

Dr Aleksandra Anna Szcześ

Zakład Zjawisk Międzyfazowych, Katedra Chemii Fizycznej,

Wydział Chemii

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Załącznik 2a do wniosku
o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego

Autoreferat
w języku polskim

1. Imię i nazwisko: Aleksandra Anna Szcześ

Adres służbowy: Zakład Zjawisk Międzyfazowych, Katedra Chemii Fizycznej,
Wydział Chemii
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin
tel. 081-537-77-47, fax: 081-445-46-11
e-mail: aszczes@poczta.umcs.lublin.pl

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:

- 2001** Tytuł zawodowy magistra chemii
Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie.
Tytuł pracy magisterskiej: *Badanie stabilności suspensji i swobodnej energii powierzchniowej ciał stałych.*
Promotor: Prof. dr hab. Lucyna Hołysz
- 2005** Stopień naukowy doktora nauk chemicznych
Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie.
Tytuł rozprawy doktorskiej: *Wpływ pola magnetycznego na właściwości układów zdyspergowanych.*
Promotor: Prof. dr hab. Lucyna Hołysz
- 2008–2009** Studia podyplomowe – Kosmetologia-pielęgnacja urody
Wydział Fizjoterapii, Wyższa Szkoła Społeczno-Przyrodnicza im. Wincentego Pola w Lublinie.
Tytuł pracy dyplomowej: *Kosmeceutyki i drogi transportu przezskórnego.*
- 2009–2010** Studia podyplomowe – Public Relations w badaniach naukowych
Wyższa Szkoła Ekonomii i Innowacji w Lublinie.
Tytuł pracy dyplomowej: *Promocja grupy badawczej jako element public relations w badaniach naukowych.*
- 2010–2011** Studia podyplomowe – Menadżer projektów badawczych
Wyższa Szkoła Ekonomii i Innowacji w Lublinie.

3. Informacje o przebiegu pracy naukowej

- 2001–2005** doktorant (Studia Doktoranckie w zakresie fizykochemii powierzchni na Wydziale Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie)
- X.2005-II.2007** asystent naukowo-dydaktyczny, Zakład Zjawisk Międzyfazowych, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
- od II.2007 do chwili obecnej** adiunkt naukowo-dydaktyczny, Zakład Zjawisk Międzyfazowych, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a. tytuł osiągnięcia naukowego

***Wpływ matrycy organicznej na krystalizację węglanu i fosforanu wapnia
w aspekcie biomineralizacji.***

b. publikacje składające się na osiągnięcie naukowe

Podstawę postępowania habilitacyjnego stanowi cykl 12 pełnotekstowych artykułów [H1–H12] opublikowanych w latach 2007–2015, uszeregowanych biorąc pod uwagę realizowany w nich cel naukowy. Komentarz do tych publikacji przedstawiony w autoreferacie stanowi podsumowanie najważniejszych osiągnięć naukowych będących podstawą przedstawionej rozprawy habilitacyjnej i nie zawiera pełnego omówienia uzyskanych wyników. Sumaryczny Impact Factor jednotematycznego cyklu publikacji wchodzącego w skład rozprawy habilitacyjnej według listy JCR, zgodnie z rokiem opublikowania, wynosi IF=26,874.

H1. A. Szcześ, E. Chibowski, L. Hołysz, Influence of ionic surfactants on the properties of freshly precipitated calcium carbonate. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 297 (2007) 14–18.

IF₂₀₀₇=2,309

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na stworzeniu koncepcji całej pracy, wykonaniu wszystkich doświadczeń i opracowaniu wszystkich wyników, przygotowaniu rysunków, napisaniu pracy, korespondencji z edytorem i współudziale w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

Mój udział procentowy szacuję na 90%.

H2. A. Szcześ, Influence of SDS on particle size and adhesion of precipitating calcium carbonate. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 320 (2008) 98–103.

IF₂₀₀₈=1,926

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na stworzeniu koncepcji całej pracy, wykonaniu wszystkich doświadczeń i opracowaniu wszystkich wyników, przygotowaniu rysunków, napisaniu pracy, korespondencji z edytorem i przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

Mój udział procentowy szacuję na 100%.

H3. A. Szcześ, Influence of the surfactant nature on the calcium carbonate synthesis in water-in-oil emulsion. *Journal of Crystal Growth* 311 (2009) 1129–1135.

IF₂₀₀₉=1,534

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji całej pracy, wykonaniu wszystkich doświadczeń i opracowaniu wszystkich wyników, przygotowaniu rysunków, napisaniu pracy, korespondencji z edytorem i przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

Mój udział procentowy szacuję na 100%.

H4. A. Borówka, **A. Szcześ**, Synthesis of a novel silica/apatite mesoporous nanocomposite. *Materials Letters* 65 (2010) 175–178.

IF₂₀₁₀=**2,120**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na stworzeniu koncepcji całej pracy, wykonaniu części doświadczeń, współudziale w opracowaniu wszystkich wyników i przygotowaniu rysunków, współredagowaniu publikacji współudziale w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

Mój udział procentowy szacuję na 50%.

H5. **A. Szcześ**, M. Jurak, E. Chibowski, Stability of binary model membranes - Prediction of the liposome stability by the Langmuir monolayer study. *Journal of Colloid and Interface Science* 372 (2012) 212–216.

IF₂₀₁₂=**3,172**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na stworzeniu koncepcji całej pracy, wykonaniu części doświadczeń, współudziale w opracowaniu wszystkich wyników i przygotowaniu rysunków, współredagowaniu publikacji, korespondencji z edytorem i współudziale w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

Mój udział procentowy szacuję na 50%.

H6. **A. Szcześ**, Effects of DPPC/Cholesterol liposomes on the properties of freshly precipitated calcium carbonate. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 101 (2013) 44–48

IF₂₀₁₃=**4,287**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na stworzeniu koncepcji całej pracy, wykonaniu wszystkich doświadczeń i opracowaniu wszystkich wyników, przygotowaniu rysunków, napisaniu pracy, korespondencji z edytorem i przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

Mój udział procentowy szacuję na 100%.

H7. **A. Szcześ**, Phosphate mineral formation on the supported dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) layers. *Materials Science and Engineering C* 40 (2014) 373–381.

IF₂₀₁₄=**3,088**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na stworzeniu koncepcji całej pracy, wykonaniu wszystkich doświadczeń i opracowaniu wszystkich wyników, przygotowaniu rysunków, napisaniu pracy, korespondencji z edytorem i przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

Mój udział procentowy szacuję na 100%.

H8. E. Chibowski, **A. Szcześ**, L. Hołysz, Changes of zeta potential and particle size of silica caused by DPPC adsorption and enzyme phospholipase A₂ presence. *Adsorption* 16 (2010) 305–312.

IF₂₀₁₀=**1,993**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji całej pracy, wykonaniu wszystkich doświadczeń, współudziale w opracowaniu wszystkich wyników i przygotowaniu rysunków, współredagowaniu publikacji, współudziale w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

Mój udział procentowy szacuję na 90%.

H9. A. Szcześ, L. Hołysz, Influence of DPPC layers and PLA₂ on surface properties of silica particles. *Surface Innovations* 3 (2015) 3–9.

brak IF

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: współudziale w tworzeniu koncepcji całej pracy, wykonaniu wszystkich doświadczeń, współudziale w opracowaniu wszystkich wyników i przygotowaniu rysunków, współredagowaniu publikacji, korespondencji z edytorem i współudziale w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

Mój udział procentowy szacuję na 95%.

H10. M. Jurak. A. Szcześ, E. Chibowski, Physicochemical properties of phospholipid model membranes hydrolysed by phospholipase A₂ (PLA₂) in the presence of cholesterol at different temperatures. *Applied Surface Science* 266 (2013) 426–432.

IF₂₀₁₃=**2,538**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji całej pracy, wykonaniu części doświadczeń, współudziale w opracowaniu wszystkich wyników i przygotowaniu rysunków, współredagowaniu publikacji, współudziale w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

Mój udział procentowy szacuję na 45%.

H11. A. Szcześ, D. Sternik, Properties of calcium carbonate precipitated in the presence of DPPC liposomes modified with the phospholipase A₂. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* (2015) doi: 10.1007/s10973-015-4958-5

IF₂₀₁₅=**2,042**¹

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji całej pracy, wykonaniu doświadczeń z wyjątkiem tych obejmujących analizę termiczną, współudziale w opracowaniu wyników z analizy termicznej i opracowaniu pozostałych wyników, przygotowaniu rysunków, napisaniu publikacji, korespondencji z edytorem i przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

Mój udział procentowy szacuję na 80%.

H12. A. Szcześ, Effect of the enzymatically modified supported dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) bilayers on calcium carbonate formation. *Colloid and Polymer Science* 249 (2016) 409–419.

IF₂₀₁₅=**1,865**¹

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji całej pracy, wykonaniu wszystkich doświadczeń i opracowaniu wszystkich wyników, przygotowaniu rysunków, napisaniu pracy, korespondencji z edytorem i przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

Mój udział procentowy szacuję na 100%.

¹Najnowszy dostępny IF według Journal Citation Report (Web of Knowledge, Thomson Reuters)

c. Omówienie celu naukowego wyżej wymienionych prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Wprowadzenie

Biomineralizacja jest zjawiskiem szeroko rozpowszechnionym w przyrodzie. Jest to proces, w którym organizmy żywe wytwarzają minerały nieorganiczne zwykle w celu utwardzenia lub usztywnienia swoich tkanek. Biomineralizacja polega na selektywnej ekstrakcji i wykorzystaniu pierwiastków z lokalnego środowiska i włączeniu ich do funkcjonalnej struktury pod ścisłą kontrolą biologiczną. Biominerały stanowią wąską grupę substancji, zwykle wytwarzanych bardzo powoli, w umiarkowanych warunkach nasycenia i temperatury. Główne zmineralizowane tkanki, takie jak kości, zęby i pancerze są zdominowane przez fosforan lub węglan wapnia i krzemionkę. Jednak znanych jest ponad 60 różnych typów biominerałów występujących w organizmach żywych, od bakterii do ssaków, a nowe są odkrywane w zaskakującym tempie. Biominerały te mają hierarchiczną strukturę i są uporządkowane w różnych kierunkach, co znajduje odzwierciedlenie w ich niezwykłych właściwościach fizycznych. Ich unikalna morfologia i hierarchiczna struktura wpływa na ich biofunkcjonalność i właściwości mechaniczne. Biomineralizacja oferuje organizmom więcej niż tylko szkielet i wytrzymałość mechaniczną. Bierze również udział w wielu ważnych funkcjach biologicznych, takich jak ochrona, ruch, cięcie i rozdrabnianie, posługiwanie się zmysłem magnetycznym i grawitacyjnym, magazynowanie. Proces biomineralizacji powoduje ważne konsekwencje dla rozwoju i ochrony środowiska naturalnego. Stąd, badania biomineralizacji są interdyscyplinarnymi badaniami na pograniczu chemii, biologii molekularnej, biologii komórki, nauki o materiałach, których rezultaty są ważne w dziedzinie paleontologii, chemii morskiej, sedymentologii, medycyny i stomatologii [1–4]. W kontekście chemii bionieorganicznej cele badawcze biomineralizacji obejmują [2]:

- charakterystykę struktury i składu biominerałów,
- zrozumienie właściwości funkcjonalnych biominerałów,
- wyjaśnienie procesów, poprzez które organiczne makrocząsteczki i struktury organiczne kontrolują syntezę, budowę i organizację przestrzenną nieorganicznych materiałów na bazie mineralnej.

Biomineralizacja może inspirować nowe strategie biomimetyczne w syntezie materiałów. Badanie tworzenia przez nanocząstki uporządkowanych hierarchicznych struktur

biominerałów jest pomocne w zrozumieniu istoty wzrostu kryształów i do produkcji sztucznych materiałów o właściwościach fizycznych zbliżonych do biominerałów.

Głównym przedmiotem moich zainteresowań badawczych jest powstawanie minerałów wapniowych, zwłaszcza węglanu wapnia i fosforanu wapnia, ze względu na ich znaczenie jako biomateriały oraz również ich różnorodne zastosowania medyczne i przemysłowe. Badania te są inspirowane fascynującymi właściwościami mechanicznymi i optycznymi tych biomateriałów, a także ich strukturą, która może być kontrolowana przez dodatki organiczne [1,5].

Węglan wapnia i fosforan wapnia mają wysoką energię sieci krystalicznej i niską rozpuszczalność, dzięki czemu są termodynamicznie stabilne w środowiskach biologicznych [2].

Węglan wapnia jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych minerałów. Tworzy, osady geologiczne, osady oceaniczne, kamień kotłowy i biominerały takie jak perły, opalizujące wewnętrzne warstwy muszli mięczaków i kamyczek błędnikowy [6,7]. CaCO_3 ma duże znaczenie praktyczne. Stosowany jest np. do wyrobu papieru, kitu, past do zębów, farb, gumy, wapna palonego, cementu, kredy do pisania. Jest głównym (niepożądanym) składnikiem kamienia kotłowego, który powoduje straty energii cieplnej, obniżając sprawność kotłów oraz wymienników ciepła [1,6]. Węglan wapnia występuje w różnych odmianach polimorficznych, takich jak (zgodnie ze wzrastającą rozpuszczalnością) kalcyt, aragonit, wateryt, jednowodny, sześciowodny i amorficzny węglan wapnia. Kalcyt jest najbardziej stabilną termodynamicznie formą węglanu wapnia. W układach biologicznych kalcyt, aragonit, wateryt i amorficzny węglan wapnia mogą tworzyć zarodki krystalizacji i wzrastać stabilnie, a ich sieci krystaliczne mogą być stabilizowane przez obecne w układzie bioorganiczne makrocząsteczki [8,9].

Kręgowce tworzą głównie **fosforany wapnia**, zarówno w wyniku fizjologicznej (kości, zęby) jak i patologicznej mineralizacji. W każdym przypadku dominującą formą minerału jest apatyt węglanowy [3,10]. Dlatego prowadzone są intensywne badania dotyczące fizykochemicznej charakterystyki z uwzględnieniem właściwości powierzchniowych nanokrystalicznych minerałów fosforanu wapnia w kontekście ich wykorzystania do regeneracji kości [11–13]. Z chemicznego punktu widzenia biomineralizacja kości i zębów jest krystalizacją *in vivo* fosforanu wapnia na polimerowej matrycy kolagenu [14]. Faza stała może wzrastać poprzez różne formy, według malejącej rozpuszczalności, od amorficznego fosforanu wapnia do bruszytu ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), whitlockitu ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), 5-hydratu diwodorosześćcioortofosforanu

(V) ośmiowapnia $[\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$ i hydroksyapatytu $(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2)$, w zależności od temperatury, pH, stężenia jonów, stosunku Ca/P i obecności obcych jonów i cząsteczek [10,15]. W przypadku minerałów fosforanowych wytrącanych z roztworów wodnych, oprócz hydroksyapatytu mogą być również obecne inne formy fosforanu wapnia jako wynik współstrącania lub niecałkowitej transformacji form przejściowych do hydroksyapatytu [16,17].

W wielu biologicznie kontrolowanych procesach zarodkowaniem krystalicznych substancji biologicznych, na przykład materiałów kostnych, kierują wielkocząsteczkowe biopolimery takie jak białka [18] i polisacharydy [19]. W procesie biomineralizacji wielkocząsteczkowe matryce są w stanie w znacznym stopniu kontrolować wzrost nieorganicznych kryształów. Wynika to między innymi z ich komplementarnej struktury względem struktury powierzchniowej, ładunku i konfiguracji geometrycznej kryształów [20–22].

W literaturze można znaleźć wiele badań dotyczących kontrolowania biomineralizacji przez szereg białek [23,24] i polisacharydów [25–28]. Białka te są zazwyczaj ujemnie naładowane i zawierają grupy funkcyjne: karboksylowe, siarczanowe lub fosforanowe, które mogą wiązać jony Ca^{2+} i kontrolować tworzenie zarodków krystalizacji przez obniżenie swobodnej energii oddziaływań pomiędzy kryształem i makrocząsteczką. Stwierdzono, że ujemnie naładowana powierzchnia sprzyja heterogenicznej nukleacji minerałów wapniowych przez nagromadzenie jonów wapnia w wyniku elektrostatycznego przyciągania prowadzącego do zwiększenia ich stężenia w pobliżu powierzchni [29–32].

Tworzenie naturalnych nieorganiczno-organicznych kompozytów, takich jak kości i muszle, jest procesem wielostopniowym obejmującym [33]:

- formowanie się zewnątrzkomórkowej matrycy,
- selektywny transport jonów nieorganicznych do wyraźnie uporządkowanych obszarów,
- nukleację minerałów,
- i ostatecznie wzrost minerału określony przez przeorganizowane obszary komórkowe.

Molekularne rozpoznanie pomiędzy grupami funkcyjnymi na powierzchni organicznych makrocząsteczek i jonami wapnia na powierzchni zarodków krystalizacji obejmuje głównie elektrostatyczne gromadzenie się kationów, dopasowanie strukturalne i wymagania stereochemiczne [29,34,35]. Ważnym aspektem w procesie

biomineralizacji jest rola grup funkcyjnych znajdujących się na powierzchni organicznych centrów krystalizacji. Biomimetyczne podejście do procesu biomineralizacji oparte na właściwościach fizykochemicznych grup funkcyjnych (centrów krystalizacji) może przyczynić się do opracowania nowych strategii w kontrolowanej syntezie nieorganicznych nanocząstek, inżynierii krystalicznej materiałów sypkich oraz produkcji uporządkowanych kompozytów i materiałów ceramicznych.

Matryca organiczna wpływa najbardziej na zarodkowanie, wzrost i orientację minerałów wapniowych poprzez [7]:

- obniżenie energii nukleacji (zarodkowania) kryształów poprzez międzyfazowe oddziaływania,
- kontrolowanie szybkości zarodkowania, miejsca powstawania zarodków, postaci krystalicznej i orientacji przestrzennej kryształów przez międzyfazowe oddziaływania między grupami funkcyjnymi matrycy organicznej i jonów w roztworze nasyconym.

Wzrost kryształów zachodzi według dwóch mechanizmów: **starzenia Ostwalda** obejmującego wzrost większych kryształów kosztem mniejszych lub **agregację**, która może przebiegać według losowego lub epitaksjalnego mechanizmu obejmującego krystalograficznie skierowaną fuzję nanocząstek prowadzącą do powstania pojedynczych kryształów [36–38].

Pomimo przeprowadzenia wielu badań nadal nie jest w pełni wyjaśniony wpływ biologicznych makrocząsteczek na proces zarodkowania i wzrostu kryształów. Najmniej zbadaną grupą związków w kontekście mineralizacji są związki powierzchniowo czynne. W literaturze nie ma wielu publikacji dotyczących roli tych związków w procesie zarodkowania i wzrostu kryształów [39–43] a dotyczą one głównie metody syntezy nanocząstek w układzie odwróconych mikroemulsji [44–49].

Związki powierzchniowo czynne powszechnie nazywane surfaktantami (z ang. *surface-active agents*) mają szerokie zastosowanie jako detergenty, są obecne w produktach spożywczych, środkach ochrony roślin i preparatach kosmetycznych oraz odgrywają istotną rolę między innymi w medycynie, farmacji, metalurgii czy górnictwie itp. Od momentu wprowadzenia surfaktantów na rynek na początku XX wieku, ich wykorzystanie stale wzrasta i w rezultacie obecnie zaliczają się one do grupy substancji syntetycznych produkowanych na świecie w największej ilości [50]. W 2008 roku

roczna światowa produkcja surfaktantów wynosiła 13 milionów ton metrycznych, a obroty z tego tytułu sięgnęły 24,33 mld dolarów amerykańskich. Szacuje się, że w 2018 roku światowy rynek surfaktantów wygeneruje dochody powyżej 41 mld dolarów amerykańskich [51].

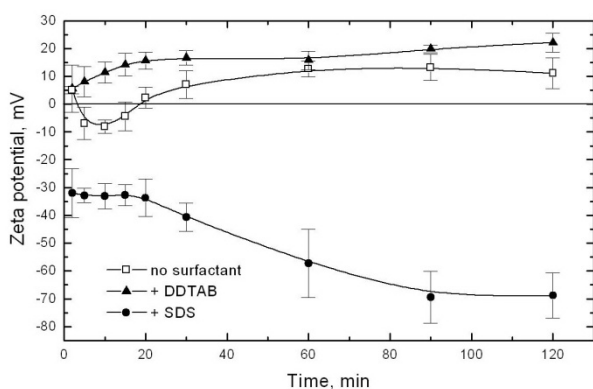
Związki powierzchniowo czynne są dużymi cząsteczkami o masie cząsteczkowej zwykle powyżej 300 i amfipatycznej budowie. Ich cząsteczka składa się z dwóch części o odmiennym powinowactwie do rozpuszczalnika. W przypadku związku powierzchniowo czynnego rozpuszczonego w środowisku wodnym, część hydrofobowa (liofilowa) niszczy strukturę wody przez rozerwanie wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczkami wody, natomiast w sąsiedztwie części hydrofilowej (lipofobowej) następuje uporządkowanie struktury wody [52,53]. Częścią hydrofobową jest zwykle reszta węglowodorowa o długim łańcuchu (czasami fluorowęglowa, krzemowodorowa lub mieszana oraz mogą być wbudowane grupy polarne) a część hydrofilową stanowią jonowe lub silnie polarne grupy. Biorąc pod uwagę właściwości części hydrofilowej cząsteczek surfaktantów można przedstawić najbardziej ogólny podział na dwie grupy: związki jonowe (anionowe, kationowe, amfoteryczne) i niejonowe, których grupy hydrofilowe nie tworzą soli [53].

Cele badawcze i omówienie najważniejszych wyników badań.

Obecność wysokiej jakości syntetycznych związków powierzchniowo czynnych w naszym życiu jest niekwestionowana. Nie bez znaczenia jest również ich wpływ na wiele procesów zachodzących w organizmach ludzi i zwierząt, w tym również na proces biomineralizacji. Z drugiej strony fosfolipidy (naturalne związki powierzchniowo czynne) to główny składnik lipidów błonowych stanowiących ponad 50% masy błony komórkowej. Dlatego, aby poznać i chociaż częściowo zrozumieć wpływ oddziaływań pomiędzy matrycą organiczną i roztworem składnika nieorganicznego na wzrost kryształów i ich właściwości przeprowadziłam badania wykorzystując wybrane syntetyczne [H1–H4] i naturalne surfaktanty [H5–H12]. Wpływ tych oddziaływań na właściwości materiału jest istotny, a ich poznanie jest konieczne-do pełnego korzystania z odwzorowań oferowanych przez układy biologiczne, niezbędnych do wykorzystania tych materiałów nie tylko w medycynie.

Surfaktanty syntetyczne

Jak już wspomniano, jednym z najważniejszych aspektów biomineralizacji jest rola grup funkcyjnych na powierzchni matrycy organicznej, w szczególności dysocjujących na jony, które mogą oddziaływać elektrostatycznie z jonami soli nieorganicznych. Dlatego do badań wybrano jonowe związki powierzchniowo czynne. W pracy [H1] przedstawiono wyniki badań wpływu jonowych surfaktantów na kinetykę wytrącania węglanu wapnia oraz właściwości kryształów otrzymywanych z równomolowych roztworów CaCl_2 i Na_2CO_3 . Do badań wybrano dwa jonowe surfaktanty zawierające łańcuchy alkilowe o tej samej długości: anionowy – dodecylosiarczan sodu (SDS) i kationowy – bromek dodecylotrimetyloamoniowy (DDTAB). Na podstawie pomiarów transmisji światła w czasie procesu wytrącania węglanu wapnia stwierdzono, że kationowy surfaktant nie wpływa na kinetykę jego wytrącania, natomiast surfaktant anionowy powoduje jej spowolnienie. Obydwa surfaktanty spowalniają wzrost kryształów. Ponadto, DDTAB przyspiesza transformację waterytu w kalcyt, podczas gdy SDS ją zatrzymuje. Otrzymane zmiany badanych parametrów są wynikiem oddziaływań elektrostatycznych między powierzchnią węglanu wapnia i cząsteczkami surfaktantów, co potwierdzają pomiary potencjału dzeta (rys. 1). Ponieważ początkowa wartość



Rys. 1. Zmiany potencjału dzeta węglanu wapnia wytrącanego *in situ* z roztworów CaCl_2 i Na_2CO_3 , bez i w obecności SDS i DDTAB, w funkcji czasu [H1].

z dodatniego na ujemny. Ponieważ pierwszy pomiar potencjału dzeta został wykonany po około 2 min od zmieszania roztworów, jest możliwe, że adsorpcja anionowego surfaktantu na dodatnio naładowanych cząstkach węglanu wapnia nastąpiła do tego czasu powodując zmianę znaku, co powoduje spowolnienie kinetyki wytrącania, tj. zarodkowania i wzrostu kryształów.

potencjału dzeta cząstek węglanu wapnia jest taka sama w przypadku układu odniesienia (bez surfaktantu) i w układzie z kationowym surfaktantem, pokazuje to, że dodatnio naładowane grupy polarne cząsteczek kationowego surfaktantu oddziałują elektrostatycznie z ujemnie naładowaną powierzchnią CaCO_3 dopiero po upływie ok. 5 min, gdy następuje zmiana znaku potencjału dzeta

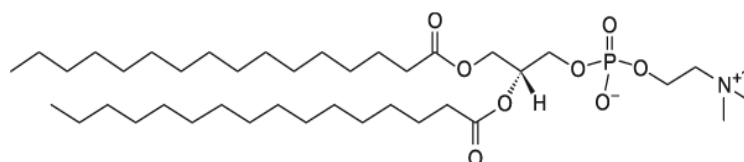
W celu lepszego wyjaśnienia mechanizmu oddziaływań CaCO_3 -surfaktant podczas zarodkowania i wzrostu kryształów przeprowadzono analizę statystyczną ilości i wielkości wytrączanych cząstek węglanu wapnia po dodaniu do układu różnych ilości SDS: natychmiast po zmieszaniu roztworów CaCl_2 i Na_2CO_3 , oraz po 1, 2 i 3 min od chwili zmieszania [H2]. Na spodzie szalki Petriego, w której prowadzono wytrącanie umieszczono płytkę szklaną. Na podstawie oceny statystycznej powierzchni zajmowanej przez cząstki węglanu wapnia na płytkach szklanych stwierdzono, że średnia liczba cząstek CaCO_3 , średnia powierzchnia zajmowana przez cząstkę i całkowita powierzchnia zajmowana przez wszystkie cząstki zmniejsza się po natychmiastowym dodaniu 0,21, 0,42 i 0,84 μmol SDS, co odpowiada stężeniu surfaktantu odpowiednio 7,0, 14,0 i 28,0 μM . Parametry te nie wzrastają jednak proporcjonalnie ze wzrostem stężenia surfaktantu, a maksymalny efekt występuje przy stężeniu 14,0 μM . Tylko w obecności 0,42 μmol SDS średnia liczba cząstek, średnia powierzchnia przypadająca na cząstkę węglanu wapnia i całkowita powierzchnia zajmowana przez wszystkie cząstki zwiększa się stopniowo z czasem dodania surfaktantu. W oparciu o pomiary potencjału dzeta stwierdzono, że zmiany te są spowodowane prawdopodobnie przez adsorpcję ujemnie naładowanych grup polarnych surfaktantu na dodatnio naładowanych zarodkach węglanu wapnia, moderując zarodkowanie i wzrost kryształów. Największe zmiany w obecności 0,42 μmol surfaktantu wskazują, że jest to maksymalna ilość SDS, która mogła zaadsorbować się na powierzchni wytrąconego CaCO_3 w warunkach doświadczalnych. Powyższe wyniki wskazują, że właściwości węglanu wapnia strąconego bez dodatków zależą również od metody jego wytrącania. Kolejne badania dotyczyły więc wpływu surfaktantu na wytrącanie węglanu wapnia inną metodą tj. syntezą w układzie emulsyjnym woda-w-oleju [H3]. W przypadku niejonowego surfaktantu, stosunek ilości wody i surfaktantu jest parametrem, który pozwala uzyskać małe regularne kryształy węglanu wapnia. Dodanie niewielkiej ilości kationowego surfaktantu (DDTAB) prowadzi do tworzenia kryształów o różnej morfologii, ale takiej samej formie krystalicznej i podobnym rozmiarze, podczas gdy dodanie anionowego surfaktantu (SDS) odwraca rodzaj emulsji z woda-w-oleju do olej-w-wodzie prowadząc do powstania agregatów aragonitu o nieokreślonym kształcie i mniejszym rozmiarze. Można przypuszczać, że jest to spowodowane elektrostatycznymi oddziaływaniami cząsteczek surfaktantu i kryształów CaCO_3 .

Wraz ze wzrostem długości życia rośnie liczba osób starszych wymagających implantów medycznych w celu odtworzenia naturalnej funkcji lub estetyki uszkodzonego organu. Najczęściej stosowane są implanty zastępujące tkanki twarde. Obecnie problemy związane z zaburzeniami ortopedycznymi i stomatologicznymi dotyczą miliony pacjentów rocznie [54,55]. Większość implantów wykonuje się ze stopów metali. W przypadku krótkoterminowego ich przebywania w organizmie (do dwóch lat) wykonuje się je ze stopów kobaltu i stali austenitycznych, natomiast czas użytkowania implantów z tytanu i jego stopów może osiągnąć nawet do 25 lat. Jednak mimo ich wytrzymałości mechanicznej i trwałości chemicznej w środowisku fizjologicznym ich integracja z tkanką nie jest wystarczająca. Dlatego prowadzone są badania w celu uzyskania nowych materiałów, zwłaszcza ceramicznych, które posiadają odmienne i nieosiągalne przez stopy metali właściwości. Ceramika biomedyczna cechuje się strukturą o różnej wielkości porów, powierzchnią i morfologią odzwierciedlającą dobrą aktywność biologiczną, biokompatybilnością i dobrą odpornością na korozję. Jednym z takich materiałów, mogących znaleźć zastosowanie w biomedycynie i inkapsulacji, jest MCM-41 (z ang. Mobil Composition of Matter No. 41), nowa mezoporowata krzemionka o regularnych porach, charakteryzująca się jednowymiarowymi porami o sześciokątnym kształcie. Od jego odkrycia w 1992 roku MCM-41 stał się najbardziej popularnym „członkiem rodziny” M41 mezoporowatych krzemionek i materiałów glinokrzemianowych [56-59]. Metody syntezy MCM są oparte na zastosowaniu surfaktantów jako matrycy do otrzymania uporządkowania przestrzennego tych materiałów. Połączenie materiału MCM-41 o regularnej strukturze i jednolitej porowatości z hydroksyapatytem może zwiększyć bioaktywność i biokompatybilność tego materiału. W związku z tym w kolejnym etapie badań wykorzystano prostą metodę współstrącania krzemionki i hydroksyapatytu na bazie matrycy surfaktantowej do otrzymania jednorodnego materiału o dużym zasięgu uporządkowania i potencjalnym zastosowaniu biomedycznym [H4]. Matrycę z surfaktantu wykorzystano do uzyskania mezoporowatego materiału. Ze względu na porowatą strukturę krzemionki i biokompatybilności hydroksyapatytu materiał ten może być wykorzystany w implantologii i jako system dostarczania leków. Wszystkie próbki syntezowano w warunkach zasadowych stosując bromek cetylotrimetyloamoniowy (CTAB) jako matrycę i ortokrzemian tetraetylu (TEOS) jako źródło krzemionki. Nowatorski materiał MCM-41/hydroksyapatyt o najlepszych właściwościach uzyskano przez dodawanie kropla po kropli roztworu CaCl_2 do wodnej

mieszaniny zawierającej amoniak, surfaktant, Na_2HPO_4 i TEOS, a stosunek Ca/P wynosił 1,66, jak w przypadku hydroksyapatytu. Nowy kompozytowy materiał o dużej powierzchni właściwej (pięć razy większej niż czysty hydroksyapatyt) z wąskimi, jednolitymi mezoporami o sześciokątnym układzie wydaje się być bardzo obiecującym narzędziem do zastosowań biomedycznych.

Naturalne surfaktanty

Obecność lipidów w uwapnionych tkankach wskazuje na potencjalną rolę błon komórkowych w procesie biomineralizacji. Lipidy oznaczono w kościach, chrząstkach, szkliwie i zębinie [60,61]. Żywe komórki zawierają ponad tysiąc różnych lipidów, których rdzeń w przypadku bakterii, archeonów i eukariotów stanowi glicerol. Błony komórkowe składają się głównie z fosfolipidów, przede wszystkim zawierających cholinę, które w naturalnych komórkach tworzą dwuwarstwy. Te fosfoglicerydy diacylowe zawierają kwasy tłuszczowe zestryfikowane w pozycji *sn*-1 i pozycji *sn*-2 gliceryny połączonej wiązaniem estrowym z kwasem fosforowym, który z kolei tworzy wiązanie estrowe z różnymi cząsteczkami – organicznymi zasadami, aminokwasami i alkoholami [61–63]. Fosfatydylocholiny są głównymi fosfolipidami w błonie komórkowej ssaków, a najbardziej rozpowszechnionym fosfolipidem jest 1,2-dipalmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina (DPPC), dlatego jest często wybierana do badań modelowych [61,64–67]. DPPC jest naturalnym surfaktantem i podstawowym fosfolipidowym składnikiem surfaktantu płucnego [68]. Zawiera on dwa nasycone kwasy tłuszczowe związane z glicerolem i cholinę, czwartorzędowy związek amoniowy, który jest związany z trzecią grupą hydroksylową glicerolu wiązaniem fosfodiesterowym [61].



Rys. 2. Schemat struktury DPPC.

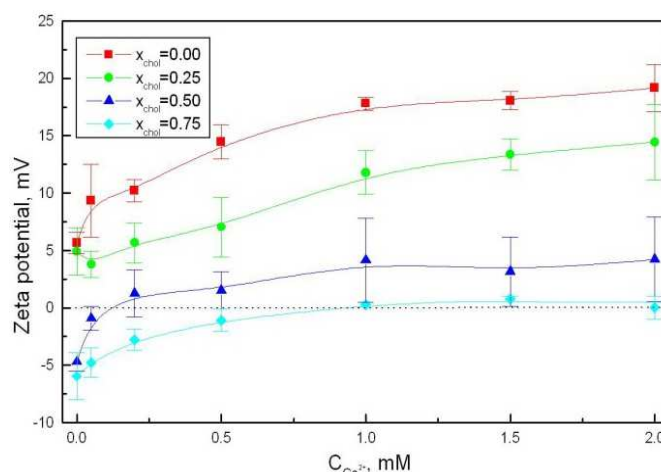
Ładunek elektryczny cząsteczki DPPC jest skoncentrowany w amfoterycznej hydrofilowej polarnej „głowie” fosfolipidu, posiadającej dwie oddzielone przestrzenie i przeciwnie naładowane grupy: dodatnią grupę cholinową $-\text{N}^{(+)}(\text{CH}_3)_3$ i ujemnie naładowaną grupę $-\text{OPO}_3^-$ [69]. Jony wapnia mogą więc oddziaływać z grupą fosforanową działając jak centra zarodkowania [3,64].

W błonie komórkowej od 20 do 25% masy lipidów wchodzących w jej skład stanowi cholesterol, który jest niezbędny dla jej normalnego funkcjonowania. Cholesterol utrzymuje płynność błony na stałym poziomie w dużym zakresie temperatur, wpływa na jej przepuszczalność oraz reguluje wzajemne oddziaływanie i aktywność białek błonowych [66–68]. Zmiany płynności i przepuszczalności dwuwarstwy lipidowej, wynikające ze stężenia cholesterolu, mają biologiczne konsekwencje, gdyż zapewniają skuteczną regulację sztywności i morfologii błony, kontrolując tym samym procesy powstawania liposomów [70].

Pęcherzyki lipidowe (liposomy), które są kulistymi zamkniętymi strukturami zbudowanymi z dwuwarstw fosfolipidowych, monowarstwy Langmuira na granicy faz woda-powietrze i dwuwarstwy lipidowe naniesione na podłoże stałe (filmy Langmuira-Blodgett) są powszechnie stosowanymi modelami błon biologicznych [71–74].

Wydawało się więc interesujące określenie, czy pęcherzyki lipidowe i dwuwarstwy lipidowe posiadają podobne właściwości tak, aby mogły być wykorzystane zamiennie w badaniach biomineralizacji. Celem kolejnych badań [H5] było uzyskanie odpowiedzi na pytanie, czy parametry termodynamiczne (np. nadmiarowa swobodna energia) uzyskane dla mieszanych monowarstw dwuskładnikowych DPPC i cholesterolu (Chol), o różnym stosunku molowym Chol, na granicy faz woda/powietrze mogą być stosowane do przewidywania właściwości pęcherzyków lipidowych o analogicznym składzie. Na podstawie analizy termodynamicznej izoterm ciśnienia powierzchniowego w funkcji powierzchni przypadającej na cząsteczkę rejestrowanych podczas kompresji monowarstw Langmuira (izoterm π -A) stwierdzono, że najbardziej stabilny układ, w którym występują najsilniejsze oddziaływania międzycząsteczkowe zawiera 0,25 ułamka molowego Chol. Badania stabilności pęcherzyków lipidowych o analogicznym składzie potwierdziły te wyniki. W związku z tym w dalszych badaniach dotyczących mineralizacji stosowano zarówno filmy lipidowe naniesionych na podłoże stałe jak i liposomy o tym samym składzie. Wykazano również, że dodatek cholesterolu do monowarstwy DPPC powoduje zwiększenie wartości współczynnika kompresji powodując wzrost sztywności monowarstwy. Ten kondensacyjny efekt wywołany obecnością cholesterolu jest uważany za skutek silnych oddziaływań pomiędzy cholesterolem i nasyconymi cząsteczkami fosfolipidów [75] oraz konformacyjnym i przestrzennym uporządkowaniem łańcuchów węglowodorowych w mieszanej monowarstwie [76].

Aby sprawdzić zdolność pęcherzyków lipidowych do modyfikowania wzrostu węglanu wapnia jako matrycę do wytrącania CaCO_3 zastosowano liposomy DPPC/cholesterol o średniej średnicy poniżej 100 nm. Na wstępie przeprowadzono pomiary potencjału



dzeta w celu określenia oddziaływań między jonami wapnia i błonami

Rys. 3. Zmiany potencjału dzeta liposomów DPPC/Chol przy różnym stężeniu jonów wapnia [H6].

lipidowymi składającymi się z DPPC i mieszaniny DPPC i cholesterolu. Wyniki zaprezentowane w pracy [H6] wskazują, że wraz ze wzrostem stężenia jonów wapnia potencjał elektrokinetyczny pęcherzyków zmienia się w kierunku wartości bardziej dodatnich, a zmiany te stają się coraz mniejsze wraz ze wzrostem zawartości cholesterolu (rys. 3). Efekt ten wyjaśniono skierowaniem głowy DPPC do wnętrza dwuwarstwy, co zmniejsza tym samym ekspozycję grupy fosforanowej i możliwość oddziaływania z jonami wapnia. Oznacza to, że właściwości porządkujące i kondensujące cholesterolu w błonach lipidowych powodują zmniejszenie powierzchni zajmowanej przez cząsteczkę fosfolipidu w dwuwarstwie, co potwierdziły wyniki badań przedstawione w pracy [H5]. Większa gęstość grup fosforanowych w zewnętrznych warstwach błon lipidowych powoduje nagromadzenie się jonów wapnia w pobliżu liposomów tworząc więcej centrów zarodkowania. W związku z tym zwiększa się szybkość zarodkowania powodując powstawanie małych kryształów węglanu wapnia w obrębie pęcherzyków lipidowych tworząc porowate, kuliste agregaty. Wpływ fosfolipidu na wytrącanie węglanu wapnia jest dodatkowo wzmocniony przez wprowadzenie do błon lipidowych cholesterolu. W układzie odniesienia (bez liposomów) powstają nieregularne sześciennie kryształy. Obecność DPPC nie zmienia formy krystalicznej utworzonych kryształów CaCO_3 i w czasie wytrącania powstaje jedynie kalcyt.

Nie tylko matryce liposomowe, ale również monowarstwy Langmuira są użytecznymi układami biomimetycznymi stosowanymi do badania wielu procesów membranowych i oddziaływań zachodzących na poziomie molekularnym m.in. biomineralizacji [77–80]. Badania takie mogą dostarczyć cennych informacji na temat

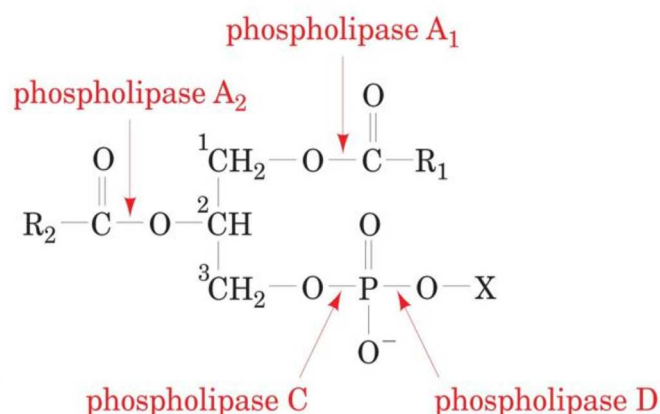
mineralizacji błon komórkowych w warunkach fizjologicznych. Dlatego w pracy [H7] przedstawiono badania procesu biomineralizacji z wykorzystaniem mono- i dwuwartwy DPPC osadzonych na mice (rzadko do tej pory stosowanych do badania biomineralizacji) w kontakcie ze sztucznym roztworem płynów ustrojowych (z ang. *simulated body fluid* - SBF), w którym stężenie jonów jest prawie takie samo jak w osoczu ludzkiej krwi [81] (tabela 1).

Tabela 1. Nominalne stężenie jonów w sztucznym roztworze płynów ustrojowych (SBF) [81].

Jon	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻	pH
Stężenie [mol/dm ³]	142,0	5,0	1,5	2,5	147,8	4,2	1,0	0,5	7,4

Roztwory takie są często stosowane do testów *in vivo* bioaktywności i zdolności łączenia materiałów z tkanką kostną. Naniesione techniką Langmuira-Blodgett/Schaefera na powierzchnię miki uporządkowane mono- i dwuwarstwy zanurzano przez dwa tygodnie w roztworze SBF w temperaturze 20°C i fizjologicznej temperaturze 37°C. Z badań tych wynika, że w temperaturze fizjologicznej dwuwarstwa DPPC zwiększa powstawanie mniej rozpuszczalnych form fosforanu wapnia. Zbadano również wpływ cząsteczek Trisu (tri(hydroksymetyl)aminometanu – (HOCH₂)₃CNH₂), który jest często stosowany jako czynnik buforujący w roztworze SBF, na proces mineralizacji. Wykazano, że podczas nieobecności Trisu wzrost temperatury powoduje powstawanie większej ilości osadu. Analizując widma Ramana można przypuszczać, że wpływ aminy jest wynikiem oddziaływań wodorowych pomiędzy grupami fosforanowymi fosfolipidu i grupami hydroksylowymi Trisu, zmniejszających ekspozycję grup fosforanowych w kierunku oddziaływań z jonami wapnia.

Fosfolipidy są nie tylko elementami struktury błon komórkowych, ale biorą również udział w wielu procesach biochemicznych. Hydroliza komórkowa fosfolipidów katalizowana jest przez różnego rodzaju enzymy z grupy fosfolipaz, które biorą udział w syntezie, modyfikowaniu i przebudowie lipidów komórkowych oraz ich transporcie wewnątrz- i międzykomórkowym [62]. Biorąc pod uwagę stereospecyficzność wyróżnia się acylohydrolazy, do których należą fosfolipazy A₁ i A₂ oraz fosfodiesterazy, wśród których wyróżnia się fosfolipazę C i fosfolipazę D (rys. 4). Fosfolipazy przekształcają cząsteczki fosfolipidów w mediatory lipidowe lub wtórne przekaźniki informacji (takie jak kwas arachidonowy, fosfatydany i diacyloglicerol), które odgrywają kluczową rolę



Rys. 4. Struktura fosfolipidu i miejsca działania fosfolipaz [82].

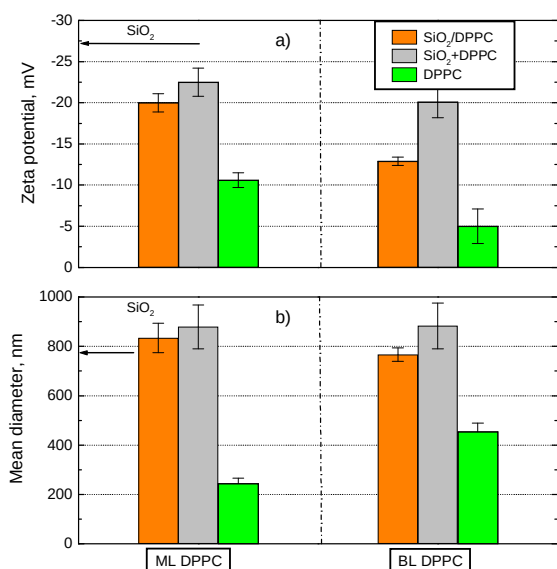
w transporcie błonowym, transdukcji sygnałów, podziałach komórkowych i apoptozie. Fosfolipazy są zaangażowane w metabolizm lipidów i rozwój chorób. Stąd ogromne zainteresowanie przemysłu farmaceutycznego stworzeniem

selektywnych i silnych inhibitorów tych enzymów.

Fosfolipaza A₂ (PLA₂) katalizuje hydrolizę fosfolipidów w pozycji *sn*-2, uwalniając wolne kwasy tłuszczowe i lizofosfolipidy [83,84]. Nadrodzina PLA₂ składa się z dwóch głównych grup w zależności od ich lokalizacji komórkowej, tj. wydzielniczych fosfolipaz A₂ (sPLA₂), które wymagają milimolarnego stężenia jonów wapnia do katalizy, i wewnątrzkomórkowych fosfolipaz A₂. Fosfolipazy A₂ są strukturalnie związanymi aktywnymi enzymami błonowymi obecnymi w zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych organelach ssaków i innych zwierząt, a także są głównymi składnikami toksyn wielu węży i owadów. Fosfolipazy A₂ biorą udział w metabolizmie lipidów i rozwoju chorób poprzez, między innymi degradację błon chorobotwórczych drobnoustrojów [85,86]. Są one również zaangażowane w różne patologiczne procesy u ludzi, w tym stany zapalne, procesy naprawy tkanek i procesy nowotworowe, dlatego poświęca się im dużą uwagę [83,84].

Celem moich dalszych badań było określenie właściwości warstw DPPC na podłożu stałym modyfikowanych fosfolipazą A₂ [H8–H10]. Warstwy lipidowe na stałym nośniku mają duże znaczenie jako układy modelowe do badania adsorpcji białek i innych cząsteczek biologicznie czynnych, m.in. toksyn bakteryjnych i wirusów na powierzchni błony komórkowej [87], jak również przy konstrukcji biosensorów [88]. Często jako nośnik lipidów wykorzystuje się krzemionkę. Pokrywana lipidami krzemionka jest wykorzystywana np. w chromatografii do rozdzielania białek [89] i jako platforma do skojarzonego obrazowania [90]. Na wstępie przeprowadzono badania właściwości elektrokinetycznych suspensji SiO₂ z DPPC w dwóch układach (i) SiO₂/DPPC – fosfolipid nanoszono na powierzchnię krzemionki z roztworu w chloroformie oraz (ii) SiO₂+DPPC – fosfolipid adsorbował się bezpośrednio z roztworu wodnego. W pierwszym przypadku

na powierzchnię SiO_2 наносzono DPPC w ilości odpowiadającej statystycznej mono- ($\text{SiO}_2/\text{DPPC}_{\text{MW}}$) i dwuwarstwie ($\text{SiO}_2/\text{DPPC}_{\text{DW}}$), obliczonej na podstawie znajomości powierzchni właściwej krzemionki oraz powierzchni przekroju poprzecznego cząsteczki

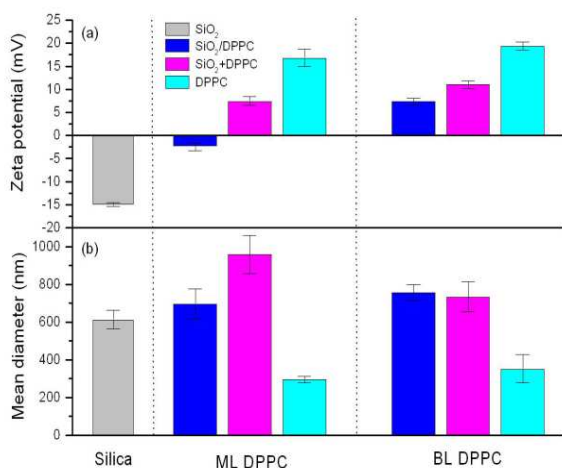


Rys. 5. Zmiany potencjału dzeta (a) i średniej średnicy (b) cząstek krzemionki pokrytych: mono- i dwuwarstwą fosfolipidu (SiO_2/DPPC) lub przez adsorpcję z roztworu wodnego (SiO_2+DPPC) i agregatów DPPC w 1 mM roztworze NaCl [H8].

silanolowe uważane są za silne centra adsorpcyjne, które mogą tworzyć mostki wodorowe z grupami O–P fosfolipidu [91]. Nie bez znaczenia jest również wpływ jonów elektrolitu i ich stężenia na właściwości badanych suspensji. Jony Na^+ mogą oddziaływać z ujemnie naładowaną częścią grupy polarnej DPPC, natomiast jony Cl^- mogą być koordynowane do dodatniej grupy $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$. Obecność DPPC w suspensji SiO_2 w roztworze NaCl wpływa na zmiany potencjału dzeta i średnicę cząstek krzemionki. Jeżeli fosfolipid dodany był bezpośrednio do suspensji to jego wpływ na potencjał dzeta był nieco mniejszy, niż gdy cząstki były pokrywane DPPC z roztworu w chloroformie, szczególnie dla MW. W obu układach SiO_2+DPPC (MW i DW) obecność zdyspergowanego fosfolipidu powoduje widoczne zmiany potencjału dzeta w porównaniu do „czystego” SiO_2 , co świadczy o jego adsorpcji z fazy objętościowej na powierzchni cząstek. Jeżeli cząstki krzemionki były wcześniej pokrywane fosfolipidem to różnice w wartościach potencjału dzeta wskazują, że rzeczywiście na powierzchni znajduje się więcej lipidu, który po kontakcie z roztworem NaCl uległ reorientacji.

W przypadku 1 mM roztworu CaCl_2 [H9] we wszystkich badanych suspensjach SiO_2 w obecności DPPC potencjał dzeta zmienia się od wartości potencjału dzeta dla czystej

DPPC. W drugim układzie takie same ilości fosfolipidu jak w pierwszym przypadku dodawano bezpośrednio do roztworu NaCl [H8] lub CaCl_2 [H9]. Na podstawie wyników uzyskanych w 1 mM roztworze NaCl stwierdzono, że naniesienie fosfolipidu na powierzchnię SiO_2 powoduje obniżenie ujemnego potencjału dzeta cząstek krzemionki w wyniku zmniejszenia oddziaływań elektrostatycznych i tworzenia mostków wodorowych DPPC z krzemionką (rys. 5). W obojnaczej polarnej części DPPC znajdują się grupy $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$, które oddziałują elektrostatycznie z ujemnie naładowaną powierzchnią tlenku. Grupy



Rys. 6. Zmiany potencjału dzeta (a) i średniej średnicy (b) cząstek krzemionki pokrytych: DPPC z roztworu chloroformowego (SiO₂/DPPC) lub przez adsorpcję z roztworu wodnego (SiO₂+DPPC) i agregatów DPPC w 1 mM roztworze CaCl₂ [H9].

odpowiadającej statystycznej monowarstwie. Uzyskane wyniki są w dobrej zgodności z danymi Matsumury i współ. [92], którzy otrzymali stabilne liposomy fosfatydylocholiny o średnicy 200 nm w 1 mM CaCl₂ roztworze. Wartości potencjału dzeta suspensji SiO₂ zawierających DPPC, z wyjątkiem układu SiO₂/DPPC_{MW}, są również dodatnie. Takie same wartości potencjału dzeta uzyskano dla suspensji w przypadku dodania mniejszej ilości DPPC bezpośrednio do roztworu (SiO₂+DPPC_{MW}) oraz dla cząstek pokrytych dwa razy większą ilością fosfolipidu z chloroformu (SiO₂/DPPC_{DW}), co wskazuje na adsorpcję DPPC z roztworu CaCl₂ na powierzchni krzemionki. Interesujące jest również to, że dla suspensji SiO₂+DPPC_{MW} i SiO₂+DPPC_{DW} potencjał dzeta różni się tylko o ok. +3,5 mV, z czego wynika, że pokrycie powierzchni fosfolipidem jest podobne. Jony wapnia zwiększają adsorpcję fosfatydylocholiny na cząstkach krzemionki, które oddziałują z fosfolipidem głównie przez wiązania wodorowe między grupami Si-OH i O-P [91]. Wiadomo również, że jon wapnia może oddziaływać z dwoma cząsteczkami fosfolipidu [93]. W związku z tym wydaje się możliwe, że jeden jon Ca²⁺ może oddziaływać elektrostatycznie z grupą SiO⁻ krzemionki i grupą fosforanową DPPC, ułatwiając adsorpcję fosfolipidu na powierzchni krzemionki poprzez utworzenie mostków pomiędzy cząstkami krzemionki i cząsteczkami fosfolipidów.

Porównując właściwości elektrokinetyczne suspensji SiO₂ w obecności DPPC w roztworze NaCl z wynikami uzyskanymi dla analogicznych układów, ale w roztworze CaCl₂ widać, że dodatek jonów Ca²⁺ zmienia w sposób istotny właściwości badanych suspensji. Z wyjątkiem

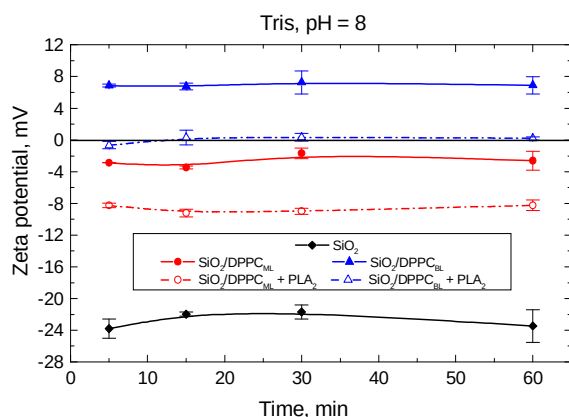
krzemionki do potencjału dzeta agregatów fosfolipidu, niezależnie od sposobu wprowadzenia DPPC do układu (rys. 6). Dodatnia wartość potencjału dzeta dyspersji fosfolipidu świadczy o adsorpcji jonów wapnia z roztworu, które wykazują naturalną zdolność do wiązania, orientowania i polaryzacji grupy fosforanowej fosfolipidu. Przy dwa razy większej zawartości DPPC liposomy są nieco większe, ale odchylenie standardowe od wartości średniej jest większe niż przy mniejszej ilości fosfolipidu,

suspensji $\text{SiO}_2 + \text{DPPC}_{\text{MW}}$ średnie średnice cząstek w pozostałych układach praktycznie nie różnią się od wielkości cząstek „czystej” krzemionki i są stosunkowo stabilne w czasie 60 min. Niemniej jednak, nie stwierdzono bezpośredniej korelacji pomiędzy potencjałem dzeta a wielkością cząstek. Wartości potencjału dzeta cząstek z dodatkiem fosfolipidu są niewystarczające do ich stabilizacji elektrostatycznej, dlatego w przypadku adsorpcji biosurfaktantów należy rozpatrywać również mechanizm stabilizacji sterycznej.

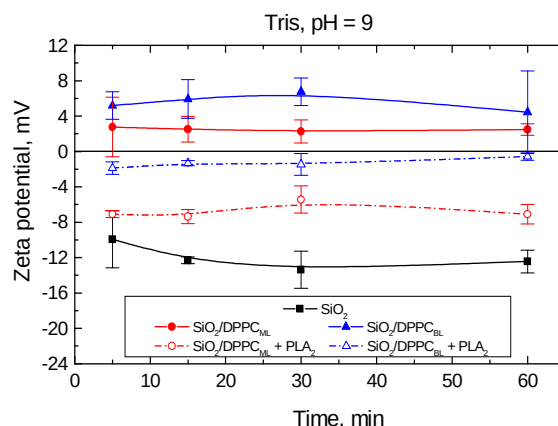
Kolejne badania dotyczyły porównania wydajności enzymu PLA_2 działającego na DPPC naniesioną na powierzchnię krzemionki (SiO_2/DPPC) w 1 mM roztworze NaCl o $\text{pH}=6,3$, 1 mM roztworze CaCl_2 o $\text{pH}=6,5$, i buforze Tris zawierającym 10 mM trihydroksymetyloaminometanu, 5 mM CaCl_2 i 10 mM NaCl o $\text{pH}=8$ i 9. W obecności fosfolipazy A_2 ujemny potencjał dzeta suspensji SiO_2/DPPC w roztworze NaCl obniża się w porównaniu do układu odniesienia bez enzymu. Po 24 godz. potencjał dzeta suspensji $\text{SiO}_2/\text{DPPC}_{\text{MW}}$ i $\text{SiO}_2/\text{DPPC}_{\text{DW}}$ z enzymem również nie osiąga wartości dla „czystego” SiO_2 , co świadczy o wpływie produktów hydrolizy na jego wartość, jak również adsorpcji cząsteczek fosfolipazy A_2 [H8]. W roztworze CaCl_2 zależności $\zeta=f(t)$ dla suspensji $\text{SiO}_2/\text{DPPC} + \text{PLA}_2$ przebiegają analogicznie jak w układzie bez enzymu, jednak jego obecność powoduje obniżenie potencjału dzeta, który jest ujemny dla obu układów (z mono- i dwuwarstwą DPPC) [H9]. Jednak jego ujemne wartości są mniejsze niż w przypadku czystej krzemionki. Ponadto, w układzie $\text{SiO}_2/\text{DPPC}_{\text{DW}} + \text{PLA}_2$ wartość potencjału dzeta jest prawie taka sama jak w przypadku układu zawierającego $\text{SiO}_2/\text{DPPC}_{\text{MW}}$, szczególnie podczas pierwszych 15 min. Ten mniej ujemny ładunek powierzchni może być spowodowany przez adsorpcję produktów reakcji enzymatycznej, którymi w tym przypadku są kwas palmitynowy i lizofosfolipid. Możliwe jest, że kwas palmitynowy uwolniony w wyniku reakcji enzymatycznej może wchodzić w interakcje z jonami wapnia w roztworze i tworzyć nierozpuszczalny palmitynian wapnia. Lizofosfolipid pozostaje na powierzchni krzemionki powodując, że potencjał dzeta jest mniej ujemny niż dla czystej krzemionki.

W buforze Tris o różnym pH [H8] wpływ PLA_2 na potencjał dzeta cząstek krzemionki pokrytej DPPC jest odmienny niż w roztworze NaCl i podobny jak w roztworze CaCl_2 . W obu układach z enzymem wartości potencjału dzeta zmieniały się w kierunku wartości bardziej ujemnych (rys. 7 i 8). W czasie 60 min potencjał dzeta we wszystkich badanych suspensjach nie zmieniał się, z czego można wnioskować, że degradacja warstewki fosfolipidu w wyniku hydrolizy DPPC nastąpiła już w czasie

przygotowywania suspensji podczas jej sonifikacji. Ponieważ roztwory buforowe zawierają jony Ca^{2+} , które katalizują działanie enzymu można przypuszczać, że reakcja przebiegła niemal całkowicie do chwili wykonania pierwszego pomiaru potencjału dzeta czy wielkości cząstek. W tych układach stabilizujące działanie mogą wykazywać również produkty hydrolizy, szczególnie kwas palmitynowy, który ze względu na amfifilowy charakter wpływa na stabilizację steryczną.



Rys. 7. Zmiany potencjału dzeta vs. czas dla czystej krzemionki, $\text{SiO}_2/\text{DPPC}_{\text{MW}}$ i $\text{SiO}_2/\text{DPPC}_{\text{BW}}$ zdyspergowanej w buforze Tris o $\text{pH}=8$ po działaniu enzymu PLA_2 [H8].



Rys. 8. Zmiany potencjału dzeta vs. czas dla czystej krzemionki, $\text{SiO}_2/\text{DPPC}_{\text{MW}}$ i $\text{SiO}_2/\text{DPPC}_{\text{BW}}$ zdyspergowanej w buforze Tris o $\text{pH}=9$ po działaniu enzymu PLA_2 [H8].

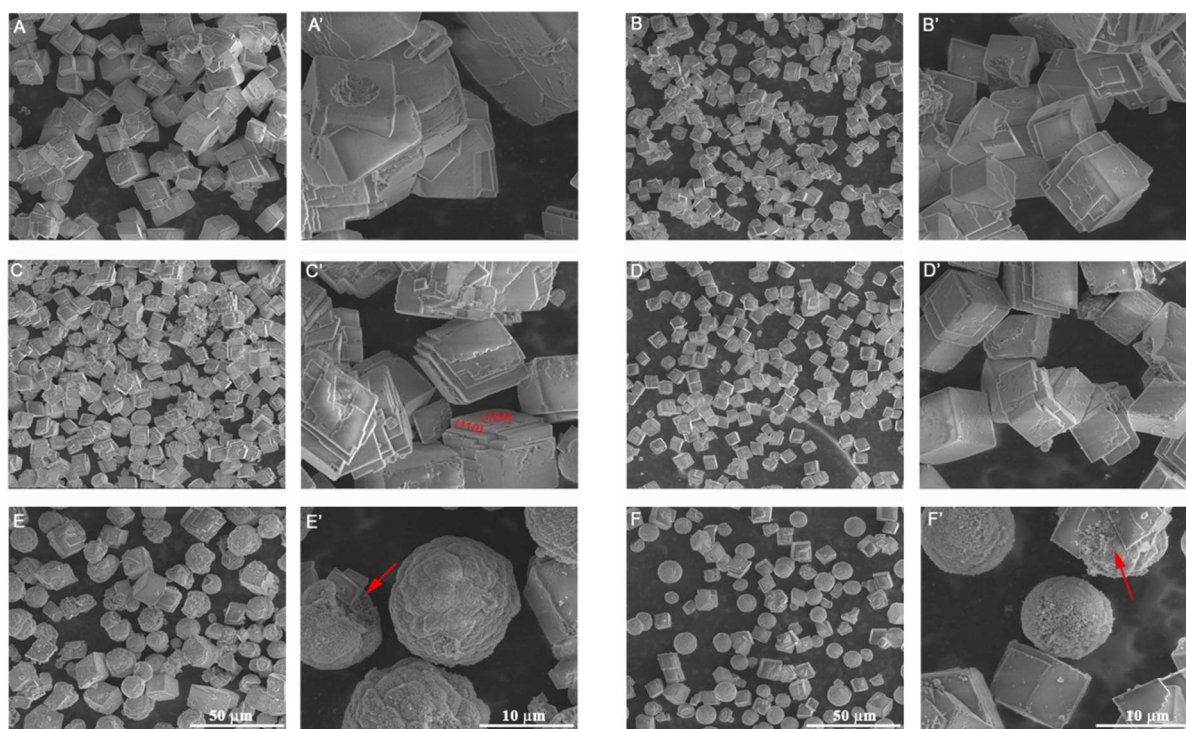
Jak już wspomniano, fosfolipidy zorganizowane jako pęcherzyki liposomowe i warstwy lipidowe naniesione na stały nośnik są często stosowanymi modelami do badania struktury błon biologicznych i oddziaływań występujących w ich obrębie. Dlatego w kolejnych badaniach porównano działanie PLA_2 na dwuwarstwy lipidowe naniesione na powierzchnię miki oraz pęcherzyki lipidowe składające się z DPPC i cholesterolu. Ze względu na ważną rolę tego enzymu w medycynie wszystkie pomiary przeprowadzono w dwóch temperaturach, w temperaturze fizjologicznej 37°C i w temperaturze pokojowej 20°C . W przypadku hydrolizy warstewek lipidowych na mice wyznaczano zmiany składowych swobodnej energii powierzchniowej, natomiast w przypadku liposomów ich polidispersyjność i wielkość [H10]. Z porównania zmian parametru elektrono-donorowego swobodnej energii powierzchniowej dwuwarstwy lipidowej na mice oraz wielkości i polidispersyjności liposomów w czasie procesu hydrolizy wynika, że mogą być one wskaźnikiem tego procesu. Znaczne zmiany średnicy pęcherzyków i ich polidispersyjności pojawiły się po 5 min działania enzymu w temperaturze 20°C i po 1 min w temperaturze 37°C , co wskazuje na zwiększoną aktywność enzymu w wyższej temperaturze. W obecności cholesterolu 1:1 hydroliza liposomów zachodzi skuteczniej w temperaturze 37°C , co jest szczególnie widoczne

w ciągu pierwszych 5–15 minut. Zmiany wartości całkowitej swobodnej energii powierzchniowej (γ_s^{TOT}) i parametru elektrono-donorowego (γ_s^-) dwuwarstwy DPPC naniesionej na mikę wskazują, że proces hydrolizy jest bardziej efektywny w wyższej temperaturze, a produkty hydrolizy gromadzą się na powierzchni dwuwarstwy prowadząc do wzrostu wartości parametru γ_s^- . Obecność cholesterolu w dwuwarstwie DPPC hamuje aktywność PLA₂ i/lub przerywa reakcję hydrolizy. Ponadto, ze względu na niską rozpuszczalność produktów hydrolizy w roztworze pozostają one w membranie, zwłaszcza w temperaturze 20°C.

Ze względu na to, że obecność produktów hydrolizy w błonie reguluje jej skład i zmienia właściwości fizykochemiczne, dlatego badania procesu mineralizacji enzymatycznie modyfikowanych warstw fosfolipidów na stałym nośniku mogą być przydatne zarówno w celu określenia czynników kontrolujących biomineralizację, jak również potencjalnego zastosowania biomedycznego (np. w implantologii). Naprawa kości jest procesem rekonstrukcji tkanki kostnej w miejscu zranienia. Jednakże, ze względu na stopień utraty kości lub jej uszkodzenia mechanizm samonaprawy jest czasem niewystarczający dla pełnej regeneracji. Doprowadziło to do poszukania sztucznych substytutów kostnych, które niestety mogą wywoływać odpowiedź immunologiczną po wszczepieniu. W związku z tym, konieczne jest uzyskanie biokompatybilnej powierzchni implantu [94]. Tak więc, badania określające w jaki sposób zmiany w warstwach fosfolipidów spowodowane fosfolipazą A₂ obecną podczas przewlekłego zapalenia lub infekcji mogą zmienić formację i mineralizację kości wydają się bardzo interesujące.

Aby sprawdzić, czy zmiany w strukturze błony spowodowane działaniem PLA₂ wpływają na wytrącanie CaCO₃ jego wytrącanie przeprowadzono w obecności pęcherzyków lipidowych modyfikowanych tym enzymem. Małe jednowarstwowe pęcherzyki DPPC o średniej średnicy 119 nm użyto jako szablon dla wytrącania węglanu wapnia z roztworów CaCl₂ i Na₂CO₃ w temperaturze pokojowej 25°C i w temperaturze fizjologicznej 37°C. Badania te mogą dostarczyć informacji o wpływie defektów błony lipidowej spowodowanych procesami zapalnymi na proces biomineralizacji. Hydrolizę jednowarstwowych pęcherzyków DPPC prowadzono przez 15 min (czas wystarczający do zmiany struktury liposomów [H9]) przed wytrącaniem węglanu wapnia przy końcowym stężeniu enzymu 0,02 jednostki/ml, takim jak w badaniach przedstawionych w pracy [H9]. Uzyskane wyniki [H11] wykazały, że liposomy DPPC mogą częściowo stabilizować wateryt, a efekt ten zależy od stężenia. Stwierdzono, że w temperaturze

25°C wraz ze wzrostem ilości pęcherzyków DPPC morfologia otrzymanych kryształów zmienia się z romboedrycznej w sferyczną (rys. 9). Przy stężeniu liposomów 100 mg/L zaobserwowano mieszaninę kalcytu i waterytu, a morfologia otrzymanych kryształów przy tym stężeniu liposomów (modyfikowanych enzymatycznie i niemodyfikowanych) jest zniekształcona ze sferycznej do czworokątnej (oznaczona czerwonymi strzałkami). Oznacza to, że w roztworze zgodnie z regułami Ostwalda transformacja lepiej rozpuszczalnej formy (waterytu) do mniej rozpuszczalnej (kalcytu) odbywa się przez rozpuszczenie waterytu [95–97] a DPPC może zapobiec tej transformacji. Jony wapnia są prawdopodobnie przyciągane przez polarne głowy fosfolipidu tworząc strefę przesylenia powodującą tworzenie małych kryształów waterytu, które następnie agregują. Przy niższych stężeniach liposomów kryształy wytrącają się prawdopodobnie w objętości roztworu. Gdy temperatura wzrasta ilość waterytu maleje, jednak modyfikacja enzymatyczna nie wpływa znacząco na zawartość waterytu w temperaturze pokojowej, a także w temperaturze fizjologicznej.



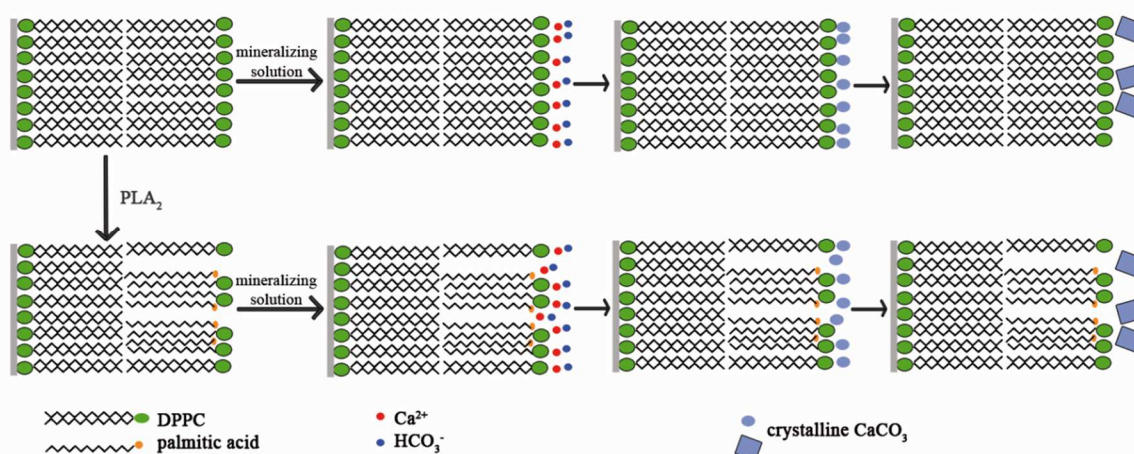
Rys. 9. Obrazy SEM węglanu wapnia wytrącanego z roztworów CaCl_2 i Na_2CO_3 w 25°C: (A, A') bez obecności liposomów, (B, B') bez obecności liposomów ale w obecności PLA_2 , (C, C') w obecności liposomów 25 mg/L, (D, D') w obecności liposomów 50 mg/L, (E-E') w obecności liposomów 100 mg/L, (F, F') w obecności enzymatycznie modyfikowanych liposomów 100 mg/L [H11].

Te wzajemne oddziaływania pomiędzy cząstkami węglanu wapnia i fosfolipidem zostały potwierdzone pomiarami potencjału dzeta i analizą termogravimetryczną. Potencjał elektrokinetyczny węglanu wapnia wytrącanego w temperaturze 25°C i 37°C bez

obecności liposomów (zarówno bez jak i z dodatkiem PLA₂) był praktycznie taki sam i wynosił ok. -26 mV. W przypadku kryształów wytrąconych w obecności liposomów wartości potencjału dzeta przesunęły się w kierunku mniej ujemnych, a największe zmiany stwierdzono dla próbki o najwyższym stężeniu DPPC (100 mg/L). Biorąc pod uwagę, że cząsteczka DPPC jako całość jest pozbawiona ładunku w szerokim zakresie pH (od 4 do 10) i siły jonowej [98,99] to przesunięcie wartości potencjału dzeta w kierunku mniej ujemnych wartości może wskazywać na adsorpcję fosfolipidu na cząstkach węglanu wapnia.

Podobne badania przeprowadzono również na niemodyfikowanych i modyfikowanych fosfolipazą A₂ dwuwarstwach DPPC naniesionych na powierzchnię miki. Mineralizację węglanu wapnia badano w temperaturze pokojowej i w temperaturze fizjologicznej w roztworze zawierającym jony wapnia i jony wodorowęglanowe o stężeniu podobnym jak w osoczu ludzkiej krwi. Początkowe pH roztworu wynosiło 7,4 i 9,2. Występujące różnice we właściwościach produktów hydrolizy (wolny kwas tłuszczowy i 1-acylo-lizo-fosfolipid) tj. rozpuszczalność i ładunek przy pH alkalicznym i około 7 mogą wzmacniać wiązanie jonów wapnia przez oddziaływania elektrostatyczne. Aby potwierdzić tę hipotezę przeprowadzono badania mineralizacji w warunkach pH fizjologicznego i zasadowego. Opierając się na analizie AFM i XPS [H12] widać, że jedna godzina kontaktu z roztworem fosfolipazy A₂ powoduje zmiany w zewnętrznej warstwie dwuwarstwy DPPC i nagromadzenie się produktów hydrolizy, czyli kwasu palmitynowego i lizofosfolipidu, na jej powierzchni. Po dwóch tygodniach zanurzenia w roztworze kalcyt był jedyną formą krystaliczną obecną na wszystkich badanych powierzchniach, tj. czystej miki i enzymatycznie niemodyfikowanych i zmodyfikowanych dwuwarstwach DPPC. Obecność dwuwarstw fosfolipidowych przyspiesza wzrost kryształów przy początkowym pH=7,4, natomiast w układzie o bardziej zasadowym pH początkowym przyspiesza zarodkowanie (pojawiło się więcej kryształów tworzących agregaty). Podwyższenie temperatury prowadzi do powstawania dużych kryształów w fizjologicznym pH, i prawie nie wpływa na wielkość kryształów przy pH alkalicznym. Ponadto modyfikacja fosfolipazą A₂ dwuwarstw fosfolipidowych nie wpływa na morfologię kryształów i ich ułożenie na powierzchni, ale powoduje niewielki wzrost rozmiarów kryształów przy niższym pH i znacznie zmniejsza wielkość kryształów w pH zasadowym. Wynika to prawdopodobnie z faktu, że w wyniku hydrolizy jednej cząsteczki DPPC powstają dwie cząsteczki

oddziałujące z jonami wapnia powodując lepszą ekspozycję grupy fosforanowej do interakcji z jonami wapnia (rys. 10).



Rys. 10. Proponowany mechanizm powstawania węglanu wapnia na naniesionych na podłoże stałe dwuwarstwach DPPC [H12].

Wzrost pH z 7,4 do 9,2 zwiększa jonizację grupy karboksylowej kwasu długołańcuchowego uwolnionego w wyniku hydrolizy prowadząc do zwiększenia ilości związanych jonów wapnia. Uzyskane wyniki wskazują, że kompleksy jonów Ca^{2+} z określonymi miejscami polarnymi na powierzchni membrany DPPC i produktami hydrolizy działają jako centra nukleacji. Wzrost stężenia jonów wapnia przy powierzchni lipidów sprzyja zarodkowaniu i wytrącaniu zgodnie z klasyczną teorią zarodkowania Gibbs'a-Thomsona [100]. Więcej zarodków obecnych na powierzchni może powodować wyższe miejscowe stężenie jonów wapnia i jonów wodorowęglanowych powstających podczas rozpuszczania fazy prekursora i jej przekształcania w mniej rozpuszczalne formy tj. kalcyt.

Podsumowanie najważniejszych osiągnięć badawczych w cyklu prac habilitacyjnych

W ramach cyklu prac habilitacyjnych [H1-H12] przedstawiłam systematyczne i kompleksowe badania dotyczące wpływu syntetycznych i naturalnych surfaktantów na mineralizację węglanu wapnia i fosforanu wapnia. Wykonałam również badania uzupełniające dotyczące modelowych układów błon biologicznych na stałym nośniku-warstwy fosfolipidu na krzemionce, które poddawałam modyfikacji enzymatycznej w roztworach zawierających jony biorące udział w procesie mineralizacji, co było przydatne w celu określenia czynników kontrolujących ten proces.

1. Analiza wpływu syntetycznych surfaktantów na mineralizację węglanu wapnia i fosforanu wapnia pozwoliła na:

-
- zaproponowanie modelowych układów imitujących biomineralizację na bazie wodnych roztworów CaCl_2 i Na_2CO_3 o odpowiedniej sile jonowej oraz dodecylosiarczanu sodowego lub bromku dodecylotrimetyloamoniowego;
 - wyjaśnienie w oparciu o pomiary potencjału dzeta i właściwości powierzchniowych i objętościowych dodecylosiarczanu sodowego mechanizmu blokowania wzrostu kryształów węglanu wapnia przez surfaktanty anionowe;
 - uzasadnienie na podstawie oddziaływań bromku dodecylotrimetyloamoniowego z powierzchnią węglanu wapnia opartych na wynikach pomiarów potencjału dzeta braku wpływu surfaktantu kationowego na wzrost kryształów węglanu wapnia;
 - wykazanie w jaki sposób surfaktanty mogą kontrolować wielkość i kształt nieorganicznych biomateriałów;
 - otrzymanie, z wykorzystaniem surfaktantów, nowatorskiego kompozytowego, porowatego materiału MCM-41/hydroksyapatyt o odmiennych i nieosiągalnych przez stopy metali właściwościach, dobrej bioaktywności i biokompatybilności z potencjalną możliwością wykorzystania otrzymanego materiału w implantologii i jako systemy dostarczania leków.
2. Analiza wpływu naturalnych surfaktantów, fosfolipidów będących głównymi składnikami naturalnych błon komórkowych, na mineralizację węglanu wapnia pozwoliły na:
- wykazanie roli mocnego elektrolitu w oddziaływaniach warstwy fosfolipidowej z powierzchnią krzemionki;
 - wyjaśnienie struktury i oddziaływania warstw fosfolipidu z powierzchnią krzemionki na podstawie udziału poszczególnych grup funkcyjnych fosfolipidu i grup na powierzchni krzemionki w tych oddziaływaniach;
 - wykazanie, że wytrącanie węglanu wapnia w obecności liposomów DPPC wpływa na jego strukturę krystaliczną i morfologię kryształów, a obecność fosfolipidu może zapobiegać transformacji lepiej rozpuszczalnego waterytu do mniej rozpuszczalnego kalcytu;
 - wykazanie, że w temperaturze fizjologicznej dwuwarstwa DPPC osadzona na mice zwiększa powstawanie mniej rozpuszczalnych form fosforanu wapnia oraz wyjaśnienie tego zjawiska w oparciu o oddziaływania międzycząsteczkowe;
 - wykazanie znaczenia obecności jonów Ca^{2+} podczas hydrolizy DPPC katalizowanej przez fosfolipazę A₂;

-
- określenie oddziaływań między jonami wapnia a modelowymi błonami lipidowymi składającymi się z DPPC oraz wpływu na te oddziaływania obecności cholesterolu i fosfolipazy A₂ w różnych temperaturach w aspekcie powstawania zarodków kryształów na matrycy liposomowej;
 - zasugerowanie, że badania procesu mineralizacji enzymatycznie modyfikowanych warstw fosfolipidów mogą być przydatne w celu określenia czynników kontrolujących biomineralizację, jak również potencjalnego zastosowania biomedycznego z tego względu, że obecność produktów hydrolizy w błonie reguluje jej skład i zmienia właściwości;
 - zastosowanie z powodzeniem dwuwarstwy DPPC na powierzchni miki jako układu imitującego procesy membranowe a zarazem oddziaływania międzycząsteczkowe odgrywające ważną rolę w biomineralizacji oraz zaproponowanie mechanizmu powstawania minerałów wapniowych w takim układzie oraz po jego modyfikacji enzymatycznej.

Powyższe wnioski mają znaczenie poznawcze, ponieważ pozwalają na lepsze zrozumienie wpływu związków organicznych obecnych w roztworze na strukturę krystaliczną i morfologię kryształów, jeżeli istnieje molekularna komplementarność na granicy kryształ-matryca organiczna, oraz wpływie defektów błony lipidowej spowodowanych procesami zapalnymi na proces biomineralizacji. Mogą mieć również znaczenie aplikacyjne dla rozwoju nowej kontrolowanej syntezy nanocząstek, inżynierii nieorganicznych materiałów sypkich oraz połączenia uporządkowanych materiałów kompozytowych i ceramicznych.

Dodatkowa literatuta

- [1] S. Mann, *Biomaterialization Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry*, Oxford University Press, 2001.
- [2] S.A. Hutchens, R.S. Benson, B.R. Evans, H.M. O'Neill, C.J. Rawn, *Biomaterials* 27 (2006) 4661–4670.
- [3] F. Nudelman, N.A.J.M. Sommerdijk, *Angew. Chem. Int. Ed.* 51 (2012) 6582–6596.
- [4] S.F. Chen, J.H. Zhu, J. Jiang, G.B. Cai, S.H. You, *Adv. Mater.* 22 (2010) 540–545.
- [5] N. Gehrke, H. Cölfen, N. Pinna, M. Antonietti, N. Nassif, *Cryst. Growth Des.* 5 (2005) 1317–1319.
- [6] D. Gebauer, A. Völkel, H. Cölfen, *Science* 322 (2008) 1819–1822.
- [7] Y. Ma, L. Qiao, Q. Feng, *Mater. Sci. Eng. C* 32 (2012) 1963–1970.
- [8] X.R. Xu, A.H. Cai, R. Liu, H.H. Pan, R.K. Tang, K. Cho, *J. Cryst. Growth* 310 (2008) 3779–87.
- [9] L. Dai, E.P. Douglas, L.B. Gower, *J. Non-Cryst. Solids* 354 (2008) 1845–54.
- [10] [10] A. George, A. Veis, *Chem. Rev.* 108 (2008) 4670–4693.
- [11] A. Bouladjine, A. Al-Kattan, P. Dufour, C. Drouet, *Langmuir* 25 (2009) 12256–12265.
- [12] M. Kawata, K. Azuma, H. Izawa, M. Morimoto, H. Saimoto, S. Ifuku, *Carbohydr. Polym.* 136 (2016) 964–969.
- [13] D. Meng, L. Dong, Y. Wen, Q. Xie, *Mater. Sci. Eng. C* 47 (2015) 266–272.
- [14] E.I. Dorozhkina, S.V. Dorozhkin, *Colloids Surf. A* 203 (2002) 237–244.
- [15] M.S.-A. Johnsson, G.H. Nancollas, *Crit. Rev. Oral Biol. M.* 3 (1992) 61–82.
- [16] I.A. Karampas, C.G. Kontoyannis, *Vib. Spectrosc.* 64 (2013) 126–133.
- [17] G.R. Sauer, W.B. Zunic, J.R. Durig, R.E. Wuthier, *Calcif. Tissue Int.* 54 (1994) 414–420.
- [18] S. Tambuté, M. Holcomb, C. Ferrier-Pagès, S. Reynaud, É. Tambuté, D. Zoccola, D. Allemand, *J. Exp. Mar. Biol. Eco.* 408 (2011) 58–78.
- [19] H. Ehrlich, *Int. Geol. Rev.* 52 (2010) 661–669.
- [20] C. Chi, Y. Shi, H. Zheng, Y. Zhang, W. Chen, W. Yang, Y. Tang, *Mater. Chem. Phys.* 115 (2009) 808–814.
- [21] S. Nayar, A. Sinha, *J. Mater. Sci. Lett.* 22 (2003) 167–170.
- [22] M. Öner, Ö. Doğan, *Prog. Cryst. Growth Ch.* 50 (2005) 39–51.
- [23] J.S. Evans, *Bioinformatics* 28 (2012) 3182–3185.
- [24] L. Wang, M. Nilsen-Hamilton, *Front. Biol.* 8 (2013) 234–246.
- [25] N. Wada, M. Okazaki, S. Tachikawa, *J. Cryst. Growth* 132 (1993) 115–121.
- [26] J. Kontrec, D. Kralj, L. Brečević, G. Falini, *J. Cryst. Growth* 310 (2008) 4554–4560.
- [27] L. Yang, X. Zhang, Z. Liao, Y. Guo, Z. Hu, Y. Cao, *J. Inorg. Biochem.* 97 (2003) 377–383

-
- [28] J.L. Arias, María S. Fernández, *Chem. Rev.* 108 (2008) 4475–4482.
- [29] P. Zhu, Y. Masuda, K. Koumoto, *Biomaterials* 25 (2004) 3915–3921.
- [30] S. Hayakawa, K. Tsuru, C. Ohtsuki, A. Osaka, *J. Am. Ceram. Soc.* 82 (1999) 2155–2160.
- [31] P. Calvert, S. Mann, *Nature* 386 (1997) 127–128.
- [32] E. Ajami, K.-F. Aguey-Zinsou, *J. Funct. Biomater.* 3 (2012) 327–248.
- [33] C. Li, D.L. Kaplan, *Curr. Opin. Solid St. M.* 7 (2003) 265–271.
- [34] S. Mann, D.D. Archibald, J.M. Didymus, T. Douglas, B.R. Heywood, F.C. Meldrum, N.J. Reeves, *Science* 261 (1993) 1286–1292.
- [35] G. Falini, S. Albeck, S. Weiner, L. Addadi, *Science* 271 (1996) 67–69.
- [36] E.M. Wong, J.E. Bonevich, P.C. Searson, *J. Phys. Chem. B.* 102 (1998) 7770–7775.
- [37] R. Lee Penn, G. Oskam, T.J. Strathmann, P.C. Searson, A.T. Stone, D.R. Veble, *J. Phys. Chem. B.* 105 (2001) 2177–2182.
- [38] A. P. Alivisatos, *Science* 289 (2000) 736–737.
- [39] S. Laha, Z. Liu, D.A. Edwards, R.G. Luthy, ACS Symp. Series Aq. Chem. 44 (1995) 339–361.
- [40] H. Wei, Q. Shen, Y. Zhao, D. Wang, D. Xu, *J. Cryst. Growth* 260 (2004) 545–550.
- [41] H. Wei, Q. Shen, Y. Zhao, Y. Zhou, D. Wang, D. Xu, *J. Cryst. Growth* 264 (2004) 424–429.
- [42] H. Wei, Q. Shen, Y. Zhao, Y. Zhou, D. Wang, D. Xu, *J. Cryst. Growth* 279 (2005) 439–446.
- [43] G. Yan, L. Wang, J. Huang, *Powder Technol.* 192 (2009) 58–64.
- [44] Y. Sun, G. Guo, D. Tao, Z. Wang, *J. Phys. Chem. Solids* 68 (2007) 373–377.
- [45] G. Guo, Y. Sun, Z. Wang, H. Guo, *Ceram. Int.* 31 (2005) 869–872.
- [46] Y. Sun, G. Guo, Z. Wang, H. Guo, *Ceram. Int.* 32 (2006) 951–954.
- [47] K. Lin, J. Chang, R. Cheng, M. Ruan, *Mater. Lett.* 61 (2007) 1683–1687.
- [48] D. Liu, M.Z. Yates, *Langmuir* 22 (2006) 5566–5569.
- [49] S. Singh, P. Bhardwaj, V. Singh, S. Aggarwal, U.K. Mandal, *J. Colloid Interf. Sci.* 319 (2008) 322–329.
- [50] P. Foley, A. Kermanshahi, E.S. Beach, J.B. Zimmerman, *Chem. Soc. Rev.* 41 (2012) 1499–1518.
- [51] G.O. Reznik, P. Vishwanath, M.A. Pynn, J.M. Sitnik, J.J. Todd, J.J. Wu, Y. Jiang, B.G. Keenan, A.B. Castle, R.F. Haskell, T.F. Smith, P. Somasundaran, K.A. Jarrell, *Appl. Microbiol. Biot.* 85 (2010) 1387–1397.
- [52] J. Cross, *Anionic Surfactants*, Marcel Dekker Inc., 2nd edition, 1998.
- [53] M.J. Rosen, *Surfactants and Interfacial phenomena*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 3rd edition, 2004.

- [54] N. Zethraeus, F. Borgström, O. Ström, J. Kanis, B. Jönsson, *Osteoporos. Int.* 18 (2007) 9–23.
- [55] M. Golub, D. Lott, E.B. Watkins, V. Garamus, B. Luthringer, M. Stoermer, *Biointerphases* 8 (2013) 21–31.
- [56] M. Grün, K.K Unger, A. Matsumoto, K. Tsutsumi, *Micropor. Mesopor. Mat.* 27 (1999) 207–216.
- [57] Q. Cai, W.-Y. Lin, F.-S. Xiao, W.-Q. Pang, X.-H. Chen, B.-S. Zou, *Micropor. Mesopor. Mat.* 32 (1999) 1–15.
- [58] M. Vallet-Regi, A. Rámila, R.P. del Real, J. Pérez-Pariente, *Chem. Mater.* 13 (2001) 308–311.
- [59] R. Zaleski, J. Wawryszczuk, A. Borówka, J. Goworek, T. Goworek, *Micropor. Mesopor. Mat.* 62 (2003) 47–60.
- [60] K.C. Vickers, F. Castro-Chavez, J.D. Morrisett, *Atherosclerosis* 211 (2010) 122–129.
- [61] M. Goldberg, A.L. Boskey, *Progress in Histochemistry Cytochemistry*. 31/2. Stuttgart G. Fisher Verlag; 1996. Lipids and biomineralizations; pp. 1–190.
- [62] G. van Meer, A.I.P.M. de Kroon, *J. Cell Sci.* 124 (2011) 5–8.
- [63] C.W. McConlogue, T.K. Vanderlick, *Langmuir* 13 (1997) 7158–7164.
- [64] L.-J. Zhang, H.-G. Liu, X.-S. Feng, R.-J. Zhang, L. Zhang, Y.-D. Mu, J.-C. Hao, D.-J. Qian, Y.-F. Lou, *Langmuir* 20 (2004) 2243–2249.
- [65] J. Xiao, Z. Wang, Y. Tang, S. Yang, *Langmuir* 26 (2010) 4977–4983.
- [66] L.-J. Zhang, H.-G. Liu, X.-S. Feng, D.-J. Qian, L. Zhang, X.-L. Yu, Q.-L. Feng, *Thin Solid Films* 458 (2004) 287–291.
- [67] C.C. Tester, M.L. Whittaker, D. Joester, *Chem. Commun.* 50 (2014) 5619–5622.
- [68] R.H. Nottler, *Lung Surfactants: Basic Science and Clinical Applications*, Marcel Dekker Inc., 2000.
- [69] M. Langer M, K. Kubica, *Chem. Phys. Lipids* 101 (1999) 3–35.
- [70] C. Hofsäß, E. Lindahl, O. Edholm, *Biophys. J.* 84 (2003) 2192–2206.
- [71] M. Eeman, M. Deleu, *Biotechnology, Agronomy, Society Environment* 14 (2010) 719–736.
- [72] Y. Yu, S.M. Anthony, L. Zhang, S.C. Bae, S. Granic, *J. Phys. Chem. C* 111 (2007) 8233–8236.
- [73] M.N. Jones, *Adv. Colloid Interface. Sci.* 54 (1995) 93–128.
- [74] S.F. Nagle, S. Tristram-Nagle, *Biochim. Biophys. Acta* 1469 (2000) 159–195.
- [75] M.C. Pitman, F. Suits, A.D. Mackerell, S.E. Feller, *Biochemistry* 43 (2004) 15318–15328.
- [76] C. Ohe, T. sasaki, M. Noi, Y. Goto, K. Itoh, *Anal. Bioanal. Chem.* 288 (2007) 73–79.
- [77] M. Maas, H. Rehage, H. Nebel, M. Epple, *Colloid Polym. Sci.* 258 (2007) 1301–1311.

-
- [78] L.-J. Zhang, H.-G. Liu, X.-S. Feng, D.-J. Qian, L. zhang, X.-L. Yu, Q.-L. Feng, *Thin Solid Films* 458 (2004) 287–291.
- [79] S. Hacke, D. Möbius, V.-T. Lieu, *Appl. Surf. Sci.* 246 (2005) 362–366.
- [80] Z. Xue, B. Hu, S. Dai, Z. Du, *Mater. Chem. Phys.* 136 (2012) 771–777.
- [81] T. Kokubo, H. Takadama, *Biomaterials* 27 (2006) 2907–2915.
- [82] D.Voet, J.G. Voet, C.W. Pratt, *Fundamentals of biochemistry*, 3th edition, John Wiley&Sons Inc., 2004.
- [83] Q. He, J. Li, *Adv. Colloid Interfac.* 131 (2007) 91–98.
- [84] J.P. Laye, J.H. Gill, *Drug Discov. Today* 8 (2003) 710–716.
- [85] H.S. Hansen, A.M. Vinggaard, L. Lauritzen, C. Vermehren, A.M. Strand, *TemaNord* 624 (1995) 221–227.
- [86] J.E. Burke, E.A. Denis, *J. Lipid Res.* 50 (2009) 237–242.
- [87] S.P. Moura, A.M. Carmona-Ribeiro, *Cell Biochem. Biophys.* 44 (2006) 446–452.
- [88] E.T. Castellana, P.S. Cremer, *Surf. Sci. Rep.* 61 (2006) 429–444.
- [89] V. Hernando, A. Rieutord, R. Pansu, F. Brion, P. Prognon, *J. Chromatogr. A* 1064 (2005) 75–84.
- [90] G. Lucignani, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. I.* 36 (2009) 869–874.
- [91] Y.Chunbo, Z. Daqing, L. Aizhuo, N.A. Jiazuan, *J. Colloid Interf. Sci.* 172 (1995) 536–538.
- [92] H. Matsumura, K. Watanable, K. Furusawa, *Colloids Surf. A.* 98 (1995) 175–184.
- [93] C. Washington, *Adv. Drug Deliver. Rev.* 20 (1996) 131–145.
- [94] R. Willumeit, F. Feyerabend, H. Kamusewitz, M. Schossigi, H. Clemens, *Mat-Wiss U Werkstoffech* 34 (2003) 1084–1093.
- [95] M.A. Hood, K. Landfester, R. Muñoz-Espi, *Cryst. Growth. Des.* 14 (2014) 1077–1085.
- [96] J.D. Rodriguez-Blanco, S. Shawn, L.G. Benning, *Nanoscale* 3 (2011) 265–271.
- [97] D. Kralj, L. Brečević, J. Kontrec, *J. Cryst. Growth.* 177 (1997) 248–257.
- [98] M.N. Jones, *Adv. Colloid Interface Sci.* 54 (1995) 93–128.
- [99] V.L. Shapovalov, *Thin Solid Films* 327–329 (1998) 599–602.
- [100] H. Tong, W.T. Ma, L.L. Wang, P. Wan, J.M. Hu, L.X. Cao, *Biomaterials* 25 (2004) 3923–3929.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Działalność naukowa przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

Moja działalność naukowa-badawcza w dużej części wiąże się z węglanem wapnia i fosforanem wapnia. Rozpoczęłam ją na V-roku studiów podczas realizacji pracy magisterskiej w Zakładzie Zjawisk Międzyfazowych na Wydziale Chemii UMCS. Pracę magisterską pt. *„Badanie stabilności suspensji i swobodnej energii powierzchniowej ciał stałych”* przygotowywałam pod kierunkiem p. prof. dr hab. Lucyny Hołysz. Badania te koncentrowały się między innymi na określeniu parametrów wpływających na stabilność zawiesiny węglanu wapnia wytrącanego z CaCl_2 i Na_2O_3 poddawanego działaniu pola magnetycznego.

W czerwcu 2001 roku uzyskałam tytuł zawody magistra, a od października 2001 roku rozpoczęłam Studia Doktoranckie na Wydziale Chemii UMCS. Pracę doktorską pt. *„Wpływ pola magnetycznego na właściwości układów zdyspergowanych”* realizowałam pod kierunkiem p. prof. dr hab. Lucyny Hołysz. W pracy doktorskiej kontynuowałam badania wpływu pola magnetycznego na właściwości dyspersji węglanu wapnia, m.in. w aspekcie zapobiegania osadzaniu się kamienia kotłowego w urządzeniach grzewczych. Badania wpływu stałego pola magnetycznego, w warunkach statycznych jak i kinetycznych, na właściwości wytrąconego *in situ* węglanu wapnia dotyczyły określenia różnych parametrów na stabilność, wielkość wytrączanych cząstek i ich agregacji, struktury krystalicznej i adhezji cząstek do powierzchni ciała stałego. Z badań tych wynika, że stałe pole magnetyczne wpływa przede wszystkim na szybkość zarodkowania i wzrost kryształów węglanu wapnia i wiąże się ze zmianą w strukturze warstewki hydratacyjnej wokół jonu Ca^{2+} i CO_3^{2-} .

Swoje zainteresowania naukowe skierowałam również na materiały ceramiczne oparte na bazie fosforanu (V) wapnia oraz innych biomateriałów, które umieszcza się we wnętrzu organizmów żywych w miejsce ubytków tkanki kostnej, jako sztuczne substytuty umożliwiające regenerację kości. Pokrycie fosforanem wapnia narzędzi chirurgicznych oraz metalowych implantów zwiększa ich zgodność z tkanką kostną oraz odporność na korozję w lekko kwaśnym środowisku płynów ustrojowych. Kolejne badania dotyczyły wpływu pola magnetycznego na właściwości fosforanu (V) wapnia, przede wszystkim ze względu na jego znaczenie w układach biologicznych oraz dużej różnorodności jego form krystalicznych. Badania te były realizowane w ramach promotorskiego projektu badawczego MNiI:

- „Wpływ pola magnetycznego na właściwości strącanego węglanu wapnia i fosforanu (V) wapnia” realizowany w okresie od 31.08.2004 do 30.08.2005 (nr projektu: **3T09A 159 27**).

Efektem działania pola magnetycznego były zmiany właściwości suspensji fosforanu wapnia, które objawiały się w zmianach szybkości zarodkowania i narastania kryształów, pH suspensji i potencjału elektrokinetycznego. Pole magnetyczne nie wpływało na zmiany form krystalicznych fosforanu wapnia, co potwierdziła analiza XRD, ale powodowało uporządkowanie jego struktury większe w przypadku, gdy osad wytrącano z roztworów CaCl_2 i mieszaniny $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$. Wzrost temperatury przyspieszał proces wytrącania fosforanu wapnia oraz zanik efektów wywołanych obecnością PM.

Badania związane z wpływem pola magnetycznego na właściwości układów zdyspergowanych realizowane podczas pracy doktorskiej i kontynuowane jeszcze po doktoracie zostały opublikowane w formie 11 artykułów w czasopismach z bazy Journal Citation Reports [P1,P6,P7,P9–P16 Załącznik 3a].

Działalność naukowa po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

Wykorzystanie stałego pola magnetycznego jako taniej i ekologicznej nie-chemicznej metody uzdatniania wody posiada olbrzymi potencjał aplikacyjny. Jednak ze względu na złożoność tego zjawiska nadal brak jest jednolitej teorii wyjaśniającej mechanizm jego działania. Dlatego wspólnie z p. prof. dr hab. Lucyną Hołysz i p. prof. dr hab. Emilianem Chibowskim kontynuujemy badania nad stworzeniem pełnego mechanizmu wpływu stałego pola magnetycznego na wodę i wodne roztwory elektrolitów. Z badań tych wynika, że występuje liniowa zależność zmian przewodności właściwej roztworów ($\Delta\kappa$) po działaniu pola magnetycznego w warunkach statycznych w funkcji wielkości funkcji termodynamicznych związanych z procesem hydratacji jonów, tj. entropii hydratacji (ΔhydrS^*) i swobodnej entalpii (ΔhydrG^*). Zmiany te zależą od rodzaju jonów obecnych w roztworze (jony ‘budujące’ i ‘niszczące’ strukturę warstewki hydratacyjnej wokół jonu) i są proporcjonalne do grubości warstewki hydratacyjnej wokół jonów, co sugeruje, że pole magnetyczne powoduje zmiany w strukturze takich warstewek. Wyniki badań zostały opublikowane w czasopismach z listy JCR oraz przedstawione na konferencjach międzynarodowych, gdzie wzbudzają zainteresowanie. Stały się one podstawą do nawiązania współpracy z p. Jerzym Ważnym, który jest konstruktorem opatentowanego stosu magnetycznego (Patent PL 155856), który wykorzystujemy w kolejnych

badaniach. W związku z kontynuacją badań mających na celu poznania mechanizmu działania pola magnetycznego i jego wykorzystania pola do uzdatniania wody w grudniu 2015 roku wspólnie z p. prof. dr hab. Emilianem Chibowskim złożyłam wniosek o finansowanie projektu badawczego z zakresu badań podstawowych w ramach konkursu NCN OPUS 10:

- „Weryfikacja wpływu pola magnetycznego na wodę i wodne roztwory wybranych elektrolitów w aspekcie osadzania się węglanu wapnia w instalacjach grzewczych” (nr ID 317027).

W latach 2010–2013 jako **główny wykonawca** wspólnie z p. prof. dr hab. Emilianem Chibowskim i p. dr Małgorzatą Jurak brałam udział w realizacji projektu badawczego własnego MNiSW:

- „Kompleksowe badania fizykochemicznych właściwości modelowych lipidowych błon komórkowych i ich liposomów” (numer projektu: **N N204 272839**),

którego byłam pomysłodawcą i współredaktorem. Celem projektu było określenie stabilności oraz oddziaływań występujących w jedno- i wieloskładnikowych warstewkach lipidowych na subfazie wodnej, osadzonych następnie na podłożu stałym oraz występujących w postaci liposomów oraz zbadanie zależności pomiędzy właściwościami tych układów a przebiegiem hydrolizy katalizowanej przez fosfolipazy. Analiza uzyskanych wyników pozwoliła na wyciągnięcie wielu interesujących wniosków dotyczących kompleksowych badań warstewek lipidów i ich liposomów w aspekcie ich zwilżalności. Projekt ten został bardzo dobrze oceniony, a uzyskane wyniki opublikowane w postaci 13 artykułów naukowych, dwóch rozdziałów w książkach, obszernego hasła w Encyklopedii *The Encyclopedia of Surface and Colloid Science* i przedstawione 17 razy na konferencjach krajowych i międzynarodowych gdzie wzbudziły szerokie zainteresowanie innych badaczy.

W czasie realizacji tego projektu wykorzystałam wiadomości i umiejętności zdobyte podczas uczestnictwa w kursie „Interfacial Engineering in Nanotechnology w dniach 30.03-4.04.2009 roku w Leibniz Institut of Polymer Research w Dreźnie organizowanym w ramach programu COST 43.

Efektom współpracy z p. dr hab. Markiem Wesołowskim z Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu była praca na temat adsorpcji fenolu na zamkniętych nanorurkach węglowych opublikowana w *Journal of Colloid and Interface Science*, 361 (2011) 288-292.

Efektem współpracy prowadzonej z pracownikami Department of Applied Physics Univesrity of Granada w Hiszpanii jest m.in. artykuł pt. „Surface modification of glass plates and silica particles by phospholipid adsorption” opublikowany w *Journal of Colloid and Interface Science* 353 (2010) 281-289. W dniach 4-14.02.2013 prowadziłam tam pomiary reologiczne roztworów exopolimerów otrzymanych z bakterii *Rhodococcus*, natomiast w dniach 2-8.10.2013 oraz 12-18.10.2015 wygłosiłam wykłady w ramach **sieci Erasmus**.

Wyniki badań dotyczące stabilności liposomów oraz ich potencjalnego zastosowania w stomatologii oraz oddziaływań między hydroksyapatytem i liposomami, otrzymane w ramach współpracy z panem dr Markiem Tomankiewiczem z Zakładu Stomatologii Wieku Rozwojowego Uniwersytetu Medycznego w Lublinie były prezentowane w formie komunikatu ustnego w czasie 55. Zjazdu PTChem i SiTPChem w Białymstoku oraz posteru w trakcie 14th International Conference on Organized Molecular Films w Paryżu.

W ramach projektu stażowo – szkoleniowego ***Staż Sukcesem Naukowca*** realizowanego przez Poznański Akademicki Inkubator Przedsiębiorczości ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego, Priorytet VIII: Regionalne kadry gospodarki, Działanie 8.2. Transfer wiedzy, Poddziałanie: 8.2.1: Wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw, w terminie **od 1.04.2012 do 30.09.2012** odbyłam staż przemysłowy w firmie „Domena” Łukasz Mączka z siedzibą w Lublinie. Celem projektu było nawiązanie relacji pomiędzy lubelskimi uczelniami i instytutami badawczymi, a lubelskimi przedsiębiorcami prowadzące do obopólnego transferu wiedzy: z nauki do biznesu i odwrotnie. W trakcie stażu poprzez pracę i codzienne obcowanie z działalnością podejmowaną w sferze biznesu nabyłam umiejętności na temat funkcjonowania przedsiębiorstwa oraz poszerzyłam swoją wiedzę i umiejętności z zakresu komercjalizacji wiedzy, wdrażania innowacji i własności intelektualnej. Ponadto znajomość problematyki gospodarki regionu lubelskiego wpłynęła na rodzaj i jakość prowadzonych przeze mnie prac badawczych powodując ich ukierunkowanie na konkretne problemy rynku lokalnego.

W terminie **31.08.2012-10.05.2013** pracowałam jako konsultant w projekcie ***Wsparcie Regionalnej Sieci Współpracy*** realizowanym w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, Priorytet VIII Regionalne Kadry Gospodarki przez Departament Gospodarki i Innowacji Urzędu Marszałkowskiego Województwa Lubelskiego. W ramach projektu współpracowałam z jednym z małych przedsiębiorstw

województwa lubelskiego nad przygotowaniem konkretnego rozwiązania inwestycyjnego mającego na celu opracowanie nawozów z biostymulatorami dla roślin uprawnych.

Efektem współpracy prowadzonej z p. dr hab. Anną Jarosz-Wilkołazką prof. UMCS z Zakładu Biochemii UMCS oraz p. prof. dr hab. Ryszardem Dobrowolskim z Zakładu Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej Wydziału Chemii UMCS jest obecnie realizowany w ramach konkursu NCN OPUS 4 projekt badawczy, którego jestem **kierownikiem**:

- „*Pozyskiwanie polisacharydów ze szczepu bakterii Rhodococcus oraz kompleksowe badania możliwości ich wykorzystania jako bioflokulanty, biosorbenty oraz do kontroli procesu mineralizacji*” (numer projektu: **2012/07/B/ST5/01799**).

Prowadzone w ramach tego projektu badania podstawowe posiadają duży potencjał aplikacyjny. Przy zastosowaniu odpowiednich warunków badane szczepy bakterii mogą wydzielać polisacharydy o potencjalnym zastosowaniu jako bioflokulanty oraz biosorbenty umożliwiając usuwanie metali ciężkich, a także jako matryce pozwalające kontrolować proces mineralizacji. Uzyskane wyniki będą stanowiły również część rozprawy doktorskiej Pani mgr Magdaleny Czemińskiej, uczestniczki studiów doktoranckich na Wydziale Biologii, która jest wykonawcą w ww. projekcie. Efektem prowadzonej współpracy jest również złożony w grudniu 2015 roku wniosek o finansowanie projektu badawczego w ramach konkursu NCN Preludium 10:

- „*Analiza właściwości powierzchniowych komórek bakterii z rodzaju Rhodococcus i substancji przez nie wytwarzanych w celu ich zastosowania jako bioemulsyfikatory i biosurfaktanty*” (nr ID **317158** – M. Czemińska, A. Jarosz-Wilkołazka, A. Szcześ).

W 2012 roku w ramach 7 programu ramowego FP7-PEOPLE-2012-IOF wspólnie z prof. Davidem Beattie z University of South Australia złożyłam wniosek o finansowanie projektu badawczego pt. „Controlling Biomineralization using Macromolecular Layers” (numer wniosku: 331716). Ze względu na ilość wniosków, pomimo przekroczenia wymaganego progu punktowego projekt nie został zakwalifikowany do finansowania. Doświadczenie zdobyte w czasie jego przygotowywania posłużyło przy aplikowaniu o projekt w ramach programu Marie Curie-Sklodowska actions FP7-PEOPLE-2013-ITN wraz z partnerami z wiodących ośrodków naukowych w Europie. Od **1.01.2014** roku wspólnie z Panem prof. Emilem Chibowskim uczestniczę w realizacji projektu finansowanego w ramach programu Marie Curie-Sklodowska actions FP7-PEOPLE-

2013-ITN pt. Complex Wetting Phenomena (numer grantu: 607861) koordynowanego przez Panią prof. Tatianę Gambaryan-Roissman z Technical University of Darmstadt. Projekt ten jest realizowany we współpracy z 10 wiodącymi ośrodkami naukowymi w Europie, m.in. Max Planck Institute of Colloids and Interfaces, Potsdam, Germany; The Hebrew University of Jerusalem. Od listopada 2014 roku sprawuję opiekę nad badaniami realizowanymi w ramach tego projektu przez Panią mgr Yingdi Yan, dotyczącymi określania właściwości fizykochemicznych implantów w aspekcie ich adhezji do materiałów biologicznych. Zostałam również wybrana przez zespół koordynatorów i promotorów („Advisory Board”) na „przedstawiciela odpowiedzialny za równouprawnienie” („Gender representative”).

Całkowity dorobek naukowy

Mój dotychczasowy dorobek naukowy obejmuje:

- 6 publikacji przed osiągnięciem stopnia naukowego doktora,
 - 12 publikacji stanowiących podstawę wniosku habilitacyjnego,
 - 13 publikacji po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nieobjętych habilitacją
- co stanowi łącznie 31 publikacji naukowych, w tym 27 z listy Journal Citation Report (JCR) o sumarycznym IF równym 68,99. Sumaryczna liczba cytowań tych publikacji wynosi 277, z wyłączeniem autocytowań 244, a h-index = 10².

Wyniki moich badań były prezentowane na:

- 16 konferencjach krajowych i
- 17 międzynarodowych w postaci 11 komunikatów i 43 posterów.

Od roku 2009 na zaproszenie edytorów czasopism o zasięgu międzynarodowym znajdujących się w bazie JCR wykonałam wiele recenzji artykułów dotyczących układów zdyspergowanych i fizykochemii powierzchni. W tym czasie przygotowałam 32 recenzje dla:

- Powder Technology, 2014-2015, 2 recenzje,
- Material Science and Engineering C, 2013-2015, 7 recenzji,
- Journal of Colloid and Interface Science, 2012-2014, 5 recenzji,
- Applied Surface Science, 2014, 2 recenzje,
- Journal of Adhesion Science and Technology, 2014, 2 recenzje,
- Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures, 2014, 1 recenzja,

²statystyki wygenerowane w bazie Web of Science (WoS) 29 stycznia 2016 roku, z wyjątkiem sumarycznego IF, który jest zsumowanym IF publikacji przedstawionych w załączniku 3a

-
- Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 2014, 4 recenzje,
 - Journal of Molecular Structure, 2013, 1 recenzja,
 - Advances in Colloid and Interface Science, 2013, 1 recenzja,
 - Water Research, 2013, 1 recenzja,
 - Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering, 2013, 1 recenzja
 - Colloids and Surfaces A, 2012, 2 recenzje,
 - International Journal of Molecular Science, 2012, 1 recenzja
 - Environmental Engineering and Management Journal, 2010, 2 recenzje

Od wielu lat aktywnie współpracuję również z przedsiębiorstwami i instytucjami badawczymi realizując prace badawcze w odpowiedzi na ich zapotrzebowanie.

02.02.2016 *Wiesława* *pruś*