

STRESZCZENIE

TYTUŁ ROZPRAWY DOKTORSKIEJ:

„Adsorpcja białek na powierzchni mezoporowatej krzemionki: analiza fizykochemiczna, strukturalna i morfologiczna biokompozytu”.

Rozprawa doktorska pt. „*Adsorpcja białek na powierzchni mezoporowatej krzemionki: analiza fizykochemiczna, strukturalna i morfologiczna biokompozytu*” stanowi cykl czterech spójnie powiązanych tematycznie oryginalnych prac badawczych opublikowanych w czasopiśmie naukowym z listy A MNiSW w latach 2019-2020.

Tematyka cyklu pracy doktorskiej obejmuje analizę procesu adsorpcji modelowych białek tj. *surowicza albumina wołowa* (BSA), *owoalbumina białka jaja kurzego* (OVA) oraz *lizozym wyizolowany z białka jaja kurzego* (LYS) na uporządkowanych mezoporowatych materiałach krzemionkowych typu *mezostrukturalna pianka komórkowa* (MCF) oraz jakościową i ilościową charakterystykę budowy powierzchni kompozytu białko/porowaty adsorbent w aspekcie uzyskania modelowych układów biologicznych oraz nowych biofunkcjonalnych kompozytów medycznych.

W cyklu prac przedstawiono analizę równowagi i kinetyki procesu adsorpcji BSA, OVA i LYS z wodnych roztworów soli fizjologicznej buforowanej fosforanem (PBS) w warunkach fizjologicznych (pH=7,4) na serii mezoporowatych nośników MCF o zróżnicowanej powierzchni właściwej (250 m²/g – 720 m²/g) i średnicy porów (6 nm – 30 nm) otrzymanych na bazie kopolimerów trójblokowych typu Pluronic, jako czynników porotwórczych. W celu określenia wpływu właściwości badanych układów adsorpcyjnych na wielkość (pojemność) i szybkość procesu adsorpcji enzymów na porowatym adsorbencie MCF wyznaczono izotermy adsorpcji równowagowej albumin oraz przeanalizowano zależności kinetyczne: stężenie ~ czas i adsorpcja ~ czas, jako kluczowe parametry decydujące o potencjalnych zastosowaniach danego adsorbentu. Zaobserwowano, że proces adsorpcji biomolekuł na nośniku MCF jest kontrolowany szybkością dyfuzji do wewnętrznej przestrzeni struktury porowatej adsorbentu i wykazuje silny związek z wielkością porów nośnika. Dodatkowo, wykazano związek pomiędzy rozmiarem cząsteczki albumin a kinetyką jego adsorpcji.

Otrzymane materiały MCF oraz biokompozyty białko/porowata krzemionka przebadano przy zastosowaniu różnych metod badawczych w celu określenia ich właściwości fizykochemicznych, strukturalnych, powierzchniowych i morfologicznych. Charakter kwasowo-zasadowy materiałów

krzemionkowych MCF pokrytych warstwą adsorpcyjną białek oraz naturę oddziaływań adsorbentu z powierzchnią adsorbentu określono za pomocą miareczkowania potencjometrycznego. Dowiedziono, że osadzenie fazy białkowej na materiale MCF zmienia jego właściwości kwasowo-zasadowe oraz gęstość ładunku powierzchniowego. Ujawniono, że powierzchnie krzemionkowe z warstwą białek posiadają charakter amfifilowy, a dominującą rolę w procesie immobilizacji biopolimerów odgrywają oddziaływania elektrostatyczne.

Właściwości strukturalno-geometryczne otrzymanych materiałów krzemionkowych MCF oraz biokompozytów białko/MCF określono za pomocą niskotemperaturowej adsorpcji/desorpcji azotu i dyfrakcji rentgenowskiej (XRD). Stwierdzono, że unieruchomienie warstw białkowych na adsorbencie MCF zmienia jego parametry teksturalne (wartości powierzchni właściwej, objętości i średnicy porów maleją wraz ze stopniem pokrycia powierzchni białkiem) natomiast nie wpływa na stopień ich uporządkowania.

Różnice we właściwościach fizykochemicznych i powierzchniowych (identyfikacja wiązań chemicznych, grup funkcyjnych, skład chemiczny) wynikające z oddziaływań enzym/porowaty nośnik scharakteryzowano za pomocą spektrofotometrii rozproszonego odbicia (UV-Vis DRS), spektroskopii osłabionego całkowitego wewnętrznego odbicia w podczerwieni z transformatą Fouriera (ATR FT-IR) oraz rentgenowskiej spektroskopii fotoelektronów (XPS). Badania spektroskopowe (UV-Vis DRS, ATR-FTIR, XPS) ujawniły inny charakter chemiczny powierzchni układu białko/porowaty adsorbent oraz specyficzne interakcje między albuminą i krzemionką (osłabienie wiązań wodorowych w strukturze drugorzędowej α -helisy białka; nowe wiązania i grupy funkcyjne charakterystyczne dla cząsteczek białek: $O=C-O$, $O=C-N$, $HN-C(O)O/N-C=C$, $C-N$, $C-C$, $C-H$, $C=O$, $NH-CHR-CO$, $C-NH_2$, $-C(=O)-NH_2$)).

Przeprowadzono także charakterystykę morfologii (odwzorowanie i wizualizacja struktur powierzchniowych w układzie dwu- i trójwymiarowym w skali nano i mikro) oraz analizę parametrów powierzchni (mikro- nanochropowatości, falistość, asymetria, kurtoza) warstw białkowych unieruchomionych na nośniku porowatym w oparciu o profilometrię optyczną (OP) i mikroskopię sił atomowych (AFM). Komplementarną analizę topografii powierzchni oraz jakościowy i ilościowy skład chemiczny materiału MCF przed i po adsorpcji białek scharakteryzowano za pomocą analizy elementarnej (CHN), skaningowej i transmisyjnej mikroskopii elektronowej (SEM, TEM) z mikroanalizą rentgenowską z dyspersją energii (EDX). Analiza morfologii, topografii i mikro-nanostruktury za pomocą metod mikroskopowych i profilometrii optycznej (AFM, TEM, SEM, OP) wykazała że powierzchnia podłoża z unieruchomionym białkiem jest mniej chropowata, falista i heterogeniczna a tym samym bardziej gładka, płaska i jednorodna w stosunku do materiału niemodyfikowanego cząsteczkami protein. Dodatkowo, przeprowadzona analiza powierzchniowa i objętościowa (TEM/EDX, SEM/EDS) oraz charakterystyka dyfrakcyjna (XRD) w zakresie niskich wartości kąta dyfrakcji materiału MCF i biokompozytu białkowo-krzemionkowego potwierdziła nie tylko jednorodne pokrycie powierzchni białkiem (homogeniczny rozkład pierwiastków C, O, N, S na powierzchni kompozytu białko/krzemionka), ale także uporządkowaną strukturę materiału MCF oraz obecność biomolekuł wewnątrz porów nośnika MCF.

Właściwości termiczne (stabilność termiczna i kinetyka rozkładu) i mechanizm interakcji białko/porowaty nośnik (trwałość wiązania molekuly z powierzchnią) wraz z jakościową identyfikacją cząsteczek protein (skład uwolnionych produktów gazowych) w badanym biokompozycie zweryfikowano za pomocą metod termooanalitycznych: termograwimetria (TG), różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC), termograwimetria TG sprzężona ze spektrometrią mas (TG/MS) i spektroskopią w podczerwieni z transformacją Fouriera, (TG/FTIR). Stwierdzono, że termiczna degradacja kompozytów białko/krzemionka jest procesem dwuetapowym przebiegającym w zakresie

temperatur 165–420–830 °C i zależy od denaturacji protein, zmian konformacyjnych w strukturze biopolimeru oraz od interakcji biomolekuł albumin z powierzchnią porowatych struktur.

Zaprezentowane w cyklu pracy doktorskiej badania adsorpcyjne, fizykochemiczne, strukturalne i powierzchniowe porowatego adsorbentu MCF oraz kompozytu białko/porowaty adsorbent są niezbędne zarówno z fizykochemicznego punktu widzenia, jak również z perspektywy wytwarzania modelowych systemów biofizycznych i nowych biofunkcjonalnych kompozytów medycznych, gdzie projektowanie i modyfikacja właściwości powierzchni i kontrolowana adsorpcja ma kluczowe znaczenie.

Słowa kluczowe: mezostrukturalna pianka krzemionkowa; białka; kinetyka i równowaga adsorpcji; biokompozyt białko/krzemionka; mikro- nanostruktura; morfologia powierzchni; analiza termiczna.