej (HAp), który wynosił odpowiednio: 0%, 5%, 10%, 15% oraz 20% wag. celem określenia jego wpływu na zdolność do absorpcji wody oraz stabilność strukturalną otrzymanych materiałów.

W trakcie badań zaobserwowano, że przy najwyższym testowanym udziale HAp wynoszącym 20%, otrzymane próbki nie podlegały skutecznemu procesowi fotopolimeryzacji, co skutkowało ich fragmentacją, brakiem integralności oraz brakiem możliwości dalszej analizy. Z tego względu kompozycje te zostały wykluczone z dalszych etapów oceny. Dla pozostałych wariantów zawartości fazy ceramicznej (0–15% wag.), które wykazały jednorodność strukturalną oraz odpowiednią ciągłość materiału po utwardzeniu, przeprowadzono analizę zdolności sorpcyjnych. Współczynniki pęcznienia określono po 24 oraz 48 godzinach inkubacji w wodzie destylowanej w warunkach statycznych. Otrzymane wyniki, obrazujące wpływ zawartości HAp na właściwości sorpcyjne badanych materiałów, zestawiono na Rysunku 43.



Rysunek 43. Zdolność sorpcyjna wybranych kompozycji zawierających fazę ceramiczną o udziale wagowym 0% (a), 5% (b), 10% (c) oraz 15% (d)

Uzyskane wyniki wskazują na wyraźną tendencję spadkową współczynnika sorpcji wraz ze wzrostem udziału wagowego fazy ceramicznej. Zjawisko to wynika przede wszystkim z ograniczenia objętości hydrofilowej fazy polimerowej, odpowiedzialnej za wchłanianie wody, a także z faktu, że obecność cząstek HAp w matrycy może zaburzać układ sieci polimerowej, prowadząc do jej usztywnienia i zmniejszenia elastyczności, co ogranicza zdolność do pęcznienia. Ponadto, nadmierna ilość cząstek stałych może wypełniać miejsca w strukturze polimerowej potencjalnie dostępne dla wnikaających płynów, co przekłada się na niższe wartości współczynników pęcznienia.

W przypadku kompozycji zawierających 20% wag. hydroksyapatytu, nie zaobserwowano skutecznego przebiegu procesu fotopolimeryzacji. Niezależnie od składu matrycy polimerowej, próby te ulegały dezintegracji lub pozostawały w postaci nieusieciowanej zawiesiny, co jednoznacznie wskazuje na przekroczenie granicznej zawartości fazy ceramicznej możliwej do efektywnego przetworzenia w ramach zastosowanej metody syntezy. Również dla niektórych układów o niższym udziale HAp odnotowano trudności technologiczne – np. w przypadku zawartości 5% wag. nie uzyskano stabilnej próbki nr 4, natomiast dla poziomów 10% i 15% wag. możliwe było skuteczne usieciowanie jedynie ograniczonej liczby kompozycji (próbki 2, 3, 5 i 6).

Pozostałe warianty wykazywały niedostateczne związanie sieci polimerowej, co uniemożliwiło ich dalszą ocenę.

Wśród próbek, które pomyślnie przeszły etap fotopolimeryzacji, odnotowano wyraźne różnice w zakresie trwałości strukturalnej po inkubacji w środowisku wodnym. Dla kompozycji zawierających 15% wag. hydroksyapatytu wszystkie próbki uległy całkowitej dezintegracji po 48 godzinach, niezależnie od początkowej jednorodności i skuteczności procesu utwardzania. Z tego względu ten poziom udziału fazy ceramicznej został jednoznacznie wykluczony z dalszych rozważań. W przypadku zawartości 10% HAp próbki nr 2 i 3 również uległy całkowitemu rozpadowi w trakcie inkubacji, natomiast próbki nr 5 i 6, pomimo że zachowały swoją strukturę, wykazywały częściowe ubytki i widoczne defekty powierzchniowe, świadczące o nadmiernej kruchości.

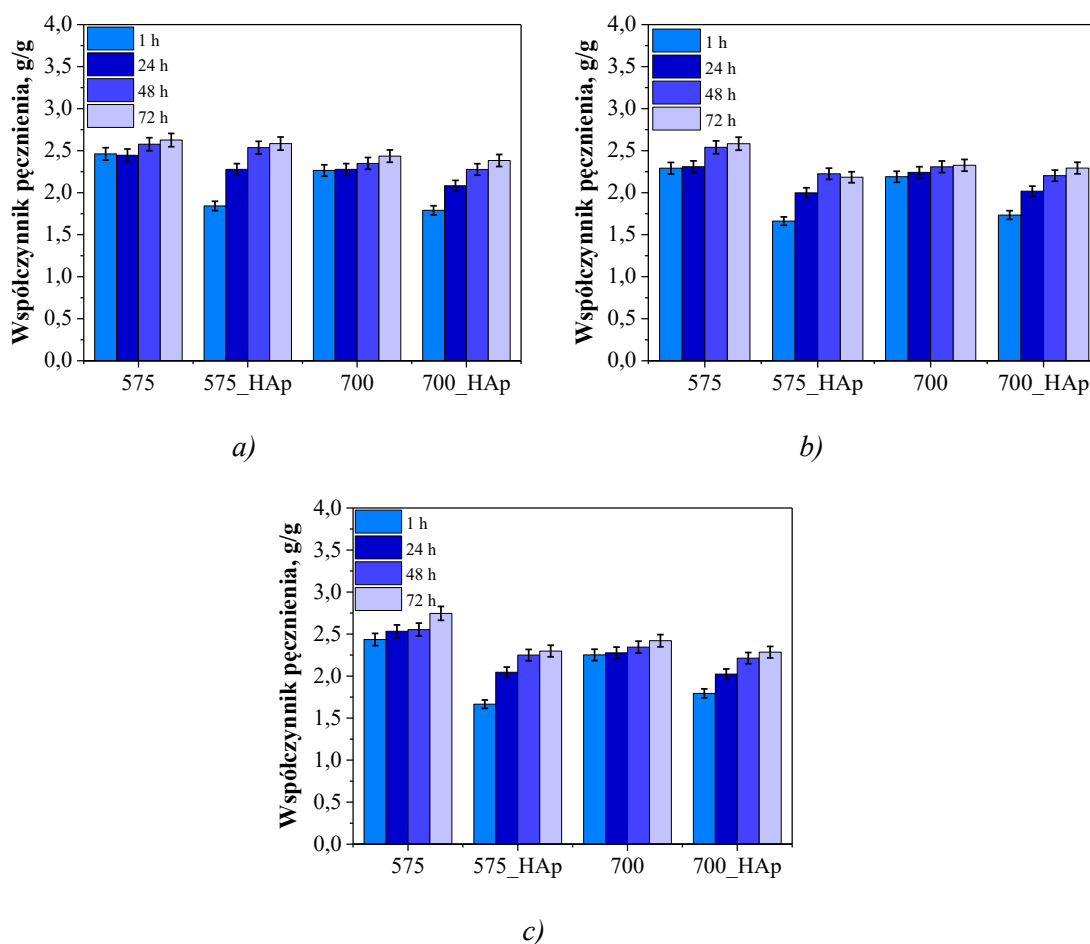
Podobne zjawiska zaobserwowano przy zawartości 5% HAp – mimo ogólnie lepszej stabilności, również i w tym przypadku próbki nr 5 i 6 wykazywały oznaki osłabienia integralności strukturalnej, co może stanowić ograniczenie dla ich dalszego zastosowania. Biorąc jednak pod uwagę, że hydroksyapatyt pełni w kompozycie rolę fazy bioaktywnej, kluczowej z punktu widzenia stymulacji proliferacji komórek i mineralizacji macierzy pozakomórkowej, podjęto decyzję o kontynuacji badań z uwzględnieniem zawartości 10% HAp. Mimo obserwowanych defektów, próbki nr 5 i 6 zachowały częściową integralność, co uzasadnia ich dalszą optymalizację.

W celu poprawy właściwości mechanicznych oraz trwałości materiału w środowisku wodnym, na podstawie przeglądu literatury zaproponowano modyfikację składu matrycy polimerowej poprzez połączenie PVP z alkoholem poliwinylowym. PVA, jako polimer znany z właściwości błonotwórczych i dobrej zdolności do tworzenia wytrzymałych struktur hydrożelowych, może istotnie poprawić odporność materiału na degradację i ubytki, szczególnie w obecności cząstek fazy ceramicznej [241–244]. W zaprojektowanych układach zastosowano mieszaninę 15% PVP i 5% PVA (w objętości 3,0 ml i 7,0 ml, odpowiednio) oraz skład fotoinicjatora i czynnika sieciującego wytypowany w poprzednich analizach. Zoptymalizowany skład wybranych kompozycji został zaprezentowany w Tabeli 17.

Tabela 17. Optymalizacja składu materiałów kompozytowych

PVP, ml	PVA, ml	Fotoinicjator A, ml	Czynnik sieciujący, ml	HAp, % wag.	Oznaczenie próbki
3,0	7,0	0,05	2,0	-	575
			575 g/mol	10	575_HAp
			2,0	-	700
			700 g/mol	10	700_HAp

W celu weryfikacji skuteczności zastosowanej modyfikacji matrycy polimerowej poprzez dodatek PVA, przeprowadzono kolejną serię badań sorpcyjnych dla zoptymalizowanych kompozycji. Głównym założeniem tego etapu było sprawdzenie, czy wprowadzenie PVA pozwala na poprawę stabilności strukturalnej materiałów, które w poprzednich próbach wykazywały tendencję do częściowej dezintegracji w środowisku wodnym. Aby uzyskać pełniejszą charakterystykę zachowania badanych kompozycji, zakres analizy rozszerzono o dodatkowe media inkubacyjne. Pomiar prowadzono dla wody destylowanej, płynu SBF (Simulated Body Fluid) oraz płynu Ringera, symulujących warunki fizjologiczne. Pomiary współczynnika pęcznienia przeprowadzono po 1, 24, 48 oraz 72 godzinach inkubacji. Uzyskane wyniki przedstawiono na Rysunku 44.

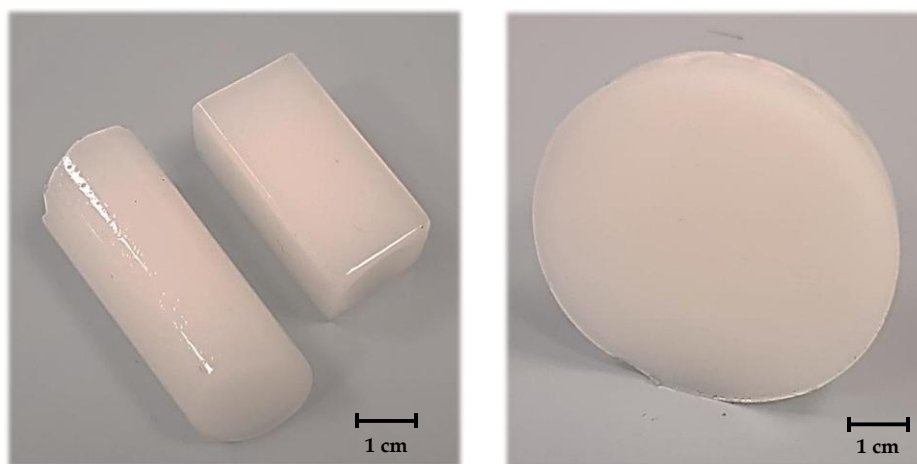


Rysunek 44. Zdolność sorpcyjna kompozytów ceramiczno-polimerowych inkubowanych w wodzie destylowanej (a), płynie SBF (b), płynie Ringera (c)

W całym zakresie wartości współczynników pęcznienia zauważalny jest ogólny wzrost chłonności wodnej materiałów względem wcześniejszych serii badawczych. Wszystkie próbki, zarówno z PEGDA 575 g/mol, jak i 700 g/mol, osiągnęły po 72 h wartości wyraźnie przekraczające 2,0 g/g, a w przypadku próbek bez dodatku HAp –

nawet powyżej 2,5 g/g. Najwyższe wartości pęcznienia odnotowano w wodzie destylowanej, nieco niższe w płynie SBF, a najniższe w płynie Ringera, co może być związane z obecnością jonów w tych ostatnich mediach, ograniczających swobodne wiązanie cząsteczek wody przez sieć hydrożelową. Obecność hydroksyapatytu, zgodnie z wcześniejszymi obserwacjami, nadal prowadziła do częściowego obniżenia współczynnika pęcznienia, jednak efekt ten był istotnie mniej nasilony niż w kompozycjach bez PVA. Różnice między próbkami 575 i 575_HAp oraz 700 i 700_HAp były stosunkowo niewielkie, co świadczy o tym, że zastosowany układ polimerowy (PVP/PVA) skutecznie kompensuje ograniczenia wynikające z obecności fazy nieorganicznej.

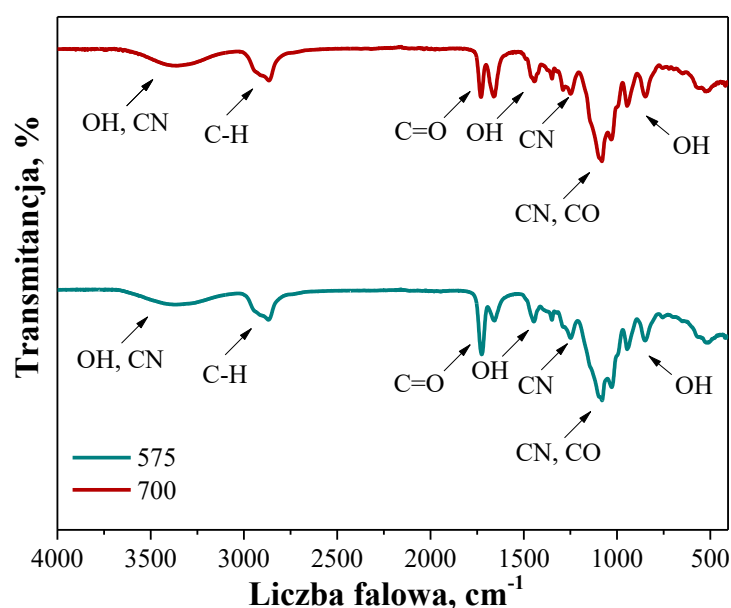
Przede wszystkim, należy podkreślić, że żadna z analizowanych próbek nie uległa dezintegracji ani istotnym uszkodzeniom strukturalnym w trakcie 72-godzinnej inkubacji, niezależnie od zastosowanego medium. Jest to istotna zmiana względem wcześniejszych wyników dla kompozycji zawierających wyłącznie PVP, w których próbki z dodatkiem HAp, szczególnie przy zawartości 10–15%, wykazywały objawy kruchości lub całkowitego rozpadu. Stabilność mechaniczna nowo opracowanych materiałów świadczy o skuteczności wprowadzenia PVA jako dodatku błonotwórczego, który wyraźnie wzmocnił strukturę hydrożelu i ograniczył ryzyko jego degradacji w środowisku wodnym i fizjologicznym. W związku z uzyskanymi wynikami, zoptymalizowany skład kompozytu, zgodny z zestawieniem przedstawionym w Tabeli 13, został przyjęty jako materiał do dalszych badań. Przykładowe zdjęcia otrzymanych materiałów kompozytowych zaprezentowano na Rysunku 45.



Rysunek 45. Przykładowe zdjęcia otrzymanych kompozytów ceramiczno-polimerowych: próbka 575_HAp (po lewej) oraz próbka 700_HAp (po prawej)

9.4. Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera

W celu potwierdzenia obecności poszczególnych składników w strukturze otrzymanych materiałów oraz oceny możliwych oddziaływań międzyfazowych pomiędzy matrycą polimerową a fazą ceramiczną, przeprowadzono analizę widm w FT-IR. Badania wykonano zarówno dla matryc polimerowych bez dodatku hydroksyapatytu, jak i dla kompozytów zawierających 10% wag. HAp. Analiza ta pozwala na identyfikację charakterystycznych pasm absorpcji odpowiadających obecnym grupom funkcyjnym oraz ocenę ich ewentualnych przesunięć lub zmian intensywności, które mogą wskazywać na oddziaływania chemiczne lub fizyczne pomiędzy składnikami. Uzyskane widma FT-IR zaprezentowano na Rysunkach 46–48.



Rysunek 46. Widma FT-IR matryc polimerowych otrzymanych przy użyciu środka sieciującego o średniej masie molowej 575 g/mol (zielony) i 700 g/mol (czerwony).

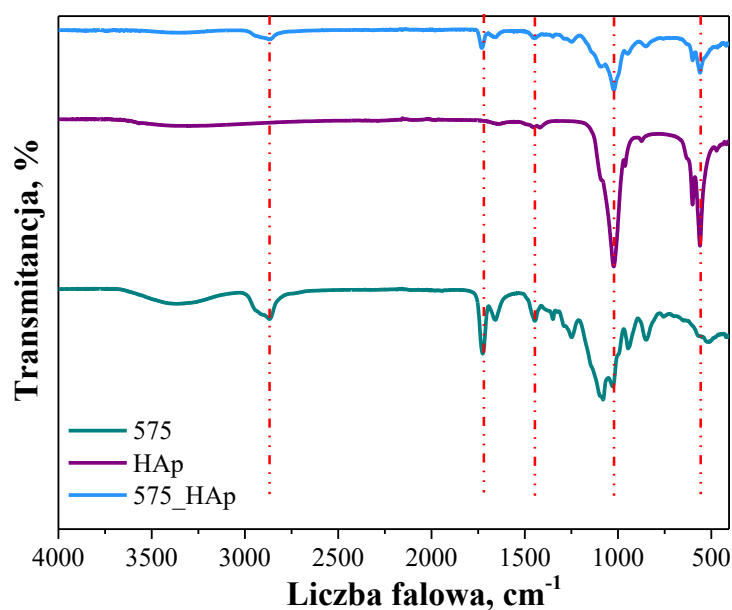
Widma przedstawione na Rysunku 30 dotyczą matryc polimerowych złożonych z mieszaniny PVP i PVA, przy czym jedyną różnicą między analizowanymi próbkami była masa molowa zastosowanego czynnika sieciującego (PEGDA 575 g/mol i 700 g/mol). Dla obu układów zaobserwowano zestaw charakterystycznych pasm absorpcyjnych, przypisywanych grupom funkcyjnym występującym w polimerach będących głównymi składnikami materiału.

Szerokie, pasmo o stosunkowo niskiej intensywności w zakresie 3566–3150 cm⁻¹ odpowiada drganiom rozciągającym grup hydroksylowych (–OH), które pochodzą głównie z PVA i są związane z obecnością wewnątrz- i międzycząsteczkowych wiązań wodorowych [245]. W tym samym zakresie może również występować nakładanie się pasm związanych z drganiami rozciągającymi grup CN obecnych w PVP [246]. Pasma zlokalizowane w rejonie 2910 cm⁻¹ przypisuje się drganiom rozciągającym

wiązań C–H grup alkilowych, typowych dla obu użytych polimerów [245]. W obszarze 1660–1723 cm^{-1} zarejestrowano pasma charakterystyczne dla drgań rozciągających grup karbonylowych (C=O), występujących zarówno w strukturze PVP, jak i PEGDA [247,248]. Pasma w okolicach 1441 cm^{-1} związane jest z oscylacjami zginającymi w płaszczyźnie grup OH [249]. Obserwowane są również pasma przypisywane drganiom rozciągającym grup CN (1254 cm^{-1}), jak również pasma mieszane CN i CO w rejonie 1083 cm^{-1} [246]. Dodatkowo, w zakresie 940–835 cm^{-1} widoczne są pasma wynikające z pozapłaszczyznowych drgań zginających grup hydroksylowych [249].

Widma obu próbek wykazują wysoką zgodność, co świadczy o zachowaniu jednolitego charakteru chemicznego matrycy polimerowej, niezależnie od zastosowanej masy molowej czynnika sieciującego. Niewielkie różnice w intensywności wybranych sygnałów mogą wynikać z różnic w stopniu usieciowania, co z kolei może wpływać na mikromorfologię i właściwości fizykochemiczne uzyskanych hydrożeli.

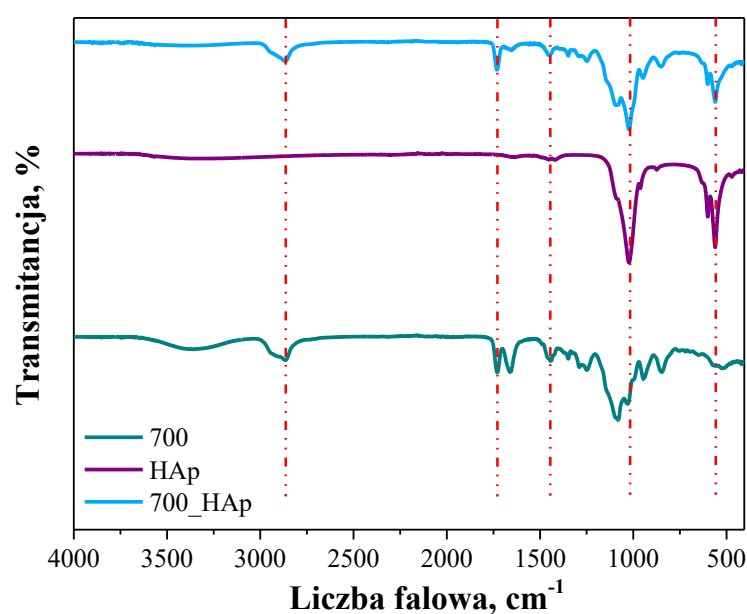
Poniżej, na Rysunku 47, przedstawiono porównawcze widma FT-IR dla próbki 575 (matryca polimerowa), syntetycznego hydroksyapatytu (HAp) oraz kompozytu 575_HAp zawierającego 10% wag. fazy ceramicznej.



Rysunek 47. Widma FT-IR dla matrycy polimerowej 575, syntetycznego hydroksyapatytu (HAp) oraz kompozytu 575_HAp zawierającego 10% wag. fazy ceramicznej

Widmo próbki HAp (kolor fioletowy) wykazuje charakterystyczne pasma przypisywane grupom fosforanowym (PO_4^{3-}). Najbardziej intensywne sygnały obserwowane są w rejonie ok. 1030 cm^{-1} i 960 cm^{-1} , odpowiadające odpowiednio drganiom rozciągającym asymetrycznym (ν_3) oraz symetrycznym (ν_1) jonów fosforanowych. Dodatkowe pasma w zakresie 600–560 cm^{-1} związane są z drganiami zginającymi (ν_4) PO_4^{3-} , również charakterystycznymi dla tego materiału [170,250,251].

Widmo kompozytu 575_HAp (kolor niebieski) zawiera zarówno pasma charakterystyczne dla matrycy polimerowej 575, jak i dodatkowe sygnały wynikające z obecności HAp. Oprócz pasm typowych dla PVP i PVA (w szczególności w rejonie $\sim 3300\text{ cm}^{-1}$ dla grup -OH oraz $\sim 1720\text{ cm}^{-1}$ dla grup C=O), w widmie tym pojawiają się również wyraźne sygnały w rejonach: ~ 1030 , 960 i 560 cm^{-1} , które pokrywają się z pasmami obecnymi w widmie syntetycznego HAp. Ich obecność w próbce kompozytowej potwierdza skuteczne wprowadzenie fazy ceramicznej do sieci polimerowej. Brak istotnych przesunięć położenia pasm w widmie kompozytu względem pasm dla poszczególnych składników wskazuje, że oddziaływania pomiędzy matrycą a cząstkami HAp mają najprawdopodobniej charakter fizyczny, bez tworzenia nowych wiązań kowalencyjnych. Jednocześnie, zachowana wyrazistość pasm fosforanowych sugeruje, że struktura krystaliczna hydroksyapatytu nie ulega modyfikacjom chemicznym w trakcie procesu sieciowania. Przeprowadzona analiza potwierdza skuteczne osadzenie HAp w strukturze hydrożelu oraz zachowanie integralności chemicznej obu komponentów. Poniżej na Rysunku 48 zaprezentowano analogiczne zestawienie dla próbki otrzymanej z czynnikiem sieciującym o masie molowej 700 g/mol .

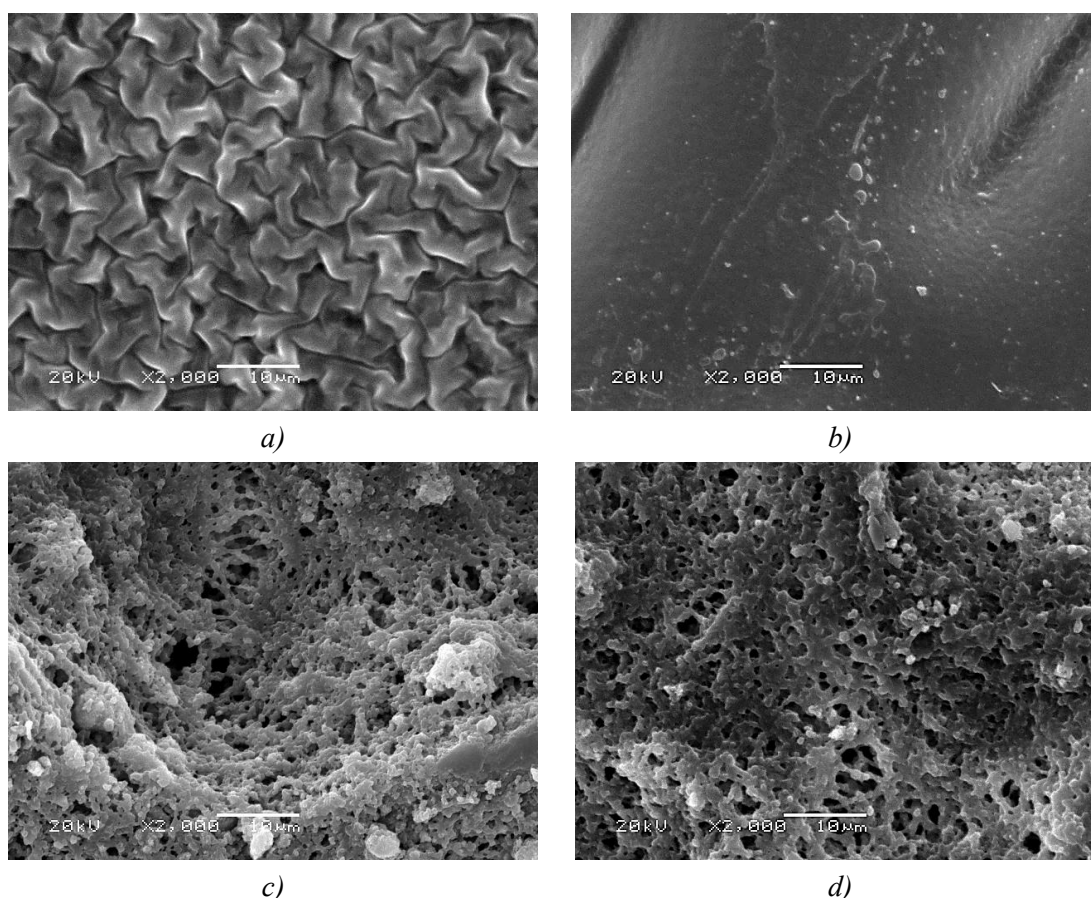


Rysunek 48. Widma FT-IR dla matrycy polimerowej 700, syntetycznego hydroksyapatytu (HAp) oraz kompozytu 700_HAp zawierającego 10% wag. fazy ceramicznej

W przypadku kompozytu 700_HAp zaobserwowano zbliżony przebieg widma FT-IR do wcześniej analizowanej próbki 575_HAp. W widmie próbki 700_HAp obecne są zarówno charakterystyczne pasma absorpcyjne odpowiadające funkcjonalnym grupom matrycy polimerowej, jak i wyraźne sygnały przypisywane drganiom charakterystycznym dla jonów fosforanowych obecnych w strukturze HAp. Obserwacje te również w tym przypadku potwierdzają skuteczne wprowadzenie fazy ceramicznej.

9.5. Skaningowa mikroskopia elektronowa z analizą składu chemicznego metodą EDS

W celu oceny morfologii powierzchni oraz potwierdzenia obecności fazy ceramicznej w strukturze otrzymanych kompozytów, przeprowadzono badania przy użyciu skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) w połączeniu z lokalną analizą składu chemicznego metodą EDS (Energy Dispersive Spectroscopy). Na Rysunku 49 przedstawiono mikrofotografie powierzchni wybranych kompozytów, natomiast na Rysunku 50 zaprezentowano wyniki jakościowej analizy składu pierwiastkowego, umożliwiające identyfikację obecnych w próbce pierwiastków.

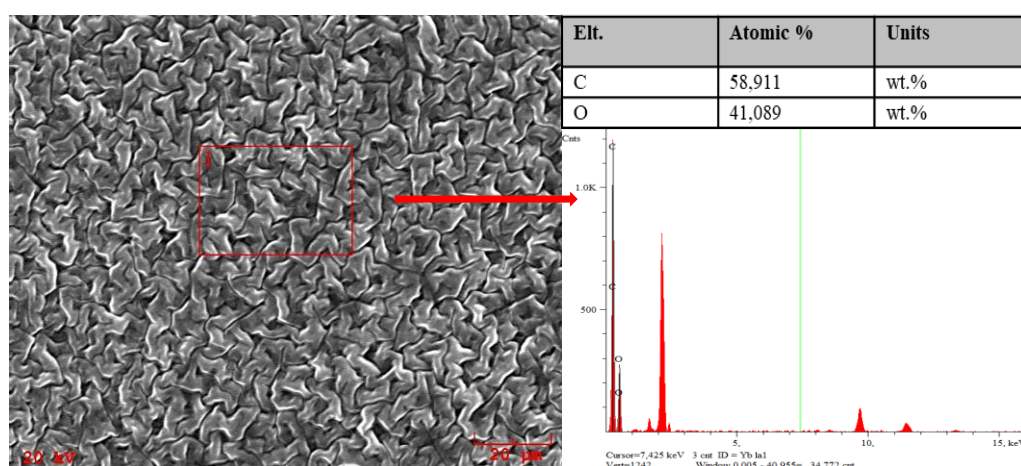


Rysunek 49. Obraz SEM próbek polimerowych z czynnikiem sieciującym 575 (a); 700 (b) oraz materiałów kompozytowych 575_HAp (c); 700_HAp (d), przy powiększeniu 2000x

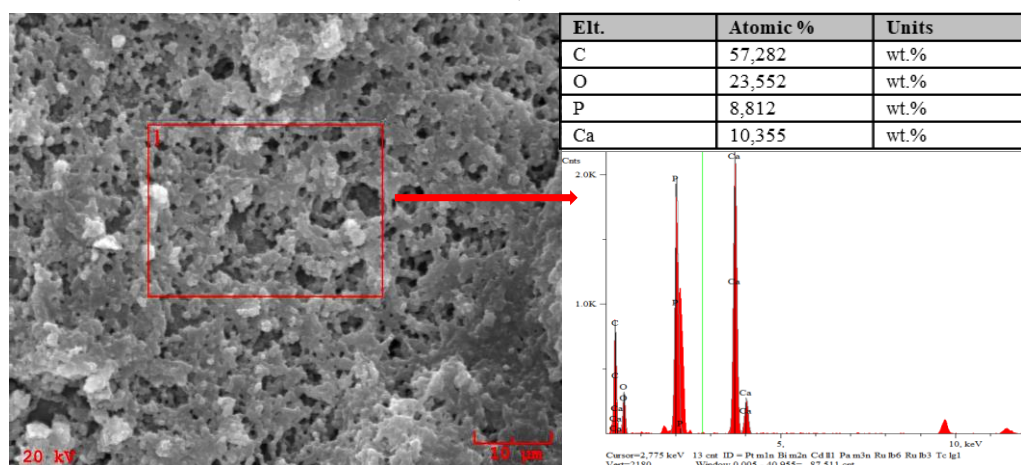
Obrazy próbek polimerowych przedstawione na Rysunku 49 a–b ukazują wpływ rodzaju zastosowanego czynnika sieciującego na morfologię powierzchni materiału. W przypadku próbki oznaczonej jako 575 (Rys. 49 a), w której wykorzystano PEGDA o masie molowej 575 g/mol, powierzchnia charakteryzuje się wyraźnie pofałdowaną, nieregularną strukturą, z obecnością licznych zagłębień o zróżnicowanej orientacji. Taka morfologia może być wynikiem wyższego stopnia usieciowania, charakterystycznego dla czynników sieciujących o krótszej długości łańcucha,

co skutkuje tworzeniem bardziej zwartej i sztywnej sieci polimerowej. Dla próbki 700 (Rys 49 b), zawierającej PEGDA o wyższej masie molowej (700 g/mol), powierzchnia jest bardziej jednorodna, z mniejszą liczbą wyraźnych deformacji. Tego typu morfologia może świadczyć o niższej gęstości usieciowania, co jest zgodne z właściwościami długołańcuchowych czynników sieciujących. Dłuższe segmenty PEGDA prowadzą zazwyczaj do luźniejszego przestrzennego uporządkowania łańcuchów polimerowych i bardziej jednorodnej struktury, która wykazuje ograniczoną podatność na kurczenie i deformacje powierzchniowe [252–254].

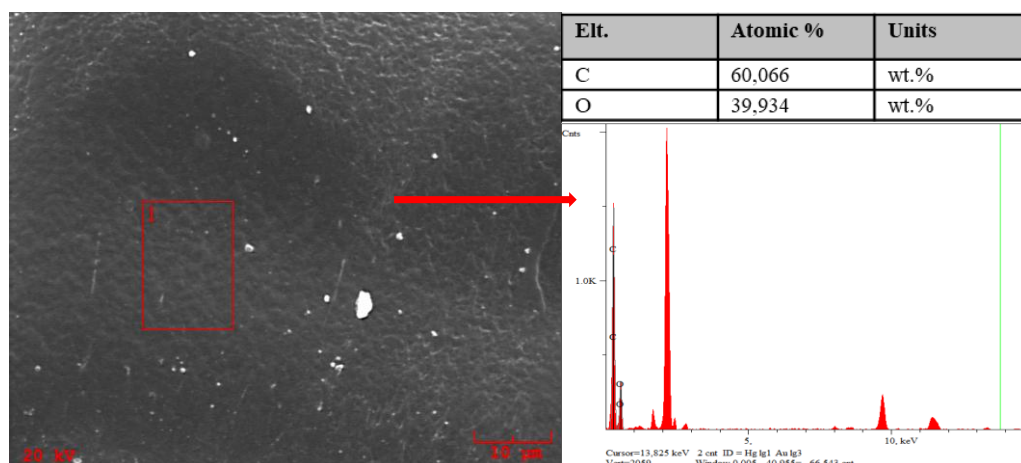
Obecność hydroksyapatytu w próbkach kompozytowych (Rys. 49 c – 575_HAp; Rys. 49 d – 700_HAp) prowadzi do wyraźnej zmiany morfologii powierzchni w porównaniu z próbkami zawierającymi wyłącznie matrycę polimerową. W obu przypadkach widoczna jest wyraźna porowatość oraz struktura o charakterze gąbczastym, co wskazuje na modyfikację sieci polimerowej w wyniku wprowadzenia fazy nieorganicznej. Poniżej na Rysunku 50 zaprezentowano zestawienie obrazów SEM wraz z analizą składu pierwiastkowego metodą EDS.



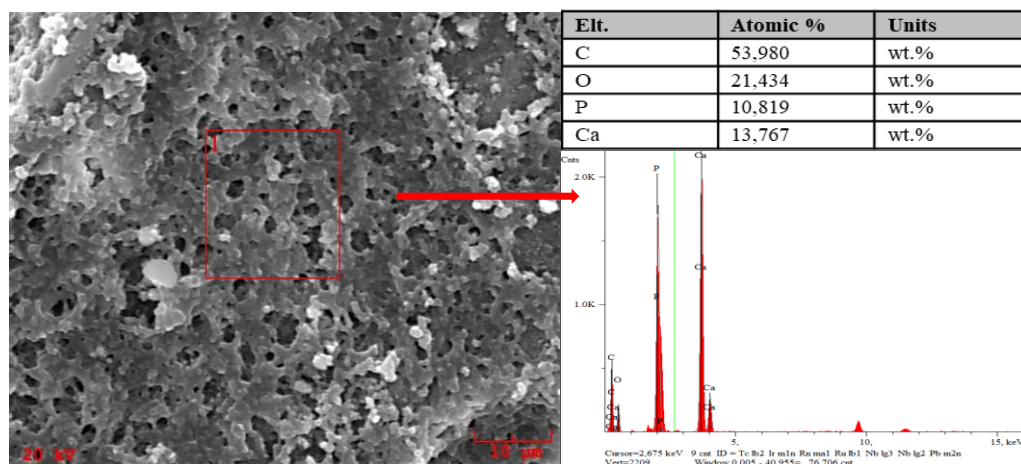
a)



b)



c)



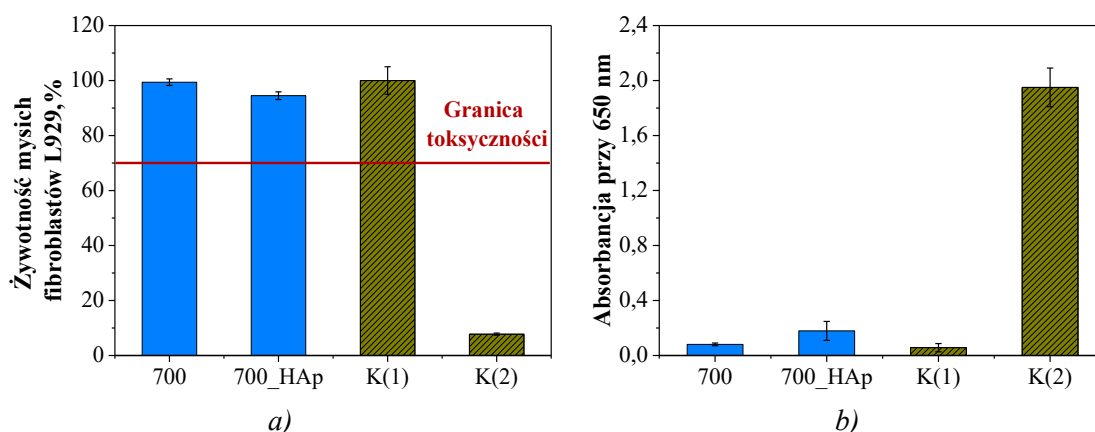
d)

Rysunek 50. Zestawienie obrazów SEM wraz z analizą składu pierwiastkowego metodą EDS dla próbek 575 (a); 575_HAp (b); 700 (c); 700_HAp (d), przy powiększeniu 2000x

Analiza składu pierwiastkowego próbek metodą EDS, przedstawiona na Rysunku 50, pozwala na jednoznaczne potwierdzenie obecności hydroksyapatytu w kompozytach 575_HAp i 700_HAp. W widmach odpowiadających tym próbkom (Rys. 50b i d) zarejestrowano wyraźne sygnały pochodzące od fosforu (P) oraz wapnia (Ca) – pierwiastków charakterystycznych dla fazy ceramicznej. Ich obecność wskazuje na skuteczne wprowadzenie HAp do matrycy polimerowej oraz jego przestrzenną integrację z siecią hydrożelową. W próbkach referencyjnych (Rys. 50a i c), zawierających wyłącznie układ PVP/PVA z odpowiednim czynnikiem sieciującym, zidentyfikowano jedynie pierwiastki węgla i tlenu, co jest zgodne z oczekiwanym składem matrycy organicznej.

9.6. Analiza właściwości biologicznych

Następnie, w celu oceny właściwości biologicznych otrzymanych materiałów kompozytowych, przeprowadzono badania *in vitro* obejmujące dwie analizy: test cytotoksyczności MTT oraz oznaczenie poziomu aktywacji szlaku zapalnego NF- κ B. Test MTT umożliwił ocenę wpływu materiałów na żywotność komórek, natomiast analiza aktywności NF- κ B pozwoliła na określenie potencjalnego działania prozapalnego badanych układów, poprzez pomiar odpowiedzi komórkowej związanej z tym szlakiem sygnalizacyjnym.



Rysunek 51. Ocena cytotoksyczności metodą MTT (a) oraz aktywności prozapalnej poprzez oznaczenie poziomu aktywacji szlaku NF- κ B (b)

Wyniki testu MTT (Rysunek 51 a) przedstawiono względem kontroli K₁ (wartość odniesienia: 100%). Badanie przeprowadzono dla wariantu zawierającego czynnik sieciujący o masie molowej 700 g/mol. Dla próbki zawierającej wyłącznie matrycę polimerową (próbka 700) odnotowano wysoki poziom żywotności komórek, wynoszący $99,4 \pm 1,2\%$, co świadczy o bardzo dobrej tolerancji biologicznej materiału i braku efektu cytotoksycznego. W przypadku kompozytu zawierającego 10% wag. hydroksyapatytu (700_HAp), żywotność komórek utrzymała się również na wysokim poziomie ($94,5 \pm 1,4\%$), co potwierdza, że wprowadzenie fazy ceramicznej nie wywiera istotnie negatywnego wpływu na metabolizm komórkowy. Dla porównania, w kontroli pozytywnej (K₂), w której zastosowano czynnik o udokumentowanym działaniu cytotoksycznym (2% roztwór nadtlenu wodoru), odnotowano gwałtowny spadek żywotności komórek do poziomu 7,76%, co potwierdza prawidłowe działanie testu i jego czułość.

Uzyskane wyniki wskazują jednoznacznie, że zarówno matryca PVP/PVA, jak i jej kompozytowa forma z HAp charakteryzują się wysoką biogodnością, co predysponuje je do dalszych zastosowań w obszarze biomateriałów przeznaczonych do kontaktu z tkankami biologicznymi. Zgodnie z kryteriami normy ISO 10993-5, za materiały cytotoksyczne uznaje się te, które powodują spadek żywotności komórek

poniżej 70% w porównaniu z kontrolą negatywną. Zarówno próbka polimerowa, jak i kompozytowa wykazały żywotność istotnie przekraczającą ten próg (odpowiednio 99,4% i 94,5%), co jednoznacznie klasyfikuje je jako materiały niecytotoksyczne zgodnie z obowiązującymi standardami biokompatybilności.

Aktywność prozapalną badanych materiałów oceniono poprzez oznaczenie poziomu aktywacji szlaku sygnalizacyjnego NF- κ B. Wyniki zestawiono względem dwóch kontroli: K₁ - (komórki nie stymulowane) oraz K₂, w której zastosowano silny czynnik zapalny PMA (*phorbol 12-myristate 13-acetate*) w stężeniu 100 ng/mL. W przypadku K₂ odnotowano intensywną aktywację szlaku NF- κ B, odpowiadającą wartości 1,95, co potwierdza prawidłową reakcję układu testowego na bodziec zapalny. Dla próbki zawierającej wyłącznie matrycę polimerową (700) poziom aktywacji NF- κ B wyniósł 0,081, natomiast dla kompozytu z dodatkiem 10% HAp (700_HAp) odnotowano nieco wyższą wartość: 0,179. Obie wartości pozostają znacząco niższe od poziomu obserwowanego dla kontroli zapalnej, co wskazuje na brak istotnej aktywności prozapalnej testowanych materiałów. Pomimo że dodatek hydroksyapatytu prowadził do umiarkowanego wzrostu odpowiedzi NF- κ B w porównaniu do samej matrycy polimerowej, uzyskane wartości nadal mieszczą się w zakresie uznawanym za nieindukujący odpowiedzi zapalnej. Tym samym, wyniki te potwierdzają dobrą tolerancję immunologiczną opracowanych kompozytów i ich potencjalną przydatność w zastosowaniach biomedycznych.

9.7. Podsumowanie części II – materiał kompozytowy

W drugiej części pracy skoncentrowano się na opracowaniu i charakterystyce materiałów kompozytowych. Punktem wyjścia do dalszych prac badawczych było wytypowanie odpowiedniego składnika fazy organicznej. Na podstawie analizy literatury jako bazowy materiał matrycy polimerowej wybrano poliwinylpiperolidon, wykazujący dobrą biogodność oraz korzystne właściwości przetwórcze. W początkowym etapie badań wykazano, że wzrost stężenia PVP prowadzi do istotnego ograniczenia szybkości sedimentacji cząstek HAp, co związane jest z podwyższeniem lepkości układu i możliwym oddziaływaniem adsorpcyjnym pomiędzy cząstkami fazy ceramicznej a polimerem. Jako optymalne stężenie polimeru dla dalszej syntezy przyjęto 15%, co zapewniało wysoką stabilność zawiesiny bez nadmiernego zużycia surowców. W dalszym etapie opracowano układ fotopolimeryzujący, uwzględniając różne warianty czynnika sieciującego (PEGDA o masie molowej 250, 575 i 700 g/mol) oraz dwa fotoinicjatory. Najlepsze rezultaty w zakresie ciągłości strukturalnej, jednorodności i efektywności sieciowania uzyskano dla układów zawierających PEGDA 575 i 700 g/mol w połączeniu z 2-hydroksy-2-metylopropiofenonem. Na tej podstawie wybrano sześć optymalnych kompozycji do dalszych etapów badań.

Kolejnym etapem była analiza zdolności sorpcyjnych kompozytów z różnym udziałem hydroksyapatytu (0–20% wag.). Wykazano wyraźny spadek współczynnika

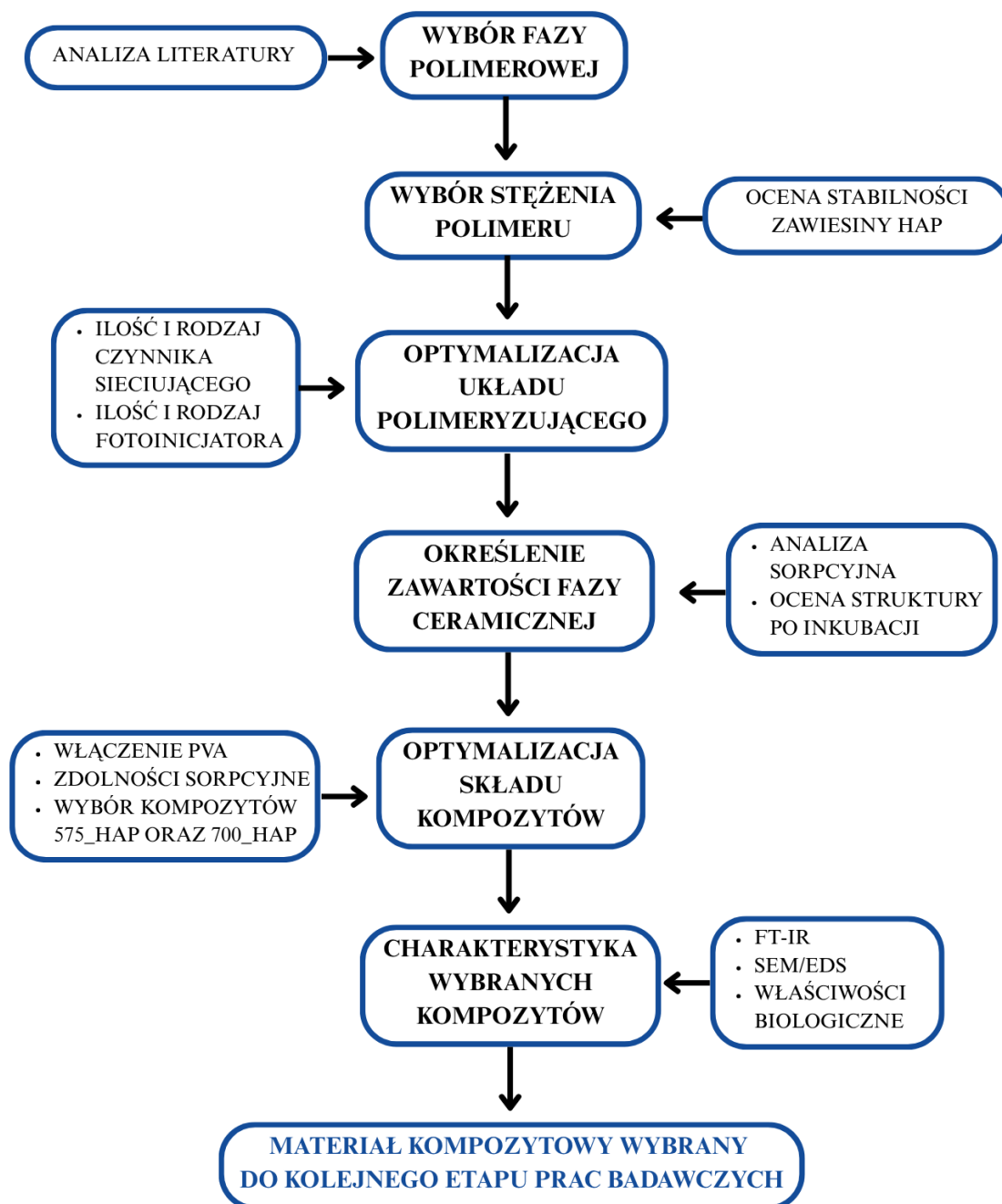
pęcznienia wraz ze wzrostem zawartości HAp, co przypisano ograniczeniu udziału hydrofilowej fazy polimerowej oraz zaburzeniom w strukturze sieci. Kompozycje zawierające 20% HAp nie ulegały skutecznemu utwardzeniu, natomiast w przypadku 10% i 15% odnotowano problemy z integralnością strukturalną, w szczególności po inkubacji w środowisku wodnym. Na tej podstawie do dalszej optymalizacji wybrano dwie kompozycje zawierające 10% fazy ceramicznej.

Aby poprawić stabilność strukturalną materiałów, zaproponowano modyfikację matrycy poprzez wprowadzenie alkoholu poliwinylowego. Opracowano nową formułację PVP/PVA z dodatkiem 10% HAp, którą poddano analizie sorpcyjnej w różnych mediach (woda destylowana, SBF, płyn Ringera). Uzyskane wyniki wykazały znaczną poprawę odporności na degradację hydrożelu, a wszystkie próbki utrzymały integralność strukturalną przez 72 godziny inkubacji. Jednocześnie wartości współczynnika pęcznienia wzrosły w porównaniu z wcześniejszymi seriami, co potwierdziło skuteczność zastosowanej modyfikacji.

Dalsza charakterystyka ATR FT-IR potwierdziła obecność komponentów polimerowych oraz hydroksyapatytu w otrzymanych kompozytach. Widma wykazały brak istotnych przesunięć pasm, co sugeruje, że oddziaływania międzyfazowe mają głównie charakter fizyczny, bez tworzenia nowych wiązań kowalencyjnych. Wyniki te zostały potwierdzone także badaniami SEM/EDS, w których uwidoczniono zmiany morfologiczne wynikające z obecności HAp oraz jednoznacznie potwierdzono obecność pierwiastków wapnia i fosforu w strukturze materiału.

Ostatecznie przeprowadzono ocenę właściwości biologicznych opracowanych kompozytów. W teście MTT próbki wykazały wysoki poziom żywotności komórek (ponad 94%), co klasyfikuje je jako materiały niecytotoksyczne zgodnie z normą ISO 10993-5. Z kolei ocena aktywności zapalnej (NF- κ B) nie wykazała istotnej indukcji szlaku sygnalizacyjnego, potwierdzając dobrą tolerancję immunologiczną.

Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują, że opracowane materiały kompozytowe oparte na matrycy PVP/PVA z dodatkiem 10% hydroksyapatytu charakteryzują się korzystnymi właściwościami strukturalnymi, sorpcyjnymi oraz biologicznymi i stanowią bazę do dalszych analiz w niniejszej pracy badawczej.



Rysunek 52. Schemat podsumowania części II – materiał kompozytowy

10. Część III– MODYFIKACJA MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH KOLAGENEM

10.1. Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera

W poprzednim etapie badań opracowano i szczegółowo scharakteryzowano kompozyty ceramiczno-polimerowe oparte na matrycy PVP/PVA z dodatkiem hydroksyapatytu. Uzyskane wyniki jednoznacznie potwierdziły ich wysoką biogodność, odpowiednie właściwości sorpcyjne, stabilność strukturalną oraz brak efektu cytotoksycznego, co stanowi podstawę do dalszych prac nad funkcjonalizacją tych układów.

Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy i doniesieniami literaturowymi, w kontekście zastosowań biomateriałów w inżynierii i chirurgii regeneracyjnej tkanek zasadne wydaje się wzbogacenie opracowanego systemu o składnik pochodzenia biologicznego np. kolagen. Jest to białko strukturalne o kluczowym znaczeniu fizjologicznym, stanowiące dominujący składnik macierzy pozakomórkowej i wykazujące wyjątkowe właściwości bioindukcyjne, sprzyjające adhezji, migracji oraz proliferacji komórek. Włączenie kolagenu do kompozytu może dodatkowo poprawić jego właściwości biologiczne, w tym integrację z otaczającą tkanką oraz zdolność do stymulowania procesów naprawczych [255–259].

W niniejszej części pracy podjęto próbę modyfikacji wybranych materiałów kompozytowych poprzez dodatek kolagenu, z jednoczesną oceną jego wpływu na strukturę oraz właściwości fizykochemiczne zmodyfikowanych układów kompozytowych. Wprowadzenie kolagenu do struktury materiału kompozytowego zrealizowano w postaci hydrolizatu kolagenu, ze względu na jego dobrą rozpuszczalność w środowisku wodnym, wysoką bioresorbowalność oraz zachowane właściwości bioaktywne przy jednoczesnej zdolności do łatwego inkorporowania w sieć hydrożelową. Hydrolizat kolagenu zawiera niskocząsteczkowe peptydy, które zachowują aktywność biologiczną charakterystyczną dla natywnego kolagenu, a jednocześnie nie wykazują tendencji do tworzenia włóknistych struktur mogących zaburzać proces sieciowania. Taka forma kolagenu pozwala również na równomierne rozproszenie w matrycy i potencjalne tworzenie korzystnych interakcji międzyfazowych [260–264].

Aby określić optymalny poziom modyfikacji, przeprowadzono serię syntez z zastosowaniem zawartości hydrolizatu kolagenu na poziomie 10%, 20%, 30% oraz 40% wag. względem fazy polimerowej. Zastosowano dwa rodzaje hydrolizatu: kolagen pochodzenia rybiego oraz wołowego. Na podstawie obserwacji wizualnych oraz oceny ciągłości i stabilności strukturalnej po procesie fotopolimeryzacji, stwierdzono, że w obu przypadkach kompozyty zawierające 40% kolagenu ulegały dezintegracji, co uniemożliwiało ich dalszą charakterystykę. W związku z tym, 30% zawartość kolagenu uznano za maksymalną, przy której uzyskiwano stabilne, integralne i jednorodne materiały.

W celu potwierdzenia skutecznego wbudowania kolagenu w strukturę materiałów kompozytowych, przeprowadzono analizę spektroskopową FT-IR, pozwalającą na identyfikację charakterystycznych pasm absorbcyjnych przypisanych obecności grup funkcyjnych pochodzących z peptydów kolagenowych. Tabela 18 przedstawia szczegółowy skład opracowanych kompozytów zmodyfikowanych kolagenem, przy czym każda kompozycja zawiera podstawowy skład polimerowy wytypowany we wcześniejszych etapach badawczych (3 ml 15% roztworu PVP, 7 ml 5% roztworu PVA, 2 ml czynnika sieciującego 575 g/mol lub 700 g/mol oraz 0,05 ml fotoinicjatora 2-hydroksy-2-metylo-propiofenonu).

Dla uproszczenia dalszej prezentacji wyników zastosowano skrócone oznaczenia próbek odnoszące się do stosowanych parametrów zmiennych:

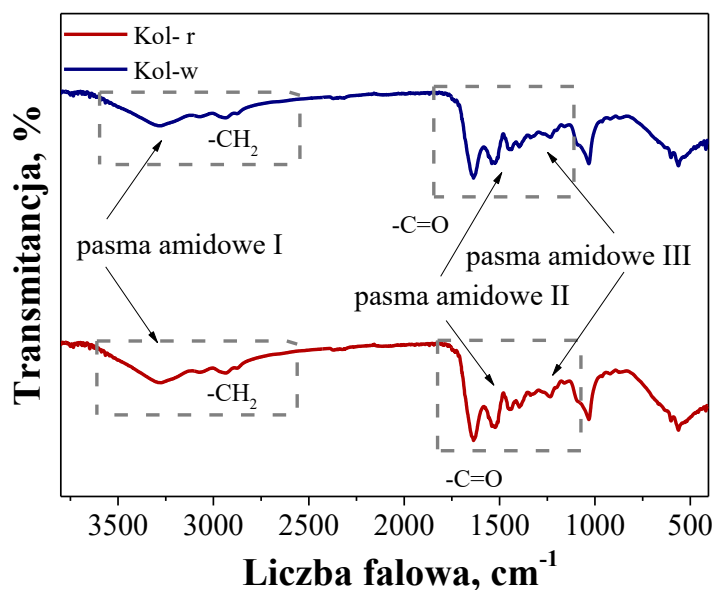
- liczba 575 lub 700 odnosi się do rodzaju zastosowanego czynnika sieciującego (PEGDA o masie molowej odpowiednio 575 lub 700 g/mol),
- skrót HAp oznacza obecność 10% wag. hydroksyapatytu jako fazy ceramicznej,
- dopisek Kol-r wskazuje na dodatek hydrolizatu kolagenu rybiego (30% wag.),
- dopisek Kol-w – na obecność hydrolizatu kolagenu wołowego (30% wag.).

Na przykład: 700_HAp/Kol-w to próbka zawierająca PEGDA 700, 10% HAp oraz 30% kolagenu wołowego.

Tabela 18. Skład materiałów kompozytowych zmodyfikowanych hydrolizatem kolagenu

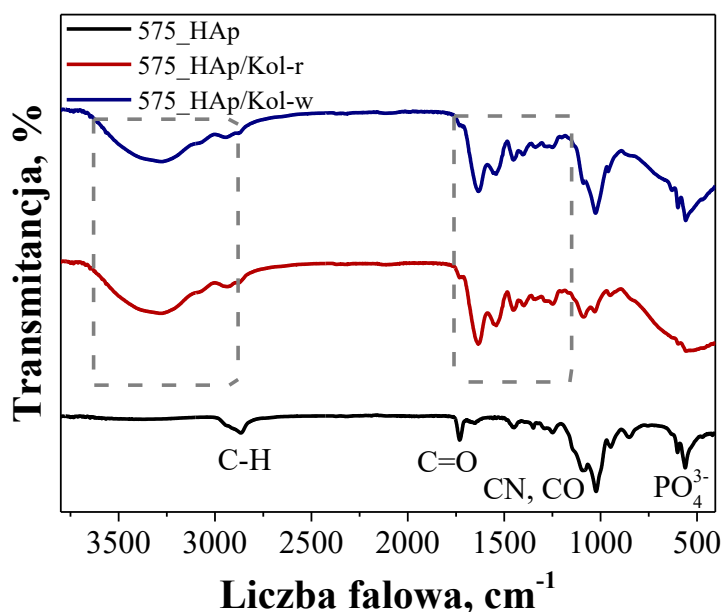
HAp, %wag.	Kolagen rybi, % wag.	Kolagen wołowy, %wag.	Oznaczenie próbki
-	-	-	575_HAp
10	30	-	575_HAp/Kol-r
10	-	30	575_HAp/Kol-w
-	-	-	700_HAp
10	30	-	700_HAp/Kol-r
10	-	30	700_HAp/Kol-w

Poniżej zaprezentowano wyniki analizy FT-IR przeprowadzonej w celu potwierdzenia obecności kolagenu w zmodyfikowanych kompozytach. Na Rysunku 53 zestawiono widma dwóch zastosowanych hydrolizatów kolagenowych – rybiego (linia czerwona) oraz wołowego (linia niebieska), z zaznaczonymi charakterystycznymi pasmami amidowymi, typowymi dla struktury białkowej. Natomiast Rysunek 54a oraz 54b przedstawiają widma odpowiednio próbki 575_HAp i 700_HAp oraz ich modyfikowanych wariantów z dodatkiem kolagenu (Kol-r oraz Kol-w), co umożliwia bezpośrednie porównanie i ocenę wbudowania składnika białkowego do struktury kompozytu.



Rysunek 53. Zestawienie widm FT-IR hydrolizatów kolagenowych: rybi (linia czerwona); wołowy (linia niebieska)

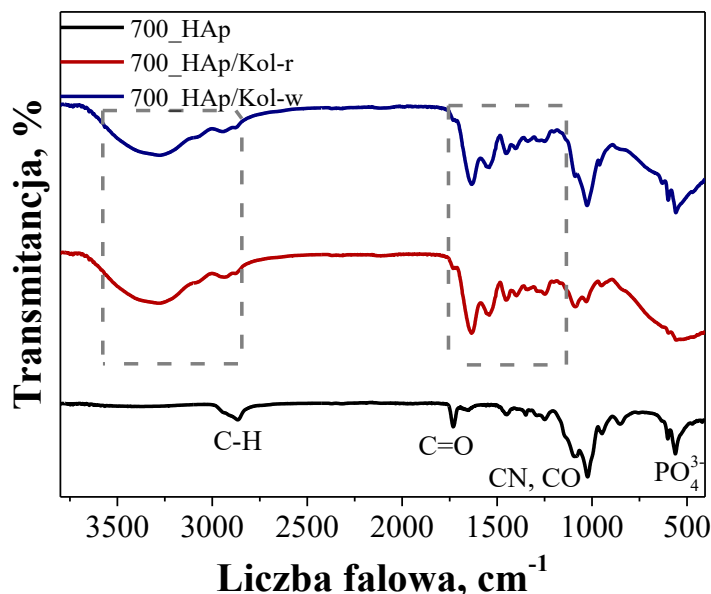
Analiza widm FT-IR przedstawionych na Rysunku 53 pozwala na identyfikację charakterystycznych pasm absorpcyjnych związanych z obecnością grup funkcyjnych typowych dla struktur białkowych w badanych hydrolizatach kolagenowych. Zarówno dla kolagenu rybiego (linia czerwona), jak i wołowego (linia niebieska) zarejestrowano wyraźne pasma odpowiadające wiązaniom amidowym, które stanowią cechę charakterystyczną peptydowego szkieletu białek. W zakresie $1650\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ obserwowane są pasma amidowe I, związane z drganiami rozciągającymi wiązań $\text{C}=\text{O}$ w strukturze amidowej. Z kolei pasma amidowe II, widoczne w rejonie $1550\text{--}1530\text{ cm}^{-1}$, odpowiadają głównie drganiom zginającym grup $-\text{NH}$ oraz drganiom rozciągającym wiązań $\text{C}-\text{N}$. Obecność tych sygnałów świadczy o zachowaniu struktury białkowej w analizowanych próbkach. W niższym zakresie, około $1235\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$, zaobserwowano pasma amidowe III, związane z kombinacją drgań $\text{C}-\text{N}$ i $\delta(\text{N}-\text{H})$, typowych dla struktur kolagenowych. Dodatkowo, w rejonie $2930\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$ widoczne są pasma związane z drganiami rozciągającymi grup metylowych ($-\text{CH}_2$ oraz $-\text{CH}_3$), potwierdzające obecność łańcuchów alifatycznych w strukturze białka. Intensywność oraz położenie pasm dla kolagenu rybiego i wołowego są zbliżone, choć różnice w kształcie oraz względnej intensywności mogą wynikać z odmienności w stopniu hydrolizy, strukturze cząsteczek oraz pochodzeniu surowca. Zidentyfikowane pasma absorpcyjne charakterystyczne dla struktur białkowych zostały przedstawione również w pracach badawczych innych autorów, potwierdzając ich zgodność z typowym profilem widmowym kolagenu oraz poprawność uzyskanych wyników spektroskopowych [265–268].



Rysunek 54. Zestawienie widm FT-IR próbek kompozytowych po modyfikacji kolagenem rybim (Kol-r) i wołowym (Kol-w) seria 575

Wyniki analizy spektroskopowej zaprezentowane na Rysunku 54 jednoznacznie potwierdzają obecność kolagenu w strukturze zmodyfikowanych materiałów kompozytowych z serii 575. Widmo próbki referencyjnej (575_HAp), pozbawionej dodatku kolagenu, charakteryzuje się zestawem pasm odpowiadających głównym składnikom matrycy polimerowej oraz fazie ceramicznej, m.in. pasmem rozciągającym grup C–H ($\sim 2910\text{ cm}^{-1}$), karbonylowym C=O ($\sim 1720\text{ cm}^{-1}$), a także sygnałami przypisanymi grupom CN i CO ($\sim 1083\text{ cm}^{-1}$) oraz grupom fosforanowym PO_4^{3-} ($\sim 560\text{--}600\text{ cm}^{-1}$), charakterystycznymi dla hydroksyapatytu. Wprowadzenie kolagenu rybiego (575_HAp/Kol-r) i wołowego (575_HAp/Kol-w) prowadzi do pojawienia się dodatkowych sygnałów charakterystycznych dla struktur białkowych. Najbardziej wyraźne są pasma w zakresie $3300\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$ (wiązania –OH oraz amidowe I), $1640\text{--}1660\text{ cm}^{-1}$ (pasm amidowych I – drgania rozciągające C=O) oraz $1530\text{--}1550\text{ cm}^{-1}$ (pasm amidowych II – drgania zginające N–H i rozciągające C–N), które nie występują lub są znacznie mniej intensywne w próbce niemodyfikowanej. Ich obecność wskazuje na skuteczne wbudowanie białkowego komponentu w strukturę hydrożelu. W widmach próbek z kolagenem obserwuje się także wzrost intensywności pasm związanych z grupami funkcyjnymi białek oraz ich częściowe przesunięcia względem pasm referencyjnych. Zjawisko to może sugerować oddziaływania pomiędzy strukturą polimerową a kolagenem – najprawdopodobniej o charakterze fizycznym np. sieć wiązań wodorowych. Zidentyfikowane pasma absorpcyjne, charakterystyczne dla struktur białkowych, zostały również opisane w literaturze w kontekście oznaczania obecności

kolagenu w złożonych układach biomateriałowych, co spójność uzyskanych wyników z danymi literaturowymi [269,270].



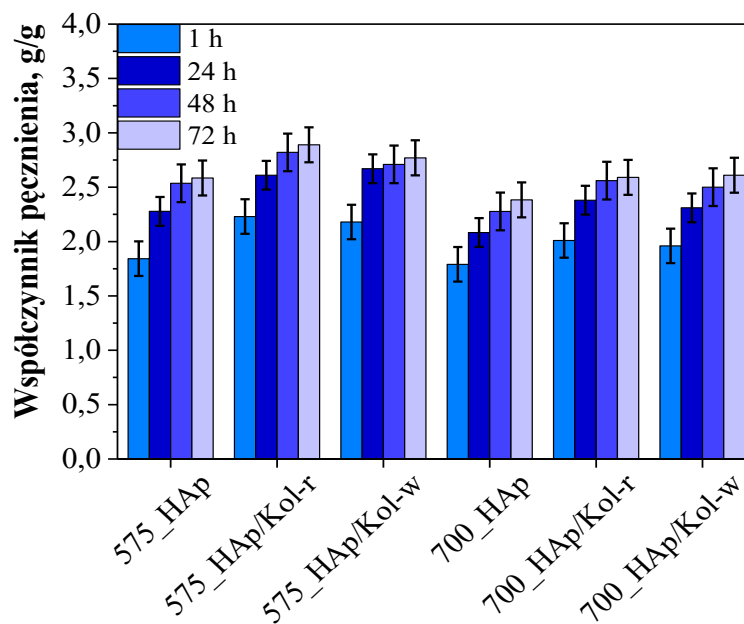
Rysunek 55. Zestawienie widm FT-IR próbek kompozytowych po modyfikacji kolagenem rybim (Kol-r) i wołowym (Kol-w) seria 700

Widma FT-IR zaprezentowane na Rysunku 55 dotyczą kompozytów opartych na PEGDA o masie molowej 700 g/mol (700_HAp) oraz ich odpowiedników zmodyfikowanych kolagenem rybim (700_HAp/Kol-r) i wołowym (700_HAp/Kol-w). Podobnie jak w serii 575, również tutaj zaobserwowano pojawienie się charakterystycznych pasm absorpcyjnych odpowiadających strukturom białkowym, w tym wyraźnych sygnałów amidowych (I, II i III), co jednoznacznie potwierdza skuteczne wbudowanie kolagenu do struktury sieci polimerowej. Obecność pasm pochodzących od grup PO₄³⁻ oraz sygnałów charakterystycznych dla układu PVP/PVA również potwierdza zachowanie integralności chemicznej komponentów bazowych kompozytu. Podsumowując, analiza FT-IR jednoznacznie potwierdza, że zastosowana modyfikacja umożliwia skuteczne wprowadzenie 30% wag. kolagenu do matrycy hydrożelowej bez zakłócania jej struktury chemicznej.

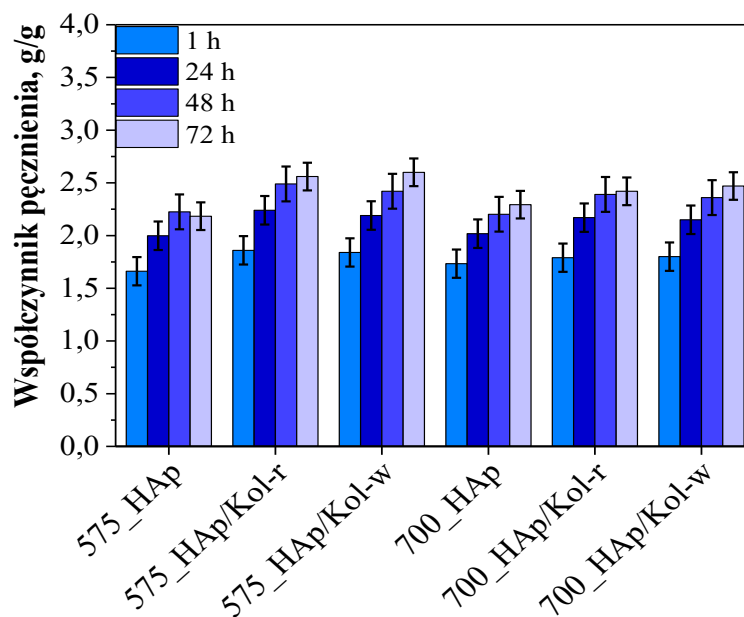
10.2. Analiza zdolności sorpcyjnych

W dalszym etapie badań dokonano oceny właściwości sorpcyjnych zmodyfikowanych materiałów kompozytowych zawierających 30% wag. kolagenu. Celem analizy było określenie wpływu obecności składnika białkowego na zdolność badanych układów do absorpcji płynów, co stanowi istotny parametr funkcjonalny w kontekście biomateriałów przeznaczonych do zastosowań w inżynierii i medycynie regeneracyjnej. Zdolność do pęcznienia wpływa bezpośrednio na właściwości

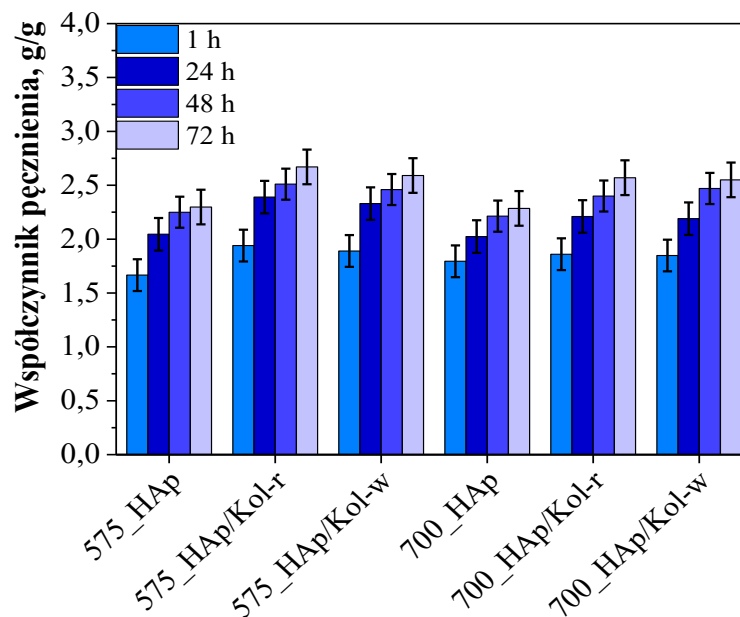
transportowe materiału, jego zdolność do tworzenia wilgotnego mikrośrodowiska sprzyjającego procesom regeneracyjnym oraz potencjalną możliwość inkorporacji i uwalniania substancji bioaktywnych. Badania przeprowadzono w warunkach statycznej inkubacji w trzech różnych mediach: wodzie destylowanej, sztucznym płynie ustrojowym SBF oraz płynie Ringera, stanowiących odwzorowanie warunków środowiska fizjologicznego. Takie podejście umożliwia bardziej kompleksową ocenę zachowania materiałów w obecności związków jonowych o różnym składzie i stężeniu. Otrzymane wyniki współczynnika pęcznienia w funkcji czasu zostały zestawione na Rysunku 56.



a)



b)



c)

Rysunek 56. Zdolność sorpcyjna materiałów kompozytowych w wodzie destylowanej (a), płynie SBF (b) oraz płynie Ringera (c)

Na podstawie uzyskanych wyników we wszystkich analizowanych przypadkach zaobserwowano stopniowy wzrost współczynnika pęcznienia w czasie inkubacji, osiągający wartości maksymalne po 72 godzinach. Najwyższe zdolności sorpcyjne uzyskano w wodzie destylowanej. Dla próbek inkubowanych w płynie SBF i płynie Ringera (zawierających jony Ca^{2+} , Na^+ , Cl^- , PO_4^{3-} i inne), współczynniki pęcznienia były niższe, co potwierdza wpływ jonów na zmniejszenie gradientu osmotycznego i możliwe oddziaływania jonów z matrycą polimerową, które mogą częściowo ograniczać ekspansję sieci hydrożelowej.

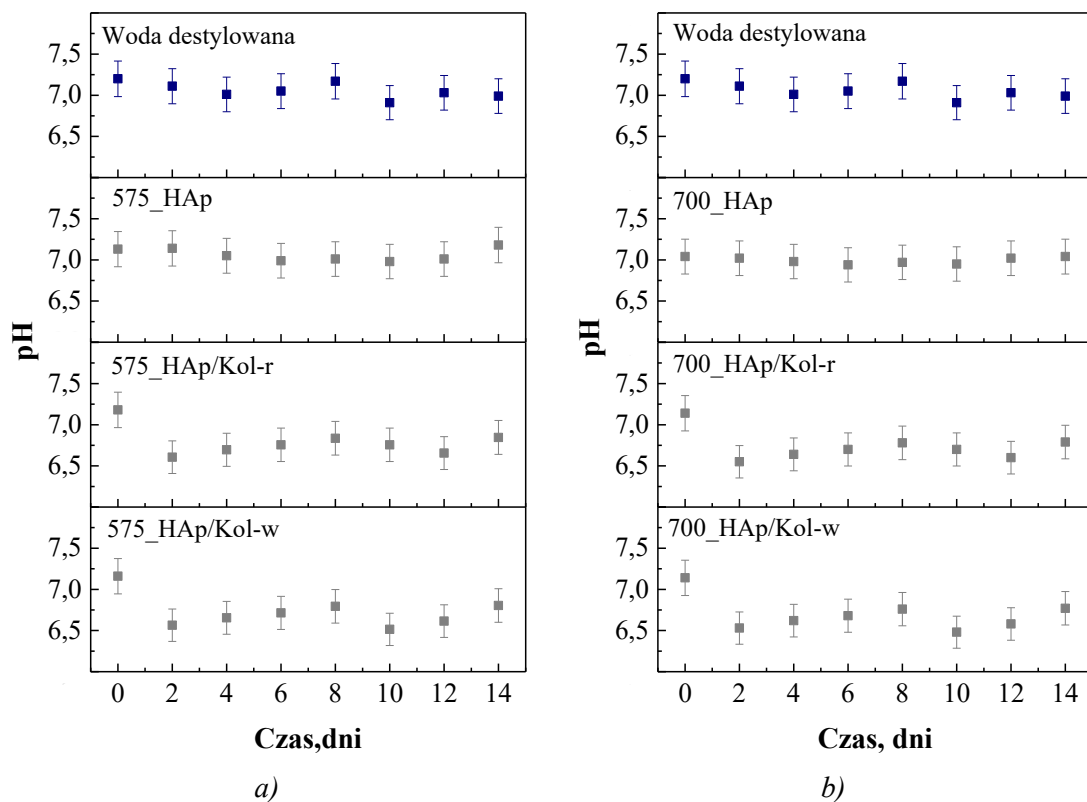
W warunkach inkubacji w wodzie destylowanej wszystkie badane kompozyty wykazały systematyczny wzrost współczynnika pęcznienia w czasie, osiągając po 72 godzinach wartości mieszczące się w zakresie 2,6–3,1 g/g. Najwyższe właściwości sorpcyjne wykazywały próbki zawierające kolagen wołowy (575_HAp/Kol-w oraz 700_HAp/Kol-w), niezależnie od zastosowanego czynnika sieciującego. Efekt ten może wynikać z obecności dodatkowych grup hydrofilowych w strukturze kolagenu (głównie $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$), które zwiększają zdolność materiału do wiązania wody. Zaobserwowano również, że dla wszystkich próbek modyfikowanych kolagenem wołowym wartości pęcznienia były nieznacznie wyższe niż dla próbek z kolagenem rybnym, co może być związane z różnicami w strukturze cząsteczkowej związanej z jego pochodzeniem. Porównanie próbek bazowych (bez dodatku kolagenu) wykazało nieco wyższy stopień pęcznienia dla kompozytów zawierających PEGDA o masie cząsteczkowej 575 g/mol w porównaniu

do serii z PEGDA 700 g/mol, co można tłumaczyć większą gęstością usieciowania oraz lepszą retencją medium.

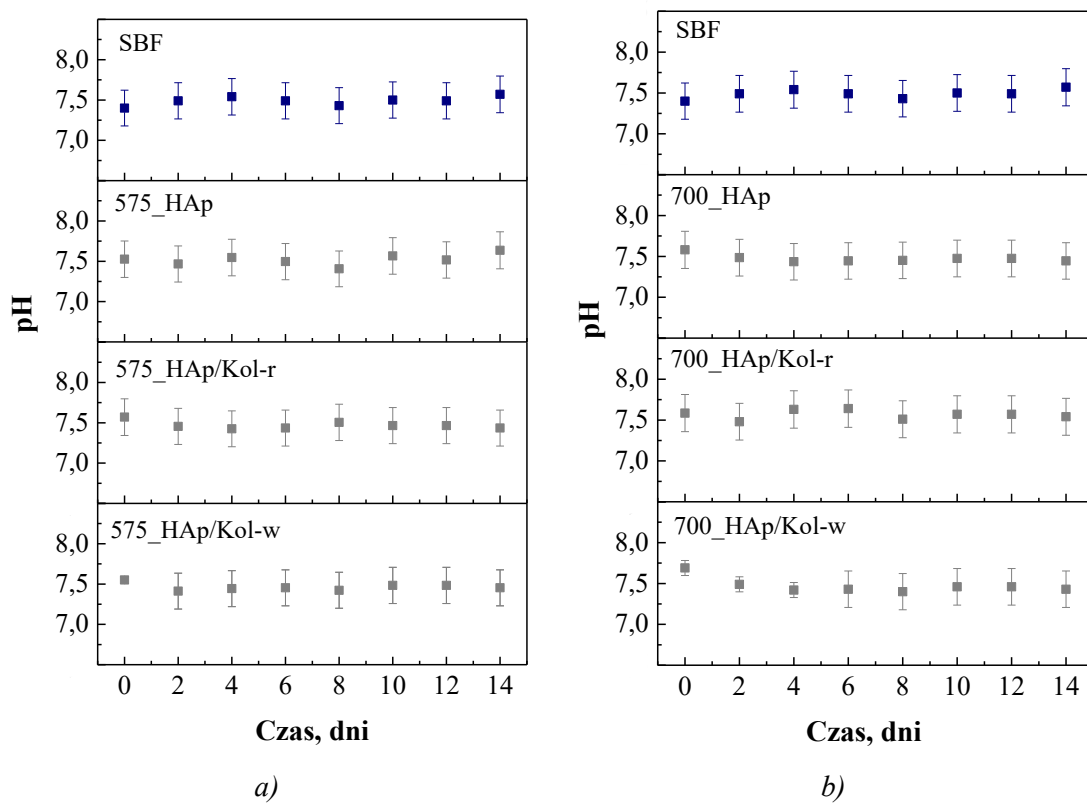
W przypadku inkubacji w symulowanym płynie ustrojowym (SBF) zaobserwowano analogiczne tendencje jak dla wody destylowanej, jednakże wartości współczynnika pęcznienia były nieznacznie niższe, zazwyczaj o 0,2–0,3 g/g. Obniżenie chłonności można przypisać obecności jonów (m.in. Ca^{2+} , Mg^{2+} , HCO_3^-), które oddziałują z grupami funkcyjnymi hydrożeli, ograniczając ich zdolność do wiązania cząsteczek płynu. Pomimo to, próbki zawierające kolagen, a zwłaszcza te z kolagenem wołowym, utrzymywały wysoką zdolność pęcznienia, co potwierdza wpływ tego składnika na właściwości modyfikowanych kompozytów. Najniższe wartości współczynnika pęcznienia odnotowano dla próbek inkubowanych w płynie Ringera, zawierającym wyższe stężenia jonów sodowych i chlorkowych, które mogą wpływać na zdolność do wiązania wody. Pomimo pewnych różnic obserwowana tendencja pozostaje niezmienna – dodatek kolagenu, szczególnie wołowego, przyczynia się do wyraźnego zwiększenia właściwości sorpcyjnych w porównaniu do próbek kontrolnych. W tym środowisku różnice między kompozytami zawierającymi PEGDA 575 g/mol oraz 700 g/mol były mniej wyraźne, co może świadczyć o dominującym wpływie komponentu białkowego na zdolność do absorpcji wody w warunkach zbliżonych do fizjologicznych. Przeprowadzona analiza jednoznacznie wykazała, że wprowadzenie 30% wag. kolagenu do struktury kompozytów, niezależnie od jego pochodzenia, istotnie poprawia ich właściwości sorpcyjne.

10.3. Badania inkubacyjne w warunkach in vitro

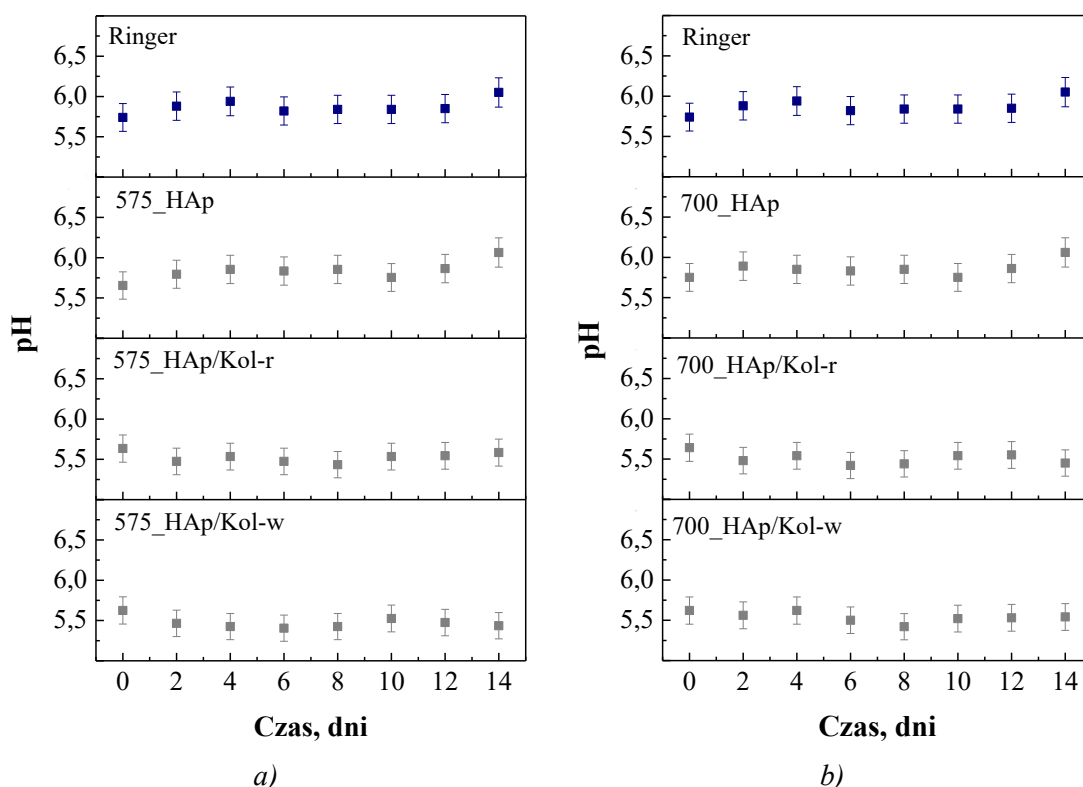
W ramach dalszej charakterystyki opracowanych kompozytów przeprowadzono badanie inkubacyjne w warunkach in vitro, mające na celu ocenę stabilności materiałów w środowiskach o różnym składzie jonowym oraz potencjalnych oddziaływań pomiędzy strukturą hydrożelu a medium inkubacyjnym. Próbkę poddano analizie inkubacyjnej przez okres 14 dni umieszczając je odpowiednio w trzech różnych płynach: wodzie destylowanej, sztucznym płynie ustrojowym (SBF) oraz płynie Ringera, odwzorowujących warunki fizjologiczne. Każde z zastosowanych mediów różni się składem jonowym i stopniem zbuforowania, co pozwala na obserwację zachowania materiałów w środowiskach o odmiennym potencjale oddziaływania chemicznego. Analiza zmian pH w trakcie inkubacji umożliwia określenie stabilności chemicznej kompozytu, możliwej biodegradacji oraz występującej wymiany jonowej zachodzącej w badanym układzie. Badaniu poddano próbki w postaci krążków, każdy o masie 2 g. Uzyskane wyniki zaprezentowano odpowiednio na Rysunkach 57 - 59.



Rysunek 57. Wyniki badań inkubacyjnych przeprowadzonych w wodzie destylowanej: seria 575 (a) oraz seria 700 (b)



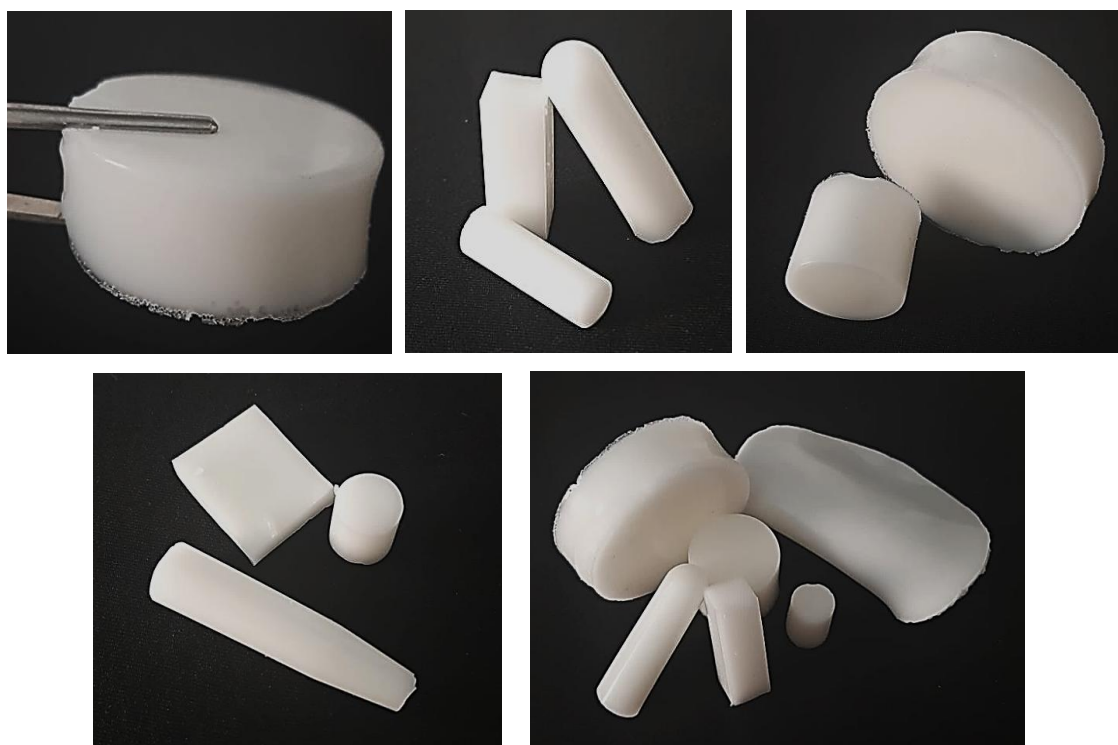
Rysunek 58. Wyniki badań inkubacyjnych przeprowadzonych w płynie SBF: seria 575 (a) oraz seria 700 (b)



Rysunek 59. Wyniki badań inkubacyjnych przeprowadzonych w płynie Ringera: seria 575 (a) oraz seria 700 (b)

We wszystkich analizowanych układach zaobserwowano wyraźną tendencję do obniżania pH w obecności próbek zawierających dodatek kolagenu, zarówno rybiego (Kol-r), jak i wołowego (Kol-w). Zjawisko to może być bezpośrednio związane z charakterem zastosowanej formy kolagenu – hydrolizatów, które składają się z niskocząsteczkowych peptydów oraz wolnych aminokwasów. W trakcie inkubacji możliwe jest ich stopniowe uwalnianie z matrycy hydrożelowej do otaczającego środowiska, co skutkuje lokalnym wzbogaceniem medium w grupy karboksylowe oraz aminowe. Grupy te, szczególnie w formie zjonizowanej, mogą prowadzić do zakwaszenia środowiska, przesuwając odczyn pH w kierunku bardziej kwaśnym. Efekt ten był obserwowany niezależnie od rodzaju medium inkubacyjnego, co wskazuje na uniwersalny charakter zachodzących procesów wymiany jonowej i uwalniania składników organicznych z wnętrza kompozytu. Choć wartości pH pozostawały w zakresie tolerowanym przez układy fizjologiczne, zauważalna różnica w porównaniu do próbek niezawierających kolagenu sugeruje, że komponent białkowy wywiera istotny wpływ na mikrośrodowisko materiału. Co istotne, poziom obniżenia pH był najbardziej widoczny w warunkach inkubacji w wodzie destylowanej, co może wynikać z braku zdolności buforujących tego medium i większej wrażliwości na obecność związków kwasowych. Z kolei w płynach fizjologicznych, takich jak SBF i Ringera, naturalna zawartość jonów buforujących ograniczała skalę obserwowanych zmian, choć tendencja do zakwaszenia była nadal wyraźna.

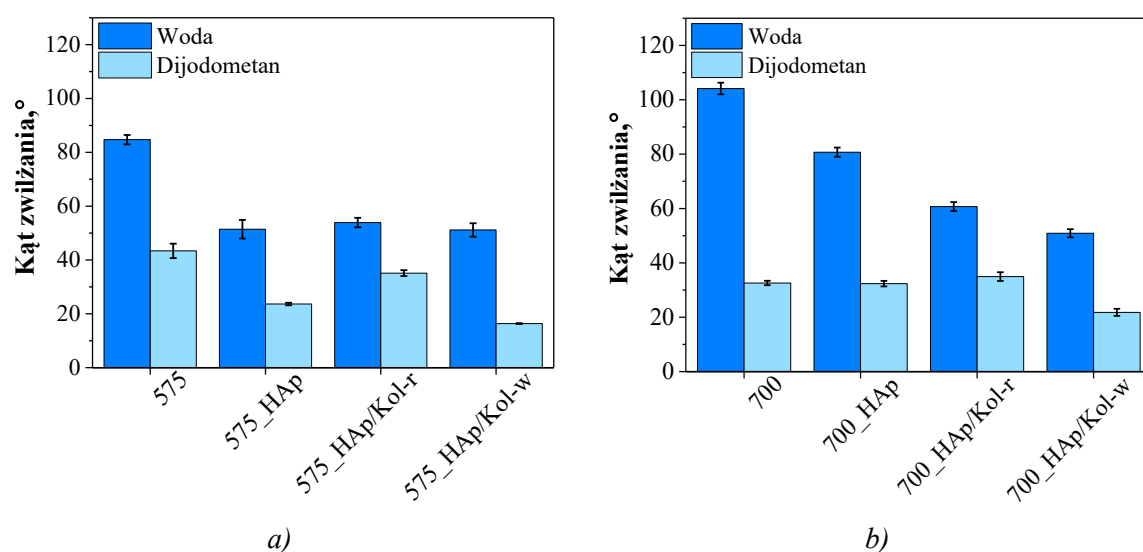
Uzyskane wyniki wykazały, że spadek pH w próbkach zawierających kolagen mieści się w zakresie charakterystycznym dla warunków fizjologicznych. Umiarkowane zakwaszenie środowiska może być interpretowane jako skutek kontrolowanego uwalniania hydrolizatów kolagenowych z wnętrza matrycy kompozytowej. Z kolei obecność uwolnionych peptydów i aminokwasów w medium może wspierać procesy regeneracyjne, w tym stymulację komórek i przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej. Tym samym, uzyskane wyniki nie tylko potwierdzają stabilność chemiczną badanych materiałów, ale również wskazują na ich potencjalne właściwości bioaktywne, istotne z punktu widzenia zastosowań w inżynierii tkankowej. Warto również podkreślić, że po zakończeniu 14-dniowej inkubacji wszystkie analizowane kompozyty zachowały integralność strukturalną — nie zaobserwowano ich dezintegracji, powstawania defektów powierzchniowych ani widocznych ubytków materiału. Świadczy to o wysokiej stabilności fizykochemicznej opracowanych układów w warunkach zbliżonych do środowiska fizjologicznego. W ramach oceny zachowania materiałów o zróżnicowanej geometrii przeprowadzono również inkubację próbek o różnych kształtach. Wszystkie materiały zachowały integralność strukturalną po inkubacji, a ich przykładowe zdjęcia przedstawiono na Rysunku 60. Należy zaznaczyć, że do oceny ilościowej wykorzystano wyłącznie próbki o ujednoliconym kształcie (krążki, każdy o masie 2 g) co zapewniło porównywalność wyników.



Rysunek 60. Przykładowe zdjęcia materiałów kompozytowych modyfikowanych kolagenem po analizie inkubacyjnej (próbka 700_HAp/Kol-w)

10.4. Ocena zwilżalności powierzchni

W dalszej części pracy dokonano oceny zwilżalności powierzchni otrzymanych materiałów kompozytowych, co stanowi istotny parametr w kontekście ich potencjalnych zastosowań biomedycznych. Właściwości zwilżania powierzchni wpływają na interakcje materiału z płynami ustrojowymi oraz komórkami, determinując m.in. adhezję, migrację i różnicowanie komórek. W celu oceny tego parametru przeprowadzono pomiar kątów zwilżania dla próbek kompozytowych z wykorzystaniem dwóch cieczy testowych: wody destylowanej oraz diiodometanu (DJM). Uzyskane wyniki zaprezentowano na Rysunku 61 oraz Tabeli 19-20.

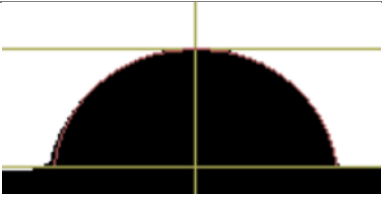
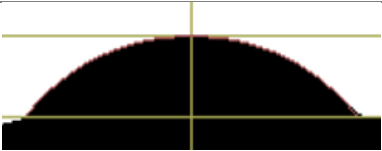
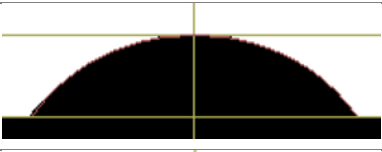
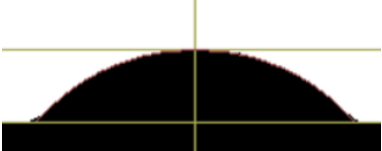
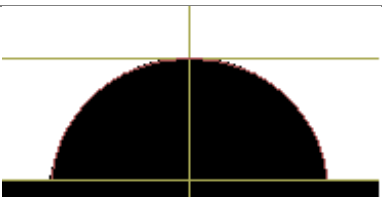
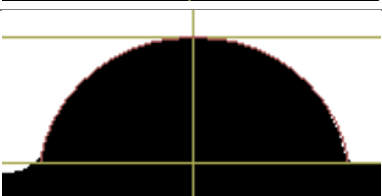
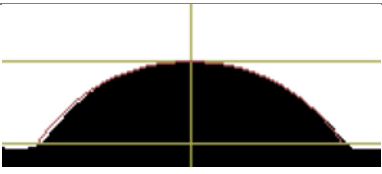
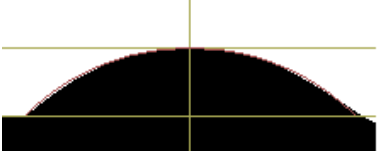


Rysunek 61. Wyniki analizy zwilżalności powierzchni wodą i diiodometanem: seria 575 (a) oraz seria 700 (b)

Tabela 19. Swobodna energia powierzchniowa oraz jej składniki polarne i dyspersyjne wyznaczone dla badanych kompozytów

Oznaczenie próbki	Składnik polarny, mJ/m ²	Składnik dyspersyjny, mJ/m ²	Całkowita swobodna energia powierzchniowa, mJ/m ²
575	1,57	37,39	38,96
575_HAp	20,05	31,19	38,96
575_HAp/Kol-r	21,28	26,59	47,87
575_HAp/Kol-w	18,71	33,74	52,45
700	3,00	59,63	62,63
700_HAp	1,69	42,87	44,56
700_HAp/Kol-r	14,90	29,74	44,64
700_HAp/Kol-w	20,07	31,70	51,77

Tabela 20. Zwilżalność materiałów kompozytowych cieczą polarną

Oznaczenie próbki	Przykładowe zdjęcie kropli (ciecz polarna)	Kąt zwilżania (ciecz polarna)
575		84,71
575_HAp		51,42
575_HAp/Kol-r		53,92
575_HAp/Kol-w		51,15
700		104,14
700_HAp		80,72
700_HAp/Kol-r		60,70
700_HAp/Kol-w		50,90

Właściwości powierzchniowe biomateriałów, w tym zwilżalność i swobodna energia powierzchniowa, stanowią kluczowe parametry w kontekście ich potencjalnych zastosowań w inżynierii tkankowej i implantologii. W szczególności, zwilżalność decyduje o zdolności materiału do wchodzenia w kontakt z cieczami biologicznymi oraz wpływa na adhezję i rozprzestrzenianie się komórek na jego powierzchni. Istotnym wskaźnikiem zwilżalności jest kąt zwilżania – wartość, która określa kąt utworzony

między kroplą cieczy a powierzchnią stałą. Przyjmuje się, że materiały wykazujące kąt zwilżania poniżej 90° są hydrofilowe, co oznacza ich dobrą zdolność do bycia zwilżanymi przez ciecze polarne (np. wodę). Natomiast wartości powyżej 90° wskazują na hydrofobowość, czyli słabą interakcję z fazą ciekłą polarną [271–273]. Hydrofilowość materiału jest pożądaną cechą w zastosowaniach biomedycznych, ponieważ sprzyja tworzeniu stabilnego mikrośrodowiska wodnego, które ułatwia adsorpcję białek osocza, adhezję komórek oraz dalsze procesy regeneracyjne, takie jak migracja i proliferacja komórek macierzystych czy osteoblastów. Odpowiednia zwilżalność zwiększa również możliwość penetracji materiału przez płyny fizjologiczne, co może mieć znaczenie przy dostarczaniu substancji bioaktywnych lub w przypadku zastosowania materiału jako nośnika leków [274–276].

Przeprowadzona analiza obejmowała badania zwilżalności wybranych kompozytów polimerowych, zarówno referencyjnych, jak i zmodyfikowanych dodatkiem hydroksyapatytu oraz kolagenów (rybiego i wołowego). Analizę przeprowadzono stosując dwie ciecze testowe: wodę destylowaną jako ciecz polarną oraz diiodometan jako ciecz niepolarną. W serii 575, zawierającej PEGDA o masie molowej 575 g/mol, próbka referencyjna (bez dodatków) wykazywała kąt zwilżania wynoszący $84,71^\circ$, co klasyfikuje ją na pograniczu właściwości hydrofilowych. Wprowadzenie do matrycy hydroksyapatytu (próbka 575_HAp) skutkowało znacznym obniżeniem kąta do $51,42^\circ$, co świadczy o wyraźnym wzroście hydrofilowości materiału. Podobny efekt zaobserwowano po wprowadzeniu kolagenu – kąty zwilżania dla próbek 575_HAp/Kol-r i 575_HAp/Kol-w wyniosły odpowiednio $53,92^\circ$ i $51,15^\circ$, co potwierdza, że zarówno HAp, jak i kolagen przyczyniają się do zwiększenia powinowactwa powierzchni do wody. W serii 700, w której zastosowano PEGDA o masie molowej 700 g/mol, próbka referencyjna wykazywała wyraźnie hydrofobowy charakter – kąt zwilżania osiągał $104,14^\circ$, co wskazuje na niską interakcję z wodą. Po wprowadzeniu HAp uzyskano redukcję kąta do $80,72^\circ$, natomiast dodatek kolagenów dalej obniżał wartości kąta zwilżania: $60,70^\circ$ dla próbki 700_HAp/Kol-r oraz $50,90^\circ$ dla 700_HAp/Kol-w. Wyniki te wskazują, że mimo wyjściowej hydrofobowości serii 700, odpowiednia modyfikacja składu może znacząco poprawić jej właściwości powierzchniowe.

Następnie, w celu rozszerzenia charakterystyki właściwości powierzchniowych, dokonano obliczeń całkowitej swobodnej energii powierzchniowej oraz jej komponentów: polarnej i dyspersyjnej (Tabela 19). Obecność składnika polarnego świadczy o zdolności materiału do oddziaływania z cieczami o charakterze polarnym, co ma zasadnicze znaczenie w kontekście interakcji z wodą i białkami. Próbka 575 (referencyjna) charakteryzowała się bardzo niskim udziałem składnika polarnego ($1,57 \text{ mJ/m}^2$), co koreluje z relatywnie wysokim kątem zwilżania. Dodatek HAp spowodował wzrost tej wartości do $20,05 \text{ mJ/m}^2$. Dalsza modyfikacja kompozytów kolagenem powodowała wzrost składnika polarnego do $21,28 \text{ mJ/m}^2$

(Kol-r) oraz 18,71 mJ/m² (Kol-w), co potwierdza ekspozycję grup funkcyjnych typowych dla peptydów kolagenowych, takich jak –COOH, –NH₂, czy –OH. Jednocześnie obserwuje się umiarkowany spadek składnika dyspersyjnego, co sugeruje, że modyfikacje sprzyjają przechylaniu równowagi energii powierzchniowej w stronę komponentów polarnych, istotnych biologicznie. Seria 700, mimo początkowo znacznie wyższej całkowitej energii powierzchniowej (62,63 mJ/m² dla próbki 700), zawierała głównie składnik dyspersyjny (59,63 mJ/m²), a wartość składnika polarnego była minimalna (3,00 mJ/m²). Dodatek HAp poprawił zwilżalność, lecz udział składnika polarnego nie przekroczył 1,69 mJ/m², co wskazuje, że faza ceramiczna została najprawdopodobniej zasłonięta przez hydrofobową matrycę. Dopiero wprowadzenie kolagenu (szczególnie wołowego) spowodowało wzrost komponentu polarnego do 20,07 mJ/m² (700_HAp/Kol-w), z jednoczesnym zwiększeniem całkowitej energii do 51,77 mJ/m², co zbliża te wartości do poziomów obserwowanych w serii 575.

Wysoka zwilżalność i odpowiednio wysoki składnik polarny swobodnej energii powierzchniowej są kluczowe w kontekście biomateriałów do regeneracji tkanek. Materiały hydrofilowe ułatwiają zwilżanie powierzchni przez płyny ustrojowe, sprzyjają adsorpcji białek sygnałowych oraz tworzeniu warstwy sprzyjającej adhezji komórek. Ponadto, większa polarność powierzchni zwiększa interakcje elektrostatyczne i wodorowe z komponentami macierzy pozakomórkowej oraz błonami komórkowymi, co może poprawić integrację implantu z otaczającą tkanką [277–279].

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że zarówno hydroksyapatyt, jak i kolagen mają istotny wpływ na poprawę właściwości powierzchniowych materiałów. HAp wnosi do układu grupy fosforanowe i hydroksylowe, które zwiększają polarność, natomiast kolagen, będący białkiem o wysokiej bioaktywności, dostarcza licznych grup funkcyjnych zdolnych do tworzenia wiązań wodorowych i oddziaływań elektrostatycznych. Szczególnie skuteczna okazała się modyfikacja kolagenem wołowym, który wykazywał korzystniejszy wpływ na zwilżalność i składnik polarny niż kolagen rybi, co może wynikać z różnic w budowie cząsteczkowej i strukturze fragmentów białkowych. Co istotne, ta sama próbka charakteryzowała się również najwyższymi współczynnikami pęcznienia w analizie sorpcyjnej, co pozostaje w pełni spójne z jej podwyższoną hydrofilowością i wyższym udziałem komponentu polarnego swobodnej energii powierzchniowej.

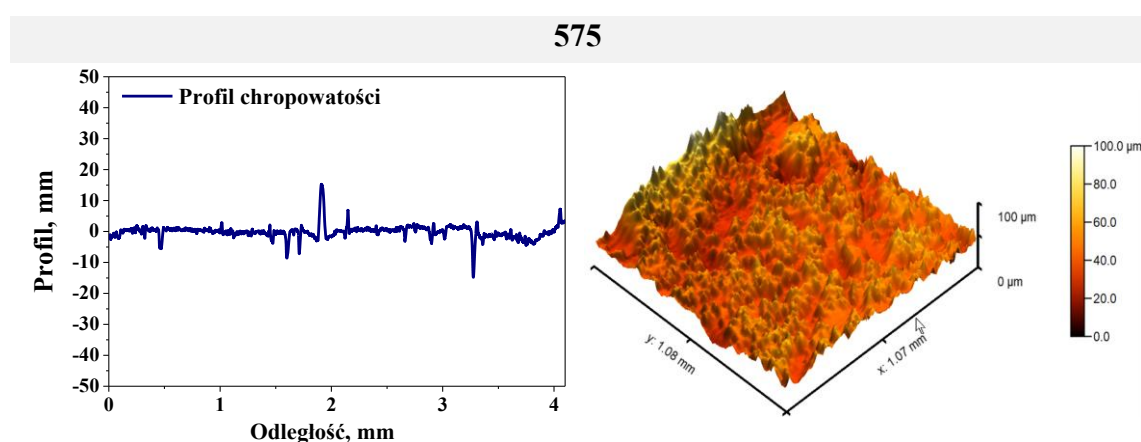
Uzyskane wyniki są zgodne z doniesieniami literaturowymi, w których kolagen jednoznacznie wskazywany jest jako czynnik zwiększający hydrofilowość i bioaktywność powierzchni biomateriałów. W pracy Bacenkovej i wsp., opisano, iż zastosowanie powłok kolagenowych prowadzi do modyfikacji chemii powierzchni, zwiększenia jej polarności oraz poprawy zdolności do adsorpcji białek sygnałowych, co w efekcie wspiera adhezję i proliferację komórek. Autorzy podkreślają, że interakcje integrynowe z sekwencjami tripeptydu argininy, glicyny i kwasu asparaginowego zawartymi w kolagenie wpływają na organizację cytoszkieletu oraz migrację komórek,

co ma zasadnicze znaczenie dla skutecznej integracji implantu z otaczającą tkanką [280]. Dodatkowo, według Harnetta i współautorów, kolagen istotnie zwiększa zwilżalność powierzchni, co potwierdza jego korzystny wpływ na właściwości fizykochemiczne biomateriałów w środowisku biologicznym [281]. W związku z tym, zaobserwowany w prezentowanych badaniach wzrost polarnego komponentu energii swobodnej powierzchni oraz zwiększona chłonność wodna materiału jednoznacznie potwierdzają skuteczność kolagenu jako aktywnego składnika modyfikującego powierzchnię biomateriałów, co może mieć istotne znaczenie dla ich zastosowania w inżynierii tkankowej.

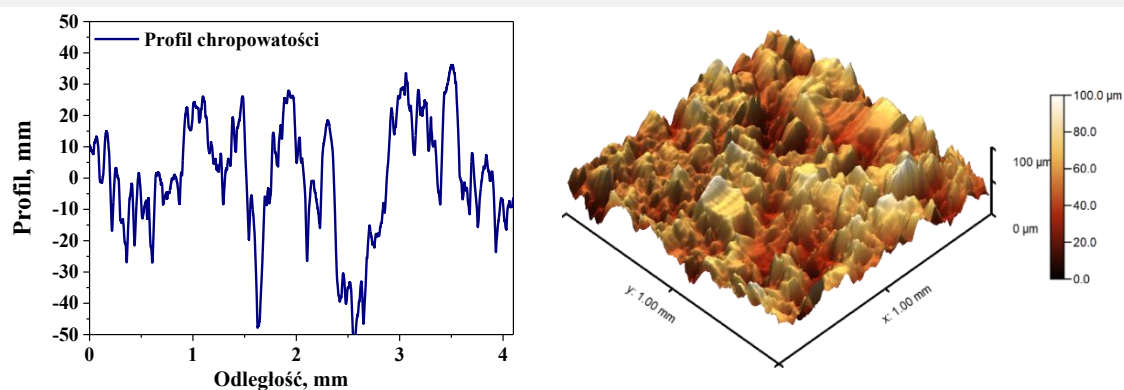
10.5. Ocena chropowatości powierzchni

W kolejnym etapie pracy badawczej przeprowadzono charakterystykę topografii powierzchni materiałów kompozytowych przy użyciu profilometru stykowego. Analiza parametrów chropowatości stanowi istotny element oceny właściwości powierzchniowych biomateriałów, ponieważ cechy morfologiczne powierzchni odgrywają kluczową rolę w procesach adhezji komórek, adsorpcji białek oraz w interakcjach z płynami ustrojowymi.

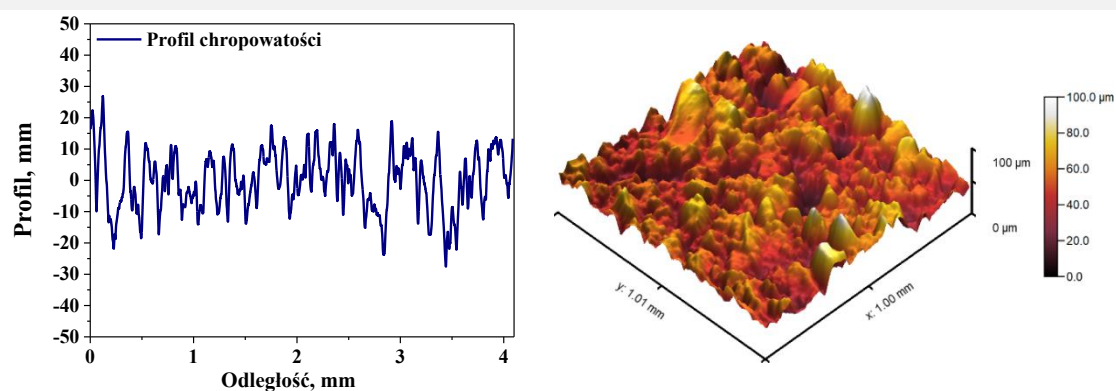
W celu kompleksowej oceny topografii, zaprezentowano trójwymiarowe obrazy powierzchni oraz profile chropowatości dla badanych materiałów. Wyniki dla serii 575 przedstawiono na Rysunku 62, natomiast dla serii 700 zamieszczono na Rysunku 63. Uzupełnieniem analizy była charakterystyka parametrów chropowatości powierzchni, obejmująca: średnią chropowatość arytmetyczną (R_a), średniokwadratowe odchylenie chropowatości (R_q) oraz współczynnik skośności rozkładu wysokości (R_{sk}), których wartości zestawiono w Tabeli 21.



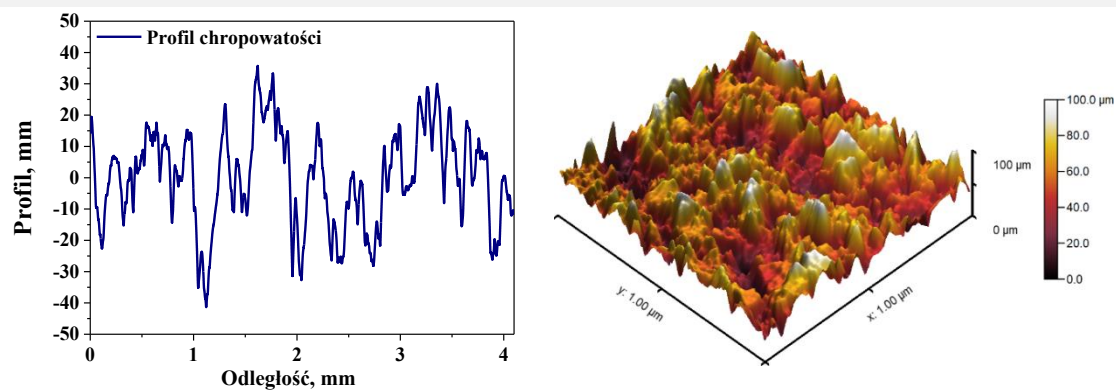
575_HAp



575_HAp/Kol-r

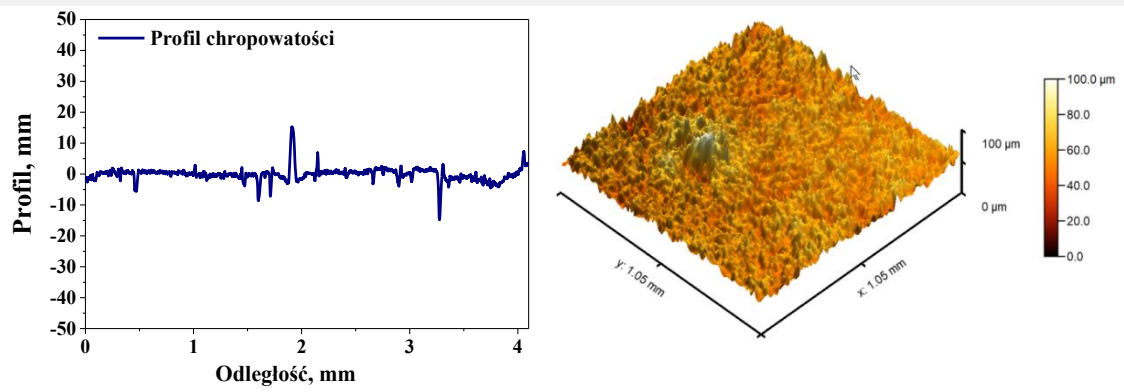


575_HAp/Kol-w

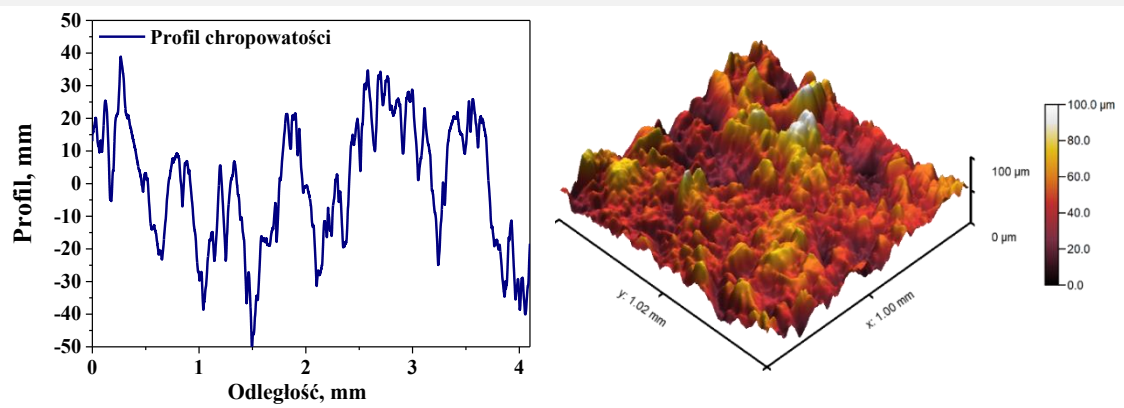


Rysunek 62. Profil chropowości (po lewej) i obraz 3D (po prawej) dla serii próbek 575

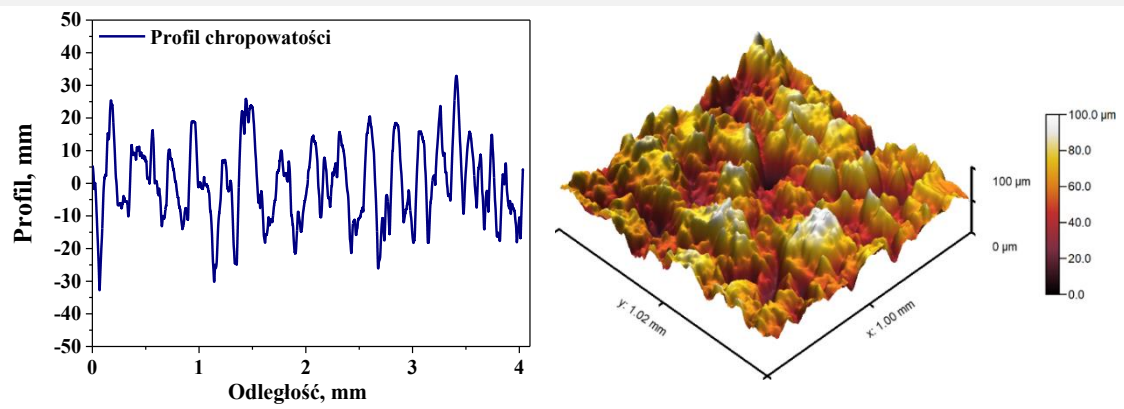
700

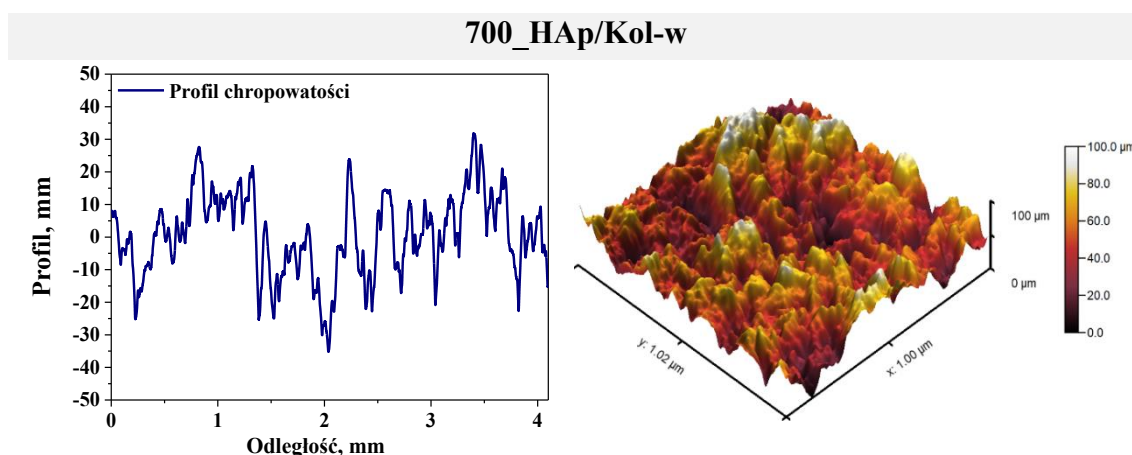


700_HAp



700_HAp/Kol-r





Rysunek 63. Profil chropowatości (po lewej) i obraz 3D (po prawej) dla serii próbek 700

Tabela 21. Parametry chropowatości badanych materiałów zgodnie z normą ISO 4287

Oznaczenie próbki	$R_a, \mu\text{m}$	$R_q, \mu\text{m}$	$R_{sk}, \mu\text{m}$
575	$2,01 \pm 0,148$	$2,44 \pm 0,22$	$-0,14 \pm 0,26$
575_HAp	$8,18 \pm 1,36$	$9,87 \pm 1,79$	$-0,09 \pm 0,17$
575_HAp/Kol-r	$9,63 \pm 0,06$	$11,71 \pm 0,06$	$-0,07 \pm 0,03$
575_HAp/Kol-w	$9,02 \pm 0,53$	$11,15 \pm 0,38$	$-0,02 \pm 0,32$
700	$1,09 \pm 0,11$	$1,37 \pm 0,15$	$-0,11 \pm 0,19$
700_HAp	$8,42 \pm 1,49$	$10,15 \pm 1,56$	$-0,11 \pm 0,31$
700_HAp/Kol-r	$9,17 \pm 0,96$	$11,23 \pm 1,18$	$-0,11 \pm 0,23$
700_HAp/Kol-w	$7,98 \pm 0,68$	$10,45 \pm 1,57$	$-0,12 \pm 0,47$

Analiza topografii powierzchni materiałów kompozytowych wykonana profilometrem stykowym pozwoliła na kompleksową ocenę ich mikrostruktury pod kątem parametrów chropowatości. Na podstawie uzyskanych obrazów oraz profili powierzchni, a także ilościowych wartości parametrów R_a , R_q i R_{sk} zaprezentowanych w Tabeli 21, można jednoznacznie stwierdzić, że struktura powierzchni badanych kompozytów ulega istotnym zmianom w zależności od ich składu.

Próbki referencyjne, niezawierające fazy ceramicznej ani kolagenu (575 i 700), wykazywały najniższe wartości średniej chropowatości R_a , odpowiednio $2,01 \mu\text{m}$ i $1,09 \mu\text{m}$, co świadczy o gładkiej, jednorodnej strukturze powierzchni typowej dla dobrze usieciowanych hydrożeli. Różnice pomiędzy tymi dwiema próbkami mogą wynikać z zastosowania czynnika sieciującego o różnej masie molowej – PEGDA 700 g/mol tworzy luźniejszą i bardziej elastyczną sieć, co sprzyja lepszemu wyrównaniu topograficznemu i skutkuje niższą chropowatością. Wprowadzenie hydroksyapatytu skutkowało znaczącym wzrostem chropowatości powierzchni. W przypadku próbek 575_HAp i 700_HAp wartość R_a wzrosła odpowiednio do $8,18 \mu\text{m}$ i $8,42 \mu\text{m}$. Zjawisko to można przypisać obecności cząstek ceramicznych, które zwiększają nieregularność

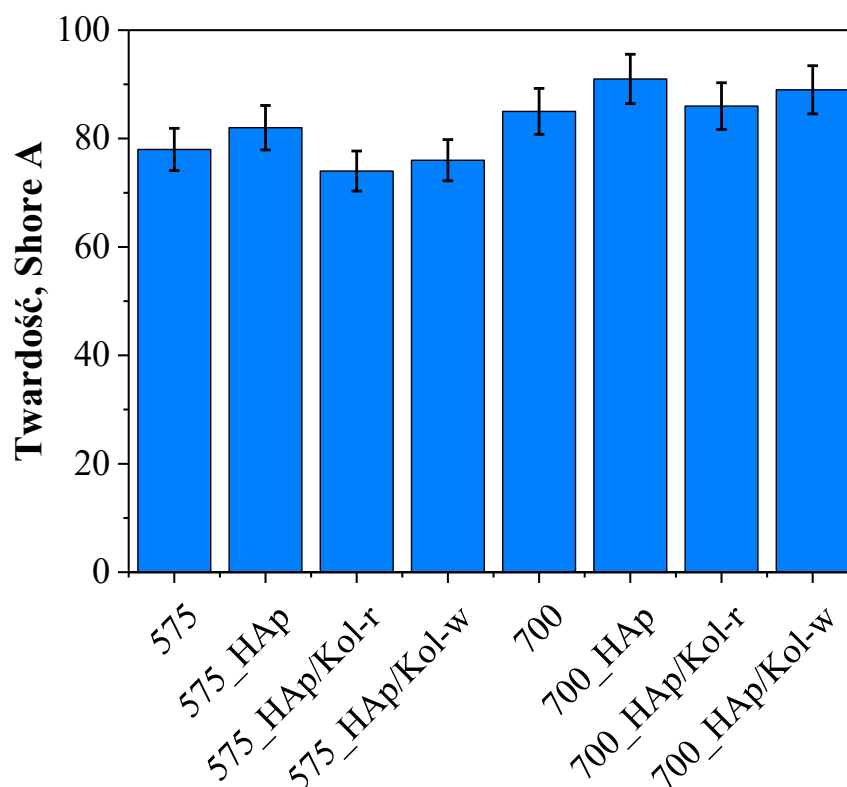
topografii, a ich nierównomierne rozmieszczenie w matrycy sprzyja powstawaniu wypukłości i zagłębień. Co istotne, podobny wzrost zaobserwowano również dla parametru R_q , potwierdzając wyższą zmienność profilu wysokościowego powierzchni. Warto zaznaczyć, że mimo wyraźnego zwiększenia chropowatości, wartości współczynnika skośności R_{sk} pozostały bliskie zeru, co sugeruje względnie symetryczny rozkład nierówności.

Dalsza modyfikacja materiałów poprzez wprowadzenie kolagenu nie prowadziła do istotnych zmian w chropowatości powierzchni w porównaniu z próbkami zawierającymi wyłącznie hydroksyapatyt. W serii 575 wartości R_a dla próbek z kolagenem rybim i wołowym wyniosły odpowiednio $9,63\ \mu\text{m}$ i $9,02\ \mu\text{m}$, co stanowi jedynie niewielki wzrost względem próbki 575_HAp ($8,18\ \mu\text{m}$). Podobny trend zaobserwowano w serii 700 – R_a dla próbek z kolagenem wyniosło odpowiednio $9,17\ \mu\text{m}$ (Kol-r) i $7,98\ \mu\text{m}$ (Kol-w), przy czym wartość dla próbki 700_HAp wynosiła $8,42\ \mu\text{m}$. Tak niewielkie różnice sugerują, że to faza ceramiczna odgrywa kluczową rolę w kształtowaniu topografii powierzchni badanych materiałów. Rozkład i aglomeracja cząstek HAp w matrycy hydrożelowej w największym stopniu odpowiadają za obserwowane rozwinięcie mikrochropowatości. Z kolei dodatek kolagenu, mimo że może lokalnie wpływać na strukturę powierzchni, nie powoduje istotnych zmian w ogólnym profilu chropowatości. Warto jednak podkreślić, iż we wszystkich próbkach zmodyfikowanych kolagenem utrzymuje się niska wartość R_{sk} , co potwierdza brak dominacji wypukłości lub zagłębień w strukturze i wskazuje na równomierne ukształtowanie topografii. Należy również wskazać, że pomimo istotnych różnic w wartości chropowatości, zachowana została integralność powierzchni, a struktury nie wykazywały oznak degradacji ani defektów.

W kontekście biologicznym uzyskane wartości chropowatości są szczególnie istotne. Chropowatość powierzchni ma ogromny wpływ na potencjalne interakcje między nowo utworzoną tkanką kostną a implantem. Proliferacja komórek, a także tworzenie macierzy pozakomórkowej na styku implantu i zdrowej tkanki jest kluczowym aspektem w procesie odbudowy kości. Na przykład w poprzednich badaniach udowodniono, że szorstka i bioaktywna powierzchnia implantu może zapewnić lepszą adhezję i proliferację ludzkich osteoblastów [282]. W związku z tym obserwowane wartości R_a w zakresie $7,98\text{--}9,63\ \mu\text{m}$ w próbkach zawierających HAp i kolagen uznać można za pożądane z punktu widzenia zastosowań w inżynierii tkanki kostnej.

10.6. Ocena właściwości mechanicznych

W dalszym etapie badań dokonano oceny twardości otrzymanych materiałów kompozytowych jako jednego z podstawowych parametrów mechanicznych charakteryzujących odporność materiału na działanie sił zewnętrznych. Pomiar przeprowadzono z wykorzystaniem skali Shore’a typu A. Wyniki pomiarów twardości przedstawiono na Rysunku 64.



Rysunek 64. Wyniki pomiaru twardości Shore A badanych materiałów polimerowych i kompozytowych

Pomiary twardości otrzymanych materiałów przeprowadzono metodą Shore’a typu A, która jest powszechnie stosowaną techniką do oceny miękkich i średnio twardych materiałów polimerowych. Uzyskane wyniki, przedstawione na Rysunku 64, pozwoliły na porównanie wpływu rodzaju matrycy, obecności fazy ceramicznej oraz dodatku kolagenu na właściwości mechaniczne badanych próbek.

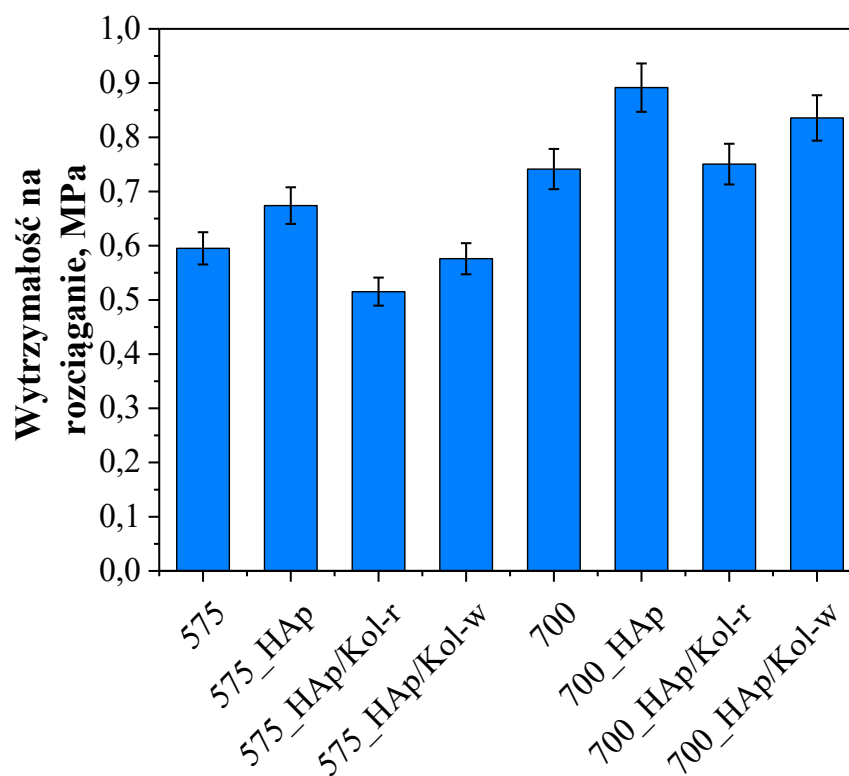
Próbka 575 zawierająca czynnik sieciujący o niższej masie molowej charakteryzowała się twardością na poziomie ok. 78 jednostek Shore’a A. Wprowadzenie hydroksyapatytu (próbka 575_HAp) skutkowało wzrostem twardości do ok. 82, co świadczy o efektywnym działaniu cząstek ceramicznych jako usztywniającej fazy rozproszonej, zwiększającej odporność kompozytu na lokalne odkształcenia mechaniczne. Z kolei modyfikacja układu przez dodatek kolagenu, zarówno rybiego (575_HAp/Kol-r), jak i wołowego (575_HAp/Kol-w), prowadziła do spadku twardości odpowiednio do ok. 74 i 76 jednostek. Obserwowany efekt może być związany z częściowym zakłóceniem struktury sieci polimerowej w obecności białkowych komponentów oraz ze zwiększoną elastycznością układu wynikającą z obecności niskocząsteczkowych peptydów.

Dla materiałów zawierających PEGDA o masie molowej 700 g/mol odnotowano ogólnie wyższe wartości twardości we wszystkich wariantach. Probka 700, zawierająca wyłącznie matrycę polimerową, osiągnęła twardość ok. 85 jednostek Shore’a A. Dodatek HAp (próbka 700_HAp) przyniósł istotne wzmocnienie układu, prowadząc

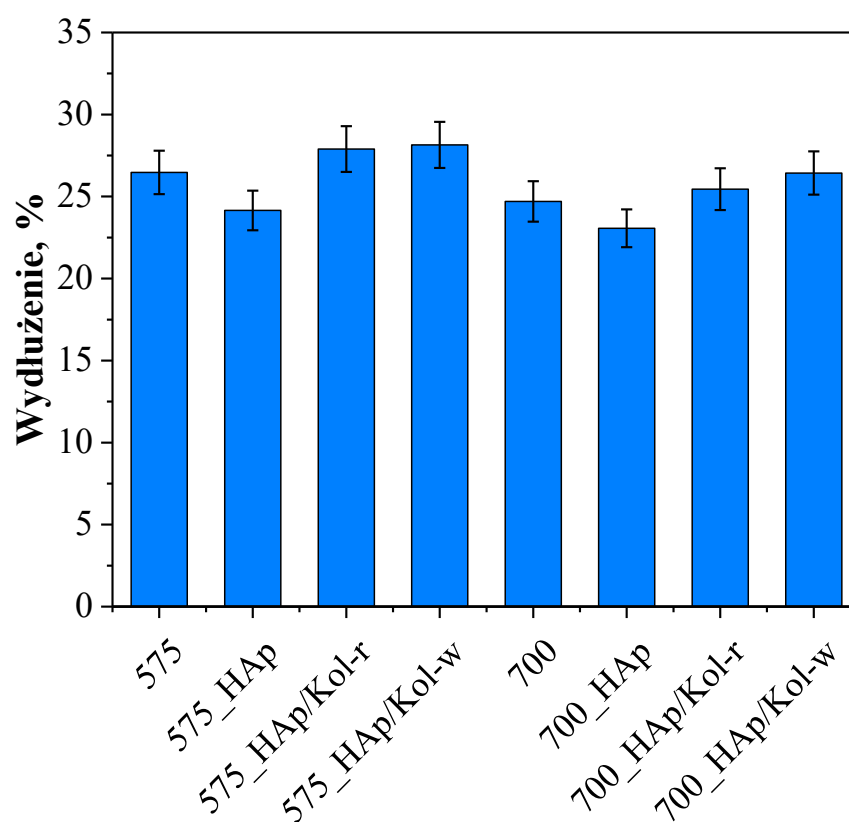
do wzrostu twardości do wartości maksymalnej w całym zestawieniu – ok. 91 jednostek. Jest to efekt synergicznego działania dłuższego łańcucha PEGDA oraz fazy ceramicznej, która wzmacnia dodatkowo strukturę polimerową. Co istotne, w przypadku tej serii dodatek kolagenu nie powodował już tak wyraźnego spadku twardości jak w serii 575. Próbkki 700_HAp/Kol-r oraz 700_HAp/Kol-w wykazały twardość odpowiednio ok. 87 i 88 jednostek Shore’a A, co sugeruje, że struktura sieci utworzona przez PEGDA 700 g/mol lepiej kompensuje obecność składnika białkowego i ogranicza jego wpływ na pogorszenie właściwości mechanicznych.

Wyniki pomiarów twardości opracowanych kompozytów są w pełni zgodne z literaturowymi obserwacjami dotyczącymi wpływu obecności fazy ceramicznej oraz kolagenu na właściwości mechaniczne materiałów polimerowych. W badaniach przeprowadzonych przez Subramaniana i współautorów wykazano jednoznacznie, że wprowadzenie HAp do matrycy na bazie polilaktydu skutkuje wyraźnym wzrostem twardości materiału. Autorzy odnotowali najwyższą wartość twardości w skali Shore D dla kompozytu zawierającego 50% wag. HAp, co przypisano zwiększeniu sztywności oraz zagęszczeniu struktury w wyniku działania fazy ceramicznej jako czynnika usztywniającego i wypełniającego pory w matrycy [283]. Podobne wnioski odnotowano w pracy Rodrigues i in., w której wykazano, że modyfikacja układów siloksanowych nanorurkami HAp prowadzi do zwiększenia twardości materiałów. Zjawisko to przypisano efektywnej dyspersji nanocząstek ceramicznych w matrycy i poprawie adhezji międzyfazowej, co przekładało się na wzrost spójności strukturalnej materiału [284]. Z kolei Tozar i in. wykazali odwrotną zależność w przypadku modyfikacji biomateriałów kolagenem. Dodatek kolagenu w układach hydrożelowych prowadził do spadku twardości i ogólnej odporności mechanicznej materiału. Efekt ten powiązano ze zwiększoną elastycznością struktur zawierających białka oraz obecnością segmentów peptydowych o niskiej masie cząsteczkowej [285].

Uzupełnieniem przeprowadzonych badań twardości była ocena właściwości mechanicznych w próbie rozciągania. Analiza wytrzymałości na rozciąganie oraz wydłużenia procentowego dostarcza cennych informacji na temat integralności strukturalnej kompozytów, ich odporności na zerwanie, a także elastyczności i zdolności do odkształceń plastycznych, co ma istotne znaczenie w kontekście projektowania materiałów do zastosowań biomedycznych. Wyniki badań wytrzymałościowych zostały przedstawione na Rysunku 65, który obrazuje wartości maksymalnych naprężeń rozciągających dla badanych materiałów polimerowych i kompozytowych. Natomiast Rysunek 66 prezentuje uzyskane wartości procentowego wydłużenia próbki do momentu zerwania.



Rysunek 65. Wytrzymałość na rozciąganie badanych materiałów polimerowych i kompozytowych



Rysunek 66. Wydłużenie procentowe badanych materiałów polimerowych i kompozytowych

Analiza uzyskanych wyników wykazała istotny wpływ składu badanych materiałów na ich wytrzymałość mechaniczną i zdolność do odkształceń. Zauważalna tendencja wzrostu wytrzymałości na rozciąganie po wprowadzeniu fazy ceramicznej potwierdza jej rolę jako efektywnego komponentu wzmacniającego strukturę materiału. Obecność HAp przyczyniała się do zwiększenia odporności na zerwanie, co najprawdopodobniej wynika z mechanicznego zbrojenia matrycy polimerowej oraz ograniczenia mobilności segmentów sieci w wyniku oddziaływań międzyfazowych. W takim przypadku faza nieorganiczna, równomiernie rozproszona w układzie polimerowym, pełni funkcję wzmacniającą, co przekłada się na poprawę integralności mechanicznej i podniesienie wartości maksymalnych naprężeń przy rozciąganiu.

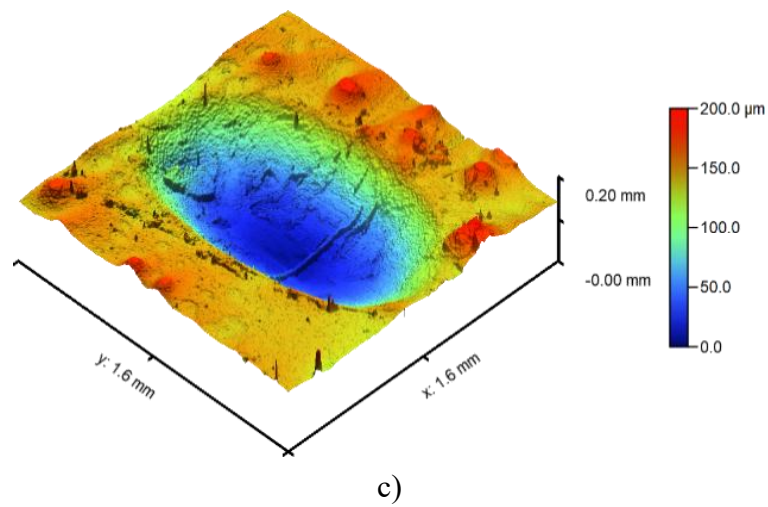
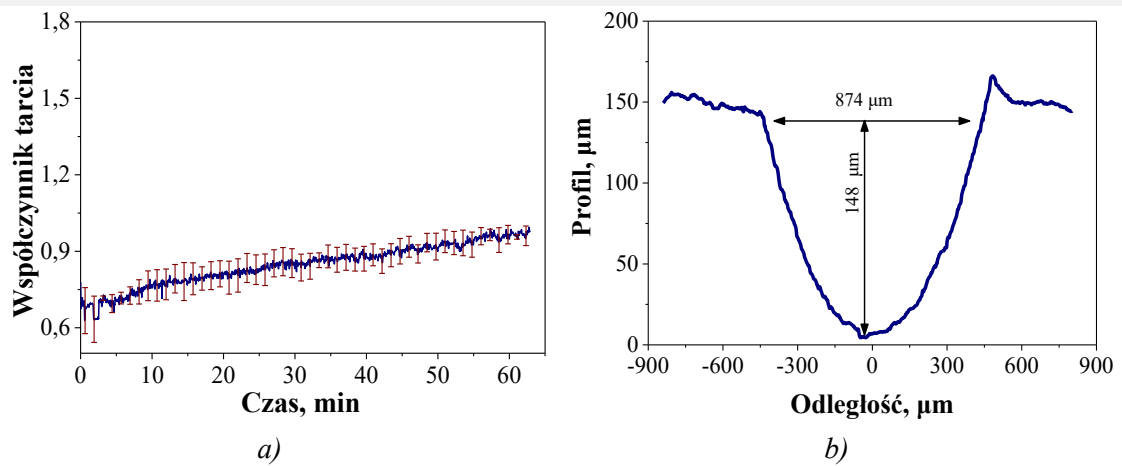
Wprowadzenie kolagenu, zarówno rybiego, jak i wołowego, spowodowało przeciwną tendencję – obniżenie wytrzymałości na rozciąganie. Można przypuszczać, że efekt ten wynika z obecności elastycznych, niskocząsteczkowych fragmentów białkowych, które osłabiają lokalną strukturę sieci hydrożelowej, wprowadzając nieciągłości lub strefy o mniejszej gęstości usieciowania. Jednakże, wprowadzenie kolagen, zwiększa elastyczność materiału. Zjawisko to jest potwierdzone przez wzrost wydłużenia względnego, obserwowany w próbkach modyfikowanych kolagenem, co świadczy o ich zwiększonej podatności na odkształcenie pod wpływem sił mechanicznych. Takie zachowanie materiału może być korzystne z punktu widzenia aplikacji biomedycznych, w których elastyczność i zdolność adaptacji do dynamicznego środowiska tkankowego odgrywają istotną rolę.

Opisane powyżej zmiany pozostają w zgodności z wynikami pomiarów twardości – obecność HAp korelowała z wyższą twardością i większą wytrzymałością na rozciąganie, natomiast dodatek kolagenu prowadził do ich redukcji, przy jednoczesnym zwiększeniu odkształcalności. Ponadto, wyniki badań mechanicznych pozostają spójne z aktualnym stanem wiedzy prezentowanym w literaturze naukowej. Zarówno pomiary twardości, jak i analiza wytrzymałości na rozciąganie wykazały, że obecność fazy ceramicznej w postaci hydroksyapatytu prowadzi do zwiększenia sztywności i wytrzymałości mechanicznej materiałów kompozytowych. Obserwację tę potwierdzają wyniki przedstawione przez Chinga i in., którzy odnieśli się do teoretycznego eksperymentu rozciągania dla ortorombowej komórki HAp i udowodnili, że krystaliczny hydroksyapatyt cechuje się wysoką anizotropią i znaczną wytrzymałością na rozciąganie w wybranych kierunkach krystalograficznych [286]. Spójność uzyskanych wyników potwierdzają również badania empiryczne prowadzone przez Converse'a i in., którzy wykazali, że wzrost zawartości hydroksyapatytu (do 50% objętościowych) w kompozytach z matrycą PEEK skutkuje sukcesywnym wzrostem modułu sprężystości oraz wartości naprężenia niszczącego. Autorzy zaobserwowali także, że wzmocnienie materiału wiąże się z silnym sprzężeniem międzyfazowym, co przekłada się na zwiększoną odporność kompozytu na obciążenia mechaniczne [287]. Na podstawie dostępnych danych literaturowych można stwierdzić,

że uzyskane w niniejszej pracy wyniki dotyczące właściwości mechanicznych materiałów kompozytowych pozostają w pełnej zgodności z dotychczasowymi doniesieniami naukowymi. Zarówno obserwowany wzrost twardości po wprowadzeniu fazy ceramicznej, jak i jej obniżenie w wyniku dodatku kolagenu, są zgodne z opisanymi mechanizmami oddziaływań w układach polimerowo-ceramicznych oraz polimerowo-białkowych. Hydroksyapatyt, jako faza mineralna, wykazuje zdolność do zwiększania sztywności i odporności mechanicznej materiału, podczas gdy kolagen, ze względu na swoją elastyczność oraz obecność funkcjonalnych grup peptydowych, przyczynia się do obniżenia twardości i wytrzymałości poprzez zakłócenie struktury usieciowanej.

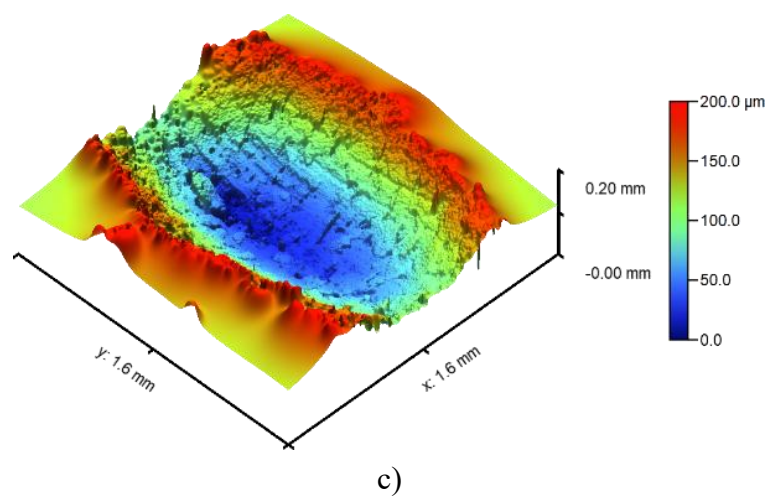
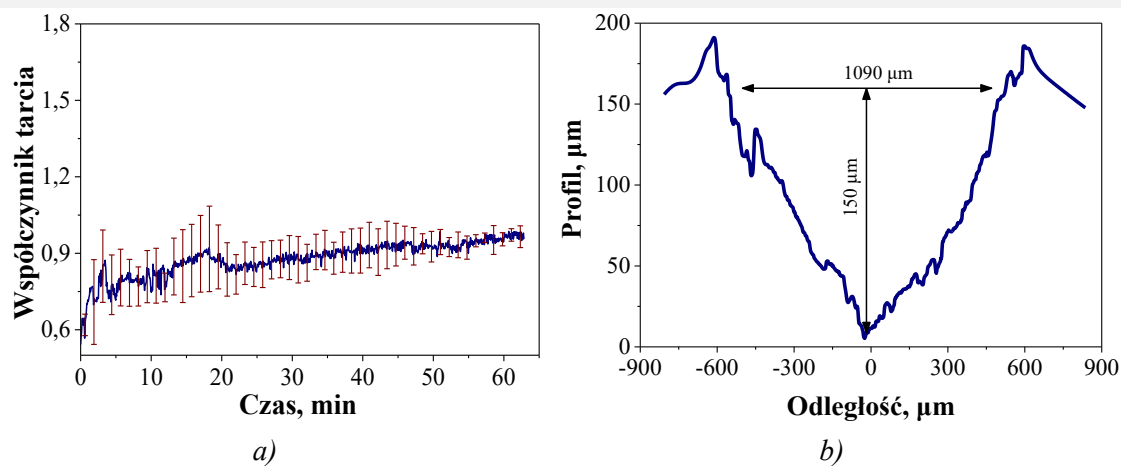
10.7. Badanie właściwości tribologicznych

W kolejnym etapie pracy przeprowadzono badania tribologiczne, których celem była ocena zachowania powierzchni materiałów kompozytowych w warunkach tarcia. Testy te umożliwiły określenie podstawowych parametrów zużycia podczas próby tribologicznej. Analizę przeprowadzono zarówno dla materiałów polimerowych jak i kompozytów zawierających fazę ceramiczną oraz modyfikowanych kolagenem. Dla każdej z badanych próbek zaprezentowano wyniki w układzie: przebieg zmian współczynnika tarcia w funkcji czasu (a), profil śladu zużycia (b), trójwymiarową topografię powierzchni zużytej (c) oraz mikrofotografię optyczną badanego obszaru (d). Dane te pozwalają na ocenę odporności materiału na zużycie oraz wizualizację jego odpowiedzi na obciążenie mechaniczne w warunkach testu tribologicznego. Uzyskane wyniki zestawiono na Rysunkach 67 – 74 odpowiednio dla wszystkich badanych próbek. Ponadto, na Rysunku 75 przedstawiono obliczoną objętość zużycia, która stanowi istotny wskaźnik ilościowy pozwalający porównać efektywność materiałów w kontekście ich odporności na degradację powierzchniową w warunkach tarcia.



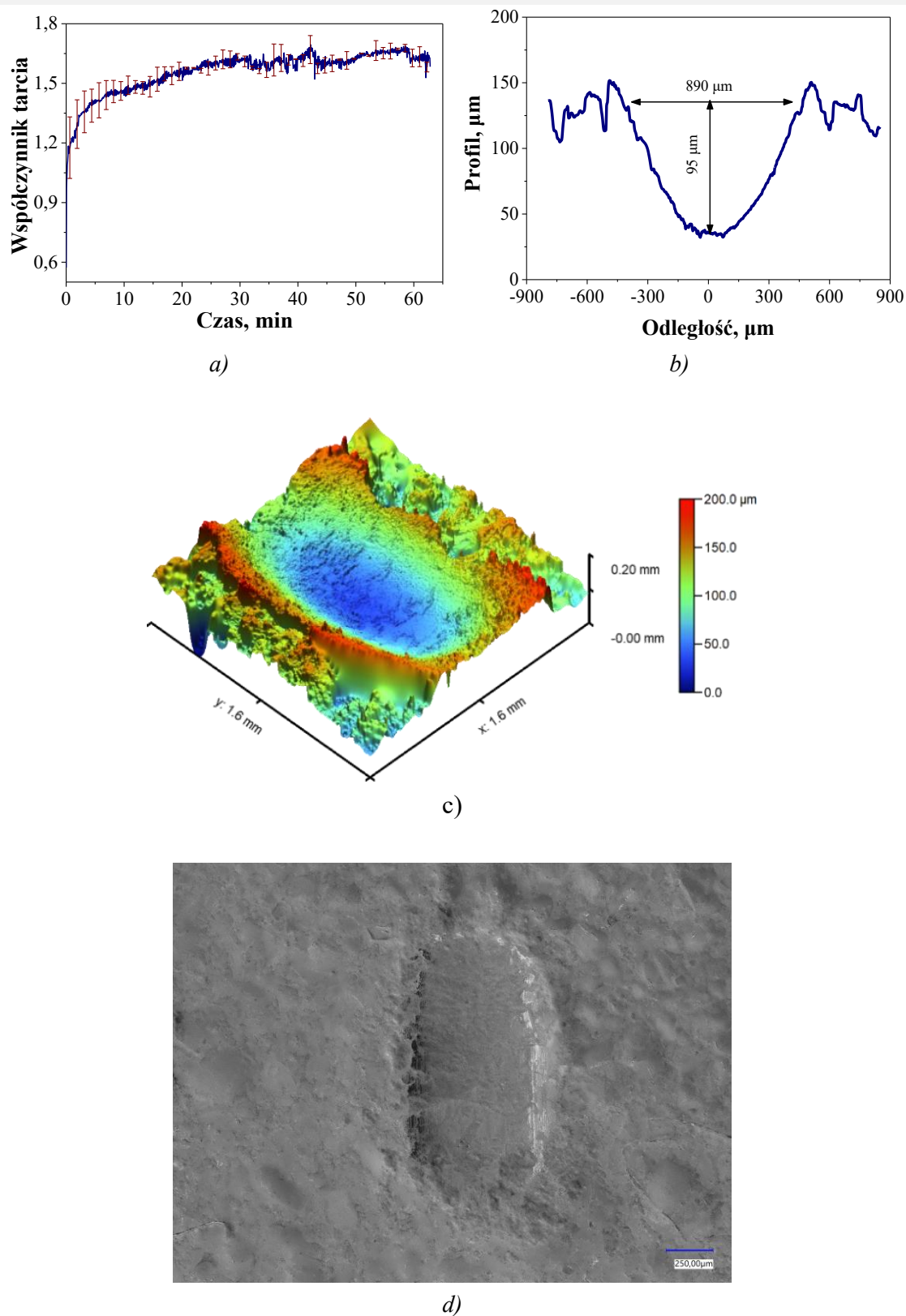
Rysunek 67. Wyniki badań tribologicznych próbki 575: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)

575_HAp



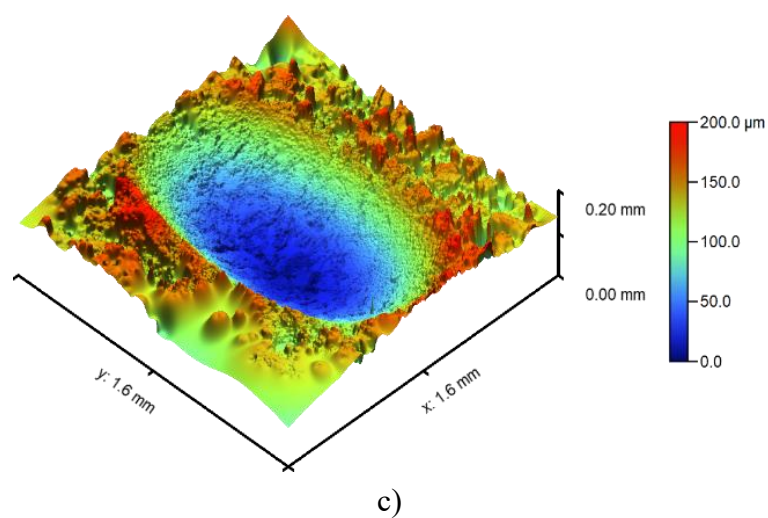
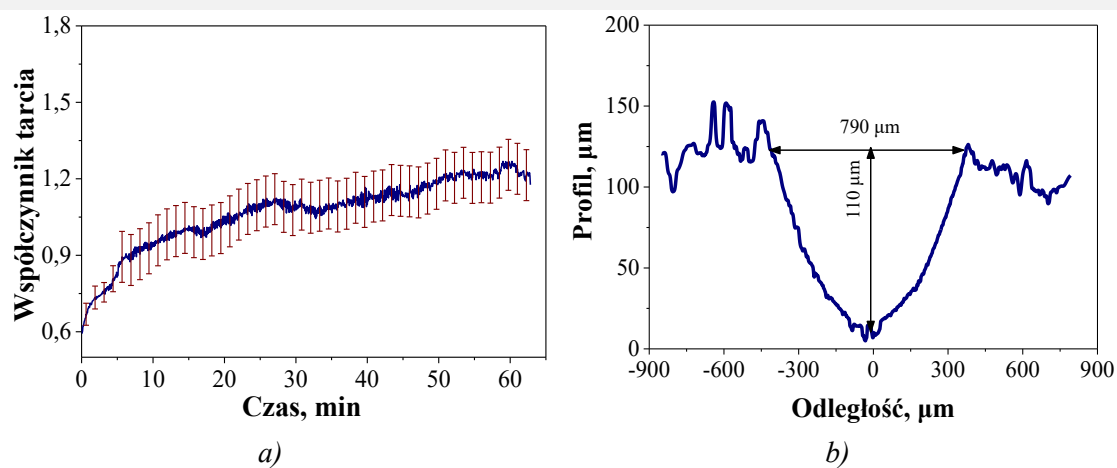
Rysunek 68. Wyniki badań tribologicznych próbki 575_HAp: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)

575_HAp/Kol-r



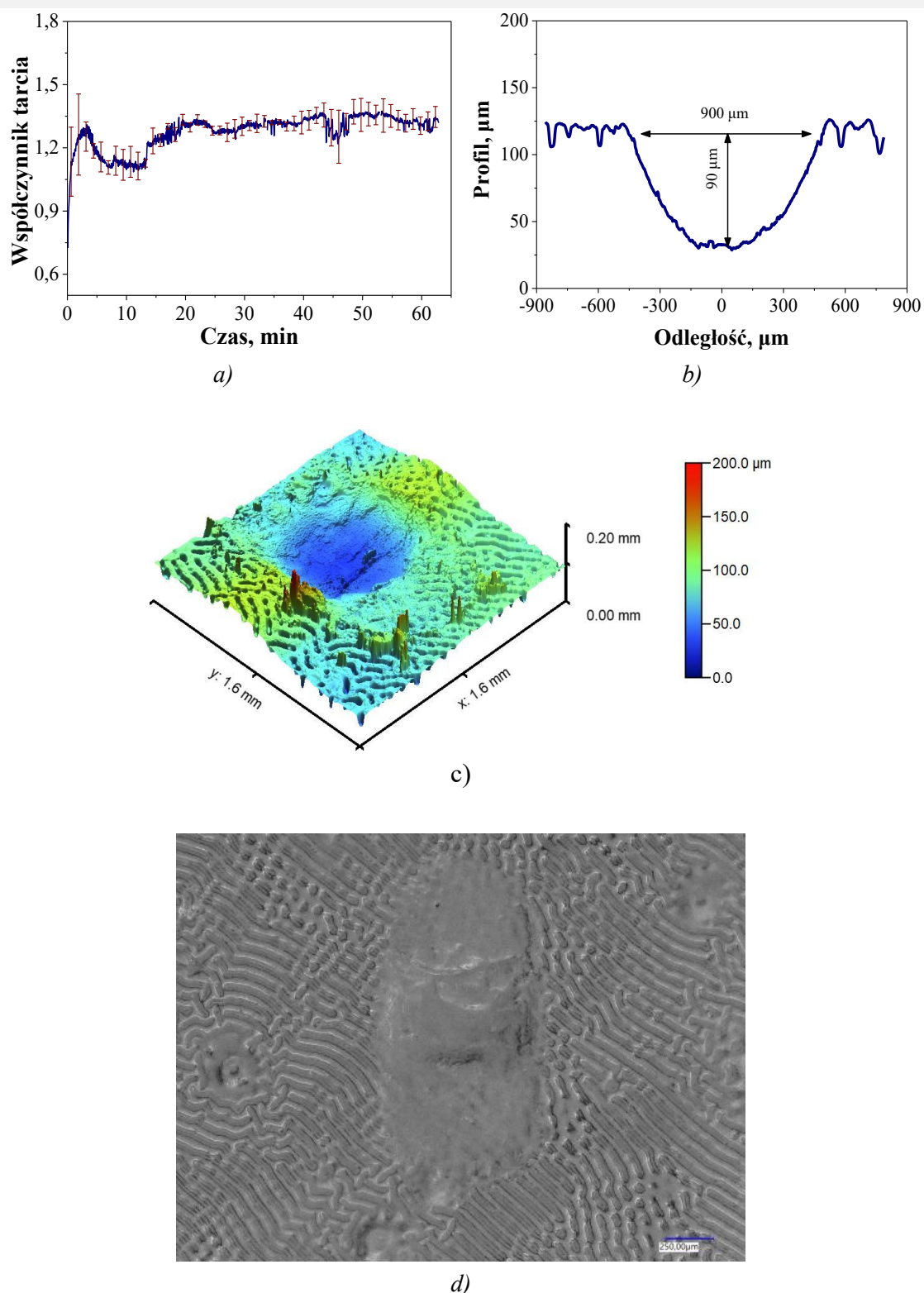
Rysunek 69. Wyniki badań tribologicznych próbki 575_HAp/Kol-r: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)

575_HAp/Kol-w



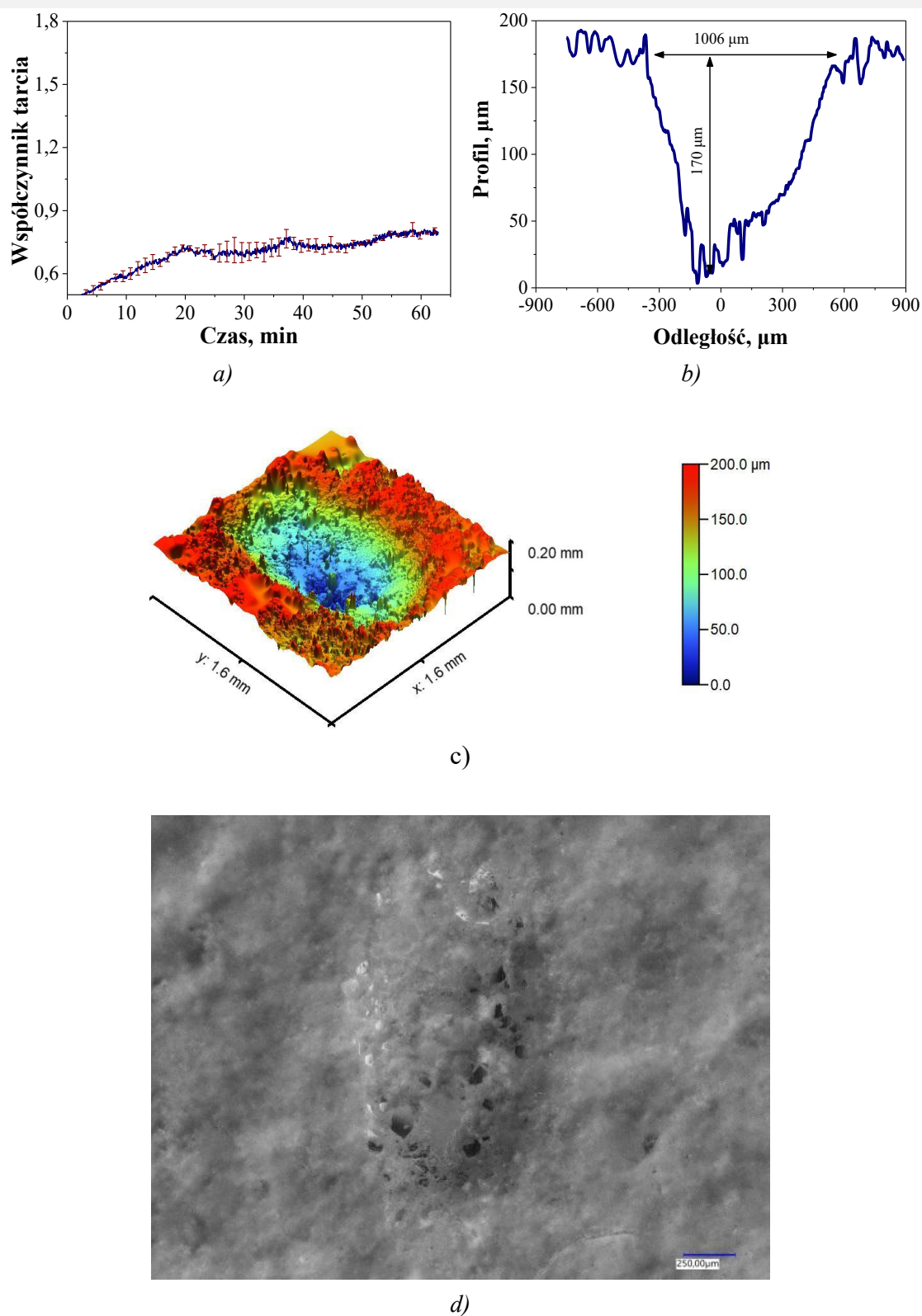
Rysunek 70. Wyniki badań tribologicznych próbki 575_HAp/Kol-w: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)

700



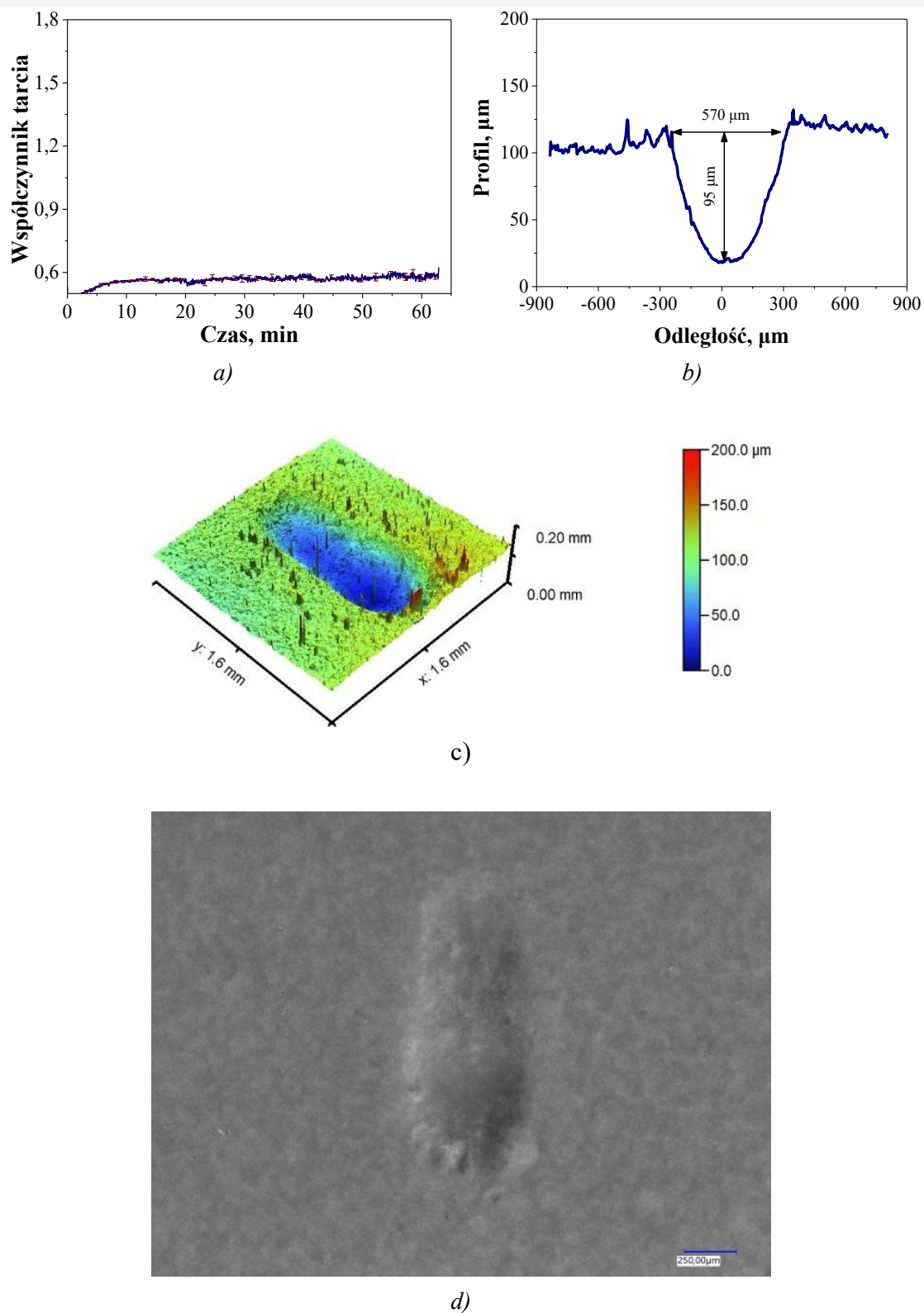
Rysunek 71. Wyniki badań tribologicznych próbki 700: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)

700_HAp



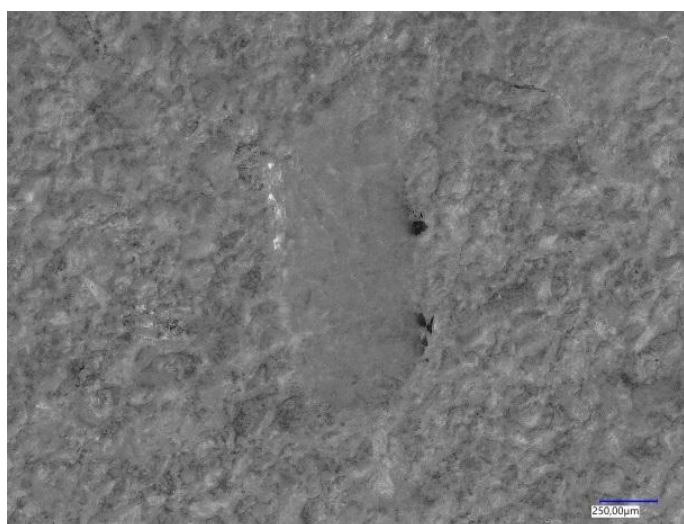
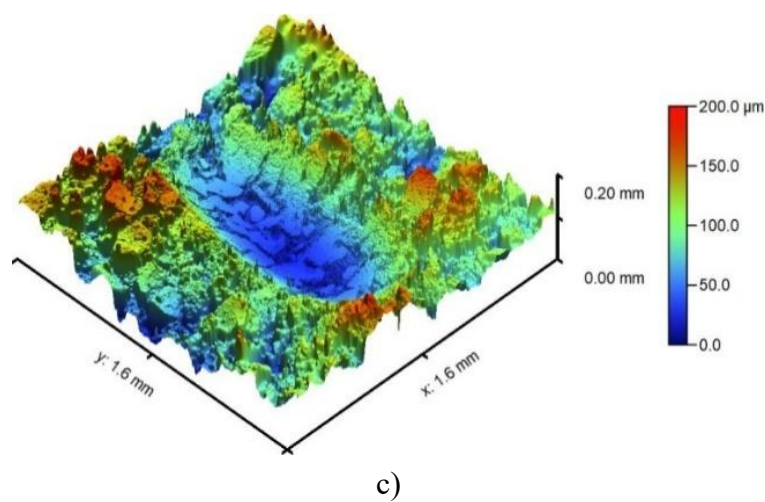
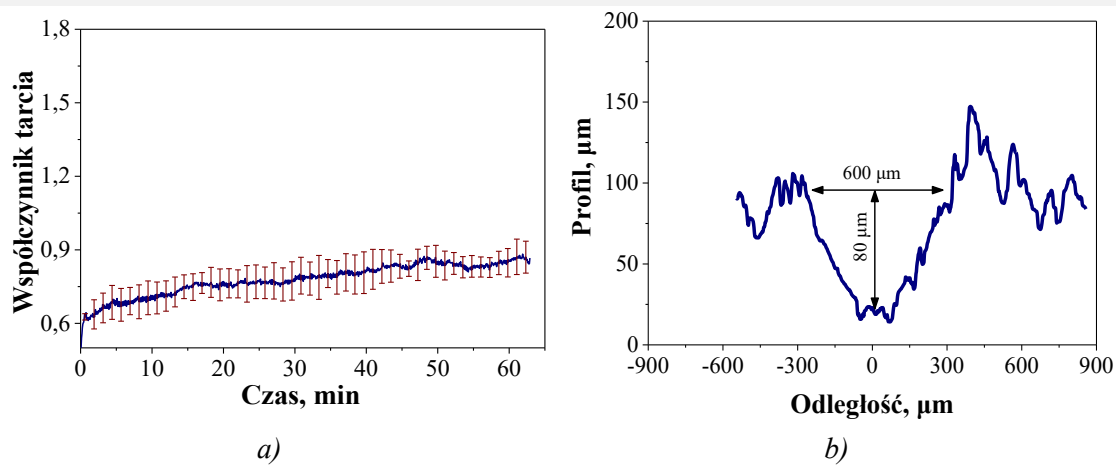
Rysunek 72. Wyniki badań tribologicznych próbki 700_HAp: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)

700_HAp/Kol-r

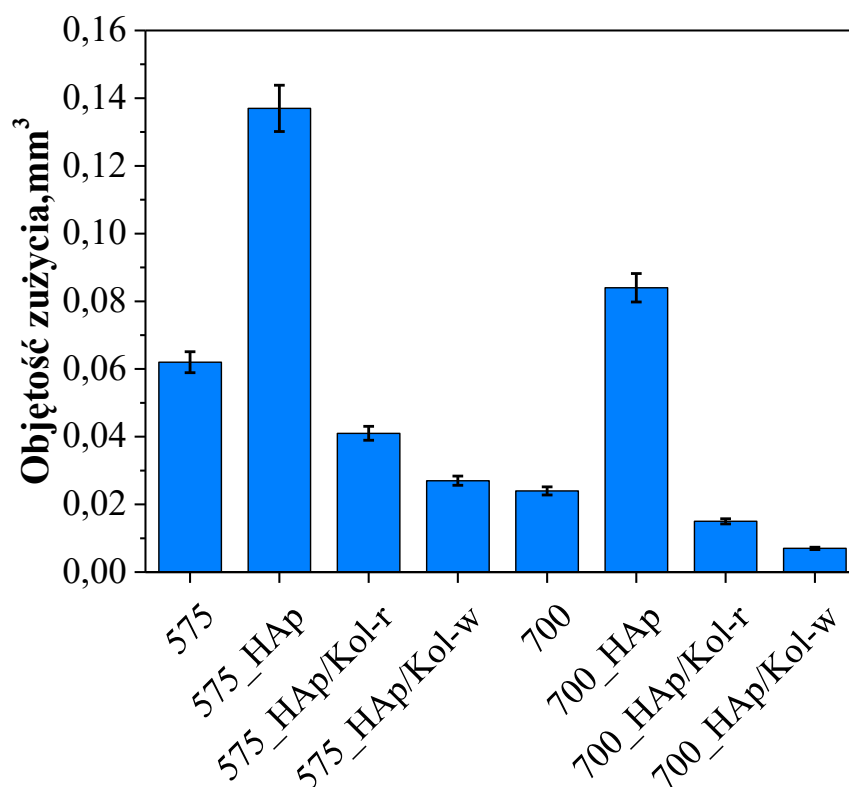


Rysunek 73. Wyniki badań tribologicznych próbki 700_HAp/Kol-r: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)

700_HAp/Kol-w



Rysunek 74. Wyniki badań tribologicznych próbki 700_HAp/Kol-w: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)



Rysunek 75. Objętość zużycia badanych materiałów polimerowych i kompozytowych określona na podstawie analizy tribologicznej

Wyniki przeprowadzonych badań tribologicznych (Rysunki 67–74) pozwalają na ocenę wpływu modyfikacji składu materiałów kompozytowych na ich odporność na zużycie w warunkach tarcia. Analiza objętości zużycia (Rysunek 75) oraz charakterystyki śladów tarcia jednoznacznie wskazuje, że właściwości tribologiczne są silnie skorelowane z wcześniejszymi obserwacjami dotyczącymi właściwości mechanicznych — twardości i wytrzymałości na rozciąganie — przedstawionymi w poprzednich częściach pracy.

Dodatek hydroksyapatytu wykazał jednoznaczny wpływ na zwiększenie podatności materiału na zużycie powierzchniowe. Pomimo, że HAp, jako składnik ceramiczny, istotnie poprawiał twardość oraz wytrzymałość kompozytów, co zostało wykazane w pomiarach Shore’a A i próbie rozciągania, to jednocześnie prowadził do wyraźnego pogorszenia odporności na ścieranie. Przykładowo, próbka 575_HAp charakteryzowała się jedną z najwyższych wartości objętości zużycia. Efekt ten może być tłumaczony brakiem elastycznego mechanizmu kompensującego lokalne naprężenia, co w sztywnym i mało podatnym na odkształcenie układzie prowadzi do inicjacji pęknięć i kruszenia. Zjawisko to wskazuje, iż wysoka sztywność bez odpowiedniej elastyczności może sprzyjać przyspieszonej degradacji powierzchni w warunkach kontaktu dynamicznego.

Zastosowanie kolagenu, zarówno rybiego, jak i wołowego, przyniosło wyraźną poprawę właściwości tribologicznych we wszystkich analizowanych układach. Próbkę zawierającą zarówno HAp, jak i kolagen wykazywały znacznie niższe objętości zużycia w porównaniu do odpowiedników bez kolagenu. Co istotne, spadkowi zużycia towarzyszył jednocześnie spadek twardości i wytrzymałości mechanicznej, co wskazuje na wyraźną zmianę charakteru mechanicznego kompozytu w kierunku większej elastyczności. Zgodnie z wynikami uzyskanymi wcześniej, kolagen pełnił funkcję modyfikatora struktury, który redukuje kruchość sieci polimerowej, zwiększając jej zdolność do odkształceń. W kontekście tarcia przekłada się to na ograniczenie lokalnych uszkodzeń i mniejsze ścieranie materiału. Szczególnie dobre rezultaty uzyskano dla kolagenu wołowego, co może być związane z jego lepszą integracją z matrycą oraz bardziej korzystnym wpływem na mikrostrukturę powierzchni.

Znaczącą różnicę odnotowano również pomiędzy próbkami zawierającymi różne czynniki sieciujące. Materiały z PEGDA 700 g/mol wykazywały nie tylko wyższe wartości twardości i wytrzymałości w porównaniu do analogicznych układów z PEGDA 575, ale również zdecydowanie niższe objętości zużycia. Zjawisko to może być wyjaśnione strukturą sieci — dłuższy czynnik sieciujący umożliwia utworzenie bardziej elastycznej i przestrzennie rozwiniętej sieci polimerowej, która efektywniej kompensuje działanie sił tarcia, zapobiegając koncentracji naprężeń i pękaniu. Uzyskane wyniki potwierdzają zatem, że PEGDA 700 tworzy układ o korzystniejszym profilu mechaniczno-tribologicznym, zwłaszcza w połączeniu z dodatkiem kolagenu i HAp.

Podsumowując, obserwowane właściwości tribologiczne są ściśle powiązane z charakterystyką mechaniczną badanych materiałów. Sama obecność HAp zwiększa sztywność i wytrzymałość, ale bez odpowiedniej elastyczności skutkuje wyższym zużyciem. Z kolei dodatek kolagenu, mimo osłabienia twardości kompozytów, istotnie poprawia odporność na ścieranie. Najlepsze rezultaty uzyskano dla kompozytów zawierających PEGDA 700, HAp oraz kolagen, co wskazuje na synergiczne działanie komponentów umożliwiające osiągnięcie optymalnych właściwości związanych z wytrzymałością, elastycznością oraz trwałością powierzchniową.

10.8. Tomograficzna ocena struktury kompozytów

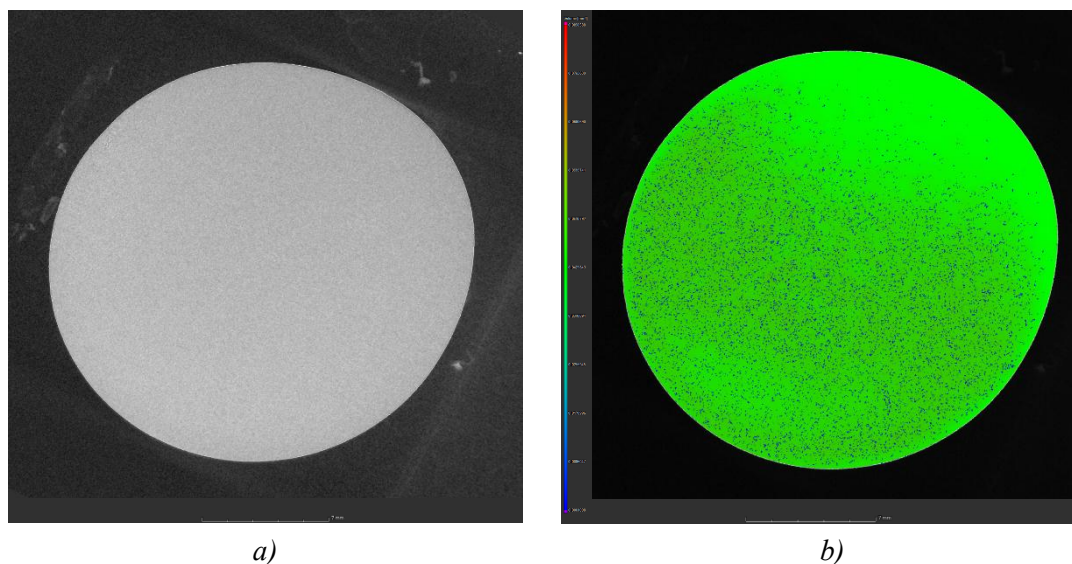
Na podstawie kompleksowej oceny właściwości fizykochemicznych, mechanicznych, powierzchniowych i tribologicznych, do dalszych badań zakwalifikowano próbkę 700_HAp/Kol-w, zawierającą PEGDA o masie molowej 700 g/mol, 10% hydroksyapatytu oraz 30% kolagenu wołowego. Wybór ten został dokonany w oparciu o optymalne parametry aplikacyjne spośród wszystkich analizowanych kompozytów.

Wybrany materiał charakteryzował się stosunkowo wysoką twardością i wytrzymałością mechaniczną, przy jednoczesnym zachowaniu elastyczności. W testach sorpcyjnych próbka cechowała się dużą zdolnością do pęcznienia

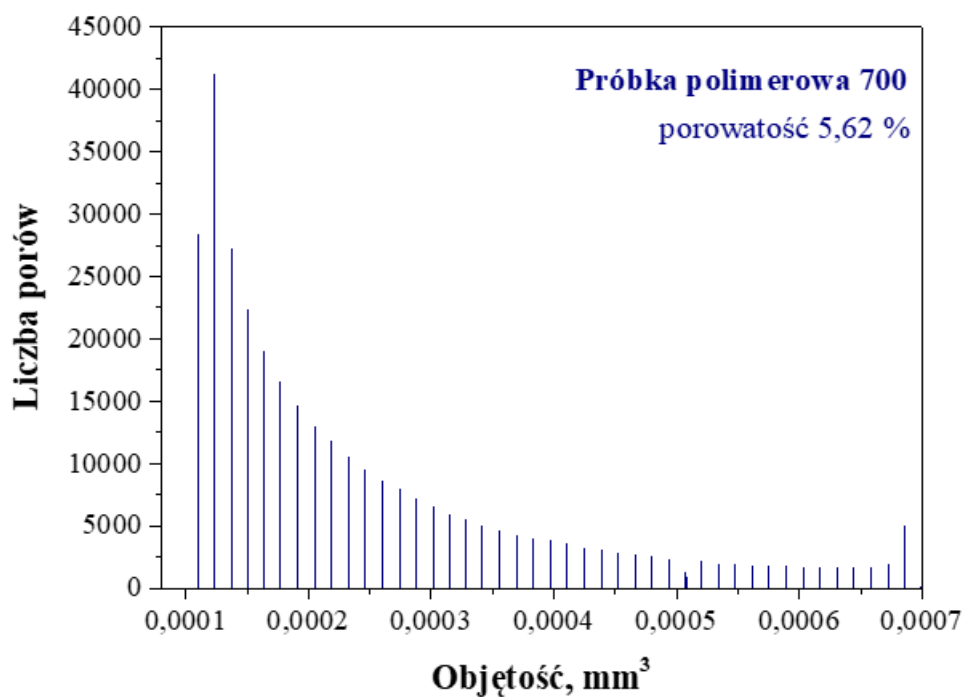
oraz stabilnością strukturalną we wszystkich badanych mediach inkubacyjnych, co wskazuje na trwałość układu w warunkach środowiska fizjologicznego. Dodatkowo, analiza zwilżalności potwierdziła hydrofilowy charakter powierzchni oraz wysoki udział polarnej energii powierzchniowej, co może przełożyć się na poprawę interakcji z komórkami zwiększając ich adhezję i proliferację. Ponadto, w badaniach tribologicznych próbka ta wykazała jedną z najniższych objętości zużycia, co świadczy o skutecznej ochronie powierzchni przed uszkodzeniami mechanicznymi.

Zestawienie wszystkich analizowanych cech jednoznacznie wskazuje, że próbka 700_HAp/Kol-w łączy korzystne właściwości mechaniczne, odporność na zużycie, stabilność w symulowanych płynach ustrojowych oraz odpowiednią chropowatość i hydrofilowość powierzchni, co czyni ten materiał najbardziej obiecującym kandydatem do dalszych zastosowań w inżynierii tkankowej.

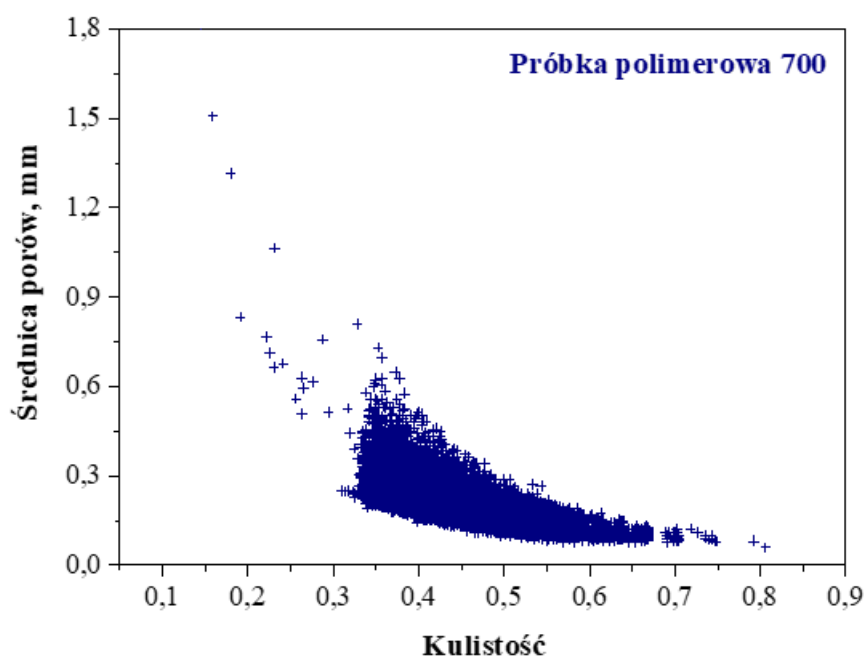
W związku z uzyskanymi wynikami, dalsze etapy badań skoncentrowano na próbce 700_HAp/Kol-w. W celu oceny struktury wewnętrznej wytypowanego układu przeprowadzono analizę za pomocą tomografii komputerowej. Badanie to umożliwia trójwymiarową wizualizację rozmieszczenia faz, porowatości oraz jednorodności materiału, co jest szczególnie istotne w kontekście jego późniejszej funkcjonalizacji i integracji z tkanką. Wybrany materiał kompozytowy zestawiono porównawczo z odpowiednikiem polimerowym, tj. próbką 700, zawierającą wyłącznie matrycę polimerową bez dodatków HAp i kolagenu.



Rysunek 76. Obraz próbki polimerowej 700 uzyskany metodą tomografii komputerowej: widok przekroju poprzecznego bez analizy (po lewej) oraz z analizą strukturalną (po prawej)



Rysunek 77. Rozkład objętości porów w próbce polimerowej 700 określony na podstawie analizy tomografii komputerowej; całkowita porowatość: 5,62%

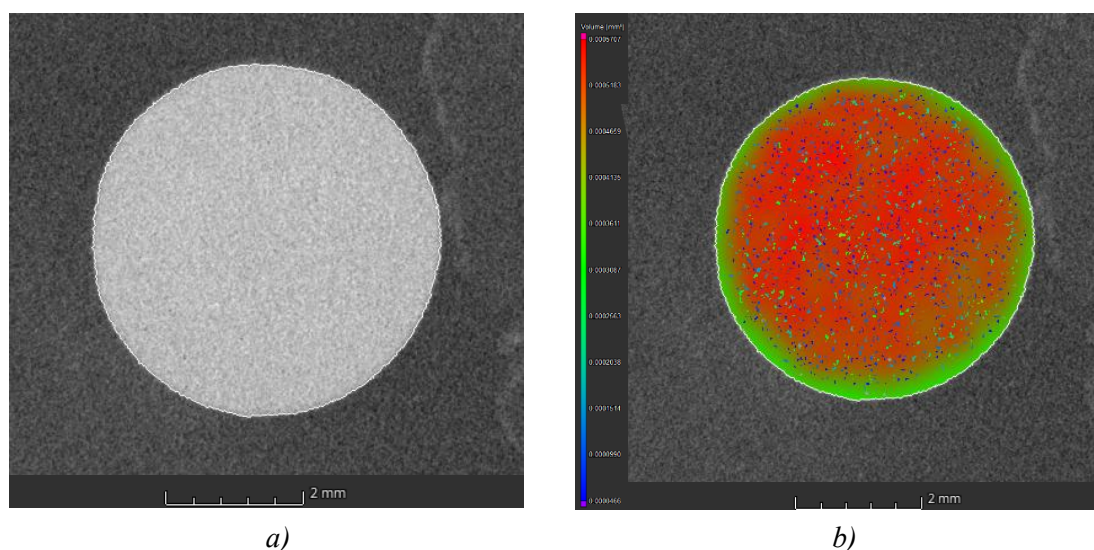


Rysunek 78. Zależność średnicy porów od współczynnika kulistości w próbce polimerowej 700, określona na podstawie analizy tomografii komputerowej

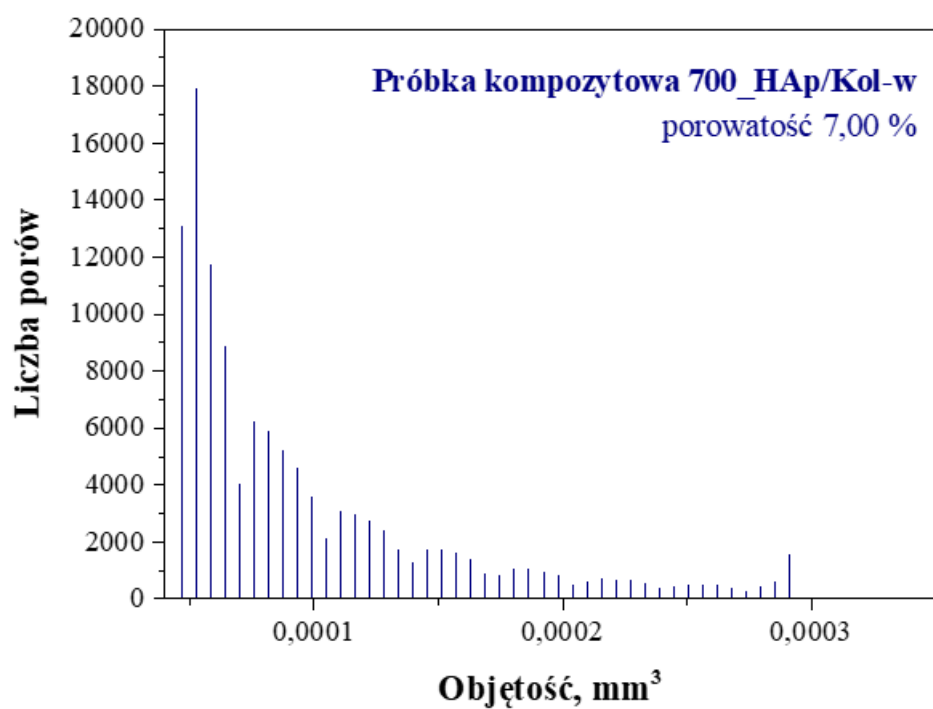
Obraz przekroju poprzecznego zaprezentowany na Rysunku 76a wskazuje na stosunkowo jednorodną strukturę badanego materiału. Nie zaobserwowano żadnych widocznych defektów świadczących o braku homogeniczności próbki. Jednakże, na obrazie przekroju poprzecznego z nałożoną analizą porów (Rysunek 76b) widoczna jest wyraźna niejednorodność rozkładu porów. Największe ich zagęszczenie obserwuje się w części środkowej i dolnej próbki, natomiast w górnej strefie ich liczba jest zauważalnie mniejsza. Wskazuje to na niejednorodne sieciowanie materiału w przekroju, co może wynikać z warunków fotopolimeryzacji lub występowania lokalnych różnic w gęstości materiału.

Zgodnie z uzyskanymi wynikami całkowita porowatość próbki wynosiła 5,62%, co klasyfikuje materiał jako umiarkowanie porowaty. Rozkład objętości porów zaprezentowany został na Rysunku 77. Dominującą frakcją stanowiły pory o bardzo małej objętości, głównie w zakresie 0,0001–0,0002 mm³. Obserwowany rozkład liczby porów w funkcji objętości jest charakterystyczny dla materiałów hydrożelowych o dobrze rozwiniętej mikrostrukturze, ale bez obecności porów makroskopowych. Taki rozkład zapewnia korzystny bilans pomiędzy retencją płynów a zachowaniem integralności mechanicznej. Rysunek 78 ilustruje zależność między średnicą porów a ich kulistością. Zdecydowana większość porów miała średnicę poniżej 0,5 mm i wykazywała współczynnik kulistości w zakresie 0,3–0,5, co oznacza, że ich kształt był w znacznym stopniu nieregularny i niesferyczny. Tego typu morfologia porów jest typowa dla hydrożeli sieciowanych metodą fotopolimeryzacji, w których lokalne warunki reakcji prowadzą do powstawania pustek o zróżnicowanej geometrii.

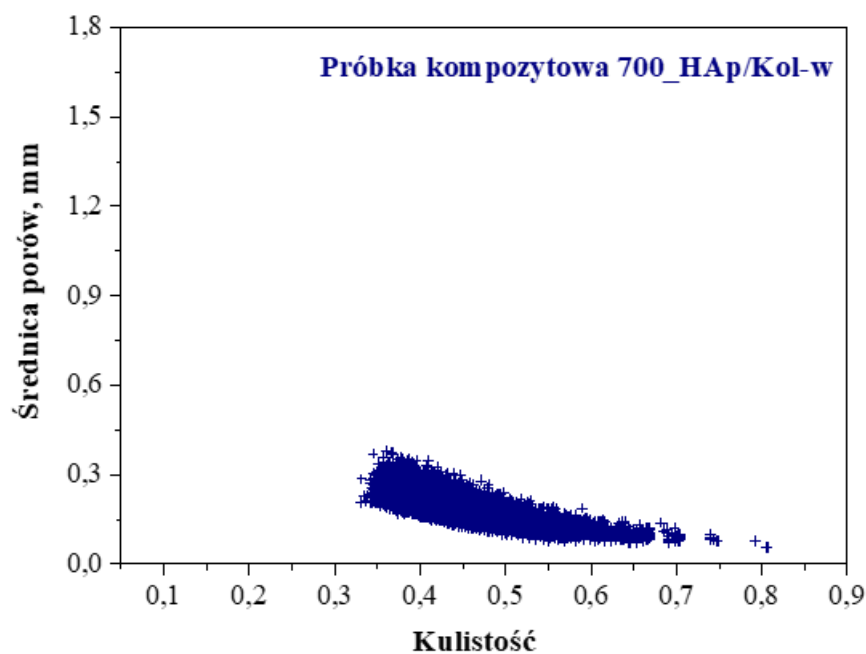
Wyniki CT uzyskane dla próbki kompozytowej 700_HAp/Kol-w zaprezentowano poniżej na Rysunkach 79 – 81.



Rysunek 79. Obraz próbki kompozytowej 700_HAp/Kol-w uzyskany metodą tomografii komputerowej: widok przekroju poprzecznego bez analizy (po lewej) oraz z analizą strukturalną (po prawej)



Rysunek 80. Rozkład objętości porów w próbce kompozytowej 700_HAp/Kol-w określony na podstawie analizy tomografii komputerowej; całkowita porowatość: 7,00%



Rysunek 81. Zależność średnicy porów od współczynnika kulistości w próbce kompozytowej 700_HAp/Kol-w, określona na podstawie analizy tomografii komputerowej

Na obrazie przekroju poprzecznego (Rysunek 79a) próbka wykazuje pełną ciągłość materiałową i brak defektów makroskopowych. Jednakże, obraz po segmentacji strukturalnej (Rysunek 79b) wskazuje na nieznaczną niejednorodność rozmieszczenia porów w warstwie zewnętrznej. W strefie przy zewnętrznym brzegu próbki obserwuje się mniejsze zagęszczenie pustek w porównaniu do głębszych partii próbki. W pozostałej objętości porowatość rozkłada się równomiernie, co świadczy o spójnej mikrostrukturze wewnętrznej materiału. Zaobserwowany gradient porowatości w obszarze powierzchniowym może wynikać z ograniczonej penetracji promieniowania UV podczas procesu fotopolimeryzacji, a także z niejednorodnego rozkładu składników reakcyjnych, w szczególności HAp i kolagenu, które mogą lokalnie wpływać na lepkość układu oraz kinetykę sieciowania.

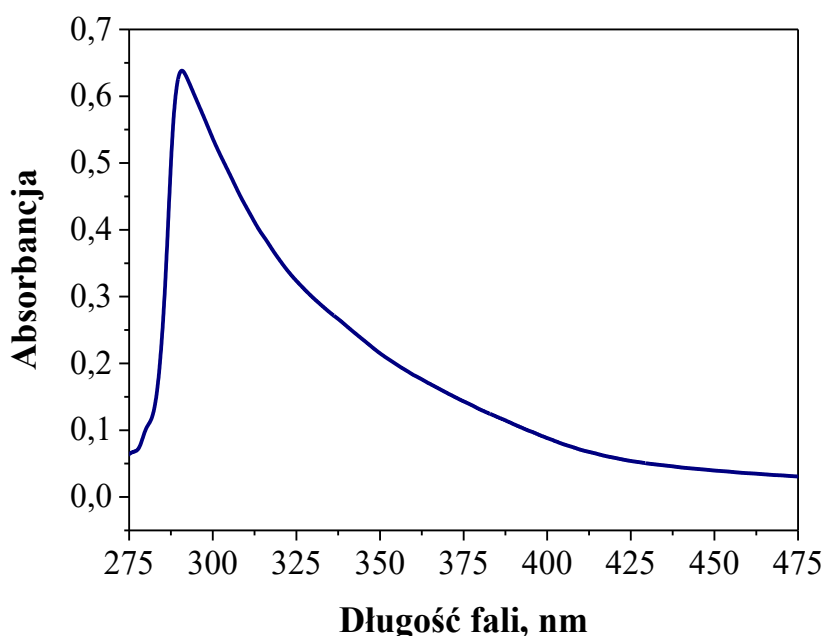
Całkowita porowatość próbki kompozytowej wyniosła 7,00%, co stanowi wartość wyższą w porównaniu do próbki polimerowej (5,62%). Oznacza to, że wprowadzenie składników modyfikujących, przyczyniło się do zwiększenia udziału objętościowego porów. Analiza rozkładu objętości porów (Rysunek 80) wykazała, że największy udział miały pory o bardzo małej objętości – głównie w zakresie poniżej 0,0001 mm³. Z kolei charakterystyka porów, przedstawiona na Rysunku 81, ukazuje zależność pomiędzy średnicą porów a współczynnikiem kulistości. Pory w próbce kompozytowej charakteryzowały się średnicą poniżej 0,5 mm oraz kulistością w zakresie 0,3–0,6. W porównaniu do próbki polimerowej, rozkład kulistości był węższy, co wskazuje na bardziej jednorodny kształt porów, pomimo ich nieidealnie sferycznej geometrii. Wprowadzenie hydroksyapatytu i kolagenu nie wpłynęło zatem negatywnie na morfologię pustek, a wręcz przyczyniło się do jej częściowego uporządkowania, co można przypisać stabilizującemu działaniu komponentu mineralnego oraz właściwościom wiążącym kolagenu. Przeprowadzona analiza wskazuje, że próbka 700_HAp/Kol-w charakteryzuje się zwiększoną porowatością całkowitą w porównaniu do próbki polimerowej, przy zachowaniu spójnej oraz stosunkowo jednorodnej struktury wewnętrznej. Rozkład objętości porów wskazuje na obecność porów o małej wielkości, a analiza morfologii potwierdza ich powtarzalny, choć niesferyczny kształt. Wprowadzenie HAp i kolagenu wpłynęło na rozwinięcie mikrostruktury porowatej bez istotnego zaburzenia jej organizacji, co potwierdza efektywne zespolenie faz modyfikujących z matrycą polimerową.

10.9. Kinetyka uwalniania kolagenu z materiału kompozytowego

Następnie, dokonano oceny profilu uwalniania kolagenu z wybranej próbki kompozytowej 700_HAp/Kol-w. Celem badania było określenie ilości i tempa uwalniania komponentu białkowego z wnętrza struktury kompozytu do otaczającego medium inkubacyjnego. Analiza ta stanowi istotny element charakterystyki materiału, umożliwiając ocenę jego potencjału do kontrolowanego dostarczania składników bioaktywnych.

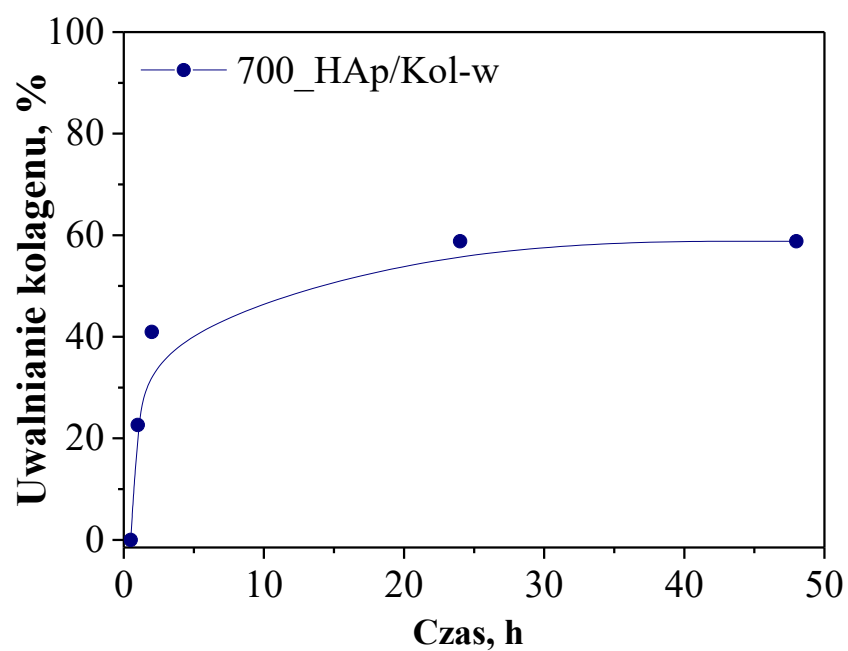
Spektroskopia UV-Vis jest powszechnie stosowaną techniką analityczną w badaniach nad białkami, w tym nad kolagenem i jego pochodnymi. Podstawą tej metody jest obecność chromoforów w strukturze białek, takich jak ugrupowania amidowe oraz pierścienie aromatyczne aminokwasów, głównie tyrozyny, tryptofanu i fenyloalaniny. Dla białek, w tym kolagenu, charakterystyczna jest absorpcja promieniowania ultrafioletowego w zakresie od około 190 do 300 nm [288–292].

W niniejszej pracy spektrofotometria UV-Vis została wykorzystana do oceny profilu uwalniania składników białkowych z próbki kompozytowej 700_HAp/Kol-w. Ze względu na zastosowanie hydrolizatu kolagenu, należy podkreślić, że uzyskane widmo absorpcyjne może odzwierciedlać obecność krótkich peptydów i wolnych aminokwasów, które również wykazują aktywność w zakresie UV. Widmo referencyjne (Rysunek 82) przygotowane dla badanego hydrolizatu kolagenu wykazało charakterystyczne dla struktur białkowych wyraźne maksimum absorpcji przy długości fali około 290 nm.



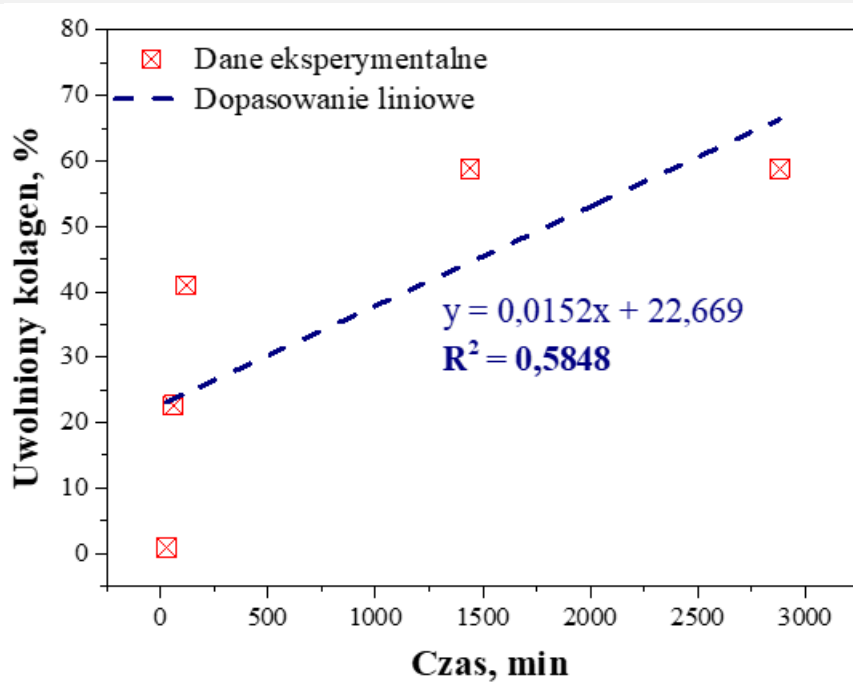
Rysunek 82. Referencyjne widmo UV- Vis hydrolizatu kolagenu wołowego

Na podstawie uzyskanego widma oraz wyznaczonego maksimum w dalszych analizach określono zmiany intensywności absorpcji w czasie inkubacji próbki, co pozwoliło na ilościową ocenę stopnia uwalniania składników białkowych. Uzyskane wartości absorbancji zostały przeliczone względem krzywej wzorcowej dla znanych stężeń hydrolizatu kolagenu i przedstawione jako procentowa ilość składników uwolniona w czasie inkubacji (Rysunek 83). Dopasowanie danych eksperymentalnych do wybranych matematycznych modeli kinetycznych zaprezentowano na Rysunkach 84-88. Analiza dopasowania poszczególnych modeli umożliwia identyfikację dominującego mechanizmu transportu (np. dyfuzji, erozji powierzchniowej, pęcznienia lub ich kombinacji), a tym samym pozwala lepiej zrozumieć charakterystyki uwalniania bioaktywnego komponentu w badanym systemie.



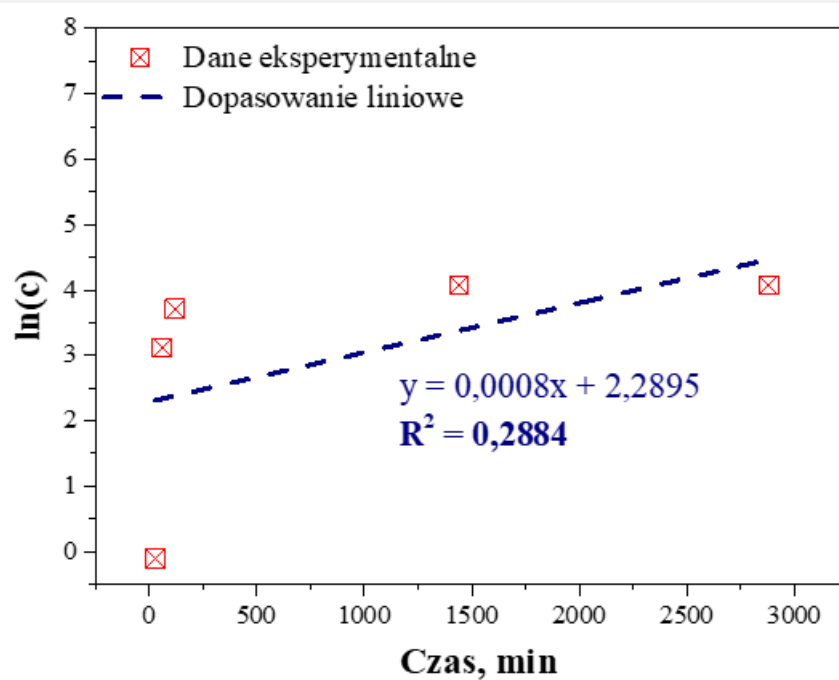
Rysunek 83. Kinetyka uwalniania składników białkowych z próbki 700_HAp/Kol-w określona metodą UV-Vis przy $\lambda = 290 \text{ nm}$

Model 0 rzędu



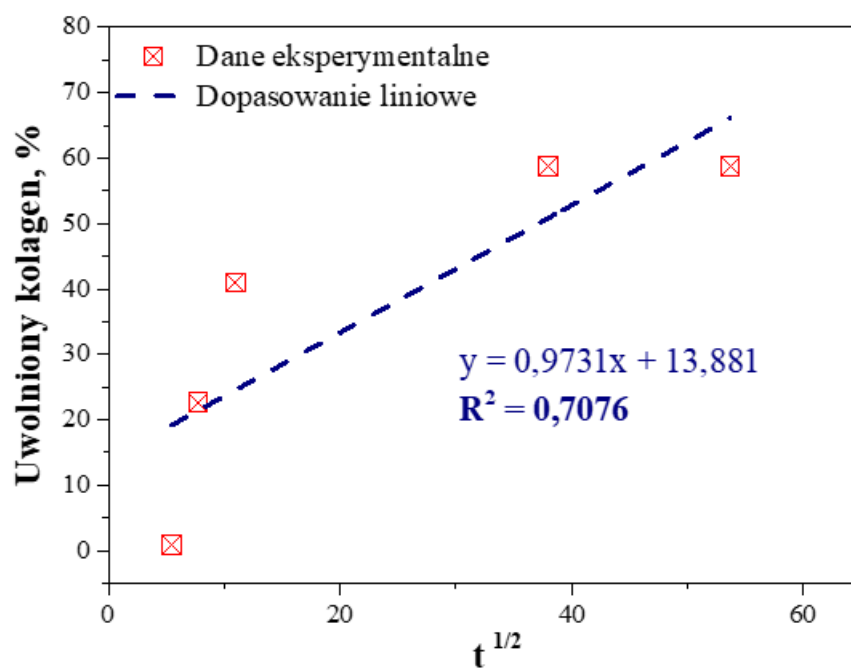
Rysunek 84. Uwalnianie kolagenu z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu 0 rzędu

Model I rzędu



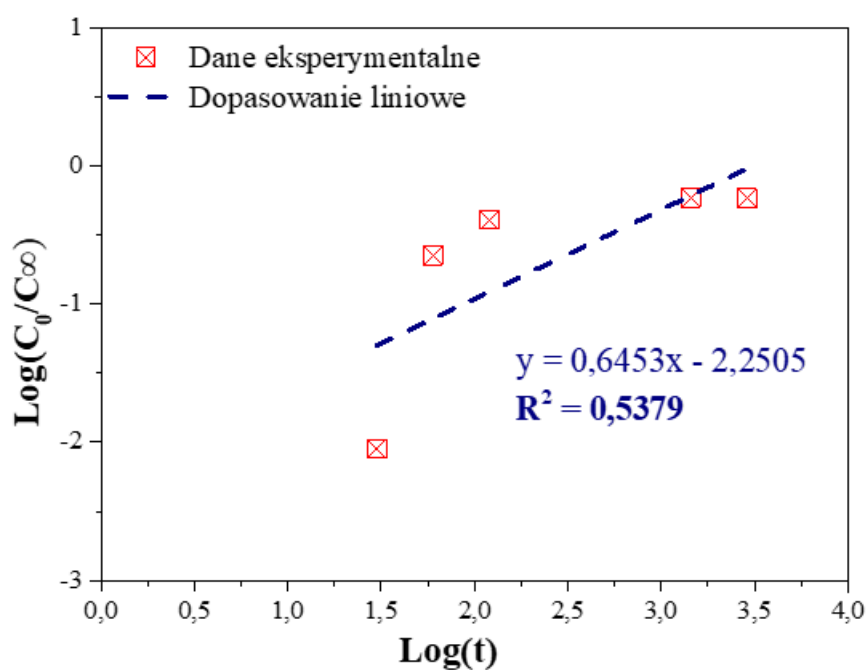
Rysunek 85. Uwalnianie kolagenu z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu I rzędu

Model Higuchiego



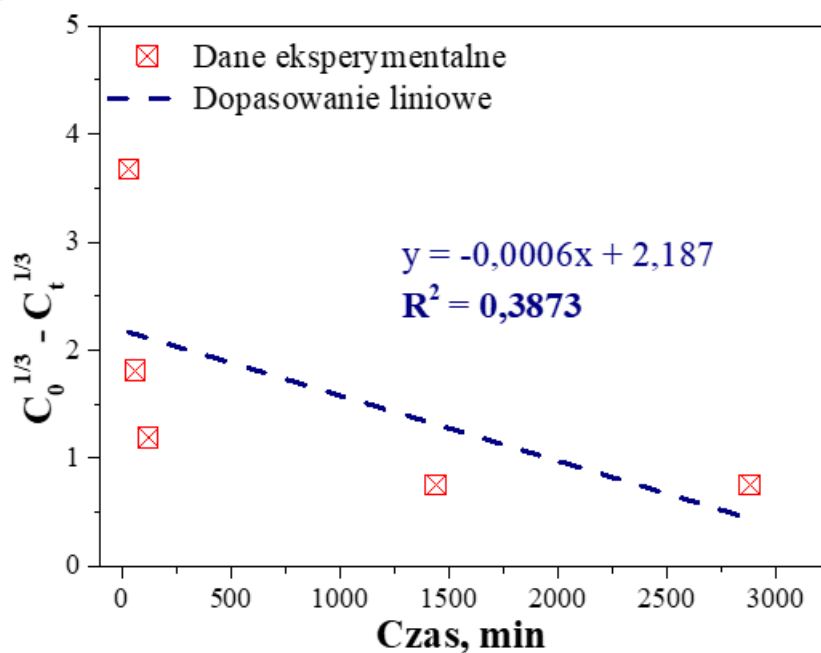
Rysunek 86. Uwalnianie kolagenu z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu Higuchiego

Model Korsmeyera–Peppasa



Rysunek 87. Uwalnianie kolagenu z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu Korsmeyera-Peppasa

Model Hixsona–Crowella



Rysunek 88. Uwalnianie kolagenu z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu Hixsona-Crowella

Tabela 22. Wartości współczynnika determinacji R^2 dla dopasowania danych eksperymentalnych dotyczących uwalniania kolagenu do wybranych modeli kinetycznych

Model kinetyczny	Współczynnik determinacji R^2
0 rzędu	0,5848
I rzędu	0,2884
<u>Higuchiego</u>	<u>0,7076</u>
Korsmayera-Peppasa	0,5379
Hixona-Crowella	0,3873

Analiza profilu uwalniania składników białkowych z próbki kompozytowej 700_HAp/Kol-w, wykazała charakterystyczny przebieg kinetyki wskazujący na dynamiczne zmiany stężenia uwalnianych substancji w czasie. Na podstawie wyników spektroskopii UV-Vis zarejestrowanych przy długości fali 290 nm odnotowano typowy, dwuetapowy charakter procesu uwalniania. Zaobserwowany początkowy intensywny wzrost ilości uwolnionego kolagenu stanowi charakterystyczny etap szybkiego uwalniania, wynikający z obecności łatwo dostępnych frakcji białkowych zlokalizowanych w bezpośrednim sąsiedztwie powierzchni materiału. Tego typu zachowanie, czyli tzw. efekt „*burst release*” jest typowy dla hydrożelowych systemów kompozytowych, w których część substancji aktywnej pozostaje jedynie fizycznie związana z matrycą, bez głębokiej inkorporacji w jej sieć przestrzenną. Składniki te, niewymagające pokonania znacznych barier dyfuzyjnych, są szybko uwalniane do otaczającego środowiska zaraz po rozpoczęciu kontaktu z medium inkubacyjnym. W miarę upływu czasu proces ten ulega jednak spowolnieniu – ilość dyfundujących cząsteczek maleje, a dalsze uwalnianie dotyczy już wyłącznie frakcji kolagenu osadzonej głębiej w strukturze hydrożelu [293–296]. Konsekwencją tego zjawiska jest coraz wolniejsze tempo transportu i stopniowe zbliżanie się układu do stanu równowagi, co obserwuje się w postaci stabilizacji ilości uwolnionego białka na poziomie około 60% po 48 godzinach. Takie zachowanie wskazuje na fizyczne ograniczenie związane z głębszym osadzeniem pozostałych cząsteczek oraz możliwym utrudnionym dostępem do kanałów dyfuzyjnych w sieci hydrożelowej.

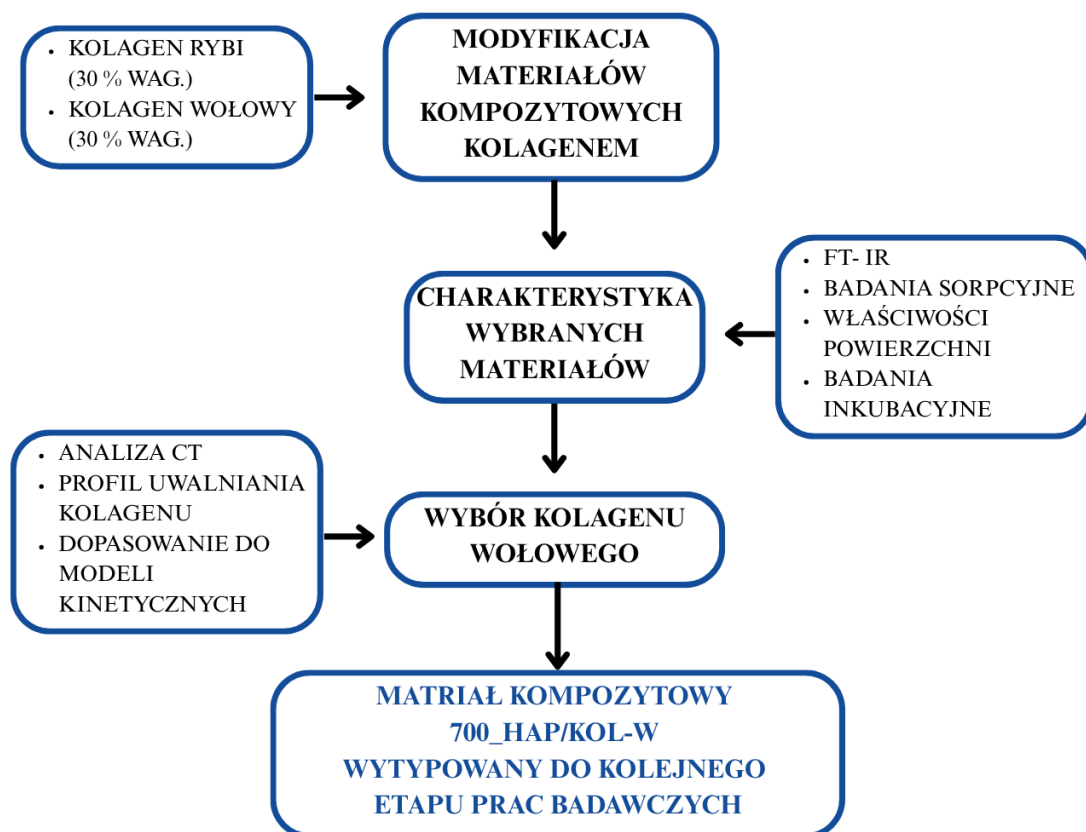
W celu analizy mechanizmu transportu składników białkowych z wnętrza matrycy do otoczenia przeprowadzono dopasowanie uzyskanych danych eksperymentalnych do pięciu klasycznych modeli kinetycznych. Porównując wartości współczynnika determinacji (R^2), najlepsze dopasowanie uzyskano dla modelu Higuchiego ($R^2 = 0,7076$). Wynik ten wskazuje, że dominującym mechanizmem odpowiedzialnym za uwalnianie kolagenu z matrycy PVP/PVA modyfikowanej PEGDA i HAp jest pasywna dyfuzja kontrolowana. Model Higuchiego, opracowany dla układów matrycowych, zakłada liniową zależność ilości uwolnionej substancji od pierwiastka kwadratowego z czasu, co jest zgodne z teorią dyfuzji Ficka i potwierdza, że proces nie zależy bezpośrednio od ilości substancji pozostałej w matrycy, lecz od warunków fizycznych transportu. Pozostałe modele, w tym model zerowego rzędu ($R^2 = 0,5848$),

Korsmeyera–Peppasa ($R^2 = 0,5379$), Hixsona–Crowella ($R^2 = 0,3873$) oraz model I rzędu ($R^2 = 0,2884$), wykazały niższy poziom dopasowania. W szczególności niskie dopasowanie modelu I rzędu wyklucza, by szybkość uwalniania była wprost proporcjonalna do ilości kolagenu pozostałego w matrycy, co potwierdza, że proces przebiega zgodnie z mechanizmem dyfuzyjnym opisanym przez model Higuchiego. Dodatkowo, zbieżność pomiędzy obserwowanym dwuetapowym charakterem profilu uwalniania a dopasowaniem do modelu Higuchiego potwierdza, że zarówno eksperymentalny przebieg procesu, jak i jego matematyczny opis wskazują na dominujący udział mechanizmu kontrolowanej dyfuzji. Warto podkreślić, iż podobną tendencję zaobserwowano również w innych badaniach opisywanych w literaturze [297,298].

10.10. Podsumowanie części III – modyfikacja kolagenem

W trzeciej części pracy przeprowadzono modyfikację opracowanych wcześniej kompozytów PVP/PVA/HAp poprzez wprowadzenie bioaktywnego składnika białkowego – hydrolizatu kolagenu. Analizie poddano kompozyty zawierające 30% wag. kolagenu rybiego (Kol-r) oraz wołowego (Kol-w), przy stałym udziale 10% hydroksyapatytu. Spektroskopia FT-IR potwierdziła skuteczne wbudowanie kolagenu do struktury materiałów kompozytowych. Następnie, badania sorpcyjne wykazały, że dodatek kolagenu, szczególnie wołowego, prowadzi do istotnego wzrostu zdolności chłonnych materiałów we wszystkich analizowanych mediach. Jednocześnie próbki utrzymywały pełną integralność strukturalną przez 72 godziny inkubacji. Analiza inkubacyjna potwierdziła również uwalnianie składników organicznych, co objawiało się umiarkowanym obniżeniem pH środowiska. Pomiar zwilżalności powierzchni wykazał wyraźny wzrost hydrofilowości próbek modyfikowanych kolagenem. Ponadto, analiza topografii powierzchni potwierdziła, że głównym czynnikiem kształtującym mikrochropowatość pozostaje faza ceramiczna. Wyraźne zmiany właściwości zaobserwowano w przypadku przeprowadzonych badań mechanicznych. Udowodniono, że dodatek kolagenu obniża twardość i wytrzymałość mechaniczną, jednocześnie zwiększając elastyczność materiałów. Jednocześnie odnotowano poprawę odporności na zużycie w badaniach tribologicznych – kolagen, szczególnie wołowy, ograniczał objętość śladu zużycia. Na podstawie oceny właściwości mechanicznych, powierzchniowych, sorpcyjnych oraz tribologicznych, obejmujących m.in. wysoką elastyczność, dobrą odporność na ścieranie oraz korzystne parametry zwilżalności do dalszych badań, w tym oceny profilu uwalniania, wybrano próbkę 700_HAp/Kol-w. Wyniki tego badania wskazały na dominację mechanizmu dyfuzyjnego z początkowym efektem *burst release*, typowym dla tego typu układów.

W związku z uzyskanymi wynikami, próbka 700_HAp/Kol-w została wybrana do kolejnego etapu pracy badawczej, obejmującego modyfikację materiału substancją czynną o działaniu przeciwbakteryjnym.



Rysunek 89. Schemat podsumowania części III - modyfikacja kolagenem

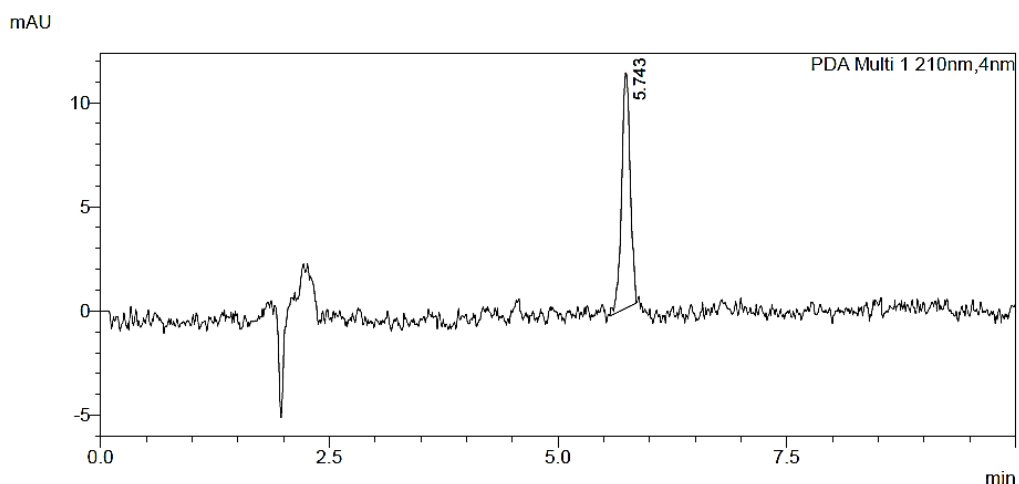
11. Część IV – MODYFIKACJA MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH ANTYBIOTYKIEM

11.1. Wprowadzenie antybiotyku do fazy ceramicznej

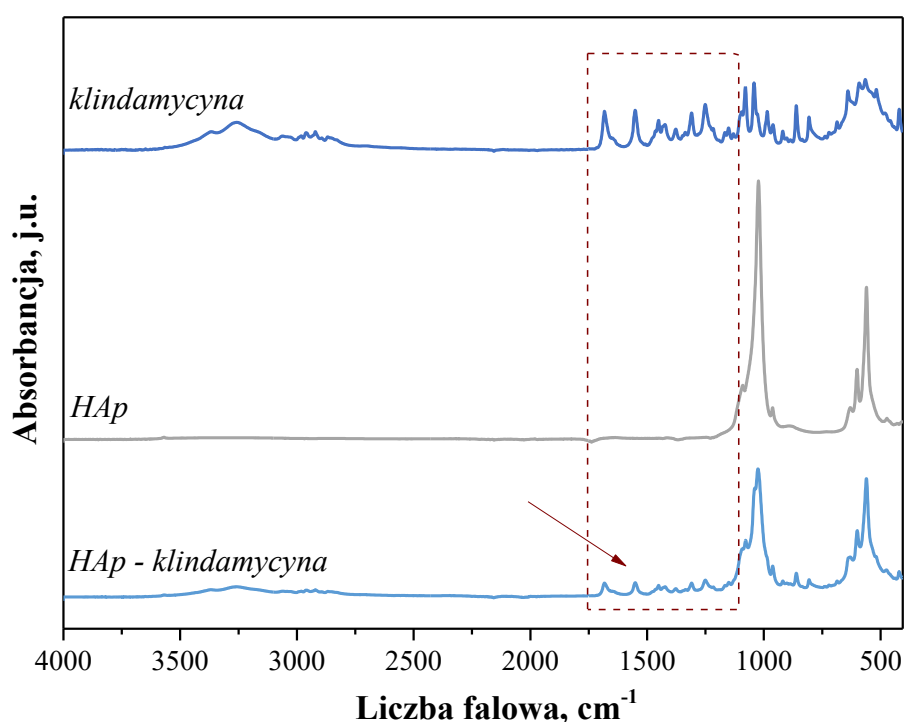
W ramach czwartej części pracy podjęto próbę dalszej funkcjonalizacji opracowanego materiału kompozytowego poprzez wprowadzenie substancji o działaniu przeciwbakteryjnym. Działania te uzasadnione są rosnącym zapotrzebowaniem na inteligentne materiały bioaktywne, zdolne nie tylko do wspomagania procesów regeneracyjnych, ale także do przeciwdziałania infekcjom bakteryjnym, które stanowią istotny problem w leczeniu ran oraz w zastosowaniach implantologicznych. Ze względu na charakter kompozytowej matrycy, która zapewnia odpowiednie środowisko do kontrolowanego uwalniania substancji czynnych, zaproponowano jej modyfikację antybiotykiem o szerokim spektrum działania.

Do modyfikacji wytypowano klindamycynę – antybiotyk z grupy linkozamidów, wykazujący wysoką skuteczność wobec bakterii Gram-dodatnich, w tym *Staphylococcus aureus*, które często odpowiadają za zakażenia towarzyszące gojeniu ran i implantacjom biomateriałów [299,300]. Klindamycyna charakteryzuje się dobrą penetracją tkankową oraz korzystnym profilem farmakokinetycznym, co czyni ją odpowiednim wyborem do lokalnego podania w postaci nośnika kompozytowego. Jej stosunkowo niska masa cząsteczkowa oraz rozpuszczalność w wodzie sprzyjają jej inkorporacji do fazy ceramicznej bez zaburzenia struktury biomateriału [301,302]. Dodatkowym argumentem przemawiającym za wyborem klindamycyny jest jej szerokie wykorzystanie kliniczne oraz dobrze poznany mechanizm działania [303,304].

Wprowadzenie antybiotyku do opracowanego materiału kompozytowego przeprowadzono poprzez wcześniejsze nasycenie fazy ceramicznej klindamycyną na drodze sorpcji. W tym celu wybrany wcześniej HAp syntetyczny, który w poprzednich etapach badań wykazał wysoką powierzchnię właściwą oraz rozwiniętą strukturę mezoporowatą, został zanurzony w roztworze wodnym klindamycyny i inkubowany przez 24 godziny. Proces ten umożliwił fizyczne związanie cząsteczek antybiotyku z porowatą strukturą HAp na drodze adsorpcji powierzchniowej, co stanowi powszechnie opisywane w literaturze podejście stosowane w projektowaniu nośników substancji czynnych [305–307]. Po zakończeniu inkubacji, próbki HAp poddano suszeniu w temperaturze pokojowej, a następnie przeprowadzono analizę ilościową metodą HPLC w celu określenia rzeczywistej zawartości klindamycyny związanej z fazą ceramiczną. Następnie wybrano warunki, w których zawartość antybiotyku w fazie ceramicznej została ustalona na poziomie 2% wagowo względem HAp, co zapewniało dobrą powtarzalność oraz przewidywalny poziom inkorporacji substancji aktywnej. Tak zmodyfikowany HAp został następnie wykorzystany jako składnik do dalszego sieciowania z matrycą polimerową w celu otrzymania finalnych materiałów kompozytowych.



Rysunek 90. Przykładowy chromatogram klindamycyny w metodzie HPLC (pasmo przy czasie retencji 5,743)



Rysunek 91. Widma FT-IR klindamycyny, HAp oraz HAp modyfikowanego klindamycyną

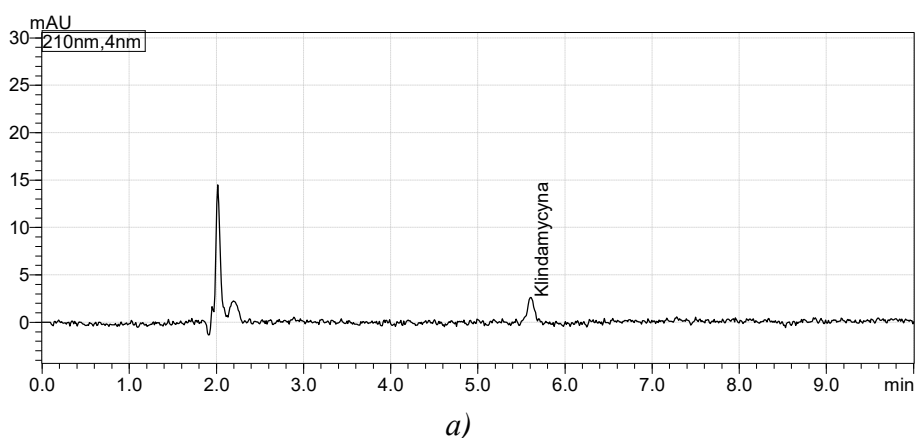
Na Rysunku 90 przedstawiono przykładowy chromatogram klindamycyny uzyskany metodą HPLC, który posłużył do ilościowego określenia zawartości antybiotyku zaadsorbowanego na powierzchni hydroksyapatytu po procesie sorpcji. Wyraźnie zaznaczone pasmo przy czasie retencji 5,743 min stanowi charakterystyczny sygnał klindamycyny umożliwiający jej identyfikację. Z kolei Rysunek 91 ilustruje porównawcze widma FT-IR uzyskane dla klindamycyny, niemodyfikowanego hydroksyapatytu oraz HAp po modyfikacji antybiotykiem. Widmo próbki HAp–klindamycyna wykazuje obecność dodatkowych pasm w zakresie 1700–1300 cm^{-1} ,

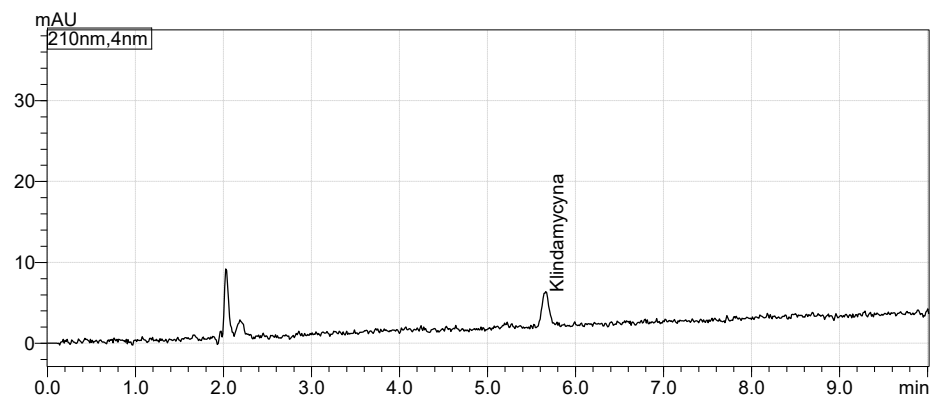
których nie odnotowano w widmie referencyjnym czystego HAp. Zakres ten odpowiada charakterystycznym drganiom grup funkcyjnych obecnych w strukturze klindamycyny, w tym głównie pasmom amidowym oraz drganiom rozciągającym i zginającym wiązań N–H i C–N [308–310]. Ich obecność w widmie próbki modyfikowanej jednoznacznie wskazuje na obecność cząsteczek klindamycyny w strukturze materiału. Jednocześnie zachowana została charakterystyka widma HAp w typowym układzie pasm związanych z grupami fosforanowymi (ν_3 i ν_4 PO_4^{3-}), co potwierdza, że proces sorpcji nie wpłynął istotnie na strukturę fazy ceramicznej. Obecność charakterystycznych pasm klindamycyny oraz brak przesunięć pasm sugerują charakter fizykochemiczny tego połączenia, który wynika z oddziaływań adsorpcyjnych.

11.2. Kinetyka uwalniania antybiotyku z materiału kompozytowego

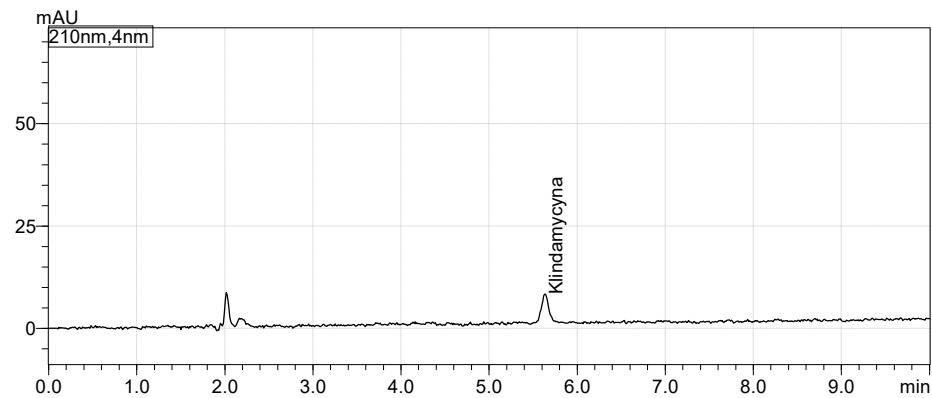
Następnie, w celu określenia profilu uwalniania klindamycyny z otrzymanych materiałów kompozytowych, przeprowadzono analizę ilościową z wykorzystując ponownie metodę HPLC. Na podstawie pomiarów stężenia antybiotyku w roztworze inkubacyjnym w kolejnych przedziałach czasowych określono ilość substancji uwolnionej w funkcji czasu. Uzyskane dane eksperymentalne posłużyły do opracowania modelu kinetycznego, analogicznie jak w przypadku wcześniejszych badań nad uwalnianiem kolagenu. Przeprowadzono dopasowanie wyników do klasycznych modeli matematycznych opisujących kinetykę uwalniania: modelu zerowego rzędu, modelu pierwszego rzędu, modelu Higuchiego, modelu Korsmeyera–Peppasa oraz modelu Hixsona–Crowella. Analiza ta miała na celu identyfikację dominującego mechanizmu kontrolującego proces uwalniania klindamycyny.

Na Rysunku 92 zaprezentowano zestawienie chromatogramów uzyskanych podczas analizy uwalniania antybiotyku. Następnie Rysunek 93 przedstawia procentową ilość uwolnionego antybiotyku w funkcji czasu.

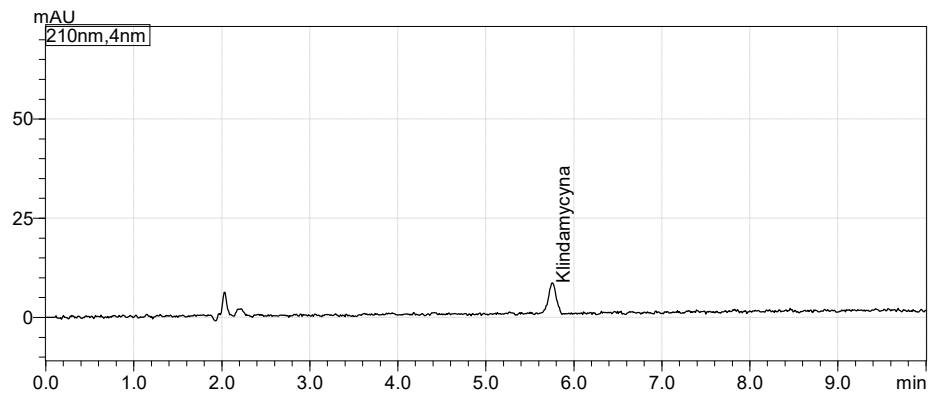




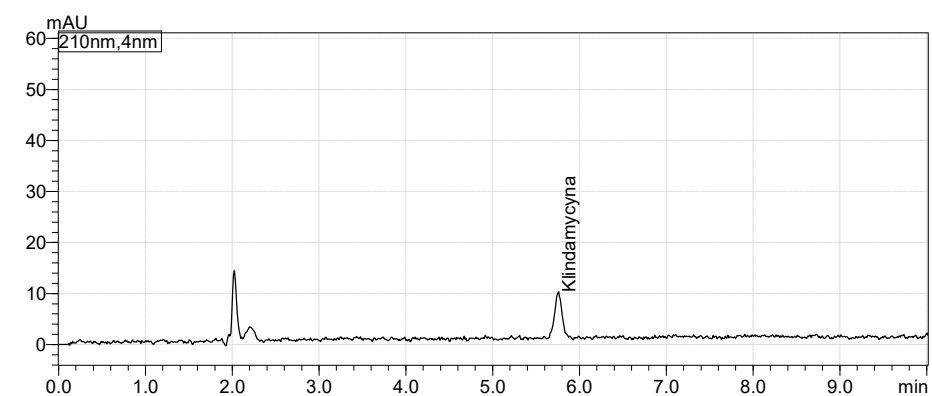
b)



c)

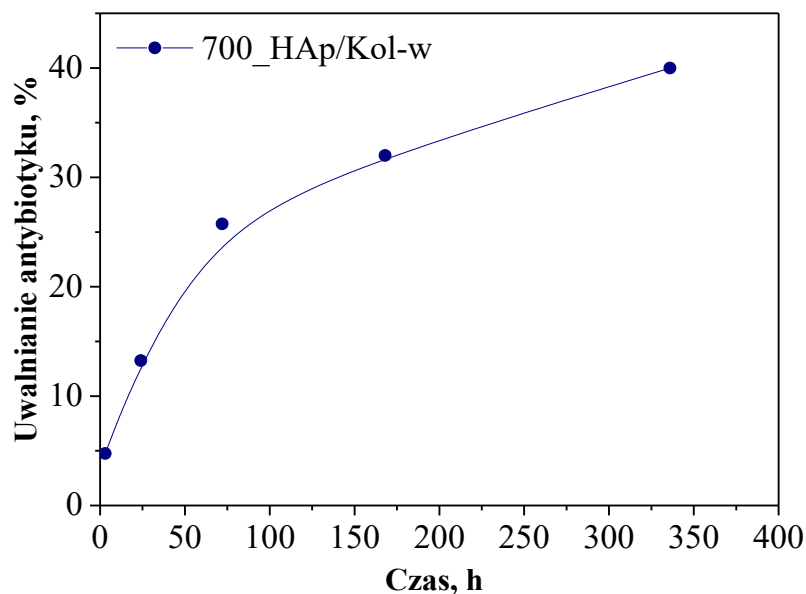


d)



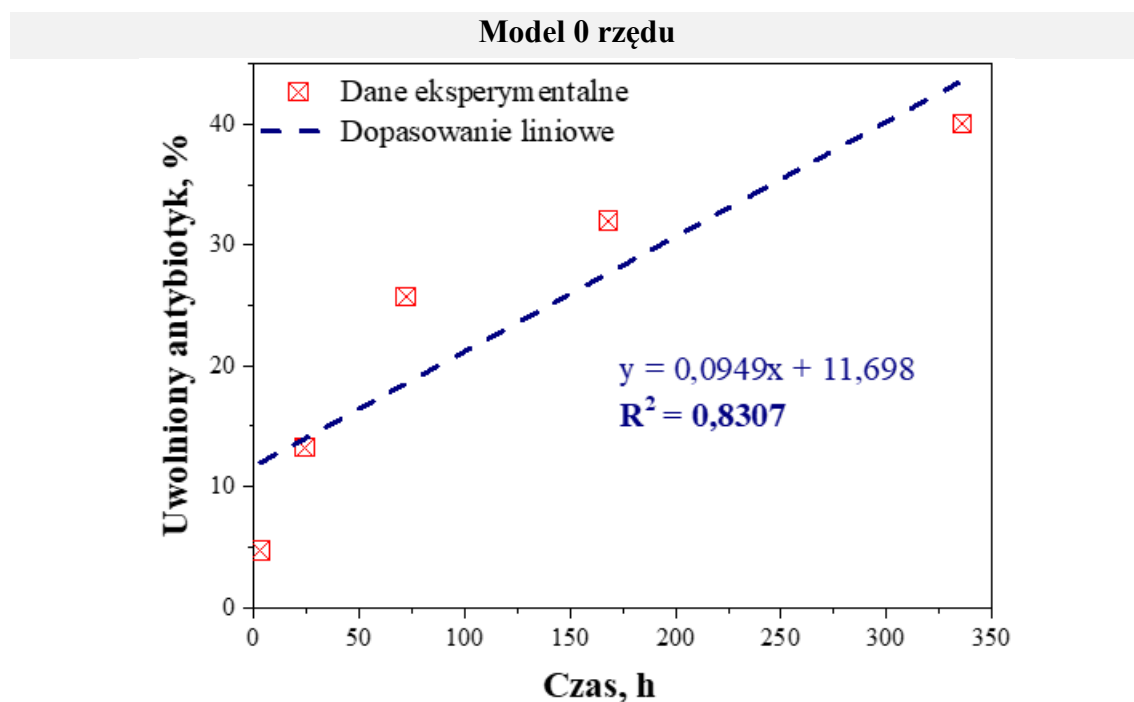
e)

Rysunek 92. Zestawienie chromatogramów uwolnionej klindamycyny po czasie 3 h (a); 24 h (b); 72 h (c); 168 h (d); 336 h (e)

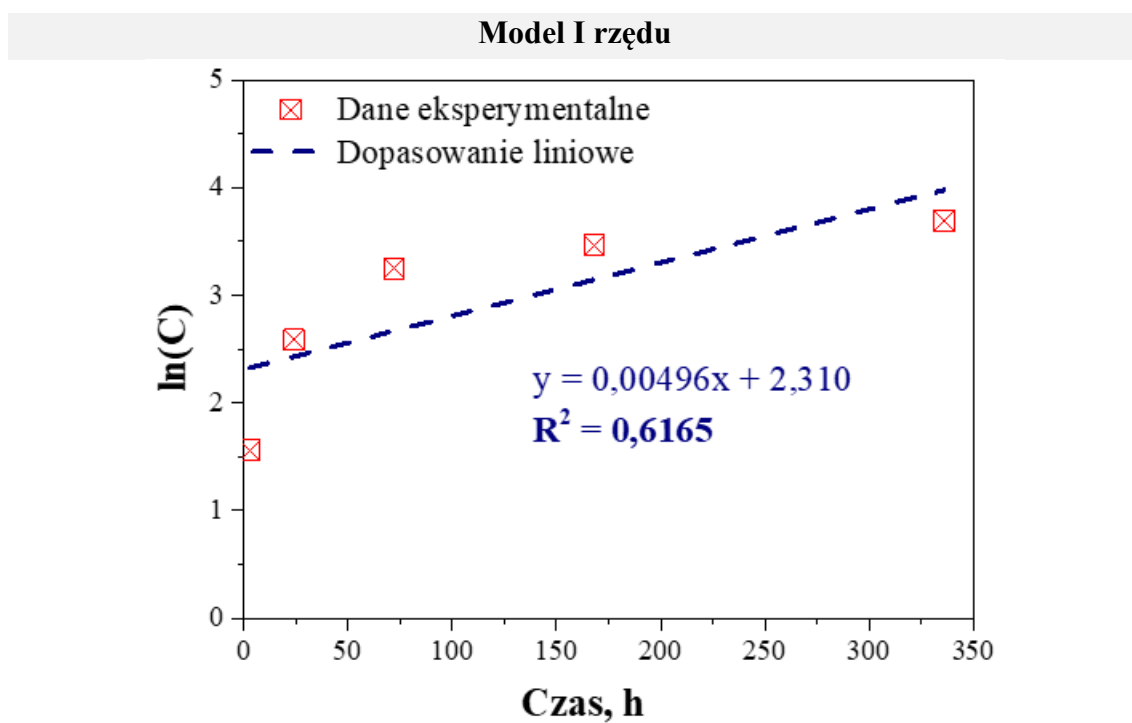


Rysunek 93. Procentowa ilość uwolnionej klindamycyny w funkcji czasu

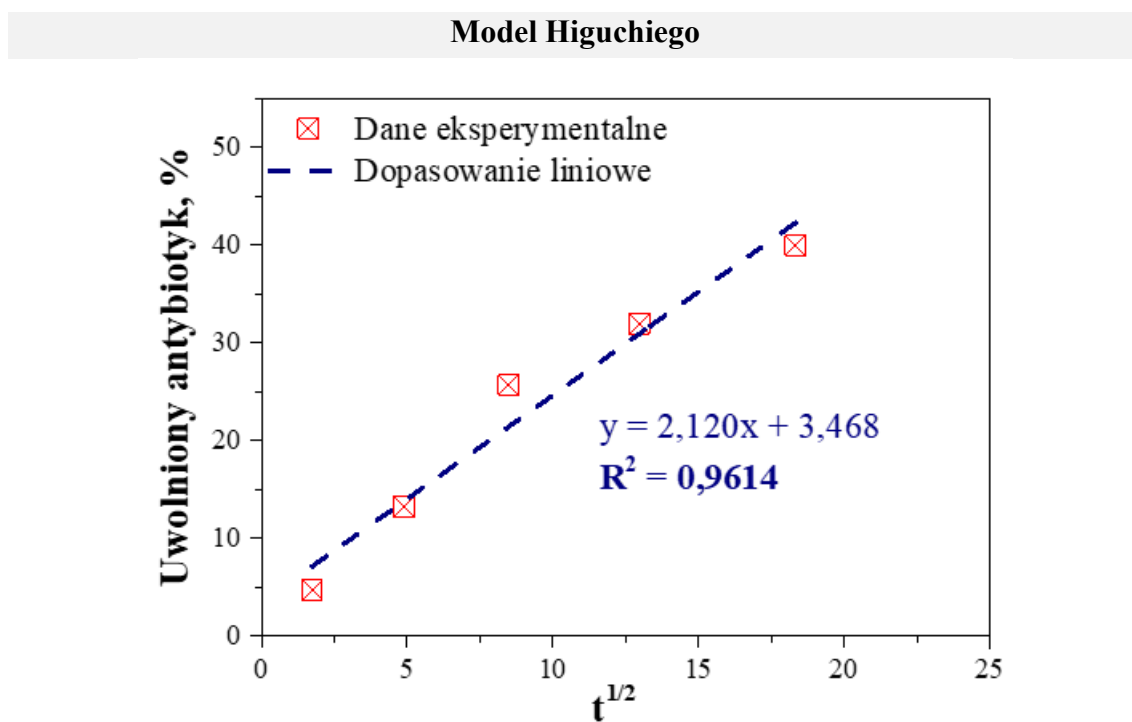
Zaprezentowany na Rysunku 93 przebieg uwalniania antybiotyku w funkcji czasu wskazuje na charakterystyczny, dwuetapowy mechanizm, w którym początkowej fazie towarzyszy szybkie uwalnianie antybiotyku (efekt *burst release*). Następnie tempo uwalniania ulega wyraźnemu spowolnieniu i stabilizuje się w dalszym okresie inkubacji, co sugeruje, że pozostała ilość klindamycyny ulega stopniowej dyfuzji z wnętrza porowatej struktury kompozytu. Całkowity stopień uwolnienia po 14 dniach wynosi około 40%, co świadczy o zdolności materiału do długoterminowego i kontrolowanego uwalniania substancji czynnej.



Rysunek 94. Uwalnianie klindamycyny z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu 0 rzędu

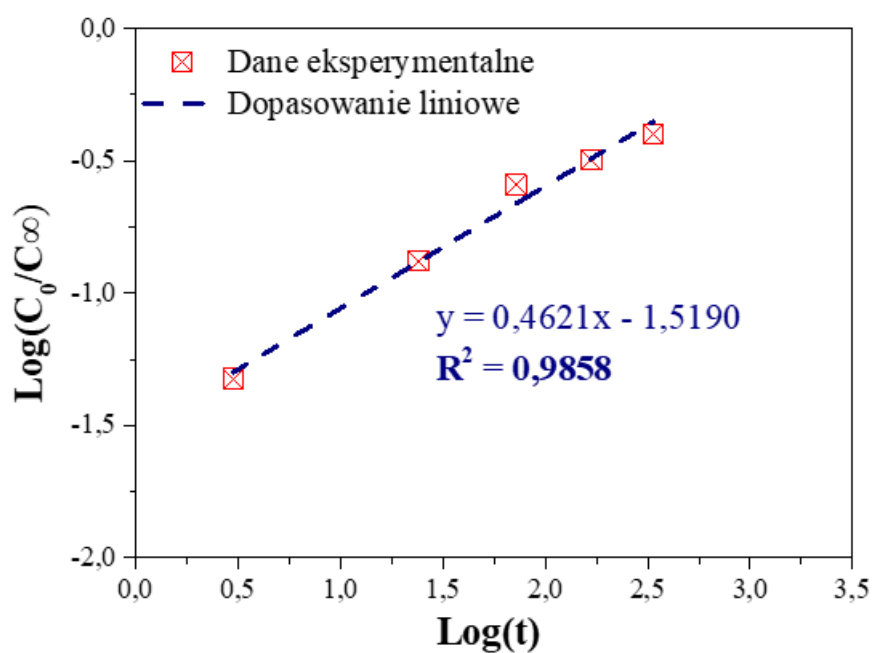


Rysunek 95. Uwalnianie klindamycyny z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu 1 rzędu



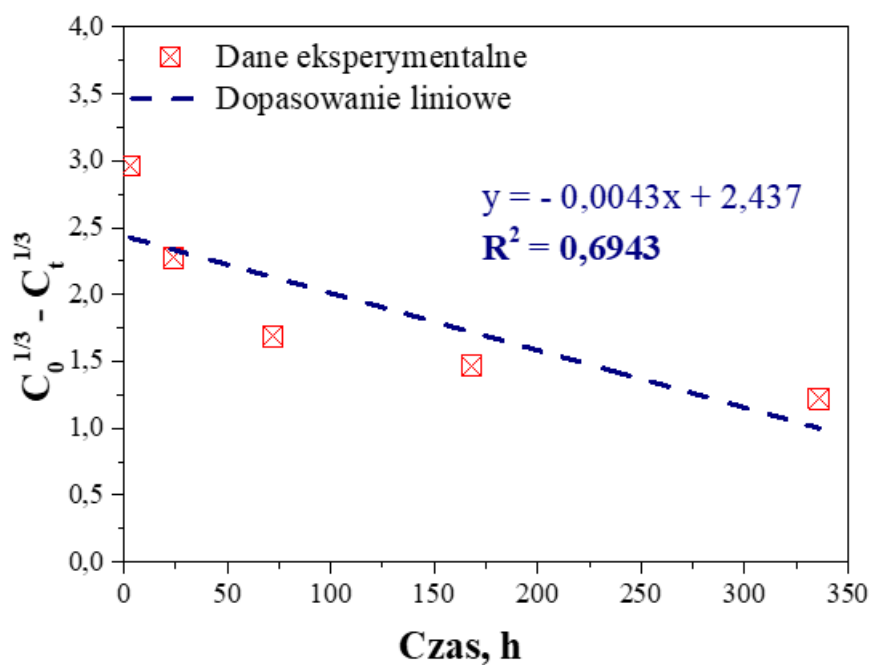
Rysunek 96. Uwalnianie klindamycyny z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu Higuchiego

Model Korsmeyera–Peppasa



Rysunek 97. Uwalnianie klindamycyny z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu Korsmayera-Peppasa

Model Hixsona–Crowella



Rysunek 98. Uwalnianie klindamycyny z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu Hixona-Crowella

Tabela 23. Wartości współczynnika determinacji R^2 dla dopasowania danych eksperymentalnych dotyczących uwalniania klindamycyny do wybranych modeli kinetycznych

Model kinetyczny	Współczynnik determinacji R^2
0 rzędu	0,8307
I rzędu	0,6165
<u>Higuchiego</u>	<u>0,9614</u>
<u>Korsmavera-Peppasa</u>	<u>0,9858</u>
Hixona-Crowella	0,6943

Analiza dopasowania danych eksperymentalnych dotyczących uwalniania klindamycyny do modeli matematycznych wskazuje, że proces ten przebiega zgodnie z bardziej złożonym mechanizmem transportu niż miało to miejsce w przypadku kolagenu. Najwyższy współczynnik determinacji uzyskano dla modelu Korsmeyera–Peppasa ($R^2 = 0,9858$), co sugeruje, że mechanizm uwalniania klindamycyny obejmuje zarówno klasyczną dyfuzję, jak i elementy związane z relaksacją sieci polimerowej. Wysokie dopasowanie do modelu Higuchiego ($R^2 = 0,9614$) dodatkowo potwierdza istotny udział kontrolowanej dyfuzji w przebiegu procesu.

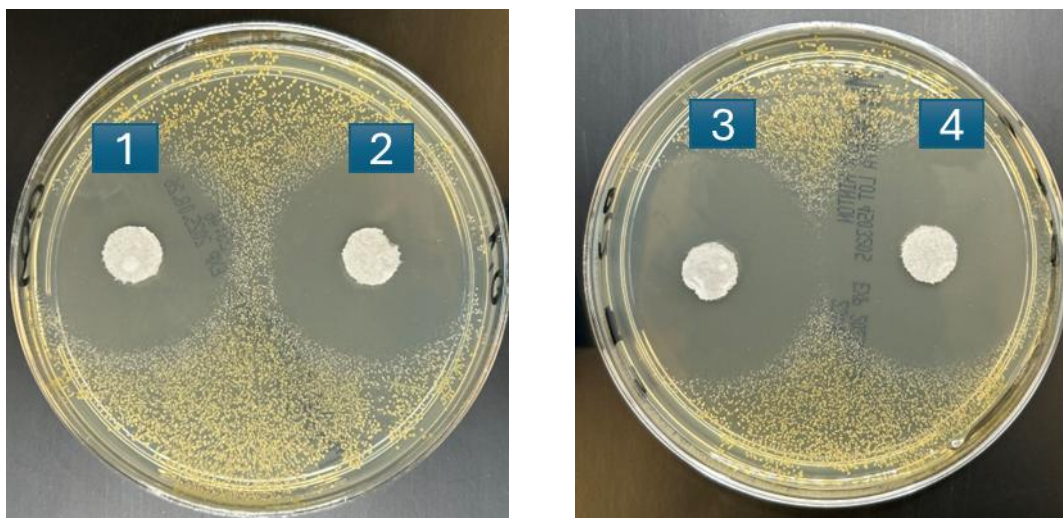
W porównaniu do wcześniejszych wyników dla kolagenu – w przypadku którego dominującym modelem był model Higuchiego – różnice te mogą wynikać ze specyfiki fizykochemicznej obu substancji. Klindamycyna została wbudowana do porowatego hydroksyapatytu i charakteryzuje się mniejszą masą cząsteczkową oraz wyższą mobilnością niż kolagen, co może sprzyjać bardziej dynamicznemu i wieloetapowemu mechanizmowi uwalniania. Spośród wszystkich testowanych modeli, najniższe dopasowanie uzyskano dla modelu pierwszego rzędu ($R^2 = 0,6165$), co jest spójne z wynikami dla kolagenu. Zarówno właściwości fizykochemiczne substancji czynnej, jak i sposób jej wprowadzenia do kompozytu wpływają na przebieg procesu, jednak w obu przypadkach uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują na dominujący udział mechanizmu kontrolowanej dyfuzji, z możliwym udziałem zjawisk relaksacyjnych sieci polimerowej.

11.3. Ocena właściwości przeciwdrobnoustrojowych

W ramach oceny funkcjonalizacji materiałów kompozytowych klindamycyną, przeprowadzono analizę aktywności przeciwdrobnoustrojowej względem bakterii *Staphylococcus aureus*, powszechnie występującego drobnoustroju Gram-dodatniego, który należy do najczęstszych patogenów odpowiedzialnych za zakażenia związane z wszczepami biomateriałów. Tego rodzaju infekcje stanowią poważne kliniczne wyzwanie w chirurgii ortopedycznej i inżynierii tkanki kostnej, prowadząc do konieczności usunięcia implantu, przewlekłych stanów zapalnych oraz znacznego wydłużenia czasu leczenia. Dlatego też projektowanie bioaktywnych materiałów

zdolnych do lokalnego hamowania wzrostu patogenów jest obecnie jednym z kluczowych kierunków rozwoju biomateriałów stosowanych w medycynie regeneracyjnej.

Wyniki oceny aktywności przeciwdrobnoustrojowej względem *S.aureus* zaprezentowano na Rysunku 99.



Rysunek 99. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa względem *S.aureus* dla płynów inkubacyjnych uzyskanych po czasie 24h (1); 72h (2); 168h (3) oraz 336 h (4)

Ocena właściwości przeciwdrobnoustrojowych została przeprowadzona z zastosowaniem standardowej metody dyfuzji z krążka, polegającej na analizie powstawania strefy zahamowania wzrostu bakterii wokół krążków nasączonych roztworem testowym. Strefa ta, widoczna jako przezroczysty obszar na powierzchni podłoża agarowego wysianego szczepem bakteryjnym, świadczy o zdolności próbki do hamowania wzrostu drobnoustrojów w wyniku obecności substancji czynnej – w tym przypadku klindamycyny – o działaniu bakteriostatycznym lub bakteriobójczym. Im większa średnica strefy inhibicji, tym wyższe stężenie i skuteczność działania uwolnionego antybiotyku w badanym czasie. Do analizy wykorzystano płyny inkubacyjne pochodzące z eksperymentu uwalniania klindamycyny, odpowiadające czterem punktom czasowym: 24 h, 72 h, 168 h oraz 336 h. Krążki bibułowe zanurzone w tych roztworach umieszczono na powierzchni pożywki agarowej z *S. aureus*, a następnie poddano 24-godzinnej inkubacji w warunkach optymalnych do wzrostu bakterii. Obserwowane strefy inhibicji wykazywały zróżnicowaną średnicę w zależności od czasu inkubacji próbki kompozytu w wodzie.

Po 24 godzinach (krążek 1) zaobserwowano powstanie umiarkowanej strefy zahamowania o średnicy ok. 17 mm, co świadczy o szybkim, początkowym uwolnieniu antybiotyku (tzw. efekt „burst release”). W kolejnym punkcie czasowym średnica strefy wzrosła do ok. 24 mm, natomiast w dniach 7 i 14 (krążki 3 i 4) osiągnęła około 27 mm. Obserwowany progresywny wzrost średnicy stref inhibicji wskazuje na stopniowe,

ale skuteczne uwalnianie klindamycyny z matrycy kompozytowej, której struktura umożliwia kontrolowaną dyfuzję cząsteczek leku z porowatego hydroksyapatytu, przy jednoczesnym wspomagającym udziale sieci polimerowej.

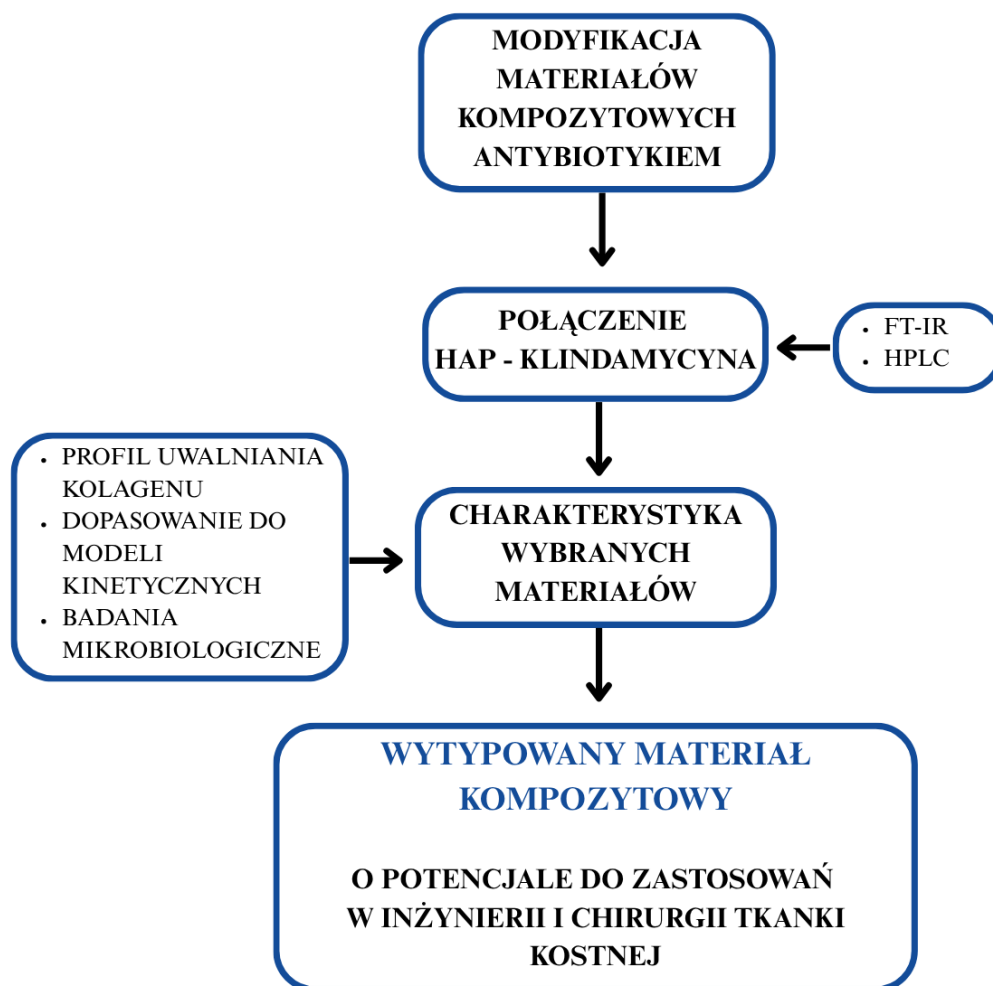
Wyniki te pozostają w ścisłej zgodności z wcześniejszymi analizami ilościowymi (HPLC) oraz modelowaniem matematycznym (model Korsmeyera–Peppasa), które wskazywały na udział zarówno klasycznej dyfuzji, jak i procesów związanych z siecią polimerową. Co szczególnie istotne z punktu widzenia zastosowania klinicznego, materiał kompozytowy wykazywał aktywność przeciwdrobnoustrojową przez co najmniej 14 dni, co potwierdza jego potencjał jako nośnika substancji czynnych w profilaktyce zakażeń okołoinplantacyjnych. Uzyskane rezultaty wskazują, że zaproponowany system kompozytowy nie tylko spełnia funkcje strukturalne i bioaktywne wymagane w regeneracji tkanki kostnej, ale również wykazuje istotną aktywność przeciwdrobnoustrojową, co może znacząco zmniejszyć ryzyko zakażeń implantologicznych i zwiększyć bezpieczeństwo terapii. Lokalna, kontrolowana dystrybucja antybiotyku może zapewnić redukcję dawek ogólnoustrojowych i zminimalizować ryzyko wystąpienia oporności bakteryjnej, co czyni takie rozwiązania szczególnie cennymi w nowoczesnej medycynie regeneracyjnej.

11.4. Podsumowanie części IV – modyfikacja antybiotykiem

Czwarta część pracy koncentrowała się na dalszej funkcjonalizacji wybranych materiałów kompozytowych poprzez wprowadzenie substancji czynnej o działaniu przeciwdrobnoustrojowym. W oparciu o wyniki wcześniejszych badań, do modyfikacji wykorzystano kompozyt 700_HAp/Kol-w, charakteryzujący się korzystnymi właściwościami mechanicznymi, sorpcyjnymi i powierzchniowymi. Materiał ten został wzbogacony o antybiotyk – klindamycynę, należącą do grupy linkozamidów, wykazującą wysoką skuteczność wobec bakterii Gram-dodatnich, w tym *Staphylococcus aureus*, typowego patogenu infekcji okołoinplantacyjnych.

Proces modyfikacji polegał na wcześniejszym nasyceniu porowatego HAp klindamycyną na drodze sorpcji, co pozwoliło na skuteczne osadzenie cząsteczek leku bez naruszenia struktury ceramicznej. Potwierdzenie obecności klindamycyny w materiale uzyskano przy użyciu metod HPLC oraz FT-IR. Następnie przeprowadzono badania kinetyki uwalniania substancji czynnej z kompozytu, wskazujące na dwufazowy charakter procesu: początkowe szybkie uwalnianie (burst release), a następnie stopniową, kontrolowaną dyfuzję przez kolejne dni inkubacji. Analiza matematyczna wykazała najlepsze dopasowanie do modelu Korsmeyera–Peppasa, co potwierdza udział mechanizmów dyfuzyjnych oraz relaksacyjnych. Dalsze badania objęły ocenę właściwości przeciwdrobnoustrojowych materiału poprzez analizę powstawania stref zahamowania wzrostu *S. aureus* wokół krążków nasączonych płynami inkubacyjnymi z poszczególnych etapów uwalniania. Wyniki jednoznacznie potwierdziły aktywność antybiotyku utrzymującą się przez cały okres badania (do 14 dni), co wyrażone zostało

stopniowym zwiększaniem średnicy stref inhibicji. Obserwowane zjawisko świadczy o efektywnym, długoterminowym działaniu przeciwdrobnoustrojowym materiału, co jest szczególnie istotne w kontekście zastosowań w inżynierii tkanki kostnej oraz profilaktyce infekcji związanych z wszczepami.



Rysunek 100. Schemat podsumowania części IV - modyfikacja antybiotykiem

12. WNIOSKI KOŃCOWE

W ramach niniejszej pracy opracowano i kompleksowo scharakteryzowano biomateriały kompozytowe na bazie hydroksyapatytu oraz wybranych polimerów syntetycznych i naturalnych, modyfikowane dodatkami bioaktywnymi. Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów oraz analizy otrzymanych wyników sformułowano następujące wnioski:

- Opracowana metoda syntezy hydroksyapatytu metodą mokrej precypitacji pozwala na uzyskanie materiału o wysokiej czystości fazowej, stosunku Ca/P zbliżonym do stechiometrycznego, wysokiej powierzchni właściwej oraz jednorodnej strukturze porowatej.
- Porównanie właściwości syntetycznego HAp z materiałem komercyjnym wykazało istotną przewagę proszku otrzymanego laboratoryjnie pod względem morfologii, stabilności zawiesiny oraz jednorodności rozkładu wielkości cząstek, co wskazuje na jego większy potencjał aplikacyjny.
- Otrzymane kompozyty ceramiczno-polimerowe zawierające HAp i matrycę PVA/PVP wykazały wysoką stabilność, korzystne właściwości sorpcyjne i biogodność, a także zdolność do fotopolimeryzacji, co czyni je odpowiednimi do dalszej funkcjonalizacji.
- Wprowadzenie kolagenu wpłynęło korzystnie na właściwości mechaniczne kompozytów (zwiększenie elastyczności, poprawa parametrów chropowatości), bez istotnego pogorszenia stabilności strukturalnej, co wskazuje na skuteczną integrację fazy bioaktywnej w matrycy polimerowej. Ponadto, modyfikacja kolagenem istotnie zwiększyła ich właściwości hydrofilowe kompozytów.
- Modyfikacja materiałów kompozytowych klindamycyną umożliwiła uzyskanie systemu o kontrolowanym profilu uwalniania antybiotyku i wykazującego wyraźne właściwości przeciwdrobnoustrojowe wobec *Staphylococcus aureus*, co potwierdzono metodą dyfuzji krążkowej.
- Analizy biologiczne (test MTT, NF- κ B, scratch assay) wykazały, że opracowane kompozyty są biogodne, nie wykazują cytotoksyczności i wspierają regenerację komórek, a poziom aktywacji prozapalnej pozostaje na niskim, akceptowalnym poziomie.

Cel niniejszej rozprawy doktorskiej został zrealizowany, a uzyskane wyniki badań potwierdzają zasadność postawionej tezy naukowej. Opracowane biomateriały kompozytowe, łączące hydroksyapatyt z fazą polimerową oraz bioaktywnymi dodatkami, wykazały korzystne właściwości fizykochemiczne, mechaniczne i biologiczne, istotne w kontekście inżynierii i chirurgii regeneracyjnej. Szczególnie obiecującym

rozwiązaniem okazał się kompozyt zawierający syntetyczny hydroksyapatyt, kolagen wołowy oraz klindamycynę, który wykazał synergiczne działanie strukturalne, wspierał procesy regeneracyjne i wykazywał aktywność przeciwdrobnoustrojową. Tak zaprojektowany materiał może pełnić funkcję zarówno rusztowania kostnego, jak i nośnika substancji bioaktywnych, odpowiadając na potrzeby leczenia ubytków kostnych, także w przebiegu osteoporozy.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na możliwość racjonalnego projektowania wielofunkcyjnych biomateriałów kompozytowych poprzez odpowiednią kontrolę ich składu, mikrostruktury oraz kierunkową funkcjonalizację, co otwiera nowe perspektywy rozwoju materiałów dostosowanych do konkretnych wskazań klinicznych. Uzyskane rezultaty stanowią również punkt wyjścia do dalszych badań, w tym testów *in vivo* oraz pogłębionej oceny interakcji materiału z tkanką kostną w warunkach biologicznych.

STRESZCZENIE

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było opracowanie oraz kompleksowa charakterystyka biomateriałów kompozytowych przeznaczonych do zastosowań w inżynierii i chirurgii tkanki kostnej. Praca koncentrowała się na otrzymaniu materiałów opartych na hydroksyapatycie (HAp) i wybranych polimerach syntetycznych, modyfikowanych dodatkami bioaktywnymi (kolagenem i klindamycyną) w celu nadania im właściwości regeneracyjnych i przeciwdrobnoustrojowych. Założono, że odpowiednio zaprojektowane kompozyty będą wykazywać korzystne właściwości fizykochemiczne, mechaniczne i biologiczne, odpowiadające aktualnym potrzebom klinicznym, szczególnie w kontekście leczenia ubytków kostnych związanych z osteoporozą.

W pierwszym etapie pracy przeprowadzono syntezę fazy ceramicznej, metodą mokrej precypitacji, optymalizując warunki reakcji pod kątem czystości fazowej, struktury porowatej oraz biogodności. Uzyskany materiał porównano z hydroksyapatytem komercyjnym, wykazując wyraźne korzyści wynikające z kontrolowanego procesu syntezy. Następnie opracowano kompozyty polimerowo-ceramiczne z udziałem PVA, PVP i PEGDA, analizując ich stabilność, morfologię, zwilżalność, chropowatość oraz właściwości mechaniczne. W kolejnych etapach przeprowadzono funkcjonalizację materiałów: wprowadzenie kolagenu rybiego lub wołowego poprawiło ich właściwości powierzchniowe i mechaniczne, natomiast dodatek klindamycyny zapewnił materiałom aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec *Staphylococcus aureus*,. Ocena właściwości biologicznych obejmowała testy cytotoksyczności, aktywności prozapalnej oraz model gojenia rany in vitro. Uzyskane wyniki potwierdziły brak cytotoksyczności oraz korzystny wpływ opracowanych materiałów na proliferację komórek i procesy regeneracyjne.

Najbardziej obiecującym rozwiązaniem okazał się kompozyt zawierający syntetyczny HAp, kolagen wołowy oraz klindamycynę. Badania potwierdziły możliwość projektowania biomateriałów kompozytowych o właściwościach dostosowanych do wymagań konkretnego zastosowania klinicznego. Opracowane materiały stanowią potencjalną podstawę do dalszych badań w kierunku ich wykorzystania w medycynie regeneracyjnej, ze szczególnym uwzględnieniem terapii ubytków kostnych oraz zapobiegania infekcjom okołowszczepowym.

SUMMARY

The aim of this doctoral dissertation was the development and comprehensive characterization of composite biomaterials intended for applications in bone tissue engineering and surgery. The study focused on the fabrication of materials based on hydroxyapatite (HAp) and selected synthetic polymers, modified with bioactive additives (collagen and clindamycin) to impart regenerative and antimicrobial properties. It was hypothesized that appropriately designed composites would exhibit favorable physicochemical, mechanical, and biological properties, aligned with current clinical demands, particularly in the context of treating bone defects associated with osteoporosis. In the initial stage of the study, the ceramic phase was synthesized using a wet precipitation method, with optimization of reaction conditions in terms of phase purity, porous structure, and biocompatibility. The resulting material was compared to commercially available hydroxyapatite, demonstrating clear advantages resulting from the controlled synthesis process. Subsequently, polymer-ceramic composites were developed using PVA, PVP, and PEGDA, with an analysis of their stability, morphology, wettability, roughness, and mechanical properties. In the following stages, functionalization of the materials was carried out: the incorporation of fish or bovine collagen improved their surface and mechanical properties, while the addition of clindamycin conferred antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*. The evaluation of biological properties included cytotoxicity testing, assessment of pro-inflammatory activity, and an in vitro wound healing model. The obtained results confirmed the absence of cytotoxic effects and a positive influence of the developed materials on cell proliferation and regenerative processes.

The most promising solution proved to be the composite containing synthetic HAp, bovine collagen, and clindamycin. The study confirmed the feasibility of designing composite biomaterials with properties tailored to specific clinical applications. The developed materials constitute a potential basis for further research toward their use in regenerative medicine, with particular emphasis on the treatment of bone defects and the prevention of peri-implant infections.

LITERATURA

1. Franz, S.; Rammelt, S.; Scharnweber, D.; Simon, J.C. Immune Responses to Implants – A Review of the Implications for the Design of Immunomodulatory Biomaterials. *Biomaterials* **2011**, *32*, 6692–6709, doi:https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.05.078.
2. I - Introduction. In *Materials Today*; Williams, D., Zhang, X.B.T.-D. of B. for the T.-F.C., Eds.; Elsevier, 2019; pp. 1–14 ISBN 978-0-12-818291-8.
3. Marin, E.; Boschetto, F.; Pezzotti, G. Biomaterials and Biocompatibility: An Historical Overview. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2020**, *108*, 1617–1633, doi:10.1002/jbm.a.36930.
4. Bergmann, C.P.; Stumpf, A. Biomaterials BT - Dental Ceramics: Microstructure, Properties and Degradation. In; Bergmann, C., Stumpf, A., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2013; pp. 9–13 ISBN 978-3-642-38224-6.
5. Chen, Q. *Biomaterials: A Basic Introduction*; 2014; ISBN 9780429161414.
6. Ratner, B.D. Chapter II.1.1 - Introduction: Biology and Medicine – Key Concepts in the Use of Biomaterials in Surgery and Medical Devices. In; Ratner, B.D., Hoffman, A.S., Schoen, F.J., Lemons, J.E.B.T.-B.S. (Third E., Eds.; Academic Press, 2013; pp. 393–394 ISBN 978-0-12-374626-9.
7. Fries, R. Biomaterials--The Intersection of Biology and Materials Science (Temenoff, J.S. et Al.; 2008) [Book Reviews]. *IEEE Eng. Med. Biol. Mag. - IEEE ENG MED BIOL MAG* **2009**, *28*, 94, doi:10.1109/MEMB.2009.932894.
8. Biomaterials. In *An Introduction To Tissue-Biomaterial Interactions*; 2002; pp. 1–13 ISBN 9780471270591.
9. Silver, F.H.; Christiansen, D.L. Introduction to Biomaterials Science and Biocompatibility BT - Biomaterials Science and Biocompatibility. In; Silver, F.H., Christiansen, D.L., Eds.; Springer New York: New York, NY, 1999; pp. 1–26 ISBN 978-1-4612-0557-9.
10. Stanciu, L.; Diaz-Amaya, S. Chapter 7 - Composite Biomaterials. In *Biomedical Engineering*; Stanciu, L., Diaz-Amaya, S.B.T.-I.B., Eds.; Academic Press: Boston, 2022; pp. 149–169 ISBN 978-0-12-809263-7.
11. Zhang, Y.S.; Khademhosseini, A. Advances in Engineering Hydrogels. *Science* **2017**, *356*, doi:10.1126/science.aaf3627.
12. Suzuki, O.; Shiwaku, Y.; Hamai, R. Octacalcium Phosphate Bone Substitute Materials: Comparison between Properties of Biomaterials and Other Calcium Phosphate Materials. *Dent. Mater. J.* **2020**, *39*, 187–199, doi:10.4012/dmj.2020-001.
13. Chaudhary, S.; Ghosal, D.; Tripathi, P.; Kumar, S. Cellular Metabolism: A Link Connecting Cellular Behaviour with the Physiochemical Properties of Biomaterials for Bone Tissue Engineering. *Biomater. Sci.* **2023**, *11*, 2277–2291, doi:10.1039/d2bm01410f.
14. Lee, J.; Byun, H.; Madhurakkat Perikamana, S.K.; Lee, S.; Shin, H. Current Advances in Immunomodulatory Biomaterials for Bone Regeneration. *Adv. Healthc. Mater.* **2019**, *8*, e1801106, doi:10.1002/adhm.201801106.
15. Wang, L.; Wang, C.; Wu, S.; Fan, Y.; Li, X. Influence of the Mechanical Properties of Biomaterials on Degradability, Cell Behaviors and Signaling Pathways: Current Progress and Challenges. *Biomater. Sci.* **2020**, *8*, 2714–2733, doi:10.1039/d0bm00269k.
16. Zhang, H.; Cheng, J.; Ao, Q. Preparation of Alginate-Based Biomaterials and Their

- Applications in Biomedicine. *Mar. Drugs* **2021**, *19*, doi:10.3390/md19050264.
17. Haugen, H.J.; Lyngstadaas, S.P.; Rossi, F.; Perale, G. Bone Grafts: Which Is the Ideal Biomaterial? *J. Clin. Periodontol.* **2019**, *46 Suppl 2*, 92–102, doi:10.1111/jcpe.13058.
 18. Dec, P.; Modrzejewski, A.; Pawlik, A. Existing and Novel Biomaterials for Bone Tissue Engineering. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *24*, doi:10.3390/ijms24010529.
 19. Patil-Sen, Y. Advances in Nano-Biomaterials and Their Applications in Biomedicine. *Emerg. Top. life Sci.* **2021**, *5*, 169–176, doi:10.1042/ETLS20200333.
 20. Blanco-Fernandez, B.; Castaño, O.; Mateos-Timoneda, M.Á.; Engel, E.; Pérez-Amodio, S. Nanotechnology Approaches in Chronic Wound Healing. *Adv. wound care* **2021**, *10*, 234–256, doi:10.1089/wound.2019.1094.
 21. Wang, Y.; Guo, L.; Dong, S.; Cui, J.; Hao, J. Microgels in Biomaterials and Nanomedicines. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2019**, *266*, 1–20, doi:10.1016/j.cis.2019.01.005.
 22. Van Tassel, P.R. Nanotechnology in Medicine: Nanofilm Biomaterials. *Yale J. Biol. Med.* **2013**, *86*, 527–536.
 23. Chen, S.; Tong, X.; Huo, Y.; Liu, S.; Yin, Y.; Tan, M.-L.; Cai, K.; Ji, W. Piezoelectric Biomaterials Inspired by Nature for Applications in Biomedicine and Nanotechnology. *Adv. Mater.* **2024**, *36*, e2406192, doi:10.1002/adma.202406192.
 24. Jawarkar, S.G.; Pillai, M.; Chavan, P.; Sengupta, P. Next-Generation Smart Biomaterials for Storage and Extraction of Bioanalytical Samples: Current Standing and Path Forward. *Microchem. J.* **2024**, *207*, 111846, doi:https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.111846.
 25. Conzatti, G.; Cavalie, S.; Gayet, F.; Torrisani, J.; Carrère, N.; Tournette, A. Elaboration of a Thermosensitive Smart Biomaterial: From Synthesis to the Ex Vivo Bioadhesion Evaluation. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2019**, *175*, 91–97, doi:https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.11.084.
 26. Amukarimi, S.; Rezvani, Z.; Eghtesadi, N.; Mozafari, M. Smart Biomaterials: From 3D Printing to 4D Bioprinting. *Methods* **2022**, *205*, 191–199, doi:https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2022.07.006.
 27. Liu, Y.; Zhang, G.; Chen, J.; Zhang, Z.; Wu, Q.; Zhang, L.; Zhu, S.; Liang, Q.; Wu, Z.; Luo, X.; et al. Photoresponsive Protamine Ionic Complex towards a Smart Hemostatic Biomaterial. *Int. J. Biol. Macromol.* **2024**, *281*, 136212, doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136212.
 28. Latha, M.B.; Shetty, A.K.; Deveswaran, R.; Rai, A.J.; Joy, S.; Shashanka, H.M.; Muhammad Hussain, S.S.; Shetty, S. Analysis of Smart Biomaterial Containing Umbilical Cord Blood Serum Protein Conjugated with P-(NIPAAm) Using Spectroscopy. *Mater. Today Proc.* **2023**, *80*, 1501–1505, doi:https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.01.285.
 29. Rosa, V.; Silikas, N.; Yu, B.; Dubey, N.; Sriram, G.; Zinelis, S.; Lima, A.F.; Bottino, M.C.; Ferreira, J.N.; Schmalz, G.; et al. Guidance on the Assessment of Biocompatibility of Biomaterials: Fundamentals and Testing Considerations. *Dent. Mater.* **2024**, *40*, 1773–1785, doi:https://doi.org/10.1016/j.dental.2024.07.020.
 30. Daghrery, A.; Dal-Fabbro, R.; dos Reis-Prado, A.H.; de Souza Araújo, I.J.; Fischer, N.G.; Rosa, V.; Silikas, N.; Aparicio, C.; Watts, D.C.; Bottino, M.C. Guidance on the Assessment of the Functionality of Biomaterials for Periodontal Tissue Regeneration: Methodologies and Testing Procedures. *Dent. Mater.* **2025**, *41*, 306–318, doi:https://doi.org/10.1016/j.dental.2024.12.018.

31. Parihar, A.; Parihar, D.S.; Gaur, K.; Arya, N.; Choubey, V.K.; Khan, R. 3D Bioprinting for Drug Development and Screening: Recent Trends towards Personalized Medicine. *Hybrid Adv.* **2024**, *7*, 100320, doi:<https://doi.org/10.1016/j.hybadv.2024.100320>.
32. Mazurek-Popczyk, J.; Palka, L.; Arkusz, K.; Dalewski, B.; Baldy-Chudzik, K. Personalized, 3D- Printed Fracture Fixation Plates versus Commonly Used Orthopedic Implant Materials- Biomaterials Characteristics and Bacterial Biofilm Formation. *Injury* **2022**, *53*, 938–946, doi:<https://doi.org/10.1016/j.injury.2021.12.020>.
33. Carmen, M.; Alexandra, E. Biomaterials with Controlled Elasticity for Post-Operation Recovery. In *Woodhead Publishing Series in Textiles*; Anand, S.C., Kennedy, J.F., Miraftab, M., Rajendran, S.B.T.-M. and H.T., Eds.; Woodhead Publishing, 2010; pp. 263–271 ISBN 978-1-84569-224-7.
34. Behera, A. Classification of Biomaterials Used in Medicine. *Int. J. Adv. Appl. Sci.* **2012**, *1*, 125~129.
35. Kongkiatkamon, S.; Rokaya, D.; Kengtanyakich, S.; Peampring, C. Current Classification of Zirconia in Dentistry: An Updated Review. *PeerJ* **2023**, *11*, e15669, doi:[10.7717/peerj.15669](https://doi.org/10.7717/peerj.15669).
36. Arjunan, A.; Baroutaji, A.; A. S., P.; Robinson, J.; Wang, C. Classification of Biomaterial Functionality. In *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*; 2020 ISBN 9780128035818.
37. Liu, S.; Yu, J.-M.; Gan, Y.-C.; Qiu, X.-Z.; Gao, Z.-C.; Wang, H.; Chen, S.-X.; Xiong, Y.; Liu, G.-H.; Lin, S.-E.; et al. Biomimetic Natural Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine: New Biosynthesis Methods, Recent Advances, and Emerging Applications. *Mil. Med. Res.* **2023**, *10*, 16, doi:[10.1186/s40779-023-00448-w](https://doi.org/10.1186/s40779-023-00448-w).
38. Alvarez Echazú, M.I.; Perna, O.; Olivetti, C.E.; Antezana, P.E.; Municoy, S.; Tuttolomondo, M. V; Galdopórpora, J.M.; Alvarez, G.S.; Olmedo, D.G.; Desimone, M.F. Recent Advances in Synthetic and Natural Biomaterials-Based Therapy for Bone Defects. *Macromol. Biosci.* **2022**, *22*, e2100383, doi:[10.1002/mabi.202100383](https://doi.org/10.1002/mabi.202100383).
39. Chen, F.-M.; Liu, X. Advancing Biomaterials of Human Origin for Tissue Engineering. *Prog. Polym. Sci.* **2016**, *53*, 86–168, doi:<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2015.02.004>.
40. Singh, A.K.; Sundram, S.; Malviya, R. Human-Derived Biomaterials for Biomedical and Tissue Engineering Applications. *Curr. Pharm. Des.* **2023**, *29*, 584–603, doi:[10.2174/1381612829666230320103412](https://doi.org/10.2174/1381612829666230320103412).
41. Paulin, J. V; Bufon, C.C.B. Sustainable Brain-Inspired Electronics: Digging into Natural Biomaterials for Healthcare Applications. *RSC Sustain.* **2024**, *2*, 3235–3263, doi:<https://doi.org/10.1039/d4su00459k>.
42. Eccles, L.E.; Aikman, E.L.; McTyer, J.B.; Matías Cruz, I.L.; Richgels, A.L.; Stoppel, W.L. Exploring the Functional Properties of Plodia interpunctella Silk Fibers as a Natural Biopolymer for Biomaterial Applications. *Mater. Today Commun.* **2025**, *42*, 111416, doi:<https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2024.111416>.
43. Zhao, Y.; Lee, S.; Long, T.; Park, H.-L.; Lee, T.-W. Natural Biomaterials for Sustainable Flexible Neuromorphic Devices. *Biomaterials* **2025**, *314*, 122861, doi:<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2024.122861>.
44. DeStefano, V.; Khan, S.; Tabada, A. Applications of PLA in Modern Medicine. *Eng. Regen.* **2020**, *1*, 76–87, doi:<https://doi.org/10.1016/j.engreg.2020.08.002>.
45. Knop, K.; Hoogenboom, R.; Fischer, D.; Schubert, U.S. Poly(Ethylene Glycol) in

- Drug Delivery: Pros and Cons as Well as Potential Alternatives. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2010**, *49*, 6288–6308, doi:10.1002/anie.200902672.
46. Malikmammadov, E.; Tanir, T.E.; Kiziltay, A.; Hasirci, V.; Hasirci, N. PCL and PCL-Based Materials in Biomedical Applications. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2018**, *29*, 863–893, doi:10.1080/09205063.2017.1394711.
 47. Paxton, N.C.; Allenby, M.C.; Lewis, P.M.; Woodruff, M.A. Biomedical Applications of Polyethylene. *Eur. Polym. J.* **2019**, *118*, 412–428, doi:https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.05.037.
 48. Panayides, J.-L.; Riley, D.L.; Hasenmaile, F.; van Otterlo, W.A.L. The Role of Silicon in Drug Discovery: A Review. *RSC Med. Chem.* **2024**, *15*, 3286–3344, doi:10.1039/D4MD00169A.
 49. Roina, Y.; Auber, F.; Hocquet, D.; Herlem, G. EPTFE Functionalization for Medical Applications. *Mater. Today Chem.* **2021**, *20*, 100412, doi:https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2020.100412.
 50. Aldana, A.A.; Bauer, J.; Baker, M.B. Chapter 6 - Synthetic Biomaterials. In; De Boer, J., Blitterswijk, C.A.V., Uquillas, J.A., Malik, N.B.T.-T.E. (Third E., Eds.; Academic Press, 2023; pp. 173–212 ISBN 978-0-12-824459-3.
 51. Prete, S.; Dattilo, M.; Patitucci, F.; Pezzi, G.; Parisi, O.I.; Puoci, F. Natural and Synthetic Polymeric Biomaterials for Application in Wound Management. *J. Funct. Biomater.* **2023**, *14*, doi:10.3390/jfb14090455.
 52. Samavedi, S.; Poindexter, L.K.; Van Dyke, M.; Goldstein, A.S. Chapter 7 - Synthetic Biomaterials for Regenerative Medicine Applications. In; Orlando, G., Lerut, J., Soker, S., Stratta, R.J.B.T.-R.M.A. in O.T., Eds.; Academic Press: Boston, 2014; pp. 81–99 ISBN 978-0-12-398523-1.
 53. Chelu, M.; Musuc, A.M. Advanced Biomedical Applications of Multifunctional Natural and Synthetic Biomaterials. *Processes* **2023**, *11*, doi:10.3390/pr11092696.
 54. Lopez-Cebral, R.; Martín-Pastor, M.; Parraga, J.E.; Zorzi, G.K.; Seijo, B.; Sanchez, A. Chemically Modified Gelatin as Biomaterial in the Design of New Nanomedicines. *Med. Chem.* **2011**, *7*, 145–154, doi:10.2174/157340611795564277.
 55. Herrera-Ruiz, A.; Tovar, B.B.; García, R.G.; Tamez, M.F.L.; Mamidi, N. Nanomaterials-Incorporated Chemically Modified Gelatin Methacryloyl-Based Biomedical Composites: A Novel Approach for Bone Tissue Engineering. *Pharmaceutics* **2022**, *14*, doi:10.3390/pharmaceutics14122645.
 56. Rodríguez Cabello, J.C.; González De Torre, I.; Santos, M.; Testera, A.M.; Alonso, M. Chemical Modification of Biomaterials from Nature. In *Biomaterials from Nature for Advanced Devices and Therapies*; 2016; pp. 444–474 ISBN 9781119126218.
 57. Asempour, F.; Emadzadeh, D.; Matsuura, T.; Kruczek, B. Synthesis and Characterization of Novel Cellulose Nanocrystals-Based Thin Film Nanocomposite Membranes for Reverse Osmosis Applications. *Desalination* **2018**, *439*, 179–187, doi:https://doi.org/10.1016/j.desal.2018.04.009.
 58. Aalbers, G.J.W.; Boott, C.E.; D’Acerno, F.; Lewis, L.; Ho, J.; Michal, C.A.; Hamad, W.Y.; MacLachlan, M.J. Post-Modification of Cellulose Nanocrystal Aerogels with Thiol–Ene Click Chemistry. *Biomacromolecules* **2019**, *20*, 2779–2785, doi:https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b00533.
 59. Gomri, C.; Cretin, M.; Semsarilar, M. Recent Progress on Chemical Modification of Cellulose Nanocrystal (CNC) and Its Application in Nanocomposite Films and Membranes-A Comprehensive Review. *Carbohydr. Polym.* **2022**, *294*, 119790, doi:https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119790.

60. Kong, Y.-M.; Bae, C.-J.; Lee, S.-H.; Kim, H.-W.; Kim, H.-E. Improvement in Biocompatibility of ZrO₂-Al₂O₃ Nano-Composite by Addition of HA. *Biomaterials* **2005**, *26*, 509–517, doi:10.1016/j.biomaterials.2004.02.061.
61. Kumar, A.; Banerjee, S.; Roy, P.; Xu, H.; Mariappan, C.R. Osteogenesis and Cytocompatibility Compression of Cerium and Gallium Doped Mesoporous Bioactive Glass-Ceramics. *J. Non. Cryst. Solids* **2023**, *620*, 122598, doi:https://doi.org/10.1016/j.jnoncrsol.2023.122598.
62. Deng, Z.; Liu, D.; Liu, G.; Xiong, Y.; Xin, S.; Li, S.; Li, C.; Chen, T. Study on the Corrosion Resistance of SiC Particle-Reinforced Hydroxyapatite-silver Gradient Bioactive Ceramic Coatings Prepared by Laser Cladding. *Surf. Coatings Technol.* **2023**, *467*, 129734, doi:https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2023.129734.
63. Liu, Y.; Li, H.; Zhang, B.T. Chapter 9 - Nanostructured Ceramic Coating Biomaterials. In *Micro and Nano Technologies*; Yang, G.-J., Suo, X.B.T.-A.N. and C. by T.S., Eds.; Elsevier, 2019; pp. 291–311 ISBN 978-0-12-813870-0.
64. Llama-Palacios, A.; Sánchez, M.C.; Díaz, L.A.; Cabal, B.; Suárez, M.; Moya, J.S.; Torrecillas, R.; Figuero, E.; Sanz, M.; Herrera, D. In Vitro Biofilm Formation on Different Ceramic Biomaterial Surfaces: Coating with Two Bactericidal Glasses. *Dent. Mater.* **2019**, *35*, 883–892, doi:https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.03.003.
65. Huang, W.; Li, Z.; Xiong, J.; Zhang, C.; Gan, J.; Fu, Q.; Li, Y.; Wen, R.; He, F.; Shi, H. Fabrication of 3D-Printed Ca₂Sr(PO₄)₂-Based Composite Ceramic Scaffolds as Potential Bone Regenerative Biomaterials. *Ceram. Int.* **2024**, *50*, 41703–41710, doi:https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2024.08.021.
66. Ebrahimi, M.; Kermanpur, A.; Kharaziha, M.; Bagherifard, S. Engineering of Multilayered Coating on Additively Manufactured Ti-6Al-4V Porous Implants to Promote Tribological and Fatigue Performances. *Surf. Coatings Technol.* **2024**, *494*, 131400, doi:https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2024.131400.
67. Safari-Gezaz, M.; Parhizkar, M. Effect of Ionic Liquid as a Surfactant in Hydroxyapatite Coatings for Improvement Corrosion Resistance of Ti-6Al-4V Substrates for Implant Applications. *Heliyon* **2024**, *10*, e40990, doi:https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e40990.
68. Mecnas, P.; Espinosa, D.G.; Cardoso, P.C.; Normando, D. Stainless Steel or Titanium Mini-Implants? *Angle Orthod.* **2020**, *90*, 587–597, doi:10.2319/081619-536.1.
69. Barros, S.E.; Vanz, V.; Chiqueto, K.; Janson, G.; Ferreira, E. Mechanical Strength of Stainless Steel and Titanium Alloy Mini-Implants with Different Diameters: An Experimental Laboratory Study. *Prog. Orthod.* **2021**, *22*, 9, doi:10.1186/s40510-021-00352-w.
70. Kumar, P.; Sawant, M.S.; Jain, N.K.; Gupta, S. Study of Mechanical Characteristics of Additively Manufactured Co-Cr-Mo-2/4/6Ti Alloys for Knee Implant Material. *CIRP J. Manuf. Sci. Technol.* **2022**, *39*, 261–275, doi:https://doi.org/10.1016/j.cirpj.2022.08.015.
71. Saha, S.; Kiran, K.U.V.; Zhang, X.; Hou, X.; Roy, S. Investigating the Tribological and Corrosion Behavior of Co–Cr Alloy as an Implant Material for Orthodontic Applications. *Wear* **2023**, *523*, 204755, doi:https://doi.org/10.1016/j.wear.2023.204755.
72. Kumar, P.; Sawant, M.S.; Jain, N.K.; Gupta, S. Microstructure Characterization of Co–Cr–Mo–XTi Alloys Developed by Micro-Plasma Based Additive Manufacturing for Knee Implants. *J. Mater. Res. Technol.* **2022**, *21*, 252–266, doi:https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2022.09.033.
73. Reddy, A.R.; Hampton, H.; Dzieza, W.K.; Toussaint, R.J. Nitinol Compression

- Staples in Foot Orthopaedic Surgery: A Systematic Review. *Foot ankle Orthop.* **2024**, 9, 24730114241300160, doi:10.1177/24730114241300158.
74. Gong, J.; Liu, J.; Song, X.; Li, Y.; Wang, Y.; Chen, Z. Investigations on Microstructure and Properties of Five TiZr-Based Refractory Multi-Principal Element Alloys for Clinical Metallic Biomaterials. *J. Alloys Compd.* **2024**, 995, 174823, doi:https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2024.174823.
 75. Nakano, T. 3 - Mechanical Properties of Metallic Biomaterials. In *Woodhead Publishing Series in Biomaterials*; Niinomi, M.B.T.-M. for B.D., Ed.; Woodhead Publishing, 2010; pp. 71–98 ISBN 978-1-84569-434-0.
 76. Luan, M.; Feng, Z.; Zhu, W.; Xing, Y.; Ma, X.; Zhu, J.; Wang, Y.; Jia, Y. Mechanism of Metal Ion-Induced Cell Death in Gastrointestinal Cancer. *Biomed. Pharmacother.* **2024**, 174, 116574, doi:https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116574.
 77. Bharadwaz, A.; Jayasuriya, A.C. Recent Trends in the Application of Widely Used Natural and Synthetic Polymer Nanocomposites in Bone Tissue Regeneration. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* **2020**, 110, 110698, doi:10.1016/j.msec.2020.110698.
 78. Pourhajrezaei, S.; Abbas, Z.; Khalili, M.A.; Madineh, H.; Jooya, H.; Babaeizad, A.; Gross, J.D.; Samadi, A. Bioactive Polymers: A Comprehensive Review on Bone Grafting Biomaterials. *Int. J. Biol. Macromol.* **2024**, 278, 134615, doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134615.
 79. Balabiyev, A.; Podolnikova, N.P.; Kilbourne, J.A.; Baluch, D.P.; Lowry, D.; Zare, A.; Ros, R.; Flick, M.J.; Ugarova, T.P. Fibrin Polymer on the Surface of Biomaterial Implants Drives the Foreign Body Reaction. *Biomaterials* **2021**, 277, 121087, doi:https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.121087.
 80. Ishihara, K.; Goto, Y.; Takai, M.; Matsuno, R.; Inoue, Y.; Konno, T. Novel Polymer Biomaterials and Interfaces Inspired from Cell Membrane Functions. *Biochim. Biophys. Acta* **2011**, 1810, 268–275, doi:10.1016/j.bbagen.2010.04.008.
 81. Lv, F.; Wang, J.; Xu, P.; Han, Y.; Ma, H.; Xu, H.; Chen, S.; Chang, J.; Ke, Q.; Liu, M.; et al. A Conductive Bioceramic/Polymer Composite Biomaterial for Diabetic Wound Healing. *Acta Biomater.* **2017**, 60, 128–143, doi:https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.07.020.
 82. Tihan, G.T.; Sereanu, V.; Meghea, A.; Voicu, G.; Albu, M.G.; Mitran, V.; Cimpean, A.; Zgârian, R.G. Innovative Methodology for Developing a Bone Grafting Composite Biomaterial Starting from the Seashell of Rapana Thomasiana. *Comptes Rendus Chim.* **2017**, 20, 440–445, doi:https://doi.org/10.1016/j.crci.2016.11.003.
 83. Composites as Biomaterials BT - Biomaterials. In; Park, J.B., Lakes, R.S., Eds.; Springer New York: New York, NY, 2007; pp. 207–224 ISBN 978-0-387-37880-0.
 84. Mahdi, N.; Hassan, A.; Al-Hasani, F.; Al-Jawher, W. Classification Of Biomaterials and Their Applications. *J. Port Sci. Res.* **2024**, 7, 281–299, doi:10.36371/port.2024.3.7.
 85. Davis, R.; Singh, A.; Jackson, M.J.; Coelho, R.T.; Prakash, D.; Charalambous, C.P.; Ahmed, W.; da Silva, L.R.R.; Lawrence, A.A. A Comprehensive Review on Metallic Implant Biomaterials and Their Subtractive Manufacturing. *Int. J. Adv. Manuf. Technol.* **2022**, 120, 1473–1530, doi:10.1007/s00170-022-08770-8.
 86. Anjaneyulu, U.; Zhang, V.; Ren, P.-G. Bioinert Ceramics for Biomedical Applications. In; 2019.
 87. Hu, M.; Fang, J.; Zhang, Y.; Wang, X.; Zhong, W.; Zhou, Z. Design and

- Evaluation a Kind of Functional Biomaterial for Bone Tissue Engineering: Selenium/Mesoporous Bioactive Glass Nanospheres. *J. Colloid Interface Sci.* **2020**, *579*, 654–666, doi:https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.06.122.
88. Hubbell, J.A. Bioactive Biomaterials. *Curr. Opin. Biotechnol.* **1999**, *10*, 123–129, doi:10.1016/s0958-1669(99)80021-4.
 89. Geevarghese, R.; Sajjadi, S.S.; Hudecki, A.; Sajjadi, S.; Jalal, N.R.; Madrakian, T.; Ahmadi, M.; Włodarczyk-Biegun, M.K.; Ghavami, S.; Likus, W.; et al. Biodegradable and Non-Biodegradable Biomaterials and Their Effect on Cell Differentiation. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, doi:10.3390/ijms232416185.
 90. Suhag, D.; Kaushik, S.; Taxak, V.B. Biodegradable Biomaterials BT - Handbook of Biomaterials for Medical Applications, Volume 1: Fundamentals. In; Suhag, D., Kaushik, S., Taxak, V.B., Eds.; Springer Nature Singapore: Singapore, 2024; pp. 55–89 ISBN 978-981-97-4818-1.
 91. Sheikh, Z.; Najeeb, S.; Khurshid, Z.; Verma, V.; Rashid, H.; Glogauer, M. Biodegradable Materials for Bone Repair and Tissue Engineering Applications. *Mater. (Basel, Switzerland)* **2015**, *8*, 5744–5794, doi:10.3390/ma8095273.
 92. Rezwan, K.; Chen, Q.Z.; Blaker, J.J.; Boccaccini, A.R. Biodegradable and Bioactive Porous Polymer/Inorganic Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Biomaterials* **2006**, *27*, 3413–3431, doi:https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.039.
 93. Goetz, L.H.; Schork, N.J. Personalized Medicine: Motivation, Challenges, and Progress. *Fertil. Steril.* **2018**, *109*, 952–963, doi:10.1016/j.fertnstert.2018.05.006.
 94. Zieliński, A.; Majkowska-Marzec, B. Introduction to the RSC Advances Themed Collection on Nano and Microscale Modifications of Biomaterials. *RSC Adv.* **2024**, *14*, 11614–11615, doi:10.1039/D4RA90035A.
 95. Hu, X.; Wang, T.; Li, F.; Mao, X. Surface Modifications of Biomaterials in Different Applied Fields. *RSC Adv.* **2023**, *13*, 20495–20511, doi:10.1039/D3RA02248J.
 96. Ferraris, S.; Yamaguchi, S.; Barbani, N.; Cristallini, C.; Gautier di Confiengo, G.; Barberi, J.; Cazzola, M.; Miola, M.; Vernè, E.; Spriano, S. The Mechanical and Chemical Stability of the Interfaces in Bioactive Materials: The Substrate-Bioactive Surface Layer and Hydroxyapatite-Bioactive Surface Layer Interfaces. *Mater. Sci. Eng. C* **2020**, *116*, 111238, doi:https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111238.
 97. Sautier, J.M.; Nefussi, J.R.; Forest, N. Surface-Reactive Biomaterials in Osteoblast Cultures: An Ultrastructural Study. *Biomaterials* **1992**, *13*, 400–402, doi:https://doi.org/10.1016/0142-9612(92)90046-Q.
 98. Modrák, M.; Trebuňová, M.; Balogová, A.F.; Hudák, R.; Živčák, J. Biodegradable Materials for Tissue Engineering: Development, Classification and Current Applications. *J. Funct. Biomater.* **2023**, *14*, doi:10.3390/jfb14030159.
 99. Tudoreanu, R.; Handrea-Dragan, I.M.; Boca, S.; Botiz, I. Insight and Recent Advances into the Role of Topography on the Cell Differentiation and Proliferation on Biopolymeric Surfaces. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, doi:10.3390/ijms23147731.
 100. Liu, F.; Xu, J.; Wu, L.; Zheng, T.; Han, Q.; Liang, Y.; Zhang, L.; Li, G.; Yang, Y. The Influence of the Surface Topographical Cues of Biomaterials on Nerve Cells in Peripheral Nerve Regeneration: A Review. *Stem Cells Int.* **2021**, *2021*, 8124444, doi:10.1155/2021/8124444.
 101. Abbasi, N.; Hamlet, S.; Love, R.M.; Nguyen, N.-T. Porous Scaffolds for Bone Regeneration. *J. Sci. Adv. Mater. Devices* **2020**, *5*, 1–9,

- doi:<https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2020.01.007>.
102. Bruining, M.J.; Paul Pijpers, A.; Kingshott, P.; Koole, L.H. Studies on New Polymeric Biomaterials with Tunable Hydrophilicity, and Their Possible Utility in Corneal Repair Surgery. *Biomaterials* **2002**, *23*, 1213–1219, doi:[https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00237-X](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00237-X).
 103. Arnal-Pastor, M.; Comín-Cebrián, S.; Martínez-Ramos, C.; Monleón Pradas, M.; Vallés-Lluch, A. Hydrophilic Surface Modification of Acrylate-Based Biomaterials. *J. Biomater. Appl.* **2016**, *30*, 1429–1441, doi:10.1177/0885328215627414.
 104. Tallawi, M.; Rosellini, E.; Barbani, N.; Cascone, M.G.; Rai, R.; Saint-Pierre, G.; Boccaccini, A.R. Strategies for the Chemical and Biological Functionalization of Scaffolds for Cardiac Tissue Engineering: A Review. *J. R. Soc. Interface* **2015**, *12*, 20150254, doi:10.1098/rsif.2015.0254.
 105. Anderson, J.M. Biological Responses to Materials. *Annu. Rev. Mater. Res.* **2001**, *31*, 81–110, doi:<https://doi.org/10.1146/annurev.matsci.31.1.81>.
 106. Du, J.; Katti, D.; Thomas, V. Interactions between Biomaterials and Biological Tissues and Cells, Part I. *JOM* **2022**, *74*, 3334–3335, doi:10.1007/s11837-022-05420-y.
 107. Ogueri, K.; Laurencin, C. Matrix-Based Bone Regenerative Engineering. In; 2020; pp. 135–148 ISBN 9780128012383.
 108. Morais, J.M.; Papadimitrakopoulos, F.; Burgess, D.J. Biomaterials/Tissue Interactions: Possible Solutions to Overcome Foreign Body Response. *AAPS J.* **2010**, *12*, 188–196, doi:10.1208/s12248-010-9175-3.
 109. Nitti, P.; Narayanan, A.; Pellegrino, R.; Villani, S.; Madaghiele, M.; Demitri, C. Cell-Tissue Interaction: The Biomimetic Approach to Design Tissue Engineered Biomaterials. *Bioengineering* **2023**, *10*, doi:10.3390/bioengineering10101122.
 110. Wilson, C.J.; Clegg, R.E.; Leavesley, D.I.; Percy, M.J. Mediation of Biomaterial-Cell Interactions by Adsorbed Proteins: A Review. *Tissue Eng.* **2005**, *11*, 1–18, doi:10.1089/ten.2005.11.1.
 111. Gorbet, M.B.; Sefton, M. V Biomaterial-Associated Thrombosis: Roles of Coagulation Factors, Complement, Platelets and Leukocytes. *Biomaterials* **2004**, *25*, 5681–5703, doi:10.1016/j.biomaterials.2004.01.023.
 112. Witherel, C.E.; Abeyayehu, D.; Barker, T.H.; Spiller, K.L. Macrophage and Fibroblast Interactions in Biomaterial-Mediated Fibrosis. *Adv. Healthc. Mater.* **2019**, *8*, e1801451, doi:10.1002/adhm.201801451.
 113. Sridharan, R.; Cameron, A.R.; Kelly, D.J.; Kearney, C.J.; O'Brien, F.J. Biomaterial Based Modulation of Macrophage Polarization: A Review and Suggested Design Principles. *Mater. Today* **2015**, *18*, 313–325, doi:<https://doi.org/10.1016/j.mattod.2015.01.019>.
 114. Ingwersen, L.-C.; Frank, M.; Naujokat, H.; Loger, K.; Bader, R.; Jonitz-Heincke, A. BMP-2 Long-Term Stimulation of Human Pre-Osteoblasts Induces Osteogenic Differentiation and Promotes Transdifferentiation and Bone Remodeling Processes. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, doi:10.3390/ijms23063077.
 115. Grotheer, V.; Skrynecki, N.; Oezel, L.; Windolf, J.; Grassmann, J. Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stromal Cells and Fibroblasts Differs Depending on Tissue Origin and Replicative Senescence. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 11968, doi:10.1038/s41598-021-91501-y.
 116. Bhat, S.; Uthappa, U.T.; Altalhi, T.; Jung, H.-Y.; Kurkuri, M.D. Functionalized Porous Hydroxyapatite Scaffolds for Tissue Engineering Applications: A Focused Review. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2022**, *8*, 4039–4076,

- doi:10.1021/acsbiomaterials.1c00438.
117. Mendes Soares, I.P.; Anselmi, C.; Kitagawa, F.A.; Ribeiro, R.A. de O.; Leite, M.L.; de Souza Costa, C.A.; Hebling, J. Nano-Hydroxyapatite-Incorporated Polycaprolactone Nanofibrous Scaffold as a Dentin Tissue Engineering-Based Strategy for Vital Pulp Therapy. *Dent. Mater.* **2022**, *38*, 960–977, doi:10.1016/j.dental.2022.03.006.
 118. Islam, M.A.; Hossain, N.; Hossain, S.; Khan, F.; Hossain, S.; Arup, M.M.R.; Chowdhury, M.A.; Rahman, M.M. Advances of Hydroxyapatite Nanoparticles in Dental Implant Applications. *Int. Dent. J.* **2025**, *75*, 2272–2313, doi:https://doi.org/10.1016/j.identj.2024.11.020.
 119. Firoozichahak, A.; Alizadeh, S.; Rahimpour, R.; Soleymani-ghoozhdi, D. Hydroxyapatite-Based Composites as Efficient Sorbents: Fabrication and Application in Sample Preparation Techniques. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2025**, *188*, 118242, doi:https://doi.org/10.1016/j.trac.2025.118242.
 120. Arkanit, K.; Senphan, T.; Issapap, N.; Mungmueang, N.; Sriket, P.; Benjakul, S.; Sriket, C. Physicochemical Properties and Bioavailability of Bio-Calcium Products from Tilapia Bone: A Comparative Study with Synthetic Hydroxyapatite. *J. Agric. Food Res.* **2025**, *19*, 101708, doi:https://doi.org/10.1016/j.jafr.2025.101708.
 121. Mohd Pu'ad, N.A.S.; Abdul Haq, R.H.; Mohd Noh, H.; Abdullah, H.Z.; Idris, M.I.; Lee, T.C. Synthesis Method of Hydroxyapatite: A Review. *Mater. Today Proc.* **2020**, *29*, 233–239, doi:https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.536.
 122. Saeri, M.R.; Afshar, A.; Ghorbani, M.; Ehsani, N.; Sorrell, C.C. The Wet Precipitation Process of Hydroxyapatite. *Mater. Lett.* **2003**, *57*, 4064–4069, doi:https://doi.org/10.1016/S0167-577X(03)00266-0.
 123. Soreto, S.; Devesa, S.; Carvalho, S.; Benzarti, Z. Sol-Gel Synthesis of Hydroxyapatite: Applications, Methods, and a Case Study. In: Devesa, S., Soreto, S., Eds.; IntechOpen: Rijeka, 2025 ISBN 978-0-85014-983-8.
 124. Peng, S.-Y.; Lin, Y.-W.; Lin, Y.-Y.; Lin, K.-L. Hydrothermal Synthesis of Hydroxyapatite Nanocrystals from Calcium-Rich Limestone Sludge Waste: Preparation, Characterization, and Application for Pb²⁺ Adsorption in Aqueous Solution. *Inorg. Chem. Commun.* **2024**, *160*, 111943, doi:https://doi.org/10.1016/j.inoche.2023.111943.
 125. Ferro, A.C.; Guedes, M. Mechanochemical Synthesis of Hydroxyapatite Using Cuttlefish Bone and Chicken Eggshell as Calcium Precursors. *Mater. Sci. Eng. C* **2019**, *97*, 124–140, doi:https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.11.083.
 126. Safin Kaosar Saad, K.; Saba, T.; Bin Rashid, A. Application of PVD Coatings in Medical Implantology for Enhanced Performance, Biocompatibility, and Quality of Life. *Heliyon* **2024**, *10*, e35541, doi:https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35541.
 127. Beig, B.; Liaqat, U.; Niazi, M.F.K.; Douna, I.; Zahoor, M.; Niazi, M.B.K. Current Challenges and Innovative Developments in Hydroxyapatite-Based Coatings on Metallic Materials for Bone Implantation: A Review. *Coatings* **2020**, *10*, doi:10.3390/coatings10121249.
 128. Ghosh, S.K.; Roy, S.K.; Kundu, B.; Datta, S.; Basu, D. Synthesis of Nano-Sized Hydroxyapatite Powders through Solution Combustion Route under Different Reaction Conditions. *Mater. Sci. Eng. B* **2011**, *176*, 14–21, doi:https://doi.org/10.1016/j.mseb.2010.08.006.
 129. Ghosh, S.K.; Datta, S.; Roy, S.K. Solution Combustion Synthesis of Calcium Hydroxyapatite Nanoparticles. *Trans. Indian Ceram. Soc.* **2004**, *63*, 27–32,

- doi:10.1080/0371750X.2004.11012125.
130. Mohamed Jalaludeen, A.; Ramakrishnan, R.; Sundari Gunasekaran, S.; Thajuddin, N.; Kuppusamy Selvam, M.; Mohamed Syed Ali, B.; Dua, R.; Ramakrishnan, P.; Ramesh, M.D.; Vinayagam, S.; et al. Advancements in Hydroxyapatite Synthesis and Surface Modifications for Emerging Biomedical Applications. *Inorg. Chem. Commun.* **2024**, *170*, 113414, doi:https://doi.org/10.1016/j.inoche.2024.113414.
 131. Wang, X.; Huang, S.; Peng, Q. Metal Ion-Doped Hydroxyapatite-Based Materials for Bone Defect Restoration. *Bioeng. (Basel, Switzerland)* **2023**, *10*, doi:10.3390/bioengineering10121367.
 132. Kubiak-Mihkelsoo, Z.; Kostrzębska, A.; Błaszczyszyn, A.; Pitułaj, A.; Dominiak, M.; Gedrange, T.; Nawrot-Hadzik, I.; Matys, J.; Hadzik, J. Ionic Doping of Hydroxyapatite for Bone Regeneration: Advances in Structure and Properties over Two Decades—A Narrative Review. *Appl. Sci.* **2025**, *15*, doi:10.3390/app15031108.
 133. Uskoković, V. Ion-Doped Hydroxyapatite: An Impasse or the Road to Follow? *Ceram. Int.* **2020**, *46*, 11443–11465, doi:https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.02.001.
 134. Alkaron, W.; Almansoori, A.; Balázs, K.; Balázs, C. Hydroxyapatite-Based Natural Biopolymer Composite for Tissue Regeneration. *Mater. (Basel, Switzerland)* **2024**, *17*, doi:10.3390/ma17164117.
 135. Vahdat, A.; Ghasemi, B.; Yousefpour, M. Synthesis of Hydroxyapatite and Hydroxyapatite/Fe₃O₄ Nanocomposite for Removal of Heavy Metals. *Environ. Nanotechnology, Monit. Manag.* **2019**, *12*, 100233, doi:https://doi.org/10.1016/j.enmm.2019.100233.
 136. Li, M.; Xiong, P.; Yan, F.; Li, S.; Ren, C.; Yin, Z.; Li, A.; Li, H.; Ji, X.; Zheng, Y.; et al. An Overview of Graphene-Based Hydroxyapatite Composites for Orthopedic Applications. *Bioact. Mater.* **2018**, *3*, 1–18, doi:https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2018.01.001.
 137. Hassanain, M.; Abdel-Ghafar, H.M.; Hamouda, H.I.; El-Hosiny, F.I.; Ewais, E.M.M. Enhanced Antimicrobial Efficacy of Hydroxyapatite-Based Composites for Healthcare Applications. *Sci. Rep.* **2024**, *14*, 26426, doi:10.1038/s41598-024-76088-4.
 138. Egawa, S.; Hirai, K.; Matsumoto, R.; Yoshii, T.; Yuasa, M.; Okawa, A.; Sugo, K.; Sotome, S. Efficacy of Antibiotic-Loaded Hydroxyapatite/Collagen Composites Is Dependent on Adsorbability for Treating Staphylococcus Aureus Osteomyelitis in Rats. *J. Orthop. Res. Off. Publ. Orthop. Res. Soc.* **2020**, *38*, 843–851, doi:10.1002/jor.24507.
 139. Hasegawa, M.; Tone, S.; Naito, Y.; Wakabayashi, H.; Sudo, A. Use of Antibiotic-Impregnated Hydroxyapatite for Infection Following Total Knee Arthroplasty. *Mod. Rheumatol.* **2021**, *31*, 1073–1077, doi:10.1080/14397595.2020.1868663.
 140. Hanu, L.G.; Simon, G.P.; Mansouri, J.; Burford, R.P.; Cheng, Y.B. Development of Polymer–Ceramic Composites for Improved Fire Resistance. *J. Mater. Process. Technol.* **2004**, *153–154*, 401–407, doi:https://doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2004.04.104.
 141. Algharaibeh, S.; Wan, H.; Al-Fodeh, R.; Ireland, A.J.; Zhang, D.; Su, B. Fabrication and Mechanical Properties of Biomimetic Nacre-like Ceramic/Polymer Composites for Chairside CAD/CAM Dental Restorations. *Dent. Mater.* **2022**, *38*, 121–132, doi:10.1016/j.dental.2021.10.016.
 142. Sawunyama, L.; Ajiboye, T.O.; Oyewo, O.; Onwudiwe, D.C. Ceramic-Polymer Composite Membranes: Synthesis Methods and Environmental Applications.

- Ceram. Int.* **2024**, *50*, 5067–5079, doi:https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2023.11.337.
143. Dziadek, M.; Stodolak-Zych, E.; Cholewa-Kowalska, K. Biodegradable Ceramic-Polymer Composites for Biomedical Applications: A Review. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* **2017**, *71*, 1175–1191, doi:10.1016/j.msec.2016.10.014.
 144. Ting, T.H. Synthesis, Characterization of Fe₃O₄/Polymer Composites with Stealth Capabilities. *Results Phys.* **2020**, *16*, 102975, doi:10.1016/j.rinp.2020.102975.
 145. Huo, X.; Li, W.; Zhu, J.; Li, L.; Li, Y.; Luo, L.; Zhu, Y. Composite Based on Fe₃O₄@BaTiO₃ Particles and Polyvinylidene Fluoride with Excellent Dielectric Properties and High Energy Density. *J. Phys. Chem. C* **2015**, *119*, 25786–25791, doi:10.1021/acs.jpcc.5b08809.
 146. Wang, L.; Kelly, P. V.; Ozveren, N.; Zhang, X.; Korey, M.; Chen, C.; Li, K.; Bhandari, S.; Tekinalp, H.; Zhao, X.; et al. Multifunctional Polymer Composite Coatings and Adhesives by Incorporating Cellulose Nanomaterials. *Matter* **2023**, *6*, 344–372, doi:https://doi.org/10.1016/j.matt.2022.11.024.
 147. Aaddouz, M.; El Yousfi, R.; Sabbahi, R.; Azzaoui, K.; Yahyaoui, M.I.; Asehraoui, A.; Hammouti, B.; Laoutid, F.; Alanazi, M.M.; Mejdoubi, E. Multifunctional Biocomposites: Synthesis, Characterization, and Prospects for Regenerative Medicine and Controlled Drug Delivery. *Molecules* **2024**, *29*, doi:10.3390/molecules29153483.
 148. Kanhed, S.; Awasthi, S.; Midha, S.; Nair, J.; Nisar, A.; Patel, A.K.; Pandey, A.; Sharma, R.; Goel, S.; Upadhyaya, A.; et al. Microporous Hydroxyapatite Ceramic Composites as Tissue Engineering Scaffolds: An Experimental and Computational Study. *Adv. Eng. Mater.* **2018**, *20*, 1701062, doi:https://doi.org/10.1002/adem.201701062.
 149. Kumawat, V.S.; Ghosh, S.B.; Bandyopadhyay-Ghosh, S. Microporous Biocomposite Scaffolds with Tunable Degradation and Interconnected Microarchitecture-A Synergistic Integration of Bioactive Chain Silicate Glass-Ceramic and Poly(ϵ -Caprolactone). *Polym. Degrad. Stab.* **2019**, *165*, 20–26, doi:https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2019.04.017.
 150. Liao, S.; Wang, W.; Uo, M.; Ohkawa, S.; Akasaka, T.; Tamura, K.; Cui, F.; Watari, F. A Three-Layered Nano-Carbonated Hydroxyapatite/Collagen/PLGA Composite Membrane for Guided Tissue Regeneration. *Biomaterials* **2005**, *26*, 7564–7571, doi:https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.05.050.
 151. Argate, N.; Olalde, B.; Atorrasagasti, G.; Valero, J.; Cifuentes, S.; Benavente, R.; Lieblich, M.; González-Carrasco, J.L. Biodegradable Bi Layered Coating on Polymeric Orthopaedic Implants for Controlled Release of Drugs. *Mater. Lett.* **2014**, *132*, 193–195, doi:10.1016/j.matlet.2014.06.070.
 152. Su, J.; Guo, L.; Zhu, H.; Jiang, Q.; Gan, T.; Cai, P.; Zhang, Q. High Toughness of 3D Printed Ceramic/Polymer Interpenetrating Phase Composite with Gradient Structures under Multi-Directional Stresses. *J. Mater. Sci.* **2025**, *60*, 4197–4210, doi:10.1007/s10853-025-10658-3.
 153. Formela, K.; Hejna, A.; Haponiuk, J.; Tercjak, A. 8 - In Situ Processing of Biocomposites via Reactive Extrusion. In; Ray, D.B.T.-B. for H.-P.A., Ed.; Woodhead Publishing, 2017; pp. 195–246 ISBN 978-0-08-100793-8.
 154. Liu, M.; Zeng, X.; Ma, C.; Yi, H.; Ali, Z.; Mou, X.; Li, S.; Deng, Y.; He, N. Injectable Hydrogels for Cartilage and Bone Tissue Engineering. *Bone Res.* **2017**, *5*, 17014, doi:10.1038/boneres.2017.14.
 155. Nicol, E. The Ageing Population in Healthcare: A Challenge to, and in, the Workforce. *Clin. Med.* **2017**, *17*, 291–292, doi:10.7861/clinmedicine.17-4-291.

156. Khan, H.T.A.; Addo, K.M.; Findlay, H. Public Health Challenges and Responses to the Growing Ageing Populations. *Public Heal. Challenges* **2024**, *3*, e213, doi:https://doi.org/10.1002/puh2.213.
157. Jones, C.H.; Dolsten, M. Healthcare on the Brink: Navigating the Challenges of an Aging Society in the United States. *npj aging* **2024**, *10*, 22, doi:10.1038/s41514-024-00148-2.
158. Aneta, B. Starzenie Się Społeczeństwa Europejskiego Jako Wyzwanie XXI Wieku. Casus Polski. *Opusc. Sociol.* **2017**, doi:10.18276/os.2017.4-04.
159. Bryła, M.; Maniecka-Bryła, I. STARZENIE SIĘ LUDNOŚCI JAKO WYZWANIE DLA POLITYKI ZDROWOTNEJ. *Polityka Społeczna* **2009**, 14–17.
160. Sng, G.G.R.; Reginster, J.-Y.; Alokail, M.S.; Chandran, M. Osteoporosis in Men—East and West: Can the Twain Meet? A Perspective from Asia. *Osteoporos. Sarcopenia* **2024**, *10*, 131–144, doi:https://doi.org/10.1016/j.afos.2024.11.001.
161. Sunil Kumar, K.H.; Bhaskar, P. Osteoporosis - An Emerging Disease of the 21(St) Century, Part 1: An Overview. *J. Fam. Med. Prim. care* **2012**, *1*, 66–68, doi:10.4103/2249-4863.94457.
162. Kanis, J.A.; Johnell, O.; Oden, A.; Sernbo, I.; Redlund-Johnell, I.; Dawson, A.; De Laet, C.; Jónsson, B. Long-Term Risk of Osteoporotic Fracture in Malmö. *Osteoporos. Int.* **2000**, *11*, 669–674, doi:10.1007/s001980070064.
163. Skolbekken, J.-A.; Østerlie, W.; Forsmo, S. Brittle Bones, Pain and Fractures – Lay Constructions of Osteoporosis among Norwegian Women Attending the Nord-Trøndelag Health Study (HUNT). *Soc. Sci. Med.* **2008**, *66*, 2562–2572, doi:https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2008.02.022.
164. Neves, J.; Navarro da Rocha, D.; Lopes, C.; Silva, M.; Sinhoreti, M.; Sobrinho, L.; Fraga, M.; Correr, A. Effect of PH Level and Calcination on the Production of Calcium Phosphates by Acidic Route of Wet Precipitation. *Cerâmica* **2021**, *67*, 236–243, doi:10.1590/0366-69132021673822965.
165. Liu, H.; Yazici, H.; Ergun, C.; Webster, T.J.; Bermek, H. An in Vitro Evaluation of the Ca/P Ratio for the Cytocompatibility of Nano-to-Micron Particulate Calcium Phosphates for Bone Regeneration. *Acta Biomater.* **2008**, *4*, 1472–1479, doi:https://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.02.025.
166. Sahadat Hossain, M.; Ahmed, S. FTIR Spectrum Analysis to Predict the Crystalline and Amorphous Phases of Hydroxyapatite: A Comparison of Vibrational Motion to Reflection. *RSC Adv.* **2023**, *13*, doi:10.1039/D3RA02580B.
167. Gheisari, H.; Karamian, E.; Abdellahi, M. A Novel Hydroxyapatite–Hardystonite Nanocomposite Ceramic. *Ceram. Int.* **2015**, *41*, 5967–5975, doi:10.1016/j.ceramint.2015.01.033.
168. Yagi, K.; Yamada, K.; Kobayashi, C.; Sugita, Y. Anharmonic Vibrational Analysis of Biomolecules and Solvated Molecules Using Hybrid QM/MM Computations. *J. Chem. Theory Comput.* **2019**, *15*, doi:10.1021/acs.jctc.8b01193.
169. Nga, N.K.; Leoni, M.; Maniglio, D.; Migliaresi, C. Hydroxyapatite Nanorods: Soft-Template Synthesis, Characterization and Preliminary in Vitro Tests. *J. Biomater. Appl.* **2012**, *28*, doi:10.1177/0885328212437065.
170. Murugesan, M.; Mangalaraj, D.; Nagamony, P.; Viswanathan, C. Core-Shell Hydroxyapatite/Mg Nanostructures: Surfactant Free Facile Synthesis, Characterization and Their in Vitro Cell Viability Studies against Leukaemia Cancer Cells (K562). *RSC Adv.* **2015**, *5*, doi:10.1039/C5RA04663G.
171. Al-Samman, M.; Labaki, M.; Giraudon, J.-M.; Lamonier, J.-F. Hydroxyapatite, a Multifunctional Material for Air, Water and Soil Pollution Control: A Review. *J.*

- Hazard. Mater.* **2019**, 383, 121139, doi:10.1016/j.jhazmat.2019.121139.
172. Reyes-Gasga, J.; Martínez-Piñeiro, E.L.; Rodríguez-Álvarez, G.; Tiznado-Orozco, G.E.; García-García, R.; Brès, E.F. XRD and FTIR Crystallinity Indices in Sound Human Tooth Enamel and Synthetic Hydroxyapatite. *Mater. Sci. Eng. C* **2013**, 33, 4568–4574, doi:https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.07.014.
 173. Afriani, F.; Dahlan, K.; Nikmatin, S.; Zuas, O. ALGINATE AFFECTING THE CHARACTERISTICS OF POROUS β -TCP/ALGINATE COMPOSITE SCAFFOLDS. *J. Optoelectron. Biomed. Mater.* **2015**, 7, 67–76.
 174. Alam, M.K.; Sahadat Hossain, M.; Akash, M.H.; Bashar, M.S.; Bahadur, N.M.; Ahmed, S. Synthesis and Characterization of Nano Dicalcium Phosphate Dihydrate from Biogenic Sources. *Results Mater.* **2025**, 25, 100666, doi:https://doi.org/10.1016/j.rinma.2025.100666.
 175. Zhang, P. Transformation of Pb(II) from Cerrusite to Chloropyromorphite in the Presence of Hydroxyapatite under Varying Conditions of PH. *Environ. Sci. Technol. - Env. SCI TECHNOL* **1999**, 33, doi:10.1021/es980268e.
 176. Dorozhkin, S. Dissolution Mechanism of Calcium Apatites in Acids: A Review of Literature. *World J. Methodol.* **2012**, 2, 1–17, doi:10.5662/wjm.v2.i1.1.
 177. Koutsopoulos, S. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Crystals: A Review Study on the Analytical Methods. *J. Biomed. Mater. Res.* **2002**, 62, 600–612, doi:https://doi.org/10.1002/jbm.10280.
 178. Stammeier, J.A.; Purgstaller, B.; Hippler, D.; Mavromatis, V.; Dietzel, M. In-Situ Raman Spectroscopy of Amorphous Calcium Phosphate to Crystalline Hydroxyapatite Transformation. *MethodsX* **2018**, 5, 1241–1250, doi:https://doi.org/10.1016/j.mex.2018.09.015.
 179. Liao, J.; Duan, X.; Li, Y.; Zheng, C.; Yang, Z.; Zhou, A.; Zou, D. Synthesis and Mechanism of Tetracalcium Phosphate from Nanocrystalline Precursor. *J. Nanomater.* **2014**, 2014, 840102, doi:https://doi.org/10.1155/2014/840102.
 180. Švecová, M.; Bartůňek, V. Facile Synthesis of Monetite Nanoparticles from Basic Raw Materials. *Ceram. Int.* **2018**, 44, 16079–16082, doi:https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.05.187.
 181. Hariani, P.; Said, M.; Salni, S. *Effect of Sintering on the Mechanical Properties of Hydroxyapatite from Fish Bone (Pangasius Hypophthalmus)*; 2019; Vol. 509;.
 182. Siswomihardjo, W.; Ana, I.D.; Ardhani, R. Fabrication of Strontium Ions Substituted Hydroxyapatite from the Shells of the Golden Apple Snail (Pomacea Canaliculate L) with Enhanced Osteoconductive and Improved Biological Properties. *Dent. Mater. J.* **2024**, 43, doi:10.4012/dmj.2023-246.
 183. Chandrasekaran, A.; Suresh, S.; Dakshanamoorthy, A. Synthesis and Characterization of Nano-Hydroxyapatite (n-HAP) Using the Wet Chemical Technique. *Int. J. Phys. Sci.* **2013**, 8, 1639–1645, doi:10.5897/IJPS2013.3990.
 184. Ungureanu, D.; Angelescu, N.; Ion, R.-M.; Elena Valentina, S.; Rizescu, C. *Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Nanopowders by Chemical Precipitation*; 2011;
 185. Maria, K.; Hoque, S.M.; Nahar, A.; Ishtiaque, M.; Das, H.; Rahman, S. Evaluation of a Novel Nanocrystalline Hydroxyapatite Powder and a Solid Hydroxyapatite/Chitosan-Gelatin Bioceramic for Scaffold Preparation Used as a Bone Substitute Material. *Turkish J. Chem.* **2020**, 44, 884–900, doi:10.3906/kim-1912-40.
 186. Monteil, H.; Péchaud, Y.; Oturan, N.; Oturan, M.A. A Review on Efficiency and Cost Effectiveness of Electro- and Bio-Electro-Fenton Processes: Application to the Treatment of Pharmaceutical Pollutants in Water. *Chem. Eng. J.* **2019**, 376,

- 119577, doi:<https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.07.179>.
187. van Cleeff, M.; Kivihya-Ndugga, L.; Githui, W.; Ng'ang'a, L.; Kibuga, D.; Odhiambo, J.; Klatser, P. Cost-Effectiveness of Polymerase Chain Reaction versus Ziehl-Neelsen Smear Microscopy for Diagnosis of Tuberculosis in Kenya. *Int. J. Tuberc. lung Dis. Off. J. Int. Union against Tuberc. Lung Dis.* **2005**, *9*, 877–883.
 188. Alqahtani, A. sultan; Elbeltagi, S. Advancing Chemistry Sustainably: From Synthesis to Benefits and Applications of Green Synthesis. *J. Organomet. Chem.* **2025**, *1027*, 123508, doi:<https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2025.123508>.
 189. Kurul, F.; Doruk, B.; Topkaya, S.N. Principles of Green Chemistry: Building a Sustainable Future. *Discov. Chem.* **2025**, *2*, 68, doi:10.1007/s44371-025-00152-9.
 190. Sheldon, R.A. Fundamentals of Green Chemistry: Efficiency in Reaction Design. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1437–1451, doi:10.1039/C1CS15219J.
 191. Naidu, S.; Scherer, G.W. Nucleation, Growth and Evolution of Calcium Phosphate Films on Calcite. *J. Colloid Interface Sci.* **2014**, *435*, 128–137, doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.08.018>.
 192. Karlinsey, R.L.; Yi, K.; Duhn, C.W. Nucleation and Growth of Apatite by a Self-Assembled Polycrystalline Bioceramic. *Bioinspir. Biomim.* **2006**, *1*, 12–19, doi:10.1088/1748-3182/1/1/002.
 193. Martins, M.A.; Santos, C.; Almeida, M.M.; Costa, M.E. V Hydroxyapatite Micro- and Nanoparticles: Nucleation and Growth Mechanisms in the Presence of Citrate Species. *J. Colloid Interface Sci.* **2008**, *318*, 210–216, doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.10.008>.
 194. Kamieniak, J.; Bernalte, E.; Foster, C.W.; Doyle, A.M.; Kelly, P.J.; Banks, C.E. High Yield Synthesis of Hydroxyapatite (HAP) and Palladium Doped HAP via a Wet Chemical Synthetic Route. *Catalysts* **2016**, *6*, doi:10.3390/catal6080119.
 195. Williams, D.F. Biomedical and Dental Materials: Introduction. In; Buschow, K.H.J., Cahn, R.W., Flemings, M.C., Ilshner, B., Kramer, E.J., Mahajan, S., Veysière, P.B.T.-E. of M.S. and T., Eds.; Elsevier: Oxford, 2001; pp. 1–8 ISBN 978-0-08-043152-9.
 196. Mohamed, D.A.; Abdelfattah, M.I.; Aboulezz, E.H.A. The Effect of Three Different Biomaterials on Proliferation and Viability of Human Dental Pulp Stem Cells (In-Vitro Study). *Open access Maced. J. Med. Sci.* **2017**, *5*, 657–663, doi:10.3889/oamjms.2017.089.
 197. Rabel, K.; Kohal, R.-J.; Steinberg, T.; Tomakidi, P.; Rolauffs, B.; Adolfsson, E.; Palmero, P.; Fürderer, T.; Altmann, B. Controlling Osteoblast Morphology and Proliferation via Surface Micro-Topographies of Implant Biomaterials. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 12810, doi:10.1038/s41598-020-69685-6.
 198. Mohamed, H. N. Y. Mostafa, H. M. Hassan and F. M. Hassan, Sintering Behavior and Thermal Stability of Na⁺, SiO₄⁴⁻ and CO₃²⁻ Co-Substituted Hydroxyapatites, *Journal of Alloys and Compounds*, 479, Issues 1-2, P 692-698 (2009). **2023**.
 199. Morozo, M.; Duarte, G.; Silva, L.; Mello, J.; Zanetti, M.; Lopes Colpani, G.; Fiori, M.; Bresciani Canto, L. A Design of Experiments Approach to Analyze the Effects of Hydroxyapatite and Maleic Anhydride Grafted Polyethylene Contents on Mechanical, Thermal and Biocompatibility Properties of Green High-Density Polyethylene-Based Composites. *Mater. Res.* **2023**, *26*, doi:10.1590/1980-5373-mr-2022-0548.
 200. Alothman, Z. A Review: Fundamental Aspects of Silicate Mesoporous Materials. *Materials (Basel).* **2012**, *5*, 2874–2902, doi:10.3390/ma5122874.
 201. Rahman, M.M.; Shafiullah, A.Z.; Pal, A.; Islam, M.A.; Jahan, I.; Saha, B.B. Study on Optimum IUPAC Adsorption Isotherm Models Employing Sensitivity of

- Parameters for Rigorous Adsorption System Performance Evaluation. *Energies* **2021**, *14*, doi:10.3390/en14227478.
202. Yurdakal, S.; Garlisi, C.; Özcan, L.; Bellardita, M. (Photo)Catalyst Characterization Techniques. In; 2019; pp. 87–152 ISBN 9780444640154.
 203. Song, X.; Zhou, X.; Lv, X. Quantitative Evaluation of Pore Connectivity of Shales with a Type H3 Sorption Hysteresis Loop. *J. Asian Earth Sci.* **2023**, *247*, 105595, doi:https://doi.org/10.1016/j.jseaes.2023.105595.
 204. Lai, W.; Chen, C.; Ren, X.; Lee, I.-S.; Jiang, G.; Kong, X. Hydrothermal Fabrication of Porous Hollow Hydroxyapatite Microspheres for a Drug Delivery System. *Mater. Sci. Eng. C* **2016**, *62*, 166–172, doi:https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.01.055.
 205. Shafiq, F.; Liu, C.; Zhou, H.; Chen, H.; Yu, S.; Qiao, W. Adsorption Mechanism and Synthesis of Adjustable Hollow Hydroxyapatite Spheres for Efficient Wastewater Cationic Dyes Adsorption. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2023**, *672*, 131713, doi:https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2023.131713.
 206. Ramli, N.S.; Sazali, E.S.; Mahraz, Z.A.; Ghoshal, S.K.; Zain, S.K.M.; Hisam, R.; Malek, N.A.N.N.; Syahrom, A.; Sahar, M.R.; Noor, F.M.; et al. Hard Tissue Repairing Potency of Mesoporous Borosilicate Bioactive Glass: An in Vitro Assessment. *J. Non. Cryst. Solids* **2023**, *609*, 122289, doi:https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2023.122289.
 207. King, R.P. 3 - Interaction between Fluids and Particles. In; King, R.P.B.T.-I. to P.F.F., Ed.; Butterworth-Heinemann: Oxford, 2002; pp. 55–79 ISBN 978-0-7506-4885-1.
 208. Moran, S. Chapter 5 - Fluid Mechanics. In; Moran, S.B.T.-A.A.G. to W. and E.T.P.D., Ed.; Butterworth-Heinemann, 2018; pp. 53–58 ISBN 978-0-12-811309-7.
 209. Ergun, C.; Evis, Z.; Webster, T.J.; Sahin, F.C. Synthesis and Microstructural Characterization of Nano-Size Calcium Phosphates with Different Stoichiometry. *Ceram. Int.* **2011**, *37*, 971–977, doi:https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2010.11.004.
 210. Hatim, A.; Abida, F.; Elouahli, A.; Abourriche, A.; Benhammou, A.; El Hafiane, Y.; Gourich, B.; Hatim, Z.; Smith, A.; Abouliatim, Y. Physico-Chemical Characterization of Calcium-Apatite Prepared with a Calcium/Phosphate Ratio around the Stoichiometry. *J. Aust. Ceram. Soc.* **2024**, *60*, 221–230, doi:10.1007/s41779-023-00935-2.
 211. Wang, H.; Lee, J.-K.; Moursi, A.; Lannutti, J.J. Ca/P Ratio Effects on the Degradation of Hydroxyapatite in Vitro. *J. Biomed. Mater. Res. A* **2003**, *67*, 599–608, doi:10.1002/jbm.a.10538.
 212. Rahimnia, A.; Hesarikia, H.; Rahimi, A.; Karami, S.; Kaviani, K. Evaluation and Comparison of Synthesised Hydroxyapatite in Bone Regeneration: As an in Vivo Study. *J. Taibah Univ. Med. Sci.* **2021**, *16*, 878–886, doi:10.1016/j.jtumed.2021.06.006.
 213. Singh, R.; Tan, C.; Abd Shukor, M.; Sopyan, I.; Teng, W. The Influence of Ca/P Ratio on the Properties of Hydroxyapatite Bioceramics. *Proc SPIE* **2007**, *6423*, doi:10.1117/12.779890.
 214. Fu, Q.; Rahaman, M.N.; Zhou, N.; Huang, W.; Wang, D.; Zhang, L.; Li, H. In Vitro Study on Different Cell Response to Spherical Hydroxyapatite Nanoparticles. *J. Biomater. Appl.* **2008**, *23*, 37–50, doi:10.1177/0885328207081350.
 215. Okada, S.; Nagai, A.; Oaki, Y.; Komotori, J.; Imai, H. Control of Cellular Activity

- of Fibroblasts on Size-Tuned Fibrous Hydroxyapatite Nanocrystals. *Acta Biomater.* **2011**, *7*, 1290–1297, doi:10.1016/j.actbio.2010.10.010.
216. Rendas, P.; Amorim, J.; Baptista, P.V.; Vidal, C.; Figueiredo, L.; Fernandes, A.R.; Soares, B. Cytocompatibility, Fibroblast Adhesion and Proliferation on Surface Modified 3D-Printed PEEK Scaffolds. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2025**, *167*, 106979, doi:https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2025.106979.
 217. Liu, X.; Sun, J. Potential Proinflammatory Effects of Hydroxyapatite Nanoparticles on Endothelial Cells in a Monocyte-Endothelial Cell Coculture Model. *Int. J. Nanomedicine* **2014**, *9*, 1261–1273, doi:10.2147/IJN.S56298.
 218. Hua, Y.; Wu, J.; Wu, H.; Su, C.; Li, X.; Ao, Q.; Zeng, Q.; Zhu, X.; Zhang, X. Exposure to Hydroxyapatite Nanoparticles Enhances Toll-like Receptor 4 Signal Transduction and Overcomes Endotoxin Tolerance in Vitro and in Vivo. *Acta Biomater.* **2021**, *135*, 650–662, doi:10.1016/j.actbio.2021.09.006.
 219. Herman, J.; Le Goff, B.; De Lima, J.; Brion, R.; Chevalier, C.; Blanchard, F.; Darrieutort-Laffite, C. Pro-Inflammatory Effects of Human Apatite Crystals Extracted from Patients Suffering from Calcific Tendinopathy. *Arthritis Res. Ther.* **2021**, *23*, 131, doi:10.1186/s13075-021-02516-9.
 220. Grandjean-Laquerriere, A.; Laquerriere, P.; Laurent-Maquin, D.; Guenounou, M.; Phillips, T.M. The Effect of the Physical Characteristics of Hydroxyapatite Particles on Human Monocytes IL-18 Production in Vitro. *Biomaterials* **2004**, *25*, 5921–5927, doi:https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.02.003.
 221. Przekora, A.; Ginalska, G. In Vitro Evaluation of the Risk of Inflammatory Response after Chitosan/HA and Chitosan/ β -1,3-Glucan/HA Bone Scaffold Implantation. *Mater. Sci. Eng. C* **2016**, *61*, 355–361, doi:https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.066.
 222. Mishra, R.; Varshney, R.; Das, N.; Sircar, D.; Roy, P. Synthesis and Characterization of Gelatin-PVP Polymer Composite Scaffold for Potential Application in Bone Tissue Engineering. *Eur. Polym. J.* **2019**, *119*, 155–168, doi:https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.07.007.
 223. Uma Maheshwari, S.; Govindan, K.; Raja, M.; Raja, A.; Pravin, M.B.S.; Vasanth Kumar, S. Preliminary Studies of PVA/PVP Blends Incorporated with HAp and β -TCP Bone Ceramic as Template for Hard Tissue Engineering. *Biomed. Mater. Eng.* **2017**, *28*, 401–415, doi:10.3233/BME-171682.
 224. Thai, T.H.; Nguyen, T.M.; Truong, M.-D.; Phan, T.T.T.; Le, D.T.; Doan, H.N.; Nguyen, T.-H. Fabrication of 3D PCL/PVP Scaffolds Using Monosodium Glutamate as Porogen by Solvent Casting/Particulate Leaching Method for Oral and Maxillofacial Bone Tissue Engineering. *Biomed. Mater.* **2024**, *19*, doi:10.1088/1748-605X/ad6ac5.
 225. Teodorescu, M.; Bercea, M.; Morariu, S. Biomaterials of PVA and PVP in Medical and Pharmaceutical Applications: Perspectives and Challenges. *Biotechnol. Adv.* **2019**, *37*, 109–131.
 226. Franco, P.; De Marco, I. The Use of Poly(N-Vinyl Pyrrolidone) in the Delivery of Drugs: A Review. *Polymers (Basel)*. **2020**, *12*, doi:10.3390/polym12051114.
 227. Liu, X.; Xu, Y.; Wu, Z.; Chen, H. Poly(N-Vinylpyrrolidone)-Modified Surfaces for Biomedical Applications. *Macromol. Biosci.* **2013**, *13*, 147–154, doi:10.1002/mabi.201200269.
 228. Bejaoui, M.; Galai, H.; Touati, F.; Kouass, S. Multifunctional Roles of PVP as a Versatile Biomaterial in Solid State. In *Dosage Forms*; Ahmad, U., Ed.; IntechOpen: Rijeka, 2021.
 229. Borji, B.K.; Pourmadadi, M.; Tajiki, A.; Abdouss, M.; Rahdar, A.; Díez-Pascual,

- A.M. Polyvinyl Pyrrolidone/Starch/Hydroxyapatite Nanocomposite: A Promising Approach for Controlled Release of Doxorubicin in Cancer Therapy. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2024**, *95*, 105516, doi:https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.105516.
230. Fadeeva, I. V.; Trofimchuk, E.S.; Forysenkova, A.A.; Ahmed, A.I.; Gnezdilov, O.I.; Davydova, G.A.; Kozlova, S.G.; Antoniac, A.; Rau, J. V Composite Polyvinylpyrrolidone-Sodium Alginate-Hydroxyapatite Hydrogel Films for Bone Repair and Wound Dressings Applications. *Polymers (Basel)*. **2021**, *13*, doi:10.3390/polym13223989.
 231. Sadat Nasiri, S.; Pourmadadi, M.; Rahdar, A.; Pandey, S. Gelatin/PVP/Hydroxyapatite Nanocomposite Based on Double Micro-Emulsion for Tissue Engineering Applications. *J. Mol. Liq.* **2024**, *401*, 124741, doi:https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.124741.
 232. Hakim Khalili, M.; Zhang, R.; Wilson, S.; Goel, S.; Impey, S.A.; Aria, A.I. Additive Manufacturing and Physicomechanical Characteristics of PEGDA Hydrogels: Recent Advances and Perspective for Tissue Engineering. *Polymers (Basel)*. **2023**, *15*, doi:10.3390/polym15102341.
 233. Khalili, M.H.; Afsar, A.; Zhang, R.; Wilson, S.; Dossi, E.; Goel, S.; Impey, S.A.; Aria, A.I. Thermal Response of Multi-Layer UV Crosslinked PEGDA Hydrogels. *Polym. Degrad. Stab.* **2022**, *195*, 109805, doi:https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2021.109805.
 234. Grübel, J.; L. Albernaz, V.; Tsianaka, A.; Jauch, C.O.; Quirin, S.; Kerger, C.; Kohl, C.G.; Burger-Kentischer, A.; Tovar, G.E.M.; Southan, A. Preparation of Multifunctional Hydrogels with Accessible Isothiuronium Groups via Radical Cross-Linking Copolymerization. *Sci. Rep.* **2023**, *13*, 10361, doi:10.1038/s41598-023-36956-x.
 235. Deutsch Lukatsky, A.T.; Dan, Y.; Mizrahi, L.; Amir, E. Hydrogels Based on Crosslinked Polyethylene Glycol Diacrylate and Fish Skin Gelatin. *Eur. Polym. J.* **2024**, *210*, 112990, doi:https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2024.112990.
 236. Bäckström, S.; Benavente, J.; Berg, R.; Stibius, K.; Larsen, M.; Bohr, H.; Helix-Nielsen, C. Tailoring Properties of Biocompatible PEG-DMA Hydrogels with UV Light. *Mater. Sci. Appl.* **2012**, *03*, doi:10.4236/msa.2012.36060.
 237. Chiulan, I.; Heggset, E.B.; Voicu, Ş.I.; Chinga-Carrasco, G. Photopolymerization of Bio-Based Polymers in a Biomedical Engineering Perspective. *Biomacromolecules* **2021**, *22*, 1795–1814, doi:10.1021/acs.biomac.0c01745.
 238. Nazir, R.; Balčiūnas, E.; Buczyńska, D.; Bourquard, F.; Kowalska, D.; Gray, D.; Maćkowski, S.; Farsari, M.; Gryko, D.T. Donor–Acceptor Type Thioxanones: Synthesis, Optical Properties, and Two-Photon Induced Polymerization. *Macromolecules* **2015**, *48*, 2466–2472, doi:10.1021/acs.macromol.5b00336.
 239. Wu, Q.; Wang, X.; Xiong, Y.; Yang, J.; Tang, H. Thioxanthone Based One-Component Polymerizable Visible Light Photoinitiator for Free Radical Polymerization. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 66098–66107, doi:10.1039/C6RA15349F.
 240. Mun, S.J.; Ko, D.; Kim, H.U.; Han, Y.; Roh, Y.H.; Kim, B.-G.; Na, H. Bin; Bong, K.W. Photopolymerization-Based Synthesis of Uniform Magnetic Hydrogels and Colorimetric Glucose Detection. *Mater. (Basel, Switzerland)* **2020**, *13*, doi:10.3390/ma13194401.
 241. Couți, N.; Porfire, A.; Iovanov, R.; Crișan, A.G.; Iurian, S.; Casian, T.; Tomuță, I. Polyvinyl Alcohol, a Versatile Excipient for Pharmaceutical 3D Printing. *Polymers (Basel)*. **2024**, *16*, doi:10.3390/polym16040517.
 242. Chousidis, N. Polyvinyl Alcohol (PVA)-Based Films: Insights from Crosslinking

- and Plasticizer Incorporation. *Eng. Res. Express* **2024**, 6, doi:10.1088/2631-8695/ad4cb4.
243. Oun, A.A.; Shin, G.H.; Rhim, J.-W.; Kim, J.T. Recent Advances in Polyvinyl Alcohol-Based Composite Films and Their Applications in Food Packaging. *Food Packag. Shelf Life* **2022**, 34, 100991, doi:https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100991.
 244. Pereira, B.L.; Sampaio, V.S.; de Lima, G.G.; Lepienski, C.M.; Marins, M.; Chee, B.S.; Nugent, M.J.D. Biomedical Applications of Polyvinyl Alcohol-Based Bionanocomposites. In *Polyvinyl Alcohol-Based Biocomposites and Bionanocomposites*; John Wiley & Sons, Ltd, 2023; pp. 179–203 ISBN 9781119593218.
 245. Alhosseini, S.N.; Moztaaradeh, F.; Mozafari, M.; Asgari, S.; Dodel, M.; Samadikuchaksaraei, A.; Kargozar, S.; Jalali, N. Synthesis and Characterization of Electrospun Polyvinyl Alcohol Nanofibrous Scaffolds Modified by Blending with Chitosan for Neural Tissue Engineering. *Int. J. Nanomedicine* **2012**, 7, 25–34, doi:10.2147/IJN.S25376.
 246. El-Arnaouty, M.; Eid, M.; Salah, M.; Hegazy, E.-S. Preparation and Characterization of Poly Vinyl Alcohol/Poly Vinyl Pyrrolidone/Clay Based Nanocomposite by Gamma Irradiation. *J. Macromol. Sci.* **2013**, 49, doi:10.1080/10601325.2012.728466.
 247. Dhumale, V.; Gangwar, R.; Datar, S. Reversible Aggregation Control of Polyvinylpyrrolidone Capped Gold Nanoparticles as a Function of PH. *Mater. Express* **2012**, 2, 311–318, doi:10.1166/mex.2012.1082.
 248. Korbag, I.; and Mohamed Saleh, S. Studies on the Formation of Intermolecular Interactions and Structural Characterization of Polyvinyl Alcohol/Lignin Film. *Int. J. Environ. Stud.* **2016**, 73, 226–235, doi:10.1080/00207233.2016.1143700.
 249. Zhang, J.; Yuan, B.; Ren, H. Synthesis and Characterization of PVP/Tb 4/3 L•7H 2 O Luminescent Complex. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* **2018**, 170, 32043, doi:10.1088/1755-1315/170/3/032043.
 250. Uysal, I.; Severcan, F.; Evis, Z. Characterization by Fourier Transform Infrared Spectroscopy of Hydroxyapatite Co-Doped with Zinc and Fluoride. *Ceram. Int.* **2013**, 39, 7727–7733, doi:https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2013.03.029.
 251. Vinoth Kumar, K.C.; Jani Subha, T.; Ahila, K.G.; Ravindran, B.; Chang, S.W.; Mahmoud, A.H.; Mohammed, O.B.; Rathi, M.A. Spectral Characterization of Hydroxyapatite Extracted from Black Sumatra and Fighting Cock Bone Samples: A Comparative Analysis. *Saudi J. Biol. Sci.* **2021**, 28, 840–846, doi:https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.020.
 252. Oh, Y.C.; Ong, J.J.; Alfassam, H.; Díaz-Torres, E.; Goyanes, A.; Williams, G.R.; Basit, A.W. Fabrication of 3D Printed Mutable Drug Delivery Devices: A Comparative Study of Volumetric and Digital Light Processing Printing. *Drug Deliv. Transl. Res.* **2025**, 15, 1595–1608, doi:10.1007/s13346-024-01697-5.
 253. González-Henríquez, C.M.; Pizarro, G. del C.; Sarabia-Vallejos, M.A.; Terraza, C.A.; López-Cabaña, Z.E. In Situ-Preparation and Characterization of Silver-HEMA/PEGDA Hydrogel Matrix Nanocomposites: Silver Inclusion Studies into Hydrogel Matrix. *Arab. J. Chem.* **2019**, 12, 1413–1423, doi:https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.012.
 254. Siddharth, N.; Viola, M.; Younesi, M.; Akkus, O. Chitosan:PEGDA Hybrid-Gel Scaffolds Printed by Stereolithography. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2016**, 4, doi:10.3389/conf.FBIOE.2016.01.00514.
 255. Wang, Y.; Wang, Z.; Dong, Y. Collagen-Based Biomaterials for Tissue

- Engineering. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2023**, *9*, 1132–1150, doi:10.1021/acsbiomaterials.2c00730.
256. Abedi, M.; Shafiee, M.; Afshari, F.; Mohammadi, H.; Ghasemi, Y. Collagen-Based Medical Devices for Regenerative Medicine and Tissue Engineering. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2024**, *196*, 5563–5603, doi:10.1007/s12010-023-04793-3.
 257. Kolliopoulos, V.; Harley, B.A.C. Mineralized Collagen Scaffolds for Regenerative Engineering Applications. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2024**, *86*, 103080, doi:https://doi.org/10.1016/j.copbio.2024.103080.
 258. Cao, L.; Zhang, Z.; Yuan, D.; Yu, M.; Min, J. Tissue Engineering Applications of Recombinant Human Collagen: A Review of Recent Progress. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2024**, *12*, 1358246, doi:10.3389/fbioe.2024.1358246.
 259. Pawelec, K.M.; Best, S.M.; Cameron, R.E. Collagen: A Network for Regenerative Medicine. *J. Mater. Chem. B* **2016**, *4*, 6484–6496, doi:10.1039/c6tb00807k.
 260. Ersanli, C.; Tzora, A.; Skoufos, I.; Voidarou, C. (Chrysa); Zeugolis, D.I. Recent Advances in Collagen Antimicrobial Biomaterials for Tissue Engineering Applications: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, doi:10.3390/ijms24097808.
 261. Wosicka-Frąckowiak, H.; Poniedziałek, K.; Woźny, S.; Kuprianowicz, M.; Nyga, M.; Jadach, B.; Milanowski, B. Collagen and Its Derivatives Serving Biomedical Purposes: A Review. *Polymers (Basel)*. **2024**, *16*, doi:10.3390/polym16182668.
 262. Fikai, A.; Albu, M.G.; Birsan, M.; Sonmez, M.; Fikai, D.; Trandafir, V.; Andronescu, E. Collagen Hydrolysate Based Collagen/Hydroxyapatite Composite Materials. *J. Mol. Struct.* **2013**, *1037*, 154–159, doi:https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2012.12.052.
 263. Khan, R.; Khan, M.H. Use of Collagen as a Biomaterial: An Update. *J. Indian Soc. Periodontol.* **2013**, *17*, 539–542, doi:10.4103/0972-124X.118333.
 264. Williams, J.K.; Yoo, J.J.; Atala, A. Chapter 59 - Regenerative Medicine Approaches for Tissue Engineered Heart Valves. In; Atala, A., Lanza, R., Mikos, A.G., Nerem, R.B.T.-P. of R.M. (Third E., Eds.; Academic Press: Boston, 2019; pp. 1041–1058 ISBN 978-0-12-809880-6.
 265. Riaz, T.; Rabia, Z.; Faiza, Z.; Kanwal, I.; Nawshad, M.; Sher Zaman, S.; Abdur, R.; Syed A. A., R.; and Rehman, I.U. FTIR Analysis of Natural and Synthetic Collagen. *Appl. Spectrosc. Rev.* **2018**, *53*, 703–746, doi:10.1080/05704928.2018.1426595.
 266. Sripriya, R.; Kumar, R. A Novel Enzymatic Method for Preparation and Characterization of Collagen Film from Swim Bladder of Fish Rohu (Labeo Rohita). *Food Nutr. Sci.* **2015**, *06*, 1468–1478, doi:10.4236/fns.2015.615151.
 267. Chinh, N.T.; Manh, V.Q.; Trung, V.Q.; Lam, T.D.; Huynh, M.D.; Tung, N.Q.; Trinh, N.D.; Hoang, T. Characterization of Collagen Derived From Tropical Freshwater Carp Fish Scale Wastes and Its Amino Acid Sequence. *Nat. Prod. Commun.* **2019**, *14*, 1934578X19866288, doi:10.1177/1934578X19866288.
 268. Belbachir, K.; Noreen, R.; Gouspillou, G.; Petibois, C. Collagen Types Analysis and Differentiation by FTIR Spectroscopy. *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, *395*, 829–837, doi:10.1007/s00216-009-3019-y.
 269. Sadeghi, M.; Hosseinzadeh, H. Synthesis and Super-Swelling Behavior of a Novel Low Salt-Sensitive Protein-Based Superabsorbent Hydrogel: Collagen-g-Poly(AMPS). *Turk J Chem c UB ITAK* **2010**, *34*, 739–752, doi:10.3906/kim-0910-21.
 270. Sadeghi, M.; Hosseinzadeh, H. Synthesis and Properties of Collagen-g-Poly(Sodium Acrylate-Co-2-Hydroxyethylacrylate) Superabsorbent Hydrogels. *Brazilian J. Chem. Eng.* **2013**, *30*, 379–389, doi:10.1590/S0104-

66322013000200015.

271. Latthe, S.; Terashima, C.; Nakata, K.; Fujishima, A. Superhydrophobic Surfaces Developed by Mimicking Hierarchical Surface Morphology of Lotus Leaf. *Molecules* **2014**, *19*, 4256–4283, doi:10.3390/molecules19044256.
272. Rea, I.; Giardina, P.; Longobardi, S.; De Stefano, L. 6 - Protein-Modified Porous Silicon Films for Biomedical Applications. In; Santos, H.A.B.T.-P.S. for B.A., Ed.; Woodhead Publishing, 2014; pp. 104–128 ISBN 978-0-85709-711-8.
273. Law, K.-Y. Definitions for Hydrophilicity, Hydrophobicity, and Superhydrophobicity: Getting the Basics Right. *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 686–688, doi:10.1021/jz402762h.
274. Sutthiwanjampa, C.; Hong, S.; Kim, W.J.; Kang, S.H.; Park, H. Hydrophilic Modification Strategies to Enhance the Surface Biocompatibility of Poly(Dimethylsiloxane)-Based Biomaterials for Medical Applications. *Adv. Mater. Interfaces* **2023**, *10*, 2202333, doi:https://doi.org/10.1002/admi.202202333.
275. Paterlini, T.T.; Nogueira, L.F.B.; Tovani, C.B.; Cruz, M.A.E.; Derradi, R.; Ramos, A.P. The Role Played by Modified Bioinspired Surfaces in Interfacial Properties of Biomaterials. *Biophys. Rev.* **2017**, *9*, 683–698, doi:10.1007/s12551-017-0306-2.
276. Ferreira, P.; Alves, P.; Coimbra, P.; Gil, M.H. Improving Polymeric Surfaces for Biomedical Applications: A Review. *J. Coatings Technol. Res.* **2015**, *12*, 463–475, doi:10.1007/s11998-015-9658-3.
277. Filová, E.; Parizek, M.; Ruml, T.; Svorcik, V. Modulation of Cell Adhesion, Proliferation and Differentiation on Materials Designed for Body Implants. *Biotechnol. Adv.* **2011**, *29*, 739–767, doi:10.1016/j.biotechadv.2011.06.004.
278. Chang, H.-Y.; Kao, W.-L.; You, Y.-W.; Chu, Y.-H.; Chu, K.-J.; Chen, P.-J.; Wu, C.-Y.; Lee, Y.-H.; Shyue, J.-J. Effect of Surface Potential on Epithelial Cell Adhesion, Proliferation and Morphology. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2016**, *141*, 179–186, doi:https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.01.049.
279. Benhabbour, S.R.; Sheardown, H.; Adronov, A. Cell Adhesion and Proliferation on Hydrophilic Dendritically Modified Surfaces. *Biomaterials* **2008**, *29*, 4177–4186, doi:https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.07.016.
280. Bacenkova, D.; Trebunova, M.; Čajková, J. Enhancing Biomaterial Performance: The Advantages and Applications of Collagen Coating. *Acta Technol.* **2025**, *11*, 25–30, doi:10.22306/atec.v11i1.269.
281. Harnett, E.M.; Alderman, J.; Wood, T. The Surface Energy of Various Biomaterials Coated with Adhesion Molecules Used in Cell Culture. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2007**, *55*, 90–97, doi:https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2006.11.021.
282. Aparicio, C.; Gil, F.J.; Planell, J.A.; engel, E. Human-Osteoblast Proliferation and Differentiation on Grit-Blasted and Bioactive Titanium for Dental Applications. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2002**, *13*, 1105–1111, doi:10.1023/A:1021173500990.
283. Subramaniyan, M.; Karuppan, S.; Helaili, S.; Ahmad, I. Structural, Mechanical, and in-Vitro Characterization of Hydroxyapatite Loaded PLA Composites. *J. Mol. Struct.* **2024**, *1306*, 137862, doi:https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.137862.
284. Rodrigues, A.; Sena da Fonseca, B.; Ferreira Pinto, A.P.; Piçarra, S.; Montemor, M.F. Synthesis and Application of Hydroxyapatite Nanorods for Improving Properties of Stone Consolidants. *Ceram. Int.* **2022**, *48*, 14606–14617, doi:https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2022.02.004.
285. Tozar, A.; Karahan, İ.H. A Comparative Study on the Effect of Collagen and H-

- BN Reinforcement of Hydroxyapatite/Chitosan Biocomposite Coatings Electrophoretically Deposited on Ti-6Al-4V Biomedical Implants. *Surf. Coatings Technol.* **2018**, *340*, 167–176, doi:https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2018.02.034.
286. Ching, W.Y.; Rulis, P.; Misra, A. Ab Initio Elastic Properties and Tensile Strength of Crystalline Hydroxyapatite. *Acta Biomater.* **2009**, *5*, 3067–3075, doi:https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.04.030.
 287. Converse, G.L.; Yue, W.; Roeder, R.K. Processing and Tensile Properties of Hydroxyapatite-Whisker-Reinforced Polyetheretherketone. *Biomaterials* **2007**, *28*, 927–935, doi:https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.10.031.
 288. Noble, J.E. Chapter Two - Quantification of Protein Concentration Using UV Absorbance and Coomassie Dyes. In *Laboratory Methods in Enzymology: Protein Part A*; Lorsch, J.B.T.-M. in E., Ed.; Academic Press, 2014; Vol. 536, pp. 17–26 ISBN 0076-6879.
 289. Biter, A.B.; Pollet, J.; Chen, W.-H.; Strych, U.; Hotez, P.J.; Bottazzi, M.E. A Method to Probe Protein Structure from UV Absorbance Spectra. *Anal. Biochem.* **2019**, *587*, 113450, doi:10.1016/j.ab.2019.113450.
 290. Adjeng, A.N.; Oktarlina, R.; Bahri, S. Production and Characterization of Micro-Collagen from Carp Scales Waste (*Cyprinus Carpio*). *Res. J. Pharm. Technol.* **2022**, doi:10.52711/0974-360X.2022.00331.
 291. Barth, A. Infrared Spectroscopy of Proteins. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* **2007**, *1767*, 1073–1101, doi:https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2007.06.004.
 292. Metreveli, N.O.; Jariashvili, K.K.; Namicheishvili, L.O.; Svintradze, D. V; Chikvaidze, E.N.; Sionkowska, A.; Skopinska, J. UV–Vis and FT-IR Spectra of Ultraviolet Irradiated Collagen in the Presence of Antioxidant Ascorbic Acid. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2010**, *73*, 448–455, doi:https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.12.005.
 293. Huang, X.; Brazel, C.S. On the Importance and Mechanisms of Burst Release in Matrix-Controlled Drug Delivery Systems. *J. Control. release Off. J. Control. Release Soc.* **2001**, *73*, 121–136, doi:10.1016/s0168-3659(01)00248-6.
 294. Lau, C.M.L.; Jahanmir, G.; Yu, Y.; Chau, Y. Controllable Multi-Phase Protein Release from in-Situ Hydrolyzable Hydrogel. *J. Control. Release* **2021**, *335*, 75–85, doi:https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2021.05.006.
 295. Manghnani, P.N.; Nelson, A.Z.; Wong, K.; Lee, Y.W.; Khan, S.A.; Doyle, P.S. From Burst to Controlled Release: Using Hydrogel Crosslinking Chemistry to Tune Release of Micro-Crystalline Active Pharmaceutical Ingredients. *RSC Pharm.* **2025**, *2*, 94–101, doi:10.1039/D4PM00186A.
 296. Li, J.; Mooney, D.J. Designing Hydrogels for Controlled Drug Delivery. *Nat. Rev. Mater.* **2016**, *1*, 16071, doi:10.1038/natrevmats.2016.71.
 297. Di Martino, A.; Drannikov, A.; Surgutskaya, N.S.; Ozaltin, K.; Postnikov, P.S.; Marina, T.E.; Sedlarik, V. Chitosan-Collagen Based Film for Controlled Delivery of a Combination of Short Life Anesthetics. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *140*, 1183–1193, doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.228.
 298. Palapparambil, S.; Gils; Sahu, N.; Ray, D.; Sahoo, P. Hydrolyzed Collagen-Based Hydrogel System Design, Characterization and Application in Drug Delivery. *Am. J. Biomed. Sci.* **2012**, *4*, doi:10.5099/aj120200167.
 299. Delir, S.; Sirousazar, M.; Kheiri, F. Clindamycin Releasing Bionanocomposite Hydrogels as Potential Wound Dressings for the Treatment of Infected Wounds. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2020**, *31*, 1489–1514, doi:10.1080/09205063.2020.1764161.
 300. Wei, S.; Liu, X.; Zhou, J.; Zhang, J.; Dong, A.; Huang, P.; Wang, W.; Deng, L.

- Dual-Crosslinked Nanocomposite Hydrogels Based on Quaternized Chitosan and Clindamycin-Loaded Hyperbranched Nanoparticles for Potential Antibacterial Applications. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *155*, 153–162, doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.03.182.
301. Park, R.K.; Kim, S.; An, J.; Lee, M.C.; Yang, Y.P.; Valdez, T.A. Injectable Alginate/Collagen Clindamycin Hydrogel for Treatment of Surgical Site Infections. *Sci. Rep.* **2025**, *15*, 7964, doi:10.1038/s41598-025-92294-0.
 302. Babiker, A.; Li, X.; Lai, Y.L.; Strich, J.R.; Warner, S.; Sarzynski, S.; Dekker, J.P.; Danner, R.L.; Kadri, S.S. Effectiveness of Adjunctive Clindamycin in β -Lactam Antibiotic-Treated Patients with Invasive β -Haemolytic Streptococcal Infections in US Hospitals: A Retrospective Multicentre Cohort Study. *Lancet. Infect. Dis.* **2021**, *21*, 697–710, doi:10.1016/S1473-3099(20)30523-5.
 303. Montravers, P.; Eckmann, C. Cotrimoxazole and Clindamycin in Skin and Soft Tissue Infections. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2021**, *34*, 63–71, doi:10.1097/QCO.0000000000000698.
 304. O-Chongpian, P.; Na Takuathung, M.; Chittasupho, C.; Ruksiriwanich, W.; Chaiwarit, T.; Baipaywad, P.; Jantrawut, P. Composite Nanocellulose Fibers-Based Hydrogels Loading Clindamycin HCl with $\text{Ca}(2+)$ and Citric Acid as Crosslinking Agents for Pharmaceutical Applications. *Polymers (Basel)*. **2021**, *13*, doi:10.3390/polym13244423.
 305. Grishin, V. Adsorption of Antibiotics on Hydroxyapatite. *Butlerov Commun.* **2020**, *63*, 92–98, doi:10.37952/ROI-jbc-01/20-63-7-92.
 306. Alhasan, H.S.; Yasin, S.A.; Alahmadi, N.; Alkhawaldeh, A.K. The Application of Hydroxyapatite NPs for Adsorption Antibiotic from Aqueous Solutions: Kinetic, Thermodynamic, and Isotherm Studies. *Processes* **2023**, *11*, doi:10.3390/pr11030749.
 307. Benedini, L.; Placente, D.; Ruso, J.; Messina, P. Adsorption/Desorption Study of Antibiotic and Anti-Inflammatory Drugs onto Bioactive Hydroxyapatite Nano-Rods. *Mater. Sci. Eng. C* **2019**, *99*, 180–190, doi:https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.098.
 308. Sangnim, T.; Limmatvapirat, S.; Nunthanid, J.; Sriamornsak, P.; Sittikijyothin, W.; Wannachaiyasit, S.; Huanbutta, K. Design and Characterization of Clindamycin-Loaded Nanofiber Patches Composed of Polyvinyl Alcohol and Tamarind Seed Gum and Fabricated by Electrohydrodynamic Atomization. *Asian J. Pharm. Sci.* **2018**, *13*, 450–458, doi:https://doi.org/10.1016/j.ajps.2018.01.002.
 309. Dinte, E.; Bodoki, E.; Leucuta, S.; Iuga, C.A. Compatibility Studies between Drugs and Excipients in the Preformulation Phase of Buccal Mucoadhesive Systems. *Farmacia* **2013**, *61*, 703–712.
 310. Mishra, M. *Complexation, Optimization, Formulation Development and Characterization of Clindamycin Phosphate Gel Using Zinc Acetate Dihydrate*; 2018;

SPIS TABEL

Tabela 1. Porównanie głównych klas biomateriałów pod względem właściwości i zastosowań.....	16
Tabela 2. Wybrane właściwości biomateriałów	19
Tabela 3. Podsumowanie metod syntezy hydroksyapatytu – główne cechy, zalety i ograniczenia.....	28
Tabela 4. Zestawienie wybranych reagentów wraz z ich funkcją	41
Tabela 5. Zestawienie warunków syntezy fazy ceramicznej	53
Tabela 6. Wybrane parametry strukturalne proszków HAp przygotowanych przy użyciu mieszczałki magnetycznej	62
Tabela 7. Wybrane parametry strukturalne proszków HAp przygotowanych przy użyciu mieszczałki mechanicznej.....	64
Tabela 8. Wybrane parametry strukturalne dla komercyjnego HAp	67
Tabela 9. Wydajność syntezy HAp.....	69
Tabela 10. Charakterystyczne parametry rozkładu wielkości cząstek HAp syntetycznego	73
Tabela 11. Charakterystyczne parametry rozkładu wielkości cząstek HAp komercyjnego	74
Tabela 12. Parametry wyznaczone na podstawie adsorpcji fizycznej azotu metodą BET i DFT dla HAp syntetycznego i komercyjnego	77
Tabela 13. Porównanie stosunku Ca/P ($\pm$ SD) badanych proszków HAp.....	84
Tabela 14. Szybkość sedimentacji cząstek HAp w roztworze PVP o różnych stężeniach	95
Tabela 15. Zestawienie formułacji PVP z różnymi fotoinicjatorami i sieciownikami .	97
Tabela 16. Skład wytypowanych kompozycji polimerowych	103
Tabela 17. Optymalizacja składu materiałów kompozytowych	105
Tabela 18. Skład materiałów kompozytowych zmodyfikowanych hydrolizatem kolagenu	119
Tabela 19. Swobodna energia powierzchniowa oraz jej składniki polarne i dyspersyjne wyznaczone dla badanych kompozytów.....	129
Tabela 20. Zwilżalność materiałów kompozytowych cieczą polarną	130
Tabela 21. Parametry chropowatości badanych materiałów zgodnie z normą ISO 4287	136
Tabela 22. Wartości współczynnika determinacji R^2 dla dopasowania danych eksperymentalnych dotyczących uwalniania kolagenu do wybranych modeli kinetycznych	162
Tabela 23. Wartości współczynnika determinacji R^2 dla dopasowania danych eksperymentalnych dotyczących uwalniania klindamycyny do wybranych modeli kinetycznych	172

SPIS RYSUNKÓW

Rysunek 1. Przykłady nanomateriałów wykorzystywanych w inżynierii biomateriałów: podział na struktury nieorganiczne, węglowe i organiczne.....	11
Rysunek 2. Przykłady zastosowań biomateriałów metalicznych w implantologii	15
Rysunek 3. Możliwy wpływ właściwości biomateriału na odpowiedź komórkową.....	20
Rysunek 4. Schemat przebiegu odpowiedzi biologicznej na implantację biomateriału.	22
Rysunek 5. Przykłady zastosowań hydroksyapatytu w medycynie	24
Rysunek 6. Wpływ wybranych jonów na właściwości biologiczne HAp	29
Rysunek 7. Skala problemu osteoporozy, opracowanie własne na podstawie danych International Osteoporosis Foundation (IOF)	34
Rysunek 8. Uproszczony schemat planu badań niniejszej rozprawy doktorskiej	36
Rysunek 9. Schemat klasyfikacji czynników eksperymentalnych	37
Rysunek 10. Uproszczony schemat metody oznaczenia zawartości wapnia	44
Rysunek 11. Uproszczony schemat oznaczania zawartości fosforu.....	45
Rysunek 12. Schemat analizy stabilności zawiesiny hydroksyapatytu w wodzie destylowanej lub roztworze polimeru	46
Rysunek 13. Schemat ilustrujący kąt zwilżania i właściwości powierzchni względem wody: powierzchnia hydrofilowa (kąt < 90°), hydrofobowa (kąt > 90°) oraz superhydrofobowa (kąt > 150°)	48
Rysunek 14. Uproszczony schemat metody oznaczenia cytotoksyczności w teście MTT50	
Rysunek 15. Schemat testu typu "scratch assay": hodowla komórek, celowe uszkodzenie monowarstwy, analiza procentowego zrostu rany.....	51
Rysunek 16. Schemat otrzymywania fazy ceramicznej	52
Rysunek 17. Widmo FT-IR referencyjnego hydroksyapatytu komercyjnego	54
Rysunek 18. Zestawienie widm FT-IR materiałów otrzymanych w wyniku syntezy z wykorzystaniem mieszadła mechanicznego: pH 8,0 (po lewej) i pH 11,0 (po prawej)	55
Rysunek 19. Zestawienie widm FT-IR materiałów otrzymanych w wyniku syntezy z wykorzystaniem mieszadła magnetycznego: pH 8,0 (po lewej) i pH 11,0 (po prawej)	56
Rysunek 20. Widmo Ramana referencyjnego hydroksyapatytu komercyjnego.....	57
Rysunek 21. Zestawienie widm Ramana materiałów otrzymanych w wyniku syntezy z wykorzystaniem mieszadła mechanicznego: pH 8,0 (po lewej) i pH 11,0 (po prawej)	58
Rysunek 22. Zestawienie widm Ramana materiałów otrzymanych w wyniku syntezy z wykorzystaniem mieszadła magnetycznego: pH 8,0 (po lewej) i pH 11,0 (po prawej)	58
Rysunek 23. Dyfraktogram XRD referencyjnego hydroksyapatytu komercyjnego	60
Rysunek 24. Zestawienie dyfraktogramów XRD materiałów otrzymanych w wyniku syntezy z wykorzystaniem mieszadła mechanicznego: pH 8,0 (po lewej) i pH 11,0 (po prawej).....	61
Rysunek 25. Zestawienie dyfraktogramów XRD materiałów otrzymanych w wyniku syntezy z wykorzystaniem mieszadła magnetycznego: pH 8,0 (po lewej) i pH 11,0 (po prawej).....	61

Rysunek 26. Obraz SEM syntetycznego proszku HAp przy powiększeniu 5000x (a) i 10000x (b) oraz komercyjnego proszku HAp przy powiększeniu 5000x (c) i 10000x (d)	71
Rysunek 27. Obrazy syntetycznego proszku HAp przy powiększeniach 100× (a) i 500× (b) oraz komercyjnego proszku HAp przy powiększeniach 100× (c) i 500× (d), uzyskane za pomocą mikroskopii optycznej	72
Rysunek 28. Rozkład udziału objętościowego cząstek HAp syntetycznego w funkcji średnicy cząstek, uzyskany metodą dyfrakcji laserowej (trzy powtórzenia pomiaru)	73
Rysunek 29. Rozkład udziału objętościowego cząstek HAp komercyjnego w funkcji średnicy cząstek, uzyskany metodą dyfrakcji laserowej (trzy powtórzenia pomiaru)	75
Rysunek 30. Izotermie adsorpcji–desorpcji dla HAp syntetycznego i komercyjnego	76
Rysunek 31. Różnicowy rozkład wielkości mezoporów wyznaczony metodą DFT	77
Rysunek 32. Zależność intensywności rozproszenia wstecznego (a) oraz transmisji (b) od pozycji detekcji w kolumnie zawiesiny (HAp syntetyczny)	80
Rysunek 33. Zależność intensywności rozproszenia wstecznego (a) oraz transmisji (b) od pozycji detekcji w kolumnie zawiesiny (HAp komercyjny)	82
Rysunek 34. Zmiana położenia granicy sedymentacyjnej w funkcji czasu dla analizowanych zawiesin hydroksyapatytu	83
Rysunek 35. Ocena cytotoksyczności metodą MTT (a) oraz aktywności prozapalnej poprzez oznaczenie poziomu aktywacji szlaku NF-κB (b)	85
Rysunek 36. Procentowy wzrost rąs po 24 h i 48 h w teście scratch assay w obecności różnych stężeń HAp	87
Rysunek 37. Regeneracja monowarstwy fibroblastów L929 w obecności HAp (0–100 µg/ml) w czasie 0 h, 24 h i 48 h	89
Rysunek 38. Regeneracja monowarstwy fibroblastów L929 w obecności HAp (200 - 1500 µg/ml) w czasie 0 h, 24 h i 48 h	90
Rysunek 39. Schemat przedstawiający podsumowanie części I - faza ceramiczna	92
Rysunek 40. Możliwości wykorzystania polimeru PVP w aplikacjach biomedycznych.	93
Rysunek 41. Zmiana położenia granicy sedymentacyjnej w funkcji czasu dla analizowanych zawiesin HAp w roztworze PVP o różnych stężeniach	94
Rysunek 42. Zawiesiny HAp w roztworach PVP bezpośrednio po badaniu (od lewej: 0%, 5%, 10%, 15% i 20% PVP)	95
Rysunek 43. Zdolność sorpcyjna wybranych kompozycji zawierających fazę ceramiczną o udziale wagowym 0% (a), 5% (b), 10% (c) oraz 15% (d)	104
Rysunek 44. Zdolność sorpcyjna kompozytów ceramiczno-polimerowych inkubowanych w wodzie destylowanej (a), płynie SBF (b), płynie Ringera (c)	106
Rysunek 45. Przykładowe zdjęcia otrzymanych kompozytów ceramiczno-polimerowych: próbka 575_HAp (po lewej) oraz próbka 700_HAp (po prawej)	107
Rysunek 46. Widma FT-IR matryc polimerowych otrzymanych przy użyciu środka sieciującego o średniej masie molowej 575 g/mol (zielony) i 700 g/mol (czerwony)...	108

Rysunek 47. Widma FT-IR dla matrycy polimerowej 575, syntetycznego hydroksyapatytu (HAp) oraz kompozytu 575_HAp zawierającego 10% wag. fazy ceramicznej.....	109
Rysunek 48. Widma FT-IR dla matrycy polimerowej 700, syntetycznego hydroksyapatytu (HAp) oraz kompozytu 700_HAp zawierającego 10% wag. fazy ceramicznej.....	110
Rysunek 49. Obraz SEM próbek polimerowych z czynnikiem sieciującym 575 (a); 700 (b) oraz materiałów kompozytowych 575_HAp (c); 700_HAp (d)	111
Rysunek 50. Zestawienie obrazów SEM wraz z analizą składu pierwiastkowego metodą EDS dla próbek 575 (a); 575_HAp (b); 700 (c); 700_HAp (d).....	113
Rysunek 51. Ocena cytotoksyczności metodą MTT (a) oraz aktywności prozapalnej poprzez oznaczenie poziomu aktywacji szlaku NF- κ B (b)	114
Rysunek 52. Schemat podsumowania części II – materiał kompozytowy	117
Rysunek 53. Zestawienie widm FT-IR hydrolizatów kolagenowych: rybi (linia czerwona); wołowy (linia niebieska)	120
Rysunek 54. Zestawienie widm FT-IR próbek kompozytowych po modyfikacji kolagenem rybim (Kol-r) i wołowym (Kol-w) seria 575	121
Rysunek 55. Zestawienie widm FT-IR próbek kompozytowych po modyfikacji kolagenem rybim (Kol-r) i wołowym (Kol-w) seria 700	122
Rysunek 56. Zdolność sorpcyjna materiałów kompozytowych w wodzie destylowanej (a), płynie SBF (b) oraz płynie Ringera (c)	124
Rysunek 57. Wyniki badań inkubacyjnych przeprowadzonych w wodzie destylowanej: seria 575 (a) oraz seria 700 (b)	126
Rysunek 58. Wyniki badań inkubacyjnych przeprowadzonych w płynie SBF: seria 575 (a) oraz seria 700 (b)	126
Rysunek 59. Wyniki badań inkubacyjnych przeprowadzonych w płynie Ringera: seria 575 (a) oraz seria 700 (b)	127
Rysunek 60. Przykładowe zdjęcia materiałów kompozytowych modyfikowanych kolagenem po analizie inkubacyjnej (próbka 700_HAp/Kol-w).....	128
Rysunek 61. Wyniki analizy zwilżalności powierzchni wodą i diiodometanem: seria 575 (a) oraz seria 700 (b)	129
Rysunek 62. Profil chropowatości (po lewej) i obraz 3D (po prawej) dla serii próbek 575	134
Rysunek 63. Profil chropowatości (po lewej) i obraz 3D (po prawej) dla serii próbek 700	136
Rysunek 64. Wyniki pomiaru twardości Shore A badanych materiałów polimerowych i kompozytowych	138
Rysunek 65. Wytrzymałość na rozciąganie badanych materiałów polimerowych i kompozytowych	140
Rysunek 66. Wydłużenie procentowe badanych materiałów polimerowych i kompozytowych	140

Rysunek 67. Wyniki badań tribologicznych próbki 575: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)	143
Rysunek 68. Wyniki badań tribologicznych próbki 575_HAp: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)	144
Rysunek 69. Wyniki badań tribologicznych próbki 575_HAp/Kol-r: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)	145
Rysunek 70. Wyniki badań tribologicznych próbki 575_HAp/Kol-w: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)	146
Rysunek 71. Wyniki badań tribologicznych próbki 700: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)	147
Rysunek 72. Wyniki badań tribologicznych próbki 700_HAp: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)	148
Rysunek 73. Wyniki badań tribologicznych próbki 700_HAp/Kol-r: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)	149
Rysunek 74. Wyniki badań tribologicznych próbki 700_HAp/Kol-w: współczynnik tarcia w funkcji czasu (a); profil zużycia próbki (b); trójwymiarowa topografia powierzchni śladu zużycia (c); mikrofotografia optyczna powierzchni śladu zużycia (d)	150
Rysunek 75. Objętość zużycia badanych materiałów polimerowych i kompozytowych określona na podstawie analizy tribologicznej	151
Rysunek 76. Obraz próbki polimerowej 700 uzyskany metodą tomografii komputerowej: widok przekroju poprzecznego bez analizy (po lewej) oraz z analizą strukturalną (po prawej)	153
Rysunek 77. Rozkład objętości porów w próbce polimerowej 700 określony na podstawie analizy tomografii komputerowej; całkowita porowatość: 5,62%	154
Rysunek 78. Zależność średnicy porów od współczynnika kulistości w próbce polimerowej 700, określona na podstawie analizy tomografii komputerowej	154
Rysunek 79. Obraz próbki kompozytowej 700_HAp/Kol-w uzyskany metodą tomografii komputerowej: widok przekroju poprzecznego bez analizy (po lewej) oraz z analizą strukturalną (po prawej)	155
Rysunek 80. Rozkład objętości porów w próbce kompozytowej 700_HAp/Kol-w określony na podstawie analizy tomografii komputerowej; całkowita porowatość: 7,00%	156

Rysunek 81. Zależność średnicy porów od współczynnika kulistości w próbce kompozytowej 700_HAp/Kol-w, określona na podstawie analizy tomografii komputerowej.....	156
Rysunek 82. Referencyjne widmo UV- Vis hydrolizatu kolagenu wołowego.....	158
Rysunek 83. Kinetyka uwalniania składników białkowych z próbki 700_HAp/Kol-w określona metodą UV-Vis przy $\lambda = 290 \text{ nm}$	159
Rysunek 84. Uwalnianie kolagenu z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu 0 rzędu.....	159
Rysunek 85. Uwalnianie kolagenu z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu I rzędu.....	160
Rysunek 86. Uwalnianie kolagenu z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu Higuchiego.....	160
Rysunek 87. Uwalnianie kolagenu z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu Korsmayera-Peppasa.....	161
Rysunek 88. Uwalnianie kolagenu z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu Hixona-Crowella	161
Rysunek 89. Schemat podsumowania części III - modyfikacja kolagenem.....	164
Rysunek 90. Przykładowy chromatogram klindamycyny w metodzie HPLC (pasma przy czasie retencji 5,743)	166
Rysunek 91. Widma FT-IR klindamycyny, HAp oraz HAp modyfikowanego klindamycyną	166
Rysunek 92. Zestawienie chromatogramów uwolnionej klindamycyny po czasie 3 h (a); 24 h (b); 72 h (c); 168 h (d); 336 h (d)	168
Rysunek 93. Procentowa ilość uwolnionej klindamycyny w funkcji czasu	169
Rysunek 94. Uwalnianie klindamycyny z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu 0 rzędu.....	169
Rysunek 95. Uwalnianie klindamycyny z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu I rzędu.....	170
Rysunek 96. Uwalnianie klindamycyny z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu Higuchiego.....	170
Rysunek 97. Uwalnianie klindamycyny z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu Korsmayera-Peppasa.....	171
Rysunek 98. Uwalnianie klindamycyny z matrycy kompozytowej - dopasowanie modelu Hixona-Crowella	171
Rysunek 99. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa względem <i>S.aureus</i> dla płynów inkubacyjnych uzyskanych po czasie 24h (1); 72h (2); 168h (3) oraz 336 h (4)	173
Rysunek 100. Schemat podsumowania części IV - modyfikacja antybiotykiem.....	175

Rysunki 1–7 wykonano z użyciem narzędzia BioRender, korzystając z zasobów graficznych dostępnych w bibliotece.

WYKAZ DOROBKU NAUKOWEGO

Publikacje naukowe

1. Kędzierska Magdalena, **Bańkosz Magdalena**, Sala Katarzyna, Garbowska Claudia, Grzywacz Oliwia, Wrzesińska Wiktoria, Liber-Kneć Aneta Zofia, Potemski Piotr, Tyliczszak Bożena: *Design and characterization of novel polymeric hydrogels with protein carriers for biomedical use*, International Journal of Molecular Sciences, 26(1), 2025, DOI:10.3390/ijms26010258, 140 punktów, IF(4,9).
2. Figiela Beata, Tyliczszak Bożena, **Bańkosz Magdalena**, Nikolov Aleksandar, Korniejenko Kinga: *Studying the impact of cement-based and geopolymer concrete on the proliferation of Escherichia coli and Staphylococcus aureus in water-related applications*, Materials, 18(11), 2025, DOI:10.3390/ma18112560, 140 punktów, IF(3,1).
3. Sadlik Julia, Kosińska Edyta, Tomala Agnieszka, **Bańkosz Magdalena**, Polajnar Marko, Kumar Rahul, Kalin Mitjan, Kravanja Gaia, Hribar Luka, Hussainove Irina, Nykiel Marek, Sobczak-Kupiec Agnieszka, Jampilek Josef: *Effect of laser surface texturing and fabrication methods on tribological properties of Ti6Al4V/HAp biocomposites*, Materials, 18(11), 2025, DOI:10.3390/ma18112468, 140 punktów, IF(3,1).
4. Wanat Dominika, Garbowska Claudia, Wrzesińska Wiktoria, Grzywacz Oliwia, Sala Katarzyna, Zapotoczny Kacper, **Bańkosz Magdalena**, Jampilek Josef, Walter Janusz, Tyliczszak Bożena: *Evaluation of physicochemical properties of polymeric systems for potential applications in cartilage tissue engineering*, International Journal of Molecular Sciences, 26(5), 2025, DOI:10.3390/ijms26052057, 140 punktów, IF(4,9).
5. **Bańkosz Magdalena**, Tyliczszak Bożena: *Investigation of silver and plant extract infused polymer systems: antioxidant properties and kinetic release*, International Journal of Molecular Sciences, 25(23), 2024, DOI:10.3390/ijms252312816, 140 punktów, IF(4,9).
6. **Bańkosz Magdalena**: *Physicochemical characterization and kinetics study of polymer carriers with vitamin C for controlled release applications*, Materials, 17(22), 2024, DOI:10.3390/ma17225502, 140 punktów, IF(3,1).
7. Garbowska Claudia, Grzywacz Oliwia, Wrzesińska Wiktoria, **Bańkosz Magdalena**: *Zastosowanie adaptogenów w medycynie regeneracyjnej*, Inżynieria Materiałowa, 45(5), 2024, DOI:10.15199/28.2024.5.1, 40 punktów
8. Góra Michał, **Bańkosz Magdalena**, Tyliczszak Bożena: *Use of innovative methods to produce highly insulating walls using 3D-printing technology*, 17(16), 2024, DOI:10.3390/ma17163990, 140 punktów, IF(3,1).

9. Hutyra Adam, **Bańkosz Magdalena**, Tyliszczak Bożena: *Technology for automated production of high-performance building compounds for 3D printing*, Materials, 17(15), 2024, DOI:10.3390/ma17153829, 140 punktów, IF(3,1).
10. Kędzierska Magdalena, Sala Katarzyna, **Bańkosz Magdalena**, Grzela Klaudyna, Potemski Piotr, Miernik Krzysztof, Tyliszczak Bożena: *Enhanced hydrogel materials: incorporating vitamin C and plant extracts for biomedical applications*, Molecules, 29(11), 2024, DOI:10.3390/molecules29112633, 140 punktów, IF(4,2).
11. Kędzierska Magdalena, **Bańkosz Magdalena**: *Role of proteins in oncology: advances in cancer diagnosis, prognosis, and targeted therapy-a narrative review*, Journal of Clinical Medicine, 13(23), 2024, DOI:10.3390/jcm13237131, 140 punktów, IF(3).
12. Sadlik Julia, Kosińska Edyta, **Bańkosz Magdalena**, Tomala Agnieszka, Bruzda Grzegorz, Jampilek Josef, Sobczak-Kupiec Agnieszka: *Gradient titanium alloy with bioactive hydroxyapatite porous structures for potential biomedical applications*, Materials, 17(22), 2024, DOI:10.3390/ma17225511, 140 punktów, IF(3,1).
13. **Bańkosz Magdalena**, Urbaniak Mateusz M., Szwed Aleksandra, Rudnicka Karolina, Włodarczyk Marcin, Drabczyk Anna, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Tyliszczak Bożena, Sobczak-Kupiec Agnieszka: *Physicochemical and biological analysis of composite biomaterials containing hydroxyapatite for biological applications*, Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials, 111(12), 2023, DOI:10.1002/jbm.b.35309, 140 punktów, IF(3,2).
14. **Bańkosz Magdalena**, Sala Katarzyna, Grzela Klaudyna, Wanat Dominika, Rzepka Korneliusz, Iglar Monika, Piątkowski Jakub, Woźniak Anieli, Kędzierska Magdalena, Tyliszczak Bożena: *Physicochemical properties of temperature-/pH-sensitive hydrogel materials*, Engineering Proceedings, 48(1), 2023, DOI:10.3390/CSAC2023-15166, 5 punktów
15. Czepiel Mateusz, **Bańkosz Magdalena**, Sobczak-Kupiec Agnieszka: *Advanced injection molding methods: review*, Materials, 16(17), 2023, DOI:10.3390/ma16175802, 140 punktów, IF(3,1).
16. Kędzierska Magdalena, **Bańkosz Magdalena**, Sala Katarzyna, Dudzik Julia, Potemski Piotr, Tyliszczak Bożena: *Investigating the effect of the crosslinking factor on the properties of hydrogel materials containing Tilia platyphyllos hydrolate*, Molecules, 28(20), 2023, DOI:10.3390/molecules28207035, 140 punktów, IF(4,2).
17. Kędzierska Magdalena, Sala Katarzyna, **Bańkosz Magdalena**, Wroniak Dominika, Gajda Paweł, Potemski Piotr, Tyliszczak Bożena: *Investigation of physicochemical properties and surface morphology of hydrogel materials*

- incorporating rosehip extract*, Materials, 16(17), 2023, DOI:10.3390/ma16176037, 140 punktów, IF(3,1)
18. Kędzierska Magdalena, **Bańkosz Magdalena**, Drabczyk Anna, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Jamroży Mateusz, Potemski Piotr: *Silver nanoparticles and glycyrrhiza glabra (licorice) root extract as modifying agents of hydrogels designed as innovative dressings*, International Journal of Molecular Sciences, 24(1) 2023, DOI:10.3390/ijms24010217, 140 punktów, IF(4,9).
 19. Kędzierska Magdalena, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Jamroży Mateusz, **Bańkosz Magdalena**, Walter Janusz, Potemski Piotr, Drabczyk Anna: *Verification of the Influence of the 2-Hydroxy-2-methylpropiophenone (photoinitiator) content in hydrogel materials on their physicochemical properties and surface morphology*, Coatings, 13(1), 2023, DOI:10.3390/coatings13010040, 100 punktów, IF(2,9).
 20. Sala Katarzyna, Cholewa Krzysztof, **Bańkosz Magdalena**, Tylińczak Bożena: *Analysis of surface and physicochemical properties of novel hydrogel materials supported with magnetic nanoparticles*, Coatings, 13(11), 2023, DOI:10.3390/coatings13111907, 100 punktów, IF(2,9).
 21. Sala Katarzyna, Ziarkowska Maria, Ruta-Kowalczyk Dagmara, Galas Julia, **Bańkosz Magdalena**, Tylińczak Bożena: *Nowa era medycyny. Potencjał i innowacje nanonośników leku*, Inżynieria Materiałowa, 44(6) 2023, DOI:10.15199/28.2023.6.1, 40 punktów.
 22. Sala Katarzyna, **Bańkosz Magdalena**: *Protein carriers of cytostatic drugs in anti-cancer therapy*, Inżynieria Materiałowa, 44(3), 2023, DOI:10.15199/28.2023.3.3, 40 punktów
 23. Tylińczak Bożena, **Bańkosz Magdalena**, Grzela Klaudyna, Rzepka Korneliusz, Iglar Monika, Piątkowski Jakub, Sala Katarzyna, Woźniak Aniela, Wanat Dominika, Kędzierska Magdalena: *Characteristics of thermoresponsive biohydrogels*, Engineering Proceedings, 48(1), 2023, DOI:10.3390/CSAC2023-14885, 5 punktów
 24. **Bańkosz Magdalena**: *Development of chitosan/gelatin-based hydrogels incorporated with albumin particles*, International Journal of Molecular Sciences, 23(22), 2022, DOI:10.3390/ijms232214136, 140 punktów, IF(5,6).
 25. **Głab Magdalena**, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Drabczyk Anna, Kordyka Aleksandra, Godzierz Marcin, Wróbel Paweł S., Tomala Agnieszka, Tylińczak Bożena, Sobczak-Kupiec Agnieszka: *Evaluation of the impact of pH of the reaction mixture, type of the stirring, and the reagents' concentration in the wet precipitation method on physicochemical properties of hydroxyapatite so as to enhance its biomedical application potential*, Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials, 110(12), 2022, DOI:10.1002/jbm.b.35118, 140 punktów, IF(3,4).

26. Gruca Mateusz, Jamróży Mateusz, **Głab Magdalena**: *Polimerowe nośniki na bazie chitozanu o właściwościach antybakteryjnych i antyseptycznych*, Inżynieria Materiałowa, 43(3), 2022, DOI:10.15199/28.2022.3.3, 40 punktów.
27. Grzela Klaudyna, **Bańkosz Magdalena**: *Witamina C. Właściwości, rola i zastosowanie*, Inżynieria Materiałowa, 43(6), 2022, DOI:10.15199/28.2022.6.3, 40 punktów.
28. Jamróży Mateusz, **Głab Magdalena**: *Synteza i charakterystyka materiałów hydrożelowych modyfikowanych ekstraktem calendula officinalis przeznaczonych do leczenia oparzeń skóry*, Inżynieria Materiałowa, 43(2), 2022, DOI:10.15199/28.2022.2.1, 40 punktów
29. Jamróży Mateusz, **Głab Magdalena**, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Drabczyk Anna, Gajda Paweł, Tylińczak Bożena: *The impact of the Matricaria chamomilla L. Extract, starch solution and the photoinitiator on physicochemical properties of acrylic hydrogels*, Materials, 15(8), 2022, DOI:10.3390/ma15082837, 140 punktów, IF(3,4).
30. Kędzierska Magdalena, Jamróży Mateusz, Drabczyk Anna, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, **Bańkosz Magdalena**, Gruca Mateusz, Potemski Piotr, Tylińczak Bożena: *Analysis of the influence of both the average molecular weight and the content of crosslinking agent on physicochemical properties of PVP-based hydrogels developed as innovative dressings*, International Journal of Molecular Sciences, 23(19), 2022, DOI:10.3390/ijms231911618, 140 punktów, IF(5,6).
31. Kędzierska Magdalena, Drabczyk Anna, Jamróży Mateusz, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, **Głab Magdalena**, Potemski Piotr, Tylińczak Bożena: *Iron oxide magnetic nanoparticles with a shell made from nanosilver—synthesis methodology and characterization of physicochemical and biological properties*, Materials, 15(12), 2022, DOI:10.3390/ma15124050, 140 punktów, IF(3,4).
32. Kędzierska Magdalena, Jamróży Mateusz, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Drabczyk Anna, **Bańkosz Magdalena**, Potemski Piotr, Tylińczak Bożena: *Physicochemical evaluation of L-ascorbic acid and Aloe vera-containing polymer materials designed as dressings for diabetic foot ulcers*, Materials, 15(18), 2022, DOI:10.3390/ma15186404, 140 punktów, IF(3,4).
33. Kędzierska Magdalena, **Bańkosz Magdalena**, Potemski Piotr: *Studies on the impact of the photoinitiator amount used during the PVP-based hydrogels' synthesis on their physicochemical properties*, Materials, 15(17), 2022, DOI:10.3390/ma15176089, 140 punktów, IF(3,4).
34. Kędzierska Magdalena, Drabczyk Anna, Jamróży Mateusz, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, **Głab Magdalena**, Tylińczak Bożena, Bańkosz Wojciech, Potemski Piotr: *The synthesis methodology and characterization*

- of nanogold-coated Fe₃O₄ magnetic nanoparticles*, Materials, 15(9), 2022, DOI:10.3390/ma15093383, 140 punktów, IF(3,4).
35. Myśliwiec Mateusz, **Głab Magdalena**: *Zastosowanie materiałów hydrożelowych w medycynie XXI wieku*, Inżynieria Materiałowa, 43(1), 2022, DOI:10.15199/28.2022.1.2, 40 punktów.
 36. Adamczyk Olga, Wieczorek Julia, **Głab Magdalena**: *Albuminowe nośniki leków. Charakterystyka i zastosowanie*, Inżynieria Materiałowa, 42(6), 2021, DOI:10.15199/28.2021.6.1, 40 punktów.
 37. **Głab Magdalena**, Słota Dagmara Zuzanna: *Biologiczne tusze do drukowania 3D narzędzi i tkanek*, Inżynieria Materiałowa, 42(2-3), 2021, DOI:10.15199/28.2021.2-3.2, 40 punktów.
 38. **Głab Magdalena**, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Drabczyk Anna, Walter Janusz, Kordyka Aleksandra, Godzierz Marcin, Bogucki Rafał, Tyliczszak Bożena, Sobczak-Kupiec Agnieszka: *Hydroxyapatite obtained via the wet precipitation method and PVP/PVA matrix as components of polymer-ceramic composites for biomedical applications*, Molecules, 26(14), 2021, DOI:10.3390/molecules26144268, 140 punktów, IF(4,927).
 39. **Głab Magdalena**, Drabczyk Anna, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Kędzierska Magdalena, Tomala Agnieszka, Sobczak-Kupiec Agnieszka, Mierzwiński Dariusz, Tyliczszak Bożena: *Investigations on the influence of collagen type on physicochemical properties of PVP/PVA composites enriched with hydroxyapatite developed for biomedical applications*, Materials, 15(1), 2021, DOI:10.3390/ma15010037, 140 punktów, IF(3,748).
 40. **Głab Magdalena**, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Drabczyk Anna, Duarte Guigou Martin, Sobczak-Kupiec Agnieszka, Mierzwiński Dariusz, Gajda Paweł, Walter Janusz, Tyliczszak Bożena: *Multistep chemical processing of crickets leading to the extraction of chitosan used for synthesis of polymer drug carriers*, Materials, 14(17), 2021, DOI:10.3390/ma14175070, 140 punktów, IF(3,748).
 41. **Głab Magdalena**, Drabczyk Anna, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Krzan Marcel, Tyliczszak Bożena: *Physicochemical characteristics of chitosan-based hydrogels modified with equisetum arvense L. (Horsetail) extract in view of their usefulness as innovative dressing materials*, Materials, 14(24), 2021, DOI:10.3390/ma14247533, 140 punktów, IF(3,748).
 42. **Głab Magdalena**, Drabczyk Anna, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Duarte Guigou Martin, Makara Agnieszka, Gajda Paweł, Jampilek Josef, Tyliczszak Bożena: *Starch solutions prepared under different conditions as modifiers of chitosan/poly(aspartic acid)-based hydrogels*, Materials, 14(16), 2021, DOI:10.3390/ma14164443, 140 punktów, IF(3,748).

43. Kędzierska Magdalena, Potemski Piotr, Drabczyk Anna, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, **Głab Magdalena**, Grabowska Beata, Mierzwiński Dariusz, Tylińczak Bożena: *The synthesis methodology of PEGylated Fe₃O₄@Ag nanoparticles supported by their physicochemical evaluation*, *Molecules*, 26(6), 2021, DOI:10.3390/molecules26061744, 140 punktów, IF(4,927).
44. Kudłacik-Kramarczyk Sonia, **Głab Magdalena**, Drabczyk Anna, Kordyka Aleksandra, Godzierz Marcin, Wróbel Paweł S., Krzan Marcel, Uthayakumar Marimuthu, Kędzierska Magdalena, Tylińczak Bożena: *Physicochemical characteristics of chitosan-based hydrogels containing albumin particles and aloe vera juice as transdermal systems functionalized in the viewpoint of potential biomedical applications*, *Materials*, 14(19), 2021, DOI:10.3390/ma14195832, 140 punktów, IF(3,748).
45. Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Drabczyk Anna, **Głab Magdalena**, Gajda Paweł, Jaromin Anna, Czopek Anna, Zagórska Agnieszka, Tylińczak Bożena: *Synthesis and physicochemical evaluation of bees' chitosan-based hydrogels modified with yellow tea extract*, *Materials*, 14(12), 2021, DOI:10.3390/ma14123379, 140 punktów, IF(3,748).
46. Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Drabczyk Anna, **Głab Magdalena**, Gajda Paweł, Czopek Anna, Zagórska Agnieszka, Jaromin Anna, Gubernator Jerzy, Makara Agnieszka, Tylińczak Bożena: *The development of the innovative synthesis methodology of albumin nanoparticles supported by their physicochemical, cytotoxic and hemolytic evaluation*, *Materials*, 14(16), 2021, DOI:10.3390/ma14164386, 140 punktów, IF(3,748).
47. Słota Dagmara, **Głab Magdalena**: *Biodrukowanie z wykorzystaniem biotuszy na bazie alginianów*, *Inżynieria Materiałowa*, 42(4-5), 2021, DOI:10.15199/28.2021.4-5.1, 40 punktów.
48. Słota Dagmara, **Głab Magdalena**, Tylińczak Bożena, Douglas Timothy E. L., Rudnicka Karolina, Miernik Krzysztof, Urbaniak Mateusz M., Rusek-Wala Paulina, Sobczak-Kupiec Agnieszka: *Composites based on hydroxyapatite and whey protein isolate for applications in bone regeneration*, *Materials*, 14(9), 2021, DOI:10.3390/ma14092317, 140 punktów, IF(3,748).
49. Sobczak-Kupiec Agnieszka, Drabczyk Anna, Florkiewicz Wioletta, **Głab Magdalena**, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Słota Dagmara, Tomala Agnieszka, Tylińczak Bożena: *Review of the applications of biomedical compositions containing hydroxyapatite and collagen modified by bioactive components*, *Materials*, 14(9), 2021, DOI:10.3390/ma14092096, 140 punktów, IF(3,748).
50. Drabczyk Anna, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, **Głab Magdalena**, Kędzierska Magdalena, Jaromin Anna, Mierzwiński Dariusz, Tylińczak Bożena: *Physicochemical investigations of chitosan-based hydrogels containing*

- aloe vera designed for biomedical use*, Materials, 13(14), 2020, DOI:10.3390/ma13143073, 140 punktów, IF(3,623).
51. Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Drabczyk Anna, **Głab Magdalena**, Dulian Piotr, Bogucki Rafał, Miernik Krzysztof, Sobczak-Kupiec Agnieszka, Tylińczak Bożena: *Mechanochemical synthesis of BaTiO₃ powders and evaluation of their acrylic dispersions*, Materials, 13(15), 2020, DOI:10.3390/ma13153275, 140 punktów, IF(3,623).
 52. Kudłacik-Kramarczyk Sonia, **Głab Magdalena**, Drabczyk Anna, Tylińczak Bożena, Kołoczek Henryk: *Studies on physicochemical properties of selected apiproducs as materials for preparation of protein spheres*, Inżynieria Mineralna, 1 (43), 2019, DOI:10.29227/IM-2019-01-23, 40 punktów.
 53. Tylińczak Bożena, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Drabczyk Anna, Bogucki Rafał, Olejnik Ewa, Kinasiewicz Joanna, **Głab Magdalena**: *Hydrogels containing caffeine and based on Beetosan® - proecological chitosan - preparation, characterization, and in vitro cytotoxicity*, International Journal of Polymeric Materials, 68(15), 2019, DOI:10.1080/00914037.2018.1525537, 70 punktów, IF(1,865).
 54. Tylińczak Bożena, Kudłacik-Kramarczyk Sonia, Drabczyk Anna, **Głab Magdalena**: *Novel hydrogels modified with xanthan gum – synthesis and characterization*, Czasopismo Techniczne, 116(1), 2019, DOI:10.4467/2353737XCT.19.006.10046, 40 punktów.

Sumaryczny Impact Factor	149,097
Suma punktów MNiSW	5940
Liczba cytowań (Scopus)	484
Indeks Hirscha (Scopus)	12
Liczba cytowań (Scopus) – bez autocytowań	459
Indeks Hirscha (Scopus) – bez autocytowań	12

Wskaźniki bibliometryczne aktualne na dzień 01.07.2025.

Udział w projektach badawczych

1. M-ERA.NET 3 Call 2022 (Fundusze Europejskie)
Temat: *New Generation of Bioactive Laser Textured Ti/HAp Implants*
Okres uczestnictwa w projekcie: 07.2023 – 01.2025
2. POIR. 04.01.04-00-0032/20-00 (Fundusze Europejskie)
Temat: *Opracowanie i demonstracja technologii wytwarzania wysoko efektywnych sorbentów na bazie diatomitu oraz wypełniaczy diatomitowych*
Okres uczestnictwa w projekcie: 05.2023 – 08.2023
3. OPUS, UMO-2022/45/B/ST8/02557 (Narodowe Centrum Nauki)
Temat: *Hierarchiczne podejście do inżynierii tkanki kostno-chrzęstnej OsteoHierarch*
Okres uczestnictwa w projekcie: 03.2023 – 06.2023
4. WND-RPSL.01.02.00-24-0133/21-005, LEON WITAS Sp. z o. o.// RPO WSL (Śląskie Centrum Przedsiębiorczości)
Temat: *Przeprowadzenie prac B+R celem opracowania innowacyjnego systemu drzwiowego do zastosowania w infrastrukturze Medycznej*
Okres uczestnictwa w projekcie: 12.2022 – 01.2023
5. 04.04.00-00-16D7/18 TEAM-NET (Fundacja na rzecz Nauki Polskiej)
Temat: *Wielofunkcyjne kompozyty aktywne biologicznie do zastosowań w medycynie regeneracyjnej układu kostnego*
Okres uczestnictwa w projekcie: 01.2019 – 09.2022

Zgłoszenia patentowe

1. UPRP numer: P.442978
Sposób otrzymywania kompozytu o osnowie polimerowej zawierającej hydroksyapatyt i kompozyt o osnowie polimerowej zawierającej hydroksyapatyt.
2. UPRP numer: P.442979.
Sposób otrzymywania dwuwarstwowej bioaktywnej powłoki kompozytowej i dwuwarstwowa bioaktywna powłoka kompozytowa.
3. UPRP numer: P.44280.
Sposób otrzymywania bioaktywnego kompozytu i bioaktywny kompozyt.
4. UPRP numer: P.446802.
Sposób wytworzenia monomerów polimerów samoregenerujących.
5. UPRP numer: P.451609
Bioaktywny materiał kompozytowy i sposób otrzymywania bioaktywnego materiału kompozytowego.

Zrealizowane staże naukowe, dydaktyczne i przemysłowe

1. University of Porto w ramach projektu „REG – region uczący się”,
Praça de Gomes Teixeira, 4099-002 Porto, Portugalia
(*Staż dydaktyczny*)
Okres stażu: 08.11.2023 – 29.11.2023
2. Firma UNISTAR Sp. z o. o, ul. Pszczyńska 305, 44-100 Gliwice
(*staż przemysłowo-zawodowy*)
Okres stażu: 01.01.2023 – 31.03.2023
3. Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych Polskiej Akademii Nauk
w Zabrzu, ul. M.Curie-Skłodowskiej 34, 41-819 Zabrze
(*staż naukowy, opiekun dr inż. Marcin Godzierz*)
Okres stażu: 22.03.2021 – 26.03.2021
4. Katedra Immunologii I Biologii Infekcyjnej Wydziału Biologii i Ochrony
Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź
(*staż naukowy, opiekun dr Karolina Rudnicka*)
Okres stażu: 27.02.2020 – 06.03.2020
5. Lancaster University, Engineering Department and Materials Science Institute
(MSI), Bailrigg, Lancaster LA1 4YW, United Kingdom
(*staż naukowy, opiekun: dr Timothy Douglas*)
Okres stażu: 28.01.2020 – 06.02.2020
6. Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera Polskiej
Akademii Nauk w Krakowie, ul. Niezapominajek 8, 30-239 Kraków
(*staż naukowy, opiekun: dr inż. Aneta Michna*)
Okres stażu: 01.08.2018 – 31.08.2018
7. Comenius University, Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural
Sciences, Ilkovicova 6, 84215 Bratislava, Slovakia
(*udział w mentoringu naukowym, opiekun: prof. Josef Jampilek*)
Okres mentoringu naukowego: 01.01.2019 – 30.09.2022; współpraca mentora
naukowego w zakresie badań nad biomateriałami w formie konsultacji
merytorycznych i wsparcia eksperckiego

Konferencje naukowe

1. Innowacyjne pomysły młodych naukowców: Nauka – Startup – Przemysł, Wystąpienie posterowe: *Nowoczesne materiały polimerowe z bioaktywnymi dodatkami – charakterystyka właściwości antyoksydacyjnych i kinetyka uwalniania*, 02-03.06 2025.
2. EUIndTech2025, Wystąpienie posterowe: *Innowacyjne hydrożele PVP z mikrometrycznymi cząstkami srebra i ekstraktem z Arnica montana do zastosowań w leczeniu ran przewlekłych*, 02-03.06 2025.
3. Światowy Dzień Recyklingu – Warsztaty Gospodarki o Obiegu Zamkniętym, Wystąpienie ustne: *Gospodarka o obiegu zamkniętym w projektowaniu i syntezie biomateriałów*, 18.03.2025.
4. Forum Inżynierii Materiałowej, Wystąpienie ustne: *Biohydrogels*, 05.12.2024.
5. 5th International Conference Strategies toward Green Deal Implementation Waste, Raw Materials & Energy in Green Transition, Wystąpienie posterowe: *Optymalizacja warunków syntezy kompozytów gradientowych do zastosowań biomedycznych*, 27.11.2024 – 29.11.2024
6. The 1st International Online Conference on functional Biomaterials, Wystąpienie posterowe: *Obtaining hydroxyapatite as a calcium phosphate with high potential in bone tissue engineering*, 10.07.2024 – 12.07.2024.
7. 11th International Multidisciplinary Conference of Current Research Trends-2024, Wystąpienie ustne: *Plant adaptogens – characteristics and biomedical applications*, 28-29.06.2024.
8. 32nd Annual Conference “Biomaterials in Medicine and Veterinary Medicine”, Wystąpienie posterowe: *Effect of Synthesis Parameters on Physicochemical Properties of Calcium Phosphates*, 12-15.10.2023.
9. 9th International Multidisciplinary Conference of Current Research Trends-2023, Wystąpienie ustne: *Hydrogels systems based of natural polymers modified with albumin carriers*, 25-26.08.2023.
10. Advanced Materials and Technologies Conference ATM 2023, Wystąpienie posterowe: *Calcined diatomite as a corrosion inhibitor in corrosion protection coatings*, 18 - 21.06.2023.
11. XIV Międzynarodowa Konferencja Naukowa Horyzonty Nauki, Wystąpienie posterowe: *Innowacyjne materiały hydrożelowe jako nośniki wybranych substancji aktywnych*, 12-13.06.2023.
12. XXIV Międzynarodowa Studencka Konferencja Naukowa „Materiały i technologie XXI Wieku”, Wystąpienie ustne: *Systemy polimerowe modyfikowane wybranymi białkami jako nośniki leków cytostatycznych*, 24.05.2023.
13. V Ogólnopolska Konferencja IMPLANTY 2023 Technologie, chemia i medycyna, Wystąpienie posterowe: *Otrzymywanie i charakterystyka wybranych fosforanów wapnia*, 18-20.05.2023.
14. X Ogólnopolska Konferencja Studentów Fizyki Medycznej Fizyka dla Medyka, Wystąpienie ustne: *Analiza fizykochemiczna i biologiczna materiałów*

- kompozytowych przeznaczonych do regeneracji ubytków kostnych, 15-16.04.2023.*
15. I Ogólnopolska Konferencja Interdyscyplinarna "Biomateriały Nadzieją Przyszłości", Wystąpienie ustne: *Nanosfery białkowe jako nośniki leków w celowanej terapii przeciwnowotworowej*, 12.12.2022.
 16. UK-Poland-Ukraine Bioinspired Materials Conference, Wystąpienie posterowe: *Preparation and characterization of albumin nanospheres as carriers of cytostatic drugs*, 29-30.11.2022.
 17. Międzynarodowa konferencja Innowacyjne pomysły młodych naukowców Nauka Startup Przemysł 2022, Wystąpienie ustne: *Nanocząstki białkowe jako nośniki leków cytostatycznych - otrzymywanie i charakterystyka*, 28.11.2022.
 18. Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society, Inc.- European Chapter 2022 TERMIS-EU Conference, Wystąpienie posterowe: *Physicochemical and biological analysis of synthetic hydroxyapatite obtained via a wet precipitation technique*, 28.06-01.07.2022.
 19. Ogólnopolska Konferencja Science and Young Researchers – 6th edition, Wystąpienie ustne: *Composite biomaterials designed for bone tissue regeneration*, 04.06.2022.
 20. Ogólnopolska Konferencja Analiza Zagadnienia, Analiza Wyników – Wystąpienia Młodego Naukowca, Wystąpienie ustne: *Materiały kompozytowe modyfikowane kolagenem pochodzenia wołowego do zastosowań biomedycznych*
Wystąpienie ustne: *Hydroksyapatyt syntetyczny otrzymywany metodą mokrego strącania przeznaczony do regeneracji tkanki kostnej*, 05-06.03.2022.
 21. Ogólnopolska Konferencja Interdyscyplinarna COGITO cz. I, Wystąpienie ustne: *Trójwymiarowe kompozyty ceramiczno-polimerowe modyfikowane kolagenem do zastosowań biomedycznych*, 10-11.02.2022.
 22. 2nd International Conference Strategies toward Green Deal Implementation Water, Raw Materials & Energy, Wystąpienie posterowe: *Photopolymerization as an economical and waste-free method of obtaining composite materials intended for bone tissue regeneration*, 08-10.12.2021.
 23. Ogólnopolska konferencja Implanty, Wystąpienie posterowe: *Nanosfery białkowe w kontrolowanym dostarczaniu leków*, 18.06.2021.
 24. I Międzynarodowa Multidyscyplinarna Konferencja Doktorantów Uniwersytetu Szczecińskiego, Wystąpienie ustne: *Nanosfery albuminowe jako nośniki leków cytostatycznych*, 23-25.05.2021.
 25. Ogólnopolska Konferencja o Kompozytach, Wystąpienie ustne: *Synteza i charakterystyka kompozytów ceramiczno-polimerowych na bazie białka serwatkowego*, 21-22.05.2021.
 26. National Scientific Conference „Knowledge – Key to Success” – 5th edition, Wystąpienie posterowe: *Modified protein hydrogels designed for biomedical applications*, 23.01.2021.
 27. Konferencja Naukowa „Blżej chemii”, Wystąpienie posterowe: *Albumina jako nośnik leków przeciwnowotworowych*, 09-10.01.2021.

28. e-Zjazd Zimowy SSPTChem, Wystąpienie ustne: „Otrzymywanie nanosfer polimerowych na bazie albuminy, 19.12.2020.
29. Global Virtual Conference on Biomaterials (Biopolymat), Wystąpienie ustne: *Albumin nanospheres for drug delivery applications*, 04.12.2020.
30. UK-Poland Bioinspired Materials Conference, Lancaster, United Kingdom, Wystąpienie ustne: *Physicochemical and biological analysis of hydroxyapatite for bone tissue regeneration*, 23-24.11.2020.
31. Nowe Trendy w Badaniach Naukowych edycja II, Wystąpienie ustne: *Badania inkubacyjne bioaktywnych materiałów kompozytowych do zastosowań w medycynie regeneracyjnej i implantologii*, Wystąpienie posterowe pt.: *Hydrożelowe materiały kompozytowe zawierające białka pochodzenia naturalnego przeznaczone do regeneracji układu kostnego*, 20.11-22.11.2020.
32. National Scientific e-Conference: e-Factory of Science, Wystąpienie ustne: *Characteristics of polymer-ceramic composites for the regeneration of the skeletal system*, 14.11.2020.
33. Konferencja Naukowa „Polimery w Medycynie”, Wystąpienie posterowe: *Bioaktywne materiały kompozytowe do zastosowań w medycynie regeneracyjnej i implantologii*, 03.11.2020.
34. 1st Summer Scientific on-line School, Wystąpienie ustne: *Hydrogels based on whey protein isolate modified with hydroxyapatite*, 08.08.2020.
35. Konferencja Naukowa Nowe Trendy w Badaniach Naukowych, Edycja I, Wystąpienie ustne: *Hydroksyapatyt w medycynie regeneracyjnej układu kostnego oraz Modyfikowane materiały hydrożelowe do zastosowań biomedycznych*, 20-21.06.2020.
36. Dokonania Naukowe Doktorantów, Wystąpienie ustne: *Otrzymywanie hydrożeli WPI modyfikowanych hydroksyapatytem i substancją aktywną*, 27-28.04.2020.
37. UK-Russia bioinspired materials, Wystąpienie posterowe: *Hydroxyapatite in bone regeneration – selection of synthesis conditions*, 02-03.02.2020.

Nagrody i wyróżnienia

Indywidualne

1. Laureatka Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla Wybitnych Młodych Naukowców w 2025 roku (edycja 20).
2. Laureatka Nagrody Santander dla Studentów i Doktorantów Politechniki Krakowskiej 2025
3. Laureatka zestawienia Forbes „24 kobiety, które warto obserwować w 2024 roku”
4. Laureatka Nagrody Santander dla Studentów i Doktorantów Politechniki Krakowskiej 2024
5. Wyróżnienie w zestawieniu TOP 20% za efektywność publikacyjną w 2024 roku
6. Laureatka wyróżnienia SUPERMENTOR 2024 za pracę mentorską ze studentami grup projektowych FutureLab PK

7. Tytuł Najlepszego Dydaktyka na kierunku Nanotechnologia i nanomateriały w roku akademickim 2023/2024
8. Wyróżnienie w zestawieniu TOP 20% za efektywność publikacyjną w 2023 roku
9. Laureatka wyróżnienia 2023 za pracę mentorską ze studentami grup projektowych FutureLab PK
10. Nagroda za najlepszy referat ustny: *Systemy polimerowe modyfikowane wybranymi białkami jako nośniki leków cytostatycznych*, XXIV Międzynarodowa Studencka Konferencja Naukowa - Materiały i Technologie XXI wieku, Katowice, 24.05.2023 r.
11. I miejsce za referat ustny: *Nanosfery białkowe jako nośniki leków w celowanej terapii przeciwnowotworowej*, I Ogólnopolska Konferencja Interdyscyplinarna "Biomateriały Nadzieją Przyszłości", 12.12.2022 r.
12. Nagroda za najlepszy poster zaprezentowany podczas konferencji 2nd International Conference Strategies toward Green Deal Implementation: Water, Raw Materials & Energy, 8-10.12.2022.
13. Nagroda Specjalna TransDOCSUM Transfer of EIT Raw Materials PhD Winter School Entrepreneurship in the CE.
14. Wyróżnienie za wygłoszony referat podczas Ogólnopolskiej Konferencji Młodych Naukowców: Analiza Zagadnienia, Analiza Wyników – Wystąpienie Młodego Naukowca, 05-06.03.2022.
15. I miejsce na Uczelnianej Sesji Kół Naukowych Politechniki Krakowskiej za referat pt. „Materiały hydrożelowe modyfikowane sferami białkowymi zaprojektowane do transdermalnego dostarczania substancji aktywnych”, 2021, Kraków.
16. II miejsce na Wydziałowej Sesji Kół Naukowych za referat: *Sfery albuminowe - otrzymywanie, charakterystyka, zastosowanie*, 2021, Kraków.
17. Wyróżnienie podczas konferencji Nowe Trendy w Badaniach Naukowych, Edycja I za prezentowany poster: *Hydrożele WPI modyfikowane hydroksypatytem*, 20-21.06.2020.
18. Wyróżnienie podczas konferencji Dokonania Naukowe doktorantów za prezentowany referat: *Otrzymywanie hydrożeli WPI modyfikowanych hydroksypatytem i substancją aktywną*, 27-28.04.2020.
19. I miejsce w konkursie prac oryginalnych w sesji biotechnologicznej Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej Studentów Medycyny Laboratoryjnej i Biotechnologii, Diagnostyczno-Biotechnologiczne Zagłębie Nauki, Sosnowiec 2019.
20. Nagroda publiczności w sesji biotechnologicznej Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej Studentów Medycyny Laboratoryjnej i Biotechnologii” Diagnostyczno-Biotechnologiczne Zagłębie Nauki, Sosnowiec 2019.
21. Tytuł Finalisty w kategorii Nauki Przyrodnicze i Energetyka w konkursie Studecki Nobel 2019.

Zespołowe

1. Laureat Konkursu „Student Wynalazca 2023” za wynalazek *Sposób otrzymywania kompozytu o osnowie polimerowej zawierającej hydroksypatyt i kompozyt o osnowie polimerowej zawierającej hydroksypatyt oraz Sposób otrzymywania dwuwarstwowej bioaktywnej powłoki kompozytowej i dwuwarstwowa bioaktywna powłoka kompozytowa.*
2. Wyróżnienie w konkursie „Struna-Med 2023” za projekt *Układy transdermalne w celowanej terapii nowotworów skóry.*
3. I miejsce w programie MedBiz Innovations program za projekt Biohydrogels – nowoczesne opatrunki aktywne.
4. I miejsce w Ogólnopolskim Konkursie Kół Naukowych Uczelni Technicznych “KoKoN 2018” w kategorii „Innowacja i Nowe Technologie”, 2018, Warszawa, Polska.

Nagrody uzyskane podczas Międzynarodowych Wystaw Wynalazków

1. Złoty Medal na „Międzynarodowych Targach Wynalazków i Innowacji INTARG 2025” za wynalazek *Biokompozyty polimerowe dla medycyny regeneracyjnej*, 03-05.06.2025.
2. Srebrny Medal na „Międzynarodowych Targach Wynalazków i Innowacji INTARG 2025” za wynalazek *Funkcjonalne hydrożele o właściwościach adaptacyjnych do zastosowań w filtracji otrzymane przy użyciu technologii druku 4D*, 03-05.06.2025.
3. Srebrny Medal na „Międzynarodowych Targach Wynalazków i Innowacji INTARG 2025” za wynalazek *FLOBIOPOT – Biodegradowalne doniczki z odpadów owocowych pokryte biopolimerem. Innowacyjne i ekologiczne rozwiązanie, które wspiera gospodarkę cyrkularną oraz redukuje ilość plastikowych odpadów w ogrodnictwie*, 03-05.06.2025.
4. Srebrny Medal na „Międzynarodowych Targach Wynalazków i Innowacji INTARG 2025” za wynalazek *REBIOPACK – Nowa generacja ekologicznych materiałów opakowaniowych dla przemysłu spożywczego*, 03-05.06.2025.
5. Brązowy Medal na „Międzynarodowych Targach Wynalazków i Innowacji INTARG 2025” za wynalazek *Polimerowe biomateriały hydrożelowe o właściwościach antyoksydacyjnych*, 03-05.06.2025.
6. Nagroda specjalna WIPO National Award for Creativity za wynalazek *Polymer biocomposites for regenerative medicine*, 03-05.06.2025.
7. EKO Nagroda Prezesa Izby Ekologii za wynalazek pt. *Funkcjonalne hydrożele o właściwościach adaptacyjnych do zastosowań w filtracji otrzymane przy użyciu technologii druku 4D*, 03-05.06.2025.
8. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „2024 Kaohsiung International Invention & Design EXPO” za wynalazek *Development of Natural Nanogels-Based Carriers for Controlled and Targeted Drug Delivery in Therapeutic Applications*, 05-07.12.2024.
9. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „2024 Kaohsiung International Invention & Design EXPO” za wynalazek *Polymeric system with natural bio-*

- components for anti-inflammatory and regenerative treatment of chronic wounds*, 05-07.12.2024.
10. Brązowy Medal na Międzynarodowej Wystawie „2024 Seoul International Invention Fair” za wynalazek: *Biomaterial with active medicinal substances for controlled release in the therapy of hard-to-heal wounds*, 27-30.11.2024.
 11. Platynowy Medal na Międzynarodowej Wystawie „EUREKA INTERNATIONAL PARIS 2024 za wynalazek *Innovative hydrogel based on adaptogens for stimulating tissue regeneration in chronic wounds*, 11.2024.
 12. Nagroda Specjalna na Międzynarodowej Wystawie „IENA 2024” za wynalazek *The use of biohydrogels with adaptogens in the treatment of hard-to-heal wounds*, 26-28.10.2024.
 13. Srebrny Medal na Międzynarodowej Wystawie „IWIS 2024” za wynalazek *Nanocarriers for biomedical applications – synthesis and properties*, 16.10.2024.
 14. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „IWIS 2024” za wynalazek *Innovative carrier of natural substances with antioxidant activity dermatological applications*, 16.10.2024.
 15. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „IWIS 2024” za wynalazek *Biohydrogels enriched with adaptogens in the treatment of chronic wounds*, 16.10.2024.
 16. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „Korea International Women’s Invention Exposition” za wynalazek *Nano and micro polymeric systems for biomedical applications*, 22.06.2024.
 17. Nagroda Specjalna na Międzynarodowej Wystawie „Korea International Women’s Invention Exposition” za wynalazek *Smart polymer hydrogels expressing fluorescent properties*, 22.06.2024.
 18. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „The 7th China International Exhibition of Inventions” za wynalazek *Active-hydrogels with antioxidant activity in cosmetological and dermatological therapies*, 14.06.2024.
 19. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „The 7th China International Exhibition of Inventions” za wynalazek *Advances polymer nanosystems as drug carriers in cancer biomedicine*, 14.06.2024.
 20. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „Invent Arena” za wynalazek *Nanogels - intelligent and controlled release of cytostatics*, 12-13 .06.2024.
 21. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „Invent Arena” za wynalazek *Modern hydrogel patches based on natural ingredients with antioxidant effect*, 12-13 .06.2024.
 22. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „EUROINVENT” za wynalazek *Polymeric capsules as drug carriers in anticancer therapies*, 08.06.2024.
 23. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „EUROINVENT” za wynalazek *Delivery systems of active substances with anti-inflammatory and soothing properties intended for dermatological applications*, 08.06.2024.
 24. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „ARCA 2023” za wynalazek *Smart polymeric materials with fluorescent properties*, 14.11.2023.
 25. Srebrny Medal na Międzynarodowej Wystawie „ARCA 2023” za wynalazek *III-generation wound dressings as support systems for the treatment of dermatological diseases*, 14.11.2023.

26. Srebrny Medal na Międzynarodowej Wystawie „ARCA 2023” za wynalazek *Multicomponent drug carriers for anticancer therapy*, 14.11.2023.
27. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „Seoul International Inventiof Fair” za wynalazek *Multifunctional hydrogel materials to support the therapy of dermatological diseases*, 01-04.11.2023.
28. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „IENA 2023” za wynalazek *Transdermal systems for targeted delivery of cytostatic drugs*, 30.10.2023.
29. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „Korea International Women’s Invention Exposition” za wynalazek *Innovative nanoparticles based on natural substances as carriers for cytostatic drugs*, 22.07.2023.
30. Srebrny Medal na Międzynarodowej Wystawie „Korea International Women’s Invention Exposition” za wynalazek *Transdermal hydrogels systems in targeted therapy of skin cancers*, 22.07.2023.
31. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „Korea International Women’s Invention Exposition” za wynalazek *Multisensitive hydrogel polymer systems*, 22.07.2023.
32. Srebrny Medal na Międzynarodowej Wystawie “GENEVA INVENTIONS - The International Exhibition of Inventions of Geneva” za wynalazek: *Bioactive composite materials for bone tissue engineering*, 26-30.04.2023.
33. Srebrny Medal na Międzynarodowej Wystawie „Korea International Women's Invention Exposition” za wynalazek: *Innovative third generation hydrogel dressings designed to support skin diseases treatment*, 25-27.08.2022.
34. Srebrny Medal na Międzynarodowej Wystawie „EUROINVENT – European Exhibition of Creativity and Innovation” za wynalazek: *Transdermal hydrogel systems modified with active substances supporting skin necrosis treatment*, 26-28.05.2022.
35. Srebrny Medal na Międzynarodowej Wystawie „GENEVA INVENTIONS - The International Exhibition of Inventions of Geneva” za wynalazek *Chitosan-based hydrogels modified with active substances as transdermal systems designed for skin necrosis treatment*, 16-20.03.2022.
36. Złoty Medal na XV Międzynarodowa Warszawska Wystawa Wynalazków IWIS za rozwiązanie *Bioactive Composite Coatings for Biomedical Application*, 2021, 10.2021.
37. Złoty Medal na XIV Międzynarodowa Warszawska Wystawa Wynalazków IWIS za rozwiązanie *Synthetic Hydroxyapatite With Controlled Morphology* 2020, 10.2020.
38. Złoty Medal na XIV Międzynarodowa Warszawska Wystawa Wynalazków IWIS 2020 za rozwiązanie *Biocompatible Collagen-Based Matrices for Application in Bone Tissue Regeneration*, 10.2020.
39. Srebrny Medal na Międzynarodowej Wystawie „18th International Innovation Exhibition ARCA” za rozwiązanie *Bioactive Hydrogel Materials Based on WPI Modified with Hydroxyapatite* 2020, 10.2020.
40. Złoty Medal na Międzynarodowej Wystawie „PRO INVENT” za rozwiązanie *Biocompatible drug carriers in targeted cancer therapy*, 03.2019.

Działalność organizacyjna i popularyzacja nauki

1. Udział w debacie w Pałacu Prezydenckim w ramach projektu „Start–upy w Pałacu” , 09.05.2024
2. Koordynator szkoły letniej „Geopolymers Summer School 2023” w ramach projektu SPINAKE – intensywne międzynarodowe programy kształcenia
3. Opiekun sekcji SmartMat Koła Naukowego Materiałów Funkcjonalnych SMART-MAT, działającego na Wydziale Inżynierii Materiałowej i Fizyki Politechniki Krakowskiej
4. Opiekun projektów studenckich
 - SKN_SP_568410_2023 – Układy transdermalne w celowanej terapii nowotworów skóry, 29.04.2023 – 29.04.2024
 - SKN_SP_601893_2024 - Zastosowanie biohydrożeli zawierających adaptogeny w terapii ran przewlekłych, 03.06.2024 – 03.06.2025
 - FutureLab_44/2022 – Systemy transdermalne z personalizowaną dawką substancji terapeutycznej w leczeniu nekrozy, 2022
 - FutureLab_78/2023 – SmartGels, 2023
 - FutureLab_108/2024 - Activehydrogels, 2024
 - FutureLab_84/2024 – Nanogels do zastosowań biomedycznych, 2024
 - FutureLab_130/2025 - Biokompozyty polimerowe dla medycyny regeneracyjnej
 - FutureLab_138/2025 - Hydrożele funkcjonalne otrzymywane z zastosowaniem druku 4D
5. Opiekun pomocniczy praktyk studenckich oraz prac dyplomowych studentów kierunku Inżynieria Materiałowa oraz Nanotechnologie i nanomateriały.
6. Członkowsko w Polskim Stowarzyszeniu Biomateriałów od 24.11.2019.
7. Członkowsko w Wydziałowej Komisji ds. Promocji WIMiF od 27.03.2025.
8. Stałe zaangażowanie w organizację i uczestnictwo w wydarzeń popularyzujących naukę takich jak Dzień Inżynierii Materiałowej, Małopolska Noc Naukowców, Festiwal Nauki (od 2018 roku).
9. Organizacja i uczestnictwo Dnia otwartego Wydziału Inżynierii Materiałowej i Fizyki Politechniki Krakowskiej, edycja 2024.
10. Organizacja i uczestnictwo w Festiwalu Uczelni - Małopolska Przyszłości 2024.
11. Stałe zaangażowanie w organizację i prowadzenie warsztatów naukowych dla uczniów szkół podstawowych i ponadpodstawowych (od 2018 roku).

Ukończone kursy i szkolenia

1. How Circular Economy Trends are Transforming the Polymer Industry, 22.05.2025.
2. High-Resolution Characterization of Structure, Interaction, and Miscibility, 21.05.2025.
3. Kurs Audytora wewnętrznego w laboratorium wg PN-EN ISO/IEC 17025:2018.

4. Akademia Liderów Rzeczypospolitej, Szkolenie I stopnia, czerwiec 2023.
5. Umiejętności Kierownicze 2023, Polska Agencja Rozwoju Przedsiębiorczości, 30.06.2023.
6. Ekstrakcja do fazy stałej w praktyce, 13.06.2023.
7. Zarządzanie projektami niskobudżetowymi, Polska Fundacja Przedsiębiorczości, 10.06.2023.
8. Biznesplan, Polska Agencja Rozwoju Przedsiębiorczości, 10.06.2023.
9. Motywowanie pracowników, Polska Fundacja Przedsiębiorczości, 30.05.2023.
10. Czynniki, na które możesz wpłynąć, aby wyeliminować ryzyko zanieczyszczenia w hodowlach komórkowych, 30.05.2023.
11. Zarządzanie projektami dla początkujących, Polska Agencja Rozwoju Przedsiębiorczości, 29.05.2023.
12. Wykorzystanie cytometrii przepływowej w badaniach mikrobiologicznych, 16.05.2023.
13. Kontrola jakości konopi, 09.05.2023.
14. Filtracja i ultrafiltracja w przygotowaniu prób biologicznych, 28.03.2023.
15. Szkolenie Current Trends in 3D and Organoid Cell Culture for Cancer Research, 06.09.2022.
16. Szkolenie Cell Culture Fundamentals, 30.08.2022.
17. Przygotowanie i analiza próbek biologicznych – zastosowanie urządzeń GenoGrinder, SPECORD+, Alpha II, 17.07.2022.
18. Zarządzanie projektami, NAVOIVA, 11.07.2022.
19. Szkolenie Choosing the Right Cell Culture Surface: Extracellular Matrix Coatings, 06.07.2022.
20. Zarządzanie innowacjami, NAVOICA, 05.07.2022.
21. Elektrody pH, cele konduktometryczne - dobra praktyka użytkowania, 29.06.2022.
22. Cytometria przepływowa z obrazowaniem Amnis ImageStream. Warsztaty z analizy danych z wykorzystaniem modułów sztucznej inteligencji, 18.05.2022.
23. Chromatografia cieczowa: przygotowanie układu pomiarowego, 27.04.2022.
24. Ekstrakcja do fazy stałej w praktyce, 20.04.2022.
25. Automatyczny homogenizator do zastosowań biologicznych – GenoMax 2050 II, 31.03.2022.
26. Nowoczesne i oszczędne podejście do techniki ICP-MS na przykładzie serii PlasmaQuant MS, 24.02.2022.
27. Szkolenie Tips and Techniques for Culturing and Scaling-Up Primary Cells, 31.01.2022.
28. Dobra Praktyka Laboratoryjna – zapewnienie jakości badań laboratoryjnych zgodnie z zasadami DPL, 21.12.2021.
29. Szkolenie Advances in three-dimensional Cell Culture, 30.11.2021.
30. Szkolenie z obsługi Mikroskopu Cyfrowego Keyence VHX Series, 18.10.2021.
31. Szkolenie 3D printing in Regenerative Orthopedics, 27.09.2021.
32. Szkolenie Nano- and Microfabricated Hydrogels for Regenerative Engineering, 15.09.2021.

33. Szkolenie Cartilage Engineering and Regeneration, 06.09.2021.
34. Szkolenie dotyczące porozymetru rtęciowego PoreMaster 33 (Anton Paar), 20.07.2021.
35. Obsługa i konserwacja Liofilizatora laboratoryjnego Alpha 1-2 LDplus, 16.06.2021.
36. Szkolenie z obsługi i analizy danych z wykorzystaniem Czytnika płytek 800TSI oraz obsługi programu Gen5, 15.06.2021.
37. Znaczenie jakości wody w analizie białek.- Dlaczego woda może stanowić zagrożenie, 14.06.2021.
38. Szkolenie Western blotting - wskazówki i porady dotyczące optymalizacji procesu, 28.05.2021.
39. Hodowle komórek w 3D, 23.04.2021.
40. Inserty Millicell do hodowli komórek - zastosowanie i przykładowe aplikacje, 16.04.2021.
41. Dobór właściwych membran i rozwiązań w różnych aplikacjach filtracji analitycznej i przygotowania prób, 29.03.2021.
42. Dobór właściwej surowicy w procesie hodowli komórek, 26.03.2021.
43. Szkolenie z obsługi systemu SHIMADZU HPLC Prominence oraz oprogramowania LabSolutions LC/GC Ver.5.xx., 22.03.2021.
44. Sprawniej i szybciej w chromatografii cieczowej – współczesne technologie kolumn HPLC w portfolio Merck, 22.03.2021.
45. Szkolenie New functionalities in Scopus, 26.02.2021.
46. Obsługa i konserwacja Dwuwiązkowego spektrofotometru UV-VIS GENESYS 180 Thermo Scientific, 12.01.2021.
47. Szkolenie Reaxys w praktyce – wyszukiwanie substancji i ich właściwości, 15.12.2020.
48. Tygodniowa szkoła zimowa TransDOCSUM Winter School, 07.12.20 – 11.12.20.
49. Cykl szkoleniowy „Forum inżynierów przyszłości”, 24.10.2020.
50. Szkolenie z zakresu obsługi i konserwacji ośmiostanowiskowego aparatu do badania testów uwalniania substancji czynnej z różnych form leków Inspire 8 Basic firmy Elektrolab, 11.09.2020.
51. Szkolenie z obsługi Specjalistycznego sprzętu POLOS SPIN 50i spin coater, 08.06.2020.
52. Szkolenie z obsługi Aparatu do badań stabilności emulsji MultiScan MS20 DataPhysics Instruments, 01.06.2020.
53. Metody laboratoryjne stosowane w diagnostyce serologicznej na przykładzie testów EUROIMMUN, 01.06.2020.
54. Szkolenie „Diagnosta laboratoryjny”, 10.05.2020.
55. Potwierdzenie ważności wyników w laboratorium zgodnie z wymaganiami normy PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02 – analiza trendów, karty kontrolne, interpretacja wyników programu PT/ILC, 07.04.2020 – 08.04.2020.