

# ENGINEERING OF BIOMATERIALS

INŻYNIERIA BIOMATERIAŁÓW

JOURNAL OF POLISH SOCIETY FOR BIOMATERIALS AND FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS AGH-UST  
CZASOPISMO POLSKIEGO STOWARZYSZENIA BIOMATERIAŁÓW I WYDZIAŁU INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI AGH

**Number 112**

Numer 112

**Volume XV**

Rok XV

**JANUARY 2012**

STYCZEŃ 2012

**ISSN 1429-7248**

**PUBLISHER:**

WYDAWCA:

**Polish Society  
for Biomaterials  
in Krakow**

Polskie  
Stowarzyszenie  
Biomateriałów  
w Krakowie

**EDITORIAL  
COMMITTEE:**

KOMITET  
REDAKCYJNY:

**Editor-in-Chief**

Redaktor naczelny  
**Jan Chłopek**

**Editor**

Redaktor  
**Elżbieta Pamuła**

**Secretary of editorial**

Sekretarz redakcji

**Design**

Projekt  
**Katarzyna Trała  
Augustyn Powroźnik**

**ADDRESS OF**

**EDITORIAL OFFICE:**

ADRES REDAKCJI:

**AGH-UST**

**30/A3, Mickiewicz Av.  
30-059 Krakow, Poland**

Akademia

Górniczno-Hutnicza  
al. Mickiewicza 30/A-3  
30-059 Kraków

**Issue: 200 copies**

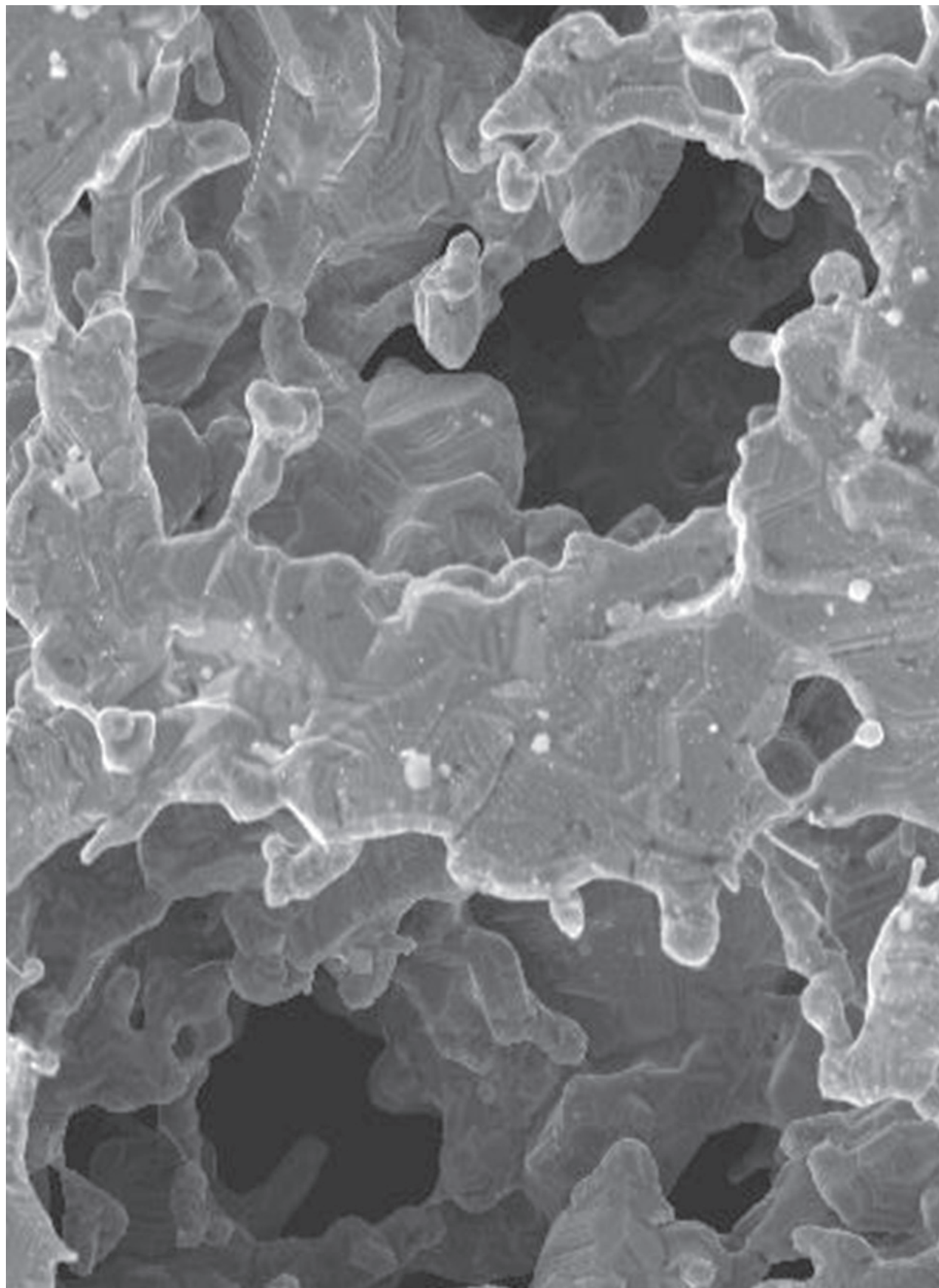
Nakład: 200 egz.

**Scientific Publishing  
House AKAPIT**

Wydawnictwo Naukowe

AKAPIT

e-mail: [wn@akapit.krakow.pl](mailto:wn@akapit.krakow.pl)



**INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD**  
**MIĘDZYNARODOWY KOMITET REDAKCYJNY**

**Iulian Antoniac**

UNIVERSITY POLITEHNICA OF BUCHAREST, ROMANIA

**Lucie Bacakova**

ACADEMY OF SCIENCE OF THE CZECH REPUBLIC, PRAGUE, CZECH REPUBLIC

**Romuald Będziński**

POLITECHNIKA WROCLAWSKA / WROCLAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**Marta Błażewicz**

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW / AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, KRAKOW

**Stanisław Błażewicz**

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW / AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, KRAKOW

**Maria Borczuch-Łączka**

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW / AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, KRAKOW

**Wojciech Chrzanowski**

UNIVERSITY OF SYDNEY, AUSTRALIA

**Tadeusz Cieślik**

ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY / MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA

**Jan Ryszard Dąbrowski**

POLITECHNIKA BIAŁOSTOCKA / BIAŁYSTOK TECHNICAL UNIVERSITY

**Andrzej Górecki**

WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY / MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

**Robert Hurt**

BROWN UNIVERSITY, PROVIDENCE, USA

**James Kirkpatrick**

JOHANNES GUTENBERG UNIVERSITY, MAINZ, GERMANY

**Wojciech Maria Kuś**

WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY / MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

**Małgorzata Lewandowska-Szumieł**

WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY / MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

**Jan Marciniak**

POLITECHNIKA ŚLĄSKA / SILESIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**Sergey Mikhalovsky**

UNIVERSITY OF BRIGHTON, UNITED KINGDOM

**Stanisław Mitura**

POLITECHNIKA ŁÓDZKA / TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ

**Roman Pampuch**

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW / AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, KRAKOW

**Stanisław Pielka**

AKADEMIA MEDYCZNA WE WROCLAWIU / WROCLAW MEDICAL UNIVERSITY

**Vehid Salih**

UCL EASTMAN DENTAL INSTITUTE, UNITED KINGDOM

**Jacek Składzień**

UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI, COLLEGIUM MEDICUM, KRAKÓW / JAGIELLONIAN UNIVERSITY, COLLEGIUM MEDICUM, KRAKOW

**Andrei V. Stanishevsky**

UNIVERSITY OF ALABAMA AT BIRMINGHAM, USA

**Anna Ślósarczyk**

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW / AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, KRAKOW

**Tadeusz Trzaska**

AKADEMIA WYCHOWANIA FIZYCZNEGO, POZNAŃ / UNIVERSITY SCHOOL OF PHYSICAL EDUCATION, POZNAŃ

**Dimitris Tsipas**

ARISTOTLE UNIVERSITY OF THESSALONIKI, GREECE

## Wskazówki dla autorów

1. Prace do opublikowania w kwartalniku „Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów” przyjmowane będą wyłącznie z tłumaczeniem na język angielski. Obcojęzycy obowiązuje tylko język angielski.
2. Wszystkie nadsyłane artykuły są recenzowane.
3. Materiały do druku prosimy przysyłać na adres e-mail: kabe@agh.edu.pl.
4. Struktura artykułu:
  - TYTUŁ • Autorzy • Streszczenie (100-200 słów) • Słowa kluczowe • Wprowadzenie • Materiały i metody • Wyniki i dyskusja • Wnioski • Podziękowania • Piśmiennictwo
5. Materiały ilustracyjne powinny znajdować się poza tekstem w oddzielnych plikach (format .jpg, .gif, .tiff, .bmp). Rozdzielczość rysunków min. 300 dpi. Wszystkie rysunki i wykresy powinny być czarno-białe lub w odcieniach szarości i ponumerowane cyframi arabskimi. W tekście należy umieścić odnośniki do rysunków i tabel. W tabelach i na wykresach należy umieścić opisy polskie i angielskie. W dodatkowym dokumencie należy zamieścić spis tabel i rysunków (po polsku i angielsku).
6. Na końcu artykułu należy podać wykaz piśmiennictwa w kolejności cytowania w tekście i kolejno ponumerowany.
7. Redakcja zastrzega sobie prawo wprowadzenia do opracowań autorskich zmian terminologicznych, poprawek redakcyjnych, stylistycznych, w celu dostosowania artykułu do norm przyjętych w naszym czasopiśmie. Zmiany i uzupełnienia merytoryczne będą dokonywane w uzgodnieniu z autorem.
8. Opinia lub uwagi recenzenta będą przekazywane Autorowi do ustosunkowania się. Nie dostarczenie poprawionego artykułu w terminie oznacza rezygnację Autora z publikacji pracy w naszym czasopiśmie.
9. Za publikację artykułów redakcja nie płaci honorarium autorskiego.
10. Adres redakcji:

Czasopismo  
„Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów”  
Akademia Górniczo-Hutnicza im. St. Staszica  
Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki  
al. Mickiewicza 30/A-3, 30-059 Kraków

tel. (48 12) 617 25 03, 617 25 61  
tel./fax: (48 12) 617 45 41  
e-mail: chlopek@agh.edu.pl, kabe@agh.edu.pl

Szczegółowe informacje dotyczące przygotowania manuskryptu oraz procedury recenzowania dostępne są na stronie internetowej czasopisma:  
[www.biomat.krakow.pl](http://www.biomat.krakow.pl)

## Warunki prenumeraty

Zamówienie na prenumeratę prosimy przysyłać na adres: apowroz@agh.edu.pl, tel/fax: (48 12) 617 45 41  
Cena pojedynczego numeru wynosi 20 PLN  
Konto:  
Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów  
30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A-3  
ING Bank Śląski S.A. O/Kraków  
nr rachunku 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001

## Instructions for authors

1. Papers for publication in quarterly journal „Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów” should be written in English.
2. All articles are reviewed.
3. Manuscripts should be submitted to editorial office by e-mail to kabe@agh.edu.pl.
4. A manuscript should be organized in the following order:
  - TITLE • Authors and affiliations • Abstract (100-200 words) • Keywords (4-6) • Introduction • Materials and methods • Results and discussions • Conclusions • Acknowledgements • References
5. All illustrations, figures, tables, graphs etc. preferably in black and white or grey scale should be presented in separate electronic files (format .jpg, .gif, .tiff, .bmp) and not incorporated into the Word document. High-resolution figures are required for publication, at least 300 dpi. All figures must be numbered in the order in which they appear in the paper and captioned below. They should be referenced in the text. The captions of all figures should be submitted on a separate sheet.
6. References should be listed at the end of the article. Number the references consecutively in the order in which they are first mentioned in the text.
7. The Editors reserve the right to improve manuscripts on grammar and style and to modify the manuscripts to fit in with the style of the journal. If extensive alterations are required, the manuscript will be returned to the authors for revision.
8. Opinion or notes of reviewers will be transferred to the author. If the corrected article will not be supplied on time, it means that the author has resigned from publication of work in our journal.
9. Editorial does not pay author honorarium for publication of article.
10. Address of editorial office:

Journal  
„Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów”  
AGH University of Science and Technology  
Faculty of Materials Science and Ceramics  
30/A-3, Mickiewicz Av., 30-059 Krakow, Poland

tel. (48 12) 617 25 03, 617 25 61  
tel./fax: (48 12) 617 45 41  
e-mail: chlopek@agh.edu.pl, kabe@agh.edu.pl

Detailed information concerning manuscript preparation and review process are available at the journal's website:  
[www.biomat.krakow.pl](http://www.biomat.krakow.pl)

## Subscription terms

Subscription rates:  
Cost of one number: 20 PLN  
Payment should be made to:  
Polish Society for Biomaterials  
30/A3, Mickiewicz Av.  
30-059 Krakow, Poland  
ING Bank Slaski S.A.  
account no. 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001



*XXII Conference on  
BIOMATERIALS  
IN MEDICINE  
AND  
VETERINARY  
MEDICINE*

*11-14 October 2012  
Hotel "Perła Południa"  
Rytro, Poland*

**[www.biomat.agh.edu.pl](http://www.biomat.agh.edu.pl)**



**PAN**  
POLSKA AKADEMIA NAUK





## SPIS TREŚCI

EVALUATION OF CYTOTOXICITY OF PLGA AND PLGA-BASED NANOCOMPOSITE BIOMATERIALS IN OSTEOBLAST CULTURES A. ŚCISŁOWSKA-CZARNECKA, E. STODOLAK-ZYCH, E. PRAWDZIK, M. BOGUŃ, E. MENASZEK	2
WSTĘPNA OCENA BUDOWY CHEMICZNEJ I STRUKTURY FAZOWEJ NOWYCH SAMOORGANIZUJĄCYCH SIĘ POLI(ARYLANO-ESTRÓW) JAKO SYSTEMÓW DLA KONTROLOWANEGO UWALNIANIA LEKÓW J. GAJOWY, A. NIEMCZYK, M. EL FRAY	6
POROWATE MATERIAŁY NANOKOMPOZYTYWNE MODYFIKOWANE CZĄSTKAMI KRZEMIONKI E. STODOLAK-ZYCH, A. PORĄBKA, M. BŁAŻEWICZ	12
FOTOHYDROFILOWE POWŁOKI $TiO_2$ NANOSZONE METODĄ RF PECVD Z METALOORGANICZNEGO ZWIĄZKU WYJŚCIOWEGO A. SOB CZYK-GUZENDA, S. OW CZAREK, M. GAZICKI-LIPMAN, H. SZYMANOWSKI, J. KOWALSKI	20
ANALIZA MIKROSTRUKTURY SPIEKÓW TYTANOWYCH Z GRADIENTEM POROWATOŚCI PRZY ZASTOSOWANIU RENTGENOWSKIEJ MIKROTOMOGRAFII KOMPUTEROWEJ K. PAŁKA, B. SZARANIEC	26
BADANIA POWIERZCHNI SUPERSPRĘŻYSTYCH DYSTRAKTORÓW NITi UŻYTYCH W LECZENIU KRANIOSTENOZ U DZIECI Z. LEKSTON, M. KACZMAREK, K. PRUSIK, D. STRÓŻ, K. KOBUS, D. RYCHLIK	31
KSZTAŁTOWANIE WŁAŚCIWOŚCI WARSTW NCD Z ZASTOSOWANIEM TRAWIENIA JONOWEGO JAKO OBRÓBKI WSTĘPNEJ W METODZIE RF PACVD J. GRABARCZYK	36
ANALIZA ROZKŁADU NAPRĘŻEŃ W TKANKACH TWARDYCH ZĘBA Z WYKORZYSTANIEM METODY ELEMENTÓW SKOŃCZONYCH H. DĘBSKI, J. BIENIAŚ, K. PAŁKA, A. NIEWCZAS	42
BADANIE WYBRANYCH WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNYCH TYTANU DO ZASTOSOWAŃ REKONSTRUKCYJNYCH W IMPLANTOPROTETYCE STOMATOLOGICZNEJ A. M. RYNI EWICZ, Ł. BOJKO, W. RYNI EWICZ	48

## CONTENTS

EVALUATION OF CYTOTOXICITY OF PLGA AND PLGA-BASED NANOCOMPOSITE BIOMATERIALS IN OSTEOBLAST CULTURES A. ŚCISŁOWSKA-CZARNECKA, E. STODOLAK-ZYCH, E. PRAWDZIK, M. BOGUŃ, E. MENASZEK	2
PRELIMINARY INVESTIGATIONS OF CHEMICAL AND PHASE STRUCTURE OF POLY(ARYLANE-ESTER) SELF-ASSEMBLIES AS POTENTIAL DRUG DELIVERY SYSTEMS J. GAJOWY, A. NIEMCZYK, M. EL FRAY	6
POROUS NANOCOMPOSITE MATERIALS MODIFIED WITH SILICA NANOPARTICLES E. STODOLAK-ZYCH, A. PORĄBKA, M. BŁAŻEWICZ	12
$TiO_2$ PHOTOHYDROPHILIC COATINGS DEPOSITED WITH THE RF PECVD TECHNIQUE FROM ORGANOMETALLIC PRECURSORS A. SOB CZYK-GUZENDA, S. OW CZAREK, M. GAZICKI-LIPMAN, H. SZYMANOWSKI, J. KOWALSKI	20
MICROSTRUCTURAL ANALYSIS OF POROSITY-GRADED TITANIUM SINTERS USING MICROTOMOGRAPHY K. PAŁKA, B. SZARANIEC	26
TESTS OF THE SURFACES OF SUPERELASTIC NITi DISTRACTORS USED IN THE TREATMENT OF CRANIOSTENOSIS IN CHILDREN Z. LEKSTON, M. KACZMAREK, K. PRUSIK, D. STRÓŻ, K. KOBUS, D. RYCHLIK	31
THE NCD LAYER PROPERTIES DESIGNED THROUGH ION ETCHING PRE-TREATMENT IN THE RF PACVD METHOD J. GRABARCZYK	36
ANALYSIS OF STRESS LEVEL IN HARD DENTAL TISSUES USING FINITE ELEMENT METHOD H. DĘBSKI, J. BIENIAŚ, K. PAŁKA, A. NIEWCZAS	42
SELECTED MECHANICAL PROPERTIES OF TITANIUM IN DENTAL IMPLANTOLOGY RECONSTRUCTION PROCEDURE A. M. RYNI EWICZ, Ł. BOJKO, W. RYNI EWICZ	48

WERSJA PAPIEROWA CZASOPISMA „ENGINEERING OF BIOMATERIALS / INŻYNIERIA BIOMATERIALÓW” JEST JEGO WERSJĄ PIERWOTNĄ  
PRINTED VERSION OF „ENGINEERING OF BIOMATERIALS / INŻYNIERIA BIOMATERIALÓW” IS A PRIMARY VERSION OF THE JOURNAL

WYDANIE DOFINANSOWANE PRZEZ MINISTRA NAUKI  
I SZKOLNICTWA WYŻSZEGO

STRESZCZANE W APPLIED MECHANICS REVIEWS

EDITION FINANCED BY THE MINISTER OF SCIENCE  
AND HIGHER EDUCATION

ABSTRACTED IN APPLIED MECHANICS REVIEWS

# EVALUATION OF CYTOCOMPATIBILITY OF PLGA AND PLGA-BASED NANOCOMPOSITE BIOMATERIALS IN OSTEOBLAST CULTURES

A. ŚCISŁOWSKA-CZARNECKA<sup>1</sup>, E. STODOLAK-ZYCH<sup>2</sup>,  
E. PRAWDZIK<sup>3</sup>, M. BOGUŃ<sup>4</sup>, E. MENASZEK<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> UNIVERSITY SCHOOL OF PHYSICAL EDUCATION,  
FACULTY OF REHABILITATION, PHYSIOTHERAPY DEPARTMENT,  
AL. JANA PAWŁA II 78, 31-571 KRAKOW, POLAND

<sup>2</sup> AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,  
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,  
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,  
AL. A. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKOW, POLAND

<sup>3</sup> JAGIELLONIAN UNIVERSITY, COLLEGIUM MEDICUM,  
DEPARTMENT OF CYTOBIOLOGY,  
UL. MEDYCZNA 9, 30-688 KRAKOW, POLAND

<sup>4</sup> TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ,  
FACULTY OF MATERIAL TECHNOLOGIES AND TEXTILE DESIGN,  
DEPARTMENT OF MAN-MADE FIBRES,  
UL. ŻEROMSKIEGO 116, 50-952 LODZ, POLAND

## Abstract

*The aim of this study was to evaluate biocompatibility of multilevel composites based on bioresorbable poly(lactide-co-glycolide) (PGLA). Polymer matrix was modified with multidimensional (MD) short biopolymer fibers of calcium alginate (CA) containing bioactive ceramic nanoparticles (nanohydroxyapatite - HA or nanosilica - SiO<sub>2</sub>). The nanocomposite fibres present in the polymer samples influenced cells morphology, viability and secretory activity which was estimated using human osteoblasts cells (NHOst). The results indicate that biodegradable nanocomposite CA-HA/PGLA improves biological properties of the basic biomaterial (PGLA) suggesting its potential application for bone tissue engineering.*

**Keywords:** cells materials interaction, cells factors, composite, nanocomposite materials

[*Engineering of Biomaterials, 112, (2012), 2-5*]

## Introduction

Polymer-fiber composites are one of the main groups of materials used in the bone tissue regenerative medicine, which have better utilitarian properties than currently used implants [1-5]. One of the most promising approaches in modern medicine is make the most of regenerative potential of living organism. As a support for defected tissue regeneration nanocomposite materials were applied. In comparison to classic (bio)materials nanocomposites show better mechanical and biological properties [6]. Interestingly, combination of two biocompatible resorbable polymer together with other bioactive materials e.g. fibers or powder [7] gives the possibility to obtain biocomposite materials with properties which mimic natural extracellular substance of the bone (structurally biomimetic). Moreover, this kind of multilevel composite materials (in macro level – fibres, in nano level - nanoparticles) can be formed as two- or three-dimensional materials (films, membranes or scaffolds) to create optimal conditions for multicellular culture for the bone regeneration.

In the present work hybrid fibrous supports based on biodegradable co-polymer of glycolide and L-lactide (PGLA) containing nanocomposite calcium alginate fibres (CA) enriched with either nanometric hydroxyapatite (CAH) or nanometric silica (CAS) were prepared. The aim of application of biopolymer fibres made of calcium alginate was the fabrication of biomimetic polymer-fibrous structure which simultaneously was a reservoir of bioactive particles. Nanocomposite fibres were comminuted to submicron and micron sizes and introduced into the PGLA polymer matrix. Preliminary studies showed that CAS/PGLA and CAH/PGLA hybrid materials were biocompatible and their surface properties positively influenced adhesion of bone cells. Potential site of implantation of the studied materials is bone tissue and thus their effect on morphology and secretory activity of osteoblasts, which are crucial cells for its development and rebuilding, was tested.

## Materials and Methods

Materials in the form of 2D supports (thin foils) were produced using the casting method. As matrix was used poly(lactide-co-glycolide) (PGLA, Sigma-Aldrich) which was dissolved in dichloromethane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, POCh) in 1:10 wt. ratio. As nanocomposites fibrous phases were used short biopolymer fibres (calcium alginate, FGM BioPolymers) modified by nanometric silica (5-10 nm, Sigma Aldrich) and nanometric hydroxyapatite (30-50 nm, Sigma-Aldrich). Nanocomposite fibres (calcium alginate with silica – named CAS and calcium alginate with hydroxyapatite – named CAH) were produce by wet method in Technical University of Lodz. Before the introduction into the matrix the nanocomposite fibres (CAS, CAH) were mechanically ground in a vibration ball mill. The final form of the modifier was a mixture of two fractions; short fibres, particles of the fibres and the nano-additive, which were products of the nanocomposite fibres fragmentation. The mean size of the fibres fragmentation products (biopolymer particles, nanoadditives) was between 20 and 30 μm (optical microscope). The polymer – fibres nanocomposites (2 wt% of nanocomposite fibres) were prepared using a casting method. Characteristic of thin foils PGLA/CAS and PGLA/CAH were presented in previous study [8].

## Cell cultures

NHOst osteoblast cells (Clonetic Normal Human Osteoblast Cell System, Lonza, USA) were cultured in 75-ml plastic bottles (Nunc, Denmark) in OGM culture medium (Lonza, USA) enriched with ascorbic acid (Lonza, USA), 10% fetal bovine serum (Lonza, USA) and 100 U/ml penicillin 10 U/ml and 100 μg/ml streptomycin (Lonza, USA). Cells were cultured in the incubator HeraCell (ThermoScientific, Germany) at 37°C and 5% of CO<sub>2</sub>. Every 3 days the cell cultures were passaged by trypsinization (0.25% solution of trypsin, Sigma-Aldrich, Germany). Before cell culture the biomaterial foils were washed in 70% ethanol and sterilized under UV lamp for 30 min from both sides and placed at the 24-well culture dishes (Nunc, Denmark). Cells (after 3 passages) were counted in Bürker's hemocytometer, and seeded (1.5x10<sup>4</sup> cell/ml) in the 24-well culture plates (Nunc, Denmark) containing foils of the tested biomaterials. Pure PGLA foil was used as a control (CTR) material. Cells were cultured for 3 or 7 days. Subsequently, morphology of cells adhering to the biomaterials was observed using the inverted microscopy. Supernatants from cell cultures were collected and frozen at -20°C prior to cytotoxicity, protein and nitric oxide evaluation.

### Cell morphology and viability

Cells were stained for 2 min with 0.01% acridine orange (Sigma-Aldrich, Germany) in PBS, washed with PBS, and observed using the fluorescent microscope (Olympus CX41, Japan).

### Cytotoxicity assay

The loss of cell membrane integrity is reflected in the release of adenylate kinase AK, which can be detected using the firefly luciferase system (ToxiLight® BioAssay Kit, Lonza, Basel, Switzerland), a highly sensitive assay designed to measure cell membrane damage [9]. After 3 and 7 days of osteoblast incubation on the tested biomaterials, 5  $\mu$ l of culture media was transferred to wells of a 384-well plate (Nunc, Denmark) and 25  $\mu$ l of the Adenylate Kinase Detection Reagent (AKDR) were added per well. The plates were incubated for 5 min in the dark, and then luminescence was measured using the luminometer (PolarStar Omega) at 565 nm. Culture medium served as negative control, while cells treated with active AKDR reagent were used as positive control.

### Nitrite/nitrate (NO) production

The total amount of NO ( $\text{NO}_2^-$  and  $\text{NO}_3^-$ ) was measured as described previously [10]. Briefly, nitrate was reduced to nitrite by addition of nitrate reductase, FAD and NADPH (all from Sigma-Aldrich, Germany) and then NADPH was oxidized by lactate dehydrogenase in the presence of sodium pyruvate (both from Sigma-Aldrich, Germany). Finally, nitrite concentration in the samples was measured by the Griess reaction, by adding Griess reagents (0.1% naphthaethylenediamine dihydrochloride in  $\text{H}_2\text{O}$  and 1% sulphaniamide in 5% concentrated  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ; 1:1 vol/vol) in a ratio 1:1 to samples and standards. Sodium nitrite solution was used as an internal control for the Griess assay and  $\text{NaNO}_3$  (both from Sigma-Aldrich, Germany) as controls for reduction step. The NO levels were measured at 540 nm with Expert Plus spectrophotometer (Asys Hitech, Eugendorf, Austria).

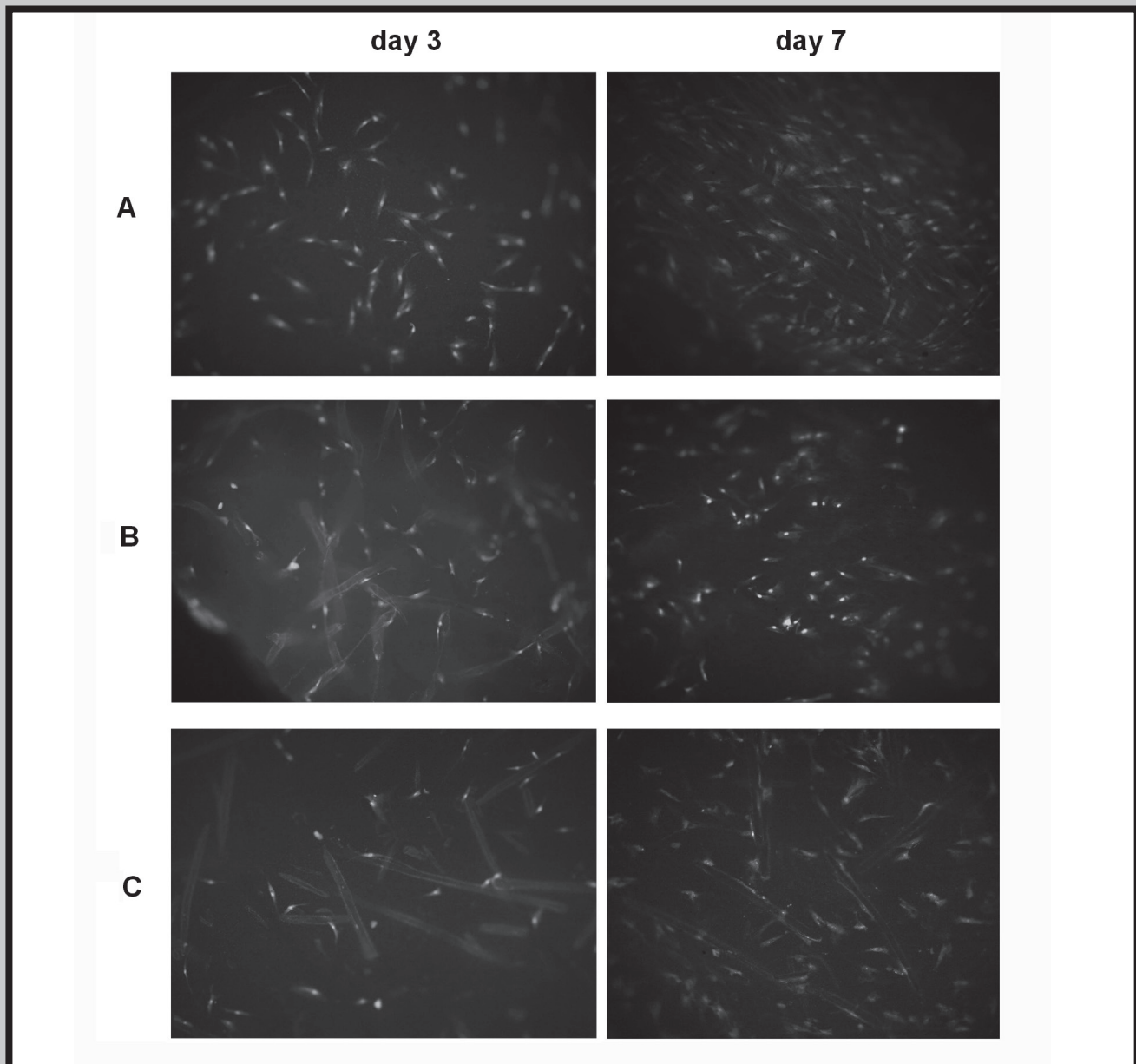


FIG. 1. Morphology of NHOst osteoblasts cultured on a control material PGLA and on PGLA including nanoadditives [CAS/PGLA or CAH/PGLA]. Morphology of cells was analyzed in fluorescence microscopy after 3 (left panel) and 7 days (right panel) of incubation. Analyzed materials: PGLA (A) CAS/PGLA (B), CAH/PGLA (C).



## Protein production

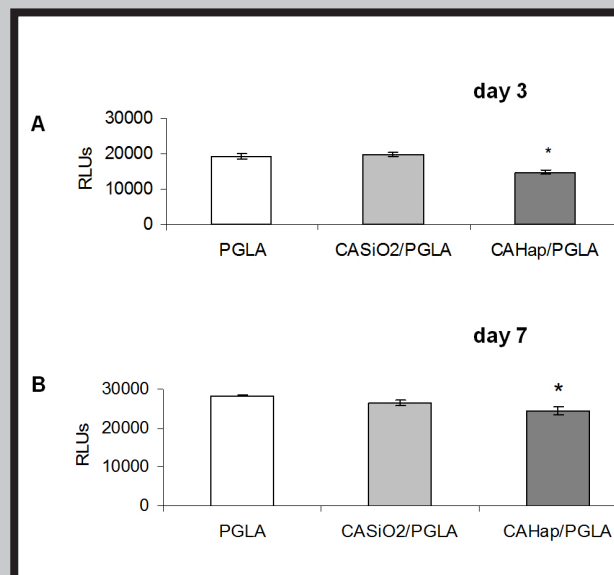
Protein concentration in the supernatants collected from cell cultures was measured by the colorimetric BCA method as described previously [11]. Briefly, a mixture of copper (II) sulfate solution (CS, Sigma-Aldrich, Germany) and bicinchoninic acid solution (BCA; Sigma-Aldrich, Germany) in a ratio of 1:50 was prepared. Subsequently 10  $\mu$ l of each tested sample was transferred to wells of a 96-well plate and then 200  $\mu$ l of the CS/BCA mixture was added. The plates were incubated for 30 minutes in the dark. The optical density was measured at 570 nm with Expert Plus spectrophotometer (Asys Hitach, Austria).

## Statistics

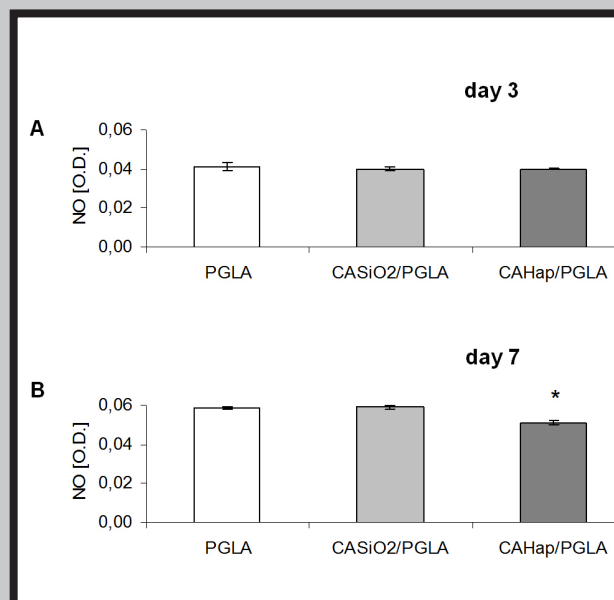
The results were presented as mean values  $\pm$  standard error (SEM). Statistical analyses were performed using the T-Tukey's test. The statistical significance of differences was set at  $p < 0.05$ .

## Results and discussion

Disruptions of the cell functions, their adherence, proliferation or secretory activity, may lead to delayed and/or incorrect integration of implanted biomaterial with recipient tissue. This can for example affect balance between bone formation and resorption reactions, which may then cause decrease of bone mass at the implantation site [12]. Although suitable for use in bone tissue regeneration physico-chemical properties of synthetic biodegradable polymers have been developed so far none of bioactive polymer culture medium does not satisfy the assumptions of the bone tissue engineering [13]. Therefore, in the present work we focused on examining the functioning of NHOst osteoblasts in vitro on polymer-fibre composites containing silica and hydroxyapatite nanoparticles. These nanoparticles gradually released from matrix supposed to improve osteoinductive or osteoconductive properties of biomaterials. We studied cell morphology, viability, and their secretory activity. On day 3 of culture the highest concentration of cells was observed on the surface of PGLA control material while fewer cells adhered to CAS/PGLA and CAHA/PGLA materials. Morphology of cells adherent to all materials was similar, osteoblasts adopted spindle shape (FIG. 1A). On day 7 number of the cultured cells increased on all materials in comparison to day 3, though the highest number of adherent osteoblasts was still observed on the control PGLA (FIG. 1B). Reduced osteoblast adherence/proliferation on materials with nanoparticles may be associated with their higher roughness. It was observed previously that smooth PGLA surface facilitates cell adherence and proliferation, whereas a rougher surface e.g. of PGLA modified by fibres hampers both processes [14-15]. However, same authors [9] showed that in vivo nanoparticles can form an anchor site for bone cells and therefore facilitate integration of implant. Both on day 3 and day 7 of culture a level of adenylate kinase (AK) in supernatant from osteoblasts cultured on CAS/PGLA was comparable to AK level measured in supernatants from cells cultured on control PGLA material (FIG. 2A and 2B), while it was lower in supernatants collected from cell cultures containing CAH/PGLA (FIG. 2A and 2B). These results are consistent with results of experiments obtained by Nie and co-workers [16], which showed that PGLA encapsulated with hydroxyapatite reduced the cytotoxicity of this material. Probably higher cytotoxicity of PGLA in vitro is the result of acidic pH of its degradation products. PGLA is yet successfully used as a material for implantation thanks to different regulation of system acidity changes in vivo [14]. Present results suggest that addition of CAH reduced cytotoxicity of the initial PGLA material.

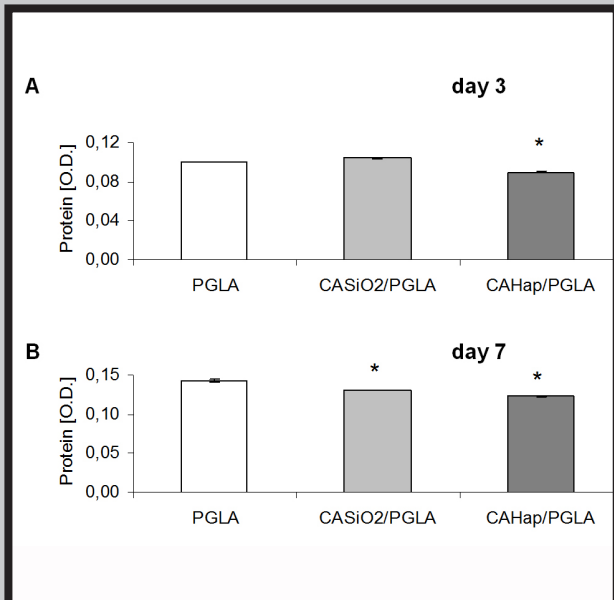


**FIG. 2. Cytotoxic effect of control material PGLA and nanocomposites materials basing on PGLA on NHOst osteoblast. Cells were cultured on biomaterials either 3 (A) or 7 days (B).**



**FIG. 3. Production/release of nitric oxide (NO) by NHOst osteoblasts cultured on PGLA and nanocomposites materials basing on PGLA. Cells were cultured on biomaterials either 3 (A) or 7 days (B). All results are shown as means  $\pm$  SE. \* indicates values significantly different compared to the control by ( $p < 0.05$ ).**

Interestingly, osteoblasts cultured on this material released to supernatant lower amounts of proteins (on day 3 and 7, FIG. 4A, FIG. 4B) and nitric oxide (day 7, FIG. 3B) compared to cells cultured on PGLA only. Nitric oxide (NO) is an important immune mediator with profound cytotoxic effects towards surrounding cells and tissues [17]. Consequently, NO serves as a good indicator of inflammation and should be monitored e.g. during the wound healing process [18]. Reduced secretion of proteins and NO by osteoblasts cultured on CAH/PGLA suggests that hydroxyapatite nanoparticles did not stimulate inflammatory reaction which can be a good predictor for the future in vivo studies.



**FIG. 4. Production/release of proteins by NHOst osteoblasts cultured on PGLA and nanocomposites materials based on PGLA. Cells were cultured on biomaterials either 3 (A) or 7 days (B). All results are shown as means $\pm$ SE. \*indicates values significantly different compared to the control by ( $p < 0.05$ ).**

## Conclusions

The investigations demonstrated that the produced composite hybrid materials which were a multilevel composite consisting biopolymer fibers (CA) with nanoparticles ( $\text{SiO}_2$ , HA) can be applied in regenerative medicine. We can conclude that the addition of nanohydroxyapatite in biopolymer fibres to PGLA had a positive effect on osteoblast viability and activity, but more detailed studies are necessary to clarify its influence on bone formation.

## Acknowledgements

*This work was supported by The Ministry of Science and Higher Education, grant No. N50804932.*

## References

- [1] Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J., Lemons J.E.: *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine* 2nd Edition, Elsevier Academic Press, Amsterdam 2004.
- [2] Langer R., Vacanti J.P.: *Tissue engineering. Science* 260 (1993) 920-6.
- [3] Maquet V., Boccaccini A.R., Pravata L., Notingher I., Jerome R.: Porous poly(a-hydroxyacid)/bioglass composite scaffolds for bone tissue engineering. Preparation and in vitro characterization. *Biomaterials* 25 (2004) 4185-94.
- [4] Mano J.F., Sousa R.A., Boesel L.F., Neves N.M., Reis R.L.: Bioinert, biodegradable and injectable polymeric matrix composites for hard tissue replacement: stste of the art and recent developments. *Compos Sci Technol* 64 (2004) 789-817.
- [5] Chouzouri G., Xanthos M. In vitro bioactivity and degradation of polycaprolactone composites containing silicate fillers. *Acta Biomater* 3 (2007) 745-56.
- [6] Vollath D.: *Nanomaterials: An introduction to synthesis, properties and applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, Weinheim 2008.
- [7] Montjovent M.O., Mathieu L., Hinze B., Applegate L.L., Bourban P.E., Zambelli P.Y., Minson J.A., Pioletti D.P.: Biocompatibility of bioresorbable poly(L-lactic acid) composite scaffolds obtained by supercritical gas foaming with human fetal bone cells. *Tissue Engineering* 11 (2005) 1640-49.
- [8] Stodolak E., Scisłowska-Czarnecka A., Blazewicz M., Bogun M., Mikolajczyk T., Menaszek E.: Biocompatibility of hybrid fibrous materials basing on poly-L/DL-lactide, *Engineering of Biomaterials* 99-101 (2010) 110-112.
- [9] Crouch S.P.M., Kozłowski R., Slater K.J., Flechter J.: The use of ATP bioluminescence as a measure of cell proliferation and cytotoxicity. *J. Immunol Methods* 160 (1993) 81-8.
- [10] Sun J., Zhang X., Broderick M., Fein H.: Measurement of Nitric Oxide Production in Biological Systems by Using Griess Reaction Assay. *Sensors* 3 (2003) 276-284.
- [11] Stoscheck CM.: Quantitation of Protein. *Methods in Enzymology* 182 (1990) 50-69.
- [12] Hsieh T.P., Sheu S.Y., Sun J.S., Chen M.H., Liu M.H.: Icarin isolated from *Epimedium pubescens* regulates osteoblasts anabolism through BMP2, SMAD4 and Cbfa1 expression. *Phytomedicine* 17 (2010) 414-23.
- [13] Ngiam M., Liao S., Patil A.J., Cheng Z., Chan C.K., Ramakrishna S.: The fabrication of nano-hydroxyapatite on PLGA and PLGA/collagen nanofibrous composite scaffolds and their effects in osteoblastic behavior for bone tissue engineering. *Bone* 45 (2009) 4-16.
- [14] Anselme K., Bigerelle M., Noel B., Dufresne E., Judas D., Iost A., Hardouin P.: Qualitative and quantitative study of human osteoblast adhesion on materials with various surface roughnesses. *Journal of Biomedical Materials Research* 49 (2000) 155-66.
- [15] Nie H., Soh B.W., Fu Y.C., Wang C.H.: Three-dimensional fibrous PLGA/HAp composite scaffold for BMP-2 delivery. *Biotechnology and Bioengineering* 99 (2008) 233.
- [16] Nałęcz M.: *Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna*, tom 4, Błażewicz S., Stoch L.: *Biomateriały*, Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT, Warszawa 2004, 425-517.
- [17] Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L.: Nitric oxide and peroxynitrate in health and disease. *Physiol Rev* 87 (2007) 315-424.
- [18] Yamasaki K., Edington H., McClosky C., Tzeng E., Lizonova A., Kovacs I., Steed D. and Billiar T.: *J Clin Invest* 101 (1998) 967.

# WSTĘPNA OCENA BUDOWY CHEMICZNEJ I STRUKTURY FAZOWEJ NOWYCH SAMOORGANIZUJĄCYCH SIĘ POLI(ARYLANO-ESTRÓW) JAKO SYSTEMÓW DLA KONTROLOWANEGO UWALNIANIA LEKÓW

JOANNA GAJOWY, AGATA NIEMCZYK, MIROSLAWA EL FRAY\*

ZACHODNIOPOMORSKI UNIWERSYTET TECHNOLOGICZNY  
W SZCZECINIE, INSTYTUT POLIMERÓW,  
ZAKŁAD BIOMATERIAŁÓW I TECHNOLOGII MIKROBIOLOGICZNYCH  
UL. PUŁASKIEGO 10, 70-322 SZCZECIN  
\* E-MAIL: MIRFRAY@ZUT.EDU.PL

## Streszczenie

Nowe amfipatyczne poli(arylano-estry) wykazujące samoorganizację makrocząsteczek (w stanie stopionym lub w roztworach) stanowią interesującą grupę materiałów o różnorodnych właściwościach i zastosowaniach m.in. w technikach medycznych jako systemy kontrolowanego uwalniania leków. Głównym celem pracy była wstępna ocena budowy chemicznej i struktury fazowej nowych materiałów polimerowych wykazujących zjawisko samoorganizacji makrocząsteczek. Do określenia budowy chemicznej produktu finalnego wykorzystano metodę spektroskopii w podczerwieni (ATR FTIR), strukturę fazową oceniono na podstawie analiz termogramów DSC, możliwość powstawania micelarnych/nanosferycznych samoorganizujących się struktur oraz krytyczne stężenie micelizacji oceniono metodą spektroskopii UV-VIS. Analiza wyników spektrofotometrycznych potwierdziła budowę chemiczną nowych poli(arylano-estrów) modyfikowanych polietarami o różnych masach molowych. Termogramy DSC wykazały dobrą separację mikrofazową dla materiału modyfikowanego polietarem o masie molowej 2000 g/mol, a krytyczne stężenie micelizacji dla tego materiału określone techniką spektrofotometryczną wyniosło 0,2%(w/v). Przedstawione w pracy wyniki dają podstawę do kontynuacji badań nad modyfikacją otrzymanych poli(arylano-estrów) innymi substancjami (nie tylko polietarami) w celu otrzymania materiałów o jak największej zdolności do samoorganizacji makrocząsteczek.

**Słowa kluczowe:** micidele, nanosfery, kontrolowane uwalnianie leków, poli(arylano-estry), tyrozyna, kwas tłuszczowy

[Inżynieria Biomateriałów, 112, (2012), 6-11]

## Wprowadzenie

Na przestrzeni ostatnich lat obserwuje się intensywny rozwój w dziedzinie syntezy i badań nowych związków wielocząsteczkowych do zastosowań medycznych, w tym farmaceutycznych. Jednym z nurtów badań jest opracowanie nowych amfifilowych/amfipatycznych polimerów zdolnych do samoorganizacji makrocząsteczek [1].

# PRELIMINARY INVESTIGATIONS OF CHEMICAL AND PHASE STRUCTURE OF POLY(ARYLANE-ESTER) SELF-ASSEMBLIES AS POTENTIAL DRUG DELIVERY SYSTEMS

JOANNA GAJOWY, AGATA NIEMCZYK, MIROSLAWA EL FRAY\*

WEST POMERANIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY  
IN SZCZECIN, POLYMER INSTITUTE,  
DIVISION OF BIOMATERIALS AND MICROBIOLOGICAL TECHNOLOGIES  
UL. PUŁASKIEGO 10, 70-322 SZCZECIN, POLAND  
\* E-MAIL: MIRFRAY@ZUT.EDU.PL

## Abstract

New amphipathic poly(arylane-ester)s with self-assembling macromolecules (in the melt or in solution) are an interesting group of materials possessing diverse properties which found application in medical science, mainly as drug delivery systems. The main objective of this paper was a preliminary evaluation of the chemical and phase structure of new polymeric materials capable to self-assembly in a solution. The chemical structure of the final product was characterized by ATR FTIR spectroscopy, the phase structure was estimated based on DSC analysis, the ability to create self-assembled micellar/nanospheric structures and the critical micelle concentration were characterized by UV-VIS spectroscopy. FTIR analysis confirmed that new poly(arylane-ester)s modified with polyethers of different molecular masses were obtained. DSC thermograms indicated the micro-phase separation of molecular structure for material modified with poly(ethylene glycol) (PEG) of 2000 g/mol. The critical micelle concentration for this material was 0.2%(w/v) as determined by spectroscopic technique. The obtained results are good promise for further modification of synthesized poly(arylane-ester) with other monomers (not only polyethers) to obtain materials with higher capacity to self-assembly into well-defined micells/nanospheres.

**Keywords:** micelle, nanospheres, controlled drug delivery, poly(arylane-ester)s, tyrosine, fatty acid

[Engineering of Biomaterials, 112, (2012), 6-11]

## Introduction

The intensive development in the field of synthesis and research on new polymers for medical applications, including pharmaceuticals is observed over last several years. One of the emerging field is the research on the development of new amphiphilic/amphipathic polymers capable to self-assembly into well-defined and ordered structures [1].

The self-assembly process can be defined as a spontaneous grouping of macromolecules leading to the formation a morphological structures in the melt (e.g. crystalline domains or glassy spheres in block copolymers), or various structural forms such as micelles, polymerosomes, micro/nanospheres in aqueous environments. The process is a result of existence of weak bonds and interactions, i.e. hydrogen bonds, and van der Waals or electrostatic interactions, between the specific parts of macromolecules [1-3].



Proces samoorganizacji (ang. self-assembly) można zdefiniować jako spontaniczne grupowanie się makrocząsteczek, prowadzące do tworzenia się różnych struktur morfologicznych w stanie skondensowanym (stopionym) (np. krystalicznych domen lub zeszkłonych sfer w kopolimerach blokowych) lub różnorodnych form strukturalnych w środowisku wodnym (micelle, polimerosomy, mikro/nanosfery). Proces ten zachodzi dzięki występowaniu słabych, niekowalencyjnych oddziaływań pomiędzy cząsteczkami tj. wiązań wodorowych, oddziaływań van der Waalsa oraz wiązań jonowych sprzyjających tworzeniu się stabilnych struktur [1-3].

Tworzenie się struktur morfologicznych w kopolimerach blokowych w stanie skondensowanym jest efektem mikro-separacji fazowej na skutek krystalizacji i/lub zeszklenia termodynamicznie niemieszalnych bloków. W zależności od stopnia mikro-separacji fazowej, mogą tworzyć się struktury lamelarne, składające się z krystalicznych lameli rozmieszczonych w fazie amorficznej lub struktury o charakterze sferycznych albo cylindrycznych mikrodomen [4]. Podobne zjawisko tworzenia się uporządkowanych form strukturalnych kopolimerów blokowych można również osiągnąć w roztworach wodnych lub mieszaninie woda/olej, zwłaszcza w przypadku kopolimerów o właściwościach amfifilowych. Uzyskuje się wówczas struktury micelarne, które mogą stać się bardzo dogodną formą enkapsulacji leków, gdyż w zależności od budowy kopolimeru, rodzaju rozpuszczalnika lub sposobu prowadzenia procesu można wpływać na wielkość tworzących się struktur, a tym samym na ilość leku zamykanego we wnętrzu miceli [5].

Szczególnie interesującymi materiałami polimerowymi dla zastosowań medycznych są biodegradowalne, amfifilowe triblokowe kopolimery, których amfifilowy charakter jest określony przez hydrofilową otoczkę i hydrofobowy rdzeń [6]. Dlatego też, z punktu widzenia możliwości wykorzystania polimerów amfifilowych do spontanicznego tworzenia się struktur micelarnych (ale nie tylko) jako obiektów do enkapsulacji leków, w przedstawionej pracy dokonano wstępnej oceny budowy chemicznej i struktury fazowej nowych poli(arylano-estrów) modyfikowanych polietarami o różnej masie molowej. Hydrofobowy rdzeń stanowił oligomer składający się z pochodnej tyrozyny oraz dimeryzowanego kwasu tłuszczowego zawierający w swojej strukturze 36 atomów węgla; natomiast hydrofilową otoczkę budował polieter o zmiennej masie molowej.

W pracy przedstawiono badania nad wpływem masy cząsteczkowej polieteru na strukturę fazową i zdolność do samoorganizacji makrocząsteczek w środowisku wodnym.

## Materiały i metody badawcze

Do badań wykorzystano poli(arylano-estry) zawierające 32,5%(w/w) estru heksylowego dezaminotyrozylotyrozyny (DTH), 50%(w/w) dimeryzowanego kwasu tłuszczowego (DLA) oraz 17,5%(w/w) poli(glikolu etylenowego) (PEG) o zmiennych masach molowych (1000 g/mol i 2000 g/mol), syntezowane w obecności 1-etylo-1'-dimetyloaminopropylkarbodiimidu (EDC) i 4-(dimetyloamino)-pirydiny (DMAP), w środowisku dichlorometanu (DCM) w temperaturze pokojowej. Schemat syntezy przedstawiony jest na RYS. 1.

DTH zsyntezowano według procedury opisanej w [7,8]. DLA o nazwie handlowej Pripol 1009 i masie molowej ~570 g/mol uzyskano dzięki uprzejmości firmy Croda®, The Netherlands. DLA został poddany procesowi oczyszczania według procedury opisanej w [9]. Użyty w reakcjach katalizator EDC otrzymano z firmy GenScript Biology CRO for Drug Discovery. Pozostałe substancje pomocnicze otrzymano z firmy Aldrich Chemical. Użyty jako środowisko reakcji chlorek metylenu został przed użyciem przedestylowany z nad wodorku wapnia w celu pozbycia się resztek wilgoci zawartej w rozpuszczalniku.

The formation of morphological structures in block copolymers in the condensed state is a result of micro-phase separation due to crystallization and/or glass transition of thermodynamically immiscible blocks. Depending from the degree of micro-phase separation different morphological structures, such as lamellas, spheres or cylinders can be formed [4]. A similar phenomenon of ordered structures formation of block copolymers can also be achieved in aqueous solutions or water/oil, especially in the case of copolymers with amphiphilic properties. Obtained micelles of nanospheres can be very attractive forms for drugs encapsulation, because depending from the copolymer structure, type of solvent or processing method, various sizes of structures can be achieved, and thus the amount of encapsulated drug can be adopted to specific therapy [5].

Biodegradable, amphiphilic triblock copolymers, in which amphiphilic character is determined by hydrophilic shell and hydrophobic core are particularly interesting polymeric materials for medical applications [6]. Therefore, from the point of view of possible use of self-assembling polymeric micellar structures (but not only) for drug encapsulation, the preliminary evaluation of chemical and phase structure of new poly(aryl-ester)s modified with polyethers of a different molecular masses is discussed in this paper. The hydrophobic core was an oligomer consisting of tyrosine and dimerized fatty acid derivative, while the hydrophilic shell was built up by polyethers of different molecular masses.

In this work, the influence of different molecular masses of poly(ethylene glycol) (PEG) on the phase structure and the ability of macromolecules to self-assemble in aqueous environments is discussed.

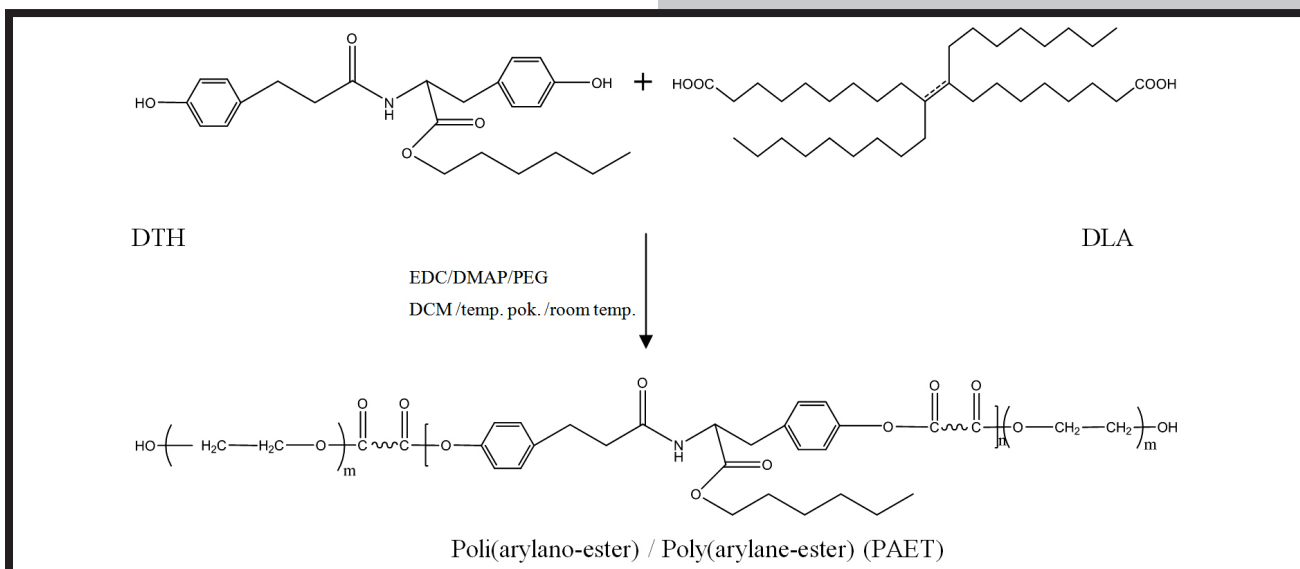
## Materials and methods

Poly(arylane-ester)s containing 32.5 wt% of desaminotyrosine-tyrosine-hexyl ester (DTH), 50 wt% of dimerized fatty acid (DLA) and 17.5 wt% of poly(ethylene glycol) (PEG) of variable molecular masses (1000 g/mol and 2000 g/mol) were synthesized in a presence of 1-ethyl-3-(3-dimethylamino propyl)carbodiimide hydrochloride (EDC·HCl) and 4-dimethylaminopyridine (DMAP) as catalysts, in dichloromethane (DCM) solution, at room temperature. The synthesis scheme is shown in FIG. 1.

DTH was synthesized according to previously published procedures [7,8]. Dimerized fatty acid, a hydrogenated diinoleic acid (DLA), trade name Pripol 1009 of molecular weight ~570 g·mol<sup>-1</sup>, was kindly provided by Croda®, The Netherlands. DLA was purified according to previously published procedures described in [9]. EDC HCl was obtained from GenScript Biology CRO for Drug Discovery. Other chemicals were obtained from Aldrich Chemical. Dichloromethane was distilled over the calcium hydride before the use to remove residual moisture from the solvent.

The chemical structure of new poly(arylane-ester)s (PAET) was characterized by Fourier transform attenuated total reflection infrared spectroscopy (ATR-FTIR). Spectra were obtained using the Nexus FTIR spectrometer (Nicolet Instrument Corporation, U.S.A.) equipped with the Golden Gate Single Reflection Diamond ATR (Specac INC, U.S.A.) scanning between 600 and 4000 cm<sup>-1</sup>.

The phase structure of PAET was characterized by differential scanning calorimetry (DSC). DSC scans were performed on the TA Instruments (DSC Q100) apparatus. The samples were dried under vacuum at room temperature for 2 days. The process was carried out in a triple cycle: first heating in the temperature range from 25°C to 150°C, then cooling in the temperature range from 150°C to -90°C, and second heating in the temperature range from -90°C to 180°C. The rate of heating and cooling was 10°C min<sup>-1</sup>.



**RYS. 1. Schemat otrzymywania poli(arylano-estru)tyrozyny (PAET) modyfikowanego PEG (1000 i 2000 g/mol).  
 FIG. 1. Synthesis scheme of tyrosine poly(arylane-ester) modified with PEG (1000 and 2000 g/mol).**

Budowę chemiczną zsyntezowanych nowych poli(arylano-estrow) (PAET) scharakteryzowano metodą spektroskopii w podczerwieni (ATR-FTIR), wykonując badania na spektrometrze firmy Nexus FTIR (Nicolet Instrument Corporation, U.S.A.) zaopatrzonem w przystawkę Golden Gate Single Reflection Diamond ATR (Specac INC, U.S.A.) o zakresie skanowania od 600 do 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

Strukturę fazową PAET scharakteryzowano metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC), na aparacie TA Instruments (DSC Q100). Próbki były suszone pod próżnią w pokojowej temperaturze przez 2 dni. Proces był prowadzony w trzech cyklach: pierwsze ogrzewanie w zakresie od 25°C do 150°C, następnie chłodzenie od 150°C do -90°C, i drugie ogrzewanie w zakresie temperatur od -90°C do temperatury 180°C. Proces grzania i chłodzenia prowadzony był z szybkością 10°C  $\text{min}^{-1}$ .

Zdolność samoorganizacji makrocząsteczek poli(arylano-estrow) w roztworach wodnych do form micelarnych/nanosferycznych została oceniona metodą spektrofotometrii UV-VIS. Badania wykonano na dwuwiązkowym spektrofotometrze UV-VIS firmy Specord M40 o zakresie długości falowej od 185 do 900 nm i zakresie pomiaru absorpcji od 0 do 3,99 ABS.

Krytyczne stężenie micelizacji określono przy pomocy spektroskopowego wskaźnika 1,6-Difenylo-1,3,5-heksatrienu (DPH, Aldrich Chemicals), a próbki do badań jak i sam wskaźnik przygotowano według procedury opisanej w [10].

## Wyniki i dyskusja

Analiza budowy chemicznej na podstawie widm ATR FTIR (RYS. 2) potwierdziła otrzymanie poli(arylano-estrow) tyrozyny syntezowanych w obecności EDC i DMAP jako katalizatorów w temperaturze pokojowej w środowisku dichlorometanu, o czym świadczy zmiana intensywności pasma charakterystycznego dla drgań rozciągających grupy estrowej, obecność intensywnego podwójnego pasma w zakresie 3000-2800  $\text{cm}^{-1}$ , charakterystycznego dla dimezywanego kwasu tłuszczowego oraz obecność rozmytego pasma w zakresie 3500-3000  $\text{cm}^{-1}$ , charakterystycznego dla drgań rozciągających grup końcowych -OH pochodzących od polieterów.

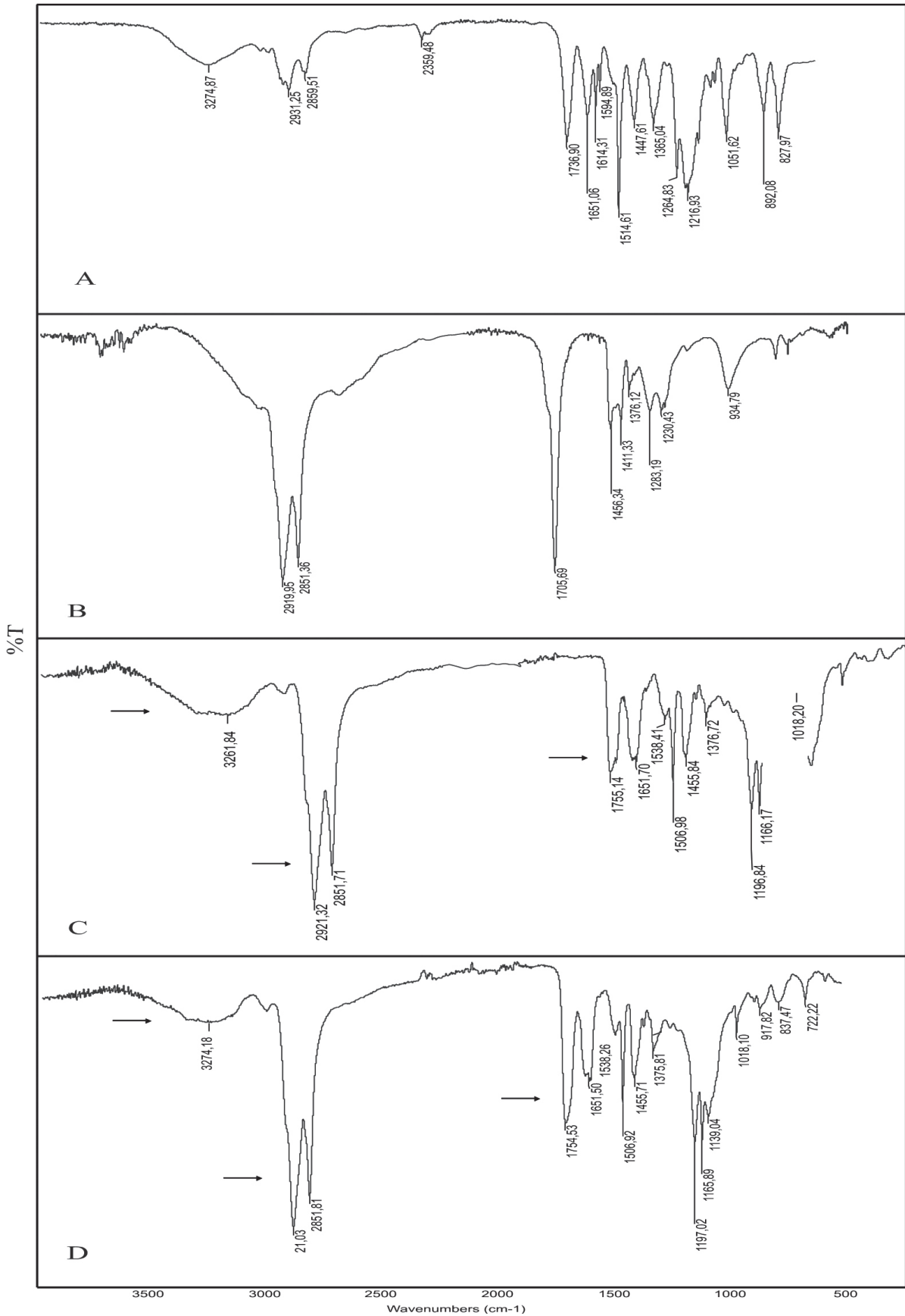
The ability to self-assembly of poly(arylane-ester) macromolecules in aqueous solution to micellar/nanospheric forms was characterized by UV-VIS spectroscopy. The study was carried out with the SPECORD M40 UV-VIS double beam type spectrometer, in the wavelength range from 185 to 900 nm and the absorption from 0 to 3.99 ABS.

The critical micelle concentration (CMC) was determined using spectroscopic indicator - 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene (DPH, Aldrich Chemicals). The sample test and indicator were prepared by the procedure described in [10].

## Results and Discussion

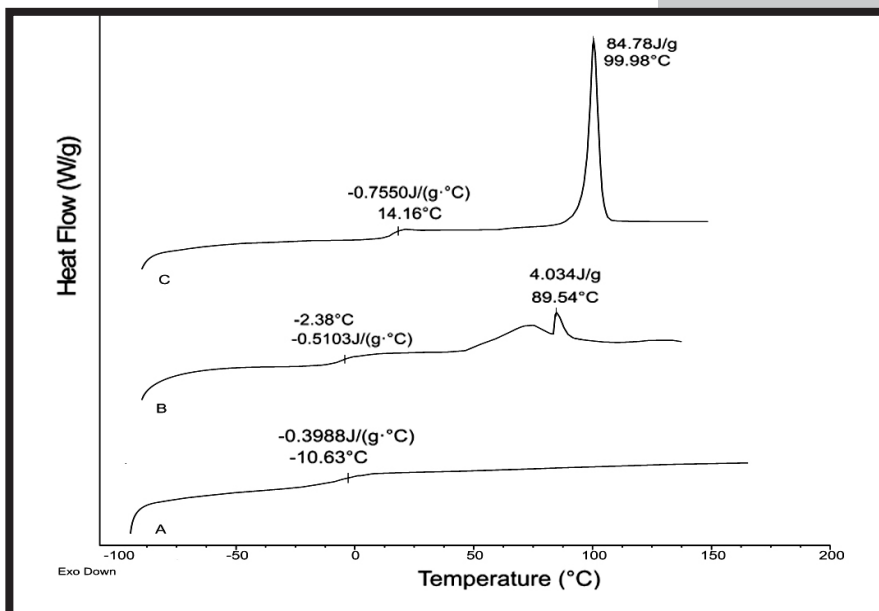
The ATR-FTIR spectra of the starting monomers DTH and DLA as well as the final materials – PAET modified with poly(ethylene glycol) (PEG) of molecular masses of 1000 and 2000 g/mol are shown in FIG. 2. The analysis of ATR FTIR spectra confirmed that synthesized materials are tyrosine poly(arylane-ester)s. The progress of the reaction and the final chemical structure was evidenced by the change in the intensity of bands characteristic for stretching vibrations of the ester group, the presence of intense double-peaks (in the range 3000-2800  $\text{cm}^{-1}$ ) which are characteristic for long methylene sequence in dimerized fatty acid, as well as the presence of broad bands in the range of 3500-3000  $\text{cm}^{-1}$ , characteristic for stretching vibrations of the OH end groups derived from polyethers.

The DSC investigations illustrated by the melting endotherms shown in FIG. 3, displayed temperature transitions indicating the presence of the microphase separated structure of PAET modified with polyethers. The thermogram for unmodified PAET (FIG. 3B) shows a small peak associated with the melting of crystalline phase, and the glass transition temperature at -2.3°C. Modification of PAET with PEG of molecular mass of 2000 g/mol causes increase in structure ordering and phase separation as well as significant increase of intensity of the endotherm coming from crystalline phase melting. The melting transitions associated with crystalline PEG is well defined in the graph, and the glass transition occurs at higher temperature (14.2°C, FIG. 3C). For the comparison, the thermogram of a monomer used in the reaction - DTH (FIG. 3A) is presented, and its glass transition temperature was -10.6°C.



RYS. 2. Widma ATR FTIR estru heksylowego dezaminytyrozylo-tyrozyny (DTH) - A, dimeryzowanego kwasu tłuszczowego (DLA) - B, poli(arylano-estru) tyrozyny modyfikowanego PEG o masie molowej 1000 g/mol - C, poli(arylano-estru) tyrozyny modyfikowanego PEG o masie molowej 2000 g/mol - D.  
 FIG. 2. ATR FTIR spectra of desaminytyrosyl-tyrosine-hexyl ester (DTH) - A, the dimerized fatty acid (DLA) - B, the tyrosine poly(arylane-ester) modified with polyether of molecular mass of 1000 g/mol - C and the tyrosine poly(arylane-ester) modified with polyether of molecular mass of 2000 g/mol - D.





**RYS. 3.** Termogramy DSC przedstawiające endotermie topnienia estru heksylowego dezaaminotyrozylu-tyrozyny (DTH) - A, poli(arylano-estru) tyrozyny niemodyfikowanego - B, poli(arylano-estru) tyrozyny modyfikowanego PEG o masie molowej 2000 g/mol - C.

**FIG. 3.** DSC thermograms showing the melting endotherms of desaminotyrosyl-tyrosine-hexyl ester (DTH) - A, unmodified tyrosine poly(arylane-ester) - B, tyrosine poly(arylane-ester) modified by polyether of molecular mass of 2000g/mol - C.

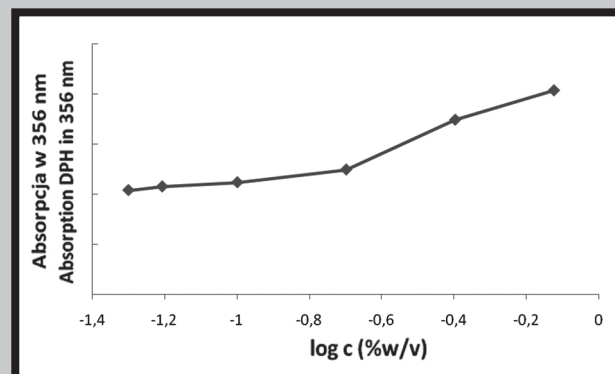
Przeprowadzone badania DSC wykazały znaczący wpływ modyfikacji polieterami na strukturę fazową PAET. Niemodyfikowany PAET (RYS. 3B) charakteryzuje się niewielkim pikiem związanym z procesem topnienia fazy krystalicznej oraz temperaturą zeszklenia wynoszącą  $-2,3^{\circ}\text{C}$ . Modyfikacja PEAT polieterem o masie molowej 2000 g/mol powoduje porządkowanie struktury fazowej, wzrost separacji fazowej oraz znaczący wzrost intensywności endotermii związanej z topnieniem fazy krystalicznej. Proces modyfikacji wpłynął także na temperaturę zeszklenia badanych poli(arylano-estrow). Temperatura ta dla modyfikowanego materiału jest wyższa i wyniosła  $+14,2^{\circ}\text{C}$  (RYS. 3C). W celu porównawczym na wykresie zamieszczono termogram monomeru użytego w reakcji - DTH (RYS. 3A), który charakteryzował się amorficzną strukturą, a jego temperatura zeszklenia wyniosła  $-10,6^{\circ}\text{C}$ .

W pracy nie umieszczono termogramów poli(arylano-estru) tyrozyny modyfikowanego PEG o masie molowej 1000 g/mol, gdyż na termogramach tych nie zaobserwowano efektów przemian fazowych, świadczących o wystąpieniu mikroseparacji fazowej otrzymywanych kopolimerów.

Krytyczne stężenie micelizacji, a tym samym zdolność samoorganizacji makrocząsteczek poli(arylano-estru) modyfikowanego polieterem o masie molowej 2000 g/mol, w roztworach wodnych do form micelarnych/nanosferycznych została oceniona metodą spektrofotometrii UV-VIS. Przygotowano mieszaniny polimeru w wodzie dla zakresu stężeń od 0,05 do 0,75%(w/v) z udziałem odpowiedniej ilości wskaźnika 1,6-difenylo-1,3,5-heksatrienu, zgodnie z procedurą opisaną w [10]. Według tej samej literatury wartość długości fali, przy której występuje pik o największej intensywności absorpcji, charakterystyczny dla użytego wskaźnika DPH wynosi 356 nm. W związku z tym, sporządzono wykres zależności absorpcji przy długości fali 356 nm od logarytmu ze stężenia polimeru w wodzie, RYS. 4. Z wykresu wynika, że wraz ze wzrostem stężenia polimeru w wodzie bardzo powoli rośnie absorpcja wskaźnika przez hydrofobowe fragmenty łańcucha, jednak przy pewnym stężeniu następuje gwałtowny skok wartości absorpcji, spowodowany utworzeniem miceli/nanosfer i z wiążącym się tym samym, rozpuszczeniem zaadsorbowanego DPH w hydrofobowym rdzeniu struktury. Na tej podstawie wyznaczono krytyczne stężenie micelizacji na poziomie  $c = 0,2\%(\text{w/v})$ .

We did not present the thermograms of tyrosine poly(arylane-ester) modified with PEG of molecular mass of 1000 g/mol, since no clearly developed thermal transitions confirming the micro-phase separation of copolymers was observed.

The ability poly(arylane-ester) macromolecules modified with polyether of molecular mass of 2000 g/mol to self-assemble in aqueous solution into micellar/nanospheric forms as well as critical micelle concentration was characterized by UV-VIS spectroscopy. Polymer mixtures in water in the concentration range from 0.05 to 0.75%(w/v) containing the appropriate amount of spectroscopic indicator - 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene (DPH) were prepared by the procedure described in [10]. According to the same literature, the wavelength value at which the most intense absorption occurs (characteristic for the DPH) is 356 nm. Therefore, the dependence of the absorption at 356 nm vs. logarithm of polymer concentration in water was investigated, as shown in FIG. 4. The graph shows that with increasing concentration of polymer in water the absorption of indicator increases slowly through the predominant presence of hydrophobic building blocks, but at certain concentration, considerable increase of absorption is noticed, what corresponds to the micelles/nanospheres formation, since DPH is dissolved in the hydrophobic core. Based on these measurements, the CMC was determined as  $c = 0.2\%(\text{w/v})$ .



**RYS. 4.** Wykres zależności absorpcji DPH przez hydrofobowy rdzeń polimeru przy 356 nm od logarytmu ze stężenia polimeru w wodzie.

**FIG. 4.** Absorption of DPH by the hydrophobic core at 356 nm as the function of the logarithm of polymer concentration in water.

## Wnioski

W pracy otrzymano nowe samoorganizujące się poli(arylano-estry) na podstawie pochodnej aminokwasu, tj. tyrozyny oraz kwasu tłuszczowego. Analiza widm ATR FTIR potwierdziła, że powiodła się próba otrzymania poli(arylano-estrów) tyrozyny modyfikowanych polieterymi o masach molowych 1000 i 2000 g/mol syntezowanych w obecności EDC HCl/DMAP. Analiza termogramów DSC wykazała, że zastosowanie PEG 2000 do modyfikacji PAET prowadzi do separacji fazowej mikrostruktury, co pozwoliło wytypować ten materiał do badań wstępnych wytwarzania układów micelarnych na podstawie PAET-PEG. Układy takie wytworzono stosując metodę *v/o* i na podstawie analizy widm spektrofotometrycznych wyznaczono krytyczne stężenie micelizacji, które dla PAET modyfikowanego PEG 2000 wyniosło 0,2%(w/v).

Uzyskane wyniki dają podstawę do kontynuacji badań nad poli(arylano-estrami) modyfikowanymi polieterymi o większym udziale wagowym oraz większej masie molowej, a wykorzystanie surowców pochodzenia naturalnego pozwoli na projektowanie tych układów jako np. systemów kontrolowanego uwalniania leków.

## Podziękowania

Praca finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki (NN507 319 440).

## Conclusions

The new poly(arylane-ester) self-assemblies based on amino acid derivative, i.e., tyrosine, and fatty acid were synthesized. ATR FTIR spectra confirmed chemical structure of synthesized poly(arylane-ester)s modified with poly(ethylene glycol) (PEG) of molecular masses of 1000 and 2000 g/mol synthesized in the presence of EDC and DMAP as catalysts. The analysis of DSC thermograms showed that the use of PEG 2000 g/mol for PAET modification leads to microphase phase, and this material was selected to preliminary tests the micelles formation capability of PAET-PEG systems. The micellar systems were prepared using *w/o* method and the critical micelle concentration was determined based on UV-VIS spectra analysis for PAET modified with PEG 2000 g/mol, and was found at 0.2%(w/v).

The results are good promise for further work on poly(arylane-ester)s, modified with higher concentration of polyethers and raw materials of natural origin as candidates for the drug delivery systems.

## Acknowledgements

*This work was financially supported by the National Science Center (NN507 319 440).*

## Piśmiennictwo

- [1] Branco M., Schneider P.J.: Self-assembling materials for therapeutic delivery. *Acta Biomaterialia* 5(3) (2009) 817-831.
- [2] Zhang S., Marini M.D., Hwang W., Santoso S.: Design of nanostructured biological materials through self-assembly of peptides and proteins. *Current Opinion in Chemical Biology* 6(6) (2002) 865-871.
- [3] Chow D., Nunalee M.L., Lim D.W., Simnick A.J.: Peptide-based biopolymers in biomedicine and biotechnology. *Materials Science and Engineering* 62(4) (2008) 125-155.
- [4] Schmalz H., Knoll A., Muller A.J., Abetz V.: Synthesis and characterization of ABC triblock copolymers with two different crystalline end blocks: Influence of confinement on crystallization behavior and morphology. *Macromolecules* 35 (2002) 10004-10013.
- [5] Gaucher G., Dufresne M.-H., Sant P.V., Kang N.: Block copolymer micelles: preparation, characterization and application in drug delivery. *Journal of Controlled Release* 109 (2005) 169-188.

## References

- [6] Sheihet L., Piotrowska K., Dubin RA., Kohn J., Devore D.: Effect of tyrosine-derived triblock copolymer compositions on nanosphere self-assembly and drug delivery. *Biomacromolecules* 8 (2007) 998-1003.
- [7] Gupta A.S., Lopina S.T.: Properties of l-tyrosine based polyphosphates pertinent to potential biomaterial applications. *Polymer* 46 (2005) 2133-2140.
- [8] Parth Nimish Shah: [dissertation] University of Akron; May 2009.
- [9] Wen-Xun G, Kai-Xun H.: Preparation and properties of poly(dimer acid-dodecanedioic acid) copolymer and poly(dimer acid-tetradecanedioic acid) copolymer. *Polymer Degradation and Stability* 84 (2004) 375-381.
- [10] Alexandridis P., Holzwarth J.F., Hatton T.A.: Micellization of poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) triblock copolymers in aqueous solutions: Thermodynamics of copolymer association. *Macromolecules* 27 (1994) 2414-2425.

# POROWATE MATERIAŁY NANO-KOMPOZYTOWE MODYFIKOWANE CZĄSTKAMI KRZEMIONKI

EWA STODOLAK-ZYCH<sup>1\*</sup>, ANNA PORĄBKĄ<sup>2</sup>, MARTA BŁĄŻEWICZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>AGH AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,  
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,  
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW,  
AL. A. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

<sup>2</sup>AGH AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,  
MIĘDZYWYDZIAŁOWA SZKOŁA INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ,  
AL. A. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

\* E-MAIL: STODOLAK@AGH.EDU.PL

## Streszczenie

W pracy otrzymano nanokompozyty poli-L/DL-laktidu (PLDLA) z nanocząstkami krzemionki, różniące się zawartością wymiarami cząstek: 5-10 nm (Aldrich) i 15 nm (NanoAmor) oraz rozwinięciem powierzchni. Wpływ nanododatków na matrycę polimerową określono przy pomocy badań mikrostruktury (AFM) oraz badań technikami FTIR-ATR. Próbkki modelowe w postaci folii 2D zostały poddane badaniom degradacji warunkach *in vitro*, których postęp badano przy zastosowaniu analizy termicznej (DSC/TG), spektroskopii w podczerwieni (FTIR). Rezultaty powyższych badań pozwoliły na wyselekcjonowanie nanonapełniacza, który zastosowano do otrzymania porowatych podłoży (3D). Scaffolds otrzymano metodą odmywania stosując jako porogen uwodnione sole fosforanowe. Na podstawie obserwacji mikrostruktury, pomiaru porowatości otwartej oraz badania mechanicznego gąbek wytypowano potencjalne podłoże dla komórek kostnych, wytworzone z najkorzystniejszym udziałem wagowym porogenu. Stwierdzono, że najlepsze właściwości mechaniczne porowatych nanokompozytowych materiałów otrzymuje się przy 50% udziale porogenu. Obecność nanocząstki ceramicznej wpływa na bioaktywność tworzywa (inkubacja w SBF).

**Słowa kluczowe:** nanokompozyt, bioaktywność, scaffolds, medycyna regeneracyjna

[Inżynieria Biomateriałów, 112, (2012), 12-19]

## Wprowadzenie

Tworzywa implantacyjne należące do grupy materiałów tzw. trzeciej generacji stanowią połączenie właściwości materiałów biomimetycznych (strukturą i funkcją przypominających naturalną tkankę) z ich potencjałem bioaktywnym [1]. Osteoinduktywny charakter tworzywa stymuluje proliferację i różnicowanie się komórek indukując procesy regeneracyjne tkanki kostnej [2]. Materiałami spełniającymi powyższe wymagania są nanokompozyty polimerowe. Niewielki udział bioaktywnego nanonapełniacza skutkuje zmianą właściwości tworzywa (np. poprawia właściwości mechaniczne, fizykochemiczne). Przyczyną takiego zachowania jest wpływ nanocząstki na strukturę matrycy (orientacja łańcucha, orientacja grup funkcyjnych) oraz możliwość powstania drugorzędowych wiązań chemicznych i oddziaływań elektrostatycznych [3]. Liczne dane literaturowe dotyczące polimerowych tworzyw nanokompozytowych wskazują, że ilość napełniacza istotnie wpływa na czas degradacji tworzywa [4,5].

# POROUS NANOCOMPOSITE MATERIALS MODIFIED WITH SILICA NANOPARTICLES

EWA STODOLAK-ZYCH<sup>1\*</sup>, ANNA PORĄBKĄ<sup>2</sup>, MARTA BŁĄŻEWICZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,  
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,  
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,  
AL. A. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKOW, POLAND

<sup>2</sup>AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,  
MULTIDISCIPLINARY SCHOOL OF ENGINEERING IN BIOMEDICINE,  
AL. A. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKOW, POLAND

\* E-MAIL: STODOLAK@AGH.EDU.PL

## Abstract

The paper presents poli-L/DL-lactide (PLDLA) nanocomposites containing silica nanoparticles which differ in size: 5-10 nm (Aldrich) and 15 nm (NanoAmor) as well as in the specific surface area. The influence of nanofillers on polymer matrix was determined through studies on microstructure (AFM) and FTIR-ATR testing technique. Model samples in the form of 2D thin films underwent degradation in *in vitro* conditions. The process was registered using thermal analysis (DSC/TG) and infrared spectroscopy (FTIR). The results of these studies allowed the selection of a nanofiller which later was used to obtain porous 3D scaffolds. The scaffolds were produced with salt-leaching method using hydrated phosphate salts as a porogen. On the basis of microstructure observation measurement of open porosity and mechanical testing the potential scaffold for bone cells culture and regenerative medicine was chosen: the one with the most preferable weight fraction of porogen. It was found that the best porosity of characterized nanocomposite materials with 50 wt% of porogen. The presence of ceramic nanoparticles influenced the bioactivity of the material (incubation in SBF).

**Keywords:** nanocomposite, bioactivity, scaffolds, regenerative medicine

[Engineering of Biomaterials, 112, (2012), 12-19]

## Introduction

Implants belonging to the third generation of implant materials are a combination of biomimetic material properties (similar to the natural tissue by means of their microstructure and function) and bioactive potential [1]. The osteoinductive character of the material stimulates the proliferation and differentiation of bone cells inducing the regeneration process of bone tissue [2]. Materials that meet the above requirements are polymer nanocomposites. Even a small amount of the bioactive nanofiller results in changes of material properties (e.g. mechanical, physicochemical). The cause of such a behavior is the nanoparticles' influence on the matrix (the polymer chain orientation, the orientation of functional groups) and the possibility of creation of secondary bonds and electrostatic interactions [3]. Numerous literature data on the polymer nanocomposite materials show that the amount of the filler significantly affects the degradation time of the material [4,5]. Depending on the type of the nanofiller - its amount and sorption properties - nanocomposites may undergo surface and volume degradation (hydrolysis of chemical bonds).



W zależności od rodzaju napełniacza, jego ilości oraz właściwości sorpcyjnych materiały nanokompozytowe ulegać mogą zarówno degradacji powierzchniowej jak i objętościowej (polegającej na hydrolizie wiązań). Szczególne perspektywiczne w tym aspekcie wydają się matryce takie jak poliestry alifatyczne, polihydroksykwasy itp. Osnowy polimerowe modyfikowane bioaktywnymi nanonapełniaczami zyskują dodatkowo zdolność do tworzenia wiązania chemicznego pomiędzy implantem a otaczającą tkanką. Zjawisko bioaktywności zaobserwowano dla wielu cząstek ceramicznych znanych wcześniej jako bioaktywne (np. TCP, HAp, BG) [6,7], ale także dla cząstek które mogą stanowić zarodki krystalizacji apatytu wyłapując jony wapnia i fosforu (np. MMT) [8]. Połączeniem opisanych właściwości są materiały nanokompozytowe, które mogą być formowane w postaci: folii, membran 2D, kształtek i porowatych podłoży 3D. Wydaje się, że postać tych ostatnich jest najbardziej pożądana z punktu widzenia medycyny regeneracyjnej. Stymulujące komórki kostne właściwości powierzchni umożliwiają ich przyspieszoną proliferację, a porowata forma tworzywa ułatwia penetrację komórek i ich osiadanie w całej objętości materiału. Dodatkowo obecność nanonapełniacza wpływać może na poprawę właściwości mechanicznych materiałów (zwykle kruchych), a także na szybkość adhezji i proliferacji komórek.

W pracy przedstawiono otrzymywanie materiałów nanokompozytowych na bazie resorbowalnego polimeru (PLDLA), który modyfikowano za pomocą nanocząstek krzemionki. Badania nad tworzywami prowadzono dwuetapowo; pierwsza część dotyczyła analizy, na ile wielkość cząstki, jej rozwinięcie powierzchni wpływa na uzyskanie homogenicznego tworzywa. Badaniom została również poddana biogodność materiałów w warunkach *in vitro* (linia komórkowa osteoblastopodobnych komórek MG-63). Dzięki uzyskanym wynikom wyselekcjonowano nanonapełniacz zastosowany w drugiej turze badań. Ich istotą był dobór odpowiedniej ilości porogenu i weryfikacja porowatego tworzywa nanokompozytowego oraz jego potencjału bioaktywnego. Oszacowana została również porowatość całkowita, kształt i rozmiar porów oraz ich rozmieszczenie w materiale (mikroskopia elektronowa).

## Materiały i metody

Wszystkie materiały zostały wytworzone z syntetycznego kopolimeru L/DL-laktydu (o stosunku merów: L:DL 80:20) firmy Purac®. Polimer posiadał atest FDA potwierdzający jego biogodność. Jako nanonapełniacz zastosowano dwa rodzaje nanocząstek krzemionki.

- 1) SiO<sub>2</sub> produkowane przez firmę Sigma-Aldrich
- 2) SiO<sub>2</sub> produkowane przez firmę NanoAmor.

Nanocząstki scharakteryzowano za względu na ich rozmiar, badając rozkład wielkości ziaren w dwóch ośrodkach: dichlorometanie (DCM, POCH Gliwice) stosowanym jako rozpuszczalnik polimeru oraz roztworze polimeru PLDLA (1:20). Celem badania było określenie na ile zmiana lepkości ośrodka wpłynie na wielkość agregatów nanocząstek. Badania przeprowadzono na urządzeniu DLS NanoSizer (Molovern). Porównano również rozwinięcie powierzchni ziaren względem danych podawanych przez producenta (urządzenie sorpty 1750 Carlo Erba Inc.) stosując do jej wyznaczenia metodę BET.

Dwuwymiarowe folie nanokompozytowe otrzymano metodą odlewania. Udział nanonapełniacza nie przekraczał 2% wag. Mieszanie polimeru z nanocząstką homogenizowano na przemian: mechanicznie i ultradźwiękowo. Proces suszenia prowadzono w warunkach powietrza i próżni kontrolując temperaturę suszenia (24h/25°C oraz 72h/40°C). Cienkie filmy nanokompozytowe (300 μm) posłużyły dalej jako materiał badawczy.

In this aspect, matrices made of aliphatic polyesters, polyhydroxyacids etc. seem to be extremely promising. Polymer matrices modified with bioactive nanofillers additionally gain the ability to form a chemical bond between the implant and surrounding tissue. This phenomenon has been observed for many ceramic particles, known as bioactive e.g.; tricalcium phosphate (TCP), hydroxiapatite (HA) or bioglass (BG) [6,7], but also for the particles which may cause apatite nucleation, capturing calcium and phosphorus ions e.g. montmorillonite (MMT) [8]. The combination of described properties can be found in the nanocomposite materials which are produced in the form of films, 2D membranes, fittings and 3D porous substrates. It seems that the character of the latter is the most desirable from the viewpoint of regenerative medicine. Stimulating properties of the surface enable accelerated proliferation of the cells and, what is more, the porous form of the matrix helps osteoblasts penetrate and settle in the entire volume of the material. In addition, the presence of the nanofiller may affect the improvement of mechanical properties of the materials (usually fragile) and also the rate of adhesion and cell proliferation.

The paper presents the process of obtaining of nanocomposite materials based on resorbable polymer (PLDLA) which was modified with silica nanoparticles. The research was performed in two stages. The first part concerned the analysis to what extent the particle size and the development of surface affect the homogeneity of the material. The research was also subjected to biocompatibility of the materials in *in vitro* conditions (MG-63 osteoblasts). On the basis of the obtained results a nanofiller used in the second part of the research was selected. Their aim was to choose an appropriate porogen, verify the mechanical properties of the porous materials and describe their bioactive potential. The size, shape and distribution of pores were also estimated (optical microscopy, electron microscopy).

## Materials and methods

All materials were prepared using synthetic copolymer of L/DL-lactide (the ratio of units L:DL 80:20) from Purac®. The polymer had the FDA attestation confirming its biocompatibility. As the nanofillers, two types of silica nanoparticles were used:

- 1) SiO<sub>2</sub> produced by Sigma-Aldrich
- 2) SiO<sub>2</sub> produced by NanoAmor.

The nanoparticles were characterized due to their size by examining the distribution of particle size in two media: dichloromethane (DCM), used as a solvent for the polymer (POCH, Gliwice) and dissolved polylactide. The aim of the study was to determine how the change of viscosity influenced the size of particle aggregates. The test was made by DLS method using Zetasizer Nano-ZS (Malvern). Also, the comparison of the specific surface area of the powder using BET method was performed (Nova 1200e, Quantachrome Inc.).

Two-dimensional (2D) nanocomposite films were obtained using the casting method. The weight fraction of the nanofiller did not exceed 2 wt%. The mixture of the polymer and the nanopowder was homogenized alternately: mechanically and ultrasonically. The drying process was carried out in air and vacuum conditions in controlled temperature (24h/25°C and 72h/40°C). Thin films were further used as a research material in order to determine the effect of nanoparticles interaction on the surface topography: PLDLA modified with 2 wt% SiO<sub>2</sub> (Aldrich) and pure polymer PLDLA (reference material). The experiment was carried out in contact mode using AFM microscope Veeco Explorer.

Dla tworzyw określono wpływ nanokrzemionki na topografię powierzchni materiałów traktując jako materiał odniesienia folię polimerową PLDLA. Badania przeprowadzono za pomocą mikroskopu AFM Explorer Veeco (tryb kontaktowy). Innym aspektem badań było określenie wpływu nanocząstki na właściwości termiczne tworzywa (TG/DSC) oraz właściwości mechaniczne (moduł Younga, wytrzymałość). Pomiar właściwości termicznych tworzywa prowadzono w atmosferze azotu stosując urządzenie NETSCH STA 449F3. Badania mechaniczne nanokompozytów przeprowadzono za pomocą maszyny wytrzymałościowej Zwick-1435 stosując test rozciągania folii. Nanokompozytowy materiał polimerowy zweryfikowano pod względem biologicznym kontaktując go z linią komórek osteobalstopodobnych MG-63. Obserwacje proliferacji komórek kontaktowanych z materiałem po 1, 3 i 7 dniach hodowli oraz morfologia tych komórek stanowiła podstawę do oceny biogodności tworzywa. Degradację tworzyw nanokompozytowych prowadzono w dwóch mediach: woda i bufor fosforanowy (PBS). Zmiany w strukturze tworzywa monitorowano stosując technikę FTIR-ATR (FTS 3000 Excalibur, Bio-Rad) z przystawką diamentową (PIKE). Metoda ta pozwoliła na śledzenie zmian w obrębie powierzchni tworzywa (głębokość penetracji 2  $\mu\text{m}$ ).

W drugiej części pracy przygotowano skafoldy w formie gąbki (3D). Do osnowy polimerowej wprowadzano 2% wag. nanododatku, który homogenizowano mechanicznie i ultradźwiękowo. Do otrzymania porowatych podłoży zastosowano metodę wypłukiwania porogenu. Jako porogen wykorzystano uwodniony diwodorofosforan sodu (POCH, Gliwice), o frakcji soli w zakresie 100-400  $\mu\text{m}$  (na podstawie analizy sitowej). Porogen homogenizowano z zawiesiną polimerowo-ceramiczną kolejno w ilościach: 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 i 90% wagowych. Zastosowano proces suszenia analogiczny jak w przypadku folii nanokompozytowych. Usuwanie porogenu przeprowadzono optukując każdy z materiałów w wodzie. Potwierdzeniem braku obecności soli wewnątrz rusztowania była inkubacja w wodzie podłoża 3D oraz pomiar przewodnictwa medium: jeśli pozostawało ono na poziomie czystej wody 3,5  $\mu\text{S/cm}$  stanowiło to o całkowitym wypłukaniu porogenu. Mikrostrukturę powierzchni tworzyw nanokompozytowych w postaci gąbek 3D zbadano przy użyciu mikroskopii skaningowej (Nova Nano SEM 200 FEI Europe Company). Porowatości gąbek oszacowano na drodze ważenia hydrostatycznego. Badanie bioaktywności przeprowadzono inkubując przez 7 dni porowate skafoldy w środowisku symulującym płyn fizjologiczny SBF (ang. Simulated Body Fluid). Zmiany mikrostruktury powierzchni tworzyw poddanych testowi bioaktywności prowadzono przy pomocy mikroskopu elektronowego (SEM/EDS).

## Wyniki i dyskusja

Nanometryczne ziarna krzemionki w zależności od środowiska w jakim się znajdują wykazują tendencje do większej lub mniejszej aglomeracji. Dane producenta wskazują, że obie zastosowane w badaniach krzemionki cechuje wielkość ziaren w zakresie 5-20 nm. Krzemionki te różnią się nie tylko wielkością ziaren (5-10 nm dla  $\text{SiO}_2$  Aldrich oraz 10-20 nm dla  $\text{SiO}_2$  NanoAmor), ale również rozwinięciem ich powierzchni. Większe rozwinięcie powierzchni charakteryzuje krzemionkę Aldrich (350  $\text{m}^2/\text{g}$ ), co oznacza, że cechuje się ona większą porowatością niż krzemionka NanoAmor. Wielkość ziaren (aglomeratów) silnie zależy od ośrodka, w którym zdyspergowano nanocząstki. Zmieniając ośrodek dyspersyjny ziarna ulegają aglomeracji: w roztworze DCM ich wielkość waha się w granicach 600-700 nm (zarówno dla  $\text{SiO}_2$  Aldrich jak i NanoAmor). Zmieniając lepkość ośrodka (rozpuszczając w DCM PLDLA) oraz używając mieszała ultradźwiękowego aglomeraty ulegają zmniejszeniu.

Another aspect of the study was to determine the influence of nanoparticles on the thermal properties of the material (TG/DSC) and their mechanical properties (Young's modulus, strength). The measurements of thermal properties of the materials were carried out in the nitrogen atmosphere using NETSCH STA 449F3 device. Mechanical testing of nanocomposites was performed using Zwick-1435 machine by stretching 2D samples. Nanocomposite material was biologically verified by contacting it with osteoblasts MG-63. Observations of the cells proliferation and morphology after 1, 3 and 7 days were the basis for the assessment of the material's biocompatibility. Degradation of nanocomposites was performed in two media: water and phosphate buffered saline (PBS). Changes in the structure were registered using FTIR-ATR technique (FTS 3000 Excalibur, Bio-Rad) with extradiamond (PIKE). This method enabled the observation of changes on the surface (penetration depth of 2  $\mu\text{m}$ ).

In the second part of this work scaffolds in the form of spongy structures were prepared. 2 wt% of the nanofiller was introduced into the polymer matrix and thereafter mechanically and ultrasonically homogenized. To obtain porous substrates salt-leaching method was applied. As a porogen hydrated sodium dihydrogen phosphate (POCH, Gliwice) was used. The fractions of the salt were in the range of 100-400  $\mu\text{m}$  (basing on sieve analysis). The porogen was homogenized with polymer-ceramic suspension in the following order: 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 and 90 wt%. The drying process was the same as in the case of nanocomposite films. Removing the porogen was performed by rinsing each of the samples in water. The confirmation of absence of the salt inside the scaffold was accomplished by measuring the conductivity of the medium; if it remained at the level of pure water (3.5  $\mu\text{S/cm}$ ), the total removal of porogen was evidenced. The microstructure of the surfaces of 3D spongy nanocomposites was observed using 3D scanning electron microscopy (Nova Nano SEM 200 FEI Europe Company). The porosity of the scaffolds was calculated on the basis of hydrostatic weighing. The study on bioactivity was carried out by incubating porous scaffolds during 7 days in the environment which simulated the physiological fluid: SBF (Simulated Body Fluid). To observe changes in the surface microstructure after bioactivity test scanning electron microscopy (SEM/EDS) was applied.

## Results and discussions

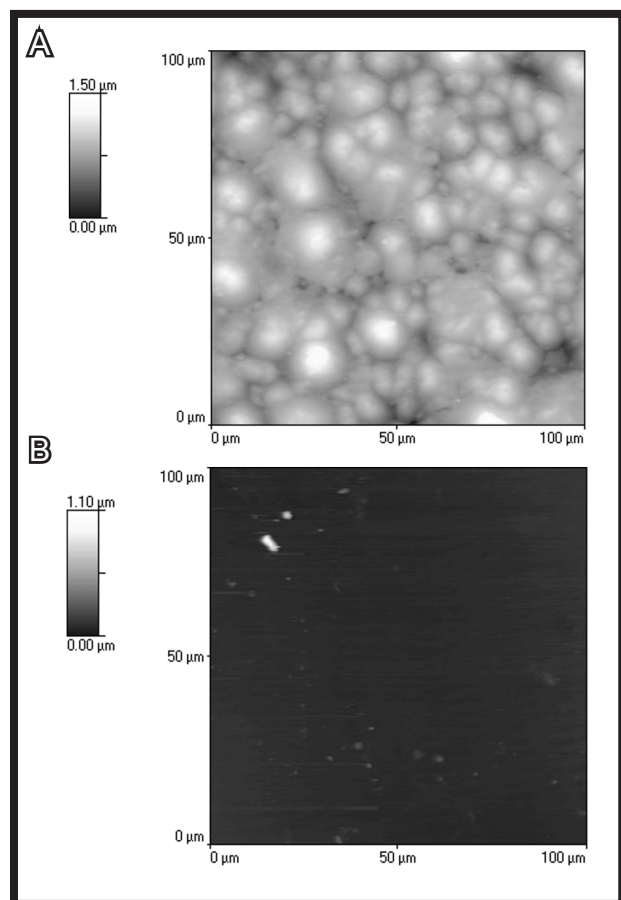
Nanometric particles of silica, depending on the environment in which they were in, tended to agglomerate. Manufacturer's data indicate that both types of silica used in further research were characterized by particle size between 5 and 20 nm. These silica nanopowders differ not only in grain size (5-10 nm for  $\text{SiO}_2$  Aldrich and 10-20 nm for  $\text{SiO}_2$  NanoAmor) but also in the specific surface area. Aldrich nanosilica is distinguished by larger specific surface area (350  $\text{m}^2/\text{g}$ ), which means that it has got greater porosity than NanoAmor. Grain size (agglomerates) strongly depends on the medium in which nanoparticles are dispersed. Unfortunately, while changing the dispersion medium, the grains are prone to aggregate: in DCM their size ranges from 600-700 nm (both Aldrich and NanoAmor). By changing the viscosity (PLDLA dissolved in DCM) and using an ultrasonic mixer, agglomerates are reduced. The average particle size is 350 nm (Aldrich) and 160 nm (NanoAmor) (TABLE 1). Applied polymer concentration (1:20), as well as the developed drying process, allowed to keep the silica agglomerates at about 100 nm and to prepare homogenous polymer-ceramic films using casting method.

**TABELA 1. Zestawienie wielkości charakteryzujących nanocząstki SiO<sub>2</sub>.**  
**TABLE 1. Characteristic quantities of SiO<sub>2</sub> nanoparticles.**

Próbka Sample	Wielkość cząstek podawana przez producenta Size of particles according to the producer [nm]	Rozmiar cząstek w PLDLA Size of particles in PLDLA [nm]	Rozwinięcie powierzchni cząstek podawane przez producenta BET specific surface area according to the producer [m <sup>2</sup> /g]	Zmierzone rozwinięcie powierzchni Measured BET specific surface area [m <sup>2</sup> /g]
SiO <sub>2</sub> Aldrich	5-10	350	350	380
SiO <sub>2</sub> NanoAmor	10-20	160	160	160

Średnia wielkość ziaren SiO<sub>2</sub> Aldrich wynosi 350 nm, podczas gdy średnia wielkość ziaren SiO<sub>2</sub> NanoAmor wynosi 160 nm (TABELA 1). Zastosowane stężenie polimeru (1:20), a także opracowany program suszenia, pozwolił na utrzymanie aglomeratów krzemionki na poziomie ok. 100 nm oraz otrzymanie metodą castingu folii polimerowych o homogenicznym rozmieszczeniu SiO<sub>2</sub> w osnowie.

Analiza powierzchni folii nanokompozytowych metodą mikroskopii sił atomowych (RYS. 1) potwierdziła jednorodne rozmieszczenie nanonapełniacza, a także jego wpływ na topografię powierzchni. Gładka do tej pory powierzchnia polimeru (RYS. 1A) dzięki obecności nanocząstek staje się chropowata (średni poziom chropowatości - R<sub>a</sub> dla PLDLA/SiO<sub>2</sub> wynosi ok. 350-550 nm). Potwierdza to zachowanie aglomeratów wewnątrz polimerowej osnowy. W przypadku nanonapełniacza jakim była krzemionka NanoAmor powierzchnię cechuje mniejszy średni poziom chropowatości wynoszący ok. 250 nm (RYS. 1B).



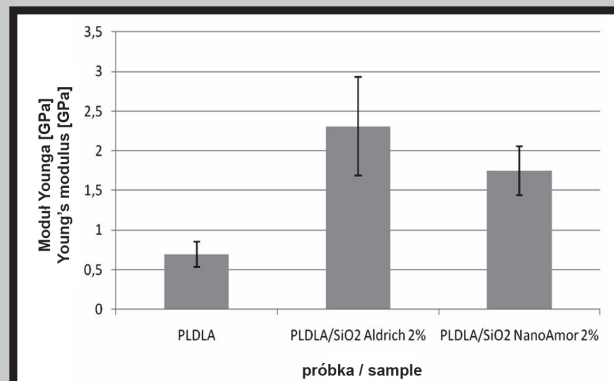
**RYS. 1. Obrazy AFM folii polimerowej PLDLA (A) oraz folii nanokompozytowej PLDLA/2% SiO<sub>2</sub> Aldrich (B).**  
**FIG. 1. AFM images of a 2D thin polymer film (A) and nanocomposite film PLDLA/2% SiO<sub>2</sub> Aldrich (B).**

Surface analysis using atomic force microscopy (FIG. 1) confirmed the homogenous distribution of the nanofiller and its impact on the topography of the surface. The surface, smooth so far, in the presence of nanoparticles becomes rough (average roughness - R<sub>a</sub> for PLDLA/SiO<sub>2</sub> equals ca. 350-550 nm). This confirms the specific behavior of the agglomerates within the polymer matrix. In the case when NanoAmor silica was the nanofiller, the average surface roughness was smaller: about 250 nm.

The presence of nanosilica in the polymer matrix improves the mechanical properties of the material i.e. both types of nanocomposites had better tensile strength and showed higher Young's modulus compared to the pure polymer (TABLE 2). Comparing the values of the modulus of elasticity one can determine some kind of pattern: the higher specific surface area (Aldrich nanosilica), the better mechanical parameters of the materials. At 2 wt% of nanosilica the value of E was over 3 times higher than for the pure polymer sample (FIG. 2). In the case of PLDLA/SiO<sub>2</sub> NanoAmor nanocomposite lower values of R<sub>m</sub> and E were observed despite smaller agglomerates size which means that this system exhibits lower tendency to interact with the polymer chain. The analysis of the stress-strain curves showed that both types of materials are typical nanocomposites. The higher the stress, the better the strain value and bigger tensile strength needed to rupture the sample.

**TABELA 2. Wartości wytrzymałości na rozciąganie oraz modułu sprężystości folii.**  
**TABLE 2. Values of tensile strength and Young's modulus of the films.**

Próbka / Sample	R <sub>m</sub> [MPa]	E [GPa]
PLDLA	26.1±2.58	0.69±0.16
PLDLA/SiO <sub>2</sub> Aldrich 2%	45.89±13.92	2.31±0.62
PLDLA/SiO <sub>2</sub> NanoAmor 2%	32.7±7.54	1.75±0.31



**RYS. 2. Wykres przedstawiający moduł sprężystości folii.**  
**FIG. 2. Graph showing Young's modulus of the polymer films.**



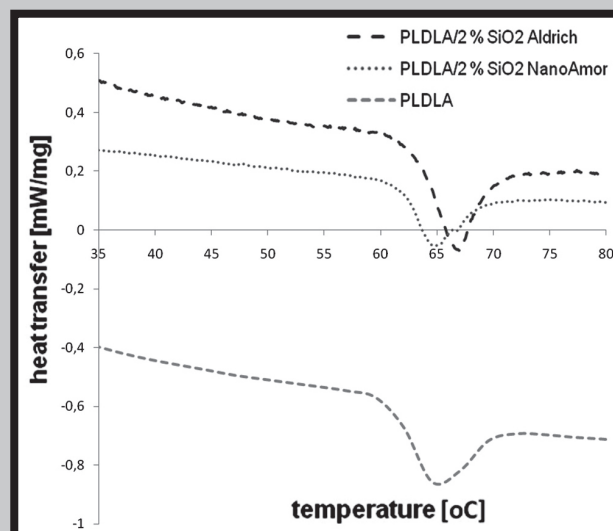
Obecność krzemionki w matrycy polimeru poprawia właściwości mechaniczne materiału: oba rodzaje tworzyw nanokompozytowych wykazują lepszą wytrzymałość na zrywanie i wyższy moduł Younga w porównaniu do czystego polimeru (TABELA 2). Porównując wartości modułu sprężystości tworzyw nanokompozytowych stwierdzić można pewną prawidłowość: im większe rozwinięcie powierzchni ziaren krzemionki (Aldrich), tym lepsze parametry mechaniczne tworzywa. Przy 2% udziale nanonapełniacza Aldrich wartość modułu Younga (E) jest ponad 3 razy większa niż wartość parametru odnotowana dla czystej folii polimerowej (RYS. 2). Gorsze wyniki mechaniczne (niższa wartość  $R_m$  i E dla materiału PLDLA/SiO<sub>2</sub> NanoAmor) dla drugiego z badanych układów dowodzą, że mimo mniejszych aglomeratów (wielkość agregatów w PLDLA ok. 160 nm) wykazuje on niższą skłonność do interakcji z łańcuchem polimerowym. Analiza kształtu krzywych w układzie siła-odkształcenie dowodzi, że obydwa rodzaje otrzymanych tworzyw to materiały nanokompozytowe. Im wyższa wartość siły rozciągającej tym lepsza wartość odkształcenia i większa praca zniszczenia potrzebna do zerwania tworzywa.

Zgodnie z danymi literaturowymi badaniem potwierdzającym skuteczne otrzymanie tworzywa nanokompozytowego są badania termiczne (TG/DSC). Interakcje nanocząstka-łańcuch polimerowy mogą przejawiać się np. w zmianie stopnia krystaliczności, temperatury zeszklenia, mięknięcia itp. [9]. W przypadku omawianych materiałów parametrem ulegającym zmianie i świadczącym o oddziaływaniach pomiędzy krzemionką a łańcuchem PDLA jest temperatura zeszklenia ( $T_g$ ). Przesunięcie maksimum pików  $T_g$  w stronę wyższych temperatur (dla PDLA  $T_g=64^\circ\text{C}$ , dla PLDLA/SiO<sub>2</sub> Aldrich  $T_g=68^\circ\text{C}$ , dla PLDLA/SiO<sub>2</sub> NanoAmor  $T_g=66^\circ\text{C}$ ) dowodzi, że materiały modyfikowane krzemionką to tworzywa nanokompozytowe (RYS. 3).

Celem potwierdzenia obecności nowych drugorzędowych wiązań (najczęściej wodorowych) powstających na granicy nanonapełniacz polimer (skutkujących poprawą  $R_m$ , E i zmianą  $T_g$ ) przeprowadzono badania w spektroskopii w podczerwieni (FTIR-ATR). Widmo układu PLDLA i PLDLA/SiO<sub>2</sub> (RYS. 4a) jest trudne do interpretacji ze względu na istniejącą koincydencję pasm (nakładanie się pasm charakterystycznych dla SiO<sub>2</sub> i PLDLA). Subtelne różnice pojawiają się w zakresie liczb falowej  $\nu=850\text{ cm}^{-1}$  charakterystycznych dla drgań zginających wiązań Si-O-R. Inne pasma przypisywane drganiom Si-OH oraz Si-O-Si ( $\nu=1110-1035\text{ cm}^{-1}$ ) nakładają się z drganiami grup estrowych C-O-C oraz grup metylowych CH, drgających w tym samym zakresie ( $\nu=1200-1050\text{ cm}^{-1}$ ). We wszystkich widmach FTIR zidentyfikować można pasma karbonylowe w zakresie liczby falowej 1820-1660  $\text{cm}^{-1}$ . Ciekawym zakresem ze względu na nowe wiązania są pasma dla  $\nu=3300-3600\text{ cm}^{-1}$ , które można odnaleźć w widmie nanokompozytu PLDLA/SiO<sub>2</sub>. Inkubacja tworzyw polimerowych w buforze fosforanowym (PBS) skutkuje zmianą relacji pasm w zakresie drgań charakterystycznych dla grup CH<sub>2</sub> i CH<sub>3</sub> (RYS. 4b). Zmiana relacji pasm 2890 oraz 2910  $\text{cm}^{-1}$  świadczyć może o rozpoczętym procesie degradacji skutkującym skróceniem długości łańcucha polimerowego.

Uwzględniając aplikację tworzywa nanokompozytowego przeprowadzono również badania biogodności. Najsilniejszy wzrost liczby komórek kontaktowanych z powierzchnią materiału po 3 dniach inkubacji notuje się dla tworzywa PLDLA/SiO<sub>2</sub> (Aldrich). Stan ten utrzymuje się po 7 dniach inkubacji i jest porównywalny z kontrolą, czyli folią PLDLA (RYS. 5). Najniższą proliferację natomiast zanotowano po tygodniu dla materiału z 2% udziałem SiO<sub>2</sub> NanoAmor.

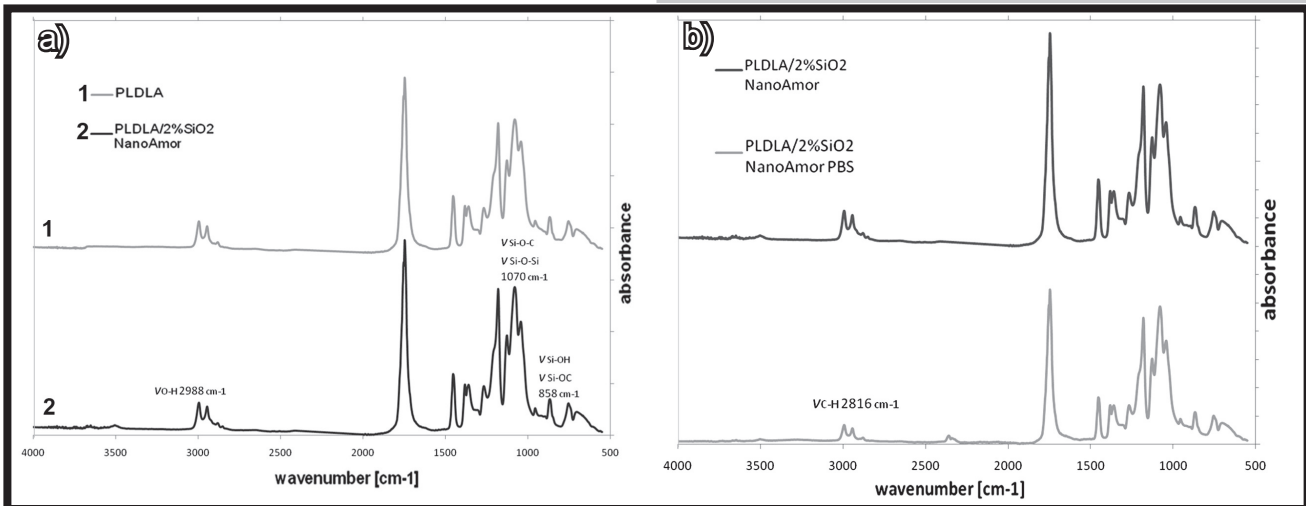
According to the literature data, the experiment proving successful preparation of nanocomposite materials is the thermal analysis (TG/DSC). Interaction nanoparticle-polymer can be observed for example as the change in the degree of crystallinity, glass transition temperature, softening, etc. [9]. In the case of the discussed materials, a parameter undergoing changes and proving the interactions between silica and polymer chain is the glass transition temperature ( $T_g$ ). A shift of  $T_g$  maximum peak toward higher temperature (for PLDLA  $T_g=64^\circ\text{C}$ , for PLDLA/SiO<sub>2</sub> Aldrich  $T_g=68^\circ\text{C}$ , for PLDLA/SiO<sub>2</sub> NanoAmor  $T_g=66^\circ\text{C}$ ) shows that the materials are indeed silica-modified nanocomposites (FIG. 3).



**RYS. 3. Wykresy zależności zmiany pojemności cieplnej tworzyw nanokompozytowych oraz materiału referencyjnego od temperatury.**  
**FIG. 3. Graphs showing changes in heat capacity of the nanocomposite materials and the reference material.**

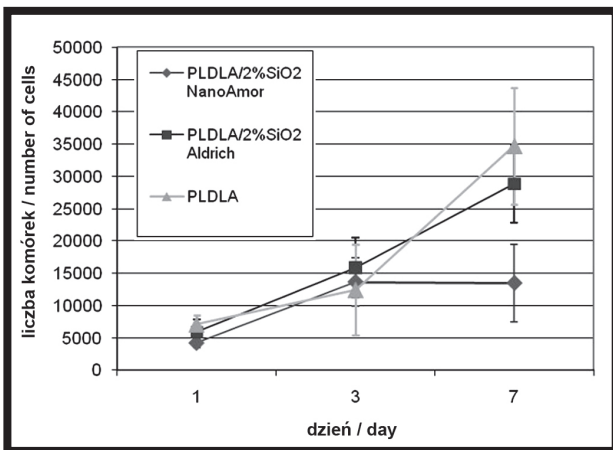
In order to confirm the presence of new bonds (presumably hydrogen ones) appearing at the border nanofiller-polymer (resulting in improved  $R_m$ , E and the change of  $T_g$ ) the research in infrared spectroscopy (FTIR-ATR) was carried out. The spectrum of PLDLA and PLDLA/SiO<sub>2</sub> (FIG. 4a) is difficult to interpret because of coinciding bands (overlapping bands characteristic of SiO<sub>2</sub> and PLDLA). Subtle differences occur for the wavenumber  $\nu=850\text{ cm}^{-1}$ , typical of bending vibrations of Si-O-R bonds. Other bands attributed to vibrations of Si-OH and Si-O-Si ( $\nu=1100-1035\text{ cm}^{-1}$ ) overlap with the C-O-C vibration of ester groups and methyl groups CH, vibrating in the same range ( $\nu=1200-1050\text{ cm}^{-1}$ ). In all the FTIR spectra carbonyl bands with the wavenumber 1820-1660  $\text{cm}^{-1}$  can be identified. An interesting range, because of the new bonds, is the band  $\nu=3300-3600\text{ cm}^{-1}$ , which can be found in the spectrum of PLDLA/SiO<sub>2</sub> nanocomposite. Incubation in phosphate buffered saline (PBS) resulted in the change in correlation between bands characteristic of the CH<sub>2</sub> and CH<sub>3</sub> groups (FIG. 4b). The change in the correlation of bands 2890 and 2910  $\text{cm}^{-1}$  may indicate an ongoing process of degradation resulting in shortening of the polymer chain.

Taking the application into account, the biocompatibility tests of all nanocomposite materials were also carried out. The largest increase in the number of cells contacted with the materials was recorded after 3 days on PLDLA/SiO<sub>2</sub> (Aldrich). Such a condition remained also after 7 days of incubation and was comparable with the control PLDLA film (FIG. 5). On the other hand, the lowest proliferation was recorded after a week for the material containing 2% SiO<sub>2</sub> NanoAmor.



**RYS. 4.** Porównanie widm w podczerwieni folii z PLDLA i folii z PLDLA/2% SiO<sub>2</sub> NanoAmor (a) oraz widmo po degradacji tworzyw (b).

**FIG. 4.** Comparison of FTIR spectra of the PLDLA and PLDLA/2% SiO<sub>2</sub> NanoAmor films (a) and a spectrum after degradation (b).



**RYS. 5.** Zmiana liczby osteoblastów po kontakcie z próbkami nanokompozytów polimerowych PLDLA/nSiO<sub>2</sub>.

**FIG. 5.** Change the number of osteoblasts after contact with PLDLA/nSiO<sub>2</sub> samples.

Mniejsza liczba proliferujących komórek może wynikać z mniejszej aktywności powierzchni folii (inny układ grup funkcyjnych na powierzchni materiału, ze względu na mniejsze rozwinięcie powierzchni SiO<sub>2</sub>), co utrudniało rozplaszczanie się komórek i adhezję. Żadne z badanych materiałów nie wykazuje działania cytotoksycznego na osteoblasty.

Ze względu na lepsze parametry mechaniczne, biologiczne i fizykochemiczne tworzywa do dalszych badań polegających na otrzymywaniu nanokompozytowych materiałów porowatych (podłoży 3D) wybrany został układ PLDLA/SiO<sub>2</sub> (Aldrich). Jedną z najprostszych metod otrzymywania tego rodzaju materiałów jest wmywanie porogenu, którym najczęściej jest sól (np. NaCl). Niestety trudności z całkowitym usunięciem porogenu mogą negatywnie wpływać na interakcję materiału z otaczającą tkanką, stąd duży nacisk włożony jest w stosowanie rozpuszczalnych elektrolitów [10]. W prezentowanych badaniach zastosowano jako porogen uwodnioną sól wodorofosforanową, której udział w zawieszynie PLDLA/SiO<sub>2</sub> wynosił odpowiednio od 20 do 80% wag. O wysokiej efektywności usuwania porogenu świadczą wyniki prezentowane w TABELI 3.

**TABELA 3.** Wyniki pomiaru porowatości otwartej skafoldów polimerowo-ceramicznych.

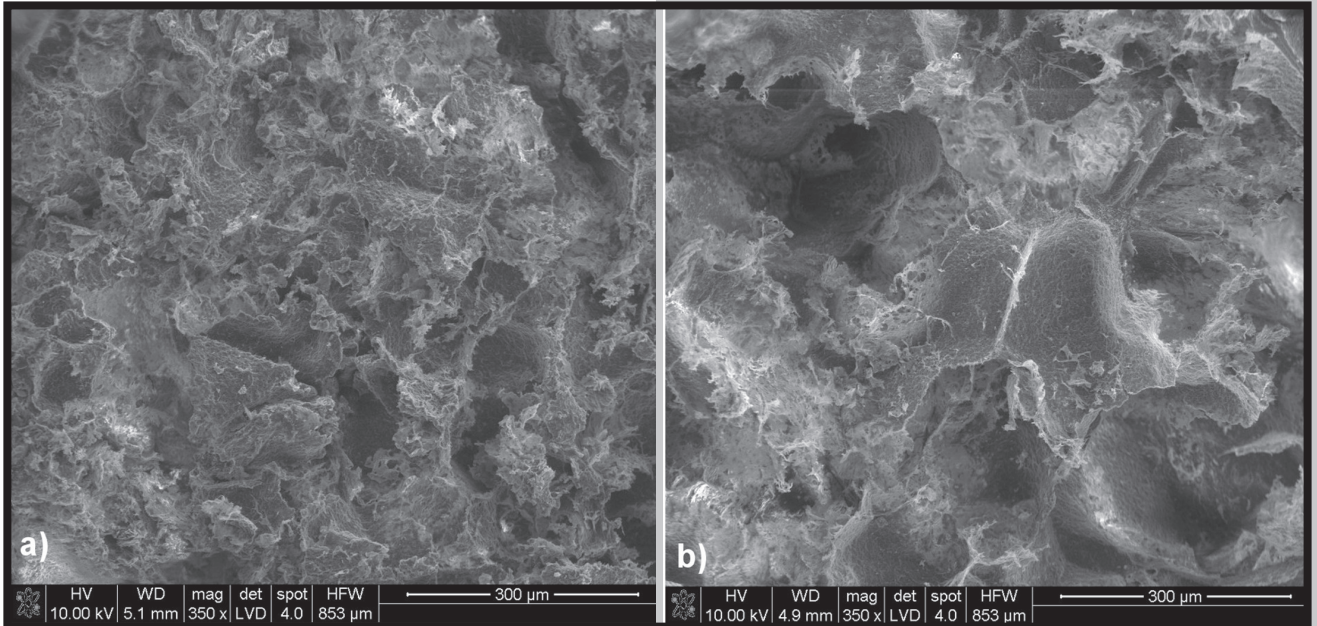
**TABLE 3.** Measured values of the porosity of polymer-ceramic scaffolds.

Ilość porogenu Amount of porogen [%]	20	30	40	50	60	70	80	90
	Porowatość Total porosity [%]							
PLDLA	13	28	37	45	52	62	68	76
PLDLA/2% SiO <sub>2</sub>	14	26	32	49	56	65	73	81

Smaller number of proliferating cells may derive from less active surface of the foil (different arrangement of functional groups on the surface), disturbing flattening and adhesion of the cells. None of the tested materials is cytotoxic for osteoblasts.

Due to improved mechanical, biological and physicochemical properties, for further study, involving preparation of 3D porous nanocomposites (scaffolds) the system PLDLA/SiO<sub>2</sub> (Aldrich) was selected. One of the simplest methods of obtaining this kind of materials is salt-leaching (e.g. NaCl). Unfortunately, the difficulties in complete removing the porogen can affect the interaction of the material and surrounding tissue, hence the emphasis is put on the use of soluble electrolytes [10]. In the presented study the hydrated phosphate salt was applied as the porogen whose fraction in the suspension PLDLA/SiO<sub>2</sub> was equal 20-80%. The high efficiency in porogen removal was confirmed by the finding presented in the TABLE 3. The porosity measured in scaffolds modified with SiO<sub>2</sub> (Aldrich) was lower compared to pure PLDLA porous sponges containing 30 wt% and 40 wt% of porogen. The higher concentration of porogen (50% and more), more effectively removed from the structure. This is probably related to the rapid wettability of salt grains by the surrounding polymer during preparation. Salt grains were coated with a thin layer of polymer delaying its dissolution. This phenomenon does not occur when the fraction of salt is high (above 50 wt%).

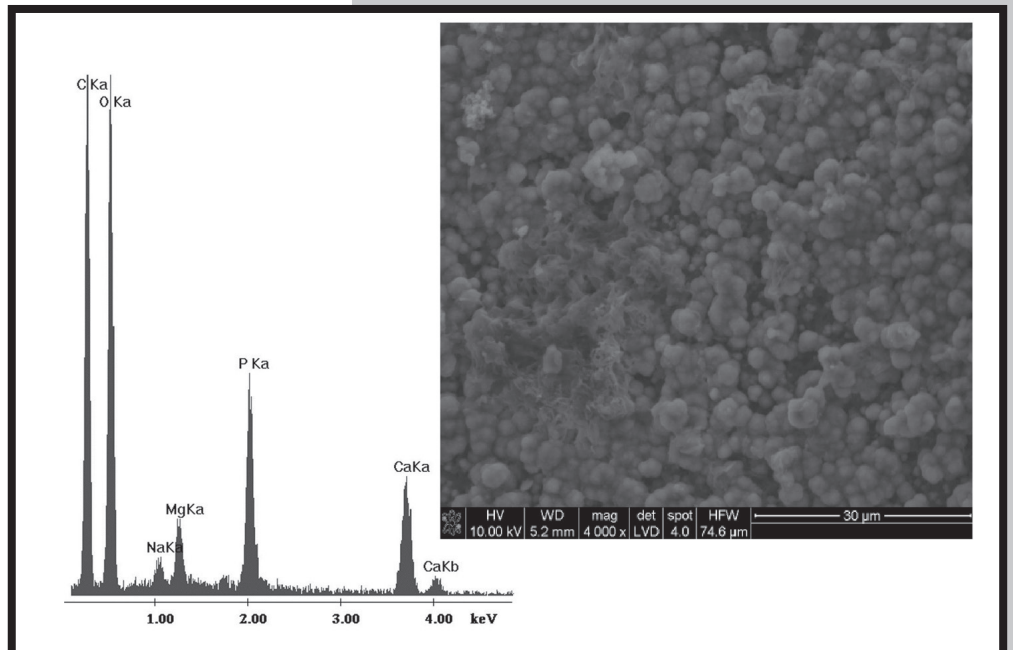




**RYS. 6.** Zdjęcie SEM skafoldu PLDLA/2% SiO<sub>2</sub> NanoAmor o zawartości porogenu: a) 50%, b) 70%.  
**FIG. 6.** SEM image of a PLDLA/2% SiO<sub>2</sub> NanoAmor scaffold containing: a) 50%, b) 70% of porogen.

Wartości porowatości otrzymane dla skafoldów modyfikowanych SiO<sub>2</sub> (Aldrich) są niższe w stosunku do porowatego tworzywa z PLDLA dla gąbek z 30% i 40% udziałem porogenu. Im wyższy udział porogenu (50% i więcej) tym skuteczniej usuwany jest porogen z materiału nanokompozytowego. Prawdopodobnie jest to związane z szybką zwilżalnością przez polimer ziaren soli w trakcie otrzymywania konstruktu. Ziarna soli pokryte zostają cienką warstwą filmu polimerowego opóźniając jego rozpuszczenie. Zjawisko takie nie zachodzi, gdy udział soli jest wysoki (powyżej 50% wag. porogenu).

Kształt i rozmieszczenie porów w dużej mierze zależy od ilości porogenu, większy udział soli gwarantuje liczne pory połączone o silnie rozwiniętej powierzchni (RYS. 6). Dodatkowo otrzymany materiał porowaty poddany badaniom bioaktywności potwierdza potencjał do nukleacji apatytu. Obserwacja SEM/EDS nanokompozytowych skafoldów wykazuje, że charakterystyczna mikrostruktura apatytowa pojawia się wewnątrz porów tworzywa (RYS. 7). Kompozycja PLDLA/SiO<sub>2</sub> z 50% udziałem porów wykazuje najszybsze narastanie apatytu, wydaje się zatem najkorzystniejsza dla ubytków kostnych.



**RYS. 7.** Obraz SEM powierzchni skafoldu PLDLA/2% SiO<sub>2</sub> (NanoAmor) z widocznymi kryształami HAp oraz wyniki analizy pierwiastków metodą EDS powierzchni skafoldu pokrytej kryształami HAp.  
**FIG. 7.** SEM image of the PLDLA/2% SiO<sub>2</sub> (NanoAmor) scaffold with visible HAP crystals and EDS analysis of the scaffold's surface covered with HAP crystals.

The shape and arrangement of pores strongly depend on the amount of porogen: larger concentration of salt provides numerous mutually connected pores with highly developed surface (FIG. 6). Additionally, the obtained porous material tested for its bioactivity, proved its potential for apatite nucleation. Observation of scaffolds in SEM/EDS found out that the characteristic microstructure of apatite occurs inside the pores (FIG. 7). PLDLA/SiO<sub>2</sub> composition with 50% of pores exhibits the fastest formation of apatite, thus it seems the most advantageous scaffold for bone defects curing.



## Wnioski

Nanododatki ceramiczne takie jak cząstki krzemionki różniące się wielkością, rozwinięciem powierzchni oraz morfologią ( $\text{SiO}_2$ -Sigma Aldrich,  $\text{SiO}_2$ -NanoAmor) mogą w sposób znaczący wpływać na szereg właściwości tworzywa nanokompozytowego (trwałości w warunkach *in vitro*, bioaktywność, biogodność, właściwości fizykochemiczne, jak i mechaniczne). Pozwala to na zastosowanie nanokompozytowych tworzyw polimerowych modyfikowanych bioaktywnymi nanocząstkami w szeregu zastosowań medycznych takich jak: substytuty kości, trójwymiarowe podłoża dla inżynierii tkankowej, wypełnienia ubytków kostnych. Porowate materiały nanokompozytowe w formie trójwymiarowych podłoży wspomagają mogą regenerację uszkodzonej tkanki kostnej dzięki silnej tendencji do krystalizacji apatytu kostnego, a także wielkości porów sprzyjającej adhezji i proliferacji osteoblastów.

## Acknowledgments

Praca finansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach grantu nr N N507 463537.

## Conclusions

The ceramic nanofillers such as silica with different features like specific surface area, size and morphology may influence in many properties of nanocomposite materials such as: durability, bioactivity, viability of cells, mechanical properties ect. These kinds of materials create possibility to application of resorbable nanocomposites materials in different biomedical applications (bone substitute, scaffolds, bone fulfillment). Porous materials based on nanocomposites (3D) may be attractive support for bone tissue regeneration because of strong tendency to apatite crystallization and size of pores favourable for adhesion and proliferation of osteoblasts.

## Acknowledgments

*This work was financially supported by the Polish Ministry of Science and Higher Education, project no N N507 463537.*

## Piśmiennictwo

- [1] Pamuła E.: Biomateriały dla inżynierii tkankowej. Badania nad kształtowaniem struktury i właściwości biologicznych poliestrów alifatycznych, Prace monograficzne, Inżynieria biomateriałów vol. 1, Kraków 2008.
- [2] Shi D.: Biomaterials and tissue engineering, Springer, Heidelberg 2004.
- [3] Chłopek J.: Kompozyty w medycynie, Kompozyty (Composites) 1 (2001) 1.
- [4] Chłopek J., Morawska-Chochół A.: Kompozyty z polimerów resorbowalnych przeznaczone dla chirurgii kostnej, Kompozyty 9:4 (2009) 312-316.
- [5] Kelar K.: Technologia wytwarzania części maszyn z poliamidu 6 modyfikowanego nanocząstkami, Wydawnictwo Politechniki Poznańskiej, Poznań 2006.
- [6] Eglin S., Ali C., Perry C.: Comparative study of the *in vitro* apatite-forming ability of poly( $\epsilon$ -caprolactone)-silica sol-gels using three osteoconductivity tests (static, dynamic, and alternate soaking process), J. Biomed. Mater. Res. 69 (2004) 718-727.

## References

- [7] Engelberg I., Kohn J.: Physicomechanical properties of degradable polymers used in medical applications: a comparative study. Biomaterials 12 (1991) 292-304.
- [8] Paluszkiwicz C., Stodolak-Zych E., Kwiatek W., Jeleń P.: Bioactivity of chitosan based nanocomposite, Journal of Biomimetics, Biomaterials and Tissue Engineering (2011) 95-106.
- [9] Ryszkowska J., Waśniewski B., Pytel A., Zielecka M.: Kompozyty poliuretanowe z nanokrzemionką modyfikowaną grupami izocyjanianowymi, Polimery (2009) 54, nr 10.
- [10] Khang G., Kim M.S., Lee H.B.: A manual for Biomaterials/Scaffold Fabrication Technology, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore 2007.

## FOTOHYDROFILOWE POWŁOKI $TiO_2$ NANOSZONE METODĄ RF PECVD Z METALOORGANICZNEGO ZWIĄZKU WYJŚCIOWEGO

ANNA SOBCZYK-GUZENDA\*, SŁAWOMIR OWCZAREK, MACIEJ  
GAZICKI-LIPMAN, HIERONIM SZYMANOWSKI, JACEK KOWALSKI

INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ, POLITECHNIKA ŁÓDZKA,  
UL. STEFANOWSKIEGO 1/15, 90-924 ŁÓDŹ

\* E-MAIL: ANNA.SOBCZYK-GUZENDA@P.LODZ.PL

### Streszczenie

Powłoki  $TiO_2$  wytwarzane metodą RF PECVD posiadają różne właściwości w zależności od sposobu i warunków prowadzenia procesu. W prezentowanej pracy badano w jakim stopniu wartość przepływu tlenu wpływa na właściwości powłok ditlenku tytanu – kładąc szczególny nacisk na fotozwilżalność. Powłoki  $TiO_2$  nanoszone były z tetraetoksytytanu w obecności tlenu na krzemowe i szklane podłoża. Przepływ tlenu zmieniany był w przedziale pomiędzy 100 a 500 sccm. Parametrami stałymi we wszystkim procesach były: czas nanoszenia powłok wynoszący 90 minut oraz moc wyładowania jarzeniowego równa 300 W. Z badań wynika, że powłoki nanoszone przy przepływie tlenu równym 400 sccm wykazują najwyższą fotozwilżalność. Hydrofobowy charakter takiej powłoki (kąąt zwilżania wodą powyżej 120 deg) ulega zmianie na hydrofilowy już po nieco ponad półgodzinnej ekspozycji na działanie promieniowania UV, zaś po 2 godzinach naświetlania kąąt zwilżania maleje do wartości poniżej 40 deg. Wartość przepływu tlenu wpływa również istotnie na grubość otrzymanej powłoki. W zadanych warunkach najcieńsze powłoki otrzymywane są przy 350 sccm i ich grubość rośnie zarówno ze zwiększaniem jak i zmniejszaniem wartości przepływu tlenu.

**Słowa kluczowe:** metoda RF PECVD, ditlenek tytanu, fotokataliza, powłoki hydrofilowe, właściwości optyczne

[Inżynieria Biomateriałów, 112, (2012), 20-25]

### Wprowadzenie

Prace badawcze nad powłokami  $TiO_2$  dokonane w ostatnich latach przyczyniły się do gwałtownego wzrostu ich zastosowania w wielu dziedzinach techniki [1]. Ogromne zainteresowanie powłokami ditlenku tytanu wynika z szeregu unikalnych właściwości prezentowanych przez te materiały, takich jak ich działanie fotokatalityczne [1-4] czy efekt superhydrofilowy [1,5,6]. Działanie fotokatalityczne polega na zdolności do przyspieszania reakcji katalitycznej, najczęściej reakcji typu red-ox, w wyniku zaabsorbowania światła, bez zużywania się [2]. W przypadku powłok ditlenku tytanu sprawia ono, że warstwy te charakteryzują się wysoką bakterioobójczością [1,3,4] oraz właściwościami foto-czyszczącymi powierzchnię z zanieczyszczeń organicznych i nieorganicznych [6,7]. Z kolei efekt superhydrofilowy polega na znacznym obniżaniu kąąta zwilżania powłoki przez wodę w wyniku działania promieniowaniem UV [5,6].

## $TiO_2$ PHOTOHYDROPHILIC COATINGS DEPOSITED WITH THE RF PECVD TECHNIQUE FROM ORGANOMETALLIC PRECURSORS

ANNA SOBCZYK-GUZENDA\*, SŁAWOMIR OWCZAREK, MACIEJ  
GAZICKI-LIPMAN, HIERONIM SZYMANOWSKI, JACEK KOWALSKI

INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING,  
TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ,  
STEFANOWSKIEGO 1/15, 90-924 LODZ, POLAND

\* E-MAIL: ANNA.SOBCZYK-GUZENDA@P.LODZ.PL

### Abstract

Depending on the detailed solution and parameters used,  $TiO_2$  coatings produced with the RF PECVD technique are characterized with various properties. In the present work, the effect of the flow rate of incoming oxygen on the coatings behaviour and on their photohydrophilic properties in particular is discussed. The coatings were deposited from the mixture of tetraetoxytitanium and oxygen onto the glass and silicon substrates. Oxygen flow rate was adjusted within the range of 100 and 500 sccm. Other parameters were kept constant: deposition time of 90 minutes and deposition power of 300 Watt.

The results obtained show that the most pronounced photohydrophilic behaviour is exhibited by the coatings deposited at the oxygen flow rate of 400 sccm. Hydrophobic character of these films (water wetting angle above 120 deg) transforms to hydrophilic after only half an hour long exposition to UV radiation, and after two hours of illumination that wetting angle becomes lower than 40 deg. The flow rate of oxygen also substantially affects the thickness of the deposited coating. For the above parameters the lowest film thickness is obtained for the  $O_2$  flow rate of 350 sccm and it increases both when this parameter rises and when it drops.

**Keywords:** RF PECVD method, titanium dioxide, photocatalysis, hydrophilic coatings, optical properties

[Engineering of Biomaterials, 112, (2012), 20-25]

### Introduction

Extensive research on thin  $TiO_2$  films, conducted in recent years, has brought about a substantial increase of their applications in numerous branches of technology [1]. Widespread interest in titanium dioxide coatings results from a number of such unique properties of these materials as photocatalytic activity [1-4] or superhydrophilic effect [1,5,6]. The photocatalytic activity consists in a capability to accelerate a catalytic reaction, usually of a redox type, as a result of absorption of light [2]. In the case of titanium dioxide coatings, this activity gives rise to strong bactericidal properties [1,3,4] as well as to their capacity to perform surface self-cleaning from both organic and inorganic types of contamination [6,7]. The superhydrophilic effect, on the other hand, is a phenomenon of substantial lowering water contact angle following an illumination with the UV light [5,6].

Uzyskane w ten sposób wysokie powinowactwo powierzchni do wody dodatkowo skutkuje jej zdolnością do samooczyszczania się na drodze zmywania zanieczyszczeń mineralnych, organicznych oraz bakterii [1-7]. Poza wymienionymi właściwościami powłoki  $\text{TiO}_2$  posiadają niezwykle wysoki współczynnik załamania światła sięgający wartości 2,7 [1,8,9], wykazują właściwości antystatyczne, a także uważane są za materiały biologicznie obojętne [1].

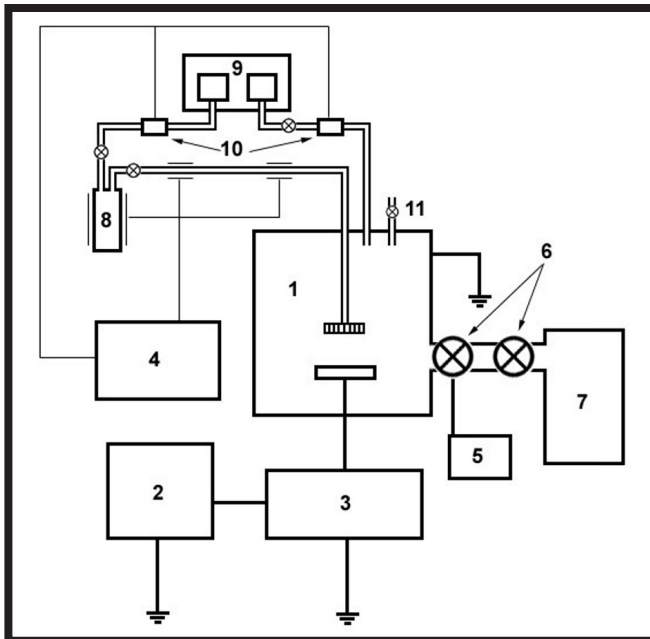
Obecnie możliwa jest synteza powłok  $\text{TiO}_2$  z wykorzystaniem kilku różnych metod wytwórczych. Do podstawowych sposobów wytwarzania powłok ditlenku tytanu zaliczyć można metody: zol-żel, natryskiwania pirolitycznego (SPD), fizycznego osadzania z fazy gazowej (PVD), chemicznego osadzania z fazy gazowej (CVD) [1]. Jedną z odmian tej ostatniej jest metoda chemicznego osadzania z fazy gazowej wspomaganego plazmą (PECVD) [9-11]. Poza niską temperaturą osadzania do zalet tej metody zaliczyć można dobre pokrywanie skomplikowanych powierzchni oraz łatwość kontroli parametrów reakcji. Ponadto powłoki wytwarzane metodą PECVD wykazują zwykle dobrą adhezję z podłożem [11]. Przedmiotem niniejszej pracy jest synteza warstw ditlenku tytanu metodą PECVD, przy użyciu prekursora metaloorganicznego jakim jest tetraetoksytytan  $\text{Ti}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ , w celu oceny właściwości hydrofilowych tych warstw.

## Materiały i metody

Jako podłoża do badań użyto jednostronnie polerowanych płytek krzemowych o powierzchni ok.  $1 \text{ cm}^2$  i grubości 1 mm oraz mikroskopowych szklanych płytek nakrywkowych o wymiarach  $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$  i grubości 0,1 mm. Przed procesem nanoszenia powłok podłoża umyto w metanolu, a następnie osuszono sprężonym powietrzem.

Opisane w niniejszej pracy powłoki  $\text{TiO}_2$  wytworzone zostały przy pomocy techniki chemicznego osadzania z fazy gazowej wspomaganego plazmą częstotliwości radiowej 13,56 MHz (RF PECVD). Urządzenie do nanoszenia powłok zilustrowano na RYS. 1.

Powłoki osadzano z mieszaniny tetraetoksytytanu oraz tlenu. Tlen doprowadzono do komory reaktora w ilości od 100 do 500 sccm. Ilość dostarczanego prekursora kontrolowana była poprzez utrzymywanie w stałej temperaturze ( $200^\circ\text{C}$ ) zbiornika, w którym się znajdował. Procesy prowadzone były przy mocy wyładowania jarzeniowego równej 300 W w czasie 90 minut.



The high surface affinity to water, acquired in this way, causes an additional potential for self-cleaning through simply washing-off mineral, organic and bacterial stains from that surface [1-7]. Apart from the above mentioned properties,  $\text{TiO}_2$  coatings are characterized by an unusually high refractive index, ranking up to 2.7 [1,8,9], show antistatic behaviour, and are considered biologically inert [1].

Today, there are a number of deposition techniques available for the synthesis of  $\text{TiO}_2$  coatings. Among the most popular methods one should list the sol-gel technique, the spray pyrolytic deposition (SPD), physical vapour deposition (PVD), and chemical vapor deposition (CVD) [1]. One variation of the latter method is the plasma enhanced chemical vapor deposition (PECVD) technique [9-11]. Apart from the low deposition temperature, the advantages of this method comprise: deposition of complex surfaces and a facility to control process parameters. In addition, coatings synthesized with the PECVD technique usually exhibit very good adhesion to the surface [11]. The present work describes the PECVD synthesis of titanium dioxide coatings from an organometallic precursor, namely tetraethoxytitanium  $\text{Ti}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ , for the sake of an assessment of the superhydrophilic properties of these coatings.

## Materials and methods

Silicon wafers of a thickness of 1 mm and surface area equal  $1 \text{ cm}^2$  and microscope glass slides of dimensions  $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm} \times 0.1 \text{ mm}$  were used as substrates. Prior to the depositions they were washed with methanol and dried in a stream of air.

The  $\text{TiO}_2$  coatings were synthesized using the radio frequency plasma enhanced chemical vapor deposition (RF PECVD) working at 13.56 MHz. A schematic drawing of the deposition equipment used is presented in FIG. 1.

The coatings were deposited from the mixture of tetraethoxytitanium and oxygen. The flow rate of oxygen was varied between 100 and 500 sccm. The flow of the titanium precursor was adjusted by keeping a constant temperature ( $200^\circ\text{C}$ ) of its container. Deposition processes lasted 90 minutes and they were carried out at the glow discharge power of 300 W.

**RYS. 1.** Schemat aparatury do nanoszenia powłok  $\text{TiO}_2$  metodą RF PECVD: 1 – komora reaktora, 2 – generator częstotliwości radiowej, 3 – układ dopasowania mocy, 4 – panel sterowania temperaturą oraz przepływomierzami, 5 – panel sterowania zaworami próżniowymi i kontroli ciśnienia, 6 – zawory próżniowe, 7 – układ próżniowy, 8 – zbiornik na prekursor, 9 – układ zasilający w gazy, 10 – przepływomierze, 11 – zawór zapowietrzający komorę reaktora.

**FIG. 1.** Schematic representation of the RF PECVD deposition equipment used to synthesize  $\text{TiO}_2$  films: 1 – reaction chamber, 2 – radio frequency generator, 3 – matching network, 4 – control panel for temperature and flow rate control, 5 – control panel for vacuum valves and pressure control, 6 – vacuum valves, 7 – vacuum pumping system, 8 – liquid precursor container, 9 – gas supply system, 10 – flow controllers, 11 – reaction chamber venting valve.



Właściwości powłok ditlenku tytanu wytworzonych metodą RF PECVD scharakteryzowane zostały na podstawie licznych badań. W celu analizy właściwości optycznych oraz grubości powłok przeprowadzono badania elipsometryczne przy użyciu elipsometru firmy J. A. Woollam Co. model VASE. Badania te prowadzono dla kątów padania wiązki 65° i 75° zwiększając długości fali padającej od 260 do 1000 nm z krokiem 5 nm. Pomiaru transmitancji promieniowania w zakresie 200-800 nm, przez powłoki naniesione na szklane płytki nakrywkowe, dokonano przy użyciu spektrofotometru UV-VIS firmy Perkin Elmer model Lambda 19 używając powietrza jako próby odniesienia. Wykonany został również pomiar kąta zwilżania powłok ditlenku tytanu przez wodę. Kąt ten mierzony był za pomocą urządzenia firmy Kruss GmbH Germany, model FM40 EasyDrop, najpierw na powłokach nienaświetlanych, a następnie aktywowanych promieniowaniem ultrafioletowym przez czas od 0,5 do 2 godzin.

## Wyniki i dyskusja

Z przeprowadzonych badań wynika, że wartość przepływu tlenu w procesie osadzania powłok TiO<sub>2</sub> techniką RF PECVD, wpływa zarówno na wydajność procesu, jak i na właściwości uzyskanych warstw. Grubość powłoki, jej morfologia, a także właściwości optyczne i fotowilżalność zależą od wartości tego parametru.

Wyniki pomiarów elipsometrycznych zamieszczone są w TABELI 1. Wyniki te pokazują, że funkcja grubości powłok ditlenku tytanu w zależności od wartości przepływu tlenu, w zakresie od 100 do 500 sccm, osiąga minimum przy 350 sccm – przy czym różnica między powłoką najgrubszą a najcieńszą jest trzykrotna. Najgrubsze powłoki udało się otrzymać dla dużych przepływów tlenu 400, 450 i 500 sccm. Jest to spowodowane zmianami ujemnego potencjału autopolaryzacji  $V_B$ , nazywanego także przy użyciu angielskiego określenia self-bias. Wartość ujemnego potencjału autopolaryzacji determinuje efekt bombardowania kationami powierzchni rosnącej powłoki, co istotnie wpływa na jakość powłoki, a także na jej grubość. Przy niskich strumieniach tlenu z zakresu 100 do 250 sccm, wartości  $V_B$  są niskie (ok. -600 V), natomiast w wyładowaniu znajduje się niewielka ilość jonów mogących się efektywnie związać na powierzchni, a powstająca powłoka jest miękka, cechuje się słabą adhezją do podłoża, z dużą ilością nie przereagowanego organicznego związku wyjściowego. Przy 300 sccm wartość  $V_B$  rośnie, zwiększa się stężenie jonów w wyładowaniu, o czym świadczy spadek grubości powstającej powłoki na rzecz poprawy jej jakości. W efekcie dochodzi do przegrupowania atomów w strukturze, rozerwania wiązań Ti-C i przyłączenia w miejsce atomów węgla atomów tlenu, prowadzącego do powstania stechiometrycznego, dobrze usieciowanego TiO<sub>2</sub> w postaci twardej powłoki o zadawalającej przyczepności do podłoża. Przy wyższych przepływach tlenu powyżej 350 sccm wzrost  $V_B$  i zwiększenie energii jonów doprowadza do zwiększenia grubości powłoki, osiągając wartość dla przepływu 500 sccm ok. -50 V. Powyższe zjawisko wpływu  $V_B$  na budowę powłoki zostało opisane przez B. Chapman i H. Yasuda [12,13].

The properties of titanium dioxide coatings, deposited with the RF PECVD technique, were characterized by various analytical methods. Optical properties such as refractive index and extinction coefficient as well as their thickness were determined with the variable angle spectral ellipsometry (VASE). Ellipsometric measurements were carried out with the help of J. A. Woollam Co, model VASE spectral ellipsometer, for two values of incident angle, namely 65° and 75°, and within the spectral range of 260 to 1000 nm with the 5 nm step. The measurements of light transmission were performed using Perkin-Elmer, model Lambda 19 UV-VIS spectrophotometer, in the spectral range of 200-800 nm, with air as reference. Water contact angle measurements were made with the help of Kruss GmbH Germany, model FM40 EasyDrop unit. The measurement was first taken for an unilluminated coating and then following UV illumination carried out for 0.5 to 2 hours.

## Results and Discussions

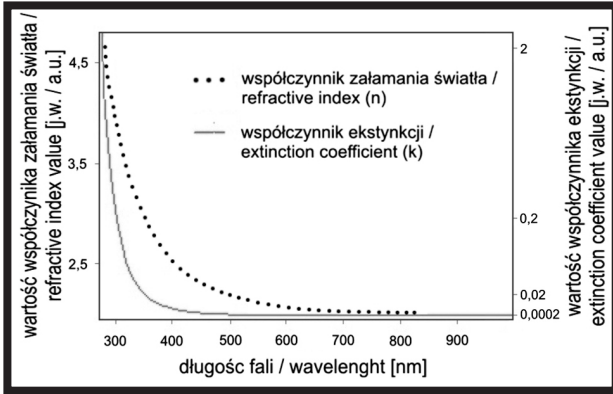
The results obtained in this work indicate that in the deposition process of TiO<sub>2</sub> coatings with the PECVD technique, the flow rate of oxygen is a factor affecting the efficiency of the deposition process and the properties of the resulting coatings. Thickness of the films, their morphology as well as optical properties and photowetting behaviour, all depend on that parameter.

**TABELA 1. Wyniki badań elipsometrycznych dla długości fali 550 nm wykonanych na powłokach TiO<sub>2</sub> naniesionych na podłoża krzemowe przy różnej wartości przepływu tlenu.**

**TABLE 1. Ellipsometric data for TiO<sub>2</sub> coatings at 550 nm deposited on silicon substrates at different values of oxygen flow rate.**

przepływ tlenu oxygen flow rate [sccm]	grubość powłoki film thickness [nm]	współczynnik załamania światła refractive index	współczynnik ekstynkcji extinction coefficient
100	161.32 ± 7.7	2.16 ± 0.06	0.00021 ± 0.00006
200	139.9 ± 11.0	2.18 ± 0.04	0.00011 ± 0.00003
250	143.19 ± 9.5	2.13 ± 0.07	0.00025 ± 0.00008
300	93.52 ± 5.5	2.16 ± 0.09	0.00470 ± 0.00041
350	70.65 ± 9.1	2.12 ± 0.08	0.00022 ± 0.00007
400	183.54 ± 12.3	2.1 ± 0.07	0.00012 ± 0.00005
450	220.96 ± 8.9	2.23 ± 0.05	0.00027 ± 0.00004
500	216.57 ± 10.3	2.19 ± 0.08	0.00020 ± 0.00008

Results acquired in the ellipsometric measurements are presented in TABLE 1. These data reveal a strong dependence of film thickness on the oxygen flow rate in the range 100-500 sccm, with the minimum obtained for the value of 350 sccm and a threefold difference between the thinnest and the thickest coating. Large magnitudes of that flow rate, from the range of 400 to 500 sccm, result in the highest thickness values. This is due to changes in the negative potential of autopolarization  $V_B$ , also known as using the English bias of self-determination. The value of  $V_B$  effect of the bombing cations determines the surface of the growing coating, which significantly affects the quality of the coating and its thickness. At low oxygen streams from a range of 100 to 250 sccm,  $V_B$  values are low (about -600 V), while in the discharge is a small amount of ions that can effectively bind to the surface, and the resulting coating is soft, is characterized by poor adhesion to the substrate, with plenty of unreacted organic precursor. At 300 sccm  $V_B$  value increases, increasing the concentration of ions in the discharge as evidenced by the decrease in thickness of the resulting coating to improve its quality.



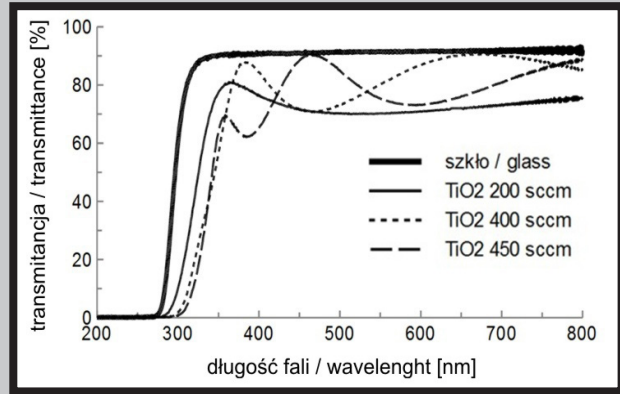
**RYS. 2.** Przykład zależności wartości współczynnika załamania światła i współczynnika ekstynkcji od długości fali dla powłoki  $\text{TiO}_2$  nanoszonej przez 90 minut przy mocy wyładowania jarzeniowego 300 W.

**FIG. 2.** An example of the dependencies of refractive index  $n$  and extinction coefficient  $k$  on the wavelength for the  $\text{TiO}_2$  coating deposited at 300 W for 90 minutes.

W odróżnieniu od grubości, wartości współczynnika załamania światła są do siebie zbliżone niezależnie od przepływu tlenu i mieszczą się w przedziale od 2,1 do 2,23, co odpowiada wartościom literaturowym dla amorficznego  $\text{TiO}_2$  [14], przy czym przy niższych przepływach tlenu nie świadczy to wcale o powstającym stechiometrycznym  $\text{TiO}_2$ . Powstaje on dopiero przy przepływach powyżej 350 sccm, co potwierdzają badania zmian fotowilzalności, które wykazały najsilniejszy efekt fotohydrofilowy dla przepływu tlenu równego 400 i 450 sccm. Wszystkie powłoki za wyjątkiem nanoszonej przy przepływie tlenu równym 300 sccm posiadają niski współczynnik ekstynkcji na poziomie  $2 \times 10^{-4}$ , co oznacza, że próbki nie powinny pochłaniać światła. W takim przypadku suma promieniowania odbitego i przechodzącego przez warstwę powinna dać 1 (100%).

Na RYS. 2 przedstawiona została zależność zmian współczynnika załamania światła i współczynnika ekstynkcji w zależności od długości fali promieniowania w zakresie UV-VIS. Do długości fali równej 400 nm następuje gwałtowny spadek wartości tych dwóch parametrów, związane to jest z zmniejszającą się absorpcją promieniowania. Wartość współczynnika załamania światła stabilizuje się przy długości fali równej 650 nm, natomiast współczynnik ekstynkcji stabilizuje się na poziomie bliskim 0 przy wartości 500 nm.

W oparciu o pomiary wykonane za pomocą spektrofotometru UV-VIS wykreślono krzywe transmisyjne otrzymanych powłok. Na RYS. 3 przedstawiono krzywą zmian transmittancji w funkcji długości fali z zakresu od 200 do 800 nm dla powłok otrzymanych przy różnych przepływach: 200, 400 oraz 450 sccm. Z widm transmisyjnych uzyskanych przy pomocy badań UV-VIS odczytać można, że dla większości powłok próg absorpcji przypada na długość fali równą ok. 300 nm. Wyjątek stanowią powłoki nanoszone przy przepływie tlenu 200 sccm, jednak jest to i tak wartość wyższa niż dla szkła (280 nm). Transmittancja szkła wynosząca ok. 92% jest osiągnięta przez maksymalną transmisyjną wszystkich powłoki za wyjątkiem nanoszonej przy przepływie tlenu 200 sccm, która posiada najgorsze parametry optyczne spośród wytworzonych powłok. Jest to zjawisko charakterystyczne dla wszystkich przezroczystych warstw w tym zakresie.



**RYS. 3.** Widma transmisyjne wybranych powłok ditlenku tytanu osadzonych przy różnej wartości przepływu tlenu.

**FIG. 3.** Transmission spectra of selected coatings of titanium dioxide deposited at different values of oxygen flow rate.

As a result comes to the rearrangement of atoms in the structure, rupture of Ti-C bond and connection in place of carbon atoms oxygen atoms, leading to the formation of stoichiometric, well-cross-linked  $\text{TiO}_2$  in the form of hard coatings with satisfactory adhesion to the substrate. At higher oxygen flow rates above 350 sccm  $V_B$  growth and increased ion energy leads to an increase in thickness, reaching a value for the flow of 500 sccm of about -50 V. This phenomenon impacts on the construction of the  $V_B$  shell was described by B. Chapman and H. Yasuda [12,13].

In contrast to their thickness, the values of refractive index of the films are closely spread in the range of 2.1 to 2.23, which corresponds well to the literature data for amorphous titanium dioxide [14], and they appear to be only weakly dependent of the oxygen flow rate. While at lower oxygen flows this is not at all about the emerging stoichiometric  $\text{TiO}_2$ . It arises only when the flows above 350 sccm, which is confirmed by examination of changes photowetting, which showed the strongest photohydrophilic effect for the flow of oxygen equal to 400 and 450 sccm. Apart from the coating deposited at 300 sccm of the  $\text{O}_2$  flow rate, all the films are characterized by low extinction coefficient of about  $2 \times 10^{-4}$ , which means that very little radiation is absorbed by these materials. In such case, the sum of the reflected and transmitted radiation energy should amount nearly 100%.

The dependence of refractive index  $n$  and extinction coefficient  $k$  on the radiation wavelength in the UV range is presented in FIG. 2. A sharp decrease of both parameters is observed up to the wavelength of 400 nm – this is an illustration of a lowering absorption in this range. The value of refractive index stabilizes at the wavelength of approximately 650 nm, while that of extinction coefficient becomes close to zero near the wavelength of 500 nm.

On the basis of absorption measurements in the UV-VIS range, transmission curves of the coatings were drawn for this range of radiation. FIG. 3 presents transmission spectra in the range 200 to 800 nm for the coatings deposited at oxygen flow rates of 200, 400 and 450 sccm. The spectra reveal the value of adsorption threshold for most of the coatings corresponding to the wavelength of approximately 300 nm. Only the coatings deposited at 200 sccm of oxygen constitute an exemption, but even here the threshold value (280 nm) is higher than recorded for glass. The transmittance of glass, amounting to ca. 92%, is attained by the transmission maxima of nearly all the coatings with the exemption of that synthesized at the flow rate of  $\text{O}_2$  equal 200 sccm, which has the worst optical parameters. This is a phenomenon characteristic for all the films transparent in this range.

**TABELA 2. Wartości kąta zwilżania powłok ditlenku tytanu osadzanych przy różnych wartościach przepływu tlenu poddanych różnym czasom naświetlania promieniowaniem UV.**

**TABLE 2. The dependence of water contact angle of TiO<sub>2</sub> coatings deposited at different flow rates of oxygen on the time of UV illumination.**

Przepływ tlenu Oxygen flow rate [sccm]	Kąt zwilżania / Water contact angle [deg]				
	Naświetlanie UV / UV light exposition				
	0 h	0.5 h	1 h	1.5 h	2 h
250	101.7 ± 1.69	63.77 ± 0.2	64.98 ± 1.87	73.15 ± 6.77	63.45 ± 5.16
300	98.783 ± 0.32	71.45 ± 0.25	65.52 ± 2.17	63.53 ± 3.98	60.23 ± 8.01
350	100.33 ± 0.33	69.68 ± 1.99	60.55 ± 3.55	59.47 ± 4.05	62.97 ± 4.06
400	124.15 ± 1.36	94.1 ± 4.55	66.2 ± 4.93	49.42 ± 7.24	38.23 ± 1.13
450	110.72 ± 2.73	94.12 ± 1.72	83.27 ± 3.11	66.13 ± 1.07	61.8 ± 6.9
500	100.9 ± 1.78	68.95 ± 2.53	58.22 ± 1.19	55.32 ± 1.23	63.12 ± 4.68

Wyniki z pomiaru zmian zwilżalności pod wpływem naświetlania światłem z zakresu UV po różnych czasach ekspozycji dla powłok nanoszonych przy różnych przepływach tlenu przedstawiono w TABELI 2. Powłoki przed naświetlaniem wykazują hydrofobowy charakter, przy czym powłoka naniesiona przy przepływie 400 sccm cechuje się wysoką hydrofobowością (kąt zwilżania wynosi 124 deg). Niższy kąt o 14 deg posiada powłoka naniesiona przy nieco wyższym przepływie 450 sccm. Dla pozostałych wartości te wynoszą ok. 100 deg. Po 2-godzinnym naświetlaniu najniższy kąt został osiągnięty dla powłoki nanoszonej przy przepływie 400 sccm - wartość zmalała do 38 deg. Następną powłoką odznaczającą się największym spadkiem wartości kąta zwilżania była nanoszona przy przepływie 450 sccm. Dla tych dwóch powłok wzrost zwilżalności następował w miarę równomiernie w całym przedziale czasowym. Z kolei dla pozostałych powłok największy wzrost zaobserwowano w przeciągu pierwszego pół godzinnego okresu naświetlania, po upływie którego następowała stabilizacja.

## Wnioski

W ramach niniejszej pracy wytworzono powłoki TiO<sub>2</sub> techniką RF PECVD z metaloorganicznego związku wyjściowego, jakim jest tetraetoksytytan. Zastosowano stałą moc wyładowania jarzeniowego równą 300 W oraz stały czas równy 90 minut. Parametrem zmiennym była szybkość przepływu tlenu w zakresie od 100 do 500 sccm. Badania elipsometryczne wykazały, że w procesie plazmochemicznego nanoszenia powłok TiO<sub>2</sub> z fazy gazowej wartość szybkości przepływu tlenu wpływa na grubość otrzymanej powłoki. Zależność grubości od przepływu tlenu w zakresie od 100 do 500 sccm osiąga minimum przy 350 sccm. Wartości współczynników załamania światła są do siebie bardzo zbliżone i mieszczą się w zakresie od 2,1 do 2,23. Niezależnie od szybkości przepływu tlenu współczynnik ekstynkcji dla powłok osiąga bardzo niską wartość bliską 0.

Badania fotozwilżalności dowiodły, że najsilniejszy efekt hydrofilowy osiągnięty został w przypadku warstw ditlenku tytanu otrzymywanych przy przepływie tlenu równym 400 sccm. Nieco słabszy, lecz wciąż zadowalający efekt można także uzyskać stosując przepływ tlenu równy 450 sccm.

Efekt zmian charakteru powierzchni z hydrofobowej na hydrofilową jest związany z tym, że w procesie fotokatalizy dochodzi do powstania par elektron-dziura, które w przypadku braku zaadsorbowanych odpowiednich form np. związków organicznych, mogą brać udział w odłączaniu zmostkowanych atomów tlenu O<sup>2-</sup> od atomów Ti (IV). Ma miejsce redukcja Ti(IV) do Ti(III) przez fotogenerowane elektrony i odłączanie zmostkowanych O<sup>2-</sup>, poprzez ich utlenianie do tlenu cząsteczkowego zachodzące pod wpływem dziur.

The results of water wettability of the coatings deposited at different flow rates of oxygen, following their prolonged illumination with UV light, are presented in TABLE 2. Before the irradiation, the coatings exhibit hydrophobic properties, with those deposited at 400 sccm and at 450 sccm of O<sub>2</sub> having the highest and the second highest values of water contact angle equal 124 deg and 110 deg respectively. For the remaining films, deposited at lower values of oxygen flow rate, the respective values are close to 100 deg. Following the UV irradiation, carried out for two hours, the contact angle of the 400 sccm sample decreased to 38 deg. The second largest decrease of the contact angle was obtained in the case of sample deposited at 450 sccm of oxygen flow rate. For these two materials, an increase of water wettability was fairly constant within the entire time range. In contrast to that, in the case of remaining coatings the most pronounced rise of water wettability was recorded within the first half an hour of UV illumination, with its value saturated at longer times of exposition.

## Conclusions

In this work, with the help of RF PECVD technique, TiO<sub>2</sub> coatings were synthesized from organometallic precursor, such as tetraethoxytitanium. The discharge power was set at 300 Watt and the deposition time amounted to 90 minutes. The flow rate of oxygen, in the range of 100 to 500 sccm, was used as an operational variable. Ellipsometric studies have shown that, in the above range of parameters, film thickness is a function of that variable, exhibiting its minimum at O<sub>2</sub> flow rate of 350 sccm. The values of refractive index of all films deposited within this scope of deposition conditions are similar and they are comprised in the range of 2.1 to 2.23. Extinction coefficients of the films, on the other hand, are very small and, independently of the oxygen flow rate, acquire values near 0.

The photowetting studies have shown that the strongest hydrophilic effect is obtained for the flow rate of oxygen equal 400 sccm. A slightly worse, but still satisfying, result was achieved at the flow rate value of 450 sccm.

The effect of surface transformation from hydrophobic to hydrophilic under the UV irradiation is a direct result of a photoexcitation of electrons and the creation of electron-hole pairs. Under conditions of a lack of adsorbed organic compounds, these pairs get involved in process of elimination of bridged O<sup>2-</sup> species from the titanium Ti (IV) atoms. Reduction of Ti(IV) to Ti(III) by photogenerated electrons takes place, while the oxygen elimination is carried out by the holes. The adsorbed water molecules undergo dissociation and the resulting hydroxyl ions are bound to the surface, thus making it strongly hydrophilic [6].



Następnie zachodzi dysocjacja zaadsorbowanej wody, a powstające jony hydroksylowe ulegają związaniu z powierzchnią fotokatalizatora, w wyniku czego powierzchnia staje się hydrofilowa [6].

## Podziękowania

*Praca realizowana w ramach grantu finansowanego przez MNiSW Nr N 508 48 26 38.*

## Acknowledgments

*The work has been supported by the Ministry of Science and Higher Education within the frames of the grant No N 508 48 26 38.*

## Piśmiennictwo

- [1] Carp O., Huisman C. L., Reller A.: Photoinduced reactivity of titanium dioxide. *Progress in Solid State Chemistry* 32 (2004) 33-177.
- [2] Serpone N., Emeliene A.V.: Suggested terms and definitions in photocatalysis and radiocatalysis. *International Journal of Photoenergy* 4 (2002) 91-131.
- [3] Dadjour M.F., Ogino Ch., Matsumura S., Shimizu N.: Kinetics of disinfection of *Escherichia coli* by catalytic ultrasonic irradiation with TiO<sub>2</sub>. *Biochemical Engineering Journal* 25 (2005).
- [4] Huang Z., Maness P.Ch., Blake D.M., Wolfrum E.J., Smolinski S.L.: Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 130 (2000) 2-3.
- [5] Mills A., Hunte S.K.: A web-based overview of semiconductor photochemistry-based current commercial application. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* 152 (2002) 233-247.
- [6] Wang R., Hoshimoto K., Fujishima A., Chikuni M., Kojima E., Kitamura A.: Light-induced amphiphilic surface. *Nature* 388 (1997) 431-432.
- [7] Meinhold G.: Rutile and its applications in earth sciences. *Earth-Science Reviews* 102 (2010) 1-28.
- [8] Nolan R.P., Langer A.M., Weisman I., Herson G.B.: Surface character and membranolytic activity of rutile and anatase: two titanium dioxide polymorphs. *British Journal of Industrial Medicine* 44 (1987) 687-698.

## References

- [9] Szymanowski H., Sobczyk-Guzenda A., Rylski A., Jakubowski W., Gazicki-Lipman M., Herberth U., Olcaytug F.: Photo-induced properties of thin TiO<sub>2</sub> films deposited using the radio frequency plasma enhanced chemical vapor deposition method. *Thin Solid Films* 515 (2007) 5275-5281.
- [10] Maeda M., Watanabe T.: Evaluation of photocatalytic properties of titanium oxide films prepared by plasma-enhanced chemical vapor deposition. *Thin Solid Films* 489 (2005) 320-324.
- [11] Martinu L., Poitras D.: Plasma deposition of optical films and coatings: A review. *Journal of Vacuum Science and Technology A* 18, (2000) 6.
- [12] B. Chapman, *Glow Discharge Processes: Sputtering and Plasma Etching*, John Wiley & Sons, New York 1980.
- [13] H. Yasuda, *Plasma Polymerization*, Academic Press, Orlando Florida 1985.
- [14] Larouche S., Szymanowski H., Klemberg-Sapieha J. E., Martinu L.: Microstructure of plasma-deposited SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> optical films. *J. Vac. Sci. Technol. A* 22(4), Jul/Aug (2004), 1200-1206.

# ANALIZA MIKROSTRUKTURY SPIEKÓW TYTANOWYCH Z GRADIENTEM POROWATOŚCI PRZY ZASTOSOWANIU RENTGENOWSKIEJ MIKRO- TOMOGRAFII KOMPUTEROWEJ

KRZYSZTOF PAŁKA<sup>1</sup>, BARBARA SZARANIEC<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> POLITECHNIKA LUBELSKA, KATEDRA INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ,  
UL. NADBYSTRZYCKA 36, 20-618 LUBLIN

<sup>2</sup> AGH AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, WYDZIAŁ INŻYNIERII  
MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI, KATEDRA BIOMATERIAŁÓW,  
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

\* E-MAIL: SZARAN@AGH.EDU.PL

## Streszczenie

W pracy przedstawiono analizę mikrostruktury porowatych spieków tytanowych o budowie gradientowej przeznaczonych na implanty medyczne. Spieki z gradientem porowatości otrzymywano metodą metalurgii proszków wprowadzając różne udziały porogenu (30-50%) wzdłuż osi próbki. Na podstawie tomografii komputerowej określono porowatość, rozkład wielkości porów oraz ich wielkość w różnych obszarach spieku. Zgodnie z założeniami otrzymano spiek o wysokiej porowatości w warstwach przypowierzchniowych (43-66%) z przewagą porów otwartych oraz niskiej porowatości wewnątrz (10%) związaną głównie z porami zamkniętymi.

**Słowa kluczowe:** tytan, metalurgia proszków, mikrostruktura, tomografia komputerowa CT

[Inżynieria Biomateriałów, 112, (2012), 26-30]

## Wprowadzenie

Projektowanie implantów o optymalnej porowatości, module sprężystości oraz właściwościach mechanicznych jest bardzo istotnym zagadnieniem w inżynierii biomateriałów, zwłaszcza materiałów stosowanych w chirurgii kostnej czy w inżynierii tkankowej [1]. Z punktu widzenia integracji implantu z kością korzystne jest gdy materiał posiada pory otwarte o wielkości odpowiadającej strukturom kostnym (50-450 μm) [2]. Taka mikrostruktura umożliwia wrastanie kości w zaimplantowany biomateriał a przez to uzyskanie lepszego połączenia implantu z kością, ogranicza możliwość jego obłuzowania i wypadnięcia oraz zapewnia wytrzymałość zmęczeniową implantu [3]. Biomateriałami o wysokiej biogodności stosowanymi dość powszechnie w chirurgii kostnej na wyroby zarówno lite (stopowe i niestopowe), powłoki oraz na elementy porowate są tytan i jego stopy [4]. Związane jest to z ich niską, jak na metale, gęstością przy jednocześnie wysokiej wytrzymałości i odporności na korozję. Jedną z technik wytwarzania tytanowych implantów porowatych jest metalurgia proszków z zastosowaniem odpowiedniego porogenu. Dzięki sterowaniu ilością dodawanego porogenu w różnych strefach materiału możliwe jest uzyskanie materiałów porowatych z gradientem porowatości. Takie biomimetyczne podejście do budowy implantów kostnych pozwala na jeszcze wierniejsze odwzorowanie mikrostruktury i właściwości biomateriału (m.in. gęstość, moduł sprężystości) oraz poprawę osteointegracji i płynniejsze połączenie implantu z żywą tkanką.

# MICROSTRUCTURAL ANALYSIS OF POROSITY-GRADED TITANIUM SINTERS USING MICROTOMOGRAPHY

KRZYSZTOF PAŁKA<sup>1</sup>, BARBARA SZARANIEC<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> LUBLIN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,  
DEPARTMENT OF MATERIALS ENGINEERING,  
NADBYSTRZYCKA ST. 36, 20-618 LUBLIN, POLAND

<sup>2</sup> AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,  
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,  
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,  
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLAND

\* E-MAIL: SZARAN@AGH.EDU.PL

## Abstract

*This paper presents a microstructural analysis of functionally graded porous titanium sinters used as medical implants. Porosity-graded sinters were obtained using powder metallurgy by introducing porogen in various proportions (30-50%) along the sample axis. To determine porosity, pore size distribution and pore sizes in different sinter areas, X-ray computed tomography imaging was used. In line with assumptions, the sinter obtained displayed high porosity in near-surface layers (43-66%) with the majority of open pores, and low porosity in deeper layers (10%) with the majority of closed pores.*

**Keywords:** titanium, powder metallurgy, microstructure, computer tomography CT

[Engineering of Biomaterials, 112, (2012), 26-30]

## Introduction

Designing implants with optimal porosity, modulus of elasticity and mechanical properties is a key issue in engineering of biomaterials, especially those used in bone surgery or tissue engineering [1]. From the point of view of bone-implant integration, open pores are preferred in implant materials with pore sizes comparable to those in bone structures (50-450 μm) [2]. With such microstructure, bone is encouraged to grow into implanted biomaterial for better bond between the bone and the implant, better protection against implant detachment, as well as better fatigue strength of the implant [3]. Titanium and its alloys are biocompatible materials widely used in bone surgery for solid products (commercial pure or alloyed materials), coatings and porous elements [4]. Titanium owes its suitability for numerous applications to low density (compared to other metals), excellent strength and corrosion resistance. Powder metallurgy with suitable porogen application is one of the technologies used for fabrication of porous titanium implants. By controlling the amount of porogen added in different areas of the material, it is possible to obtain porosity-graded materials. Such biomimetic approach towards the structure of bone implants helps to ensure a more detailed reproduction of biomaterial in terms of its microstructure and properties (including its density, modulus of elasticity) as well as to improve osteointegration and create a more regular bone-implant linkage. Higher near-surface porosity makes it easier for the tissue to grow into the implant [5] at its periphery, whereas less porous implant's core can give it better strength [6].

Większa porowatość przy powierzchni pozwala na wrastanie tkanki w skrajnych rejonach implantu [5], natomiast wykazująca niższą porowatość środkowa część jest odpowiedzialna za jego dobre właściwości mechaniczne [6].

Użytecznym narzędziem w projektowaniu i optymalizacji mikrostruktury spieków jest rentgenowska mikrotomografia komputerowa. W pracy przedstawiono analizę mikrostruktury porowatych spieków tytanowych o budowie gradientowej przeznaczonych na implanty medyczne przy użyciu mikro-CT.

## Materiały i metodyka badań

Próbki tytanowe z gradientem porowatości otrzymano metodą metalurgii proszków. Proszek tytanowy firmy Atlantic Equipment Engineers, USA mieszano z poroginem, którym był wodorowęglan amonu w stosunku wagowym porogenu do tytanu 30/70 i 50/50%. Mieszaniny proszków zasypywano do formy w sekwencji: 3 części wagowe mieszaniny 50/50, 4 części wagowe mieszaniny 30/70 i 3 części wagowe mieszaniny 50/50, a następnie zaprasowywano izostatycznie pod ciśnieniem (ok. 8 MPa). Porogen usuwano podczas wstępnej obróbki termicznej w temperaturze 200°C w atmosferze argonu w czasie 5h. Po usunięciu porogenu wypraski spiekano w wysokiej próżni ( $5 \cdot 10^{-4}$  mbar) w temperaturze 1200°C przez 5h [7]. Otrzymywano walce tytanowe o średnicy 12 mm i grubości 4 mm. Gęstość wyprasek wynosiła  $2,16 \pm 0,12$  g/cm<sup>3</sup>, a gotowych spieków  $1,69 \pm 0,17$  g/cm<sup>3</sup>.

Na podstawie tomografii komputerowej scharakteryzowano mikrostrukturę otrzymanych spieków gradientowych. Wykorzystano mikrotomograf Skyscan 1174 wraz z dedykowanym oprogramowaniem sterującym (Skyscan, N.V., Belgia). W celu zwiększenia rozdzielczości otrzymane spieki zeszlifowano do średnicy 3 mm. Podczas skanowania próbka była obracana w zakresie kątowym  $0^\circ \div 180^\circ$  z krokiem  $0,4^\circ$ . Po każdym kroku obrotu urządzenie wykonywało 5 zdjęć w celu uśrednienia poziomu ekspozycji, łącznie uzyskano 456 fotografii. Zastosowano przypadkowe przemieszczanie próbki dla każdej projekcji w celu eliminacji artefaktów. Zastosowano filtr aluminiowy o grubości 0,75 mm, aby uśrednić energię wiązki rtg poprzez odfiltrowanie fotonów o niskiej energii. Obrazy zostały następnie zrekonstruowane do przekrojów poprzecznych z zastosowaniem oprogramowania NRecon (Skyscan N.V., Belgia). Po rekonstrukcji uzyskano zestaw obrazów o izotropowej wielkości voxela na poziomie 6,5  $\mu$ m w każdej osi. Zestaw ten był następnie analizowany przy użyciu oprogramowania CTAn oraz dodatkowo dokonano wizualizacji 3D programem CTVol (Skyscan N.V., Belgia). Rezultatem analizy wykonanej na podstawie mikrotomografii były dane dotyczące porowatości, powierzchni porów oraz ich orientacji w zależności od położenia przekroju względem powierzchni bazowej. Do zobrażenia mikrostruktury spieków tytanowych zastosowano również mikroskopię skaningową SEM- JEOL JSM-5400.

## Wyniki i dyskusja

Na RYS. 1 przedstawiono obrazy SEM otrzymanego spieku tytanowego. Widoczne jest występowanie sieci porów otwartych o nieregularnej geometrii i zróżnicowanych wymiarach.

Na RYS. 2-4 przedstawiono wyniki analizy porowatości uzyskane z mikrotomografii. Maksymalna porowatość całkowita wynosiła 66,19% (przy powierzchni górnej), natomiast minimalna 9,13% w środkowej części próbki. W górnej części próbki wyznaczona porowatość była o ponad 20% wyższa niż w części dolnej, gdzie uzyskano wartość 43,05%.

X-ray microtomography is a convenient tool for sinter microstructure design and optimization. This paper presents a microstructural analysis of functionally graded porous titanium sinters used as medical implants, carried out using microtomography.

## Materials and Methods

Porosity-graded titanium samples were obtained using powder metallurgy. Titanium powder from Atlantic Equipment Engineers, US was mixed with ammonium bicarbonate, used as a porogen, with weight ratios of 30/70 and 50/50. The mixtures were poured into the mould in the following sequence: 3 parts by weight of the 50/50 mixture, 4 parts by weight of the 30/70 mixture and 3 parts by weight of the 50/50 mixture. The material was then isostatically pressed approx. 8 MPa). The porogen was removed during initial thermal processing at 200°C in argon atmosphere for 5 hours. Once the porogen was removed, the compacts were sintered in high vacuum ( $5 \cdot 10^{-4}$  mbar) at 1200°C for 5 hours [7]. The resulting products were titanium rolls of 12 mm in diameter and 4 mm in thickness. The density was  $2.16 \pm 0.12$  g/cm<sup>3</sup> for compacts and  $1.69 \pm 0.17$  g/cm<sup>3</sup> for ready sinters.

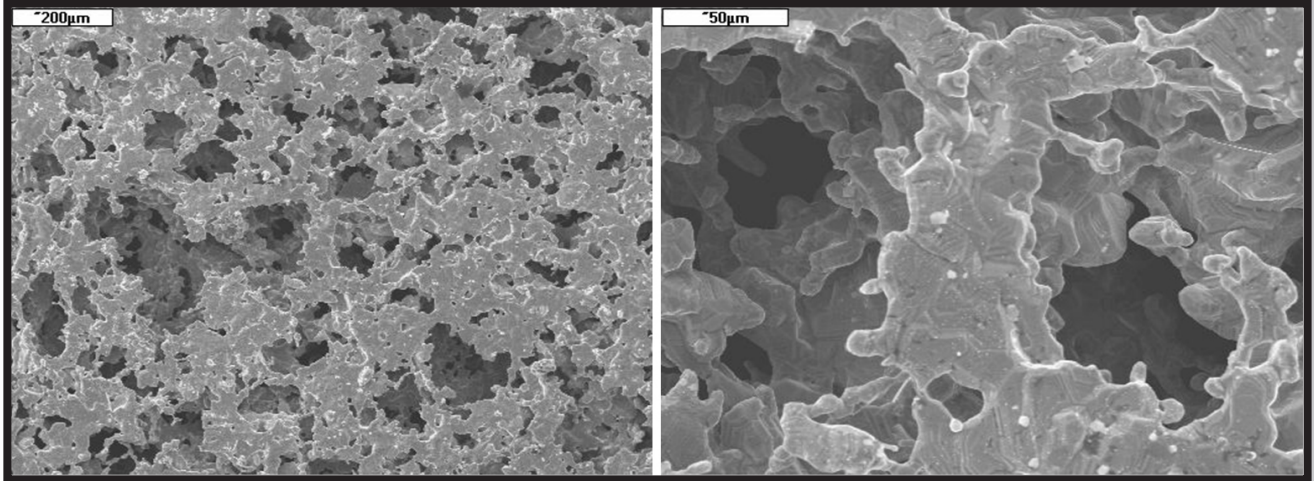
The microstructural analysis of manufactured functionally graded sinters was carried out using X-ray computed tomography. For this purpose, Skyscan 1174 system was used, together with dedicated control software (Skyscan, N.V., Belgium). In order to increase resolution, the sinters were grinded down to 3 mm in diameter. The sample was rotated during scanning within angular range of  $0^\circ \div 180^\circ$  with a step of  $0.4^\circ$ . After each step, 5 photographs were made in order to average exposure levels. In total, 456 photographs were made. In order to eliminate possible artefacts, the sample was randomly moved for each projection. An aluminium 0.75 mm thick filter was used at the source to reduce beam hardening effects. The images were then reconstructed as cross-sections using NRecon software (Skyscan N.V., Belgium). After the reconstruction, the isotropic voxel size for the set of images obtained was about 6.5  $\mu$ m in each axis. The set was then analysed using CTAn software, followed by visualisation prepared with CTVol 3D software (Skyscan N.V., Belgium). The microtomography analysis provided data on porosity, pore sizes and their orientation depending on spatial relation between the cross-section and the base surface. The microstructure of titanium sinters was imaged using SEM- JEOL JSM-5400 scanning microscope.

## Results and Discussion

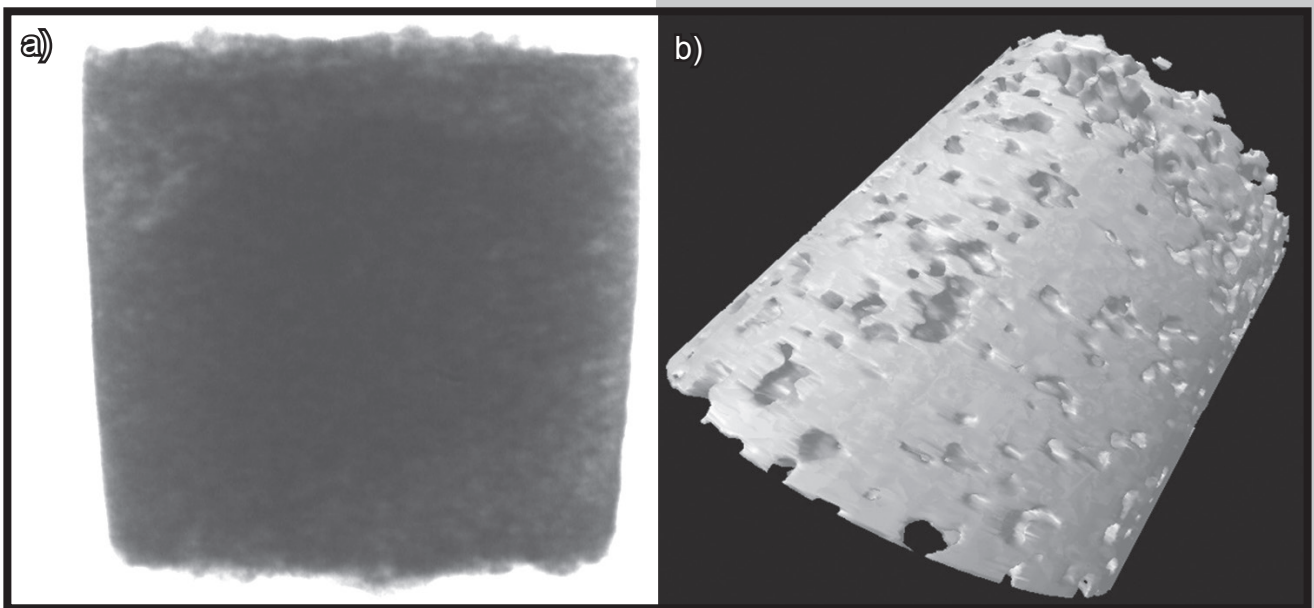
FIG. 1 shows SEM images of the titanium sinter obtained. The material obtained has open pores of irregular geometry and various sizes.

FIGs 2-4 show porosity analysis results obtained using microtomography. The maximum total porosity was 66.19% (at the top surface), and the minimum total porosity was 9.19% in deeper layers of the sample. The porosity of the upper part of the sample displayed was 20% higher than that of the lower part, in which the result of 43.05% was obtained. Such asymmetry arose from the method of compact forming. During uniaxial pressing of powders, higher compaction is observed in areas that are closest to the surface in contact with the stamp. Despite such irregularity, the near-surface areas with increased porosity had similar thickness of 0.5 mm. The porosity of remaining areas was fixed at around 10%. A higher percentage of open pores can be observed at sample periphery when compared to its deeper layers.





RYS. 1. Mikrostruktura porowatego spieku tytanu (SEM).  
FIG. 1. Microstructure of porous sintered titanium (SEM).



RYS. 2. Obraz próbki z tomografii (a) oraz jej wirtualny model 3D (b).  
FIG. 2. Specimen in micro CT imaging (a) and its virtual 3D model (b).

Taka niesymetryczna budowa spieku wynikała ze sposobu formowania wyprasek. Podczas jednoosiowego prasowania proszków obszar będący bliżej powierzchni kontaktującej się z obciążonym stemplem ulegał większemu zagęszczeniu. Mimo tej różnicy obszary przypowierzchniowe o zwiększonej porowatości miały podobną grubość ok. 0,5 mm. W pozostałej części porowatość była niemal stała i wynosiła ok. 10%. W skrajnych strefach próbki w porównaniu z jej wnętrzem obserwuje się wyższy udział porów otwartych.

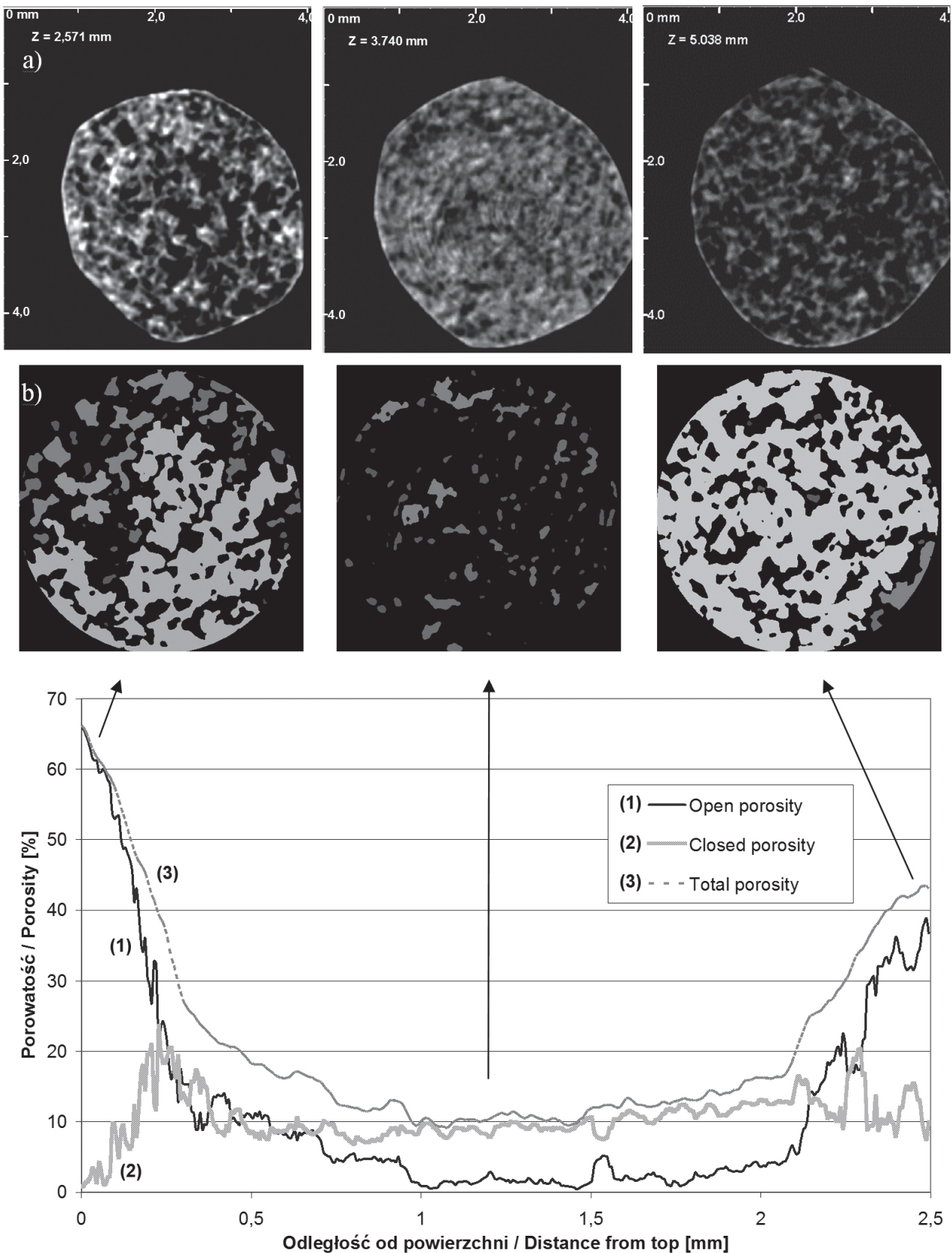
Na RYS. 3 przedstawiono rozkład gradientu porowatości wzdłuż osi próbki z wybranymi z różnych obszarów (obie powierzchnie i wnętrze) obrazami przekrojów uzyskanymi z tomografu oraz te same obrazy po binaryzacji.

Analizując rozkład wielkości porów w spieku można zaobserwować podobną zależność jak w przypadku porowatości. Duże pory o powierzchni  $0,25 \div 0,40 \text{ mm}^2$  występowały przy zewnętrznych krawędziach próbki do głębokości ok. 0,3 mm, natomiast mniejsze, o powierzchni ok.  $0,005 \text{ mm}^2$  w części środkowej (RYS. 3). Po przeliczeniu średniej powierzchni porów na średnią średnice porów możemy stwierdzić, że rozmiar porów przy samej powierzchni wynosi ok.  $280\text{-}360 \mu\text{m}$  i zmniejsza się ku środkowi do wartości  $40 \mu\text{m}$ .

FIG. 3 shows the porosity gradient distribution along the sample axis with cross-sectional images, collected from various areas (both surfaces and deeper layers) and obtained using computed tomography, and the same images after binarization. Analysing the distribution of pore sizes, there were observed the same relationship as for porosity. Large pores of  $0.25 \div 0.40 \text{ mm}^2$  were found at sample periphery to the depth of approx.  $0.3 \text{ mm}$ , whereas smaller pores of  $0.005 \text{ mm}^2$  were found in deeper layers (FIG. 3). Based on calculations of the average pore diameter, it can be concluded that pore sizes at the surface range at  $280\text{-}360 \mu\text{m}$  and decrease towards the core down to  $40 \mu\text{m}$ .

The porosity and pore sizes obtained are suitable for implant materials used in bone surgery and can encourage formation of biological bond between the bone and the implant with osseous tissue growing into open pores of the material.

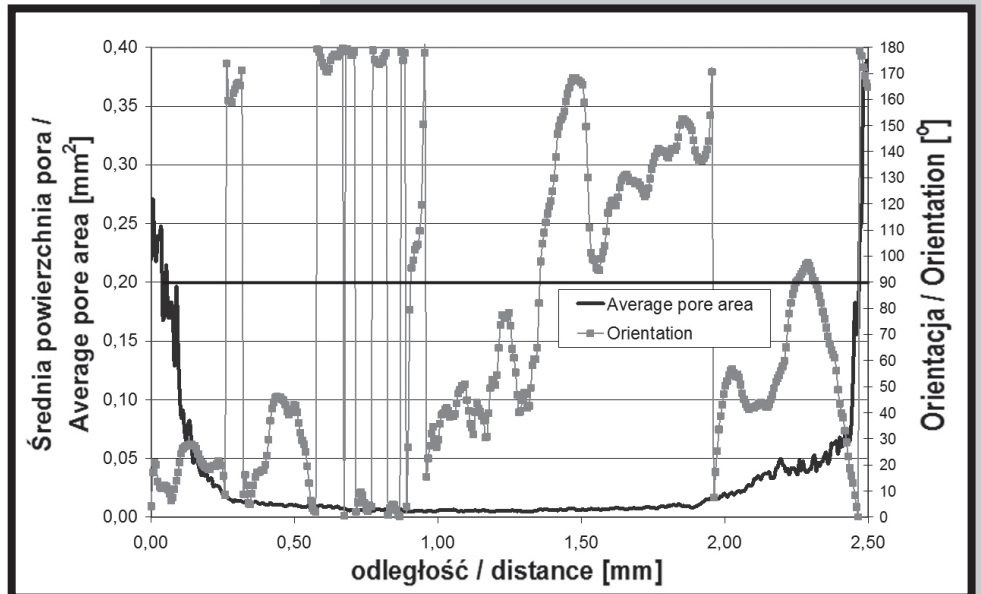
Pore orientation did not display a strong dependency on sample orientation. However, there is a certain relation between the main axis of pores and sample fabrication. Powder pressing results in the presence of a larger number of pores oriented perpendicularly to the sample axis, especially near the surface to which the pressure was applied.



RYS. 3. Gradient porowatości wzdłuż osi próbki z obrazami wybranych przekrojów: a) obrazy z tomografu (jasne obszary odpowiadają tytanowi, ciemne porom), b) obrazy zbinaryzowane (ciemne obszary odpowiadają tytanowi, jasne porom).

FIG. 3. Axial porosity gradient: a)  $\mu$ CT images (bright regions - Ti, dark - pores), b) binarized images (dark regions - Ti, bright - pores).

Otrzymana porowatość i wielkość porów są odpowiednie dla materiałów implantacyjnych stosowanych w chirurgii kostnej i mogą zapewnić wytworzenie wiązania biologicznego na granicy kość-implant dzięki wrastaniu tkanki kostnej w pory otwarte materiału. Orientacja porów nie wykazywała tak silnej zależności od położenia. Jednakże ukierunkowanie głównej osi porów można w pewien sposób powiązać ze sposobem wytwarzania próbek. Prasowanie proszków wpływa na obecność większej ilości porów ukierunkowanych prostopadle do osi próbki zwłaszcza w pobliżu powierzchni, która była obciążana.



**RYS. 4.** Rozkład średniej powierzchni pora oraz orientacja porów wzdłuż osi próbki (kąąt oznacza odchylenie osi głównej pora od osi próbki, przy 90° obie osie są zgodne).

**FIG. 4.** Axial distribution of average pore area and orientation of pores (deflection of major axis of pore out of the major axis of specimen).

## Wnioski

Metodą metalurgii proszków otrzymano spieki tytanowe z gradientem porowatości. Na podstawie rentgenowskiej tomografii komputerowej scharakteryzowano ich mikrostrukturę. Wykazano, że wzdłuż osi spieku porowatość zmienia się gradientowo od wysokiej rzędu 43-66% w warstwach przypowierzchniowych do niskiej poniżej 10% wewnątrz próbki. W obszarach przypowierzchniowych dominują pory otwarte, natomiast im bliżej środka tym więcej pojawia się porów zamkniętych. Tomografia komputerowa jest szybką i bardzo użyteczną metodą w analizie mikrostruktury materiałów porowatych zwłaszcza tych o zróżnicowanej porowatości.

## Podziękowania

Praca współfinansowana ze środków AGH-UST projekt nr 11.11.160.937.

## Conclusions

Powder metallurgy was used to obtain porosity-graded titanium sinters. Their microstructure was analysed using X-ray computed tomography. It has been proved that porosity changes gradually along the sinter axis from 43-66% in near-surface layers down to 10% in deeper layers. In near-surface areas, the majority are open pores, whereas a growing number of closed pores are observed towards the core. Computed tomography is a fast and useful tool for microstructural analysis of porous materials, especially those of varied porosity.

## Acknowledgements

The authors acknowledge financial support from AGH-UST project no 11.11.160.937.

## Piśmiennictwo

- [1] Szaraniec B., Kotula K., Chłopek J.: Kompozyty gradientowe dla medycyny regeneracyjnej. Kompozyty vol. 9 nr 3 (2009) 205-209.
- [2] Schliephake H., Neukam FW., Klosa D.: Influence of pore dimensions on bone ingrowth into porous hydroxylapatite blocks used as bone graft substitutes. Ahistometric study. Int J OralMaxillofac Surg 20 (1991) 53-8.
- [3] Otsuki B., Takemoto M., Fujibayashi S., Neo M., Kokubo T., Nakamura T.: Novel Micro-CT Based 3-Dimensional Structural Analyses of Porous Biomaterials. Key Engineering Materials Vols. 330-332 (2007) 967-970.
- [4] Geetha M., Singh A.K., Asokamani R., Gogia A.K.: Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants - A review. Progress in Materials Science 54 (2009) 397-425.

## References

- [5] Baril E., Lefebvre L.P., Hacking S.A.: Direct visualization and quantification of bone growth into porous titanium implants using micro computed tomography. J Mater Sci: Mater Med (2011) 22:1321-1332.
- [6] Takano N., Fukasawa K., Nishiyabu K.: Structural strength prediction for porous titanium based on micro-stress concentration by micro-CT image-based multiscale simulation. International Journal of Mechanical Sciences 52 (2010) 229-235.
- [7] Szaraniec B., Ziabka M., Chłopek J., Papargyri, S., Tsiapas D.: Obtaining of porous titanium for medical implants. Engineering of Biomaterials vol. 11 no. 81-84 (2008) 49-52.



# BADANIA POWIERZCHNI SUPERSPRĘŻYSTYCH DYSTRAKTORÓW NiTi UŻYTYCH W LECZENIU KRANIOSTENOZ U DZIECI

Z. LEKSTON<sup>1\*</sup>, M. KACZMAREK<sup>2</sup>, K. PRUSIK<sup>1</sup>, D. STRÓŻ<sup>1</sup>, K. KOBUS<sup>3</sup>, D. RYCHLIK<sup>3</sup>

<sup>1</sup> INSTYTUT NAUKI O MATERIAŁACH, UNIWERSYTET ŚLĄSKI, UL. BANKOWA 12, 40-007 KATOWICE

<sup>2</sup> INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁÓW I BIOMATERIAŁÓW, POLITECHNIKA ŚLĄSKA,

UL. KONARSKIEGO 18A, 44-100 GLIWICE

<sup>3</sup> KLINIKA CHIRURGII PŁASTYCZNEJ,

UL. JANA PAWŁA II 2, 57-320 POLANICA-ZDRÓJ

\* E-MAIL: ZDZISLAW.LEKSTON@US.EDU.PL

## Streszczenie

*W pracy przedstawiono badania powierzchni supersprężystych implantów NiTi w postaci spawanych laserowo na zakładkę pierścieni użytych w badaniach klinicznych w leczeniu ścieśnienia czaszki u dzieci spowodowanego zbyt wczesnym zrośnięciem szwów czaszkowych. Wykonano badania porównawcze składu fazowego, morfologii powierzchni i odporności na korozję wżerową próbek ze spawów i drutów z okolicy spawu wyciętych z implantu w różnych stadiach przygotowania powierzchni poprzez szlifowanie mechaniczne, trawienie chemiczne, polerowanie elektrolityczne i pasywację podczas sterylizacji w parze wodnej oraz próbek spawu i drutu wyciętych z implantu usuniętego z organizmu. Rentgenograficzne badania powierzchni spawów i drutów pasywowanych w autoklawie oraz usuniętych z organizmu, zdezynfekowanych i wysterylizowanych nie wykazały różnic w składzie fazowym. We wszystkich próbkach w temperaturze pokojowej identyfikowano tylko fazę macierzystą B2. W mikroskopowych badaniach stwierdzono znaczne zróżnicowanie morfologii powierzchni w zależności od zastosowanej obróbki powierzchniowej. Analiza chemiczna powierzchni w mikroobszarach spawu i drutu z okolicy spawu wyciętych z próbki po implantacji wykazała obecność śladowych ilości chloru, fosforu, wapnia i sodu pochodzących ze środowiska tkankowego implantu. Badania potencjodynamiczne odporności na korozję wżerową wykazały nieznaczne rozbieżności zmierzonych wartości potencjału korozyjnego i potencjału przebicia w zależności od modyfikacji powierzchni.*

[Inżynieria Biomateriałów, 112, (2012), 31-35]

## Wstęp

W chirurgicznym leczeniu zniekształceń czaszki u dzieci spowodowanych zbyt wczesnym zrośnięciem szwów czaszkowych w ostatnich latach oprócz konwencjonalnych rekonstrukcji czaszki CVR (cranial vault reconstruction) rozwijane są techniki wspomaganie remodelowania czaszki przy użyciu sprężyn znane jako SME (spring-mediated expansion) [1-3]. Stosowane do niedawna sprężyny ze stali implantacyjnych mogą być zastąpione skuteczniejszymi dystraktorami ze stopów NiTi wykazujących zjawisko supersprężystości [4].

# TESTS OF THE SURFACES OF SUPERELASTIC NiTi DISTRACTORS USED IN THE TREATMENT OF CRANIOSTENOSIS IN CHILDREN

Z. LEKSTON<sup>1\*</sup>, M. KACZMAREK<sup>2</sup>, K. PRUSIK<sup>1</sup>, D. STRÓŻ<sup>1</sup>, K. KOBUS<sup>3</sup>, D. RYCHLIK<sup>3</sup>

<sup>1</sup> INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE, UNIVERSITY OF SILESIA, 12 BANKOWA, 40-007 KATOWICE, POLAND

<sup>2</sup> INSTITUTE OF ENGINEERING MATERIALS AND BIOMATERIALS, SILESIA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,

18A KONARSKIEGO, 44-100 GLIWICE, POLAND

<sup>3</sup> PLASTIC SURGERY CLINIC,

2 JANA PAWŁA II, 57-320 POLANICA-ZDRÓJ, POLAND

\* E-MAIL: ZDZISLAW.LEKSTON@US.EDU.PL

## Summary

*The paper presents the research on the surface of NiTi superelastic implants in the form of lap laser-welded rings used in clinical trials for the treatment of children with craniostenosis by premature fusion of the cranial sutures. There were performed comparative tests of phase composition, surface morphology and resistance to pitting corrosion of weld samples and wire samples cut out from the implant at different stages of surface preparation by mechanical grinding, chemical etching, electrolytic polishing and passivation during steam sterilization as well as of weld samples and wire cut out from the implant removed from the body. X-ray examination of the surface of the welds and wire passivated in an autoclave and removed from the body, disinfected and sterilized showed no differences in phase composition. In all the samples at room temperature only the B2 parent phase was identified. Microscopic tests revealed significant differences in surface morphology, depending on the applied surface treatment. Chemical analysis of the surface in the microareas of the weld and wire from around the weld cut from the sample after implantation showed the presence of trace amounts of nitrogen, chlorine, phosphorus, calcium and sodium from the tissue environment of the implant. Potentiodynamic tests of resistance to pitting corrosion showed slight discrepancy in the measured values of the corrosion and breakdown potentials, depending on surface modification.*

[Engineering of Biomaterials, 112, (2012), 31-35]

## Introduction

In recent years, in surgical treatment of children with cranial deformations caused by premature fusion of the cranial sutures, in addition to conventional CVR (cranial vault reconstruction), techniques of supporting the cranial vault remodelling with springs known as SME (spring-mediated expansion) are being developed [1-3]. Recently used implant steel springs can be replaced by more effective distractors made of NiTi alloys which show the effect of superelasticity [4]. Constant force of such distractors, properly formed and attached to the cut fragments of the skull, and operating in a wide range of deformations, results in skull modelling during the so-called continuous distraction [5-7].

Stała siła takich dystraktorów odpowiednio uformowanych i przymocowanych do rozciętych fragmentów czaszki działająca w szerokim zakresie odkształceń powoduje modelowanie czaszki podczas tzw. dystrakcji ciągłej [5-7]. Opracowane w Instytucie Nauki o Materiałach Uniwersytetu Śląskiego superprężyste dystraktory NiTi od 2002 roku do chwili obecnej są z powodzeniem stosowane w badaniach klinicznych w plastyce czaszki u dzieci prowadzonych w Klinice Chirurgii Plastycznej Wrocławskiego Uniwersytetu Medycznego w Polanicy. Wstępne wyniki badań właściwości funkcjonalnych i skuteczności leczenia kraniostenoz u dzieci przy użyciu opracowanych supersprężystych łuków i pierścieni NiTi zamieszczono w kilku niedawno opublikowanych artykułach [8-10]. W badaniach wpływu środowiska tkankowego na implant istotne informacje można uzyskać na podstawie analizy zmian morfologii i składu chemicznego powierzchni oraz odporności korozyjnej po implantacji [11].

W tej pracy przedstawiono badania porównawcze próbek wyciętych z supersprężystych pierścieni NiTi, użytych w badaniach klinicznych modelowania sklepienia czaszki u dzieci z kraniostenozą.

## Materiał badań i metody

W badaniach wykorzystano druty ze stopu Ti-50,8 % at. Ni wg normy ASTM F 2063-05 o średnicy 1,1 mm wycięte z okrągłych sprężyn NiTi, spawanych laserowo na zakładkę, użytych w badaniach klinicznych w leczeniu kraniostenoz. Badania przeprowadzono na próbkach spawów i odcinków drutów z okolicy spawów wyciętych z przygotowanego implantu po szlifowaniu mechanicznym, trawieniu chemicznym oraz po pasywowaniu podczas sterylizacji w autoklawie, w parze wodnej, w temperaturze 130°C przez 30 minut. Drugą serię próbek stanowiły spaw i drut wycięty z implantu usuniętego z organizmu po 8 miesiącach implantacji, wysterylizowanego tlenkiem etylenu. Skład fazowy powierzchni drutów i spawów przed i po implantacji określono metodą rentgenowskiej analizy fazowej na podstawie dyfraktogramów zarejestrowanych przy użyciu dyfraktometru rentgenowskiego Philips X'Pert w promieniowaniu  $\text{CuK}_\alpha$  przy warunkach pracy lampy rentgenowskiej 40 kV i 30 mA. Badania morfologii powierzchni i składu chemicznego w mikroobszarach przeprowadzono przy użyciu mikroskopu skaningowego Jeol JSM-6480 wyposażonego w detektor EDS firmy IXRF oraz oprogramowania EDS 2008. Badania odporności na korozję wżerową przeprowadzono zgodnie z zaleceniami normy PN EN ISO 10933-15. Odporność na korozję wżerową oceniano w oparciu o rejestrację krzywych polaryzacji anodowej metodą potencjodynamiczną z wykorzystaniem systemu do badań elektrochemicznych VoltaLab® PGP 201 firmy Radiometr. Badania rozpoczynano od wyznaczenia potencjału otwarcia  $E_{\text{OCP}}$ . W dalszej kolejności zarejestrowano krzywe polaryzacji anodowej. Zmiana potencjału następowała w kierunku anodowym z szybkością 1 mV/s. Po uzyskaniu gęstości prądu anodowego  $i = 1 \text{ mA/cm}^2$  zmieniano kierunek polaryzacji. W ten sposób rejestrowano krzywą powrotną. Jako elektrodę odniesienia stosowano nasyconą elektrodę kalomelową, natomiast elektrodę pomocniczą stanowiła elektroda platynowa. Na podstawie zarejestrowanych krzywych wyznaczono charakterystyczne wielkości opisujące odporność na korozję wżerową, tj.: potencjał korozyjny  $E_{\text{kor}}$  (V), potencjał przebiccia  $E_b$  (V) lub potencjał transpasywacji  $E_{\text{tr}}$  (V), opór polaryzacyjny  $R_p$  ( $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ) oraz gęstość prądu korozyjnego  $i_{\text{corr}}$  ( $\text{A/cm}^2$ ). Badania przeprowadzono w roztworze fizjologicznym Ringera w temperaturze  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Skład chemiczny zastosowanego roztworu Ringera przedstawiono w TABELI 1.

From 2002 until now, superelastic NiTi distractors developed in the Institute of Materials Science, University of Silesia have been successfully used in clinical trials of skull modelling in children conducted in the Plastic Surgery Clinic of the Wrocław Medical University in Polanica. Preliminary results of the functional properties and efficiency of the treatment of children with craniostenosis using NiTi superelastic arches and rings have been presented in several recently published articles [8-10]. With the tests concerning the effect of the tissue environment on the implant, important information can be obtained by analysing the changes in the morphological and chemical composition of the surfaces and the corrosion resistance after implantation [11].

This paper presents a comparative study of the samples cut out from NiTi superelastic rings, used in clinical trials of skull modelling in children with craniostenosis.

## Material and methods

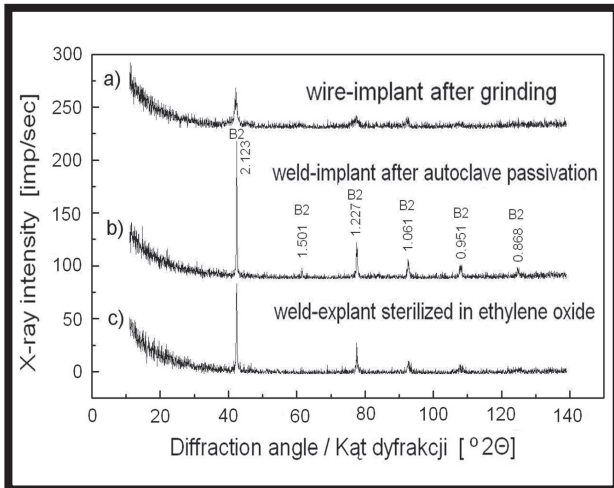
In the tests there was used the wire made of Ti-50, 8% at. Ni alloy according to standard ASTM F 2063-05 with the diameter of 1.1 mm cut out from round NiTi lap laser-welded springs used in clinical trials for the treatment of craniostenosis. The tests were conducted on weld samples and pieces of wire from around the welds, cut out from the implant prepared after mechanical grinding, chemical etching and passivation during sterilization in the autoclave, in steam and at the temperature of 130°C for 30 minutes. Another series of samples consisted of the weld and wire cut out from the implant removed from the body after 8 months of implantation and sterilized in the ethylene oxide. Phase composition of the welds and wire surfaces before and after implantation was determined by the X-ray phase analysis based on diffraction patterns and recorded using a Philips X'Pert X-ray diffractometer in  $\text{CuK}_\alpha$  radiation and the X-ray tube operating at 40 kV and 30 mA. Morphology tests of the surface and chemical composition in the micro-areas were performed using the JEOL scanning microscope JSM-6480 equipped with the IXRF EDS detector and the EDS 2008 software. Pitting corrosion resistance tests were carried out according to the DIN EN ISO 10933-15 standard. Pitting corrosion resistance was evaluated based on the registration of the anodic polarization curves done with the use of the Radiometer VoltaLab® PGP 201 potentiodynamic method for electrochemical testing. Testing started with the determination of the  $E_{\text{OCP}}$  opening potential. Then, anodic polarization curves were recorded. The change of the potential was in the anodic direction at a rate of 1 mV/s. After obtaining the anodic current density of  $i = 1 \text{ mA/cm}^2$ , the direction of polarization was changed. In this way, the return curve was recorded. A saturated calomel electrode was used as a reference electrode and a platinum electrode was used as a support electrode. Based on the recorded sets of curves, characteristic values that describe the pitting corrosion resistance, i.e. the  $E_{\text{kor}}$  (V) corrosion potential, the  $E_b$  (V) breakdown potential or the  $E_{\text{tr}}$  (V) transpassivation potential, the  $R_p$  ( $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ) polarization resistance and the  $i_{\text{corr}}$  ( $\text{A/cm}^2$ ) corrosion current density were defined. The tests were conducted in the Ringer's physiological solution at the temperature of  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Chemical composition of the Ringer's solution that was used are shown in TABLE 1.

**TABELA 1. Skład chemiczny roztworu Ringera.**  
**TABLE 1. Chemical composition of the Ringer's solution.**

Stężenie składników / Component concentration [g/l]		
NaCl	CaCl <sub>2</sub>	KCl
8.60	0.33	0.30



## Wyniki



**RYS. 1. Porównanie dyfraktogramów rentgenowskich próbek wyciętych z implantu przed i po implantacji: a) drut-implant szlifowany mechanicznie, b) spaw-implant pasywowany w autoklawie, c) spaw-explant sterylizowany tlenkiem etylenu. FIG. 1. Comparison of X-ray diffraction patterns of the samples cut out from the implant before and after implantation: a) mechanically grinded wire-implant b) weld-implant passivated in the autoclave, c) weld-explant sterilized with ethylene oxide.**

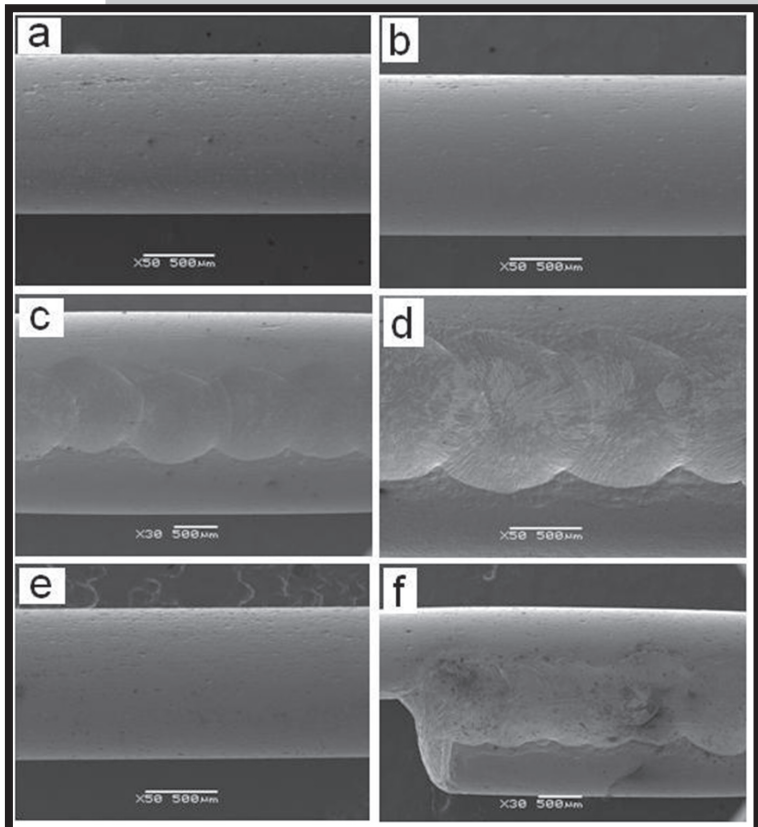
Metodą rentgenowskiej analizy fazowej stwierdzono, że badane próbki wycięte z implantów po różnej obróbce powierzchniowej oraz drut i spaw z implantu usuniętego z organizmu po 8-miu miesiącach implantacji mają strukturę fazy macierzystej B2 (RYS. 1). Nie zaobserwowano linii dyfrakcyjnych od rutyli  $TiO_2$ , który identyfikowano w tym stopie przy użyciu mikroskopu elektronowego w próbkach po pasywacji w autoklawie w przesyconej parze wodnej [12]. Cienka, o grubości kilku nanometrów, powłoka tlenkowa nie jest wykrywalna metodą rentgenograficzną na bardzo małej naświetlanej powierzchni badanych drutów.

Morfologię powierzchni spawów i odcinków drutów wyciętych z dystraktorów czaszkowych NiTi w kształcie pierścieni po różnej obróbce powierzchniowej przed implantacją oraz powierzchni spawów i drutów wyciętych z implantu usuniętego z organizmu pokazano na RYS. 2. Nie zaobserwowano wyraźnych różnic w morfologii powierzchni odcinków drutów wyciętych z implantów po szlifowaniu mechanicznym i po trawieniu chemicznym (RYS. 2 a, b). Dla drutu szlifowanego widoczne były rysy równoległe do kierunku szlifowania, czyli osi drutu. Powierzchnia drutu szlifowanego była bardziej nieregularna w porównaniu z wygładzoną powierzchnią drutu po trawieniu. Podobnie, w obszarach spawów nie zaobserwowano istotnych różnic morfologicznych (RYS. 2 c, d). Obszary spawów są dobrze zdefiniowane i charakteryzują się brakiem wtrąceń. Nie obserwowano makro i mikropęknięć w samym spawie oraz jego okolicach. Obszary spawów charakteryzują się dużo większym rozwinięciem powierzchni niż powierzchnia drutów. Morfologia obszaru spawu próbki eksplantowanej nie różniła się znacząco od morfologii spawu próbki implantu.

## Results

X-ray phase analysis showed that the tested samples cut out from the implants after different surface treatment, and the wire and welds from the implant removed from the body after eight months of implantation have a B2 parent phase structure (FIG. 1). No diffraction lines from  $TiO_2$  rutile, identified in this alloy with the electron microscope in the samples after autoclave passivation in oversaturated steam, were observed [12]. A thin oxide coating of a few nanometers in thickness cannot be detected by X-ray diffraction on a very small exposed surface of the tested wires.

Surface morphology of the welds and pieces of wire cut out from the NiTi ring-shaped cranial distractors after different surface treatment prior to implantation and of the welds and wire cut out from the implant removed from the body is shown in FIG. 2. There were no significant differences in the surface morphology of the pieces of wire cut out from the implants after mechanical grinding and chemical etching (FIG. 2 a, b). For grinded wire, the scratches parallel to the direction of grinding, i.e. the axis of the wire, were visible. The surface of the grinded wire was characterized by a slightly more irregularities in comparison to the smoothed surface after etching. Similarly, in the areas of welds there were no significant morphological differences (FIG. 2 c, d). Welding areas are well defined and are characterized by a lack of inclusions. There were no macro-and micro-cracks in the weld and around it. Welding areas are characterized by a much larger development of the surface than the surface of the wires. Morphology of the welding area of the explanted sample did not differ significantly from the welding morphology of the implant sample.



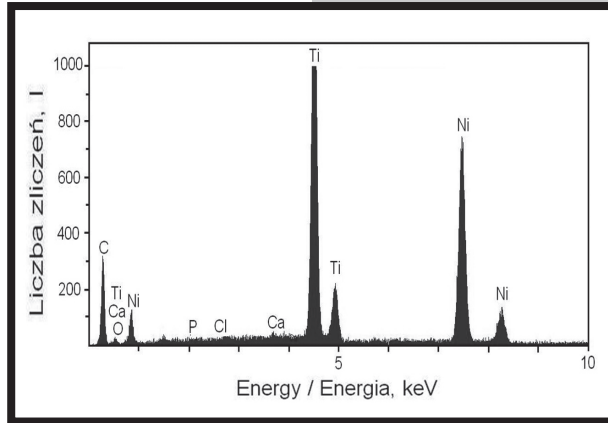
**RYS. 2. Obrazy mikroskopowe powierzchni odcinków drutów i spawów wyciętych z pierścieni NiTi przed implantacją (a-d) i po usunięciu z organizmu (e, f).**

**FIG. 2. Microscopic pictures of the surface of the pieces of wire and the welds cut out from NiTi rings prior to implantation (a-d) and after their removal from the body (e, f).**



Analiza składu chemicznego wykonana dla próbek eksplantowanych prowadzona w mikroobszarach wykazała, śladową obecność C, O, P, Cl oraz Ca. Obecność na widmach EDS linii od tych pierwiastków może świadczyć o wytworzeniu się na powierzchni cienkiego filmu tkankowego na powierzchni, dyfuzję tych pierwiastków z tkanek pacjenta do powierzchni próbki lub niedokładnie oczyszczenie powierzchni drutu po eksplantacji (RYS. 3).

Wyniki badań odporności na korozję wżerową implantu NiTi poddanego różnym zabiegom modyfikacji powierzchni przed implantacją oraz spawu i drutu wyciętego z implantu usuniętego z organizmu po implantacji przedstawiono w TABELI 2 oraz na RYS. 4.



RYS. 3. Widmo EDS (składu chemicznego) otrzymane z mikroobszaru powierzchni próbki wyciętej ze spawu po implantacji.

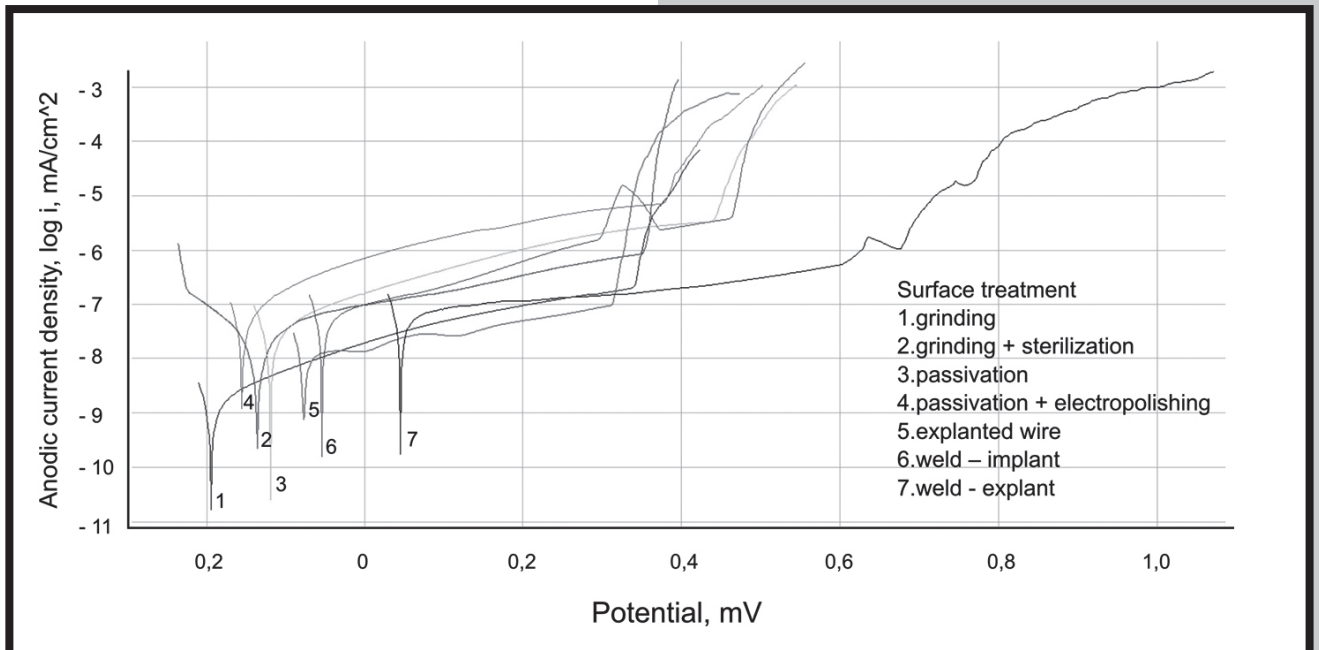
FIG. 3. EDS spectrum (of the chemical composition) obtained from the microarea of the surface of the sample cut out from the weld after implantation.

Chemical composition analysis of the explanted samples carried out in the microareas showed the presence of trace C, O, P, Cl and Ca. The presence of the lines of these elements on EDS spectra may indicate the formation of a thin tissue film, the diffusion of these elements onto the surface of the patient's tissues or the surface of the wire after explantation (FIG. 3).

The results of the pitting corrosion resistance of the NiTi implant after different surface modifications prior to implantation and the weld and wire cut out from the implant removed from the body after implantation are shown in TABLE 2 and in FIG. 4.

TABELA 2. Wyniki badania odporności stopu NiTi na korozję wżerową.  
TABLE 2. Results of NiTi resistance to pitting corrosion.

Środowisko Environment	Modyfikacja powierzchni Surface modification	$E_{kor}$ mV	$E_b$ mV	$R_p$ MΩ/cm <sup>2</sup>	$I_{kor}$ nA/cm <sup>2</sup>
Roztwór Ringera Ringer's solution	Szlifowanie / Grinding	- 220	363	9.6	1.29
	Szlifowanie + Sterylizacja Grinding+ Sterilization	- 141	317	21.6	0.24
	Pasywacja Passivation	- 123	429	0.55	17.9
	Pasywacja + polerowanie Passivation+ polishing	- 275	386	0.17	43.7
	Spaw implant / Weld implant	- 54	463	0.27	38.1
	Spaw explant / Weld explant	- 46	609	0.3	40.4
	Drut explant / Wire explant	- 152	344	0.96	9.7



RYS. 4. Krzywe polaryzacji anodowej badanych próbek.  
FIG. 4. Anodic polarization curves of the tested samples.

Badania korozyjne próbek wyciętych z implantu NiTi przeprowadzone w płynie fizjologicznym Ringera wykazały zróżnicowaną odporność korozyjną w zależności od zastosowanej obróbki powierzchniowej. Średnie wartości potencjału korozyjnego rejestrowane dla drutu poddanego wszystkim zabiegom modyfikacji powierzchni, zarówno przed, jak i po implantacji były różne i zmieniły się w zakresie od - 275 mV do - 123 mV.

Próbki spawane na zakładkę wykazywały zbliżoną, wyższą średnią wartość potencjału korozyjnego – ok. - 50 mV. Próbki te charakteryzowały się również najwyższymi wartościami potencjału przebicia, w odniesieniu do wszystkich badanych próbek. Jednakże próbki spawu charakteryzowały się niskimi wartościami oporu polaryzacyjnego oraz wysokimi wartościami prądu korozyjnego. Generalnie jednak można stwierdzić, że własności korozyjne stopu przed oraz po implantacji nie zmieniają się w istotny sposób, zarówno dla próbek wyciętych z drutu, jak również dla próbek spawu.

## Wnioski

- Badania składu fazowego spawu i drutu wyciętych z implantu pasywowanego podczas sterylizacji w autoklawie oraz z implantu usuniętego z organizmu po implantacji nie wykazały różnic w składzie fazowym powierzchni. We wszystkich badanych próbkach identyfikowano fazę macierzystą B2.
- Morfologia i skład chemiczny w mikroobszarach badanych próbek zależą istotnie od obróbki powierzchni. W próbkach spawu i drutu po implantacji w organizmie identyfikowano pierwiastki pochodzące z otaczających tkanek.
- Potencjodynamiczne badania korozyjne wykazały, że najlepsze parametry odporności na korozję wżerową wykazywały próbki z implantu po pasywacji i sterylizacji w autoklawie oraz próbki spawu i drutu usuniętego z organizmu.

Corrosion tests of the samples cut out from the NiTi implant performed in Ringer's physiological solution showed varied corrosion resistance depending on the surface treatment. Mean values of the corrosion potential recorded for the wire after all kinds of surface modification, both before and after implantation, were different and varied in the range from - 275 mV to - 123 mV.

Lap welded samples showed a similar and higher average value of the corrosion potential - about 50 mV. These samples were also characterized by the highest values of the breakdown potential for all tested samples. However, welding samples were characterized by low values of polarization resistance and high values of the corrosion current. Generally, it can be concluded that the corrosion properties of the alloy before and after implantation do not change significantly, neither for the samples cut out from the wire nor for the welding samples.

## Conclusions

- Phase composition analysis of the weld and wire cut out from the implant passivated during autoclave sterilization and the implant removed from the body after implantation showed no differences in the phase composition of the surface. In all the tested samples the B2 parent phase was identified.
- Morphology and chemical composition in the micro-areas of the tested samples depend significantly on the treatment of the surface. In the samples of the weld and wire after implantation in the body, the elements from the surrounding tissues were identified.
- Potentiodynamic corrosion tests showed that the best parameters of resistance to pitting corrosion were displayed by the implant samples after passivation and sterilization in the autoclave and the samples of the weld and wire removed from the body.

## Piśmiennictwo

- [1] Douglas G. R., David L. R., Glazier S. S., Smith T. E., Argenta L. C.: Surgical Advancement Influences Perioperative Care: A Comparison of Two Surgical Techniques for Sagittal Craniosynostosis Repair. *Anesth Analg* 97 (2003) 699-703.
- [2] Davis Ch., Wickremesekera A., MacFarlane M. R.: Correction of nonsynostotic scaphocephaly without cranial osteotomy: spring expansion of the sagittal suture. *Childs Nerv Syst* 25 (2009) 225-230.
- [3] Lauritzen C., Sugawara Y., Kocabalkan O., Olsson R.: Spring mediated dynamic craniofacial reshaping. *Scand. J. Plast. Reconstr. Hand Surg.* 32 (1998) 331-339.
- [4] Pelton A. R., DiCello J., Miyazaki S.: Optimization of processing and properties of medical-grade Nitinol wire. *Min. Invas. Ther. & Allied Technol.* 9 (1) (2000) 107-118.
- [5] Idelsohn S., Pena S., Lacroix D., Planell S. A., Gil F. S.: Continuous mandibular distraction osteogenesis using superelastic shape memory alloy (SMA). *J. Mater. Sci.: Materials in Medicine* 15 (2004) 541-546.
- [6] Lekston Z., Drugacz J., Morawiec H.: Application of superelastic NiTi wires for mandibular distraction. *Materials Science and Engineering A* 378 (2004) 537-541.

## References

- [7] Lekston Z., Stróż D., Morawiec H.: Superelastic NiTi implants for continuous bone distraction. *Eng. Biomater.* 67-68 (2007) 38-41.
- [8] Kobus K., Węgrzyn M., Lekston Z., Morawiec H., Drugacz J.: Modeling of Scaphocephaly Using Superelastic Titanium-Nickel Rings: A Preliminary Report. *Journal of Craniofacial Surgery* 18 (3) (2007) 504-510.
- [9] Morawiec H., Lekston Z., Kobus K., Węgrzyn M., Drugacz J.: Superelastic NiTi springs for corrective skull operations in children with craniosynostosis. *J Mater Sci: Mater Med.* 18 (2007) 1791-1798.
- [10] Morawiec H., Lekston Z., Kobus K., Węgrzyn M., Drugacz J.: Superelasticity of NiTi Ring-Shaped Springs Induced by Aging for Cranioplasty Applications. *Journal of Materials Engineering and Performance* 18(5-6) (2009) 818-823.
- [11] Lekston Z., Łosiewicz B., Winiarski A., Jędrusik-Pawłowska M., Kromka-Szydek M., Miernik K.: Badania powierzchni klamer NiTi użytych w zespoleniach złamań jarzmowo-szczękowo-oczdolowych. *Eng. Biomater.* 96-98 (2010) 29-33.
- [12] Morawiec H., Goryczka T., Lelątko J., Lekston Z., Winiarski A., Rówiński E., Stergioudis G.: Surface Structure of NiTi Alloy Passivated by Autoclaving. *Materials Science Forum* 636-637 (2010) 971-976.

# KSZTAŁTOWANIE WŁAŚCIWOŚCI WARSTW NCD Z ZASTOSOWANIEM TRAWIENIA JONOWEGO JAKO OBRÓBKI WSTĘPNEJ W METODZIE RF PACVD

JACEK GRABARCZYK\*

POLITECHNIKA ŁÓDZKA,  
INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ,  
UL. STEFANOWSKIEGO 1/15, 90-924 ŁÓDŹ

\* E-MAIL: JACEK.GRABARCZYK@P.LODZ.PL

## Streszczenie

W pracy przedstawiono wpływ obróbki wstępnej, polegającej na trawieniu jonowym powierzchni, na aktywną zmianę struktury warstw węglowych syntetyzowanych w metodzie plazmy wysokiej częstotliwości (RF PACVD). W badaniach warstwa węglowa osadzana była na powierzchni stali medycznej (AISI 316L) w plazmie metanowej. Podczas obróbki wstępnej, trawienia jonowego, zmieniano negatywny potencjał polaryzacji elektrody w granicach od 1000 V do 1600 V. Te zmiany prowadziły do obserwowanych różnic w strukturze, chropowatości, grubości i właściwościach tribologicznych warstw węglowych. Wykazano, iż wyższe parametry trawienia jonowego, poprzez zwiększenie energii bombardowania jonowego prowadzącego do intensywniejszego nagrzewania podłoża, powodują silne zmiany w strukturze powstającej warstwy. Ma to istotny wpływ na właściwości warstwy, a zwłaszcza jej odporność korozyjną i twardość.

**Słowa kluczowe:** NCD, warstwy węglowe, trawienie jonowe, zastosowania biomedyczne, metoda RF PACVD

[Inżynieria Biomateriałów, 112, (2012), 36-41]

## Wprowadzenie

Warstwy węglowe wytwarzane metodami plazmowymi zostały bardzo szeroko opisane w literaturze. Badania podstawowe ujawniły ich szereg użytecznych i uniwersalnych właściwości otwierających drogę do wielu potencjalnych aplikacji. Są one interesującym materiałem dla elektroniki, optyki, zastosowań trybologicznych, antykorozyjnych, biologicznych i biomedycznych [1-5]. Jedną z zalet wytwarzania warstw węglowych jest możliwość wpływania na ich właściwości w czasie procesu wytwarzania. Odpowiedni dobór parametrów syntezy umożliwia kontrolowanie składu fazowego, topografii i struktury warstwy, stopnia jej amorfizacji czy wielkości tworzących ją krystalitów [6,7]. Stąd też w literaturze spotkać można szereg określeń charakteryzujących rodzaj uzyskanej struktury - począwszy od warstw amorficznych, diamentopodobnych (DLC), nano i ultrananokrystalicznych po warstwy polikrystaliczne. Niewątpliwie w coraz bardziej dogłębnej analizie otrzymywanych powłok z pomocą idzie również intensywny rozwój technik badawczych. Zastosowanie wysokorozdzielczych technik badawczych pozwala na udowodnienie krystalicznej struktury w warstwach, które do niedawna uważano za amorficzne, dotyczy to chociażby warstw określanych dzisiaj jako ultrananokrystaliczny diament [8].

# THE NCD LAYER PROPERTIES DESIGNED THROUGH ION ETCHING PRE-TREATMENT IN THE RF PACVD METHOD

JACEK GRABARCZYK\*

TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ,  
INSTITUTE OF MATERIAL SCIENCE AND ENGINEERING,  
STEFANOWSKIEGO 1/15 STR., 90-924 LODZ, POLAND

\* E-MAIL: JACEK.GRABARCZYK@P.LODZ.PL

## Abstract

Here is presented evidence of how ion etching pre-treatment in the radio frequency plasma-assisted chemical vapour deposition (RF PACVD) method produces an active change in the substrate's surface and forms an interlayer between the surface and the carbon coating, thus creating the best conditions to deposit the coating onto the substrate. In this method, a film is deposited onto the surface of a medical steel (AISI 316L) sample in methane plasma. During the ion etching pre-treatment, the negative bias voltage parameters are changed from 1000 V to 1600 V. These changes lead to observed differences in the structure, roughness, thickness, and tribological properties of the carbon films. High ion etching causes an increase in the temperature of the surface and can compromise the surface and interlayer integrity, causing changes in the corrosion resistance and hardness of the carbon coating.

**Keywords:** NCD, carbon coatings, ion etching, biomedical application, RF PACVD method

[Engineering of Biomaterials, 112, (2012), 36-41]

## Introduction

Carbon layers manufactured with use of plasma methods have been very widely described in the literature. Basic examinations results expose a number of useful and versatile properties which open for them the way for many potential applications. They are a very interesting material for electronics, optics, tribological, anti-corrosion, biological and biomedical applications [1-5]. One of the advantages of carbon layers synthesis is the possibility of the influence on their parameters during the deposition process. Properly matched deposition parameters let to control the phase composition, topography and structure of the layer. Moreover it is possible to supervise the amorphisation level or the size of the crystals which form the layer [6,7]. That is why in the literature can be found many terms which describe the type of obtained layer - from the amorphous diamond-like (DLC) or nano and ultra nanocrystalline at the beginning to polycrystalline in the end. Doubtlessly for deeper and deeper analysis of obtained layers very helpful is very intensive development of the investigation methods. Application of high resolution examination methods let to prove the crystalline structure of the layers which till now were supposed to be amorphous. It is related at least to the layers described today as ultra nanocrystalline diamond [8].



Synteza warstw węglowych metodami plazmowymi posiada też swoje wady. Głównym problemem wydaje się być przeniesienie wyników uzyskanych w laboratorium na skalę przemysłową. Z uwagi na konstrukcje reaktorów i czasochłonność procesów często techniki te okazują się mało wydajne dla wielkoseryjnych zastosowań. Innym razem występują problemy z powtarzalnością procesów. Powoduje to, iż wiele badań, mimo doskonałych wyników, nie znajduje konkretnych zastosowań.

Jednym z takich obszarów jest inżynieria biomateriałów. Diamentowe i diamentopodobne warstwy zostały powszechnie uznane za doskonały biomateriał. Badania udowodniły, iż zastosowanie warstw węglowych jako powłoki ochronnej metalicznych implantów medycznych poprawia biogodność materiału wszczepu i podnosi jego odporność korozyjną [4,9]. W przedstawionych badaniach przeprowadzono optymalizację procesu wytwarzania warstw nanokrystalicznego diamentu na powierzchni stali medycznej AISI 316L. Celem było określenie parametrów syntezy bezpiecznych dla materiału podłoża oraz optymalnych z punktu widzenia właściwości warstwy. Efektem końcowym miało być przygotowanie procesu wdrożenia technologii do modyfikacji powierzchni gwoździ śródszpikowych warstwą nanokrystalicznego węgla. Głównej analizie poddano wpływ trawienia jonowego, elementu obróbki wstępnej, na właściwości powstającej warstwy NCD. W pracy skupiono się jedynie nad badaniem właściwości mechanicznych wytworzonych warstw, natomiast ich charakterystyka biomedyczna została opisana w innych pracach [10].

## Materiały i metody

Badania przeprowadzono na próbkach ze stali medycznej AISI 316L o średnicy 20 mm i grubości 4 mm. Powierzchnia próbek została wypolerowana przy użyciu pasty diamentowej o średniej ziarnistości 2 mikrometrów. Warstwy NCD zostały wytworzone w metodzie RF PACVD. Szczegółowy opis stanowiska został już przedstawiony w innych publikacjach. Proces plazmo-chemiczny przebiegał dwuetapowo. Pierwszą operacją było trawienie jonowe stanowiące element obróbki wstępnej materiału próbki. Jej głównym celem było właściwe przygotowanie powierzchni, jej oczyszczenie oraz rozgrzanie. Proces odbywał się przy ciśnieniu 10 Pa w atmosferze metanowej w czasie 10 min. Próby prowadzone były przy czterech ujemnych potencjałach polaryzacji elektrody RF: -1000, -1200, -1400 i -1600 V. Właściwy proces wytwarzania warstwy był prowadzony w jednakowych warunkach dla wszystkich próbek. Ciśnienie w komorze roboczej ustalono na 50 Pa przy przepływie metanu 50 sccm. Proces trwał 3 minuty, a ujemny potencjał polaryzacji elektrody wynosił -900 V.

Topografia powierzchni wytworzonych warstw była badana za pomocą mikroskopu sił atomowych (Veeco - MultiMode Scanning Probe 5). Obszar skanowania wynosił 10 x 10  $\mu\text{m}$  z wykorzystaniem AFM tapping mode. Badania składu fazowego warstw przeprowadzono za pomocą spektroskopu Ramana (T-64000 Yobin-Yvon), z wielkością obszaru badanego około 1 mikrometra i przy długości fali 514,5 nm. Pomiary adhezji oraz nanotwardości przeprowadzono za pomocą urządzenia G200 NANO INSTRUMENTS. Aparatura umożliwia pomiar adhezji w skali nano, metodą rysy z pomiarem siły bocznej. Pomiar sił bocznych w płaszczyźnie X-Y pozwala na określenie współczynnika tarcia. Po powierzchni warstwy przesuwany jest ze stałą prędkością diamentowy penetrator o promieniu krzywizny 0,98  $\mu\text{m}$ . Badania trybologiczne przeprowadzono za pomocą metody kula-tarcza. Obciążenia styku ciernego wynosiło 5 N, prędkość obrotowa 95 obr/min przy promieniu tarcia 5 mm.

Synthesis of carbon layers with the use of the plasma methods has also some disadvantages. The main problem seems to be a transfer of the results obtained in the lab into the industrial scale. Concerning the reactors constructions and time-consuming of the processes very often these techniques prove not enough productive for a big scale applications. Other time there are problems with the repeatability of the processes. This is the reason why for many technologies despite of very good laboratory investigation results it is impossible to find the concrete application.

One of such areas is the biomaterials engineering. Diamond and diamond-like layers has been commonly regarded as a perfect biomaterial. The investigations proved that application of carbon layer as a protective coating on the metallic medical implants improves the biocompatibility of the graft and increases its corrosion resistance [4,9]. In presented investigations the nanocrystalline diamond synthesis process on the medical steel AISI 316L surface has been optimized. The aim of the investigation was to describe the deposition parameters safe for the surface material and optimal from the point of view of obtained properties of the layer. The final effect of the investigation should be the preparation of industrial implementation of the technology of surface modification of nails (medical implants) by the nanocrystalline carbon layer. The main analysis subject was the influence of ion etching, the element of preliminary treatment, on the properties of the deposited NCD layer. Special emphasis was put on the examinations of the mechanical properties of the coatings; however the biomedical characteristic was described in our other works [10].

## Materials and methods

The investigations were performed with use of AISI 316L medical steel samples 20 mm diameter and 4 mm high. Surface of the samples was polished with use of diamond paste with 2  $\mu\text{m}$  average grain size. NCD layers were manufactured by RF PACVD method. More specific description of the apparatus was presented in our other publications. The plasm-chemical process was conducted by two steps. First operation was the ion etching which was the preliminary element of the sample material treatment. Its main aim is the proper preparation of the surface, cleaning and heating. The process was conducted under pressure of 10 Pa in methane atmosphere and 10 minutes duration. Four negative biases of the RF electrode were applied: -1000, -1200, -1400, and -1600 V. Suitable deposition process was performed under the same conditions for all samples. A pressure in the deposition chamber was established on 50 Pa with the flow of methane 50 sccm. Duration time of the process was 3 minutes with the electrode negative self bias -900 V.

Surface topography of deposited layers was investigated with use of atomic force microscopy (Veeco - MultiMode Scanning Probe 5). Scanned area was 10 x 10  $\mu\text{m}$ , the examination was performed with use of AFM tapping mode. Phase composition investigations were made with use of Raman spectroscopy (T-64000 Yobin-Yvon) with the wave length 514.5 nm. Investigated area was about 1  $\mu\text{m}$ . Adhesion and nanohardness were measured on G200 NANO INSTRUMENTS nanointender. With use of this apparatus it is possible to measure adhesion in the nano scale, by the scratch test method with the lateral force measurement. Lateral force measurement in X-Y surface let to determine the friction coefficient. A diamond tip with a radius of curvature of 0.98  $\mu\text{m}$  is moving with the constant speed on the layers surface. Tribological investigations were performed using the ball-on-disc method. Applied load was 5 N, rotary speed was 95 rpm for the friction radius 5 mm.

Długość testu ustalono na 10000 cykli. Przeciwpróbkę stanowiła kulka o rozmiarze 1/4 cala wykonana z  $ZrO_2$ . Wielkość zużycia próbki w wyniku przeprowadzonego testu określono za pomocą profilometru. Do przeprowadzenia testu korozyjnego wykorzystano standardową metodę badania implantów medycznych polegającą na umieszczeniu próbek w roztworze soli fizjologicznej (HCl 2%), w temperaturze 37°C na okres dwóch tygodni. Analiza stanu powierzchni próbek po teście korozyjnym została przeprowadzona za pomocą SEM.

## Wyniki i dyskusja

Wyniki badań AFM zostały zaprezentowane na RYS. 1. Można na ich podstawie stwierdzić, iż jednorodność powierzchni wytworzonej warstwy maleje wraz ze wzrostem potencjału trawienia jonowego powierzchni próbki podczas wytwarzania warstwy. W przypadku potencjału -1000 V występuje również największe rozdrobnienie struktury powierzchni, które może świadczyć o jej najmniejszej ziarnistości.

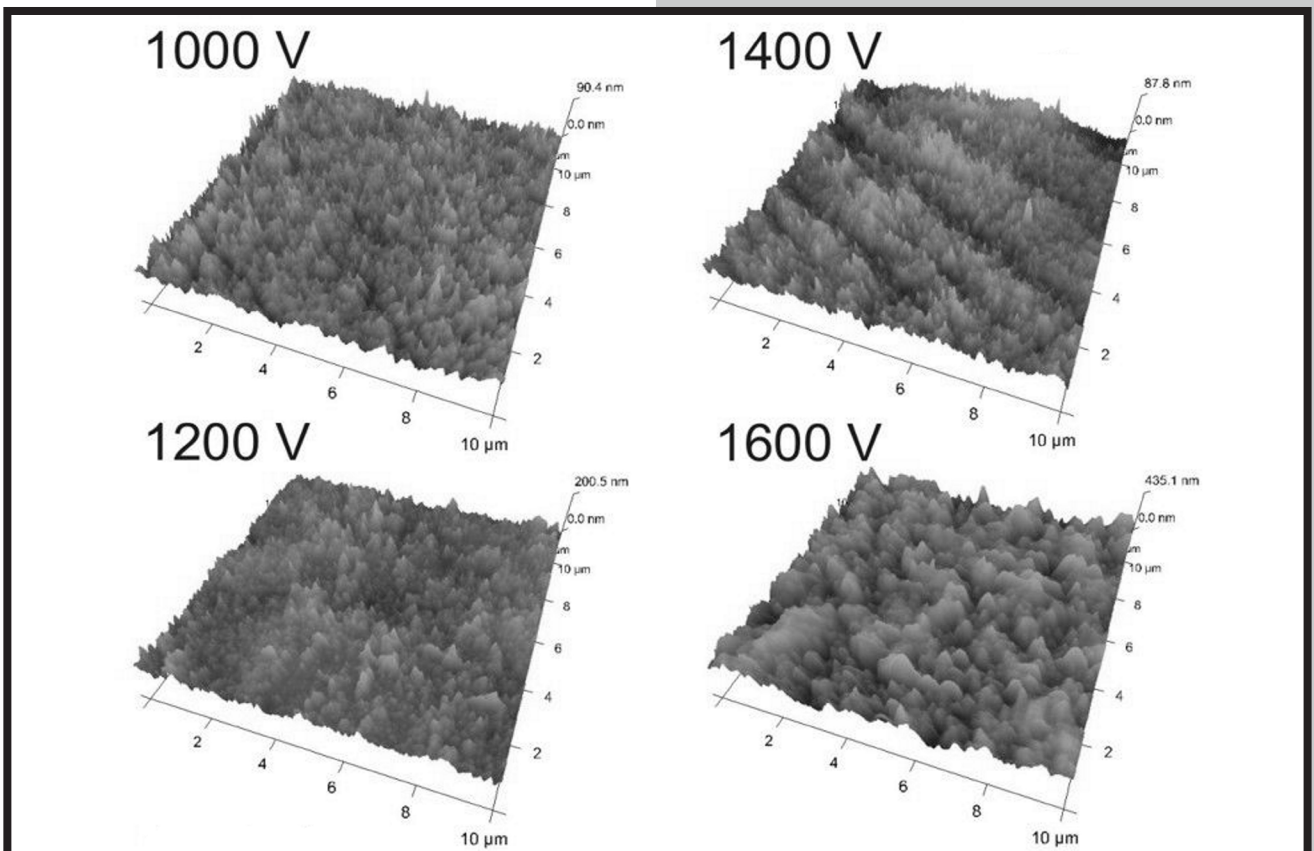
Spektroskopia Ramana wykazała dla badanych warstw istnienie dwóch dobrze rozseparowanych pików z maksimumi 1360 i 1810 (RYS. 2). Zgodnie z doniesieniami literaturowymi można je zakwalifikować jako pik D (1350) pochodzący od fazy nieuporządkowanej i pik G (1800) charakterystyczny dla wiązań  $sp^2$ , przy czym położenie maksimumów tych plików może ulegać przesunięciu w zależności od parametrów wytwarzania warstwy [11,12]. Takie widma uzyskiwane przy długości fali około 500 nm są charakterystyczne dla warstw nanokrystalicznych. Badanie metodą Ramana powłok węglowych pozwoliło stwierdzić, że wszystkie warstwy, w których wraz z pikiem diamentowym wykazano grafitowy dają od swojej struktury piki  $1350 \pm 10 \text{ cm}^{-1}$  i  $1600 \pm 20 \text{ cm}^{-1}$  [11,12].

Test longitude was determined on 10000 cycles. As a counterpart 1/4 inch  $ZrO_2$  ball was used. The wear rate of the sample was investigated with the use of the profilometer. For the corrosion resistance test a standard investigation method used for medical implants examination was applied. Samples were put into (HCl 2%) physiological solution for two weeks. The temperature was 37°C. Surface analysis after the corrosion tests was performed with use of SEM.

## Results and Discussions

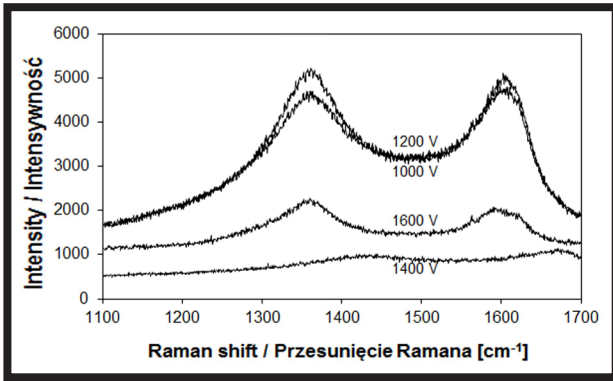
AFM investigation results are presented in FIG. 1. It can be stated that the homogeneity of the layers surface is decreasing with the increasing potential of ion etching during the deposition process. In the case of -1000 V potential the largest structure disintegration can be observed. It can also prove the smallest granularity.

Raman spectroscopy presents for the investigated layers two completely separated peaks with the maximums at  $1360 \text{ cm}^{-1}$  and  $1810 \text{ cm}^{-1}$  (FIG. 2). According to literature information they can be classified as peak D ( $1350 \text{ cm}^{-1}$ ) characteristic for the disordered phase and peak G ( $1800 \text{ cm}^{-1}$ ) characteristic for the  $sp^2$  bonds, however the maximums for these peaks can be shifted in dependence on the layers synthesis parameters [11,12]. This kind of spectra obtained for 500 nm wave length is characteristic for nanocrystalline layers. Examinations of carbon layers with the use of Raman spectroscopy methods let to state that all layers for which together with the diamond peak also graphite was observed gives in Raman spectra  $1350 \pm 10 \text{ cm}^{-1}$  and  $1600 \pm 20 \text{ cm}^{-1}$  peaks [11,12].

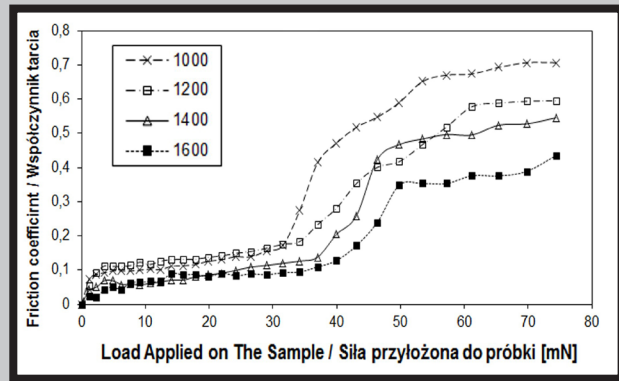


RYS. 1. Wyniki badań AFM powierzchni warstw węglowych syntetyzowanych przy różnych wartościach potencjału trawienia.

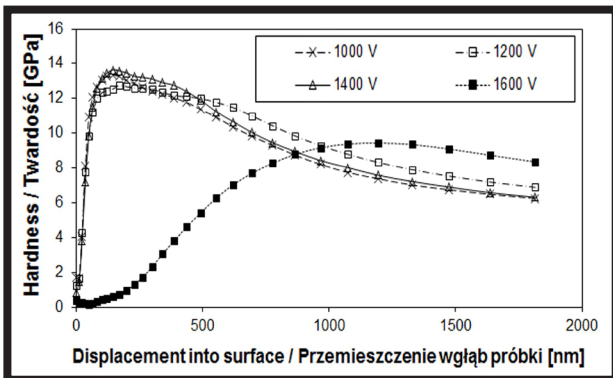
FIG. 1. AFM investigation results of carbon coatings deposited in different conditions.



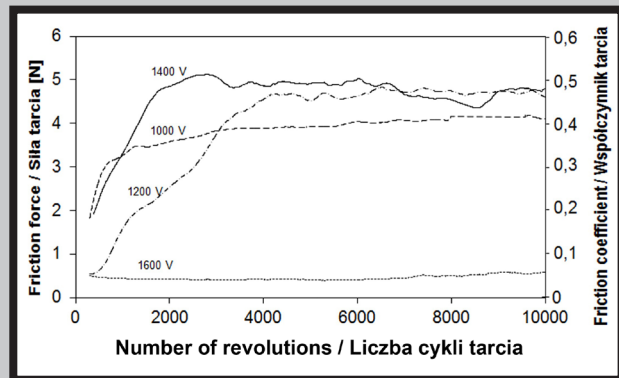
**RYS. 2. Widma Ramana warstw węglowych wytwarzanych przy różnych parametrach.**  
**FIG. 2. Raman spectroscopy of NCD films deposited in different deposition parameters.**



**RYS. 3. Wyniki badań adhezji warstw węglowych wytwarzanych przy różnych wartościach potencjału trawienia.**  
**FIG. 3. Results of adhesion test for investigated samples.**



**RYS. 4. Wyniki badań nanotwardości warstw NCD wytwarzanych przy różnych potencjałach trawienia.**  
**FIG. 4. Results of nanohardness test for NCD films deposited in different plasma parameters.**



**RYS. 5. Wyniki badań trybologicznych warstw węglowych syntetyzowanych w różnych parametrach uzyskane metodą kula-tracza.**  
**FIG. 5. Ball-on-disc tribological test results for deposited layers.**

Wyniki badań adhezji warstw, pokazane na RYS. 3, wykazują wyraźną zależność od parametrów wytwarzania. Najmniejszą wartość siły krytycznej (około 30 mN) uzyskano dla warstwy gdzie potencjał trawienia wynosił -1000 V. Zwiększenie tego potencjału podczas obróbki wstępnej w procesie wytwarzania warstwy powoduje wzrost siły krytycznej, która dla potencjału -1600 V wyniosła 40 mN. O istotnych zmianach w strukturze badanych powierzchni mogą świadczyć różne wartości współczynnika tarcia zarejestrowane po osiągnięciu siły krytycznej. Współczynnik ten jest mniejszy dla próbek poddanych w procesie przygotowania powierzchni wyższemu potencjałom trawienia jonowego. Oznacza to, iż wraz ze wzrostem potencjału trawienia zmienia ulega udział i właściwości warstwy przejściowej w całym obszarze zmodyfikowanej powierzchni. Dobrze ukazują to również badania nanotwardości pokazane na RYS. 4. W tym przypadku profil twardości powierzchni, dla której potencjał trawienia wynosił -1600 V, znacznie odbiega od pozostałych, mieszczących się w podobnych granicach. Profil rozkładu twardości dla tej próbki jest charakterystyczny dla procesu nawęglania z maksimum twardości na głębokości około 1000 nm. Wysoki potencjał trawienia spowodował więc rozgrzanie próbki i umożliwił dyfuzję węgla. Dla pozostałych próbek maksimum twardości przypada na powierzchni próbki i łagodnie maleje by na głębokości około 1500 nm osiągnąć twardość podłoża. Świadczy to o braku wyraźnej granicy pomiędzy warstwą i podłożem, co można wytłumaczyć istnieniem węglkowej warstwy przejściowej łączącej oba obszary.

Adhesion investigation results, presented in FIG. 3, show a noticeable dependence on the synthesis parameters. The smallest values of the critical force (about 30 mN) were obtained for the layers, where the etching potential was -1000 V. Together with increased etching potential during the preliminary treatment increased critical force was observed and its value for the self bias potential of -1600 V was 40 mN. Different values of the friction coefficient registered when the critical force was reached can also prove the noticeable changes in the structure of investigated surfaces. Friction coefficient is lower for the samples treated during the surface preparation process by the higher etching self bias potential. It means that together with increased etching potential the contribution and properties of the transient layer are being changed in all area of modified surface. It is also visible on the nanohardness measurement results presented in FIG. 4. In this case the hardness profile of the surface for which the etching potential was -1600 V considerably diverge from the rest, for which it implies in the similar range. Hardness distribution profile for this sample is characteristic for the carburizing process with maximum hardness on depth about 1000 nm. High etching potential caused the heating process and made the carbon diffusion possible. For the other samples maximum hardness falls on the samples' surfaces and gently decreases to reach the substrate hardness on depth about 1500 nm. It proves the lack of distinct boundary between the substrate and the layer, which can be explained by the existence of carbide transient interlayer which connects both areas.

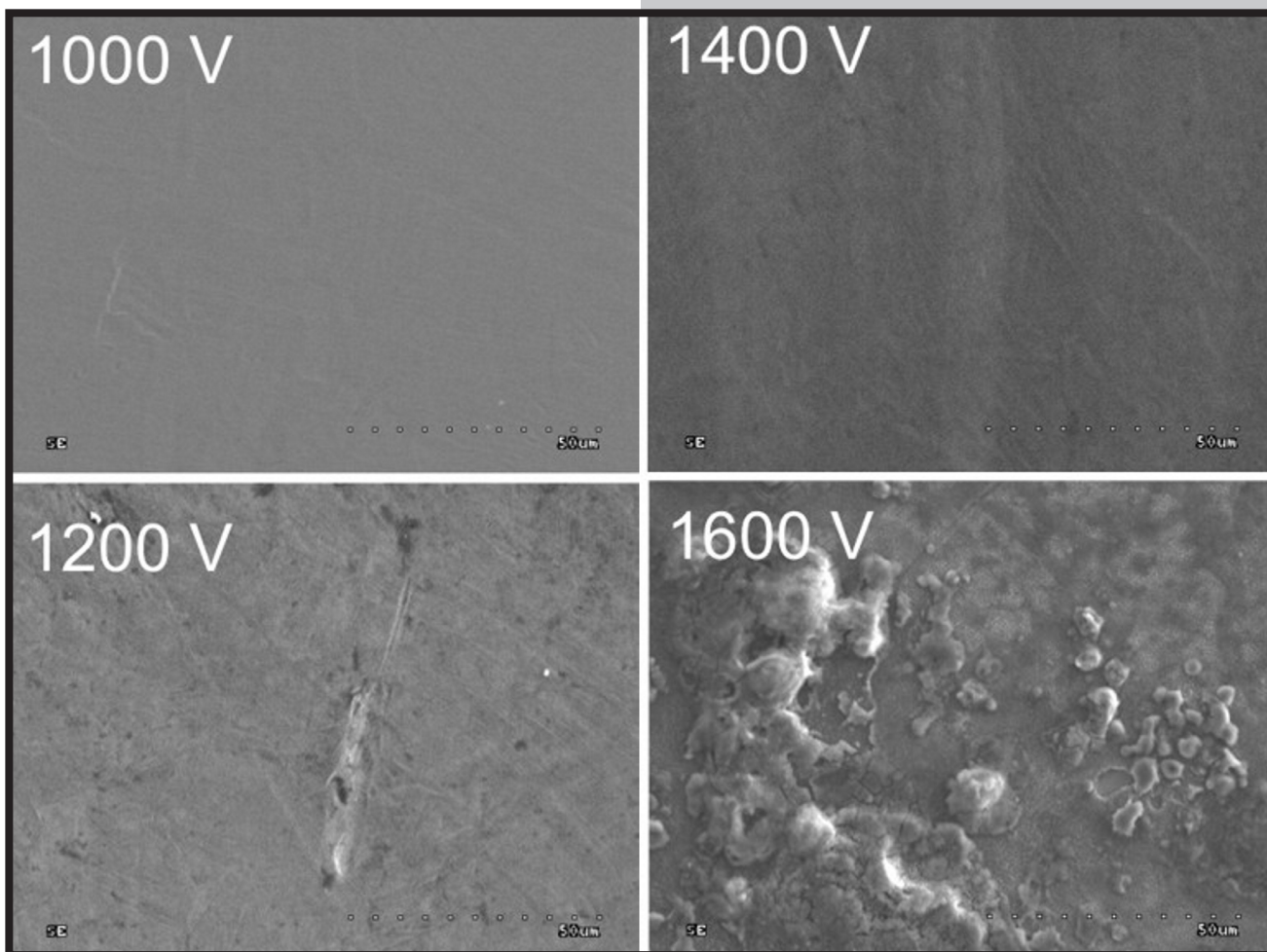


Na RYS. 5 zostały przestawione wyniki badań trybologicznych metodą kula-tarcza. Bardzo dobre rezultaty uzyskano dla warstwy trawionej przy potencjale  $-1600$  V. W czasie trwania testu wartość siły tarcia utrzymywała się na stałym, najniższym dla wszystkich próbek poziomie. Zmierzona profilometrem wielkość zużycia powierzchni wyniosła w tym przypadku zaledwie  $0,2$  mikrometra, podczas gdy dla próbek trawionych w potencjałach  $-1000$  i  $-1400$  V zużycie powierzchni przekroczyło  $12$  mikrometrów. Lepsze rezultaty uzyskano również dla próbki trawionej w  $1200$  V, dla której wartość zużycia nie przekroczyła  $1$  mikrometra, a siła tarcia do około  $4000$  cykli utrzymywała się na niższym poziomie.

Badania odporności korozyjnej przeprowadzone zostały w celu sprawdzenia czy parametry syntezy warstwy nie wpłynęły na odporność korozyjną modyfikowanych próbek. Jest to szczególnie istotne w przypadku stali austenitycznej, dla której przekroczenie temperatury  $550^{\circ}\text{C}$  prowadzi do powstania wydzieli węglika chromu i w konsekwencji dynamicznego rozwoju korozji międzykrystalicznej. Problem ten szczególnie istotny jest w zastosowaniach biomedycznych. Z doświadczenia autora wynika, iż objawy korozji międzykrystalicznej w środowisku biologicznym, spowodowane przegrzaniem materiału, widoczne są już w pierwszych godzinach od implantacji. Jak widać na RYS. 6 bardzo dynamicznie problem ten wystąpił w przypadku próbki modyfikowanej przy potencjale  $-1600$  V, powierzchnia próbki uległa silnej korozji. W mniejszym stopniu problem ten wystąpił również dla próbki trawionej w  $-1200$  V, na powierzchni próbki można odnaleźć liczne pojedyncze wżery. Nie zauważono natomiast żadnych zmian dla próbek modyfikowanych w  $1000$  i  $1400$  V.

In FIG. 5 the tribological investigation results obtained in the ball-on-disc method are presented. Very good results were obtained for the layer etched in potential of  $-1600$  V. During the test the friction force was on constant, the lowest for all samples level. Wear rate measured with use of the profilometer was in this case just  $0.2$   $\mu\text{m}$ , while for the samples etched in potentials of  $-1000$  and  $-1400$  V surface wear was higher than  $12$   $\mu\text{m}$ . Better results were registered for the sample etched in potential of  $-1200$  V. For this sample the wear rate was lower than  $1$   $\mu\text{m}$  and the friction force to about  $4000$  cycles was kept at the lowest level.

Corrosion resistance measurements were carried out to check if the layers synthesis parameters didn't affect the corrosion parameters of modified samples. It is especially important in the case of austenitic steel, where trespassed temperature of  $550^{\circ}\text{C}$  causes chromium carbides synthesis and in the consequence very dynamic crevice corrosion processes. This problem is especially important in the biomedical applications. From the authors experience stems that the crevice corrosion symptoms are visible just in the first hours after the implantation. As it is presented in FIG. 6 this problem was very dynamically occurred in the case of the sample modified with the self bias potential of  $-1600$  V, the samples' surface corroded very strongly. In lower grade this problem appeared also for the sample etched with the potential of  $-1200$  V, on the samples surface numerous pits can be observed. No changes were observed for samples modified in  $-1000$  and  $-1400$  V.



RYS. 6. Obrazy powierzchni warstw węglowych po przeprowadzonym teście korozyjnym uzyskane za pomocą SEM.  
FIG. 6. SEM images of carbon coating surfaces after corrosion test.

## Wnioski

Analizując wyniki badań można stwierdzić, że parametry trawienia jonowego powierzchni, stanowiące element obróbki wstępnej powierzchni, odgrywają istotną rolę w kształtowaniu właściwości powstającej warstwy. Trawienie prowadzi w konsekwencji do rozgrzania powierzchni próbki. Uzyskanie odpowiedniej temperatury podłoża jest konieczne do wytworzenia warstwy o pożądanych właściwościach. Zbyt niska temperatura spowoduje, iż warstwa nie powstanie albo nie uzyska odpowiedniej adhezji. Temperatura zbyt wysoka, szczególnie w przypadku badanych próbek ze stali medycznej AISI 316L, może doprowadzić do utraty odporności korozyjnej materiału. W analizowanym przypadku, tj. optymalizacji technologii wytwarzania warstw NCD z zastosowaniem na implanty medyczne, najlepszy rezultat uzyskano dla warstwy trawionej w -1000 V, a więc najniższym badanym potencjale. Warstwa ta jest najbardziej jednorodna i posiada dużą twardość. Jak wynika z testu trybologicznego jej całkowite przetarcie nastąpiło po około 700 cyklach pracy, co dla wielu zastosowań implantacyjnych wydaje się wartością wystarczającą. W porównaniu z próbkami w innych warunkach na korzyść tej warstwy przemawia pozytywny wynik testu korozyjnego, który jest podstawowym warunkiem dla zastosowań biologicznych. Opracowaną w ten sposób technologię wytwarzania warstw NCD na powierzchni stali AISI 316L udało się z powodzeniem zastosować w przypadku gwoździ śródszpikowych [13].

Należy jednak również zaznaczyć, iż interesujący wynik uzyskany został również dla próbki poddanej trawieniu w -1600 V. Pozwoliło to na uzyskanie efektu plazmowego nawęglania powierzchni. Próbką ta charakteryzuje się bardzo dobrymi właściwościami trybologicznymi, co można tłumaczyć utwardzeniem próbki na znacznej głębokości z jednoczesnym osadzeniem na jej powierzchni cienkiej warstwy grafitowej. Z uwagi jednak na silne osłabienie odporności korozyjnej badanej stali, technologia ta nie nadaje się do zastosowań biomedycznych.

## Podziękowania

*Badania finansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu badawczego 358/ERA-NET/2009.*

## Conclusions

After the analysis of obtained investigation results it can be stated that the ion etching parameters which is the element of the surface preliminary treatment plays an important role and let to mould the properties of arising layer. Etching in the consequence let to heat the samples' surface. Obtained proper substrate temperature is necessary to manufacture the needed properties. Too low temperature will cause the poor adhesion of the layer of even it will be impossible to obtain the layer at all. Too high temperature, especially in the case of investigated samples made of AISI 316L steel can be a reason of losing the corrosion resistance. In analyzed case – optimization of the technology of NCD layers synthesis for medical implants application, the best results were obtained for the layer etched in self bias potential of -1000 V, so for the lowest one. This layer is the most homogeneous and possesses the high hardness. As it was presented on the tribological test the total wipe out of the layer followed after 700 cycles of work, what for many implant application seems to be sufficient. In comparison with the other samples the advantage of this layer is the positive result obtained in the corrosion test, which is the main condition for the biological applications. Presented, worked out technology of deposition of NCD layers on AISI 316L medical steel was initiated with succeed in the case of nails - medical implants [13].

It should be also underlined that very interesting result was obtained for the sample submitted to etching in the potential of -1600 V. Due to that it was possible to conduct the plasma carburizing process. Characteristic for this sample are the very good tribological parameters which can be explained by the hardening of the sample onto significant deep together with simultaneously deposition of thin graphite layer on the surface. However taking into consideration the strong reduction of corrosion resistance of investigated steel, this technology is not suitable for the biomedical applications.

## Acknowledgments

*This work was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of Poland as the research project 358/ERA-NET/2009.*

## Piśmiennictwo

- [1] Voerodin A. A., Zabinski J. S.: Superhard, functionally gradient, nanolayered and nanocomposite diamond-like carbon for wear protection. *Diamond Relat. Mater.* 7 (1998) 463-467.
- [2] Ma Y. P., Sun F. H., Xue H. G., Zhang Z. M., Chen M.: Deposition and characterization of nanocrystalline diamond films on Co-cemented tungsten carbide inserts. *Diamond Relat. Mater.* 16 (2007) 481-485.
- [3] Smietana M., Korwin-Pawlowski M. L., Grabarczyk J., Szmidi J.: Correlation between thickness and optical properties of thin diamond-like carbon films deposited with RF PACVD method. *Materials Science and Engineering B* 165 (2009) 132-134.
- [4] Mitura S., Mitura A., Niedzielski P., Couvrat P.: Chaos Solitons & Fractals. 10 (1999) 2165-2176.
- [5] Hauert R.: A review of modified DLC coatings for biological applications. *Diamond Relat. Mater.* 12 (2003) 583-589.
- [6] Martinu L., Poitras D.: Plasma Deposition of Optical Films and Coatings: A Review, *J Vac Sci Technol* 18 (2000) 2619-2645.
- [7] Zhang W., Tanaka A.: Tribological properties of DLC films deposited under various conditions using a plasma-enhanced CVD. *Tribology International* 37 (2004) 975-982.

## References

- [8] Gruen D. M.: Ultrananocrystalline diamond in the laboratory and the cosmos. *MRS Bull.* 26(10) (2001) 771-776.
- [9] Allen M., Law F., Rushton N.: The effects of diamond-like carbon coatings on macrophages, fibroblasts and osteoblast-like cells in vitro. *Clin. Mater.* 17(1) (1994) 1-10.
- [10] Mitura K., Niedzielski P., Bartosz G., Moll J., Walkowiak B., Pawlowska Z., Louda P., Kiec-Swierczynska M., Mitura S.: Interactions between carbon coatings and tissue. *Surf. Coat. Technol.* 201 (2006) 2117-2123.
- [11] Chu P. K., Li L.: Characterization of amorphous and nanocrystalline carbon films, *Materials Chemistry and Physics* 96 (2006) 253-277.
- [12] Ferrari A. C., Robertson J.: Resonant Raman spectroscopy of disordered, amorphous, and diamondlike carbon. *Physical Review B*, Vol. 64, 075414.
- [13] Grabarczyk J., Kotela I.: Plasma modification of medical implants by carbon coatings depositions. *Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering*, 37 (2009) 277-281.

# ANALIZA ROZKŁADU NAPRĘŻEŃ W TKANKACH TWARDYCH ZĘBA Z WYKORZYSTANIEM METODY ELEMENTÓW SKOŃCZONYCH

HUBERT DĘBSKI<sup>1\*</sup>, JAROSŁAW BIENIAŚ<sup>2</sup>, KRZYSZTOF PAŁKA<sup>2</sup>, AGATA NIEWCZAS<sup>3</sup>

<sup>1</sup> POLITECHNIKA LUBELSKA, WYDZIAŁ MECHANICZNY, KATEDRA PODSTAW KONSTRUKCJI MASZYN, NADBYSTRZYCKA 36, 20-618, LUBLIN

<sup>2</sup> POLITECHNIKA LUBELSKA, WYDZIAŁ MECHANICZNY, KATEDRA INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ, NADBYSTRZYCKA 36, 20-618, LUBLIN

<sup>3</sup> KATEDRA I ZAKŁAD STOMATOLOGII ZACHOWAWCZEJ, UNIwersytet MEDYCZNY W LUBLINIE, UL. KARMEŁICKA 7, 20-081 LUBLIN

\* E-MAIL: H.DEBSKI@POLLUB.PL

## Streszczenie

*W pracy przedstawiono możliwość wykorzystania metody elementów skończonych do analizy stanu naprężenia w twardych tkankach zębów, odbudowanych wypełnieniem stomatologicznym klasy I, poddanych działaniu obciążenia mechanicznego. Badania prowadzono na modelu geometrycznym odwzorowującym rzeczywistą geometrię zęba przedtrzonowego, uzyskaną z wykorzystaniem techniki mikrotomografii rentgenowskiej oraz oprogramowania CAD. Analizie poddano rozkłady naprężenia zredukowanego wyznaczonego wg hipotezy Hubera-Misesa-Hencky'ego (H-M-H) w twardych tkankach zęba, jak również podjęto próbę oceny stopnia wyężenia warstwy adhezyjnej na granicy wypełnienia kompozytowe-tkanka biologiczna. Zastosowanie symulacji numerycznych (Abaqus) umożliwi dokonanie realnej oceny stopnia wyężenia tkanek zęba, co pozwala na ocenę ryzyka niepowodzenia leczenia stomatologicznego i pomaga w opracowaniu racjonalnych metod zapobiegania uszkodzeniom zębów na skutek działania obciążeń mechanicznych.*

**Słowa kluczowe:** metoda elementów skończonych, twarde tkanki zębów, analiza naprężeń, wypełnienia stomatologiczne.

[Inżynieria Biomateriałów, 112, (2012), 42-47]

## Wprowadzenie

Ze względu na uniwersalny charakter metody elementów skończonych, umożliwiającej modelowanie złożonych zjawisk fizycznych obserwuje się coraz szersze jej wykorzystanie w interdyscyplinarnych zagadnieniach związanych z analizą parametrów mechanicznych nowoczesnych materiałów [1,2]. Do współczesnych obszarów zastosowania analiz numerycznych wykorzystujących MES można zaliczyć m.in. bioinżynierię czy stomatologię w zakresie oceny stanu naprężeń oraz kwalifikacji hipotez wyężeniowych w tkankach kostnych. Umożliwia to projektowanie oraz optymalizację współczesnych materiałów wykorzystywanych do rekonstrukcji stomatologicznych, takich jak: korony czy wkłady koronowo-korzeniowe, jak również ocenę ryzyka niepowodzenia leczenia stomatologicznego w wyniku uszkodzenia struktury tkanki twardej zęba czy materiału wypełnienia [3-5].

# ANALYSIS OF STRESS LEVEL IN HARD DENTAL TISSUES USING FINITE ELEMENT METHOD

HUBERT DĘBSKI<sup>1\*</sup>, JAROSŁAW BIENIAŚ<sup>2</sup>, KRZYSZTOF PAŁKA<sup>2</sup>, AGATA NIEWCZAS<sup>3</sup>

<sup>1</sup> DEPARTMENT OF MACHINE DESIGN, FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING, LUBLIN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, NADBYSTRZYCKA 36, 20-618 LUBLIN, POLAND,

<sup>2</sup> DEPARTMENT OF MATERIALS ENGINEERING, FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING, LUBLIN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, NADBYSTRZYCKA 36, 20-618 LUBLIN, POLAND

<sup>3</sup> MEDICAL UNIVERSITY OF LUBLIN, DEPARTMENT OF CONSERVATIVE DENTISTRY, KARMEŁICKA 7, 20-081 LUBLIN, POLAND

\* E-MAIL: H.DEBSKI@POLLUB.PL

## Abstract

*This paper presents the possibility of applying the finite element method for the analysis of stress level in hard dental tissues, restored with class I dental filling and exposed to mechanical load. The studies were made on a geometrical model imitating the real geometry of a premolar tooth obtained using the X-ray microtomography technique and CAD software. The distributions of reduced stress defined in accordance with the Huber-Mises-Hencky (H-M-H) hypothesis in hard dental tissues were analysed, and assessment of the degree of strength of the adhesive layer at the border of the composite filling and biological tissue was attempted. The application of numerical simulations (Abaqus) enables real assessment of the tooth tissue strength, which allows assessing the risk of unsuccessful dental treatment, and helps to prepare rational methods of preventing tooth damage resulting from mechanical load.*

**Keywords:** finite element method, hard dental tissues, stress analysis, dental filling.

[Engineering of Biomaterials, 112, (2012), 42-47]

## Introduction

Due to the universal character of the finite element method, which enables modelling of complex physical phenomena, its increasingly broad use in an interdisciplinary context, connected with the analysis of mechanical parameters of modern materials, can be observed [1,2]. Among the present day areas of application of numerical analyses involving FEM, bioengineering and dentistry can be included, with respect to the assessment of stress levels and qualification of strength hypotheses in bone tissues. It allows designing and optimizing modern materials used for dental reconstructions, such as crowns or crown-root fillings, as well as assessing the risk of unsuccessful dental treatment resulting in damage to the hard dental tissue structure or the filling material [3-5]. Numerical simulations using the finite elements method in dentistry can constitute a stage of preclinical tests connected with biomechanical aspects of the design and optimization of dental fillings.



Symulacje numeryczne z wykorzystaniem metody elementów skończonych w zagadnieniach stomatologicznych mogą stanowić etap przedklinicznych testów związanych z biomechanicznymi aspektami projektowania i optymalizacji wypełnień stomatologicznych. Znajomość rozkładów naprężenia w obszarze zęb-wypełnienie, stanowiącym układ trzech różnych materiałów umożliwia dokonanie oceny stopnia wyężenia poszczególnych tkanek badanego układu, jak również pozwala zobrazować wzajemne interakcje pomiędzy nimi. Prawidłowa ocena stopnia wyężenia twardych tkanek zęba może stanowić podstawę właściwego doboru metody leczenia, minimalizując ryzyko mechanicznego uszkodzenia tkanki zęba lub materiału wypełnienia. Świadczą o tym coraz częściej spotykane we współczesnej literaturze opracowania dotyczące wykorzystania analiz numerycznych do oceny stopnia wyężenia twardych tkanek zębów, jak również oceny właściwości mechanicznych materiałów stomatologicznych [6-8].

## Cel i zakres obliczeń numerycznych

Celem prowadzonych obliczeń numerycznych było wyznaczenie rozkładów naprężeń generowanych w twardych tkankach zęba, dla wartości maksymalnego obciążenia wynoszącego 400 N. Analizie poddano rozkłady naprężeń zredukowanych, wyznaczonych wg hipotezy wytrzymałościowej H-M-H (Hubera –Misesa- Hencky’ego).

Zastosowany proces obliczeń numerycznych stanowił zagadnienie geometrycznie nieliniowe z wykorzystaniem przyrostowo-iteracyjnej metody Newtona-Raphsona [9]. Dla wszystkich elementów (szkliwo, zębina oraz wypełnienie) zdefiniowano modele materiału o charakterystyce liniowo-sprężystej w całym zakresie obciążenia zewnętrznego. Prowadzone obliczenia umożliwiły ocenę stopnia wyężenia tkanek twardych analizowanego zęba jak również dokonanie analizy porównawczej zęba zdrowego oraz zęba z wypełnieniem stomatologicznym. Jako narzędzie numeryczne wykorzystano program ABAQUS/Standard.

## Przedmiot badań

Przedmiotem badań był model ludzkiego zęba przedtrzonowego stanowiący dokładne odwzorowanie geometrii obiektu rzeczywistego. Zastosowano proces skanowania przestrzennego zęba rzeczywistego z wykorzystaniem mikrotomografii rentgenowskiej z rozdzielczością 12  $\mu\text{m}$ . Umożliwiło to uzyskanie cyfrowego zapisu struktury zęba z wyodrębnieniem tkanek twardych: zębiny oraz szkliwa. Otrzymany zapis w postaci zdjęć kolejnych przekrojów zęba stanowił podstawę do opracowania współrzędnych przestrzennych geometrii zęba (krzywe parametryczne typu spline, powierzchnie przestrzenne) z wykorzystaniem oprogramowania CAD. Uzyskane współrzędne przestrzenne umożliwiły opracowanie geometrii bryłowej zęba o anatomicznych kształtach w postaci złożenia szkliwo-zębina oraz szkliwo-zębina-wypełnienie - RYS. 1.

W TABELI 1 zestawiono właściwości mechaniczne materiałów wykorzystanych do przeprowadzenia analizy numerycznej - dane przyjęto na podstawie literatury w tym zakresie [3].

The knowledge of stress distribution in the tooth-filling area, which is a configuration of three different materials, allows assessing the degree of strength for individual tissues of the investigated configuration, and illustrates two-way interactions between them. Correct evaluation of the degree of strength of hard dental tissues can be a basis for the right choice of treatment method, thus minimizing the risk of mechanical damage to the dental tissue of the filling material. It is shown by increasingly frequent reports in present-day literature concerning the use of numerical analyses for assessing the degree of strength of the hard dental tissues and evaluating mechanical properties of dentistry materials [6-8].

## Numerical analysis

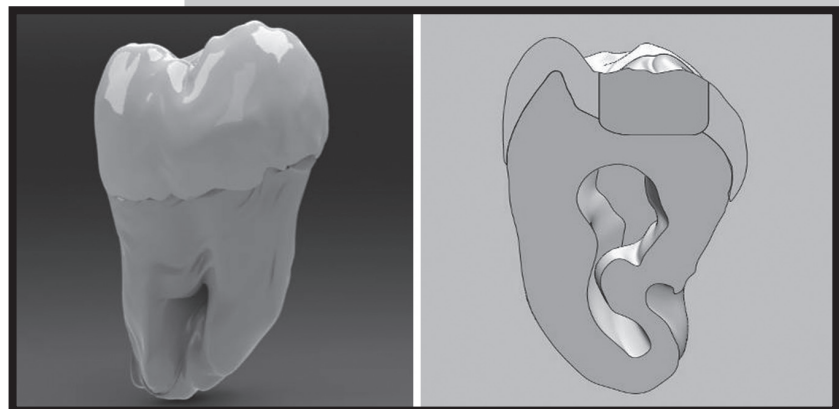
The purpose of the numerical calculations was to determine the distribution of stresses generated in hard dental tissues, for the maximum load of 400 N. The distributions of reduced stresses, determined on the basis of the H-M-H (Huber-Mises-Hencky) strength hypothesis, were analyzed.

The numerical calculation process that was applied was geometrically non-linear in character, and the incremental-iterative Newton-Raphson method was used [9]. For all the elements (enamel, dentine and filling), material models with the linear-resilient characteristics in the whole range of the external load were defined. The calculations allowed assessing the degree of strength of hard tissues with respect to the examined tooth, as well as comparative analysis of a healthy tooth and a tooth with a dental filling. As a numerical tool, ABAQUS/Standard software was used.

## Material

The subject of the studies was a human premolar tooth which was an exact reconstruction of the geometry of a real object. The dimensional scanning process of a real tooth using X-ray microtomography (12  $\mu\text{m}$  resolution) was used. This enabled obtaining a digital image of the tooth structure with setting apart the hard tissues: the dentine and the enamel. The images of subsequent tooth sections formed the basis for preparing dimensional coordinates of the tooth geometry (spline type parametric curves, dimensional surfaces) using CAD software. The dimensional coordinates enabled preparation of the solid body geometry of a tooth having anatomical shapes in the form of the enamel-dentine and enamel-dentine-filling junctions (FIG. 1).

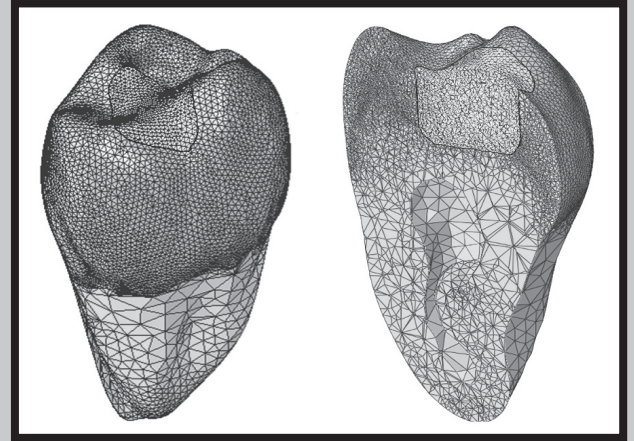
In TABLE 1, the mechanical properties of the materials used for the numerical analysis have been juxtaposed – the data was adopted based on the relevant literature [3].



RYS. 1. Model geometryczny tkanek twardych zęba.  
FIG. 1. Geometrical model of tooth's hard tissues.

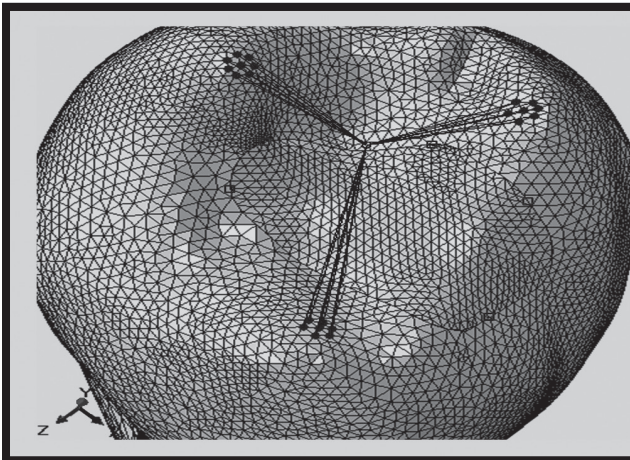
**TABELA 1. Właściwości mechaniczne materiałów wykorzystane do obliczeń MES.**  
**TABLE 1. Mechanical properties of materials used in FEM Analysis.**

Rodzaj materiału Kind of material	Moduł Younga Young's modulus [MPa]	Liczba Poissona Poisson's ratio $\nu$
Szklivo Enamel	84 100	0.33
Zębina Dentin	18 600	0.31
Kompozyt Composite	15 000	0.30



**RYŚ. 2. Model dyskretny zęba z założonym wypełnieniem.**

**FIG. 2. FEM model of tooth with restoration.**



**RYŚ. 3. Interakcje typu Coupling oraz obciążenie zewnętrzne modelu.**

**FIG. 3. Coupling interactions and mechanical load in the FEM-model.**

## Model dyskretny zęba

Proces dyskretyzacji tkanek twardych zęba oraz materiału wypełnienia oparto na elementach bryłowych typu tetragonalnego – C3D4, tj. 4-węzłowych elementach objętościowych z liniową funkcją kształtu, posiadających po 3 translacyjne stopnie swobody w każdym węźle [9] - RYS. 2.

Obciążenie mechaniczne zęba w postaci siły skupionej wynoszącej 400 N wprowadzono poprzez interakcje typu Coupling, umożliwiające jej rozłożenie na grupę węzłów znajdujących się na powierzchni szkliwa w sposób pokazany na RYS. 3. Warunki brzegowe modelu numerycznego zdefiniowano poprzez utwierdzenie węzłów zębiny poniżej granicy szkliwa, blokując w tych węzłach wszystkie translacyjne stopnie swobody.

W modelu zęba z wypełnieniem stomatologicznym uwzględniającym właściwości warstwy adhezyjnej pomiędzy tkanką biologiczną zęba a materiałem wypełnienia stomatologicznego zastosowano model warstwy adhezyjnej oparty na interakcjach kontaktowych typu cohesive based surface behavior [9]. Zastosowana metoda modelowania oddziaływań adhezyjnych polega na definicji par kontaktowych pomiędzy materiałem wypełnienia stomatologicznego a tkanką biologiczną zęba, uwzględniających specyfikę wzajemnych interakcji pomiędzy łączonymi powierzchniami.

## Discrete model of tooth

The process of discretization of hard dental tissues and the filling material was based on the solid body elements of the tetragonal type – C3D4, that is 4-node cubic elements with a linear shape function, having 3 translation degrees of freedom, in every node each [9] (FIG. 2).

The mechanical load of the tooth in the form of concentrated force of 400 N was introduced through interactions of the coupling type, allowing its distribution across the group of nodes on the enamel surface, as shown in FIG. 3. The border conditions of the numerical model were defined by clamping the dentine nodes below the border of the enamel, blocking all translation degrees of freedom in those nodes.

For the model of a tooth with a dental filling, in which the properties of the adhesive layer between the biological tissue of the tooth and the dental filling material were allowed for, the adhesive layer model based on the contact interactions of the surface-based cohesive behaviour type [9] was used. The adhesive interactions modelling method consists in defining the contact pairs between the dental filling material and the tooth biological tissue, allowing for the specific character of the interactions between the connected surfaces. The description of the adhesive layer requires a definition of the initiation point, as well as the character of the evolution of the layer damage consisting in gradual degradation of the junction rigidity together with the increased external load.



Opis właściwości warstwy adhezyjnej wymaga definicji punktu inicjacji oraz charakteru ewolucji zniszczenia warstwy, polegającej na stopniowej degradacji sztywności połączenia wraz ze wzrostem obciążenia zewnętrznego. Podstawowym prawem konstytutywnym używanym do opisu warstwy kontaktu kohezynego jest kryterium zniszczenia Traction-Separation (siła rozrywająca – graniczna wartość separacji), pozwalające na uwzględnienie w analizie zniszczenia zarówno oddziaływań normalnych (odrywanie) jak również efektów zniszczenia wywołanych oddziaływaniami stycznymi (ściananie). W TABELI 2 zamieszczono właściwości mechaniczne warstwy adhezyjnej przyjęte w obliczeniach numerycznych na podstawie danych literaturowych [10].

## Wyniki obliczeń numerycznych

Wyniki obliczeń numerycznych zostały przedstawione w postaci kolorowych map naprężeń zredukowanych  $\sigma_{red}$  wyznaczonych wg hipotezy wytrzymałościowej Hubera-Misesa-Hencky'ego. Umożliwiło to przeprowadzenie analizy stopnia wyciężenia tkanki twardej zęba w wyniki działania obciążenia imitującego procesy żucia w jamie ustnej. Podjęto również próbę oceny stopnia wyciężenia w warstwie adhezyjnej pomiędzy tkanką biologiczną zęba a materiałem wypełnienia stomatologicznego. Na RYS. 4 przedstawiono rozkład naprężenia zredukowanego H-M-H w poszczególnych tkankach zęba.

Maksymalne wartości naprężenia zredukowanego H-M-H umiejscowione są w elementach szkliwa w obszarach przyłożenia obciążenia zewnętrznego i kształtują się na poziomie  $\sigma_z = 668,7$  MPa. Obszary te charakteryzują się gwałtownymi gradientami naprężenia zredukowanego do wartości maksymalnej, przy ogólnym poziomie naprężenia w materiale szkliwa o średniej wartości  $\sigma_z = 20\div33$  MPa. Maksymalne wartości naprężenia zredukowanego w modelu zębiny wynoszą  $\sigma_z = 23,7$  MPa. Również w tym przypadku w pobliżu krawędzi wypełnienia stomatologicznego zaobserwowano wzrost poziomu naprężenia zredukowanego - kolor zielony w modelu zębiny.

The basic constitutive law that is applied to describe the cohesive contact layer is the criterion of the traction-separation damage (disruptive strength – separation limit value), by which both the normal effect (separation) and the damage caused by the contact effect (shear) can be allowed for in the damage analysis. The mechanical properties of the adhesive layer adopted for the numerical calculations based on the literature data are shown in TABLE 2 [10].

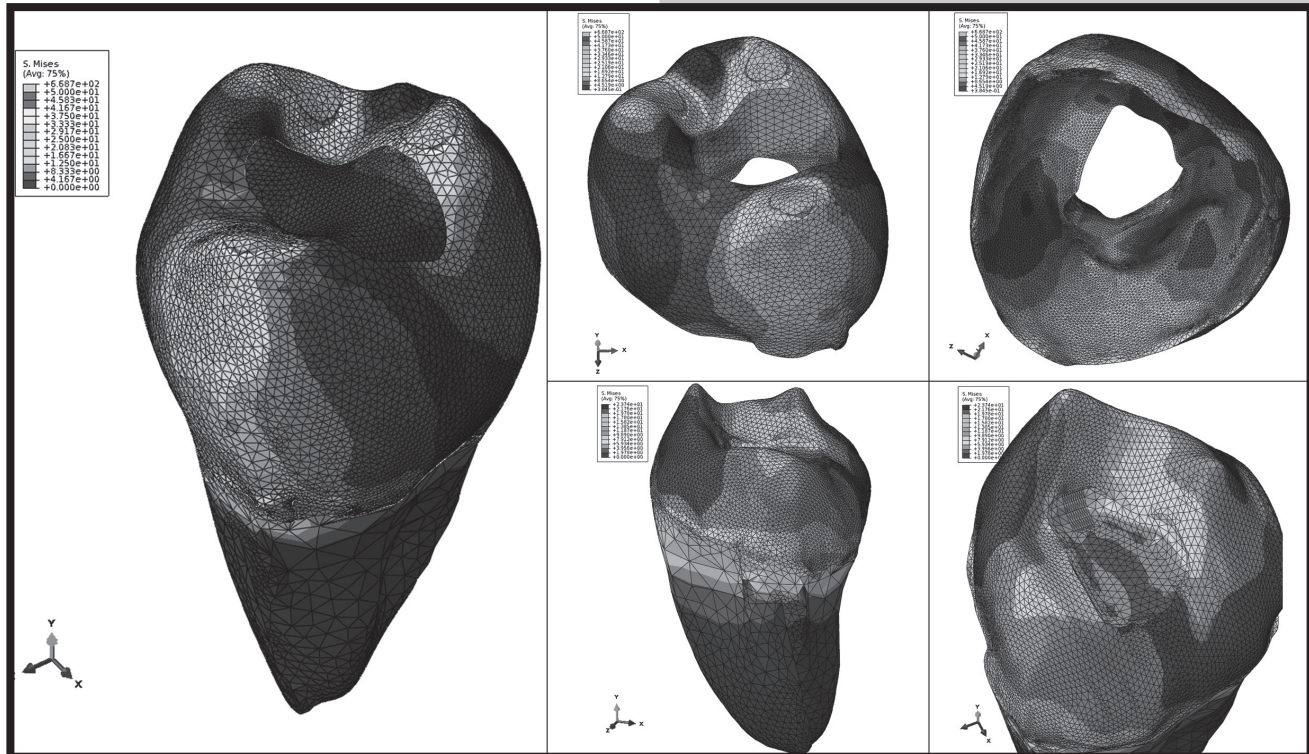
**TABELA 2. Właściwości mechaniczne warstwy adhezyjnej wykorzystane do obliczeń MES.**  
**TABLE 2. Mechanical properties of adhesive layer used in FEM analysis.**

Moduł Younga Young's modulus [MPa]	Liczba Poissona Poisson's ratio $\nu$	Wytrzymałość na odrywanie Peel strength $K_{nn}$ [MPa]	Wytrzymałość na ścinanie Shear strength $K_{ss}, K_{tt}$ [MPa]
1 000	0.3	25	12.5

## Results of numerical analysis

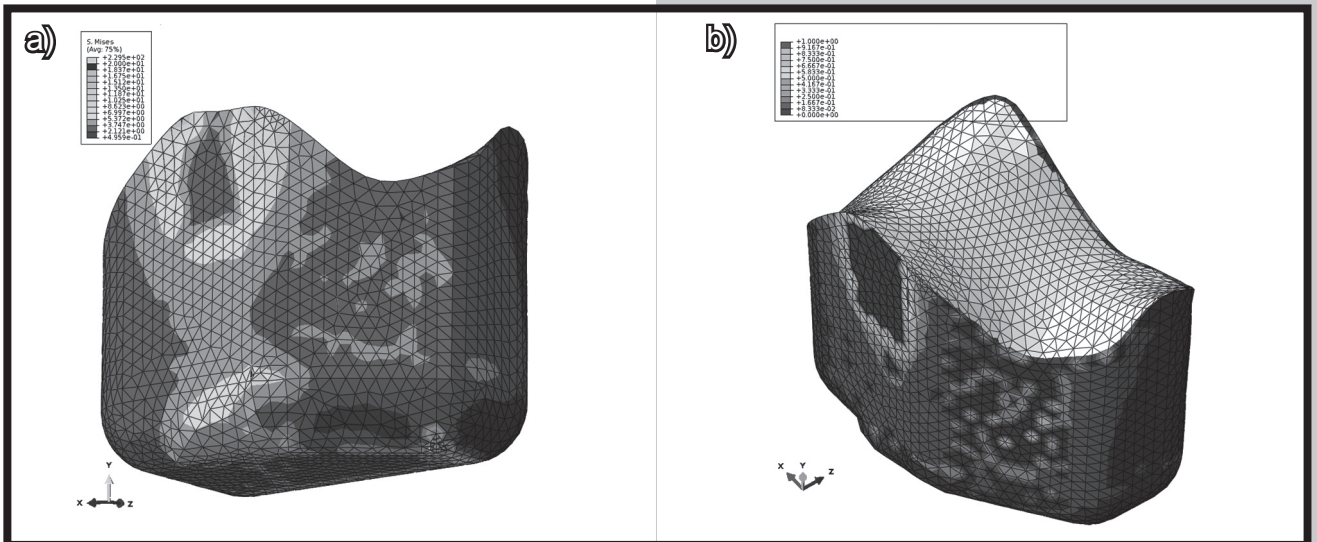
The results of the numerical calculations have been presented as colour maps of reduced stresses  $\sigma_{red}$  determined on the basis of the strength hypothesis of Huber-Mises-Hencky. This allowed analysing the degree of strength in the hard dental tissue resulting from the load imitating the process of chewing in the oral cavity. Also, an assessment of the degree of strength in the adhesive layer between the biological tissue of the tooth and the dental filling material was attempted. In FIG. 4, the distribution of the reduced H-M-H stress in individual tooth tissues has been presented.

The maximum reduced H-M-H stress values in the enamel elements are located in areas of the external load attachment and are  $\sigma_z = 668.7$  MPa. The areas are characterized by rapid reduced stress gradients to the maximum value,



**RYS. 4. Mapa naprężenia zredukowanego H-M-H w tkankach twardej zęba.**  
**FIG. 4. H-M-H stress distribution in hard tissues of tooth.**





RYS. 5. a) Mapa naprężenia zredukowanego oraz b) wyężenia warstwy adhezyjnej na powierzchniach granicznych wypełnienia.

FIG. 5. a) H-M-H stress distribution, b) effort of adhesive layer on boundaries of restoration.

Poddając analizie stan naprężenia w materiale wypełnienia kompozytowego oraz na powierzchni warstwy adhezyjnej zauważono obszar o podwyższonej wartości naprężenia zredukowanego, wynoszącego  $\sigma_z = 19$  MPa - RYS. 5a. Potwierdzają to również mapy wyężenia warstwy adhezyjnej - RYS. 5b. Widoczne obszary newralgiczne występują na krótkim odcinku górnej krawędzi wypełnienia oraz miejscowo na jego bocznej powierzchni.

## Podsumowanie

Stan naprężeń powstający pod wpływem obciążeń zgryzowych jest jednym z bardziej istotnych czynników wpływających na stopień obciążenia zarówno tkanek zęba, jak również wytrzymałość warstwy adhezyjnej przylegania materiału wypełnienia do tkanki biologicznej. Otrzymane wyniki pozwalają ujawnić obszary newralgiczne, występujące na krótkim odcinku górnej krawędzi wypełnienia oraz miejscowo na jego bocznej powierzchni - RYS. 5. Strefy te mogą stanowić źródło potencjalnego uszkodzenia warstwy adhezyjnej, narażonej na działanie złożonego stanu obciążenia (rozciąganie, ścinanie oraz ściskanie), a tym samym doprowadzić do propagacji szczeliny brzeżnej [11,12]. W większości przypadków zjawisko to stanowiło bezpośrednią przyczynę zniszczenia wypełnienia stomatologicznego [13,14]. Zastosowanie metody elementów skończonych w znacznym stopniu ułatwia opis stanów mechanicznych twardych tkanek zębów oraz ocenę materiałów używanych w rekonstrukcjach stomatologicznych. Umożliwia to dokonanie realnej oceny stopnia wyężenia twardych tkanek zębów, co pozwala na ocenę ryzyka niepowodzenia leczenia stomatologicznego i pomaga w opracowaniu bardziej racjonalnych metod zapobiegania uszkodzeniom zębów na skutek działania obciążeń mechanicznych. Wyniki symulacji MES mogą zatem stanowić cenną pomoc w przedklinicznych etapach projektowania i optymalizacji rekonstrukcji stomatologicznych.

## Podziękowania

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2008-20011 jako projekt badawczy.

with the general level of stress in the enamel material of the mean value of  $\sigma_z = 20-33$  MPa. The maximum reduced stress values in the dentine model are  $\sigma_z = 23.7$  MPa. Also in this case, near the dental filling edge, an increased reduced stress level was observed - the colour green in the dentine model.

Analyzing the stress level in the composite filling material and on the surface of the adhesive layer, an area of increased value of reduced stress of  $\sigma_z = 19$  MPa (FIG. 5a) was observed. This is also confirmed by the adhesive layer strength maps (FIG. 5b). The visible trouble areas are found in a short segment of the upper edge of the filling and locally on its side surface.

## Summary

The level of stress resulting from the occlusion load is one of the most essential factors affecting the degree of load for both the dental tissues, as well as the strength of the adhesive layer of the filling material to the biological tissue. The results allow revealing the trouble areas occurring in the short segment of the upper edge of the filling and locally on its side surface (FIG. 5). These areas can constitute a potential source of damage to the adhesive layer exposed to a complex state of load (tension, shear and compression), thereby leading to the propagation of the border crevice [11, 12]. In most cases, this phenomenon was a direct cause of damage to the dental filling [13, 14]. The use of the finite elements method makes describing the mechanical condition of hard dental tissues and evaluating materials used for reconstruction in dentistry significantly easier. This allows realistically assessing the degree of strength of dental tissues, which in turn allows evaluating the risk of unsuccessful dental treatment and helps prepare more rational methods for preventing tooth damage resulting from mechanical load. The results of the FEM simulation can therefore constitute a valuable aid in the preclinical stages of design and optimization of dental reconstructions.

## Acknowledgements

Presented work was financed from the scientific funds in the years 2008-2011 as a research project.

## Piśmiennictwo

- [1] Rusiński E., Czmochoński J., Smolnicki T.: Zaawansowana metoda elementów skończonych w konstrukcjach nośnych. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław, 2000.
- [2] Zienkiewicz O. C.: Metoda elementów skończonych. Arkady, Warszawa 1972, 63-84.
- [3] Dobosz A., Panek H., Napadłek P.: Implementation of Numerical Analysis in Assessment of Stresses in Hard Tissues of Teeth Reconstructed with Selected Fixed Prostheses. Dent. Med. Probl. 42, 4, (2005) 657-662.
- [4] Tribińo R., Szymaniak E., Waszkiel D., Syczewski M.: Zastosowanie metody elementów skończonych do analizy stanu naprężeń w tkankach twardych zęba. Czas. Stomat. 42 (1989) 1-7.
- [5] Szymaniak E., Kierkło A., Tribińo R.: Praktyczne zastosowanie metody elementów skończonych (MES) do analizy naprężeń w tkankach zęba i wypełnieniu. Czas. Stomat. 44 (1991) 271-275.
- [6] Dejak B., Józefowicz W.: Komputerowa analiza naprężeń powstających pod wpływem obciążeń zębów odbudowanych wkładami koronowo-korzeniowymi z różnych materiałów. Prot. Stomat. 41 (1991) 156-163.
- [7] Dejak B., Młotkowski A.: Analiza naprężeń w dwu- i trójwymiarowych modelach zębów badanych metodą elementów skończonych. Prot. Stomat. 44 (1994) 209-212.

## References

- [8] Dejak B.: Badania naprężeń w zębach odbudowanych wkładami koronowo-korzeniowymi z różnych materiałów. Stomat. Współcz. 2 (1995) 35-40.
- [9] Abaqus HTML Documentation.
- [10] Tulimar P.M. Cornacchia, Estevam B. Las Casas, Carlos Alberto Cimini Jr., Rodrigo G. Peixoto: 3D finite element analysis on esthetic indirect dental restorations under thermal and mechanical loading, Med. Biol. Eng. Comput 48 (2010) 1107-1113.
- [11] Kierkło A.: Studium hipotez wytrzymałościowych tkanek twardych kości i zęba. Zesz. Nauk. Polil. Biał., Budownictwo 16 (1997) 95-106.
- [12] Ausiello P., Rengo S., Davidson C.L., Watts D.C.: Stress distributions in adhesively cemented ceramic and resin-composite Class II inlay restorations: a 3D-FEA study. Dental Materials 20 (2004) 862-872.
- [13] Niewczas A., Pieniak D., Bachanek T., Surowska B., Bieniaś J., Pałka K.: Prognosing of functional degradation of bio-mechanical systems exemplified by the tooth-composite filling system. Eksploatacja i Niezawodność - Maintenance and Reliability 1 (2010) 23-34.
- [14] Ausiello P., Apicella A., Davidson C.L.: Effect of adhesive layer properties on stress distribution in composite restorations-a 3D finite element analysis. Dental Materials 18 (2002) 295-303.

# BADANIE WYBRANYCH WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNYCH TYTANU DO ZASTOSOWAŃ REKONSTRUKCYJNYCH W IMPLANTOPROTETYCE STOMATOLOGICZNEJ

ANNA M. RYNIWICZ<sup>1,2\*</sup>, ŁUKASZ BOJKO<sup>1</sup>, WOJCIECH RYNIWICZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> AGH AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, WYDZIAŁ INŻYNIERII MECHANICZNEJ I ROBOTYKI, AL. A. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

<sup>2</sup> UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI, COLLEGIUM MEDICUM, WYDZIAŁ LEKARSKI, KATEDRA PROTETYKI STOMATOLOGICZNEJ, UL. MONTELUPICH 4, 31-155 KRAKÓW

\* E-MAIL: ANNA@RYNIWICZ.PL

## Streszczenie

Istotnym problemem przy stosowaniu biomateriału na konstrukcje nośne uzupełnień implantoprotetycznych jest sprawdzenie jego parametrów mechanicznych. Celem badań było oznaczenie dla tytanu przeznaczonego do systemu CAD/CAM wybranych właściwości wytrzymałościowych i tribologicznych. Do badań wytypowano fabryczne półprodukty tytanu o oznaczeniu Everest T Blank w kształcie walców i bloczków przeznaczone do wykonywania podbudowy koron i mostów. Badania obejmowały wyznaczenie rozkładu mikrotworów w strukturze wewnętrznej fabrycznych półproduktów oraz ocenę odporności na zużycie tribologiczne warstwy wierzchniej.

Tytan Everest T Blank, w aspekcie biomechaniki, jest materiałem preferowanym na długie konstrukcje nośne w odcinku bocznym, do obróbki w systemie CAD/CAM. Wskazują na to badania wytrzymałościowe tego biomateriału. Konstrukcje nośne będą posiadały odporność na obciążenia okluzyjne, a równocześnie będą charakteryzowały się jednorodną strukturą materiału przy wymuszeniach skupionych. Badania tribologiczne wykazały małą odporność tytanu na zużycie w węzłach ślizgowych oraz wysoki współczynnik tarcia, co ogranicza zastosowanie tego biomateriału w węzłach ruchomych.

**Słowa kluczowe:** tytan, system CAD/CAM, mikrotworowość, moduł Younga, zużycie

[Inżynieria Biomateriałów, 112, (2012), 48-53]

## Wprowadzenie

Tytan i stopy tytanu można zaliczyć do szeroko stosowanej w medycynie grupy metalicznych materiałów, ze względu na: dobrą odporność korozyjną, niską gęstość, odpowiedni stosunek wytrzymałości do granicy plastyczności oraz najwyższą biogodność w porównaniu z innymi metalicznymi biomateriałami. Obecnie ten biomateriał jest wykorzystywany jako podstawowy na stałe konstrukcje nośne odtwarzające utracone funkcje tkanek twardych w implantoprotetyce stomatologicznej, chirurgii i protetyce szczękowo-twarzowej oraz ortopedii [1-5]. Technologie pozyskiwania tytanu i stopów tytanu na konstrukcje protetyczno-ortopedyczne są ciągle modyfikowane.

# SELECTED MECHANICAL PROPERTIES OF TITANIUM IN DENTAL IMPLANTOLOGY RECONSTRUCTION PROCEDURE

ANNA M. RYNIWICZ<sup>1,2\*</sup>, ŁUKASZ BOJKO<sup>1</sup>, WOJCIECH RYNIWICZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING AND ROBOTICS, AL. A. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKOW, POLAND

<sup>2</sup> JAGIELLONIAN UNIVERSITY MEDICAL COLLEGE, FACULTY OF MEDICINE, DEPARTMENT OF PROSTHETIC DENTISTRY, UL. MONTELUPICH 4, 31-155 KRAKOW, POLAND

\* E-MAIL: ANNA@RYNIWICZ.PL

## Abstract

When placing kinds of biomaterials on the supporting structures of implant-prosthetic restoration, the essential concern is checking their mechanical parameters. The aim of the tests was determination selected of the strength and tribological properties for titanium designated for CAD/CAM system. The manufactured semi-finished products: Everest T-Blank in the shape of cylinders and blocks were indicated to the tests. These materials are used to substructure crowns and bridges. The tests included determination distribution of micro-roughness in internal structure of manufactured semi-finished products and evaluation resistance on tribological wear of surface layer.

Titanium Everest T-Blank, in the biomechanical aspect, is preferred material to long prosthetic constructions in lateral segment, to treatment in CAD/CAM system, which is proven by the strength tests. The supporting structures will have resistance on occlusion loads and, at the same time, will characterize homogeneous structure of materials by concentrated extortions. Tribological tests have shown small resistance of titanium in the sliding knot and high coefficient of friction, which limits the application of these biomaterials in knots movement.

**Keywords:** titanium, CAD/CAM system, microhardness, Young's modulus, wear

[Engineering of Biomaterials, 112, (2012), 48-53]

## Introduction

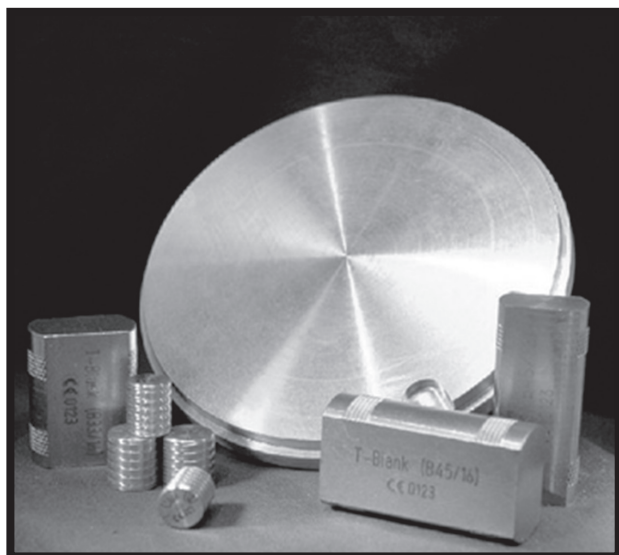
Titanium and titanium alloys belong to that group of metallic materials which are widely used in medicine due to their high corrosion resistance, low density, sufficient relation between strength and plasticity point as well as the highest level of biocompatibility when compared to other metallic biomaterials. At present, they are used as basic and primary materials for constant support structures which reproduce lost functions of hard tissues in dentistry, surgery, dental prosthetics and orthopedics [1-5]. However, methods of gaining titanium and its alloys for prosthetics and orthopedic structures are still being modified in order to find the best one. Nowadays, structures which are intended to be placed directly in bones, which must bear functional loads and are directly joined with bones (osteointegration) – are the most popular ones. They are exposed to body fluids, must transfer complex loads, may serve as stabilizing structures or be used in sliding, rolling or combined movement.



Najbardziej popularne są konstrukcje osadzone strukturach kostnych, poddawane obciążeniom funkcjonalnym i bezpośrednio połączone z kością na zasadzie osteointegracji. Są one narażone na środowisko płynów ustrojowych, przenoszą złożone obciążenia, mogą stanowić konstrukcje stabilizujące lub może być w nich realizowany ruch ślizgowy, toczny lub toczno-ślizgowy. Przy stosowaniu nowych materiałów na konstrukcje nośne, istotnym zagadnieniem jest sprawdzenie ich parametrów wytrzymałościowych i tribologicznych [6,7]. Celem badań była analiza właściwości mechanicznych tytanu technicznego o oznaczeniu Everest T Blank. Ten biomateriał uzyskiwany w technologii fabrycznej, zastrzeżonej przez firmę, przeznaczony jest na konstrukcje implantoprotetyczne w procedurze CAD/CAM z wykorzystaniem specjalistycznego oprogramowania. Kształtki metalu są formowane w zależności od rozległości przyszłej odbudowy protetycznej. W terapii klinicznej lekarz przygotowuje podłoże protetyczne i projektuje odbudowę utraconych tkanek narządu żucia. W laserowo odwzorowanym podłożu, na podstawie projektu i wskazań lekarza, pracy technika i informatyka tworzona jest konstrukcja wirtualnego uzupełnienia w procedurze CAD (Computer Aided Design). Konstrukcja rzeczywista wykonywana jest metodą sterowanego frezowania (zarejestrowanej w systemie kształtki) w procedurze CAM (Computer Aided Manufacturing). Analiza właściwości mechanicznych powinna dać odpowiedź na pytanie jaki jest rozkład parametrów wytrzymałościowych w objętości kształtki z tytanu Everest T Blank i czy ten biomateriał posiada odpowiednie właściwości ślizgowe. Analiza ta wykonana została na podstawie przeprowadzonych badań wytrzymałościowych i tribologicznych.

## Materiały i metody

Próbki do badań właściwości wytrzymałościowych i tribologicznych zostały pobrane z kształtek do systemu CAD/CAM w procedurze Kavo-Everest z czystego technicznie tytanu o składzie: tytan – 99,47%, azot – 0,03%, węgiel – 0,1%, wodór – 0,02%, żelazo – 0,2%, tlen – 0,18% (RYS. 1).



RYS. 1. Kształtki przeznaczone na konstrukcje implantoprotetyczne do systemu CAD-CAM w procedurze Kavo-Everest.

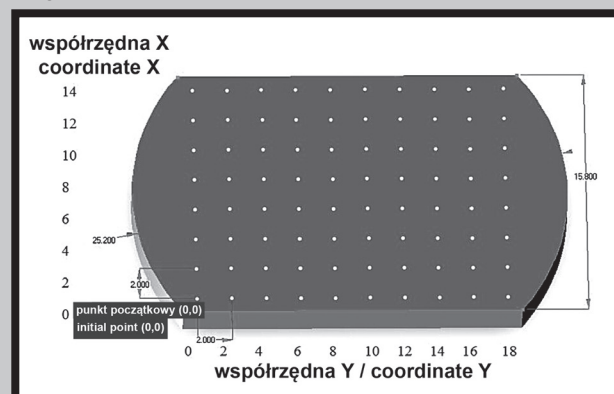
FIG. 1. Fittings for the implantoprosthetic construction to the CAD-CAM in the procedure-Kavo Everest.

When new materials for load-bearing structures are used, it is extremely important to check their strength and tribological properties [6,7]. This research work was aimed at making analysis of mechanical properties of technical titanium called Everest T Blank which is produced by a patented industry process and is intended for making implant structures with the use of CAD/CAM specialized and dedicated systems. A piece of metal is formed in accordance with its future shape of prosthetic element. In clinical therapy, a physician makes a prosthetic ground and designs the process of rebuild of lost tissues of masticatory organ. Based on a design and physician's indications, virtual implement structure is performed with the use of CAD (Computer Aided Design) system and placed virtually in laser-mapped place. Real implement structure is made by milling (according to its virtual picture) by CAM system (Computer Aided Manufacturing). Analysis of mechanical properties should answer a question concerning strength parameters of the profile made of Everest T Blank titanium and about its slide characteristic. The analysis has been based on strength and tribological examination performed.

## Materials and methods

Samples for strength and tribological test were taken from elements prepared for CAD/CAM process in Kavo-Everest procedure; they were technically pure titanium of the following composition: Titanium – 99.47%, Nitrogen – 0.03%, Carbon – 0.1%, Hydrogen – 0.02%, Iron – 0.2%, Oxygen – 0.18% (FIG. 1).

Sampling and preparation of samples for test were performed in accordance with relevant procedure [8], so it was possible to analyze mechanical properties of random-selected parts. Samples for micro-mechanical examination (FIG. 2) had a form of 2.0 mm thick "plasters" and was earlier cut-off of those elements which were intended for prosthetic and implant structures to be made by a CAD/CAM method. Samples for tribological examination (FIG. 3) were disks of 6.35 mm and 2.0 mm thick and were derived from above mentioned "plasters". To get samples, a decrement processing by specialized machines were employed (milling machine, turning lathe, polisher) in Technology Laboratory of Engineering and Robotics Faculty. After polishing, the outer layer of samples had the following roughness characteristic: mean arithmetic deviation of profile from average line  $R_a = 0.08 \mu\text{m}$ , max. height of roughness profile  $R_m = 0.59 \mu\text{m}$ , height of roughness on a 10-point:  $R_z = 0.38 \mu\text{m}$ , average height of profile elements  $R_c = 0.24 \mu\text{m}$  [7].



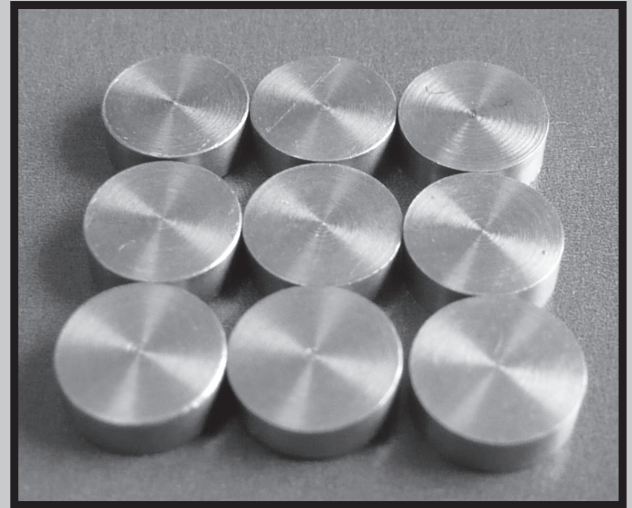
RYS. 2. Próbkę do badań mikromechanicznych - rozmieszczenie punktów pomiarowych oraz ich współrzędne.

FIG. 2. A sample for micromechanical test - distribution of measuring points and their coordinates.

Pobieranie, przygotowanie i wykonanie próbek badawczych, według znormalizowanej procedury [8], zapewniło możliwość analizowania właściwości mechanicznych w losowo wybranych objętościach kształtek. Próbki do badań mikromechanicznych (RYS. 2) były „plastrami” o grubości 2 mm ciętymi z kształtek, przeznaczonych do uzyskiwania stałych konstrukcji protetycznych i implantoprotetycznych metodą CAD/CAM. Próbki do badań tribologicznych (RYS. 3) były krążkami o średnicy 6,35 mm i grubości 2 mm, uzyskanymi z wyżej opisanych „plastrów”. Proces uzyskiwania próbek przeprowadzono przy zastosowaniu obróbki ubytkowej na specjalistycznych tokarkach, frezarkach oraz polerkach w Laboratorium Technologicznym na Wydziale Inżynierii Mechanicznej i Robotyki. Warstwa wierzchnia próbek po procesie polerowania posiadała następujące parametry chropowatości: średnie arytmetyczne odchylenie profilu od linii średniej  $R_a = 0,08 \mu\text{m}$ , maksymalna wysokość profilu chropowatości  $R_m = 0,59 \mu\text{m}$ , wysokość chropowatości wg 10 punktów  $R_z = 0,38 \mu\text{m}$ , średnia wysokość elementów profilu  $R_c = 0,24 \mu\text{m}$  [7].

W celach porównawczych badano również krążki teflonowe, które uzyskano z płaskownika przy użyciu stempla stanowiącego wyposażenie maszyny badawczej.

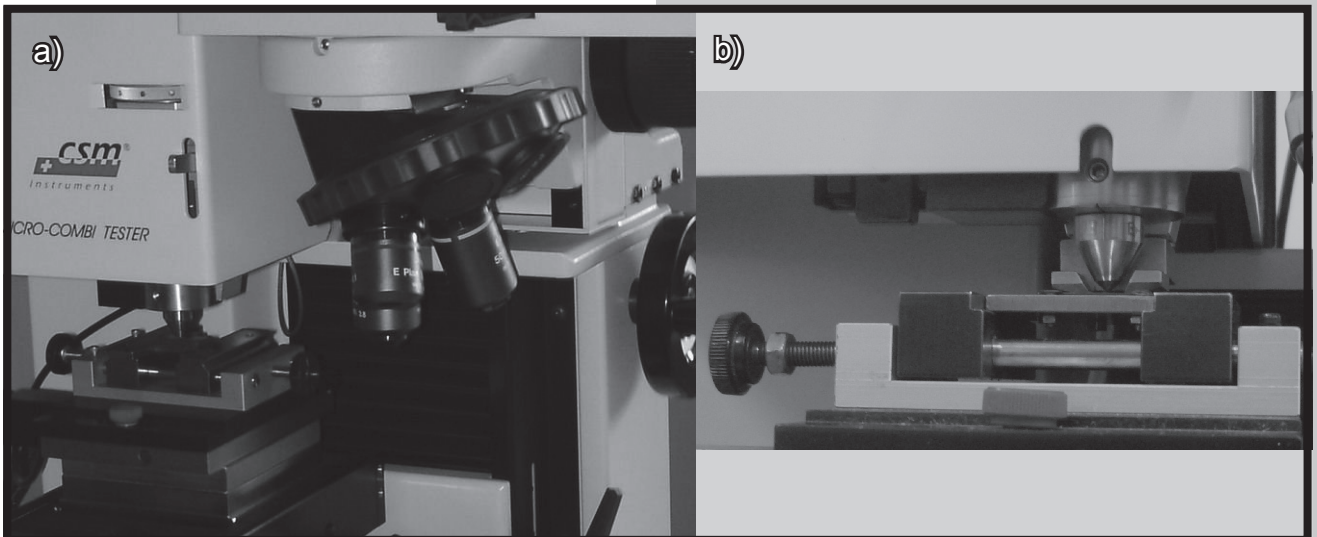
Badania właściwości mikromechanicznych tytanu Everest T Blank, które obejmowały pomiary mikrotwardości i modułu Younga przeprowadzono na urządzeniu Micro Combi Tester firmy CSEM Instruments (RYS. 4). Wyznaczono je na podstawie wgłębnikowania próbki z wykorzystaniem penetratora diamentowego w kształcie ostrosłupa prawidłowego o podstawie kwadratu. W pomiarach w sposób ciągły rejestrowano wartości siły obciążającej i głębokości penetracji ostrza w cyklu obciążania i odciążania. Układ pozycjonowania próbki umożliwił ustalenie miejsca wprowadzenia wgłębnika oraz losowy wybór tego obszaru. Prędkość narastania siły obciążającej wgłębnik oraz jej maksymalna wartość były zadawane w programie badawczym. Zastosowano następujące wartości maksymalnych sił obciążających: 50 mN, 200 mN, 500 mN i 1000 mN, a prędkości wynosiły odpowiednio 100 mN/min, 400 mN/min, 1000 mN/min oraz 2000 mN/min.



RYS. 3. Krążki do badań tribologicznych.  
FIG. 3. Discs for tribological test.

For comparison, teflon disks that had been derived from a flat bar with the use of the research machine equipment, were examined.

Micromechanical properties of Titanium Everest T Blank: microhardness and Young modulus were examined with the use of Micro Combi Tester of CSEM Instruments (FIG. 4). The employed procedure was as follows: penetration of samples by diamond penetrator of a regular, square-base, pyramid shape. Values of force and of deepness of penetration in the load-unload cycle were measured. The sample positioning system allowed operator to choose a place of penetration by a random-choice procedure. Both the speed of increasing of penetration force and the highest values of the force were in accordance with the experiment plan. The following highest values of force were used: 50 mN, 200 mN, 500 mN; the speeds were, accordingly: 100 mN/min, 400 mN/min, 1000 mN/min, 2000 mN/min.



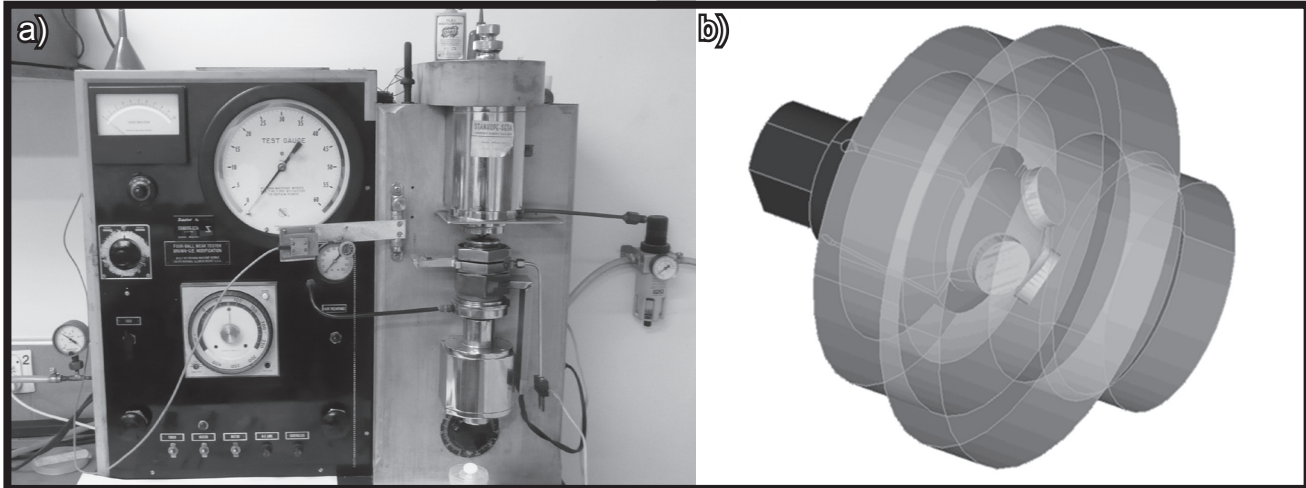
RYS. 4. Urządzenie Micro Combi Tester do badań mikromechanicznych:  
a) widok urządzenia, b) wgłębnikowanie próbki.

FIG. 4. Micro Combi Tester machine for micromechanical testing:  
a) view of the device, b) indenters of the sample.



Badania odporności na zużycie tribologiczne oraz pomiar współczynnika tarcia tytanu Everest T Blank oraz teflonu zostały przeprowadzone na maszynie Four Ball Wear Tester Brown firmy Roxana Machine Works. W testach zastosowano węzeł tarcia kula-trzy krążki z materiału badanego (RYS. 5). Przeciwpróbki stanowiły stalowe kule łożyskowe 12,7 mm [9]. Badania tribologiczne przeprowadzono w warunkach tarcia ślizgowego w obecności 0,9% soli fizjologicznej. Parametry testu były następujące: obciążenie węzła tarcia 100 N, prędkość obrotowa przeciwpróbki – 200 obr/min, temperatura – 37°C, czas pracy – 900 s. Miarą odporności na zużycie tribologiczne była średnia średnica skazy na krążkach mierzona w kierunku ruchu i w kierunku do niego prostopadłym. W trakcie biegów badawczych (przy aero-statycznym łożyskowaniu węzła badawczego) dokonano pomiaru współczynników tarcia.

To measure the resistance for tribological wear and friction factor of Everest T Blank titanium, as well as of teflon, the Four Ball Wear Tester Brown of Roxana Machine Works was used. Applied was a ball-three disks of examined material friction point (FIG. 5). As counter-samples, steel bearing balls 12.7 mm were used [9]. Tribological test was performed as sliding friction in the presence of 0.9% physiological saline. Test parameters were as follows: Friction point load: 100 N, rotational speed of counter-sample: 200 rpm, temperature: 37°C, work-time: 900 s. To find and compare the tribological wear resistance, an average diameter of defect made in disks, in both movement direction and perpendicular to it, was measured. Also (at aerostatic bedding of research point), coefficients of friction were taken.



RYS. 5. Tribologiczna maszyna badawcza: a) widok ogólny, b) węzeł tarcia kula-trzy krążki.  
FIG. 5. Tribological test machine: a) general view, b) friction pair ball-three discs.

## Wyniki badań i ich omówienie

W badaniach mikromechanicznych zostały wyznaczone krzywe wgłębniowania oraz rzuty powierzchni odcisków. Na ich podstawie określono średnie wartości modułów Younga i średnie wartości mikrotwardości w losowo wybranych, wewnętrznych obszarach kształtek z tytanu Everest T Blank (TABELA 1). Wartości modułu sprężystości wzdłużnej tytanu pozostawały w zakresie od 115 do 141 GPa, przy czym zwiększały się wraz ze wzrostem maksymalnego obciążenia i szybkości penetracji. Moduł Younga badanego tytanu przewyższał wartości tego parametru w tkankach twardej narzędu żucia, które średnio wynoszą: 88 GPa dla szkliwa, 19 GPa dla zębiny oraz 40 GPa dla kości wyrostka zębodołowego [3,6,7]. Tytan i stopy tytanu należą do biomateriałów, które posiadają podatność najbardziej zbliżoną do tkanek twardej, w porównaniu do innych metali i stopów metali, wykorzystywanych w implantoprotetyce.

## Results and Discussions

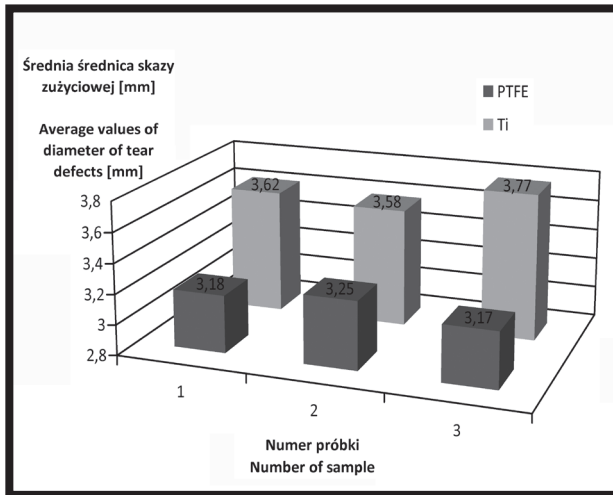
During micromechanical procedure, penetration curves and projected areas of indentation were determined. These were then used to calculate mean values of Young modules and average values of microhardness of randomly selected inner areas of Everest T Blank titanium profiles (TABLE 1). Values of longitudinal modulus of elasticity were between 115 and 141 GPa and increased in line with increase of max. load and velocity of penetration. Young's modulus of titanium tested exceeded the value of this parameter in the hard tissues of the masticatory organ, which on average are: 88 GPa for enamel, 19 GPa for dentin, and 40 GPa for alveolar bone [3,6,7]. Titanium and titanium alloys are among the biomaterials, which are most similar to the susceptibility of hard tissue, compared to other metals and metal alloys used in implanto-prostodontia.

TABELA 1. Zestawienie właściwości mikromechanicznych tytanu Everest T Blank w kształtkach przeznaczonych na konstrukcje implantoprotetyczne.

TABLE 1. Statement of micromechanical properties of titanium Everest T Blank in the profiles for the construction implantoprosthetic.

Wymuszenia wejściowe / Force input		Właściwości mikromechaniczne / Micromechanical properties	
Obciążenie penetratora Penetrator load [mN]	Prędkość wgłębniowania Indenters velocity [mN/min]	Moduł Younga Young's modulus [GPa]	Mikrotwardość Microhardness [MPa]
50	100	115±8	325±10
200	400	132±7	310±7
500	1000	140±6	267±5
1000	2000	141±4	245±4

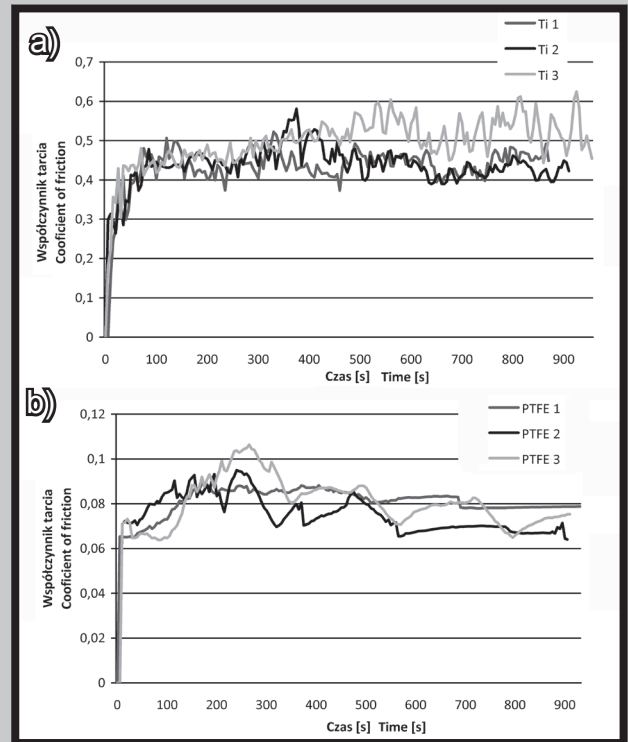




**RYS. 6. Wyniki badań odporności na zużycie tribologiczne.**  
**FIG. 6. The results of tribological wear resistance.**

Wartości mikrotwardości tytanu pozostawały w zakresie od 245 do 325 MPa i malały wraz ze wzrostem obciążenia maksymalnego i szybkości penetracji. Można uznać, że wyznaczone w tej metodzie parametry wytrzymałościowe były uzależnione od wymuszeń wejściowych. Największą powtarzalność wyników badań uzyskano przy obciążeniu maksymalnym 1 N i szybkości penetracji 2 N/min. Badania mikrotwardości wykonane na przekrojach półfabrykatów, w losowo wyznaczonych obszarach pomiarowych potwierdziły dobrą odporność tytanu Everest T Blank na obciążenia skupione przy wszystkich wymuszeniach wejściowych. Wyznaczone rozkłady mikrotwardości na przekrojach półfabrykatów wskazują na jednorodność struktury materiału w objętości kształtek i na możliwość wykonania konstrukcji nośnych o stabilnych parametrach wytrzymałościowych. Zastosowanie technologii wykonawstwa konstrukcji implantoprotetycznych w systemie CAD/CAM daje możliwość wykorzystania biomateriału nowej generacji, o ukształtowanych wcześniej właściwościach mechanicznych. Właściwości te mogą być lepiej dostosowane do własności tkanek oraz występujących uwarunkowań biomechanicznych w kontakcie tkanka-biomateriał [3,5]. Ma to szczególne znaczenie w procesie wytwarzania tytanu o odpowiednich parametrach wytrzymałościowych, który może mieć modyfikowaną strukturę poprzez przeróbkę plastyczną na etapie półproduktu.

Wyniki badań odporności na zużycie i pomiary współczynnika tarcia próbek wykonanych z tytanu Everest T Blank w porównaniu do próbek z teflonu przedstawiono na wykresach (RYS. 6 i 7). Średnie wartości średnicy skaz zużycia dla tytanu Everest T Blank zawierają się w przedziale od 3,58 do 3,77 mm, a dla teflonu od 3,17 do 3,25 mm. Można stwierdzić, że tytan jest materiałem, którego odporność na zużycie tribologiczne jest mała i gorsza niż teflonu. Współczynniki tarcia tytanu kształtowały się w przedziale od 0,4 do 0,6, a teflonu od 0,06 do 0,1, a zatem tytan Everest T Blank ma bardzo słabe właściwości ślizgowe. Ponadto w trakcie badań występowały drgania węzła testowego, które wynikały ze szczipania się próbek tytanu z przeciwpróbką. Na podstawie badań tribologicznych można podsumować, że tytan Everest T Blank jest materiałem, który nie może być stosowany w warunkach tarcia ślizgowego.



**RYS. 7. Zależność współczynników tarcia od czasu dla próbek: a) tytanowych, b) teflonowych.**  
**FIG. 7. The dependence coefficients of friction of time for samples: a) titanium, b) teflon.**

Values of microhardness of titanium were within the range 245-325 MPa and decreased when max. load and penetration speed were increasing. It may be stated that strength parameters which had been obtained by the method discussed, depended on input. The best repeatability of results was achieved at the load of 1 N and penetration speed of 2 N/min. Measures of microhardness that were taken from sections of semi-finished products at randomly selected measurement areas did confirm high resistance of Everest T Blank titanium to loads concentrated at all inputs. Diagrams of microhardness revealed homogeneity of structure of the material of examined shapes as well as possibility of making supporting structures of stable resistance parameters. Technology of making implant structures with the use of CAD/CAM systems will make it possible to use biomaterial of new generation – the one of earlier formed mechanical properties. These, in turn, may be better adjusted to tissue properties and to existing bio-mechanical circumstances [3,5]. This will be of significant importance during the process of production of titanium of required strength values, whose structure may be modified by plastic working procedures during the semi-product phase of production.

Results of measurement of resistance properties and of friction coefficient of titanium samples with comparison to samples made of teflon are presented in FIGs. 6 and 7. Average values of diameter of wear defects in Everest T Blank titanium lie in the range: 3.58 and 3.77 mm; those of teflon: 3.17 and 3.25 mm. So, it may be stated that titanium is the material whose resistance to tribological wear is small and lower that of teflon. Friction coefficients of titanium were: 0.4 to 0.6 and of teflon: 0.06 to 0.1. So, Everest T Blank titanium has very low slide properties, Further, vibration of test knot was observed; vibration that resulted from tacking of titanium samples and anti-samples. According to the presented results, it may be stated that Everest T Blank Titanium is the material which may not be used in slide friction environment.

## Wnioski

Badania wytrzymałościowe wskazują, że konstrukcja nośna wykonana z tytanu Everest T Blank przy zachowaniu kształtu warunkującego odporność na wyężenie pod wpływem obciążeń okluzyjnych będzie charakteryzowała się podatnością dobrze rokującą w warunkach przeniesienia obciążeń z konstrukcji uzupełnienia implantoprotetycznego na tkanki kostne.

Badania mikrotwardości i jej rozkład w fabrycznych kształtkach z tytanu Everest T Blank wskazują na jednorodność struktury i możliwość wykonania konstrukcji o stabilnych parametrach wytrzymałościowych.

Tytan Everest T Blank charakteryzuje się małą odpornością na zużycie tribologiczne oraz wysokim współczynnikiem tarcia, co ogranicza jego zastosowanie w konstrukcjach z węzłami ślizgowymi.

## Podziękowania

*Autorzy artykułu dziękują Panu dr inż. Sławomirowi Zimowskiemu i Panu dr inż. Marcinowi Kotowi z Wydziału Inżynierii Mechanicznej i Robotyki Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie za pomoc w wykonaniu badań mikrotwardości tytanu.*

## Conclusions

According to strength investigation, supporting structure made of Everest T Blank titanium while maintaining the shape of a condition resistance to exert under the influence of occlusal loads and will be well flexible to transmission of loads from structure of implant device to bone tissue.

According to microhardness investigation and its distribution in factory-made shapes of Everest T Blank titanium, their structure is homogeneous and may serve for making structures of stable resistance values.

Everest T Blank titanium is little resistant to tribological wear and has high friction coefficient, so its use in structures with slide nodes is limited.

## Acknowledgments

*Authors wish to express their acknowledgments to Mr. Sławomir Zimowski, D.Sc. and Mr. Marcin Kot, D.Sc., of Faculty of Mechanical Engineering and Robotics of the University of Science and Technology for their assistance in the research on microhardness of titanium.*

## Piśmiennictwo

- [1] Nałęcz M.: Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna 2000: Biomateriały, t. 4, Akademicka Oficyna Exit, Warszawa 2003.
- [2] Marciniak J.: Biomateriały w chirurgii kostnej, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 2002.
- [3] Marciniak J.: Biomateriały w stomatologii, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 2008.
- [4] Majewski S.W.: Rekonstrukcja zębów uzupełnieniami stałymi, Wydawnictwo Fundacji Rozwoju Protetyki, Kraków 2005.
- [5] Majewski S.W., Ryniewicz W., Ryniewicz A. M.: Wykorzystanie metody elementów skończonych do porównania naprężeń i przemieszczeń przenoszonych przez zęby własne i filary implantowane. Protetyka Stomatologiczna, LVIII, 5 (2008) 321-322.

## References

- [6] Ryniewicz A., Ryniewicz W.: The Estimation of Selected Properties of Titanium to Performance of Prosthetic Restorations in CAD/CAM, Polish Journal of Environmental Studies, 16, 6C (2007) 348-353.
- [7] Ryniewicz A.M, Ryniewicz W.: Badania wytrzymałościowe i tribologiczne tytanu przeznaczonego do wykonawstwa stałych uzupełnień protetycznych. Implantoprotetyka, I(30), IX (2008) 42-47.
- [8] Norma ISO 6507-1:2005(E): Metallic materials – Vickers hardness test – Part 1: Test method.
- [9] Norma PN-75 M-86452: Łożyska toczne. Kulki.

