

# Załącznik nr 2

Załącznik nr 2

## **Autoreferat**

**dr inż. Tomasz Buchwald**

Poznań, kwiecień 2023

## Spis treści

I.	DANE OSOBOWE .....	3
II.	DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE .....	3
III.	ZATRUDNIENIE W JEDOSTKACH NAUKOWYCH .....	4
IV.	PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO .....	4
V.	OMÓWIENIE OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1. PKT 2 USTAWY .....	5
5.1.	<b>Tytuł osiągnięcia naukowego</b> .....	5
5.2.	<b>Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego</b> .....	5
5.3.	<b>Wprowadzenie</b> .....	8
5.4.	<b>Motywacja i cele naukowe</b> .....	8
5.5.	<b>Opis osiągnięć naukowych</b> .....	10
5.6.	<b>Podsumowanie</b> .....	40
5.7.	<b>Plany badawcze</b> .....	42
VI.	WYKAZ ISTOTNEJ AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ RALIZOWANEJ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ INSTYTUACJI NAUKOWEJ .....	42
6.1.	<b>Staż naukowe</b> .....	42
6.2.	<b>Promotorstwo</b> .....	43
6.3.	<b>Współpraca naukowa</b> .....	44
VII.	WYKAZ OSIĄGNIĘĆ DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ .....	49
7.1.	<b>Osiągnięcia dydaktyczne</b> .....	49
7.1.1.	<b>Prowadzone zajęcia</b> .....	49
7.1.2.	<b>Promotorstwo oraz opieka nad studentami i doktorantami</b> .....	50
7.1.3.	<b>Recenzje prac dyplomowych</b> .....	52
7.2.	<b>Osiągnięcia organizacyjne</b> .....	54
7.2.1.	<b>Sprawowane funkcje organizacyjne</b> .....	54
7.2.2.	<b>Udział w komitetach organizacyjnych konferencji naukowych</b> .....	55
7.3.	<b>Osiągnięcia popularyzujące naukę</b> .....	55
VIII.	POZOSTAŁE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWO-BADAWCZE .....	56
IX.	LITERATURA.....	57

## I. DANE OSOBOWE

**Imię** Tomasz  
**Nazwisko** Buchwald

## II. DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE

**10.2008 – 06.2014**

### **Studia doktoranckie**

Wydział Fizyki Technicznej, Politechnika Poznańska  
Doktor nauk fizycznych w zakresie fizyki

Tytuł rozprawy doktorskiej: *Metoda spektroskopii Ramana w badaniach materiałów biologicznych na przykładzie ludzkiej tkanki kostnej*

Promotor: prof. dr hab. Marek Kozielski

**2007 – 2009**

### **Studia podyplomowe**

Studium Pedagogiczno – Dydaktyczne  
Wydział Fizyki Technicznej, Politechnika Poznańska

Tytuł pracy dyplomowej: *Strategie uczenia się i preferencje poznawcze studentów uczelni technicznej*

Promotor: dr hab. Maria Kozielska, prof. PP

**2003 – 2008**

### **Studia magisterskie**

Wydział Fizyki Technicznej, Politechnika Poznańska  
Kierunek: Fizyka Techniczna, Specjalność: Materiały funkcjonalne i technologie dla optoelektroniki

Tytuł pracy magisterskiej: *Badanie właściwości fizycznych wybranych związków cienkich warstw metaloftalocyjaniny naniesionych na podłoże stałe metodami spektroskopii optycznej*

Promotor: dr hab. Mirosław Szybowicz, prof. PP

### III. ZATRUDNIENIE W JEDOSTKACH NAUKOWYCH

<b>2020 – obecnie</b>	Wydział Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej Politechnika Poznańska Stanowisko: Adiunkt
<b>2018 – 2019</b>	Wydział Fizyki Technicznej Politechnika Poznańska Stanowisko: Adiunkt
<b>2013 – 2018</b>	Wydział Fizyki Technicznej Politechnika Poznańska Stanowisko: Asystent

### IV. PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO

Dane na dzień 20 kwietnia 2023 r.

Szczegółowe dane zostały przedstawione w załączniku nr 3 „Wykaz osiągnięć naukowych”.

	WEB OF SCIENCE	SCOPUS	GOOGLE SCHOLAR
LICZBA PUBLIKACJI	53	53	55
LICZBA CYTOWAŃ	586	637	801
LICZBA CYTOWAŃ BEZ AUTOCYTOWAŃ	508	559	-
INDEKS HIRSHA	14	14	16

Sumaryczny 5-letni Impact Factor czasopism,  
w których opublikowano wszystkie prace: **231,265 (ŚREDNIA: 4,205)**.

Suma punktów MEiN czasopism, w których opublikowano wszystkie prace do 2018 roku  
(na podstawie wykazu z dnia 26 stycznia 2017 r.): **525 (ŚREDNIA: 29)**.

Suma punktów MEiN czasopism, w których opublikowano wszystkie prace od 2019 roku  
(na podstawie wykazu z dnia 1 grudnia 2021 r.): **4370 (ŚREDNIA: 118)**.

Liczba współautorów prac (wg. Scopus): **115**.

V. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST.  
1. PKT 2 USTAWY

5.1. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

*Spektroskopia Ramana w ocenie właściwości, możliwości modyfikacji i potencjału aplikacyjnego materiałów biomedycznych.*

5.2. PUBLIKACJE WCHODZĄCE W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Do postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego wykazuję 16 publikacji stanowiących cykl prac powiązanych tematycznie. 15 publikacji zostało wydanych po uzyskaniu stopnia doktora. 1 publikacja ukazała się w czasopiśmie przed uzyskaniem stopnia doktora, jednak nie jest powiązana tematycznie z publikacjami wykazanymi w rozprawie doktorskiej. Wszystkie czasopisma, w których opublikowano prace znajdują się w wykazie czasopism naukowych Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN) opublikowanym 26 stycznia 2017 r. oraz 1 grudnia 2021 r. Przy poszczególnych publikacjach przedstawiłem 5-letni Impact Factor czasopisma wg. listy Journal Citation Reports na rok opublikowania pracy, punktację MEiN na podstawie wykazu z dnia 26 stycznia 2017 r. dla prac opublikowanych do 2018 roku oraz na podstawie wykazu z dnia 1 grudnia 2021 r. dla prac opublikowanych od 2019 roku oraz liczbę cytowań (z bazy Scopus) na dzień 20 kwietnia 2023 r. Opis wkładu własnego dotyczący danej pracy oraz procentowy udział własny ustalony ze współautorami prac został opisany w załączniku nr 3. Oświadczenia współautorów publikacji, potwierdzające indywidualny wkład zostały umieszczone w załączniku nr 6. Kopie publikacji zostały zamieszczone w załączniku nr 5.

H1. Z. OKULUS, T. BUCHWALD, M. SZYBOWICZ, A. VOELKEL

*Study of a new resin-based dental composites containing hydroxyapatite filler using Raman and infrared spectroscopy*

Materials Chemistry and Physics 145 (2014) 304–312

IF2014: **2,503**; MEiN: **35**; Liczba cytowań: 20

H2. Z. OKULUS, T. BUCHWALD, A. VOELKEL

*Characterization of light-cured, dental-resin-based biocomposites*

Journal of Applied Polymer Science 132 (2015) 42812 1–10

IF2015: **1,647**; MEiN: **25**; Liczba cytowań: 14

- H3. Z. OKULUS, B. STRZEMIECKA, B. CZARNECKA, T. BUCHWALD, A. VOELKEL  
*Surface energy of bovine dentin and enamel by means of inverse gas chromatography*  
Materials Science & Engineering C 49 (2015) 382–389  
IF2015: **3,861**; MEiN: **25**; Liczba cytowań: 14
- H4. Z. OKULUS, T. BUCHWALD, A. VOELKEL  
*Calcium release from experimental dental materials*  
Materials Science & Engineering C 68 (2016) 213–220  
IF2016: **4,487**; MEiN: **30**; Liczba cytowań: 15
- H5. M. PIETRZYŃSKA, J. ZEMBRZUSKA, R. TOMCZAK, J. MIKOŁAJCZYK, D. RUSIŃSKA-ROSZAK, A. VOELKEL, T. BUCHWALD, J. JAMPÍLEK, M. LUKÁČ, F. DEVÍNSKY  
*Experimental and in silico investigations of organic phosphates and phosphonates sorption on polymer-ceramic monolithic materials and hydroxyapatite*  
European Journal of Pharmaceutical Sciences 10 (2016) 295–303  
IF2016: **3,866**; MEiN: **35**; Liczba cytowań: 6
- H6. T. BUCHWALD, Z. OKULUS, M. SZYBOWICZ  
*Raman spectroscopy as a tool of early dental caries detection - new insights*  
Journal of Raman Spectroscopy 48 (2017) 1094–1102  
IF2017: **2,353**; MEiN: **30**; Liczba cytowań: 27
- H7. Z. OKULUS, T. BUCHWALD, B. CZARNECKA, A. VOELKEL  
*The effect of bonding system application on surface characteristics of bovine dentin and enamel*  
Materials Science & Engineering C 76 (2017) 1224–1231  
IF2017: **5,260**; MEiN: **30**; Liczba cytowań: 5
- H8. T. BUCHWALD, Z. OKULUS  
*Determination of storage solutions influence on human enamel by Raman spectroscopy*  
Vibrational Spectroscopy 96 (2018) 118–124  
IF2018: **1,844**; MEiN: **25**; Liczba cytowań: 6
- H9. M. SANDOMIERSKI, T. BUCHWALD, B. STRZEMIECKA, A. VOELKEL  
*Modification of Ti6Al4V surface by diazonium compounds*  
Spectrochimica Acta Part A 191 (2018) 27–35  
IF2018: **2,665**; MEiN: **30**; Liczba cytowań: 13
- H10. T. BUCHWALD, Z. BUCHWALD  
*Assessment of the Raman spectroscopy effectiveness in determining the early changes in human enamel caused by artificial caries*

Analyst 144 (2019) 1409–1419

IF2019: **3,929**; MEiN: **100**; Liczba cytowań: 19

**H11.** M. ZIELIŃSKA, T. BUCHWALD, M. MARANDA, A. VOELKEL

*Siliceous-based monolithic materials coated with a hydroxyapatite layer: Preparation and investigation of drug affinity by Raman spectroscopy*

Journal of Raman spectroscopy 50 (2019) 1722–1730

IF2019: **2,272**; MEiN: **70**; Liczba cytowań: 2

**H12.** Z. OKULUS, M. SANDOMIERSKI, M. ZIELIŃSKA, T. BUCHWALD, A. VOELKEL

*Zeolite fillers for resin-based composites with remineralizing potential*

Spectrochimica Acta Part A 210 (2019) 126–135

IF2019: **2,848**; MEiN: **140**; Liczba cytowań: 16

**H13.** M. SANDOMIERSKI, T. BUCHWALD, A. VOELKEL

*The possibility of the polyurethane layer attachment to the unmodified and diazonium-modified titanium alloy applied as potential biomaterial*

Surface & Coatings Technology 385 (2020) 125389

IF2020: **3,958**; MEiN: **100**; Liczba cytowań: 7

**H14.** M. SANDOMIERSKI, T. BUCHWALD, A. PATALAS, A. VOELKEL

*Improving the abrasion resistance of Ti6Al4V alloy by modifying its surface with a diazonium salt and attaching of polyurethane*

Scientific Reports 10 (2020) 19289

IF2020: **5,134**; MEiN: **140**; Liczba cytowań: 7

**H15.** M. ZIELIŃSKA, E. CHMIELEWSKA, T. BUCHWALD, A. VOELKEL, P. KAFARSKI

*Determination of bisphosphonates anti-resorptive properties based on three various forms of ceramic materials: sorption and release process evaluation*

Journal of Pharmaceutical Analysis 11 (2021) 364–373

IF2021: **10,493**; MEiN: **140**; Liczba cytowań: 3

**H16.** T. BUCHWALD, Z. BUCHWALD, A. DAKTERA-MICKER

*The fluorescence background in Raman spectra of sound enamel*

Vibrational Spectroscopy 115 (2021) 103275

IF2021: **2,522**; MEiN: **40**; Liczba cytowań: 4

---

SUMA: IF: **59,642**; MEiN do 2018: **265**; MEiN od 2019 : **690**; CYTOWAŃ (wg. SCOPUS): **178**

ŚREDNIA (na artykuł): IF: **3,728**; MEiN do 2018: **29,4**; MEiN po 2019: **98,6**; CYTOW.: **11,125**



### 5.3. WPROWADZENIE

W rozprawie doktorskiej pt. „*Metoda spektroskopii Ramana w badaniach materiałów biologicznych na przykładzie ludzkiej tkanki kostnej*” opisałem wyniki badań przedstawiające skuteczność spektroskopii Ramana w ocenie struktury tkanki kostnej. Badania wykazały, że metoda może być w przyszłości wykorzystywana w roli narzędzia diagnostycznego chorób kości, m.in. osteoartrozy. Stopień doktora uzyskałem w czerwcu 2014 roku. Przed obroną dokorską rozpocząłem prowadzenie badań w nowym kierunku. W tym celu nawiązałem współpracę z naukowcami z Instytutu Technologii i Inżynierii Chemicznej Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej. W lutym 2014 roku, przed uzyskaniem stopnia doktora, ukazała się praca **H1** przedstawiająca wyniki z zakresu nowo podjętej tematyki badawczej, uzyskane w ramach wyżej wymienionej współpracy. Ponadto, w 2013 roku złożyłem wniosek do Narodowego Centrum Nauki o grant powiązany z realizacją nowej tematyki. Na realizację projektu pt. „*Ocena skuteczności metody mikrospektroskopii Ramana w analizie przebudowy struktury szkliwa ludzkich zębów we wczesnym stadium próchnicy*” otrzymałem trzyletnie finansowanie badań w ramach konkursu Preludium 5, już po uzyskaniu stopnia doktora.

Cykl publikacji, który wskazałem jako główne osiągnięcie naukowe w postępowaniu habilitacyjnym, stanowi efekt wieloletnich badań realizowanych w ramach współpracy z Instytutem Technologii i Inżynierii Chemicznej Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej oraz Uniwersytetem Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Wyniki badań są rezultatem pracy interdyscyplinarnego zespołu i dotyczą uzyskiwania nowych biomateriałów o potencjalnym zastosowaniu w medycynie, w szczególności zastępujących, odbudowujących lub leczących tkanki twarde kości i zębów (prace **H1-H5, H7, H9, H11-H15**). Niezwykle istotnym elementem badań nad nowymi materiałami było określenie ich właściwości, które były porównywane z właściwościami materiałów obecnie wykorzystywanych w medycynie. W badaniach materiałów wykorzystałem spektroskopię Ramana. Ponadto, prowadziłem badania, w których głównym celem było sprawdzenie skuteczności spektroskopii Ramana w detekcji wczesnej próchnicy zębów (prace **H6, H8, H10, H16**).

W poniższym opisie prac przedstawiłem główne cele prowadzonych badań i najważniejsze osiągnięcia naukowe uzyskane podczas ich realizacji przez cały zespół. Opisałem również szczegółowo cele i osiągnięcia, zrealizowane osobiście w ramach mojej części wyżej wymienionych badań. Ogólny podział badań był następujący: współautorzy prac z Instytutu Technologii i Inżynierii Chemicznej zajmowali się uzyskiwaniem, modyfikacją biomateriałów oraz oceną ich właściwości z wykorzystaniem metod innych niż spektroskopia Ramana, z kolei współautorzy z Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu zajmowali się pozyskiwaniem, przygotowaniem do badań i oceną wizualną zębów ludzkich i bydłych. Głównym obszarem prowadzonych przeze mnie osobiście badań było szerokie i innowacyjne zastosowanie mikrospektroskopii Ramana w ocenie właściwości biomateriałów, zaproponowanie metod analizy, w tym nowych podejść eksperymentalnych, uzyskanie istotnych informacji nt. materiałów, które umożliwiły wskazanie dalszego kierunku badań i modyfikacji, porównanie właściwości otrzymywanych materiałów z komercyjnie dostępnymi. O istotnym znaczeniu zastosowania spektroskopii Ramana w realizowanych badaniach świadczą m.in prace **H9, H11** i **H12**, które zostały opublikowane w czasopiśmie spektroskopowych (*Spectrochimica Acta Part A* i *Journal of Raman Spectroscopy*), pomimo tego, że pierwotnym głównym celem badań było wytworzenie lub modyfikacja biomateriałów.

Cechą wspólną prac jest badanie nowych lub modyfikowanych biomateriałów o potencjalnym zastosowaniu w medycynie (ortopedia, stomatologia) oraz biomateriałów

pochodzenia naturalnego (zęby ludzkie i bydlęce). We wszystkich opisywanych pracach główną metodą badawczą była zastosowana przeze mnie mikrospektroskopia Ramana. Ze względu na postawione cele badawcze, prace **H1-H16** podzieliłem na cztery grupy. Nie opisałem prac zgodnie z chronologią ukazania się w czasopiśmie, a zgodnie z przydzieleniem do tematów powiązanych z głównymi celami badawczymi. Tematy badań oraz podział prac są następujące:

*Temat 1.* Charakterystyka spektroskopowa biomateriałów o potencjalnym zastosowaniu stomatologicznym oraz twardych tkanek zębów (prace **H1-H4, H7, H12**),

*Temat 2.* Charakterystyka spektroskopowa modyfikowanej powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V o potencjalnym zastosowaniu w endoprotezach (prace **H9, H13, H14**),

*Temat 3.* Charakterystyka spektroskopowa materiałów symulujących tkankę kostną oraz nowych związków antyresorpcyjnych kości (prace **H5, H11, H15**),

*Temat 4.* Określenie skuteczności spektroskopii Ramana w diagnostyce próchnicy zębów (prace **H6, H8, H10, H16**).

#### **5.4. MOTYWACJE I CELE NAUKOWE**

Ludzkość coraz częściej dotykają choroby związane ze stylem życia i rozwojem społecznym. Choroby wpływające na strukturę tkanek twardych (kości i zębów) są najczęściej określane mianem chorób cywilizacyjnych. Przykładem takich chorób są osteoporoza i osteoartroza. Obserwowany wzrost liczby osób dotkniętych chorobami kości spowodowany jest tym, iż żyjemy wygodniej, prowadzimy mało ruchliwy tryb życia, nieodpowiednio się odżywiamy, spożywamy alkohol, kawę, papierosy, jesteśmy przy tym narażeni na zwiększone obciążenia mechaniczne z powodu nadwagi. Obserwowane jest wydłużenie średniego czasu życia ludzi, któremu towarzyszy z kolei wzrost częstotliwości występowania problemu społecznego, jakim są choroby kości obejmujące coraz większą część populacji. W ostatnich latach rosnąca świadomość społeczeństwa objawia się wzrostem aktywności fizycznej osób starszych i z nadwagą. To z kolei prowadzi do przeciążeń stawów i kości, a co za tym idzie do ich uszkodzeń. W efekcie, najczęściej przeprowadzane jest leczenie operacyjne powiązane ze wstawieniem endoprotezy kości.

Stosowane endoprotezy ze stopów tytanu nie są jednak pozbawione wad. Wraz z wydłużającym się czasem użytkowania ulegają uszkodzeniom i znacznemu zużyciu. Może również dojść do obłuzowania połączeń implantu z tkanką kostną. W konsekwencji endoprotezy wymagają wymiany. Endoprotezoplastyka rewizyjna jest zabiegiem trudniejszym i obciążonym większym ryzykiem powikłań niż zabieg pierwotny, zwłaszcza, że najczęściej dotyczy osób w podeszłym wieku. W związku z tym, poszukiwane są nowe sposoby modyfikacji powierzchni stopów tytanu, które poprawią właściwości użytkowe protez (np. odporność na ścieranie) i spowodują wydłużenie czasu stosowania takich implantów w organizmie.

Zauważalny wzrost liczby osób cierpiących na osteoporozę to kolejny problem współczesnej medycyny. W celu zahamowania choroby stosowane są leki antyresorpcyjne kości, głównie bisfosfoniany. Niestety obecnie stosowane leki wywołują wiele skutków ubocznych, stanowiących znaczące obciążenie dla organizmu. Istotne jest poszukiwanie nowych leków, które będą dobrymi inhibitorami resorpcji kości, a równocześnie będą pozbawione działań niepożądanych.

Kolejną chorobą cywilizacyjną dotykającą tkanki twarde człowieka jest próchnica zębów. Choroba ta w głównej mierze jest skutkiem spożywania słodkich, lepkich pokarmów i napojów przy niezachowaniu odpowiedniej higieny jamy ustnej. Coraz częściej cierpią na nią już kilkuletnie dzieci. Pomimo wzrastającej świadomości społeczeństwa na temat zdrowia jamy

ustnej oraz zintensyfikowanej profilaktyce stomatologicznej, nadal dotyka praktycznie każdego człowieka w społeczeństwach wysokorozwiniętych, jak i rozwijających się. W konsekwencji prowadzi nie tylko do utraty zębów, ale może być również przyczyną innych chorób. W stanie zaawansowanym staje się źródłem zakażenia całego organizmu, mogąc wywołać stan zapalny w odległych od jamy ustnej miejscach, np. w obrębie płuc, stawów, nerwu wzrokowego, nerek czy zatok. Powszechność próchnicy zębów wymusza podjęcie badań, których wyniki przyczynią się do zmniejszenia liczby osób chorujących. W tym celu możliwe jest podjęcie dwóch kierunków działań. Pierwszy to zwiększenie skuteczności detekcji próchnicy, a drugi to stworzenie nowych biomateriałów zastępujących tkanki zębów (wypełnienia stomatologiczne), które będą zapobiegać tworzeniu próchnicy wtórej m.in. poprzez właściwości remineralizacyjne. Zwiększona skuteczność detekcji próchnicy spowoduje, że choroba diagnozowana będzie na bardzo wczesnym etapie, na którym proces demineralizacji szkliwa można zatrzymać, a nawet odwrócić poprzez remineralizację.

Wspólnym celem badań wszystkich prac ujętych w cyklu publikacji jest poprawa jakości życia człowieka poprzez poszukiwanie nowych, skuteczniejszych metod diagnostycznych oraz nowych materiałów wykazujących lepsze właściwości niż obecnie wykorzystywane. Niezwykle istotnym etapem w wytwarzaniu nowych biomateriałów jest określenie ich właściwości, wskazujących na potencjalne zastosowanie w medycynie. W tym celu we wszystkich przeprowadzanych badaniach zastosowano metodę mikrospektroskopii Ramana. W każdej omawianej pracy postawiony został indywidualny problem badawczy, a wyniki, jak i wnioski uzyskane z wykorzystaniem tej metody, stanowiły propozycję jego rozwiązania.

## 5.5. OPIS OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

Poszukiwanie nowych materiałów wiąże się z określeniem ich właściwości oraz porównaniem z materiałami obecnie stosowanymi w medycynie. W ocenie właściwości oraz możliwości modyfikacji materiałów wykorzystałem mikrospektroskopię Ramana. Spektroskop Ramana połączony z mikroskopem umożliwia określenie budowy badanych materiałów na poziomie mikrostrukturalnym. Metoda ta pozwala wyznaczyć nie tylko skład materiału, ale również jego strukturę. Dobierając odpowiednie warunki pomiarowe, spektroskopia Ramana nie wpływa na materiał, nie zmienia jego budowy. To z kolei pozwala na wielokrotne badanie materiału, również innymi technikami. Taki pomiar ma istotne znaczenie w przypadku badań materiałów organicznych, których strukturę łatwo zmienić, również zniszczyć. W opisywanych badaniach wykorzystywano między innymi materiał pochodzenia zwierzęcego i ludzkiego, tj. zęby. Tkanki te z jednej strony są trwałe (szkliwo), podczas gdy z drugiej strony posiadają na powierzchni warstwę organiczną, szczególnie istotną w detekcji próchnicy, która może ulec zniszczeniu w trakcie pomiaru. Duże wyzwanie stanowił również pomiar widm rozpraszania Ramana związków diazoniowych na powierzchni stopu tytanu. Związki te ulegały zniszczeniu w wyniku silnej absorpcji światła, nawet przy zastosowaniu niewielkiej mocy wiązki lasera. W związku z powyższym analiza każdego materiału poprzedzona była zoptymalizowaniem warunków pomiarowych, które umożliwiły pozyskanie widm „dobrej” jakości, przy braku wpływu wiązki lasera na strukturę. Kolejną zaletą metody była możliwość wyznaczania właściwości poprzez zastosowanie mapowania. Mapy ramanowskie pozwalają określić zmiany badanego materiału na jego powierzchni oraz w głąb. Miało to istotne znaczenie w badaniu kompozytów stomatologicznych, wskazując rozmieszczenie poszczególnych składników, a jeszcze większe w przypadku oceny skuteczności metody w diagnostyce próchnicy. Równie

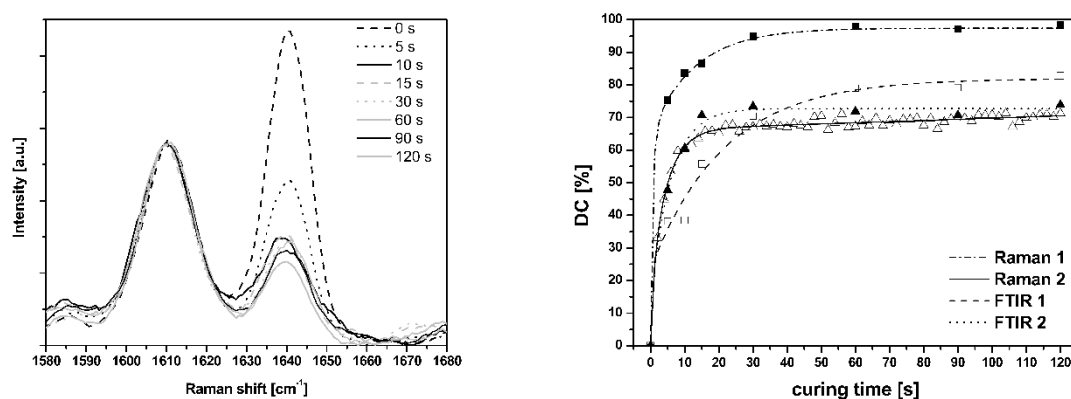
dobrym narzędziem badawczym okazała się spektroskopia Ramana w ocenie stopnia konwersji monomerów, osiąganego w trakcie procesu polimeryzacji kompozytów stomatologicznych.

#### 5.5.1 Charakterystyka spektroskopowa biomateriałów o potencjalnym zastosowaniu stomatologicznym oraz twardych tkanek zębów.

Prace **H1-H4**, **H7**, **H12** powstały w ramach współpracy z Instytutem Technologii i Inżynierii Chemicznej Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej oraz z Katedrą Stomatologii Zachowawczej, Endodoncji i Biomateriałów Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Badania, których wyniki przedstawiono w pracach **H1**, **H2**, **H4** finansowano ze środków Narodowego Centrum Nauki (grant badawczy nr 2012/05/ST8/03575, tytuł projektu: *Nowe kompozyty organiczno-nieorganiczne - otrzymywanie oraz charakterystyka*). Badania, których wyniki przedstawiono w pracach **H3** i **H7** finansowano ze środków Narodowego Centrum Nauki (grant badawczy nr 2013/11/B/ST8/04415, tytuł projektu: *Oznaczanie aktywności powierzchniowej oraz pracy adhezji pomiędzy szkliwem i zębina zębów bydłęcych a wypełnieniami stomatologicznymi*). W obu wyżej wymienionych projektach pełniłem rolę wykonawcy.

Jednym z istotnych parametrów, determinujących użyteczność utwardzalnych w procesie fotopolimeryzacji kompozytów stomatologicznych na bazie żywic dimetakrylowych, jest stopień konwersji (DC – ang. *degree of conversion*) [1,2]. Wartość DC określa stopień przereagowania grup funkcyjnych monomerów ulegających polimeryzacji. Im wyższa jego wartość, tym kompozyt staje się twardszy i bardziej wytrzymały. Wypełnienia stomatologiczne powinny charakteryzować się wysokim DC, a zarazem niewielkim skurczem polimeryzacyjnym [2]. Wartość DC spada wraz z głębokością materiału w kierunku od powierzchni naświetlanej, jednak pożądane jest, aby zmiany te były jak najmniejsze. Metodami, które umożliwiają określenie DC kompozytów polimerowych są między innymi spektroskopia absorpcyjna w podczerwieni i spektroskopia Ramana [3-10]. W obu przypadkach oceniane są zmiany intensywności pasma związanego z drganiami wiązań alifatycznych C=C w związkach dimetakrylowych ( $I_{C=C_{meth}}$ ), przed i po procesie polimeryzacji. Zmniejszenie intensywności tego pasma wskazuje na konwersję monomerów w polimer. W pracy **H1** po raz pierwszy dokonałem porównania wartości DC materiału eksperymentalnego na podstawie analizy widm FTIR i widm Ramana. Ponadto, dokonałem oceny zmian wartości tego parametru w zależności od czasu i sposobu naświetlania próbki. Uzyskane wyniki porównałem z wartościami DC materiałów komercyjnych. Poprzez zastosowanie mapowania powierzchni kompozytu określiłem zmiany DC na powierzchni utwardzonych materiałów. Na ostatnim etapie badań uzyskałem informację o rozmieszczeniu napełniacza w kompozycie, również z zastosowaniem mapowania ramanowskiego. Materiał eksperymentalny stanowił kompozyt na bazie hydroksyapatytu oraz żywic metakrylowych. Pierwszą grupę kompozytów naświetlano w sposób ciągły (*Raman 1*). Drugą grupę kompozytów naświetlano w sposób przerywany, co 2 s do osiągnięcia sumarycznego założonego czasu naświetlania (*Raman 2*). W trakcie fotopolimeryzacji materiał znajdował się bezpośrednio pod obiektywem mikroskopu Ramana. W przerwie od naświetlenia dokonywałem pomiarów widm Ramana. W badaniach z wykorzystaniem spektroskopii FTIR uzyskiwano DC kompozytów z powierzchni proszków uprzednio utwardzonych i rozdrobnionych w moździerzu (*FTIR 1*) oraz bez rozdrabniania, bezpośrednio z utwardzanej powierzchni kompozytu (*FTIR 2*). W obu przypadkach próbki naświetlano w sposób ciągły.

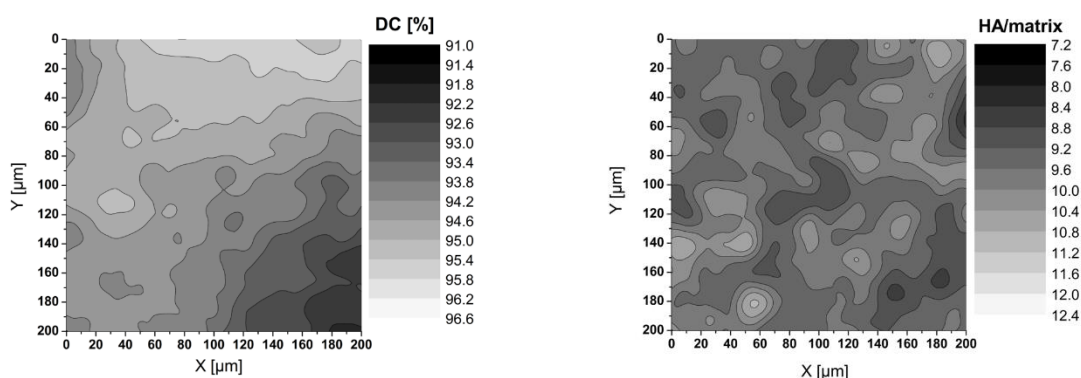
Obie wykorzystane metody spektroskopowe (spektroskopia Ramana i spektroskopia FTIR) doprowadziły do wyznaczenia DC badanego materiału. Na Rys.1 przedstawiłem wąski zakres widma Ramana badanych kompozytów poddanych procesowi polimeryzacji w różnym czasie. Intensywność pasma zmniejszała się wraz z wydłużeniem czasu naświetlania. Analogiczne wyniki uzyskano za pomocą spektroskopii FTIR. Na Rys. 1 można także zaobserwować zmiany wartości DC w zależności od czasu naświetlania. Zauważyć można, iż w pierwszych sekundach naświetlania wartość DC szybko wzrasta, po czym między 15 a 30 s następuje zahamowanie dynamiki procesu i wzrost DC jest już niewielki. Taki wynik uzyskałem niezależnie od techniki pomiarowej, sposobu naświetlania (ciągły lub przerywany) oraz postaci kompozytu (rozdrobiony lub w postaci nienaruszonej). Zaobserwowałem natomiast istotne różnice w wartościach maksymalnych DC. Maksymalna wartość DC zaobserwowana w analizie widma Ramana dla próbek naświetlanych w czasie ciągłym (*Raman 1*) jest większa od wartości DC dla próbek naświetlanych z przerwami (*Raman 2*). Również wyniki uzyskane w analizie metodą spektroskopii FTIR wskazują mniejszą wartość maksymalną DC w porównaniu z wynikami DC uzyskanymi metodą spektroskopii Ramana. Warto zauważyć, że odchylenia standardowe wyników uzyskanych na podstawie widm FTIR są znacznie wyższe niż te uzyskane na podstawie widm Ramana (Tabela 3 przedstawiona w pracy **H1**). Oznacza to, iż wyniki uzyskane z wykorzystaniem spektroskopii FTIR są mniej dokładne, wykazują większy rozrzut niż uzyskane z pomocą spektroskopii Ramana. Zgodnie z powyższym, obie techniki mogą być wykorzystywane do oceny optymalnego czasu naświetlania tego typu kompozytów, jednak wyznaczenie wartości maksymalnej DC oraz wartości DC przy optymalnym czasie naświetlania jest skuteczniejsze i dokładniejsze z wykorzystaniem spektroskopii Ramana. Wartości DC badanego materiału są wyższe lub porównywalne z wartościami DC materiałów komercyjnych lub innych materiałów eksperymentalnych [11-13]. Jednak zaznaczyć należy, iż wobec zaobserwowanych znacznych różnic wartości w zależności od stosowanej metodyki badawczej, właściwym sposobem postępowania jest każdorazowe porównywanie wyników DC uzyskanych dla próbek tej samej postaci, naświetlanych w ten sam sposób i badanych tą samą metodą spektroskopową.



Rys. 1 Widma Ramana badanych materiałów w różnym czasie utwardzania (lewa strona). Zmiany wartości stopnia konwersji w zależności od czasu utwardzania (prawa strona) [**H1**].

W pracy **H1** po raz pierwszy wykorzystałem mapowanie ramanowskie w celu analizy zmian DC na powierzchni kompozytu o potencjalnym zastosowaniu stomatologicznym (Rys. 2). Zaobserwowaliśmy brak znaczących zmian wartości DC na badanej powierzchni (91-97%). Ponadto, stwierdziliśmy, iż nawet najmniejsze oznaczone wartości DC (91%) są na tyle wysokie,

że badany kompozyt wykazuje potencjał w zastosowaniach stomatologicznych w roli wypełnienia twardych tkanek zębów. W cytowanej pracy **H1** udowodniłem również, że technika ramanowska znajduje także zastosowanie w ocenie rozmieszczenia napełniacza w kompozycie (Rys. 2). Wykonanie analizy poprzedziłem doбором odpowiedniego kroku pomiaru widm (mniejszego od średniej wielkości cząstek hydroksyapatytu, która wynosiła 13  $\mu\text{m}$ ). W związku z tym, dobrałem krok pomiaru równy 2 i 5  $\mu\text{m}$  (przeanalizowałem dwie mapy o powierzchniach odpowiednio 100 x 100 oraz 200 x 200  $\mu\text{m}$ , a wyniki uzyskane z obu obszarów były spójne). Zauważyć można, iż hydroksyapatyt występuje w każdym miejscu badanego materiału, jednak jego rozmieszczenie nie jest wysoce równomierne, cechuje się pewnym stopniem heterogeniczności, świadczącym zapewne o pewnej tendencji napełniacza do aglomeracji.

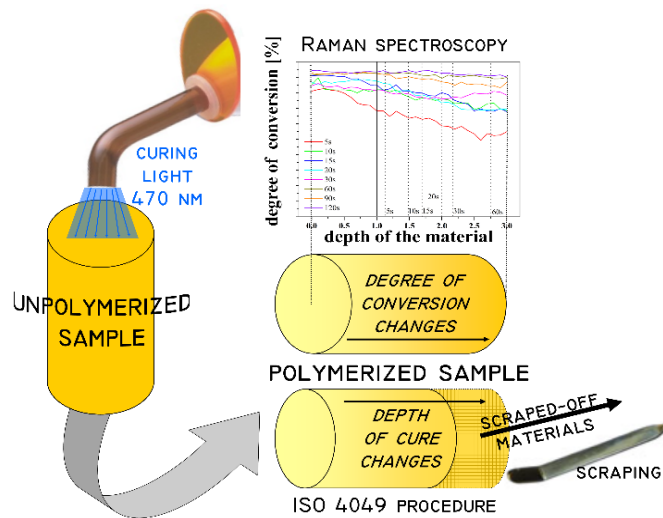


Rys. 2. Zmiany wartości stopnia konwersji (lewa strona) i rozmieszczenie napełniacza (prawa strona) na powierzchni kompozytu [H1].

Podsumowując, praca **H1**, oparta w głównej mierze na przeprowadzonej przeze mnie szczegółowej analizie spektroskopowej, przyczyniła się do określenia potencjalnej przydatności nowego eksperymentalnego kompozytu stomatologicznego oraz opracowania procedury badawczej mającej na celu oznaczenie stopnia konwersji światłoutwardzalnych kompozytów metodami spektroskopowymi. W pracy tej wykazałem, że na uzyskaną wartość stopnia konwersji istotnie wpływa wybór procedury badawczej. W związku z tym, nie należy bezkrytycznie porównywać wyników badań różnych materiałów eksperymentalnych bez uwzględnienia sposobu naświetlania próbki oraz wyboru metody pomiarowej.

Głębokość utwardzania (DOC – ang. *depth of cure*) jest kolejnym istotnym parametrem kompozytów dentystycznych, wpływającym na właściwości mechaniczne materiału [14]. Norma ISO 4049 pt. „*Stomatologia – Materiały polimerowe do odbudowy*” (ang. *Dentistry – Polymer-based restorative materials*) określa procedurę oceny głębokości utwardzania oraz minimalną wartość DOC dla materiałów eksperymentalnych wprowadzanych na rynek [15]. Procedura ta wydaje się być wrażliwa na błąd spowodowany czynnikiem ludzkim oraz znacznym stopniem subiektywności, ponieważ polega na ręcznym usuwaniu nieutwardzonej części kompozytu po przeprowadzeniu procesu fotopolimeryzacji. Materiał naświetlany jest z jednej strony, a usuwana część nieutwardzona znajduje się po stronie przeciwnej do naświetlanej. Grubość pozostałej, nieusuniętej części, wyznaczana mikromierzem, pozwala oszacować głębokość utwardzania kompozytu (poprzez podzielenie uzyskanego wyniku przez 2). Metoda ta jest mało precyzyjna, a uzyskany wynik zależy od siły oraz sposobu usuwania nieutwardzonej części materiału. W związku z powyższym zaproponowano, aby głębokość utwardzania wyznaczać pośrednio, na podstawie wartości DC uzyskanych metodą spektroskopii Ramana. Założono, iż wyższa wartość DC koresponduje z wyższą wartością DOC.

W pracy H2 wyznaczono DOC pięciu badanych materiałów (dwa materiały komercyjne: Charisma oraz Riva Light Cure oraz trzy materiały eksperymentalne na bazie żywic metakrylowych i bioszkle (BG), hydroksyapatytu (HA) oraz fosforanu trójwapniowego (TCP)) zgodnie z procedurą opisaną w normie ISO 4049. Po raz pierwszy podjęto próbę oceny wpływu warunków przeprowadzenia testu na uzyskaną wartość DOC. Dla każdego materiału wykonano po dwa testy przeprowadzone przez dwóch niezależnych eksperymentatorów.

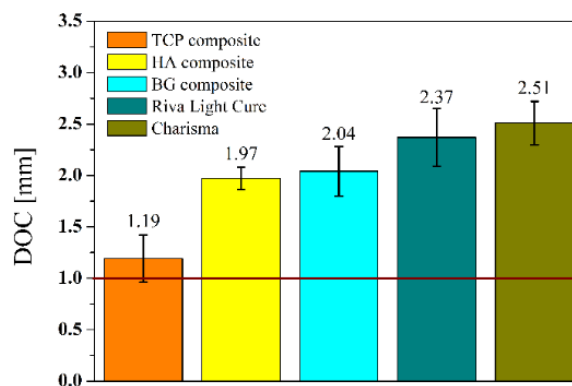


Rys. 3. Procedura badania materiałów [H2].

Badane materiały utwardzono w ośmiu różnych czasach naświetlania. Przeprowadzony eksperyment potwierdził występowanie znacznej subiektywności procedury badawczej. Na 40 analizowanych układów (materiał x czas utwardzania), aż w 24 przypadkach zaobserwowano różnicę istotną statystycznie w wyznaczonych wartościach DOC, w zależności od eksperymentatora. Uzasadnia to podjęcie poszukiwań nowej, bardziej precyzyjnej metody badawczej. W tym celu w eksperymencie zastosowałem spektroskopię Ramana. Za pomocą tej metody określiłem wartości DC na różnych głębokościach utwardzanych kompozytów. Materiały utwardzono w tych samych czasach naświetlania. Widma Ramana zarejestrowałem na powierzchni bocznej kompozytów, których górna powierzchnia stanowiła obszar naświetlany lampą polimeryzacyjną. Procedurę badania materiałów przedstawiłem na Rys. 3.

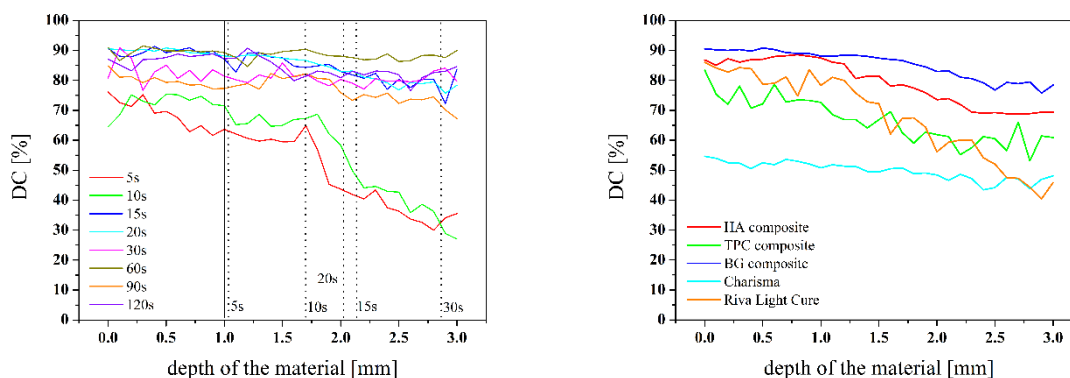
Na Rys. 4 przedstawiono średnie wartości DOC materiałów naświetlanych przez 20 s. Według normy ISO 4049, wartość tego parametru w przypadku materiałów nieprzeziernych nie może być mniejsza niż 1 mm

(granicę tę zaznaczono w postaci linii poziomej na Rys. 4). W porównaniu z materiałami komercyjnymi, wartości DOC materiałów eksperymentalnych okazały się niższe. Jednak wszystkie badane materiały w tym eksperymencie cechują się średnią głębokością utwardzania powyżej wartości minimalnej określonej w normie. Oznacza to, że badane materiały eksperymentalne spełniają kryterium DOC stawiane przez normę ISO 4049, co wskazuje na ich potencjał aplikacyjny.



Rys. 4. Porównanie wartości DOC badanych materiałów po 20 s naświetlania (obliczone na podstawie testów przeprowadzonych przez dwóch niezależnych eksperymentatorów) [H2].

Wartości DC uzyskane za pomocą spektroskopii Ramana dla wszystkich badanych materiałów zgodnie z oczekiwaniem zmniejszają się wraz z odległością od powierzchni naświetlanej. Wyniki uzyskane dla jednego z eksperymentalnych kompozytów, zawierającego HA, przedstawiłem na Rys. 5. Szczegółowe wyniki dla pozostałych materiałów zaprezentowałem w pracy **H2**. Zależność DC od głębokości materiału jest różna w zależności od zastosowanego czasu polimeryzacji. Istotnie różny przebieg zmian można zaobserwować dla próbek naświetlanych przez 5 i 10 s w stosunku do próbek naświetlanych dłużej (15 s i więcej). W przypadku próbek naświetlanych przez 15 i więcej sekund, zmiany DC wraz z głębokością materiału są mniej wyraźne, łagodniejsze, co wynika z wysokiego stopnia przereagowania materiału po przekroczeniu 15 s naświetlania. Na Rys. 5 przedstawiłem także zmiany wartości DC wraz z głębokością wszystkich badanych materiałów (czas polimeryzacji 20 s). Najwyższe wartości DC otrzymano na powierzchni materiału eksperymentalnego zawierającego bioszko (BG), najmniejsze natomiast na powierzchni materiału komercyjnego Charisma. Oba wymienione materiały cechują się najbardziej stabilnym przebiegiem zmian wartości DC wraz z głębokością.



Rys. 5. Zmiany wartości DC w głąb materiału uzyskane w zależności od czasu naświetlania dla kompozytu zawierającego HA (lewa strona); linie pionowe oznaczają określone wartości DOC (linia ciągła to minimalna wartość DOC zdefiniowana przez ISO 4049, linie przerywane to średnie wartości DOC oznaczone po określonym czasie naświetlania). Porównanie zmian wartości DC w głąb badanych materiałów po 20 s naświetlania (prawa strona) [**H2**].

Wszystkie uzyskane wyniki dowodzą, że wzrost wartości DOC i DC skorelowany jest dodatnio z czasem naświetlania. Oznacza to również, że wyższym wartościom DOC towarzyszą wyższe wartości DC dla danego materiału. Wartości DC zaobserwowane na oznaczonych głębokościach utwardzania (DOC) wykazują silną zależność od rodzaju badanego materiału. Również zmiana (spadek) wartości DC pomiędzy naświetlaną powierzchnią i głębokością DOC zależy od rodzaju badanego materiału. W związku z tym nie jest możliwe wskazanie uniwersalnej, granicznej wartości DC lub zmiany wartości DC, która wskazywałaby granicę, poniżej której materiały można uznać za nieutwardzone, a tym samym pośrednio wyznaczyć wartość DOC. Możliwe jest jednak wykonanie takiego oznaczenia dla danego materiału, poprzez porównanie z wartością DOC. Uzyskane wyniki dowodzą także, że pomimo znacznej subiektywności procedury opisanej w ISO 4049, wszystkim oznaczonym wartościom DOC uzyskanym po 20 s naświetlania, towarzyszą wysokie wartości DC oznaczone metodą spektroskopii Ramana.

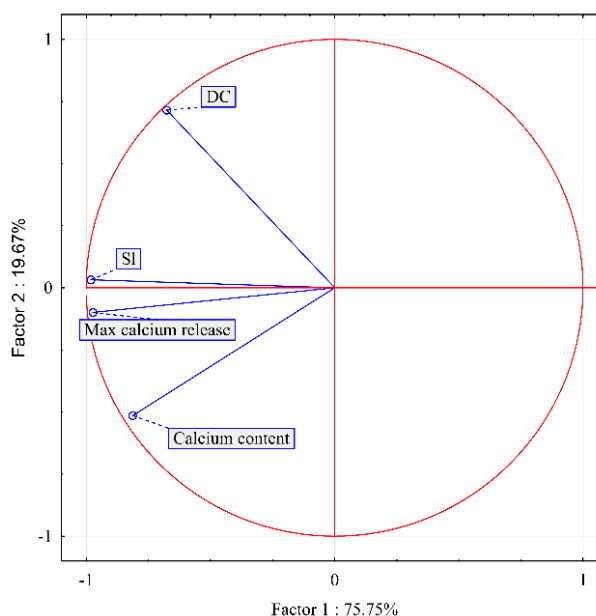
Podsumowując, praca **H2**, oparta w znacznej części na przeprowadzonej przeze mnie szczegółowej analizie spektroskopowej, przyczyniła się do określenia potencjalnej przydatności



nowych eksperymentalnych kompozytów stomatologicznych, znalezienia współzależności pomiędzy wartościami głębokości utwardzania i stopnia konwersji oznaczonego w głąb materiału, a także opracowania procedury badawczej mającej na celu oznaczenie stopnia konwersji w głąb światłoutwardzalnych kompozytów metodą spektroskopii Ramana.

W procesie próchnicotwórczym struktura hydroksyapatytu szkliwa może zostać zniszczona przez działanie kwasów. Wapń, fosforany oraz fluor dostarczane ze źródeł zewnętrznych do środowiska jamy ustnej człowieka są w stanie odbudować tę strukturę [16]. W związku z tym, fosforany wapnia, a szczególnie hydroksyapatyt (główny składnik mineralny szkliwa i zębiny), stanowią szczególnie interesującą grupę potencjalnych napełniaczy do zastosowań w kompozytach stomatologicznych. Główną zaletą tych napełniaczy jest zdolność do uwalniania jonów o potencjale kariostatycznym. Jak dotąd jednak, kompozyty tego typu nie zostały wprowadzone do użytku komercyjnego, a materiały eksperymentalne poddawane są intensywnym badaniom. W pracy **H4** określono stopień uwalniania wapnia z 14 eksperymentalnych materiałów dentystycznych, w tym 12 zawierających fosforany wapnia oraz 2 zawierających bioszkle. Skorelowano zdolność do uwalniania jonów wapnia z początkową zawartością tego pierwiastka, rozpuszczalnością kompozytu i stopniem utwardzenia (stopniem konwersji, DC) badanych materiałów. Postawiono hipotezę badawczą, iż pomiędzy poziomem uwalniania wapnia oraz stopniem konwersji występuje korelacja negatywna, tj. niższe wartości pierwszego parametru współwystępują z wyższymi wartościami drugiego. Ponadto, dokonano oceny wpływu modyfikacji napełniaczy fosforanowych kwasem metakrylowym na wartości DC. Stopień konwersji DC badanych materiałów wyznaczyłem z wykorzystaniem spektroskopii Ramana stosując procedurę opisaną powyżej. W celu uzyskania informacji o jednorodności procesu utwardzania przedstawiłem wartości DC na powierzchniach materiałów poprzez zastosowanie mapowania ramanowskiego. Mapowanie ramanowskie wykorzystałem również do oceny rozmieszczenia napełniaczy w kompozytach. W trakcie rejestracji map dostosowałem krok pomiaru widm do wielkości cząstek danego napełniacza.

W większości przypadków wartość stopnia konwersji stomatologicznych kompozytów na bazie żywic mieści się w przedziale od 55 do 75% [17]. Niektóre prace wskazują jednak, że materiały o wartościach DC poniżej 55% nie są zalecane do zastosowań klinicznych [18]. W badaniach z wykorzystaniem spektroskopii Ramana wykazałem, że wszystkie spośród badanych materiałów, poza jednym, cechują się wysokim stopniem konwersji, powyżej 55%, co świadczy o spełnieniu tego kryterium zastosowania w roli wypełnień stomatologicznych. Badania realizowane przeze mnie umożliwiły również sprawdzenie korelacji między wielkością cząstek oraz zawartością napełniacza, a wartościami DC. Nie zaobserwowałem zależności między tymi parametrami. Uzyskane wyniki pozwoliły natomiast



Rys. 6. Analiza składowych głównych. Wykres rozkładu zmiennych eksperymentalnych na płaszczyźnie pierwszej i drugiej składowej głównej [H4].

wysnuć wniosek, iż lepkość i gęstość monomerów ma wpływ na wartość DC. Niższe wartości DC kompozytów zaobserwowałem w przypadku zastosowania monomerów o większej lepkości i gęstości, które zmniejszają ruchliwość wolnych rodników w materiale, umożliwiając reakcję mniejszej części miejsc aktywnych. Wykazałem ponadto, że modyfikacja cząstek napełniaczy kwasem metakrylowym, która miała na celu uzyskanie mocniejszego połączenia i lepszej mieszalności składników łączonych, zapewnia wyższe wartości DC. W badaniach spektroskopowych potwierdziłem jednorodność wartości DC na powierzchniach kompozytów. Analiza składowych głównych (Rys. 6) wskazała na brak korelacji między wartościami DC, a pozostałymi parametrami badanych materiałów tj. początkową zawartością wapnia, maksymalną ilością uwalnianego wapnia oraz rozpuszczalnością (świadczy o tym prostopadłe lub prawie prostopadłe wzajemne ułożenie znaczników DC i pozostałych parametrów). Stwierdziłem tym samym, że stopień konwersji nie wpływa na zdolność badanych kompozytów do uwalniania jonów wapnia. Należy jednak zaznaczyć, że ustalenia te są prawdziwe tylko dla materiałów, które zostały przebadane.

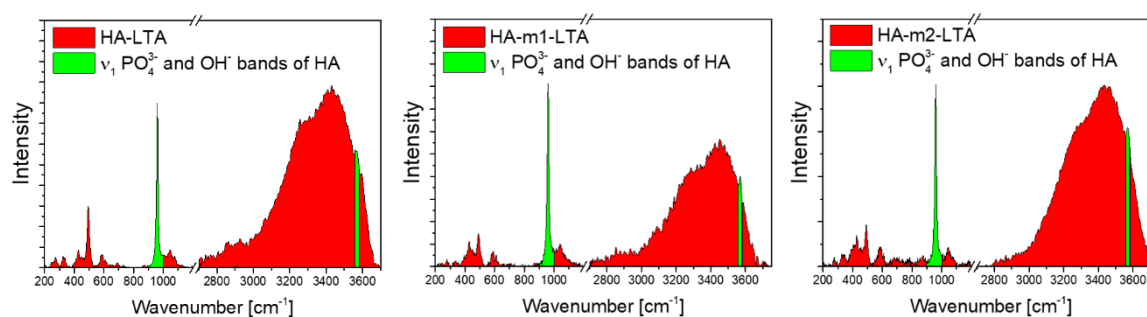
Za pomocą mapowania ramanowskiego wykazałem, iż rozkład cząstek napełniaczy w matrycy polimerowej jest względnie jednorodny w przypadku wszystkich badanych materiałów. Potwierdza to również jednorodność rozkładu wartości DC na badanych powierzchniach, która zależy od wielu czynników, w tym od obecności napełniacza. W niektórych obszarach zaobserwowałem agregację napełniaczy w matrycy organicznej. Jednakże zauważyłem, że nawet jeśli dochodzi do pewnej agregacji napełniacza, to „skupiska” te są równomiernie rozmieszczone na powierzchniach kompozytów. Wydaje się również, że kompozyty „hybrydowe” zawierające dwa różne napełniacze cechują się ich równomiernym wymieszaniem. Ponadto wykazałem, że obróbka powierzchni napełniacza kwasem metakrylowym nie zmienia rozkładu napełniacza w matrycy polimerowej (impregnacja nie powoduje aglomeracji). Wyniki dowodzą, że spektroskopia Ramana jest dobrym narzędziem do oceny dystrybucji DC i napełniacza w kompozytach stomatologicznych.

Podsumowując, dzięki wykorzystaniu spektroskopii Ramana w pracy **H4** przyczyniłem się do określenia istotnych właściwości oraz zbadania występowania potencjalnych korelacji pomiędzy wybranymi właściwościami obiecujących eksperymentalnych materiałów kompozytowych, wykazując ich znaczny potencjał w zastosowaniach stomatologicznych.

Jak wspomniano wcześniej, zastosowanie kompozytów dentystycznych zawierających napełniacze o właściwościach remineralizacyjnych, może stanowić interesującą alternatywę dla konwencjonalnych materiałów odtwórczych. Ponadto, połączenie dwóch lub więcej napełniaczy z tej grupy może wykazywać efekt synergistyczny poprzez zwiększenie potencjału remineralizacyjnego ze względu na wielokrotną obecność jonów odpowiedzialnych za ten proces (np. jonów wapnia). W pracy **H12** dokonano syntezy oraz modyfikacji zeolitów, o potencjalnym zastosowaniu w roli aktywnych napełniaczy w kompozytach stomatologicznych, charakteryzujących się właściwościami remineralizacyjnymi. Zdolność zeolitów do wymiany jonowej umożliwia wbudowanie kationów wapnia w ich strukturę. W badaniach uzyskano zeolity typu A (LTA), a także mezoporowate zeolity typu A przy użyciu sfunkcjonalizowanej krzemionki (m1-LTA) i bromku heksadecylotrimetyloamoniowego (m2-LTA). Następnie, uzyskane materiały poddano wymianie jonowej w celu uzyskania form wapniowych (Ca-LTA, Ca-m1-LTA, Ca-m2-LTA). W ostatnim etapie syntezy na powierzchniach wapniowych zeolitów zmineralizowano hydroksyapatyt (HA-LTA, HA-m1-LTA, HA-m2-LTA). Skuteczność wytworzenia warstwy HA na powierzchni zeolitów potwierdziłem za pomocą spektroskopii Ramana. W dalszej części badań wykorzystano otrzymane materiały jako napełniacze w kompozytach na bazie żywic metakrylowych. Przewidywano, że kompozyty

z takimi napełniaczami będą zdolne do uwalniania jonów wapnia. Spektroskopię Ramana wykorzystałem również do oceny jednorodności otrzymanych materiałów poprzez analizę rozmieszczenia napełniacza na powierzchni kompozytów.

O powstaniu nowej zmineralizowanej warstwy na powierzchni zeolitów świadczy obecność pasma w zakresie  $1000\text{--}1050\text{ cm}^{-1}$  w widmie IR. Pasma to związane jest z występowaniem grupy fosforanowej. Jednak obecność tego pasma w widmie IR nie potwierdza obecności hydroksyapatytu. Oznacza jedynie, że na powierzchni badanych zeolitów obecny jest związek zawierający grupy fosforanowe. W związku z tym, występowanie hydroksyapatytu potwierdziłem na podstawie widm ramanowskich uzyskanych z powierzchni HA-LTA, HA-m1-LTA i HA-m2-LTA (Rys. 7). Obecność kryształów apatytu objawia się w widmie Ramana poprzez występowanie pasm odpowiadających grupom fosforanowym występującym w zakresie  $400\text{--}470\text{ cm}^{-1}$  (drżania zginające  $\nu_2$ ),  $550\text{--}650\text{ cm}^{-1}$  (drżania zginające  $\nu_4$ ),  $930\text{--}990\text{ cm}^{-1}$  (drżania rozciągające symetryczne  $\nu_1$ ) i  $1010\text{--}1070\text{ cm}^{-1}$  (drżania rozciągające antysymetryczne  $\nu_3$ ) [19–21]. Analogicznie do widma IR, bardzo szerokie pasmo w zakresie  $2700\text{--}3700\text{ cm}^{-1}$  w widmach ramanowskich przypisuje się drżaniom rozciągającym grup hydroksylowych pochodzących z zaabsorbowanej wody. Jednakże w widmach ramanowskich HA-LTA, HA-m1-LTA i HA-m2-LTA widoczne jest również wąskie pasmo w  $3571\text{ cm}^{-1}$  (zaznaczone kolorem zielonym). Pasma te jest związane z drżaniami grup hydroksylowych pochodzących z hydroksyapatytu [22, 23]. Przekonywającym wskaźnikiem obecności hydroksyapatytu na powierzchni zeolitu było pojedyncze, silne i wąskie pasmo  $\nu_1\text{ PO}_4^{3-}$  występujące w  $961\text{ cm}^{-1}$  (zaznaczone kolorem zielonym) o małej szerokości połówkowej równej  $12\text{ cm}^{-1}$  [19–21]. W przypadku innych minerałów fosforanowych w obszarze tym występują najczęściej dwa pasma [24]. Ponadto, w widmach fosforanów wapniowych różniących się fazami, położenie pasma związanego z drżaniami rozciągającymi symetrycznymi  $\nu_1$  wykazuje nieznaczne różnice [25]. Zastosowanie przeze mnie spektroskopii Ramana w niniejszych badaniach umożliwiło jednoznaczne potwierdzenie skuteczności zmineralizowania warstwy HA na powierzchni zeolitów, co stanowiło nadrzędny cel prowadzonych syntez.



Rys. 7. Widma Ramana zeolitów po mineralizacji hydroksyapatytu [H12].

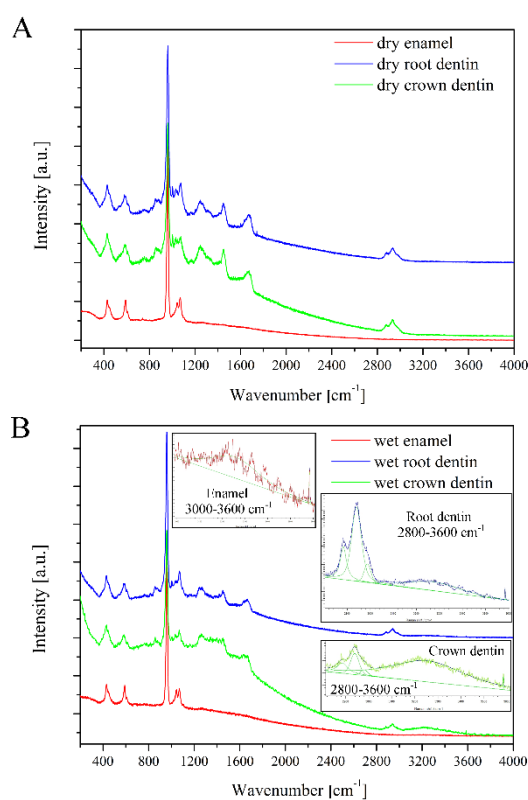
Ze względu na tendencję do aglomeracji cząstek zeolitów po mineralizacji hydroksyapatytu, wykonałem analizę rozkładu napełniacza w kompozytach z zastosowaniem spektroskopii Ramana. W tym celu dokonałem mapowania ramanowskiego na powierzchniach materiałów i przedstawiłem względną zmianę ilości hydroksyapatytu. Analiza map potwierdziła obecność napełniacza w każdym analizowanym punkcie kompozytów. Pomimo tego, że można zaobserwować kilka małych obszarów aglomeracyjnych, potwierdziłem ogólną jednorodność rozkładu napełniacza.

Badane kompozyty zawierające wytworzone napełniacze wykazują działanie remineralizacyjne, rozumiane jako zdolność do uwalniania jonów wapnia, co świadczy o ich potencjale w zastosowaniach stomatologicznych. Przeprowadzone przeze mnie badania

z wykorzystaniem spektroskopu Ramana opisane w pracy **H12** umożliwiły potwierdzenie obecności hydroksyapatytu na powierzchni zeolitów, dowodząc skuteczności przeprowadzonych syntez. Wykazałem tym samym, że spektroskopia Ramana posiada w takiej analizie przewagę nad spektroskopią IR, co świadczy o jej większej użyteczności w badaniach z wykorzystaniem tego minerału. Spektroskopia Ramana znalazła ponownie zastosowanie w analizie właściwości eksperymentalnych kompozytów, przyczyniając się tym samym do potwierdzenia ich potencjału w zastosowaniach stomatologicznych.

Adhezja między twardymi tkankami zęba a wypełnieniami dentystycznymi zależy od energii powierzchniowej obu połączonych materiałów. W pracy **H3** zaproponowano, aby siłę wiązania między tkanką a wypełnieniem określić pośrednio metodą odwróconej chromatografii gazowej (IGC – ang. *Inverse Gas Chromatography*). Energię powierzchniową wyznaczono dla fragmentów zębów (szkliwa, zębiny pobranej z korony zęba i zębiny pobranej z korzenia zęba) kondycjonowanych w warunkach mokrych i suchych. Badaniom poddano zęby bydłce, które ze względu na budowę zbliżoną do zębów ludzkich stanowią cenny zamiennik badawczy. Zaobserwowano zróżnicowane wartości energii powierzchniowej w zależności od rodzaju tkanki zęba (zębina lub szkliwo), miejsca występowania (korona lub korzeń) oraz warunków przechowywania (suche lub mokre). Ważny etap badań realizowanych przeze mnie stanowiło potwierdzenie rodzaju badanej tkanki zęba oraz określenie wpływu sposobu kondycjonowania na strukturę tkanek. W tym celu zastosowałem spektroskopię Ramana.

Na Rys. 8 przedstawiłem widma Ramana badanych tkanek zębów. W pracy szczegółowo opisałem widma badanych tkanek, przyporządkowałem wszystkie widoczne pasma do grup funkcyjnych. W przypadku szkliwa zaobserwowałem pasma związane z grupą fosforanową i węglanową, które występują w budowie hydroksyapatytu [26, 27]. Pasma te są również widoczne w widmie zębiny pochodzącej z korzenia i korony zęba. Widma wszystkich próbek są zdominowane przez pasmo występujące w  $960\text{ cm}^{-1}$ , które związane jest z drganiem rozciągającym symetrycznym. Poza pasmami związanymi z grupą fosforanową i węglanową zaobserwowano wąskie pasmo  $3585\text{ cm}^{-1}$ , które przypisałem grupie hydroksylowej, również występującej w budowie hydroksyapatytu. Związki organiczne, głównie kolagen i inne białka, stanowią około 30% zębiny [28, 29]. Pasma przypisane składnikom organicznym są widoczne tylko w widmach rozpraszania Ramana zębiny (zarówno pochodzącej z korzenia, jak i korony). Nie zaobserwowałem różnic między widmami zębiny w zależności od miejsca pobrania tkanki. Wykazałem natomiast niewielkie różnice związane z występowaniem wody w zależności od



Rys. 8. Widma Ramana suchego i mokrego szkliwa, zębiny pobranej z korony i zębiny pobranej z korzenia zęba [H3].

sposobu kondycjonowania tkanek. W przypadku tkanek mokrych zaobserwowałem szerokie, ale mało intensywne pasmo w obszarze od 3000 do 3600  $\text{cm}^{-1}$ , przypisane grupie hydroksylowej wody.

Wykonane przeze mnie badania pozwoliły potwierdzić strukturę badanych materiałów oraz ich uwodnienie, co miało istotne znaczenie przy porównaniu ich energii powierzchniowej, wyznaczonej metodą IGC. Warto zaznaczyć, iż praca **H3** jest pierwszym opisem badań, w których wykorzystano IGC do oznaczenia energii powierzchniowej twardych tkanek zębów.

W pracy **H7** wykonano badania zmian powierzchniowych tkanek twardych zębów bydlęcych po przygotowaniu powierzchni komercyjnym systemem wiążącym (typu *etch and rinse* – wytrawianie i sfluukiwanie). Podobnie jak w pracy **H3**, wykorzystano IGC do wyznaczenia energii powierzchniowej tkanek, tym razem po przeprowadzeniu kompletnego procesu przygotowania powierzchni tkanek do wypełnienia, tj. wytrawieniu, nałożeniu primera i czynnika wiążącego. Zastosowanie wytrawiacza, primera i czynnika wiążącego powoduje wzrost energii powierzchniowej wszystkich badanych tkanek. Zmiany parametrów powierzchni spowodowane zastosowaniem systemu łączącego są kluczowe z punktu widzenia adhezji materiału odtwórczego do zębiny/szkliva. Skład związków stanowiących system wiążący oraz tkanek na każdym etapie modyfikacji określiłem metodą spektroskopii Ramana. Widma Ramana wytrawiacza (kwasu fosforowego), primera oraz czynnika wiążącego szczegółowo opisałem w pracy, przypisałem wszystkim pasmom odpowiednie grupy funkcyjne. Nie zaobserwowałem zmian w widmach Ramana zębiny i szkliva po wytrawianiu powierzchni. Z uwagi na to, że kolejnym działaniem po wytrawieniu powierzchni było sfluokowanie tkanki wodą, w dalszych etapach nie stwierdziłem pozostałości kwasu fosforowego. Z kolei, po nałożeniu primera i czynnika wiążącego, pasma odpowiadające grupom funkcyjnym występujących w budowie związków obu składników zarejestrowałem na widmach tkanek szkliva, jak i zębiny.

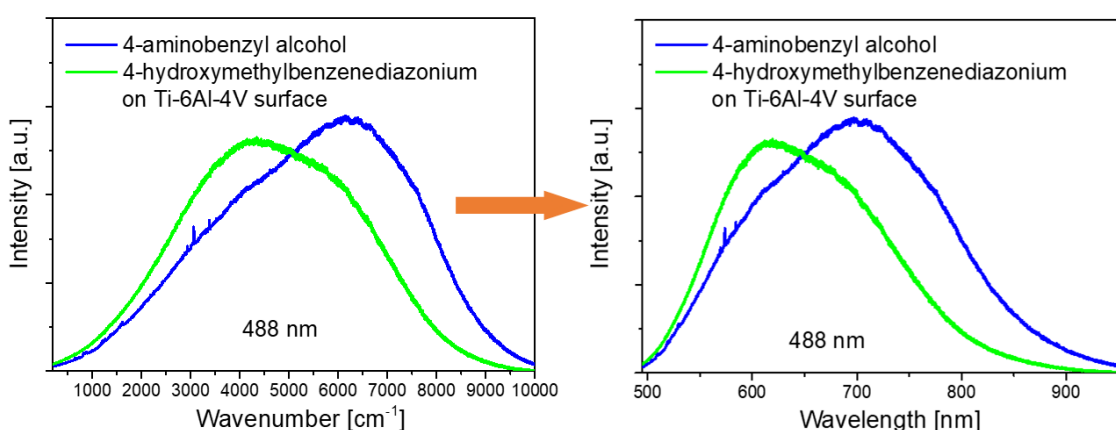
Realizowane przeze mnie badania umożliwiły określenie struktury powierzchni po każdym etapie preparacji tkanek twardych. Dzięki przeprowadzonej analizie potwierdziłem, iż proces aplikacji systemu wiążącego został przeprowadzony skutecznie. Ponadto wykazałem, iż wyniki uzyskane metodą IGC związane są ze strukturą powierzchni tkanek zęba. Wyniki przedstawione w pracy **H7** dowiodły, iż spektroskopia Ramana jest dobrym narzędziem do oceny zmian na powierzchni tkanek zęba, w tym określeniu wpływu związków aplikowanych na strukturę tkanek.

#### 5.5.2 *Charakterystyka spektroskopowa modyfikowanej powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V o potencjalnym zastosowaniu w endoprotezach.*

Prace **H9**, **H13**, **H14** powstały w ramach współpracy z Instytutem Technologii i Inżynierii Chemicznej Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej. Badania przedstawione w pracy **H9** były finansowane z grantu badawczego nr 06/65/DSMK/0001 finansowanego z subwencji Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego (tytuł projektu: *Wytwarzanie warstwy soli diazoniowych na powierzchni stopu tytanu Ti-6Al-4V*). W ww. projekcie pełniłem funkcję kierownika. Przeprowadzone badania i uzyskane wyniki przedstawione w pracy **H9**, wzmocniły wniosek grantowy, który został wybrany do finansowania ze środków Narodowego Centrum Nauki (nr projektu 2017/27/N/ST8/00307; tytuł projektu: *Wpływ warstwy poliuretanowej kowalencyjnie związanej z warstwą diazoniową na powierzchni zmodyfikowanego stopu tytanu (Ti6Al4V) na jego właściwości fizykochemiczne i mechaniczne*; kierownik projektu: dr inż. Mariusz Sandomierski). Badania, których wyniki przedstawione są w pracach **H13** i **H14** finansowano z ww. projektu.

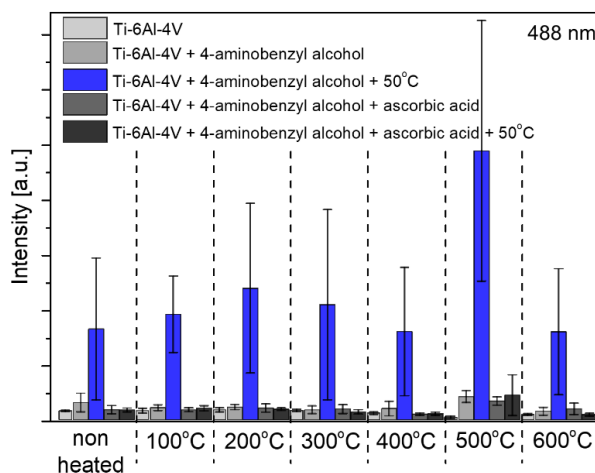
Stop tytanu Ti6Al4V jest powszechnie stosowanym materiałem na endoprotezy [30]. Ti6Al4V charakteryzuje się dobrymi właściwościami mechanicznymi, jednak wykazuje niską odporność na ścieranie [31]. W trakcie ścierania stopu następuje uwalnianie jonów wanadu i glinu, które mogą powodować długotrwałe problemy zdrowotne m.in. chorobę Alzheimera i neuropatię. Z powodu zużycia materiału często dokonuje się endoprotezoplastyki rewizyjnej. W celu polepszenia odporności stopu na zużycie ściernie możliwe jest zmodyfikowanie jego powierzchni poprzez uzyskanie warstwy obniżającej współczynnik tarcia. W pracy **H9** zaproponowano, aby na stopie utworzyć warstwę organiczną, do której następnie przyłączony będzie polimer. Warstwę organiczną stanowiły związki diazoniowe, a celem badań przedstawionych w pracy **H9** było zoptymalizowanie procesu jej uzyskania oraz sprawdzenie stabilności w symulowanym płynie ustrojowym (SBF – ang. *Simulated Body Fluid*). W pierwszej części badań powierzchni stopu z wykorzystaniem spektroskopii Ramana potwierdziłem obecność warstwy tlenków tytanu, które mogły wpływać na proces tworzenia warstwy diazoniowej. Wykonałem mapowanie ramanowskie niewygrzewanych oraz wygrzewanych w temperaturze od 100°C do 600°C ziaren stopu. Z powodu nierówności ziaren stopu rejestracji widm dokonałem z ogniskowaniem wiązki lasera na powierzchni. Na podstawie położenia pasm określiłem rodzaj tlenku tytanu, natomiast pasmo 608 cm<sup>-1</sup> wykorzystałem do oceny obecności tlenku na powierzchni. Potwierdziłem obecność tlenków na niewygrzanych ziarnach. Zgodnie z przewidywaniami ilość tlenków zwiększała się wraz ze wzrostem temperatury wygrzewania. Dzięki analizie spektroskopowej wskazałem wartość temperatury wygrzewania, powyżej której tlenki pokrywały całą powierzchnię ziaren.

Obecność warstwy organicznej na powierzchni stopu potwierdziłem za pomocą spektroskopii Ramana. Uzyskanie widm związków diazoniowych na stopie poprzedziłem wieloma próbami zoptymalizowania warunków pomiarowych, ponieważ badana warstwa ulegała w trakcie rejestracji widm zniszczeniu, nawet przy zastosowaniu niewielkiej mocy lasera, niezależnie od wybranej wiązki wzbudzającej. Ostatecznie otrzymałem widma pozwalające ocenić proces modyfikacji stopu. Pomimo tego, że warstwa wykazywała silną fluorescencję, udało mi się uzyskać widoczne pasma, które potwierdziły obecność soli diazoniowej na stopie (Rys. 9).



Rys. 9. Widma Ramana soli diazoniowej na stopie zaprezentowane w jednostkach liczby falowej (po lewej) i długości fali (po prawej) [**H9**].

W kolejnej części badań postanowiłem wykorzystać silną fluorescencję rejestrowaną na widmach Ramana do oceny względnej ilości warstwy organicznej. Oceny tej dokonałem na podstawie analizy intensywności tła. Dzięki temu wskazałem optymalne warunki modyfikacji stopu, które umożliwiły otrzymywanie najgrubszej możliwej warstwy (Rys. 10). Określiłem wpływ tlenków i temperatury reakcji na przebieg modyfikacji. Dzięki analizie spektroskopowej wskazałem optymalną drogę do dalszej modyfikacji stopu.

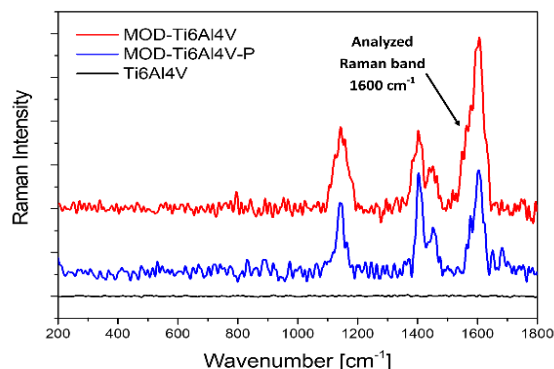


Rys. 10. Zmiany intensywności fluorescencji warstwy organicznej na powierzchni stopu Ti6Al4V modyfikowanego kationami 4-HMBD w różnych warunkach prowadzenia reakcji [H9].

Spektroskopię Ramana wykorzystałem ponadto w ocenie rozmieszczenia warstwy organicznej na ziarnach stopu. Dzięki analizie intensywności tła i intensywności pasma wskazałem, że modyfikowane stopy zostały całkowicie pokryte warstwą organiczną, niezależnie od temperatury wygrzewania. Wykazałem również, iż uzyskana warstwa rozłożona jest nierównomiernie. Takie rozmieszczenie warstwy organicznej można wiązać z nieregularną powierzchnią ziaren. Podobnej analizy z wykorzystaniem mapowania ramanowskiego dokonałem w ocenie stabilności warstwy po umieszczeniu w symulowanym płynie ustrojowym (SBF). Po tygodniu przechowywania w roztworze SBF warstwa organiczna wykryta na powierzchni tych stopów nie uległa żadnym zmianom, co świadczy o jej wysokiej stabilności.

Kolejny etap badań polegał na dołączeniu polimeru do warstwy arylowej. Dobór polimeru miał istotne znaczenie, ponieważ to on ma zapewnić wysoką odporność stopu na ścieranie. Idealnymi polimerami do tego zastosowania są poliuretany, ponieważ w ich sieciowaniu biorą udział grupy hydroksylowe, dzięki czemu możliwe jest przyłączenie poliuretanów do warstwy arylowej [32]. Ponadto, poliuretany są polimerami o wysokiej odporności na ścieranie, wykazują biokompatybilność, o czym świadczy ich szerokie zastosowanie w roli biomateriałów [33, 34].

W pracy H13 przedstawiono modyfikację stopu Ti6Al4V solą diazoniową do której następnie przyłączono poliuretan. Proces tworzenia warstwy arylowej przebiegał zgodnie z optymalnymi warunkami reakcji potwierdzonymi przeze mnie w badaniach opisanych w pracy H9. Poza charakteryzacją powierzchni modyfikowanego stopu, sprawdzono wpływ acetonu na stabilność otrzymanej warstwy. Utworzenie warstw na stopie (Rys. 11) oraz ich stabilność wykazałem za pomocą spektroskopii Ramana. Ponownie,

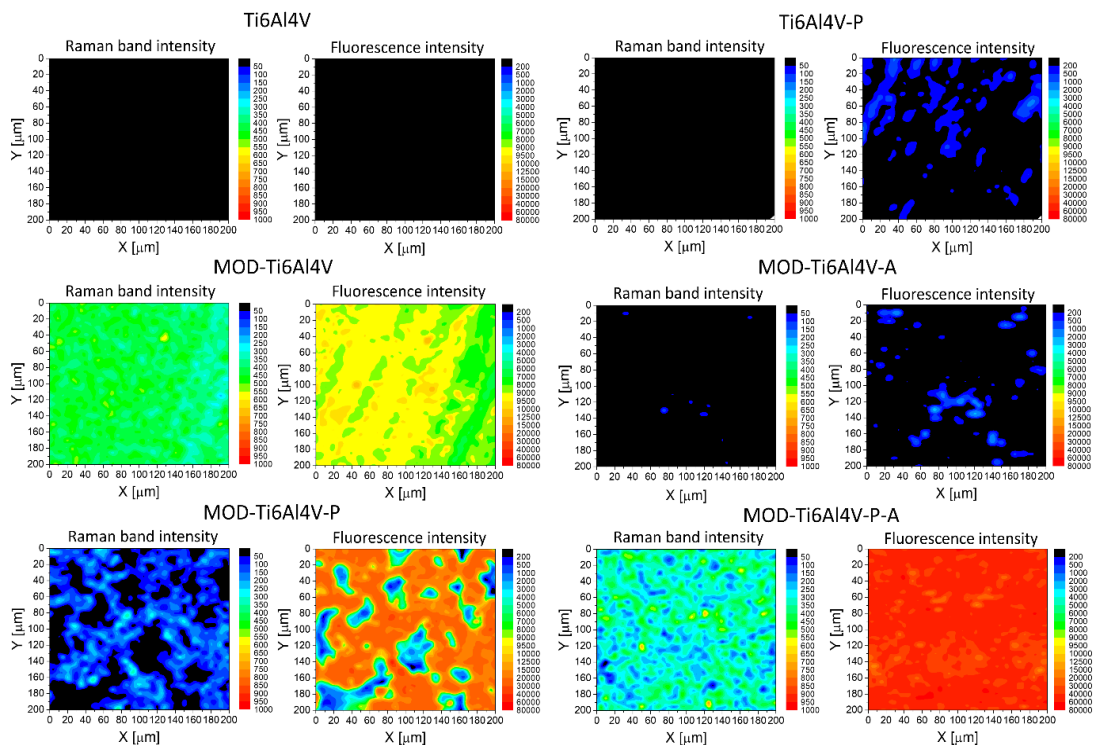


Rys. 11. Widma Ramana czystego stopu (Ti6Al4V), stopu modyfikowanego solą diazoniową (MOD-Ti6Al4V) oraz stopu modyfikowanego z dołączoną warstwą poliuretanu (MOD-Ti6Al4V-P) [H13].



w analizie spektroskopowej, poza intensywnością pasm, wykorzystałem intensywność tła fluorescencyjnego wynikającą z obecności warstwy arylowej i polimerowej.

Bardzo ważnym elementem modyfikacji stopu jest jednorodność uzyskiwanej warstwy. Warstwa ochronna na powierzchni materiału powinna być równomiernie rozłożona, tak aby zagwarantować takie same właściwości mechaniczne całego stopu. W celu oceny jednorodności tworzonej warstwy zastosowałem mapowanie ramanowskie (Rys. 12). Analizą spektroskopową potwierdziłem uzyskanie równomiernie rozłożonej warstwy arylowej na całej badanej powierzchni stopu (MOD-Ti6Al4V). Przyłączenie polimeru spowodowało zanik pasma związanego z warstwą diazoniową (MOD-Ti6Al4V-P). Z drugiej strony intensywność fluorescencji znacznie wzrosła w porównaniu z materiałem modyfikowanym wyłącznie solą diazoniową. Warstwa polimerowa, podobnie jak arylowa, była równomiernie rozmieszczona na analizowanej powierzchni. Proces przyłączania polimeru do niezmodyfikowanej solami diazoniowymi powierzchni jest nieefektywny. W tym przypadku zaobserwowałem nieznaną emisję fluorescencji polimeru (Ti6Al4V-P). Udowodniłem tym samym, iż przyłączenie polimeru jest możliwe tylko wtedy, gdy powierzchnia stopu tytanu zostanie wcześniej zmodyfikowana solami. Ponadto wykazałem, iż na powierzchni modyfikowanego stopu bez warstwy polimeru, po przemyciu acetonem pozostaje niewielka ilość związków arylowych (MOD-Ti6Al4V-A). Istotne jest również, że w przypadku materiału z warstwą polimeru, aceton nie oddziaływał na otrzymaną warstwę (MOD-Ti6Al4V-P-A).



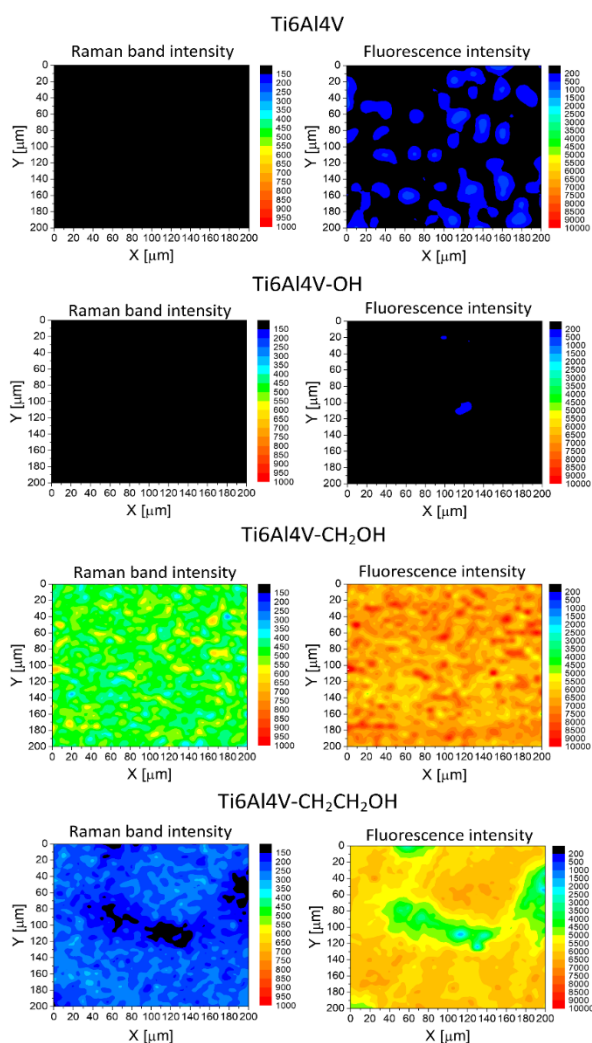
Rys. 12. Zmiany intensywności pasma Ramana oraz intensywności fluorescencji (tła) w widmach zarejestrowanych na powierzchni modyfikowanej i niemodyfikowanej stopu [H13].



W pracy **H14** opisano proces modyfikacji stopu Ti6Al4V trzema rodzajami soli diazoniowej, określając wpływ podstawnika na skuteczność modyfikacji. Proces modyfikacji przebiegał analogicznie jak we wcześniejszych badaniach. Na powierzchnię zmodyfikowanego stopu nałożono warstwy poliuretanu. Dokonano oceny stabilności uzyskanej warstwy w SBF oraz określono zmiany współczynnika tarcia zmodyfikowanego stopu. Skuteczność modyfikacji przy użyciu trzech rodzajów soli diazoniowych została określona za pomocą spektroskopii FTIR i spektroskopii Ramana. W przedstawionych badaniach rozmieszczenie warstwy określiłem za pomocą mapowania ramanowskiego (Rys. 13). Podobnie jak w pracach **H9** i **H13**, analizę przeprowadziłem dla intensywności fluorescencji (tło w widmie Ramana) i intensywności pasma, związanego z warstwą arylową.

Uzyskane przeze mnie wyniki mapowania były zgodne z wynikami uzyskanymi z analizy FTIR. Warstwa po modyfikacji solą 4-hydroksymetylobenzenodiazoniową (Ti6Al4V-CH<sub>2</sub>OH) wykazała najwyższą wartość intensywności pasma, jak również intensywności tła. Oznacza to, że stop ten jest najefektywniej zmodyfikowany właśnie tą solą. Co istotne, przeprowadzona przeze mnie analiza ramanowska wykazała, że powierzchnia Ti6Al4V-CH<sub>2</sub>OH jest równomiernie pokryta. Nie wykryłem warstwy organicznej po modyfikacji stopu tytanu solą 4-hydroksybenzenodiazoniową (Ti6Al4V-OH). Dzięki uzyskanym przeze mnie wynikom, do kolejnego etapu badań zakwalifikowano stop modyfikowany solą 4-hydroksymetylobenzenodiazoniową (Ti6Al4V-CH<sub>2</sub>OH). Metodą spektroskopii Ramana potwierdziłem obecność warstwy polimerowej na warstwie arylowej. Z kolei mapowaniem ramanowskim wykazałem równomierne rozmieszczenie poliuretanu na całej powierzchni stopów. Wskazałem również na skuteczność dołączania większej liczby warstw poliuretanu i potwierdziłem stabilność otrzymanych warstw polimerowych w symulowanym płynie ustrojowym.

Najważniejszym celem realizowania badań przedstawionych w pracach **H9**, **H13** i **H14** była poprawa odporności stopu tytanu na zużycie. Uzyskane wyniki z wykorzystaniem tribometru, przedstawione w pracy **H14** wskazują, że stop tytanu z warstwą poliuretanu uzyskał prawie dziesięciokrotnie niższy współczynnik tarcia w porównaniu do czystego stopu. Tak niska wartość nie została dotychczas opisana w literaturze [35-39]. Porównanie uzyskanych



Rys. 13. Zmiany intensywności pasma Ramana oraz intensywności fluorescencji (tła) w widmach zarejestrowanych na powierzchni modyfikowanej solami diazoniowymi i niemodyfikowanej stopu **[H14]**.

wyników z wynikami literaturowymi potwierdza duży potencjał aplikacyjny otrzymanych warstw jako warstw ochronnych w endoprotezach.

Prace **H9**, **H13** i **H14** stanowią pełny opis procesu modyfikacji stopu tytanu, który zapewnił uzyskanie głównego celu badawczego, jakim jest zmniejszenie współczynnika tarcia stopu. W przeprowadzonych badaniach niezwykle istotne było zastosowanie przez mnie spektroskopii Ramana, która na każdym etapie potwierdzała skuteczność modyfikacji i wyznaczała kierunek dalszych działań. Pomimo trudności badań, wynikających z silnej fluorescencji związków, uzyskałem wiarygodne wyniki. Wykorzystanie w analizie nie tylko intensywności pasma, ale też intensywności tła, okazało się bardzo efektywne i doprowadziło do ostatecznego sukcesu.

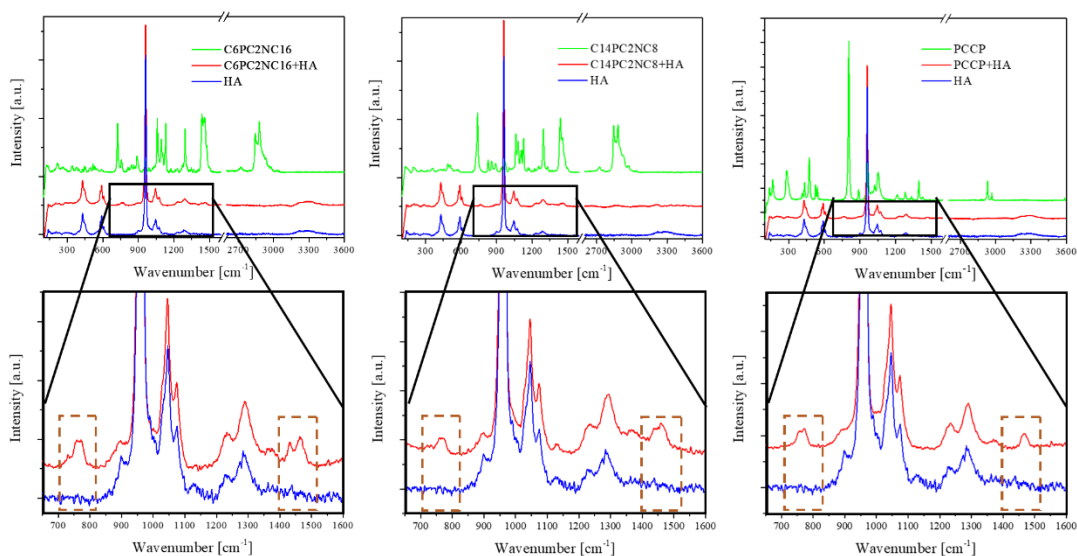
### 5.5.3 *Charakterystyka spektroskopowa materiałów symulujących tkankę kostną oraz nowych związków antyresorpcyjnych kości*

Prace **H5**, **H11**, **H15** powstały w ramach współpracy z Instytutem Technologii i Inżynierii Chemicznej, Instytutem Chemii i Elektrochemii Technicznej Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej, Katedrą Chemii Bioorganicznej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej oraz Wydziałem Farmaceutycznym Uniwersytetu Komeńskiego w Bratysławie.

Osteoporoza jest chorobą układu kostnego polegającą na zaburzeniu pomiędzy aktywnością osteoklastów i osteoblastów, objawiającą się obniżeniem jakości i gęstości tkanki mineralnej kości. Bisfosfoniany to farmakologicznie silne inhibitory resorpcji kości, które stosowane są przede wszystkim w walce z osteoporozą. Wśród bisfosfonianów najpopularniejszymi lekami są alendronian i ryzedronian zawierające grupy aminowe w alkilowym łańcuchu bocznym [40]. Niestety powszechnie stosowane leki antyresorpcyjne powodują wiele powikłań. W związku z tym, istnieje silna potrzeba poszukiwania nowych, niepowodujących skutków ubocznych leków. W badaniach materiałów antyresorpcyjnych kości istotne jest określenie interakcji między tkanką kostną a lekami. Dostęp do tkanki kostnej jest utrudniony, dlatego ważne jest wytworzenie materiału, który będzie symulował tkankę, a tym samym umożliwił skuteczne badanie sorpcji i desorpcji nowych związków. Taki materiał powinien jak najbardziej odzwierciedlać strukturę tkanki, nie ulegać kurczeniu oraz deformacji. Coraz częściej stosowanymi substytutami kości są biomateriały na bazie krzemionki, na których osadzany jest hydroksyapatyt [41, 42]. Ocena interakcji bisfosfonianów z kością zwykle sprowadza się do badania sorpcji i desorpcji na hydroksyapatycie. Dlatego równie ważnym aspektem badań jest poszukiwanie najlepszej metody oceny sorpcji i desorpcji związków na symulowanej tkance kostnej.

W pracy **H5** wyznaczono właściwości sorpcyjne 11 związków fosforoorganicznych, które mogłyby w przyszłości stanowić substancję aktywną leku antyresorpcyjnego kości. Wyniki badań porównywano z wynikami uzyskanymi dla ryzedronianu sodu (RSD), który standardowo stosowany jest jako związek antyresorpcyjny kości. Sorpcji związków dokonano na sproszkowanym hydroksyapatycie oraz polimerowo-ceramicznym materiale monolitycznym zawierającym hydroksyapatyt. W pierwszej kolejności wykonano badanie procesu sorpcji wszystkich związków za pomocą chromatografii cieczowej w połączeniu ze spektrometrią mas lub spektroskopią UV–VIS. Z kolei spektroskopię Ramana wykorzystałem do potwierdzenia obecności związków na hydroksyapatycie, które wykazywały najlepsze właściwości sorpcyjne określone na wcześniejszym etapie badań, tj. kwasu etano-1,2-difosfonowego (PCCP), fosforanu 2-[dimetylo-(heksylo)amonio]etyloheksadecylu (C6PC2NC16), fosforanu 2-[dimetylo-(oktylo)amonio]etylotetradecylu (C14PC2NC8). Widma Ramana hydroksyapatytu

(HA) przed i po sorpcji zaprezentowałem na Rys. 14. Widmo Ramana HA szczegółowo opisałem w omawianej pracy. Na widmie HA po sorpcji wskazałem występowanie dodatkowych pasm, związanych z obecnością sorbowanych związków. Nowe pasma przypisałem grupom funkcyjnym występującym w budowie powyższych związków. Na kolejnym etapie badań, do oceny procesu sorpcji i desorpcji wykorzystano monolityczną ekstrakcję igłową (MINE – ang. *Monolithic In-Needle Extraction*). Igły wypełniono materiałem monolitycznym na bazie mieszaniny polimeryzacyjnej zawierającej HEMA (metakrylan hydroksyetylu), EDMA (dimetakrylan glikolu etylenowego) i HA. Stwierdzono, podobnie jak na wcześniejszym etapie badań (na sproszkowanym HA), że związki C6PC2NC16 oraz C14PC2NC8 ulegały sorpcji najsilniej.



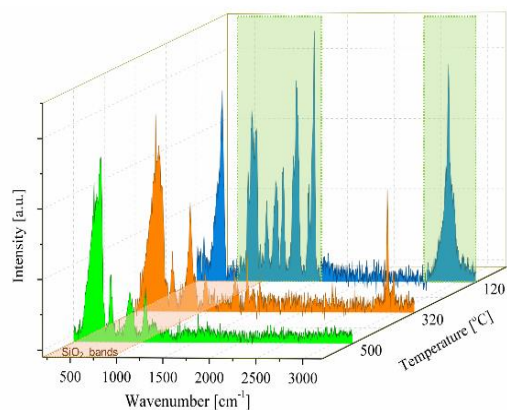
Rys. 14. Widma Ramana hydroksyapatytu (HA) przed i po sorpcji trzech związków fosforoorganicznych [H5].

W pracy H5 zaproponowano szybką i stosunkowo łatwą procedurę wstępnej oceny możliwości wykorzystania związków fosforoorganicznych jako składników leków antyresorpcyjnych. Najlepsze wyniki uzyskano dla ryzedronianu sodu, czego można się było spodziewać, gdyż związek ten jest znaną i stosowaną substancją czynną. Właściwości sorpcyjne innych „potencjalnych” materiałów aktywnych są nieznacznie gorsze. Uzyskane wyniki dowodzą, że proponowana metoda (monolityczna ekstrakcja igłowa) będzie pomocna w przewidywaniu potencjalnie aktywnych związków o właściwościach antyresorpcyjnych. Do określenia właściwości sorpcyjnych przyczyniły się w znacznym stopniu uzyskane przeze mnie wyniki badań spektroskopowych.

W pracy H11 wytworzono materiały monolityczne na bazie krzemionki i hydroksyapatytu, które symulowały strukturę tkanki kostnej. Materiały te następnie zastosowano do badania interakcji HA z potencjalnymi lekami antyresorpcyjnymi. Pierwszy rodzaj materiałów powstał na bazie ortokrzemianu tetrametylu i trimetoksymetylosilanu. Drugi rodzaj materiałów zawierał w strukturze dodatkowo chitozan. Monolity ceramiczne wytworzono na kilka sposobów. Pierwsza metoda przygotowania polegała na wprowadzeniu HA do mieszaniny reakcyjnej. Druga metoda opierała się na mineralizacji HA na materiale monolitycznym metodą zanurzenia. Wykorzystano również połączenie obu metod, tj. przygotowanie materiału z HA w mieszaninie reakcyjnej, a następnie dodatkową mineralizację HA na jego powierzchni metodą zanurzenia. Materiały monolityczne przygotowano w dwóch różnych formach: w postaci walców oraz jako wypełnienie igły w monolitycznej ekstrakcji igłowej (MINE). Do oceny właściwości 19

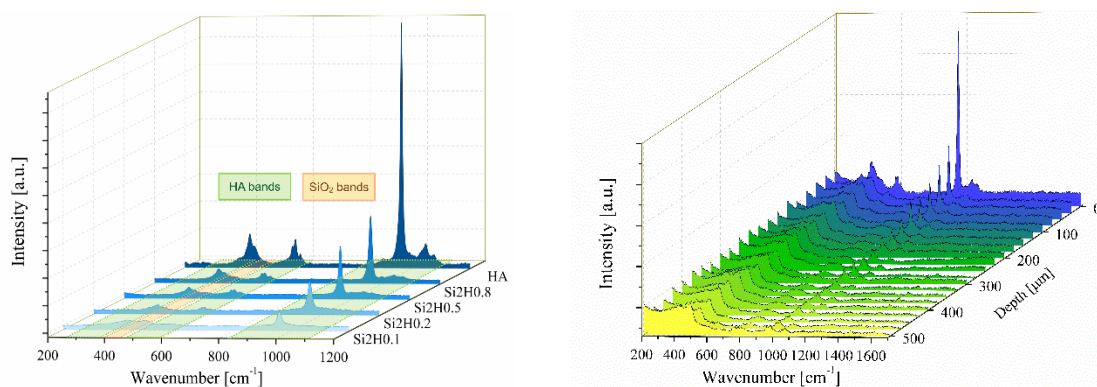
przygotowanych materiałów, różniących się procedurą wytworzenia oraz formą, zastosowałem spektroskopię Ramana, która pozwoliła potwierdzić otrzymanie materiału monolitycznego na bazie krzemionki oraz scharakteryzować warstwę HA. Ponadto, metodą spektroskopii Ramana oceniłem sorpcję ryzedronianu sodu na HA.

W pierwszym etapie badań wykorzystałem spektroskopię Ramana w celu wyznaczenia temperatury wygrzewania materiału monolitycznego, która gwarantowała usunięcie związków polimerowych i pozostawienie wyłącznie struktury krzemionki. Źródła literaturowe wskazują różne temperatury końcowe wygrzewania (od 120°C do 600°C). Na Rys. 15 przedstawiłem widma Ramana materiałów krzemionkowych wygrzewanych w różnych temperaturach. Dopiero w przypadku materiału wygrzewanego w 500°C pasma niezwiązane z krzemionką nie były widoczne. W związku z tym, w dalszej części badań wykorzystywano podłoże po wygrzaniu w temperaturze 500°C.



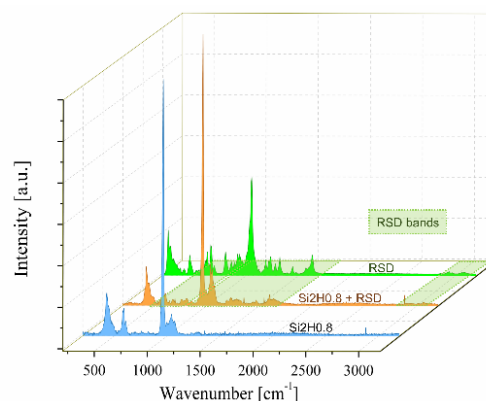
Rys. 15. Widma Ramana materiałów krzemionkowych wygrzewanych w trzech różnych temperaturach [H11].

W następnym etapie badań spektroskopię Ramana wykorzystałem do potwierdzenia obecności HA na podłożu krzemionkowym. Na Rys. 16 przedstawiłem widma Ramana materiałów po przeprowadzeniu różnej liczby cykli mineralizacji HA oraz widmo kryształów HA. W pracy opisałem pasma związane z występowaniem osadzonej warstwy. Na podstawie położenia pasm oraz innych charakterystycznych cech widm, opisanych wcześniej, potwierdziłem iż warstwę tę stanowi HA. Warstwa HA była już widoczna po 1 cyklu mineralizacji. Jednak w dalszej części badań wykorzystywano materiał po 8 cyklach mineralizacji HA. Spektroskopię Ramana wykorzystałem również do oceny grubości tworzonej warstwy po 8 cyklach mineralizacji HA. Otrzymane wyniki zaprezentowałem na Rys. 16. Widma Ramana zarejestrowałem w kierunku od powierzchni materiału do głębokości 500  $\mu\text{m}$ . Dzięki analizie spektroskopowej wykazałem, iż warstwa hydroksyapatytu sięga około 300  $\mu\text{m}$ .



Rys. 16. Widma Ramana materiałów krzemionkowych po różnej liczbie cykli osadzania HA (po lewej) oraz materiału uzyskanego po 8 cyklach osadzania HA rejestrowane w głąb materiału (po prawej) [H11].

Badanie procesu sorpcji i desorpcji prowadzono przy użyciu spektrofotometru UV-VIS. Wykazano, iż materiał po podwójnym cyklu mineralizacji (Si3H1.2) cechuje się lepszymi właściwościami sorpcyjnymi niż materiał po ośmiokrotnym cyklu mineralizacji (Si2H0.8). Jednak pierwszy z wymienionych materiałów, w przeciwieństwie do drugiego, wytworzony został z wykorzystaniem HA w mieszaninie reakcyjnej. Można zatem stwierdzić, że obecność HA w materiale wyjściowym ma pozytywny wpływ na dalszy proces mineralizacji, a w konsekwencji na sorpcję. Stwierdzono również, że materiał monolityczny zawierający wyłącznie krzemionkę, nie absorbuje RSD. W celu potwierdzenia procesu sorpcji zarejestrowałem widma ramanowskie dla wybranego materiału (Rys. 17). W widmie materiału Si2H0.8 po procesie sorpcji zaobserwowano dodatkowe pasma związane z obecnością RSD.



Rys. 17. Widma Ramana przed i po sorpcji ryzedronianu sodu na HA [H11].

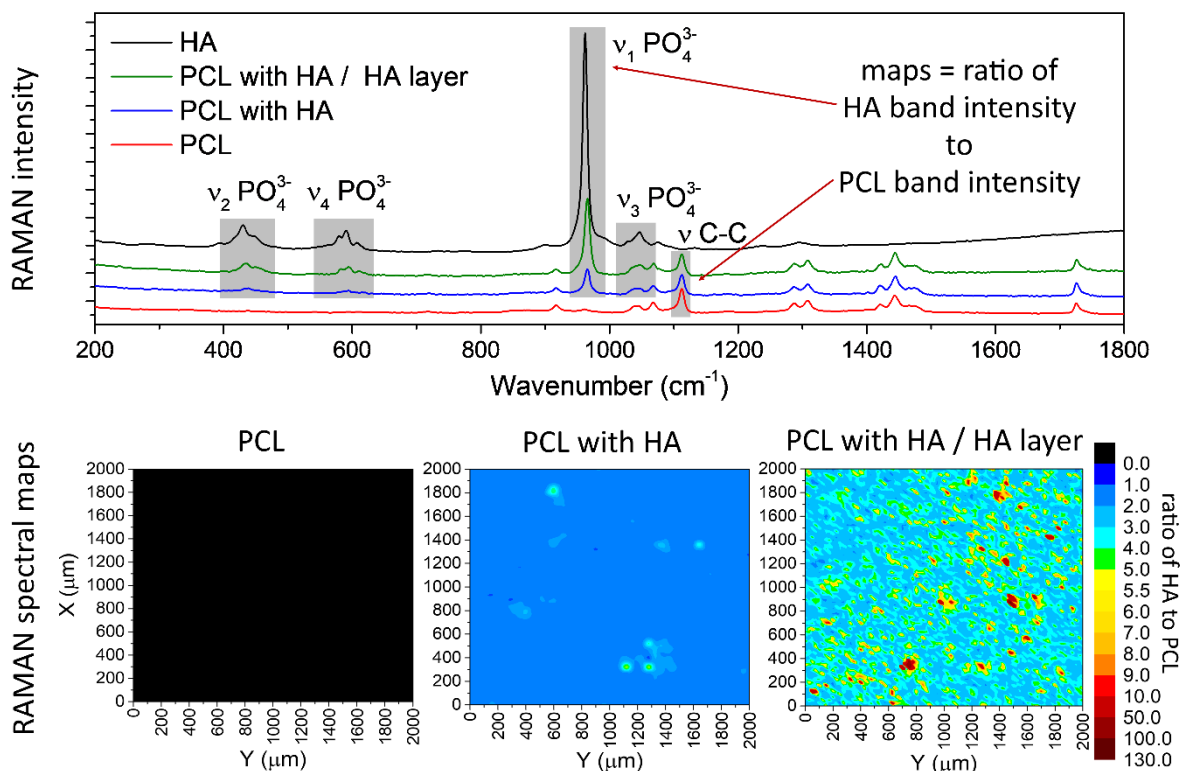
Przedstawione w pracy H11 wyniki badań pokazały, iż materiały przygotowane w formie cylindrów stanowią interesującą alternatywę dla klasycznych metod badania powinowactwa związków bisfosfonianowych do HA. Przedstawiona metoda badań sorpcji jest prosta w wykonaniu, nie wymaga specjalistycznego sprzętu, a jednocześnie pozwala uniknąć problemów związanych z sorpcją związków na HA w postaci proszku. Należy jednak zauważyć, iż proces mineralizacji w przypadku igieł jest bardziej wydajny, ze względu na wymuszony przepływ w całej objętości materiału. Dzięki temu proces sorpcji jest również bardziej efektywny.

Główną metodą badawczą wykorzystaną do oceny skuteczności syntezy oraz sorpcji w pracy H11 była spektroskopia Ramana. Dzięki tej metodzie określiłem optymalne warunki wytwarzania materiałów symulujących tkankę kostną. Na podstawie widm Ramana potwierdziłem skuteczność sorpcji leków antyresorpcyjnych na wytworzonych materiałach i dowiodłem, iż uzyskane materiały mogą być skutecznie wykorzystane w ocenie właściwości sorpcyjnych i desorpcyjnych nowych związków bisfosfonianowych.

W pracy H15 wykorzystano trzy formy materiałów ceramicznych (w tym dwie symulujące tkankę kostną) do badań interakcji związków bisfosfonianowych z HA. W badaniach, poza HA w postaci sypkiej oraz polimerowo-ceramicznym monolitycznym materiałem w igle, uzyskano materiał polimerowo-ceramiczny na bazie polikaprolaktonu (PCL) zawierający HA. W pracy zbadano powinowactwo związków bisfosfonianowych do HA (ryzedronian sodu oraz 16 nowych związków o potencjalnych właściwościach antyresorpcyjnych). W pierwszym etapie badań przygotowano serię materiałów na bazie PCL i HA. Materiały przygotowano na dwa sposoby: HA wprowadzono bezpośrednio do rozpuszczonego PCL oraz poprzez osadzanie HA na powierzchni PCL. Czystą folię PCL, folię PCL zawierającą HA oraz warstwę HA osadzoną na folii PCL scharakteryzowałem z wykorzystaniem spektroskopii Ramana (Rys. 18). Dzięki temu wykazałem obecność HA w folii PCL oraz na folii PCL. Do oceny rozmieszczenia HA w PCL lub na folii PCL wykorzystałem mapowanie ramanowskie. HA w PCL rozmieszczony jest wysoce równomiernie. W przypadku warstwy HA na PCL zawierającej HA zaobserwowałem wzrost zawartości HA w stosunku do zawartości HA w wyjściowym materiale (PCL z HA). Warstwa HA nie była rozmieszczona równomiernie na powierzchni folii. Dzięki analizie spektroskopowej



zakwalifikowano do dalszych badań sorpcyjnych materiał wykazujący najlepsze właściwości (materiał zawierający warstwę HA osadzoną na folii PCL, która zawierała w strukturze HA).



Rys. 18. Widma Ramana oraz mapy Ramana czystej folii PCL, folii PCL z HA oraz folii PCL z HA dodatkowo po czterech cyklach mineralizacji HA na powierzchni [H15].

Zastosowanie dwóch różnych modeli tkanki kostnej (folia PCL z warstwą HA, jak i urządzenie MINE) pozwoliło uzyskać szczegółowe informacje na temat powinowactwa badanych związków do HA. Należy jednak zauważyć, że obie metody badań skutkowały uzyskaniem różnych wyników. Związane jest to z różnym czasem kontaktu bisfosfonianów z materiałem ceramicznym. Dla bisfosfonianów czas kontaktu z HA na PCL/HA wynosił od 30 minut do kilkuset godzin, a z HA na monolicie trwał tylko kilka minut.

Istotnym parametrem oceny badanych związków jest również poziom desorpcji z HA. Stosowane obecnie leki antyresorpcyjne charakteryzują się długotrwałą obecnością w tkance kostnej. Może to skutkować działaniami niepożądanymi, takimi jak martwica kości szczęki. Ponadto, leki te powinny być obecne we krwi krążącej i dostępne do ponownego wychwytu do kości. Dlatego poszukiwanie nowych kandydatów charakteryzujących się silną sorpcją i lepszymi właściwościami desorpcyjnymi jest jedną ze strategii projektowania nowych leków. Poziom desorpcji ryzedronianu, określony w pracy H15, wynosił 70%. Część eksperymentalnych związków wykazała lepsze właściwości zarówno sorpcyjne, jak i desorpcyjne w porównaniu z ryzedronianem sodu. Wyniki takie uzyskano na folii PCL, jak i w igle (MINE). Tym samym wyniki wskazują, iż potencjalne substancje aktywne mogą wykazywać również większe powinowactwo do kości, a to oznacza że mogą w przyszłości stanowić bazę do wytwarzania leków antyresorpcyjnych.

W pracach H5, H11, H15 spektroskopia Ramana stanowiła istotne narzędzie w ocenie struktury materiałów, które zaprojektowano do symulowania tkanki kostnej. Na każdym etapie badań metoda pozwoliła zweryfikować proces syntezy i modyfikacji. Potwierdzała

występowanie HA na wytwarzanym podłożu, co z kolei umożliwiło przeprowadzenie badań sorpcji i desorpcji nowych związków antyresorpcyjnych na HA, również realizowanych z wykorzystaniem spektroskopii Ramana.

#### 5.5.4 Określenie skuteczności spektroskopii Ramana w diagnostyce próchnicy zębów.

Prace **H6**, **H8**, **H10** i **H16** powstały w ramach współpracy z Instytutem Technologii i Inżynierii Chemicznej Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej oraz Kliniką Wad Rozwojowych Twarzy Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Badania, których wyniki przedstawione są w pracach **H6**, **H8**, **H10** były finansowane z grantu badawczego nr 2013/09/N/NZ5/00010 ze środków Narodowego Centrum Nauki (tytuł projektu: *Ocena skuteczności metody mikrospektroskopii Ramana w analizie przebudowy struktury szkliwa ludzkich zębów we wczesnym stadium próchnicy*). W powyższym projekcie pełniłem funkcję kierownika.

Metody obecnie stosowane w diagnostyce próchnicy zębów cechują się niską skutecznością w jednoznacznym, a zarazem nieinwazyjnym wskazywaniu obszarów zęba dotkniętych próchnicą. Wczesne rozpoznanie zmian próchnicowych ma bardzo duże znaczenie. Możliwe jest zatrzymanie, a nawet cofnięcie poprzez remineralizację próchnicy wykrytej w początkowym stadium. Stale poszukiwane są nowe metody, które pozwalałyby na wykrycie obecności próchnicy w miejscach trudnodostępnych, takich jak przestrzenie międzyzębowe [43]. Istotny jest też problem diagnostyki próchnicy pod powierzchnią szkliwa. Obecnie stosowane metody wykorzystujące promieniowanie rentgenowskie są inwazyjne i nie w każdym przypadku mogą być stosowane. Istnieje zatem silna potrzeba poszukiwania i rozwijania innych technik diagnostycznych.

Szklivo zbudowane jest z pryzmatów, które z kolei tworzone są przez kryształy hydroksyapatytu, ułożone długą osią wzdłuż długiej osi pryzmatów. W zdrowym szkliwie zębów stałych pryzmaty ułożone są równolegle względem siebie i prostopadle do powierzchni szkliwa [44]. W wyniku demineralizacji szkliwo staje się bardziej porowate i nieuporządkowane, co skutkuje wzrostem rozproszenia światła [45, 46]. W obszarze występowania próchnicy pojawiają się związki porfiryne, które są odpowiedzialne za emisję fluorescencji [47, 48]. W kontekście powyższych zmian w szkliwie wywołanych próchnicą oraz możliwości analitycznych spektroskopii Ramana, wysoce prawdopodobne jest, iż ta technika mogłaby być odpowiednia do detekcji zmian próchnicowych. W związku z powyższym, dokonałem szczegółowej analizy skuteczności spektroskopii Ramana w diagnostyce próchnicy zębów.

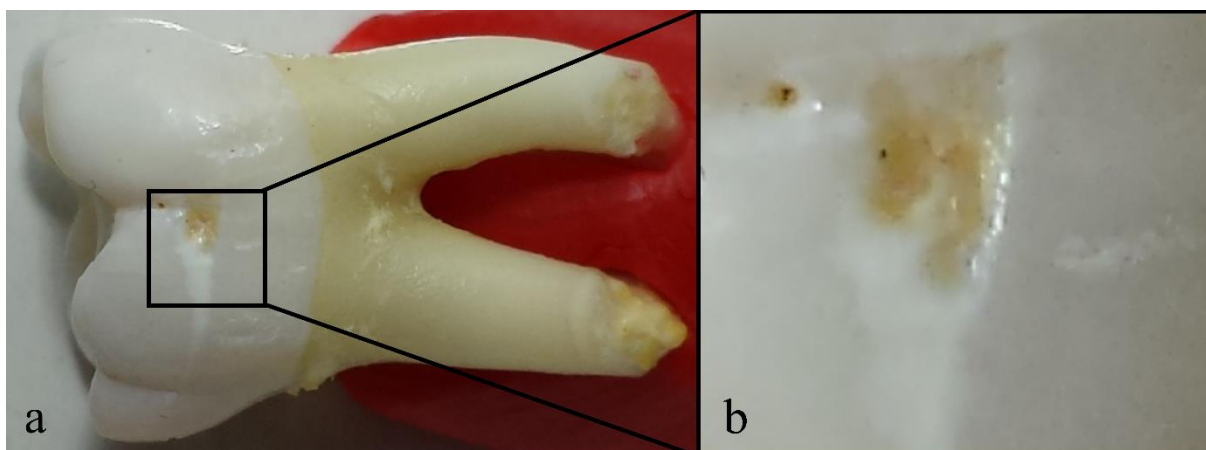
Pierwsze badania zębów z zastosowaniem spektroskopii ramanowskiej przeprowadzono na początku lat 80 XX wieku [49, 50]. W późniejszych latach wykorzystano spektroskopię Ramana do oceny zmian w składzie szkliwa i zębiny, również wywołanych próchnicą, na podstawie zmian intensywności pasm [51-54]. W widmie Ramana hydroksyapatytu pasmo występujące w położeniu  $959\text{ cm}^{-1}$  związane jest z silnie spolaryzowanym drganiem grupy fosforanowej, która występuje w strukturze hydroksyapatytu. Drganie, które odbywa się wzdłuż długiej osi kryształu, pozwala określić ułożenie pryzmatów szklivnych. W realizowanych przez inne grupy badaniach, pasmo to wykorzystywano do oceny ułożenia kryształów apatytów w szkliwie [55, 56], a także w tkance kostnej [57, 58]. W pracach A. C. Ko [59, 60] uzyskano spolaryzowane widma Ramana szkliwa i wyznaczono wartości współczynnika depolaryzacji oraz anizotropii polaryzowalności w obszarze zdrowym i objętym próchnicą. Parametry te pozwoliły rozróżnić obszar zdrowego szkliwa od dotkniętego próchnicą. Rozwój próchnicy w szkliwie powoduje, że struktura staje się bardziej nieuporządkowana, a to prowadzi do zmniejszenia

wartości współczynnika depolaryzacji oraz wzrostu wartości anizotropii polaryzowalności. Zmiany w obszarze próchnicy objawiają się zmianami w intensywności tła w widmie Ramana, które związane są ze zmianą intensywności rozpraszania Rayleigha i emisji fluorescencji [61, 62]. A. C. Ko w swojej pracy stwierdził, że zwiększona porowatość we wczesnej fazie próchnicy zwiększa rozpraszanie światła [60]. Natomiast wzrost emisji fluorescencji związany jest z obecnością związków porfirynewych wytwarzanych przez bakterie jamy ustnej w obszarze próchnicy.

W pracach **H6** i **H10** zbadałem skuteczność spektroskopii ramanowskiej w określaniu specyficznych zmian w składzie i strukturze szkliwa zębów ludzkich dotkniętych próchnicą. W tym celu przeprowadziłem po raz pierwszy pełną analizę zmian wartości parametrów spektralnych widma Ramana uzyskanego z powierzchni tej tkanki. W badaniach przeanalizowałem zmiany wartości wykorzystywanych do tej pory parametrów (współczynnik depolaryzacji i anizotropia polaryzowalności). Ponadto, zaproponowałem wykorzystanie nowych, niewykorzystywanych wcześniej parametrów, jako wskaźników próchnicy, takich jak położenie, szerokość połówkowa (FWHM) oraz kształt linii pasma Ramana. Idealny kształt linii pasma można opisać funkcjami Lorentza lub Gaussa. W dokonanej analizie uzyskałem wartość procentową, która wskazywała stopień dopasowania krzywej (kształtu pasma) do funkcji Gaussa. We wcześniejszych badaniach nad zębami starano się wyeliminować obecność silnej fluorescencji w widmie Ramana [63]. W prowadzonych przeze mnie badaniach, postanowiłem natomiast wykorzystać wartość intensywności tła do potwierdzenia obecności próchnicy w szkliwie. Ponadto, zaproponowałem wyznaczenie wartości stosunku intensywności pasma do intensywności tła. W ten sposób wyznaczony parametr mógłby wyeliminować wpływ warunków pomiarowych (moc lasera, zogniskowanie wiązki itp.) na wynik. W końcowym etapie prac wskazałem, które z zaproponowanych parametrów są czułe na zmiany wywołane próchnicą, a tym samym mogą służyć do jej detekcji. Uzyskanie zależności wartości ww. parametrów od stopnia zaawansowania próchnicy, pozwoliłoby oprzeć diagnostykę na kilku niezależnych parametrach. Takie podejście mogłoby pozwolić na jednoznaczne określenie występowania próchnicy w szkliwie zęba, nawet na wczesnym etapie, przed wykryciem zmian wizualnych.

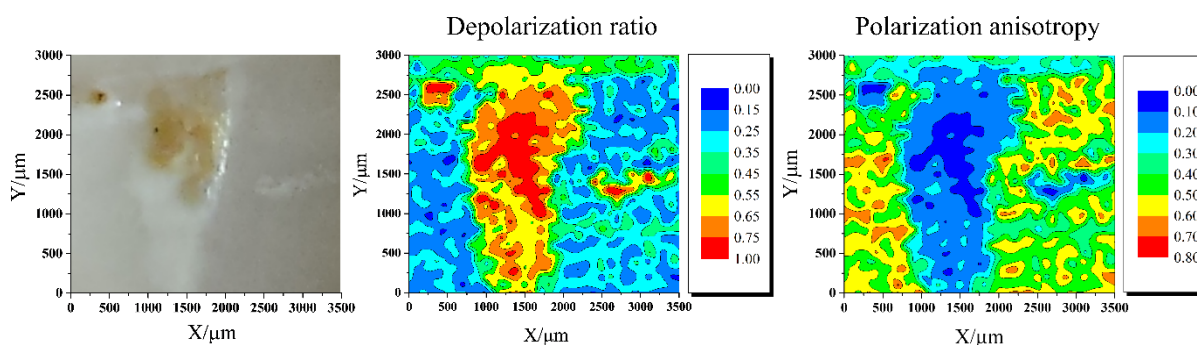
Najistotniejszą różnicą pomiędzy badaniami opisywanymi w pracach **H6** i **H10** był mechanizm powstawania próchnicy. W pracy **H6** badano próchnicę powstałą naturalnie (Rys. 19), natomiast w pracy **H10** próchnicę uzyskano w warunkach laboratoryjnych, poprzez demineralizację szkliwa. Na powierzchni badanych zębów (praca **H6**) wyróżnić można było obszary zdrowego szkliwa oraz szkliwa dotkniętego początkową (biała plama) i zaawansowaną (brunatna plama) próchnicą. Zgodnie z procedurą badawczą przedstawioną we wcześniejszych badaniach spektroskopowych szkliwa, w analizie wykorzystałem pasmo Ramana znajdujące się w położeniu  $959\text{ cm}^{-1}$ . W badaniach omówionych w pracy **H6** widma rejestrowałem po wzbudzeniu wiązką lasera  $785\text{ nm}$  oraz  $514,5\text{ nm}$ , w celu oceny wpływu długości fali wzbudzającej na zmiany intensywności tła.





Rys. 19. Badany ząb z widoczną naturalną próchnicą wraz z zaznaczonym obszarem badań spektroskopowych [H6].

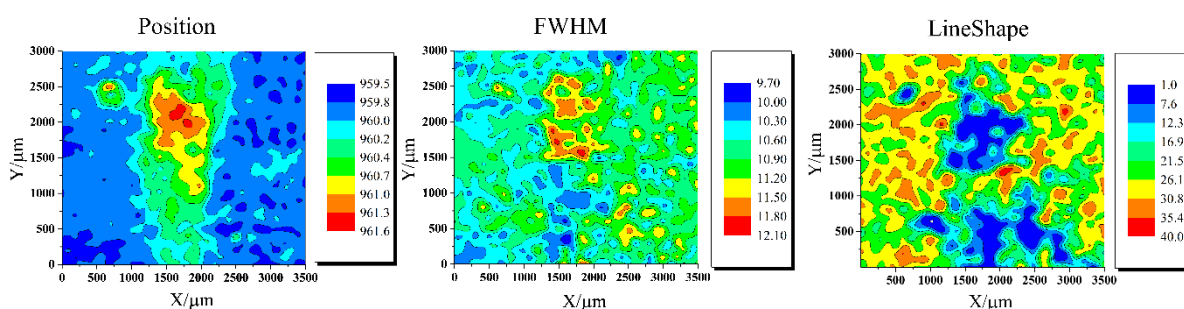
W pracy H6 badaną powierzchnię zębów zobrazowano mikroskopem elektronowym (SEM). Na obrazach SEM trudno było wskazać obszary, które dotknięte były początkową próchnicą. W przeciwieństwie do miejsc występowania próchnicy zaawansowanej, obszar szkliva z próchnicą początkową charakteryzował się brakiem ubytków, czy innych uszkodzeń struktury. W pracy dokładnie opisałem widmo Ramana szkliva oraz przedstawiłem przykładowe widma, na których wykazałem zmiany parametrów opisujących pasmo oraz intensywności tła w zależności od stopnia zaawansowania próchnicy. Dla wszystkich badanych parametrów określiłem korelację między wartościami a stopniem zawansowania próchnicy. Wykonałem analizę pozwalającą wskazać, które spośród otrzymanych wartości różnią się statystycznie istotnie. Szczegółowe wyniki zaprezentowałem w Tabeli 1 w pracy H6. Ponadto, w pracy H6 przedstawiłem analizę zmian wartości omawianych parametrów na powierzchni szkliva z wykorzystaniem mapowania ramanowskiego. Wyniki badań potwierdziły, iż współczynnik depolaryzacji, jak i anizotropia polaryzowalności wskazują obszary o mniejszym uporządkowaniu szkliva (Rys. 20). Ponadto, występuje korelacja wartości tych parametrów z progresją choroby. W kolejnej części badań wykonałem analizę zależności wartości parametrów spektralnych pasma od stopnia zaawansowania próchnicy.



Rys. 20. Obszar zęba poddany mapowaniu ramanowskiemu (po lewej) oraz zmiany wartości współczynnika depolaryzacji i anizotropii polaryzowalności otrzymane na podstawie analizy widm [H6].

Na Rys. 21 przedstawiłem zmiany wartości położenia (position), szerokości połówkowej (FWHM) i kształtu (lineshape) pasma dla obszarów zdrowego i zmienionego chorobowo szkliva. Wyniki badań wskazały na występowanie zależności pomiędzy położeniem pasma i zaawansowaniem choroby. W obszarze odpowiadającym próchnicy przesunięcie pasma

w kierunku większej wartości liczby falowej jest wynikiem przebudowy struktury szkliwa podczas demineralizacji. Pomimo tego, że zmiany położenia pasma są niewielkie, to jednak uzyskane wyniki są powtarzalne i wykazują istotne statystycznie różnice między badanymi grupami. Wartości szerokości połówkowej i kształt pasma zmieniają się pomiędzy szkliwem zdrowym, szkliwem z początkową i zaawansowaną próchnicą dla wszystkich badanych zębów. Zmiany kształtu pasma cechują się silniejszą korelacją z progresją choroby w porównaniu ze zmianami wartości szerokości połówkowej. Ponadto, istnieją statystycznie istotne różnice między wartościami opisującymi kształt pasma w widmach uzyskanych dla szkliwa zdrowego i szkliwa z widoczną próchnicą, zarówno początkową, jak i zaawansowaną. W przypadku wartości szerokości połówkowej widoczne zmiany nie są skorelowane z postępem próchnicy i nie są istotne statystycznie.

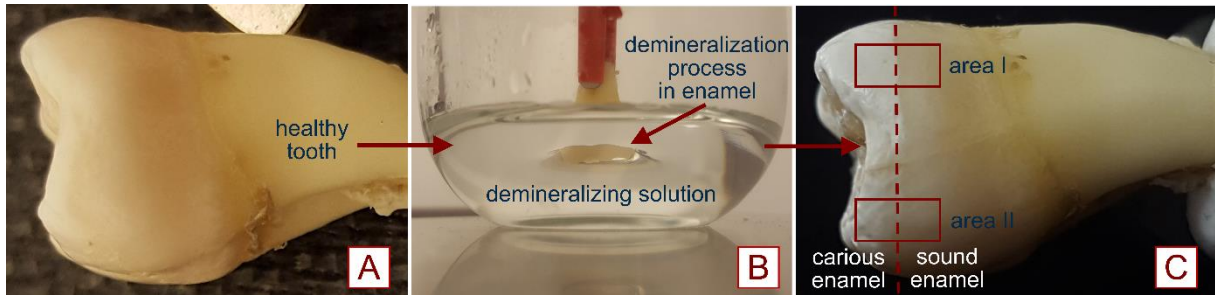


Rys. 21. Zmiany wartości położenia, szerokości połówkowej i kształtu pasma Ramana [H6].

Wyniki badań wykazały silny wzrost intensywności tła w widmach Ramana uzyskanych w obszarze próchnicy w stosunku do wartości uzyskanych w obszarze zdrowego szkliwa, zarówno po wzbudzeniu wiązką lasera 514,5 nm, jak i 785 nm (Rys. 8 w pracy H6). Silny wzrost intensywności tła powodował, że stosunek intensywności pasma do intensywności tła znacznie zmniejszył się w obszarze próchnicy. Dla wszystkich badanych parametrów związanych z tłem wykazałem, iż obserwowane różnice pomiędzy zdrowym szkliwem, próchnicą początkową i zaawansowaną są statystycznie istotne.

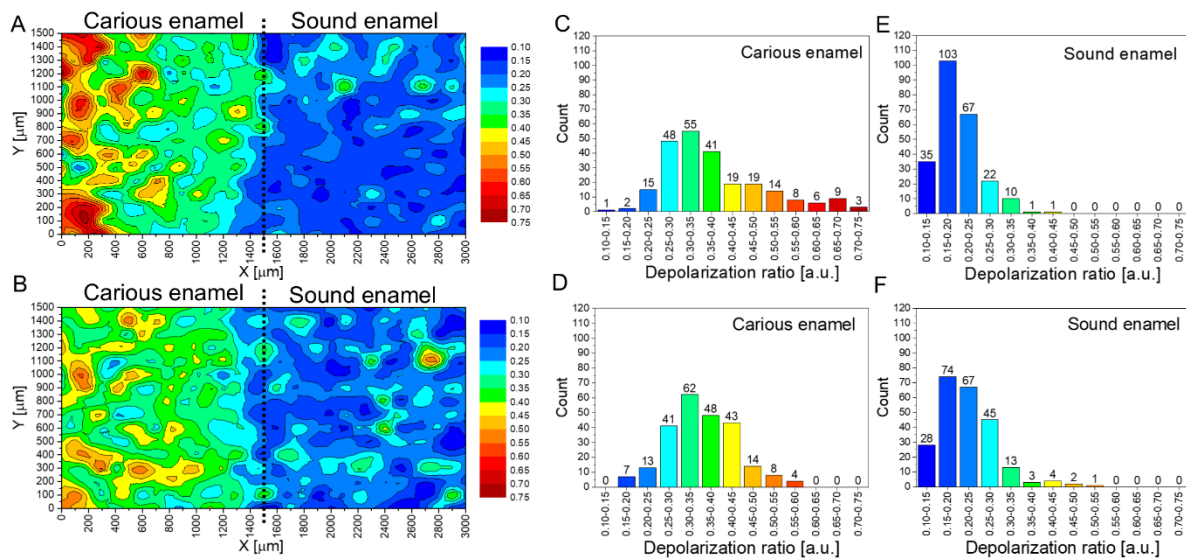
W pracy H6 po raz pierwszy wykazałem, iż parametry spektralne do tej pory niewykorzystywane (położenie i kształt pasma) mogą być użyteczne w detekcji próchnicy. Ponadto, potwierdziłem, że tło w widmie Ramana jest kolejnym cennym wskaźnikiem występowania próchnicy. Taki wynik otworzył drogę do dalszych badań, w których zdecydowałem m.in. wytworzyć próchnicę w sposób kontrolowany.

W pracy H10 dokonałem oceny skuteczności spektroskopii ramanowskiej w określaniu specyficznych zmian w szkliwie człowieka wywołanych indukowaną próchnicą. Wytworzenie próchnicy w warunkach laboratoryjnych pozwoliło na ocenę wartości analizowanych parametrów w zależności od stopnia zaawansowania choroby oraz miejsca występowania. Próchnicę wytworzyłem poprzez zanurzenie zębów w roztworze demineralizacyjnym. Cały proces demineralizacji szkliwa szczegółowo opisałem w pracy H10. Próchnicę wytworzyłem na ludzkich zębach w sposób zapewniający uzyskanie na danej powierzchni zarówno części szkliwa nienaruszonego, jak i części szkliwa zdemineralizowanego (Rys. 22).



Rys. 22. Ludzki ząb trzonowy przed (A) i po (C) wytworzeniu próchnicy oraz proces zanurzenia zęba w roztworze demineralizującym (B) [H10].

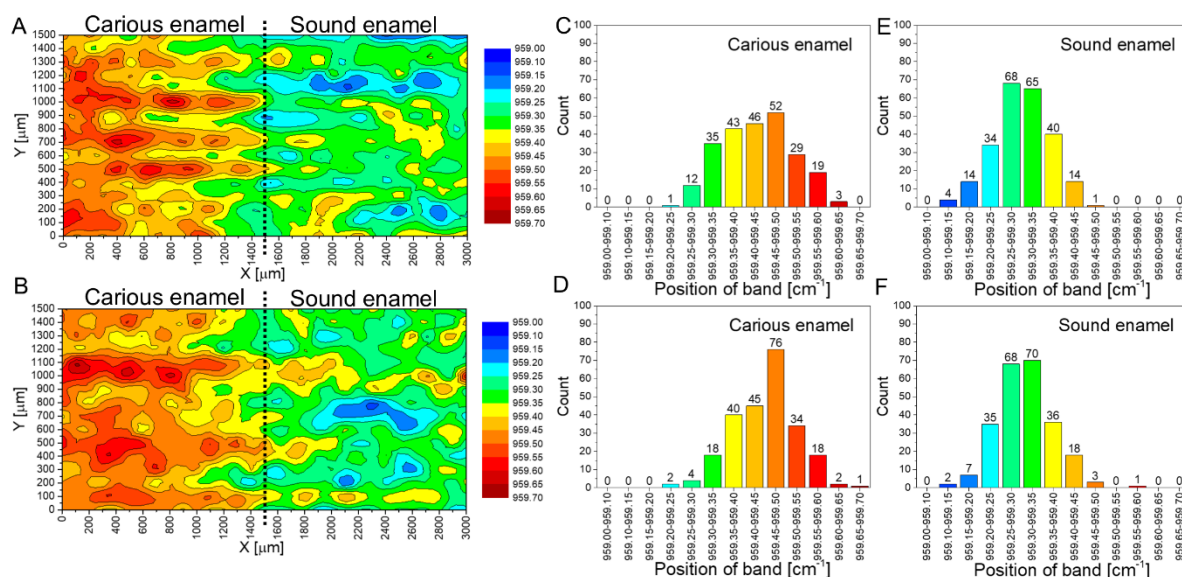
W pracy H10 określiłem i porównałem wartości tych samych parametrów, które badałem w pracy H6. W ocenie zmian wartości parametrów wykorzystałem mapowanie ramanowskie. Obszar mapowania dobrałem w ten sposób, aby połowę widm rejestrowano dla szkliwa zdrowego, a drugą połowę dla szkliwa zdemineralizowanego. Po demineralizacji powierzchnię szkliwa zobrazowano również skaningowym mikroskopem elektronowym. Podobnie jak w badaniu próchnicy naturalnej, zmiany w obrazach SEM nie były widoczne. Na Rys. 23 i 24 zaprezentowałem przykładowe zmiany analizowanych parametrów, odpowiednio wartości współczynnika depolaryzacji oraz położenia pasma. Wyniki uzyskane dla pozostałych parametrów przedstawiłem w pracy H10. Poza parametrem opierającym się na kształcie pasma, różnice między wartościami wszystkich parametrów, uzyskanymi w obszarze zdemineralizowanym i zdrowym, były statystycznie istotne.



Rys. 23. Zmiany wartości współczynnika depolaryzacji na badanych obszarach [H10].

Wyniki uzyskane dla współczynnika depolaryzacji i anizotropii polaryzowalności pokrywały się z wynikami uzyskanymi na powierzchni szkliwa z naturalną próchnicą. Średnia wartość współczynnika depolaryzacji uzyskana w obszarze zdemineralizowanym była prawie równa najniższej wartości odnotowanej dla próchnicy wczesnej „naturalnej” (biała plama). Stwierdziłem, że zdemineralizowane przez nas szkliwo cechuje bardzo wczesne stadium nieuporządkowania struktury. Podobnie jak w badaniu próchnicy naturalnej, zaobserwowałem, że wartość opisująca położenie pasma Ramana rośnie wraz z demineralizacją szkliwa. Średnia

wartość tego parametru uzyskana dla szkliwa dotkniętego próchnicą „sztuczną” odpowiadała wartościom uzyskanym w szkliwie zdrowym przy badaniu próchnicy naturalnej. Oznaczać to może, że zdemineralizowane szkliwo na etapie bardzo wczesnej próchnicy wykazuje zmiany w strukturze, a część szkliwa badanego we wcześniejszej pracy, uznana wcześniej za zdrową, w rzeczywistości mogła ulec niewidocznym zmianom strukturalnym. W pracy **H10** zaobserwowałem, iż intensywność pasma i szerokość połówkowa pasma uległy zmniejszeniu po demineralizacji szkliwa. Kształt pasma, który w poprzednich badaniach był czuły na zmiany w szkliwie pod wpływem naturalnej próchnicy, niestety nie zmieniał się po demineralizacji szkliwa.



Rys. 24. Zmiany położenia pasma na badanych obszarach [H10].

W analizie przeprowadzonej w pracy **H10** wskazałem, które parametry są wrażliwe na zmiany strukturalne wywołane demineralizacją szkliwa. Zaobserwowałem, że niektóre parametry zmieniają swoje wartości w szkliwie dotkniętym próchnicą naturalną, a także w szkliwie dotkniętym próchnicą sztuczną. W obu badaniach wartości parametrów, takich jak współczynnik depolaryzacji, anizotropia polaryzowalności i położenie pasma Ramana, zmieniają się wraz z postępem próchnicy. Ponadto, w pracy zaobserwowałem, że wartości intensywności i szerokości pasma zmieniają się również we wczesnej fazie demineralizacji szkliwa, czego nie zauważono we wcześniejszych badaniach. Niestety, kształt pasma wykazujący zmiany w szkliwie objętym próchnicą naturalną, nie zmieniał się w szkliwie zdemineralizowanym. Stwierdziłem, że zmiany zachodzące na wczesnym etapie demineralizacji szkliwa były zbyt małe, aby wpłynąć na wartość tego parametru.

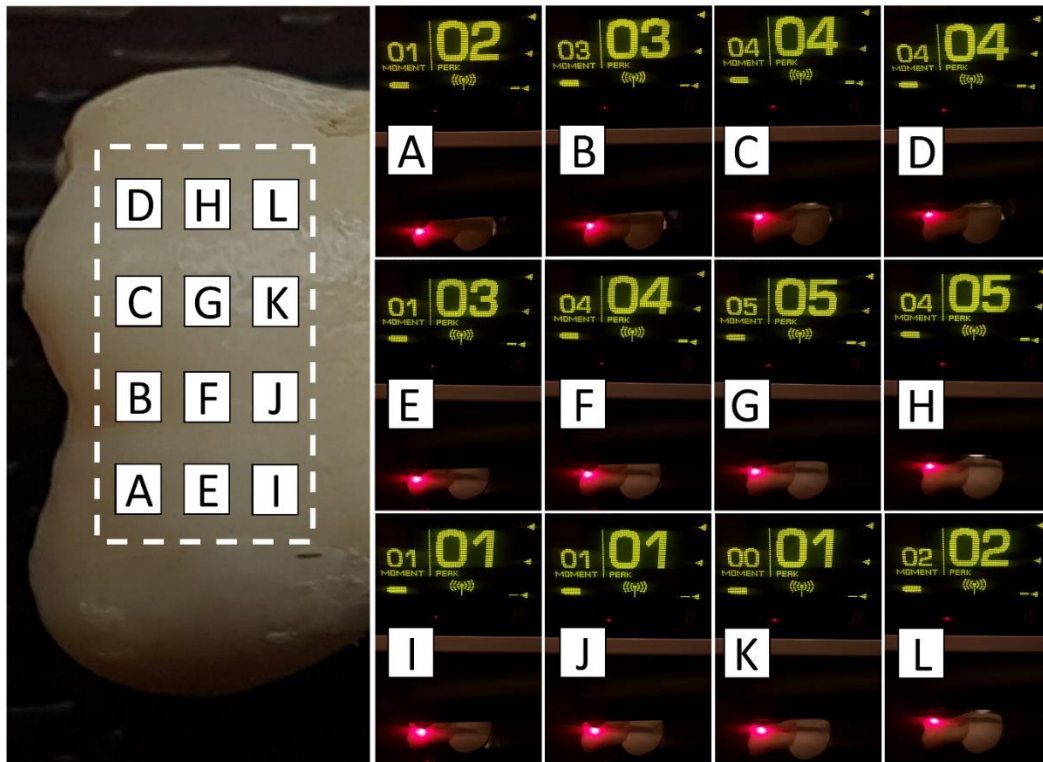
W pracy **H10** potwierdziłem skuteczność spektroskopii Ramana w ocenie zmian w strukturze szkliwa po jego demineralizacji. Na podstawie wyników przedstawionych w pracy **H6** i **H10** wytypowałem parametry, które mogłyby być wykorzystane w diagnostyce próchnicy. Są to współczynnik depolaryzacji (lub anizotropia polaryzowalności), intensywność pasma, położenie pasma oraz intensywność tła. W pracach **H6** i **H10** po raz pierwszy wykazałem, iż kilka niezależnych parametrów uzyskanych podczas jednego badania mogłoby identyfikować obszar występowania próchnicy. Przedstawione wyniki badań stanowią istotny wkład w rozwój spektroskopii Ramana jako metody służącej w diagnostyce próchnicy.

W pracy **H16** skupiłem się na określeniu znaczenia tła w widmie Ramana szkliwa w kontekście diagnostyki próchnicy. Jak wcześniej opisałem, tło w widmie Ramana szkliwa może wskazywać na obecność związków fluorescencyjnych w szkliwie, co z kolei może oznaczać występowanie próchnicy w danym obszarze. W pracy **H16** porównałem wyniki uzyskane za pomocą spektroskopii Ramana z wynikami uzyskanymi urządzeniem DIAGNOdent pen 2190 (KaVo Dental GmbH, Niemcy). Urządzenie to wykorzystywane jest w stomatologii w diagnostyce próchnicy i opiera się na analizie zmian fluorescencji spowodowanych występowaniem związków porfiryńowych [64, 65]. Badania przeprowadzone przez inne grupy badawcze wskazują, iż uzyskiwane tym urządzeniem wyniki są najczęściej niejednoznaczne. DIAGNOdent ma skłonność do podawania fałszywie dodatnich odczytów ze względu na obecność związków fluorescencyjnych w płytce nazębnej, kamieniu nazębnym lub uwieczonych cząstkach jedzenia [66–68].

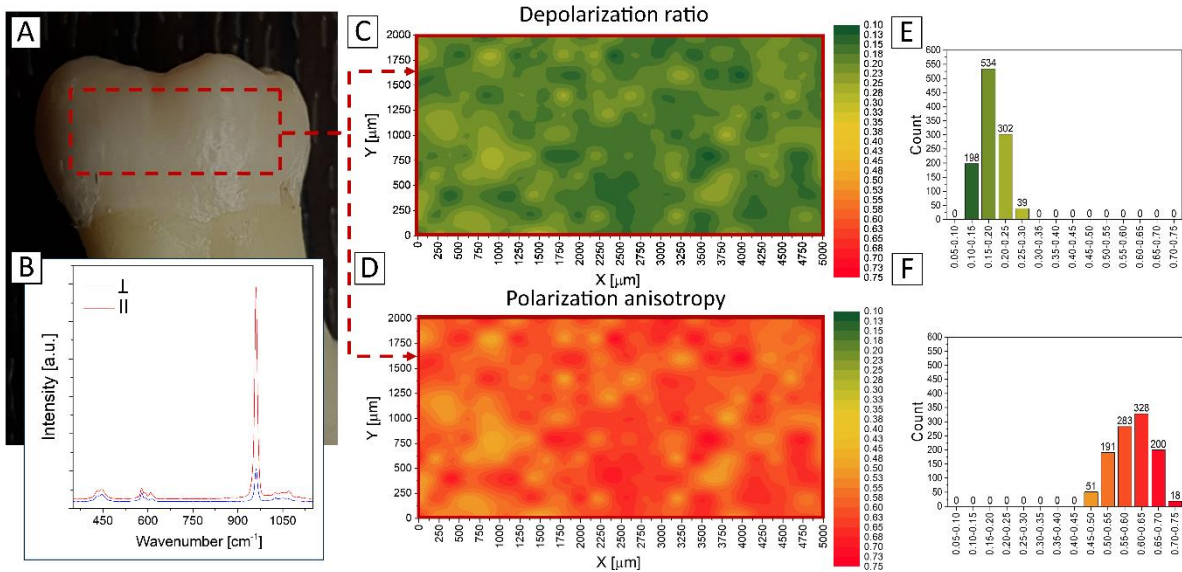
W pierwszym etapie badań dokonano oceny wizualnej zębów. Zęby bez ubytków i zmian w szkliwie zakwalifikowano do kolejnego etapu badań. Przed badaniami spektroskopowymi, zastosowano tomografię stożkową, która potwierdziła, iż w badanych zębach nie występuje próchnica pod szkliwem. W kolejnym etapie sprawdziłem czy struktura szkliwa jest zdrowa na podstawie zaproponowanych we wcześniejszych pracach **H6** i **H10** parametrów. Porównałem wyniki otrzymane na podstawie analizy tła w widmie Ramana z wynikami, które uzyskałem urządzeniem DIAGNOdent. Do określenia źródła zmian fluorescencji wykorzystałem spektroskopię rentgenowską z dyspersją energii (EDS). Wykonano równocześnie obrazowanie powierzchni z wykorzystaniem skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM). Obrazy SEM nie wykazały obecności zmian próchnicowych oraz obecności warstwy związanej z płytką nazębną.

Na Rys. 25 przedstawiłem wyniki uzyskane urządzeniem DIAGNOdent pen dla przykładowej powierzchni szkliwa. Zauważyłem, że w pewnym obszarze szkliwa wartości są wyższe niż w innych. Jednak zgodnie z przyjętą skalą podaną przez producenta (zakres wartości 0-12), szkliwo można uznać za zdrowe. Ponadto, na podstawie wartości współczynnika depolaryzacji i anizotropii polaryzowalności potwierdziłem, iż badana powierzchnia szkliwa jest zdrowa (Rys. 26). Zmiany intensywności pasma oraz tła po wzbudzeniu wiązką lasera 514,5 nm przedstawiłem na Rys 27. Zmiany intensywności pasma nie są znaczące, a zatem nie wskazują na demineralizację szkliwa w żadnym analizowanym obszarze, także w obszarze charakteryzującym się wyższą intensywnością tła. Z kolei wyniki przedstawiające zmiany intensywności tła wskazały na pewne miejsca na szkliwie o wyższych wartościach. Co ważne, wyniki te są zgodne z wynikami uzyskanymi za pomocą urządzenia DIAGNOdent. Na podstawie wyników stwierdziłem, iż nawet niewielkie wartości uzyskane za pomocą DIAGNOdent pen odpowiadają dużym wartościom intensywności fluorescencji w widmach Ramana. Położenie pasma fluorescencyjnego, uzyskane na podstawie położenia maksimum tła, wyznaczyłem przy 598 nm (Rys. 7 w pracy **H16**). Położenie to jest takie samo we wszystkich widmach zebranych na całej analizowanej powierzchni, zarówno w miejscach o niskiej, jak i wysokiej intensywności fluorescencji. Na podstawie literatury stwierdziłem, iż widoczne pasmo fluorescencyjne nie jest związane z autofluorescencją szkliwa [69, 70]. Pasma fluorescencji w zakresie 580–700 nm są typowe dla związków porfiryńowych. Analiza EDS wskazała na obecność takich pierwiastków jak azot i węgiel na powierzchni szkliwa, którą można przypisać związkom porfiryńowym. Procentowa zawartość azotu i węgla była wysoka w obszarze, w którym tło widm ramanowskich było również wysokie. Biorąc pod uwagę wszystkie otrzymane wyniki stwierdziłem, że widoczna fluorescencja może świadczyć o obecności porfiryn na powierzchni szkliwa, jednak znajdują się one w płytce nazębnej i nie są związane z próchnicą [71–76].

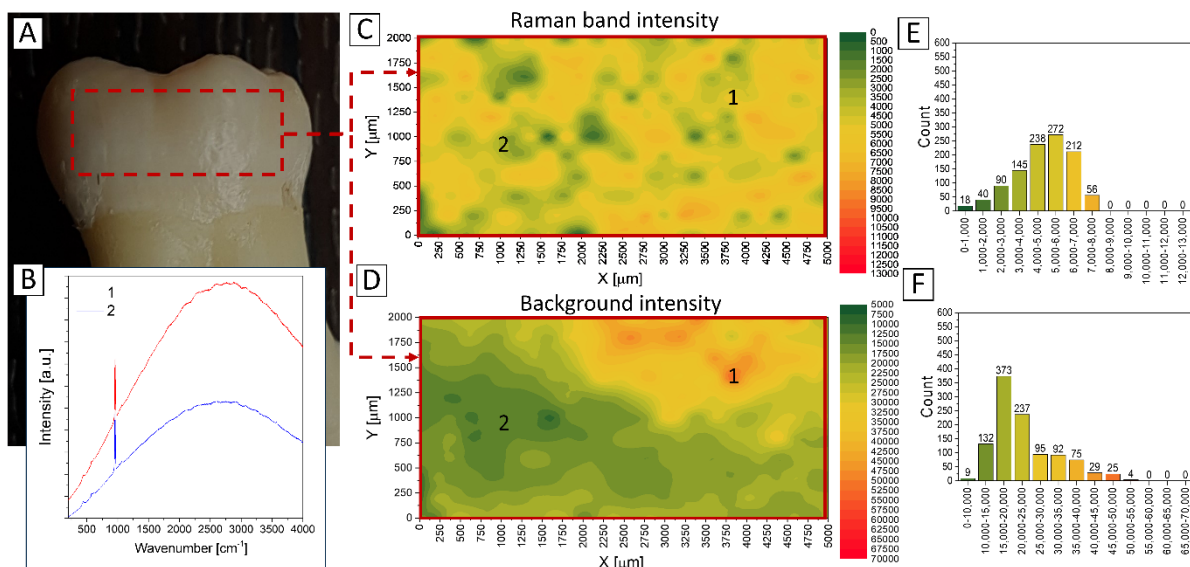




Rys. 25. Obszar pomiaru oraz wyniki uzyskane urządzeniem DIAGNODent pen [H16].



Rys. 26. Zmiany wartości współczynnika depolaryzacji i anizotropii polaryzowalności na badanym obszarze [H16].



Rys. 27. Zmiany wartości intensywności pasma oraz tła na badanym obszarze po wzbudzeniu wiązką laserową 514,5 nm [H16].

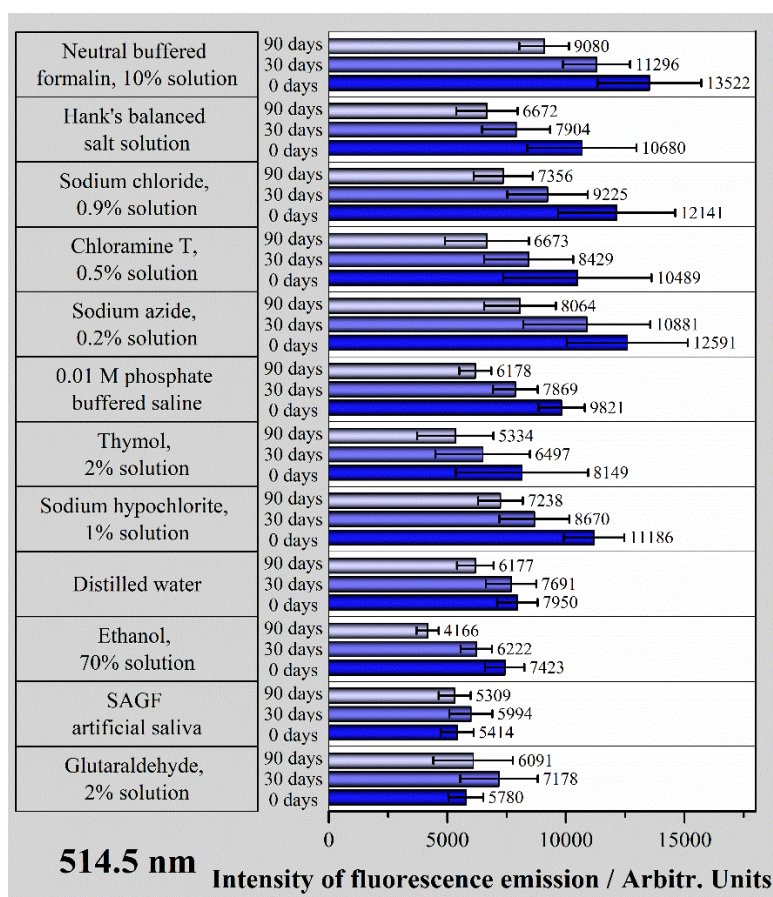
W pracy **H16** dokonałem również analizy zmian wartości parametrów spektralnych pasma Ramana. Uzyskane wartości położenia i szerokości połówkowej pasma były zbliżone do wartości przedstawionych w pracy **H10** dla szkliwa zdrowego. Zwróciłem uwagę, że wartości parametru opartego na kształcie pasma są wyższe w tym samym obszarze szkliwa, w którym fluorescencja jest również wyższa. Może to oznaczać, że wzrost intensywności tła w widmach Ramana może wpływać na wyniki dopasowania krzywej do pasma. Jednak w przypadku analizowanej pracy **H16** nie można wiązać tego wyniku z występowaniem próchnicy.

Wyniki przedstawione w pracy **H16** pozwoliły ocenić zmiany intensywności tła w widmie Ramana pod wpływem obecności związków organicznych na zdrowym szkliwie. Po raz pierwszy porównałem wyniki uzyskane metodą spektroskopii Ramana z wynikami uzyskanymi urządzeniem standardowo wykorzystywanym w stomatologii do wykrywania próchnicy. Wykazałem, iż wyniki uzyskane na podstawie analizy tła w widmie Ramana są zbieżne z wynikami uzyskanymi urządzeniem DIAGNOdent. Zwróciłem uwagę, iż wyniki wskazujące na wzrost fluorescencji, obserwowane w widmach ramanowskich, należy traktować bardzo ostrożnie. Fluorescencja może być związana z obecnością płytki nazębnej, a nie próchnicy. Dlatego istotna jest ocena struktury szkliwa z wykorzystaniem kilku parametrów. Taka procedura badawcza zapewnia, że ostateczny wynik świadczący o obecności próchnicy będzie bardziej jednoznaczny. Przeprowadzone badania potwierdziły tym samym przewagę spektroskopii Ramana nad metodami, które opierają się wyłącznie na analizie fluorescencji.

Badanie zębów ludzkich, wiąże się z odpowiednim ich przechowywaniem. Z jednej strony należy zapobiegać rozwojowi mikroorganizmów na powierzchni materiału, a z drugiej strony zachować strukturę zębów oraz związki nagromadzone na powierzchni szkliwa w postaci nienaruszonej. W literaturze zaproponowano kilka rozwiązań przechowywania tego typu materiału [77-81]. Niestety materiały biologiczne mogą zmieniać swoje właściwości składowe i strukturalne podczas przechowywania. Związki rozpuszczone w roztworze wykorzystywanym do przechowywania tkanek (kondycjonującym) mogą osadzać się na powierzchni lub wnikać w strukturę szkliwa. Maranhao i in. stwierdzili, że zanurzenie w sztucznej ślinie powoduje większe wytrącanie soli na powierzchni szkliwa [79]. Ponadto, w szkliwie przechowywanym w roztworze soli zaobserwowano wzrost porowatości powierzchniowej, charakteryzującej się

większą ilością zagłębień [79]. Szkliwo zanurzone w 0,1% tymolu ujawniło płaski, wypolerowany wygląd powierzchniowy [79]. Możliwe jest również, że obecne w obszarze próchnicy związki porfiryne wykrywalne w pomiarach spektroskopowych mogłyby zostać usunięte podczas przechowywania [82]. Takie zmiany mogą wpływać na parametry widmowe pasm ramanowskich i tym samym zaburzać analizę.

Warunki przechowywania usuniętych zębów nie zostały wystarczająco określone w dotychczasowej literaturze. Strawn i in. przedstawili zmiany spektroskopowe w ludzkiej zębiny poddanej działaniu różnych roztworów do przechowywania [83]. Stwierdzono, że zmiany w strukturze zębiny zachodzą w zależności od wybranego roztworu oraz czasu przechowywania. Jest to jedyne doniesienie literaturowe, w którym na podstawie pomiarów spektroskopowych określono wpływ roztworu do przechowywania na zębiny. Do tej pory nie badano wpływu roztworów do przechowywania na szkliwo. W pracy **H8** przedstawiłem wyniki badań spektroskopowych, które miały na celu zbadać wpływ 12 najczęściej stosowanych roztworów kondycjonujących na powierzchnię szkliwa. Zęby umieściłem w roztworach i przechowywałem w temperaturze 7°C przez 90 dni.



Rys. 28. Wartość intensywności fluorescencji przed, po 30 i 90 dniach od zanurzenia w roztworach [H8].

Widma Ramana uzyskane na powierzchni szkliwa rejestrowałem przed zanurzeniem oraz po 30 i 90 dniach od umieszczenia w roztworze. Dokonałem szczegółowej analizy zmian wartości parametrów spektralnych pasma oraz tła w widmie. Na Rys. 28 przedstawiłem zmiany wartości intensywności tła oceniane dla wszystkich badanych zębów w zależności od czasu zanurzenia w danym roztworze. Dla wszystkich badanych zębów zaobserwowałem intensywne tło fluorescencyjne. Wartość intensywności fluorescencji zmniejszała się wraz z czasem



zanurzenia we wszystkich roztworach do przechowywania, z wyjątkiem sztucznej śliny i aldehydu glutarowego. Dla wszystkich próbek wykazujących spadek intensywności tła (poza szklivem przechowywanym w wodzie destylowanej) zmiany te były istotne statystycznie. Nie zaobserwowałem statystycznie istotnej różnicy między wartościami intensywności fluorescencji szkliwa przed i po 30 dniach przechowywania w wodzie destylowanej. Na podstawie wyników stwierdziłem, że roztwory do przechowywania usunęły związki organiczne z powierzchni szkliwa, które były odpowiedzialne za fluorescencję. Zauważyłem, iż intensywność fluorescencji szkliwa była niższa niż w pozostałych przypadkach jeszcze przed zanurzeniem zębów w sztucznej ślinie i aldehydzie glutarowym. Może to oznaczać, że związki organiczne mogły być w dużo mniejszej ilości obecne na powierzchni tych zębów. Z tego powodu nie zaobserwowałem istotnych zmian fluorescencji po zanurzeniu w ww. roztworach. Ponadto, przeprowadzona przeze mnie analiza wartości innych parametrów pozwoliła wysunąć wniosek, iż badane roztwory do przechowywania nie wpłynęły na strukturę szkliwa.

Uzyskane wyniki wskazały, iż w badaniach zębów znaczenie ma wybór roztworu kondycjonującego. Wymywanie związków organicznych z powierzchni szkliwa nie może być zaniedbywalne. W tym kontekście istotny wynik uzyskano dla wody destylowanej, która przez 30 dni nie wpłynęła na ilość warstwy organicznej na powierzchni szkliwa. W związku z tym, zalecane jest przechowywanie zębów w wodzie destylowanej. Należy jednak pamiętać, że to środowisko nie gwarantuje właściwości antygrzybiczych i antybakteryjnych.

## 5.6. PODSUMOWANIE

Opisane wyniki badań ujęte w pracach **H1-H16** przedstawiają w znacznej części innowacyjne zastosowanie mikrospektroskopii Ramana w ocenie właściwości nowych lub modyfikowanych biomateriałów oraz materiałów biologicznych pochodzenia ludzkiego i zwierzęcego. W ww. pracach przedstawiłem szerokie zastosowanie analizy ramanowskiej materiałów znacznie różniących się strukturalnie, od kompozytów światłoutwardzalnych, przez monolityczne materiały ceramiczne, warstwy organiczno-polimerowe na stopie tytanu, po naturalne tkanki zębów. W prezentowanych pracach moja rola była wiodąca lub na tyle istotna, że bez mojego wkładu merytorycznego, doświadczenia eksperymentalnego i umiejętności, prace te mogłyby nie powstać. Zaproponowanie nowych sposobów analizy zapewniło uzyskanie istotnych informacji, które wskazywały dalsze kierunki badań lub potwierdzały aplikacyjny potencjał badanych materiałów. Bardzo istotne znaczenie, nieopisane w autoreferacie ze względu na niezwykle szczegółowy charakter, miało postępowanie eksperymentalne, w tym uzyskiwanie optymalnych warunków pomiarów. Sposób przeprowadzania badań miał kluczowe znaczenie w kontekście otrzymania dobrych jakościowo danych. W tym kontekście moje duże doświadczenie w realizacji eksperymentów z wykorzystaniem spektroskopii Ramana gwarantowało uzyskanie pewnych wyników, które umożliwiły solidną i realną ocenę właściwości badanych materiałów.

Następujące badania, które realizowałem osobiście w pracach **H1-H16** mają charakter nowatorski:

- analiza zmian stopnia konwersji na powierzchni oraz w głąb materiałów kompozytowych o potencjalnym zastosowaniu w roli wypełnień stomatologicznych [**H1, H2, H4**],

- wykazanie korelacji między wartością stopnia konwersji a zastosowaną metodą badań oraz sposobem polimeryzacji (naświetlanie ciągłe i przerywane materiału) [H1],
- porównanie wyników głębokości utwardzania materiałów kompozytowych uzyskanych wg. normy ISO 4049 z wynikami wartości stopnia konwersji [H2],
- sprawdzenie korelacji między wartościami stopnia konwersji, a wybranymi właściwościami materiałów, w tym potencjałem remineralizacyjnym, rozumianym jako stopień uwalniania wapnia [H4],
- uzyskanie kluczowych wyników badań dotyczących syntezy i modyfikacji nowych napełniaczy w kompozytach stomatologicznych [H12],
- ocena struktury pozyskiwanych i modyfikowanych tkanek zębów bydłęcych m.in. po przeprowadzeniu kompletnego procesu przygotowania powierzchni tkanek do wypełnienia [H3, H7],
- potwierdzenie skuteczności procesu modyfikacji stopu tytanu Ti6Al4V, m.in. poprzez wskazanie obecności oraz ilości związków soli diazoniowych, wykazujących silną fluorescencję i łatwo ulegających niszczeniu w wyniku oświetlania wiązką laserową [H9, H13, H14],
- wykazanie właściwości sorpcyjnych związków o potencjalnym zastosowaniu w lekach antyresorpcyjnych kości [H5, H11],
- uzyskanie istotnych informacji dotyczących syntezy i modyfikacji materiałów symulujących tkankę kostną [H11, H15],
- wskazanie nowych parametrów spektroskopowych do oceny zmian w szklivię wywołanych próchnicę naturalną i „sztuczną” [H6, H10],
- przeprowadzenie szczegółowej analizy intensywności tła fluorescencyjnego w widmie Ramana szklivię oraz sprawdzenie korelacji między wynikami uzyskanymi urządzeniem DIAGNOdent z wynikami uzyskanymi metodą spektroskopii Ramana [H16],
- wykazanie wpływu związków kondycjonujących na powierzchnię szklivię i wskazanie optymalnego roztworu do przechowywania zębów w ramach badań z wykorzystaniem spektroskopii Ramana [H8].

Ponadto, podkreślić należy, że w znacznej większości przypadków prowadzone przeze mnie badania spektroskopowe przyczyniły się do uzyskania charakterystyki innowacyjnych materiałów o zastosowaniu biomedycznym.

Reasumując, przedmiotem mojego osiągnięcia habilitacyjnego jest przede wszystkim wskazanie nowego podejścia eksperymentalnego w wykorzystaniu spektroskopii Ramana do oceny właściwości, jak i potencjału aplikacyjnego materiałów biomedycznych. Przedstawiony powyżej opis badań wskazuje na istotny wkład prac H1-H16 w rozwój inżynierii materiałowej, zarówno w zakresie otrzymywania oraz szczegółowej charakterystyki nowych materiałów, a także stosowanych do tego celu metod badawczych. Cytowania prac świadczą o dużym zainteresowaniu środowiska naukowego wynikami badań. Warto dodać również, iż wszystkie prace zostały opublikowane w czasopiśmie przypisanym przez MEiN do dyscypliny *inżynieria materiałowa*.

## 5.7. PLANY BADAWCZE

Moje plany badawcze dotyczą kontynuacji i rozwinięcia badań nad skutecznością spektroskopii Ramana w detekcji próchnicy. Celem badań jest wytworzenie zmian w szkliwie z udziałem bakterii. Próchnica tak uzyskana miałaby postać najbardziej zbliżoną do obserwowanej naturalnie. Ponadto, wytwarzana byłaby na określonym stopniu zaawansowania. W tym celu planuję aplikować o grant do Narodowego Centrum Nauki, który umożliwiłby mi m.in. zakup nowego systemu ramanowskiego.

Kontynuuję również badania w zakresie charakterystyki nowych materiałów o potencjalnym zastosowaniu biomedycznym. Aktualnie jestem wykonawcą w projekcie badawczym (OPUS 20) pt. *Materiały jonowymienne jako nośniki leków i napełniacze dentystyczne*, który realizowany będzie do 2025 roku. W 2023 roku rozpocznę również trzyletnią działalność w projekcie badawczym (SONATA 17) pt. *Aktywne napełniacze o potencjale remineralizacyjnym do nowych wypełnień stomatologicznych*. W projektach tych będę odpowiedzialny za badania spektroskopowe nowych materiałów o potencjalnym zastosowaniu w roli nośników leków oraz napełniaczy w kompozytach stomatologicznych.

## VI. WYKAZ ISTOTNEJ AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ REALIZOWANEJ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ INSTYTUACJI NAUKOWEJ

### 6.1. STAŻE NAUKOWE

1. **Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego,**  
Klinika Wad Rozwojowych Twarzy, Poznań

Kilkanaście wizyt naukowych w okresie: 1.10.2019 r. – 31.01.2020 r.

Zrealizowane cele: uzyskanie wiedzy i nowych umiejętności eksperymentalnych z wykorzystaniem sprzętu DIAGNOdent pen 2190, który umożliwia wykrywanie próchnicy zębów na podstawie analizy intensywności fluorescencji. Wykonano analizę zmian intensywności fluorescencji powierzchni zębów zdrowych i z próchnicą.

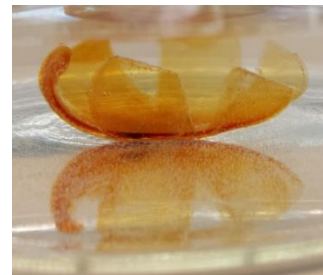
Badania realizowane w zespole dr hab. n. med. Barbary Biedziak

Badania wykonane w ramach stażu zostały zaprezentowane w artykule:  
*The fluorescence background in Raman spectra of sound enamel*, 115 (2021) 103275.

2. **Delft University of Technology,**  
Advanced Soft Matter, Department of Chemical Engineering, Delft, The Netherlands

Staż naukowy w okresie: 5.01 – 1.02.2015 r.

Zrealizowane cele: uzyskanie trójwymiarowej struktury hydrożelu poliakryloamidowego poprzez spontaniczne składanie płaskich arkuszy elastomerowych w wodzie; uzyskanie struktury hydrożelu poliakryloamidowego zawierającego cząstki magnetyczne i zbadanie ich reakcji na obecność pola magnetycznego; uzyskanie wiedzy i umiejętności eksperymentalnych z wykorzystaniem mikroskopii sił atomowych (AFM), którą zastosowano do badań kompozytów na bazie żywic (materiał o potencjalnym zastosowaniu w roli wypełnienia stomatologicznego).



Badania realizowane w zespole prof. Eduardo Mendesa

3. **Uniwersytet Kazimierza Wielkiego,**  
Instytut Fizyki, Wydział Matematyki, Fizyki i Techniki w Bydgoszczy

Staż naukowy w okresie: 17.11. – 30.11.2014 r.

Zrealizowane cele: uzyskanie wiedzy i nowych umiejętności eksperymentalnych z wykorzystaniem skaningowej spektroskopii elektronowej (SEM), spektroskopii dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (EDS), dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego (XRD). Metody te wykorzystano w badaniach ludzkich zębów. Określono strukturę szkliwa zębów zdrowych oraz zmiany w jego budowie wywołane próchnicą.

Badania realizowane w zespole prof. dra hab. Kazimierza Fabisiaka

Część badań wykonanych w ramach stażu zostało zaprezentowanych w artykule:  
*Raman spectroscopy as a tool of early dental caries detection - new insights*, Journal of Raman Spectroscopy 48 (2017) 1094.

## 6.2. PROMOTORSTWO

1. **Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego,**  
Klinika Wad Rozwojowych Twarzy w Poznaniu

### **Promotor pomocniczy pracy doktorskiej**

dr n. med Agata Daktera-Micker

Nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne obroniona 11 maja 2022 z wyróżnieniem.

Tytuł rozprawy doktorskiej: *Wpływ wybranych preparatów hamujących demineralizację szkliwa na jego mikrostrukturę*

Opis prowadzonych badań: Ocena skuteczności azotanu srebra i fluorku diaminosrebra w hamowaniu demineralizacji szkliwa z zastosowaniem spektroskopii Ramana. Ocena stopnia penetracji w szkliwie wybranych lakierów fluorowych z zastosowaniem spektroskopii Ramana. Ocena stopnia działania przeciwpróchnicowego wybranych lakierów fluorowych z zastosowaniem spektroskopii Ramana.

### 6.3. WSPÓŁPRACA NAUKOWA

Poniżej przedstawiono wykaz jednostek i osób (poza jednostkami Politechniki Poznańskiej), z którymi nawiązałem bezpośrednią współpracę.

1. Jednostka: Wydział Lekarski, **Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego** w Poznaniu oraz Szpital Miejski im. Franciszka Raszei w Poznaniu

Współpraca: **dr Adam Piotrowski, dr Błażej Ciesielczyk**

Opis: W wyniku współpracy uzyskano wyniki badań przedstawiające skuteczność spektroskopii Ramana w ocenie składu i mikrostruktury (orientacji włókien kolagenowych) ludzkiej tkanki kostnej gąbczastej. Wyniki badań wskazały, iż spektroskopia Ramana może być skutecznym narzędziem w ocenie budowy tkanki kostnej i być wykorzystana np. w diagnostyce chorób kości.

Artykuł: *Determination of composition and structure of spongy bone tissue in human head of femur by Raman spectral mapping*, J. Mater. Sci.: Mater. Med. 22, 1653–1661 (2011).

2. Jednostka: Wydział Lekarski, **Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego** w Poznaniu

Współpraca: **dr Krzysztof Niciejewski, prof. dr hab. Hanna Krauss**

Opis: W wyniku współpracy uzyskano wyniki badań przedstawiające wykorzystanie spektroskopii Ramana w ocenie składu i struktury tkanki kostnej gąbczastej i podchrzęstnej osób z klinicznymi i radiologicznymi objawami idiopatycznej choroby zwyrodnieniowej stawu biodrowego. Spektroskopia Ramana pozwoliła określić stopień mineralizacji tkanek, ilość grup węglanowych w stosunku do ilości grup fosforanowych oraz jakość kolagenu. Metoda umożliwiła wskazanie zmian zachodzących w tkance kostnej w wyniku progresji choroby.

Artykuł: *Identifying compositional and structural changes in spongy and subchondral bone from the hip joints of patients with osteoarthritis using Raman spectroscopy*, J. Biomed. Opt. 17, 017007 (2012).

3. Jednostka: Katedra i Zakład Biomateriałów i Stomatologii Doświadczalnej, Wydział Medyczny, **Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu**

Współpraca: **prof. dr hab. Beata Czarnecka**

Opis: W wyniku realizacji badań określono siłę wiązania tkanek zęba z wypełnieniem stomatologicznym na podstawie wartości energii powierzchniowej tych materiałów. Ponadto, wyznaczono zmiany powierzchniowe tkanek zębów po zastosowaniu systemu wiążącego. W ramach współpracy zarejestrowano widma rozpraszania Ramana szkliwa i zębiny, przed i po modyfikacji, oraz komponentów systemu wiążącego. Spektroskopia Ramana wskazała zmiany w szkliwie i zębinnie, które zaszły po aplikacji systemu wiążącego.

Artykuły: *Surface energy of bovine dentin and enamel by means of inverse gas chromatography*, *Materials Science and Engineering: C*, 49, 382–389 (2015); *The effect of bonding system application on surface characteristics of bovine dentin and enamel*, *Materials Science and Engineering C*, 76, 1224–1231 (2017).

4. Jednostka: Klinika Wad Rozwojowych Twarzy, Wydział Medyczny, **Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu**

Współpraca: **dr n. med. Agata Daktera-Micker**

Opis: W wyniku współpracy uzyskano wyniki badań wskazujące wpływ związków organicznych na powierzchni zębów na intensywność tła (fluorescencji) w widmie rozpraszania Ramana zdrowego ludzkiego szkliwa. Zmiany te spowodowane były obecnością płytki nazębnej. Wyniki badań są istotne w kontekście wykorzystania w przyszłości spektroskopii Ramana w diagnostyce próchnicy.

Artykuł: *The fluorescence background in Raman spectra of sound enamel*, *Vibrational Spectroscopy* 115, 103275 (2021).

5. Jednostka: Katedra Biotechnologii Medycznej, Wydział Lekarski, **Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu**

Współpraca: **prof. zw. dr hab. n. med. Andrzej Mackiewicz, dr hab. n. med. Hanna Dams-Kozłowska, dr n. med. Katarzyna Jastrzębska**

Opis: W ramach współpracy scharakteryzowano bioinżynieryjny jedwab pajęczy o potencjalnym zastosowaniu w roli nośnika leków np. przeciwnowotworowych. Określono strukturę drugorzędową białek z wykorzystaniem spektroskopii Ramana, w tym obliczono ilości białek w konformacji alfa, beta i nieuporządkowanego kłęбка statystycznego. Prowadzone badania mogą pozwolić na opracowanie nowego podejścia terapii przeciwnowotworowej, które będzie polegało na aktywacji odpowiedzi immunologicznej w mikrośrodowisku guza.

Artykuł: *The method of purifying bioengineered spider silk determines the silk sphere properties*, Scientific Reports 6, 28106 (2016).

6. Jednostka: Zakład Histologii i Embriologii Zwierząt, Instytut Zoologii, **Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu**

Współpraca: dr Kinga Skieresz-Szewczyk, prof. dr hab. Hanna Jackowiak

Opis: W wyniku współpracy określono rodzaj keratyny występującej w języku gęsi domowej. W badaniach zastosowano spektroskopię Ramana, która pozwoliła ocenić strukturę drugorzędową keratyny. Ponadto, w wyniku zastosowania mapowania ramanowskiego określono rozmieszczenie alfa i beta keratyny w języku.

Artykuły: *Localization of alpha-keratins and corneous beta proteins in the lingual nail and epithelium on the ventral surface of the lingual apex in the domestic goose (Anser anser f. domestica) by using immunohistochemistry (IHC) and Raman microspectroscopy analysis*, The Anatomical Record, 300, 1361-1368 (2017); *Alpha-keratin and corneous beta protein in the parakeratinized epithelium of the tongue in the domestic goose (Anser anser f. domestica)*, Journal of Experimental Zoology Part B Molecular and Developmental Evolution 332, 158-166 (2019).

7. Jednostka: Katedra Immunobiologii, Instytut Nauk Biologicznych, **Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej**, Lublin

Współpraca: dr hab. Marta Fiołka, prof. UMCS

Opis: W ramach współpracy wykonano charakterystykę białek przeciwgrzybiczej i przeciwnowotworowej frakcji uzyskanej z płynu celomatycznego dżdżownicy *Dendrobaena veneta* oraz z ekstraktu z nasion rośliny *Sida hermaphrodita*. Określono na podstawie widm Ramana m.in. strukturę drugorzędową białek ww. materiałów oraz jej zmiany w zależności od temperatury.

Artykuły: *Metabolic, structural, and proteomic changes in Candida albicans cells induced by the protein-carbohydrate fraction of Dendrobaena veneta coelomic fluid*, Scientific Reports 11, 16711 (2021), *Candida albicans cell wall as a target of action for the protein-carbohydrate fraction from coelomic fluid of Dendrobaena veneta*, Scientific Reports, 10, 16352 (2020); *Sida hermaphrodita seeds as the source of anti - Candida albicans activity*, Scientific Reports 9, 12233 (2019); *Anti-Candida albicans effect of the protein-carbohydrate fraction obtained from the coelomic fluid of earthworm Dendrobaena veneta*, PLoS One 14(3), e0212869 (2019).

8. Jednostka: Institute for Biostatistics and Informatics in Medicine and Ageing Research, **University of Rostock**, Germany

Współpraca: **dr Marcin Siatkowski**

Opis: W wyniku współpracy potwierdzono, iż różnice wartości parametrów uzyskanych na podstawie widm rozpraszania Ramana tkanki kostnej zdrowej i tkanki kostnej z klinicznymi i radiologicznymi objawami idiopatycznej choroby zwyrodnieniowej stawu biodrowego są istotne statystycznie.

Artykuł: *Identifying compositional and structural changes in spongy and subchondral bone from the hip joints of patients with osteoarthritis using Raman spectroscopy*, J. Biomed. Opt. 17, 017007 (2012).

9. Jednostka: **Narodowe Centrum Badań Jądrowych** w Otwocku, **Royal Institute of Technology KTH**, Stockholm, Sweden

Współpraca: **prof. Wacław Gudowski**, **mgr inż. Zuzanna Krajewska**

Opis: Celem współpracy jest określenie przyczyn uszkodzeń występujących w cząstce paliwa TRISO (tristructural-isotropic, czyli izotropowe trójwarstwowe) wykorzystywanych w wysokotemperaturowych reaktorach chłodzonych gazem HTGR obserwowanych po napromieniowaniu cząstek w warunkach normalnych i awaryjnych. W tym celu zastosowano spektroskopię Ramana, która pozwala wskazać zmiany w strukturze cząstek TRISO powstałe w wyniku napromieniowania.

Artykuł: *Front-end investigations of the coated particles of nuclear fuel samples – ION polishing method*, Nuclear Engineering and Technology 54, 1935-1946 (2022).

---

Poniżej przedstawiono wykaz jednostek oraz osób (poza jednostkami Politechniki Poznańskiej) uczestniczących w powstawaniu prac, których jestem współautorem:

10. Jednostka: Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, **Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej**, Lublin  
dr hab. Jolanta Kutkowska; prof. dr hab. Teresa Urbanik-Sypniewska, dr hab. Roman Paduch, prof. UMCS, mgr Jerzy Wydrych, dr hab. Ewa Szczuka, prof. UMCS; mgr Kinga Lewtak, prof. dr hab. Jolanta Rzymowska
11. Jednostka: Instytut Nauk Chemicznych, Wydział Chemii, **Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej**, Lublin  
dr Katarzyna Stępnik, dr Weronika Sofińska-Chmiel
12. Jednostka: Laboratorium Spektrometrii Mas, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii **Uniwersytet Gdański & Gdański Uniwersytet Medyczny**, Gdańsk  
dr hab. Paulina Czaplewska, prof. UG; dr Katarzyna Macur



13. Jednostka: Katedra Chemii Biomedycznej, Wydział Chemii, **Uniwersytet Gdański**, Gdańsk  
**dr hab. Zbigniew Kaczyński, prof. UG, dr hab. inż. Aneta Szymańska, prof. UG**
14. Jednostka: Zakład Fizyki Makromolekularnej, Wydział Fizyki, **Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu**, Poznań  
**prof. dr hab. Maciej Kozak, dr Zuzanna Pietralik-Molińska**
15. Jednostka: Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, **Comenius University**, Slovakia  
**prof. dr. Josef Jampilek**
16. Jednostka: Department of Chemical Theory of Drugs, Faculty of Pharmacy, **Comenius University**, Slovakia  
**dr. Milos Lukaciloš Lukáč, prof. Ferdinand Devínsky**
17. Jednostka: Instytut Metali Nieżelaznych, **Sieć Badawcza Łukasiewicz**, Poznań  
**dr hab. inż. Katarzyna Lota, dr inż. Agnieszka Sierczyńska**
18. Jednostka: Katedra Chemii Bioorganicznej, Wydział Chemiczny, **Politechnika Wrocławska**  
**dr inż. Ewa Chmielewska, prof. dr hab. inż. Paweł Kafarski**
19. Jednostka: Instytut Technologii Chemicznej Nieorganicznej i Inżynierii Środowiska, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, **Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie**  
**dr hab. inż. Dariusz Moszyński, prof. ZUT**
20. Jednostka: Centrum Zaawansowanych Technologii, **Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu**, Poznań  
**dr inż. Marek Nowicki**
21. Jednostka: Centrum NanoBioMedyczne, **Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu**, Poznań  
**dr Patryk Florczak, dr Barbara Peplińska, mgr Ahmed Subrati, prof. dr hab. Stefan Jurga**
22. Jednostka: Instytut Fizyki Molekularnej **Polskiej Akademii Nauk**, Poznań  
**dr hab. Lesław Smardz**
23. Jednostka: Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, **Akademia Górniczo-Hutnicza**, Kraków  
**dr hab. inż. Marek Nocuń**
24. Jednostka: Akademickie Centrum Materiałów i Nanotechnologii, **Akademia Górniczo-Hutnicza**, Kraków  
**dr inż. Tomasz Tokarski**

## VII. WYKAZ OSIĄGNIĘĆ DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ

### 7.1. OSIĄGNIĘCIA DYDAKTYCZNE

#### 7.1.1. Prowadzone zajęcia

Zajęcia dydaktyczne dla studentów prowadzę od 2013 roku. Przedstawione przedmioty prowadzone były na Politechnice Poznańskiej dla studentów pierwszego i drugiego stopnia nauczania, studiów dziennych i zaocznych, na kilku kierunkach studiów, w szczególności Fizyka Techniczna i Edukacja Techniczno-Informatyczna.

#### 1. **Wykłady:**

- Nazwa przedmiotu: **Fizyka / Fizyka doświadczalna / Fizyka techniczna**  
Opis: Wykład, który przybliży studentom pierwszego i drugiego roku studiów inżynierskich różnych kierunków studiów Politechniki Poznańskiej zagadnienia z obszaru fizyki klasycznej i współczesnej.
- Nazwa przedmiotu: **Aspekty fizyki XXI wieku**  
Opis: Wykład, który przedstawia studentom ostatniego roku studiów inżynierskich zagadnienia z obszaru fizyki współczesnej, w szczególności fizyki XXI wieku.

#### 2. **Ćwiczenia**

- Nazwa przedmiotu: **Fizyka / Fizyka doświadczalna / Fizyka techniczna**  
Opis: Zajęcia rachunkowe, podczas których studenci pierwszego roku studiów inżynierskich różnych kierunków studiów Politechniki Poznańskiej obliczają zadania z obszaru fizyki klasycznej.
- Nazwa przedmiotu: **Materiały funkcjonalne**  
Opis: Zajęcia prowadzone są w formie seminariów, podczas których omawiane są przez studentów pierwszego roku studiów magisterskich kierunku Edukacja Techniczno-Informatyczna materiały funkcjonalne, które są lub mogą być w przyszłości wykorzystywane w przemyśle, medycynie lub życiu codziennym.
- Nazwa przedmiotu: **Wstęp do nauki o materiałach**  
Opis: Zajęcia rachunkowe, podczas których studenci drugiego roku studiów inżynierskich kierunku Edukacja Techniczno-Informatyczna, obliczają zadania pozwalające określić strukturę oraz zjawiska zachodzące w materiałach (ciałach stałych).

#### 3. **Laboratoria**

- Nazwa przedmiotu: **I pracownia fizyczna**

Opis: Zajęcia laboratoryjne dla studentów pierwszego roku studiów inżynierskich różnych kierunków studiów Politechniki Poznańskiej przedstawiają w formie eksperymentalnej najważniejsze zjawiska fizyczne oraz przybliżają podstawowe zasady i prawa fizyczne.

- Nazwa przedmiotu: **II pracownia fizyczna – zaawansowane laboratorium**

Opis: Zaawansowane zajęcia laboratoryjne dla studentów drugiego roku studiów inżynierskich kierunku Fizyka Techniczna przedstawiają w formie eksperymentalnej najważniejsze zjawiska fizyczne oraz przybliżają podstawowe zasady i prawa fizyczne.

- Nazwa przedmiotu: **Pracownia specjalistyczna**

Opis: W zajęciach uczestniczą studenci trzeciego roku studiów inżynierskich, przed przystąpieniem do badań związanych z pracą dyplomową. Przedmiot przybliży studentom metody, które w kolejnych semestrach wykorzystują w badaniach realizowanych w ramach pracy inżynierskiej. Przedmiot kończy się przygotowaniem przez studenta pracy przejściowej, która jest preludium do pracy inżynierskiej.

### 7.1.2. Promotorstwo oraz opieka nad studentami i doktorantami

1. **Promotor pomocniczy pracy doktorskiej**, od 2018, nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne, obroniona 11 maja 2022 z wyróżnieniem.

Doktorantka: dr n med. Agata Daktera-Micker,

Miejsce: Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu,

Tytuł: *Wpływ wybranych preparatów hamujących demineralizację szkliwa na jego mikrostrukturę*

Opis prowadzonych badań: Ocena skuteczności azotanu srebra i fluorku diaminosrebra w hamowaniu demineralizacji szkliwa z zastosowaniem spektroskopii Ramana. Ocena stopnia penetracji w szkliwie wybranych lakierów fluorowych z zastosowaniem spektroskopii Ramana. Ocena stopnia działania przeciwróżnicowego wybranych lakierów fluorowych z zastosowaniem spektroskopii Ramana.

2. **Opiekun pracy doktorskiej**, od 2018, planowana obrona w 2023,

Doktorantka: mgr inż. Joanna Szczuka,

Miejsce: Politechnika Poznańska,

Opis prowadzonych badań: Modyfikacja powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V, który standardowo stosowany jest w endoprotezach kości. Modyfikacja stopu ma na celu polepszenie właściwości endoprotezy, m.in. wzrost osteointegracji.

3. **Promotor pracy magisterskiej**, praca obroniona w 2022,

Studentka: mgr inż. Kamila Sawicka,

Miejsce: Politechnika Poznańska,

Tytuł: *Stworzenie aplikacji komputerowej typu progressive web app umożliwiającej dokonanie oceny dorobku naukowego pracownika Politechniki Poznańskiej,*

4. **Promotor pracy inżynierskiej**, praca obroniona w 2022,  
Student: inż. Jakub Zmyślony,  
Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Wpływ właściwości napełniaczy na efektywność polimeryzacji kompozytów na bazie żywic metakrylowych*,
5. **Promotor pracy magisterskiej**, praca obroniona w 2021,  
Studentka: mgr inż. Malwina Sidoruk,  
Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Badanie wpływu warunków pomiarowych na parametry spektralne pasm w widmie rozpraszania Ramana ludzkiego szkliwa zdrowego i z początkową próchnicą*,
6. **Promotor pracy inżynierskiej**, praca obroniona w 2021,  
Studentka: inż. Kamila Sawicka,  
Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Stworzenie i zastosowanie aplikacji komputerowej do oceny dorobku naukowego pracownika oraz całego podmiotu Politechniki Poznańskiej*,
7. **Promotor pracy magisterskiej**, praca obroniona w 2018,  
Studentka: mgr inż. Patrycja Sas,  
Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Określenie wpływu preparatów na bazie fluorku sodu na szkliwo ludzkich zębów w zależności od konsystencji aplikowanej substancji*,
8. **Promotor pracy magisterskiej**, praca obroniona w 2018,  
Student: mgr inż. Mikołaj Wichłacz,  
Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Badanie skuteczności fluorku diaminasrebra w zapobieganiu demineralizacji szkliwa ludzkich zębów*,
9. **Promotor pracy magisterskiej**, praca obroniona w 2018,  
Studentka: mgr inż. Joanna Szczuka,  
Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Charakterystyka warstwy poliuretanowej uzyskanej w procesie modyfikacji powierzchni stopu tytanu Ti-6Al-4V*,
10. **Promotor pracy inżynierskiej**, praca obroniona w 2018,  
Studentka: inż. Zofia Hoffmann,  
Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Optymalizacja procesu wytwarzania warstwy hydroksyapatytu jako struktury symulującej powierzchnię tkanki kostnej*,
11. **Promotor pracy inżynierskiej**, praca obroniona w 2018,

Student: inż. Mateusz Nitka,

Miejsce: Politechnika Poznańska,

Tytuł: *Ocena skuteczności procesów interkalacji grafitu tlenem metodą spektroskopii Ramana,*

12. **Promotor pracy inżynierskiej**, praca obroniona w 2016,

Student: inż. Jędrzej Pastuszek,

Miejsce: Politechnika Poznańska,

Tytuł: *Optymalizacja doboru związków antyresorpcyjnych poprzez ocenę ich sorpcji na hydroksyapatycie,*

13. **Promotor pracy inżynierskiej**, praca obroniona w 2016,

Studenta: mgr inż. Zuzanna Krajewska,

Miejsce: Politechnika Poznańska,

Tytuł: *Metodologia wytwarzania sztucznie próchnicy w szkliwie zębów o danym stopniu zaawansowania,*

14. **Promotor pracy inżynierskiej**, praca obroniona w 2016,

Student: mgr inż. Mikołaj Wichłacz,

Miejsce: Politechnika Poznańska,

Tytuł: *Konstrukcja oraz zastosowanie przyrządu umożliwiającego miejscowe wytworzenie sztucznej próchnicy w szkliwie ludzkich zębów,*

15. **Promotor pracy inżynierskiej**, praca obroniona w 2016,

Studentka: mgr inż. Joanna Szczuka,

Miejsce: Politechnika Poznańska,

Tytuł: *Optymalizacja procesu modyfikacji ziaren tytanowych (Ti-6Al-4V) solami diazoniowymi,*

16. **Opiekun pracy magisterskiej**, praca obroniona w 2015,

Studentka: mgr inż. Monika Drabik

Miejsce: Politechnika Poznańska,

Tytuł: *Charakterystyka struktury kolagenu wybranymi metodami mikroskopowymi.*

### **7.1.3. Recenzje prac dyplomowych**

1. **Recenzja pracy magisterskiej**, 2022,

Studentka: mgr inż. Katarzyna Tomczak,

Miejsce: Politechnika Poznańska,

Tytuł: *Wpływ absorpcji wodoru na właściwości magnetyczne warstw wielokrotnych Fe/Gd,*

2. **Recenzja pracy inżynierskiej**, 2021,

Student: inż. Wojciech Jurga,

- Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Badania oporu mechanicznego w przekładniach zębatych mechanizmów zliczających w urządzeniach pomiarowych,*
3. **Recenzja pracy inżynierskiej, 2020,**  
Student: inż. Mikołaj Kortus,  
Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Biznesowa aplikacja internetowa baz danych,*
  4. **Recenzja pracy inżynierskiej, 2020,**  
Student: inż. Łukasz Michalak,  
Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Biznesowa aplikacja internetowa baz danych,*
  5. **Recenzja pracy magisterskiej, 2018,**  
Studentka: mgr inż. Marta Boruta,  
Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Badanie poziomu penetracji barwników organicznych w skórze metodą spektroskopii Ramana i mikroskopii fluorescencyjnej,*
  6. **Recenzja pracy magisterskiej, 2018,**  
Studentka: mgr inż. Maria Wiśniewska,  
Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Charakteryzacja nowej klasy formulacji leków na bazie naproksenu z zastosowaniem technik mikroskopowych,*
  7. **Recenzja pracy inżynierskiej, 2018,**  
Student: inż. Damian Kozicki,  
Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Opracowanie technologii wytwarzania kompozytów epoksydowych o obniżonej palności modyfikowanych poli(chlorkiem winylu),*
  8. **Recenzja pracy inżynierskiej, 2018,**  
Student: inż. Michał Roszkiewicz,  
Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Wpływ wstępnego przygotowania napełniaczy odpadowych pochodzących z przemysłu rolno-spożywczego na właściwości kompozytów poliestrowych,*
  9. **Recenzja pracy inżynierskiej, 2016,**  
Studentka: mgr inż. Maria Wiśniewska,  
Miejsce: Politechnika Poznańska,  
Tytuł: *Badania spektroskopowe nowej formulacji postaci leku meloksykam,*
  10. **Recenzja pracy inżynierskiej, 2016,**

Studentka: mgr inż. Marta Boruta,

Miejsce: Politechnika Poznańska,

Tytuł: *Opracowanie metodologii obrazowania formulacji postaci leków metodami mikroskopowymi.*

## 7.2. OSIĄGNIĘCIA ORGANIZACYJNE

### 7.2.1. Sprawowane funkcje organizacyjne

1. **Członek Komisji Rekrutacyjnej** na studia II stopnia na Wydziale Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej Politechniki Poznańskiej w roku **2023**,
2. **Członek Komisji Odbioru tematów badawczych** realizowanych na Wydziale Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej Politechniki Poznańskiej w roku **2023**,
3. **Członek Komisji Doktorskiej** w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora mgr inż. Jagodzie Nowak-Grzebyta, sekretarz, **2022–2023**,
4. **Członek Komisji Rekrutacyjnej** na studia II stopnia na Wydziale Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej Politechniki Poznańskiej w roku **2022**,
5. **Członek Komisji Odbioru tematów badawczych** realizowanych na Wydziale Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej Politechniki Poznańskiej w roku **2022**,
6. **Członek Senackiej Komisji ds. Ustaw, Statutu i Regulaminów** Politechniki Poznańskiej na kadencję **2020–2024**,
7. **Członek Komisji Odbioru tematów badawczych** realizowanych na Wydziale Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej Politechniki Poznańskiej w roku **2021**,
8. **Członek Komisji Rekrutacyjnej** na studia II stopnia na Wydziale Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej Politechniki Poznańskiej w roku **2021**,
9. **Członek Senatu Politechniki Poznańskiej** na kadencję **2020–2024**,
10. **Członek Rady Wydziału** Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej na kadencję **2020–2024**,
11. **Członek Komisji Odbioru tematów badawczych** realizowanych na Wydziale Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej Politechniki Poznańskiej w roku **2020**,
12. **Członek Komisji Odbioru tematów badawczych** realizowanych na Wydziale Fizyki Technicznej Politechniki Poznańskiej w roku **2019**,

13. Członek przygotowujący Raport Samooceny dla Polskiej Komisji Akredytacyjnej dla kierunku fizyka techniczna i kierunku edukacja techniczno-informatyczna na Wydziale Fizyki Technicznej w roku 2018,
14. Przewodniczący Wydziałowego Samorządu Doktorantów na Wydziale Fizyki Technicznej na kadencję 2012–2014,
15. Członek i przedstawiciel Doktorantów w Radzie Wydziału Fizyki Technicznej na kadencję 2012–2016,
16. Członek Wydziałowej Komisji ds. Kształcenia na Wydziale Fizyki Technicznej na kadencję 2012–2016,
17. Członek Wydziałowego Zespołu ds. Zapewnienia Jakości Kształcenia na Wydziale Fizyki Technicznej na kadencję 2012–2016,
18. Członek Wydziałowej Komisji Skrutacyjnej na Wydziale Fizyki Technicznej na kadencję 2012–2016,
19. Członek Wydziałowej Komisji Wyborczej na Wydziale Fizyki Technicznej na kadencję 2012–2016,
20. Członek Uczelnianej Komisji Dyscyplinarnej dla Doktorantów na kadencję 2013–2014,
21. Członek Wydziałowej Komisji Rekrutacyjnej na Studia Doktoranckie „Fizyka Techniczna” na rok akademicki 2013/2014,
22. Członek Wydziałowej Komisji Stypendialnej dla Doktorantów na rok akademicki 2013/2014,
23. Członek Odwoławczej Komisji Stypendialnej dla Doktorantów na rok akademicki 2013/2014.

#### **7.2.2. Udział w komitetach organizacyjnych konferencji naukowych**

Informacje nt. udziału w komitetach organizacyjnych konferencji naukowych zostały przedstawione w Załączniku nr 3 „Wykaz osiągnięć naukowych”.

#### **7.3. OSIĄGNIĘCIA POPULARYZUJĄCE NAUKĘ**

1. Prowadzenie zajęć dla uczniów szkół średnich w ramach akcji „Drzwi otwarte na Politechnice Poznańskiej”, 2023.
2. Udział w audycji „Polipodcast – człowiek, nauka, biznes, podcast Politechniki Poznańskiej, program finansowany ze środków MEiN pod nazwą „Nauka dla Społeczeństwa”, 2022.



3. Prowadzenie warsztatów naukowych pt. „Raman spectroscopy application in materials science” dla doktorantów z University of Technology Sydney, 2022.
4. Przygotowanie wraz z dr Krzysztofem Łapsą z Wydziału Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej 25 multimedialnych materiałów dydaktycznych z przedmiotu *I pracownia fizyczna* dla studentów Politechniki Poznańskiej, 2020–2021. Filmy umieszczono na portalu YouTube. Na dzień 02.03.2023 uzyskały ponad 110 tysięcy wyświetleń.
5. Prowadzenie zajęć wyrównawczych dla studentów I roku Politechniki Poznańskiej, 2018,
6. Wygłoszenie wykładu dla uczniów III L.O. w ramach akcji „Dzień Chemii” pt. *Mikrospektroskopia Ramana jako skuteczne narzędzie pracy w biologii, chemii i medycynie*, Poznań, 15.04.2016,
7. Przygotowanie materiałów dydaktycznych pt. *Uzupełniający kurs z fizyki dla studentów I roku Politechniki Poznańskiej*, w latach 2015, 2016, 2017,
8. Wygłoszenie wykładu inauguracyjnego dla studentów I roku Wydziału Fizyki Technicznej pt. *CSI – kryminalne (naukowe) zagadki WFT*, 2014/2015,
9. Opiekun projektu w Kole Naukowym Nanoinżynierii Molekularnej, 2012/2013, 2013/2014,
10. Współorganizowanie szkoły międzynarodowej „Summer School on Microsystems Technology” na Wydziale Fizyki Technicznej, w latach 2012 i 2013,
11. Prowadzenie zajęć w ramach programu „Klasa akademicka” dla uczniów szkół średnich na Wydziale Fizyki Technicznej w roku akademickim 2009/10,
12. Współorganizowanie cykli wykładów „Piękno Fizyki” na Wydziale Fizyki Technicznej w roku akademickim 2008/09.

#### VIII. POZOSTAŁE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWO-BADAWCZE

Pozostałe osiągnięcia naukowo badawcze zostały przedstawione w Załączniku nr 3 „Wykaz osiągnięć naukowych”.

## IX. LITERATURA

1. U. Lohbauer, C. Rahiotis, N. Kramer, A. Petschelta, G. Eliades, The effect of different light-curing units on fatigue behavior and degree of conversion of a resin composite, *Dental Materials* 21 (2005) 608;
2. N. Silikas, G. Eliades, D.C. Watts, Light intensity effects on resin-composite degree of conversion and shrinkage strain, *Dental Materials* 16 (2000) 292;
3. J.W. Stansbury, S.H. Dickens, Determination of double bond conversion in dental resins by near infrared spectroscopy, *Dental Materials* 17 (2001) 71;
4. S. Imazato, J.F. McCabe, H. Tarumi, A. Ehara, S. Ebisu, Degree of conversion of composites measured by DTA and FTIR, *Dental Materials* 17 (2001) 178;
5. M. Cadenaro, B. Codan, C. O. Navarra, G. Marchesi, G. Turco, R. Di Lenarda, L. Breschi, Contraction stress, elastic modulus, and degree of conversion of three flowable composites, *The European Journal of Oral Sciences* 119 (2011) 241;
6. K. Obradovic-Djuricic, V. Medic, M. Radisic, M. Laušević, Correlation between the degree of conversion and the elution of leachable components from dental resin-based cements, *Journal of the Serbian Chemical Society* 76 (2011) 1307;
7. V. Hass, M. Dobrovolski, C. Zander-Grande, G. C. Martins, L. Alfonso, A. Gordillo, M. de Lourdes Rodrigues Accorinte, O. M. Mongruel Gomes, A. Dourado Loguercio, A. Reis, Correlation between degree of conversion, resin–dentin bond strength and nanoleakage of simplified etch-and-rinse adhesives, *Dental Materials* 29 (2013) 921;
8. C. O. Navarra, L. Breschi, G. Turco, M. Diolosa, L. Fontanive, L. Manzoli, R. Di Lenarda, M. Cadenaro, Degree of conversion of two-step etch-and-rinse adhesives: In situ micro-Raman analysis, *Journal of Dentistry* 40 (2012) 711;
9. A. Frassetto, O. Navarra, G. Marchesi, M. Cadenaro, Kinetics of polymerization and contraction stress development in self-adhesive resin cements, *Dental Materials* 28 (2012) 1032;
10. V. S. Anand, V. Balasubramanian, Effect of resin chemistry on depth of cure and cytotoxicity of dental resin composites, *Materials Science and Engineering B* 181 (2014) 33;
11. J. Xiong, X. Sun, Y. Li, J. Chen, Polymerization shrinkage, stress, and degree of conversion in silorane- and dimethacrylate-based dental composites 122 (2011) 1882;
12. Thomas Spinell, Andreas Schedle, David C. Watts, Polymerization shrinkage kinetics of dimethacrylate resin-cements, *Dental Materials* 25 (2009) 1058;
13. D. J. Rejman, T. Eliades, T. G. Bradley, G. Eliades, Polymerization Efficiency of Glass-Ionomer and Resin Adhesives under Molar Bands, *Angle Orthod* 78 (2008) 549;
14. J. G. Leprince, P. Leveque, B. Nysten, B. Gallez, J. Devaux, G. Leloup, *Dent. Mater.* 28 (2012) 512;
15. *Dentistry - Polymer-based restorative materials; ISO 4049:2019. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2019;*
16. S. V. Dorozhkin, Calcium orthophosphates in dentistry, *J Mater Sci Mater Med.* 24 (2013) 1335;
17. J. W. Stansbury S. H. Dickens, Determination of double bond conversion in dental resins by near infrared spectroscopy, *Dental Materials* 17 (2001) 71;
18. R. Z. Alshali, N. Silikas, J. D. Satterthwaite, Degree of conversion of bulk-fill compared to conventional resin-composites at two time intervals, *Dental Materials* 29 (2013) e213;
19. S. Koutsopoulos, Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods, *Journal of Biomedical Materials Research* 62 (2022) 600;
20. A. Awonusi, M. D. Morris, M. M. J. Tecklenburg, Carbonate Assignment and Calibration in the Raman Spectrum of Apatite, *Calcif Tissue Int* 81 (2007) 46;
21. A. Farooq Khan, M. Awais, A. Samad Khan, S. Tabassum, A. Anwar Chaudhry, I. Rehman, Raman Spectroscopy of Natural Bone and Synthetic Apatites, *Applied Spectroscopy Reviews* 48 (2013) 329;
22. B. Wopenka, J. D. Pasteris, A mineralogical perspective on the apatite in bone, *Materials Science and Engineering C* 25 (2005) 131;
23. F. Errassifi, S. Sarda, A. Barroug, A. Legrouiri, H. Sfihi, C. Rey, Infrared, Raman and NMR investigations of risedronate adsorption on nanocrystalline apatites, *Journal of Colloid and Interface Science* 420 (2014) 101;
24. K. D. Litasova, N. M. Podgornykh, Raman spectroscopy of various phosphateminerals and occurrence of tuite in the Elga II Iron meteorite, *Journal of Raman Spectroscopy* 48 (2017) 1385;

25. G. R. Sauer, W. B. Zunic, J. R. Durig, R. E. Wuthier, Fourier transform Raman spectroscopy of synthetic and biological calcium phosphates, *Calcif Tissue Int* 54 (1994) 414;
26. F.H. Jones, Teeth and bones: applications of surface science to dental materials and related biomaterials, *Surface Science Reports* 42 (2001) 75;
27. H. Li, W. Huang, Y. Zhang, M. Zhong, Biomimetic synthesis of enamel-like hydroxyapatite on self-assembled monolayers, *Materials Science and Engineering C* 27 (2007) 756;
28. I.M. Low, N. Duraman, U. Mahmood, Mapping the structure, composition and mechanical properties of human teeth, *Materials Science and Engineering C* 28 (2008) 243;
29. H. Fong, M. Sarikaya, S. N. White, M. L. Snead, Nano-mechanical properties profiles across dentin–enamel junction of human incisor teeth, *Materials Science and Engineering C* 7 (2000) 119;
30. D.G. Bansal, O.L. Eryilmaz, P.J. Blau, Surface engineering to improve the durability and lubricity of Ti–6Al–4V alloy, *Wear* 271 (2011) 2006;
31. Y. Luo, L. Yang, M. Tian, Influence of Bio-Lubricants on the Tribological Properties of Ti6Al4V Alloy, *Journal of Bionic Engineering* 10 (2013) 84;
32. M. Geetha, A.K. Singh, R. Asokamani, A. K. Gogia, Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review, *Progress in Materials Science* 54 (2009) 397;
33. A. Rahimi, A. Mashak, Review on rubbers in medicine: natural, silicone and polyurethane rubbers, *Plastics, Rubber and Composites* 42 (6) (2013) 223;
34. A. Solankia, M. Das, S. Thakore, A review on carbohydrate embedded polyurethanes: an emerging area in the scope of biomedical applications, *Carbohydr. Polym.* 181 (2018) 1003;
35. Y. Luo, W. Chen, M. Tian, S. Teng, Thermal oxidation of Ti6Al4V alloy and its biotribological properties under serum lubrication, *Tribol. Int.* 89 (2015) 67;
36. A. Fiołek, S. Zimowski, A. Kopia, T. Moskalewicz, The influence of electrophoretic deposition parameters and heat treatment on the microstructure and tribological properties of nanocomposite Si3N4/PEEK 708 coatings on titanium alloy, *Coatings* 9 (2019) 530;
37. T. Moskalewicz, M. Warcaba, S. Zimowski, A. Łukaszczyk, Improvement of the Ti–6Al–4V alloy’s tribological properties and electrochemical corrosion resistance by nanocomposite TiN/PEEK708 coatings, *Metall. Mater. Trans. A* 50 (2019) 5914;
38. M. A. Maleque, L. Harina, K. Bello, M. Azwan, M. M. Rahman, Tribological properties of surface modified Ti–6Al–4V alloy under lubricated condition using Taguchi approach, *J. Tribol.* 17 (2018) 15;
39. S. Kaur, K. Ghadirinejad, R. H. Oskoue, An overview on the tribological performance of titanium alloys with surface modifications for biomedical applications, *Lubricants* 7 (2019) 65;
40. R. G. G. Russell, Bisphosphonates: from bench to bedside, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1068 (2006) 367;
41. A. Borówka, A. Szczeń, Synthesis of a novel silica/apatite mesoporous nanocomposite, *Mater. Lett.* 65 (2011) 175;
42. S. Heinemann, C. Heinemann, R. Bernhardt, A. Reinstorf, B. Nies, M. Meyer, H. Worch, T. Hanke, Bioactive silica-collagen composite xerogels modified by calcium phosphate phases with adjustable mechanical properties for bone replacement, *Acta Biomater.* 5 (2009) 1979;
43. I. A. Pretty, Caries detection and diagnosis: novel technologies, *J. Dent.* 34 (2006) 727;
44. M. J. Fehrenbach, J. Weiner, Saunders Review of Dental Hygiene, 2th ed., Saunders, an imprint of Elsevier Inc., St-Louis, Missouri, 2009;
45. E. A. M. Kidd, O. Fejerskov, What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms, *J. Dent. Res.* 83 (2004) C35;
46. C. L. Darling, G. D. Huynh, D. Fried, Light scattering properties of natural and artificially demineralized dental enamel at 1310-nm, *J. Biomed. Opt.* 11 (2006) 034023;
47. G. K. Stookey, Quantitative light fluorescence: a technology for early monitoring of the caries proces, *Dent. Clin. N. Am.*, 49 (2005) 753;
48. W. Buchalla, Comparative fluorescence spectroscopy shows differences in noncavitated enamel lesions , *Caries Res.*, 39 (2005) 150;
49. D. G. A. Nelson, B. E. Williamson, Low-temperature laser Raman spectroscopy of synthetic carbonated apatites and dental enamel, *Aust. J. Chem.*, 35 (1982) 715;
50. H. Tsuda, J. Arends, Raman spectroscopy in dental research: a short review of recent studies, *Adv. Dent. Res.*, 11 (1997) 539;

51. B. Mohanty, D. Dadlani, D. Mahoney, A. B. Mann, Characterizing and identifying incipient carious lesions in dental enamel using micro-Raman spectroscopy, *Caries Res.*, 47 (2013) 27;
52. H. Tsuda, J. Ruben, J. Arends, Raman spectra of human dentin mineral, *Eur. J. Oral Sci.*, 104 (1996) 123;
53. E. Wentrup-Byrne, C. A. Armstrong, R. S. Armstrong, B. M. Collins, Fourier Transform Raman Microscopic Mapping of the Molecular Components in a Human Tooth, *J. Raman, Spectrosc.*, 28 (1997) 151;
54. P. G. Spizzirri, N. J. Cochrane, S. Prawer, E. C. Reynolds, A comparative study of carbonate determination in human teeth using Raman spectroscopy, *Caries Res.*, 46 (2012) 353;
55. H. Tsuda, J. Arends, Orientational micro-Raman spectroscopy on hydroxyapatite single crystals and human enamel crystallites, *J. Dent. Res.*, 73 (1994) 1703;
56. G. Leroy, G. Penel, N. Leroy, E. Bres, Human Tooth Enamel: A Raman Polarized Approach, *Appl. Spectrosc.*, 56 (2002) 1030;
57. M. Kozielski, T. Buchwald, M. Szybowicz, Z. Blaszcak, A. Piotrowski, B. Ciesielczyk, Determination of composition and structure of spongy bone tissue in human head of femur by Raman spectral mapping, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 22 (2011) 1653;
58. T. Buchwald, M. Kozielski, M. Szybowicz, Determination of Collagen Fibers Arrangement in Bone Tissue by Using Transformations of Raman Spectra Maps, *Spectrosc.*, 27 (2012) 107;
59. A. C. Ko, L. Choo-smith, M. Hewko, M. G. Sowa, C. C. S. Dong, B. Cleghorn, Detection of early dental caries using polarized Raman spectroscopy, *Opt. Express*, 14 (2006) 203;
60. A. C. Ko, L. P. Choo-Smith, M. Hewko, L. Leonardi, M. G. Sowa, C. C. Dong, P. Williams, B. Cleghorn, Ex vivo detection and characterization of early dental caries by optical coherence tomography and Raman spectroscopy, *J. Biomed. Opt.*, 10 (2005) 1;
61. W. Hill, V. Petrou, Detection of Caries and Composite Resin Restorations by Near-Infrared Raman Spectroscopy, *Appl. Spectrosc.*, 51 (1997) 1265;
62. W. Hill, V. Petrou, Caries Detection by Diode Laser Raman Spectroscopy, *Appl. Spectrosc.*, 54 (2000) 795;
63. J. Li, L. P. Choo-Smith, Z. Tang and M. G. Sowa, Background removal from polarized Raman spectra of tooth enamel using the wavelet transform, *J. Raman Spectrosc.*, 42 (2011) 580;
64. S.S. Thomas, S. Mohanty, J. Jayanthi, J. Varughese, A. Balan, N. Subhash, Study of validity of autofluorescence-based incipient occlusal caries detection in vitro compared to DIAGNOdent pen, *J. Biomed. Opt.* 15 (2010) 027001;
65. L.S. Castilho, F.V. Cotta, A.C. Bueno, A.N. Moreira, E.F. Ferreira, C.S. Magalhaes, Validation of DIAGNOdent laser fluorescence and the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) in diagnosis of occlusal caries in permanent teeth: an in vivo study, *Eur. J. Oral Sci.* 124 (2016) 188;
66. R. Matos, T.F. Novaes, M.M. Braga, W.L. Siqueira, D.A. Duarte, F.M. Mendes, Clinical performance of two fluorescence-based methods in detecting occlusal caries lesions in primary teeth, *Caries Res.* 45 (2011) 294;
67. B.T. Amaechi, Emerging technologies for diagnosis of dental caries: the road so far, *J. Appl. Phys.* 105 (2009) 102047;
68. A. Lussi, R. Hibst, R. Paulus, DIAGNOdent: an optical method for caries detection, *J. Dent. Res.* 83 (Spec Iss C) (2004) C80;
69. U. Hafstrom-Bjorkman, F. Sundstrom, J.J. ten Bosch, Fluorescence in dissolved fractions of human enamel, *Acta Odontol. Scand.* 49 (1991) 133;
70. P.-Y. Lin, H.-C. Lyu, C.-Y.S. Hsu, C.-S. Chang, F.-J. Kao, Imaging carious dental tissues with multiphoton fluorescence lifetime imaging microscopy, *Biomed. Opt. Express* 2 (2011) 149;
71. K. Koenig, H. Schneckenburger, Laser-induced autofluorescence for medical diagnosis, *J. Fluoresc.* 4 (1994) 17;
72. F. Shakibaie, R. George, L.J. Walsh, Applications of laser induced fluorescence in dentistry, *Int. J. Dental Clin.* 3 (2011) 38;
73. Y.-K. Lee, Fluorescence properties of human teeth and dental calculus for clinical applications, *J. Biomed. Opt.* 20 (2015) 040901;
74. K. Konig, G. Flemming, R. Hibst, Laser-induced autofluorescence spectroscopy of dental caries, *Cell. Mol. Biol.* 44 (1998) 1293;
75. L.J. Walsh, F. Shakibaie, Ultraviolet-induced fluorescence: shedding new light on dental biofilms and dental caries, *Australasian Dental Practice* 18 (2007) 56;

76. L.J. Walsh, The current status of laser applications in dentistry, *Aust. Dent. J.* 48 (2003) 146; H.E. Goodis, G.W. Marshall Jr, J.M. White, The effects of storage after extraction of the teeth on human dentine permeability in vitro, *Arch. Oral Biol.* 36 (1991) 561;
77. A. Secilmis, E. Dilber, N. Ozturk, F.G. Yilmaz, The Effect of Storage Solutions on Mineral Content of Enamel, *Mater. Sci. Appl.* 4 (2013) 439;
78. G. Tosun, Y. Sener, A. Sengun, Effect of storage duration/solution on microshear bond strength of composite to enamel, *Dent. Mater.* 26 (2007) 116;
79. K. de Melo Maranhão, E.B. Klautau, P.M.M. Pereira, R.B. Guimarães, V.G. Pantoja, The effect of solutions on enamel of bovine teeth, *Salusvita* 28 (2009) 129 Bauru;
80. S. Jaffer, L.J. Oesterle, S.M. Newman, Storage media effect on bond strength of orthodontic brackets, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.* 136 (2009) 83;
81. J.S. Moura, L.K. Rodrigues, A.A. Del Bel Cury, E.M. Lima, R.M. Garcia, Influence of storage solution on enamel demineralization submitted to pH cycling, *J. Appl. Oral Sci.* 12 (2004) 205;
82. W. Buchalla, A.M. Lennon, T. Attin, Comparative fluorescence spectroscopy of root caries lesions, *Eur. J. Oral Sci.* 112 (2004) 490;
83. S.E. Strawn, J.M. White, G.W. Marshall, L. Gee, H.E. Goodis, S.J. Marshall, Influence of method and period of storage on the microtensile bond strength of indirect composite resin restorations to dentine, *J. Dent.* 24 (1996) 411.

W. Buchalla