

Sieć Badawcza Łukasiewicz - Łódzki Instytut Technologiczny

Praca Doktorska

***Projektowanie i charakterystyka włóknistych struktur
polimerowych funkcjonalizowanych metalami
o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych
i prokoagulacyjnych***

mgr inż. Zdzisława Mrozińska

Promotor: dr hab. Marcin Henryk Kudzin

Łódź, 2026

Podziękowania

Pragnę wyrazić serdecznie podziękowania Panu dr. hab. Marcinowi Kudzinowi za życzliwe wsparcie, cenne wskazówki oraz merytoryczne prowadzenie podczas przygotowywania niniejszej Pracy. Pańska pomoc i zaangażowanie były dla mnie niezwykle ważne i motywujące.

Streszczenie

Współczesna medycyna stawia przed naukowcami wyzwania związane z opracowywaniem zaawansowanych materiałów o złożonych, wielofunkcyjnych właściwościach biologicznych. Szczególnie istotnym i jednocześnie wymagającym kierunkiem badań jest tworzenie biomateriałów łączących aktywność przeciwdrobnoustrojową z możliwością modulacji procesów krzepnięcia krwi, co może zwiększać skuteczność leczenia ran, ograniczać ryzyko infekcji oraz przyspieszać regenerację tkanek.

Celem niniejszej Rozprawy Doktorskiej było opracowanie metod modyfikacji włóknistych materiałów polimerowych poprzez wprowadzanie do ich struktury wybranych metali, takich jak miedź, cynk czy żelazo. Postawiona w pracy hipoteza badawcza zakładała, że celowa funkcjonalizacja włóknistych struktur materiałów metalami pozwoli na poprawę ich właściwości biologicznych, w szczególności na zwiększenie aktywności przeciwdrobnoustrojowej oraz na kontrolę parametrów hemostatycznych.

Rozprawa ma charakter cyklu ośmiu monotematycznych publikacji naukowych opublikowanych w czasopismach z listy *Journal Citation Reports* (JCR). Prace te prezentują autorskie metody funkcjonalizacji biomateriałów oraz szczegółową analizę ich właściwości fizykochemicznych i biologicznych. W ramach prowadzonych badań wykorzystano zarówno chemiczne metody osadzania metali, jak i fizyczne techniki modyfikacji powierzchni z użyciem procesów napyłania magnetronowego.

Eksperymenty przeprowadzone w ramach Pracy Doktorskiej doprowadziły do otrzymania szeregu struktur materiałowych o pożądanych właściwościach bioaktywnych. Uzyskane wyniki stanowią wkład w rozwój wiedzy dotyczącej funkcjonalizacji materiałów oraz mechanizmów odpowiedzialnych za ich aktywność przeciwdrobnoustrojową i koagulacyjną. Przedstawione wyniki potwierdzają potencjał dalszych badań aplikacyjnych w kierunku zastosowań medycznych oraz dziedzin pokrewnych.

W ramach pracy wykorzystano interdyscyplinarne metody badawcze z zakresu inżynierii materiałowej, chemii, biochemii i mikrobiologii, obejmujące m.in.: mikroskopię skaningową z analizą składu pierwiastkowego (SEM/EDS), spektrometrię absorpcyjną w płomieniu (FAAS), spektrometrię mas z plazmą indukcyjnie sprzężoną (ICP-MS), analizę właściwości powierzchniowych metodą izoterm Brunauera-Emmetta-Tellera (BET), spektrofotometrię UV-Vis, a także testy biochemiczne (czas protrombinowy - PT, czas częściowej tromboplastyny po aktywacji - aPTT), badanie TBARS i test kometowy do oceny uszkodzeń DNA w komórkach PBMC. Badania mikrobiologiczne obejmowały ocenę wpływu wytworzonych materiałów na wzrost reprezentatywnych szczepów bakterii i grzybów.

Spis treści	Strona nr
1. Imię i nazwisko, dane personalne	3
1.1. Posiadane dyplomy	3
2. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	3
3. Wstęp	4
3.1. Uszkodzenie tkanek i leczenie ran	4
3.2. Hemostaza	5
3.3. Bioaktywne materiały opatrunkowe	7
3.4. Bakteriocydy	8
4. Cel naukowy i hipoteza badawcza Pracy Doktorskiej	12
5. Spis publikacji stanowiących podstawę Pracy Doktorskiej	13
6. Wyniki badań i ich omówienie	14
7. Podsumowanie	80
8. Literatura	82
9. Załącznik 1. Publikacje składające się na Pracę Doktorską	101

1. Imię i nazwisko, dane personalne

Imię i nazwisko: Zdzisława Mrozińska

Miejsce zatrudnienia: Sieć Badawcza Łukasiewicz – Łódzki Instytut Technologiczny w Łodzi, Centrum Gospodarki o Obiegu Zamkniętym, ul. Brzezińska 5/15, 92-103 Łódź

Adres e-mail: zdzislawa.mrozinska@lit.lukasiewicz.gov.pl

1.1. Posiadane dyplomy

14.09.2020 r. Uniwersytet Łódzki, Wydział Chemii;
Studia podyplomowe: Jakość i bezpieczeństwo produktów kosmetycznych

14.10.2004 r. Politechnika Łódzka, Wydział Organizacji i Zarządzania, kierunek Zarządzanie i Marketing; Studia uzupełniające magisterskie, Zakład Zarządzania Strategicznego i Ekologii;
Praca magisterska pt. *Strategia jako element zarządzania umożliwiający rozwój przedsiębiorstwa*
Promotor: dr Ilona Penc-Pietrzak

14.05.2002 r. Politechnika Łódzka,
Wydział Chemiczny, kierunek: Technologia Chemiczna, Instytut Chemii Organicznej; Studia inżynierskie w zakresie Lekkiej syntezy organicznej;
Praca inżynierska pt. *Wykorzystanie chlorku (S)-Naproxenu i (S)-Ibuprofenu do oznaczania czystości enancjomerycznej 1-hydroksyalkilofosfonianów dietylu za pomocą spektroskopii ^{31}P NMR*
Promotor: dr hab. inż. Tadeusz Gajda, prof. PŁ

2. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

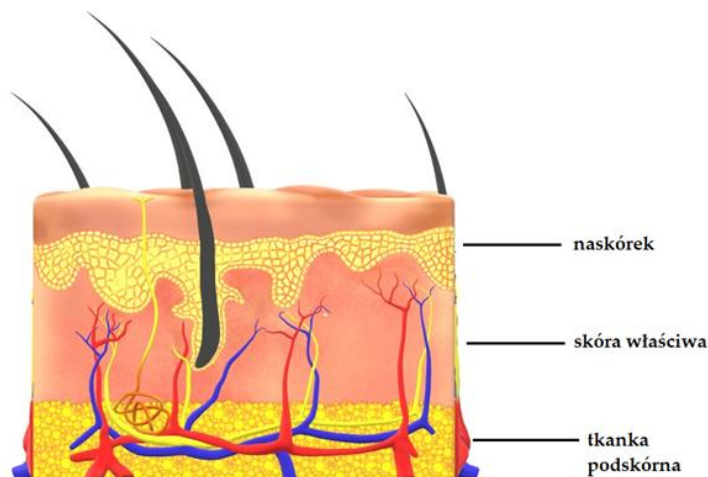
01.07.2023 r. - obecnie	Sieć Badawcza Łukasiewicz – Łódzki Instytut Technologiczny w Łodzi, Centrum Gospodarki o Obiegu Zamkniętym; Stanowisko: Starszy Specjalista ds. Naukowo-Badawczych
01.03.2022 r. – 30.06.2023	Sieć Badawcza Łukasiewicz - Instytut Włókiennictwa w Łodzi, Laboratorium Badań Chemicznych i Analiz Instrumentalnych; Stanowisko: Główny Specjalista ds. Badawczych, funkcja: Kierownik Techniczny/Zastępca Kierownika Laboratorium
10.04.2020 r. – 28.02.2022 r.	Sieć Badawcza Łukasiewicz - Instytut Włókiennictwa w Łodzi Laboratorium Badań Chemicznych i Analiz Instrumentalnych; Stanowisko: Starszy Specjalista ds. Badawczych
01.02.2008 r. - 09.04.2020 r.	Instytut Włókiennictwa w Łodzi (obecnie Sieć Badawcza Łukasiewicz - Łódzki Instytut Technologiczny) Laboratorium Badań Chemicznych i Analiz Instrumentalnych; Stanowisko: Asystent
13.09.2005 r. - 31.01.2008 r.	Instytut Włókiennictwa w Łodzi (obecnie Sieć Badawcza Łukasiewicz - Łódzki Instytut Technologiczny), Laboratorium Badań Chemicznych i Analiz Instrumentalnych; Stanowisko: Technolog

3. Wstęp

Współczesna medycyna stawia przed naukowcami działającymi w obszarze inżynierii materiałowej liczne wyzwania, wymagające opracowywania nowych technologii oraz wdrażania zaawansowanych materiałów funkcjonalnych. Materiały polimerowe odgrywają kluczową rolę w medycynie regeneracyjnej, a także w produkcji implantów, protez, powłok przeciwdrobnoustrojowych i nowoczesnych opatrunków. Zastosowanie biomateriałów w medycynie wymaga nie tylko wysokiej biokompatybilności, lecz także szeregu dodatkowych właściwości umożliwiających aktywne reagowanie na potrzeby organizmu i wspomaganie procesów gojenia. Do kluczowych problemów, które wciąż stanowią wyzwanie badawcze, należą skuteczne leczenie uszkodzeń tkanek oraz zapobieganie infekcjom. Współczesne materiały biomedyczne powinny łączyć właściwości przeciwdrobnoustrojowe, ograniczające ryzyko zakażeń, z aktywnością prokoagulacyjną, wspierającą naturalne procesy krzepnięcia krwi i regeneracji tkanek.

3.1. Uszkodzenie tkanek i leczenie ran

Uszkodzenie tkanek, będące jednym z najczęstszych obrażeń pourazowych w codziennym życiu, często prowadzi do wtórnych infekcji ran. Ich leczenie, ze względu na powszechność i uciążliwość, stanowi poważne wyzwanie dla systemów opieki zdrowotnej na całym świecie [1]. Skóra – zewnętrzna tkanka pełniąca funkcję bariery ochronnej – pokrywa całą powierzchnię ciała i składa się z trzech głównych warstw: naskórka, skóry właściwej oraz tkanki podskórnej (Rys. 3.1.1.) [2,3].



*rysunek stworzony za pomocą programu Paint 3D

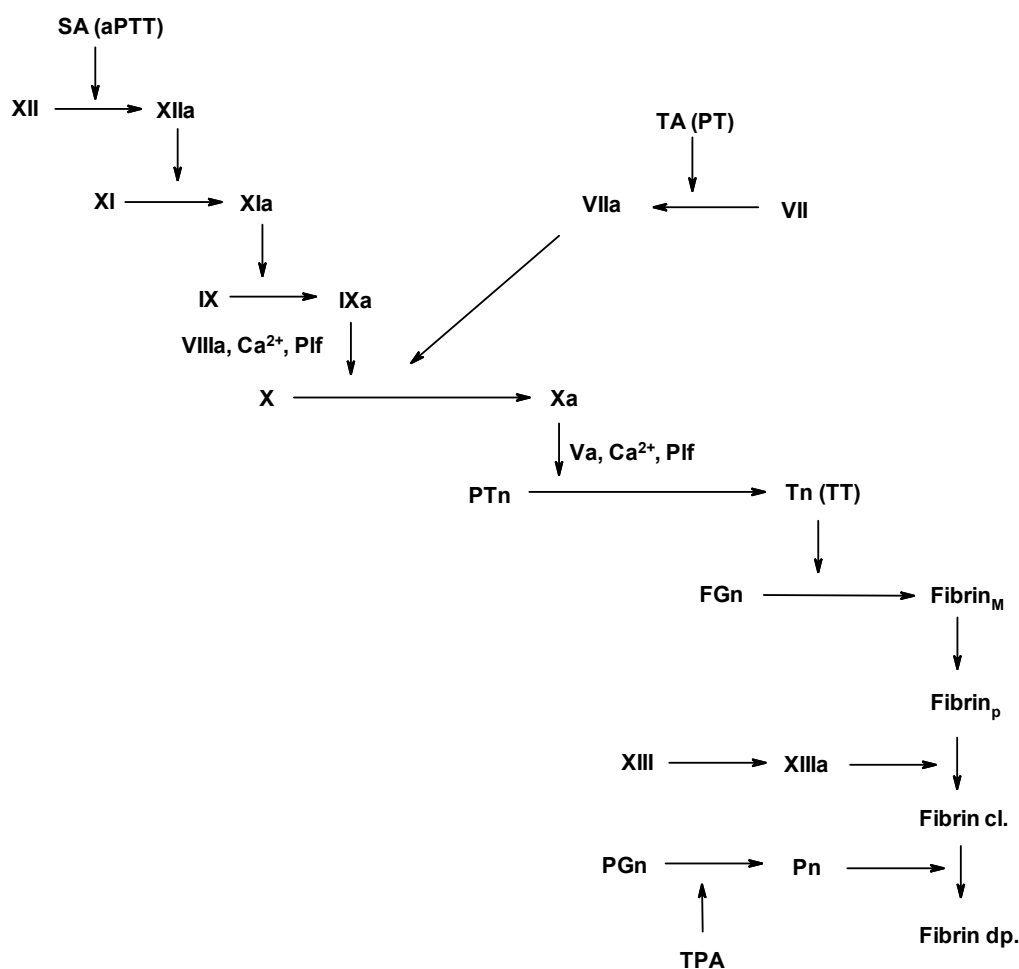
Rysunek 3.1.1. Schemat uproszczony budowy skóry [3].

Rany to fizyczne uszkodzenia skóry, które mogą przyjmować różne formy, takie jak skaleczenia, oparzenia czy rany przewlekłe. Przerwanie ciągłości skóry oraz uszkodzenie naczyń krwionośnych prowadzą do krwawienia i zwiększa ryzyko infekcji patogenami, co może stanowić zagrożenie życia. Z tego względu do podstawowych procedur ratunkowych należy odpowiednie zabezpieczenie ran i zatrzymanie krwawienia, przy jednoczesnym zapewnieniu działania antyseptycznego. Umożliwiają to nowoczesne opatrunki, które łączą funkcje hemostatyczne i przeciwdrobnoustrojowe.

Proces gojenia się ran to złożony, dynamiczny i często długotrwały mechanizm, który przebiega w kilku etapach: (A) hemostaza (krzepnięcie), (B) faza zapalna, (C) proliferacja komórek oraz (D) faza regeneracji lub dojrzewania [3].

3.2. Hemostaza

Hemostaza to zespół mechanizmów fizjologicznych, które zapobiegają wypływowi krwi z naczyń krwionośnych. Układ hemostatyczny pełni kluczową rolę w utrzymaniu równowagi - z jednej strony chroni organizm przed niekontrolowanym krwawieniem, a z drugiej przeciwdziała nadmiernemu krzepnięciu. Ten wieloetapowy złożony proces fizjologiczny obejmuje interakcje między naczyniami krwionośnymi, płytkami krwi i białkami krzepnięcia, które budują, a następnie rozkładają stabilny skrzep składający się z komórek krwi i siatki fibrynowej [4]. Schemat kaskady koagulacyjnej płytek krwi przedstawiono na Rysunku 3.2.1., natomiast zestawienie czynników krzepnięcia uczestniczących w tym procesie znajduje się w Tabeli 3.2.1.



Rysunek 3.2.1. Kaskada koagulacyjna płytek krwi wg Raber'a [5].

aPTT – *Activated Partial Thromboplastin Time* (czas częściowej tromboplastyny po aktywacji); FGn – Fibrinogen; Fibryny: FibrinM; Fibrin cl. - Fibrin Clot; Fibrin dp. - Fibrin degradation products; Plf - Platelet Factor (czynnik płytkowe krzepliwości); PT - Prothrombin Time (czas protrombinowy); PTn – Prothrombin (protrombina); TA – Tissue Activation (TP) (tkankowa aktywacja); TPA - Tissue Plasminogen Activator (tkankowy aktywator plazminogenu); TT - Thrombin Time (czas trombinowy); SA - Surface Activation (powierzchnia aktywacji) [6,7].

Tabela 3.2.1. Nazwy czynników występujących w kaskadzie koagulacji krwi wg Chaudhry [8].

Czynnik krzepnięcia	Synonim(y) ^{a,b}	Czynnik krzepnięcia	Synonim(y) ^{a,b}
I	Fibrynogen (<i>Fibrinogen</i>)	VIII	Czynnik przeciwhemofilowy A (<i>Antihemophilic factor (AHF; A)</i>); Globulina przeciwhemofilowa (<i>Antihemophilic Globulin (AHG)</i>)
II	Protrombina (<i>Prothrombin</i>)	IX	Czynnik przeciwhemofilowy B (<i>Plasma Thromboplastin Component (PTC); Christmas factor; Antihemophilic factor B</i>)
III	Czynnik tkankowy (<i>Tissue factor</i>); Tromboplastyna tkankowa (<i>Tissue thromboplastin</i>)	X	Czynnik Stuarta (<i>Stuart factor</i>)
IV	Ca ²⁺	XI	Poprzednik tromboplastyny osocza (<i>Plasma Thromboplastin Antecedent (PTA)</i>)
V	Proakceleryna (<i>Proaccelerin</i>)	XII	Czynnik Hagemana (<i>Hageman factor</i>)
VI	Akceleryna (<i>Accelerin</i>)	XIII	Czynnik stabilizujący fibrynę (<i>Fibrin-stabilizing factor</i>)
VII	Prokonwertyna (<i>Proconvertin</i>); Czynnik krzepnięcia osoczowy (<i>Serum prothrombin Conversion accelerator (SPCA)</i>)		

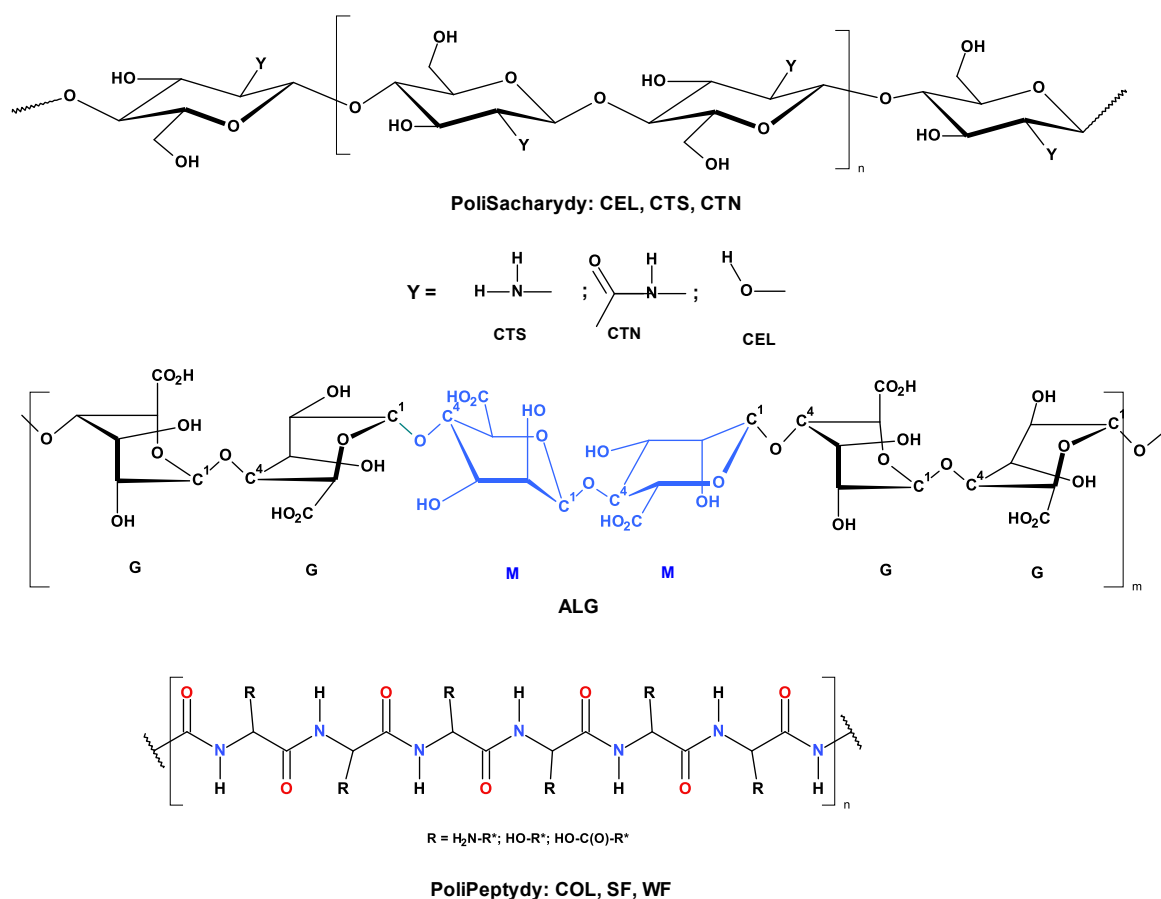
^aNazwy w języku angielskim podano kursywą;
^bUznaniowo wybrane synonim/ synonimy

Czas krzepnięcia to ogólne określenie czasu potrzebnego, aby próbka krwi utworzyła skrzep (ang. *clott*). Termin „czas krzepnięcia” jest często używany w odniesieniu do testów, takich jak czas protrombinowy (PT), czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT), lub czas trombinowy (TT). Czas częściowej tromboplastyny aktywowanej (ang. *Activated Partial Thromboplastin Time*; aPTT lub APTT) znany również jako częściowy czas tromboplastyny (PTT), to badanie krwi charakteryzujące krzepnięcie krwi. aPTT mierzy ogólną prędkość, z jaką tworzą się skrzepy krwi za pomocą dwóch kolejnych serii reakcji biochemicznych znanych jako wewnętrzna ścieżka i wspólna ścieżka krzepnięcia (*coagulation intrinsic pathway vs. coagulation common pathway*). aPTT pośrednio mierzy działanie następujących czynników krzepnięcia: I, II, V, VIII, IX, X, XI i XII (Tab.3.2.1.). Czas protrombinowy (ang. *Prothrombin Time*; PT) jest badaniem służącym do oceny zewnętrznej i wspólnej ścieżki krzepnięcia. Badanie czasu protrombinowego (PT) jest wykorzystywane jako narzędzie diagnostyczne do oceny zdolności krwi do tworzenia skrzepu, czyli ogólnej sprawności układu krzepnięcia i znajduje zastosowanie w różnych stanach klinicznych, w których równowaga procesu krzepnięcia może być zaburzona (np. monitorowanie leczenia przeciwzakrzepowego warfaryną, ocena funkcji wątroby, ocena niedoboru witaminy K). PT mierzy następujące czynniki krzepnięcia: I, II, V, VII i X. Czas trombinowy (ang. *Thrombin Time*; TT) to czas potrzebny na przekształcenie fibrynogenu w skrzep fibryny, gdy krew lub osocze jest wystawione na działanie trombiny [8].

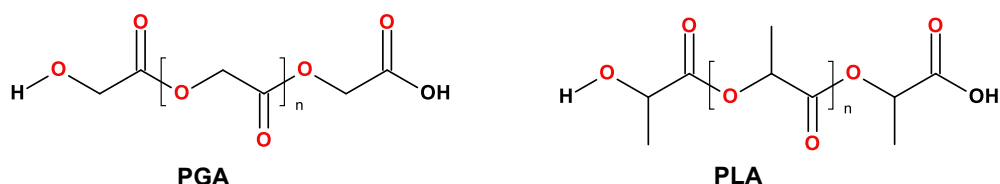
3.3. Bioaktywne materiały opatrunkowe

Projektowanie i wytwarzanie wielofunkcyjnych opatrunków, które mogą chronić rany, przyspieszać proces gojenia, zapobiegać infekcjom oraz wtórnym uszkodzeniom, należy do kluczowych zadań opieki przedklinicznej i klinicznej. Skuteczność obecnie dostępnych środków hemostatycznych i opatrunków osiągnęła w ostatnich dekadach poziom *plateau* [9] i dlatego projektowanie i rozwój materiałów polimerowych o wysokiej aktywności prokoagulacyjnej i antybakteryjnej w celu osiągnięcia wysokiej skuteczności gojenia ran jest priorytetem w zastosowaniach klinicznych [10].

Nowoczesny opatrunek składa się z matrycy (charakteryzującej się cechami takimi jak sterylność, nieprzywieranie, wymiana gazowa oraz nietoksyczność), hemostatyku (który hamuje krwawienie) oraz środka bakteriobójczego (zabezpieczającego ranę przed inwazją patogenów). W roli matrycy najczęściej są stosowane różne polimery, biopolimery pochodzenia naturalnego (celuloza, chitozan, skrobia, kolagen, żelatyna, alginian, etc.) (Rys. 3.3.1.), oraz syntetyczne: (kwas poliglikolowy czy polimlekowy) (Rys. 3.3.2.) wykazujące biogodność i biodegradowalność [11–14].



Rysunek 3.3.1. Biopolimery: polisacharydy (ALG – kwas alginowy; CEL – celuloza; CTS - chitozan, CTN – chityna), i polipeptydy (COL – kolagen (ang. *Collagen*); WF- wełna (ang. *Wool Fiber*); SF – jedwab (ang. *Silk Fiber*) [11–14].



Rysunek 3.3.2. Kwasy poliglikolowy (PGA; ang. *PolyGlycolic Acid*) i polimlekowy (PLA; ang. *PolyLactic Acid*) [11–14].

Biopolimery zazwyczaj same w sobie nie mają właściwości przeciwdrobnoustrojowych (z wyjątkiem chitozanu), dlatego też środki prokoagulacyjne i antybakteryjne mogą zostać włączane do matrycy polimerowej, zapewniając właściwości przeciwdrobnoustrojowe i hemostatyczne materiału [15,16]. Hemostatyki to środki zapewniające efekt hemostatyczny. Stosowalność kliniczna hemostatyków jest ograniczona przez ryzyko infekcji, immunogenność, uszkodzenie tkanek, koszty i krótki okres trwałości oraz wymagania dotyczące przechowywania [17]. Zestawienie najczęściej stosowanych ogólnoustrojowych i miejscowych środków hemostatycznych w kontroli krwotoku przedstawione jest w Tabeli 3.3.1. [17–22].

Tabela 3.3.1. Zestawienie popularnych środków hemostatycznych [17–22]

Nr.	Grupa	Hemostatyk	Mechanizm działania
1	Hemostatyki krzemianowe	Zeolit	Prokoagulacja
		Kaolin	Prokoagulacja
		Chitozan + Krzemionka	Prokoagulacja
2	Hemostatyki polisacharydowe	Skrobia	Prokoagulacja
		Chitozan	Prokoagulacja
		Chitozan + Celuloza	Prokoagulacja
		Utleniona celuloza (ORC*)	Prokoagulacja
		Alginian	Mukoadhezja
3	Hemostatyki pochodzenia biologicznego	Kolagen	Prokoagulacja
		Trombina	Prokoagulacja
		Fibrinogen + Trombina	Prokoagulacja
		Żelatyna	Mukoadhezja
		Żelatyna + Thrombin	Mukoadhezja
		Albumina + Glutaraldehyd	Mukoadhezja
4	Hemostatyki syntetycznego pochodzenia	Glikol polietylenowy	Mukoadhezja
		Cyjanoakrylan	Mukoadhezja
5	Hemostatyki chemicznego pochodzenia	Fe ₂ (SO ₄) ₃ ; AlCl ₃	Koagulacja białek; Działanie ściągające

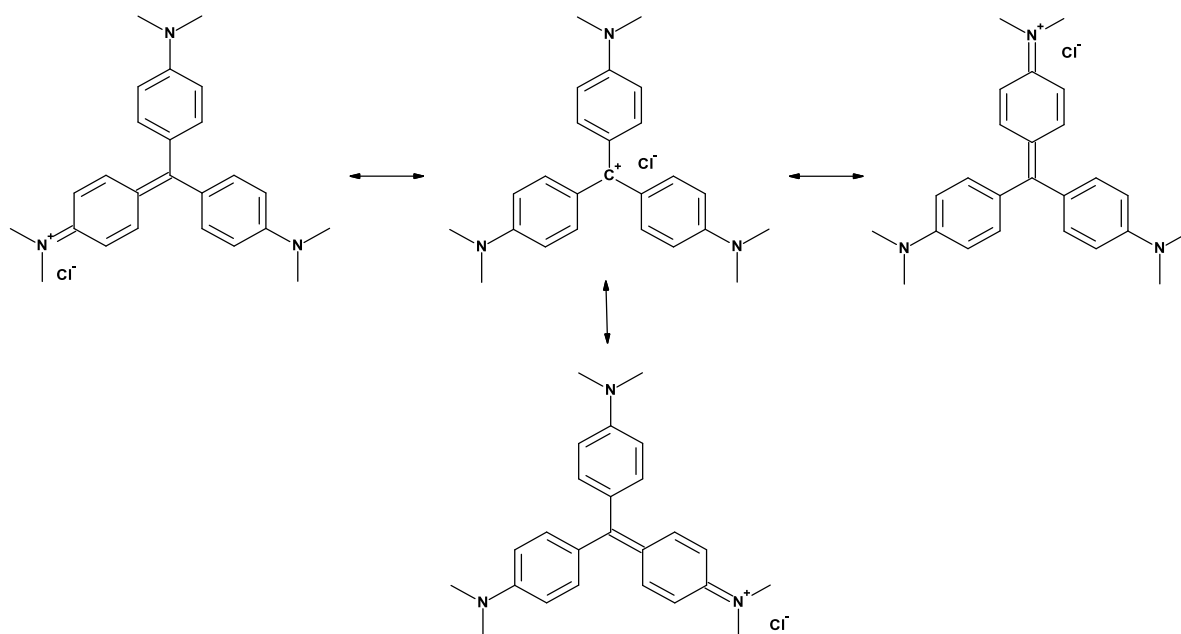
ORC* - ang. *Oxidized Regenerated Cellulose*

3.4. Bakteriocydy

Patogeny stanowią liczną i zróżnicowaną grupę mikroorganizmów chorobotwórczych obejmującą m.in. bakterie, grzyby oraz wirusy [23–25]. Bakterie jako najliczniejsza grupa patogenów, dzieli się na Gram-dodatnie (G+) i Gram-ujemne (G-), różniące się budową ściany komórkowej. Różnice te wpływają zarówno na fizjologię bakterii, jak i na ich wrażliwość na działanie leków, struktura ściany komórkowej decyduje również o sposobie barwienia bakterii fioletem krystalicznym w klasycznej metodzie Grama (Rys. 3.4.1.) [26–28].

Tabela 3.4.1. Zestawienie mikroorganizmów wykorzystanych w Pracy Doktorskiej.

Bakterie		Grzyby
Gram dodatnie (G+)	Gram ujemne (G-)	
<i>Staphylococcus aureus</i> ¹ [29]	<i>Escherichia coli</i> ¹ [31,32];	<i>Candida albicans</i> ¹ [35,36]
<i>Bacillus atrophaeus</i> ¹ [30]	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ¹ [33]	<i>Chaetomium globosum</i> ¹ [37]
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ¹ [34]	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ¹ [38]
		<i>Aspergillus niger</i> ¹ [39]



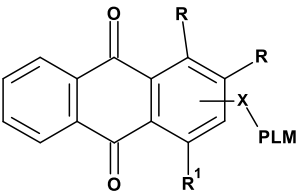
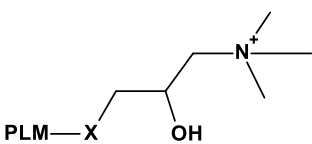
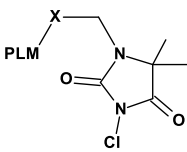
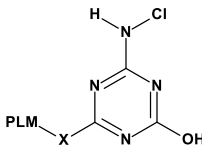
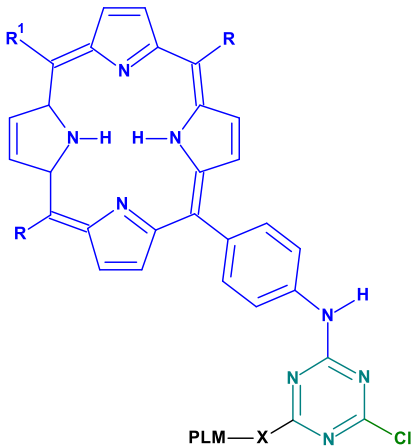
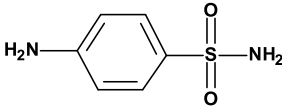
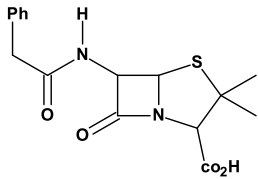
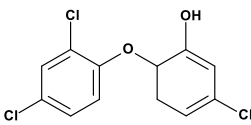
Rysunek 3.4.1. Struktura chemiczna fioletu krystalicznego wykorzystywanego do rozróżnienia bakterii G+ i G- [26–28].

Biocyd to ogólny termin określający środek chemiczny, zazwyczaj o szerokim spektrum działania, który inaktywuje mikroorganizmy. Ze względu na zróżnicowaną aktywność przeciwdrobnoustrojową biocydów, stosowane są także bardziej precyzyjne określenia. Przykładowo, termin „-statyczny” odnosi się do związków hamujących wzrost mikroorganizmów (np. bakteriostatycznych, fungistatycznych czy sporostatycznych), natomiast „-bójczy” – do środków prowadzących do śmierci komórek drobnoustrojów (np. bakteriobójczych, wirusobójczych czy sporobójczych) [40,41]. W związku z rosnącą odpornością patogennych mikroorganizmów na stosowane antybiotyki (np. MRSA – Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* [42,43]), nieustannie poszukuje się nowych, skutecznych biocydów. Przykładem tego jest obecność na rynku europejskim ponad 900 związków chemicznych o działaniu przeciwdrobnoustrojowym [41].

W celu nadania matrycom polimerowym właściwości antybakteryjnych, najczęściej poddaje się je funkcjonalizacji poprzez wprowadzenie grup czwartorzędowych aminowych [44,45], wielopierścieniowych związków aromatycznych [46,47], antybiotyków [48–50],

chloroamin [51,52], a także podstawników zawierających siarkę [53,54] lub selen [55,56] (Tab. 3.4.2.).

Tabela 3.4.2. Grupy nadające cząsteczce polimeru zdolności antybakteryjne [44,45,54,46–53].

1.		2.	
	[47]		[44,45]
3.		4.	
	[51]		[52]
5.		6.	
	[46]		[53,54]
7.		8.	
	[48]		[49,50]
PLM = Polimer, -X- = - O- albo -N(H)-			

Analiza struktur antybakteryjnych polimerów wskazuje na złożoność procedur ich syntezy, co wiąże się z wysokimi kosztami produkcji. Znacznie tańszą alternatywę stanowią biokompozyty, w których funkcję biocydu pełnią metale przejściowe lub ich trudno rozpuszczalne sole, znane z wysokiej aktywności przeciwdrobnoustrojowej [57].

Do oceny wrażliwości szczepów bakteryjnych na bakterioocydy (oraz grzybów na fungocydy) stosuje się szereg metod mikrobiologicznych, takich jak oznaczanie strefy zahamowania wzrostu (ZOI, ang. *Zone of Inhibition*), minimalnego stężenia hamującego (MIC, ang. *Minimum Inhibitory Concentration*) czy minimalnego stężenia bakteriobójczego (MBC, ang. *Minimum Bactericidal Concentration*). Jedną z najbardziej rozpoznawalnych metod

jest test ZOI, znany również jako metoda Kirby'ego-Bauera lub test dyfuzyjno-krażkowy [58–60]. W tej procedurze krążki wykonane z materiału badanego o właściwościach antybakteryjnych umieszcza się na powierzchni agarowej pożywki, uprzednio zaszczerpionej badanym szczepem bakterii. Bakterie namnażają się na całej powierzchni pożywki, z wyjątkiem obszarów wokół krążków, gdzie ich wzrost został zahamowany, w efekcie powstaje wyraźna strefa zahamowania wzrostu. Na podstawie pomiaru średnicy strefy zahamowania wzrostu i porównania z obowiązującymi standardami, możliwe jest zaklasyfikowanie szczepu jako wrażliwego, pośrednio wrażliwego lub opornego na badany materiał.

W przeciwieństwie do testu ZOI, który dostarcza danych jakościowych lub półilościowych, testy MIC i MBC umożliwiają dokładniejszą, ilościową ocenę podatności mikroorganizmów na dany bakteriocyd. Minimalne stężenie hamujące (MIC, wyrażane w mg/l) oraz minimalne stężenie bakteriobójcze (MBC, również wyrażane w mg/l) określają skuteczność badanej substancji. MIC definiuje najniższe stężenie, przy którym obserwuje się zahamowanie wzrostu bakterii, natomiast MBC oznacza najniższe stężenie prowadzące do śmierci 99,9% populacji drobnoustrojów początkowo obecnych w liczbie 1×10^6 jednostek w warunkach inkubacji trwającej 18–20 godzin w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$. [61–64].

4. Cel naukowy i hipoteza badawcza Pracy Doktorskiej

Wyroby włókiennicze, czy materiały włókniste posiadają wyjątkowy potencjał aplikacyjny w obszarze medycyny, a ich możliwa biodegradowalność i biogodność inspirują do opracowywania nowych rozwiązań. Modyfikacje powierzchni polimerów, z których wytworzone są materiały o strukturze włóknistej, wykorzystujące np. metale o aktywności biochemicznej (np. Cu, Zn). Dalsze interdyscyplinarne badania otwierają nowe perspektywy w rozwoju unikalnych, wielofunkcyjnych produktów z potencjalnym zastosowaniem w medycynie. Z powyższego względu, aby lepiej zrozumieć potencjał nowych struktur materiałowych konieczne są badania z zakresu różnych dyscyplin naukowych, w tym inżynierii materiałowej, biologii, biochemii, mikrobiologii czy chemii.

Celem Pracy Doktorskiej jest opracowanie innowacyjnych metod biofunkcjonalizacji włóknistych materiałów polimerowych poprzez modyfikację ich struktury z wykorzystaniem metali, takich jak miedź, cynk i żelazo.

Hipoteza badawcza Pracy Doktorskiej zakłada, że kierunkowa modyfikacja biomateriałów metalami poprawi ich właściwości biologiczne pod kątem aplikacyjnym w obszarze medycyny, w tym wpłynie na ich aktywność przeciwdrobnoustrojową oraz może modelować właściwości koagulacyjne.

Zasadniczym komponentem pracy jest modyfikacja materiałów polimerowych przez wprowadzenie w ich strukturę metali będących bioaktywnymi biopierwiastkami, które są znane ze swoich właściwości tworzenia kompleksów z białkami i innymi ligandami. W ramach Pracy Doktorskiej przedstawiono cykl ośmiu publikacji naukowych, które opisują nowe metody funkcjonalizacji materiałów polimerowych oraz analizują fizykochemiczne i biologiczne właściwości wytworzonych struktur. Badania przeprowadzone w ramach pracy obejmowały chemiczne i fizyczne metody depozycji metali, w tym wykorzystanie procesów magnetronowych do modyfikacji powierzchni polimerów. Dzięki przeprowadzonym pracom badawczym udało się uzyskać struktury polimerowe, które wykazują pożądane właściwości bioaktywne, w tym aktywność przeciwdrobnoustrojową oraz zdolność do inicjowania procesów krzepnięcia. Uzyskane wyniki stanowią krok w kierunku lepszego zrozumienia mechanizmów działania modyfikowanych materiałów, a także otwierają nowe ścieżki ich zastosowania w medycynie, szczególnie w obszarach takich jak leczenie ran, implantologia czy regeneracja tkanek. Niniejsza praca stanowi wkład w rozwój technologii wytworzenia struktur materiałowych, które łączą właściwości przeciwdrobnoustrojowe i hemostatyczne, a także rozwija potencjał metod modyfikacji materiałów polimerowych.

Dodatkowym, istotnym rezultatem niniejszej Pracy było opracowanie oraz dostosowanie specjalistycznych procedur badawczych pozwalających na wiarygodną ocenę właściwości hemostatycznych oraz bezpieczeństwa biologicznego funkcjonalizowanych materiałów. W szczególności rozwinięto metodykę oznaczania parametrów krzepnięcia (PT, aPTT, TT) dla materiałów polimerowych, obejmującą standaryzację warunków kontaktu próbek z osoczem oraz procedury interpretacji parametrów koagulacyjnych. Ponadto dostosowano i zwalidowano protokół testu kometowego (ang. *comet assay*) do oceny integralności DNA komórek PBMC eksponowanych na badane kompozyty, co umożliwiło pełniejszą charakterystykę ich potencjalnych efektów genotoksycznych.

Rozprawa Doktorska koncentruje się więc na badaniach dotyczących biologicznej funkcjonalizacji materiałów polimerowych metalami, z zastosowaniem metod fizycznych oraz chemicznych. Zakres prac obejmował:

- modyfikację materiałów polimerowych, w tym: poli(laktydu), bawełny, wełny, lnu, alginianu;
- badania strukturalne i fizyko-chemiczne funkcjonalizowanych materiałów;
- badania biologiczne funkcjonalizowanych materiałów.

W badaniach w Pracy Doktorskiej zastosowano szereg technik pomiarowych, m.in.:

- skaningową mikroskopię elektronową/analizę mikroskopową topografii powierzchni (SEM/EDS; ang. *Scanning Electron Microscopy / Energy Dispersive X-ray Spectroscopy*);
- absorpcyjną spektrometrię atomową ze wzbudzeniem w płomieniu (FAAS; ang. *Flame Atomic Absorption Spectroscopy*);
- spektrometrię mas ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS; ang. *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*);
- analizę powierzchni (BET; ang. *Brunauer-Emmett-Teller Surface Area Analysis*);
- spektrofotometrię UV-Vis (ang. *Ultraviolet-Visible Spectroscopy*);
- spektroskopię FTIR-ATR (ang. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy/ Attenuated Internal Reflection*);
- ocenę funkcji procesów układu krzepnięcia (PT, ang. *Prothrombin Time*; aPTT, ang. *Activated Partial Thromboplastin Time*; TT, ang. *Thrombin Time*);
- testy kometowe (ang. *comet assay*) do oceny wpływu na uszkodzenia DNA w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej PBMC (ang. *Peripheral Blood Mononuclear*);
- analizę TBARS (ang. *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*) - ocena stopnia peroksydacji lipidów i generowanego stresu oksydacyjnego;
- ocenę właściwości barierowych przed promieniowaniem ultrafioletowym poprzez wyznaczenie współczynnika UPF (ang. *Ultraviolet Protection Factor*).

5. Spis publikacji stanowiących podstawę Pracy Doktorskiej

Podstawę niniejszej Rozprawy Doktorskiej stanowi jednotematyczny cykl publikacji obejmujący osiem prac naukowych opublikowanych w czasopiśmie znajdujących się na liście *Journal Citation Reports* (JCR) [65–72]. Łączny *Impact Factor* cyklu według aktualnej listy JCR wynosi 25,9 natomiast łączna liczba punktów przyznanych przez Ministerstwo Edukacji i Nauki – 840 (Tabela 5.1.).

Tabela 5.1. Zestawienie cyklu publikacji stanowiący podstawę Rozprawy Doktorskiej [65–72].

	Publikacja	Impact Factor*	Punktacja MEiN**
1.	Mrozińska Z. , Ponczek M., Kaczmarek A., Boguń M., Sulak E., Kudzin M. H., <i>Blood Coagulation Activities of Cotton – Alginate – Copper Composites</i> . <i>Marine Drugs</i> 2023, 21(12), 625; https://doi.org/10.3390/md21120625 [65];	4,9/5,4	100
2	Mrozińska Z. , Kudzin M. H., Ponczek M., Kaczmarek A., Król P., Lisiak-Kucińska A., Żyła R., Walawska A., <i>Biochemical Approach to Poly(Lactide)-Copper Composite - Impact on Blood Coagulation Processes</i> . <i>Materials</i> 2024, 17(3), 608; https://doi.org/10.3390/ma17030608 [66]	3,1/3,2	140

3.	Mrozińska Z. , Ponczek M. B., Kaczmarek A., Świerczyńska M., Kudzin M. H., <i>Activity in the Field of Blood Coagulation Processes of Poly(lactide)-Zinc Fibers Composite Material Obtained by Magnetron Sputtering</i> . Coatings 2024, 14(6), 665; http://dx.doi.org/10.3390/coatings14060666 [67]	2,9/2,8	100
4.	Mrozińska Z. , Kaczmarek A., Świerczyńska M., Juszcak M., Kudzin M. H., <i>Biochemical behavior, influence on cell DNA condition and microbiological properties of wool and wool-copper materials</i> . Materials 2024, 17(12), 2878; https://doi.org/10.3390/ma17122878 [68]	3,1/3,2	140
5.	Mrozińska Z. , Świerczyńska M., Juszcak M., Woźniak K., Kudzin M. H. , <i>Poly(Lactide) Nonwoven Fabric with Iron Coating and Its Biological Properties</i> , Coatings 2024, 14(8), 1050; https://doi.org/10.3390/coatings14081050 [69]	2,9/2,8	100
6.	Mrozińska Z. , Świerczyńska M., Juszcak M., Woźniak K., Lisiak-Kucińska A., Kudzin M. H. <i>Evaluation of Antimicrobial Activity, Hemostatic Efficacy, Blood Coagulation Dynamics and plasmid DNA damage of Linen-Copper Composite Materials</i> . J. Compos. Sci. 2025, 9(1), 30; https://doi.org/10.3390/jcs9010030 [70]	3,0/3,7	20
7.	Kudzin M.H., Mrozińska Z. , Kaczmarek A., Chruściel J.J., Pinar A., Sulak E., Shah S.A.R., Juszcak M., Woźniak K., Ponczek M.B. <i>Development of Iron-Modified Cotton Material: Surface Characterization, Biochemical Activity, and Cytotoxicity Assessment</i> . Coatings 2025, 15(6), 663. https://doi.org/10.3390/coatings15060663 [71]	2,9/2,8	100
8.	Kudzin M.H., Mrozińska Z. , Kaczmarek A., Chruściel J.J., Gloc M., Żyła R. <i>Preparation and Biochemical and Microbial Behavior of Poly(Lactide) Composites with Polyethersulfone and Copper-Complexed Cellulose Phosphate</i> . Materials 2025, 18, 2954. https://doi.org/10.3390/ma18132954 [72]	3,1/3,2	140
* Impact Factor z roku wydania artykułu/aktualny IF			
** Punkcja MEiN wg Załącznika do komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 5 stycznia 2024 r.			

6. Wyniki badań i ich omówienie

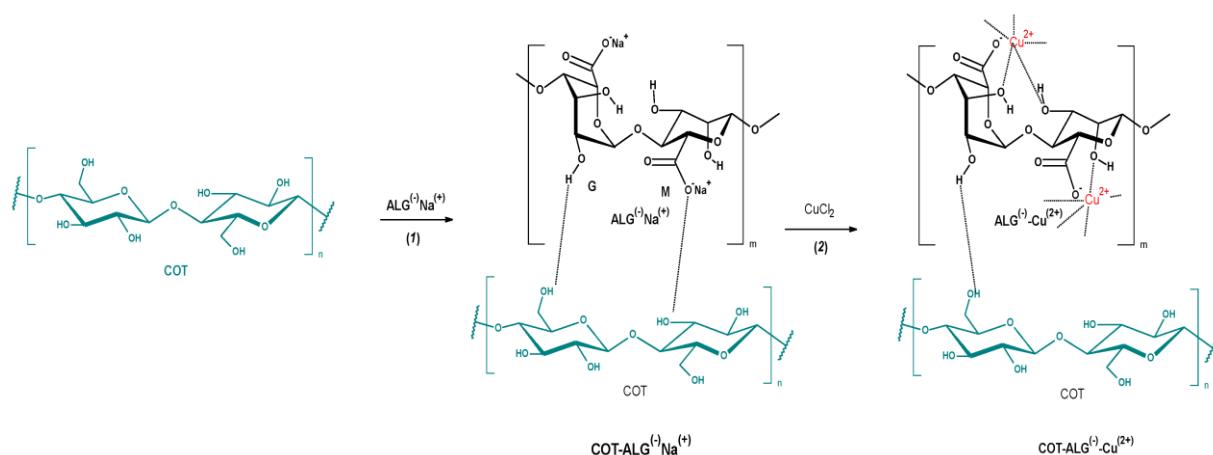
Celem niniejszego rozdziału jest przedstawienie najważniejszych wyników badań własnych zrealizowanych w ramach cyklu 8 publikacji stanowiącego podstawę Rozprawy Doktorskiej. Zaprezentowane prace obejmują opracowanie oraz charakterystykę materiałów polimerowych modyfikowanych metalami o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i prokoagulacyjnych. Uzyskane wyniki umożliwiają weryfikację postawionej hipotezy badawczej, zakładającej możliwość kształtowania właściwości biologicznych materiałów poprzez celową modyfikację ich składu i struktury. W dalszej części rozdziału przedstawiono w sposób syntetyczny wyniki badań oraz ich omówienie, ujęte w formie zestawienia, przeglądu ideowego i analizy indywidualnych celów poszczególnych publikacji. Omówienie artykułów naukowych zostało uporządkowane chronologicznie, zgodnie z datą ich publikacji.

Bawełna stanowi naturalne włókno polimerowe pochodzenia roślinnego, którego podstawowym składnikiem chemicznym jest celuloza, stanowiąca od 88 do 99% jego masy a ze względu na swoje właściwości fizykochemiczne znajduje zastosowanie zarówno w przemyśle tekstylnym, jak i w sektorze medycznym [73,74]. Wielość różnych zastosowań bawełny w przemyśle wynika z jej korzystnych właściwości, takich jak wysoka wytrzymałość mechaniczna, elastyczność, zdolność do absorpcji wody, a także biodegradowalność [73]. W kontekście zastosowań biomedycznych szczególne znaczenie ma również porowata struktura bawełny, duża powierzchnia właściwa oraz przepuszczalność gazów [74].

Alginiian jest polisacharydem pochodzenia naturalnego, najczęściej pozyskiwanym z glonów brunatnych (łac. *Phaeophyceae*) oraz niektórych gatunków bakterii, takich jak *Azotobacter* czy *Pseudomonas* [75–88]. Jest to hydrofilowy, rozpuszczalny w wodzie anionowy biopolimer, zbudowany z bloków reszt (1,4)- β -D-mannuronianu (M) oraz α -L-guluronianu (G) [75,77–89]. Alginiian wykazuje wysoką biogodność, biodegradowalność, nietoksyczność oraz brak immunogenności [75,77–88,90,91], charakteryzuje się również doskonałą zdolnością do sieciowania, a także modyfikacji chemicznych [79,82,88,91].

Celem naukowym pracy było wytworzenie kompozytu bawełna-alginiian-miedź oraz analiza jego właściwości strukturalnych, antymikrobowych oraz właściwości w zakresie inicjowania procesów krzepnięcia krwi.

Tkanina bawełniana została zmodyfikowana metodą „*dip-coating*” w dwóch etapach. W pierwszym etapie tkaninę bawełnianą (nazwa próbki: COT) impregnowano przez 1 minutę w jednorodnym roztworze alginiianu o różnych stężeniach (od 0,5%-COT-ALG⁽⁻⁾Na⁽⁺⁾ do 5%-COT-ALG⁽⁻⁾Na⁽⁺⁾). W drugim etapie przeniesiono modyfikowane alginiianem próbki do dwóch różnych wodnych roztworów chlorku miedzi (II) i ponownie zanurzano na 1 minutę (COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾ - roztwór 5% CuCl₂, COT- ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾ - roztwór 10% CuCl₂) (Rys.6.1.1.).



Rysunek 6.1.1. Schemat modyfikacji powierzchni materiału bawełnianego za pomocą alginiianu (1) i chlorku miedzi (2) [65].

Do przeprowadzenia charakterystyki fizyko-chemicznej i strukturalnej otrzymanego materiału kompozytowego COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾ zastosowano następujące metody badawcze: spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR-ATR), spektrometrię atomową

w zakresie absorpcyjnym z wzbudzeniem w płomieniu (FAAS) do oznaczenia zawartości miedzi w kompozycie oraz analizę powierzchni właściwej metodą BET.

Powierzchnia właściwa jest jedną z kluczowych właściwości fizycznych materiałów porowatych i włóknistych, ponieważ reakcje chemiczne, np. wymiana molekularna, zachodzą głównie na powierzchni lub w jej pobliżu [92,93]. Spośród metod określania powierzchni właściwej najczęściej stosowaną jest metoda BET, polegająca na wyznaczeniu ilości zaadsorbowanych monowarstw azotu w temperaturze 77 K [94–97]. Metoda ta została zastosowana do scharakteryzowania powierzchni właściwej materiałów COT-ALG⁽⁻⁾Na⁽⁺⁾ i COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾ (Tab. 6.1.1.).

Tabela 6.1.1. Wartości powierzchni właściwej badanych próbek COT-ALG⁽⁻⁾Na⁽⁺⁾ i COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾.

Otrzymana próbka	Powierzchnia właściwa [m ² /g]
COT	0,7359
COT-ALG ⁽⁻⁾ Na ⁽⁺⁾ - 1	0,6191
COT-ALG ⁽⁻⁾ Na ⁽⁺⁾ - 2	0,5577
COT-ALG ⁽⁻⁾ Cu ⁽²⁺⁾ - 1	0,6042
COT- ALG ⁽⁻⁾ Cu ⁽²⁺⁾ - 2	0,5931

Wyniki mierzono dwukrotnie i przedstawiono jako wartość średnią z odchyleniem $\pm$ wynoszącym około 2%.

Identyfikacja próbek:

COT-ALG⁽⁻⁾Na⁽⁺⁾ – 1 (próbka bawełny zanurzona w jednorodnym roztworze alginianu o stężeniu 0,5%);

COT-ALG⁽⁻⁾Na⁽⁺⁾ – 2 (próbka bawełny zanurzona w jednorodnym roztworze alginianu o stężeniu 5%);

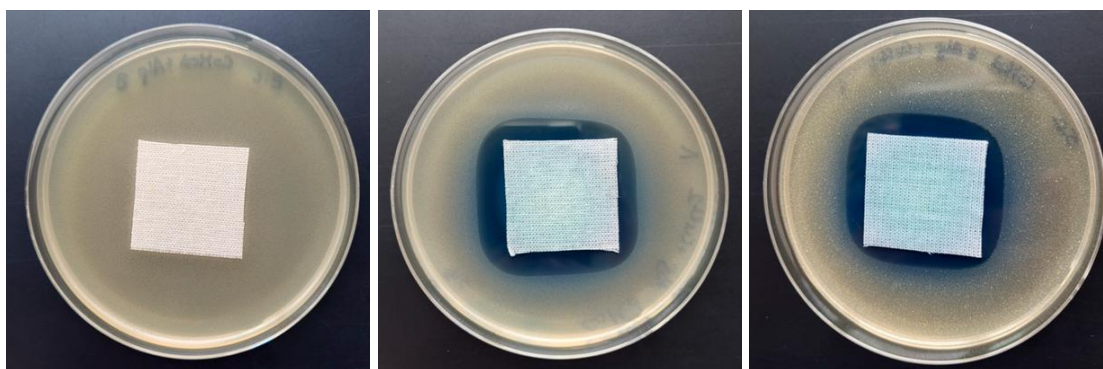
COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾ – 1 (próbka bawełny zanurzona w jednorodnym roztworze alginianu o stężeniu 0,5%, a następnie w wodnym roztworze chlorku miedzi (II) o stężeniu 5%);

COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾ – 2 (próbka bawełny zanurzona w jednorodnym roztworze alginianu o stężeniu 0,5%, a następnie w wodnym roztworze chlorku miedzi (II) - stężeniu 10%).

W celu określenia właściwości fizycznych materiału, przeprowadzone zostały badania według następujących norm badawczych: PN-EN ISO 9237:1998 *Tekstylii - Wyznaczanie przepuszczalności powietrza wyrobów włókienniczych* oraz PN-EN ISO 10319:2015-08 *Geosyntetyki - Badanie wytrzymałości na rozciąganie metodą szerokich próbek* [98,99].

Aktywność antymikrobową materiału COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾ oceniono zgodnie z normą PN-EN ISO 20645:2006 *Płaskie wyroby włókiennicze - Wyznaczanie aktywności antybakteryjnej - Metoda dyfuzji na płytce z agarą wobec reprezentatywnych szczepów bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich (E. coli, S. aureus i P. aeruginosa)* oraz PN-EN 14119:2005 *Badania tekstyliów - Ocena działania mikrogrzybów – metoda wizualna wobec Ch. globosum (ATCC 6205) i C. albicans (ATCC 10231)* [100,101].

Badania mikrobiologiczne potwierdziły aktywność antybakteryjną i antygrzybiczną *in vitro* próbek COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾. Na Rysunkach: 6.1.2. i 6.1.3. przedstawiam zdjęcia szalek Petriego z wyraźnymi strefami zahamowania wzrostu obrazujące antymikrobowe działanie opracowanych kompozycji.

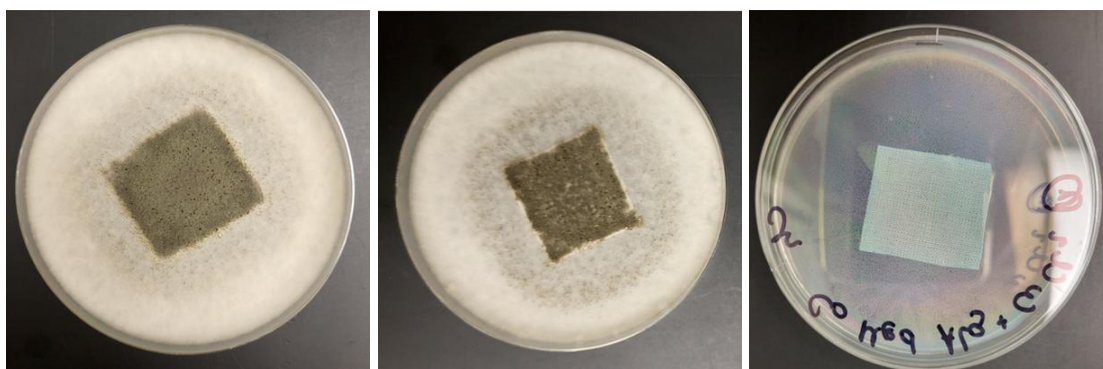


(A)

(B)

(C)

Rysunek 6.1.2. Badania właściwości antymikrobowych wg normy PN-EN ISO 20645:2006 [100]. Strefy zahamowania wzrostu bakterii na szalkach Petriego: (A) niemodyfikowana tkanina bawełniana (*E. coli*); (B) kompozyt COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾ (*E. coli*); (C) kompozyt COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾ (*S. aureus*) [65].



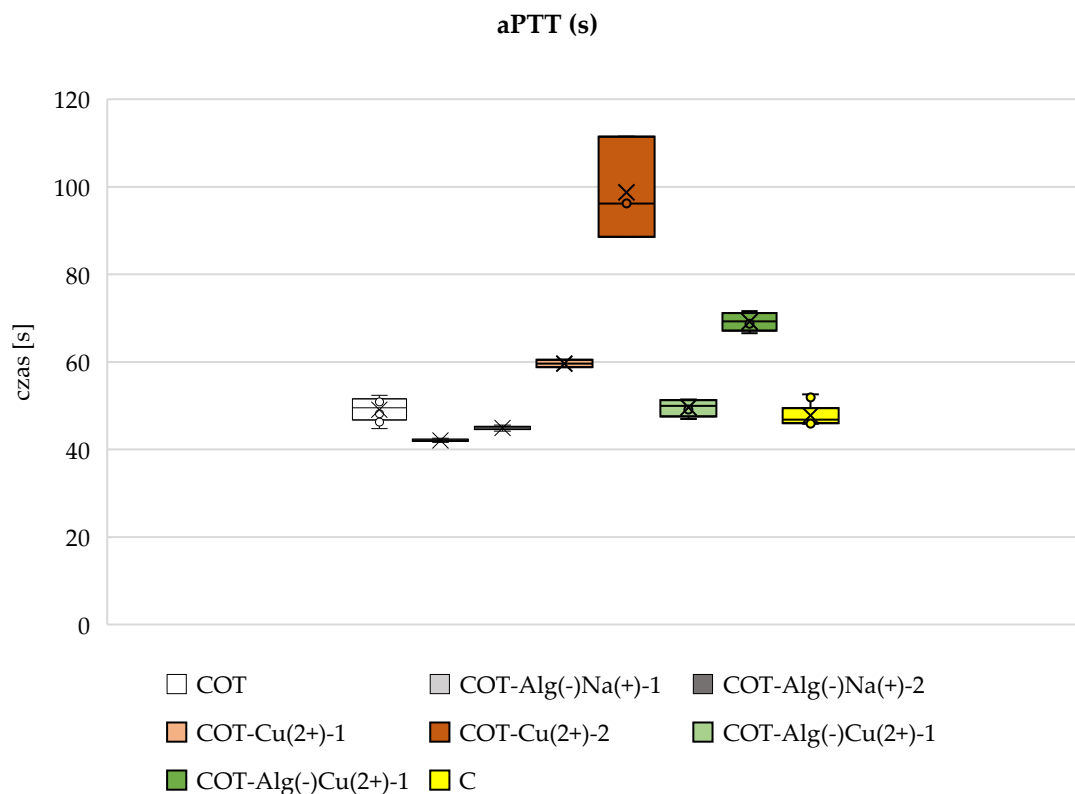
(A)

(B)

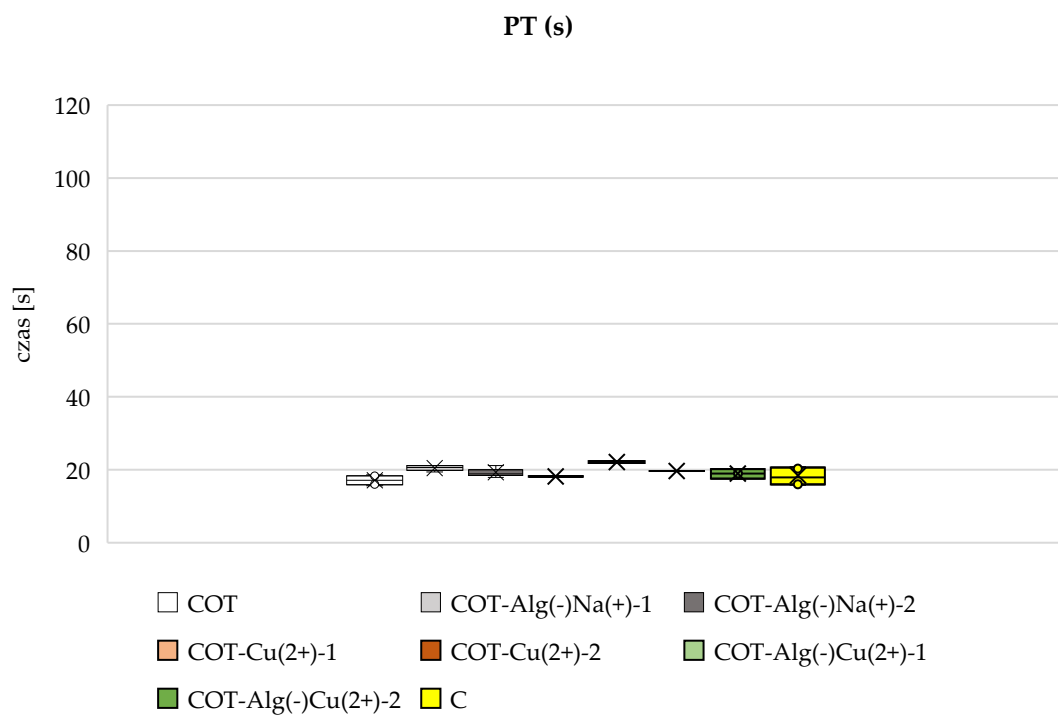
(C)

Rysunek 6.1.3. Badania właściwości antymikrobowych wg normy PN-EN 14119:2005 [101]. Strefy zahamowania wzrostu kolonii grzybów *Ch. globosum* na szalkach Petriego: (A) niemodyfikowana tkanina bawełniana; (B) kompozyt COT-ALG⁽⁻⁾; (c) kompozyt COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾ [65].

Biochemiczna ocena właściwości nowo opracowanych kompozytów została przeprowadzona w kontekście układu krzepnięcia krwi, z uwzględnieniem pomiarów czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT) oraz czasu protrombinowego (PT). Analiza wykazała, że kompleksy typu COT-ALG-Cu²⁺, wykazujące aktywność przeciwdrobnoustrojową, przy odpowiednio dobranych stężeniach jonów Cu²⁺, nie wpływały istotnie na parametry krzepnięcia osocza, co sugeruje ich biogodność w aspekcie hemostatycznym, przy zachowaniu właściwości antybakteryjnych (Rys. 6.1.4 i 6.1.5). Z kolei kompozyt zawierający włókna bawełniane impregnowane jonami miedzi (COT-Cu²⁺) powodował wydłużenie czasu krzepnięcia w wewnątrzpochoodnym szlaku aktywacji, co odzwierciedlało się w statystycznie istotnym wydłużeniu czasu aPTT.



Rysunek 6.1.4. Wpływ badanych kompozytów na czas aPTT: COT; COT-ALG⁽⁻⁾Na⁽⁺⁾(1%); COT-ALG⁽⁻⁾Na⁽⁺⁾(9.7%); COT-Cu⁽²⁺⁾(0.16); COT-Cu⁽²⁺⁾(0.30); COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾(0.15); COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾(0.28); i C-kontrola [65].



Rysunek 6.1.5. Wpływ badanych kompozytów na czas PT: COT; COT-ALG⁽⁻⁾Na⁽⁺⁾(1%); COT-ALG⁽⁻⁾Na⁽⁺⁾(9.7%); COT-Cu⁽²⁺⁾(0.16); COT-Cu⁽²⁺⁾(0.30); COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾(0.15); COT-ALG⁽⁻⁾Cu⁽²⁺⁾(0.28); i C-kontrola [65].

Na podstawie przeprowadzonych badań można wysunąć następujące wnioski:

- opracowano warunki otrzymania nowego kompozytu na bazie bawełny, alginianu i miedzi; alginian sodu i chlorek miedzi (II) znalazły zastosowanie w procesie funkcjonalizacji tkaniny bawełnianej poprzez bezpośrednie wprowadzenie ich w procesie powlekania „*dip-coating*”;
- otrzymane kompozyty typu: bawełna–alginian–miedź mogą być obiecującymi materiałami do zastosowań biomedycznych dzięki swoim właściwościom antymikrobowym i aktywności koagulacyjnej.

Moim wkładem w pracę eksperymentalną było opracowanie i wytworzenie kompozytów, modyfikacji bawełny alginianem i chlorkiem miedzi (II) metodą *dip-coating*; wykonanie części badań właściwości fizykochemicznych (analiza powierzchni właściwej BET), oraz badań biochemicznych w zakresie krzepnięcia osocza krwi (aPTT i PT).

6.2. **Mrozińska Z.**, Kudzin M. H.*, Ponczek M., Kaczmarek A., Król P., Lisiak-Kucińska A., Żyła R., Walawska A., *Biochemical Approach to Poly(Lactide)-Copper Composite - Impact on Blood Coagulation Processes*. Materials 2024, 17(3), 608; <https://doi.org/10.3390/ma17030608> [66]

Artykuł dotyczy metody otrzymywania oraz charakterystyki fizykochemicznej i biologicznej kompozytu typu poli(laktyd)-miedź (PLA-Cu). Funkcjonalizacja włókniny PLA, otrzymanej z wykorzystaniem technologii *melt-blown*, została przeprowadzona z zastosowaniem metody napyłania magnetronowego. Technika ta umożliwia precyzyjne osadzanie cienkowarstwowych powłok, w tym metali, na różnorodnych podłożach polimerowych. Do istotnych zalet napyłania magnetronowego należy zaliczyć wysoką wszechstronność aplikacyjną, kontrolowalność parametrów procesu oraz fakt, że jest uznawana za technologię przyjazną środowisku i bezodpadową [102–104].

Materiały wytworzone z biodegradowalnego poli(laktydu), należącego do grupy alifatycznych poliestrów, w połączeniu z miedzią wykazują potencjał aplikacyjny jako komponenty biomedyczne. Obecność miedzi nadaje materiałom właściwości przeciwdrobnoustrojowe, co ogranicza ryzyko infekcji, natomiast bioresorbowalna matryca PLA może stanowić czasowe rusztowanie wspierające regenerację tkanek. Synergiczne działanie PLA i miedzi może sprzyjać przebudowie macierzy zewnątrzkomórkowej oraz modulować odpowiedź zapalną w miejscu uszkodzenia [105].

Celem naukowym badań w artykule było wytworzenie kompozytu poli(laktyd) – miedź posiadającego właściwości antymikrobowe oraz ocena wpływu nowej struktury materiałowej na procesy gojenia rany.

Próbki włóknin typu *melt-blown* na bazie poli(laktydu) zostały wytworzone przy użyciu laboratoryjnej wyłaczarki wyposażonej w głowicę umożliwiającą formowanie włóknin pneumatycznych (Axon, Szwecja) (Rys. 6.2.1.).



Rysunek 6.2.1. Wyłaczarka laboratoryjna firmy AXON wykorzystana w pracach do wytwarzania włókien typu *melt-blown*.

Następnie, w celu modyfikacji powierzchni, na włókninach osadzono metaliczną miedź z wykorzystaniem prototypowego systemu napyłania magnetronowego prądem stałym (DC ang. *Direct Current*) (P.P.H. Jolex sc., Polska) (Rys. 6.2.2.).

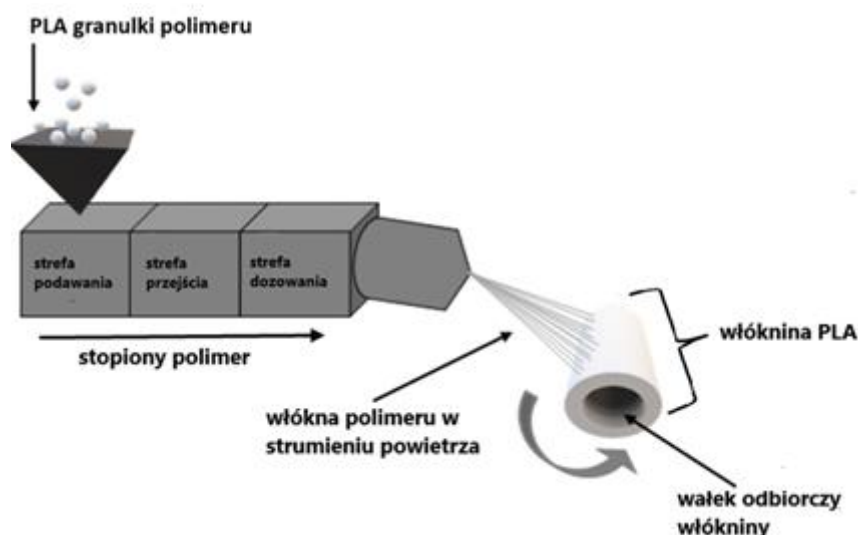


Rysunek 6.2.2. Magnetron – prototypowe urządzenie do napyłania magnetronowego (DC) wytworzone we współpracy Instytutu z firmą P.P.H. Jolex sc., wykorzystane w pracach badawczych.

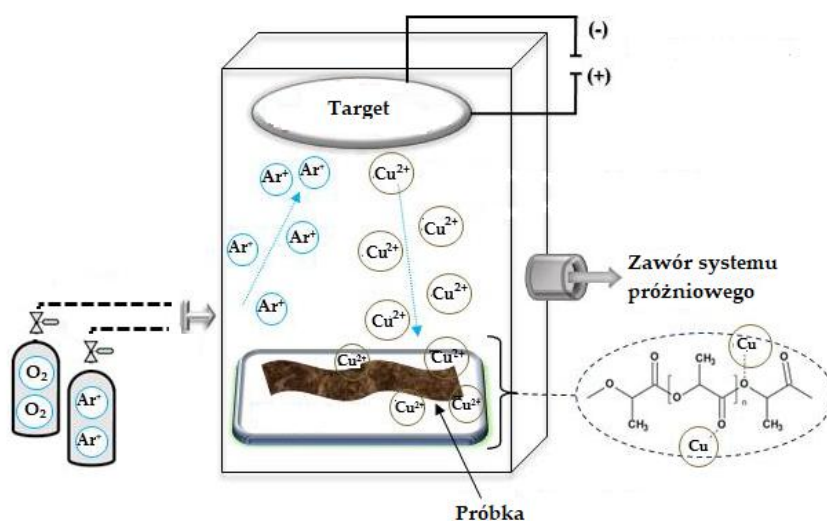
Modyfikacja materiałów polimerowych metodą napyłania magnetronowego nie stanowi prostej, rutynowej procedury, lecz jest procesem silnie wrażliwym na parametry plazmy i wymagającym indywidualnego dostosowania dla każdej matrycy polimerowej [106,107]. Polimery cechują się niską stabilnością termiczną, ograniczoną przewodnością cieplną, zróżnicowaną energią powierzchniową oraz odmienną morfologią włókien, co czyni je wyjątkowo podatnymi na uszkodzenia spowodowane strumieniem jonów i wysokoenergetycznych elektronów w plazmie; nawet krótkotrwałe przekroczenie progów temperaturowych prowadzi do skurczu, przetopów, degradacji łańcuchów lub zniszczenia struktury porowatej [106,108–110]. W konsekwencji każdy z zastosowanych w pracy układów metal-polimer wymagał osobno dobranych warunków procesu (moc i charakterystyka zasilania, ciśnienie oraz rodzaj gazu roboczego, gęstość prądu, czas napyłania, odległość target-substrat), tak aby z jednej strony ograniczyć nagrzewanie podłoża, a z drugiej zapewnić

odpowiednio wysoką energię plazmy do wytworzenia jednolitej, dobrze przylegającej powłoki metalicznej [106,107,109]. Jak pokazują badania dotyczące plazmowej modyfikacji tkanin i włókien, w tym włókien naturalnych, niewielkie zmiany mocy, czasu ekspozycji czy składu gazu mogą prowadzić do silnie różniących się efektów – od (za)łagodnej funkcjonalizacji powierzchni po wyraźne uszkodzenia strukturalne [109,110]. Dodatkową trudnością wykorzystania techniki jest trójwymiarowa, porowata struktura badanych matryc (np. włókniny *melt-blown* z PLA oraz włókna naturalne), która utrudnia równomierny dostęp plazmy do całej objętości próbki i sprzyja lokalnym różnicom w gęstości strumienia jonów. Literatura dotycząca metalizacji polimerów podkreśla, że uzyskanie ciągłej, stabilnej powłoki na tak rozwiniętej topografii powierzchni wymaga specjalnie zaprojektowanej sekwencji przygotowania podłoża i osadzania, a także odrębnego podejścia do każdego typu polimeru [106,108–110]. Oznacza to, że każde z przeprowadzonych w ramach Rozprawy procesów napyłania magnetronowego stanowiło w praktyce niezależny eksperyment technologiczny z własnym zestawem parametrów krytycznych metody.

Schemat procesu otrzymywania włókniny PLA metodą *melt-blown* przedstawiono na Rysunku 6.2.3., natomiast schemat napyłania miedzi na podłoże PLA na Rysunku 6.2.4.

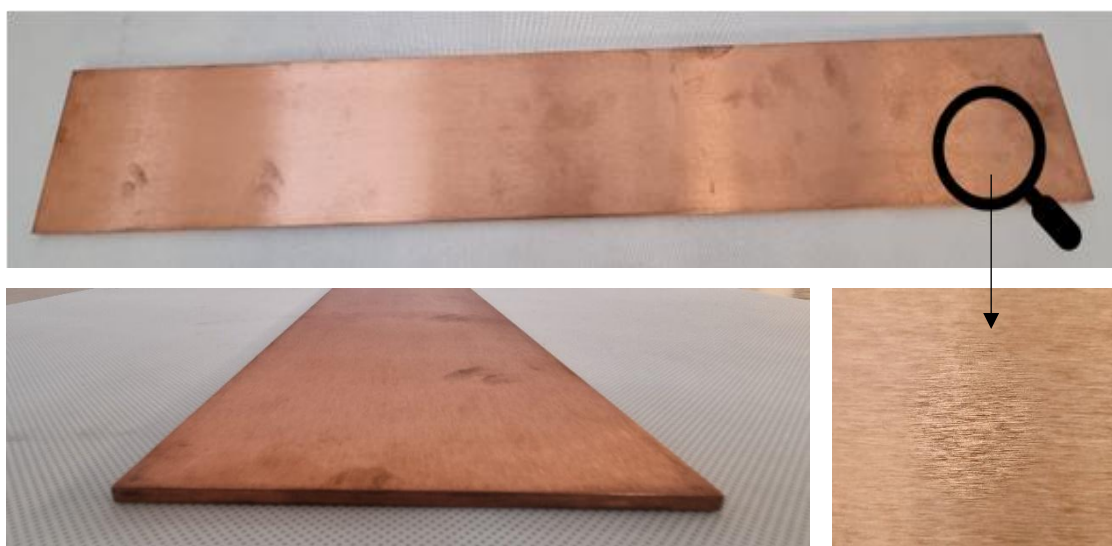


Rysunek 6.2.3. Schemat otrzymywania włókniny PLA metodą *melt-blown* [69].



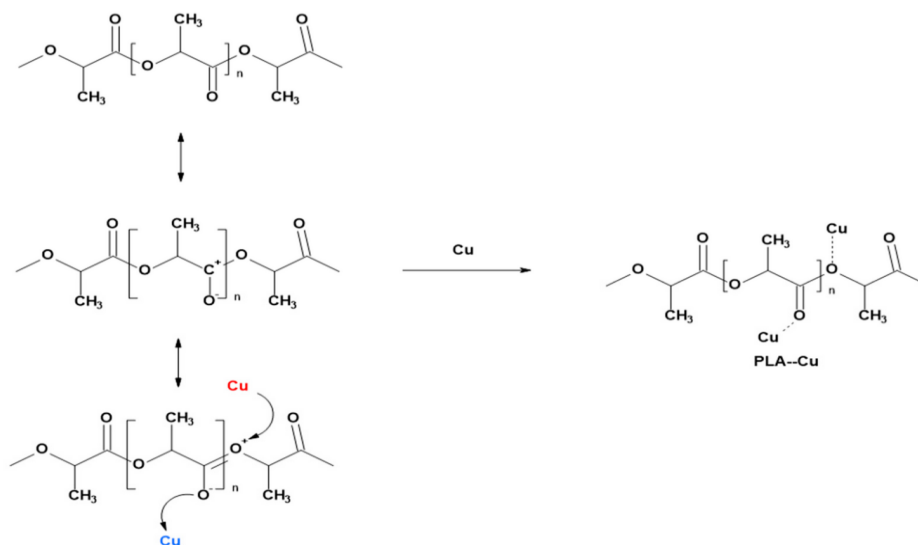
Rysunek 6.2.4. Schemat magnetronowego rozpylania miedzi na podłoże PLA [67].

Do badań zastosowałam target wykonany z miedzi o czystości 99,99% (Rys. 6.2.5.). Proces napylania miedzi na próbki włóknin prowadziłam w atmosferze argonu (jako gazu obojętnego), stosując różny czas procesu (5, 10 i 20 min.) przy mocy 0,5 kW.



Rysunek 6.2.5. Target miedzi firmy Testbourne Ltd. (Basingstoke, UK), wykorzystywany w badaniach nad funkcjonalizacją materiałów.

Konfiguracja elektronowa miedzi ($1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^1 4p^0$) umożliwia jej reaktywność zarówno jako elektro-donora, jak i elektro-akceptora [111]. Właściwości te sugerują możliwość formowania kompozytów PLA-Cu poprzez powstawanie wiązań miedź-poli(laktyd) (Rys. 6.2.6.). Atomy miedzi osadzone na powierzchni PLA mogą oddziaływać z tlenem karbonylowym pełniącym funkcję elektro-donora i tworzyć kowalencyjne wiązanie Cu-O. Atomy miedzi na powierzchni PLA, zachowują swoją reaktywność wpływając tym samym na właściwości biologiczne powstałych kompozytów.



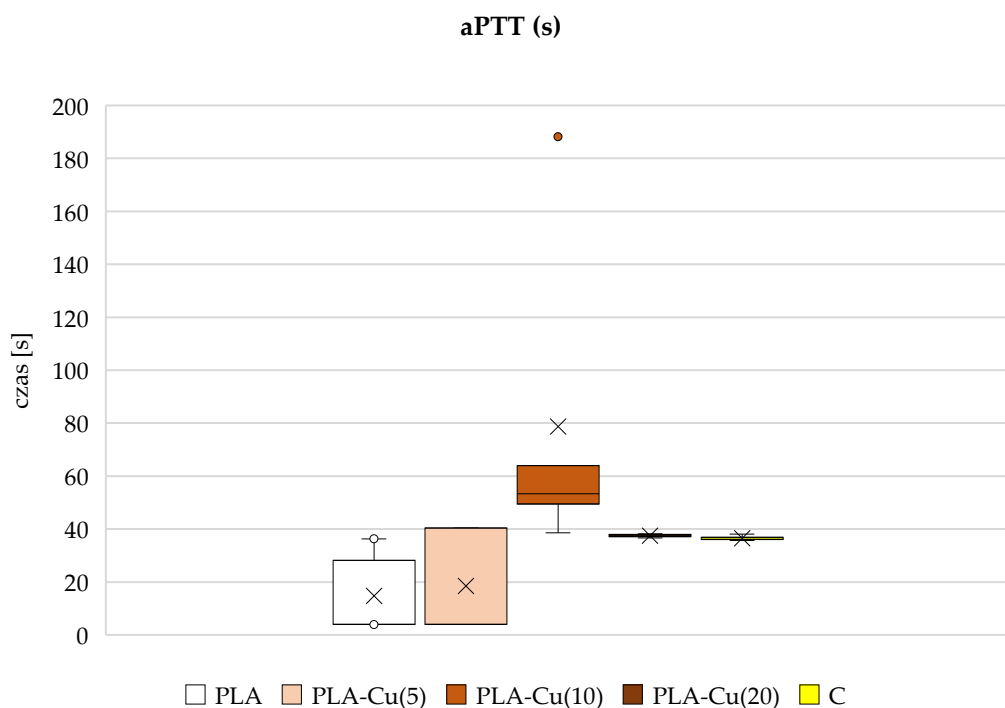
Rysunek 6.2.6. Zakładany mechanizm formowania połączenia PLA-Cu (**Cu** działa jako donor elektronów, **Cu** jako akceptor elektronów) [66].

Do przeprowadzenia charakterystyki fizykochemicznej i strukturalnej kompozytu PLA-Cu zastosowano następujące metody badawcze: absorpcyjną spektrometrię atomową ze wzbudzeniem w płomieniu (FAAS), analizę mikroskopową oraz analizę powierzchni właściwej metodą BET. Aktywność antymikrobową kompozytu oceniono zgodnie z normą PN-EN ISO 20645:2006 [100] na płytce z agarem wobec reprezentatywnej kolonii bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich (*E. coli*, *S. aureus* i *P. aeruginosa*) oraz PN-EN 14119:2005 [101] wobec *Ch. globosum* (ATCC 6205) i *C. albicans* (ATCC 10231).

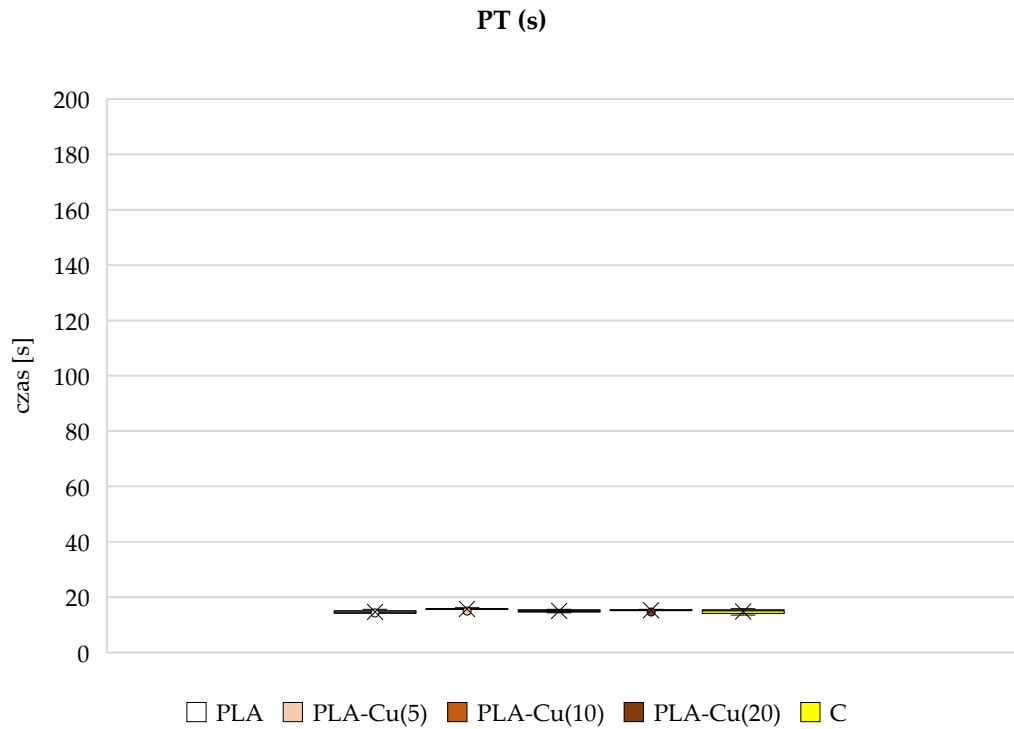
Wyniki przeprowadzonych badań potwierdzają, że zastosowana modyfikacja nadaje materiałowi właściwości przeciwdrobnoustrojowe wobec reprezentatywnych mikroorganizmów, co przejawia się obecnością wyraźnych stref hamowania wzrostu bakterii i grzybów na szalkach Petriego. W przypadku próbki włókniny poli(laktydu) niemodyfikowanej, zaobserwowano silny, widoczny wzrost mikroorganizmów, który pokrywał powierzchnię próbki kontrolnej (PLA). Wyniki wskazują, że powierzchnie antymikrobowe zawierające miedź wykazują skuteczność w stosunku do bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych oraz wybranych gatunków grzybów. Mechanizm odpowiedzialny za zaobserwowany efekt to tzw. „zabijanie kontaktowe” (ang. *contact killing*), gdzie mikroorganizmy mające kontakt z miedzią obecną na powierzchni badanych próbek doznają uszkodzenia błony komórkowej, co prowadzi do dalszej degradacji ich DNA. [112–116].

Analiza właściwości biochemicznych kompozytów obejmowała ocenę czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT), czasu protrombinowego (PT) oraz czasu trombinowego (TT) (Rys. 6.2.7–6.2.9.), a także obrazowanie sieci fibrynowej przy użyciu skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) (Rys. 6.2.10.). W literaturze naukowej istnieje luka poznawcza dotycząca oceny wpływu materiałów wytworzonych z poli(laktydu) na proces krzepnięcia krwi. Uzyskane wyniki wykazały, że poli(laktyd) działa jako aktywator krzepnięcia, prowadząc do skrócenia czasu krzepnięcia w teście aPTT, który ocenia wewnątrzpochodny tor aktywacji układu krzepnięcia, w tym czynników XII, XI, IX, VIII, X

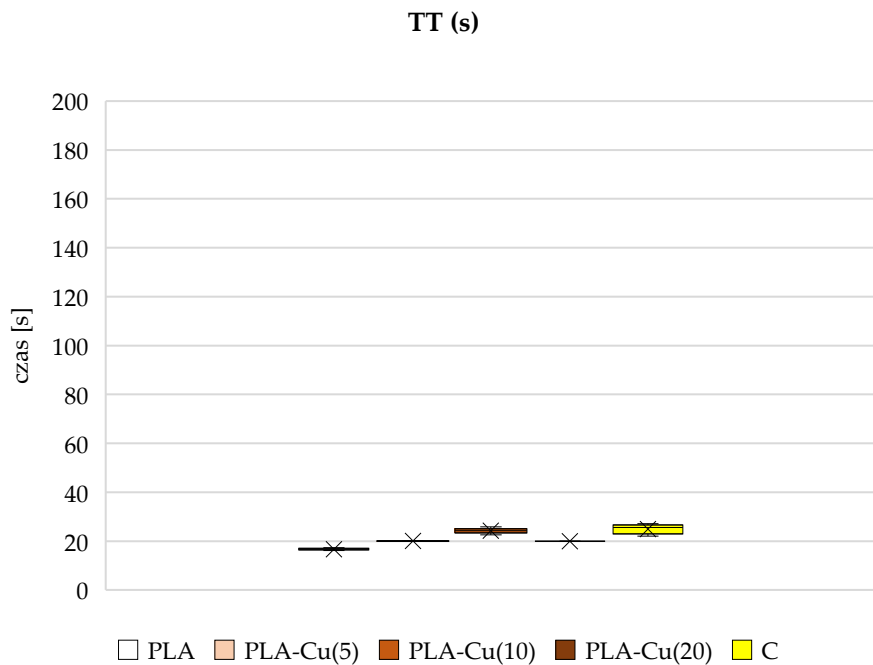
i V. Dodatek miedzi (Cu) w kompozycie modyfikuje efekt aktywacji poprzez interakcję z czynnikami kontaktowymi, szczególnie z czynnikiem XII, który jest kluczowy w inicjacji wewnątrzpochodnej drogi krzepnięcia. Miedź wiąże czynniki krzepnięcia, co prowadzi do ich dezaktywacji i w konsekwencji może odwrócić aktywację procesu. Przy odpowiednio dobranym stężeniu Cu^{2+} , nie zaobserwowano istotnego wydłużenia czasu krzepnięcia, co sugeruje, że modyfikacja z użyciem miedzi może być kontrolowana w sposób, który nie powoduje nadmiernego hamowania procesów krzepnięcia. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian w wartościach PT i TT, które oceniają odpowiednio zewnątrzpochodny i końcowy tor krzepnięcia, aktywowany przez czynnik tkankowy, jony wapnia lub trombinę. Oznacza to, że materiały na bazie poli(laktydu) i miedzi, mimo wpływu na wewnątrzpochodny tor (XII, XI, IX, VIII), nie wywołują znaczących zakłóceń w innych częściach kaskady krzepnięcia, co jest istotne z punktu widzenia ich potencjalnych zastosowań biomedycznych.



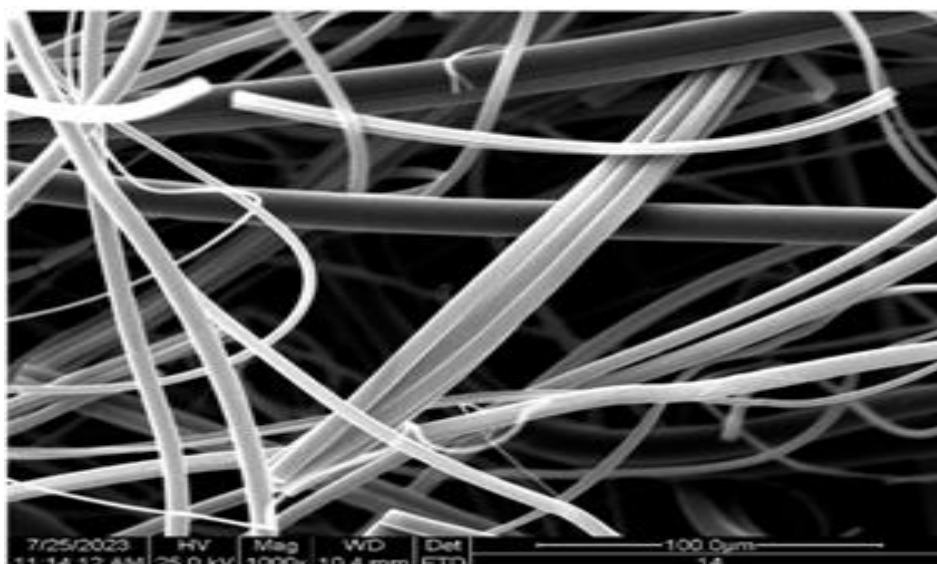
Rysunek 6.2.7. Wpływ badanych kompozytów PLA-Cu na czas aPTT: PLA; PLA-Cu(5); PLA-Cu(10); PLA-Cu(20) i C-kontrola [66].



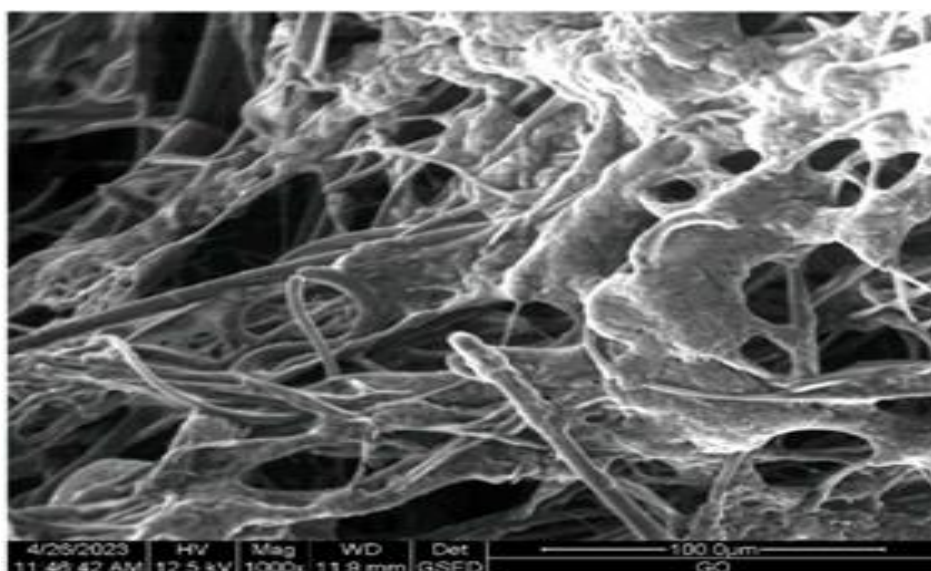
Rysunek 6.2.8. Wpływ badanych kompozytów PLA-Cu na PT: PLA; PLA-Cu(5); PLA-Cu(10); PLA-Cu(20) i C-kontrola [66].



Rysunek 6.2.9. Wpływ badanych kompozytów PLA-Cu na TT: PLA; PLA-Cu(5); PLA-Cu(10); PLA-Cu(20) i C-kontrola [66].



(A)



(B)

Rysunek 6.2.10. Mikrofotografie ze skaningowego mikroskopu elektronowego: (A) niemodyfikowana włóknina PLA; (B) powierzchnia próbki PLA z powiązaną siecią fibrynową, powiększenie: $1000 \times$ [66].

Na podstawie przeprowadzonych badań można wysunąć następujące wnioski:

- opracowano warunki otrzymania kompozytu na bazie poli(laktydu) oraz miedzi;
- niemodyfikowany materiał z poli(kwasu mlekowego) przyspiesza proces krzepnięcia, natomiast jego modyfikacje miedzią mogą stanowić sposób poszukiwania nowych materiałów, w których proces krzepnięcia krwi byłby dobrze kontrolowany, oferując jednocześnie dodatkowe efekty przeciwpatogenne;
- znaczące właściwości przeciwdrobnoustrojowe i przeciwgrzybicze kompozytu PLA-Cu sugerują potencjalne jego zastosowania jako materiał antybakteryjny/przeciwgrzybiczy.

Moim wkładem w pracę eksperymentalną było wytworzenie włókien, opracowanie i wykonanie modyfikacji materiału z PLA miedzią; wykonanie części badań właściwości fizykochemicznych (analiza powierzchni właściwej BET, analiza mikroskopowa), oraz badań biochemicznych w zakresie krzepnięcia osocza krwi (aPTT i PT).

6.3. **Mrozińska, Z.;** Ponczek, M.B.; Kaczmarek, A.; Świerczyńska, M.; Kudzin, M.H. *Activity in the Field of Blood Coagulation Processes of Poly(Lactide)-Zinc Fiber Composite Material Obtained by Magnetron Sputtering*. Coatings 2024, 14, 666. DOI: 10.3390/coatings14060660 [67]

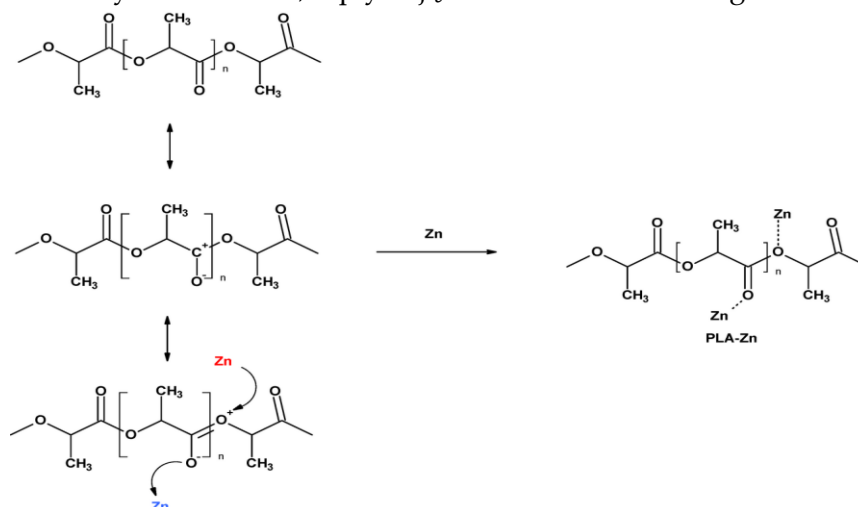
W pracy przedstawiłam biochemiczne właściwości kompozytów poli(laktyd) - cynk (PLA-Zn). Wyniki zawarte w artykule są kontynuacją programu badawczego ukierunkowanego na opracowywanie antybakteryjnych kompozytów posiadających aktywność biologiczną [65,66,117–120].

Celem naukowym przeprowadzonych badań było wytworzenie kompozytu poli(laktyd)-cynk (PLA-Zn), przyspieszającego procesy krzepnięcia krwi, przy jednoczesnym zachowaniu właściwości przeciwdrobnoustrojowych.

Badane kompozyty PLA-Zn otrzymano metodą napyłania magnetronowego, polegającą na osadzeniu cynku na włókninach *melt-blown*. Do procesu zastosowano target wykonaną z cynku o czystości 99,99%. Napyłanie prowadzono w atmosferze argonu, pełniącego rolę gazu obojętnego, przy różnych mocach (350-1000 W) i zmiennym czasie trwania procesu (5, 10 i 15 minut).

Konfiguracja elektronowa cynku ($1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^2 4p^0 4py^0 4pz^0$) warunkuje jego zdolność do pełnienia roli elektro-donora oraz elektro-akceptora [111,121]. Właściwości te, podobnie jak w przypadku miedzi, sugerują możliwość formowania kompozytów PLA-Zn poprzez wiązania cynk–poli(laktyd), co zostało schematycznie przedstawione na Rysunku 6.3.1.

Atomy cynku, rozproszone na powierzchni PLA lub chemisorbowane, zachowują swoje właściwości fizykochemiczne, wpływając na właściwości biologiczne materiału.

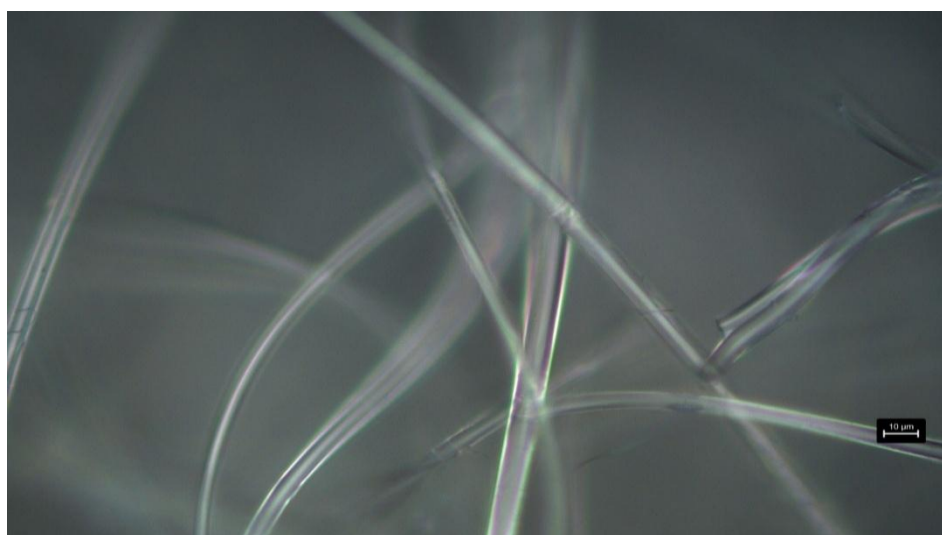


Rysunek 6.3.1. Spodziewany mechanizm formowania układu PLA-Zn (Zn działa jako donor elektronów, Zn jako akceptor elektronów) [67].

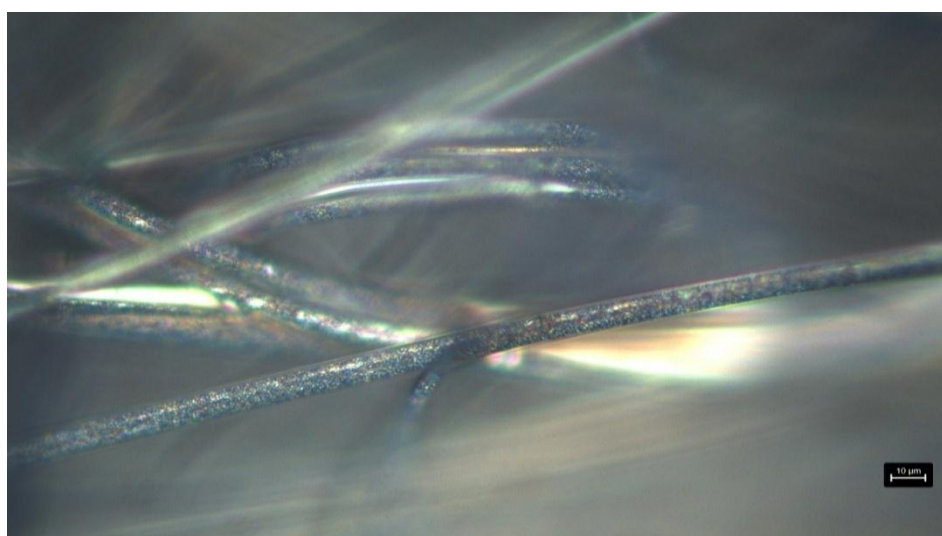
Do charakterystyki fizykochemicznej i strukturalnej kompozytu PLA-Zn zastosowano następujące metody badawcze: absorpcyjną spektrometrię atomową ze wzbudzeniem w płomieniu (FAAS), skaningową mikroskopię elektronową (SEM) oraz analizę powierzchni właściwej metodą BET.

Obrazy włókien wytworzonych z PLA oraz kompozytów typu PLA-Zn wykonane za pomocą mikroskopii optycznej przedstawiono na Rysunku 6.3.2., natomiast obrazy SEM badanych próbek na Rysunku 6.3.3.

Analiza SEM umożliwia wykrycie potencjalnych zmian strukturalnych we włóknach, takich jak uszkodzenia lub niewłaściwe ułożenie, które mogłyby wpłynąć na skuteczność antybakteryjną materiału. Analiza morfologii wykazała, że cynkowe powłoki utworzone na powierzchni włókien PLA są jednorodne. Cynk nie tylko pokrywa powierzchnię włókien, lecz również występuje pomiędzy nimi, częściowo wypełniając przestrzenie międzywłóknowe. Pomimo zastosowania warunków napyłania magnetronowego, włókna PLA nie uległy uszkodzeniu, a ich struktura włóknista została zachowana.

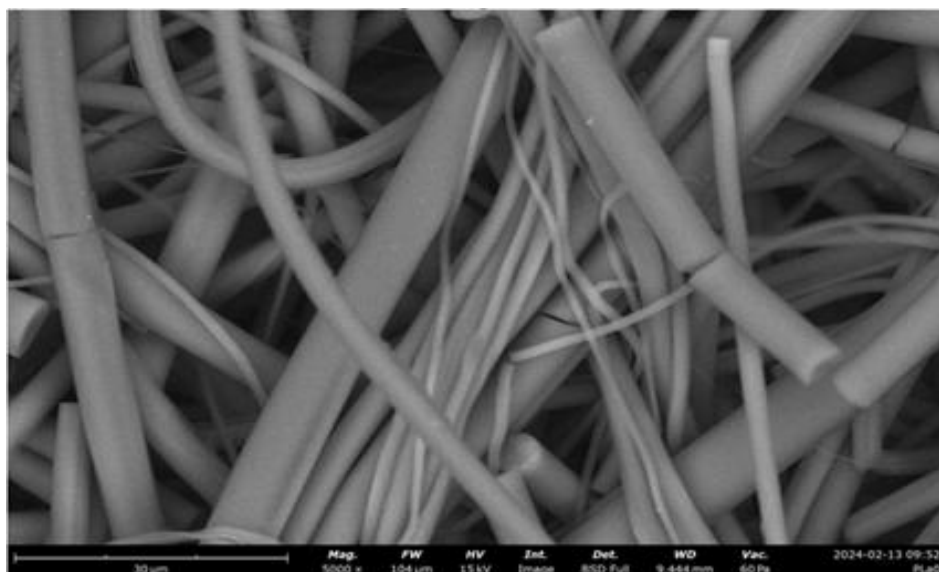


(A)

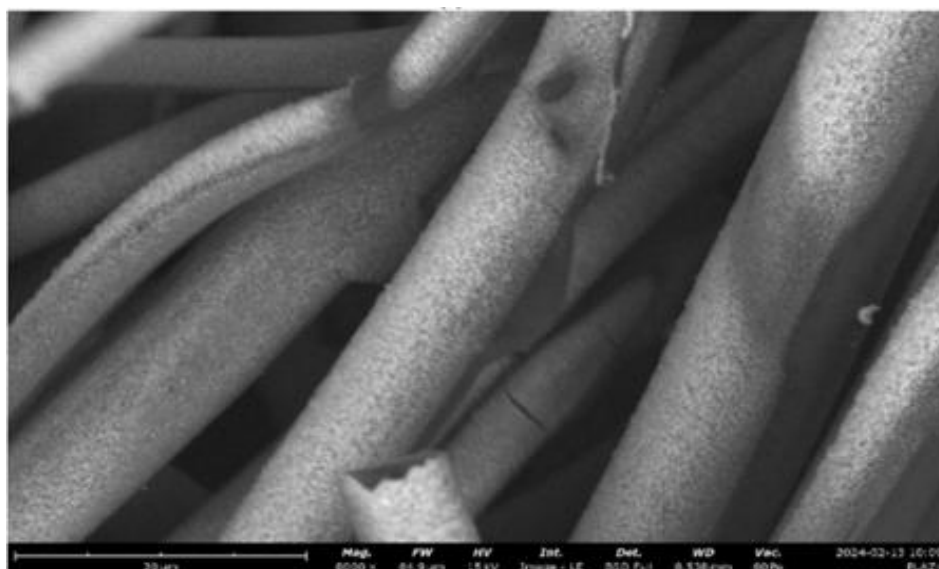


(B)

Rysunek 6.3.2. Zdjęcia mikroskopowe struktury powierzchni PLA (A) i kompozytu PLA-Zn (B) [67].



(A)

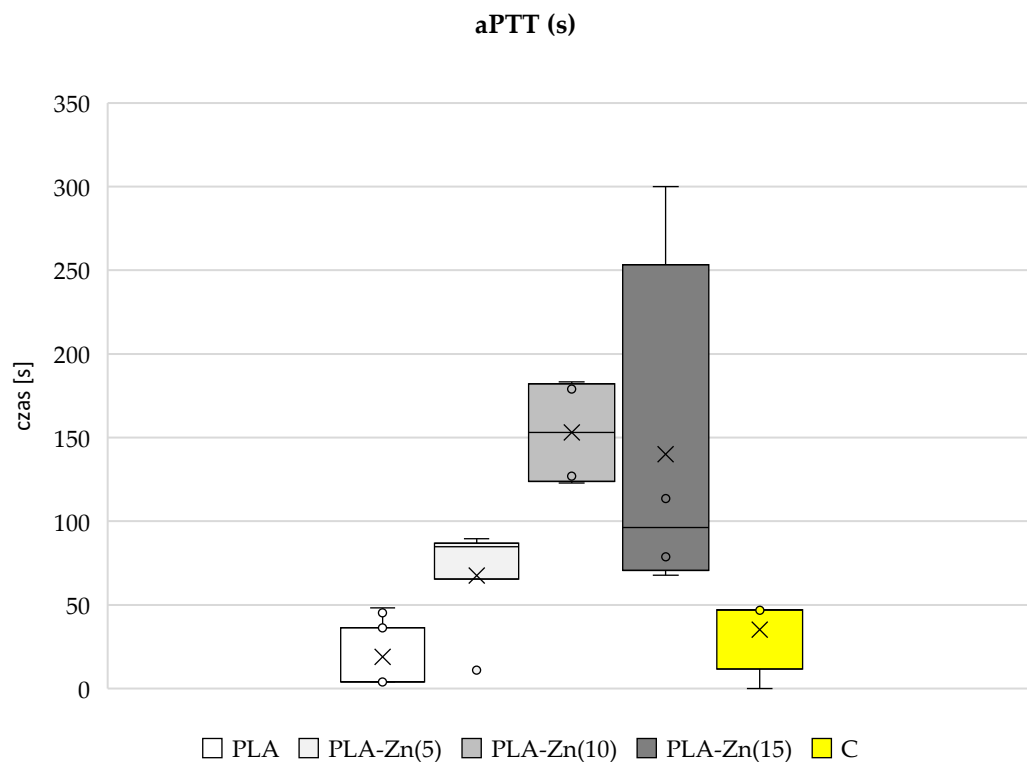


(B)

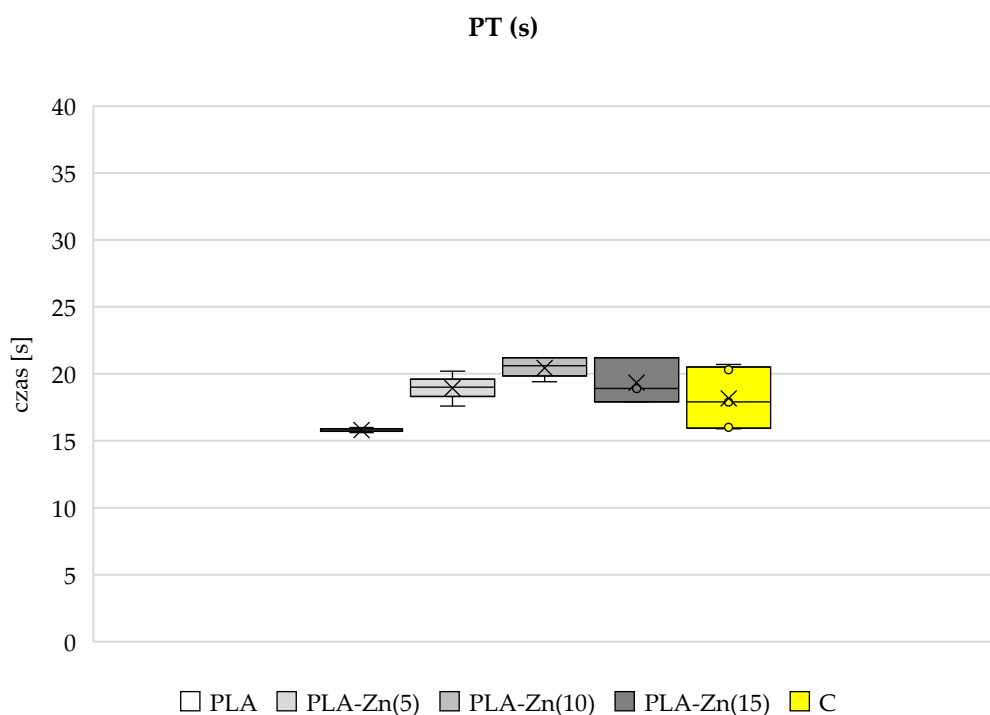
Rysunek 6.3.3. Zdjęcia SEM PLA (A) i kompozytu PLA-Zn (B) [67].

Aktywność antymikrobową kompozytu PLA-Zn oceniono zgodnie z normą PN-EN ISO 20645:2006 [100], wyniki badań wykazały, że wytworzone kompozyty posiadają aktywność przeciwdrobnoustrojową względem reprezentatywnych szczepów bakterii.

Charakterystyka biochemiczna kompozytów obejmowała ocenę czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT) oraz czasu protrombinowego (PT) (Rys. 6.3.4. i 6.3.5.).



Rysunek 6.3.4. Wpływ badanych kompozytów PLA-Zn na czas aPTT: PLA; PLA-Zn(5); PLA-Zn(10); PLA-Zn(15) i C-kontrola [67].



Rysunek 6.3.5. Wpływ badanych kompozytów PLA-Zn na czas PT: PLA; PLA-Zn(5); PLA-Zn(10); PLA-Zn(15) i C-kontrola [67].

Otrzymane wyniki wykazały, że materiał wytworzony z poli(laktydu) (PLA) działa jako aktywator krzepnięcia krwi, skracając czas krzepnięcia w teście aPTT, co wpływa na sprawność wewnątrzpochodnego szlaku koagulacji (czynniki XII, XI, IX, VIII). PLA

aktywuje ten szlak poprzez wpływ na czynniki kontaktowe, takie jak czynnik XII, które uruchamiają kaskadę krzepnięcia. Z kolei kompozyt PLA-Zn wykazywał odwrotny efekt, niwelując wpływ PLA na przyspieszenie krzepnięcia. Cynk, poprzez swoją zdolność do wiązania i neutralizacji czynników kontaktowych (zwłaszcza czynnika XII), wydłuża czas krzepnięcia, co w efekcie opóźnia wewnątrzpochodny proces krzepnięcia. Dodatkowo, cynk pełni rolę elektro-akceptora, który może interweniować w procesie aktywacji innych białek koagulacyjnych, takich jak czynniki IX i VIII. Jednakże przy odpowiednim doborze ilości lub stężenia cynku w kompozycie możliwe jest wyważenie tych efektów, łącząc działanie przeciwdrobnoustrojowe cynku z funkcją stabilizacji skrzepu. W ten sposób kompozyt PLA-Zn może działać nie tylko jako materiał wspomagający procesy gojenia ran, poprzez aktywację krzepnięcia, ale także przeciwdziałać infekcjom, dzięki właściwościom antybakteryjnym cynku, jednocześnie stabilizując utworzony skrzep, co ma istotne znaczenie w kontekście zastosowań biomedycznych.

Na podstawie przeprowadzonych badań można wysunąć następujące wnioski:

- opracowano warunki otrzymania nowego kompozytu na bazie PLA w połączeniu z cynkiem;
- właściwości przeciwdrobnoustrojowe i przeciwwgrzybicze kompozytu PLA-Zn sugerują potencjalne zastosowania jako materiał antybakteryjny/przeciwwgrzybiczy;
- badania potwierdziły, że materiał z poli(laktydu) przyspiesza proces koagulacji, a jako kompozyt z cynkiem może być nowatorskim materiałem wykorzystywanym w biomedycynie.

Moim wkładem w pracę eksperymentalną było wytworzenie włókien, opracowanie i wykonanie modyfikacji PLA cynkiem poprzez napyłanie magnetronowe; wykonanie części badań właściwości fizykochemicznych (analiza powierzchni właściwej BET, analiza mikroskopowa), oraz badań biochemicznych w zakresie krzepnięcia osocza krwi (aPTT i PT).

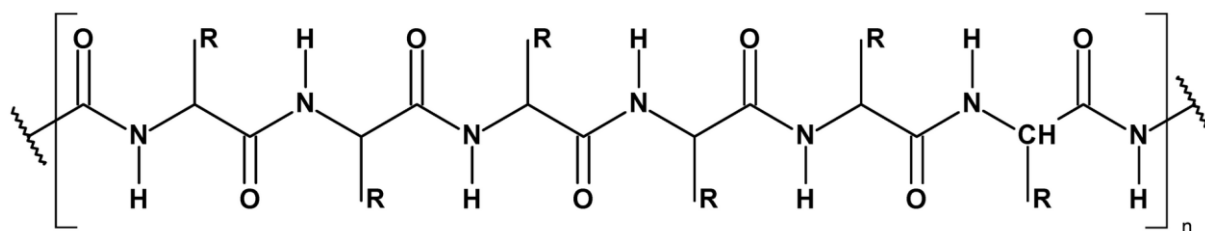
6.4. **Mrozińska, Z.**; Kaczmarek, A.; Świerczyńska, M.; Juszczak, M.; Kudzin, M.H. *Biochemical Behavior, Influence on Cell DNA Condition, and Microbiological Properties of Wool and Wool–Copper Materials*. Materials 2024, 17, 2878. DOI: 10.3390/ma17122878 [68]

W ramach kontynuacji programu badawczego w obszarze biochemicznej funkcjonalizacji polimerów [65,66,117–120], w pracy przedstawiłam badania dotyczące materiału powstałego w wyniku modyfikacji wełny miedzią (WO-Cu). Miedź to pierwiastek przejściowy występujący głównie w trzech stanach utlenienia (0, +1 i +2) [111], o dodatnich potencjałach redoks ($\text{Cu}^+/\text{Cu} = 0,52 \text{ V}$; $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu} = 0,38 \text{ V}$; $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+ = 0,52 \text{ V}$) [122] i liczbach koordynacyjnych 2–4 [111], charakteryzującego się bogatą chemią koordynacyjną [123,124] oraz szerokim spektrum różnorodnych aktywności biologicznych.

Celem niniejszych badań była ocena właściwości biochemicznych materiału powstałego w wyniku fizycznej modyfikacji wełny z użyciem miedzi, a także analiza potencjału włókien wełnianych oraz materiałów typu wełna-miedź do bezpośrednich interakcji z DNA plazmidowym.

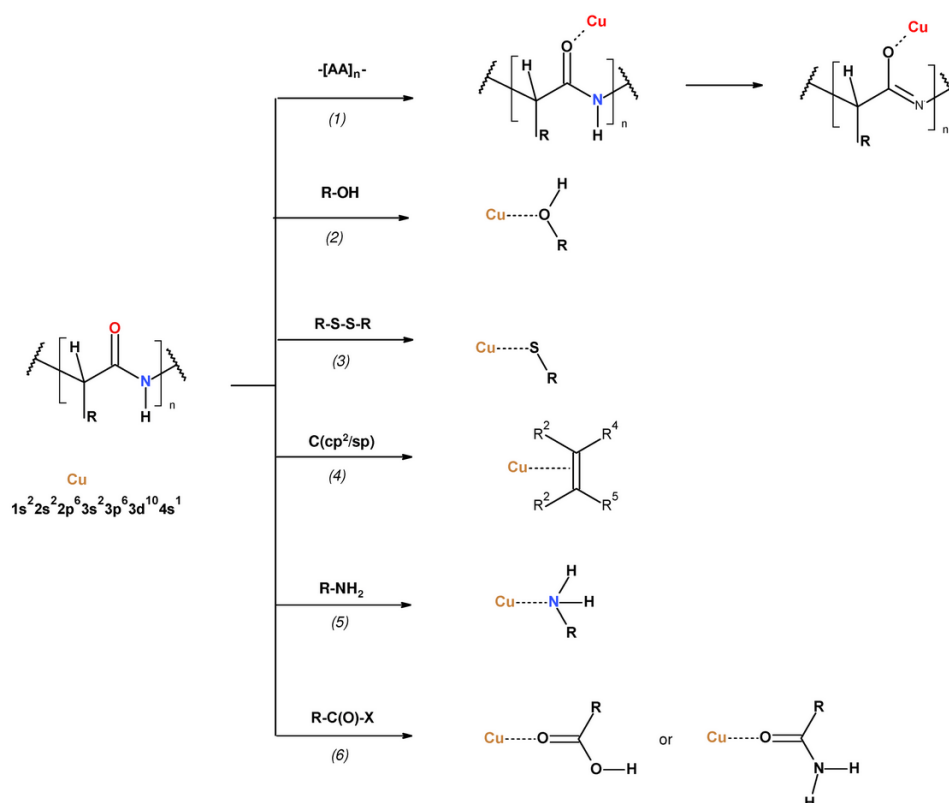
Próbki wełny zostały zmodyfikowane poprzez osadzanie na ich powierzchni metalicznej miedzi za pomocą systemu napyłania magnetronowego. Włókna wełny składają

się w 95–98% z białek (około 80-85% keratyny), lipidów (0,1%) i minerałów (0,5%) [37,125–127]. Struktura łańcucha keratynowego została przedstawiona na Rysunku 6.4.1.



Rysunek 6.4.1. Struktura łańcucha keratynowego (R (AA) = H (Gly); Me (Ala); iPr (Val); iBu (Ile); sBu (Leu); Bz (Phe); HO-Bz (Tyr); indolilo (Trp); imidazolo-CH₂ (His); hydroksymetylo (Ser); 2-hydroksypropyl (Thr); merkaptometylo (Cys); metylotiometylo (Met); 4-aminobutyl (Lys); 4-guanidylo-butyl (Arg); karboksymetylo (Asp); karboksamidometylo (Asn); karboksyetyl (Glu); karboksamidometyl (Gln)) [68].

Konfiguracja elektronowa miedzi umożliwia jej reaktywność zarówno jako dawcy, jak i akceptora elektronów [111]. Badania fizykochemiczne dotyczące chemisorpcji aminokwasów/peptydów oraz miedzi (Rys. 6.4.2.) były tematem licznych pozycji literaturowych [125–163].

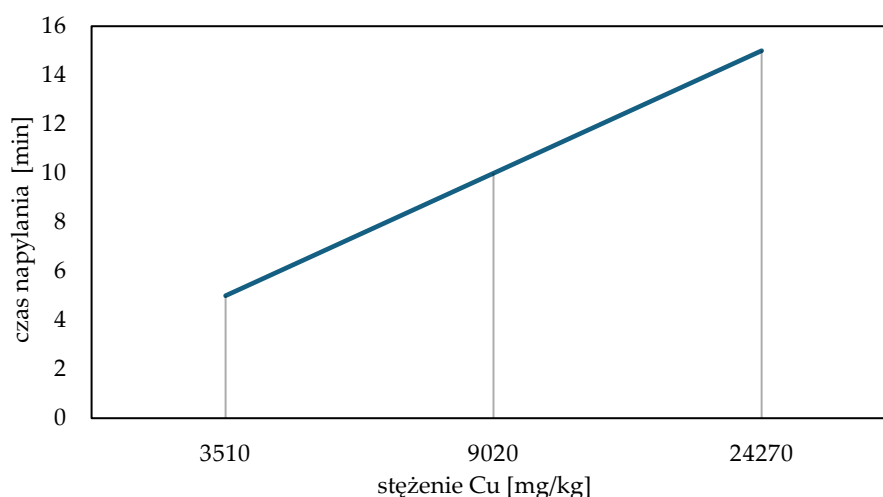


Rysunek 6.4.2. Hipotetyczna interakcja miedzi z reprezentatywnymi grupami funkcyjnymi wełny: (1) łańcuch peptydowy; (2) grupy hydroksylowe (Ser, Tyr); (3) grupy sulfhydrylowe/dwusiarczkowe (Cys); (4) ugrupowania aryłowe (Phe, Tyr, His); (5) grupy aminowe/guanidynowe (Lys, Arg); (6) grupy karboksylowe/karboksamidowe (Asp, Asn, Glu, Gln) [68].

Do charakterystyki strukturalnej i fizykochemicznej kompozytu typu wełna-miedź zastosowano zestaw komplementarnych metod badawczych, obejmujący mikroskopię optyczną oraz skaningową mikroskopię elektronową sprzężoną z mikroanalizą rentgenowską (SEM/EDS), analizę powierzchni właściwą metodą Brunauera-Emmetta-Tellera (BET) oraz absorpcyjną spektrometrię atomową ze wzbudzeniem w płomieniu (FAAS). Zastosowanie tych technik umożliwiło ocenę morfologii włókien, stopnia pokrycia powierzchni warstwą metalu oraz ilościowego udziału miedzi w strukturze materiału.

Analiza zawartości miedzi w próbkach WO-Cu wykazała jednoznaczną zależność pomiędzy czasem trwania procesu napyłania a ilością zdeponowanego metalu (Rys. 6.4.3.). W wyniku stopniowego wydłużania czasu osadzania uzyskano trzy poziomy koncentracji miedzi w materiale, wykazujące niemal liniowy charakter zależności:

- 5 minut - 3510 mg/kg Cu
- 10 minut - 9020 mg/kg Cu
- 15 minut - 24 270 mg/kg Cu



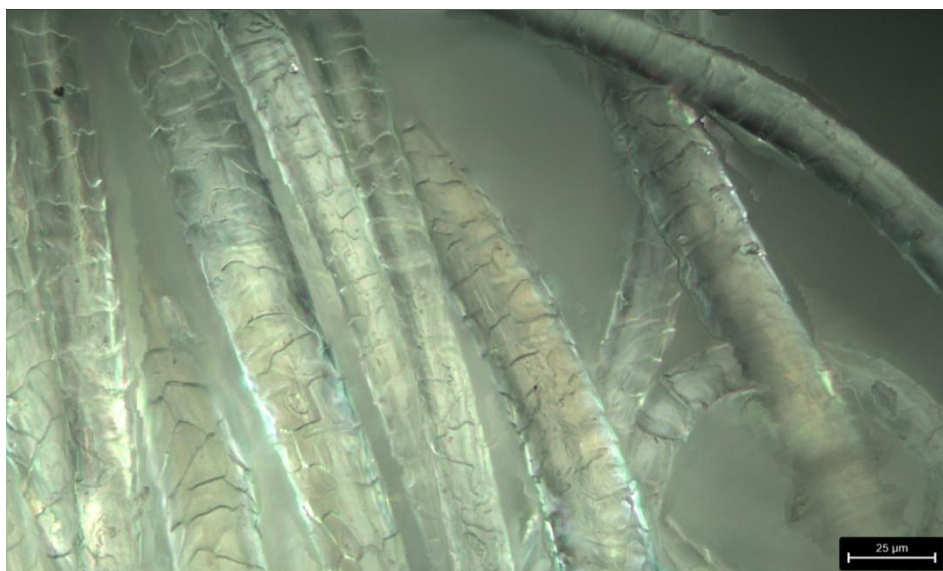
Rysunek 6.4.3. Zależność ilości osadzonego metalu od czasu trwania procesu napyłania.

Wyniki analizy EDS potwierdziły obecność powłoki miedzianej na powierzchni włókien wełnianych, przy czym obserwowany wzrost względnego sygnału Cu koreluje z wydłużeniem czasu osadzania, co wskazuje na sukcesywne narastanie grubości powłoki.

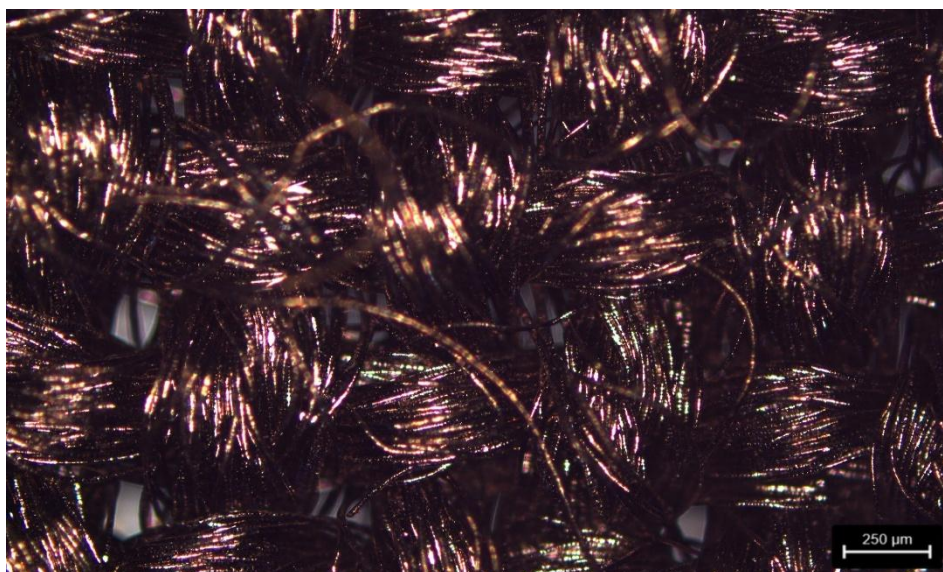
Analiza morfologii powierzchni, obejmująca obserwacje mikroskopowe (Rys. 6.4.4.) oraz obrazowanie SEM (Rys. 6.4.5.), wykazała, że niezmodyfikowane włókna wełny charakteryzowały się typową, keratynową strukturą łuskowatą, tworzącą sieć zachodzących na siebie płatów (Rys. 6.4.4A; 6.4.5A-B) - jest to morfologia powszechnie opisywana w literaturze jako wzór koronowo-siateczkowy [164], pełniący istotną funkcję ochronną i determinujący właściwości użytkowe włókien [165]. Po przeprowadzeniu procesu napyłania miedzi struktura włókien zachowała swoje cechy morfologiczne, co świadczy o braku degradacji materiału w warunkach zastosowanego procesu. Jednocześnie obrazy SEM (Rys. 6.4.5B; 6.4.5D) wskazują na wygładzenie powierzchni włókien, co może wynikać z częściowego wypełnienia mikronierówności przez osadzającą się warstwę metaliczną.



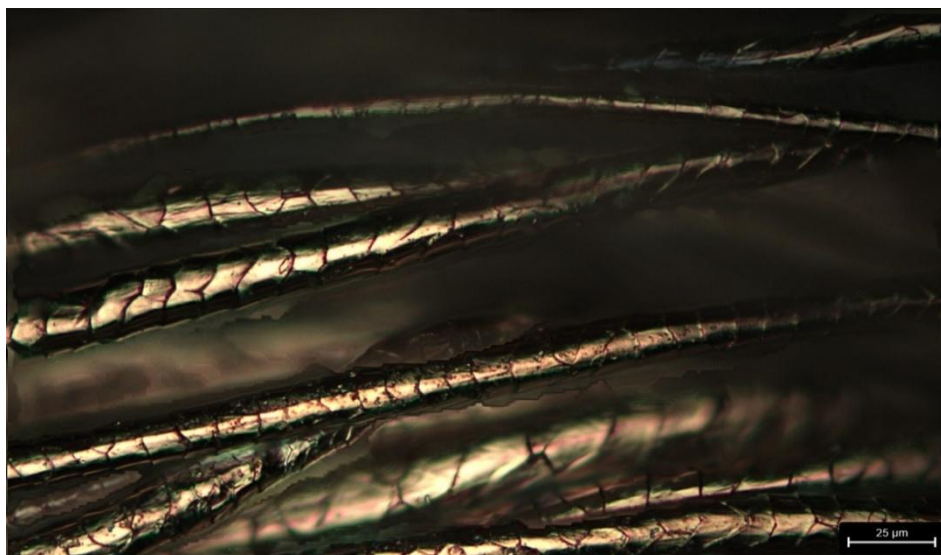
(A)



(B)

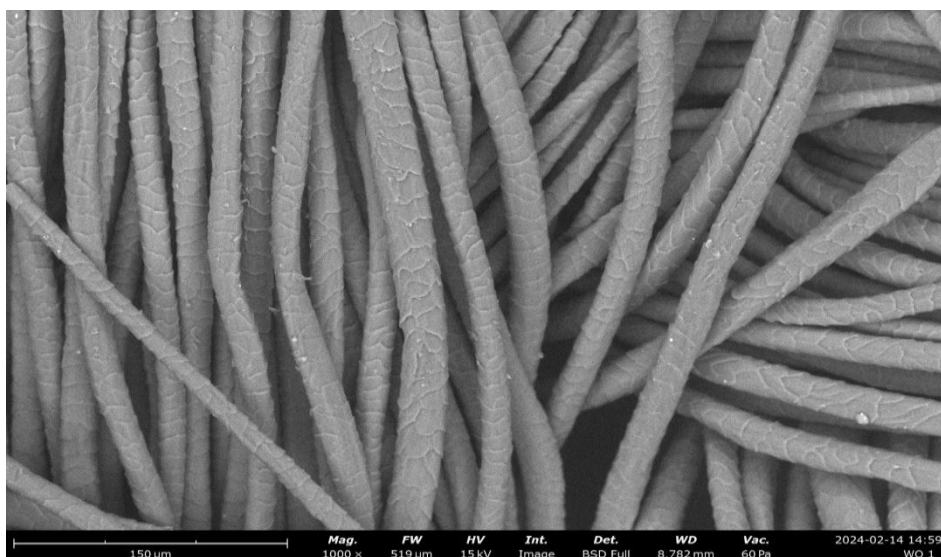


(C)

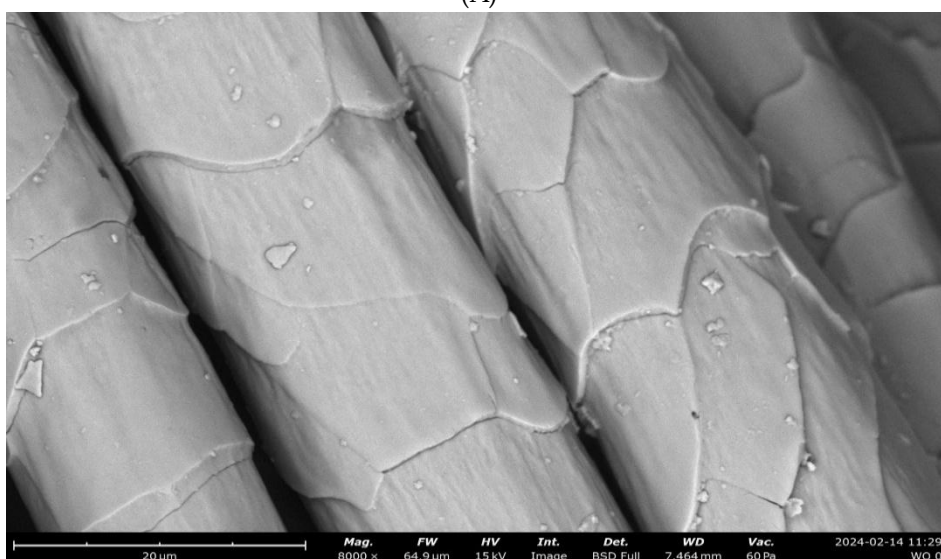


(D)

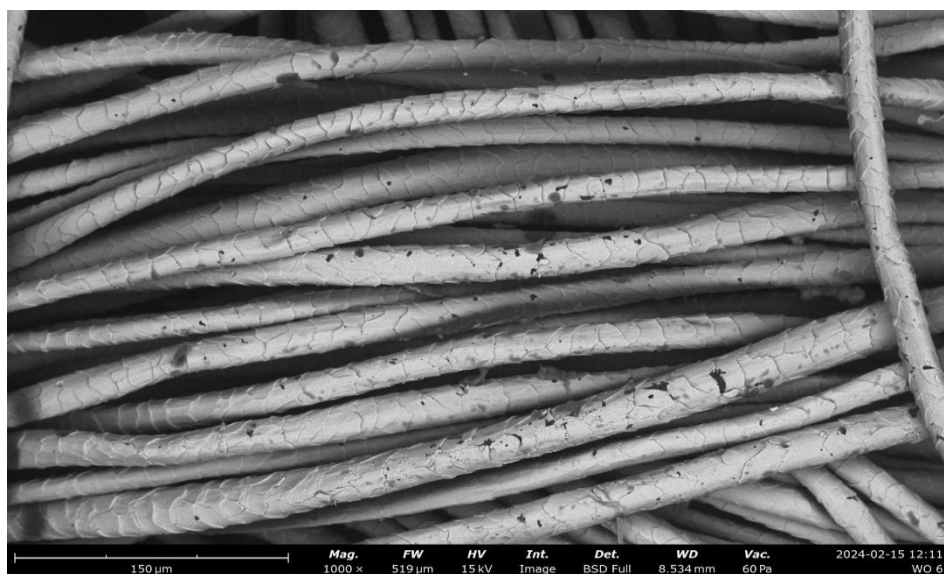
Rysunek 6.4.4. Obrazy z mikroskopu optycznego struktury powierzchni niemodyfikowanej tkaniny wełnianej (A, B) i materiału WO-Cu (C, D) [68].



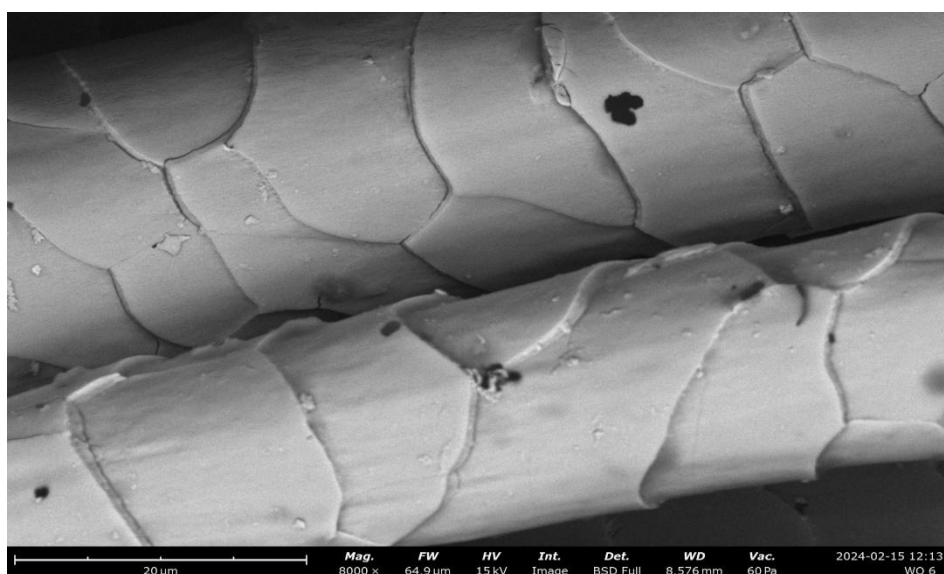
(A)



(B)



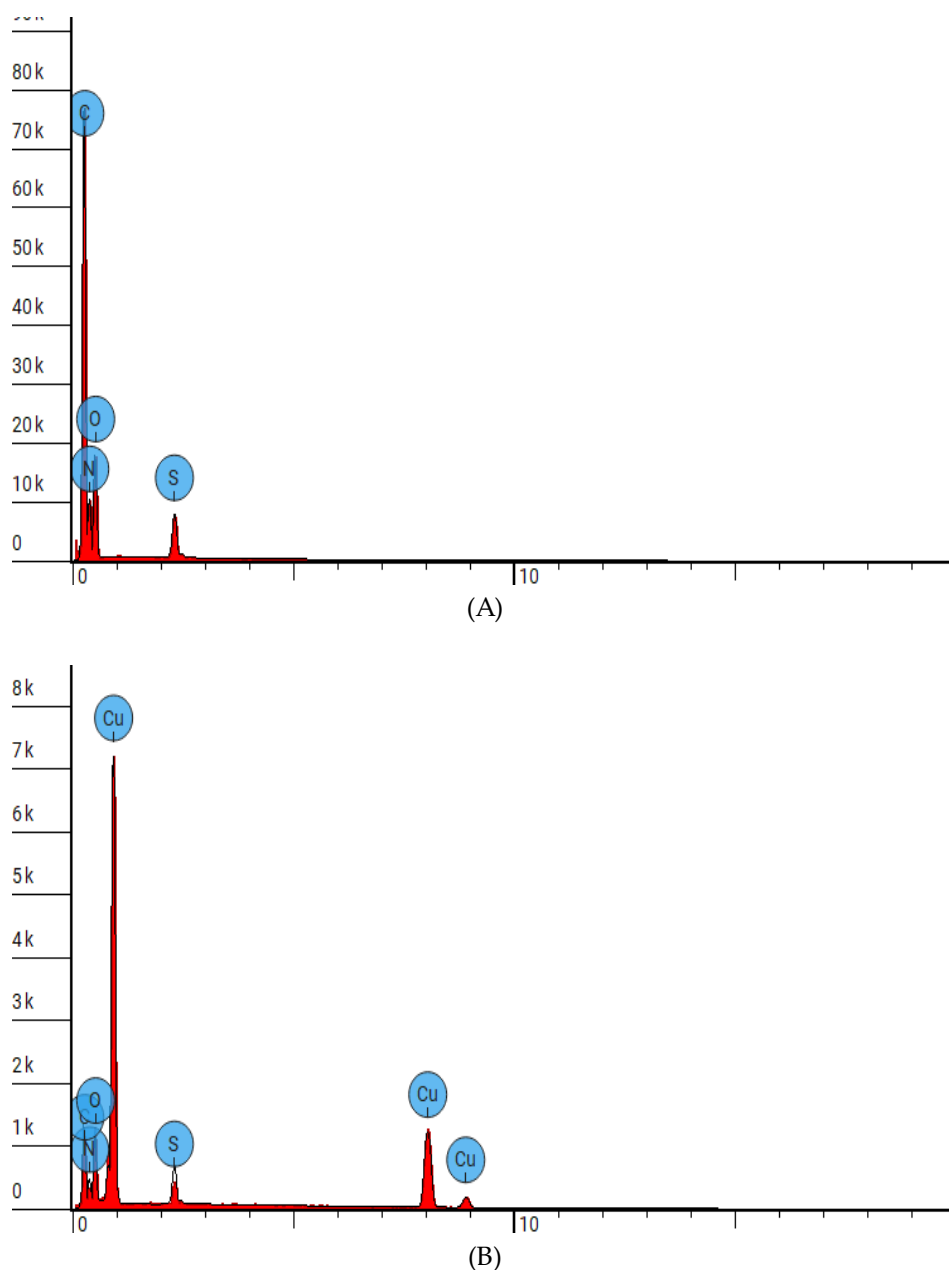
(C)



(D)

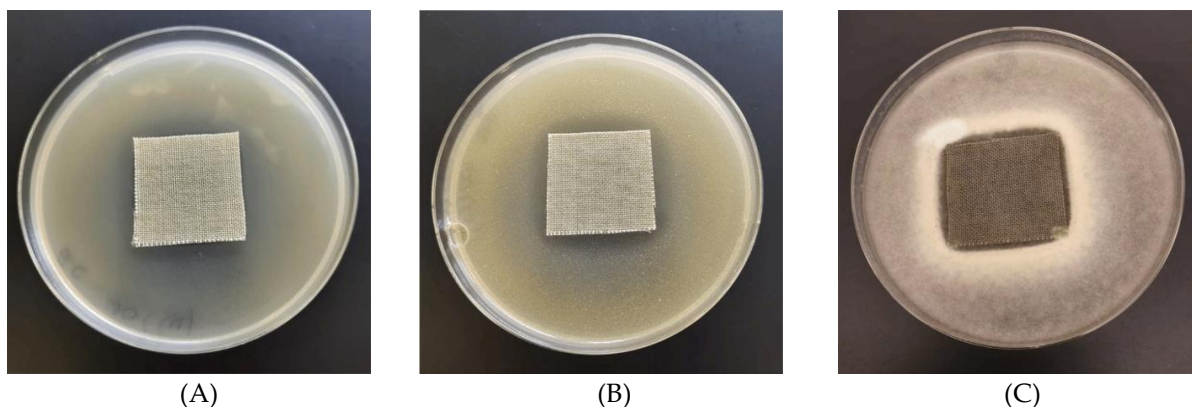
Rysunek 6.4.5. Zdjęcia SEM badanych próbek wełny przed (A, B) i po procesie napyłania magnetronego (C, D) [68].

Dodatkowo analiza elementarna (technika EDS) w przypadku niemodyfikowanej próbki (WO) wykazała obecność węgla, azotu, tlenu i siarki, które są głównymi naturalnymi składnikami wełny [166] (Rys. 6.4.6. A). Dla próbek modyfikowanych przez napyłanie miedzią, zaobserwowano dodatkowy pik odpowiadający obecności miedzi (Rys. 6.4.6. B).



Rysunek 6.4.6. Schematy analizy EDS dla próbki WO (A) i próbki WO-Cu (B) [68].

Właściwości przeciwdrobnoustrojowe materiałów WO-Cu badano metodą dyfuzyjno-krążkową, wykorzystując bakterie Gram-ujemne (*E. coli*) i Gram-dodatnie (*S. aureus*) oraz reprezentatywne gatunki grzybów (*C. globosum*) zgodnie z normami PN-EN ISO 20645:2006 [100] i PN-EN 14119:2005 [101]. Materiały WO-Cu wykazały dobry efekt hamujący wobec wyżej wymienionych mikroorganizmów wyrażony strefami zahamowania (od 1 do 3 mm) i brakiem widocznego wzrostu na/pod próbkami (Rysunek 6.4.7.).

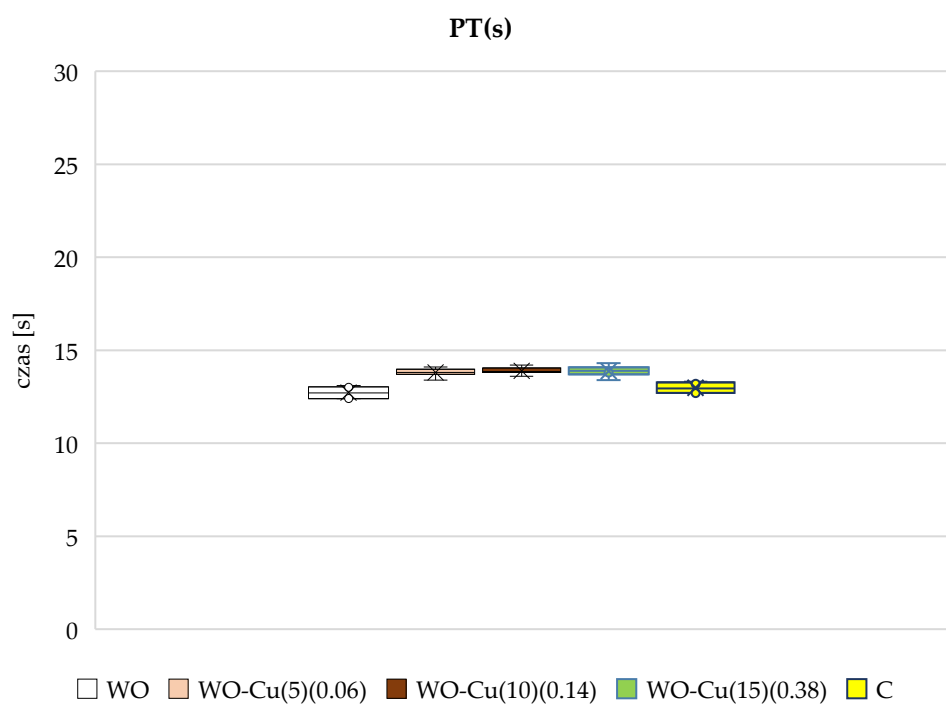
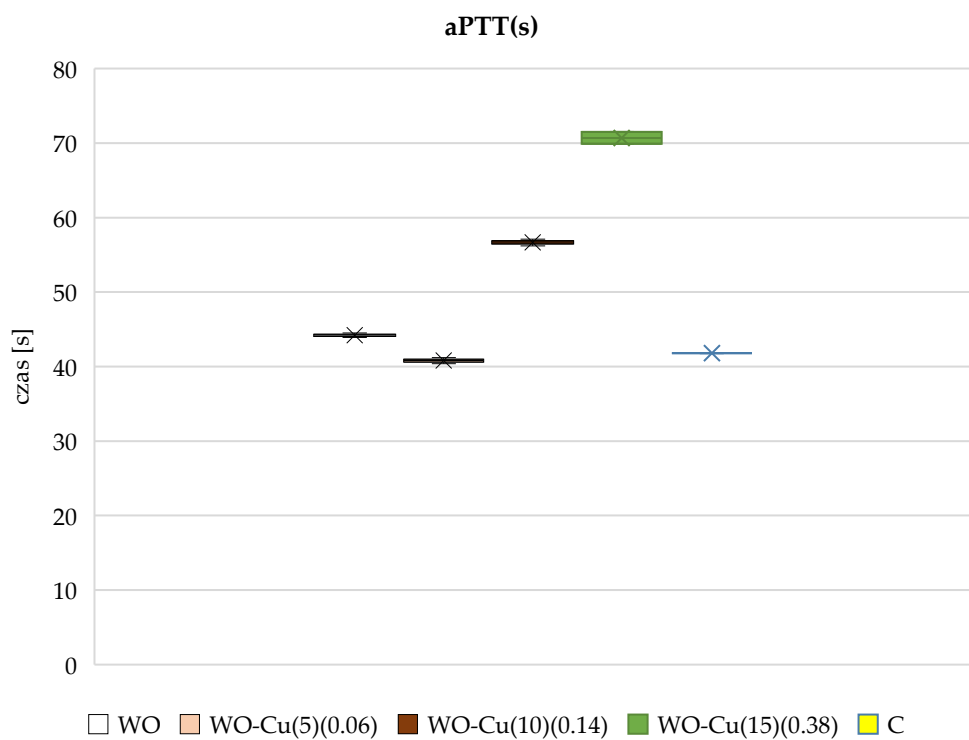


Rysunek 6.4.7. Badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej materiału WO-Cu wobec *E. coli* (A), *S. aureus* (B) i *C. globosum* (C), strefy zahamowania wzrostu bakterii/grzybów na szalkach Petriego [68].

Badania biochemiczno-hematologiczne obejmowały ocenę czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT) i czasu protrombinowego (PT) oraz zdolność do interakcji z DNA w sposób zależny od czasu.

Wyniki testu aPTT (Rys. 6.4.8. A), który ocenia wewnątrzpo pochodny, tzn. kontaktowy, mechanizm krzepnięcia osocza poprzez aktywację trombiny i polimeryzację skrzepu fibrynowego, wykazały, że czas krzepnięcia próbek modyfikowanych był dłuższy w porównaniu do próbki niemodyfikowanej oraz próbki kontrolnej. Ponadto, wraz ze wzrostem ilości osadzonej miedzi metalicznej na powierzchni wełny, zaobserwowano dalsze wydłużenie czasu aPTT. Wyniki te sugerują, istnienie możliwego związku między obecnością grup karboksylowych a procesem krzepnięcia krwi. [167,168]. Wydłużony czas aPTT można potencjalnie przypisać obecności grup karboksylowych, będących częścią struktury chemicznej wełny - głównie aminokwasów takich jak kwas glutaminowy i kwas asparaginowy[169].

Jednocześnie wykazano, że ani sama wełna, ani materiał typu wełna-miedź nie miały istotnego wpływu na czas protrombinowy (PT) (Rys. 6.4.8. B), co wskazuje, że materiały te nie zakłócają zewnątrzpo pochodnego szlaku krzepnięcia krwi (głównie czynnik VII, I, II i X).

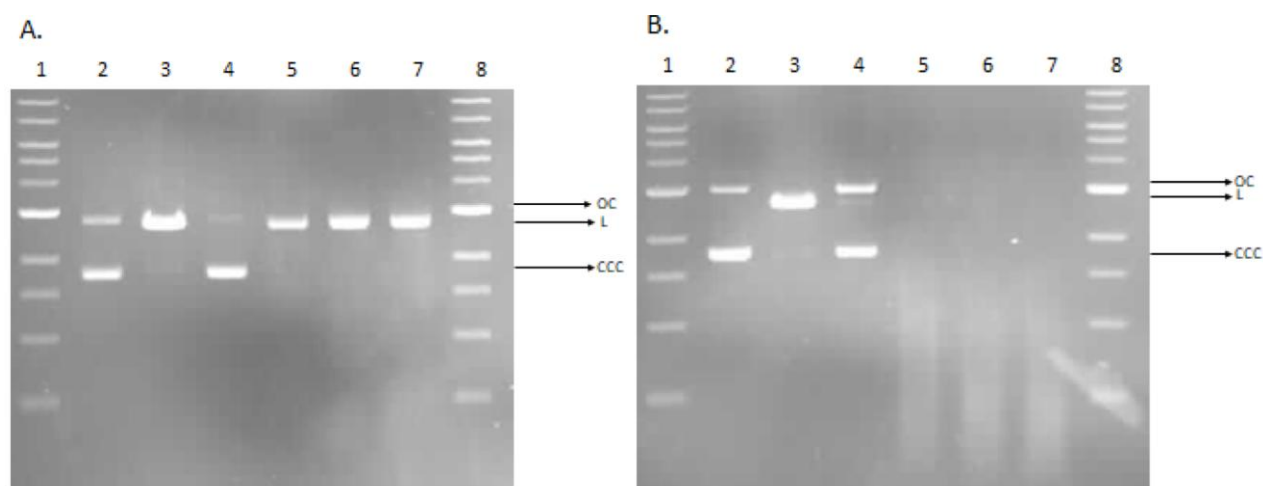


Rysunek 6.4.8. Wpływ badanych kompozytów WO-Cu na aPTT (A) i PT (B): WO; WO-Cu(5); WO-Cu (10); WO-Cu (15) i C-kontrola [68].

W pracy zbadano możliwość bezpośredniej interakcji tkaniny wełnianej oraz materiału WO-Cu z DNA plazmidowym. W tym celu przeprowadzono test relaksacji plazmidu, wykorzystując DNA wyizolowane z komórek *E. coli* szczepu DH5 α . Inkubacja plazmidu

z próbkami WO-Cu wykazała możliwość tworzenia adduktów DNA lub indukowania jednoniciowych pęknięć w nici DNA, co prowadziło do zmian topologicznych cząsteczki, skutkujących pojawieniem się formy otwartej kolistej (OC, ang. *open circular form*). Obserwowane zmiany mogą wynikać z udziału jonów Cu^{2+} w reakcji Fentona lub „Fentonopodobnej”, w której dochodzi do generowania reaktywnych form tlenu (ROS). ROS, takie jak rodniki hydroksylowe ($\bullet\text{OH}$), mogą atakować wiązania fosfodiesterowe w szkielecie DNA, prowadząc do jego degradacji i fragmentacji. Ponadto miedź może bezpośrednio wiązać się z zasadami azotowymi, powodując zakłócenia w strukturze helikalnej oraz destabilizację konformacyjną cząsteczki. Efektem tych oddziaływań są obserwowane zmiany w mobilności elektroforetycznej plazmidu, wskazujące na jego relaksację i przejście z formy superzwiniętej (SC, ang. *supercoiled*) do formy otwartej kolistej (OC) [170]. W przeciwieństwie do materiałów zawierających miedź, próbki niemodyfikowanej wełny (WO) nie wpływały istotnie na konformację plazmidu – uzyskane wyniki były porównywalne z próbą kontrolną (Rys. 6.4.9.A), co potwierdza, że obserwowany efekt wynika bezpośrednio z obecności miedzi na powierzchni materiału.

Wyniki wskazują na możliwość indukcji jednoniciowych uszkodzeń DNA przez włókna wełny w warunkach *in vitro*. Po przedłużonej inkubacji (24 h) w próbce WO pojawiła się również forma liniowa plazmidu (L, ang. *linear form*), natomiast w próbkach WO-Cu zaobserwowano obecność smug, co świadczy o znacznej degradacji DNA (Rys. 6.4.9. B).



Rysunek 6.4.9. Test relaksacji plazmidu. Inkubacja przez 2 h (A) i 24 h (B) z włóknami WO i WO-Cu. Linia 1 — drabinka DNA; linia 2 — plazmid pUC19 (forma superskręcona, CCC); linia 3 — plazmid pUC19 inkubowany z restryktazą PstI (forma liniowa, L); wiersze 4–7 — plazmid pUC19 inkubowany odpowiednio z WO, WO-Cu (5), WO-Cu (10) i WO-Cu (15); wiersz 8 — drabinka DNA. OC, otwarta, okrągła forma plazmidu pUC19 [68].

Nasze wyniki wykazały potencjał materiałów wełniano-miedzianych (WO-Cu) do bezpośrednich interakcji z DNA. Odkrycia te mogą być powiązane z aktywnością przeciwdrobnoustrojową wobec badanych gatunków. Należy jednak podkreślić, że zdolność do interakcji z DNA nie implikuje genotoksyczności dla ludzi. Nawet jeśli miedź zawarta w materiałach WO-Cu miałaby zdolność interakcji z genomowym DNA, ludzie dysponują skutecznymi mechanizmami naprawy DNA, takimi jak naprawa wycinania zasad (BER, ang. *Base Excision Repair*), które eliminują uszkodzenia DNA i zapewniają stabilność genomu [171].

Na podstawie przeprowadzonych badań można wysunąć następujące wnioski:

- opracowano warunki otrzymania materiału kompozytowego na bazie wełny (WO-Cu);
- właściwości przeciwdrobnoustrojowe i przeciwgrzybicze WO-Cu sugerują potencjalne zastosowania jako materiał antybakteryjny/przeciwgrzybiczy;
- wykazane właściwości biochemiczno-hematologiczne materiałów wełniano-miedzianych (WO-Cu) mogą być wykorzystane przy zastosowaniu ich jako nowych materiałów w biomedycynie.

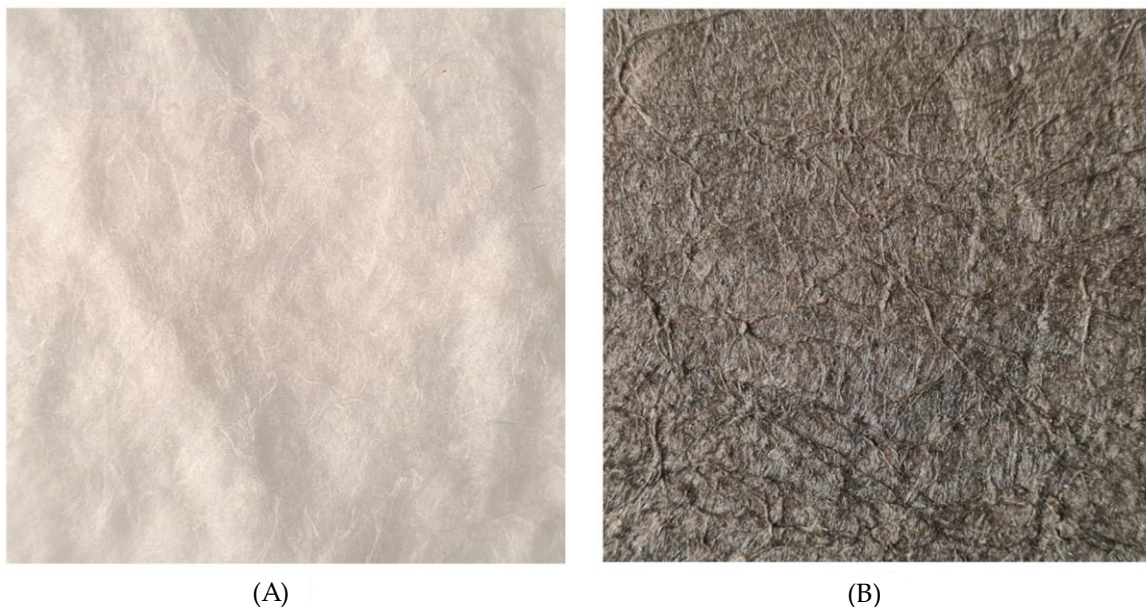
Moim wkładem w pracę eksperymentalną było opracowanie i wykonanie modyfikacji wełny miedzią poprzez dobranie parametrów napyłania magnetronowego i przeprowadzenie procesu; wykonanie części badań oceny właściwości fizykochemicznych (analiza powierzchni właściwej BET, analiza mikroskopowa), oraz badań biochemicznych w zakresie krzepnięcia osocza krwi (aPTT i PT).

6.5. **Mrozińska, Z.**; Świerczyńska, M.; Juszczak M.; Woźniak K.; Kudzin, M.H. *Poly(Lactide) Nonwoven Fabric with Iron Coating and Its Biological Properties*. Coatings 2024, 14, 1050. DOI: 10.3390/coatings14081050 [69]

W pracy przedstawiłam sposób wytworzenia oraz ocenę właściwości biologicznych materiału kompozytowego składającego się z poli(laktydu) oraz żelaza (Fe), wytworzonego przez nanoszenie żelaza metodą napyłania magnetronowego na włókniny z poli(laktydu) otrzymane techniką *melt-blown*. Jest to kontynuacja prac nad modyfikacją materiałów na bazie PLA poprzez nanoszenie warstw metalicznych na ich powierzchnię [66,67,118]. Materiały na bazie PLA wyróżniają się elastycznością, porowatością i biodegradowalnością co sprawia że posiadają potencjał wykorzystania w obszarze inżynierii tkankowej, medycyny regeneracyjnej, opatrywania ran i systemów dostarczania leków [172,173].

Celem naukowym przeprowadzonych badań było wytworzenie materiału typu PLA-Fe oraz ocena jego wpływu na mechanizmy krzepnięcia krwi, a także badanie czy materiał ten wykazuje efekt cytotoksyczny i genotoksyczny wobec komórek PBMCs.

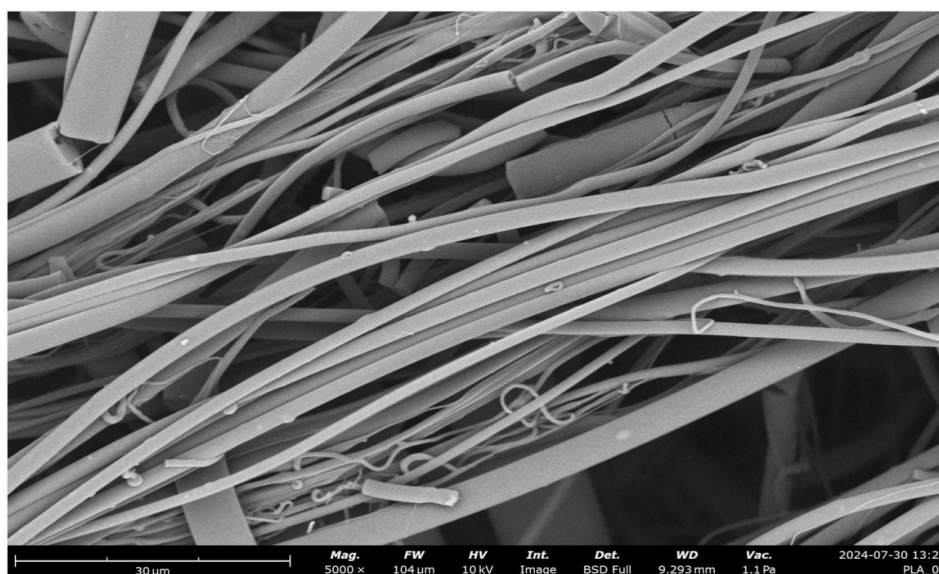
Próbki włókniny z PLA zostały uzyskane za pomocą techniki pneumatycznego formowania włóknin, przy użyciu układu składającego się z jednoślismakowej wytłaczarki laboratoryjnej (*melt-blown*) (Rys. 6.5.1.). Kompozyty PLA-Fe przygotowano metodą napyłania magnetronowego - osadzaniu cienkiej warstwy żelaza na powierzchni włókna. Do przeprowadzenia procesu napyłania wykorzystano target z żelaza o czystości 99,99%. Proces napyłania przeprowadzono w atmosferze argonu (jako gazu obojętnego), stosując różne moce (0,4 i 0,8 kW) oraz różne czasy procesu (20 i 40 minut).



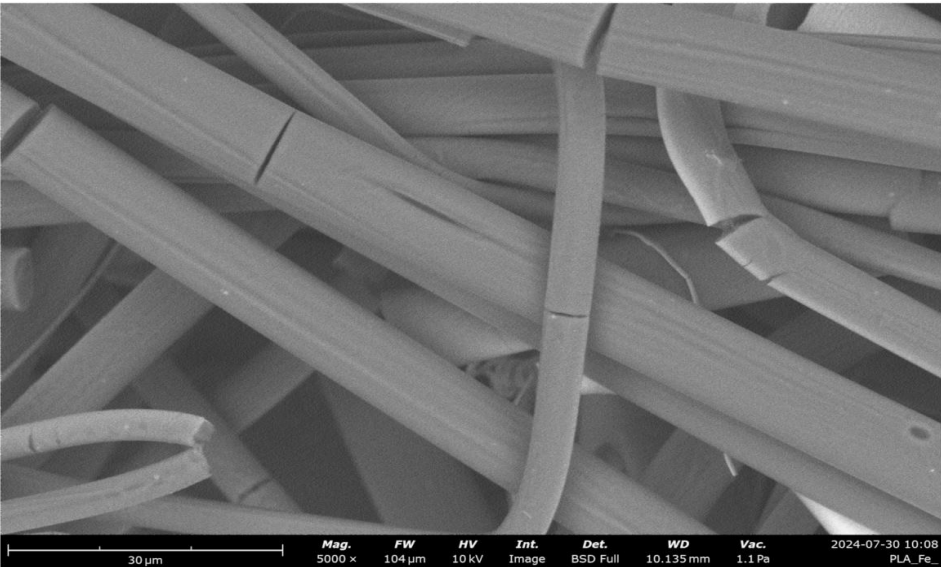
Rysunek 6.5.1. Zdjęcie włókny PLA (A) i kompozytu PLA-Fe (B) [69].

Do wykonania charakterystyki fizyko-chemicznej i strukturalnej kompozytu PLA-Fe zastosowano następujące metody badawcze: spektrometrię atomową z absorpcją przy wzbudzeniu w płomieniu (FAAS), analizę mikroskopową (mikroskopia optyczna oraz SEM/EDS) oraz analizę powierzchni właściwej metodą BET.

Analiza powierzchni próbek przeprowadzona została za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) w połączeniu z spektroskopią dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (EDS), metody te umożliwiły szczegółowe badanie morfologii powierzchni włókny PLA oraz kompozytu PLA-Fe. Wyniki analizy mikroskopowej wykazały, że powierzchnie próbek PLA-Fe charakteryzowały się gładką i jednolitą strukturą, bez widocznych skupisk żelaza ani znaczących aglomeracji (Rys. 6.5.2.).



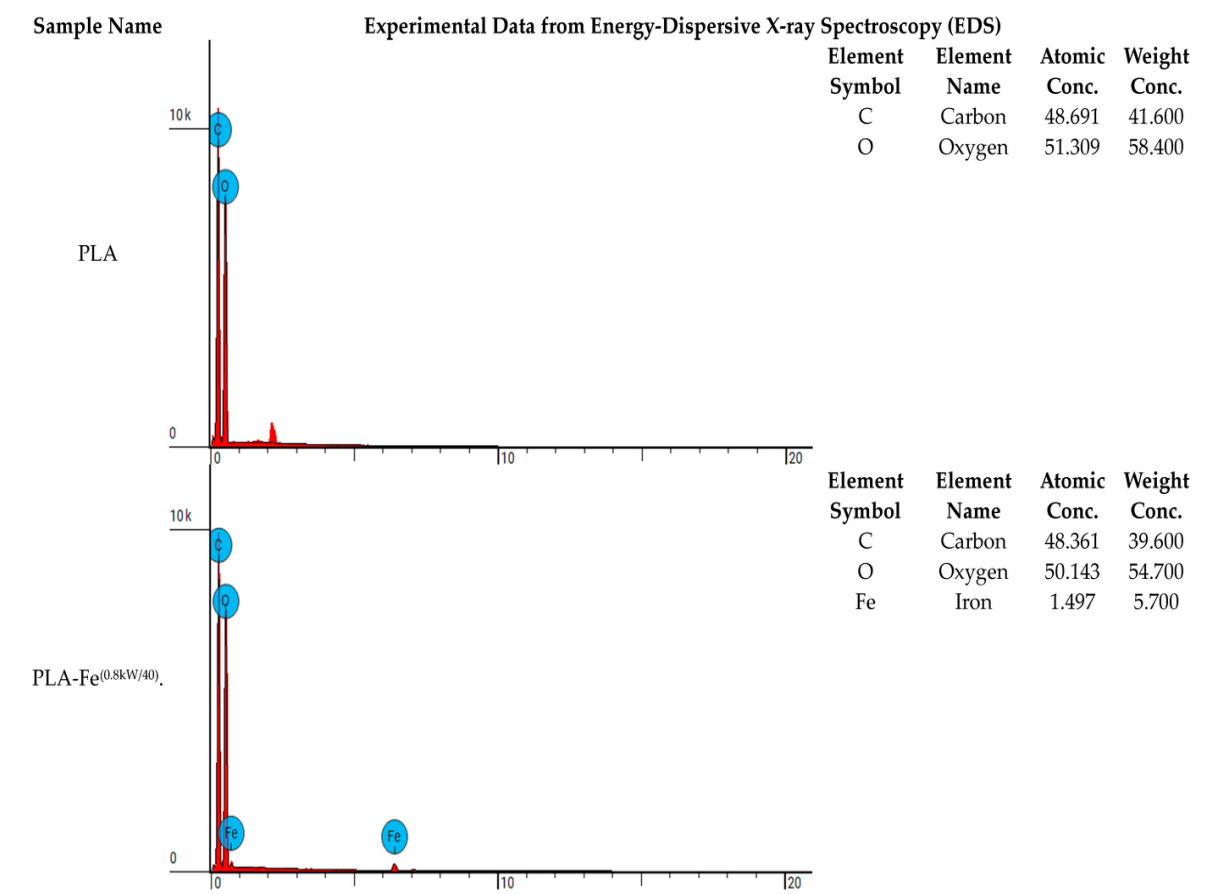
(A)



(B)

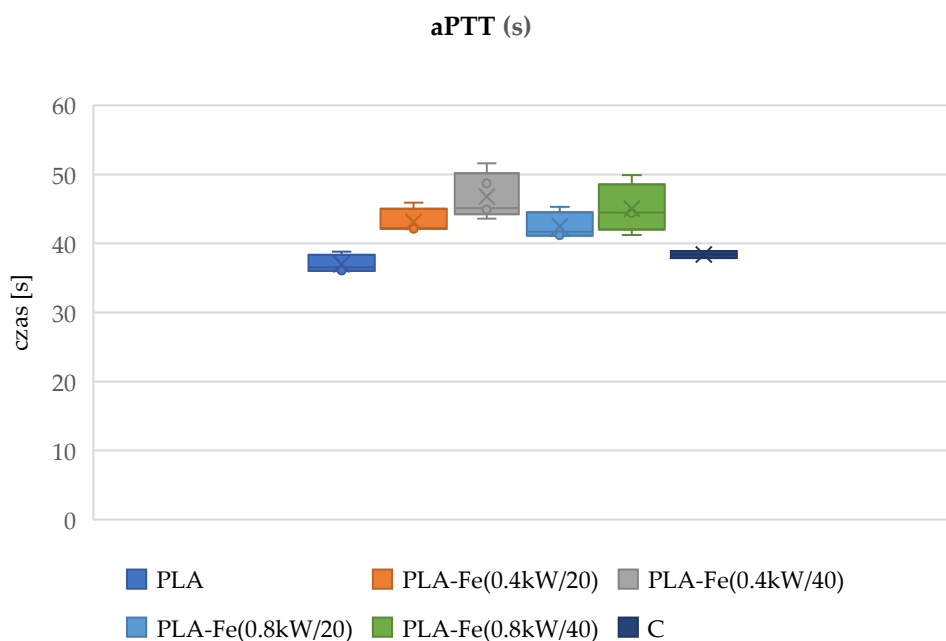
Rysunek 6.5.2.. Zdjęcia SEM włókniny PLA (A) oraz kompozytu PLA-Fe (B); widoczne uszkodzenia struktury włókna [69].

Natomiast technika EDS dostarczyła szczegółowych informacji poprzez pomiar widm promieniowania rentgenowskiego, gdzie pozycja i intensywność pików wskazywały na obecność i stężenie pierwiastków (Rys.6.5.3.).

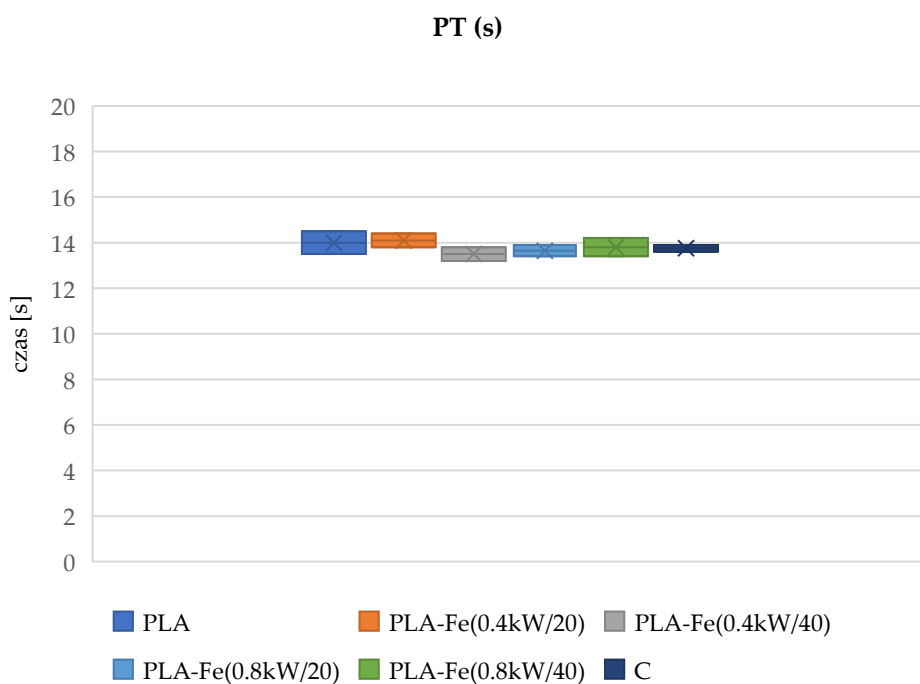


Rysunek 6.5.3. Dane eksperymentalne z spektroskopią dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (EDS) [69].

Biochemiczne właściwości kompozytów PLA-Fe oceniono mierząc czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT) i czas protrombinowy (PT), czyli przeanalizowano wpływ nowych materiałów na mechanizmy krzepnięcia osocza krwi (Rys. 6.5.4.). Wyniki wskazują, że materiały PLA-Fe wywierają jedynie niewielki wpływ na proces krzepnięcia krwi, co skutkuje nieznacznymi zmianami w wartościach aPTT. Tak minimalny wpływ na czas aPTT może być korzystny, ponieważ sugeruje, że materiały te nie zakłócają istotnie kaskady krzepnięcia, dzięki czemu zachowują naturalne funkcje krzepnięcia krwi.



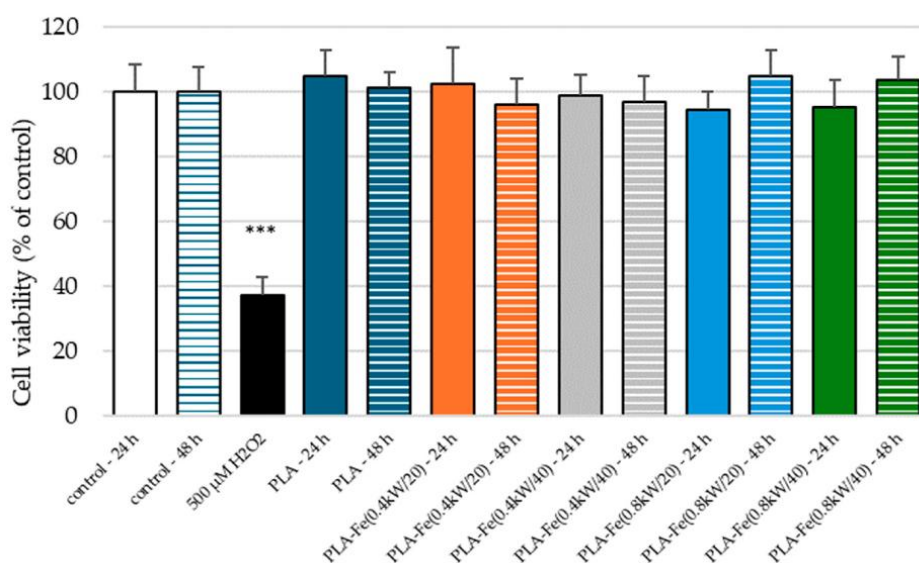
(A)



(B)

Rysunek 6.5.4. Wpływ włókien PLA i PLA-Fe na aPTT (A) oraz na PT (B) [69].

Przeprowadzono także analizy biologiczne na ludzkich jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBM), obejmujące ocenę żywotności komórek oraz uszkodzeń DNA. W celu określenia żywotności komórek po inkubacji z mieszaninami poinkubacyjnymi PLA i PLA-Fe zastosowaliśmy test redukcji rezazuryiny. Test ten opiera się na zastosowaniu wskaźnikowego barwnika do pomiaru reakcji utleniania-redukcji, które zachodzą głównie w mitochondriach żywych komórek. Wykazaliśmy, że inkubacja komórek PBM z mieszaninami poinkubacyjnymi PLA i PLA-Fe nie powodowała spadku żywotności komórek po 24 i 48 godzinach inkubacji (Rys. 6.5.5.). Nasze wyniki wskazują na brak właściwości cytotoksycznych materiałów PLA i PLA-Fe wobec komórek PBM. Wyniki te sugerują, że obecne w materiale PLA żelazo nie indukuje reakcji Fentona [174]. Podczas reakcji Fentona mogą powstawać wyjątkowo reaktywne rodniki hydroksylowe, które wykazują destrukcyjny potencjał wobec biomolekuł, takich jak DNA, białka i lipidy [175,176].



Rysunek 6.5.5. Wpływ mieszanin po inkubacji PLA i PLA-Fe (PLA-Fe(0.4kW/20), PLA-Fe(0.4kW/40), PLA-Fe(0.8kW/20), PLA-Fe(0.8kW/40)) na żywotność komórek PBM po 24 i 48 godzinach inkubacji [69].

Na podstawie przeprowadzonych badań można wysunąć następujące wnioski:

- opracowano warunki otrzymania nowego kompozytu;
- kompozyty PLA-Fe posiadały inertny wpływ na procesy krzepnięcia krwi, a dodatkowo nie wykazały efektów cytotoksycznych i genotoksycznych na komórki PBM;
- wyniki wskazują, że modyfikowane żelazem włókniyny z poli(laktydu) mogą służyć jako wartościowe narzędzia w biomedycynie, oferując innowacyjne rozwiązania w zarządzaniu ranami i urazami, przy jednoczesnym zapewnieniu zgodności z naturalnymi procesami gojenia organizmu.

Moim wkładem w pracę eksperymentalną było wytworzenie włókien; opracowanie i wykonanie modyfikacji włókien z PLA żelazem poprzez napyłanie magnetronowe; wykonanie części badań właściwości fizykochemicznych (analiza powierzchni właściwej BET,

analiza mikroskopowa), oraz badań biochemicznych w zakresie krzepnięcia osocza krwi (aPTT i PT).

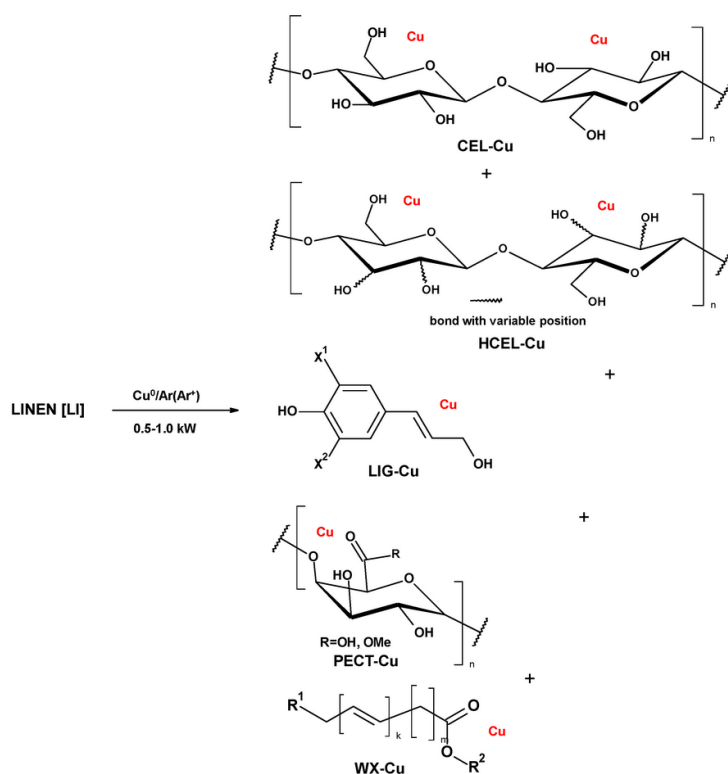
6.6. **Mrozińska, Z.;** Świerczyńska, M.; Juszcak, M.; Woźniak, K.; Kudzin, M.H. *Evaluation of Antimicrobial Activity, Hemostatic Efficacy, Blood Coagulation Dynamics, and DNA Damage of Linen–Copper Composite Materials*. J. Compos. Sci. 2025, 9, 30. DOI: 10.3390/jcs9010030 [70]

W badaniach obejmujących ocenę aktywności przeciwdrobnoustrojowej, właściwości hemostatycznych, dynamiki krzepnięcia krwi oraz stopnia uszkodzeń DNA komórek wykorzystano kompozyty typu len-miedź (LI-Cu), otrzymane metodą napyłania magnetronowego.

Materiały te stanowią rozwinięcie dotychczasowych prac nad antybakteryjnymi kompozytami polimerowymi [69,120,177–180] i umożliwiły zbadanie połączenia matrycy naturalnej z metalem o szerokim spektrum aktywności biologicznej.

Zastosowana w kompozycie matryca lniana [111,181–189] odznacza się wysoką biogodnością i jest tradycyjnie stosowana w materiałach opatrunkowych, co wynika z jej naturalnej budowy, chłonności oraz właściwości wspierających procesy gojenia [182,190,191]. Włókna lnu składają się głównie z celulozy (70,3%), hemicelulozy (14,5%), ligniny (8,6%) i pektyn (2,0%), a pozostałe ok. 5% obejmuje związki fenolowe, resztki białkowe, popiół i woski [165,192–195]. Taka struktura chemiczna sprzyja oddziaływaniu z jonami metali oraz stabilizacji cienkich powłok osadzanych fizycznie. Miedź, zastosowana jako faza aktywna, wykazuje udokumentowane właściwości przeciwbakteryjne [196–202], przeciwwirusowe [203–207], przeciwgrzybicze [208–212], przeciwnowotworowe [213–217] oraz hemostatyczne [217–219], a także szereg innych efektów biologicznych [220,221], co czyni ją odpowiednim kandydatem do funkcjonalizacji materiałów przeznaczonych do zastosowań medycznych. Pomimo wyraźnego potencjału terapeutycznego miedzi oraz leczniczych właściwości włókien lnianych, dotychczasowe badania nad ich połączeniem są nieliczne i nie obejmują kompleksowej oceny właściwości biologicznych kompozytu LI-Cu [222–224].

W niniejszej pracy kompozyty LI-Cu otrzymano metodą napyłania magnetronowego, umożliwiając kontrolowane zdeponowanie warstwy miedzi na powierzchni dzianiny lnianej. Przypuszczalny mechanizm oddziaływania osadzonej miedzi z powierzchnią włókien lnianych przedstawiono na Rysunku 6.6.1.



Rysunek 6.6.1. Przypuszczalny mechanizm osadzania się powierzchni miedzi na włóknie lnianym [70].

Próbki LI-Cu poddano kompleksowej charakterystyce obejmującej testy fizykochemiczne oraz biologiczne/biochemiczne.

Charakterystykę strukturalną i fizyko-chemiczną materiału len-miedź wykonano stosując metody badawcze: absorpcyjną spektrometrię atomową ze wzbudzeniem w płomieniu (FAAS) oraz analizę powierzchni właściwej BET, analizę mikroskopową (mikroskopia optyczna i SEM).

Zawartość miedzi w próbkach materiału LI-Cu została oznaczona za pomocą płomieniowej spektrometrii absorpcyjnej (FAAS) po wcześniejszej mineralizacji próbek. Wyniki dostarczają kompleksowej oceny osadzania ilości miedzi w różnych warunkach napylania (Tab. 6.6.1.).

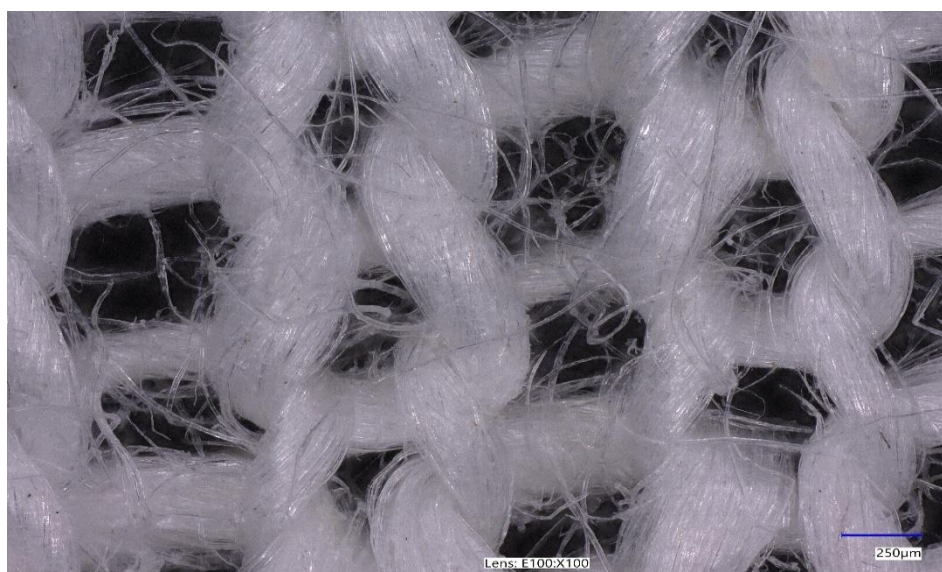
Tabela 6.6.1. Wyniki oznaczania zawartości miedzi w próbkach kompozytu LI-Cu metodą FAAS oraz wartości powierzchni właściwej badanych próbek LI-Cu [70].

Otrzymana próbka ^{a,b}	Zawartość miedzi		Powierzchnia właściwa [m ² /g]	Oznaczenie materiału LI-Cu ^{a,d}
	[g/kg]	[Mol/kg] ^c		
LI	-	-	0,3245	LI
LI-Cu ^(0,5kW/10min)	5,90	0,093	0,3495	LI-Cu (0,09)
LI-Cu ^(1kW/10min)	11,20	0,176	0,3927	LI-Cu (0,18)
LI-Cu ^(0,5kW/30min)	15,74	0,248	0,4185	LI-Cu (0,25)
LI-Cu ^(1kW/10min)	29,72	0,468	0,4343	LI-Cu (0,47)

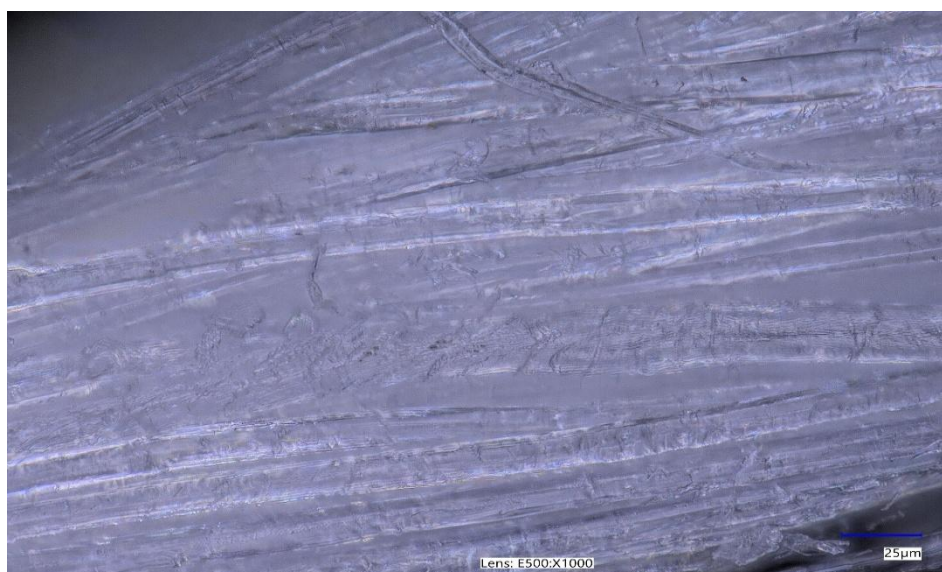
^a symbol miedzi we wszystkich nazwach próbek odnosi się do miedzi metalicznej Cu⁰. ^b liczby w indeksie górnym dotyczą zastosowanych parametrów napylania (moc (kW) i czas napylania (min)). ^c stężenie molowe miedzi – obliczone dla masy cząsteczkowej 63,5 g miedzi. ^d liczba w nawiasach dotyczy określonej zawartości molowej miedzi w kompozycie, w zaokrągleniu do drugiego miejsca po przecinku.

Powierzchnia właściwa (SSA; ang. *Specific Surface Aarea*) badanych materiałów wykazuje tendencję wzrostową wraz ze wzrostem osadzonej masy miedzi (Tab. 6.6.1.). Powłoka miedziana może wprowadzać chropowatość w skali nano lub tworzyć mikropory, co zwiększa efektywną powierzchnię dostępną dla interakcji, przyczyniając się do wzrostu wartości powierzchni właściwej.

Rysunek 6.6.2. przedstawia morfologię powierzchni próbek przed i po procesie modyfikacji, obserwowaną za pomocą mikroskopii optycznej przy różnych poziomach powiększenia. Obrazy wyraźnie ukazują skuteczne nałożenie powłoki miedzianej, co potwierdza znacząca zmiana koloru. Warstwa miedzi jest widoczna zarówno na zewnętrznych włóknach dzianiny, jak i na włóknach wewnętrznych, sięgając głębiej w strukturę materiału.



(A)



(B)



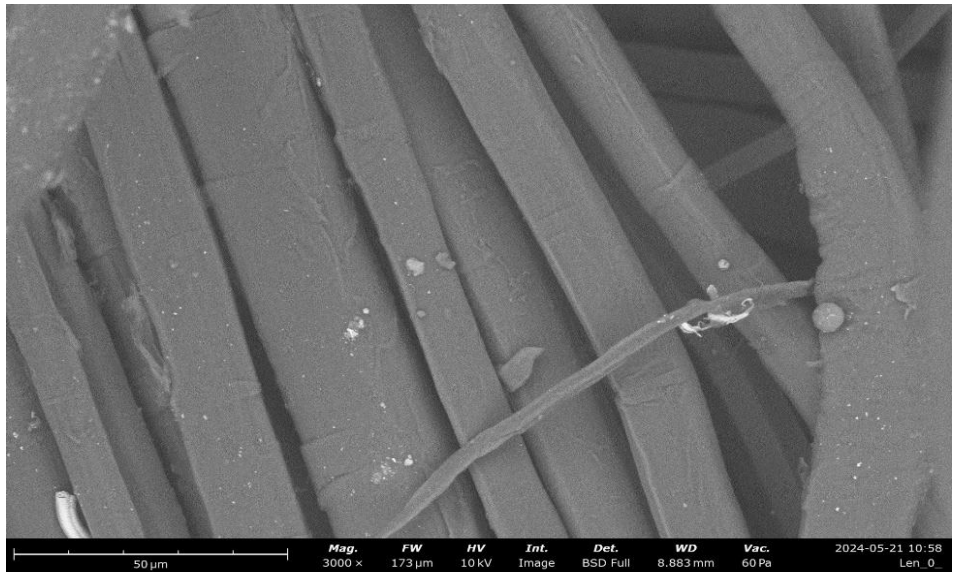
(C)



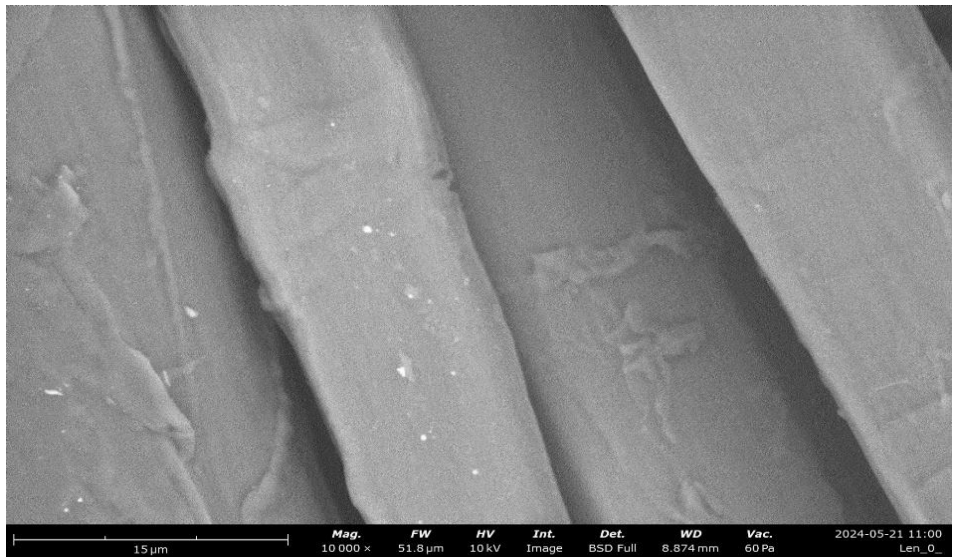
(D)

Rysunek 6.6.2. Mikroskopowe obrazy optyczne (powiększenia: $\times 100$; $\times 1000$) struktury powierzchni niemodyfikowanej dzianiny lnianej LI (A, B) i materiału LI-Cu (C, D) [70].

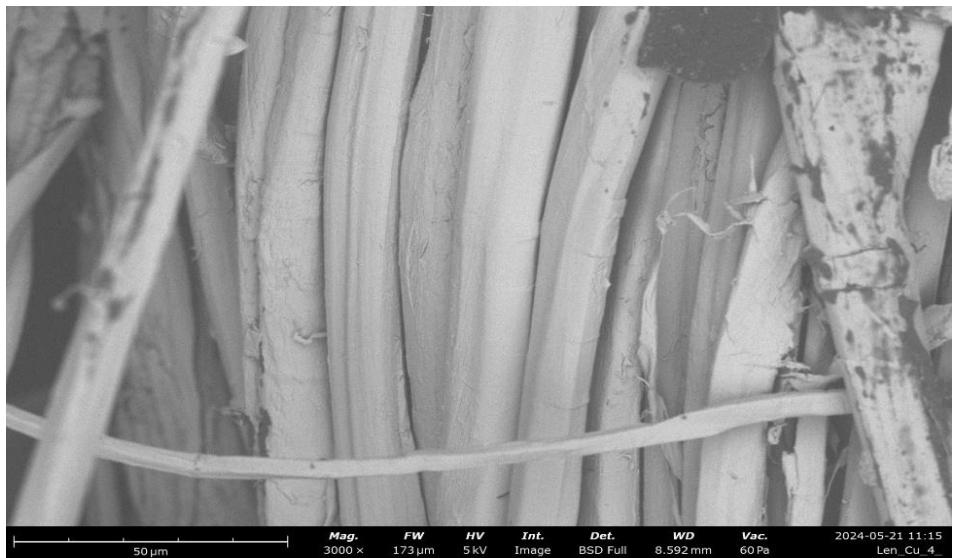
Analiza mikroskopowa SEM materiałów LI-Cu, potwierdza równomierne osadzanie się miedzi na powierzchni włókien materiału (Rys. 6.6.3.).



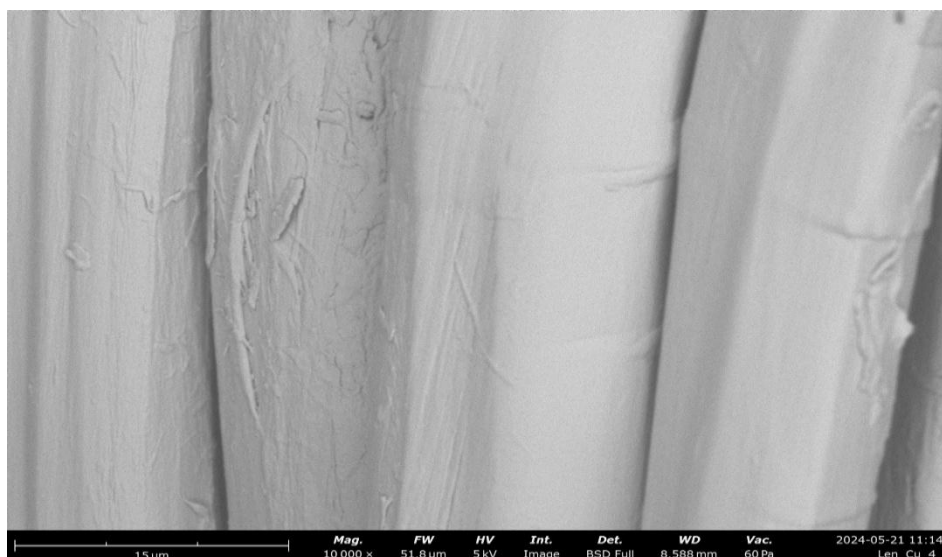
(A)



(B)



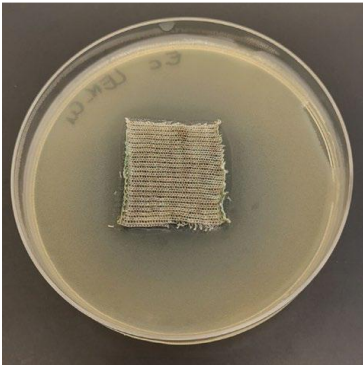
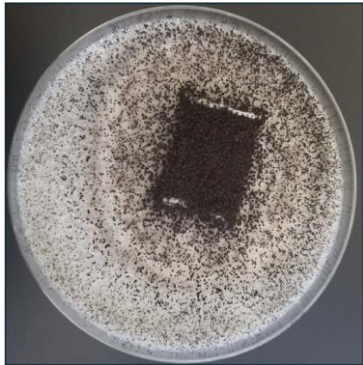
(C)



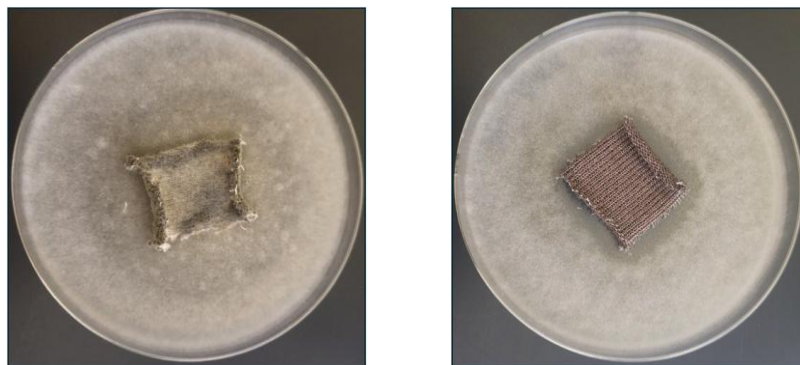
(D)

Rysunek 6.6.3. Obrazy uzyskane za pomocą SEM (przy powiększeniach $\times 3000$ i $\times 10\,000$) struktury powierzchni niemodyfikowanej dzianiny lnianej LI (A, B) i materiału LI-Cu (C, D) [70].

Właściwości przeciwdrobnoustrojowe materiałów LI-Cu badano zgodnie z normami: PN-EN ISO 20645:2006 [100] oraz PN-EN 14119:2005 [101]. Wyniki wskazują, że modyfikacja ograniczania wzrost drobnoustrojów (Rys. 6.6.4.).

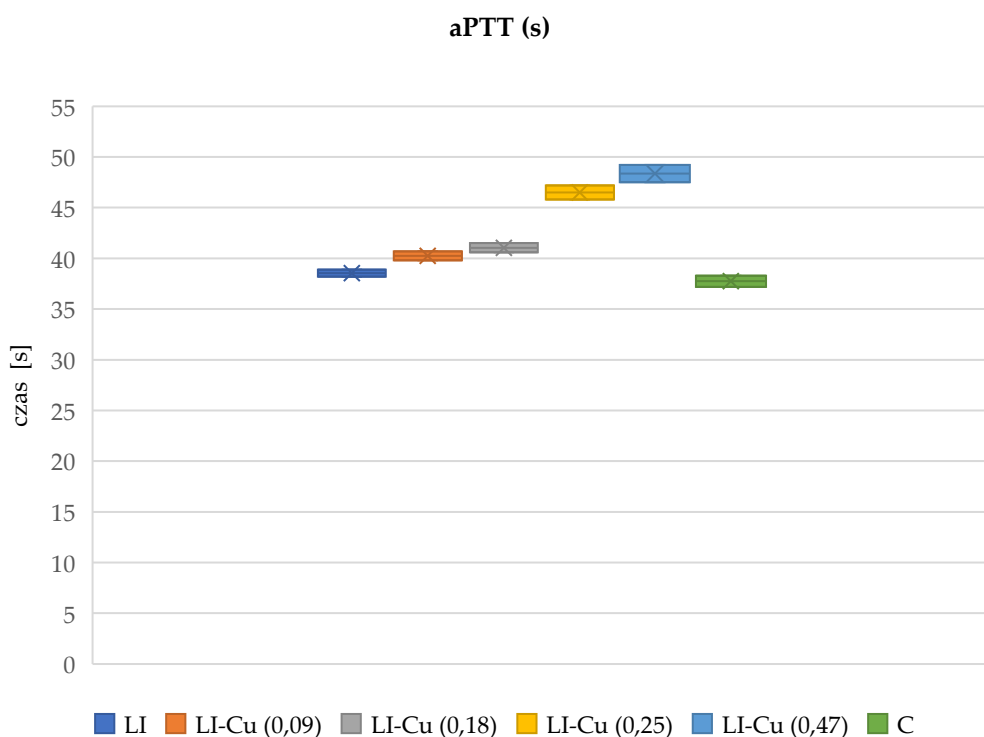
bakteria/grzyb	próbka	
	LI	LI-Cu(0,47)
<i>E. coli</i>		
<i>A. niger</i>		

Ch. globosum

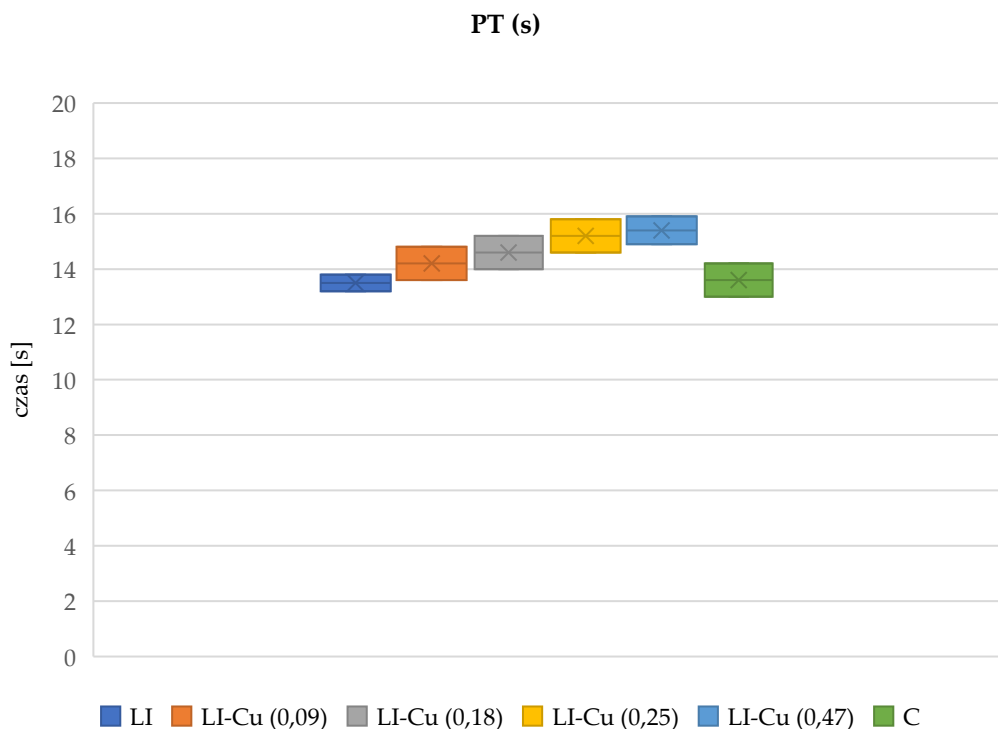


Rysunek 6.6.4. Wpływ próbki lnianej (LI) oraz materiału LI-Cu (0.47) pokrytego miedzią na wybrane szczepy bakterii i grzybów [70].

Badania biochemiczne miały pokazać potencjalny wpływ modyfikacji tkaniny lnianej, na proces krzepnięcia krwi. Oceniliśmy czas kaolinowo-kefalinowy (aPTT) (Rys. 6.6.5. A) oraz czas protrombinowy (PT) (Rys. 6.6.5. B). Próbkę modyfikowaną nie wykazały istotnych efektów na te parametry, co sugeruje, że miedź nie zakłóca w znaczący sposób procesu krzepnięcia krwi w opracowanej strukturze.



(A)



(B)

Rysunek 6.6.5. Wpływ badanych kompozytów LI-Cu na aPTT (A) i PT (B): LI; LI-Cu(0.09); LI-Cu(0.25); LI-Cu(0.18); LI-Cu(0.47); i kontrola [70].

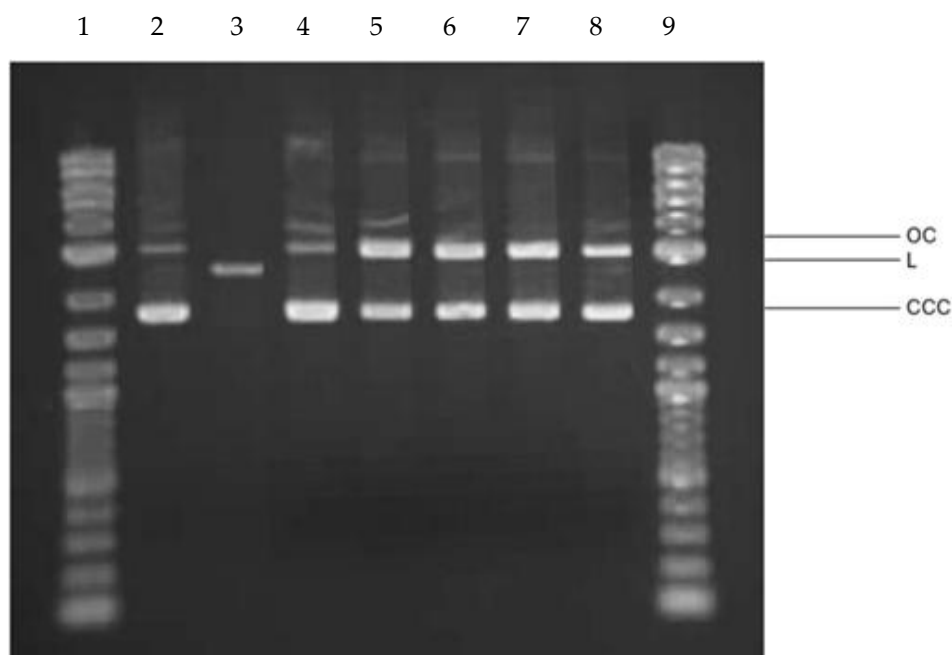
Do oceny żywotności komórek po inkubacji z próbkami lnianymi oraz mieszaninami po inkubacji LI-Cu zastosowano test redukcji rezazury. Wyniki naszych badań wykazały, że inkubacja komórek PBMC z niemodyfikowaną próbką nie wpływała na obniżenie ich żywotności. Z kolei mieszaniny po inkubacji LI-Cu powodowały zmniejszenie żywotności komórek po 24 i 48 godzinach, przy czym efekt ten zależał zarówno od czasu inkubacji, jak i mocy rozpylania magnetronowego. Wyniki te sugerują, że len nie wykazuje właściwości cytotoksycznych, natomiast kompozyty LI-Cu mają działanie cytotoksyczne wobec komórek PBMC.

Przy mniejszej mocy rozpylania (0,5 kW) nie stwierdzono zmniejszenia żywotności komórek o więcej niż 50%. Natomiast w przypadku rozpylania z mocą 1 kW zaobserwowano gwałtowny spadek żywotności komórek, szczególnie po 48 godzinach inkubacji, gdy wartości te spadły poniżej 25%.

Nasze badania sugerują, że miedź wprowadzona w strukturę tkaniny lnianej może indukować reakcję Fentona, prowadzącą do wzrostu poziomu reaktywnych form tlenu (ang. *Reactive Oxygen Species*, ROS), co może wywoływać działanie cytotoksyczne [174]. Podczas reakcji Fentona mogą powstawać wysoce reaktywne rodniki hydroksylowe, które potencjalnie powodują uszkodzenia biomolekuł, takich jak DNA, białka czy lipidy [175,176].

Ponad to zbadaliśmy potencjał interakcji pomiędzy mieszaninami poinkubacyjnymi lnu lub LI-Cu i plazmidowym DNA, stosując test relaksacji plazmidu. Inkubacja plazmidu z lnem przez 24 godziny nie zmieniła jego konformacji, dając wyniki podobne do kontroli negatywnej (sam plazmid pUC19). Jednakże inkubacja z mieszaninami po inkubacji LI-Cu spowodowała wzrost ilości formy otwartej kolistej (OC), co wskazuje na zdolność tych

mieszanin do interakcji z DNA plazmidowym i indukowania pojedynczych przerw w nici DNA (Rys. 6.6.6.)



Rysunek 6.6.6. Test relaksacji plazmidu. Plazmid pUC19 inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 37 °C z lnem oraz mieszaninami po inkubacji kompozytu LI-Cu (LI-Cu (0.09), LI-Cu (0.18), LI-Cu (0.25), LI-Cu (0.47)), a następnie rozdzielono na żelu agarozowym (1%), wybarwiono bromkiem etydyny i wizualizowano w świetle UV. Linia 1 – drabinka DNA, Linia 2 – plazmid pUC19 (forma superskręcona, CCC), Linia 3 – plazmid pUC19 inkubowany z restryktazą PstI (forma liniowa, L), Linie 4–8 – plazmid pUC19 inkubowany odpowiednio z LI, LI-Cu (0.09), LI-Cu (0.18), LI-Cu (0.25) i LI-Cu (0.47), Linia 9 – drabinka DNA. OC – otwarta kłosa forma DNA plazmidowego [70].

Brak różnic między poszczególnymi próbkami LI-Cu sugeruje, że jedynie niewielka ilość miedzi została uwolniona do mieszaniny po inkubacji i oddziaływała z DNA plazmidowym. Miedź, jeden z najwcześniej znanych środków przeciwdrobnoustrojowych, jest znana ze zdolności do wiązania się z DNA, szczególnie w formie Cu^{2+} [225,226]. Dodatkowo jony miedzi mogą generować reaktywne formy tlenu (ROS) poprzez reakcję Fentona, prowadząc do powstawania wysoce reaktywnych rodników hydroksylowych [227]. Nasze wyniki sugerują, że materiały LI-Cu mogą oddziaływać z DNA, co może przyczyniać się do ich właściwości przeciwdrobnoustrojowych wobec testowanych organizmów.

Wyniki badań wykazują, że modyfikacja tkanin lnianych miedzią przy użyciu metody napyłania magnetronowego zwiększyła ich właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Analizy biochemiczne wykazały, że len modyfikowany miedzią nie zaburzał prawidłowego procesu krzepnięcia krwi, co potwierdzono stabilnymi wartościami aPTT i PT. Pomimo że materiał wykazywał pewne właściwości cyto- i genotoksyczne wobec komórek jednojądrzastych krwi obwodowej (PBM), próbka LI-Cu (0.18) charakteryzowała się najniższą toksycznością, co sugeruje jej potencjalną przydatność do dalszych badań na innych typach komórek.

Na podstawie przeprowadzonych badań można wysunąć następujące wnioski:

- opracowano warunki otrzymania nowej struktury materiałowej przy wykorzystaniu procesów magnetronowych;

- len modyfikowany miedzią ma duży potencjał w zastosowaniach medycznych, zwłaszcza jako materiał opatrunkowy, gdzie kluczowe znaczenie mają zarówno skuteczność przeciwdrobnoustrojowa, jak i biogodność.

Moim wkładem w pracę eksperymentalną było opracowanie i wykonanie modyfikacji materiału włóknistego z lnu miedzią poprzez napyłanie magnetronowe; wykonanie części badań właściwości fizykochemicznych (analiza powierzchni właściwej BET, analiza mikroskopowa), oraz badań biochemicznych w zakresie krzepnięcia osocza krwi (aPTT i PT).

6.7. Kudzin, M.H.; **Mrozińska, Z.**; Kaczmarek, A.; Chruściel, J.J.; Pinar, A.; Sulak, E.; Shah, S.A.R.; Juszczak, M.; Woźniak, K.; Ponczek, M.B. *Development of Iron-Modified Cotton Material: Surface Characterization, Biochemical Activity, and Cytotoxicity Assessment*. Coatings 2025, 15(6), 663. DOI: 10.3390/coatings15060663 [71]

W pracy przedstawiłam sposób wykonania oraz właściwości biochemiczne materiału kompozytowego (COT-Fe) składającego się z bawełny (COT) oraz żelaza (Fe). Tkaninę bawełnianą modyfikowałam powłoką żelaza uzyskaną metodą rozpylania magnetronowego. Bawełna (COT) jest obecnie najczęściej stosowanym materiałem opatrunkowym do tamowania krwawienia [73,74,228]. Charakteryzuje się przepuszczalnością powietrza, wysoką chłonnością krwi oraz brakiem reakcji alergicznych [73,74,228]. Efekt hemostatyczny bawełny związany jest z adhezją płytek krwi do sieci włókien bawełnianych oraz dużą chłonnością krwi, co sprzyja tworzeniu skrzepu [228]. Zdolność bawełny do absorpcji krwi wynika z jej hydrofilowości, porowatości oraz efektu kapilarnego występującego między spletanymi włóknami [228]. Opracowanie bardziej zaawansowanych opatrunków hemostatycznych [73,74] można osiągnąć poprzez modyfikację powierzchni bawełny w celu zwiększenia jej skuteczności hemostatycznej. Jednym z rozwiązań jest metoda zaproponowana w pracy, polegająca na unieruchomieniu na powierzchni materiału metali przejściowych, które stymulują aktywację wewnętrznego szlaku krzepnięcia [229]. Do tych metali należą m.in. miedź i cynk, które były wcześniej badane przez autorów [65–68]. Oprócz wspomnianych metali, uważa się, że również żelazo wykazuje aktywność hemostatyczną. Wynika to z faktu, że jony żelaza wspomagają adhezję i agregację płytek krwi [230]. Z literatury wynika, że Fe^{3+} może być również odpowiedzialny za powstawanie zakrzepów [231]. Ponadto niektóre badania sugerują, że właściwości utleniające Fe^{3+} prowadzą do powstawania grup chinonowych, które wzmacniają działanie antybakteryjne, co ma kluczowe znaczenie w zapobieganiu zakażeniom ran [232,233]. Dodatkowo żelazo i jego związki są dobrze znane z właściwości ochrony przed promieniowaniem UV [234,235]. Ma to ogromne znaczenie, ponieważ nadmierne promieniowanie UV jest szkodliwe dla ludzkiej skóry, dlatego ochrona przed UV jest pożądana w przypadku opatrunków [234,235].

Celem niniejszych badań była kompleksowa ocena właściwości biochemicznych materiału powstałego w wyniku fizycznej modyfikacji bawełny z użyciem miedzi, a także analiza potencjału włókien bawełnianych oraz materiałów typu bawełna-żelazo do bezpośrednich interakcji z DNA oraz wpływu na komórki PBM.

Do charakterystyki strukturalnej i fizykochemicznej materiału COT-Fe zastosowano następujące metody badawcze: analizę mikroskopową (mikroskopia optyczna oraz skaningowa SEM/EDS), analizę powierzchni właściwej metodą BET, absorpcyjną

spektrometrię atomową ze wzbudzeniem w płomieniu (FAAS), analizę UV-VIS oraz przepuszczalność powietrza i strukturę tkaniny.

Wyniki zaprezentowane w Tabeli 6.7.1 umożliwiły analizę ilości zdeponowanego żelaza oraz ocenę efektywności procesu rozpylania magnetronowego na podłożu. Stwierdzono, że zwiększanie czasu osadzania i mocy rozpylania prowadzi do wzrostu strumienia jonów i atomów Fe docierających do powierzchni podłoża, co skutkuje wyższą szybkością narastania powłoki. Największy udział w budowaniu grubości warstwy wykazuje czas osadzania, który bezpośrednio determinuje całkowitą „fluencję” żelaza na matrycę. Wydłużenie procesu depozycji prowadzi do formowania grubszej powłoki żelaza, co znajduje odzwierciedlenie w zwiększonej zawartości Fe określonej metodą AAS/ICP. Jednocześnie rosnąca grubość osadzanej warstwy wpływa na stopniowe zamykanie mikro- i mezoporów charakterystycznych dla struktury włókien bawełny. Pokrycie podłoża żelazem skutkuje znacznym obniżeniem całkowitej objętości porów (ponad 50%) oraz powierzchni właściwej, co potwierdzają wyniki analizy BET. Wyższa moc rozpylania intensyfikuje zjawiska jonizacji oraz energię kinetyczną cząstek docierających do powierzchni włókien, sprzyjając formowaniu bardziej zwartej, jednorodnej powłoki. Zjawisko to prowadzi do dalszej redukcji parametrów porowatościowych, wynikającej z efektywniejszego wypełniania przestrzeni międzywłóknistych oraz wygładzania topografii. Mechanizm ten jest spójny z wcześniejszymi obserwacjami dotyczącymi depozycji metali na włóknistych matrycach polimerowych [65–68], w których wysokowydajne procesy PVD (ang. *Physical Vapor Deposition*) prowadziły do istotnych zmian morfologicznych wynikających z rearanżacji powierzchni i postępującej densyfikacji warstwy. Wyniki przedstawione w Tabeli 6.7.1. pozwoliły na szczegółową analizę zawartości żelaza w próbkach i ocenę skuteczności procesu rozpylania magnetronowego.

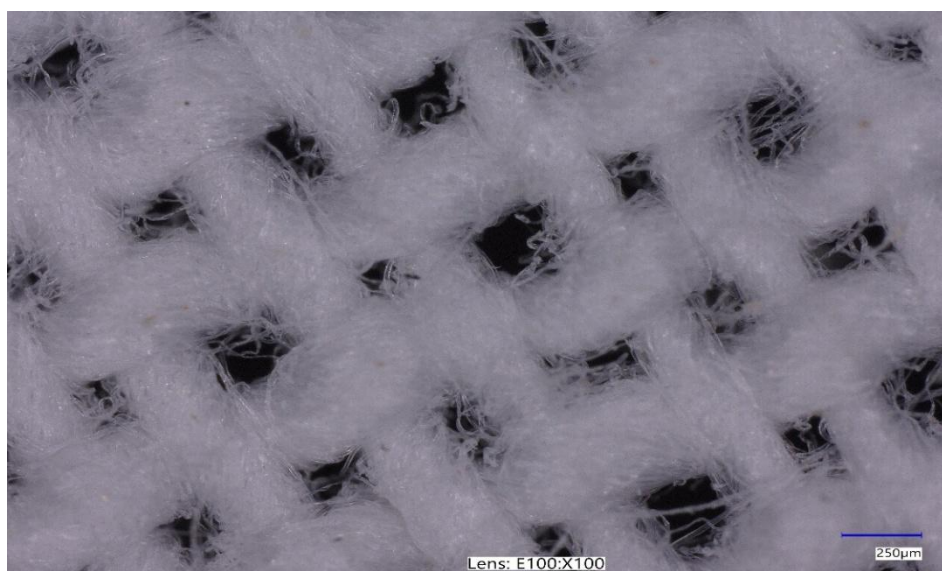
Tabela 6.7.1. Zawartości żelaza i wyniki badań właściwości powierzchni, w tym powierzchni właściwej i całkowitej objętości porów [71].

Nazwa próbki	Zawartość żelaza [g/kg]	Całkowita objętość porów [cm ³ /g]	Powierzchnia właściwa [m ² /g]
COT	0	7,125 × 10 ⁻³	0,7216
COT-Fe (0,5kW/10min)	0,638	3,331 × 10 ⁻³	0,7122
COT-Fe (1kW/10min)	1,043	3,249 × 10 ⁻³	0,7085
COT-Fe (0,5kW/30min)	2,187	2,643 × 10 ⁻³	0,6130
COT-Fe (1kW/30min)	3,562	2,411 × 10 ⁻³	0,6059
COT-Fe (1,5kW/40min)	20,41	2,118 × 10 ⁻³	0,5155

Wyniki analizy EDS potwierdziły obecność powłoki żelaza na powierzchni włókien bawełnianych. Obserwowany wzrost względnej zawartości żelaza jest efektem zwiększającej się grubości powłoki w wyniku wydłużonego czasu osadzania.

Analiza topografii powierzchni przeprowadzona metodą obserwacji mikroskopowych (Rys. 6.7.1.) potwierdza skuteczną depozycję żelaza na włóknach tkaniny, czego pierwszym makroskopowym wskaźnikiem jest wyraźna zmiana barwy materiału. Obserwacje

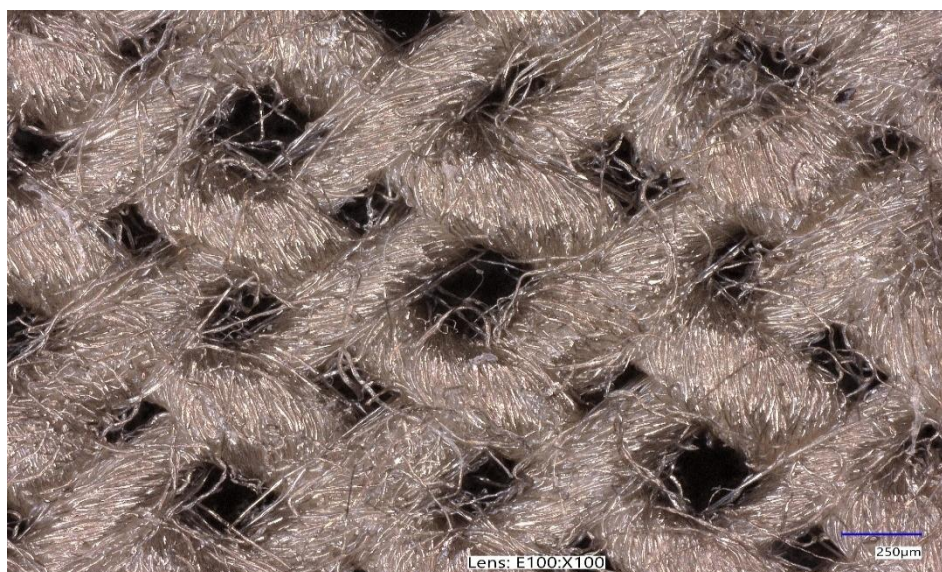
mikroskopowe ujawniają ciągłą, jednorodnie rozłożoną warstwę metalu, pokrywającą zarówno włókna zewnętrzne, jak i struktury znajdujące się w głębszych warstwach tkaniny. Zasięg penetracji powłoki wskazuje na efektywny transport plazmowy atomów Fe w głąb porowatej struktury włóknistej, umożliwiającą pokrycie włókien w przestrzeniach międzywłóknistych i trudno dostępnych obszarach materiału.



(A)



(B)



(C)



(D)

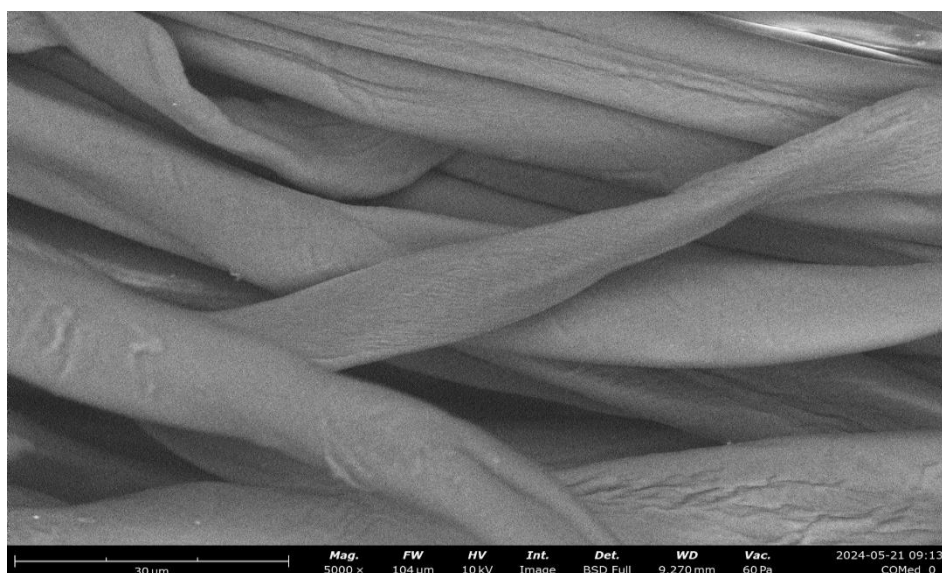
Rysunek 6.7.1. Mikroskopowe obrazy optyczne (powiększenia: $\times 100$; $\times 500$) struktury powierzchni niemodyfikowanej tkaniny bawełnianej (A, B) i materiału COT-Fe (C, D) [71].

Analiza SEM włókien bawełny (Rys. 6.7.2. A i B) potwierdziła ich charakterystyczną morfologię, obejmującą wydłużone, spłaszczone i równoległe ułożone włókna o stosunkowo gładkiej powierzchni oraz jednorodnej architekturze celulozowej. Struktura ta, zdominowana przez system kanałów i mikroporów, odgrywa kluczową rolę w determinowaniu mechanizmów oddziaływania z plazmą podczas procesów depozycji PVD. Zrozumienie topografii wyjściowej jest niezbędne do prawidłowej interpretacji zmian wynikających z napyłania magnetronowego, ponieważ właściwości geometrii włókien wpływają na efektywny kąt padania cząstek, stopień cieniowania (*shadowing effect*) oraz dystrybucję energii osadzanych atomów.

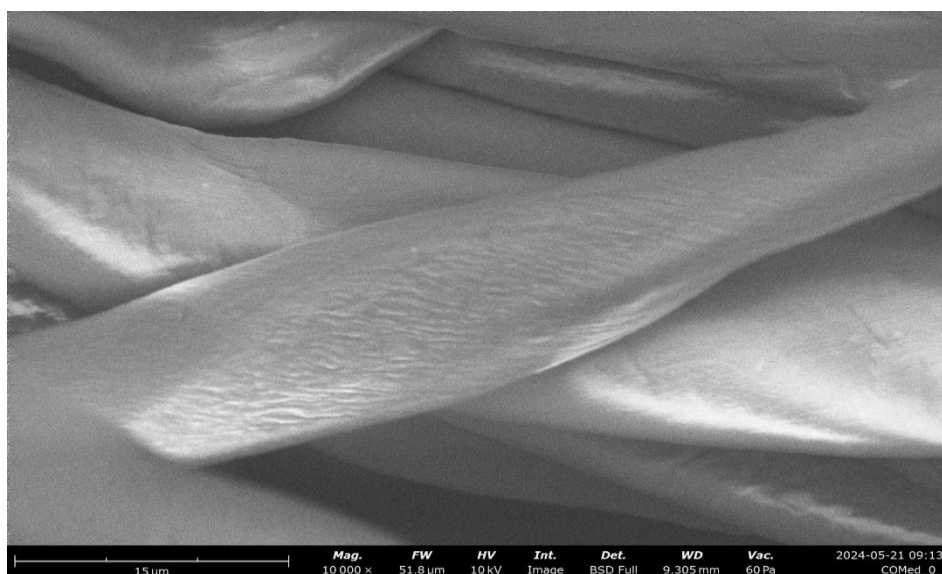
Analiza SEM próbek COT-Fe (Rys. 6.7.2. C i D) jednoznacznie potwierdziła skuteczną i równomierną depozycję żelaza, obejmującą zarówno powierzchnię włókien zewnętrznych, jak i struktury zlokalizowane w głębszych warstwach tkaniny. Obecność ciągłej warstwy

metalicznej na włóknach wewnętrznych wskazuje, że strumień atomów Fe generowany w warunkach magnetronowych wykazywał odpowiednio wysoką energię kinetyczną, umożliwiając penetrację porowatej geometrii materiału oraz depozycję w obszarach częściowo osłoniętych. Jest to zgodne z modelem transportu plazmowego, w którym dominują procesy dyfuzji wtórnej i odbić wtórnych (*re-emission*) zwiększające głębokość pokrycia.

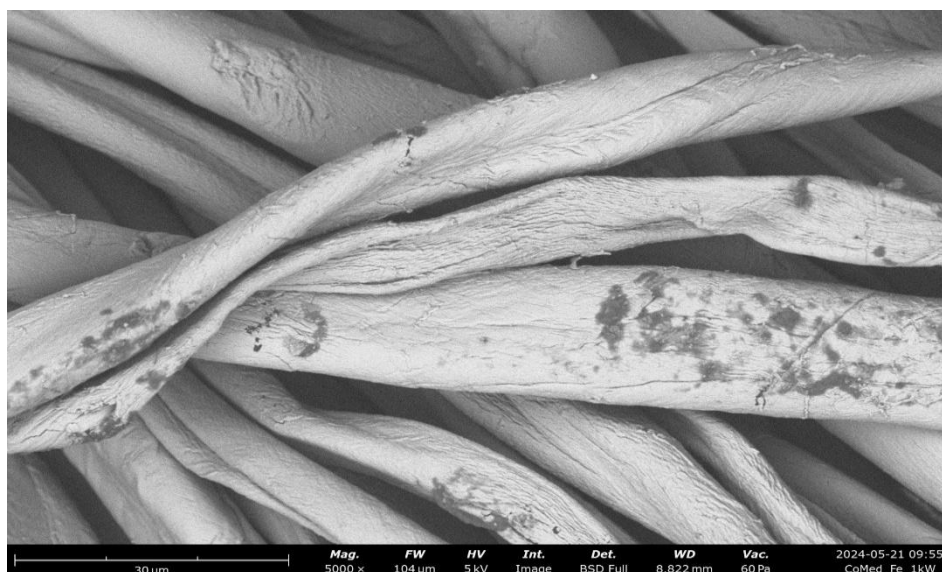
Obserwowane zmiany morfologiczne - w tym lokalne zaburzenia ułożenia włókien, częściowa densyfikacja powierzchni oraz wygładzenie topografii wynikające z wypełniania mikroprzestrzeni warstwą Fe - stanowią bezpośrednią konsekwencję interakcji atomów o wysokiej energii z powierzchnią celulozy. Zjawiska te wskazują, że proces napyłania prowadzi nie tylko do nanoszenia ciągłej powłoki metalicznej, lecz także do mikrostrukturalnej reorganizacji włókien, będącej wynikiem oddziaływania energetycznych cząstek oraz lokalnej akumulacji materiału w przestrzeniach międzywłóknistych.



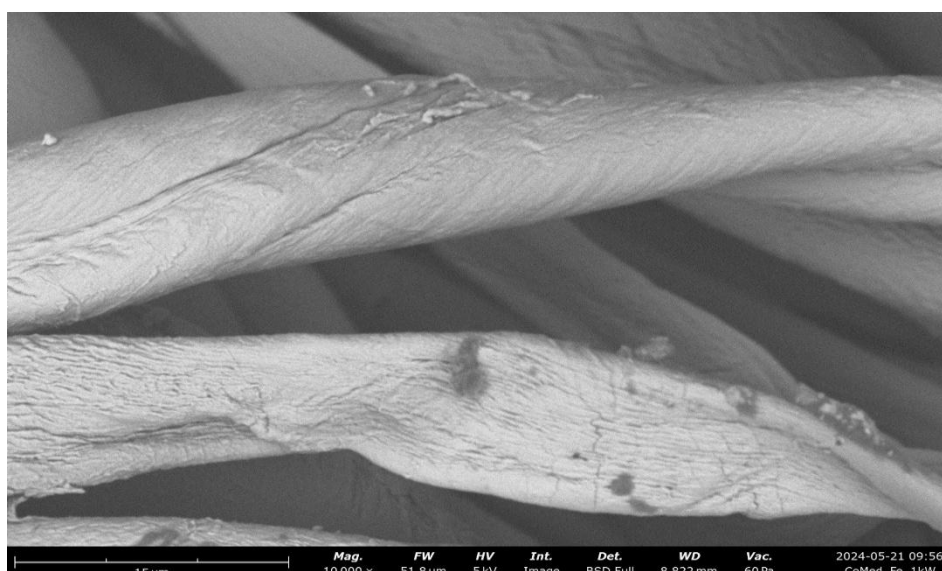
(A)



(B)



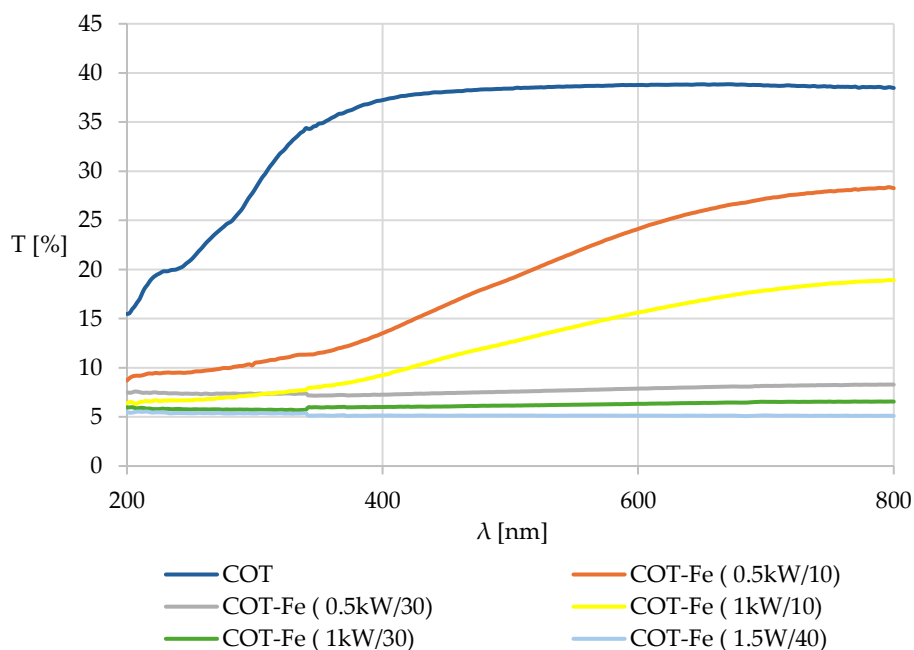
(C)



(D)

Rysunek 6.7.2. Obrazy uzyskane za pomocą SEM (przy powiększeniach $\times 5000$ i $\times 10000$) struktury powierzchni niemodyfikowanej tkaniny bawełnianej COT (A, B) i materiału COT-Fe (C, D) [71].

Na rysunku 6.7.3. przedstawiono widma transmisji w zakresie długości fali 200–800 nm dla próbek bawełny przed i po modyfikacji żelazem. Modyfikowane próbki wykazują istotnie obniżoną transmisję światła w porównaniu do próbki niemodyfikowanej, co przypisuje się obecności warstwy żelaza (Tab. 6.7.2.). Szczególnie zauważalny spadek transmisji występuje w zakresie 250–450 nm, a jego skala zależy od zawartości Fe na powierzchni struktur włóknistych.



Rysunek 6.7.3. Porównanie widm transmisji [%T] dla tych samych kompozytów COT oraz COT-Fe zarejestrowanych w zakresie długości fal 200–800 nm [71].

Ponad to modyfikacja tkaniny bawełnianej żelazem poprawiła właściwości ochronne przed promieniowaniem UV. Współczynnik UPF (ang. *Ultraviolet Protection Factor*) wyznaczony zgodnie z normą EN 13758-1:2002 [236] wzrósł z 3,29 (COT) do 18,22 (COT-Fe (1,5 kW/40')) (Tab. 6.7.2.).

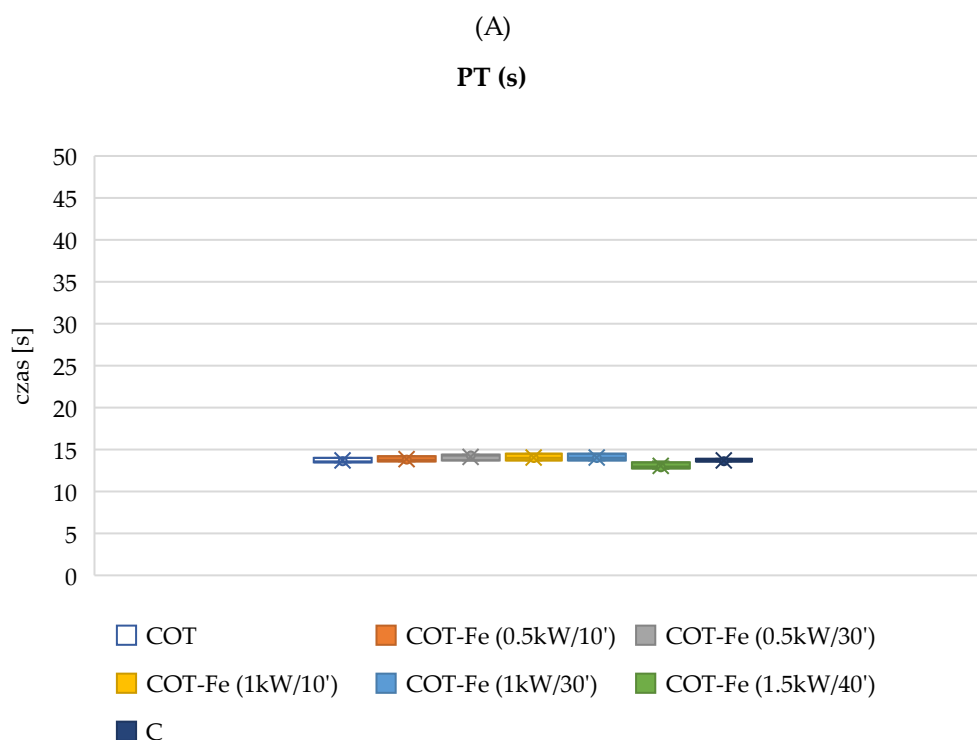
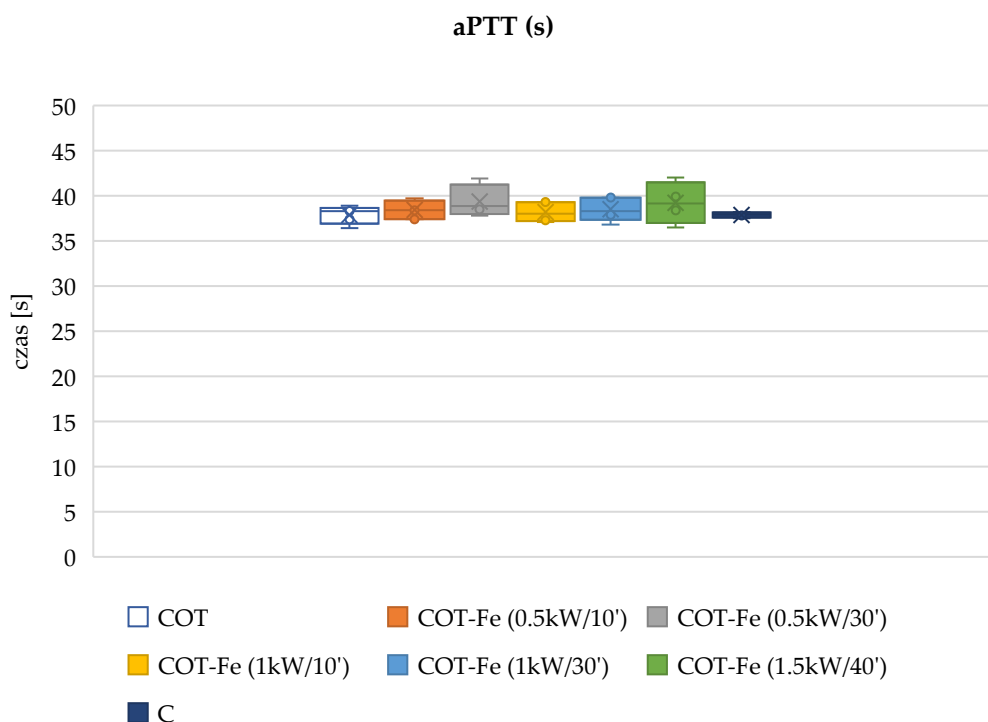
Tabela 6.7.2. Wartość współczynnika UPF oraz średnia transmisja dla próbek tkaniny bawełnianej przed i po modyfikacji żelazem [71].

	COT	COT-Fe (0.5kW/10')	COT-Fe (0.5kW/30')	COT-Fe (1kW/10')	COT-Fe (1kW/30')	COT-Fe (1.5kW/40')
UPF	3.29	9.27	13.62	9.97	16.75	18.22
średnia %T, λ = 290-400 nm	31.81	10.56	6.87	9.02	5.75	4.72

Chociaż niewielkie dawki promieniowania w zakresie UVB mogą wspierać gojenie ran (poprzez syntezę witaminy D i działanie przeciwdrobnoustrojowe), nadmierna ekspozycja na promieniowanie UVA i UVB może hamować regenerację tkanek wskutek stresu oksydacyjnego, stanów zapalnych i uszkodzeń DNA [234,235]. Dlatego uzyskana poprawa ochrony UV po modyfikacji żelazem jest istotna w kontekście zabezpieczenia ran przed szkodliwym promieniowaniem.

Badania biochemiczne materiału skupiły się na ocenie czasu aPTT (Rys. 6.7.4. A) oraz czasu PT (Rys. 6.7.4. B). Dane wykazały brak istotnych zmian w czasach krzepnięcia dla próbek bawełny po modyfikacji w porównaniu z próbką kontrolną (niemodyfikowaną), co wskazuje, że modyfikacja powierzchniowa żelazem nie wpływa

na zdolność materiału do inicjowania procesu krzepnięcia - powłoka napyłonego żelaza nie oddziałuje na fizjologiczny proces krzepnięcia.



Rysunek 6.7.4. Wpływ badanych kompozytów COT-Fe na aPTT (A) i PT (B): COT; COT-Fe(0,5kW/10'); COT-Fe(0,5kW/30'); COT-Fe(1kW/10'); COT-Fe(1kW/30'); COT-Fe(1,5kW/40') i kontrola [71].

Mimo że testy aPTT i PT nie wykazały istotnych zmian systemowych w czasie krzepnięcia, należy zauważyć, że krzepnięcie krwi w miejscu rany nie zależy wyłącznie od aktywacji kaskady krzepnięcia. Właściwości powierzchniowe materiałów np. opatrunków

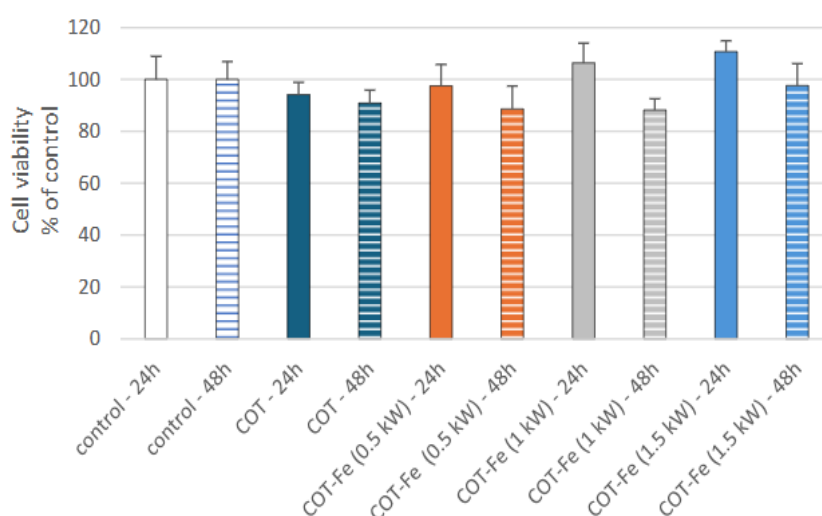
– takie jak topografia, skład chemiczny i ładunek – mogą wpływać na adhezję, aktywację i agregację płytek krwi. Literatura wskazuje, że jony żelaza (szczególnie Fe^{3+}) mogą lokalnie wspomagać aktywację płytek krwi i tworzenie zakrzepów poprzez oddziaływanie z białkami błony komórkowej płytek oraz procesy oksydacyjne [230,231]. Dlatego też poprawa potencjału hemostatycznego COT-Fe może wynikać z efektów lokalnych na styku materiał-krew, a nie z systemowego wpływu na czynniki krzepnięcia.

Wyniki oznaczeń wskaźnika TBARS (Tab. 6.7.3.) wskazują, że bawełna pokryta żelazem wykazuje właściwości antyoksydacyjne – zaobserwowano zmniejszenie peroksydacji lipidów w porównaniu do bawełny niemodyfikowanej. Modyfikacja metalicznym żelazem może mieć znaczenie w łagodzeniu stresu oksydacyjnego towarzyszącego stanom zapalnym i uszkodzeniom tkanek po urazie oraz w procesie gojenia ran. Co istotne, aktywność antyoksydacyjna tak zmodyfikowanego materiału nie wpływa negatywnie na krzepnięcie krwi, co potwierdza neutralność powłoki napyłonego żelaza wobec fizjologicznych mechanizmów tworzenia skrzepu.

Tabela 6.7.3. Wyniki oznaczeń TBARS dla próbek tkaniny bawełnianej niemodyfikowanej (COT) i modyfikowanej (COT-Fe) [71].

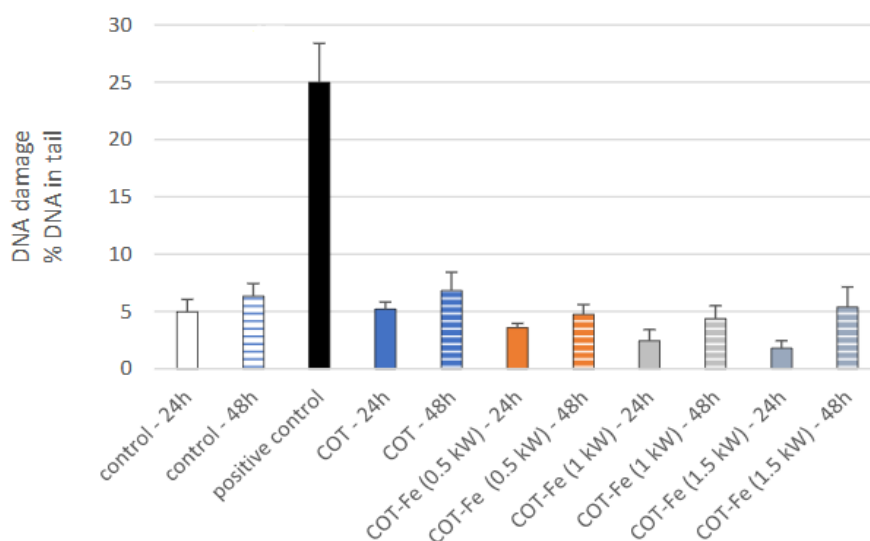
C	COT-Fe (1,5kW/40')	COT-Fe (1kW/30')	COT-Fe (1kW/10')	COT-Fe (0,5kW/30')	COT-Fe (0,5kW/10')	COT	TBARS (nM)
0,615	0,705	0,705	0,705	0,321	0,423	0,692	

Przeprowadzono ocenę cytotoksyczności tkanin bawełnianych (COT) i modyfikowanych żelazem (COT-Fe) wobec komórek PBM za pomocą testu redukcji rezazuryny. Po 24 i 48 godzinach inkubacji nie odnotowano spadku żywotności komórek, co wskazuje na brak cytotoksycznego działania badanych materiałów (Rys. 6.7.5.). Dodatkowo, nie zaobserwowano oznak reakcji Fentona, która mogłaby zwiększyć poziom ROS i uszkodzić komórki [174–176].



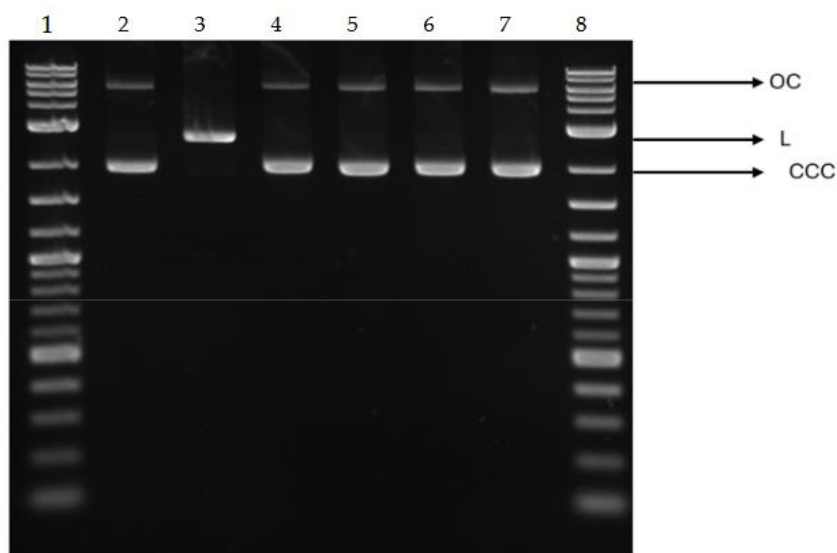
Rysunek 6.7.5. Wpływ tkaniny bawełnianej (COT) i modyfikowanej żelazem (COT-Fe (0,5 kW), COT-Fe (1 kW), COT-Fe (1,5 kW)) na żywotność komórek PBM po 24 i 48 godzinach inkubacji [71].

Wpływ próbek COT-Fe na uszkodzenia DNA w komórkach PBM oceniono na podstawie testu kometowego, który wykazał brak uszkodzeń DNA w komórkach PBM po 24 i 48 godzinach inkubacji, niezależnie od mocy rozpylania (Rys. 6.7.6.). W przeciwieństwie do kontroli pozytywnej (25 μM H_2O_2), próbki nie wykazywały genotoksyczności, co wskazuje na brak uwalniania żelaza w ilościach wywołujących reakcję Fentona. Wyniki są zgodne z wcześniejszymi badaniami nad nietoksycznymi nanocząstkami $\text{Mg}0.1\text{-}\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ [237] oraz stopami Zn-3Cu z dodatkiem Fe, które wykazały dobrą biogodność [238].



Rysunek 6.7.6. Wpływ mieszanin po inkubacji bawełny (COT) oraz bawełny z żelazem (COT-Fe (0,5 kW), COT-Fe (1 kW), COT-Fe (1,5 kW)) na uszkodzenia DNA w komórkach PBM po 24 i 48 godzinach inkubacji [71].

W badaniu testem relaksacji plazmidu pUC19 stwierdzono brak interakcji DNA z mieszaninami poinkubacyjnymi COT i COT-Fe. Plazmid zachował formę superskręconą, bez obecności uszkodzeń jednoniciowych czy dwuniciowych. Wyniki wskazują, że brak uwalniania jonów Fe z powierzchni materiału zapobiega potencjalnym reakcjom z DNA (Rys. 6.7.7.).



Rysunek 6.7.7. Test relaksacji plazmidu. Plazmid pUC19 inkubowano przez 24 h (37 °C) z bawełną i mieszkami bawełniano-żelazowymi po inkubacji (COT-Fe (0,5 kW), COT-Fe (1 kW), COT-Fe (1,5 kW)), a następnie rozdzielono na 2% żelu agarozowym, barwiono bromkiem etydyny i uwidoczniono w świetle UV. Linia 1 — drabinka DNA; linia 2 — plazmid pUC19 (forma superskręcona, CCC); linia 3 — plazmid pUC19 inkubowany z restryktazą PstI (forma liniowa, L); linie 4–7 — plazmid pUC19 inkubowany odpowiednio z COT, COT-Fe (0,5 kW), COT-Fe (1 kW), COT-Fe (1,5 kW); linia 8 — drabinka DNA. OC — otwarta, kolista forma DNA plazmidowego [71].

Wyniki badań wskazują, że modyfikacja tkaniny bawełnianej żelazem metodą napyłania magnetronowego poprawiła jej właściwości biochemiczne - zwiększyła aktywność antyoksydacyjną bez negatywnego wpływu na krzepnięcie krwi (aPTT i PT). Testy biologiczne wykazały brak toksyczności i uszkodzeń DNA w komórkach PBM oraz brak interakcji materiału z DNA, co wskazuje na bezpieczeństwo stosowania otrzymanych materiałów. Ponadto wykazano, że modyfikacja żelazem zapewnia podwyższenie właściwości barierowych wobec promieniowania UV, stanowiąc dodatkową wartość materiału.

Na podstawie przeprowadzonych badań można wysunąć następujące wnioski:

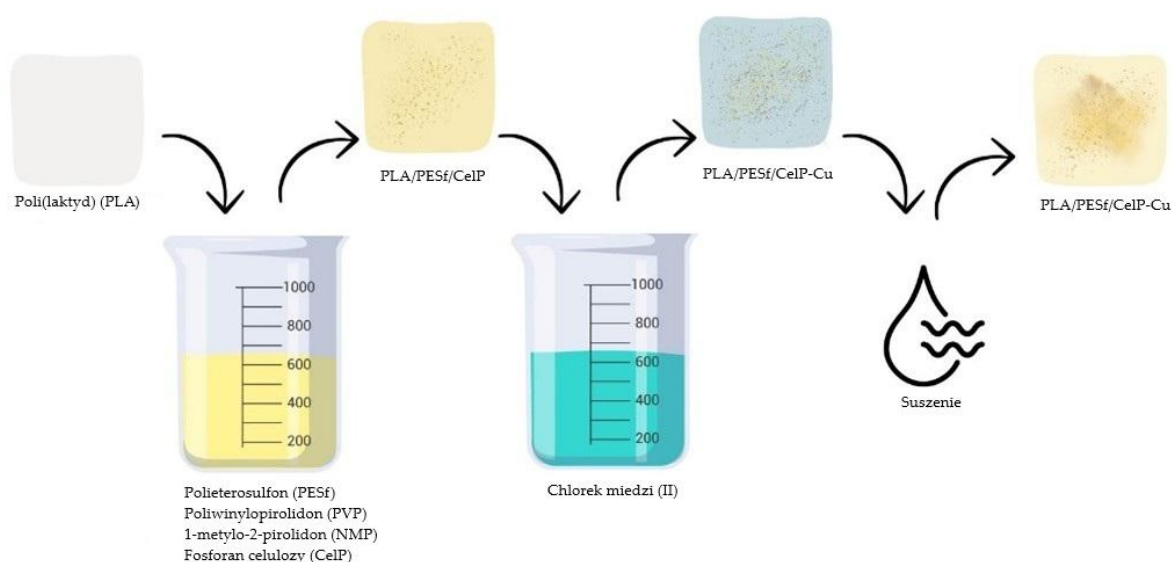
- opracowano warunki otrzymania nowej struktury materiałowej
- bawełna modyfikowana żelazem ma duży potencjał w zastosowaniach medycznych, np. jako materiał opatrunkowy, gdzie kluczowe znaczenie ma biouzgodność.

Moim wkładem w pracę eksperymentalną było opracowanie i wykonanie modyfikacji tkaniny bawełnianej żelazem poprzez napyłanie magnetronowe; wykonanie części badań właściwości fizykochemicznych (analiza powierzchni właściwej BET, analiza mikroskopowa, analiza spektrofotometryczna UV-VIS z wyznaczeniem współczynnika UPF), oraz badań biochemicznych w zakresie krzepnięcia osocza krwi (aPTT i PT) oraz peroksydacji lipidów (TBARS).

W pracy przedstawiono sposób wytworzenia oraz charakterystykę właściwości biochemicznych i mikrobiologicznych kompozytu PLA/PESf/CeIP-Cu, złożonego z poli(laktydu) (PLA) w połączeniu z polieterosulfonem (PESf) oraz fosforanem celulozy kompleksowanym jonami miedzi (CeIP-Cu). Poli(laktyd) (PLA) jest biodegradowalnym i biokompatybilnym polimerem szeroko stosowanym w medycynie, w szczególności w leczeniu ran, inżynierii tkankowej oraz jako materiał nośnikowy w systemach kontrolowanego uwalniania substancji aktywnych. [102,239–251]. Ograniczenia PLA, takie jak kruchość i hydrofobowość, można zniwelować poprzez połączenie z innymi polimerami, np. z polisulfonem eterowym (PESf) [252]. PESf cechuje się wysoką stabilnością i wytrzymałością, ale jego hydrofobowość ogranicza hemokompatybilność [252–257]. W celu poprawy właściwości biologicznych materiału, dodaje się fosforan celulozy (CeIP), który jest biozgodny, hydrofilowy i wiąże czynniki wzrostu oraz jony wapnia [258–265]. Po kompleksowaniu z miedzią (CeIP-Cu) zyskuje właściwości przeciwdrobnoustrojowe [266], a sama miedź wspomaga gojenie ran i ma udokumentowane działanie biobójcze [118,119,197,198,205,267–291].

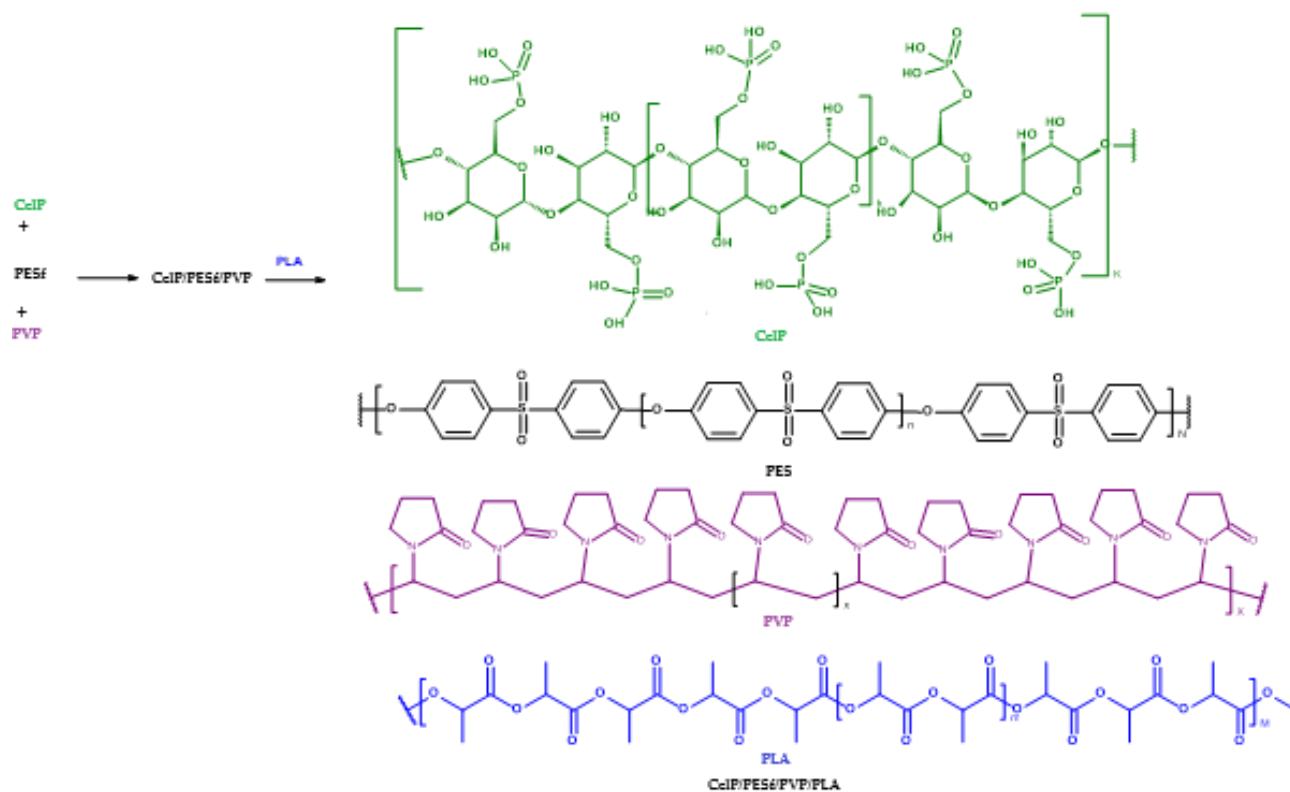
Celem niniejszej pracy było opracowanie kompozytu PLA/PESf/CeIP-Cu i ocena jego właściwości antybakteryjnych oraz wpływu na proces krzepnięcia krwi oraz potencjału do zastosowań biomedycznych.

Włóknina z PLA została wytworzona metodą pneumatycznego formowania (*melt-blown*), a następnie zmodyfikowana polieterosulfonem i fosforanem celulozy, po czym przeprowadzono kompleksowanie z jonami miedzi przy użyciu techniki powlekania zanurzeniowego (*dip-coating*). Proces modyfikacji włókniny PLA przedstawia rysunek 6.8.1.

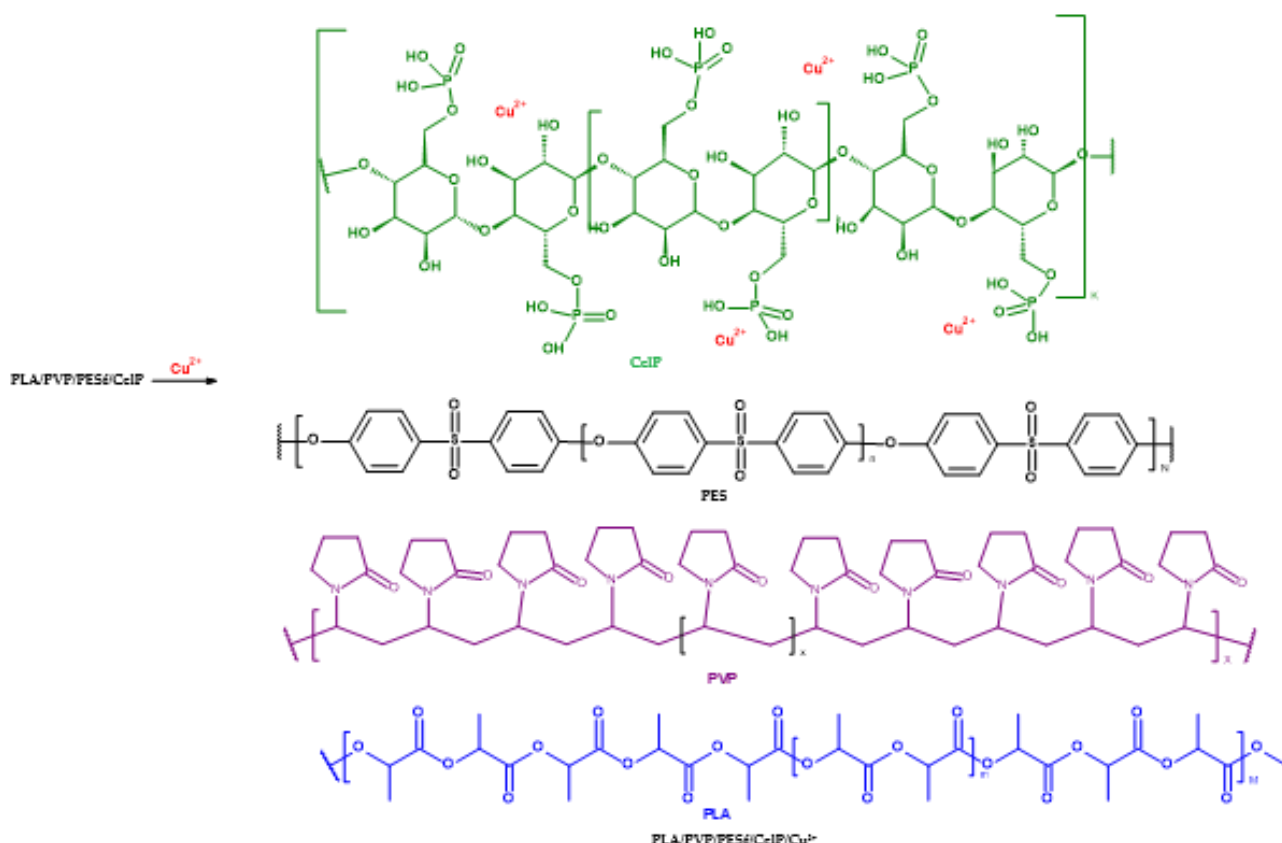


Rysunek 6.8.1. Schemat procedury modyfikacji włókniny PLA [72].

Na rysunkach 6.8.2. i 6.8.3. przedstawiono przypuszczalny mechanizm powstawania kompozytu PLA/PESf/CeP i osadzania miedzi na powierzchni kompozytów PLA/PVP/PESf/CeP ($\text{PLA/PVP/PESf/CeP} \rightarrow \text{PLA/PVP/PESf/CeP/Cu}^{2+}$).



Rysunek 6.8.2. Przypuszczalny mechanizm powstawania kompozytów PLAPLA/PESf/CeIP [72].



Rysunek 6.8.3. Wizualizacja przypuszczalnego mechanizmu osadzania miedzi na powierzchni kompozytów PLA/PVP/PESf/CeIP (PLA/PVP/PESf/CeIP $\rightarrow$ PLA/PVP/PESf/CeIP/Cu²⁺) [72].

Przeprowadzono kompleksową ocenę fizykochemiczną i biologiczną w celu scharakteryzowania kompozytu PLA/PESf/CeIP-Cu.

Ocena fizykochemiczna obejmowała metody badawcze takie jak: absorpcyjną spektrometrię atomową ze wzbudzeniem w płomieniu (FAAS) oraz analiza mikroskopowa (mikroskopia optyczna oraz skaningowa SEM/EDS).

Badanie stężenia miedzi w próbkach PLA/PESf/CeIP-Cu wykazało niemal wprost proporcjonalny wzrost zawartości miedzi w próbkach kompozytu (0,9155 i 9,5585 mg/kg) do wzrostu stężenia CuCl₂ użytego w kąpeli zanurzeniowej (1 i 10%) (Tab. 6.8.1.).

Tabela 6.8.1. Wyniki oznaczania zawartości miedzi w próbkach kompozytu PLA/PESf/CeIP-Cu [72].

Analizowana próbka	Zawartość miedzi	
	[mg/kg]	[mMol/kg] ^{c,d}
PLA	0	0
PLA/PESf/CeIP	0	0
PLA/PESf/CeIP-Cu-1 ^a	0.9155	0.0014
PLA/PESf/CeIP-Cu-2 ^b	9.5585	0.015

^{a/} zastosowano do modyfikacji 1% roztwor chloru miedzi (II), ^{b/} zastosowano do modyfikacji 10% roztwor chloru miedzi (II), ^{c/} zastosowana masa molowa miedzi 63,546 g/mol, ^{d/} stężenie milimolowe, ^{e/} stężenie milimolowe miedzi w kompozycie.

Rysunki 6.8.4. i 6.8.5. przedstawiają morfologię powierzchni próbek przed i po modyfikacji, obserwowaną za pomocą mikroskopii optycznej i SEM. Widoczna zmiana koloru (Rys. 6.8.4.)

potwierdza skuteczne nałożenie powłoki, która pokrywa zarówno zewnętrzne, jak i wewnętrzne obszary włókna włókniny PLA (Rys. 6.8.5.).

Niemodyfikowane próbki PLA wykazują charakterystyczną dla włóknin *melt-blown* trójwymiarową strukturę z losowo zorientowanymi włóknami. Po modyfikacji roztworem polimerowym i CuCl_2 obserwuje się wyraźną zmianę morfologii: kontury włókien stają się mniej ostro zarysowane, powierzchnia przyjmuje bardziej chropowaty charakter, a liczba i wielkość porów ulegają redukcji na skutek ich częściowego wypełnienia warstwą kompozytową.

W próbkach PLA/PESf/CeIP-Cu widoczne są liczne aglomeraty, których ilość zwiększa się wraz ze stężeniem CuCl_2 , co wskazuje na narastającą depozycję fazy bogatej w jony Cu(II) na powierzchni włókien. Obecność aglomeratów prowadzi do obniżenia jednorodności powierzchni oraz lokalnych zaburzeń w ułożeniu włókien. Pomimo częściowej deformacji struktury włóknistej, ogólna architektura trójwymiarowej włókniny pozostaje zachowana.



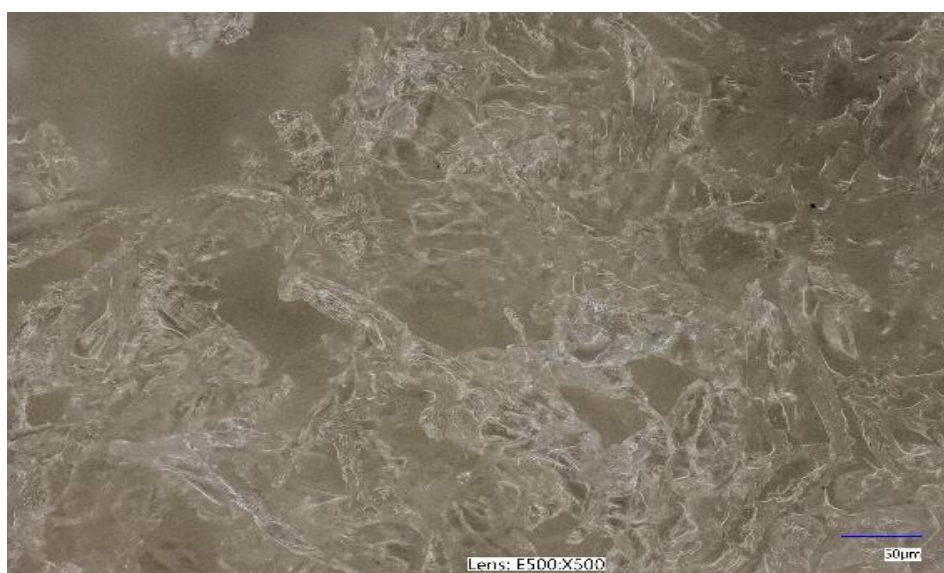
(A)



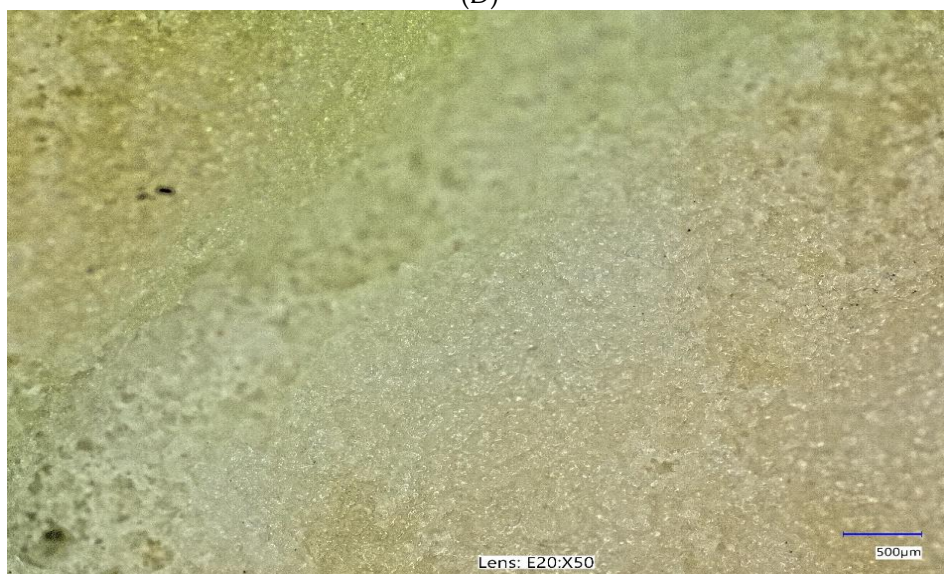
(B)



(C)



(D)

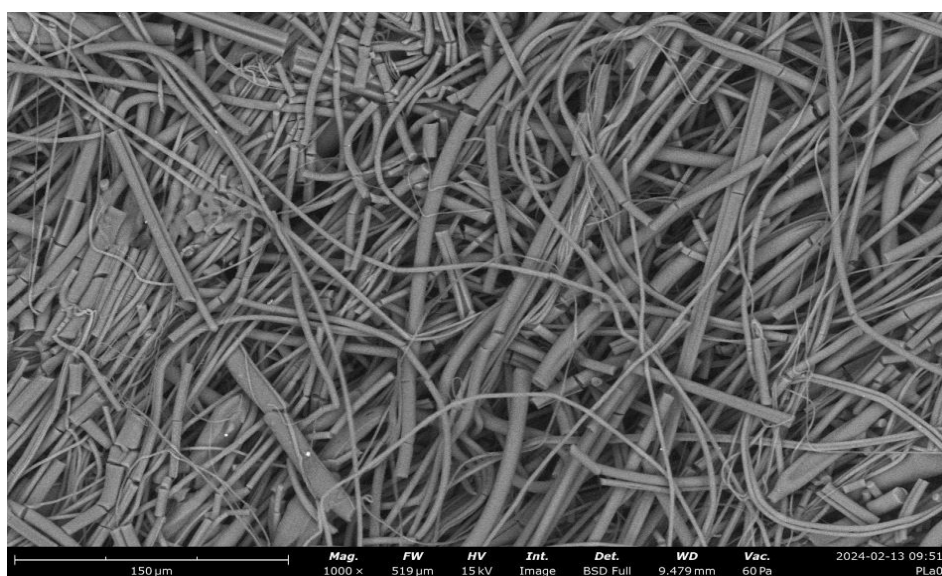


(E)

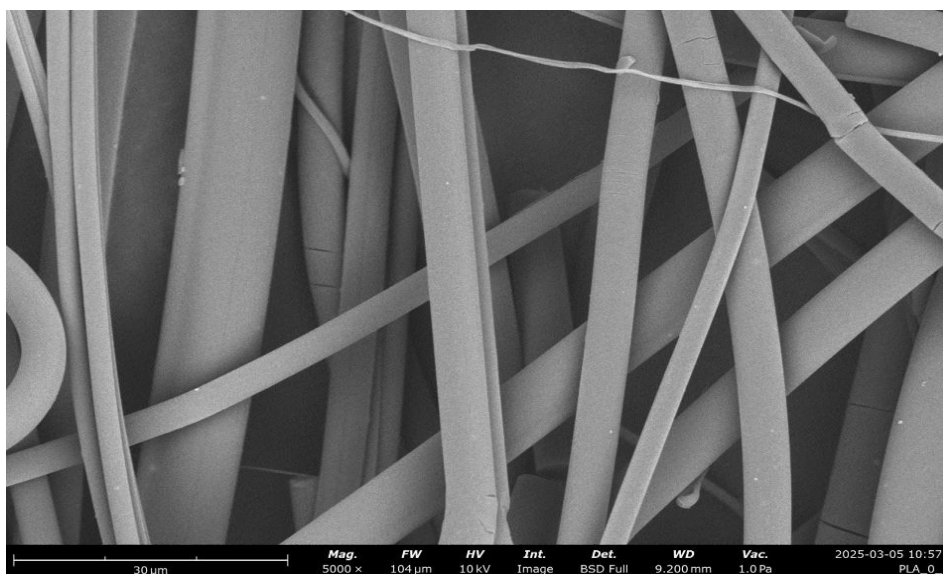


(F)

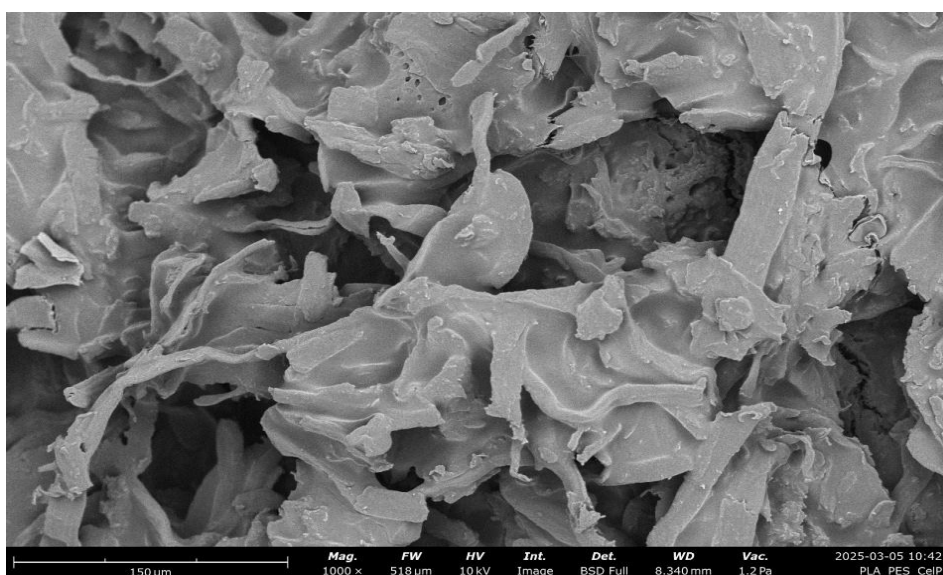
Rysunek 6.8.4. Mikroskopowe obrazy optyczne (powiększenia: $\times 50$; $\times 500$) struktury powierzchni niemodyfikowanej włókniny PLA (A, B) i modyfikowanej PLA/PESf/CeIP (C, D) oraz PLA/PESf/CeIP-Cu (E, F) [72].



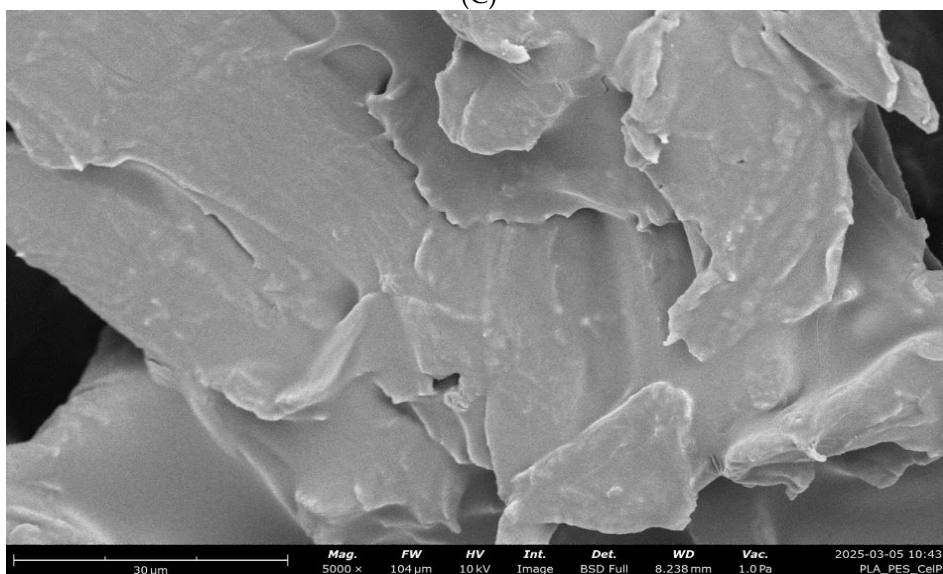
(A)



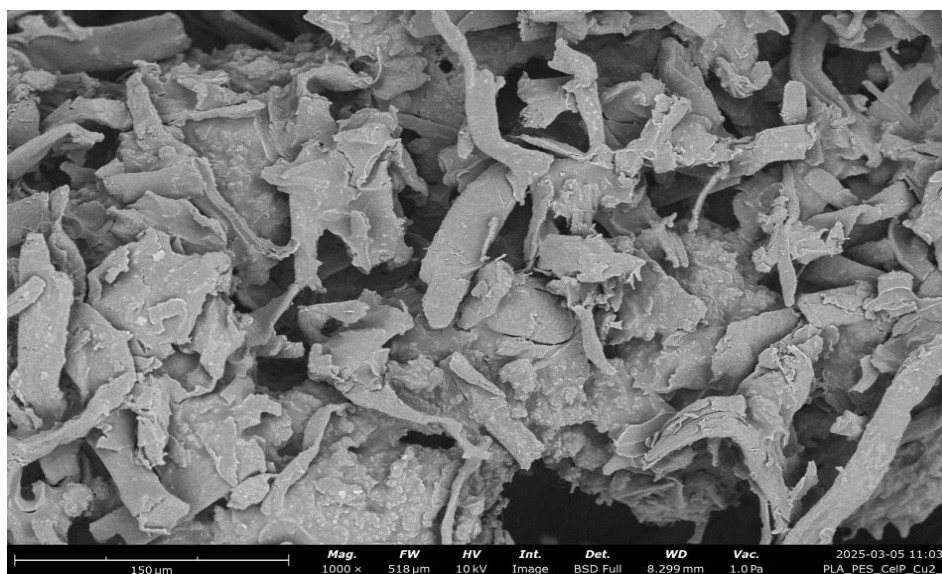
(B)



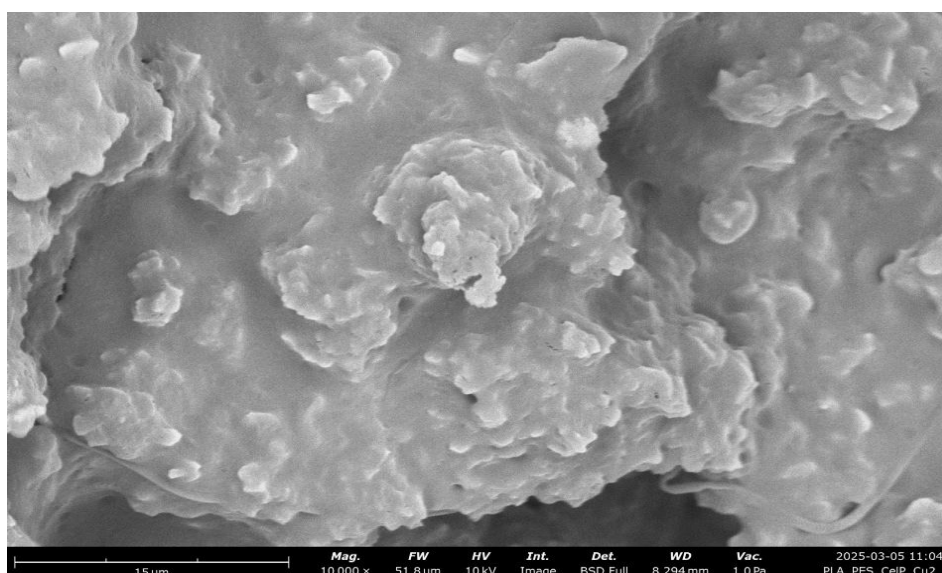
(C)



(D)



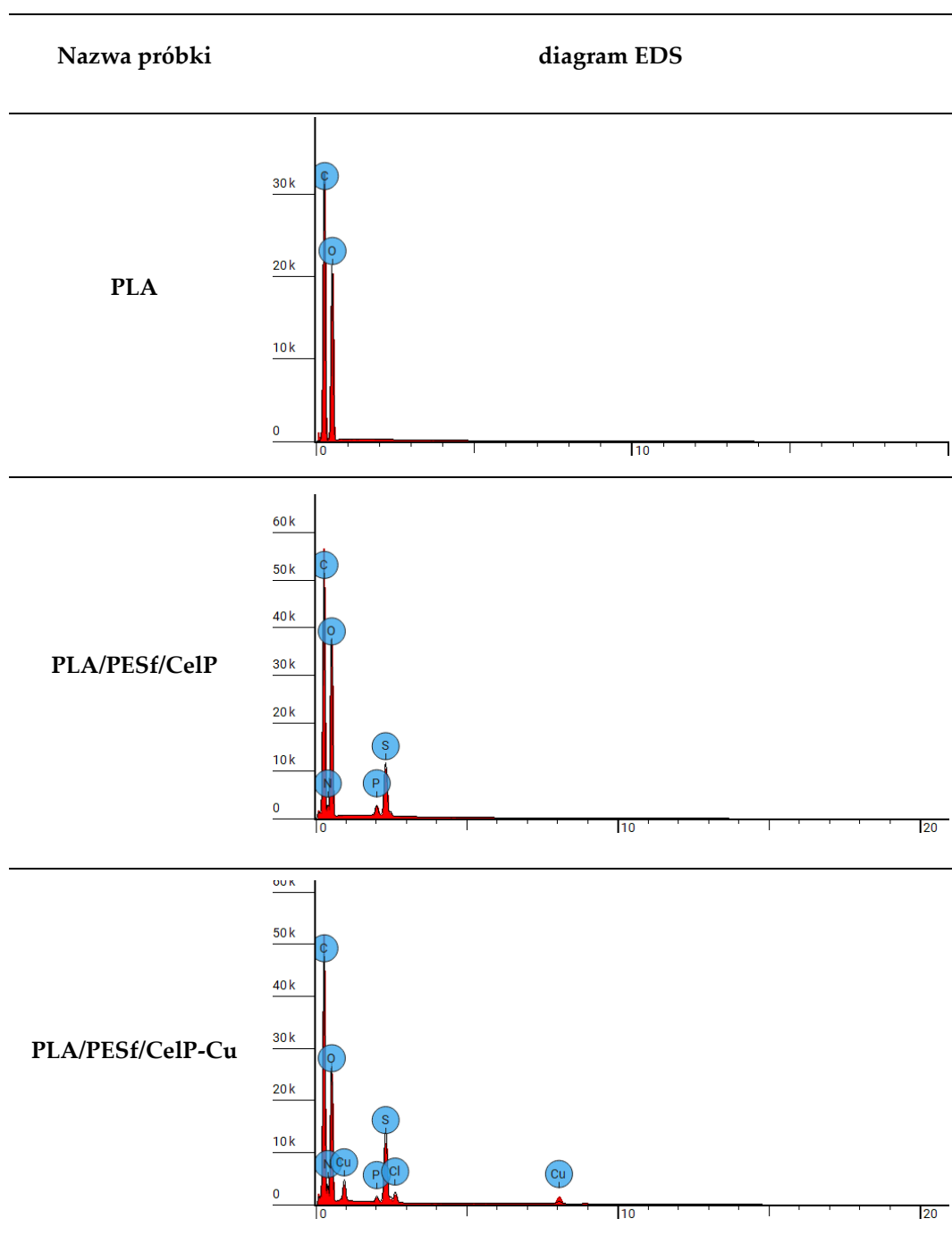
(E)



(F)

Rysunek 6.8.5. Zdjęcia SEM (powiększenia: $\times 1000$; $\times 5000$) niemodyfikowanej włókniny PLA (A, B) i modyfikowanej PLA/PESf/CelP (C, D) oraz PLA/PESf/CelP-Cu (E, F) [72].

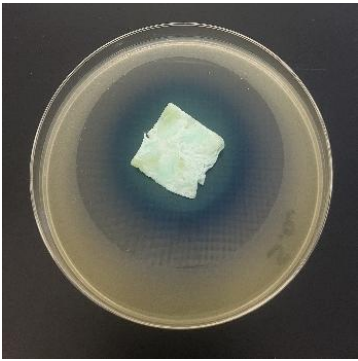
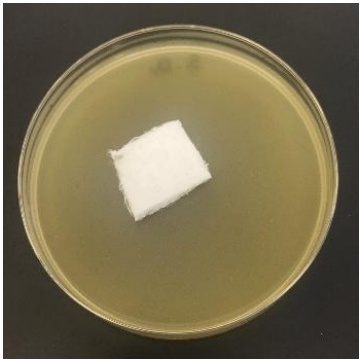
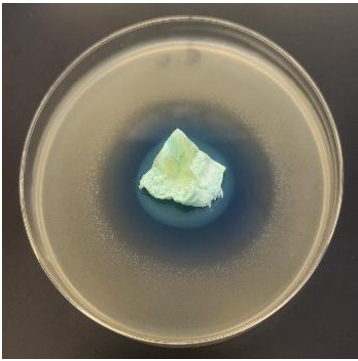
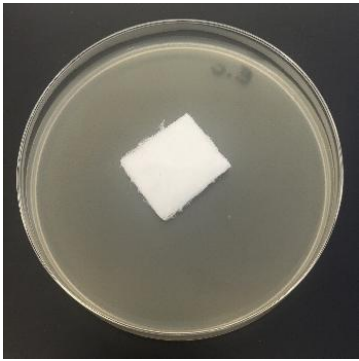
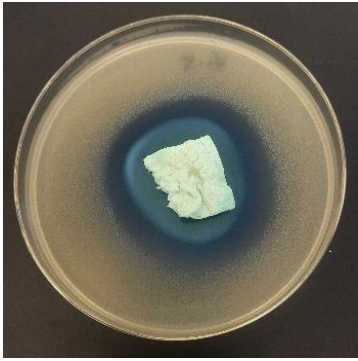
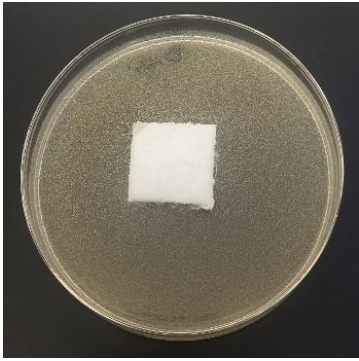
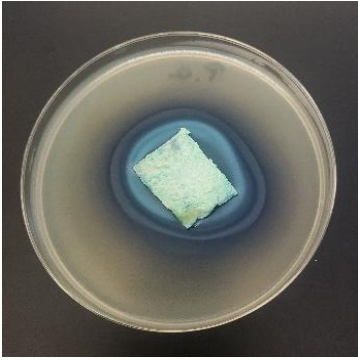
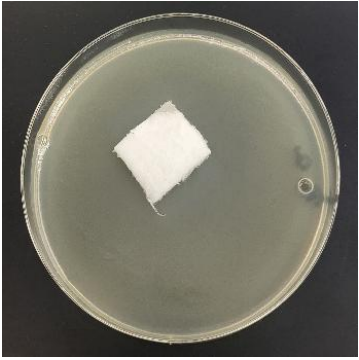
Analiza EDS (Rys. 6.8.6) wykazała obecność miedzi w próbkach PLA/PESf/CelP-Cu, a także siarki i fosforu pochodzących z powłoki (PESf i fosforanu celulozy). Obecność azotu wiąże się z zastosowaniem rozpuszczalnika NMP (N-metylopirolidon).

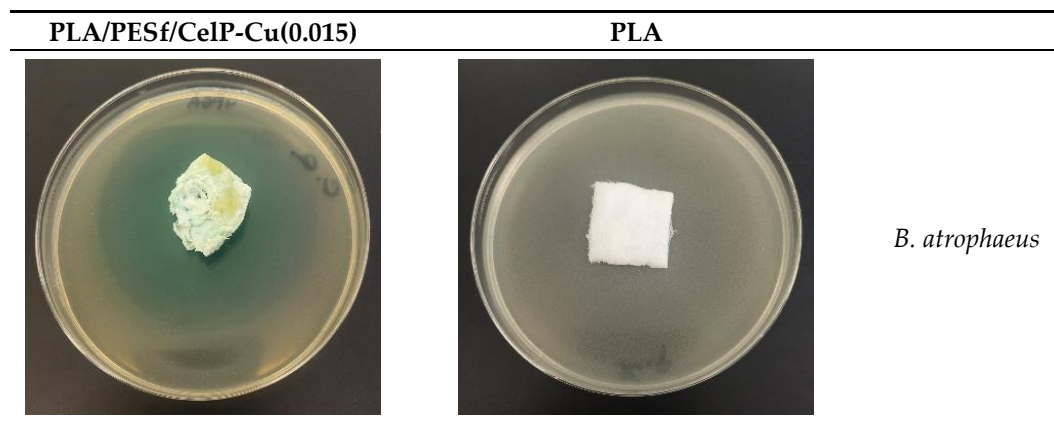


Rysunek 6.8.6. Diagramy EDS dla próbek PLA i kompozytu PLA/PESf/CeIP i PLA/PESf/CeIP-Cu [72].

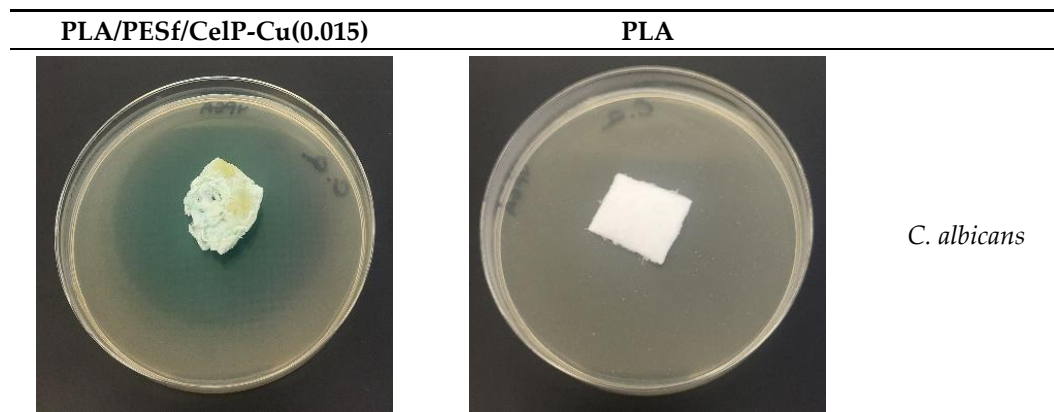
Właściwości przeciwdrobnoustrojowe materiału PLA/PESf/CeIP-Cu badano zgodnie z normami PN-EN ISO 20645:2006 [100] i PN-EN 14119:2005 [101].

Dla próbek kontrolnych (PLA i PLA/PESf/CeIP) zaobserwowano intensywny wzrost kolonii bakterii i grzybów oraz brak stref inhibicji, co świadczy o braku aktywności przeciwdrobnoustrojowej (Rys. 6.8.7.). W przeciwieństwie do nich, kompozyty PLA/PESf/CeIP-Cu wykazały wyraźne właściwości przeciwdrobnoustrojowe wobec szerokiego spektrum drobnoustrojów, w tym *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*, czy *A. niger*, generując strefy inhibicji. Największą skuteczność wykazały próbki PLA/PESf/CeIP-Cu(0.015).

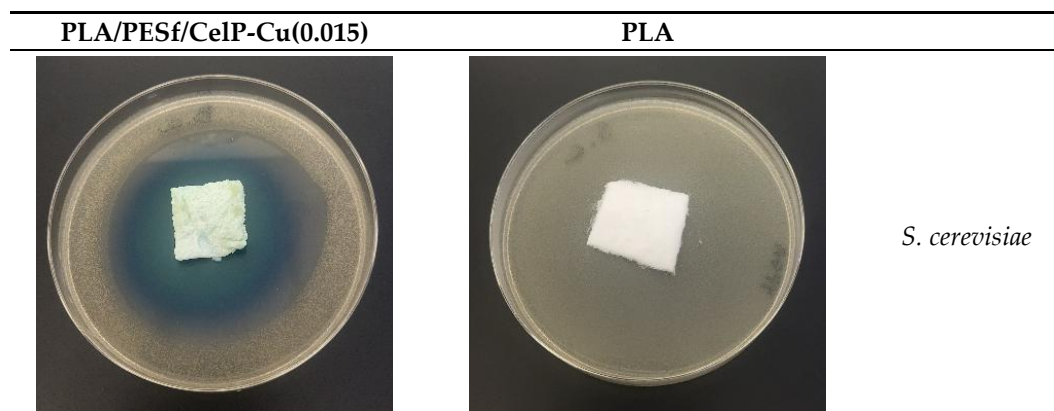
PLA/PESf/CeIP-Cu(0.015)	PLA	
		<i>S. aureus</i>
a.)		
PLA/PESf/CeIP-Cu(0.015)	PLA	
		<i>E. coli</i>
b.)		
PLA/PESf/CeIP-Cu(0.015)	PLA	
		<i>K. pneumoniae</i>
c.)		
PLA/PESf/CeIP-Cu(0.015)	PLA	
		<i>P. aeruginosa</i>
d.)		



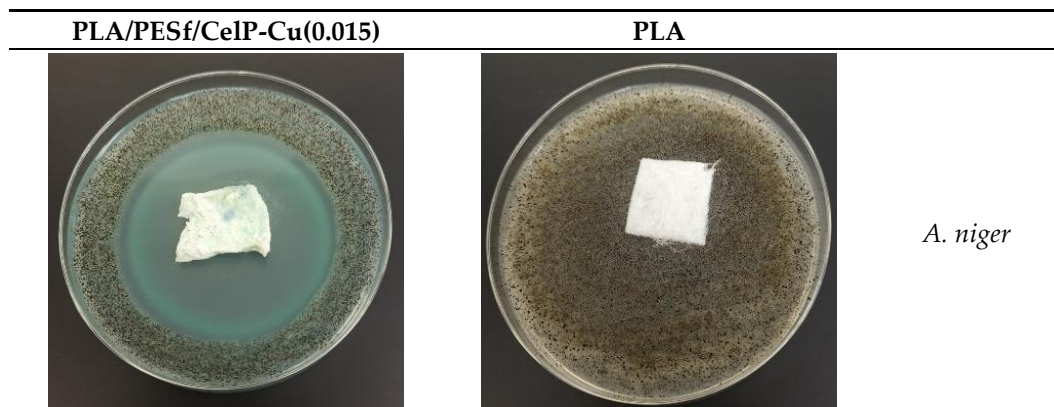
e.)



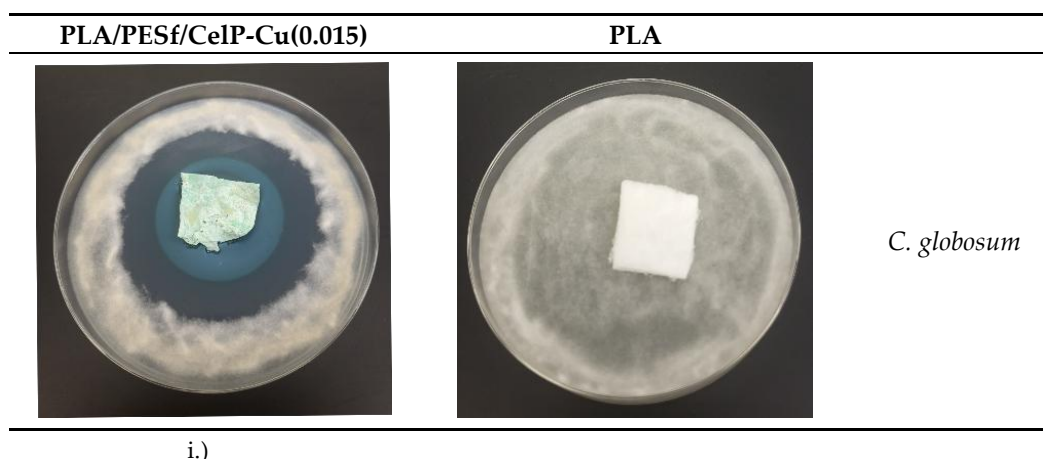
f.)



g.)

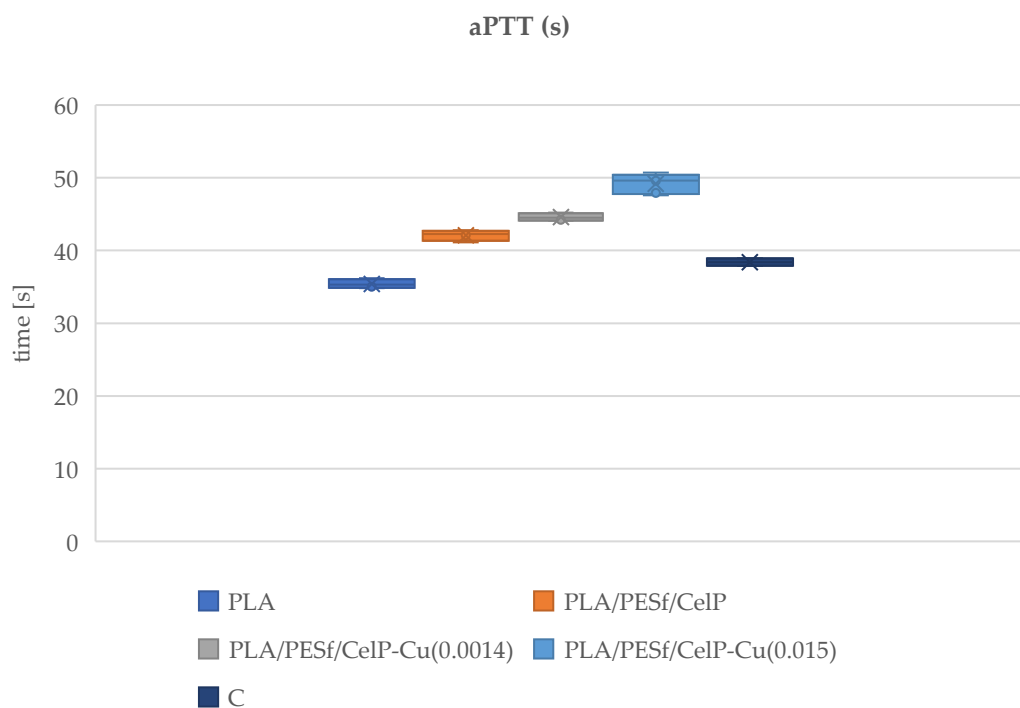


h.)

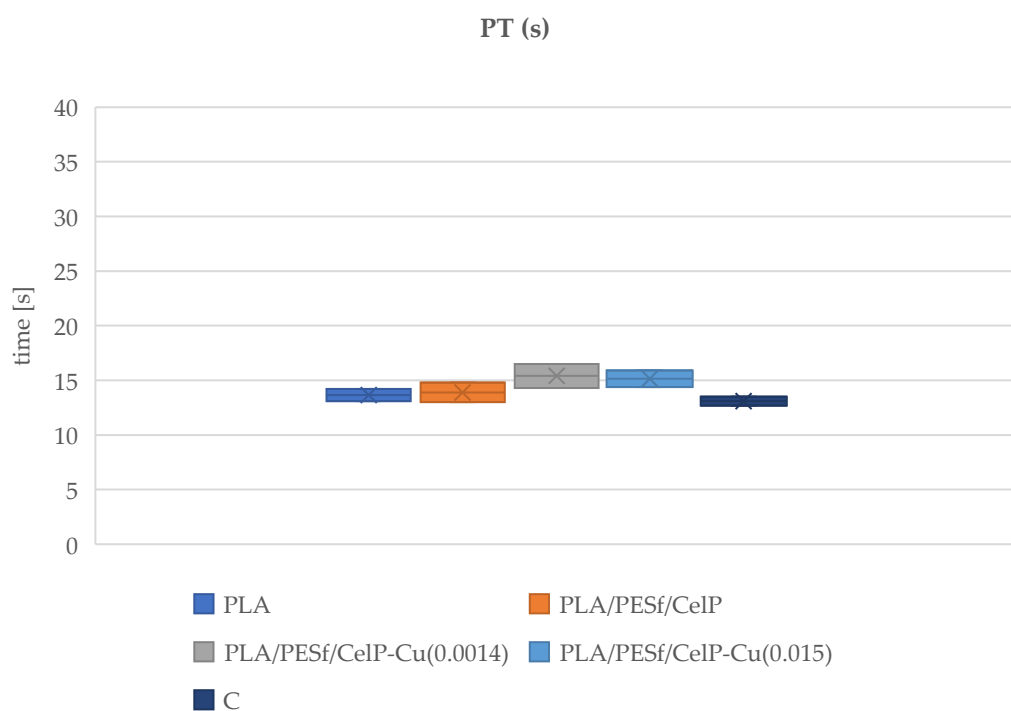


Rysunek 6.8.7. Badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej niemodyfikowanej włókniny PLA i kompozytów PLA/PESf/CelP-Cu wobec *S. aureus* (a), *E. coli* (b), *K. pneumoniae* (c), *P. aeruginosa* (d), *B. atrophaeus* (e), *C. albicans* (f), *S. cerevisiae* (g), *A. niger* (h), *C. globosum* (i) – strefy zahamowania wzrostu bakterii/grzybów w płytkach Petriego wg norm PN-EN ISO 20645:2006 i PN-EN 14119:2005 [72].

Badania biochemiczne obejmowały ocenę czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT) oraz czasu protrombinowego (PT) (Rys. 6.8.8 i Rys. 6.8.9). Analiza wyników wskazuje, że obecność jonów miedzi wpływała na procesy krzepnięcia krwi, w szczególności poprzez wydłużenie czasu aPTT, co świadczy o zahamowaniu wewnętrznej (kontaktowej) drogi aktywacji krzepnięcia. Wyniki sugerują, że jony Cu^{2+} mogą oddziaływać na czynniki kontaktowe (np. XI, XII), prowadząc do ich częściowej inaktywacji i w konsekwencji do wydłużenia czasu aPTT [292]. Zmiany te nie były obserwowane w przypadku PT, co sugeruje, że miedź nie oddziałuje na zewnętrzną drogę krzepnięcia (czynniki VII, I, II i X)



Rysunek 6.8.8. Wpływ kompozytów PLA/PESf/CelP-Cu na czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT). Próbki: C - kontrola osocza, PLA, PLA/PESf/CelP, PLA/PESf/CelP-Cu(0,0014) i PLA/PESf/CelP-Cu(0,015) [72].



Rysunek 6.8.9. Wpływ kompozytów PLA/PESf/CelP-Cu na czas potombinowy (PT). Próbki: C - kontrola osocza, PLA, PLA/PESf/CelP, PLA/PESf/CelP-Cu(0,0014) i PLA/PESf/CelP-Cu(0,015) [72].

Na podstawie przeprowadzonych badań można wysunąć następujące wnioski:

- opracowano warunki otrzymania materiału kompozytowego (PLA/PESf/CeIP-Cu) na bazie PLA modyfikowanego polieterosulfonem (PESf) oraz fosforanem celulozy kompleksowanym jonami miedzi (CeIP-Cu);
- właściwości przeciwdrobnoustrojowe i przeciwgrzybicze kompozytów PLA/PESf/CeIP-Cu sugerują potencjalne zastosowania jako materiał antybakteryjny/przeciwgrzybiczy;
- materiały PLA/PESf/CeIP-Cu nie stwarzają istotnego ryzyka zaburzeń krzepnięcia [65,66,293,294].

Moim wkładem w pracę eksperymentalną było opracowanie i wykonanie modyfikacji włókniny PLA polieterosulfonem i fosforanem celulozy oraz kompleksowanie z jonami miedzi; wykonanie części badań właściwości fizykochemicznych (analiza mikroskopowa) oraz badań biochemicznych w zakresie krzepnięcia osocza krwi (aPTT i PT).

7. Podsumowanie

Niniejsza Rozprawa Doktorska przedstawia wieloetapowy program badawczy obejmujący opracowanie, funkcjonalizację i szczegółową charakterystykę materiałów polimerowych i włóknistych modyfikowanych metalami o aktywności przeciwdrobnoustrojowej i koagulacyjnej. Badania obejmowały zarówno polimery syntetyczne, jak i naturalne, co pozwoliło przeanalizować zależności pomiędzy strukturą matrycy, właściwościami fizykochemicznymi oraz interakcją z metalami podczas modyfikacji powierzchniowej. W toku badań udowodniono, że funkcjonalizacja polimerów metalami może być skutecznym narzędziem do precyzyjnego kształtowania właściwości biologicznych biomateriałów, w tym aktywności przeciwdrobnoustrojowej i hemostatycznej, co stanowi wspólne podstawy funkcjonalne dla wszystkich otrzymanych kompozytów.

W Pracy Doktorskiej wykazano, że funkcjonalizacja polimerów i materiałów włóknistych metalami wymaga odrębnej, precyzyjnie kontrolowanej procedury technologicznej dla każdej matrycy. Powyższy fakt, wynika z różnic w przewodnictwie cieplnym, energii powierzchniowej, morfologii włókien oraz zróżnicowanej odporności termicznej, co determinuje ryzyko degradacji podczas procesów wysokoenergetycznych. Opracowane procedury funkcjonalizacji okazały się unikatowe dla każdej matrycy, co jednoznacznie podkreśla konieczność indywidualnego doboru parametrów procesu, zwłaszcza w fizycznych technikach wysokoenergetycznych. W szczególności procesy magnetronowe wymagały restrykcyjnej kontroli parametrów (moc, czas, ciśnienie, odległość target-substrat), ponieważ nawet niewielkie odchylenia prowadziły do przegrzewania, zniekształceń lub lokalnej depolimeryzacji materiałów. Każdy proces przedstawiony w Rozprawie był zatem samodzielnym doświadczeniem technologicznym.

Dodatkowym, istotnym elementem realizacji niniejszej Pracy było opracowanie oraz dostosowanie procedur analitycznych umożliwiających wiarygodną ocenę aktywności hemostatycznej i bezpieczeństwa biologicznego modyfikowanych materiałów włóknistych. Powyższe zadanie wymagało rozwinięcia metodyki badań koagulacyjnych (PT, aPTT, TT) dla próbek będących materiałami polimerowymi o strukturze porowatej, w szczególności standaryzacji warunków kontaktu materiał-osocze oraz sposobu interpretacji parametrów krzepnięcia w obecności aktywnych powierzchni metalicznych. Ponadto w ramach planu badawczego Rozprawy udoskonalono i zaadaptowano procedurę testu kometowego (ang. *comet assay*) do oceny integralności DNA komórek PBMC eksponowanych na badane kompozyty, co umożliwiło identyfikację potencjalnych efektów cytotoksycznych i genotoksycznych. Opracowane metody analityczne stanowią ważny wkład metodyczny pracy i mogą być wykorzystywane w dalszych badaniach nad biomateriałami o właściwościach prokoagulacyjnych i przeciwdrobnoustrojowych.

Przeprowadzone badania umożliwiły otrzymanie szeregu nowych struktur materiałowych o kontrolowanych właściwościach biologicznych i tak:

- Opracowano i dostosowano warunki procesu funkcjonalizacji tkaniny bawełnianej metodą *dip-coating* z wykorzystaniem alginianu i jonów miedzi(II), prowadzący do otrzymania kompozytu bawełna-alginian-Cu o stabilnych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych oraz z kontrolowaną aktywnością koagulacyjną [65].
- Otrzymano kompozyt PLA-Cu, charakteryzujący się jednoznacznie potwierdzoną aktywnością przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą oraz możliwością modulowania procesów krzepnięcia krwi, co wskazuje na jego potencjał aplikacyjny w biomateriałach o właściwościach przeciwpatogennych [66].

- Opracowano proces funkcjonalizacji włókien PLA cynkiem, uzyskując kompozyty PLA-Zn wykazujące aktywność przeciwdrobnoustrojową i modulujący wpływ na wewnątrzpochodny tor krzepnięcia; ich właściwości biologiczne wskazują na możliwość zastosowania w materiałach opatrunkowych oraz innych zastosowaniach biomedycznych, takich jak materiały hemostatyczne czy powierzchnie przeciwdrobnoustrojowe [67].
- Otrzymano kompozyt wełna-Cu, w którym aktywność przeciwdrobnoustrojowa oraz właściwości hemostatyczne zależą od zawartości miedzi, co umożliwia precyzyjne dopasowanie parametrów materiału [68].
- Otrzymano kompozyt PLA-Fe, wykazujący brak cytotoksyczności i genotoksyczności oraz neutralny wpływ na układ krzepnięcia, co w połączeniu z jego właściwościami strukturalnymi wskazuje na możliwość wykorzystania go jako biozgodnego materiału w zastosowaniach medycznych [69].
- Opracowano proces funkcjonalizacji lnu miedzią, uzyskując kompozyt LI-Cu o wysokiej aktywności przeciwdrobnoustrojowej oraz zachowanej biozgodności, co potwierdza jego użyteczność jako potencjalnego materiału biomedycznego [70].
- Przeprowadzono funkcjonalizację tkaniny bawełnianej żelazem, prowadząc do otrzymania kompozytu COT-Fe, który ogranicza peroksydację lipidów, nie wpływając przy tym na kaskadę krzepnięcia ani na żywotność i integralność materiału genetycznego komórek, co podkreśla jego wysoki poziom bezpieczeństwa biologicznego [71].
- Opracowano złożony kompozyt PLA/PESf/CeIP-Cu, łączący właściwości poli(laktydu), polieterosulfonu i fosforanu celulozy kompleksowanego jonami Cu(II); materiał ten wykazuje aktywność antybakteryjną i przeciwgrzybiczą przy braku istotnego wpływu na procesy krzepnięcia, co czyni go obiecującym kandydatem do zastosowań biomedycznych [72].

Ostatecznie przedstawione w Pracy Doktorskiej struktury materiałowe wykazują potencjał aplikacyjny w biomedycynie, obejmujący m.in. aktywne systemy opatrunkowe, materiały hemostatyczne, struktury wspierające procesy regeneracji tkanek oraz inne rozwiązania wymagające kontrolowanej aktywności biologicznej. Zachowane bezpieczeństwo biologiczne otrzymanych układów polimerowych potwierdza zasadność dalszych prac nad ich rozwojem i walidacją.

8. Literatura

1. Frykberg, R.G.; Banks, J. Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. *Adv. Wound Care* **2015**, *4*, 560–582, doi:10.1089/WOUND.2015.0635/ASSET/IMAGES/LARGE/FIGURE4.JPEG.
2. Lopez-Ojeda, W.; Pandey, A.; Alhajj, M.; Oakley, A.M. *Anatomy, Skin (Integument)*; StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2022;
3. Yousef, H.; Alhajj, M.; Fakoya, A.O.; Sharma, S. *Anatomy, Skin (Integument), Epidermis. StatPearls* **2024**.
4. LaPelusa, A.; Dave, H.D. Physiology, Hemostasis. *StatPearls* **2023**.
5. López-Santiago, N.; Raber, M.N. Coagulation Tests. In *Acta Pediatrica de Mexico*; Walker, H.K., Hall, W.D., Hurst, J.W., Eds.; Instituto Nacional de Pediatría: Boston, 1990; Vol. 37, pp. 241–245 ISBN 0-409-90077-X.
6. Litvinov, R.I.; Weisel, J.W. What Is the Biological and Clinical Relevance of Fibrin? *Semin. Thromb. Hemost.* **2016**, *42*, 333–343, doi:10.1055/S-0036-1571342/ID/JR02291-15/BIB.
7. Weisel, J.W.; Litvinov, R.I. Fibrin Formation, Structure and Properties. *Subcell. Biochem.* **2017**, *82*, 405–456, doi:10.1007/978-3-319-49674-0_13/FIGURES/11.
8. Chaudhry, R.; Killeen, R.B.; Babiker, H.M.; Usama, S.M.; Babiker, H.M. Physiology, Coagulation Pathways. *StatPearls*.
9. Grissom, T.E.; Fang, R. Topical Hemostatic Agents and Dressings in the Prehospital Setting. *Curr. Opin. Anaesthesiol.* **2015**, *28*, 210–216, doi:10.1097/ACO.0000000000000166.
10. Mecwan, M.; Li, J.; Falcone, N.; Ermis, M.; Torres, E.; Morales, R.; Hassani, A.; Haghniaz, R.; Mandal, K.; Sharma, S.; et al. Recent Advances in Biopolymer-Based Hemostatic Materials. *Regen. Biomater.* **2022**, *9*, rbac063, doi:10.1093/rb/rbac063.
11. da Silva, D.; Kaduri, M.; Poley, M.; Adir, O.; Krinsky, N.; Shainsky-Roitman, J.; Schroeder, A. Biocompatibility, Biodegradation and Excretion of Polylactic Acid (PLA) in Medical Implants and Theranostic Systems. *Chem. Eng. J.* **2018**, *340*, 9–14, doi:https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.01.010.
12. Castro, J.I.; Valencia Llano, C.H.; Tenorio, D.L.; Saavedra, M.; Zapata, P.; Navia-Porras, D.P.; Delgado-Ospina, J.; Chaur, M.N.; Hernández, J.H.M.; Grande-Tovar, C.D. Biocompatibility Assessment of Polylactic Acid (PLA) and Nanobioglass (n-BG) Nanocomposites for Biomedical Applications. *Molecules* **2022**, *27*, doi:10.3390/molecules27113640.
13. Karagöz, İ. Production and Characterization of Sustainable Biocompatible PLA/Walnut Shell Composite Materials. *Polym. Bull.* **2024**, *81*, 11517–11537, doi:10.1007/s00289-024-05247-4.
14. Sheokand, B.; Vats, M.; Kumar, A.; Srivastava, C.M.; Bahadur, I.; Pathak, S.R. Natural Polymers Used in the Dressing Materials for Wound Healing: Past, Present and Future. *J. Polym. Sci.* **2023**, *61*, 1389–1414, doi:10.1002/POL.20220734.
15. Qi, L.; Xu, Z.; Jiang, X.; Hu, C.; Zou, X. Preparation and Antibacterial Activity of Chitosan Nanoparticles. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 2693–2700, doi:10.1016/j.carres.2004.09.007.
16. Chandrasekaran, M.; Kim, K.D.; Chun, S.C. Antibacterial Activity of Chitosan Nanoparticles: A Review. *Processes* **2020**, *8*, doi:10.3390/pr8091173.
17. Jamali, B.; Nouri, S.; Amidi, S. Local and Systemic Hemostatic Agents: A Comprehensive Review. *Cureus* **2024**, *16*, e72312, doi:10.7759/cureus.72312.
18. Pereira, B.M.; Bortoto, J.B.; Fraga, G.P. Agentes Hemostáticos Tópicos Em Cirurgia: Revisão e Perspectivas. *Rev. Col. Bras. Cir.* **2018**, *45*, e1900, doi:10.1590/0100-6991E-20181900.

19. Allotey, J.K.; King, A.H.; Kumins, N.H.; Wong, V.L.; Harth, K.C.; Cho, J.S.; Kashyap, V.S. Systematic Review of Hemostatic Agents Used in Vascular Surgery. *J. Vasc. Surg.* **2021**, *73*, 2189–2197, doi:10.1016/j.jvs.2020.10.081.
20. Tompeck, A.J.; Gajdhar, A.U.R.; Dowling, M.; Johnson, S.B.; Barie, P.S.; Winchell, R.J.; King, D.; Scalea, T.M.; Britt, L.D.; Narayan, M. A Comprehensive Review of Topical Hemostatic Agents: The Good, the Bad, and the Novel. *J. Trauma Acute Care Surg.* **2020**, *88*, e1–e21, doi:10.1097/TA.0000000000002508.
21. Simpson, A.; Shukla, A.; Brown, A.C. Biomaterials for Hemostasis. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2022**, *24*, 111–135, doi:10.1146/annurev-bioeng-012521-101942.
22. Yang, X.; Wang, X.; Gao, X.; Guo, X.; Hou, S.; Shi, J.; Lv, Q. What Else Should Hemostatic Materials Do beyond Hemostasis: A Review. *Mater. Today Bio* **2024**, *25*, 101008, doi:https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2024.101008.
23. Cole, L.; Kramer, P.R. Bacteria, Virus, Fungi, and Infectious Diseases. *Hum. Physiol. Biochem. Basic Med.* **2016**, 193–196.
24. Verhoef, J.; Snippe, H. Immune Response in Human Pathology: Infections Caused by Bacteria, Viruses, Fungi, and Parasites. *Princ. Immunopharmacol.* **2005**, 105–115.
25. Ristori, M.V.; Guarrasi, V.; Soda, P.; Petrosillo, N.; Gurrieri, F.; Longo, U.G.; Ciccozzi, M.; Riva, E.; Angeletti, S. Emerging Microorganisms and Infectious Diseases: One Health Approach for Health Shared Vision. *Genes (Basel)*. **2024**, *15*, doi:10.3390/genes15070908.
26. BARTHOLOMEW, J.W.; MITTWER, T. The Gram Stain. *Bacteriol. Rev.* **1952**, *16*, 1–29, doi:10.1128/br.16.1.1-29.1952.
27. Popescu, A.; Doyle, R.J. The Gram Stain after More than a Century. *Biotech. Histochem. Off. Publ. Biol. Stain Comm.* **1996**, *71*, 145–151, doi:10.3109/10520299609117151.
28. O'Toole, G.A. Classic Spotlight: How the Gram Stain Works. *J. Bacteriol.* **2016**, *198*, 3128–3128, doi:10.1128/JB.00726-16.
29. Tong, S.Y.C.; Davis, J.S.; Eichenberger, E.; Holland, T.L.; Fowler, V.G.J. Staphylococcus Aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Clin. Microbiol. Rev.* **2015**, *28*, 603–661, doi:10.1128/CMR.00134-14.
30. Sella, S.R.B.R.; Vandenberghe, L.P.S.; Soccol, C.R. Bacillus Atrophaeus: Main Characteristics and Biotechnological Applications - a Review. *Crit. Rev. Biotechnol.* **2015**, *35*, 533–545, doi:10.3109/07388551.2014.922915.
31. Kaper, J.B.; Nataro, J.P.; Mobley, H.L. Pathogenic Escherichia Coli. *Nat. Rev. Microbiol.* **2004**, *2*, 123–140, doi:10.1038/nrmicro818.
32. Cobo-Simón, M.; Hart, R.; Ochman, H. Escherichia Coli: What Is and Which Are? *Mol. Biol. Evol.* **2023**, *40*, doi:10.1093/molbev/msac273.
33. Palleroni, N.J. The Pseudomonas Story. *Environ. Microbiol.* **2010**, *12*, 1377–1383.
34. Ochońska, D.; Brzychczy-Włoch, M. Klebsiella Pneumoniae – Taxonomy, Occurrence, Identification, Virulence Factors and Pathogenicity . *Adv. Microbiol.* **2024**, *63*, 157–175, doi:10.2478/AM-2024-0014.
35. Gow, N.A.R.; Yadav, B. Microbe Profile: Candida Albicans: A Shape-Changing, Opportunistic Pathogenic Fungus of Humans. *Microbiology* **2017**, *163*, 1145–1147, doi:10.1099/mic.0.000499.
36. Noble, S.M.; Gianetti, B.A.; Witchley, J.N. Candida Albicans Cell-Type Switching and Functional Plasticity in the Mammalian Host. *Nat. Rev. Microbiol.* **2017**, *15*, 96–108, doi:10.1038/nrmicro.2016.157.

37. Elkhateeb, W.; Al-kolaibe, A.; Elnahas, M.; Daba, G. Highlights on Chaetomium Morphology, Secondary Metabolites and Biological Activates. *Pharm. Pharmacol. Res.* **2021**, *4*, 1–5, doi:10.31579/2693-7247/030.
38. Parapouli, M.; Vasileiadis, A.; Afendra, A.S.; Hatziloukas, E. Saccharomyces Cerevisiae and Its Industrial Applications. *AIMS Microbiol.* **2020**, *6*, 1, doi:10.3934/MICROBIOL.2020001.
39. Comparative Overview of Aspergillus Fumigatus, A. Flavus, and A. Niger: Pathogenicity, Resistance, and Public Health Significance. *J. Infect. Public Health* **2025**, 103070, doi:10.1016/J.JIPH.2025.103070.
40. McDonnell, G.; Russell, A.D. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* **1999**, *12*, 147–179, doi:10.1128/CMR.12.1.147.
41. Maillard, J.-Y.; Pascoe, M. Disinfectants and Antiseptics: Mechanisms of Action and Resistance. *Nat. Rev. Microbiol.* **2024**, *22*, 4–17, doi:10.1038/s41579-023-00958-3.
42. Turner, N.A.; Sharma-Kuinkel, B.K.; Maskarinec, S.A.; Eichenberger, E.M.; Shah, P.P.; Carugati, M.; Holland, T.L.; Fowler, V.G.J. Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus: An Overview of Basic and Clinical Research. *Nat. Rev. Microbiol.* **2019**, *17*, 203–218, doi:10.1038/s41579-018-0147-4.
43. Bustamante-Torres, M.; Arcentales-Vera, B.; Estrella-Nuñez, J.; Yáñez-Vega, H.; Bucio, E. Antimicrobial Activity of Composites-Based on Biopolymers. *Macromol* **2022**, *2*, 258–283, doi:10.3390/macromol2030018.
44. El-Shafei, A.; Fouda, M.; Knittel, D.; Schollmeyer, E. Antibacterial Activity of Cationically Modified Cotton Fabric with Carboxymethyl Chitosan. *J. Appl. Polym. Sci.* **2008**, *110*, 1289–1296, doi:10.1002/app.28352.
45. Ladhari, N.; Baouab, M.; Ben Dekhil, A.; Bakhrouf, A.; Niquette, P. Antibacterial Activity of Quaternary Ammonium Salt Grafted Cotton. *J. Text. Inst.* **2007**, *98*, 209–218, doi:10.1080/00405000701464001.
46. Ringot, C.; Sol, V.; Barrière, M.; Saad, N.; Bressollier, P.; Granet, R.; Couleaud, P.; Frochot, C.; Krausz, P. Triazinyl Porphyrin-Based Photoactive Cotton Fabrics: Preparation, Characterization, and Antibacterial Activity. *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 1716–1723, doi:10.1021/bm200082d.
47. Cardoso, V.; Rittmeyer, T.; Correa, R.J.; Brêda, G.C.; Almeida, R.V.; Simões, G.; de França, B.M.; de Azevedo, P.N.; Bello Forero, J.S. Photoactive Cotton Fabric: Synthesis, Characterization and Antibacterial Evaluation of Anthraquinone-Based Dyes Linked to Cellulose. *Dye. Pigment.* **2019**, *161*, 16–23, doi:https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2018.09.029.
48. Cassano, R.; Trombino, S.; Ferrarelli, T.; Muzzalupo, R.; Tavano, L.; Picci, N. Synthesis and Antibacterial Activity Evaluation of a Novel Cotton Fiber (Gossypium Barbadense) Ampicillin Derivative. *Carbohydr. Polym.* **2009**, *78*, 639–641, doi:https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.05.030.
49. Kumar, N.M.; Thilagavathi, G. Antibacterial Finishing of Cotton and Silk Fabrics Using Triclosan. *Asian Dye.* **2013**, *10*, 57–59.
50. Dhiman, G.; Chakraborty, J.N. Antimicrobial Performance of Cotton Finished with Triclosan, Silver and Chitosan. *Fash. Text.* **2015**, *2*, 13, doi:10.1186/s40691-015-0040-y.
51. Sun, G.; Xu, X.; Bickett, J.R.; Williams, J.F. Durable and Regenerable Antibacterial Finishing of Fabrics with a New Hydantoin Derivative. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2001**, *40*, 1016–1021, doi:10.1021/IE000657T.
52. Braun, M.; Sun, Y. Antimicrobial Polymers Containing Melamine Derivatives. I. Preparation

- and Characterization of Chloromelamine-Based Cellulose. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2004**, *42*, 3818–3827, doi:10.1002/POLA.20270.
53. Gaffer, H.E.; Gouda, M.; Abdel-Latif, E. Antibacterial Activity of Cotton Fabrics Treated with Sulfadimidine Azo Dye/Chitosan Colloid. *J. Ind. Text.* **2013**, *42*, 392–399, doi:10.1177/1528083712441959.
 54. Sagheer, S.; Jabbar, A.; Pervez, M.K.; Rani, K.; Ambreen; Riaz, S. Sulfonamide Based Antimicrobial Reactive Dyes: A Study of Their Synthesis, Fastness and Antimicrobial Activity. *J. Mol. Struct.* **2022**, *1250*, 131837, doi:https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131837.
 55. Liu, M.; Zhang, X.; Chu, S.; Ge, Y.; Huang, T.; Liu, Y.; Yu, L. Selenization of Cotton Products with NaHSe Endowing the Antibacterial Activities. *Chinese Chem. Lett.* **2022**, *33*, 205–208, doi:https://doi.org/10.1016/j.ccl.2021.05.061.
 56. Mirza, K.; Naaz, F.; Ahmad, T.; Manzoor, N.; Sardar, M. Development of Cost-Effective, Ecofriendly Selenium Nanoparticle-Functionalized Cotton Fabric for Antimicrobial and Antibiofilm Activity. *Fermentation* **2023**, *9*, doi:10.3390/fermentation9010018.
 57. SCOPUS 2025. 2032 Documenty Znalezienie Dla Antibacterial+Activity+of+Transition+Metals. Dostępne Online:
 58. Ericsson, B.H.; G., T.; and Wickman, K. The Paper Disc Method for Determination of Bacterial Sensitivity to Antibiotics: Relationship Between the Diameter of the Zone of Inhibition and the Minimum Inhibitory Concentration. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **1960**, *12*, 414–422, doi:10.3109/00365516009065406.
 59. Gavaille, A.; Bardy, B.; Andremon, A. Measurement of Inhibition Zone Diameter in Disk Susceptibility Tests by Computerized Image Analysis. *Comput. Biol. Med.* **1994**, *24*, 179–188, doi:https://doi.org/10.1016/0010-4825(94)90014-0.
 60. Hudzicki, J. (2009) Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American Society for Microbiology. - References - Scientific Research Publishing.
 61. Andrews, J.M. Determination of Minimum Inhibitory Concentrations. *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**, *48*, 5–16, doi:10.1093/jac/48.suppl_1.5.
 62. Wiegand, I.; Hilpert, K.; Hancock, R.E.W. Agar and Broth Dilution Methods to Determine the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobial Substances. *Nat. Protoc.* **2008**, *3*, 163–175, doi:10.1038/nprot.2007.521.
 63. Kowalska-Krochmal, B.; Dudek-Wicher, R. The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens* **2021**, *10*, doi:10.3390/pathogens10020165.
 64. Kadeřábková, N.; Mahmood, A.J.S.; Mavridou, D.A.I. Antibiotic Susceptibility Testing Using Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Assays. *npj Antimicrob. Resist.* **2024**, *2*, 37, doi:10.1038/s44259-024-00051-6.
 65. Mrozińska, Z.; Ponczek, M.; Kaczmarek, A.; Boguń, M.; Sulak, E.; Kudzin, M.H. Blood Coagulation Activities of Cotton–Alginate–Copper Composites. *Mar. Drugs* **2023**, *Vol. 21*, Page 625 **2023**, *21*, 625, doi:10.3390/MD21120625.
 66. Mrozińska, Z.; Kudzin, M.H.; Ponczek, M.B.; Kaczmarek, A.; Król, P.; Lisiak-Kucińska, A.; Żyła, R.; Walawska, A. Biochemical Approach to Poly(Lactide)–Copper Composite—Impact on Blood Coagulation Processes. *Mater.* **2024**, *Vol. 17*, Page 608 **2024**, *17*, 608, doi:10.3390/MA17030608.
 67. Mrozińska, Z.; Ponczek, M.B.; Kaczmarek, A.; Świerczyńska, M.; Kudzin, M.H. Activity in the Field of Blood Coagulation Processes of Poly(Lactide)-Zinc Fiber Composite Material Obtained

- by Magnetron Sputtering. *Coatings* **2024**, *Vol. 14*, Page 666 **2024**, *14*, 666, doi:10.3390/COATINGS14060666.
68. Mrozińska, Z.; Kaczmarek, A.; Świerczyńska, M.; Juszcak, M.; Kudzin, M.H. Biochemical Behavior, Influence on Cell DNA Condition, and Microbiological Properties of Wool and Wool–Copper Materials. *Materials (Basel)*. **2024**, *17*, 2878, doi:10.3390/ma17122878.
 69. Mrozińska, Z.; Świerczyńska, M.; Juszcak, M.; Woźniak, K.; Kudzin, M.H. Poly(Lactide) Nonwoven Fabric with Iron Coating and Its Biological Properties. *Coatings* **2024**, *Vol. 14*, Page 1050 **2024**, *14*, 1050, doi:10.3390/COATINGS14081050.
 70. Mrozińska, Z.; Świerczyńska, M.; Juszcak, M.; Woźniak, K.; Kudzin, M.H. Evaluation of Antimicrobial Activity, Hemostatic Efficacy, Blood Coagulation Dynamics, and DNA Damage of Linen–Copper Composite Materials. *J. Compos. Sci.* **2025**, *9*, doi:10.3390/jcs9010030.
 71. Kudzin, M.H.; Mrozińska, Z.; Kaczmarek, A.; Chruściel, J.J.; Pinar, A.; Sulak, E.; Ali, S.; Shah, R.; Juszcak, M.; Woźniak, K.; et al. Development of Iron-Modified Cotton Material: Surface Characterization, Biochemical Activity, and Cytotoxicity Assessment. **2025**, *15*, 663.
 72. Kudzin, M.H.; Mrozińska, Z.; Kaczmarek, A.; Chruściel, J.J.C.; Gloc, M.; Zylla, R. Preparation and Biochemical and Microbial Behavior of Poly(Lactide) Composites with Polyethersulfone and Copper-Complexed Cellulose Phosphate. *Mater.* **2025**, *Vol. 18*, Page 2954 **2025**, *18*, 2954, doi:10.3390/MA18132954.
 73. Granados, A.; Pleixats, R.; Vallribera, A. Recent Advances on Antimicrobial and Anti-Inflammatory Cotton Fabrics Containing Nanostructures. *Molecules* **2021**, *26*, doi:10.3390/molecules26103008.
 74. Shahriari-Khalaji, M.; Alassod, A.; Nozhat, Z. Cotton-Based Health Care Textile: A Mini Review. *Polym. Bull.* **2022**, *79*, 10409–10432, doi:10.1007/s00289-021-04015-y.
 75. Hegde, V.; Uthappa, U.T.; Altalhi, T.; Jung, H.-Y.; Han, S.S.; Kurkuri, M.D. Alginate Based Polymeric Systems for Drug Delivery, Antibacterial/Microbial, and Wound Dressing Applications. *Mater. Today Commun.* **2022**, *33*, 104813, doi:https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2022.104813.
 76. He, Q.; Tong, T.; Yu, C.; Wang, Q. Advances in Algin and Alginate-Hybrid Materials for Drug Delivery and Tissue Engineering. *Mar. Drugs* **2023**, *21*, 14, doi:10.3390/md21010014.
 77. Xie, Y.; Gao, P.; He, F.; Zhang, C. Application of Alginate-Based Hydrogels in Hemostasis. *Gels* **2022**, *8*, doi:10.3390/gels8020109.
 78. Hurtado, A.; Aljabali, A.A.A.; Mishra, V.; Tambuwala, M.M.; Serrano-Aroca, Á. Alginate: Enhancement Strategies for Advanced Applications. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *Vol. 23*, Page 4486 **2022**, *23*, 4486, doi:10.3390/IJMS23094486.
 79. Varaprasad, K.; Jayaramudu, T.; Kanikireddy, V.; Toro, C.; Sadiku, E.R. Alginate-Based Composite Materials for Wound Dressing Application: A Mini Review. *Carbohydr. Polym.* **2020**, *236*, doi:10.1016/j.CARBPOL.2020.116025.
 80. Ahmad Raus, R.; Wan Nawawi, W.M.F.; Nasaruddin, R.R. Alginate and Alginate Composites for Biomedical Applications. *Asian J. Pharm. Sci.* **2021**, *16*, 280–306, doi:10.1016/J.AJPS.2020.10.001.
 81. Sahoo, D.R.; Biswal, T. Alginate and Its Application to Tissue Engineering. *SN Appl. Sci.* **2021**, *3*, 1–19, doi:10.1007/S42452-020-04096-W/FIGURES/1.
 82. Li, J.; He, J.; Huang, Y. Role of Alginate in Antibacterial Finishing of Textiles. *Int. J. Biol. Macromol.* **2017**, *94*, 466–473, doi:10.1016/J.IJBIOMAC.2016.10.054.
 83. Zhang, H.; Cheng, J.; Ao, Q. Preparation of Alginate-Based Biomaterials and Their

- Applications in Biomedicine. *Mar. Drugs* **2021**, *19*, doi:10.3390/MD19050264.
84. Zhang, M.; Zhao, X. Alginate Hydrogel Dressings for Advanced Wound Management. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *162*, 1414–1428, doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.311.
 85. Garcia, T. de F.; Silva, P.G.A.; Barcelos, B.J.; de Miranda, M.D.G.R.; Alonso, C. da S.; Abreu, M.N.S.; Borges, E.L. Criteria to Evaluate the Quality of Alginate Wound Dressings. *Rev. Bras. Enferm.* **2021**, *74*, doi:10.1590/0034-7167-2020-1091.
 86. Barbu, A.; Neamtu, B.; Zăhan, M.; Iancu, G.M.; Bacila, C.; Mireșan, V. Current Trends in Advanced Alginate-Based Wound Dressings for Chronic Wounds. *J. Pers. Med.* **2021**, *11*, doi:10.3390/JPM11090890.
 87. Aderibigbe, B.A.; Buyana, B. Alginate in Wound Dressings. *Pharmaceutics* **2018**, *10*, doi:10.3390/pharmaceutics10020042.
 88. Soleimanpour, M.; Mirhaji, S.S.; Jafari, S.; Derakhshankhah, H.; Mamashli, F.; Nedaei, H.; Karimi, M.R.; Motasadizadeh, H.; Fatahi, Y.; Ghasemi, A.; et al. Designing a New Alginate-Fibrinogen Biomaterial Composite Hydrogel for Wound Healing. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, doi:10.1038/S41598-022-11282-W.
 89. Essa, E.A.; Elebyary, T.T.; Abdelquader, M.M.; El Maghraby, G.M.; Elkordy, A.A. Smart Liquids for Oral Controlled Drug Release: An Overview of Alginate and Non-Alginate Based Systems. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2021**, *61*, 102211, doi:10.1016/J.JDDST.2020.102211.
 90. Zdiri, K.; Cayla, A.; Elamri, A.; Erard, A.; Salaun, F. Alginate-Based Bio-Composites and Their Potential Applications. *J. Funct. Biomater.* **2022**, Vol. 13, Page 117 **2022**, *13*, 117, doi:10.3390/JFB13030117.
 91. Pino, P.; Bosco, F.; Mollea, C.; Onida, B. Antimicrobial Nano-Zinc Oxide Biocomposites for Wound Healing Applications: A Review. *Pharmaceutics* **2023**, *15*, 970, doi:10.3390/PHARMACEUTICS15030970.
 92. Wilmer, C.E.; Leaf, M.; Lee, C.Y.; Farha, O.K.; Hauser, B.G.; Hupp, J.T.; Snurr, R.Q. Large-Scale Screening of Hypothetical Metal–Organic Frameworks. *Nat. Chem.* **2011**, *4*, 83–89, doi:10.1038/nchem.1192.
 93. De Lange, M.F.; Lin, L.C.; Gascon, J.; Vlugt, T.J.H.; Kapteijn, F. Assessing the Surface Area of Porous Solids: Limitations, Probe Molecules, and Methods. *Langmuir* **2016**, *32*, 12664–12675, doi:10.1021/ACS.LANGMUIR.6B03531/SUPPL_FILE/LA6B03531_SI_001.PDF.
 94. Brunauer, S.; Emmett, P.H.; Teller, E. Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *60*, 309–319, doi:10.1021/ja01269a023.
 95. Swenson, H.; Stadie, N.P. Langmuir's Theory of Adsorption: A Centennial Review. *Langmuir* **2019**, *35*, 5409–5426, doi:10.1021/ACS.LANGMUIR.9B00154.
 96. Sinha, P.; Datar, A.; Jeong, C.; Deng, X.; Chung, Y.G.; Lin, L.C. Surface Area Determination of Porous Materials Using the Brunauer-Emmett-Teller (BET) Method: Limitations and Improvements. *J. Phys. Chem. C* **2019**, *123*, 20195–20209, doi:10.1021/ACS.JPCC.9B02116/SUPPL_FILE/JP9B02116_SI_003.PDF.
 97. Levy, S.B.; Bonnie, M. Antibacterial Resistance Worldwide: Causes, Challenges and Responses. *Nat. Med.* **2004**, *10*, S122–S129, doi:10.1038/NM1145.
 98. PN-EN ISO 9237:1998 Tekstylia -- Wyznaczanie Przepuszczalności Powietrza Wyrobów Włókienniczych;
 99. PN-EN ISO 10319:2015-08 Geosyntetyki - Badanie Wytrzymałości Na Rozciąganie Metodą Szerokich Próbek.;

100. PN-EN ISO 20645:2006 *Płaskie Wyroby Włókiennicze - Wyznaczanie Aktywności Antybakteryjnej -- Metoda Dyfuzji Na Płytkę z Agarem*;
101. PN-EN 14119:2005 *Badania Tekstyliów -- Ocena Działania Mikrogrzybów – Metoda Wizualna*;
102. Badaraev, A.D.; Nemoykina, A.L.; Bolbasov, E.N.; Tverdokhlebov, S.I. PLLA Scaffold Modification Using Magnetron Sputtering of the Copper Target to Provide Antibacterial Properties. *Resour. Technol.* **2017**, *3*, 204–211, doi:10.1016/J.REFFIT.2017.05.004.
103. Wei, Q.; Yu, L.; Hou, D.; Huang, F. Surface Characterization and Properties of Functionalized Nonwoven. *J. Appl. Polym. Sci.* **2008**, *107*, 132–137, doi:10.1002/APP.26940.
104. Shahidi, S.; Ghoranneviss, M.; Moazzenchi, B.; Rashidi, A.; Mirjalili, M. Investigation of Antibacterial Activity on Cotton Fabrics with Cold Plasma in the Presence of a Magnetic Field. *Plasma Process. Polym.* **2007**, *4*, S1098–S1103, doi:10.1002/PPAP.200732412.
105. Liu, J.; Shi, R.; Hua, Y.; Gao, J.; Chen, Q.; Xu, L. A New Cyanoacrylate-Poly(Lactic Acid)-Based System for a Wound Dressing with on-Demand Removal. *Mater. Lett.* **2021**, *293*, 129666, doi:10.1016/J.MATLET.2021.129666.
106. Mattox, D.M. Handbook of Physical Vapor Deposition (PVD) Processing. *Handb. Phys. Vap. Depos. Process.* **2010**.
107. Kelly, P.J.; Arnell, R.D. Magnetron Sputtering: A Review of Recent Developments and Applications. *Vacuum* **2000**, *56*, 159–172, doi:10.1016/S0042-207X(99)00189-X.
108. Morent, R.; De Geyter, N.; Verschuren, J.; De Clerck, K.; Kiekens, P.; Leys, C. Non-Thermal Plasma Treatment of Textiles. *Surf. Coatings Technol.* **2008**, *202*, 3427–3449, doi:10.1016/J.SURFCOAT.2007.12.027.
109. Levchenko, I.; Xu, S.; Baranov, O.; Bazaka, O.; Ivanova, E.P.; Bazaka, K. Plasma and Polymers: Recent Progress and Trends. *Mol. 2021, Vol. 26, Page 4091* **2021**, *26*, 4091, doi:10.3390/MOLECULES26134091.
110. Melentiev, R.; Yudhanto, A.; Tao, R.; Vuchkov, T.; Lubineau, G. Metallization of Polymers and Composites: State-of-the-Art Approaches. *Mater. Des.* **2022**, *221*, 110958, doi:10.1016/J.MATDES.2022.110958.
111. Durrant, P.J. and D.B. Durrant, P.J. and Durrant, B. (1962) Introduction to Advanced Inorganic Chemistry. Wiley, New York, 151-152. - References - Scientific Research Publishing.
112. Santo, C.E.; Quaranta, D.; Grass, G. Antimicrobial Metallic Copper Surfaces Kill *Staphylococcus Haemolyticus* via Membrane Damage. *Microbiologyopen* **2012**, *1*, 46–52, doi:10.1002/MBO3.2.
113. Warnes, S.L.; Caves, V.; Keevil, C.W. Mechanism of Copper Surface Toxicity in *Escherichia Coli* O157:H7 and *Salmonella* Involves Immediate Membrane Depolarization Followed by Slower Rate of DNA Destruction Which Differs from That Observed for Gram-Positive Bacteria. *Environ. Microbiol.* **2012**, *14*, 1730–1743, doi:10.1111/J.1462-2920.2011.02677.X.
114. Warnes, S.L.; Green, S.M.; Michels, H.T.; Keevil, C.W. Biocidal Efficacy of Copper Alloys against Pathogenic Enterococci Involves Degradation of Genomic and Plasmid DNAs. *Appl. Environ. Microbiol.* **2010**, *76*, 5390–5401, doi:10.1128/AEM.03050-09/ASSET/21FCC2D9-5149-4405-8BCF-FAF905FADA59/ASSETS/GRAPHIC/ZAM9991012510008.JPEG.
115. Weaver, L.; Noyce, J.O.; Michels, H.T.; Keevil, C.W. Potential Action of Copper Surfaces on Meticillin-resistant *Staphylococcus Aureus*. *J. Appl. Microbiol.* **2010**, *109*, 2200–2205, doi:10.1111/J.1365-2672.2010.04852.X.
116. Mathews, S.; Hans, M.; Mücklich, F.; Solioz, M. Contact Killing of Bacteria on Copper Is Suppressed If Bacterial-Metal Contact Is Prevented and Is Induced on Iron by Copper Ions.

- Appl. Environ. Microbiol.* **2013**, 79, 2605–2611, doi:10.1128/AEM.03608-12/ASSET/7A618D3B-F39A-402E-964B-DD34340684BB/ASSETS/GRAPHIC/ZAM9991043000006.JPEG.
117. Kudzin, M.H.; Kaczmarek, A.; Mrozińska, Z.; Olczyk, J. Deposition of Copper on Polyester Knitwear Fibers by a Magnetron Sputtering System. Physical Properties and Evaluation of Antimicrobial Response of New Multi-Functional Composite Materials. *Appl. Sci.* **2020**, Vol. 10, Page 6990 **2020**, 10, 6990, doi:10.3390/APP10196990.
 118. Kudzin, M.H.; Mrozińska, Z.; Kaczmarek, A.; Lisiak-Kucińska, A. Deposition of Copper on Poly(Lactide) Non-Woven Fabrics by Magnetron Sputtering — Fabrication of New Multi-Functional, Antimicrobial Composite Materials. *Mater.* **2020**, Vol. 13, Page 3971 **2020**, 13, 3971, doi:10.3390/MA13183971.
 119. Kudzin, M.H.; Boguń, M.; Mrozińska, Z.; Kaczmarek, A. Physical Properties, Chemical Analysis, and Evaluation of Antimicrobial Response of New Polylactide/Alginate/Copper Composite Materials. *Mar. Drugs* **2020**, Vol. 18, Page 660 **2020**, 18, 660, doi:10.3390/MD18120660.
 120. Kudzin, M.H.; Giełdowska, M.; Mrozińska, Z.; Boguń, M. Poly(Lactic Acid)/Zinc/Alginate Complex Material: Preparation and Antimicrobial Properties. *Antibiot.* **2021**, Vol. 10, Page 1327 **2021**, 10, 1327, doi:10.3390/ANTIBIOTICS10111327.
 121. Scopus Base. 5897 Document Results on Zinc Reactivity. Available Online: <https://www-1scopus-1com1000014gw0004.Han.p.Lodz.Pl/Results/Results.Uri?Sort=plf-F&src=s&st1=ZINC+REACTIVITY&sid=db823368cc0731ddd5c45db4310e3aef&sot=b&sdt=b&sl=30&s=TITLE-ABS-KEY%28>.
 122. BERTOCCI, U.; WAGMAN, D.D. *COPPER, SILVER, AND GOLD, CHAPTER 11 FROM STANDARD POTENTIALS IN AQUEOUS SOLUTION*; 1985; ISBN 978-0-203-73876-4.
 123. Allen, S.E.; Walvoord, R.R.; Padilla-Salinas, R.; Kozłowski, M.C. Aerobic Copper-Catalyzed Organic Reactions. *Chem. Rev.* **2013**, 113, 6234–6458, doi:10.1021/cr300527g.
 124. de Sousa, P.V.F.; de Oliveira, A.F.; da Silva, A.A.; Lopes, R.P. Environmental Remediation Processes by Zero Valence Copper: Reaction Mechanisms. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2019**, 26, 14883–14903, doi:10.1007/S11356-019-04989-3.
 125. Barlow, S.M.; Kitching, K.J.; Haq, S.; Richardson, N. V. A Study of Glycine Adsorption on a Cu{110} Surface Using Reflection Absorption Infrared Spectroscopy. *Surf. Sci.* **1998**, 401, 322–335, doi:10.1016/S0039-6028(97)01086-8.
 126. Booth, N.A.; Woodruff, D.P.; Schaff, O.; Giebel, T.; Lindsay, R.; Baumgärtel, P.; Bradshaw, A.M. Determination of the Local Structure of Glycine Adsorbed on Cu(110). *Surf. Sci.* **1998**, 397, 258–269, doi:10.1016/S0039-6028(97)00742-5.
 127. Hasselström, J.; Karis, O.; Weinelt, M.; Wassdahl, N.; Nilsson, A.; Nyberg, M.; Pettersson, L.G.M.; Samant, M.G.; Stöhr, J. The Adsorption Structure of Glycine Adsorbed on Cu(110); Comparison with Formate and AcetateCu(110). *Surf. Sci.* **1998**, 407, 221–236, doi:10.1016/S0039-6028(98)00190-3.
 128. Totani, R.; Méthivier, C.; Cruguel, H.; Pradier, C.M.; Humblot, V. Deciphering the Adsorption Mechanisms of RGD Subunits: L -Aspartic Acid on Cu(110). *J. Phys. Chem. C* **2017**, 121, 15842–15850, doi:10.1021/ACS.JPCC.7B04948/SUPPL_FILE/JP7B04948_SI_001.PDF.
 129. Cramer, L.A.; Larson, A.; Daniels, A.S.; Sykes, E.C.H.; Gellman, A.J. Molecular Origins of Chiral Amplification on an Achiral Surface: 2D Monolayers of Aspartic Acid on Cu(111). *ACS Nano* **2023**, 17, 5799–5807, doi:10.1021/ACS.NANO.2C12312/ASSET/IMAGES/LARGE/NN2C12312_0006.JPEG.
 130. Kim, J.W.; Lee, Y.M.; Lee, S.M.; Son, M.J.; Kang, H.; Park, Y. Surface Reaction of Sulfur-Containing Amino Acids on Cu(110). *Langmuir* **2010**, 26, 5632–5636,

doi:10.1021/LA904496J/ASSET/IMAGES/MEDIUM/LA-2009-04496J_0007.GIF.

131. Kumar, D.; Jain, N.; Jain, V.; Rai, B. Amino Acids as Copper Corrosion Inhibitors: A Density Functional Theory Approach. *Appl. Surf. Sci.* **2020**, *514*, 145905, doi:10.1016/J.APSUSC.2020.145905.
132. Wang, C.; Luo, X.; Jia, Z. Linkage, Charge State and Layer of L-Cysteine on Copper Surfaces. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2017**, *160*, 33–39, doi:10.1016/J.COLSURFB.2017.09.015.
133. Rodríguez-Zamora, P.; Cordero-Silis, C.A.; Fabila, J.; Luque-Ceballos, J.C.; Buendía, F.; Heredia-Barbero, A.; Garzón, I.L. Interaction Mechanisms and Interface Configuration of Cysteine Adsorbed on Gold, Silver, and Copper Nanoparticles. *Langmuir* **2022**, *38*, 5418–5427, doi:10.1021/ACS.LANGMUIR.1C03298.
134. Marti, E.M.; Methivier, C.; Dubot, P.; Pradier, C.M. Adsorption of (S)-Histidine on Cu(110) and Oxygen-Covered Cu(110), a Combined Fourier Transform Reflection Absorption Infrared Spectroscopy and Force Field Calculation Study. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 10785–10792, doi:10.1021/JP035355U.
135. Bouri, M.; Lekka, C. L-Glutamine Coating on Antibacterial Cu Surface by Density Functional Theory. *Cryst. 2023, Vol. 13, Page 1698* **2023**, *13*, 1698, doi:10.3390/CRYST13121698.
136. Carravetta, V.; Monti, S.; Li, C.; Ågren, H. Theoretical Simulations of Structure and X-Ray Photoelectron Spectra of Glycine and Diglycine Adsorbed on Cu(110). *Langmuir* **2013**, *29*, 10194–10204, doi:10.1021/LA401746D.
137. Zhao, X.; Zhao, R.G.; Yang, W.S. Scanning Tunneling Microscopy Investigation of L-Lysine Adsorbed on Cu(001). *Langmuir* **2000**, *16*, 9812–9818, doi:10.1021/LA000378A.
138. Humblot, V.; Méthivier, C.; Raval, R.; Pradier, C.M. Amino Acid and Peptides on Cu(1 1 0) Surfaces: Chemical and Structural Analyses of L-Lysine. *Surf. Sci.* **2007**, *601*, 4189–4194, doi:10.1016/J.SUSC.2007.04.170.
139. Tielens, F.; Humblot, V.; Pradier, C.M. Elucidation of the Low Coverage Chiral Adsorption Assembly of L-Lysine on Cu(1 1 0) Surface: A Theoretical Study. *Surf. Sci.* **2008**, *602*, 1032–1039, doi:10.1016/J.SUSC.2007.12.033.
140. Eralp, T.; Shavorskiy, A.; Held, G. The Adsorption Geometry and Chemical State of Lysine on Cu{110}. *Surf. Sci.* **2011**, *605*, 468–472, doi:10.1016/J.SUSC.2010.12.001.
141. Méthivier, C.; Humblot, V.; Pradier, C.M. L-Methionine Adsorption on Cu(110), Binding and Geometry of the Amino Acid as a Function of Coverage. *Surf. Sci.* **2015**, *632*, 88–92, doi:10.1016/J.SUSC.2014.09.007.
142. Ghiringhelli, L.M.; Delle Site, L. Phenylalanine near Inorganic Surfaces: Conformational Statistics vs Specific Chemistry. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2634–2638, doi:10.1021/JA077817D/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JA077817DN00001.GIF.
143. Eralp, T.; Shavorskiy, A.; Zheleva, Z. V.; Held, G.; Kalashnyk, N.; Ning, Y.; Linderöth, T.R. Global and Local Expression of Chirality in Serine on the Cu{110} Surface. *Langmuir* **2010**, *26*, 18841–18851, doi:10.1021/LA1036772.
144. Eralp, T.; Ievins, A.; Shavorskiy, A.; Jenkins, S.J.; Held, G. The Importance of Attractive Three-Point Interaction in Enantioselective Surface Chemistry: Stereospecific Adsorption of Serine on the Intrinsically Chiral Cu{531} Surface. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 9615–9621, doi:10.1021/JA210499M.
145. Lee, H.; Kim, H.S. Confirmation of Initial Stable Adsorption Structures of Leucine and Tyrosine Adsorbed on a Cu(110) Surface. *Appl. Sci. 2020, Vol. 10, Page 1284* **2020**, *10*, 1284, doi:10.3390/APP10041284.

146. Zhao, X.; Zhao, R.G.; Yang, W.S. Self-Assembly of L-Tryptophan on the Cu(001) Surface. *Langmuir* **2002**, *18*, 433–438, doi:10.1021/la010542+.
147. Wang, D.; Xu, Q.M.; Wan, L.J.; Bai, C.L.; Jin, G. Adsorption of Enantiomeric and Racemic Tyrosine on Cu(111): A Scanning Tunneling Microscopy Study. *Langmuir* **2003**, *19*, 1958–1962, doi:10.1021/LA026821U.
148. Zhao, X.; Wang, H.; Zhao, R.G.; Yang, W.S. Self-Assembly of Amino Acids on the Cu(001) Surface. *Mater. Sci. Eng. C* **2001**, *16*, 41–50, doi:10.1016/S0928-4931(01)00276-4.
149. Feyer, V.; Plekan, O.; Tsud, N.; Lyamayev, V.; Cháb, V.; Matolín, V.; Prince, K.C.; Carravetta, V. Adsorption Structure of Glycyl-Glycine on Cu(110). *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 10922–10931, doi:10.1021/JP102922G/SUPPL_FILE/JP102922G_SI_001.PDF.
150. Monti, S.; Carravetta, V.; Li, C.; Ågren, H. A Computational Study of the Adsorption and Reactive Dynamics of Diglycine on Cu(110). *J. Phys. Chem. C* **2014**, *118*, 3610–3619, doi:10.1021/JP411191N/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JP-2013-11191N_0013.GIF.
151. Methivier, C.; Humblot, V.; Pradier, C.M. UHV Deposition of the Gly-pro Dipeptide on Cu(110) by Sublimation or Electrospray Ionization. *J. Phys. Chem. C* **2016**, *120*, 27364–27368, doi:10.1021/ACS.JPCC.6B09173/SUPPL_FILE/JP6B09173_SI_001.PDF.
152. Stensgaard, I. Adsorption of Di-L-Alanine on Cu(110) Investigated with Scanning Tunneling Microscopy. *Surf. Sci.* **2003**, *545*, L747–L752, doi:10.1016/J.SUSC.2003.08.037.
153. Tomba, G.; Lingensfelder, M.; Costantini, G.; Kern, K.; Klappenberger, F.; Barth, J. V.; Ciacchi, L.C.; De Vita, A. Structure and Energetics of Diphenylalanine Self-Assembling on Cu(110). *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 12740–12748, doi:10.1021/JP076205C.
154. Mervinetsky, E.; Alshanski, I.; Hamo, Y.; Sandonas, L.M.; Dianat, A.; Buchwald, J.; Gutierrez, R.; Cuniberti, G.; Hurevich, M.; Yitzchaik, S. Copper Induced Conformational Changes of Tripeptide Monolayer Based Impedimetric Biosensor. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, doi:10.1038/S41598-017-10288-Z.
155. Gellini, C.; Sabatino, G.; Papini, A.M.; Muniz-Miranda, M. SERS Study of a Tetrapeptide Based on Histidine and Glycine Residues, Adsorbed on Copper/Silver Colloidal Nanoparticles. *J. Raman Spectrosc.* **2014**, *45*, 418–423, doi:10.1002/JRS.4484.
156. Mauri, E.; Sacchetti, A.; Rossi, F. The Synthesis of RGD-Functionalized Hydrogels as a Tool for Therapeutic Applications. *J. Vis. Exp.* **2016**, doi:10.3791/54445-V.
157. Méthivier, C.; Cornette, P.; Costa, D.; Landoulsi, J. Electrospray Ion Beam Deposition of Small Peptides on Solid Surfaces: A Molecular Level Description of the Glutathione/Copper Interface. *Appl. Surf. Sci.* **2023**, *612*, 155895, doi:10.1016/J.APSUSC.2022.155895.
158. Rankin, R.B.; Sholl, D.S. Structures of Glycine, Enantiopure Alanine, and Racemic Alanine Adlayers on Cu(110) and Cu(100) Surfaces. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 16764–16773, doi:10.1021/JP0535700.
159. Cheong, W.Y.; Huang, Y.; Dangaria, N.; Gellman, A.J. Probing Enantioselectivity on Chirally Modified Cu(110), Cu(100), and Cu(111) Surfaces. *Langmuir* **2010**, *26*, 16412–16423, doi:10.1021/LA102074A/ASSET/IMAGES/MEDIUM/LA-2010-02074A_0005.GIF.
160. Gladys, M.J.; Stevens, A. V.; Scott, N.R.; Jones, G.; Batchelor, D.; Held, G. Enantiospecific Adsorption of Alanine on the Chiral Cu{531} Surface. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 8331–8336, doi:10.1021/JP070621F.
161. Thomsen, L.; Wharmby, M.T.; Riley, D.P.; Held, G.; Gladys, M.J. The Adsorption and Stability of Sulfur Containing Amino Acids on Cu{5 3 1}. *Surf. Sci.* **2009**, *603*, 1253–1261, doi:10.1016/J.SUSC.2009.03.014.

162. Ge, S.P.; Lü, C.; Zhao, R.G.; Chen, Q. Scanning Tunneling Microscopy Investigation of Leucine and Asparagine Adsorbed on Cu(1 1 1). *Appl. Surf. Sci.* **2006**, *253*, 2456–2459, doi:10.1016/J.APSUSC.2006.04.061.
163. Karagoz, B.; Reinicker, A.; Gellman, A.J. Kinetics and Mechanism of Aspartic Acid Adsorption and Its Explosive Decomposition on Cu(100). *Langmuir* **2019**, *35*, 2925–2933, doi:10.1021/acs.langmuir.8b03482.
164. Paul, S.; Hewitt, A.; Rana, S.; Goswami, P. Development of Novel Parameters for Characterising Scale Morphology of Wool Fibre and Its Correlation with Dye Diffusion Coefficient of Acid Dye. *Sci. Reports* **2023**, *13*, 1–13, doi:10.1038/s41598-023-45689-w.
165. Rezvani Ghomi, E.; Khalili, S.; Nouri Khorasani, S.; Esmaeely Neisiany, R.; Ramakrishna, S. Wound Dressings: Current Advances and Future Directions. *J. Appl. Polym. Sci.* **2019**, *136*, 47738, doi:10.1002/APP.47738;SUBPAGE:STRING:FULL.
166. Essaket, M.; Wazna, M. El; Boukhriss, A.; Essaket, I.; Bouari, A. El; Cherkaoui, O.; Maliki, A. El A Comparative Study and Thermophysical Characterization of Wool Fiber from Different Regions of Morocco. *Biomass Convers. Biorefinery* **2024**, *14*, 17941–17953, doi:10.1007/S13399-023-03988-2/FIGURES/12.
167. Kim, Y.J.; Kang, I.K.; Huh, M.W.; Yoon, S.C. Surface Characterization and in Vitro Blood Compatibility of Poly(Ethylene Terephthalate) Immobilized with Insulin and/or Heparin Using Plasma Glow Discharge. *Biomaterials* **2000**, *21*, 121–130, doi:10.1016/S0142-9612(99)00137-4.
168. Kang, I.K.; Kwon, O.H.; Kim, M.K.; Lee, Y.M.; Sung, Y.K. In Vitro Blood Compatibility of Functional Group-Grafted and Heparin-Immobilized Polyurethanes Prepared by Plasma Glow Discharge. *Biomaterials* **1997**, *18*, 1099–1107, doi:10.1016/S0142-9612(97)00035-5.
169. Winter, W.E.; Flax, S.D.; Harris, N.S. Coagulation Testing in the Core Laboratory. *Lab. Med.* **2017**, *48*, 295–313, doi:10.1093/LABMED/LMX050.
170. Valko, M.; Rhodes, C.J.; Moncol, J.; Izakovic, M.; Mazur, M. Free Radicals, Metals and Antioxidants in Oxidative Stress-Induced Cancer. *Chem. Biol. Interact.* **2006**, *160*, 1–40, doi:10.1016/j.cbi.2005.12.009.
171. Whitaker, A.M.; Schaich, M.A.; Smith, M.S.; Flynn, T.S.; Freudenthal, B.D. Base Excision Repair of Oxidative DNA Damage: From Mechanism to Disease. *Front. Biosci. - Landmark* **2017**, *22*, 1493–1522, doi:10.2741/4555/PDF.
172. Yu, J.; Tian, H.; Wang, Z.; Tan, Z.; Pan, H.; Zhao, Y.; Zhang, H.; Bian, J. Effect of Molecular Weight on the Properties and Structure of Biodegradable Poly-Lactic Acid Melt-Blown Nonwovens. *J. Polym. Res.* **2023**, doi:10.21203/RS.3.RS-3357428/V1.
173. Makowski, T.; Svyntkivska, M.; Piorkowska, E.; Kregiel, D. Multifunctional Polylactide Nonwovens with 3D Network of Multiwall Carbon Nanotubes. *Appl. Surf. Sci.* **2020**, *527*, 146898, doi:10.1016/J.APSUSC.2020.146898.
174. Toyama, T.; Kobayashi, M.; Rubiy'atno; Morikawa, M.; Mori, K. Sulfamethoxazole Removal and Fuel-Feedstock Biomass Production from Wastewater in a Phyto-Fenton Process Using Duckweed Culture. *Chemosphere* **2024**, *361*, 142592, doi:10.1016/J.CHEMOSPHERE.2024.142592.
175. Fernando, P.D.S.M.; Ko, D.O.; Piao, M.J.; Kang, K.A.; Herath, H.M.U.L.; Hyun, J.W. Protective Effect of Luteolin against Oxidative Stress-mediated Cell Injury via Enhancing Antioxidant Systems. *Mol. Med. Rep.* **2024**, *30*, 1–10, doi:10.3892/MMR.2024.13244/HTML.
176. Huang, Y.; Liu, H.; Zhao, Y.; Chen, H.; Li, Q.; Li, X.; Hua, S.; Cao, D.; Chang, Y. Disrupting Redox Homeostasis for Tumor Therapy Based on PDT/Chemo/Ferroptosis Therapeutic Hybrid Liposomes. *RSC Adv.* **2024**, *14*, 20152–20162, doi:10.1039/D4RA03361B.

177. Kudzin, M.H.; Mrozińska, Z.; Walawska, A.; Sójka-Ledakowicz, J. Biofunctionalization of Textile Materials.1. Biofunctionalization of Poly(Propylene) (PP) Nonwovens Fabrics by Alafosfalin. *Coatings* 2019, Vol. 9, Page 412 **2019**, 9, 412, doi:10.3390/COATINGS9070412.
178. Kudzin, M.H.; Mrozińska, Z. Biofunctionalization of Textile Materials. 2. Antimicrobial Modification of Poly(Lactide) (PLA) Nonwoven Fabricsby Fosfomycin. *Polym.* 2020, Vol. 12, Page 768 **2020**, 12, 768, doi:10.3390/POLYM12040768.
179. Kudzin, M.H.; Mrozińska, Z. Biofunctionalization of Textile Materials. 3. Fabrication of Poly(Lactide)-Potassium Iodide Composites with Antifungal Properties. *Coatings* 2020, Vol. 10, Page 593 **2020**, 10, 593, doi:10.3390/COATINGS10060593.
180. Kudzin, M.H.; Giełdowska, M.; Król, P.; Sobańska, Z. Preparation of Cotton–Zinc Composites by Magnetron Sputtering Metallization and Evaluation of Their Antimicrobial Properties and Cytotoxicity. *Mater.* 2022, Vol. 15, Page 2746 **2022**, 15, 2746, doi:10.3390/MA15082746.
181. Gębarowski, T.; Jęskowiak, I.; Wiatrak, B.; Perioli, L.; Pagano, C.; G. Ebarowski, T.; J. E'skowiak'e'skowiak, I.; Wiatrak, B.; Gębarowski, T.; Jęskowiak, I.; et al. Investigation of the Properties of Linen Fibers and Dressings. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, 23, 10480, doi:10.3390/ijms231810480.
182. Gębarowski, T.; Wiatrak, B.; Janeczek, M.; Żuk, M.; Pistor, P.; Gąsiorowski, K. Were Our Ancestors Right in Using Flax Dressings? Research on the Properties of Flax Fibre and Its Usefulness in Wound Healing. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2020**, 2020, 1682317, doi:10.1155/2020/1682317.
183. Khan, F.; Hossain, N.; Hasan, F.; Rahman, S.M.M.; Khan, S.; Saifullah, A.Z.A.; Chowdhury, M.A. Advances of Natural Fiber Composites in Diverse Engineering Applications — A Review. *Appl. Eng. Sci.* **2024**, 18, 100184, doi:10.1016/J.APPLS.2024.100184.
184. Kulma, A.; Skórkowska-Telichowska, K.; Kostyn, K.; Szatkowski, M.; Skała, J.; Drulis-Kawa, Z.; Preisner, M.; Zuk, M.; Szperlik, J.; Wang, Y.F.; et al. New Flax Producing Bioplastic Fibers for Medical Purposes. *Ind. Crops Prod.* **2015**, 68, 80–89, doi:10.1016/J.INDCROP.2014.09.013.
185. Li, H.; Tang, R.; Dai, J.; Wang, Z.; Meng, S.; Zhang, X.; Cheng, F. Recent Progress in Flax Fiber-Based Functional Composites. *Adv. Fiber Mater.* **2022**, 4, 171–184, doi:10.1007/S42765-021-00115-6/METRICS.
186. Michel, S.A.A.X.; Vogels, R.R.M.; Bouvy, N.D.; Knetsch, M.L.W.; Van Den Akker, N.M.S.; Gijbels, M.J.J.; Van Der Marel, C.; Vermeersch, J.; Molin, D.G.M.; Koole, L.H. Utilization of Flax Fibers for Biomedical Applications. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* **2014**, 102, 477–487, doi:10.1002/JBM.B.33025.
187. Paladini, F.; Picca, R.A.; Sportelli, M.C.; Cioffi, N.; Sannino, A.; Pollini, M. Surface Chemical and Biological Characterization of Flax Fabrics Modified with Silver Nanoparticles for Biomedical Applications. *Mater. Sci. Eng. C* **2015**, 52, 1–10, doi:10.1016/J.MSEC.2015.03.035.
188. Skórkowska-Telichowska, K.; Mierziak-Darecka, J.; Wrobel-Kwiatkowska, M.; Gebarowski, T.; Szopa, J.; Zuk, M. Wound Coverage by the Linen Dressing Accelerates Ulcer Healing. *Postep. dermatologii i Alergol.* **2021**, 38, 827–841, doi:10.5114/ADA.2021.110116.
189. Skórkowska-Telichowska, K.; Zuk, M.; Kulma, A.; Bugajska-Prusak, A.; Ratajczak, K.; Gąsiorowski, K.; Kostyn, K.; Szopa, J. New Dressing Materials Derived from Transgenic Flax Products to Treat Long-Standing Venous Ulcers—a Pilot Study. *Wound Repair Regen.* **2010**, 18, 168–179, doi:10.1111/J.1524-475X.2010.00578.X.
190. Broughton, G.; Janis, J.E.; Attinger, C.E. A Brief History of Wound Care. *Plast. Reconstr. Surg.* **2006**, 117, doi:10.1097/01.PRS.0000225429.76355.DD.
191. Świerczyńska, M.; Mrozińska, Z.; Juszczak, M.; Woźniak, K.; Kudzin, M.H. Preparation and

- Biochemical Activity of Copper-Coated Cellulose Nonwoven Fabric via Magnetron Sputtering and Alginate-Calcium Ion Complexation. *Mar. Drugs* **2024**, *22*, 436, doi:10.3390/MD22100436/S1.
192. Nethi, S.K.; Das, S.; Patra, C.R.; Mukherjee, S. Recent Advances in Inorganic Nanomaterials for Wound-Healing Applications. *Biomater. Sci.* **2019**, *7*, 2652–2674, doi:10.1039/C9BM00423H.
 193. Shi, C.; Wang, C.; Liu, H.; Li, Q.; Li, R.; Zhang, Y.; Liu, Y.; Shao, Y.; Wang, J. Selection of Appropriate Wound Dressing for Various Wounds. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2020**, *8*, 511530, doi:10.3389/FBIOE.2020.00182/XML/NLM.
 194. Savencu, I.; Iurian, S.; Porfire, A.; Bogdan, C.; Tomuță, I. Review of Advances in Polymeric Wound Dressing Films. *React. Funct. Polym.* **2021**, *168*, 105059, doi:10.1016/J.REACTFUNCTPOLYM.2021.105059.
 195. Ijaola, A.O.; Akamo, D.O.; Damiri, F.; Akisin, C.J.; Bamidele, E.A.; Ajiboye, E.G.; Berrada, M.; Onyenokwe, V.O.; Yang, S.Y.; Asmatulu, E. Polymeric Biomaterials for Wound Healing Applications: A Comprehensive Review. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2022**, *33*, 1998–2050, doi:10.1080/09205063.2022.2088528.
 196. Borkow, G.; Gabbay, J. Copper, An Ancient Remedy Returning to Fight Microbial, Fungal and Viral Infections. *Curr. Chem. Biol.* **2009**, *3*, 272–278, doi:10.2174/187231309789054887.
 197. Grass, G.; Rensing, C.; Solioz, M. Metallic Copper as an Antimicrobial Surface. *Appl. Environ. Microbiol.* **2011**, *77*, 1541–1547, doi:10.1128/AEM.02766-10/ASSET/8D5754DD-C131-40DD-A47B-5D689B175402/ASSETS/GRAPHIC/ZAM9991018500004.JPEG.
 198. Vincent, M.; Duval, R.E.; Hartemann, P.; Engels-Deutsch, M. Contact Killing and Antimicrobial Properties of Copper. *J. Appl. Microbiol.* **2018**, *124*, 1032–1046, doi:10.1111/JAM.13681.
 199. Ermini, M.L.; Voliani, V. Antimicrobial Nano-Agents: The Copper Age. *ACS Nano* **2021**, *15*, 6008–6029, doi:10.1021/ACSNANO.0C10756/ASSET/IMAGES/LARGE/NN0C10756_0011.JPEG.
 200. Li, X.; Cong, Y.; Ovais, M.; Cardoso, M.B.; Hameed, S.; Chen, R.; Chen, M.; Wang, L. Copper-Based Nanoparticles against Microbial Infections. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomedicine Nanobiotechnology* **2023**, *15*, e1888, doi:10.1002/WNAN.1888.
 201. Yimeng, S.; Huilun, X.; Ziming, L.; Kejun, L.; Chaima, M.; Xiangyu, Z.; Yinchun, H.; Yan, W.; Di, H. Copper-Based Nanoparticles as Antibacterial Agents. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2023**, *26*, e202200614, doi:10.1002/EJIC.202200614.
 202. Cortes, A.A.; Zuñiga, J.M. The Use of Copper to Help Prevent Transmission of SARS-Coronavirus and Influenza Viruses. A General Review. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **2020**, *98*, 115176, doi:10.1016/J.DIAGMICROBIO.2020.115176.
 203. Jagaran, K.; Singh, M. Nanomedicine for Covid-19: Potential of Copper Nanoparticles. *Biointerface Res. Appl. Chem.* **2020**, *11*, 10716–10728, doi:10.33263/BRIAC113.1071610728.
 204. Govind, V.; Bharadwaj, S.; Sai Ganesh, M.R.; Vishnu, J.; Shankar, K. V.; Shankar, B.; Rajesh, R. Antiviral Properties of Copper and Its Alloys to Inactivate Covid-19 Virus: A Review. *BioMetals* **2021**, *34*, 1217–1235, doi:10.1007/S10534-021-00339-4/FIGURES/7.
 205. Ramos-Zúñiga, J.; Bruna, N.; Pérez-Donoso, J.M. Toxicity Mechanisms of Copper Nanoparticles and Copper Surfaces on Bacterial Cells and Viruses. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *Vol. 24*, Page 10503 **2023**, *24*, 10503, doi:10.3390/IJMS241310503.
 206. Albalawi, S.A.; Albalawi, R.A.; Albalawi, A.A.; Alanazi, R.F.; Almahlawi, R.M.; Alhwity, B.S.; Alatawi, B.D.; Elsherbiny, N.; Alqifari, S.F.; Abdel-Maksoud, M.S. The Possible Mechanisms of Cu and Zn in the Treatment and Prevention of HIV and COVID-19 Viral Infection. *Biol. Trace Elem. Res.* **2024**, *202*, 1524–1538, doi:10.1007/S12011-023-03788-9/METRICS.

207. Gerwien, F.; Skrahina, V.; Kasper, L.; Hube, B.; Brunke, S. Metals in Fungal Virulence. *FEMS Microbiol. Rev.* **2018**, *42*, 1–21, doi:10.1093/FEMSRE/FUX050.
208. Robinson, J.R.; Isikhuemhen, O.S.; Anike, F.N. Fungal–Metal Interactions: A Review of Toxicity and Homeostasis. *J. Fungi* **2021**, *Vol. 7*, Page 225 **2021**, *7*, 225, doi:10.3390/JOF7030225.
209. Pereira, D.; Carreira, T.S.; Alves, N.; Sousa, Â.; Valente, J.F.A. Metallic Structures: Effective Agents to Fight Pathogenic Microorganisms. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *Vol. 23*, Page 1165 **2022**, *23*, 1165, doi:10.3390/IJMS23031165.
210. Huang, T.; Li, X.; Maier, M.; O'Brien-Simpson, N.M.; Heath, D.E.; O'Connor, A.J. Using Inorganic Nanoparticles to Fight Fungal Infections in the Antimicrobial Resistant Era. *Acta Biomater.* **2023**, *158*, 56–79, doi:10.1016/J.ACTBIO.2023.01.019.
211. Madkhali, O.A. A Comprehensive Review on Potential Applications of Metallic Nanoparticles as Antifungal Therapies to Combat Human Fungal Diseases. *Saudi Pharm. J.* **2023**, *31*, 101733, doi:10.1016/J.JSPS.2023.101733.
212. Denoyer, D.; Masaldan, S.; La Fontaine, S.; Cater, M.A. Targeting Copper in Cancer Therapy: 'Copper That Cancer.' *Metallomics* **2015**, *7*, 1459–1476, doi:10.1039/C5MT00149H.
213. Shao, S.; Si, J.; Shen, Y. Copper as the Target for Anticancer Nanomedicine. *Adv. Ther.* **2019**, *2*, 1800147, doi:10.1002/ADTP.201800147.
214. Guan, D.; Zhao, L.; Shi, X.; Ma, X.; Chen, Z. Copper in Cancer: From Pathogenesis to Therapy. *Biomed. Pharmacother.* **2023**, *163*, 114791, doi:10.1016/J.BIOPHA.2023.114791.
215. Ji, P.; Wang, P.; Chen, H.; Xu, Y.; Ge, J.; Tian, Z.; Yan, Z. Potential of Copper and Copper Compounds for Anticancer Applications. *Pharm.* **2023**, *Vol. 16*, Page 234 **2023**, *16*, 234, doi:10.3390/PH16020234.
216. Yang, S.; Song, Y.; Hu, Y.; Chen, H.J.; Yang, D.; Song, X. Multifaceted Roles of Copper Ions in Anticancer Nanomedicine. *Adv. Healthc. Mater.* **2023**, *12*, 2300410, doi:10.1002/ADHM.202300410.
217. Belozerskaya, G.G.; Makarov, V.A.; Zhidkov, E.A.; Malykhina, L.S.; Sergeeva, O.A.; Ter-Arutyunyan, A.A.; Makarova, L. V. Local Hemostatics (A Review). *Pharm. Chem. J.* **2006**, *40*, 353–359, doi:10.1007/S11094-006-0126-3/METRICS.
218. Tarantino, G.; Citro, V.; Capone, D.; Gaudiano, G.; Sinatti, G.; Santini, S.J.; Balsano, C. Copper Concentrations Are Prevalently Associated with Antithrombin III, but Also with Prothrombin Time and Fibrinogen in Patients with Liver Cirrhosis: A Cross-Sectional Retrospective Study. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2021**, *68*, 126802, doi:10.1016/J.JTEMB.2021.126802.
219. Jacobs, A.; Renaudin, G.; Forestier, C.; Nedelec, J.M.; Descamps, S. Biological Properties of Copper-Doped Biomaterials for Orthopedic Applications: A Review of Antibacterial, Angiogenic and Osteogenic Aspects. *Acta Biomater.* **2020**, *117*, 21–39, doi:10.1016/J.ACTBIO.2020.09.044.
220. Shen, Q.; Qi, Y.; Kong, Y.; Bao, H.; Wang, Y.; Dong, A.; Wu, H.; Xu, Y. Advances in Copper-Based Biomaterials With Antibacterial and Osteogenic Properties for Bone Tissue Engineering. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2022**, *9*, 795425, doi:10.3389/FBIOE.2021.795425/BIBTEX.
221. Sherief, Z.; Xian, G.; Thomas, S.; Ajith, A. Effects of Surface Grafting of Copper Nanoparticles on the Tensile and Bonding Properties of Flax Fibers. *Sci. Eng. Compos. Mater.* **2017**, *24*, 651–660, doi:10.1515/SECM-2014-0462/ASSET/GRAPHIC/J_SECM-2014-0462_FIG_014.JPG.
222. Yılmaz, F.; Bahtiyari, M.İ. An Approach for Linen Fabrics Coloring and Antibacterial Activity by Cumin in Combination with Nano Copper and Iron. *J. Nat. Fibers* **2022**, *19*, 7406–7413, doi:10.1080/15440478.2021.1946884.

223. Ivanovska, A.; Milenković, J.; Lađarević, J.; Mihajlovski, K.; Dojčinović, B.; Ugrinović, V.; Škaro Bogojević, S.; Kostić, M. Harnessing the Power of Green and Rooibos Tea Aqueous Extracts for Obtaining Colored Bioactive Cotton and Cotton/Flax Fabrics Intended for Disposable and Reusable Medical Textiles. *Cellulose* **2024**, *31*, 9523–9542, doi:10.1007/S10570-024-06174-3/METRICS.
224. Forrest, R.D. Early History of Wound Treatment. *J. R. Soc. Med.* **1982**, *75*, 198–205, doi:10.1177/014107688207500310/ASSET/EE60F6A5-0510-42DD-BDF2-5DFD641AE4F0/ASSETS/014107688207500310.FP.PNG.
225. Song, Y.; Xie, X.; Liu, Y.; Zhu, Z.; Sun, L. Nanoscale Study of DNA-Cu²⁺ Interactions by Liquid-Cell Electron Microscopy. *ACS Omega* **2023**, *8*, 26325–26331, doi:10.1021/ACSOMEGA.3C02823/ASSET/IMAGES/LARGE/AO3C02823_0012.JPEG.
226. Erxleben, A. Interactions of Copper Complexes with Nucleic Acids. *Coord. Chem. Rev.* **2018**, *360*, 92–121, doi:10.1016/J.CCR.2018.01.008.
227. de Souza, Í.P.; Machado, B. de P.; de Carvalho, A.B.; Binatti, I.; Krambrock, K.; Molphy, Z.; Kellett, A.; Pereira-Maia, E.C.; Silva-Caldeira, P.P. Exploring the DNA Binding, Oxidative Cleavage, and Cytotoxic Properties of New Ternary Copper(II) Compounds Containing 4-Aminoantipyrine and N,N-Heterocyclic Co-Ligands. *J. Mol. Struct.* **2019**, *1178*, 18–28, doi:10.1016/J.MOLSTRUC.2018.10.004.
228. He, H.; Zhou, W.; Gao, J.; Wang, F.; Wang, S.; Fang, Y.; Gao, Y.; Chen, W.; Zhang, W.; Weng, Y.; et al. Efficient, Biosafe and Tissue Adhesive Hemostatic Cotton Gauze with Controlled Balance of Hydrophilicity and Hydrophobicity. *Nat. Commun.* **2022**, *13*, 1–14, doi:10.1038/s41467-022-28209-8.
229. Mutch, N.J.; Waters, E.K.; Morrissey, J.H. Immobilized Transition Metal Ions Stimulate Contact Activation and Drive Factor XII-Mediated Coagulation. *J. Thromb. Haemost.* **2012**, *10*, 2108–2115, doi:10.1111/j.1538-7836.2012.04890.x.
230. Praticò, D.; Pasin, M.; Barry, O.P.; Ghiselli, A.; Sabatino, G.; Iuliano, L.; Fitzgerald, G.A.; Violi, F. Iron-Dependent Human Platelet Activation and Hydroxyl Radical Formation: Involvement of Protein Kinase C. *Circulation* **1999**, *99*, 3118–3124, doi:10.1161/01.CIR.99.24.3118/ASSET/EAC8BCC9-7F7D-4616-AEDB-873EB6F9031A/ASSETS/GRAPHIC/HC2492854005.JPEG.
231. Nechipurenko, D.Y.; Receveur, N.; Yakimenko, A.O.; Shepelyuk, T.O.; Yakusheva, A.A.; Kerimov, R.R.; Obydenny, S.I.; Eckly, A.; Léon, C.; Gachet, C.; et al. Clot Contraction Drives the Translocation of Procoagulant Platelets to Thrombus Surface. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2019**, *39*, 37–47, doi:10.1161/ATVBAHA.118.311390/SUPPL_FILE/ATVB_ATVB-2018-311390_SUPP9.MPG.
232. Lv, C.; Zhou, X.; Wang, P.; Li, J.; Wu, Z.; Jiao, Z.; Guo, M.; Wang, Z.; Wang, Y.; Wang, L.; et al. Biodegradable Alginate-Based Sponge with Antibacterial and Shape Memory Properties for Penetrating Wound Hemostasis. *Compos. Part B Eng.* **2022**, *247*, 110263, doi:10.1016/J.COMPOSITESB.2022.110263.
233. Wang, L.; Zhang, X.; Yang, K.; Fu, Y.V.; Xu, T.; Li, S.; Zhang, D.; Wang, L.N.; Lee, C.S. A Novel Double-Crosslinking-Double-Network Design for Injectable Hydrogels with Enhanced Tissue Adhesion and Antibacterial Capability for Wound Treatment. *Adv. Funct. Mater.* **2020**, *30*, 1904156, doi:10.1002/ADFM.201904156.
234. Cunha, C.S.; Castro, P.J.; Sousa, S.C.; Pullar, R.C.; Tobaldi, D.M.; Piccirillo, C.; Pintado, M.M. Films of Chitosan and Natural Modified Hydroxyapatite as Effective UV-Protecting, Biocompatible and Antibacterial Wound Dressings. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *159*, 1177–1185, doi:10.1016/J.IJBIOMAC.2020.05.077.

235. Bai, Y.; Zhao, Y.; Li, Y.; Xu, J.; Fu, X.; Gao, X.; Mao, X.; Li, Z. UV-Shielding Alginate Films Crosslinked with Fe³⁺ Containing EDTA. *Carbohydr. Polym.* **2020**, *239*, 115480, doi:10.1016/J.CARBPOL.2019.115480.
236. PN-EN 13758-1:2002 *Tekstylia -- Właściwości Ochronne Przed Działaniem Promieniowania UV -- Część 1: Metoda Badania Płaskich Wyrobów Włókienniczych*;
237. Sikorska, M.; Ruzicka-Ayoush, M.; Rios-Mondragon, I.; Longhin, E.M.; Meczynska-Wielgosz, S.; Wojewodzka, M.; Kowalczyk, A.; Kasprzak, A.; Nowakowska, J.; Sobczak, K.; et al. Lack of Cytotoxic and Genotoxic Effects of MPEG-Silane Coated Iron(III) Oxide Nanoparticles Doped with Magnesium despite Cellular Uptake in Cancerous and Noncancerous Lung Cells. *Toxicol. Vitro.* **2024**, *99*, 105850, doi:10.1016/J.TIV.2024.105850.
238. Yue, R.; Niu, J.; Li, Y.; Ke, G.; Huang, H.; Pei, J.; Ding, W.; Yuan, G. In Vitro Cytocompatibility, Hemocompatibility and Antibacterial Properties of Biodegradable Zn-Cu-Fe Alloys for Cardiovascular Stents Applications. *Mater. Sci. Eng. C* **2020**, *113*, 111007, doi:10.1016/J.MSEC.2020.111007.
239. Hammonds, R.L.; Gazzola, W.H.; Benson, R.S. Physical and Thermal Characterization of Polylactic Acid Meltblown Nonwovens. *J. Appl. Polym. Sci.* **2014**, *131*, doi:10.1002/APP.40593.
240. Wu, D.; Spanou, A.; Diez-Escudero, A.; Persson, C. 3D-Printed PLA/HA Composite Structures as Synthetic Trabecular Bone: A Feasibility Study Using Fused Deposition Modeling. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2020**, *103*, 103608, doi:10.1016/J.JMBBM.2019.103608.
241. Davachi, S.M.; Kaffashi, B. Polylactic Acid in Medicine. *Polym. Plast. Technol. Eng.* **2015**, *54*, 944–967, doi:10.1080/03602559.2014.979507.
242. Hamad, K.; Kaseem, M.; Yang, H.W.; Deri, F.; Ko, Y.G. Properties and Medical Applications of Polylactic Acid: A Review. *Express Polym. Lett.* **2015**, *9*, 435–455, doi:10.3144/EXPRESSPOLYMLET.2015.42.
243. Santoro, M.; Shah, S.R.; Walker, J.L.; Mikos, A.G. Poly(Lactic Acid) Nanofibrous Scaffolds for Tissue Engineering. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2016**, *107*, 206–212, doi:10.1016/J.ADDR.2016.04.019.
244. Morent, R.; De Geyter, N.; Desmet, T.; Dubruel, P.; Leys, C. Plasma Surface Modification of Biodegradable Polymers: A Review. *Plasma Process. Polym.* **2011**, *8*, 171–190, doi:10.1002/PPAP.201000153.
245. Farah, S.; Anderson, D.G.; Langer, R. Physical and Mechanical Properties of PLA, and Their Functions in Widespread Applications — A Comprehensive Review. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2016**, *107*, 367–392, doi:10.1016/J.ADDR.2016.06.012.
246. DeStefano, V.; Khan, S.; Tabada, A. Applications of PLA in Modern Medicine. *Eng. Regen.* **2020**, *1*, 76–87, doi:10.1016/J.ENGREG.2020.08.002.
247. Zhou, J.; Han, S.; Dou, Y.; Lu, J.; Wang, C.; He, H.; Li, X.; Zhang, J. Nanostructured Poly(l-Lactide) Matrix as Novel Platform for Drug Delivery. *Int. J. Pharm.* **2013**, *448*, 175–188, doi:10.1016/J.IJPHARM.2013.03.038.
248. Pandey, A.K.; Dwivedi, A.K. Recent Advancement in Wound Healing Dressing Material. *Int. J. Res. Pharm. Sci.* **2019**, *10*, 2572–2577, doi:10.26452/IJRPS.V10I3.1512.
249. Sharif, A.; Mondal, S.; Hoque, M.E. Polylactic Acid (PLA)-Based Nanocomposites: Processing and Properties. *Bio-based Polym. Nanocomposites Prep. Process. Prop. Perform.* **2019**, 233–254, doi:10.1007/978-3-030-05825-8_11.
250. Alam, F.; Shukla, V.R.; Varadarajan, K.M.; Kumar, S. Microarchitected 3D Printed Polylactic Acid (PLA) Nanocomposite Scaffolds for Biomedical Applications. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2020**, *103*, 103576, doi:10.1016/J.JMBBM.2019.103576.

251. Essa, D.; Kondiah, P.P.D.; Choonara, Y.E.; Pillay, V. The Design of Poly(Lactide-Co-Glycolide) Nanocarriers for Medical Applications. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2020**, *8*, 503602, doi:10.3389/FBIOE.2020.00048/XML/NLM.
252. Hassani, F.; Mousavi, S.M.; Saghatoleslami, N.; Ghaffarian, V. Polyethersulfone/Poly(D,L-Lactide) Blend Membranes: Preparation, Characterization, and Performance. *Chem. Eng. Technol.* **2014**, *37*, 1065–1071, doi:10.1002/CEAT.201300477.
253. Wasyleczko, M.; Wojciechowski, C.; Chwojnowski, A. Polyethersulfone Polymer for Biomedical Applications and Biotechnology. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, doi:10.3390/IJMS25084233.
254. Irfan, M.; Idris, A. Overview of PES Biocompatible/Hemodialysis Membranes: PES–Blood Interactions and Modification Techniques. *Mater. Sci. Eng. C* **2015**, *56*, 574–592, doi:10.1016/J.MSEC.2015.06.035.
255. Nie, S.; Xue, J.; Lu, Y.; Liu, Y.; Wang, D.; Sun, S.; Ran, F.; Zhao, C. Improved Blood Compatibility of Polyethersulfone Membrane with a Hydrophilic and Anionic Surface. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2012**, *100*, 116–125, doi:10.1016/J.COLSURFB.2012.05.004.
256. Song, X.; Ji, H.; Zhao, W.; Sun, S.; Zhao, C. Hemocompatibility Enhancement of Polyethersulfone Membranes: Strategies and Challenges. *Adv. Membr.* **2021**, *1*, 100013, doi:10.1016/J.ADVMEM.2021.100013.
257. Tang, M.; Xue, J.; Yan, K.; Xiang, T.; Sun, S.; Zhao, C. Heparin-like Surface Modification of Polyethersulfone Membrane and Its Biocompatibility. *J. Colloid Interface Sci.* **2012**, *386*, 428–440, doi:10.1016/J.JCIS.2012.07.076.
258. Yang, Y.; Lu, Y.T.; Zeng, K.; Heinze, T.; Groth, T.; Zhang, K. Recent Progress on Cellulose-Based Ionic Compounds for Biomaterials. *Adv. Mater.* **2021**, *33*, 2000717, doi:10.1002/ADMA.202000717.
259. Granja, P.L.; Jéso, B. De; Bareille, R.; Rouais, F.; Baquey, C.; Barbosa, M.A. Cellulose Phosphates as Biomaterials. In Vitro Biocompatibility Studies. *React. Funct. Polym.* **2006**, *66*, 728–739, doi:10.1016/J.REACTFUNCTPOLYM.2005.10.027.
260. Granja, P.L.; Pouysgu, L.; Ptraud, M.; De Jso, B.; Baquey, C.; Barbosa, M.A. Cellulose Phosphates as Biomaterials. I. Synthesis and Characterization of Highly Phosphorylated Cellulose Gels. *J. Appl. Polym. Sci.* **2001**, *82*, 3341–3353, doi:10.1002/APP.2193.
261. Granja, P.L.; Pouysgu, L.; Ptraud, M.; De Jso, B.; Baquey, C.; Barbosa, M.A. Cellulose Phosphates as Biomaterials. II. Surface Chemical Modification of Regenerated Cellulose Hydrogels. *J. Appl. Polym. Sci.* **2001**, *82*, 3354–3365, doi:10.1002/APP.2194.
262. Mangal Sinha, T.J.; Vasudevan, P. Blood-Cellulosics Interactions. *Biomater. Med. Devices. Artif. Organs* **1984**, *12*, 273–287, doi:10.3109/10731198409118836.
263. Groth, T.; Wagenknecht, W. Anticoagulant Potential of Regioselective Derivatized Cellulose. *Biomaterials* **2001**, *22*, 2719–2729, doi:10.1016/S0142-9612(01)00013-8.
264. Granja, P.L.; Barbosa, M.A.; Pouységu, L.; De Jéso, B.; Rouais, F.; Baquey, C. Cellulose Phosphates as Biomaterials. Mineralization of Chemically Modified Regenerated Cellulose Hydrogels. *J. Mater. Sci.* **2001**, *36*, 2163–2172, doi:10.1023/A:1017587815583/METRICS.
265. Schimper, C.B.; Pachschröll, P.; Maitz, M.F.; Werner, C.; Rosenau, T.; Liebner, F. Hemocompatibility of Cellulose Phosphate Aerogel Membranes with Potential Use in Bone Tissue Engineering. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2023**, *11*, 1152577, doi:10.3389/FBIOE.2023.1152577/BIBTEX.
266. Kudzin, M.H.; Mrozińska, Z.; Urbaniak, P. Vapor Phosphorylation of Cellulose by Phosphorus Trichloride: Selective Phosphorylation of 6-Hydroxyl Function—The Synthesis of New

- Antimicrobial Cellulose 6-Phosphate(III)-Copper Complexes. *Antibiot.* 2021, Vol. 10, Page 203 **2021**, 10, 203, doi:10.3390/ANTIBIOTICS10020203.
267. Ingle, A.P.; Duran, N.; Rai, M. Bioactivity, Mechanism of Action, and Cytotoxicity of Copper-Based Nanoparticles: A Review. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2014**, 98, 1001–1009, doi:10.1007/S00253-013-5422-8/FIGURES/2.
 268. Borkow, G.; Gabbay, J. Putting Copper into Action: Copper-impregnated Products with Potent Biocidal Activities. *FASEB J.* **2004**, 18, 1728–1730, doi:10.1096/FJ.04-2029FJE;JOURNAL:JOURNAL:15306860;REQUESTEDJOURNAL:JOURNAL:15306860;WGROUP:STRING:PUBLICATION.
 269. Heliopoulos, N.S.; Papageorgiou, S.K.; Galeou, A.; Favvas, E.P.; Katsaros, F.K.; Stamatakis, K. Effect of Copper and Copper Alginate Treatment on Wool Fabric. Study of Textile and Antibacterial Properties. *Surf. Coatings Technol.* **2013**, 235, 24–31, doi:10.1016/J.SURFCOAT.2013.07.009.
 270. Slavin, Y.N.; Asnis, J.; Häfeli, U.O.; Bach, H. Metal Nanoparticles: Understanding the Mechanisms behind Antibacterial Activity. *J. Nanobiotechnology* **2017**, 15, 1–20, doi:10.1186/S12951-017-0308-Z/FIGURES/4.
 271. Sánchez-López, E.; Gomes, D.; Esteruelas, G.; Bonilla, L.; Lopez-Machado, A.L.; Galindo, R.; Cano, A.; Espina, M.; Ettcheto, M.; Camins, A.; et al. Metal-Based Nanoparticles as Antimicrobial Agents: An Overview. *Nanomater.* 2020, Vol. 10, Page 292 **2020**, 10, 292, doi:10.3390/NANO10020292.
 272. Giannousi, K.; Pantazaki, A.; Dendrinou-Samara, C. Copper-Based Nanoparticles as Antimicrobials. *Nanostructures Antimicrob. Ther. Nanostructures Ther. Med. Ser.* **2017**, 515–529, doi:10.1016/B978-0-323-46152-8.00023-8.
 273. Dalecki, A.G.; Crawford, C.L.; Wolschendorf, F. Copper and Antibiotics: Discovery, Modes of Action, and Opportunities for Medicinal Applications. *Adv. Microb. Physiol.* **2017**, 70, 193–260, doi:10.1016/BS.AMPBS.2017.01.007.
 274. Chatterjee, A.K.; Chakraborty, R.; Basu, T. Mechanism of Antibacterial Activity of Copper Nanoparticles. *Nanotechnology* **2014**, 25, 135101, doi:10.1088/0957-4484/25/13/135101.
 275. Bastos, C.A.P.; Faria, N.; Wills, J.; Malmberg, P.; Scheers, N.; Rees, P.; Powell, J.J. Copper Nanoparticles Have Negligible Direct Antibacterial Impact. *NanoImpact* **2020**, 17, 100192, doi:10.1016/J.IMPACT.2019.100192.
 276. Chang, T.; Babu, R.P.; Zhao, W.; Johnson, C.M.; Hedström, P.; Odnevall, I.; Leygraf, C. High-Resolution Microscopical Studies of Contact Killing Mechanisms on Copper-Based Surfaces. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2021**, 13, 49402–49413, doi:10.1021/ACSAMI.1C11236/ASSET/IMAGES/LARGE/AM1C11236_0010.JPEG.
 277. Perelshtein, I.; Applerot, G.; Perkash, N.; Wehrschuetz-Sigl, E.; Hasmann, A.; Guebitz, G.; Gedanken, A. CuO–Cotton Nanocomposite: Formation, Morphology, and Antibacterial Activity. *Surf. Coatings Technol.* **2009**, 204, 54–57, doi:10.1016/J.SURFCOAT.2009.06.028.
 278. Emam, H.E.; Ahmed, H.B.; Bechtold, T. In-Situ Deposition of Cu₂O Micro-Needles for Biologically Active Textiles and Their Release Properties. *Carbohydr. Polym.* **2017**, 165, 255–265, doi:10.1016/J.CARBPOL.2017.02.044.
 279. Bajpai, S.K.; Bajpai, M.; Sharma, L. Copper Nanoparticles Loaded Alginate-Impregnated Cotton Fabric with Antibacterial Properties. *J. Appl. Polym. Sci.* **2012**, 126, E319–E326, doi:10.1002/APP.36981;WGROUP:STRING:PUBLICATION.
 280. Alizadeh, S.; Seyedalipour, B.; Shafieyan, S.; Kheime, A.; Mohammadi, P.; Aghdami, N. Copper Nanoparticles Promote Rapid Wound Healing in Acute Full Thickness Defect via Acceleration

- of Skin Cell Migration, Proliferation, and Neovascularization. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2019**, *517*, 684–690, doi:10.1016/J.BBRC.2019.07.110.
281. Kornblatt, A.P.; Nicoletti, V.G.; Travaglia, A. The Neglected Role of Copper Ions in Wound Healing. *J. Inorg. Biochem.* **2016**, *161*, 1–8, doi:10.1016/J.JINORGBIO.2016.02.012.
 282. Borkow, G.; Gabbay, J.; Dardik, R.; Eidelman, A.I.; Lavie, Y.; Grunfeld, Y.; Ikher, S.; Huszar, M.; Zatcoff, R.C.; Marikovsky, M. Molecular Mechanisms of Enhanced Wound Healing by Copper Oxide-Impregnated Dressings. *Wound Repair Regen.* **2010**, *18*, 266–275, doi:10.1111/J.1524-475X.2010.00573.X;WGROU:STRING:PUBLICATION.
 283. Sen, C.K.; Khanna, S.; Venojarvi, M.; Trikha, P.; Christopher Ellison, E.; Hunt, T.K.; Roy, S. Copper-Induced Vascular Endothelial Growth Factor Expression and Wound Healing. *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.* **2002**, *282*, 1821–1827, doi:10.1152/AJPHEART.01015.2001/ASSET/IMAGES/LARGE/H40521503104.JPEG.
 284. Cucci, L.M.; Satriano, C.; Marzo, T.; La Mendola, D. Angiogenin and Copper Crossing in Wound Healing. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *Vol. 22*, Page 10704 **2021**, *22*, 10704, doi:10.3390/IJMS221910704.
 285. Tiwari, M.; Narayanan, K.; Thakar, M.B.; Jagani, H. V.; Rao, J.V. Biosynthesis and Wound Healing Activity of Copper Nanoparticles. *IET Nanobiotechnology* **2014**, *8*, 230–237, doi:10.1049/IET-NBT.2013.0052.
 286. Cangul, I.T.; Gul, N.Y.; Topal, A.; Yilmaz, R. Evaluation of the Effects of Topical Tripeptide-Copper Complex and Zinc Oxide on Open-Wound Healing in Rabbits. *Vet. Dermatol.* **2006**, *17*, 417–423, doi:10.1111/J.1365-3164.2006.00551.X;SUBPAGE:STRING:FULL.
 287. Uriu-Adams, J.Y.; Keen, C.L. Copper, Oxidative Stress, and Human Health. *Mol. Aspects Med.* **2005**, *26*, 268–298, doi:10.1016/J.MAM.2005.07.015.
 288. Gaetke, L.M.; Chow, C.K. Copper Toxicity, Oxidative Stress, and Antioxidant Nutrients. *Toxicology* **2003**, *189*, 147–163, doi:10.1016/S0300-483X(03)00159-8.
 289. Emam, H.E.; Manian, A.P.; Široká, B.; Duelli, H.; Merschak, P.; Redl, B.; Bechtold, T. Copper(I)Oxide Surface Modified Cellulose Fibers — Synthesis, Characterization and Antimicrobial Properties. *Surf. Coatings Technol.* **2014**, *254*, 344–351, doi:10.1016/J.SURFCOAT.2014.06.036.
 290. Cady, N.C.; Behnke, J.L.; Strickland, A.D. Copper-Based Nanostructured Coatings on Natural Cellulose: Nanocomposites Exhibiting Rapid and Efficient Inhibition of a Multi-Drug Resistant Wound Pathogen, *A. Baumannii*, and Mammalian Cell Biocompatibility in Vitro. *Adv. Funct. Mater.* **2011**, *21*, 2506–2514, doi:10.1002/ADFM.201100123;WEBSITE:WEBSITE:ADVANCED;CTYPE:STRING:JOURNAL.
 291. Vincent, M.; Hartemann, P.; Engels-Deutsch, M. Antimicrobial Applications of Copper. *Int. J. Hyg. Environ. Health* **2016**, *219*, 585–591, doi:10.1016/J.IJHEH.2016.06.003.
 292. Li, J.; Lai, X.; Yan, C.; Xu, A.; Nie, L.; Zhou, Y.; Liao, C.; Ren, H. Age-Associated Developmental Changes in the Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) and Causes of Prolonged APTT Values in Healthy Chinese Children. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2009**, *47*, 1531–1537, doi:10.1515/CCLM.2009.339/MACHINEREADABLECITATION/RIS.
 293. Janvikul, W.; Uppanan, P.; Thavornyutikarn, B.; Krewraing, J.; Prateepasen, R. In Vitro Comparative Hemostatic Studies of Chitin, Chitosan, and Their Derivatives. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *102*, 445–451, doi:10.1002/APP.24192.
 294. Jiao, S.; Zhang, X.; Cai, H.; Wu, S.; Ou, X.; Han, G.; Zhao, J.; Li, Y.; Guo, W.; Liu, T.; et al. Recent Advances in Biomimetic Hemostatic Materials. *Mater. Today Bio* **2023**, *19*, 100592, doi:10.1016/J.MTBIO.2023.100592.

9. Załącznik 1. Publikacje składające się na Pracę Doktorską

Publikacja

1.	Mrozińska Z. , Ponczek M., Kaczmarek A., Boguń M., Sulak E., Kudzin M. H., <i>Blood Coagulation Activities of Cotton – Alginate – Copper Composites</i> . Marine Drugs 2023, 21(12), 625; https://doi.org/10.3390/md21120625 [65]
2.	Mrozińska Z. , Kudzin M. H., Ponczek M., Kaczmarek A., Król P., Lisiak-Kucińska A., Żyła R., Walawska A., <i>Biochemical Approach to Poly(Lactide)-Copper Composite - Impact on Blood Coagulation Processes</i> . Materials 2024, 17(3), 608; https://doi.org/10.3390/ma17030608 [66]
3.	Mrozińska Z. , Ponczek M. B., Kaczmarek A., Świerczyńska M., Kudzin M. H., <i>Activity in the Field of Blood Coagulation Processes of Poly(lactide)-Zinc Fibers Composite Material Obtained by Magnetron Sputtering</i> . Coatings 2024, 14(6), 665; http://dx.doi.org/10.3390/coatings14060666 [67]
4.	Mrozińska Z. , Kaczmarek A., Świerczyńska M., Juszczak M., Kudzin M. H., <i>Biochemical behavior, influence on cell DNA condition and microbiological properties of wool and wool-copper materials</i> . Materials 2024, 17(12), 2878; https://doi.org/10.3390/ma17122878 [68]
5.	Mrozińska Z. , Świerczyńska M., Juszczak M., Woźniak K., Kudzin M. H. , <i>Poly(Lactide) Nonwoven Fabric with Iron Coating and Its Biological Properties</i> , Coatings 2024, 14(8), 1050; https://doi.org/10.3390/coatings14081050 [69]
6.	Mrozińska Z. , Świerczyńska M., Juszczak M., Woźniak K., Lisiak-Kucińska A., Kudzin M. H. <i>Evaluation of Antimicrobial Activity, Hemostatic Efficacy, Blood Coagulation Dynamics and plasmid DNA damage of Linen-Copper Composite Materials</i> . J. Compos. Sci. 2025, 9(1), 30; https://doi.org/10.3390/jcs9010030 [70]
7.	Kudzin M.H., Mrozińska Z. , Kaczmarek A., Chruściel J.J., Pinar A., Sulak E., Shah S.A.R., Juszczak M., Woźniak K., Ponczek M.B. <i>Development of Iron-Modified Cotton Material: Surface Characterization, Biochemical Activity, and Cytotoxicity Assessment</i> . Coatings 2025, 15(6), 663. https://doi.org/10.3390/coatings15060663 [71]
8.	Kudzin M.H., Mrozińska Z. , Kaczmarek A., Chruściel J.J., Gloc M., Żyła R. <i>Preparation and Biochemical and Microbial Behavior of Poly(Lactide) Composites with Polyethersulfone and Copper-Complexed Cellulose Phosphate</i> . Materials 2025, 18(13), 2954; https://doi.org/10.3390/ma18132954 [72]