

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 122-123

Special Issue

Numer 122-123

Numer specjalny

Volume XVI

Rok XVI

DECEMBER 2013

GRUDZIEŃ 2013

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

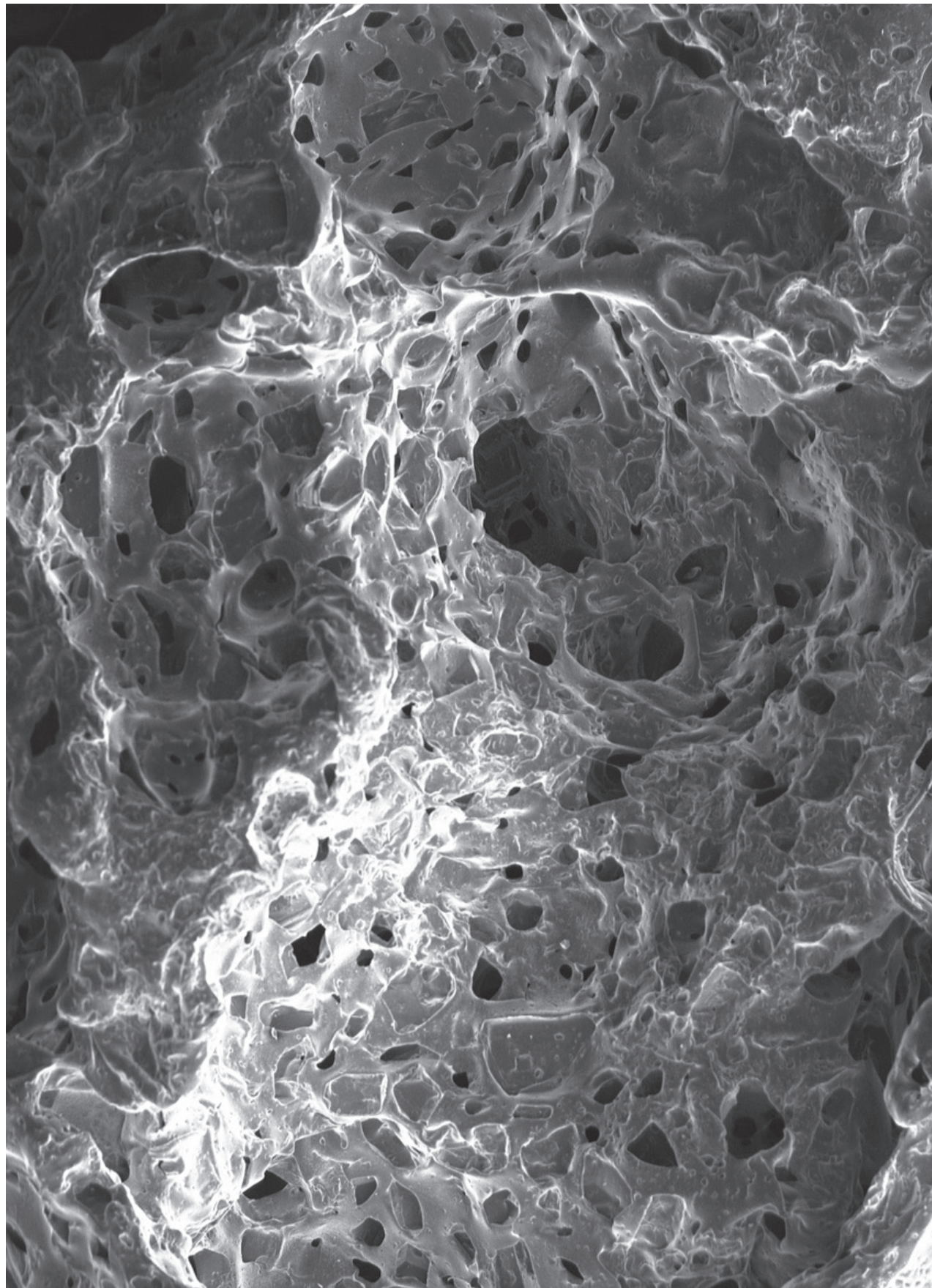
Nakład: 200 egz.

**Scientific Publishing
House AKAPIT**

Wydawnictwo Naukowe

AKAPIT

e-mail: wn@akapit.krakow.pl



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

Jan Ryszard Dąbrowski

POLITECHNIKA BIALOSTOCKA / BIALYSTOK TECHNICAL UNIVERSITY

Matthias Epple

UNIVERSITY OF DUISBURG-ESSEN, GERMANY

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 / SILESIA 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

Abhay Pandit

NATIONAL UNIVERSITY OF IRELAND, GALWAY

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 i instytucje • Streszczenie (200-250 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 recenzentów 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, 12 617 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

Warunki prenumeraty

Zamówienie na prenumeratę prosimy przysyłać na adres: apowroz@agh.edu.pl, tel/fax: (48 12) 617 45 41

Konto:

Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów
30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A-3
Bank Śląski S.A. O/Kraków,
nr rachunku 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001
Opłaty: Cena numeru specjalnego wynosi 100 PLN

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 (200-250 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, 12 617 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

Subscription terms

Subscription rates:
Cost of special issue: 100 PLN
Payment should be made to:
Polish Society for Biomaterials
30/A3, Mickiewicz Av.
30-059 Cracow, Poland
Bank Śląski S.A. O/Krakow
account no. 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001

*XXIV Conference on
BIOMATERIALS
IN MEDICINE
AND
VETERINARY
MEDICINE*

*9-12 October 2014
Hotel "Perła Południa"
Rybro, Poland*

www.biomat.agh.edu.pl



PAN
POLSKA AKADEMIA NAUK



SPIS TREŚCI

IN VITRO BIOCOMPATIBILITY OF MULTIWALLED CARBON NANOTUBES WITH SENSORY NEURONS	1
K.M.GLADWIN, R.L.D.WHITBY, S.V.MIKHALOVSKY, P.TOMLINS, J.ADU	
SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF NOVEL CHITOSAN NANOCOMPOSITE HYDROGELS FOR DRUG DELIVERY AND BONE TISSUE ENGINEERING	1
K.PAZDAN, K.PIELICHOWSKA, J.CHŁOPEK	
MECHANICAL AND TRIBOLOGICAL PROPERTIES OF A-C:H/Ti COATINGS DOPED BY SILVER USING ION IMPLANTATION AND MAGNETRON SPUTTERING METHODS	2
W.SZYMANSKI, L.KOLODZIEJCZYK, D.BATORY, M.CZERNIAK-RECZULSKA, D.BOCIAGA, B.RAJCHEL	
THE RESEARCH OF GLASS-CERAMICS IMPLANTS USED FOR BONE PITCHES TO EXAMINE BACTERIA ADHESION OCCURRING IN HUMAN BODY	3
B.ŚWIECZKO-ŻUREK	
ELECTROCHEMICAL OXIDATION AND CORROSION RESISTANCE OF THE Ti13Nb13Zr ALLOY	4
A.OSSOWSKA, A.ZIELIŃSKI, M.SUPERNAK	
EFFECTS OF THE PREHEATING LASER TREATMENT ON MICROSTRUCTURE AND CORROSION RESISTANCE OF Ti6Al4V BIOALLOY	6
M.JAŻDŻEWSKA, A.ZIELIŃSKI, I.SKALSKI, B.MAJKOWSKA	
DLC COATING DOPED BY SPECIFIED ELEMENTS AS A BIOMATERIAL DESIGNED FOR INDIVIDUAL PATIENT NEEDS	8
D.BOCIĄGA, W.SZYMAŃSKI, W.JAKUBOWSKI, P.KOMOROWSKI, P.NIEDZIELSKI	
HYDROKSYAPATYT MODYFIKOWANY JONAMI SELENIANOWYMI (IV) – NOWY MATERIAŁ O POTENCJALNYM ZNACZENIU BIOMEDYCZNYM	10
J.KOLMAS, E.OLĘDZKA, M.SOBCZAK, G.NAŁĘCZ-JAWECKI	
KOMPOZYTY NA OSNOWIE TYTANU I STOPU TYTANU Ti-6Al-4V Z DODATKIEM FAZY HAp DO ZASTOSOWAŃ W MEDYCYNIE OTRZYMYWANE METODĄ METALURGII PROSZKÓW	12
M.KLIMAS, A.DUDEK, J.KLIMAS	
STOP MAGNEZU AZ91 Z NANIESIONĄ PLAZMOWO POWŁOKĄ HAp	16
J.KLIMAS, A.DUDEK, M.KLIMAS	

CONTENTS

IN VITRO BIOCOMPATIBILITY OF MULTIWALLED CARBON NANOTUBES WITH SENSORY NEURONS	1
K.M.GLADWIN, R.L.D.WHITBY, S.V.MIKHALOVSKY, P.TOMLINS, J.ADU	
SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF NOVEL CHITOSAN NANOCOMPOSITE HYDROGELS FOR DRUG DELIVERY AND BONE TISSUE ENGINEERING	1
K.PAZDAN, K.PIELICHOWSKA, J.CHŁOPEK	
MECHANICAL AND TRIBOLOGICAL PROPERTIES OF A-C:H/Ti COATINGS DOPED BY SILVER USING ION IMPLANTATION AND MAGNETRON SPUTTERING METHODS	2
W.SZYMANSKI, L.KOLODZIEJCZYK, D.BATORY, M.CZERNIAK-RECZULSKA, D.BOCIAGA, B.RAJCHEL	
THE RESEARCH OF GLASS-CERAMICS IMPLANTS USED FOR BONE PITCHES TO EXAMINE BACTERIA ADHESION OCCURRING IN HUMAN BODY	3
B.ŚWIECZKO-ŻUREK	
ELECTROCHEMICAL OXIDATION AND CORROSION RESISTANCE OF THE Ti13Nb13Zr ALLOY	4
A.OSSOWSKA, A.ZIELIŃSKI, M.SUPERNAK	
EFFECTS OF THE PREHEATING LASER TREATMENT ON MICROSTRUCTURE AND CORROSION RESISTANCE OF Ti6Al4V BIOALLOY	6
M.JAŻDŻEWSKA, A.ZIELIŃSKI, I.SKALSKI, B.MAJKOWSKA	
DLC COATING DOPED BY SPECIFIED ELEMENTS AS A BIOMATERIAL DESIGNED FOR INDIVIDUAL PATIENT NEEDS	8
D.BOCIĄGA, W.SZYMAŃSKI, W.JAKUBOWSKI, P.KOMOROWSKI, P.NIEDZIELSKI	
HYDROXYAPATITE DOPED WITH SELENITE IONS – A NEW MATERIAL FOR POTENTIAL BIOMEDICAL APPLICATIONS	10
J.KOLMAS, E.OLĘDZKA, M.SOBCZAK, G.NAŁĘCZ-JAWECKI	
COMPOSITES WITH TITANIUM AND TITANIUM ALLOY (Ti-6Al-4V) MATRIX AND HAp PHASE FOR MEDICAL APPLICATIONS OBTAINED WITH THE METHOD OF POWDER METALLURGY	12
M.KLIMAS, A.DUDEK, J.KLIMAS	
MAGNESIUM ALLOY AZ91 WITH PLASMA -DEPOSITED HAp COATING	16
J.KLIMAS, A.DUDEK, M.KLIMAS	

**ANALIZA WŁASNOŚCI UŻYTKOWYCH
KOMPOZYTÓW 316L+Al₂O₃** **19**

A.DUDEK, I.PRZERADA

**WPŁYW HIALURONIANU NA DEHYDRATACJĘ
I STRUKTURĘ WODY W HYDROŻELOWYCH
SOCZEWKACH KONTAKTOWYCH** **22**

K.KRYSZTOFIAK, D.RAJCHEL, A.SZYCZEWSKI

**WYKORZYSTANIE METODY RF PECVD DO MODY-
FIKACJI DITLENKU TYTANU JAKO NAPEŁNIACZA
FOTO-DEGRADOWALNYCH POLIMERÓW SYNTE-
TYCZNYCH STOSOWANYCH W MEDYCYNIE** **26**

A.SOBCZYK-GUZENDA, M.GAZICKI-LIPMAN, H.SZYMANOWSKI

**BAKTERIOBÓJCZE POWŁOKI DITLENKU
TYTANU Z DODATKIEM ŻELAZA** **30**

A.SOBCZYK-GUZENDA, H.SZYMANOWSKI, S.OWCZAREK,
M.KAWCZYŃSKI, M.GAZICKI-LIPMAN

**DEGRADACJA RUSZTOWAŃ KOLAGENOWYCH
W WARUNKACH IN VITRO** **34**

J.KOZŁOWSKA, A.SIONKOWSKA, A.BAJEK, A.RYMKIEWICZ

**WIELOWARSTWOWA UNIWERSALNA POWŁOKA
OCHRONNO-TERAPEUTYCZNA NA IMPLANTY
– KONTROLOWANE UWALNIANIE LEKU
Z PARYLENU C MODYFIKOWANEGO PLAZMĄ
TLENOWĄ** **36**

M.GOŁDA, K.GĘBAROWSKA, M.MUSIAŁ-KULIK, J.KASPERCZYK,
A.KOTARBA

**POWIERZCHNIOWA MODYFIKACJA STOPU
TYTANU Z ZASTOSOWANIEM ELEKTRO-
LITYCZNO-PLAZMOWEGO UTLENIANIA** **40**

J.KARBOWNICZEK, M.BUZGO, F.MUHAFTEL,
A.CZYRSKA-FILEMONOWICZ

**WPŁYW CYKLICZNEGO ZAMRAŻANIA
I ROZMRAŻANIA NA WŁAŚCIWOŚCI
MATERIAŁÓW KOLAGENOWYCH** **43**

J.SKOPINSKA-WISNIEWSKA, A.SIONKOWSKA, A.BAJEK,
A.BACZIS-MACIKOWSKA

**ZOL-ŻELOWE RUSZTOWANIA BIOKOMPOZY-
TOWE DLA REGENERACJI TKANKI KOSTNEJ** **46**

M.BAŁTRUKIEWICZ, Ł.JOHN, P.SOBOTA

**REGENERACJA TKANKI CHRZĘSTNEJ SZCZURA
Z UŻYCIEM ŻELU KOLAGENOWE-GO I MEZENCHY-
MALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH SZPIKU
KOSTNEGO, WSTĘPNE BADANIA IN VIVO** **49**

A.BAJEK, J.SKUPIŃSKA-WIŚNIEWSKA, A.RYMKIEWICZ,
A.JUNDZIŁŁ, M.NOWACKI, T.DREWA

**WŁAŚCIWOŚCI ANTYKOROZYJNE POWŁOKI
TiO₂ OTRZYMYWANEJ METODĄ ZOL-ŻEL
W ZALEŻNOŚCI OD PH ŚRODOWISKA
I OBECNOŚCI BIAŁKA OSOCZA KRWI** **50**

B.BURNAT, T.BŁASZCZYK, A.LENIART

**NOWE BIODEGRADOWALNE PIERŚCIENIE
DO ZESPALANIA JELITA GRUBEGO** **56**

R.DROP, S.MAZURKIEWICZ, B.SZARANIEC, Z.WOŹNY, K.GRYŃ,
R.CYGAN

**ANALYSIS OF FUNCTIONAL PROPERTIES
OF COMPOSITES 316L+Al₂O₃** **19**

A.DUDEK, I.PRZERADA

**EFFECT OF HYALURONAN ON DEHYDRATION
AND WATER PROPERTIES OF CONTACT LENS** **22**

K.KRYSZTOFIAK, D.RAJCHEL, A.SZYCZEWSKI

**RF PECVD MODIFICATION OF TITANIUM
DIOXIDE FILLER OF PHOTO-DEGRADABLE
SYNTHETIC POLYMERS USED FOR MEDICAL
PURPOSES** **26**

A.SOBCZYK-GUZENDA, M.GAZICKI-LIPMAN, H.SZYMANOWSKI

**IRON CONTAINING BACTERICIDAL TITANIUM
DIOXIDE COATINGS** **30**

A.SOBCZYK-GUZENDA, H.SZYMANOWSKI, S.OWCZAREK,
M.KAWCZYŃSKI, M.GAZICKI-LIPMAN

**IN VITRO DEGRADATION OF COLLAGEN
SCAFFOLDS** **34**

J.KOZŁOWSKA, A.SIONKOWSKA, A.BAJEK, A.RYMKIEWICZ

**MULTILAYER VERSATILE PROTECTIVE
AND THERAPEUTIC COATING FOR IMPLANTS-
CONTROLLED DRUG DELIVERY FROM OXYGEN
PLASMA TREATED PARYLENE-C** **36**

M.GOŁDA, K.GĘBAROWSKA, M.MUSIAŁ-KULIK, J.KASPERCZYK,
A.KOTARBA

**SURFACE MODIFICATION OF TITANIUM ALLOY
BY MICRO-ARC OXIDATION** **40**

J.KARBOWNICZEK, M.BUZGO, F.MUHAFTEL,
A.CZYRSKA-FILEMONOWICZ

**FREEZE-THAWING PROCESSING
OF COLLAGEN** **43**

J.SKOPINSKA-WISNIEWSKA, A.SIONKOWSKA, A.BAJEK,
A.BACZIS-MACIKOWSKA

**SOL-GEL DERIVED BIOCOMPOSITE SCAFFOLDS
FOR BONE TISSUE REGENERATION** **46**

M.BAŁTRUKIEWICZ, Ł.JOHN, P.SOBOTA

**RAT CARTILAGE REPAIR USING COLLAGEN
GEL AND BONE MARROW MESENCHYMAL
STEM CELLS, THE IN VIVO PRELIMINARY STUDY** **49**

A.BAJEK, J.SKUPIŃSKA-WIŚNIEWSKA, A.RYMKIEWICZ,
A.JUNDZIŁŁ, M.NOWACKI, T.DREWA

**ANTICORROSION PROPERTIES OF TiO₂ SOL-GEL
COATING IN RELATION TO PH OF SOLUTION
AND PRESENCE OF SERUM PROTEIN** **50**

B.BURNAT, T.BŁASZCZYK, A.LENIART

**NEW BIODEGRADABLE RINGS FOR LARGE
INTESTINE INTEGRATION** **56**

R.DROP, S.MAZURKIEWICZ, B.SZARANIEC, Z.WOŹNY, K.GRYŃ,
R.CYGAN

**ANTYKOROZYJNA WARSTWA TiN/TiO₂ DLA
OCHRONY POWIERZCHNI STOPU NiTi
WYKAZUJĄCEGO EFEKT PAMIĘCI KSZTAŁTU** 58
T.GORYCZKA, B.ŁOSIEWICZ, J.LEŁĄTKO, T.WIERZCHOŃ

**WYZNACZANIE WŁAŚCIWOŚCI MECHANI-
CZNYCH WYBRANYCH KOMPOZYTÓW MIKRO-
HYBRYDOWYCH W TEŚCIE TRÓJPUNKTOWEGO
ZGINANIA** 61
J.FILIPIAK, M.JAMKA-KASPRZYK, A.NIKODEM

**WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE I TRIBOLO-
GICZNE CIECZY SYNOWIALNEJ** 64
J.MYSTKOWSKA, M.KARPIŃSKI, M.KLEKOTKA,
J.POPKO, J.R.DĄBROWSKI

**VERIFICATION OF BIOLOGICAL PROPERTIES
OF POLY-ε-CAPROLACTON (PCL)
AS THE MATERIAL DEDICATED TO MEDICINE
AND BIOTECHNOLOGY** 66
J.WIECZOREK, I.GRAD, E.STODOLAK-ZYCH, Y.KOSENİYUK

**CORRELATION OF COMPOSITION
AND STRUCTURE OF SHARK TEETH** 68
O.PRYMAK, J.ENAX, H.FABRITIUS, D.RAABE, M.EPPLE

**IN VITRO BIOCOMPATIBILITY STUDY
OF BIODEGRADABLE HYBRID COMPOSITES
BASED ON POLYLACTIDENANOFIBRES AND
CALCIUM ALGINATE NANOCOMPOSITE FIBRES** 69
E.MENASZEK, G.SZPARAGA, P.KRÓL, E.STODOLAK-ZYCH, M.BOGUŃ

**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION
OF NOVEL CALCIUM PHOSPHATES/POLY-
URETHANE COMPOSITES FOR BONE
TISSUE ENGINEERING** 71
P.SZCZEPAŃCZYK, J.CHŁOPEK, K.PIELICHOWSKA

**BIOACTIVITY ASSESSMENT OF CERAMIC
NANOPARTICLES USED AS A FILLER
IN NANOCOMPOSITE MATERIALS** 73
K.GĘGOTEK, Ł.ZYCH, E.STODOLAK-ZYCH

**ADHESION, GROWTH AND DIFFERENTIATION
OF HUMAN OSTEOBLAST-LIKE CELLS
ON THERMALLY OXIDIZED Ti AND TiNb
SUBSTRATES** 75
L.BACA KOVA, M.VANDROVCOVA, I.JIRKA, K.NOVO TNA, V.STARY

**IMPROVED ADHESION AND GROWTH
OF OSTEOBLAST-LIKE MG-63 CELLS
IN CULTURES ON TITANIUM MODIFIED
BY GOLD PARTICLES** 77
MARTIN PARIZEK, TOMAS BASE, MARTIN HRUBY,
VERA LISA, LUCIE BACA KOVA

**ANTICORROSION TiN/TiO₂ LAYER
FOR SURFACE PROTECTION
OF NiTi SHAPE MEMORY ALLOY** 58
T.GORYCZKA, B.ŁOSIEWICZ, J.LEŁĄTKO, T.WIERZCHOŃ

**DETERMINATION OF THE MECHANICAL
PROPERTIES OF SELECTED MICRO-HYBRID
COMPOSITES IN THREE-POINT BENDING TEST** 61
J.FILIPIAK, M.JAMKA-KASPRZYK, A.NIKODEM

**RHEOLOGICAL AND TRIBOLOGICAL
PROPERTIES OF SYNOWIAL FLUIDS** 64
J.MYSTKOWSKA, M.KARPIŃSKI, M.KLEKOTKA,
J.POPKO, J.R.DĄBROWSKI

**VERIFICATION OF BIOLOGICAL PROPERTIES
OF POLY-ε-CAPROLACTON (PCL)
AS THE MATERIAL DEDICATED TO MEDICINE
AND BIOTECHNOLOGY** 66
J.WIECZOREK, I.GRAD, E.STODOLAK-ZYCH, Y.KOSENİYUK

**CORRELATION OF COMPOSITION
AND STRUCTURE OF SHARK TEETH** 68
O.PRYMAK, J.ENAX, H.FABRITIUS, D.RAABE, M.EPPLE

**IN VITRO BIOCOMPATIBILITY STUDY
OF BIODEGRADABLE HYBRID COMPOSITES
BASED ON POLYLACTIDENANOFIBRES AND
CALCIUM ALGINATE NANOCOMPOSITE FIBRES** 69
E.MENASZEK, G.SZPARAGA, P.KRÓL, E.STODOLAK-ZYCH, M.BOGUŃ

**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION
OF NOVEL CALCIUM PHOSPHATES/POLY-
URETHANE COMPOSITES FOR BONE
TISSUE ENGINEERING** 71
P.SZCZEPAŃCZYK, J.CHŁOPEK, K.PIELICHOWSKA

**BIOACTIVITY ASSESSMENT OF CERAMIC
NANOPARTICLES USED AS A FILLER
IN NANOCOMPOSITE MATERIALS** 73
K.GĘGOTEK, Ł.ZYCH, E.STODOLAK-ZYCH

**ADHESION, GROWTH AND DIFFERENTIATION
OF HUMAN OSTEOBLAST-LIKE CELLS
ON THERMALLY OXIDIZED Ti AND TiNb
SUBSTRATES** 75
L.BACA KOVA, M.VANDROVCOVA, I.JIRKA, K.NOVO TNA, V.STARY

**IMPROVED ADHESION AND GROWTH
OF OSTEOBLAST-LIKE MG-63 CELLS
IN CULTURES ON TITANIUM MODIFIED
BY GOLD PARTICLES** 77
MARTIN PARIZEK, TOMAS BASE, MARTIN HRUBY,
VERA LISA, LUCIE BACA KOVA

IN VITRO BIOCOMPATIBILITY OF MULTIWALLED CARBON NANOTUBES WITH SENSORY NEURONS

KAREN M. GLADWIN, RAYMOND L.D. WHITBY,
SERGEY V. MIKHALOVSKY, PAUL TOMLINS, JIMI ADU

Abstract

Multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs) possess unique properties rendering them a potentially useful biomaterial for neurobiological applications such as providing nanoscale contact-guidance cues for directing axon growth within peripheral nerve repair scaffolds. The *in vitro* biocompatibility of MWCNTs with postnatal mouse spinal sensory neurons was assessed for this application. Cell culture medium conditioned with MWCNTs was not significantly toxic to dissociated cultures of postnatal mouse dorsal root ganglia (DRG) neurons. However, exposure of DRG neurons to MWCNTs dispersed in culture medium resulted in a time- and dose-dependent reduction in neuronal viability. At $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, dispersed MWCNTs caused significant neuronal death and unusual neurite morphologies illustrated by immunofluorescent labelling of the cytoskeletal protein beta (III) tubulin, however, at a dose of $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ MWCNTs were nontoxic over a 14-day period. DRG neurons grown on fabricated MWCNT substrates produced neurite outgrowths with abnormal morphologies that were significantly inferior in length to neurons grown on the control substrate laminin. This evidence demonstrates that to be utilized as a biomaterial in tissue scaffolds for nerve repair, MWCNTs will require robust surface modification to enhance biocompatibility and growth promoting properties.

[*Engineering of Biomaterials*, 122-123, (2013), 1]

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF NOVEL CHITOSAN NANOCOMPOSITE HYDROGELS FOR DRUG DELIVERY AND BONE TISSUE ENGINEERING

KRZYSZTOF PAZDAN, KINGA PIELICHOWSKA, JAN CHŁOPEK

AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS
30 MICKIEWICZA AV. 30-059 KRAKÓW, POLAND

Abstract

Biodegradable materials for drug delivery and bone tissue engineering are currently intensively developing and improving, but there are still a lot of problems to solve related with bioactivity, biocompatibility, release profile etc.

Osteosarcoma is an aggressive malignant neoplasm arising from primitive transformed cells of mesenchymal origin that exhibit osteoblastic differentiation and produce malignant osteoid. It is the most common

histological form of primary bone cancer [1,2]. Treatment is most destinations and made up for: intensive multidrug short induction chemotherapy, amputation or tumor resection within the limits of normal tissue and in the last phase again chemotherapy. This kind of neoplasm is most recently detected in young male till 25 age, therefore improving methods of treatment is so important.

Chitosan is a natural-based polymer obtained by alkaline deacetylation of chitin received from powdered shrimp shells was purchased from Acros Organics.

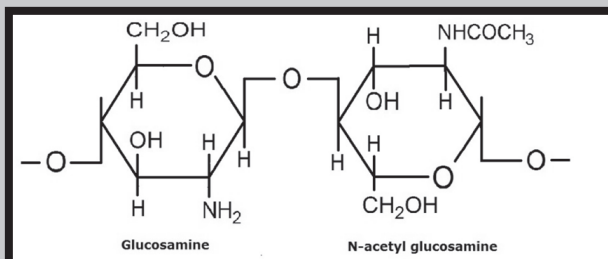


FIG.1. Chemical structure of chitosan

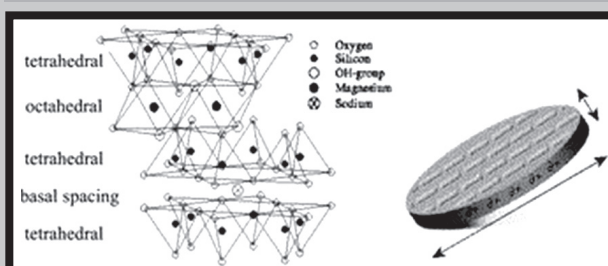


FIG.2. Structure of Laponite plate.

Acknowledgements for reproduction of RSC material in RSC publications.

Its main advantages are non-toxic, non-immunogenic, non-carcinogenic degradation products, biocompatible, bioactive and biodegradable. These properties cause chitosan a very good candidate for novel hydrogel drug delivery systems. Chitosan easily forms hydrogel particles and entraps biomolecules through a number of mechanisms, including chemical crosslinking, ionic crosslinking, and ionic complexation [3,4]. A possible alternative of chitosan by the chemical modification also has been useful for the association of bioactive molecules to polymer and controlling the drug release profile. There are few methods of modification, or example.: copolymerization, grafting, chemical and ionic crosslinking, polyelectrolyte complexes, etc [5]. Previous studies demonstrated that chitosan could promote the proliferation and osteogenesis but only with moderate swelling ratio of composite, too high ability of entrapment water solutions are not recommended. There are a lot of advantages in chitosan properties that can be used in research work to obtain the material of the best expected properties.

Laponite® (LA) is a plate-like synthetic clay hectorite-type belongs to a family of phyllosilicates type 2:1 [6]. Its structure represent empirical formula: $\text{Na}^{0.7+}[\text{Si}_8\text{Mg}_{5.5}\text{Li}_{0.3}\text{O}_{20}(\text{OH})_4]^{0.7-}$. The plates size is about 25 nm x 0,92 nm.

LA has a large surface area, anionic surface charges and exchangeable Na^+ cations in hydrated interlayers. Presence of sodium cations causes better adsorption properties for cationic drug molecules. Moreover, the exfoliated LA particles may act as multifunctional crosslinkers in forming the nanocomposite hydrogels, and the polymer chains were anchored to the particles and entangled to form a network [7]. Used synthetic clay has got the same type structure and but better sorption properties to montmorillonite but it has got serious advantage - as a synthetic compound shows low heavy metal content.

The initial results indicate that the incorporation of clay improved the swelling behavior in contrast to the pure chitosan beads. There also had been revealed significant disproportion of viscosity received hydrogels according to different type of LA or different concentration. Increasing content causes telling rise of viscosity, especially reported in higher content of used crosslinker.

The aim of research is to develop a bioactive system biopolymer/layered silicate intelligent nanocomposite based on chitosan and synthetic clay by a cross-linking reaction using sodium tripolyphosphate as the gel factor. The resultant composite were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy, scanning electronic microscope and X-ray diffraction analysis. The bioactivity in physiological pH solution (SBF pH=7.40) [8], drug encapsulation efficiency and controlled release behaviour were also investigated by using the model drug to reveal the effects of introduced LA.

[Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 1-2]

Acknowledgements

Research funded under statutory researches 11.11.160.256.

References

- [1] Zheng M., Han B., Yang Y., Liu W.: Synthesis, characterization and biological safety of O-carboxymethyl chitosan used to treat Sarcoma 180 tumor. Carbohydrate Polymers 86 (2011) 231-238
- [2] Lewandowska-Szumiel M., Komender, J., Chlopek, J.: Interaction between carbon composites and bone after intrabone implantation. Journal of Biomedical Materials Research 48/3 (1999) 289-296
- [3] Pielichowska K., Błażewicz S., Bioactive polymer/hydroxyapatite (nano)composites for bone tissue regeneration. Advances in Polymer Science 2010, 232, 97-207.
- [4] Ta H.T., Dass C.R., Dunstan D.E.: Injectable chitosan hydrogels for localised cancer therapy. Journal of Controlled Release 126 (2008) 205-216
- [5] TGiri T.K., Thakur A., Alexander A., Ajazuddin, Badwaik H., Tripathi D.K.: Modified chitosan hydrogels as drug delivery and tissue engineering systems: present status and applications. Acta Pharmaceutica Sinica B 2/5 (2012) 439-449
- [6] <http://www.laponite.com> (10.07.2013)
- [7] Yang H., Hua S., Wenbo Wang W., Wang A.: Composite Hydrogel Beads Based on Chitosan and Laponite: Preparation, Swelling, and Drug Release Behaviour. Iranian Polymer Journal 20/6 (2011) 479-490
- [8] Kokubo T., Takadama H.: How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity. Biomaterials 27 (2006) 2907-2915 Manufacturing Engineering 17 (2006) 423-426.

MECHANICAL AND TRIBOLOGICAL PROPERTIES OF A-C:H/TI COATINGS DOPED BY SILVER USING ION IMPLANTATION AND MAGNETRON SPUTTERING METHODS

W.SZYMANSKI¹, L.KOŁODZIEJCZYK¹, D.BATORY¹,
M.CZERNIAK-RECZULSKA¹, D.BOCIAGA¹, B.RAJCHEL²

¹LODZ UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING,
1/15 STEFANOWSKI ST., 90-924 LODZ, POLAND.

²INSTITUTE OF NUCLEAR PHYSICS, POLISH ACADEMY OF SCIENCES,
152 RADZIKOWSKI ST., 31-342 KRAKOW, POLAND

Abstract

Due to favorable mechanical, tribological and biomedical properties the carbon coatings are of interest of many branches of the industry [1]. Growing interest in Ag doped DLC coatings is observed within the space of the last several years. Both, well known antibacterial properties [2] of silver as well as a good biocompatibility [3] of carbon coatings constitute the outstanding solution for a variety of applications, especially for medical implants.

The aim of this study was the evaluation of influence of silver onto the mechanical and tribological properties of nanocomposite DLC coatings. Carbon coatings were produced using a hybrid RF PACVD/MS method and silver ions were incorporated into carbon matrix. The processes consist of followed stages: synthesis of nanocomposite carbon (CVD) doped titanium coatings (PVD) [4] and next stage carbon (CVD) and silver deposition (PVD) or Ag ion implantation into carbon coating. Carbon layers synthesis was performed with use of the classic RF PACVD process in methane atmosphere whereas as the titanium ions source the pulsed magnetron sputtering (MS) process was applied. Second stage was performed in the same reaction chamber but the PVD process was carried out using the silver cathode. The ion implantation process was carried out with the use of silver ions with energy of 15 keV. In order to determine the influence of silver ion implantation process onto overall physiochemical properties of carbon coatings four ion doses of 2, 4, 7 and $10 \times 10^{16} \text{Ag}^+/\text{cm}^2$ were applied.

Due to application of the gradient of chemical composition of Ti-C it is possible to manufacture thick and well adherent carbon layers with a very good mechanical, tribological parameters and corrosion resistive. Application of silver as a doping material allowed modification of the mechanical and biological properties of manufactured layers depending on the silver amount (C:Ag ratio).

[Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 2]

Acknowledgements

Investigations finance within the confines of the project no ERA -NET/MNT/CARSILA/1/2010.

References

- [1] C. Donnet, Recent progress on the tribology of doped diamond-like and carbon alloy coatings: a review, Surface and Coatings Technology, 100-101 (1998) 180 - 186
- [2] J. S. Kim, E. Kuk, K. N. Yu, J. Kim, S. J. Park, H. J. Lee, S. H. Kim, Y. K. Park, Y. H. Park, C. Hwang, Y. Kim, Y. Lee, D. H. Jeong, M. Cho, Antimicrobial effects of silver nanoparticles, Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine 3(2007)95-101
- [3] S. E. Rodil, R. Olivares, H. Arzate, S. Muhla, Properties of carbon films and their biocompatibility using in-vitro tests, Diamond and Related Materials 12 (2003) 931-937
- [4] M. Cłapa, D. Batory, Improving adhesion and wear resistance of carbon coatings using Ti:C gradient layers, Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering, 1 - 2 (2007) 415-418

THE RESEARCH OF GLASS-CERAMICS IMPLANTS USED FOR BONE PITCHES TO EXAMINE BACTERIA ADHESION OCCURRING IN HUMAN BODY

BEATA ŚWIECZKO-ŻUREK

GDANSK UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING,
DEPARTMENT OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING,
11/12 G.NARUTOWICZ STR., 80-233 GDANSK, POLAND
E-MAIL: BEAZUREK@PG.GDA.PL

Abstract

Every day human body is endangered by various injuries and diseases. The consequence may be constant disability or the risk of limited ability and even death. The fractions and resections of bones threaten not only elderly people suffering from osteoporosis, but more and more frequently young people, who experience some body harms resulting from accidents or diseases. In case of complicated fractures surgical intervention and using implant is necessary. A special implant is also needed in case of the resection of bone, which has big lack of tissues and must be filled in with the material, which has all the properties typical of bone implants. The glass-ceramics implants were already used in the XXth century. They have big future before them owing to their bioactivity, as well as morphological similarity to bone tissue.

The paper deals with the research concerning the bacteria adhesion on bioactive glass-ceramics materials.

Keywords: glass-ceramics implants, bacteria, human body

Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 3-4

Introduction

Implants are used to join parts of bones or to replace the missing ones. To make the whole structure capable of working, an implant must have suitable properties. Every implant is chosen for a patient according to their age, bone structure, sex, weight and height.

Biologically best reconstruction material comes from the patient's own bone. A steady or partial transplant can be used to fill in the missing element. The acceptance of the transplant by body needs the proper blood delivery to the place of inserting implant [1]. To choose the best implant the biocompatibility and biotolerance are taken into consideration. The biotolerance and biocompatibility make the material non toxic and at the same time they don't affect immunological system. The materials designed for transplantation should be biofunctional, as well as be in agreement with the body. They shouldn't cause side effects such as formation of coagulations or allergies [1-3].

The ceramic and bio-ceramic materials provide long-lasting joining of tissue and implant. The glass-ceramic is resistant to corrosion and its degradation products are not responsible for any toxic and allergic reactions. The chemical compounds of bioceramic, especially hydroxyapatite is identical with human bones compounds. In addition to that, the hydroxyapatite bioceramic possesses similar density and friction factor [3,4].

Materials and methods

The material undergoing examination was bioactive glass-ceramic deeped in bacteria liquid for the duration of 6 months.

Implant is an alien body and it should be remembered, that in its environment may occur bacteria. For that reason all inflammation focuses should be destroyed [5]. The most frequent bacteria, which appear in human body are [6]: Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Enterococcus faecalis, Klebsiellaoxytoca, Pseudomonas aeruginosa. The examination of the behavior of microporosity glass-ceramics in bacteria environment a special liquid made of five bacteria was prepared to put the specimens in. The TABLE 1 presents the compounds of Tryptic Soy Bouillon.

TABLE 1. The compounds of the liquid

Compounds	Contents [g/l distilled water]
casein pepton	17,0
pepton S	3,0
NaCl	5,0
K ₂ HPO ₄	2,5
glucose	2,5
Bacteria [1 μl]	
Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Enterococcus faecalis, Klebsiellaoxytoca, Pseudomonasaeruginosa	

The liquid compounds enabled proper conditions for bacteria to survive.

After the duration of six months, the specimens were taken out of the bacteria liquid and their surfaces were examined with the Scanning Electron Microscope Philips XL30.

In small enlargement (44x) no changes could be observed on the surface (FIG.1).

Whereas in 250x enlargement remains of biofilm are clearly visible (FIG.2).

The material watched by means of microscope in 1000x enlargement presents a very clear design of microporosity surface containing bacteria (FIG.3).

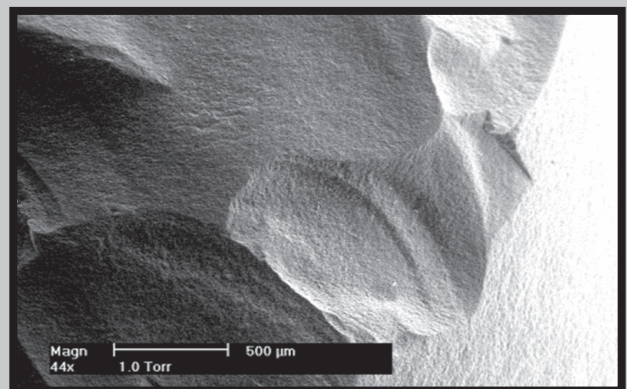


FIG.1. The view of the surface (44x)

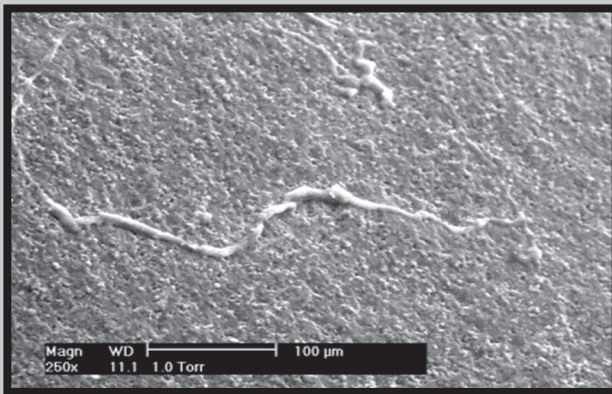


FIG.2. The view of the surface (250x)

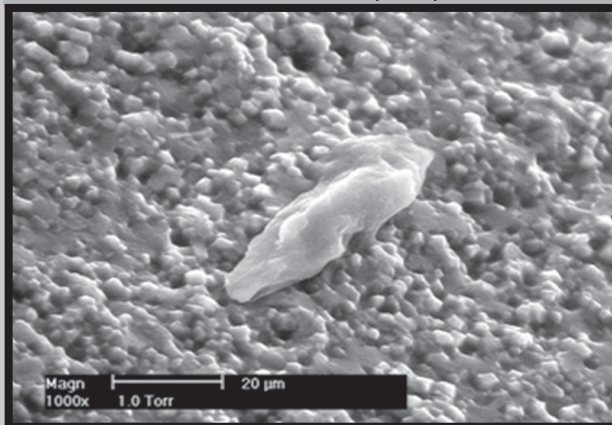


FIG.3. The view of the surface with biofilm (1000x)

Conclusions

The contemporary medicine takes interest in the materials, which have the most similar properties to natural substances. Therefore the material, which apart from bioactive properties has suitable porosity enables proper joining of tissue and implant, as well as it makes it possible to cover implants with drugs or maternal cells, which in turn allows concentration of antibiotic in the place of implantation, without affecting the whole body [7].

Biomaterials can have different impact on the body. In case of a person, who has underwent implantation, that impact may carry dangerous results for the patient's body and the success of the implantation.

After six months' stay of the specimens in bacteria liquid the biofilm could be observed on the microporosity glass-ceramics surface.

References

- [1] Błażewicz S., Stoch L., Biocybernetics and biomedical engineering 2000, T. 4 Biomaterials, EXIT Publ. House, Warszawa 2000
- [2] Jaegermann Z., Ślósarczyk A., The thickness and porosity of corundbioceramics in medical devices, AGH, Kraków 2007
- [3] Marciniak J., Biomaterials in bone surgery, Silesian University Publ. House, Gliwice, 1992
- [4] Ślósarczyk A., Zima A., Ceramics materials 2, Kraków 2002, 53-57
- [5] Davies J.E., Immediate loading: The role of the implant surface on biological stabilization, Journal of Implant and Reconstructive Dentistry, 2010
- [6] Flatau A.B., Chong K.P., Dynamic smart material and structural systems, Engineering Structures, Vol. 24, 2002, s. 261-270
- [7] Szewczyk E., Bacteriological diagnostics, Publ. I, Publishing PWN, Warszawa 2011

ELECTROCHEMICAL OXIDATION AND CORROSION RESISTANCE OF THE Ti13Nb13Zr ALLOY

AGNIESZKA OSSOWSKA*, ANDRZEJ ZIELIŃSKI, MILENA SUPERNAK

GDANSK UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING
GDANSK, 11/12 NARUTOWICZ STR., 80-952 GDANSK

* E-MAIL: AGNIESZKA.OSSOWSKA@PG.GDA.PL

Summary

This paper presents the results of oxidation and corrosion tests carried out on titanium alloy Ti13Nb13Zr. The oxide film was prepared by electrochemical environment $2\text{MH}_3\text{PO}_4$ for 30 min and 1h, at a constant voltage 40 V. The tests of corrosion resistance were performed by potentiostatic method in Ringer's solution at different pH values: 7, 5 and 3. The change in an appearance of surface and the increase in corrosion resistance even in an acidic environment is an evidence that the electrochemical treatment of the Ti13Nb13Zr alloy results in formation of dense, compact and likely amorphous oxide layer.

Keywords: titanium alloys, electrochemical oxidation, corrosion resistance

[Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 4-5]

Introduction

Titanium alloys are a group of metallic biomaterials that due to the high biocompatibility, lack of mutagenic and carcinogenic effects, good corrosion resistance and high strength/density ratio, are widely used as load-bearing implants [1-3]. Almost 40 titanium alloys proposed so far to use as the load-bearing implants but only the Ti6Al4V, Ti6Al7Nb and Ti13Zr13Nb alloys have been certified and applied [1]. An important factor in the use of titanium alloys is their long term stability in the human body. It is estimated that the average life-time of implants is not over 15 yrs., and in order to extend this period, a number of new technologies, based on modification of chemical composition of an alloy, modification of the surface layer of a base metal or application of coatings possessing superior physical, chemical and biological properties have been investigated [3,4]. Among them, the formation of titanium oxide film is the most plausible as concerns the increase in corrosion resistance, and well developed by electrochemical oxidation [5-12], and chemical, gaseous and CVD method [3]. The aim of this work was to determine the effects of anodic oxidation of the Ti13Zr13Nb alloy on corrosion resistance of the Ti13Zr13Nb alloy in neutral and acidic environments, for which such research has not been extensive and some data are lacking.

Experimental methods

The study was conducted on a two-phase titanium alloy Ti13Nb13Zr which chemical composition is shown in FIG.1.

The specimens of dimensions 15x10x2 mm were cut from the metal sheet. Then the specimens were polished with abrasive papers, No. 2500 as the last. After wards the specimens were cleaned in ultrasonic chamber filled in, subsequently, with acetone, isopropanol and distilled water. The oxidation was performed electrochemically in $2\text{MH}_3\text{PO}_4$ in an acidic environment. The process was carried out at 20°C , at a potential 40 V for 30 min. or 1h.

The resulting amorphous oxide layers were examined with the scanning electron microscope (JEOL JSM-7600F). The corrosion tests were carried out with potentiodynamic method in the Ringer's solution at different pH - 7, 5 and 3, obtained by adding the hydrochloric acid into solution. The potential, the rate of change of the potential 10 mV/min.

Results and discussion

FIG.1 illustrates the results of electrochemical oxidation by the view of the surface. The formation of an oxide layer on the test rate is relatively easy and confirmed even without XRD examinations by change in the colour, which may also inform about crystallinity and non-crystallinity of the alloy, and on thickness of the oxide layer.

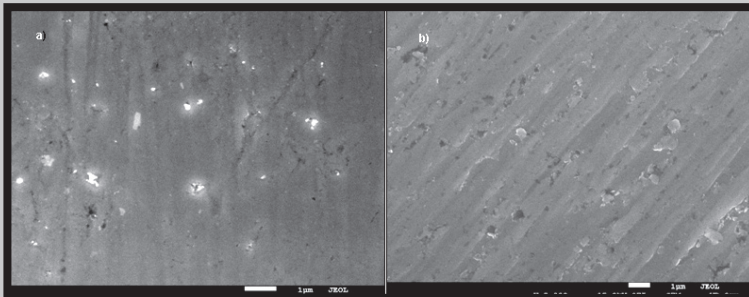


FIG.1. An image (SEM) of the surface of titanium alloy coated with the dense oxide film obtained by the electrochemical environment of $2\text{MH}_3\text{PO}_4$, 40 V, 20°C , the time of a) 30 min, b) 1h.

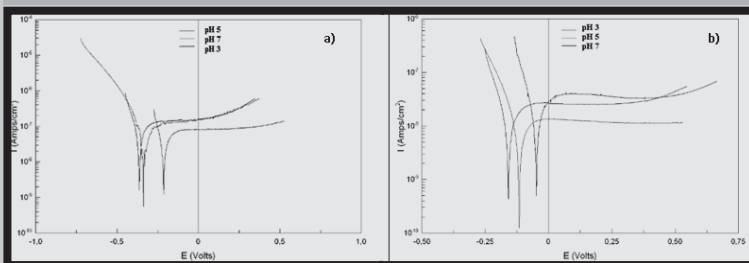


FIG.2. Studies polarization potentials at 20°C Ringer's solution at pH 3, 5 and 7, the solid sample: a) non-oxidised, b) oxidised.

The results of corrosion tests are shown in FIG.2 are shown as a number of potentiodynamic polarisation curves obtained at pH 3, 5 and 7; non-oxidised is given as a reference. The shift in polarisation curves, even at pH=3, and decrease in corrosion current are evident and prove that the electrochemical treatment has resulted in formation of more corrosion resistant oxide layers. Thus, such electrochemical behaviour may be used as a method of an increase in biocompatibility and long term stability of the Ti-based joint implants.

Conclusions

1. The electrochemical oxidation of the Ti13Zr13Nb in 2M phosphoric acid improves its corrosion resistance.
2. The improvement of corrosion resistance results very likely from an appearance of dense and compat oxide layer.

References

- [1] Zieliński A., S. Sobieszczyk, T. Seramak T., W. Serbiński, B. Świeczko-Żurek, A. Ossowska: Biocompatibility and bioactivity of load-bearing metallic implants. *Advances in Materials Science* 10, No. 4 (2010) 21-31.
- [2] Zieliński A., Sobieszczyk S., Serbiński W., Seramak T., Ossowska A.: Materials design for the titanium scaffold based implant. *Solid State Phenomena* 183 (2012), 225-232.
- [3] S. Sobieszczyk S.: The development of bioactive porous implants in titanium matrix. Publ. House Gdańsk Univ. Techn., Gdańsk 2013.
- [4] Wierchoń T. et al., Surface engineering of biomaterials in the manufacture of titanium. Publ. House Warsaw Univ. Techn., Warsaw 2004.
- [5] Kulesza E.: Evaluation of corrosion resistance of new titanium alloy obtained by powder metallurgy. *Acta Mechanica et Automatic*, vol. 5 no. 1, Oficyna wydawnicza Politechniki Białostockiej. Białystok 2011, 43-46.
- [6] Tae-Yong Park et al.: Effects of surface morphology of titanium anodic-oxidized with sulphuric acid and phosphoric acid on osteogenesis, *Clinical and Experimental Thesis* (2005), 506-517.
- [7] Yang, B. Uchida M., Kim H.M., Zhang X., Kokubo T.: Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation treatment. *Biomaterials*, 25, 1003-1010 (2004).
- [8] Krupa D., Baszkiewicz J., Kozubowski J.A., Mizera J., Barcz A., Sobczak J.W., Bilinski A., Rajchel B.: Corrosion resistance and bioactivity of titanium after surface treatment by three different methods: ion implantation, alkaline treatment, and anodic oxidation. *Anal. Bioanal. Chem.*, 381, 617-625 (2005).
- [9] Kurze P., Krysmann W., Schneider H.G.: Application fields of ANOF layers and composites. *Cryst. Res. Technol.*, 21, 1603-1609 (1986).
- [10] Ishizawa H., Ogino M.: Characterization of thin hydroxyapatite layers formed on anodic titanium oxide films containing Ca and P by hydrothermal treatment. *J. Biomed. Mater. Res.*, 29, 1071-1079 (1995).
- [11] Kasem B., Lausmaa J.: Biomaterial and implant surfaces: a surface science approach. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants*, 3, 247-259 (1988).
- [12] Sul Y.T et al.: Characteristics of surface oxides on turned and electrochemically oxidized pure titanium implants up to dielectric breakdown: oxide thickness, micropore configurations, surface roughness, crystal structure, and chemical composition. *Biomaterials*, 23, 491-501 (2002).

EFFECTS OF THE PREHEATING LASER TREATMENT ON MICROSTRUCTURE AND CORROSION RESISTANCE OF Ti6Al4V BIOALLOY

MAGDALENA JAŻDŻEWSKA^{1*}, ANDRZEJ ZIELIŃSKI¹, IGOR SKALSKI²,
BEATA MAJKOWSKA¹

¹GDAŃSK UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING
11/12 NARUTOWICZ STR., 80-952 GDAŃSK, POLAND

²SHIP DESIGN AND RESEARCH CENTRE,
65 SZCZECIŃSKA STR., 80-392 GDAŃSK, POLAND

* E-MAIL: MJAZDZEW@MECH.PG.GDA.PL

Abstract

The laser remelting of the Ti6Al4V alloy was made on specimens pre-heated at elevated temperatures. The laser treatment effected in change of microstructures of surface layers and an appearance of blisters and numerous cracks. The corrosion tests demonstrated the decrease in corrosion resistance for each preheating temperature. The observed effects were attributed to negative influence of excessive compressive stresses with no substantial relation of cracking phenomenon on pre-heating and its temperature.

Keywords: titanium alloys, laser treatment, corrosion

[*Engineering of Biomaterials*, 122-123, (2013), 6-7]

Introduction

A few works were devoted to the laser melting of Ti alloys, even if this surface treatment was extensively applied for titanium and Ti-6Al-4V and Ti-6.8Mo-4.5Fe-1.5Al alloys, using the high power CO₂ and YAG lasers, and short pulse Cr-F UV laser [1-3]. It was assumed that very short pulses of laser beam would result in substantial heating of the alloy and then in fast cooling in air in conditions corresponding to the ultrafast quenching. The relatively smooth, crack free nanocrystalline surface layer was obtained containing a significant amount of martensite.

The authors found in previous work [4] that the CO₂ laser treatment in liquid nitrogen resulted in nanocrystalline surface layer with a great number of surface cracks, on the contrary to other research. In order to avoid the cracking followed by decrease in corrosion resistance, the effect of pre-heating was investigated in presented research work.

Materials and methods

The Ti6Al4V alloy used in this study was of chemical composition shown in TABLE 1. The mechanical properties of the alloy were: yield stress 1010MPa, tensile strength 1072 MPa, relative elongation 10%. The microhardness of material reached 370-410 HV0.05. The microstructure of the cast Ti6Al4V alloy contained the α and β phases as shown in FIG.1.

TABLE 1. Chemical composition of the Ti6Al4V alloy (wt.%)

Ti	Fe	V	Al	C	O	N	B	Y	H
rest	0.16	4.05	6.40	0.01	0.185	0.005	max 0.001	max 0.001	0.0035

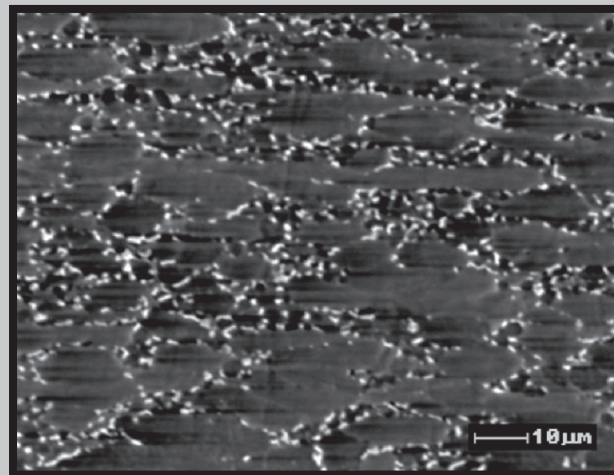


FIG.1. Microstructure of the Ti6Al4V alloy (as received)

The remelting was carried out with the THRUMPF TLF 6000 Turbo laser at the Center for Laser Treatment of Metals at the Kielce University of Technology. The laser beam dimension 1x20 mm, power input 5000 W and scanning velocity 1 m/min were used. Before laser remelting, the specimens were heated at temperature 200, 300, 400, 450, 500 and 550°C in air and after 1h heating immediately subjected to laser remelting.

The microscopic examinations were made with the scanning electron microscope JEOL on surfaces and at cross-sections of preheated and laser remelted specimens. The cross-sections were prepared after polishing the specimens with grinding papers, No.2500 as a the last. No etching was applied.

The corrosion tests the Ti-6Al-4V alloy were made by the potentiodynamic method in Ringer's solution (8.6 g NaCl, 0.3 g KCl, 0.33 g CaCl₂ in 1 dm³ water) mixed with magnetic stirrer, at 37±1°C. The Atlas 9131 Electrochemical Interface and Atlas 9121 Frequency Response Analyser were used.

Results and discussion

The surface and cross-section of the alloy after preheating at 200°C is shown in FIG.2. The behaviour of the alloy at each pre-heating temperature was similar. The very complex structures of the remelted layer were observed, similar to those obtained at liquid nitrogen. Particularly, the network of cracks appeared in all specimens. The cracks sometimes propagated across subsurface layer, sometimes stopped in deeper zones, usually finished in middle area. Blisters were also present and observed as penetrating further into the middle zone. The cracks were also similar to those observed for laser remelting at ultrafast cooling and related to very high stresses occurring during cooling after laser treatment even for The blisters may be attributed to presence in air, that may be absorbed by melted alloy.

The polarization curves obtained for the Ti6Al4V alloy in Ringer's solution after preheating at different temperatures are shown in FIG.3. The laser remelting resulted in a slight shift in polarization curves and increase in corrosion current, likely because of high compressive stresses.

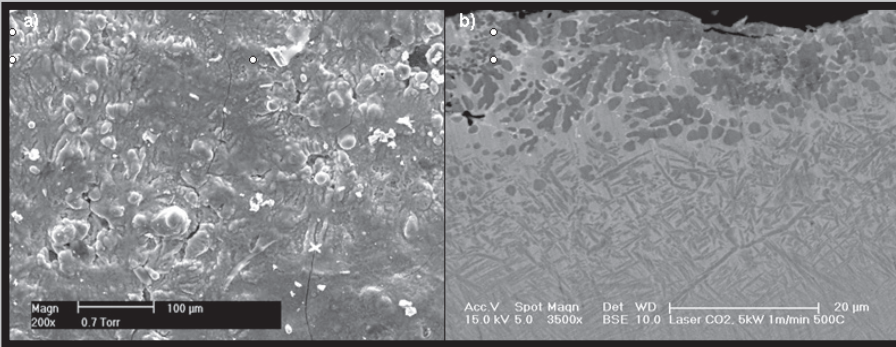


FIG.2. Microstructure of the laser remelted the Ti6Al4V alloy (200°C preheating, 5000 W power, 1 m/min scan velocity): a) surface, b) cross-section of the surface layer

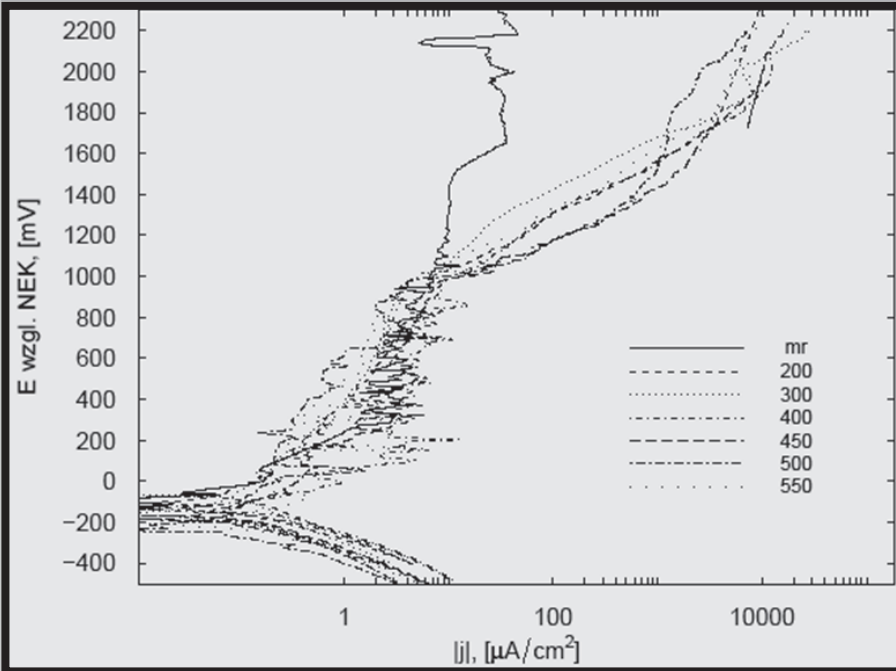


FIG.3. Potentiostatic curves of the Ti-6Al-4V alloy after laser remelting of pre-heated specimens (numbers mean temperature of the heat)

Conclusions

1. The laser remelting of the Ti6Al4V alloy with high power laser results in thick and rough surface layer. The small grain surface layer is created with appearing surface cracks and blisters.
2. The laser remelting with preheating of specimens causes the decrease in corrosion resistance of the Ti6Al4V alloy, scarcely dependent on pre-heating temperature.
3. The observed corrosion effects may be attributed to high stresses causing the formation of numerous surface cracks which may act as corrosion tunnels.
4. The remelted in any way the Ti6Al4V alloy can be used for implants in conditions of high wear but the decreasing corrosion resistance excludes such application before the surface cracks are removed by any mechanical finishing treatment

References

- [1] T.M.Yue, T.M.Cheung, H.C.Man, The effects of laser surface treatment on the corrosion properties of Ti-6Al-4V alloy in Hank's solution, *Journal Materials Science Letters* 19 (2000) 205-208.
- [2] T.M.Yue, J.K.Yu, Z.Mei, H.C.Man, Excimer laser surface treatment of Ti-6Al-4V alloy for corrosion resistance enhancement, *Materials Letters* 52 (2002) 206-212.
- [3] F.Guillemot, E.Prima et al., Ultraviolet laser surface treatment fore biomedical applications of β titanium alloys: morphological and structural characterization, *Applied Physics A* 77 (2003) 899-904.
- [4] A.Zieliński, M.Jażdżewska, A.Narożniak-Łuksza, W.Serbiński: Surface structure and properties of Ti6Al4V alloy laser melted at cryogenic conditions. *Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering* 17 (2006) 423-426.

DLC COATING DOPED BY SPECIFIED ELEMENTS AS A BIOMATERIAL DESIGNED FOR INDIVIDUAL PATIENT NEEDS

DOROTA BOCIAGA^{1A*}, WITOLD SZYMAŃSKI^{1B}, WITOLD JAKUBOWSKI^{1A}, PIOTR KOMOROWSKI^{1B,2}, PIOTR NIEDZIELSKI^{1A}

¹LODZ UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING, 1/15 STEFANOWSKI ST. 90-924 LODZ, POLAND

^ADIVISION OF BIOMEDICAL ENGINEERING AND FUNCTIONAL MATERIALS

^BDIVISION OF BIOPHYSICS

²BIONANOPARK LABORATORIES OF LODZ REGIONAL PARK OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, LODZ, POLAND

* E-MAIL: DOROTA.BOCIAGA1@GMAIL.COM

Abstract

Currently, there are more and more new materials (nanomaterials) proposed for biological and medical applications. They are, among other things, the effect of surface modification. One of the most frequently used techniques, fairly widespread, is plasmo-chemical method of diamond-like carbon (DLC) coating fabrication. There is many alterations of them, nevertheless all are characterized by short duration of the process and its economics. The final result does not require additional finishing treatments and the required coating properties can be controlled and obtained by selecting appropriate process parameters. Good mechanical and tribological properties, high corrosion resistance and its tolerance by biological systems have been documented in the literature. However, given the very wide range of applications of biomaterials found over time that the properties of carbon coatings are not always sufficient. The research conducting by scientific centres around the world have shown, however, that surface properties can be controlled by introducing specified elements into the DLC layer. Each of these added elements causes some properties change. Taking into consideration that we are dealing with biomaterials – the materials which are used in very harsh and demanding environment of a living organism, which also have a strong intra-individual variability, the solution in the form of material designed adequately to the needs of the individual patient is even more attractive and desirable. The DLC coatings doped by silver fulfilling constitute an innovative materials for biomedical application and are the subject of our investigations.

Keywords: carbon coating, doped DLC, biomaterial, biocompatibility, implant.

Introduction

Every year, around the world about 100,000 artificial heart valves, 200,000 pacemakers and 1 million orthopedic implants are implanted. In 2010 only in England and Wales 166,000 hip and knee replacement surgeries were conducted showing the increase in comparison to 114,497 in 2009 and 109,825 in 2008 [1]. This phenomenon is due to the use of biomaterials social demand increase from 8% to 15%. The growth factors are: aging population, increased public awareness, shorter biomaterial approval process to

the market and increase of the application area. Also the fact that people, from the very beginning of their life, have lack of physical activities, for many hours a day stay in sitting position and have very bad nutritional habits.

Many hours sitting position combined with a poor diet and a strong stress factors lead to the formation of cardiovascular diseases, dysfunction of the skeletal, muscular and nervous systems. As a result of that there is the still growing demand for biomedical engineering and biotechnology products, which are designed to fight the above mentioned side effects. Also, it is necessary to remember that specific personal conditions (e.g. allergies, congenital dysfunction, etc.) or to the needs generated by aesthetic medicine (e.g. implants manufactured for plastic surgery) also affect the needs, requirements and biomaterials market demands.

The achievements of scientists in the production of synthetic biomaterials and the development of surgical techniques in the middle of the last century, are a response to the need to implant while achievements in this field broadened the possibilities of using biomaterials as implants and medical instruments. That was manifested in explosive development of biomedical engineering and medical devices. It is estimated that the healthcare market in this area is currently worth more than \$ 300 billion and is expected to grow by 20% per year [2]. According to the European Market for Orthopedic Trauma Devices the value of the European market of external and internal fixation of bone fractures by 2016 will reach nearly 600 million euros [3].

However, not all implants are "accepted" by the recipient. A dozen or so percent are rejected by the body. The reasons for this are various: bacterial infections, allergies, metallosis and others. Taking into account the good of the patient and the economic performance of global health, organizations and research centres had set very high criteria of biomaterials biocompatibility. In order to meet these requirements, scientists from all over the world are trying to improve their physico-chemical, mechanical and biotolerance, the effect of which is to minimize the risk of postoperative complications and the need for reoperation.

Materials and methods

In principle, it is known that biomaterials come into direct contact with the biological environment. They must therefore have adequate biocompatibility so as not to interfere with the physiological functions of the human body, which is very sensitive and hard on the implant forming foreign body. In addition, as for example biomaterials for hard tissue regeneration, they should not only be biologically inert to the surrounding cells, tissues and fluids of the body, but also have the appropriate mechanical properties. Items being implanted into the human body cannot release toxic and carcinogenic elements. Since the surface of the biomaterial is in direct contact with the biological environment, so that the surface properties largely determine the possibility of their use in medicine. For this reason, in most cases, modification/functionalization of the surface condition is considered as a sine qua non of good biocompatibility. One of the most effective methods to improve the surface properties is the surface layer onto the biomaterial constituting bioinert material, resistant to corrosion, with satisfactory biocompatibility.

Carbon coatings were produced using a hybrid RF PACVD/MS method and silver ions were incorporated into carbon matrix. The processes consist of followed stages: synthesis of nanocomposite carbon (CVD) doped titanium coatings (PVD) [4] and next stage carbon (CVD) and silver deposition (PVD) or Ag ion implantation into carbon coating.

The aim of this study was the evaluation of influence of silver onto the surface morphology and biological properties of nanocomposite DLC coatings. For this purpose, samples with DLC doped by Ag ions were tested in live/dead test using two cell strains: human endothelial cells (Ea.hy 926) and osteoblasts-like cells (Saos-2). For testing bactericidal activity of the coatings, an exponential growth phase of *E. coli* strain DH5 α was used as a model microorganism. In order to evaluate the surface condition and estimate its physicochemical properties in connection with biological results, the structure and morphology were investigated using scanning electron microscopy (SEM), surface characteristics were determined using atomic force microscopy (AFM) and chemical composition of coatings were tested using X-Ray photoelectron spectroscopy (XPS).

Results and discussions

The results assigned the carbon layers doped with silver as a material showing the antibacterial properties. Simultaneously, the material having come into contact with live cells of higher organisms requires high biocompatibility, i.e. insignificant for both cytotoxicity and possibly low-cell responses observed by changes in metabolism which result from contact with the surface.

Conclusions

DLC coatings being manufactured by the RF/MS RF-PACVD method modified by silver ions implantation enables to obtain biomaterial which limits the growth of bacteria and at the same time has a limited impact to the human cells.

Acknowledgments

Investigations finance within the confines of the project no ERA -NET/MNT/CARSILA/1/2010.

Authors thank to dr. Bogusław Rajchel (Institute of Nuclear Physics Polish Academy of Science) and dr. Damian Batory (Lodz University of Technology) for conducting processes of silver ions doping.

References

- [1] Registry NJ. NJR StatsOnline. NJR 2011.
- [2] Chu PK, Liu X. Preface. In: Chu PK, Liu X, editors. Biomaterials Fabrication and Processing Handbook. Florida: CRC Press, Taylor & Francis Group; 2008.
- [3] European Market for Orthopedic Trauma Devices 2010, iData Research, Inc., 2010.
- [4] M. Cłapa, D. Batory, Improving adhesion and wear resistance of carbon coatings using Ti:C gradient layers, Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering, 1 – 2 (2007) 415 – 418.

HYDROKSYAPATYT MODYFIKOWANY JONAMI SELENIANOWYMI (IV) – NOWY MATERIAŁ O POTENCJALNYM ZNACZENIU BIOMEDYCZNYM

JOANNA KOLMAS¹, EWA OŁĘDZKA¹, MARCIN SOB CZAK¹,
GRZEGORZ NAŁĘCZ-JAWECKI²

WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY,
WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY Z ODDZIAŁEM MEDYCYNY
LABORATORYJNEJ,
UL. BANACHA 1, 02-097 WARSZAWA, POLSKA

¹ KATEDRA I ZAKŁAD CHEMII NIEORGANICZNEJ I ANALITYCZNEJ

² ZAKŁAD BADANIA ŚRODOWISKA

[*Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 10-11*]

Wprowadzenie

We współczesnej inżynierii biomateriałowej stale dąży się do uzyskiwania materiałów ceramicznych o jak największej biogodności i bioaktywności oraz odpowiednich właściwościach mechanicznych i biologicznych. Powyższe cele, osiągać można poprzez wprowadzanie do struktury lub adsorpcję na powierzchni niektórych jonów czy molekuł [1]. Przykładowo, modyfikowanie hydroksyapatytu jonami węglanowymi oraz jonami magnezu poprawia biogodność materiału, z kolei dodatek jonów manganu indukuje białka- integryny uczestniczące w procesie adhezji międzykomórkowej [2,3], zaś dodatek tlenku manganu powoduje zwiększenie stabilności termicznej bioceramiki [4].

Selen od wielu lat znany jest jako czynnik antynowotworowy, jako składnik selenoprotein bierze udział w wielu procesach metabolicznych [5]. Ostatnie badania nad selenem wykazały, że jego niedobór niekorzystnie wpływa na metabolizm kości, jest jednym z czynników hamujących ich wzrost i indukujących powstawanie osteopenii [6].

Cel

Celem naszej pracy było opracowanie metody otrzymania, analiza fizykochemiczna oraz ocena toksyczności hydroksyapatytu modyfikowanego jonami SeO_3^{2-} .

Materiał i metody

Hydroksyapatyty o różnej zawartości jonów selenianowych (IV) zostały przygotowane na drodze syntezy metodą moką.

Do analizy fizykochemicznej otrzymanych materiałów wykorzystano następujące metody:

- PXRD – dyfraktometrię proszkową – ocena jednorodności fazowej oraz krystaliczności materiałów
- TEM – transmisyjną mikroskopię elektronową – ocena wielkości oraz kształtu kryształów
- Spektroskopię w średniej podczerwieni FT-IR oraz spektroskopię Ramana – badanie struktury chemicznej
- ASA – absorpcyjną spektrometrię atomową – oznaczenie zawartości selenu w badanych materiałach.

Ocenę toksyczności otrzymanych materiałów wykonano przy użyciu testu Microtox (bakterii luminescencyjnych *Vibrio fischeri*) oraz pierwotniaków *Spirostomum ambiguum* (test Spirotox).

HYDROXYAPATITE DOPED WITH SELENITE IONS – A NEW MATERIAL FOR POTENTIAL BIOMEDICAL APPLICATIONS

JOANNA KOLMAS¹, EWA OŁĘDZKA¹, MARCIN SOB CZAK¹,
GRZEGORZ NAŁĘCZ-JAWECKI²

MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW,
FACULTY OF PHARMACY WITH THE LABORATORY
MEDICINE DIVISION,

¹ BANACH STR., 02-097 WARSAW, POLAND

¹ DEPARTMENT OF INORGANIC AND ANALYTICAL CHEMISTRY,

² DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL HEALTH SCIENCES

[*Engineering of Biomaterials, 122-123 (2013), 10-11*]

Introduction

In modern bioceramics, the most important is to prepare the materials with a high bioactivity and biocompatibility and to improve their mechanical and biological properties. These objectives can be achieved by introduction of various ions and molecules into the structure and/or their adsorption on the surface. For example, modification of hydroxyapatite with carbonates CO_3^{2-} and magnesium Mg^{2+} improves biocompatibility of the material, manganese ions Mn^{2+} induce integrins – proteins taking part in cell adhesion processes and addition of manganese oxide can improve thermal properties of apatite bioceramics.

Selenium, as a component of selenoproteins, takes part in a metabolic process. It also acts to prevent cancer from developing. Recent studies suggest that selenium deficiency may result in inhibition of bone growth and may cause osteopenia disease.

Aims

The main goal of our work was the synthesis and analysis of the physicochemical properties of hydroxyapatites containing selenite ions. The toxicity of the obtained materials were also studied.

Materials and methods

Hydroxyapatites with various concentration of selenium were prepared by standard wet method. The obtained apatites were characterized using:

- powder X-ray diffractometry (PXRD) – homogeneity and crystallinity of the samples,
- transmission electron microscopy (TEM) - shape and crystal sizes,
- middle-range FT-IR and Raman spectroscopy – chemical structure analysis,
- atomic absorption spectroscopy (AAS) – selenium content.

Toxicity of the received materials were studied with Microtox test (luminescence bacterial *Vibrio fischeri*) and a protozoan assay (Spirotox test with the *Spirostomum ambiguum*).

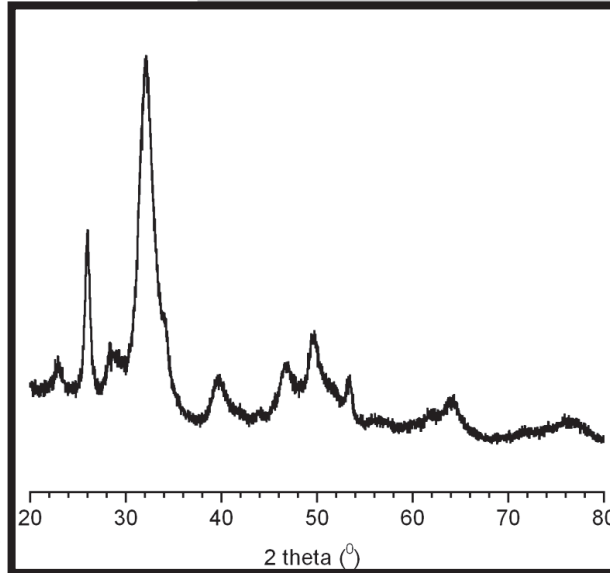
Wyniki

Otrzymane dyfraktogramy (przykład dyfraktogramu zamieszczono na RYS.1) wskazują, że uzyskany materiał jest słabokrystalicznym hydroksyapatytem. Obliczenia wykonane metodą Scherrer'a oraz uzyskane obrazy pod mikroskopem elektronowym TEM (RYS.2) pokazują, że kryształy są nanokrystaliczne i płatkowate. Oszacowane parametry komórki elementarnej a i c metodą Rietvelde jednoznacznie wskazują, że jony selenianowe (IV) zostały wbudowane do sieci krystalicznej. Z danych dotyczących rozmiarów tych jonów oraz budowy komórki elementarnej hydroksyapatytu możemy wnioskować, że jony SeO_3^{2-} zostały podstawione w miejsce jonów ortofosforanowych.

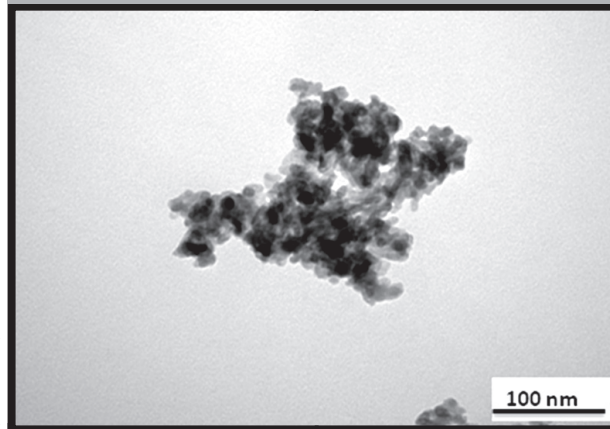
Dzięki otrzymanym widmom FT-IR oraz Ramana zostało potwierdzone wprowadzenie jonów selenianowych (IV) do sieci krystalicznej hydroksyapatytu. Dzięki metodzie FT-IR było także możliwe oszacowanie zawartości i analiza lokalizacji jonów węglanowych, występujących w materiale jako zanieczyszczenie. Zostały także obliczone indeksy krystaliczności i dojrzałości podstawionych hydroksyapatytów oraz względna zawartość kwaśnych grup ortofosforanowych HPO_4^{2-} .

Podsumowanie i wnioski

W pracy uzyskano hydroksyapatyt o różnej zawartości jonów selenianowych (IV). Z przeprowadzonych badań wynika, że materiał jest nanokrystaliczny. Jony selenianowe wbudowują się w sieć krystaliczną hydroksyapatytu. Ocena toksyczności pokazała, że hydroksyapatyt modyfikowany jonami SeO_3^{2-} może znaleźć zastosowanie praktyczne w medycynie regeneracyjnej.



RYS.1. Dyfraktogram próbki hydroksyapatytu zawierającej 6.11% wag. selenu.
FIG.1. XRD pattern of the sample containing 6.11% wt. of selenium.



RYS.2. Zdjęcie TEM próbki hydroksyapatytu zawierającej 6.11% wag. selenu.
FIG.2. TEM image of the sample containing 6.11% wt. of selenium

Results

The XRD pattern (see FIG.1) suggests that obtained hydroxyapatites are poorly crystalline. Calculation based on Scherrer's formula and TEM images (see FIG.2) proves that materials are nanocrystalline, plate-like shaped. The unit cell parameters a and c (estimated by Rietveld's method) undoubtedly shows that selenite ions were incorporated into the crystal lattice. Considering the selenites size and apatitic unit cell properties, we could assume that SeO_3^{2-} ions substitute phosphates in the crystal lattice. This hypothesis was confirmed by FT-IR and Raman spectroscopy experiments. Furthermore, we analyzed the location and concentration of carbonates (the major impurities of the obtained materials) by using FT-IR spectroscopy. We also calculated crystallinity and maturity indexes and relative acidic phosphates content.

Piśmiennictwo

- [1] Shepherd J.H., Shepherd D.V., Best S.M., Substituted hydroxyapatites for bone repair, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 23 (2012) 2335-2347.
- [2] Kolmas J., Jaklewicz A., Zima A., Bućko M., Paskiewicz Z., Lis J., Ślósarczyk A., Kolodziejki W., Incorporation of carbonate and magnesium ions into synthetic hydroxyapatite: the effect on physicochemical properties, *J. Mol. Struct.* 987 (2011) 40-50.
- [3] Paluszkiwicz Cz., Ślósarczyk A., Pijocha D., Sitarz M., Bućko M., Zima A., Chróścicka A., Lewandowska-Szumieł M., Synthesis, structural properties and thermal stability of Mn-doped hydroxyapatite, *J. Mol. Struct.* 976 (2010) 301-309.
- [4] Ramesh S., Tan C.Y., Peralta C.L., Teng W.D., The effect of manganese oxide on the sinterability of hydroxyapatite, *Sci. Technol. Adv. Mater.* 8 (2007) 257-263.
- [5] Rayman M.P., The importance of selenium to human health, *Lancet* 356 (2000) 233-241.
- [6] Moreno-Reyes R., Egrise D., Neve J., Pasteels J.-L., Schoutens A., Selenium deficiency-induced growth retardation is associated with an impaired bone metabolism and osteopenia, *J. Bone Miner. Res.* 16 (2001) 1556-1563.
- [7] Kolmas J., Oledzka E., Sobczak M., Nalecz-Jawecki G., Nanocrystalline hydroxyapatite doped with selenium oxyanions: a new materials for potential biomedical applications – under review

References

Conclusions

In our work, hydroxyapatites with various concentration of selenite have been synthesized. Our studies have shown that the received materials are nanocrystalline. The selenite ions have substituted phosphates in the crystal lattice. The preliminary toxicity results suggest that hydroxyapatite modified with SeO_3^{2-} ions could find practical application in a regenerative medicine.

KOMPOZYTY NA OSNOWIE TYTANU I STOPU TYTANU Ti-6Al-4V Z DODATKIEM FAZY HAp DO ZASTOSOWAŃ W MEDYCYNIE OTRZYMYWANE METODĄ METALURGII PROSZKÓW

MAGDALENA KLIMAS*, AGATA DUDEK, JUSTYNA KLIMAS

POLITECHNIKA CZĘSTOCHOWSKA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII PROCESOWEJ MATERIAŁOWEJ
I FIZYKI STOSOWANEJ, INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ,
AL. ARMII KRAJOWEJ 19, 42-200 CZĘSTOCHOWA, POLSKA
* E-MAIL: MAGDAKLIMAS@WIP.PCZ.PL

Streszczenie

W ramach niniejszej pracy wytworzono metodą metalurgii proszków kompozyty metaliczno-ceramiczne na osnowie tytanu i stopu tytanu Ti-6Al-4V z dodatkiem ceramiki hydroksyapatytowej.

W przeprowadzonych badaniach określono za pomocą mikroskopii optycznej oraz rentgenowskiej analizy jakościowej fazy występujące w wytworzonych materiałach, wykorzystując profilometr wyznaczono chropowatość powierzchni uzyskanych kompozytów metaliczno – ceramicznych oraz oceniono kąt zwilżania otrzymanych materiałów w obecności roztworu Ringera.

Słowa kluczowe: kompozyty, tytan, hydroksyapatyt, metalurgia proszków

[Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 12-15]

Wprowadzenie

Spośród najbardziej perspektywicznych grup biomateriałów należy wymienić tytan i jego stopy, zaliczane do biomateriałów długotrwałych [1,2]. Tytan i jego stopy charakteryzują się dobrą odpornością na korozję szczelinową, naprężeniową i ogólną w środowisku chlorków, najwyższą biotolerancją spośród wszystkich stosowanych obecnie biomateriałów metalicznych, korzystnym stosunkiem wytrzymałości na rozciąganie do granicy plastyczności, najniższym spośród biomateriałów metalicznych modułem Younga, małą gęstością [3-5]. Niestety mimo tak dobrych właściwości materiały te charakteryzują się niewystarczającą odpornością na ścieranie [6]. Dodatkowo często w wyniku zniszczenia warstewki pasywnej na powierzchni tych materiałów dochodzi do przenikania dodatków stopowych do środowiska powodując obumieranie tkanki, z którą styka się biomateriał [3,4]. W tym przypadku przydatne okazuje się wytworzenie materiałów kompozytowych z dodatkiem fazy hydroksyapatytowej mającej identyczny skład chemiczny i fazowy, co kość ludzka [3].

Materiały i metody

Materiał do badań stanowiły próbki kompozytów metaliczno-ceramicznych wykonane metodą metalurgii proszków. Wytworzono kompozyty na osnowie tytanu i stopu tytanu Ti-6Al-4V z dodatkiem 20 i 40% hydroksyapatytu ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Odpowiednie mieszaniny proszków ujednorodnione bez medium rozdrabniającego umieszczono w

COMPOSITES WITH TITANIUM AND TITANIUM ALLOY (Ti-6Al-4V) MATRIX AND HAp PHASE FOR MEDICAL APPLICATIONS OBTAINED WITH THE METHOD OF POWDER METALLURGY

MAGDALENA KLIMAS*, AGATA DUDEK, JUSTYNA KLIMAS

CZESTOCHOWA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
FACULTY OF PROCESSING AND MATERIAL ENGINEERING
AND APPLIED PHYSICS, INSTITUTE FOR MATERIAL ENGINEERING,
19 ARMII KRAJOWEJ AVE, 42-200 CZESTOCHOWA, POLAND
*E-MAIL: MAGDAKLIMAS@WIP.PCZ.PL

Abstract

The paper describes a method of powder metallurgy used for obtaining metallic-ceramic composites based on titanium and titanium alloy Ti-6Al-4V with addition of hydroxyapatite ceramics.

Optical microscopy and X-ray quality analysis allowed for determination of the phases present in the materials. The authors also used a roughness tester in order to measure surface roughness on the metallic-ceramic composites and the contact angle of the materials in the Ringer's solution.

Keywords: composites, titanium, hydroxyapatite, powder metallurgy

[Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 12-15]

Introduction

Among the most prospective groups of biomaterials are titanium and its alloys, considered as long-lasting biomaterials [1,2]. Titanium and its alloys are characterized by good resistance to crevice corrosion, stress corrosion and overall corrosion in the chloride medium as well as the highest biotolerance among all the metallic biomaterials used today, very good ratio of strength to yield point, the lowest Young's modulus among metallic biomaterials and low density [3-5]. Despite these good properties, these materials exhibit insufficient resistance to wear [6]. Furthermore, destruction of the passive layer on the surface of these materials often leads to permeating of alloying agents to the environment and causes death of living tissue in contact with the biomaterial [3,4]. In such cases, it is purposeful to use composites with addition of hydroxyapatite phase with chemical and phase composition that is identical to human bone [3].

Materials and methods

The material in the study was specimens of metallic-ceramic composites obtained by means of powder metallurgy. The composites were based on titanium and titanium alloy Ti-6Al-4V with addition of 20 and 40% of hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Specific mixtures of powders, homogenized without fragmentation medium in matrix and compacted uniaxially with the pressure of 270 MPa and then dried in the laboratory drier. The molded pieces were sintered in the vacuum medium at the pressure of 10^{-2} hPa at the temperature of 1000°C for 1 hour.

matrycy i prasowano jednostronnie pod ciśnieniem prasowania 270 MPa a następnie suszono w suszarce laboratoryjnej. Wypraski poddano procesowi spiekania w próżni o wartości 10^{-2} hPa w temperaturze 1000°C przez czas 1 godziny.

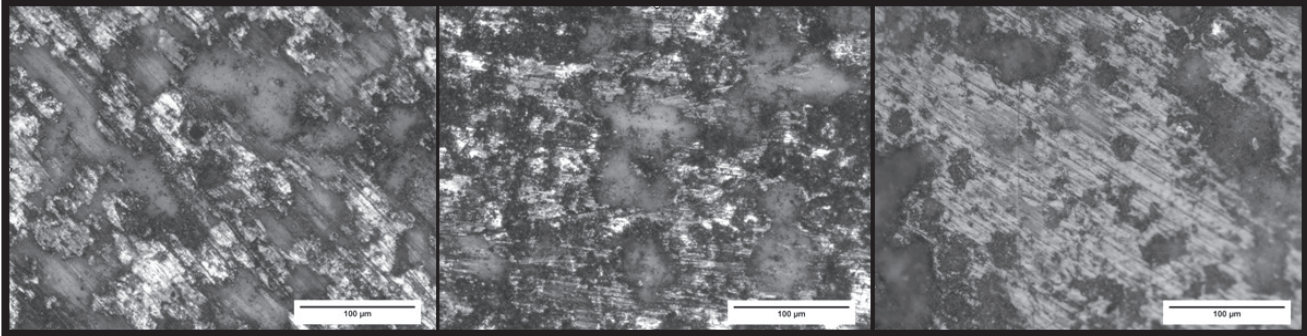
Wyniki i dyskusja

Otrzymane metodą metalurgii proszków kompozyty poddano badaniom mikrostrukturalnym stosując mikroskop optyczny Neophot 32. Otrzymane mikrostruktury przedstawiono na RYS.1.

Results and discussion

The composites obtained by means of powder metallurgy were used in microstructural examinations by means of optical microscope Neophot 32. The microstructure photographs obtained in the study are presented in FIG.1.

Observation of the structures of the composites obtained in the study revealed the presence of phases: hydroxyapatite represented by dark fields, titanium phase noticeable in the FIGs.1 and 2, represented by light fields, and the phase of titanium alloy Ti6Al4V (also light fields in the FIG.3).



RYS.1. Mikrostruktura próbki 60% Ti+40% HAp
FIG.1. Microstructure of the specimen of 60% Ti+40% HAp

RYS.2. Mikrostruktura próbki 80% Ti+20% HAp
FIG.2. Microstructure of the specimen of 80% Ti+20% HAp

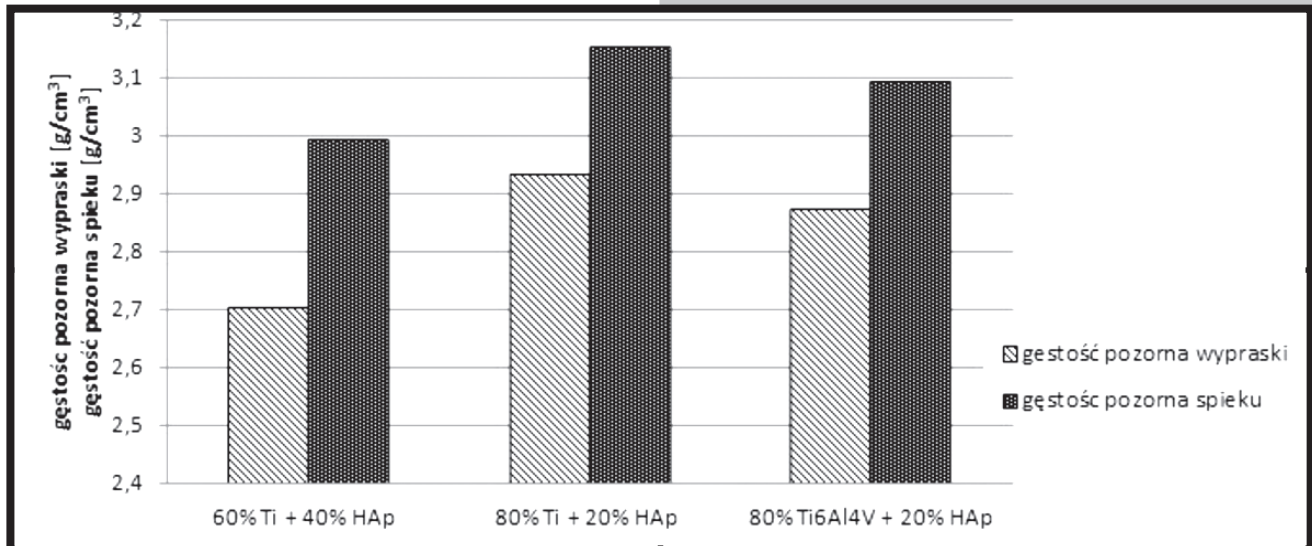
RYS.3. Mikrostruktura próbki 80% Ti6Al4V+20% HAp
FIG.3. Microstructure of the specimen of Ti6Al4V+20% HAp

W wyniku obserwacji struktur otrzymanych kompozytów ujawniono obecność faz: hydroksyapatytu widocznych na rysunkach jako pola ciemne, fazę tytanu widoczną na RYS. 1 i 2 jako pola jasne oraz fazę stopu tytanu Ti-6Al-4V widoczną na RYS.3 również jako pola jasne.

Dla kompozytów metaliczno – ceramicznych wyznaczono gęstość pozorną przed i po spiekaniu (RYS.4)

Apparent density before and after sintering was determined for metallic-ceramic composites (see FIG.4)

Regardless of the composition of the composites, apparent density of the molded pieces was in all the cases lower than apparent density of the sinters. The apparent densities determined for similar amounts of HAp added to pure titanium and titanium alloy were comparable (ca. $2,9 \text{ g/cm}^3$).



RYS.4. Gęstość pozorną kompozytów metaliczno ceramicznych przed i po spiekaniu w próżni
FIG.4. Apparent density of metallic-ceramic composites before and after sintering in vacuum

Bez względu na skład kompozytu gęstość pozorną wyprasek jest w każdym przypadku niższa od gęstości porowej spieków. Otrzymane gęstości porowe kompozytów w przypadku dodania do czystego tytanu i stopu tytanu takiej samej ilości HAp były porównywalne i wynosiły ok. $2,9 \text{ g/cm}^3$. Wzrost dodatku hydroksyapatytu do zawartości 40% spowodował spadek gęstości porowej do wartości około $2,7 \text{ g/cm}^3$.

The increase in hydroxyapatite addition up to the content of 40% caused the decrease in apparent density to the level of 2.7 g/cm^3 .

Wettability of the obtained biomaterials was evaluated by measurement of the contact angle Θ . The examinations were carried out three times for each sample and the results were averaged. The photographs of the shape of a drop of the Ringer's solution on the surface of the material was

Badania zwilżalności otrzymanych biomateriałów dokonano oceniając graniczny kąt zwilżania Θ . Badania przeprowadzono trzykrotnie dla każdej próbki a otrzymane wyniki uśredniono. Zdjęcia rozłożenia kropli roztworu Ringera na powierzchni materiału analizowano przy wykorzystaniu mikrokamery MicroCapture wyposażonej w program umożliwiający analizę zdjęciową jak również wyznaczenie wartości kąta zwilżania (RYS.5).

W materiałach na osnowie tytanu wzrost zawartości HAp powoduje zwiększenie wartości kąta zwilżania Θ , czyli spadek zwilżalności. Przy tej samej zawartości dodatku HAp większym kątem zwilżania charakteryzuje się materiał na osnowie stopu Ti-6Al-4V niż na osnowie tytanu. Kompozyt zawierający 40% HAp należy do materiałów hydrofobowych i wykazuje niski stopień wodochłonności. Natomiast zmniejszenie dodatku hydroksyapatytu do 20% powoduje, że materiał staje się hydrofilowym, staje się bardziej wodochłonny. Materiał na osnowie stopu tytanu Ti-6Al-4V wykazuje zdecydowanie niższy stopień wodochłonności (hydrofobowość) niż materiał o tej samej zawartości dodatku hydroksyapatytu lecz o osnowie tytanu.

Celem określenia parametru topografii powierzchni R_a (średnia arytmetyczna rzędnych profilu) przeprowadzono badania z wykorzystaniem profilometru Hommel T1000. Otrzymane wyniki będące średnią arytmetyczną z trzech pomiarów dla każdej próbki prezentuje TABELA 1.

Największą wartość średniego arytmetycznego odchylenia rzędnych profilu od linii średniej posiada próbka o osnowie tytanu zawierająca 40% HAp. Zmniejszenie ilości dodatku hydroksyapatytu powoduje spadek chropowatości powierzchni materiału. Zmniejszenie wartości chropowatości powierzchni próbki o osnowie stopu tytanu w porównaniu z próbką na osnowie tytanu o tej samej zawartości HAp spowodowane jest mniejszą wielkością ziaren proszku Ti-6Al-4V w porównaniu z proszkiem tytanu.

analysed by means of the MicroCapture microcamera with software for photoanalysis and determination of the contact angle (FIG.5).

The increase in the content of HAp in the materials with titanium matrix causes the increase in the value of the contact angle Θ i.e. a decline in wettability. With the same content of HAp, the greater contact angles were found in the material based on titanium alloy Ti-6Al-4V matrix compared to pure titanium matrix.

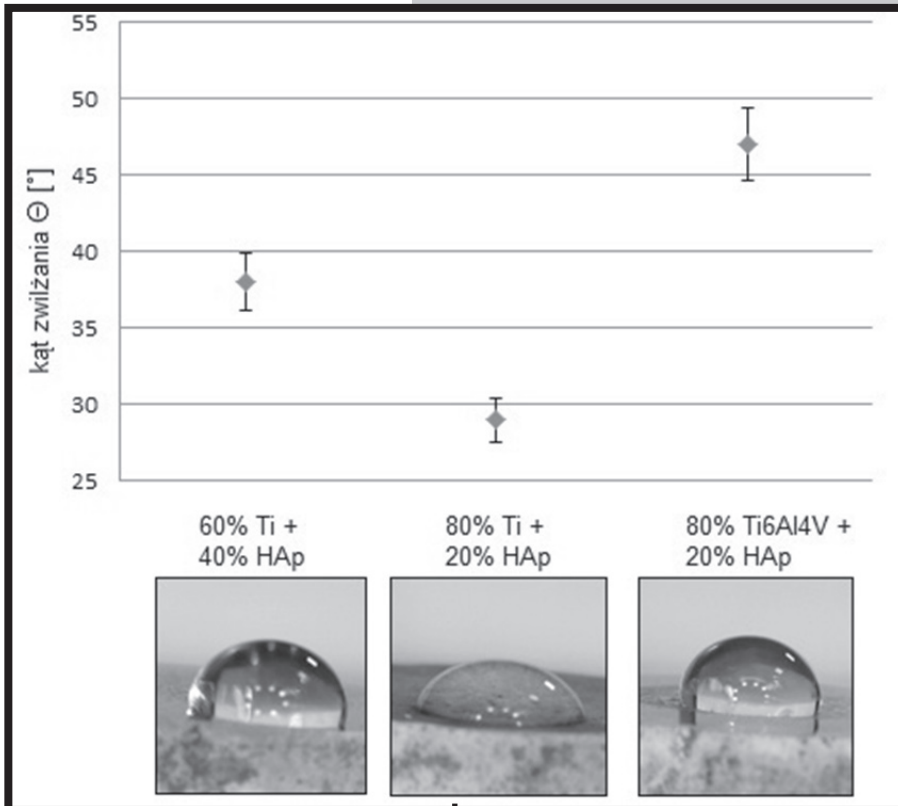
The composite with 40% HAp is hydrophobic and exhibits low level of water absorption. Reduction in the hydroxyapatite content to 20% causes that the material becomes hydrophilic and shows higher water absorption capacity. The material based on titanium alloy Ti6Al4V matrix showed substantially lower level of water absorption (hydrophobicity) compared to the material with the same content of hydroxyapatite but with titanium matrix.

hydroxyapatite but with titanium matrix.

In order to determine parameters of surface topography R_a (arithmetic mean of profile ordinates), the authors used a Hommel T1000 roughness tester. The results represented by arithmetic means from three measurements for each sample are shown in TABLE 1.

The highest value of mean arithmetic deviation of profile ordinates from the mean line was observed for the specimen

with titanium matrix containing 40% HAp. Reduction in the hydroxyapatite content caused a decline in material surface roughness. The reduction in the value of surface roughness in the specimen based on titanium alloy with regard to the sample based on titanium matrix with the same HAp content was caused by the lower size of Ti-6Al-4V power grains compared to the titanium powder.



RYS.5. Kąt zwilżania wyznaczony dla wytworzonych kompozytów
FIG.5. Contact angle of the composites obtained in the study

TABELA 1. Zestawienie parametru chropowatości R_a wytworzonych materiału
TABLE 1. Roughness parameter R_a for the material obtained

próbka / specimen	80% Ti+20% HAp	60% Ti+40% HAp	80% Ti6Al4V+20% HAp
R_a [μm]	4,30	6,44	2,99

Wnioski

Biorąc pod uwagę zastosowanie wytworzonych materiałów w medycynie wzrost parametru chropowatości jest jak najbardziej wskazany. Wraz ze wzrostem chropowatości materiału, łatwiejsze staje się namnażanie komórek na jego powierzchni. Zmieniająca się zwilżalność poszczególnych materiałów może mieć wpływ na absorpcję płynów fizjologicznych przez te materiały, co w konsekwencji może wpływać na wytrzymałość materiału w środowisku płynów fizjologicznych, jak również zapobiec powstaniu stanów zapalnych a więc wpłynąć na trwałość użytkowania danego materiału implantacyjnego.

Conclusions

With regard to application of the materials obtained in medicine, the higher values of roughness are recommended. The increase in material surface roughness causes easier overgrowth of tissues in its surface. The changing wettability of individual material can have effect on absorption of physiological fluids in these materials, which consequently might affect material strength in the environment of body fluids and prevent inflammations, thus improving durability of implantation materials.

Piśmiennictwo

- [1] Dudek A.: Kształtowanie własności użytkowych biomateriałów metalicznych i ceramicznych, Wydawnictwo Politechniki Częstochowskiej, Częstochowa 2010
 [2] Łaskawiec J., Michalik R.: Zagadnienia teoretyczne i aplikacyjne w implantach. Gliwice: Wydawnictwo Politechniki Śląskiej 2002
 [3] Klimas M., Klimas J., Dudek A.: Wpływ dodatku hydroksyapatytu na skład fazowy kompozytów wytwarzanych metodą metalurgii proszków, Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN, Wrocław, 2012

References

- [4] Klimas M., Dudek A.: Method of obtaining metallic-ceramic composites of Ti + HAp and its effect on structural properties, Engineering of Biomaterials, R.15 nr 116-117, 2012, 48-51
 [5] Bylica A., Sieniawski J.: Tytan i jego stopy. Warsaw: PWN 1985
 [6] Marciniak J.: Tworzywa metaliczne w zastosowaniach stomatologicznych. Materiały Konferencji „Biomateriały w stomatologii”, Ustroń, 1995, 77–83

STOP MAGNEZU AZ91 Z NANIESIONĄ PLAZMOWO POWŁOKĄ HAp

JUSTYNA KLIMAS*, AGATA DUDEK, MAGDALENA KLIMAS

POLITECHNIKA CZĘSTOCHOWSKA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII PROCESOWEJ MATERIAŁOWEJ
I FIZYKI STOSOWANEJ, INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ,
AL. ARMII KRAJOWEJ 19, 42-200 CZĘSTOCHOWA, POLSKA
*E-MAIL: JKlimas@wip.pcz.pl

Streszczenie

W ramach niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań stopu magnezu AZ91 z naniesioną plazmowo powłoką hydroksyapatytową.

Przeprowadzono charakterystykę stereologiczną proszku HAp. Zamieszczono analizę mikrostruktury oraz budowy naniesionej powłoki HAp. Dokonano porównania własności mechanicznych stopu magnezu i stopu z naniesioną powłoką ceramiczną.

Słowa kluczowe: biomateriały, stop magnezu, hydroksyapatyt, natryskiwanie plazmowe
[Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 16-18]

Wprowadzenie

Ciągły rozwój medycyny, inżynierii biomedycznej i materiałowej związany jest z postępowaniem w dziedzinie implantacji biomateriałów pochodzenia naturalnego jak i syntetycznego w celu wspomaganie czy odbudowy funkcji tkanek i organów [1].

Od materiałów przeznaczonych na implanty wymaga się, aby odznaczały się dużą biogodnością, nie powodowały reakcji immunologicznych, nie były toksyczne czy kancerogenne. Co więcej powinny charakteryzować się, biofunkcjonalnością, w niektórych przypadkach bioaktywnością powierzchniową, biodegradacją i bioresorpcją, a więc spełniać założone funkcje przez dany okres czasu [2].

W grupie materiałów spełniających wymienione kryteria plasuje się magnez i jego stopy, który w ostatnim czasie zyskał duże znaczenie w dziedzinie biomateriałów jako materiał biodegradowalny i bioresorbowalny, mogący znaleźć w przyszłości zastosowanie w medycynie na szerszą skalę. Produkty rozkładu magnezu i jego stopów nie wpływają toksycznie na tkanki okołowszczepowe, nie mniej jednak tempo korozji jest zbyt szybkie, aby zapewnić wystarczający czas na regenerację leczzonej tkanki. Celem zwiększenia odporności magnezu na korozję nanosi się na jego powierzchnię warstwy hydroksyapatytu, które dodatkowo podwyższają biogodność i bioaktywność implantu [1,3-5].

Materiały i metody

Materiał badawczy stanowił stop magnezu o oznaczeniu AZ91, którego skład chemiczny zamieszczono w TABELI 1.

Podłoże metaliczne poddano w pierwszym etapie piaskowaniu, a następnie naniesiono powłokę ceramiczną metodą natryskiwania plazmowego APS (Atmospheric Plasma Sprayed). Do wytworzenia powłoki wykorzystano proszek hydroksyapatytu $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, o bardzo wysokim stopniu czystości, powyżej 99% wagowych.

MAGNESIUM ALLOY AZ91 WITH PLASMA-DEPOSITED HAp COATING

JUSTYNA KLIMAS*, AGATA DUDEK, MAGDALENA KLIMAS

CZESTOCHOWA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
FACULTY OF PROCESSING AND MATERIAL ENGINEERING
AND APPLIED PHYSICS, INSTITUTE FOR MATERIAL ENGINEERING,
19 ARMII KRAJOWEJ AVE, 42-200 CZESTOCHOWA, POLAND
*E-MAIL: JKlimas@wip.pcz.pl

Abstract

This study discusses the results obtained from examinations of magnesium alloy AZ91 with plasma-deposited hydroxyapatite (HAp) coating.

Stereological characterization of HAp powder was also presented. The authors also conducted a microstructure analysis of the HAp coating. Mechanical properties of magnesium alloy and alloy with ceramic coating were compared.

Keywords: biomaterials, magnesium alloy, hydroxyapatite, plasma spraying
Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 16-18

Introduction

Continuous advances in medicine, biomedical engineering and material engineering is connected with the progress in implantation of biomaterials of natural origins of both natural and synthetic origins in order to reconstruct the function of both tissues and body organs [1].

The materials used for implants are expected to be characterized by high biocompatibility, cannot cause immune response and be toxic or carcinogenic. Moreover, they have to be characterized by biofunctionality and, in some cases, surface bioactivity, biodegradation and bioresorption and thus perform certain functions for a particular time [2].

A group of materials that perform certain criteria includes magnesium and its alloys. Magnesium has been given much attention in the field of biomaterial engineering as a biodegradable and bioresorbable material, which might be in the future used in medicine to a broader scale. Products of distribution of magnesium and its alloys do not have a toxic effect on implant tissues. However, the corrosion rate is too fast to ensure sufficient time for the damaged tissue to reconstruct. In order to increase magnesium resistance to corrosion, its surface is often added a hydroxyapatite layer, which also improves biocompatibility and bioactivity of the implant [1,3-5].

Materials and methods

The research material was composed of the magnesium alloy AZ91 with chemical composition as presented in TABLE 1.

At the first stage, the metallic base material was sanded and then a ceramic coating was deposited using the method of atmospheric plasma spraying (APS). The coating was obtained using hydroxyapatite powder $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, with very high degree of purity of over 99%wt.

The stereological examinations of the hydroxyapatite powder consisted in description of geometrical parameters of the powder particles.

TABELA 1. Skład chemiczny stopu magnezu AZ91 [6]
TABLE 1. Chemical composition of the magnesium alloy AZ91 [6].

Składnik chemiczny Chemical component	Al	Zn	Mn	Si	Fe	Cu	Ni	Mg
Procent wagowy Weight percentage	8,5	0,75	0,13	0,02	0,02	0,01	0,002	reszta

Przeprowadzono stereologiczne badania proszku hydroksyapatytu, wykonując opis parametrów geometrycznych, które charakteryzowały cząsteczki proszku.

Stop magnezu AZ91, jak również natrykiwaną powłokę poddano badaniom mikrostrukturalnym przy użyciu mikroskopu konfokalnego Olympus LEXT OLS4000.

Powierznię stopu magnezu AZ91 w stanie wyjściowym jak również z naniesioną powłoką HAp poddano badaniom twardości. Badania przeprowadzono metodą Vickersa przy obciążeniu 100g - HV 0,1 przy pomocy mikrotwardościomierza półautomatycznego FM-7 firmy FUTURE-TECH.

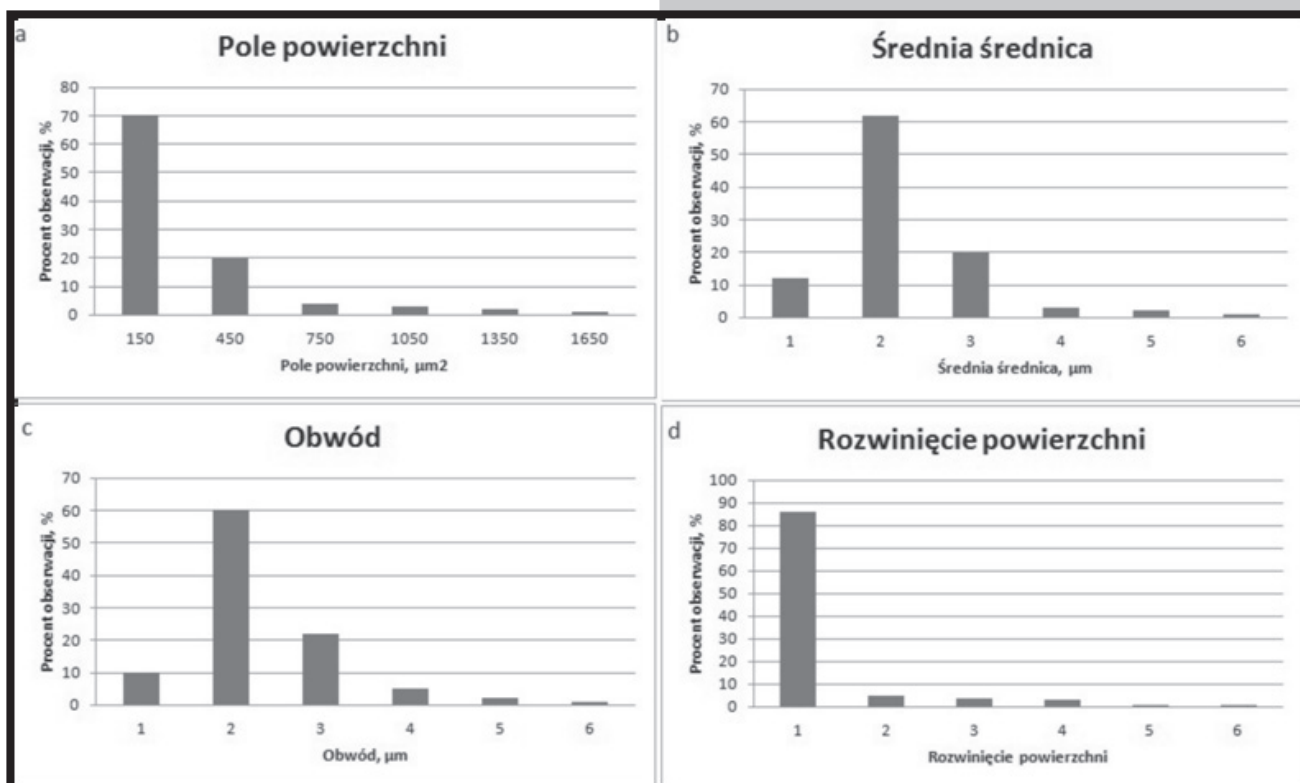
Wyniki i dyskusja

The magnesium alloy of AZ91 and the deposited coating were subjected to microstructural examinations using confocal microscope Olympus LEXT OLS4000.

Hardness was measured on the surface of the magnesium AZ91 alloy in the initial state and with the HAp layer. The examinations were carried out using the Vicker's method with the load of 100g - HV 0.1 by means of semi-automatic microhardness tester FM - 7 (FUTURE-TECH).

Results and discussion

The following parameters of HAp powder particles were analysed: surface area, perimeter, diameter, surface roughness. The results are presented in the form of histograms in FIG.1.



RYS.1. Histogramy przedstawiające: a) pole powierzchni cząstek, b) średnią średnicę, c) obwód, d) rozwinięcie powierzchni cząstek HAp
FIG.1. Histograms of (a) particle surface area, (b) mean diameter, (c) perimeter and (d) HAp particles roundness

Dokonano analizy następujących parametrów cząstek proszku HAp: pole powierzchni, obwód, średnicę, współczynnik rozwinięcia powierzchni. Wyniki w formie histogramów przedstawiono na RYS.1.

Badania stereologiczne wykazały, że ziarna proszku hydroksyapatytu mają regularny, kulisty kształt – świadczy o tym wartość rozwinięcia powierzchni ziaren bliska 1. Średnia średnica cząstek wynosi około 15 μm, pole cząstek około 240 μm², natomiast obwód około 50 μm.

Stereological examinations demonstrated that the hydroxyapatite powder grains had regular, spherical shape, which was confirmed by the roundness of nearly 1. Mean diameter of the particles was ca. 15 μm, mean surface area was 240 μm², and perimeter was 50 μm.

The microstructures obtained of the HAp layer deposited on the metallic base material and a cross-section of alloy AZ91 with the coating are presented in FIG.2 and 3.

Otrzymane mikrostruktury naniesionej powłoki HAp na podłoże metaliczne oraz przekroj poprzeczny stopu AZ91 z powłoką przedstawiono na RYS.2 i 3.

Otrzymana powłok HAp charakteryzuje się budową typową dla powłok wytwarzanych metodą natryskiwania plazmowego. Posiada ona nieregularny, falisty kształt z widoczną porowatością i laminarnością (ciemniejsze elementy w obszarze powłoki) umiejscowioną pomiędzy krzepnącymi warstwami proszku HAp. Uzyskana poprzez natryskiwanie plazmowe powłoka HAp posiada średnio grubość 160µm.

W TABELI 2 zestawiono wyniki mikrotwardości stopu magnezu AZ91 oraz powłoki hydroksyapatytowej na podłożu stopu magnezu.

Zestawione w TABELI wyniki przedstawiają zróżnicowaną mikrotwardość w przypadku stopu magnezu AZ91 i tego stopu z naniesioną powłoką hydroksyapatytową.

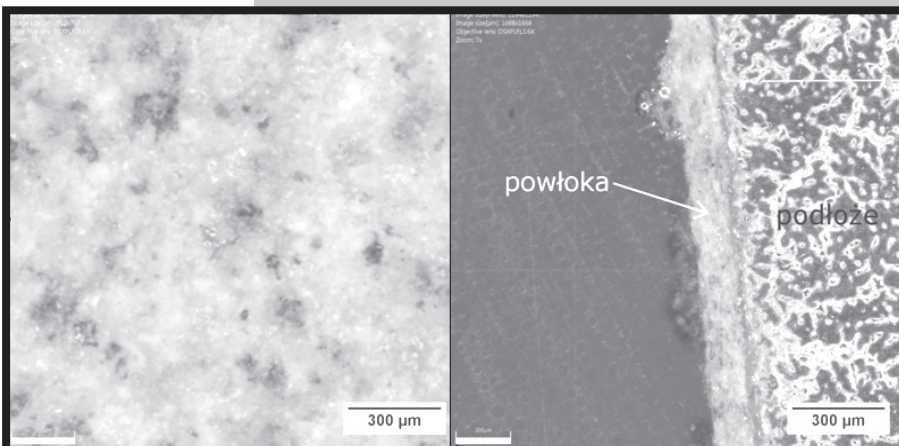
TABELA 2. Mikrotwardość stopu magnezu AZ91 oraz stopu AZ91 z powłoką HAp
TABLE 2. Microhardness of magnesium alloy AZ91 and the alloy AZ91 with HAP coating

Próbka Specimen		AZ91	Powłoka HAp HAp coating
Pomiar Measurement	I	84,1 HV0,1	165,3 HV0,1
	II	71,2 HV0,1	158,9 HV0,1
	III	80,9 HV0,1	154,2 HV0,1
Wartość średnia Mean		78,3 HV0,1	160,2 HV0,1

Wnioski

Napylenie powłoki HAp na powierzchnię stopu magnezu gwarantuje uzyskanie kompozycji o szczególnych, z punktu widzenia zastosowania w medycynie własnościach. Uzyskano powłokę o grubości 160 µm mającą na celu między innymi ograniczenie szybkości korozji stopu magnezu w środowisku ludzkich płynów ustrojowych.

Naniesienie powłoki HAp, wpływa w znaczny sposób na własności wytrzymałościowe stopu magnezu AZ91. Przeprowadzone badania mikrotwardości wykazały, że twardość stopu AZ91 w stanie wyjściowym jest dwa razy mniejsza niż naniesionej powłoki hydroksyapatytowej na podłożu stopu AZ91.



RYS. 2. Mikrostruktura powłoki HAp – mikroskop konfokalny

RYS.3. Mikrostruktura przekroju poprzecznego podłoża z naniesioną powłoką – mikroskop konfokalny

The HAp coating was characterized by the structure typical of coatings obtained using the method of plasma spraying. It had the irregular, wavy shape with noticeable porosity and laminarity (darker fields in the area of the coating) located between the solidifying layers of HAp powder. The HAp coating obtained through plasma spraying had the thickness of 160 µm on average.

TABLE 2 presents the results obtained from the measurements of microhardness of magnesium alloy AZ91 and hydroxyapatite layer based on magnesium alloy.

The results presented in the TABLE reveal varied microhardness in the case of magnesium alloy AZ91 and the alloy with deposited hydroxyapatite coating.

Conclusions

Plasma spraying of HAp coating on the surface of magnesium alloy allows for obtaining of the composition with particular, from the standpoint of application in medicine, properties. The coating with thickness of 160 µm was obtained in order to limit the corrosion rate in the magnesium alloy in the environment of human body fluids.

Deposition of the HAp coating considerably affects strength properties of the magnesium alloy AZ91. The microhardness tests demonstrated that hardness of alloy AZ91 in the initial state is twice lower than for the hydroxyapatite coating deposited on the base material (alloy AZ91).

Piśmiennictwo

- [1] Dudek A.: Kształtowanie własności użytkowych biomateriałów metalicznych i ceramicznych, Wydawnictwo Politechniki Częstochowskiej, Częstochowa 2010
- [2] Przybyszewska – Doroś I., Okrój W., Walkowiak B.: Modyfikacje powierzchni implantów metalicznych, Inżynieria Biomateriałów, 1 – 3 (2005), s. 54 –62.
- [3] Staiger M.P., Pietak A.M., Huadmai J., Dias G.: Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: a review, Biomaterials Volume: 27, Issue 9, March, 2006, pp. 1728–1734.

References

- [4] Dudek A., Malik M.A.: Characteristics of utilizable properties of magnesium alloy with the hydroxyapatite coating, Engineering of Biomaterials, Volume XV, Kraków 2012, s. 42–45.
- [5] Gu Xue–Nan, Zheng Yu–Feng: A review on magnesium alloys as biodegradable materials, Frontiers of Materials Science in China Volume: 4, Issue: 2, June 2010, pp. 111–115.
- [6] Reguła T.: Badanie wpływu obróbki cieplnej na właściwości mechaniczne odlewniczego stopu AZ91, AGH im. Stanisława Staszica, Kraków, 2007.

ANALIZA WŁASNOŚCI UŻYTKOWYCH KOMPOZYTÓW 316L+Al₂O₃

AGATA DUDEK*, IWONA PRZERADA

POLITECHNIKA CZĘSTOCHOWSKA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII PROCESOWEJ MATERIAŁOWEJ
I FIZYKI STOSOWANEJ, INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ,
AL. ARMII KRAJOWEJ 19, 42–200 CZĘSTOCHOWA, POLSKA
*E-MAIL: DUDEK@WIP.PCZ.PL

Streszczenie

Jednym ze sposobów zapewnienia odpowiednich własności użytkowych jest zastosowanie implantów kompozytowych, łączących wysokie własności wytrzymałościowe materiału metalicznego z biotolerancją materiałów ceramicznych. Celem pracy było wytworzenie oraz analiza własności kompozytów metalowo-ceramicznych wykonanych z mieszaniny proszków: stali austenitycznej (316LHD) oraz ceramicznego (Al₂O₃).

Słowa kluczowe: kompozyty metaliczno-ceramiczne

[Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 19-21]

Wprowadzenie

W implantologii wykorzystuje się stale austenityczne, stopy tytanu, metale szlachetne, ceramika korundowa i cyrkonowa. Austenityczne stale odporne na korozję stanowią grupę tworzyw metalicznych, które zostały najwcześniej przystosowane do implantowania w organizmie ludzkim. Są jednak szczególnie narażone na zniszczenie wskutek procesów korozji naprężeniowej. Jest to związane z ich najniższą, spośród wszystkich stosowanych w medycynie biomateriałów metalicznych, odpornością na korozję elektrochemiczną w środowisku płynów ustrojowych oraz niższą niż np. dla stopów tytanu, skłonnością do samopasywacji. Najczęściej stosowaną stalą jest stal chromowo-niklowo-molibdenowa typu 316L. Ze względu na ciągły rozwój techniki, wzrosło zapotrzebowanie na niekonwencjonalne materiały, które sprostałyby ciągle wzrastającym potrzebom i wymaganiom.

Niniejszy artykuł pozostaje w nurcie zagadnień związanych z otrzymaniem nowych materiałów implantacyjnych, szczególnie przeznaczonych do zastosowań w chirurgii kostnej. Nowe możliwości wytworzenia materiałów o określonych własnościach wytrzymałościowych, z jednoczesną wysoką biokompatybilnością oraz odpornością na zużycie ścieme daje wykorzystanie metalurgii proszków w aspekcie wytworzenia kompozytów metaliczno-ceramicznych.

Wprowadzenie faz ceramicznych do fazy metalicznej może stanowić rozwiązanie problemu niedociągnięć i słabości poszczególnych składowych materiałowych, pozwalając tym samym na powstanie implantów o wysokich cechach biofunkcyjnych.

Materiał do badań

Do badań wykorzystano:

- proszek ze stali austenitycznej gatunku AISI 316LHD o składzie chemicznym: 16.7%Cr, 12.3%Ni, 2.2%Mo, 0.9%Si, 0.1%Mn, 0.025%C, reszta Fe,
- proszek Al₂O₃ o czystości 99,95%.

ANALYSIS OF FUNCTIONAL PROPERTIES OF COMPOSITES 316L+Al₂O₃

AGATA DUDEK*, IWONA PRZERADA

CZĘSTOCHOWA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
FACULTY OF PROCESSING AND MATERIAL ENGINEERING
AND APPLIED PHYSICS, INSTITUTE FOR MATERIAL ENGINEERING,
19 ARMII KRAJOWEJ AVE, 42 – 200 CZESTOCHOWA POLAND
*E-MAIL: DUDEK@WIP.PCZ.PL

Abstract

One of the methods to ensure particular functional properties is to employ composite implants which combine improved mechanical properties of metallic materials and biocompatibility of ceramic materials.

The aim of this study was to develop and analyse properties of metallic/ceramic composites made of the mixture of powders: austenitic steel (316LHD) and ceramics (Al₂O₃).

Keywords: metallic-ceramic composites
[Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 19-21]

Introduction

The materials used in implantology include austenitic steels, titanium alloys, noble metals as well as corundum and zirconium ceramics. Austenitic corrosion-resistant steels represent a group of metallic materials which have been first adapted to implantation in human body. However, they are especially exposed to damage as a result of stress corrosion cracking. This fact is connected with the lowest (among all the metallic biomaterials used in medicine) resistance to electrochemical corrosion in the environment of body fluids and lower (than e.g. titanium alloys) ability of self-passivation. The most often used steel is chromium-nickel-molybdenum steel of 316L grade. Due to continuous development of technology, the demand for unconventional materials which would meet the ever-increasing needs and requirements has increased.

This paper is aimed at analysis of the problems connected with obtaining new implantation materials, particularly those used in bone surgeries. New opportunities of obtaining materials with particular strength properties and high biocompatibility and resistance to friction wear are offered by powder metallurgy in the aspect of obtaining metallic and ceramic composites.

Introduction of ceramic phases to metallic phases might represent the solution for the problem of faults and weaknesses of individual material components, thus allowing for creation of implants with high biofunctional properties [1,2].

Research materials

The following materials were used in the study:

- powder of austenitic steel grade AISI 316LHD with chemical composition of 16.7%Cr, 12.3%Ni, 2.2%Mo, 0.9%Si, 0.1%Mn, 0.025%C and the remaining part being Fe,
- powder Al₂O₃ with purity of 99.95%.

The following mixtures of powders were prepared in the study: 90%+50% 316LHD+10+50%Al₂O₃, of which the specimens for the test were formed. The process of sintering was carried out using the HP-HT method (High Pressure -

W ramach badań wykonano następujące zestawy proszków: 90%±50%316LHD+10±50%Al₂O₃, z których uformowano próbki do badań. Proces spiekania został przeprowadzony metodą HP-HT (ang. High Pressure - High Temperature) na prasie D0044 wyposażonej w komorę wykościśnieniową typu Bridgmana, przy ciśnieniu 4.0 ±0.2 GPa, w temperaturze 1250°C, w czasie 60 s.

Metodyka badań

Badanie porowatości zostało przeprowadzone na porozymetrze PoreMaster 33. Ocenę własności wytrzymałościowych zrealizowano metodą pomiaru twardości Brinella przy pomocy węgelnika z węgla spiekanego o średnicy 2,5 mm. Zastosowane obciążenie wynosiło 1839 N.

Badanie odporności na zużycie ściernie podczas tarcia suchego przeprowadzono na testerze T-05 wyprodukowanym przez Instytut Technologii Eksploatacji w Radomiu. Urządzenie współpracowało z elektronicznym układem rejestracji danych Spider 8 i oprogramowaniem Catman Express firmy Hottinger Baldwin Messtechnik. Parę tarczą stanowiła jedna z powierzchni próbki oraz rolka wykonana ze stali łożyskowej 100Cr6 (ŁH15). Badanie zostało przeprowadzone przy następujących parametrach: obciążenie 23,5 N (2,4 kG), czas 2 godziny (4 cykle po 30 min), prędkość liniowa ślizgu 1 m/s, prędkość obrotowa wrzeciona 546 obr/min, droga tarcia 7,2 km (4x1,8 km). Miarą odporności na zużycie przez tarcie był ubytek masy po każdym cyklu testu. Pomiar ubytku masy mierzono na wadze analitycznej WPA 40/160/C/1 firmy Radwag.

Wyniki badań

Proszek ceramiczny charakteryzował się sferycznym kształtem ziaren o średniej wielkości ziaren 45±5µm, natomiast proszek metaliczny stanowiły ziarna o kształcie dendrytycznym i wielkości 30±5 µm.

Wyniki badań porowatości zostały przedstawione w TABELI 1 a wielkości porów na RYS.1. Wyniki pomiarów twardości przedstawia TABELA 2.

Odporność na zużycie ściernie podczas tarcia suchego badanych kompozytów przedstawia RYS.2.

W przypadku próbki z 10% zawartością Al₂O₃ wykonane zostały tylko 3 cykle. Powodem zaniechania czwartego cyklu był bardzo duży ubytek masy po zrealizowanych trzech cyklach.

High Temperature) by means of a press D0044 equipped in high-pressure Bridgman chamber at a pressure of 4.0 ±0.2 GPa, temperature of 1250°C and time of 60 s.

Methodology

Porosity was measured by means of porosimeter PoreMaster 33. Strength properties were evaluated using the method of Brinell hardness testing with the indenter made of cemented carbide with diameter of 2.5 mm. The load used was 1839 N.

Tests of the resistance to friction wear under conditions of dry friction were carried out with T-05 tester manufactured by the Institute for Sustainable Technologies in Radom, Poland. The device was coupled with an electronic system for data recording Spider 8 and Catman Express software by Hottinger Baldwin Messtechnik. The friction pair was represented by one of the surfaces of a specimen and a roll made of bearing steel 100Cr6 (ŁH15). The examinations were carried out for the following parameters: load 23.5 N (2.4 kG), time of 2 hours (4 cycles, 30 minutes each), linear sliding velocity: 1 m/s, rotational speed of the spindle: 546 rpm, friction distance 7.2 km (4x1.8 km). A measure of resistance to wear through friction was represented by the decrease in mass after each cycle of test. The decrease in mass was measured with analytical balance WPA 40/160/C/1 by Radwag.

Results

The ceramic powder was characterized by spherical shape of grains with mean grain size of 45±5µm. The metallic powder was composed of the grains with dendritic shape and size of 30±5 µm.

The results of porosity examinations are presented in the TABLE 1, whereas FIGURE 1 illustrates pore size.

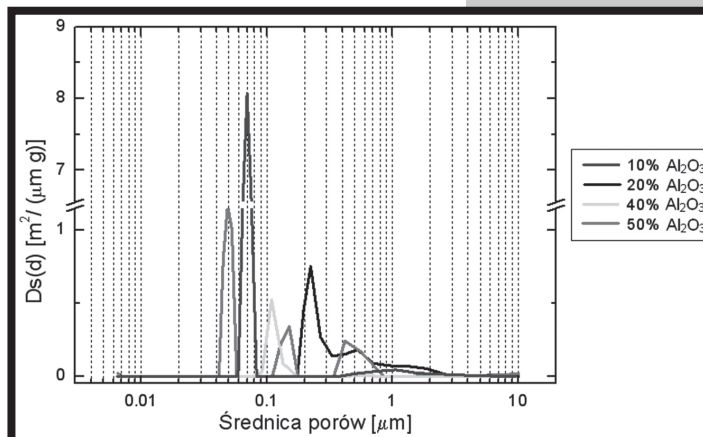
Results of the hardness measurements are presented in TABLE 2.

Resistance to friction wear during dry friction test for the composites studied is presented in FIG.2.

Only 3 cycles were made in the case of specimens with the content of 10% of Al₂O₃. The cause of not using the fourth cycle was very high decrease in mass after the first three cycles.

TABELA 1. Zestawienie wyników porozymetrii rtęciowej
TABLE 1. Results of mercury intrusion porosimetry

Material Material	Porowatość otwarta Open porosity [%]	Porowatość ziarnowa (na powierzchni ziarna) Grain porosity (on the grain surface) [%]
10%Al ₂ O ₃ +90%316L	5,12	0,78
20%Al ₂ O ₃ +80%316L	7,89	0,77
40%Al ₂ O ₃ +60%316L	13,35	6,19
50%Al ₂ O ₃ +50%316L	25,10	14,01

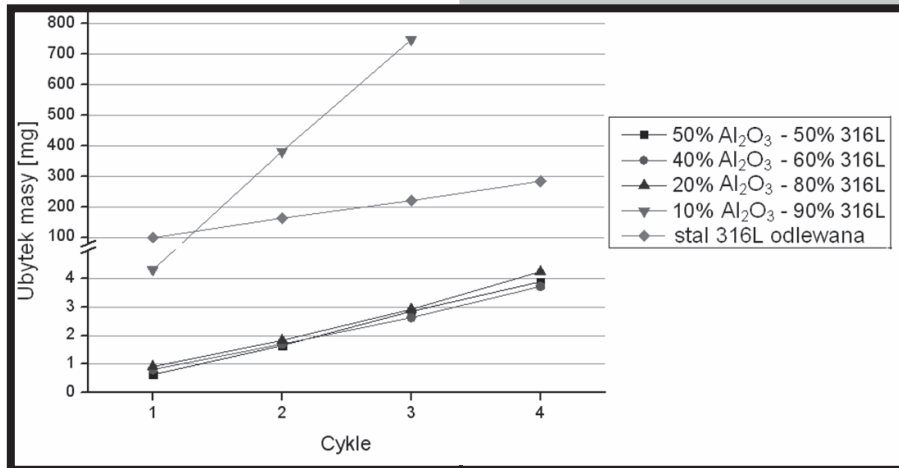


RYS.1. Zestawienie dystrybuanty rozkładu powierzchni właściwej próbek
FIG.1. Cumulative distribution function for the surface porosity of the specimens

TABELA 2. Zestawienie wyników pomiaru twardości metodą Brinella z zastosowaniem węglnika z węgla spiekane o średnicy 2,5 mm i siły obciążającej 1839 N

TABLE 2. Results of Brinell hardness test with the indenter made of cemented carbide with diameter of 2.5 mm and the loading force of 1839N

Próbka Specimen	50%Al ₂ O ₃ - 50%316L	40%Al ₂ O ₃ - 60%316L	20%Al ₂ O ₃ - 80%316L	10%Al ₂ O ₃ - 90%316L	Odlewana stal 316L Steel 316L
Twardość Hardness HBW 2.5/1839/10	447±18	382±10	284±6	223±4	223±4



RYS.2. Ubytek masy próbek po kolejnych cyklach badania

FIG.2. Decrease in specimen mass after individual cycles of the tests

Wnioski

Porównanie własności spieków ze stali austenitycznej z różnym dodatkiem fazy ceramicznej (korundu), ujawniło wpływ fazy Al₂O₃ na porowatość oraz własności wytrzymałościowe wykonanych kompozytów metaliczno-ceramicznych. Wraz z ze wzrostem ilości dodatku fazy ceramicznej wzrasta twardość badanych kompozytów. Próbki zawierające 20, 40 i 50% Al₂O₃ mają znacznie lepszą odporność na zużycie, aniżeli stal bez dodatku ceramiki. Próbka zawierająca 10% Al₂O₃ po pierwszym cyklu badania wykazała mniejszy ubytek masy niż w tych samych warunkach odlewana stal 316L. Jednakże, po drugim i trzecim cyklu ubytek masy był bardzo wysoki, wyższy niż dla stali 316L odlewanej. Ujawniono, że wraz z dodatkiem ceramiki do fazy metalicznej wzrasta porowatość otwarta (z 5,12% do 25,10%) oraz średnica porów w badanych kompozytach, co ma istotne znaczenie z punktu widzenia zastosowań w implantologii, ze względu na lepsze możliwości osteointegracji.

Conclusions

Comparison of the properties of sinters of austenitic steel with different addition of the ceramic phase (corundum) revealed the effect of Al₂O₃ phase on porosity and strength properties of the obtained metallic-ceramic composites. The increase in the content of the ceramic phase causes the increase in the hardness of the composites studied. The specimens with the content of 20%, 40% and 50% of Al₂O₃ have considerably better resistance to wear compared to steel without addition of ceramics. The specimens containing 10% of Al₂O₃ after the first cycle of the test showed lower decrease in mass compared to steel 316L in the same conditions. However, after the second and the third cycle, the decrease in mass was very high (higher than in steel 316L). It was found that, with addition of ceramics to the metallic phase, open porosity increases (from 5.12% to 25.10%), similar to pore diameter in the composites studied, which is of essential importance from the standpoint of application in implantology due to the opportunities for more effective osseointegration.

Piśmiennictwo

[1] Dudek A.: Kształtowanie własności użytkowych biomateriałów metalicznych i ceramicznych, Wydawnictwo Politechniki Częstochowskiej, Częstochowa 2010

References

[2] Dudek A., Włodarczyk R. Composite 316L+Al₂O₃ for Application in Medicine. Mater.Sci.Forum Vols.706-709 2012, s.643-648

WPŁYW HIALURONIANU NA DEHYDRATAJĘ I STRUKTURĘ WODY W HYDROŻELOWYCH SOCZEWKACH KONTAKTOWYCH

KATARZYNA KRYSZTOFIAK*, DARIA RAJCHEL,
ANDRZEJ SZYCZEWSKI

UNIwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu,
Wydział Fizyki, Zakład Fizyki Medycznej,
ul. Umultowska 85, 61-614 Poznań, Polska
*E-MAIL: KRYSZTOK@AMU.EDU.PL

Streszczenie

Jednym z potencjalnych sposobów ograniczenia niepożądanego z punktu widzenia pacjenta utraty wody z soczewek kontaktowych są krople nawilżające oparte na roztworach hialuronianu sodu (HA). DSC oraz grawimetria zostały wykorzystane w celu zbadania ich wpływu na strukturę wody i dehydratację hydrożelowych soczewek kontaktowych Acuvue Moist i Proclear 1-Day. Jak wskazują wyniki, materiały mogą różnie reagować na aplikację kropli nawilżających o różnych stężeniach HA poprzez zmianę rozkładu wody w polimerze. Podobnie dynamika dehydratacji ulega zmianom w zależności od badanego materiału. Nie ulega jednak wątpliwości, że stosowanie roztworów HA zwiększa uwodnienie obydwu badanych materiałów, co może korzystnie wpływać na zwilżalność ich powierzchni, redukując ewentualny dyskomfort związany z dehydratacją soczewki podczas noszenia.

Słowa kluczowe: soczewki kontaktowe, hydrożel, hialuronian

[Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 22-25]

Wprowadzenie

Soczewki kontaktowe stają się coraz popularniejszą metodą korekcji wad wzroku. Jednak mimo nieustannego postępu technologicznego prowadzącego do zwiększenia biokompatybilności materiałów stosowanych w produkcji soczewek, ich użytkowanie nadal może prowadzić do powstawania objawów suchości i dyskomfortu, które są wymieniane przez pacjentów jako najczęstsza przyczyna zaprzestania noszenia [1].

Wśród przyczyn prowadzących do powstania objawów suchości często wymienia się utratę przez materiał wody w wyniku parowania. Jak dotąd nie potwierdzono jednak bezpośredniego wpływu dehydratacji na komfort noszenia, chociaż jak pokazują badania, prowadzi ona do zmiany istotnych parametrów soczewki takich jak promień krzywizny czy zwilżalność powierzchni, które nie pozostają bez wpływu na dopasowanie oraz komfort noszenia [2].

Dotychczas stosowane środki terapeutyczne, takie jak krople nawilżające wydają się nie spełniać w pełni pokładanych w nich nadziei. Stąd coraz większe zainteresowanie zyskują substancje pochodzenia naturalnego, takie jak fosforylocholina czy kwas hialuronowy. Dehydratacja materiałów, z których produkowane są soczewki prowadzi do zmian na poziomie molekularnym, które pozwalają przewidzieć, jak będą się one zachowywały podczas normalnego użytkowania, stąd celem opisanego eksperymentu było badanie in vitro wpływu roztworu hialuronianu sodu na uwodnienie i dehydratację jednodniowych hydrożelowych soczewek kontaktowych.

EFFECT OF HYALURONAN ON DEHYDRATION AND WATER PROPERTIES OF CONTACT LENS HYDROGELS

KATARZYNA KRYSZTOFIAK*, DARIA RAJCHEL,
ANDRZEJ SZYCZEWSKI

ADAM MICKIEWICZ UNIVERSITY, POZNAN, FACULTY OF PHYSICS,
DIVISION OF MEDICAL PHYSICS,
85 UMULTOWSKA STR., 61-614 POZNAN POLAND
*E-MAIL: KRYSZTOK@AMU.EDU.PL

Abstract

One of the potential way of restricting dehydration that is undesirable from the patient point of view is to use hydrating eyedrops based on hyaluronan sodium (HA) solutions. DSC and gravimetry were used in order to investigate their influence on states of water and dehydration of hydrogel contact lenses Acuvue Moist and Proclear 1-Day. As our results indicate, both materials may respond differently to application of rewetting drops of different HA concentrations by change in water structure. Similarly, dynamics of dehydration is changing according to the material. Nevertheless, the use of HA solutions enhance water content of both materials studied, which may be beneficial for lens surface wettability, reducing possible discomfort during normal lens wear.

Keywords: contact lenses, hydrogel, hyaluronan
[Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 22-25]

Introduction

Contact lenses are one of the most popular method of refractive error correction. However, despite ceaseless technological progress leading to enhance in biocompatibility of contact lens materials their use still may induce dryness and discomfort symptoms that are quoted by patients as the most common cause of dropping contact lens wear [1].

Water evaporation is often mentioned among possible causes of contact lens related dryness. There is still no evidence that lens dehydration has direct impact on comfort of wearing. However, as various studies indicate, it leads to change in some important lens parameters such as back optical zone radius or surface wettability that are essential for lens fitting and comfort of wearing [2].

So far, therapeutic agents such as rewetting drops do not seem to fully comply with the hopes pinned on them. Hence, the interest in natural substances such as phosphorylcholine or hyaluronic acid. Dehydration of contact lens materials leads to changes at the molecular level that allow to predict how they will behave in normal use. The main aim of our experiment described here was to study the in vitro effect of sodium hyaluronate solutions of different concentrations on dehydration and states of water of contact lens hydrogels.

Materiały i metody

Badaniu poddano dwie miękkie soczewki kontaktowe: hydrożelową Acuvue Moist (etafilcon A) oraz biomimetyczny Proclear 1-Day (omafilcon A), gdzie zastosowanie występującej w tkankach człowieka fosforylocholiny ma wpływać korzystnie na biokompatybilność poprzez ograniczenie odkładania się zanieczyszczeń pochodzących z łez oraz ograniczenie dehydratacji. Skład chemiczny obu polimerów oraz uwodnienie zostały zebrane w TABELI 1.

Zmiany w dynamice dehydratacji badano grawimetrycznie, rejestrując co minutę zmianę ich masy w czasie z dokładnością do 1mg. Próbkę umieszczano na wypukłym plastikowym uchwycie o promieniu krzywizny zbliżonym do promienia krzywizny rogówki. Skaningowa kalorymetria różnicowa (DSC) pozwoliła określić strukturę wody badanych próbek. Badanie przeprowadzono w WLBS na Wydziale Fizyki UAM w Poznaniu za pomocą kalorymetru DSC Q2000 (TA Instruments) dobierając następujący program temperatury:

- Chłodzenie próbki do temperatury -40°C w tempie $2,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$
- Utrzymywanie próbki w temperaturze -40°C przez 10min
- Ogrzewanie próbki do temperatury 20°C w tempie $2,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$

Porównano zachowanie soczewek nowych oraz zakroplonych 0,1% i 0,3% roztworem soli sodowej kwasu hialuronowego o masie cząsteczkowej 50 kDa. Pozwoliło to na określenie wpływu wysoce biokompatybilnego hialuronianu (występuje naturalnie w wielu tkankach człowieka, także w oku) na dehydratację i stany wody hydrożelowych soczewek kontaktowych.

Wyniki i dyskusja

Na podstawie otrzymanych wyników obliczono współczynnik dehydratacji DR oraz uwodnienie (EWC) soczewek. Współczynnik DR obliczono w następujący sposób:

$$D = \frac{m_t - m_{t-1}}{m_t} \cdot 100\% \quad (1)$$

gdzie m_t – masa próbki w czasie t , m_{t-1} – masa próbki w czasie $(t-1)$. Parametr ten wyraża zmianę masy soczewki w danej chwili czasu. Uwodnienie wyznaczono korzystając z następującej zależności:

$$EWC = \frac{m_0 - m_f}{m_0} \cdot 100\% \quad (2)$$

gdzie m_0 – średnia masa początkowa soczewki, m_f – średnia masa końcowa mierzonej soczewki.

Analiza statystyczna (sparowany test T-Studenta, poziom istotności $p < 0,05$) przeprowadzona na średnich wartościach DR obliczonych dla poszczególnych próbek wykazała istotną różnicę między soczewkami zakroplonymi 0,1% roztworem HA a próbką referencyjną. Nie stwierdzono istotnych różnic między 0,3% roztworem HA a soczewkami referencyjnymi i zakroplonymi 0,1% roztworem HA. Zastosowanie roztworu zwiększa istotnie EWC wszystkich próbek (RYS.1).

TABELA 1.
TABLE 1.

materiał i nazwa handlowa material and trade name	skład chemiczny chemical composition	Uwodnienie water content
etafilcon A – Acuvue Moist	HEMA, MAA, EGDMA, TMPTMA, PVP	58%
omafilcon A – Proclear 1-Day	HEMA, PC-modyfikowane HEMA	60%

Materials and methods

Two soft contact lenses were examined: hydrogel Acuvue Moist (etafilcon A) and biomimetic hydrogel Proclear 1-day (omafilcon A), where naturally occurring in human body phosphorylcholine was used in order to enhance biocompatibility reducing tear film components contamination and lens dehydration. Chemical composition of both polymers and their water content are summarized in TABLE 1.

Changes in dehydration were examined with gravimetric technique, recording lens weight every minute with an accuracy of 1mg. Samples were placed onto plastic holder with a curvature similar to cornea (lens) curvature. Differential Scanning Calorimetry (DSC) allowed us to examine water structure of samples studied. The experiment was performed in WLBS at the Faculty of Physics (Adam Mickiewicz University in Poznań) with DSC Q2000 (TA Instruments) calorimeter with the following temperature program:

- cooling of the sample to a temperature -40°C at a rate of $2.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$
- keeping the sample at -40°C for 10 min
- heating the sample to a temperature of 20°C at a rate of $2.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

We have compared behavior of reference samples (new lenses) with lenses instilled with sodium hyaluronate (HA) of molecular weight of 50kDa 0,1% and 0,3% water solutions. This allowed us to examine the effect of highly biocompatible hyaluronan (occurring naturally in many human tissues, also in eyes) on dehydration and states of water in contact lens hydrogels.

Results and discussion

Based on results obtained dehydration rate DR and water content EWC of our samples were established. DR parameter was calculated as follows:

$$D = \frac{m_t - m_{t-1}}{m_t} \cdot 100\% \quad (1)$$

where m_t – weight of the sample at the time t , m_{t-1} – weight of the sample at the time $(t-1)$. This parameter express the change in sample weight at the certain point in time. Water content was calculated from the following equation:

$$EWC = \frac{m_0 - m_f}{m_0} \cdot 100\% \quad (2)$$

Where m_0 – mean initial weight of the sample, m_f – mean final weight of the sample.

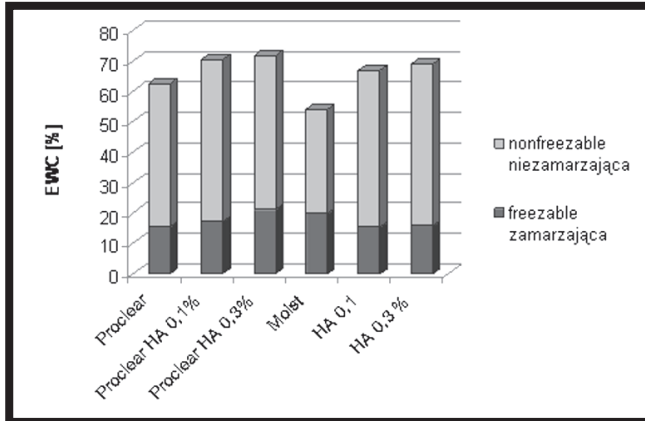
The statistic analysis (paired T-Student test, significance level $p < 0,05$) performed on mean DR values calculated for each samples have shown that there is a significant difference between 0,1% HA solution instilled and reference sample. There were no statistically important differences between 0,3% HA solution and both 0,1% HA and reference samples. The use of HA solutions significantly enhances water content of all samples studied (FIG.1).

Z kolei na podstawie pomiarów DSC wyznaczono ilość wody wolnej i luźno związanej – zamarzającej (C) w materiale, która została obliczona z poniższej zależności:

$$C = \frac{Q}{\Delta H}, \quad (3)$$

where: H – ciepło topnienia lodu (333,7J/g), Q – ciepło przemiany, znajdujące swoje odbicie na wykresie DSC w postaci piku. Ilość niezamarzającej wody związanej (B) wyznaczono następująco:

$$B = EWC - C. \quad (4)$$



RYS.1.
FIG.1.

Na RYS.1 przedstawiono strukturę wody w odniesieniu do uwodnienia obliczonego na podstawie pomiaru grawimetrycznego. Jak wskazuje RYS.2., oba materiały reagują w różny sposób na obecność dodatkowej substancji nawilżającej. Jonowa soczewka Moist silniej wiąże wodę, redukując ilość biorącej udział w dyfuzji wody niezamarzającej, co może niekorzystnie wpływać na transmisję tlenu i jonów przez soczewkę. W soczewce ProcLEAR rozkład wody ulega zmianie tylko po zastosowaniu większego stężenia HA. W tym przypadku dochodzi do zwiększenia ilości wody zamarzającej. Takie zachowanie może być związane ze składem chemicznym materiału, który zawiera silnie hydrofilową fosforylocholinę.

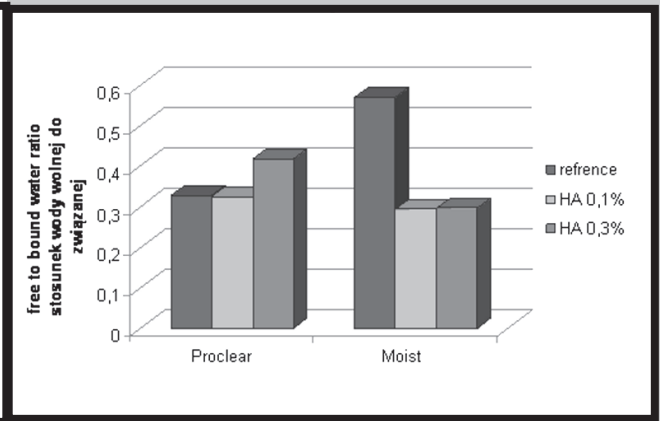
Mimo wielu publikacji dotyczących korzystnego wpływu HA na przedni odcinek oka [3–5] wiedza na temat oddziaływania tej substancji z materiałami w soczewkach kontaktowych jest bardzo mała. Wiadomo jednak, iż HA ze stosowanych do dezynfekcji soczewek kontaktowych płynów wielofunkcyjnych może utrzymywać się w materiale stosunkowo długo [6], podnosząc komfort użytkowania. Ponadto wyjątkowe właściwości viskoelastyczne HA z pewnością poprawiają zwilżalność powierzchni soczewek, zmniejszając tarcie powiek [7,8] co bez wątpienia redukuje ewentualny dyskomfort i możliwość powikłań.

Results obtained with DSC allowed us to calculate free and loosely bound water content – freezable water (C). The following equation was used:

$$C = \frac{Q}{\Delta H}, \quad (3)$$

where ΔH – heat of fusion of pure water (333,7J/g), Q – heat of transition reflected on the DSC curves. The amount of bound (non-freezable) water (B) was calculated as follows:

$$B = EWC - C. \quad (4)$$



RYS.2.
FIG.2.

FIG. 1 shows states of water in reference to water contents obtained from gravimetric measurements. As FIG.2 indicates both materials react differently to the presence of additional rewetting agent. Ionic Moist lens binds water more easily, reducing the amount of freezable water which takes a part in diffusion. This may negatively affect oxygen and ion transmission. In ProcLEAR lens water distribution changes only after use of the higher concentration of HA. In this case there is an increase in freezable water content. This relatively small effect may be linked to the chemical composition of the lens, which contains in its matrix highly hydrophilic phosphorylcholine.

Despite many publications about beneficial influence of HA on anterior eye [3-5] there is still little knowledge about its interaction with contact lens materials. HA from the multipurpose solutions that are used in contact lens disinfection and storage may stay in material relatively long, enhancing comfort of wearing. Moreover, the exceptional viscoelastic properties of HA surely increase lens surface wettability, diminishing lids friction that certainly reduce discomfort and possible complications [7,8].

Wnioski

Zastosowanie roztworów HA o badanych stężeniach 0,1% i 0,3% znacząco wpływa na uwodnienie hydrożelowych soczewek kontaktowych i strukturę wody w materiale. Obecność roztworu HA modyfikuje dynamikę dehydratacji, jednak zmiany te nie wydają się być istotne i zależą silniej od materiału niż od stężenia HA. W każdym przypadku dochodziło do zwiększenia ilości wody wolnej i luźno związanej, co powinno korzystnie wpływać nie tylko na transport tlenu i jonów przez soczewkę, lecz może zwiększać dehydratację. Uważamy jednak, że ze względu na ich silną hydrofilowość i wyjątkową biokompatybilność ograniczającą odkładanie białek w materiale roztwory HA powinny być polecane użytkownikom miękkich soczewek kontaktowych.

Podziękowania

Autorzy pragną podziękować firmom CooperVision Polska oraz Johnson&Johnson Polska za zapewnienie soczewek kontaktowych na potrzeby badań.

Praca ta jest częściowo wspierana przez program operacyjny 'Kapitał Ludzki' - PO KL 4.1.1 „Proinnowacyjne kształcenie, kompetentna Kadra, absolwenci Przyszłości”.

Conclusions

The use of 0,1% and 0,3% HA solutions significantly affects hydration of hydrogel contact lenses as well as states of water in these materials. The presence of HA modifies dynamics of dehydration. However, these changes do not seem to be important and depend more on material properties than on HA concentration. In each case freezable water content of the sample raised when HA was instilled which should be beneficial for oxygen and ion transport properties but may enhance lens dehydration. Despite this we would recommend the use of HA solutions in soft contact lens wear because of their water binding properties and exceptional biocompatibility which also restricts protein contamination of lens material.

Acknowledgments

The authors would like to thank CooperVision Poland and Johnson&Johnson Poland for providing lenses for purpose of our study.

This work was partially supported by operational program 'Kapitał Ludzki' - PO KL 4.1.1 „Proinnowacyjne kształcenie, kompetentna Kadra, absolwenci Przyszłości”.

Piśmiennictwo

- [1] Young G.: Why one million contact lens wearers dropped out, Contact lens & anterior eye: the journal of the British Contact Lens Association, 4/27 (2004) 83–85.
- [2] Tranoudis I., Efron N.: Parameter stability of soft contact lenses made from different materials, Contact lens & anterior eye: the journal of the British Contact Lens Association. 5/27 2004 115–131.
- [3] Kogan G., Soltés L., Stern R., Gemeiner P.: Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications, Biotechnology letters 29 (2007) 17–25.
- [4] Rah M.J.: A review of hyaluronan and its ophthalmic applications, Optometry 82 (2011) 38–43.
- [5] Necas J., Bartosikova L., Brauner P., Kolar J.: Hyaluronic acid (hyaluronan): a review, Veterinarni Medicina 53 (2008) 397–411.

References

- [6] Fagnola M, Pagani MP, Maffioletti S, Tavazzi S, Papagni A. Contact Lens & Anterior Eye Hyaluronic acid in hydrophilic contact lenses: Spectroscopic investigation of the content and release in solution. Journal of Luminescence. 2009;32:108–12.
- [7] Olczyk P., Komosińska-Vassev K., Winsz-Szczołka K. et al. Hyaluronan: structure, metabolism, functions and role in wound healing [Hialuronian – struktura, metabolizm, funkcje i rola w procesach gojenia ran], Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 62 (2008) 651-659.
- [8] Lapcik Jr. L., Lapcik L., De Smedt S. et al. Hyaluronan: preparation, structure, properties, and applications, Chemical Reviews 98 (1998) 2663-2684.

WYKORZYSTANIE METODY RF PECVD DO MODYFIKACJI DITLENKU TYTANU JAKO NAPEŁNIACZA FOTO-DEGRADOWALNYCH POLIMERÓW SYNTETYCZNYCH STOSOWANYCH W MEDYCYNIE

ANNA SOBCZYK-GUZENDA*, MACIEJ GAZICKI-LIPMAN,
HIERONIM SZYMANOWSKI

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

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

Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu modyfikacji plazmo-chemicznej sproszkowanego ditlenku tytanu (TiO_2) na zmianę jego zwilżalności, właściwości mechanicznych oraz szybkości fotodegradacji polimeru syntetycznego z dodatkiem TiO_2 .

Użyto komercyjny ditlenek tytanu - Aeroxide P25. Modyfikacja przeprowadzona była w plazmie metanowej w zakresie mocy wyładowania jarzeniowego od 20 do 200 W, przy stałym przepływie metanu i czasie trwania procesu. Badania zwilżalności dowiodły, że proszki modyfikowane wykazują zmniejszającą się tendencję do sorpcji wody, osiągając wartość progową przy mocy 100 W, po przekroczeniu której ich zdolność do pochłaniania wody znacznie wzrastała. Mieszanki polistyrenu (PS) wykonane zostały przy dwóch stężeniach TiO_2 2 i 6%. Do badań użyto TiO_2 modyfikowanego przy mocy 40 i 100 W. Zaobserwowano zwiększenie wytrzymałości na zerwanie dla kompozytu TiO_2 +PS w porównaniu do czystego PS. Z kolei modyfikacja przy mocy 100 W poprawiła znacznie właściwości mechaniczne w porównaniu do niemodyfikowanego TiO_2 . Przeprowadzony proces fotodegradacji dowiódł, że mieszanina modyfikowanego TiO_2 +PS przy mocy 100W wykazała najsilniejszy efekt degradacji ujawniający się największym ubytkiem masy po naświetlaniu światłem z zakresu UV-B w stosunku do niemodyfikowanego TiO_2 +PS.

Słowa kluczowe: ditlenek tytanu, metoda RF PECVD, foto-degradacja, zwilżalność proszku
[Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 26-29]

Wprowadzenie

Gwałtowny wzrost produkcji tworzyw sztucznych na całym świecie stał się z jednej strony ważnym impulsem rozwojowym dla wielu różnych gałęzi przemysłu, a z drugiej doprowadził do zalegania na wysypiskach milionów ton śmieci polimerowych [1]. Rozwiązaniem tego poważnego problemu stały się biodegradowalne polimery. Przykładem takiego polimeru jest polilaktyd [2,3]. Polilaktyd wykazuje potencjalnie masowe wykorzystanie, głównie do produkcji opakowań jednorazowego użycia. Polilaktyd o wysokiej czystości może być także wykorzystywany w medycynie, jako materiał na wszczepialne protezy o czasowym działaniu oraz jako nośnik leków. Niestety jego cena rynkowa pozostaje nadal wysoka [2].

RF PECVD MODIFICATION OF TITANIUM DIOXIDE FILLER OF PHOTO-DEGRADABLE SYNTHETIC POLYMERS USED FOR MEDICAL PURPOSES

ANNA SOBCZYK-GUZENDA*, MACIEJ GAZICKI-LIPMAN,
HIERONIM SZYMANOWSKI

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

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

Abstract

The aim of the work was an assessment of the effect of plasma chemical modification of titanium dioxide (TiO_2) powder on its wettability as well as on mechanical properties and rate of photodegradation of TiO_2 filled synthetic polymer.

As a filler, a titanium dioxide powder Aeroxide P25 was used. Filler modification was carried out in methane plasma using the glow discharge power of 20-200 Watt and a constant methane flow rate and process duration. Wettability measurements showed that plasma modified powders had a decreasing tendency towards water sorption, however, only to a power threshold of 100 Watt, above which their sorption ability substantially increased. Polystyrene blends (PS) with TiO_2 at two concentrations, namely those of 2% and 6%, were prepared. Titanium dioxide filler samples modified at the power level of either 40 Watt or 100 Watt were used for testing. An increase of tensile strength of a TiO_2 /PS composite, with respect to plain PS, was observed. On the other hand, plasma modification of the filler, carried out at 100 Watt, substantially improved mechanical properties of the composites, compared to those filled with a non-modified material. Photodegradation studies showed the strongest effect, consisting in the largest loss of mass following an exposure to UV-B radiation, for the samples of PS filled with TiO_2 modified at 100 Watt.

Keywords: titanium dioxide, RF PECVD, photo-degradation, powder wettability
[Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 26-29]

Introduction

A rapid increase of a word production of synthetic polymers, being an important factor stimulating progress on one hand, on the other has created a tremendous waste problem [1]. One solution to the problem comprises a use of biodegradable polymers. Having a potential mass application, namely as disposable packaging material, polylactide is a good example of such a polymer [2,3]. High purity polylactide may also be used in medicine as a biodegradable material for implanted prosthetic devices as well as a medicament carrier. Unfortunately, a market price of this material is still very high [2]. This is a reason why other research directions in this field comprise blending of, difficult to degrade, synthetic plastics with different degradable polymers such as starch, cellulose or, more and more often, polylactide [4].

Dlatego też jednym z rozwijanych kierunków badań jest łączenie dwóch typów polimerów polimeru syntetycznego (trudno ulegającego biodegradacji) z polimerami biodegradowalnymi (łatwo ulegającym temu procesowi). Obecnie rozwijane technologie najczęściej dotyczą wykorzystania skrobi i celulozy oraz coraz częściej polilaktynu [4]. Kolejną próbą rozwiązania problemu degradacji polimerów, opisywanym coraz częściej w najnowszej literaturze jest tworzenie materiałów kompozytowych na bazie polimeru syntetycznego z TiO_2 [5]. Udowodniono także, że TiO_2 posiada nie tylko zdolność silnego utleniania małych cząsteczkowych związków nieorganicznych i organicznych, a ale także zdolność do fotokatalizacyjnej degradacji matrycy polimerowej. Takie zjawisko zaobserwowano w przypadku takich polimerów jak polietylen PE, polipropylen PP, polistyren PS, polichlorek winylu PCW, poliuretan PU. Są to polimery, które znajdują dość szerokie zastosowanie w medycynie. Niestety podczas wytwarzania kompozytów z zastosowaniem TiO_2 obserwuje się zjawisko aglomeracji fotoaktywnego napełniacza w matrycy polimeru syntetycznego. Zjawisko to nie tylko wpływa na opóźnienie procesów degradacji, ale także co jest bardzo istotne na pogorszenie właściwości fizycznych, chemicznych i mechanicznych [5,6].

W niniejszej pracy sproszkowany TiO_2 poddano modyfikacji powierzchniowej metodą RF PECVD (radio frequency plasma enhanced chemical vapour deposition). Zarówno na niemodyfikowanym jak i modyfikowanym proszku przeprowadzono badania zwilżalności powierzchni metodą wzniesienia kapilarnego. Mieszanki polistyren/ TiO_2 wykonane zostały przy dwóch stężeniach TiO_2 2 i 6 %, które wykorzystano do badań właściwości mechanicznych oraz fotodegradacji.

Materialy i metody

Jako materiały do badań wykorzystano: TiO_2 w postaci sypkiej, o nazwie handlowej Aeroxide P25 (78% anatazu, 14% rutyli i 8% fazy amorficznej) oraz PS o nazwie handlowej KRASTEN 137 o średnicy granulatu od 2,5 do 6 mm.

Proces modyfikacji był przeprowadzany w obrotowym reaktorze RF PECVD przedstawionym w pracy A. Sobczyk-Guzenda i wsp. [6]. W skład niniejszej aparatury wchodziły następujące układy: obrotowa komora reaktora w.cz., układ zasilania polem elektrycznym w.cz., układ zasilający reaktor w gaz roboczy, układ próżniowy wraz z systemem rejestracji ciśnienia. Długość komory reaktora wynosiła 400 mm, a średnica 40 mm.

Jako gaz roboczy został wykorzystany metan, którego przepływ ustalono na 15 sccm. Ciśnienie wyjściowe przed modyfikacją (bez gazu) wynosiło 0.15 mTorr. Moc wyładowania jarzeniowego była zmieniana w zakresie od 20 do 200 W (skok co 20 W). Optymalny czas trwania procesu modyfikacji ustalony został na poziomie 4 minut.

Pomiary sorpcji wody badanych materiałów wykonano na tensjometrze K100 MK2/SF/C firmy Krüss GmbH, który sterowany jest przez oprogramowanie KRÜSS LabDesk™.

Mieszanki TiO_2 +PS sporządzono w termostатовanym mieszalniku zamkniętym W50H w temperaturze 180°C przy obrotach mieszalnika 40 obr/min w czasie 5 minut.

Próbki do badań wytrzymałości na zerwanie wycięto zgodnie z polską normą PN-ISO 37: 1998. Zostały poddane statycznej próbie rozciągania przy wykorzystaniu maszyny wytrzymałościowej firmy Luis Schopper. Rozciąganie odbywało się ze stałą prędkością wynoszącą 500 mm/min.

Still another attempt to solve the problem of polymer degradation, recently described in the literature, is comprised of blending synthetic polymers with titanium dioxide [5]. It has been proven that, apart from a strong potential to oxidize low molecular weight inorganic and organic compounds, TiO_2 exhibits the ability to photocatalytically degrade polymers. Among others, this effect has been observed in such polymers broadly used in medicine as polyethylene PE, polypropylene PP, polystyrene PS, poly(vinyl chloride) PVC and polyurethane PU. Unfortunately, in the process of blending TiO_2 filled composite materials an agglomeration of photoactive filler in the polymer matrix is observed. This effect not only decreases the rate of composite degradation, but also worsens its mechanical and chemical properties [5,6].

In the present work, powdered TiO_2 was subjected to surface modification using the radio frequency plasma enhanced chemical vapour deposition (RF PECVD) technique. Water wettability measurements were carried out on both unmodified and modified powder using the capillary elevation method. Modified at optimum conditions, titanium dioxide powder was then used to produce (for two different filler concentrations of 2 and 6 %) the TiO_2 /PS blends that were later subjected to mechanical and photodegradation testing.

Materials and methods

The following materials were used in the study: Aeroxide P25 powdered TiO_2 , containing 78% anatase, 14% rutil and 8% of amorphous phase, and KRASTEN 137 polystyrene of granulate size of 2,5 to 6mm. Surface modification of the filler was carried out in a tumbler rotary RF PECVD reactor, presented in Reference [6]. The reactor consists of the following subsystems: a rotary reactor chamber, an RF field supply system, a gas supply system and a vacuum and pressure monitoring system. The chamber length is 400 mm with its diameter equal 40 mm. Methane at the flow rate of 15 sccm was used as the working medium. The glow discharge power was adjusted within a range of 20 Watt to 200 Watt with a 20 Watt step. The time of modification was set at 4 minutes.

The water sorption measurements of the TiO_2 filler were carried out using the Krüss GmbH K100 MK2/SF/C tensiometer equipped with the KRÜSS LabDesk™ software.

PS/ TiO_2 blends were manufactured in a closed W50H mixer, thermostated at 80°C and working for 5 minutes at 40 RPM.

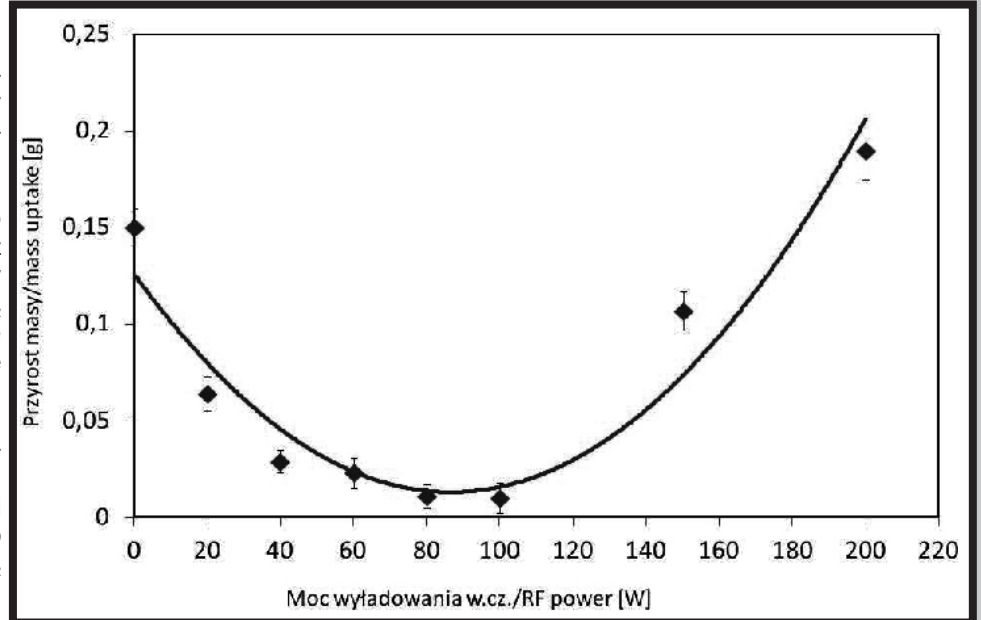
Samples for tensile strength testing were prepared according to the Polish standard PN-ISO 37:1998. They were subjected to a static tensile test using a Luis Schopper tensile strength machine working at a constant expansion rate of 500 mm/min.

Prior to degradation testing the samples had been dried at 60°C to a constant weight in order to avoid a measurement error due to water desorption. The blends were then placed on a ceramic table, at a distance of 20 cm from the Polam UV, model ZWLE-ZPL UV-B source of an intensity of 16 mW/cm². Mass measurements were performed using Radwag analytical balance, model AS 220AX. The measurement temperature was 21°C with the relative humidity of 40%.

Przed przystąpieniem do procesu degradacji, mieszanki były suszone w suszarce do stałej masy w temperaturze 60°C. Miało to na celu uniknięcie błędu pomiarowego spowodowanego desorpcją wody z próbek w trakcie przeprowadzenia procesu degradacji. Następnie próbki były umieszczane w odległości 20 cm od źródła promieniowania, na ceramicznym stolniczku. Źródłem promieniowania była lampa UV-B firmy Polam UV, model ZWLE-ZPL o intensywności 16 mW/cm². Pomiar masy wykonywany był na wadze analitycznej firmy Radwag model AS 220AX. Doświadczenie wykonywano było w temperaturze 21°C i przy wilgotności powietrza 40%.

Wyniki i dyskusja

Zmiany zwilżalności wyznaczone w oparciu o przyrosty masy proszków modyfikowanych w zakresie od 20 do 200 W przedstawiono na RYS.1. W zakresie mocy od 20 do 100 W proszek chłonił coraz mniej polarnej wody. Świadczy to o tym, że w strukturę TiO₂ zaczynają wbudowywać się grupy niepolarne pochodzące od metanu. Przy mocy równej 80-100 W zależność ta osiąga maksimum i sytuacja się odwraca tzn. TiO₂ ponownie zaczyna pochłaniać znacznie więcej wody, co może świadczyć o postępującej degradacji TiO₂ pod wpływem temperatury jaka jest generowana przy wyższych mocach w trakcie wyładowania jarzeniowego.



RYS. 1. Zmiany sorpcji wody dla sproszkowanego TiO₂, niemodyfikowanego oraz modyfikowanego przy różnych mocach wyładowania jarzeniowego.

FIG. 1. Water sorption results of powdered TiO₂, both unmodified and methane plasma modified at different glow discharge power values.

TAB. 1. Wartości maksymalnej siły zrywającej dla czystego PS i otrzymanych kompozytów TiO₂+PS.
TAB. 1. Maximum tensile load data for plain PS and TiO₂+PS composites.

Rodzaj próbki Type of sample	Maksymalna siła zrywająca Maximum tensile load [N]
Czysty PS/Plain PS	355,2
2% niemodyf. TiO ₂ +PS 2% unmodif. TiO ₂ +PS	418,9
6% niemodyf. TiO ₂ +PS 6% unmodif. TiO ₂ +PS	570,0
2% modyf. (40 W) TiO ₂ +PS 2% modif. (40 W) TiO ₂ +PS	410,0
6% modyf. (40 W) TiO ₂ +PS 6% modif. (40 W) TiO ₂ +PS	550,2
2% modyf (100 W) TiO ₂ +PS 2% modif. (100 W) TiO ₂ +PS	554,5
6% modyf. (100 W) TiO ₂ +PS 6% modif. (100 W) TiO ₂ +PS	603,3

TAB. 2. Wyniki ubytków masy czystego PS i otrzymanych kompozytów TiO₂+PS w trakcie naświetlania światłem z zakresu UV-B
TAB. 2. Weight loss data for plain PS and TiO₂/PS composites in the course of UV-B illumination.

Rodzaj próbki/ Type of sample	Czas naświetlania UV/ UV irradiation time		
	2h	4h	6h
Czysty PS Plain PS	0,0000g	0,0000g	0,0000g
2% niemodyf. TiO ₂ +PS 2% unmodif. TiO ₂ +PS	0,0000g	0,0001g	0,0001g
6% niemodyf. TiO ₂ +PS 6% unmodif. TiO ₂ +PS	0,0001g	0,0002g	0,0002g
2% modyf. (40 W) TiO ₂ +PS 2% modif. (40W) TiO ₂ +PS	0,0001g	0,0002g	0,0003g
6% modyf (40 W) TiO ₂ +PS 6% modif. (40W) TiO ₂ +PS	0,0002g	0,0003g	0,0004g
2% modyf (100 W) TiO ₂ +PS 2% modif. (100W) TiO ₂ +PS	0,0001g	0,0002g	0,0003g
6% modyf (100 W) TiO ₂ +PS 6% modif. (100W) TiO ₂ +PS	0,0002g	0,0003g	0,0004g

Próby wytrzymałościowe przeprowadzone zostały dla próbek wykonanych z czystego polistyrenu oraz kompozytów zawierających różne udziały (2 i 6%) TiO_2 niemodyfikowanego i modyfikowanego. Wyniki z testów wytrzymałościowych zostały przedstawione w TABELI 1. Z otrzymanych wyników można wywnioskować, że dodatek napelnacza w postaci TiO_2 w każdym przypadku zwiększa wytrzymałość na zerwanie, w porównaniu z czystym polistyrenem. Niezależnie od tego czy mamy do czynienia z niemodyfikowanym, czy modyfikowanym TiO_2 , to zwiększenie jego udziału z 2 do 6% w kompozycie poprawia jego właściwości mechaniczne. Modyfikacja plazmowa wykonywana przy 40 W nie wpływa na poprawę wytrzymałości na zerwanie w porównaniu z niemodyfikowanym TiO_2 . Przy czym użycie mocy równej 100 W poprawia już znacznie wytrzymałość. Zależność ta pokrywa się z wynikami otrzymanymi z pomiarów zwilżalności TiO_2 w formie sproszkowanej.

Wyniki z badań fotodegradacji przedstawiono w TABELI 2. Postęp degradacji jest już widoczny po dwóch godzinach od rozpoczęcia naświetlania. Przy czym większe ubytki w masie zaobserwowano dla kompozytów z TiO_2 modyfikowanym i przy większym jego udziale procentowym (6%). W czystym polimerze nie zaobserwowano żadnych zmian związanych z ubytkiem masy podczas naświetlania światłem z zakresu UV.

Wnioski

Z przedstawionych powyżej wyników można sformułować następujące wnioski:

1. Najbardziej optymalnym zakresem mocy wyładowania jarzeniowego służącym do modyfikacji powierzchniowej TiO_2 jest przedział 70-100 W, ze względu na najsilniejsze jego właściwości hydrofobowe
2. Dodatek TiO_2 do matrycy PS poprawia jego wytrzymałość na zerwanie
3. Dodatek modyfikowanego TiO_2 do PS wpływa na znaczne przyspieszenie procesu fotodegradacji

Podziękowania

Praca ta była finansowana z grantu wewnętrznego nr I.7/3 pl.3 /2013 Funduszu Młodych Naukowców na Wydziale Mechanicznym PŁ realizowanej w 2013 roku.

Tests of tensile strength were performed for plain polystyrene as well as for the samples manufactured of TiO_2 /PS composites and containing 2 and 6% of the filler, both modified and surface modified. The results are presented in TABLE 1. It is evident from the data that an admixture of the filler in each case increases the tensile strength of polystyrene. Independent of whether it is a modified or a non-modified TiO_2 , an increase of its content from 2% to 6% always improves the strength, as well. Compared to an unmodified filler, its methane plasma modification at the power of 40 Watt does not affect the tensile strength of the composite. In contrast to that, an application of 100 Watt of the RF power substantially improves that parameter. This result remains in a close agreement to the water wettability data of the powdered TiO_2 .

The results of photodegradation tests are presented in TABLE 2. In contrast to a plain polymer, which does not exhibit any loss of weight, a development of a degradation process is observed in the case of composite materials. This process begins to take place approximately two hours after the beginning of UV-B illumination, and it is more intensive for the blends containing plasma modified TiO_2 and for those characterized by its higher content of 6%.

Conclusions

The following conclusions can be drawn from the results presented above:

1. Because of the best hydrophobic properties of the product, an optimum glow discharge power range for the surface modification of titanium dioxide powder using the tumbler reactor, presented in this work, is the range of 70-100 Watt.
2. An addition of TiO_2 filler to a PS matrix improves its tensile strength.
3. An admixture of surface modified TiO_2 to PS substantially increases the rate of its degradation.

Acknowledgements

The work has been supported by an internal grant No I.7/3 pl.3 /2013 of the Young Scientist Fund, by the Faculty of Mechanical Engineering of the Lodz University of Technology, realized in 2013.

Piśmiennictwo

- [1] Van Volkenburgh W.R., White M.A.: Overview of Biodegradable Polymers and Solid-Waste Issues. *Tappi Journal* 76 (1992) 193-197.
- [2] Chen Ch., Pan G.L.C., Song M., Wu Ch. Guo D., Wang X., Chen B., Gu Z., Poly(lactic acid) (PLA) based nanocomposites—a novel way of drug-releasing. *Biomed. Mater.* 2 (2007) L1–L4.
- [3] Liao R., Yang B., Yu W., Zhou Ch.: Isothermal cold crystallization kinetics of polylactide/nucleating agents. *Journal of Applied Polymer Science* 104 (2007) 310–317.

References

- [4] Miyauchi M., Li Y., Himidu H.: Enhanced Degradation in Nanocomposites of TiO_2 and Biodegradable Polymer. *Environ. Sci. Technol.* 42 (2008) 4551–4554.
- [5] Zhou H., Chen Y., Fan H., Shi H., Luo Z., Shi B.: Water vapor permeability of the polyurethane/ TiO_2 nanohybrid membrane with temperature sensitivity. *Journal of Applied Polymer Science* 109 (2008) 3002-3007.
- [6] Sobczyk-Guzenda A., Kaczmarek M., Grzywacz J., Szymanowski H., Gazicki-Lipman M., Woźniak B.: Napelnicza wspomagające proces foto-bio-degradacji medycznych odpadów polimerowych. *Inżynieria Biomateriałów XV* (2012) 62-65.

BAKTERIOBÓJCZE POWŁOKI DITLENKU TYTANU Z DODATKIEM ŻELAZA

ANNA SOBCZYK-GUZENDA, HIERONIM SZYMANOWSKI*,
SŁAWOMIR OWCZAREK, MICHAŁ KAWCZYŃSKI,
MACIEJ GAZICKI-LIPMAN

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

*E-MAIL: HIERONIM.SZYMANOWSKI@P.LODZ.PL

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu ilości żelaza zawartego w wygrzewanych powłokach ditlenku tytanu (TiO_2) wytworzonych w procesie RF PECVD (radio frequency plasma enhanced chemical vapour deposition) na ich właściwości optyczne oraz bakteriobójczość. Powłoki nanoszone były na podłoża krzemowe przy stałej mocy wyładowania jarzeniowego - 300 W, czasie trwania procesu - 30 min., przepływie tlenu - 50 sccm oraz ilości dostarczanego chlorku tytanu (IV) w temperaturze $0^\circ C$ (związku wyjściowego dla TiO_2). Zmiennym parametrem był przepływ par pentakarbonylu żelaza (prekursora dla atomów żelaza). Otrzymano powłoki o następującej zawartości atomowej żelaza: 0,1%, 0,4%, 0,8%, 1,1%, 2,3%, 5,6%, 11,5%, 27,3%. Badania elipsometryczne wykazały znaczący wpływ zawartości żelaza na zmianę parametrów współczynnika załamania światła, współczynnika ekstynkcji oraz grubości powłok. Najsilniejszy efekt bakteriobójczy wykazała powłoka o zawartości 0,4% Fe. Ponadto można było dostrzec tendencję spadku przeżywalności wraz ze zmniejszeniem ilości żelaza w powłoce.

Słowa kluczowe: metoda RF PECVD, powłoka TiO_2 , żelazo, właściwości optyczne, bakteriobójczość [Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 30-33]

Wprowadzenie

W przyrodzie ditlenek tytanu (TiO_2) występuje w trzech odmianach polimorficznych: anatazu, rutylu i brukitu. Ponadto poszczególne odmiany możemy otrzymać z amorficznego TiO_2 poddając go wygrzewaniu w odpowiedniej temperaturze. Anataz powstaje już w temperaturze $300-500^\circ C$, rutyl w $750^\circ C$, a brukit w $1000^\circ C$ [1].

TiO_2 jest wykorzystywany w licznych sektorach przemysłu. Najczęściej jako biały pigment używany w farbách, zwany bielą tytanową. W przemyśle kosmetycznym TiO_2 pełni funkcję pigmentu w niektórych kremach oraz absorbera niebezpiecznego promieniowania z zakresu ultrafioletu. Materiał ten wykorzystywany jest również przy produkcji foliowych opakowań, tynków, cementów, mas uszczelniających, płytek ceramicznych oraz jako dodatek poprawiający odporność na zmianę zabarwienia [2,3].

Cienkie warstwy o strukturze rutylu znajdują zastosowanie, jako pokrycia antyrefleksyjne, polaryzacyjne, ochronne w bateriach słonecznych, w ekranach dotykowych, a także narzędziach medycznych [4,5].

Ostatnia dekada jest czasem szczególnego zainteresowania właściwościami fotokatalitycznymi ditlenku tytanu. Zaobserwowanie tego zjawiska stało się początkiem powstawania badań i publikacji dotyczących wpływu tego efektu na różne właściwości TiO_2 , takie jak powstanie efektu

IRON CONTAINING BACTERICIDAL TITANIUM DIOXIDE COATINGS

ANNA SOBCZYK-GUZENDA, HIERONIM SZYMANOWSKI*,
SŁAWOMIR OWCZAREK, MICHAŁ KAWCZYŃSKI,
MACIEJ GAZICKI-LIPMAN

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

*E-MAIL: HIERONIM.SZYMANOWSKI@P.LODZ.PL

Abstract

The aim of the work was to determine the effect of iron content in thermally annealed titanium dioxide (TiO_2) coatings, synthesized with the radio frequency plasma enhanced chemical vapour deposition (RF PECVD) method, on their optical and bactericidal properties. The coatings were deposited onto silicon substrates at the following constant operational parameters: glow discharge power of 300 Watt, oxygen flow rate of 50 sccm titanium tetrachloride (TiO_2 precursor) evaporation temperature of $0^\circ C$ and process duration of 30 minutes, with the variable parameter being the flow rate of iron pentacarbonyl, a source of iron atoms. Coatings characterized by the following iron content were produced: 0.1%, 0.4%, 0.8%, 1.1%, 2.3%, 5.6%, 11.5% and 27.3%. Ellipsometric measurements have shown a substantial effect of iron content on the refractive index, extinction coefficient and thickness of the films. The strongest bactericidal effect was exhibited by the coating containing 0.4% of iron, with the bacterial survivability decreasing along the lines of lowering content of this element.

Keywords: RF PECVD method, TiO_2 coating, iron, optical properties, bactericidal effect [Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 30-33]

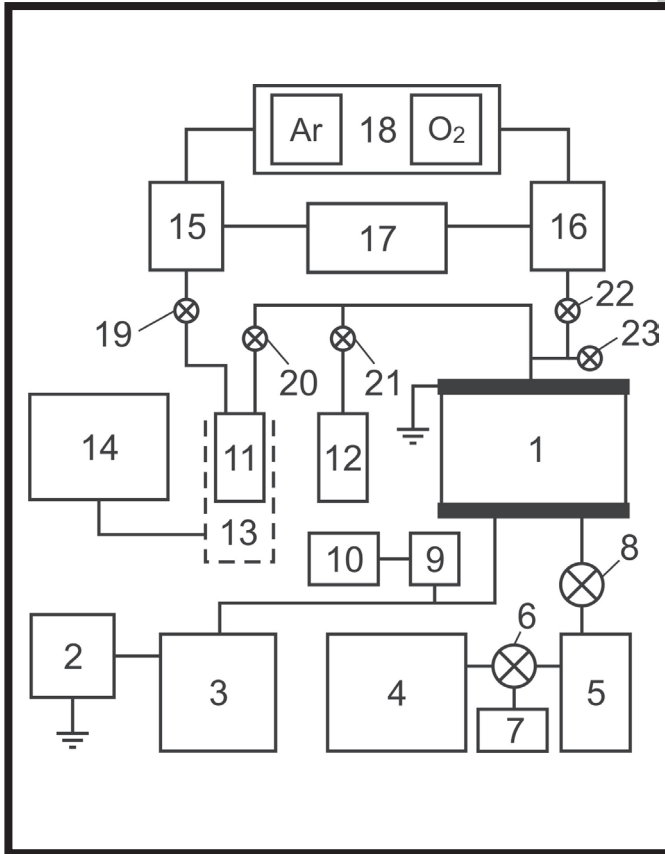
Introduction

In the nature, titanium dioxide (TiO_2) exists in three polymorphic forms: anatase, rutile and brookite. Each of these form can also be obtained from amorphous TiO_2 , by its thermal annealing at the appropriate temperature. Anatase is formed at $300-500^\circ C$, rutile at $750^\circ C$ and brookite at $1000^\circ C$ [1].

TiO_2 finds applications in numerous branches of industry. Its most abundant use comprises a common pigment, titanium white. In cosmetic applications, for instance, titanium dioxide plays a role of a pigment component of various lotions as well as that of a UV light absorbent. The material is also used for a production of packaging foils, cements, plasters, sealing pastes, ceramic tiles, and as colour stabilizing additives [2,3].

Thin films of rutile find applications as antireflective and polarization coatings as well as protective coatings in solar cells, touchscreens and medical tools [4,5].

For the last decade there has been a particular interest focused on photocatalytic properties of titanium dioxide, induced by its excitation with UV light. A discovery of this effect stimulated a development of a broad range of studies in such areas as: superhydrophilic and bactericidal properties of titanium dioxide or its oxidation potential with respect to organic and inorganic compounds. A production of antibacterial as



RYS.1. Aparatura RF PECVD: 1-komora reaktora, 2-generator częstotliwości radiowej, 3-układ dopasowania mocy, 4-pompa rotacyjna, 5-wymrażacz, 6-elektrozawór, 7-panel sterowania elektrozaworem, 8-zawór próżniowy, 9-sonda ciśnieniomierza, 10-wyświetlacz ciśnieniomierza, 11-zbiornik na prekursor tytanowy, 12-zbiornik na prekursor żelazny, 13-płaszcz termiczny, 14-wymiennik ciepła z panelem sterującym, 15-16-przeływowomierze, 17-panel sterowania przeływowomierzami, 18-układ zasilający w gazy, 19-zawór odcinający dopływ argonu do zbiornika z prekursorem tytanowym, 20-zawór dozujący prekursor tytanowy, 21-zawór dozujący prekursor żelazny, 22-zawór odcinający dopływ tlenu do komory reaktora, 23-zawór zapowietrzający komorę reaktora.

FIG.1. RF PECVD apparatus: 1-reactor chamber, 2-radio frequency generator, 3-matching system, 4-rotary pump, 5-freezer, 6-electrovalve, 7-electrovalve control panel, 8-vacuum valve, 9-barometer probe, 10-display of barometer probe, 11-container of titanium precursor, 12-container of iron precursor, 13-thermal jacket, 14-heat exchanger with steering panel, 15-16-gas flow meters, 17-control panel of gas flow meters, 18-gas feed system 19-shutting off valve of argon inflow to the container of titanium precursor, 20-titanium precursor batching valve, 21-iron precursor batching valve, 22-shutting off valve of oxygen inflow to the reactor chamber, 23-air cock of reactor chamber

super hydrofilowości, bakteriobójczości bądź neutralizacji związków organicznych oraz nieorganicznych. Z czasem otrzymano powłoki o właściwościach antybakteryjnych oraz jako tzw. powłoki samoczyszczące [2,3]. Jednak ich aktywacja była możliwa tylko w zakresie promieniowania UV, a efekt utrzymywał się przez niewielki okres czasu. W związku z tym, na całym świecie prowadzone są badania, mające na celu poszerzenie pasma wzbudzenia i uzyskanie efektywnego procesu fotokatalizy w zakresie promieniowania widzialnego VIS. Dzięki temu możliwe byłoby wykorzystanie odnawialnego źródła energii, jakim jest promieniowanie słoneczne [5]. Jedną z metod umożliwiających przesunięcie pasma wzbudzenia w stronę zakresu widzialnego (VIS) jest domieszkowanie TiO_2 . Obecnie na całym świecie prowadzone są badania dotyczące domieszkowania TiO_2 atomami metali [6] oraz niemetali [7]. Wciąż nie stworzono fotokatalizatora stale aktywnego w świetle widzialnym [5].

W niniejszej pracy powłoki TiO_2 o różnej zawartości Fe^{3+} naniesiono na podłoża krzemowe za pomocą metody RF PECVD (radio frequency plasma enhanced chemical vapour deposition). W oparciu o badania elipsometryczne wyznaczono współczynnik załamania światła, ekstynkcji oraz grubość powłok. Badania bakteriobójczości powłok pod wpływem naświetlania światłem w zakresie UV-B przeprowadzono wykorzystując bakterie *E. coli*.

Materiały i metody

Stanowisko do nanoszenia powłok ditlenku tytanu metodą RF PECVD przedstawiono na RYS.1. Składało się ono z trzech podstawowych elementów:

- Generators w.cz wraz z układem dopasowania mocy „matchbox”
- Komory reaktora z układem doprowadzania gazów roboczych oraz związków wyjściowych
- Układu próżniowego

well as self-cleaning coatings [2,3] is a natural consequence of that research. However, as for today, the TiO_2 coatings are still far from perfect. Their activation usually requires a use of the UV range of radiation and the effect is not a long lasting one. This is a reason why intensive research aimed at broadening the excitation band and bringing the effective photocatalysis into the visible range of radiation is carried out around the world. Such a development will make a use of renewable resources of sunlight possible [5]. One possible way that should enable the shift of excitation towards the visible range (VIS) of light is doping the TiO_2 . Although doping titanium dioxide with both metals [6] and non-metals [7] constitutes a subject of extensive investigations, an effective long-lasting photocatalyst, working in the visible range, has not yet been invented [5].

In the present work, TiO_2 coatings of different iron content were deposited onto silicon substrates with the radio frequency plasma enhanced chemical vapour deposition (RF PECVD) technique. Refractive index, extinction coefficient, and thickness of each coating were determined using ellipsometric measurements. Bactericidal properties of the films under conditions of UV-B illumination were studied with the use of *E. coli* strain of bacteria.

Materials and methods

An equipment for the RF PECVD deposition of titanium dioxide coatings, used In this work, is presented below, in FIG.1. Basically, the equipment consists of the following three elements:

- RF generator with the power matching unit „matchbox”
- Reactor chamber with the working media supply system
- Vacuum system

Źródłem tytanu był chlorek tytanu (IV) (TiCl_4). Przepływ par chlorku tytanu był stały. Temperatura ciekłego TiCl_4 w trakcie trwania procesu utrzymywana była na poziomie 0°C , a przepływ Ar (gazu nośnego par TiCl_4) wynosił 2 sccm. Źródłem żelaza w powłoce TiO_2 był pentakarbonyl żelaza $[\text{Fe}(\text{CO})_5]$. Temperatura tego ciekłego prekursora wynosiła 20°C , a jego przepływ był regulowany zaworem igłowym. Przepływ tlenu był stały i wynosił we wszystkich procesach 50 sccm. Parametry takie jak moc i czas wyładowania jarzeniowego także były stałe i wynosiły odpowiednio 300 W i 30 minut. Następnie powłoki poddano wygrzewaniu w temperaturach 500°C w czasie 1 godziny.

W oparciu o pomiar wykonany na elipsometrze A Woollam model V-VASE wyposażonym w monochromator HS-190 pracujący w zakresie długości fali od 250 nm do 1700 nm, wyznaczono parametry optyczne za pomocą programu WVase32 używając modeli teoretycznych Cauchy oraz Srough.

Do badań bakteriobójczości wykorzystano bakterie Escherichia Coli, szczep DH5 α . Zawiesinę bakteryjną w ilości 20 μl umieszczano na próbkach, a następnie poddawano procesowi naświetlania promieniowaniem UV o natężeniu $16 \text{ mW}/\text{cm}^2$ przez okres 4 minut. Przeżywalność bakterii była mierzona poprzez zliczanie żywych i martwych komórek bakteryjnych, na zdjęciach wykonanych mikroskopem fluorescencyjnym z zamontowaną kamerą cyfrową. Do obróbki obrazów wykorzystano program AnalySIS. Dla każdej próbki wykonano pięć oddzielnych pomiarów na różnych jej obszarach.

Wyniki i dyskusja

Badania elipsometryczne wykonano dla ośmiu powłok Fe- TiO_2 wytworzonych na podłożach krzemowych przy zawartościach procentowych żelaza: 0,1%, 0,4%, 0,8%, 1,1%, 2,3%, 5,6%, 11,5%, 27,3% Fe. Wyniki obliczonych wartości grubości, współczynników załamania światła oraz współczynników ekstynkcji zaprezentowano w TABELI 1. Z przedstawionych danych wynika, że im wyższa jest zawartość żelaza w powłoce, tym otrzymuje się grubsza powłokę. Dla powłoki, która zawierała 0,1% Fe grubość wynosiła 171 nm, z przy zawartości 27,3% Fe grubość powłoki zwiększyła się ponad dwukrotnie osiągając 375 nm.

TABELA 1. Wyniki badań elipsometrycznych powłok Fe- TiO_2 o różnych zawartościach żelaza.
TABLE 1. Results of ellipsometric measurements of optical parameters of iron doped TiO_2 coatings of different Fe content

Lp No	Zawartość żelaza Iron content [%]	Współczynnik załamania światła Refractive index	Współczynnik ekstynkcji Extinction coefficient	Grubość powłoki Coating thickness [nm]
1	0,1	2,35	0,00012	171
2	0,4	2,45	0,00457	176
3	0,8	2,31	0,00107	230
4	1,1	2,25	0,00782	168
5	2,3	2,20	0,00984	210
6	5,6	2,23	0,05430	224
7	11,5	1,99	0,03426	256
8	27,3	1,86	0,01629	375

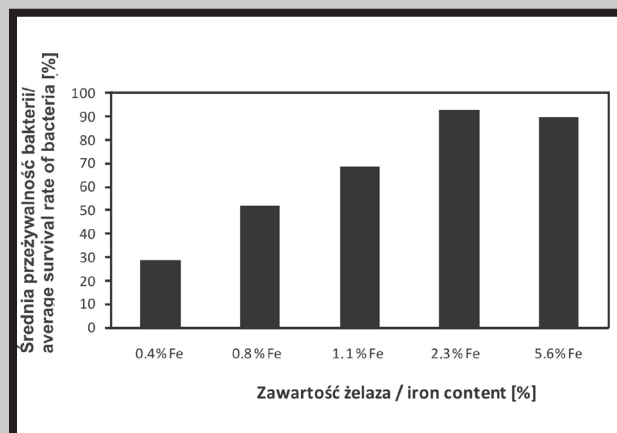
In the RF PECVD process, titanium chloride (IV) (TiCl_4) was used as a source of titanium. A steady flow rate of its vapours was assured by keeping the bubbler at constant temperature of 0°C and working with a constant flow rate of argon carrier gas equal 2 sccm. The source of iron comprised iron pentacarbonyl $[\text{Fe}(\text{CO})_5]$, directly evaporated at the room temperature and controlled by a needle valve. The flow rate of oxygen was kept at 50 ccm, while the glow discharge power and process duration amounted to 300 Watt and 30 minutes, respectively. The coatings, deposited at the above conditions, were then thermally annealed at 500°C for 1 hour.

Variable angle spectroscopic ellipsometry (VASE) was used to determine optical parameters of the coatings. A Woollam model V-VASE ellipsometer, equipped with HS-190 source and monochromator and working in the range of 250 nm to 1700 nm, was used for the purpose. Data processing was carried out with the help of WVase 32 software, and either Cauchy or Srough model were used for the best fitting of the results.

Bactericidity studies were performed with the use of Escherichia Coli bacteria, strain DH5 α . For that purpose, 20 μl of the bacterial suspension was placed on the sample surface and illuminated for 4 minutes with the UV light of an intensity of $16 \text{ mW}/\text{cm}^2$. Bacterial survivability was measured by means of counting live and dead cells in a field of view of a fluorescence microscope, equipped with a digital camera, with the AnalySIS software used for image processing. Five separate measurements were taken for different areas of each sample and their results were averaged.

Results and discussion

Ellipsometric measurements were carried out for eight samples containing 0.1%, 0.4%, 0.8%, 1.1%, 2.3%, 5.6%, 11.5%, 27.3% of iron, respectively. The results are presented in TABLE 1, below. As seen in the table, the thickness of a coating increases with the iron content: while it is only 171 nm for the film containing 0.1%, it amounts to 375 nm in the case of that containing 27.3% of iron. As far as the refractive index of the coatings is concerned, for the samples characterized by low iron content it is high and amounts to 2.45–3.3, the literature values for anatase [2]. An increase of iron concentration to 5% and above brings about a substantial decrease of refractive index, which in the case of Fe content of 27.3% amounts to 1.86 only.



RYS.2. Wpływ zawartości żelaza w powłoce TiO_2 na średnią przeżywalność bakterii E.coli po 4 minutach naświetlania promieniowaniem UVB.

FIG.2. An effect of iron content in the TiO_2 coating on an average survival rate of E.coli bacteria after 4 minutes of UV-B radiation.

W przypadku powłok o niskiej zawartości żelaza współczynnik załamania światła osiągał wysokie wartości w granicach od 3,30 do 2,45, które odpowiadają wartością literaturowym dla czystego anatazu [2]. Z kolei przy wyższych zawartościach żelaza powyżej 5% następuje gwałtowny spadek jego wartości do 1,86 (dla zawartości żelaza w powłoce równego 27,3%). Za tak niską wartość tego współczynnika odpowiedzialne są prawdopodobnie powstające tlenki żelaza. Wartość współczynnika ekstynkcji utrzymuje się na niskim poziomie, wynoszącym średnio $0,022 \pm 0,03$.

Badaniom bakteriobójczości pod wpływem naświetlania światłem z zakresu UV poddano sześć próbek ditlenku tytanu domieszkowanego jonami żelaza naniesionych na podłoże krzemowe. Jako próbkę kontrolną wykorzystano czystą płytkę krzemową. Wyniki przedstawiono na RYS.2. Na czystym krzemie przeżywalność bakterii wyniosła blisko 100%. Najmniejszą przeżywalnością odznaczała się powłoka o najniższej zawartości żelaza równej 0,4%. W tym przypadku przeżywalność wynosiła ok. 25%. Analizując zależność przedstawioną na RYS.2 można stwierdzić, że im wyższa jest zawartość żelaza w powłoce TiO_2 tym zmniejsza się bakteriobójczość tej powłoki.

Wnioski

Na podstawie danych uzyskanych podczas przeprowadzonych badań, można sformułować następujące wnioski:

- metodą RF PECVD możliwe jest wytworzenie powłok TiO_2 domieszkowanych żelazem o właściwościach fotokatalizacyjnych.
- Ilość domieszki w wytworzonej powłoce wpływa na jej grubość, parametry optyczne, oraz bakteriobójczość.
- Zaobserwowano najsilniejszy efekt bakteriobójczy dla powłok TiO_2 o niewielkich stężeniach żelaza do 1%.

Podziękowania

Badania przedstawione w niniejszej pracy były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach grantu własnego No N 508 482 638

It is very likely a formation of iron oxides that is responsible for the lowering of the refractive index in that case. The value of extinction coefficient, on the other hand, is relatively low and stable, on average amounting to 0.022 ± 0.03 .

Six samples of iron doped titanium dioxide deposited on silicon were subjected to the studies of UV stimulated bactericidal effect, with a plane silicon substrate used as a standard. The results are presented in FIG.2. The survivability on bacteria on silicon was high and it amounted to nearly 100%. The best bactericidal effect (bacteria survivability of approximately 25%) was exhibited by the coating containing the lowest iron content of 0.4%. As becomes evident from the FIG.2, the bactericidity of iron doped titanium dioxide coatings decreases with an increasing iron content in the film.

Conclusions

On the basis of the above data, the following conclusions are to be drawn:

- With the help of the RF PECVD technique, it is possible to produce iron doped titanium dioxide coatings characterized by photocatalytic properties.
- The content of iron dopant affects the coating thickness, its refractive index and bactericidity.
- The bactericidal effect of the coatings is the higher, the lower is the content of iron in that coating.

Acknowledgements

The work was supported by the National Science Centre in the framework of the project No N 508 482 638.

Piśmiennictwo

- [1] Hu Y., Tsai H.L., Huang C.L.: "Effect of brookite phase on the anatase-rutile transition in titania nanoparticles. J. Eur. Ceram. Soc. 23 (2003) 691-696.
- [2] Carp O., Huisman C.L., Reller A.: Photoinduced reactivity of titanium dioxide, Prog. in Solid St Chem. 32 (2004) 33-177.
- [3] Herrmann J.M.: Heterogeneous photocatalysis: state of the art and present applications. Top. Catal, 34 (2005) 49-65.
- [4] Yin Z.F., Wu.L., Yang H.G., Su Y.H.: Recent progress in biomedical applications of titanium dioxide. Phys. Chem. Chem. Phys. 15 (2013) 4844-4858.

References

- [5] Zaleska A.: Doped- TiO_2 : A Review. Rec. Patent Eng. 2 (2008) 157-164.
- [6] Long M., Cai W., Wang Z., Liu G.: Correlation of electronic structures and crystal structures with photocatalytic properties of undoped, N-doped and I-doped TiO_2 . Chem. Phys. Lett, 420 (2006) 71-76.
- [7] Mardare D., Iacomi F., Luca D.: Substrate and Fe-doping effects on the hydrophilic properties of TiO_2 thin films. Thin Solid Films 515 (2007) 6474-6478.

DEGRADACJA RUSZTOWAŃ KOLAGENOWYCH W WARUNKACH IN VITRO

JUSTYNA KOZŁOWSKA^{1*}, ALINA SIONKOWSKA¹,
ANNA BAJEK², ALDONA RYMKIEWICZ²

UNIWERSYTET MIKOŁAJA KOPERNIKA W TORUNIU:

¹WYDZIAŁ CHEMII, ZESPÓŁ BIOPOLIMERÓW,
UL. GAGARINA 7, 87-100 TORUŃ

²COLLEGIUM MEDICUM, IM. LUDWIKA RYDYGIERA,
ZAKŁAD INŻYNIERII TKANKOWEJ,
UL. KARŁOWICZA 24, 85-092 BYDGOSZCZ

*E-MAIL: JUSTYNAK@CHEM.UMK.PL

[*Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 34-36*]

Wprowadzenie

Kolagen jest powszechnie stosowany jako biomateriał. Białko to znalazło zastosowanie w wielu aplikacjach biomedycznych, a w szczególności w inżynierii tkankowej [1,2]. Wadą kolagenu jako biomateriału przeznaczonego do regeneracji uszkodzonych tkanek jest jego wysoka podatność na degradację in vitro, co prowadzi ostatecznie do obniżenia właściwości mechanicznych materiału [3]. Podjęto wiele starań, aby poprawić odporność na degradację materiałów kolagenowych. Jednym z rozwiązań jest modyfikacja tych biomateriałów metodą sieciowania przy użyciu różnych czynników sieciujących. Obecnie stosowane są zarówno chemiczne, jak i fizyczne czynniki sieciujące materiały białkowe [4,5].

Celem pracy było zmodyfikowanie materiałów kolagenowych przy użyciu fizycznych i chemicznych środków sieciujących. Aby porównać efektywność zastosowanych metod sieciowania, oznaczono stopień degradacji tych materiałów w warunkach in vitro. Ponadto wykonane zostały wstępne badania biologiczne, oceniające biogodność zmodyfikowanych materiałów kolagenowych.

Materiały i metodyka

Kolagen otrzymano ze ścięgien ogonów szczurzych w warunkach laboratoryjnych. Przygotowano 1% (w/w) roztwór kolagenu z liofilizatu tego białka. Metodą liofilizacji otrzymano wysoce porowate, trójwymiarowe materiały kolagenowe (skafoldy). W celu modyfikacji właściwości fizykochemicznych tych matryc zastosowano następujące metody sieciowania:

a) sieciowanie przy użyciu mieszaniny sieciującej EDC/NHS, gdzie EDC to 1-etylo-3(3-dimetyloaminopropyl)karbodiimid, natomiast NHS to imid N-hydroksy-kwasu bursztynowego,

b) próżniowa dehydratacja (DHT) w temperaturze 110°C prowadzona przez 24h,

c) kombinacja wyżej opisanych metod: DHT-EDC/NHS – próbki zmodyfikowano metodą dehydratacji próżniowej, po czym zastosowano sieciowanie chemiczne przy użyciu mieszaniny sieciującej EDC/NHS.

Próbki umieszczono w buforze PBS (pH=7,4) w temperaturze 37°C. Po 1, 2, 3, 7, 21 i 42 dniach próbki wyjmowano z buforu, trzykrotnie przemywano wodą dejonizowaną, po czym zamrażano i suszono sublimacyjnie w liofilizatorze do stałej masy. Po zważeniu próbek obliczono procentowy ubytek masy. Przedstawione wyniki są średnią z pomiarów wykonanych dla 3 próbek z każdego rodzaju.

IN VITRO DEGRADATION OF COLLAGEN SCAFFOLDS

JUSTYNA KOZŁOWSKA^{1*}, ALINA SIONKOWSKA¹,
ANNA BAJEK², ALDONA RYMKIEWICZ²

NICOLAUS COPERNICUS UNIVERSITY, TORUN, POLAND:

¹FACULTY OF CHEMISTRY, BIOPOLYMER RESEARCH GROUP,
7 GAGARIN STR., 87-100 TORUN, POLAND

²LUDWIK RYDYGIER COLLEGIUM MEDICUM,
DEPARTMENT OF TISSUE ENGINEERING,
24 KARLOWICZ STR., BYDGOSZCZ, POLAND

*E-MAIL: JUSTYNAK@CHEM.UMK.PL

[*Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 34-36*]

Introduction

Collagen is a highly versatile biomaterial. This protein has been used in a wide range of biomedical applications but mainly in the field of tissue repair [1,2]. The disadvantage of using collagen as a biomaterial for tissue repair is its high degradation rate, which leads rapidly to a loss of mechanical properties [3]. Many attempts have been made to overcome this problem. The physical properties of collagen biomaterials are improved by applying different crosslinking method. At present, different chemical and physical crosslinking methods are used for crosslinking of protein materials [4,5].

The aim of this study was to study the chemical and physical cross-linking of collagen scaffolds. To compare the effectiveness of different methods of crosslinking the in vitro degradation of collagen scaffolds were measured. Moreover, the biological tests were performed to verify biocompatibility of collagen matrices tested.

Materials and methods

Collagen was obtained in our laboratory from the tail tendons of young rats. Collagen solutions with concentrations of 1% (w/w) were prepared from lyophilized collagen in deionized water. The high porous collagen scaffolds were produced from a collagen solution using a freeze-drying technique. The lyophilized porous samples were stabilized using different treatment methods:

a) crosslinking with EDC/NHS, where EDC is N-(3-dimethylamino propyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride and NHS is N-hydroxysuccinimide,

b) dehydrothermal treatment (DHT) under a vacuum at a temperature of 110° C for 24h,

c) DHT and then crosslinking with EDC/NHS.

The samples were immersed in PBS (pH=7.4) at 37°C for 1, 2, 3, 7, 21 and 42 days. At each time point, they were removed from the PBS buffer, rinsed with deionization water three times, lyophilized and weighed. The percentage weight loss was calculated from dry weight before and after being immersed in PBS. The experiment was carried out for three samples and the average value was recorded.

Mouse fibroblast cell line 3T3 were seeded in the number of 1×10^6 cells/cm² and incubated for 7 days. After incubation, MTT assay was performed to assess the viability of 3T3 cells.

Ponadto wykonane zostały badania biologiczne materiałów kolagenowych. Do badań wykorzystano stałą linię fibroblastów mysich 3T3, które wysiewano w liczbie $1 \times 10^6 / \text{cm}^2$ biomateriału. Hodowlę prowadzono w pożywce w temperaturze 37°C przez 7 dni. Po tym okresie wykonano test MTT, by ocenić przeżywalność komórek.

Wyniki i ich omówienie

RYS.1 przedstawia wartości ubytków masy skafoldów kolagenowych usieciowanych metodami: EDC/NHS, DHT oraz DHT-EDC/NHS. Największy ubytek masy zaobserwowano w ciągu pierwszych siedmiu dni analizy. Po 7 dniach inkubacji w buforze PBS masa próbek zaczęła ulegać stopniowej stabilizacji. Po 42 dniach analizy próbki sieciowane przy użyciu EDC/NHS utraciły 26,8% początkowej masy, natomiast materiały sieciowane metodą DHT utraciły 31,3% początkowej masy. Największy ubytek masy zaobserwowano w przypadku próbki usieciowanej metodą DHT-EDC/NHS (32,9% po 42 dniach inkubacji w roztworze PBS).

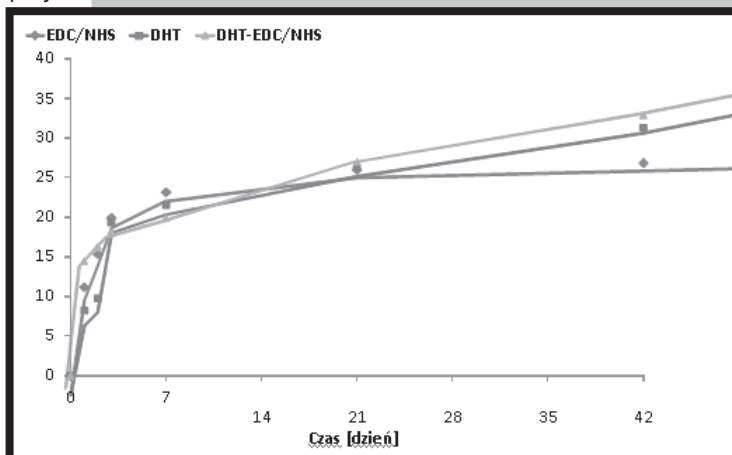
Cytotoksyczność badanych próbek wobec fibroblastów oznaczono za pomocą testu MTT.

Na RYS.2 przedstawiono zdjęcia materiałów kolagenowych po badaniach biologicznych w warunkach in vitro. Wyniki testu MTT wskazują, że wszystkie otrzymane materiały kolagenowe są biogodne. Jakościowa analiza intensywności zabarwienia MTT wskazuje, iż matryca kolagenowa usieciowana metodą dehydratacji próżniowej charakteryzuje się najlepszą biogodnością dla komórek. Komórki wniknęły do wnętrza porów materiału i równomiernie zasiedliły strukturę matrycy. Natomiast po usieciowaniu materiałów kolagenowych czynnikami chemicznymi – EDC/NHS – zaobserwowano mniej intensywne zabarwienie takich materiałów po teście MTT, co oznacza mniejszą liczbę żyjących komórek.

Results and discussion

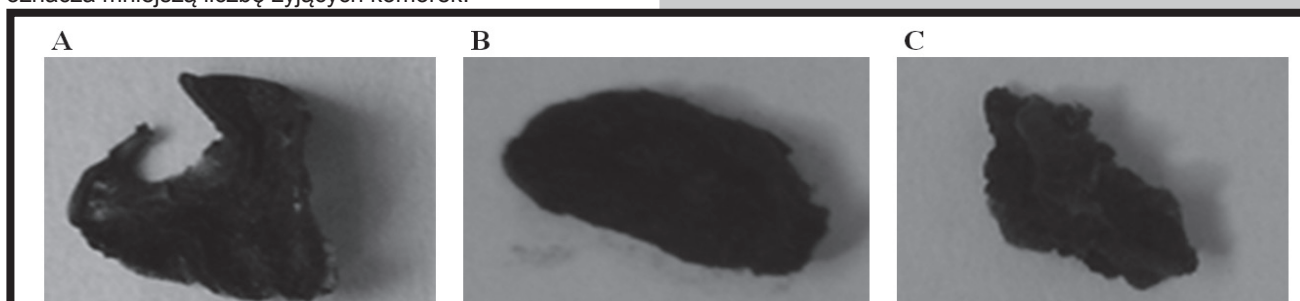
FIG.1 shows the weight loss of collagen scaffolds crosslinked by EDC/NHS, DHT and DHT-EDC/NHS. The biggest weight loss was observed during the first seven days of analysis. After 7 days the cross-linked collagen scaffolds dissolved slowly in PBS solution, losing: 26.8% for collagen scaffold cross-linked by EDC/NHS and 31.3% for collagen scaffold cross-linked by DHT. However, the collagen matrices crosslinked by DHT-EDC/NHS lost more weight during their period in PBS than the EDC/NHS and DHT crosslinked samples (32.9% in 42 days).

In this study, a MTT assay was carried out to measure the relative viability of fibroblasts. Photographs of prepared scaffolds after in vitro testing are shown in FIG.2.



RYS.1. Wartości ubytków masy w czasie matryc kolagenowych zanurzonych w buforze PBS w temp. 37°C .

FIG.1. Weight loss [%] of collagen scaffolds vs. time in PBS at 37°C .



RYS.2. Zdjęcia matryc kolagenowych usieciowanych przy użyciu: a) EDC/NHS, b) DHT; c) DHT-EDC/NHS.

FIG.2. Images of the collagen scaffolds crosslinked by: a) EDC/NHS, b) DHT; c) DHT-EDC/NHS.

Wnioski

Celem pracy było określenie stopnia degradacji usieciowanych materiałów kolagenowych, a także wstępna ocena ich właściwości biologicznych. Stopień degradacji wszystkich badanych próbek jest zbliżony i po 42 inkubacji w buforze PBS wynosi ok. 30%. Na podstawie uzyskanych wyników widzimy, że wszystkie próbki są dobrze tolerowane przez komórki. Najlepsze warunki dla przyczepności komórek oraz ich proliferacji zapewniła matryca kolagenowa zmodyfikowana metodą DHT, dzięki czemu może ona znaleźć zastosowanie w inżynierii tkankowej.

Podziękowania

Badania były współfinansowane z grantu Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika z dotacji statutowej dla młodych naukowców: Ch1494.

MTT test showed that all samples are biocompatible for the fibroblast 3T3. The qualitative analysis of color intensity resulting from MTT analysis shows that the collagen scaffold crosslinked by dehydrothermal treatment is the best matrix for the cell. The cells migrated into the pores of scaffold and were evenly distributed into the structure of scaffold. These results revealed that the DHT-crosslinked collagen scaffolds were noncytotoxic and benefitted the viability of cells. When EDC/NHS was used as crosslinking agent less living cells was observed after MTT test.

- [1] Cen L, Liu W, Cui L, Zhang W, Cao Y. Collagen tissue engineering: development of novel biomaterials and applications. *Pediatr Res* 2008;63:492-496.
- [2] Gee AO, Baker BM, Silverstein AM, et al. Fabrication and evaluation of biomimetic-synthetic nanofibrous composites for soft tissue regeneration. *Cell Tissue Res* (2012) 347:803-813.
- [3] Liu X, Ma PX. Polymeric scaffolds for bone tissue engineering. *Ann Biomed Eng* 2004;32:477-486.
- [4] Sionkowska A, Skopinska-Wisniewska J, Gawron M, Kozłowska J, Planecka A. Chemical and thermal cross-linking of collagen and elastin hydrolysates. *Int J Biol Macromol* 2010;47(4):570-577.
- [5] Parentau-Bareil R, Gauvin R, Berthod F. Collagen-based biomaterials for tissue engineering applications. *Materials* 2010;3(3):1863-1887.

WIELOWARSTWOWA UNIWERSALNA POWŁOKA OCHRONNO-TERAPEUTYCZNA NA IMPLANTY – KONTROLOWANE UWALNIANIE LEKU Z PARYLENU C MODYFIKOWANEGO PLAZMĄ TLENOWĄ

M.GOLDA^{1*}, K.GĘBAROWSKA², M.MUSIAŁ-KULIK²,
J.KASPERCZYK^{2,3}, A.KOTARBA¹

¹UNIERSYTET JAGIELLOŃSKI, WYDZIAŁ CHEMII,
UL. INGARDENA 3, 30-060 KRAKÓW, POLSKA

²POLSKA AKADEMIA NAUK,
CENTRUM MATERIAŁÓW POLIMEROWYCH I WĘGLOWYCH
UL. SKŁODOWSKIEJ-CURIE 34, 41-800 ZABRZE, POLSKA

³ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY,
WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY, KATEDRA BIOFARMACJI,
UL. NARCYZÓW 1, 41-200 SOSNOWIEC, POLSKA

*E-MAIL: GOLDA@CHEMIA.UJ.EDU.PL

Streszczenie

Opracowano wielowarstwową ochronną powłokę polimerową na bazie parylenu C, którą modyfikowano plazmą tlenową. Przeprowadzono badania składu chemicznego powierzchni (XPS) i Swobodnej Energii Powierzchniowej (kąta zwilżania, metoda Owens-Wendta) próbek modyfikowanego parylenu C. Otrzymano matryce z bioresorbowalnego kopolimeru L-laktydo-ko-glikolidu (PLGA) zawierające cząsteczki modelowego leku przeciwbólowego (ibuprofen), następnie matryce poddano degradacji hydrolytycznej oraz ocenie profilu uwalniania substancji leczniczej. Zmiany zachodzące w mikrostrukturze łańcucha kopolimerowego obserwowano przy wykorzystaniu wysokorozdzielczej spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), natomiast kinetykę uwalniania leku z matryc badano metodą wysokoprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

Słowa kluczowe: parylen C, plazma tlenowa, swobodna energia powierzchniowa, powierzchnia implantów, kontrolowane uwalnianie leków.

[Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 36-39]

Conclusions

In this study, we perform the degradation characterization and preliminary assessment of the biological performance of crosslinked collagen porous scaffolds. The degree of degradation of all samples was quite similar ($\approx 30\%$ in 42 days). Based on the obtained results, all samples are well tolerated by the cells. However, DHT-crosslinked scaffolds especially promoted the attachment and viability of cells and may serve as a suitable 3D matrix for tissue engineering applications.

Acknowledgments

This work was supported in part by the grant of Faculty of Chemistry Nicolaus Copernicus University Ch1494.

MULTILAYER VERSATILE PROTECTIVE AND THERAPEUTIC COATING FOR IMPLANTS - CONTROLLED DRUG DELIVERY FROM OXYGEN PLASMA TREATED PARYLENE-C

M.GOLDA^{1*}, K.GĘBAROWSKA², M.MUSIAŁ-KULIK²,
J.KASPERCZYK^{2,3}, A.KOTARBA¹

¹JAGIELLONIAN UNIVERSITY, FACULTY OF CHEMISTRY,
3 INGARDEN STR., 30-060 KRAKÓW, POLAND

²POLISH ACADEMY OF SCIENCES,
CENTRE OF POLYMER AND CARBON MATERIALS
34 SKŁODOWSKA-CURIE STR., 41-800 ZABRZE, POLAND

³MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, SCHOOL OF PHARMACY,
DEPARTMENT OF BIOPHARMACY,
1 NARCYZÓW STR., 41-200 SOSNOWIEC, POLAND

*E-MAIL: GOLDA@CHEMIA.UJ.EDU.PL

Abstract

The multilayer protective polymer coating based on parylene C modified with oxygen plasma was developed. The paper reports an investigation on surface chemical composition (XPS) and surface free energy (contact angle, Owens-Wendt) of modified parylene C. Bioresorbable L-lactide-co-glycolide copolymer (PLGA) was used to obtain drug-loaded matrices. The matrices underwent hydrolytic degradation and estimation of drug release profile. The microstructural changes which appeared during degradation were observed by means of high resolution nuclear magnetic spectroscopy (NMR). The kinetic profiles of drug release were investigated with high performance liquid chromatography (HPLC).

Keywords: parylene C, oxygen plasma, surface free energy, implant surface, controlled drug delivery [Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 36-39]

Wprowadzenie

Parylen C (poli(monochloro-p-ksylilen)) to syntetyczny polimer, który z powodzeniem stosowany jest jako powłoka chroniąca przed korozją powierzchnie implantów metalowych [1]. Jak wykazano w dotychczasowych badaniach, jego właściwości mechaniczne oraz chemiczna bierność w kontakcie z płynami fizjologicznymi pozwalają na wykorzystanie go jako materiał pokrywający różnego rodzaju implanty ortopedyczne [2]. Z drugiej strony jednym z głównym trendów badawczych w inżynierii materiałowej jest kontrolowane, domiejskowe uwalnianie leków z powierzchni implantowanych materiałów. W tym celu stosuje się chemiczne, fizyczne i mechaniczne metody modyfikacji powierzchni w celu przystosowania jej do kontrolowanego uwalniania leków lub przyłączenia warstwy biodegradowalnego polimeru z lekiem. Połączeniem metod chemicznej i fizycznej modyfikacji powierzchni polimerów jest plazma tlenowa, która umożliwia wprowadzenie w warstwę powierzchniową tlenu i utworzenie polarnych grup funkcyjnych. Kontrolując parametry działania plazmy (czas, ciśnienie, moc) można zmieniać topografię początkowo gładkiego polimeru w nanochropowatą, która promuje adhezję komórek ludzkich. Modyfikowana powierzchnia parylenu C umożliwia nałożenie warstwy terapeutycznej z lekiem przeciwniektynym lub przeciwzapalnym wymieszany z polimerem bioresorbowalnym. Obecnie dużym zainteresowaniem w tym kontekście cieszą się materiały polimerowe oparte na biokompatybilnych i bioresorbowalnych kopolimerach L-laktydu i glikolidu uzyskiwane przy udziale $Zr(acac)_4$ jako inicjatora. Ze względu na możliwość sterowania czasem resorpcji poprzez zastosowanie różnego udziału molowego komonomerów, wykorzystywane są one jako nośniki w systemach kontrolowanego uwalniania leków [3].

Materiały i metody

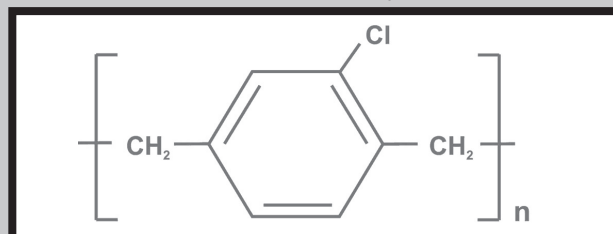
Parylen-C jest polimerową formą para-chloro-ksylilenu, którego wzór chemiczny (C_8H_7Cl) pokazano na RYS.1. Depozycja cienkich powłok o grubości 8 μm została wykonana za pomocą metody osadzania z fazy gazowej (CVD). Do modyfikacji powierzchni parylenu C i stworzenia centrów aktywnych do przyłączania innych cząsteczek wykorzystano plazmę tlenową. Eksperymenty modyfikacji powierzchni parylenu C przeprowadzono w urządzeniu Plasma System FEMTO Diener Electronics. Czas działania plazmy wynosił 0 i 60 min. Skład powierzchni był monitorowany przy pomocy spektroskopii fotoelektronów wzbudzonych promieniowaniem rentgenowskim (XPS) z analizatorem półsferycznym SES R4000 (GammaData Scienta). Źródłem promieniowania była lampa Mg K α (1486.6 eV) o mocy 350 W. Poziom próżni podczas pomiaru widm wynosił ok. 8×10^{-10} mbar. Otrzymane widma analizowano przy użyciu programu Casa- XPS 2.3.10. Do obliczeń swobodnej energii powierzchniowej (SEP) parylenu C metodą Owens-Wendta (WZÓR 1) wykorzystano pomiar kąta zwilżania wody destylowanej i diiodometanu przy użyciu aparatury SurfTens Universal i oprogramowania SurfTens 4.3 - WIPS. Badania wykonano w temperaturze pokojowej. Matryce kopolimerowe z PLGA z lekiem wylano i suszono w warunkach próżniowych. Następnie wycięto z nich krążki, które poddano degradacji hydrolytycznej w buforze fosforanowym w temperaturze 37°C w warunkach ciągłego wytrząsania. Krążki badano, rejestrując widma 1H i ^{13}C NMR oraz stosując technikę HPLC. Naniesienie warstwy kopolimerowej z lekiem na parylen C wykonano metodą zanurzeniową.

Introduction

Parylene C (poly(chloro-para-xylylene)) is a synthetic polymer, which can be used as anticorrosive protecting coating for metal implants surface [1]. As was reported before, its mechanical properties and chemical inertness when in contact with body fluids, allow to use parylene C as orthopaedic implants coating [2]. One of the recent research trends in the materials engineering is controlled, site-specific drug release from the surface of implanted materials. In order to obtain that, several chemical, physical and mechanical methods of surface modification can be applied to prepare the surface for the drug release or connection with the drug-loaded biodegradable polymer layer. Oxygen plasma treatment is the combination of chemical and physical modification which allows the incorporation of oxygen containing functional groups into the originally oxygen free polymers. The plasma parameters may be adjusted by a precisely controlling the process (oxygen partial pressure, power and exposition time) and therefore, the topography of the originally smooth polymer surface can be changed into rough, for better human cell adhesion. Modification allows also addition of the biodegradable therapeutical layer loaded with antibiotic or anti-inflammatory drug. Recently, much interest is paid to biocompatible and bioresorbable polymeric materials, as PLGA obtained via ring opening polymerization with use of $Zr(acac)_4$ as non-toxic initiator. These copolymers are commonly utilized in drug delivery systems due to possibility of comonomeric unit ratio moderating which can influence time of resorption [3].

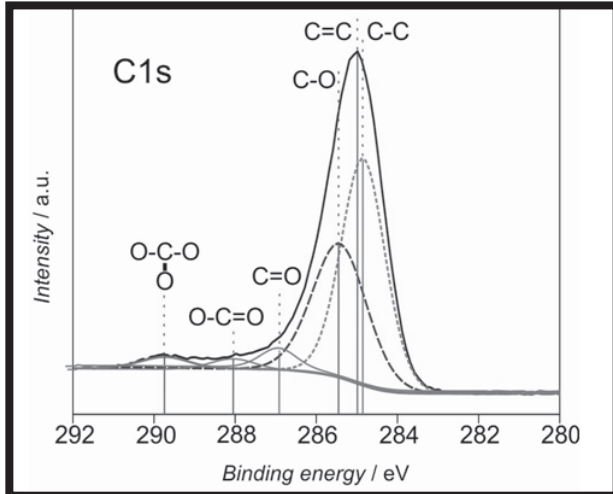
Materials and methods

Parylene-C is a polymeric form of para-chloro-xylylene, which monomer's chemical formula (C_8H_7Cl) is shown in FIG.1.



RYS.1. Wzór chemiczny monomeru parylenu C
FIG.1. Chemical formula of the parylene C monomer

Deposition of the thin films was performed via Chemical Vapor Deposition (CVD). For the tests, 8 μm films were used. In order to modify parylene C and create reactive sites for attachment of other compounds, polymer surface was treated with plasma of an oxidizing agent. A plasma system FEMTO (low-pressure plasma) manufactured by Diener Electronics was used. Time of plasma treatment was 0 and 60 min. The surface composition was monitored by X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS) analyses using an ultra high vacuum system equipped with SES R4000 (GammaData Scienta) analyzer. The un-monochromatic Mg K α source (1486.6 eV) operated at 350W was applied. The vacuum in the spectrometer chambers was better than 8×10^{-10} mbar. Collected XPS spectra were analyzed using Casa- XPS 2.3.10 software. The modification of the hydrophilic properties was evaluated via contact angles of distilled water and diiodomethane measurements with SurfTens Universal and SurfTens 4.3 - WIPS. The experiments were performed under ambient conditions. PLGA drug-loaded matrices were cast and dried in high vacuum.



RYS.2. Widmo XPS piku C1s dla modyfikowanej próbki parylenu C wraz z dekonwolucją identyfikującą powstałe grupy funkcyjne.
FIG.2. C1s XPS peak profile for the treated parylene C and its deconvolution identifying the formed functional groups.

Wyniki i dyskusja

Modyfikacja Parylenu C przy pomocy plazmy tlenowej prowadzi do zmian składu chemicznego i swobodnej energii powierzchniowej. Na RYS.2 pokazano widmo XPS uzyskane dla próbki parylenu C modyfikowanej plazmą tlenową przez 60 min z przypisanymi grupami funkcyjnymi powstałymi w wyniku modyfikacji. Dla Parylenu C niemodyfikowanego można zaobserwować maksimum C1s (285 eV), które koresponduje z wartościami energii dla wiązań C-C, C=C. Widmo uzyskane dla próbki modyfikowanej różni się znacznie kształtem maksimum węgla C1s. Można wyróżnić nowe składowe, które wskazują na stworzenie nowych grup zawierających tlen: C-O (285.4 eV), C=O (286.9 eV), O-C=O (288.0 eV), O-C(O)-O (289.7 eV) [3,4]. Energia powierzchniowa materiałów do zastosowań biologicznych ma szczególne znaczenie np. w procesie adhezji komórek, można ją obliczyć wykorzystując metodę Owens-Wendta. Jest to metoda powszechnie stosowana do obliczania swobodnej energii powierzchniowej polimerów. Wyniki pomiarów kąta zwilżania oraz obliczeń SEP przedstawiono w TABELI 1. Charakterystyczna wartość kąta zwilżania wody niemodyfikowanego parylenu wynosi 88°, po modyfikacji plazmą tlenową znacznie maleje do 17.6°. Wartość SEP dla niemodyfikowanej próbki parylenu C wynosi 42.4 mJ/m² i wzrasta do 70.0 mJ/m² dla próbki modyfikowanej. Jest to satysfakcjonująca wartość dla materiałów do zastosowań biologicznych, ponieważ wysokie wartości SEP korelują z szybszym wzrostem tkanek na powierzchni materiału. Analiza widm ¹H i ¹³C NMR pozwoliła na zbadanie zmian zachodzących podczas degradacji hydrolytycznej w obrębie łańcucha kopolimerowego [5]. Wyznaczono średnie długości bloków komonomerycznych, co pozwoliło stwierdzić, iż początkowym etapie uwalnianie były krótsze bloki laktydylowe, a pod koniec długie, natomiast w przypadku bloków glikolidylowych początkowo uwalniane były bloki dłuższe (RYS.3). Obliczona wartość współczynnika randomizacji wyniosła ponad 1.0, co wskazuje na statystyczną budowę matrycy kopolimerowych przez cały czas prowadzenia badań, co wpływa na równomierne uwalnianie substancji leczniczej. Badania przy pomocy HPLC wykazały, iż w ciągu pierwszych 7 tygodni badań z matrycy PLGA uwolniło się do 13% leku. W tym czasie nie zaobserwowano zjawiska 'burst effect' (RYS.4).

$$\gamma_s = \gamma_s^d + \gamma_s^p, \text{ gdzie/where:}$$

$$(\gamma_s^d)^{1/2} = \frac{\gamma_d(\cos\theta_d + 1) - \sqrt{(\gamma_d^p/\gamma_w^p)\gamma_w(\cos\theta_w + 1)}}{2\left(\sqrt{\gamma_d^d} - \sqrt{\gamma_d^p(\gamma_w^d/\gamma_w^p)}\right)}$$

$$(\gamma_s^p)^{1/2} = \frac{(\cos\theta_w + 1) - 2\sqrt{\gamma_s^d\gamma_w^d}}{2\sqrt{\gamma_w^p}}$$

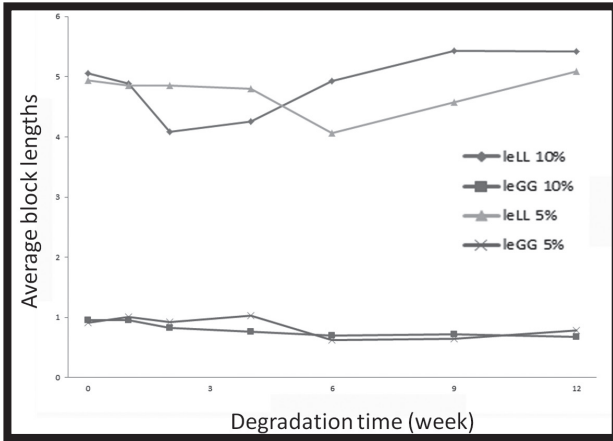
WZÓR 1 / EQUATION 1.

Gdzie: γ_s - energia swobodna powierzchni, γ_s^d - dyspersyjna składowa energii powierzchni, γ_s^p - składowa polarna energii swobodnej powierzchni, γ_d jest całkowitą energią swobodną diiodometanu, γ_d^p oraz γ_d^d jej składowymi odpowiednio polarną i dyspersyjną, analogiczne oznaczenia z dolnym indeksem - w odnośną się do wody. θ_d oraz θ_w to odpowiednio wartości kąta zwilżania diiodometanu i wody. Where: γ_s - surface free energy, γ_s^d - dispersive component of surface energy, γ_s^p - polar component of surface free energy, γ_d total free energy of diiodomethane, γ_d^p and γ_d^d polar and dispersive components of Total free energy of diiodomethane, similarly - Lower index w is for water. θ_d and θ_w - contact angles of diiodomethane and water, respectively.

Discs were cut from matrices and underwent hydrolytical degradation in phosphate buffer at 37°C. The discs were investigated by means of ¹H and ¹³C NMR spectroscopy and HPLC. Obtaining copolymeric layer on parylene C was performed by dip method.

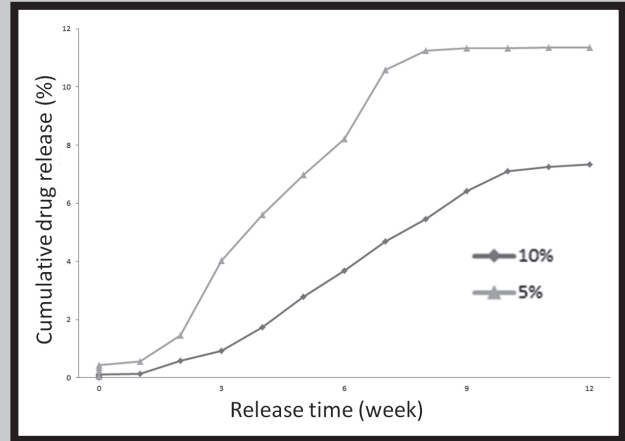
Results and discussions

Oxygen plasma modification of parylene C led to the changes in chemical composition and SFE. In FIG.2 the XPS spectra of modified parylene C is presented together with functional groups generated upon treatment. For the unmodified parylene C, the C1s peak (285 eV) can be observed which can be described as C-C and C=C bonds. In the case of the modified sample, several additional components, such as C-O (285.4 eV), C=O (286.9 eV), O-C=O (288.0 eV), O-C(O)-O (289.7 eV) can be distinguished [3,4] while spectra obtained for the unmodified sample has different shape. SFE of the materials for biological application is crucial eg. during the cell adhesion process and can be calculated using Owens-Wendt method (EQUATION 1). It is commonly used equation for SFE calculation of polymers. The results of the contact angle measurements and SFE are presented in TABLE 1. The contact angle of water for the untreated sample is 88° and after oxygen plasma modification it decreases to 17.6°. SFE value for the untreated sample is 42.4 mJ/m² and increases to 70.0 mJ/m² for the modified one. The SFE value is satisfactory for the biological materials as high SFE value correlates with faster tissue growth on the materials surface. Study of ¹H and ¹³C NMR spectra allowed investigation of the changes in the copolymer chain microstructure occurring during hydrolytical degradation. Average block lengths were estimated [5]. At the beginning, shorter lactidyl blocks were released in contrary to glycolidyl blocks (FIG.3).



RYS.3. Zmiana średnich długości bloków laktydylowych (l_{LL}^e) i glikolidylowych (l_{GG}^e) podczas degradacji matrycy PGLA z lekiem.

FIG.3. Changes of average lactidyl (l_{LL}^e) and glycolidyl (l_{GG}^e) block lengths during degradation of PGLA drug-loaded matrice.



RYS.4. Wykres kinetyczny kumulacyjnego uwalniania ibuprofenu z matrycy PLGA zawierającej 5 i 10% leku.

FIG.4. Kinetic of cumulative release of ibuprofenu from PLGA matrices containing 5 and 10% of drug.

TABELA. 1. Wyniki pomiarów kąta zwilżania i obliczeń swobodnej energii powierzchniowej metodą Owensa-Wendta.

TABLE 1. Results of the contact angle measurements and surface free energy calculations using Owens-Wendt method.

Próbka Sample	Ciecz Liquid	Kąt zwilżania Contact angle [θ]	Swobodna energia powierzchniowa Surface free energy [mJ/m ²]
Parylen niemodyfikowany Unmodified parylene C	H ₂ O	88.0 ± 5.1	42.4
	CH ₂ I ₂	34.4 ± 1.9	
Parylen modyfikowany Modified parylene C	H ₂ O	17.6 ± 0.8	70.0
	CH ₂ I ₂	34.0 ± 0.8	

Wnioski

Modyfikacja plazmą tlenową prowadzi do utworzenia na powierzchni parylenu C grup funkcyjnych zawierających tlen. Powoduje to wzrost hydrofilowości powłoki oraz swobodnej energii powierzchniowej, co zwiększa biogodność powierzchni materiału implantacyjnego. Powstałe grupy funkcyjne zawierające tlen sprzyjają również zaszczepieniu biodegradowalnego polimeru zawierającego cząsteczki leku. Zastosowany kopolimer pozwala na uwalnianie leku w sposób kontrolowany przez czas rzędu 7 tyg.

Podziękowania

Projekt realizowany w ramach programu Ventures Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej, współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej - Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego.

Piśmiennictwo

- [1] M.Cieślik, K.Engvall, J.Pan, A.Kotarba: Silane-parylene coating for improving corrosion resistance of stainless steel 316L implant material. *Corros. Sci.*, 53 (2011), pp. 296–301
- [2] M.Cieślik, S.Zimowski, M.Golda, K.Engvall, J.Pan, W.Rakowski, A.Kotarba: Engineering of bone fixation metal implants biointerface-Application of parylene C as versatile protective coating. *Mater. Sci. Eng. C*, 32 (2012), pp. 2431–2435

The randomization ratio was over 1.0 what indicates randomized copolymeric structure which is favorable to reach uniform drug release from matrices. HPLC results showed release of maximum 13% of drug from PLGA matrices during first 7 weeks of investigations and no burst effect was observed (FIG.4).

Conclusions

Oxygen plasma treatment is efficient in functional oxygen group formation on the parylene C surface. It results in increase of the coating hydrophilicity and surface free energy which influence biocompatibility of the implant material surface. Generated oxygen containing functional groups facilitate grafting of drug-loaded biodegradable polymer. The developed versatile coating allows for the controlled drug release for 7 weeks.

Acknowledgments

Project operated within the Foundation for Polish Science Ventures Programme, co-financed by the EU European Regional Development Fund.

References

- [3] J.W. Seong, K.W.Kim, Y.W.Beang, S.K.Koh, K.H.Yoon, J.H.Lee: Effects of ion bombardment with reactive gas environment on adhesion of Au films to Parylene C film. *Thin Solid Films*, 476 (2005), pp. 386–390.
- [4] K.G.Pruden, K.Sinclair, S.Beaudoin: Characterization of Parylene-N and Parylene-C photooxidation. *J Polym Sci A Polym Chem*, 41 (2003), pp. 1486–1496
- [5] Ch.Wischke A.T.Neffe, S.Steuer, A.Lendlein, *Journal of Controlled Release* 138 (2009) pp. 243-250

POWIERZCHNIOWA MODYFIKACJA STOPU TYTANU Z ZASTOSOWANIEM ELEKTROLITYCZNO- PLAZMOWEGO UTLENIANIA

JOANNA KARBOWNICZEK¹, MATEJ BUZGO², FAIZ MUHAFFEL³,
ALEKSANDRA CZYRSKA-FILEMONOWICZ¹

¹ AGH AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII METALI I INFORMATYKI PRZEMYSŁOWEJ,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLSKA

² AKADEMIA NAUK REPUBLIKI CZESKIEJ,
INSTYTUT MEDYCYNY EKSPERYMENTALNEJ,
VIDEŃSKÁ 1083, 142-20 PRAGA, CZECHY

³ UNIWERSYTET TECHNICZNY W STAMBULE,
34469 STAMBUL, TURCJA

*E-MAIL: JKARBOW@AGH.EDU.PL

Streszczenie

Implanty na bazie stopów tytanu są z powodzeniem stosowane w ortopedii i dentyście. W celu poprawienia integracji implantu z kością wykonano porowatą, hydroksyapatytową powłokę na stopie Ti-6Al-7Nb techniką elektrolityczno-plazmowego utleniania. Otrzymaną powłokę poddano analizie pod kątem mikrostruktury, chropowatości i składu fazowego. Dodatkowo wykonano wstępne badania in vitro.

Słowa kluczowe: Stop tytanu, elektrolityczno-plazmowe utlenianie, powłoka hydroksyapatytowa

[Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 40-42]

Wstęp

Stopy tytanu odgrywają istotną rolę w ortopedii i dentyście. Są stosowane zarówno na krótkoterminowe elementy takie jak śruby, czy płytki do osteosyntezy jak również trzpienie stawu biodrowego i implanty dentystryczne w długoterminowych zastosowaniach [1]. Pośród innych materiałów cechują się licznymi zaletami: niska waga, dobre własności mechaniczne, doskonała odporność korozyjna i biogodność. W przypadku długotrwałych implantów istotna jest integracja implantowanego materiału z otaczającymi tkankami [2]. Trzpień stawu biodrowego jest umieszczany bezpośrednio w kości udowej, czyli powierzchnia materiału wykonana ze stopu tytanu ma kontakt z tkanką kostną. W celu poprawienia połączenia implant-kość stosuje się różne rodzaje powierzchniowej obróbki, jedną z metod jest elektrolityczno-plazmowe utlenianie (PEO, lub MAO - ang. micro-arc oxidation). Zastosowanie tej techniki pozwala wytworzyć porowatą i silnie przylegającą warstwę TiO₂ na powierzchni implantu [3]. Dodatkowo w wyniku zastosowania w reakcji roztworu zawierającego jony Ca i P kryształ hydroksyapatytu (HAp) lub inne fosforany wapnia mogą zostać wbudowane w strukturę powstającej powłoki [4]. W poniższym artykule opisano wytwarzanie i charakterystykę jak również wstępne badania in vitro powłoki zawierającej HAp osadzonej na stopie Ti-6Al-7Nb techniką elektrolityczno-plazmowego utleniania.

SURFACE MODIFICATION OF TITANIUM ALLOY BY MICRO-ARC OXIDATION

JOANNA KARBOWNICZEK¹, MATEJ BUZGO², FAIZ MUHAFFEL³,
ALEKSANDRA CZYRSKA-FILEMONOWICZ¹

¹ AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
FACULTY OF METAL ENGINEERING AND
INDUSTRIAL COMPUTER SCIENCE,
30 MICKIEWICZ AVE., 30-059 KRAKOW, POLAND

² ACADEMY OF SCIENCES OF THE CZECH REPUBLIC
INSTITUTE OF EXPERIMENTAL MEDICINE,
VIDEŇSKÁ 1083, 142-20 PRAGUE, CZECH REPUBLIC

³ ISTANBUL TECHNICAL UNIVERSITY, 34469 ISTANBUL, TURKEY
*E-MAIL: JKARBOW@AGH.EDU.PL

Abstract

Titanium based implants are used both in orthopedics and dentistry. For better integration of implant with bone porous, hydroxyapatite crystals containing coating was deposited on Ti-6Al-7Nb alloy by micro-arc oxidation process. Microstructure, roughness and phases composition of the coating was analyzed. Moreover preliminary in vitro studies were done.

Keywords: Titanium alloy, micro-arc oxidation, hydroxyapatite coating

[Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 40-42]

Introduction

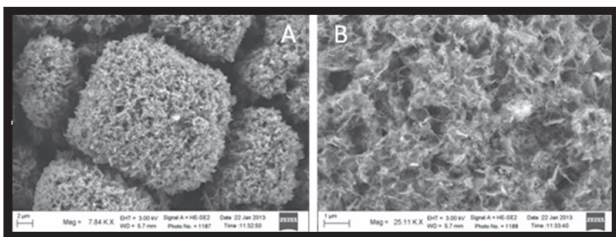
Titanium alloys play an important role in orthopedics and dentistry. They are used both in short-term applications like screws or plates to support the bone fracture healing as well as in long-term implants like stems of hip joints and dental implants [1]. Their advantages among other materials are: low weight, good mechanical properties, excellent corrosion resistance and biocompatibility. However in case of long-term applications of titanium alloys crucial is the integration of implanted material with surrounding tissues [2]. Stems of hip joints are placed directly into femur, thus the contact area is between the surface of the implant and the bone. To improve the integration of titanium based implants with bone different types of surface modifications were developed, one of the methods is micro-arc oxidation (MAO). With this technique it is possible to produce porous and strongly adherent TiO₂ films on Ti implants [3]. Furthermore, application of the solution containing Ca and P ions in MAO process can result in incorporation of hydroxyapatite (HAp) crystals or other calcium phosphates in the structure of the coating [4]. In this paper the preparation and characterization of HAp containing coating deposited on Ti-6Al-7Nb alloy by MAO process as well as preliminary in vitro study are presented.

Materiały i metody

Modyfikacja powierzchniowa próbek wykonanych z dwufazowego stopu tytanu ($\alpha+\beta$) Ti-6Al-7Nb dotyczyła osadzania powłoki z zastosowaniem techniki elektrolityczno-plazmowego utleniania. Roztwór użyty w reakcji zawierał fosforan sodu i octan wapnia. Proces był prowadzony z zastosowaniem prądu przemiennego, przyłożone napięcie wynosiło: 400 V (dodatni półokres), 80 V (ujemny półokres), a częstotliwość była równa 250 Hz, reakcję prowadzono przez 10 minut. Mikrostruktura otrzymanej powłoki była charakteryzowana za pomocą skaningowej i transmisyjnej mikroskopii elektronowej (SEM, TEM). Identyfikacja fazowa została przeprowadzona za pomocą dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego (XRD), a chropowatość była analizowana z zastosowaniem mikroskopu sił atomowych (AFM). W celu określenia biouzgodności otrzymanego materiału wykonano wstępne badania in vitro. Przeprowadzono jednodniową hodowlę mezenchymalnych komórek macierzystych na próbkach Ti-6Al-7Nb z powłoką i próbkach kontrolnych – niemodyfikowany stop tytanu. Adhezja komórek do powierzchni była oceniana za pomocą mikroskopu konfokalnego, natomiast żywotność i proliferację komórek analizowano poprzez testy aktywności enzymatycznej (MTS i alkalicznej fosfatazy) i zawartość DNA. Wszystkie badania fluorometryczne wykonano za pomocą czytnika mikroplitek.

Wyniki i dyskusja

Na zdjęciach ze skaningowego mikroskopu elektronowego widoczna jest porowata powłoka o rozwiniętej powierzchni (RYS. 1). Przy mniejszym powiększeniu (RYS. 1A) można obserwować klastrowy układ powłoki powstający w trakcie procesu PEO. Za pomocą mikroskopu sił atomowych wyznaczono średnią chropowatość $R_a=1,02 \mu\text{m}$ i maksymalną wysokość profilu chropowatości $R_{\text{max}}=5,74 \mu\text{m}$. Na dyfraktogramie (RYS.2) z analizy powierzchni otrzymanej powłoki zidentyfikowane zostały następujące fazy: $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ (w układzie heksagonalnym zwartym), CaTiO_3 (w układzie rombowym prymitywnym) and TiO_2 w postaci rutyli and anatazu. Na zdjęciach TEM (RYS.3) widoczne są nanokryształy HAp o wydłużonym kształci, jak również porowata struktura powłoki, na którą składają się otwarte pory o średnicy do $1 \mu\text{m}$ i zamknięte pory o średnicy do 500 nm. Po jednodniowej hodowli komórek na próbkach Ti-6Al-7Nb z powłoką i bez powłoki nie ma istotnych różnic w adhezji, proliferacji i aktywności enzymatycznej komórek rosnących na różnych powierzchniach.



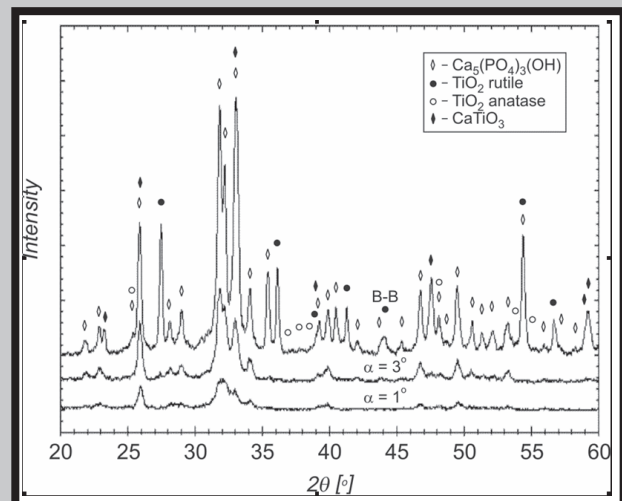
RYS.1 Zdjęcia SEM przedstawiające powierzchnię powłoki: A- ogólny widok, B- zbliżenie.
FIG.1 SEM images of deposited coating, A – general view, B – higher magnification image.

Materials and methods

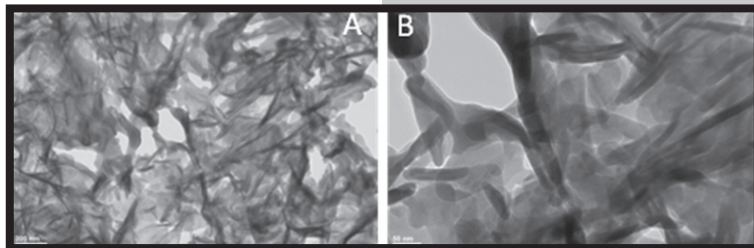
The work was performed on Ti-6Al-7Nb alloy, which belongs to the group of two phases titanium alloys ($\alpha+\beta$). Coating was deposited by MAO technique in solution containing sodium phosphate and calcium acetate hydrate. Process was carried out using the alternating current with applied voltage: 400 V (positive half cycle), 80 V (negative half cycle) and frequency 250 Hz, during 10 minutes. Microstructure of deposited coating was characterized by scanning and transmission electron microscopy (SEM, TEM). Phases identification was done by X-ray diffraction and roughness was analyzed by atomic force microscopy (AFM). To investigate the biocompatibility of obtained composite material preliminary in vitro studies were done. Coated samples and control samples (uncoated Ti-6Al-7Nb alloy) were seeded with mesenchymal stem cells (MSCs). After one day of the culture cells attachment was investigated by confocal microscopy. Cells proliferation and viability was analyzed by MTS assay (mitochondrial enzymes activity), alkaline phosphates (ALP) activity, and DNA concentration, all fluorometric tests were done with microplate reader.

Results and discussion

At SEM images highly developed and porous structure of deposited coating is clearly visible (FIG.1) With lower magnification (FIG.1A) it is possible to observe the clusters composition of the coating rising during MAO process. With AFM average roughness $R_a=1,02 \mu\text{m}$ and maximum roughness depth $R_{\text{max}}=5,74 \mu\text{m}$ were measured. X-ray diffraction pattern (FIG.2) of surface layer of analyzed sample showed the content of: $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ (hexagonal closed-packed), CaTiO_3 (orthorhombic primitive) and TiO_2 in form of rutile and anatase. At TEM images (FIG.3) HAp nanocrystals with needle-like shape were visible as well as porous structure of the coating composed of open pores with diameter up to $1 \mu\text{m}$ and closed pores with diameter up to 500 nm. Results of preliminary biocompatibility studies show no significant difference in cells adhesion, proliferation and enzyme activity between coated and uncoated Ti-6Al-7Nb alloy samples.



RYS.2 Dyfraktogram przedstawiający skład fazowy wierzchniej warstwy HAp powłoki.
FIG.2 X-ray diffraction pattern of the surface layer of deposited coating.



RYS.3. Zdjęcia TEM przedstawiające kryształy hydroksyapatytu, o wydłużonym kształcie wbudowane w strukturę powłoki: A- ogólny widok, B- zbliżenie.

FIG.3. TEM images showing needles-like shape hydroxyapatite crystals in the coating structure, A – general view, B – higher magnification image.

Wnioski

Elektrolityczno-plazmowe utlenianie jest łatwą i wydajną techniką powierzchniowej modyfikacji implantów medycznych na bazie stopu tytanu. Umożliwia osadzenie porowatej powłoki składającej się z TiO_2 , tlenku wapnia i tytanu oraz kryształów hydroksyapatytu. Struktura i skład otrzymanej powłoki powinny zapewnić lepszą integrację implantów z kością. Jednakże ta hipoteza wymaga dalszych, bardziej rozbudowanych badań biogodności.

Podziękowania

Badania zostały przeprowadzone w ramach projektu COST MP1005 "From nano to macro biomaterials (design, processing, characterization, modeling) and applications to stem cells regenerative orthopedic and dental medicine" (NAMABIO).

Conclusion

Micro-arc oxidation is a simple and efficient method of surface modification of titanium based medical implants. It enables deposition of porous coating composed of titanium dioxides, calcium titanate and hydroxyapatite crystals. Structure and composition of the coating should provide better integration of implant with bone tissue. However, this hypothesis requires further, more complex in vitro analysis.

Acknowledgments

The study was performed within the COST MP1005 Action on "From nano to macro biomaterials (design, processing, characterization, modeling) and applications to stem cells regenerative orthopedic and dental medicine" (NAMABIO).

Piśmiennictwo

- [1] D.D. Deligianni, N. Katsala, S. Ladas, D. Sotiropoulou, J. Amedee, Y.F. Missirlis: Effect of roughness of the titanium alloy Ti-6Al-4V on human bone marrow cell response and on protein adsorption. *Biomaterials* 22 (2001) 1241-1251.
- [2] P. Roach, D. Eglin, K. Rohde, C.C. Perry: Modern biomaterials: a review – bulk properties and implications of surface modifications. *J Mater Sci: Mater Med* 18 (2007) 1263-1277.

References

- [3] D.Y. Kim, M. Kim, H.E. Kim, Y.H. Koh, H.W. Kim, J.H. Jang: Formation of hydroxyapatite with porous TiO_2 layer by micro-arc oxidation coupled with electrophoretic deposition. *Acta Biomaterialia* 5 (2009) 2196-2205.
- [4] H. Cimenoglu, M. Gunyuz, G.T. Kose, M. Baydogan, F. Ugurlu, C. Sener: Micro-arc oxidation of Ti-6Al-4V and Ti-6Al-7Nb alloys for biomedical applications. *Materials Characterization* 62 (2011) 304-311.

WPLÝW CYKLICZNEGO ZAMRAŻANIA I ROZMRAŻANIA NA WŁAŚCIWOŚCI MATERIAŁÓW KOLAGENOWYCH

J.SKOPINSKA-WISNIEWSKA*, A.SIONKOWSKA, A.BAJEK, A.BACZIS-MACIKOWSKA

UNIWERSYTET MIKOŁAJA KOPERNIKA, WYDZIAŁ CHEMII,
UL. GAGARINA 7, 87-100 TORUŃ, POLSKA,
*E-MAIL: JOANNA@CHEM.UNI.TORUN.PL

[*Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 43-45*]

Wstęp

Inżynieria tkankowa to dynamicznie rozwijająca się gałąź medycyny regeneracyjnej. Wykorzystuje ona różnego rodzaju materiały polimerowe jako rusztowania do hodowli komórek. Materiały te muszą sprostać szczególnym wymaganiom stawianym przez inżynierię tkankową. Od rusztowań dla hodowli tkankowych oczekuje się by były biokompatybilne i posiadały odpowiednie właściwości mechaniczne. Materiały te muszą być nietoksyczne i z upływem czasu ulegać degradacji z wytworzeniem bezpiecznych, łatwych do usunięcia z organizmu produktów. Materiały te muszą także wykazywać odpowiednią porowatość konieczną dla umożliwienia migracji komórkom oraz transportu gazów, substancji odżywczych, metabolitów i czynników wzrostu. Powinny zapewniać warunki do proliferacji i różnicowania komórek, a w efekcie do produkcji nowej macierzy zewnątrzkomórkowej. Stąd też, uwaga wielu badaczy skupia się na uzyskaniu odpowiednich porowatych biomateriałów lub hydrożeli. Obecnie stosowanych jest wiele metod pozwalających na uzyskanie materiałów tego typu, m.in. liofilizacja, sporządzanie materiałów zawierających sól jako porogenu, czy technika wykorzystująca żelowanie roztworów polimerowych w temperaturze poniżej zera [1]. Kryształy zamrożonego rozpuszczalnika występują wówczas w roli czynnika porotwórczego. Po rozmrożeniu powstają puste przestrzenie tworzące system połączonych porów [2]. Metoda ta jest wykorzystywana to otrzymywania hydrożeli dla inżynierii tkankowej opartych np. na poli(alkoholu winylowym) i żelatynie [3-5].

Kolagen to jeden ze składników macierzy zewnątrzkomórkowej. Jest biokompatybilny, nietoksyczny, nieantygenny, biodegradowalny, wspiera adhezję i proliferację komórek. Właściwości te sprawiły, że kolagen jest jednym z najczęściej stosowanych materiałów w inżynierii tkankowej. Białko to posiada znakomite właściwości mechaniczne w stanie natywnym, jednak podczas izolacji z tkanek traci je na skutek niszczenia struktury. Jednakże, jego znakomite właściwości biologiczne pozostają niezmiennione. Obecnie testuje się różne metody modyfikacji kolagenu. W celu poprawy parametrów mechanicznych najczęściej stosuje się sieciowanie chemiczne. Należy jednak pamiętać, że nawet niewielki dodatek kolejnych reagentów może niekorzystnie wpływać na właściwości biologiczne materiału.

Z tego względu celem pracy było zbadanie wpływu cyklicznego zamrażania i rozmrażania na właściwości powstającego żelu kolagenowego.

FREEZE-THAWING PROCESSING OF COLLAGEN

J.SKOPINSKA-WISNIEWSKA*, A.SIONKOWSKA, A.BAJEK, A.BACZIS-MACIKOWSKA

NICOLAUS COPERNICUS UNIVERSITY, FACULTY OF CHEMISTRY,
7 GAGARIN STR., 87-100 TORUŃ, POLAND
*E-MAIL: JOANNA@CHEM.UNI.TORUN.PL

[*Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 43-45*]

Introduction

Tissue engineering is a rapidly growing field of regenerative medicine. It employs a number of polymeric materials as a support for cell cultures. The materials applied for tissue engineering have to meet some specified requirements. The scaffolds should be biocompatible and possess appropriate mechanical properties. The materials must be non-toxic and, over the time, the scaffolds should degrade into safe components which can be easily eliminated from the body. The highly porous three-dimensional structure is also necessary in order to provide sufficient space and surface for cell seeding. The interconnected pores permit transport of gases, nutrients, and regulatory factors to allow cell survival, proliferation, differentiation and finally ECM fabrication. So, the attention of several groups of researchers is focused on developing of porous biomaterials and hydrogels, which are highly swollen polymer networks. Nowadays, some methods of fabrication of this kind of scaffolds are achieved, e.g. freeze-drying and salt leaching [1]. The scaffold can be also synthesized via cryogelation technology which involves the sub-zero incubation of polymer solutions. The crystals of frozen solvent occur as a pore-forming agents. After melting they leave voids and the system of interconnected pores is created inside the gel [2]. This method is applied for the preparation of gels for tissue engineering based on e.g. poly(vinyl alcohol) and gelatin [3-5].

Collagen is a component of extracellular matrix. It is biocompatible, non-toxic, non-antigenic, biodegradable and promotes cell adhesion and proliferation. This makes the collagen as a one of the most commonly used material in tissue engineering. It possess very attractive mechanical properties in native state but during isolation from tissues its unique structure is destroyed what significantly affects the strength of the materials. However, it still has an excellent biological properties. Currently, the various methods of modifications of the collagen are tested. Especially chemical cross-linking is the widely used method of improving mechanical parameters of collagen. However, it has to be noticed, that addition of chemicals can affect the biological properties of the material.

Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of freezing and thawing on the properties of collagen gel.

Z kolagenu wyizolowanego ze ścięgien ogonowych młodych szczurów albinosów sporządzono roztwór w 0,1 M kwasie octowym [6]. Roztwór poddano dializie w tubach dializacyjnych względem wody dejonizowanej. Następnie kolagen poddano zamrażaniu w temp. -20°C oraz rozmrażaniu w temp. pokojowej. Zastosowano jeden i pięć cykli zamrażania-rozmrażania.

Wyniki i dyskusja

Cykliczne zamrażanie i rozmrażanie jest z powodzeniem stosowane do otrzymywania stabilnych, sztywnych żeli żelatynowych. Z tego względu zdecydowano o wykorzystaniu tej metody do uzyskania żeli na bazie niedenaturowanego kolagenu. Żele kolagenowe zamrażano w postaci cylindrów o średnicy 16 mm i wysokości 10 mm. Zaobserwowano jednak, że podczas rozmrażania żele traciły znaczną ilość wody, a ich kształt ulegał zmianie. Z tego względu, końcowe rozmrażanie prowadzono w wodzie. Żele, które pięciokrotnie poddawano zamrażaniu i rozmrażaniu wydawały się znacznie sztywniejsze niż żele zamrażane jeden raz. Jednak testy mechaniczne wykazały, że moduł ściskania maleje wraz ze zwiększeniem liczby cykli zamrażania i rozmrażania (TABELA 1.).

TABELA 1. Wartości modułu ściskania żeli kolagenowych niemrożonych oraz poddanych 1 i 5 cyklom mrożenia i rozmrażania.

TABLE 1. The values of compression modulus of collagen materials non-frozen and freeze-thawed 1 and 5 times.

Próbka Specimen	E_{mod}
collagen	0,821
collagen freezed 1x	0,609
collagen freezed 5x	0,513

Także zdolność pęcznienia w roztworze buforu fosforanowego maleje wskutek zamrażania i rozmrażania materiałów kolagenowych (RYS.1.). Wszystkie próbki wykazywały znaczną absorpcję PBS w ciągu pierwszych 4 godzin inkubacji, a następnie stopień spęcznienia ulegał stabilizacji. Niemodyfikowane materiały kolagenowe wykazywały najwyższą zdolność do pęcznienia w PBS (stopień spęcznienia ok. 2000%), podczas gdy żele poddane zamrażaniu i rozmrażaniu absorbowały 1700% i 1600%. Zaobserwowano jednak, że po 24 godzinach spęcznienia, wszystkie materiały charakteryzowały się podobnymi właściwościami.

Dokonano pomiaru kąta zwilżania powierzchni materiałów kolagenowych przy użyciu gliceryny i diiodometanu oraz obliczono swobodną energię powierzchniową metodą Owensa-Wendta. Wyniki przedstawiono w TABELI 2. Najniższą wartość swobodnej energii powierzchniowej zaobserwowano dla niemodyfikowanego materiału kolagenowego. Po 1 i 5 cyklach mrożenia-rozmrażania wartość tego parametru wzrosła. Uzyskane wyniki wskazują także na zwiększenie polarności badanych powierzchni na skutek zamrażania. Zmiany te mogą prowadzić do poprawienia adhezji komórek do powierzchni materiału.

Materials and methods

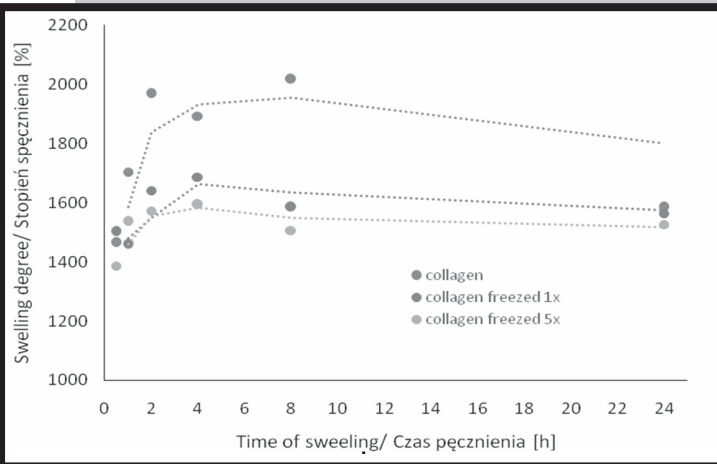
The solution of collagen from tail tendons of young albino rats in 0,1 M acetic acid was obtained in our laboratory [6]. This solution was poured into dialysis bag and neutralized during dialysis process against deionised water. The collagen was frozen at -20°C for 12h and then allowed to thaw at room temperature. One and five freezing-thawing cycles were performed for the samples of collagen.

Results and discussion

The freeze-thawing process is successfully used for the preparation of stable, stiff gelatin gels. So, we decided to employ this method to obtain gels based on non-denatured collagen. The collagen gels were frozen in a form of completely swollen cylinders with diameter of 16 mm and height 10 mm. However, during thawing, the gels have lost a significant amount of water and they shapes were changed. For this reason, the final thawing was carried out in water. The gels, which were frozen and thawed five times seemed stiffer than the frozen one time. But the mechanical tests showed that the compression modulus decrease with increasing number of cycles of freezing and thawing (TABLE 1.).

Also, the swelling ability in the PBS buffer decreased after freezing and thawing of the collagen materials (FIG.1). All the samples swelled dynamically during the first 4 hours and then followed by stabilization of swelling degree. The unfrozen material exhibited the highest swelling degree of PBS (approx. 2000%), while the frozen materials absorbed about 1700% and 1600%. However, after 24h of incubation in PBS buffer all the samples showed similar properties.

The contact angle measurements were made using the glycerol and diiodomethane, and the surface free energy was calculated by Owens-Wendt method. The results are presented in the TABLE 2. The value of surface free energy was the lowest for untreated collagen and increased after 1 and 5 freeze-thawing cycles. Moreover, the results proved that the surfaces of frozen collagen gels were more polar than of the non-modified material. This changes of the surface properties may lead to the improvement of cell adhesion ability of the material.



RYS.1. Stopień spęcznienia (E_s) materiałów kolagenowych w roztworze buforu fosforanowego.

FIG.1. The swelling degree (E_s) of collagen materials in PBS buffer.

TABELA 2. Wartości swobodnej energii powierzchniowej oraz jej składowej polarnej dla żeli kolagenowych niemrożonych oraz poddanych 1 i 5 cyklom mrożenia i rozmrażania.

TABLE 2. The surface free energy (IFT (s)) and its polar component (IFT (s,P)) of collagen materials non-frozen and freeze-thawed 1 and 5 times.

Próbka Specimen	IFT(s)	IFT(s,P)
collagen	21,25	10,19
collagen freezed 1x	25,12	20,2
collagen fereezed 5x	26,45	17,9

Wnioski

Badania wykazały, że właściwości materiałów kolagenowych poddanych cyklicznemu zamrażaniu i rozmrażaniu uległy znaczącej zmianie. Właściwości mechaniczne oraz zdolność pęcznienia żeli uległy pogorszeniu po modyfikacji podczas gdy polarność ich powierzchni wzrosła. Należy jednak stwierdzić, że w przypadku kolagenu metoda polegająca na cyklicznym zamrażaniu i rozmrażaniu materiału nie daje tak dobrych rezultatów jak w przypadku żelatyny

Podziękowania

Przeprowadzone badania były finansowane z grantu Narodowego Centrum Nauki (NCN, Poland, Grant no: UMO-2011/03/D/ST8/04600).

Conclusions

The our study showed that the properties of collagen gels were changing after freeze-thawing process. The mechanical properties and swelling ability were deteriorated, while the polarity of the surface increase after modification. However, it should be noted that, in the case of collagen this method does not give as good results as in the case of gelatin.

Acknowledgments

The authors would like to thank the National Science Centre (NCN, Poland, Grant no: UMO-2011/03/D/ST8/04600) for providing financial support to this project.

Piśmiennictwo

- [1] H.-W. Kang, Y. Tabata, Y. Ikada, Fabrication of porous gelatin scaffolds for tissue engineering, *Biomaterials* 20 (1999) 1339-1344
- [2] V.I. Lozinsky, I.Y. Galaev, F.M. Plieva, I.N. Savina, H.Jungvid, B. Mattiasson, Polymeric cryogels as promising materials of biotechnological interest, *Trends in Biotechnology* 21 (2003) 445-451
- [3] M. Lee, H. Bae, S. Lee, N. Chung, H. Lee, S. Choi, S. Hwang, J. Lee, Freezing/thawing processing of PVA in the preparation of structured microspheres for protein drug delivery, *Macromolecular Research* 19 (2011) 130-136

References

- [4] I. Inci, H. Kirsebom, I.Y. Galev, B. Mattiasson, E. Piskin, Gelatin cryogels crosslinked with oxidized dextran and containing freshly formed hydroxyapatite as potential bone tissue-engineering scaffolds, *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 7 (2013) 584-588
- [5] N.E. Vrana, P.A. Cahill, G.B. McGuinness, Endothelialization of PVA/gelatin cryogels for vascular tissueengineering: Effect of disturbed shear stress conditions, *Journal of Biomedical Materials Research A* 94 (2010) 1080-1090
- [6] J. Skopińska-Wiśniewska, A. Sionkowska, A. Kamińska, A. Kaźnica, R. Joachimiak, T. Drewna, Surface characterization of collagen/elastin based biomaterials for tissue regeneration, *Applied Surface Science*, 2009, 255, 8286-8292

ZOL-ŻELOWE RUSZTOWANIA BIOKOMPOZYTOWE DLA REGENERACJI TKANKI KOSTNEJ

MARTA BALTRUKIEWICZ*, ŁUKASZ JOHN, PIOTR SOBOTA

UNIWERSYTET WROCŁAWSKI, WYDZIAŁ CHEMII,
UL. F.JOLIOT-CURIE 14, 50-383 WROCŁAW, POLSKA
*E-MAIL: MARTA.BALTRUKIEWICZ@CHEM.UNI.WROC.PL

Abstract

W ciągu ostatniej dekady nastąpił gwałtowny rozwój inżynierii biomateriałów, inspirowany rosnącym zapotrzebowaniem na materiały zastępujące chory bądź uszkodzony organ oraz stymulujące regenerację tkanek. Tematyka naszych badań, z pogranicza chemii oraz inżynierii materiałowej, dotyczy funkcjonalnych materiałów kompozytowych, należących do III generacji biomateriałów - materiałów bionicznych, które mogą być stosowane jako protezy układu kostnego człowieka.

Naszym celem było opracowanie optymalnej metody funkcjonalizowania organiczno-nieorganicznych biomimetycznych materiałów kompozytowych, wcześniej otrzymanych i scharakteryzowanych w naszym zespole. [1] Materiały kompozytowe otrzymano techniką zol-żel, która zapewnia równomierną dystrybucję wprowadzonych substancji w matrycy, a następnie formowano w trójwymiarowe rusztowania (skafoldy, ang. scaffolds) techniką odlewania połączonego z wymywaniem cząstek, z użyciem cukru i węgla amonowego, jako porogenu i czynnika modyfikującego powierzchnię. [1]

Trójwymiarowe skafoldy (RYS.1a i b) posiadają morfologię analogiczną do kości gąbczastej - system połączonej, otwartych porów o wielkości 150-300 µm oraz chropowatość w zakresie 0.2-7 µm - cechy te stwarzają możliwość adhezji i proliferacji komórek oraz stwarzają możliwość funkcjonalizowania. Wprowadzanie do matrycy czynników funkcjonalizujących, głównie cząsteczek organicznych, ma na celu wzbogacanie lub zmianę charakteru wyjściowego materiału np. zmianę rozpuszczalności materiału, lub efektywniejsze wiązanie czynników wzrostu czy leków. Najbardziej ciekawe z punktu widzenia medycyny regeneracyjnej są badania nad wprowadzaniem substancji farmakologicznie czynnych do matrycy kompozytowej, co prowadzi do otrzymywania układów o kontrolowanym dostarczaniu leków do miejsca przeznaczenia (DDS-ang. drug delivery system), a trójwymiarowe biomateriały układu kostnego wydają się być doskonałym nośnikiem dla cząsteczek leków.

SOL-GEL DERIVED BIOCOMPOSITE SCAFFOLDS FOR BONE TISSUE REGENERATION

MARTA BALTRUKIEWICZ*, ŁUKASZ JOHN, PIOTR SOBOTA

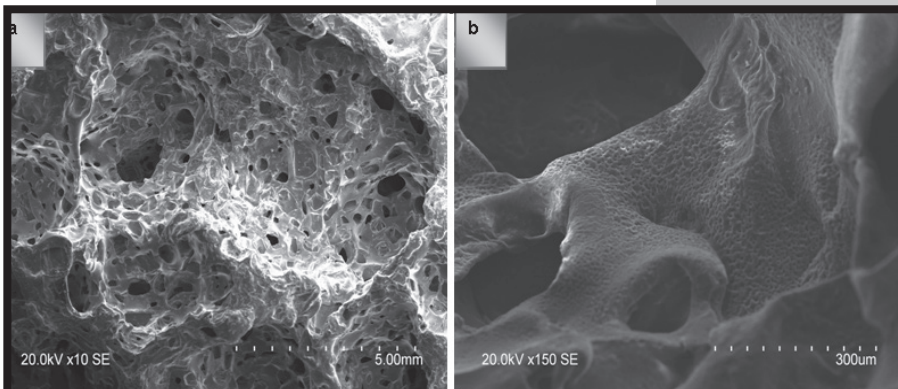
UNIVERSITY OF WROCLAW, FACULTY OF CHEMISTRY,
14 F.JOLIOT-CURIE STR., 50-383 WROCLAW, POLAND
*E-MAIL: MARTA.BALTRUKIEWICZ@CHEM.UNI.WROC.PL

Abstract

Over the last decade there has been a rapid development of bio-engineering, inspired by the growing demand for materials to replace damaged parts of the body and stimulate tissue regeneration. Our research, on the border of chemistry and materials science, concerns the development of functional composite materials, belonging to the third generation of biomaterials - bionic materials, that can be used as an artificial human bone.

Our research was focused on development an optimal, novel method of functionalization biomimetic organic-inorganic composite materials, previously obtained and characterized in our research team. [1] Materials were synthesized via the sol-gel technique, which allows even distribution of substances introduced into the composite matrix, and then formed as three-dimensional scaffolds using a particulate leaching technique in which sugar and ammonium carbonate were used as porogen and factor for surface modification. [1]

Three-dimensional scaffolds (FIG.1a and b) possess morphology similar to the cancellous bone - the system of interconnected, open-pore size 150 - 300 µm and a surface roughness of 0.2 - 7 µm - these features provide an opportunity for cell adhesion and proliferation and create a great potential for functionalization process. Introduction of functionalization agents, mainly an organic molecules, enhance or modify the nature of the starting material, such as changing the solubility of material or more efficient binding of growth factors or drugs. The most attractive, from regenerative medicine point of view, are studies on introduction of a pharmacologically active substances into the matrix, which leads to controlled drug delivery systems (DDS) and a three-dimensional skeletal biomaterials provide an excellent carrier for drug molecules.



RYS.1. Obrazy SEM biorusztowania hybrydowego otrzymanego w naszym laboratorium: (a) 10-krotne powiększenie, (b) 150-krotne powiększenie ukazujące chropowatą powierzchnię materiału.
FIG.1. SEM images of hybrid scaffolds obtained in our laboratory: (a) 10-fold magnification, (b) 150-fold magnification, showing a rough surface of the material.

Biokompozyty zostały otrzymane techniką zol-żel z wykorzystaniem komponentów organicznych: poli(metakrylanu 2-hydroksyetylu) (HEMA) i etenyłotrietoksylanu (TEVS). Substraty zostały wybrane ze względu na obecność ugrupowań winylowych, które oprócz polimeryzacji z utworzeniem wiązań C-C, mogą tworzyć połączenia typu cross-linking $-(O-CH_2-Si-O)_n$, odpowiedzialne są za powstawanie mezoporowatej matrycy kompozytowej. Z kolei, obecność grup alkoksylowych w związku krzemu umożliwia hydroлизę i polikondensację z utworzeniem sieci połączeń $-Si-O-Si-$ oraz grup silanolowych $\equiv Si-OH$. Obecność tych ugrupowań inicjuje wymianę jonów pomiędzy płynem biologicznym a materiałem, co także umożliwi krystalizację związków bogatych w wapń i fosfor na amorficznej powierzchni kompozytu (głównie HAp) (RYS.2).

Biorusztowania materiałów kompozytowych zostały także poddane procesowi syntetycznego pokrywania hydroksyapatytem (HAp), reakcja typu „one-pot” przeprowadzona była w nieskomplikowany i efektywny sposób. [4] Obrazy SEM (RYS.3) przedstawiają materiał równomiernie pokryty kryształami o kształcie przypominającym kwiaty („flower like shape”) - określenie to odnosi się do syntetycznego hydroksyapatytu. [3]

Obecność grup $\equiv Si-OH$ na powierzchni badanych materiałów jest niezbędna dla procesu funkcjonalizowania, ponieważ grupy te oddziałują z cząsteczkami organicznymi, posiadającymi takie grupy funkcyjne jak aminowa czy hydroksylowa (R), tworząc wiązania wodorowe lub słabe oddziaływania (typu π -stacking).

Matryca kompozytowa funkcjonalizowana była techniką współkondensacji („one-pot”) oraz silylowania (RYS.4) z użyciem 3-aminopropylotrimetoksylanu (APTMS) w atmosferze inertej.

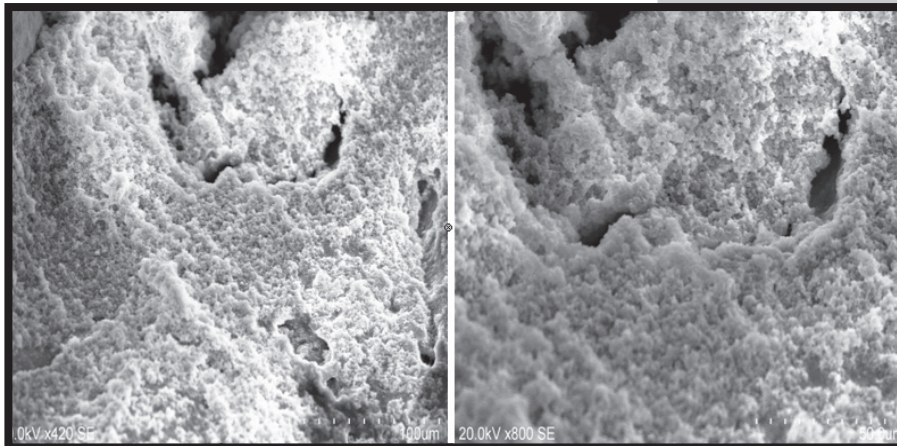
The biocomposites were prepared by combining organic components: 2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA) and triethoxyvinylsilane (TEVS) via sol-gel technique. These compounds were chosen because of the presence of vinyl groups, which in addition to C-C bonds, may form a cross-linking connections $-(O-CH_2-Si-O)_n$, which are responsible for the formation of silica, while presence of alkoxy groups (RO) in a silicon precursor, allows hydrolysis and polycondensation to form $-Si-O-Si-$ network and silanol $\equiv Si-OH$ moieties. Silanols initiate the exchange of ions between the biological fluid and the material, also enabling crystallization of hydroxyapatite (HAp) on the composite surface, which lead to bone growth and an effective recovery of the treated fragment (FIG.2).

Biocomposite scaffolds were also coated with synthetic hydroxyapatite (HAp) in the one-pot reaction, carried out in a simple and efficient manner. [4] SEM images (FIG.3) show material that is densely and evenly covered with shape-like flower crystals, which refers to the synthetic hydroxyapatite. [3]

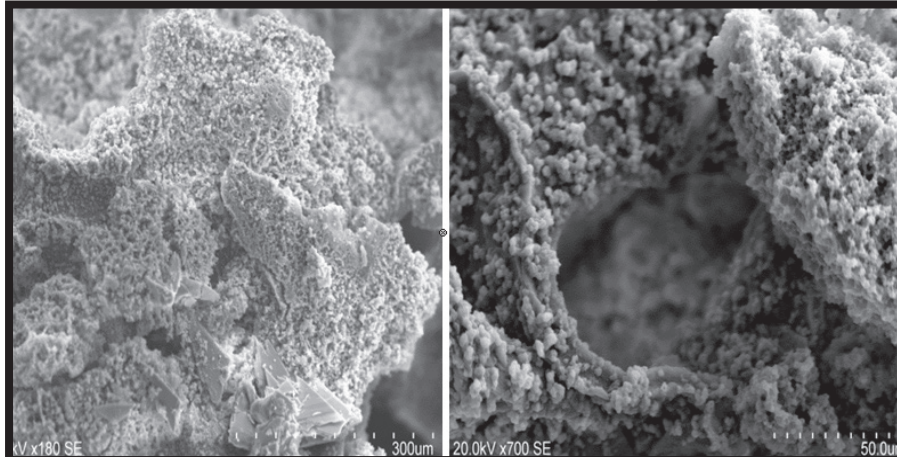
The presence of $\equiv Si-OH$ groups on the surface of the materials is essential for the process of functionalization, as these groups interact with organic molecules with functional groups (R), such as amine or hydroxyl, allowing hydrogen bond formation or π -stacking interactions, etc. depending on drug molecule nature.

The composite matrix was functionalized via co-condensation and silylation techniques (FIG.4) using 3-aminopropyltrimethoxysilane (APTMS) in the inert atmosphere.

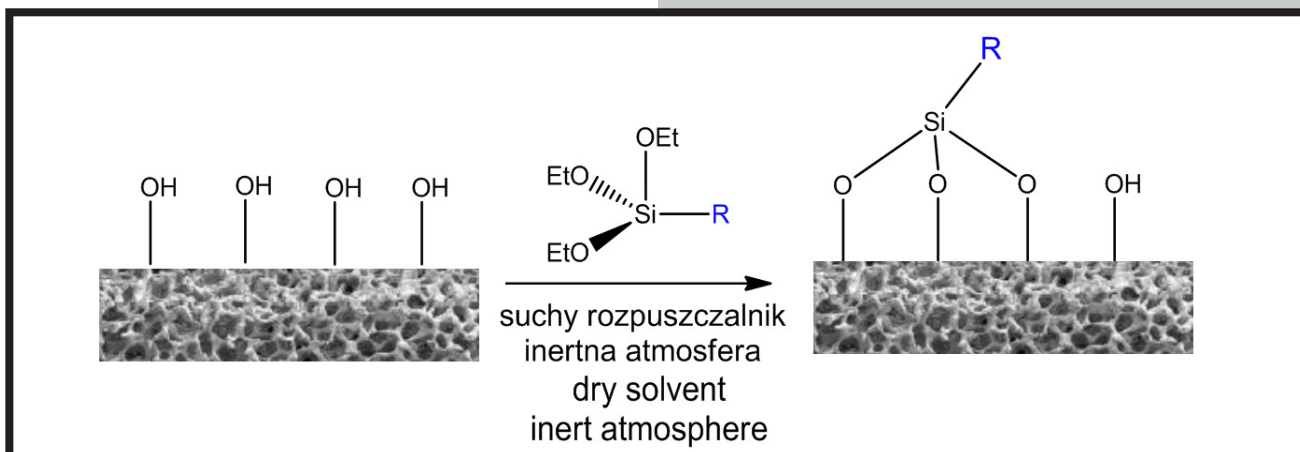
When the pharmacologically active substances were introduced - drugs belonging to the group of NSAIDs - ibuprofen and meloxicam (FIG.5). These drugs were chosen because of occurrence of inflammation after implementing dentures.



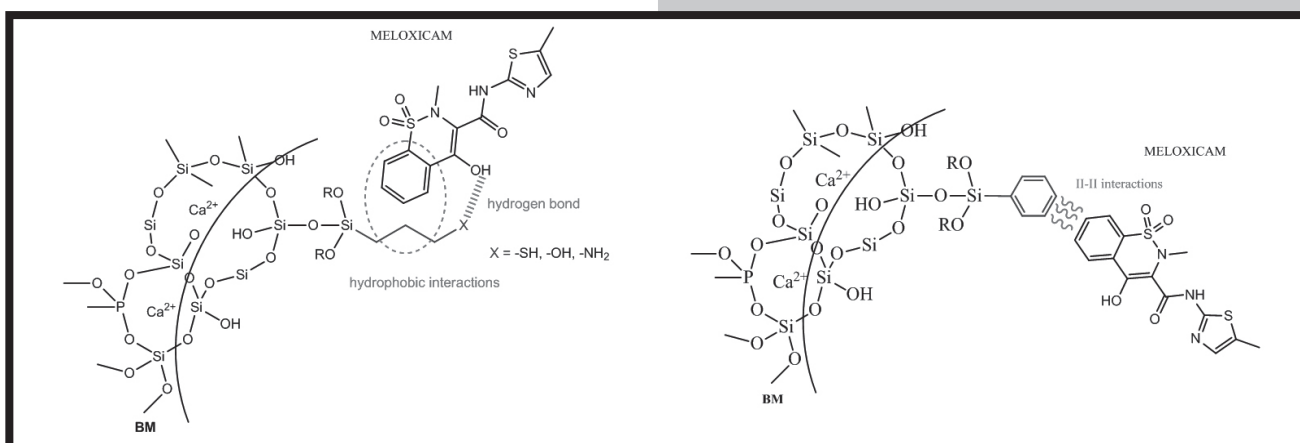
RYS.2. Obrazy SEM dla materiałów po 7-dniowej inkubacji w płynie biologicznym DMEM; na powierzchni obserwowana jest warstwa mineralna, m.in. hydroksyapatyt = HAp. FIG.2. SEM images of the materials after 7 days of incubation in biological fluid (DMEM), mineral layer (HAp) on the surface is observed.



RYS.3. Obrazy SEM dla materiałów po syntetycznym pokrywaniu hydroksyapatytem = HAp. FIG.3. SEM images of materials coated with synthetic hydroxyapatite (HAp).



RYS.4. Schemat silylowania materiałów kompozytowych.
FIG.4. Scheme of composite materials' silylation.



RYS.5. Schemat oddziaływania cząsteczki meloksykamu ze sfunkcjonalizowaną matrycą kompozytową.
FIG.5. Scheme of interactions occurring on meloxicam-functionalized composite material.

Następnie wprowadzano substancje farmakologicznie czynne należące do grupy Niesteroidowych Leków Przeciwzapalnych (NLPZów) tj. ibuprofen i meloksykam (RYS.5). Wybór tych leków podyktowany był faktem występowania stanów zapalnych w miejscach implementowania protez.

Otrzymane skafoldy kompozytowe scharakteryzowane zostały za pomocą rentgenowskiej dyfraktometrii proszkowej (PXRD), Spektroskopii w Podczerwieni (FT-IR), Spektroskopii UV-VIS, Skaningowej Mikroskopii Elektronowej (SEM-EDS) oraz Transmisyjnej Mikroskopii Elektronowej (TEM-EDS).

[Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 46-48]

Podziękowania

Badania realizowane były w ramach Projektu Badawczego finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki NCN Grant PRELUDIUM nr 2012/05/N/ST8/03727.

Piśmiennictwo

- [1] John, Ł.; Bałtrukiewicz, M.; Sobota, P.; Brykner, R.; Cwynar-Zajac, Ł.; Dzięgiel, P. *Materials Science and Engineering C* 2012, 32, 1849-1858.
- [2] Meunier, P. J.; Roux, C.; Ortolani, S.; Diaz-Curiel, M.; Compston, J.; Marquis, P.; Cormier, C.; Isaia, G.; Badurski, J.; Wark, J. D.; Collette, J.; Reginster, J. Y. *Osteoporos. Int.* 2009, 20, 1663.

Obtained materials were characterized by powder X-ray diffraction analysis (PXRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), Ultraviolet-visible spectroscopy (UV-VIS), scanning electron microscopy-energy-dispersive spectroscopy (SEM-EDS) and transmission electron microscopy-energy-dispersive spectroscopy (TEM-EDS).

[*Engineering of Biomaterials*, 122-123, (2013), 46-48]

Acknowledgments

Research Project was funded by the National Science Centre NCN Grant PRELUDE No. 2012/05/N/ST8/03727.

References

- [3] Nassif, N.; Martineau F.; Syzgantseva O.; Gobeaux F.; Willinger M.; Coradin T.; Cassaignon S.; Azaïs T.; Giraud-Guille M. M. *Chem. Mater.* 2010, 22, 3653-3663
- [4] Janeta, M.; MSc Dissertation, Faculty of Chemistry, University of Wrocław, Wrocław 2013.

REGENERACJA TKANKI CHRZĘSTNEJ SZCZURA Z UŻYCIEM ŻELU KOLAGENOWEGO I MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH SZPIKU KOSTNEGO, WSTĘPNE BADANIA IN VIVO

ANNA BAJEK¹, JOANNA SKOPIŃSKA-WIŚNIEWSKA²,
ALDONA RYMKIEWICZ¹, ARKADIUSZ JUNDZIŁŁ¹,
MACIEJ NOWACKI¹, TOMASZ DREWA¹

¹UNIWERSYTET MIKOŁAJA KOPERNIKA,
ZAKŁAD INŻYNIERII TKANKOWEJ,
UL. KARŁOWICZA 24, 85-092 BYDGOSZCZ, POLSKA

²UNIWERSYTET MIKOŁAJA KOPERNIKA,
KATEDRA CHEMII I FOTOCHEMII POLIMERÓW,
UL. GAGARINA 7, 87-100 TORUŃ, POLSKA

[Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 49-50]

Wprowadzenie

Urazy chrząstki oraz związane z wiekiem choroby zwyrodnieniowe są poważnym problemem zdrowotnym na całym świecie [1]. Chrząstka stawowa składa się ze stosunkowo niewielkiej liczby komórek o ograniczonym potencjale do samoodnowy. Dlatego też uszkodzona chrząstka ma niewielką zdolność regeneracji. Przeszczepianie autologicznych chondrocytów jest szeroko stosowane w praktyce klinicznej i cieszy się akceptacją środowiska medycznego [2,3]. Niemniej jednak, metoda ta jest ograniczona do uzupełniania niewielkich ubytków chrząstki. Efektem niepożądanym jest także odróżnicowywanie się chondrocytów w hodowli in vitro oraz utrata ekspresji kolagenu II, specyficznego markera tkanki chrzęstnej [3]. Poszukuje się więc nowych metod, które umożliwią pełną regenerację uszkodzonej chrząstki. Jedną z możliwości jest inżynieria tkankowa, która obejmuje połączenie biomateriałów i komórek w celu wytworzenia funkcjonalnej tkanki.

Celem prezentowanego badania była ocena wpływu samego żelu kolagenowego oraz połączonego z mezenchymalnymi komórkami macierzystymi szpiku kostnego (MSC, ang. Mesenchymal Stem Cells) na funkcje motoryczne i zdolność ruchową szczurów po mechanicznym uszkodzeniu chrząstki stawowej.

Materiały i metody

Kolagen typu I został wyizolowany z ogonów szczurzych rasy Wistar i przygotowany według nowej, bezpiecznej metody sieciowania. Komórki MSC zostały wyizolowane ze szpiku kostnego szczurów. Wszystkie eksperymenty przeprowadzane były za zgodą Lokalnej Komisji Bioetyki. W badaniu wykorzystano piętnaście 8-tygodniowych szczurów rasy Wistar. U wszystkich zwierząt wykonano łącznie 30 ubytków chrząstki w stawie biodrowym i kolanowym. Następnie zwierzęta zostały losowo podzielone na 3 grupy, u których ubytki zostały wypełnione żelem kolagenowym (grupa 1) oraz żelem kolagenowym obsianym komórkami MSC (grupa 2). Grupę 3 stanowiła kontrola, u której ubytki zostały nieuzupełnione. Ocena kliniczna (test wchodzenia i schodzenia po szczeblach drabinki, tzw. test drabinkowy, oraz test wspinania z wody) została przeprowadzona po 10 tygodniach od implantacji.

RAT CARTILAGE REPAIR USING COLLAGEN GEL AND BONE MARROW MESENCHYMAL STEM CELLS, THE IN VIVO PRELIMINARY STUDY

ANNA BAJEK¹, JOANNA SKOPIŃSKA-WIŚNIEWSKA²,
ALDONA RYMKIEWICZ¹, ARKADIUSZ JUNDZIŁŁ¹,
MACIEJ NOWACKI¹, TOMASZ DREWA¹

¹NICOLAUS COPERNICUS UNIVERSITY,
TISSUE ENGINEERING DEPARTMENT,
24 KARŁOWICZ STR., 85-092 BYDGOSZCZ, POLAND

²NICOLAUS COPERNICUS UNIVERSITY,
CHAIR OF CHEMISTRY AND PHOTOCHEMISTRY OF POLYMERS,
7 GAGARIN STR., 87-100 TORUŃ, POLAND

[Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 49-50]

Introduction

Traumatic injury and age-related degenerative diseases associated with cartilage are major health problems worldwide [1]. The articular cartilage is comprised of a relatively small number of cells, which have a relatively slow rate of turnover. Therefore, damaged articular cartilage has a limited capacity for self-repair. Transplantation of autologous chondrocytes are widely utilized in clinical practice and has reached broad acceptance [2,3]. Nevertheless, this treatment is limited due to filling small defects, de-differentiation of chondrocytes during in vitro culture or loss of collagen II [3]. New clinical methods have been designed to achieve better repair of injured cartilage. However, there is no treatment that enables full restoration of it. Tissue engineering involves combination of scaffolds and cells to fabricate functional new tissue. The aim of this study was to evaluate how collagen gel with bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) and collagen gel alone will influence on the motor function and movement capacity in rats after cartilage injury.

The aim of this study was to evaluate how collagen gel with bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) and collagen gel alone will influence on the motor function and movement capacity in rats after cartilage injury.

Material and methods

Collagen type I was isolated from rats' tails and the gel was prepared according to new, safety method. MSCs were isolated from rats' bone marrow. The experiments were conducted according to the guidelines for animal experiments of Ethics Committee. Fifteen 8-week-old Wistar rats were used in this study. All animals received knee and hip joint surgery with a total of 30 created cartilage defects. Then, animals were randomly divided into three groups and filled, respectively, with collagen gel (group 1), collagen gel cultured with MSCs (group II) or left untreated as a control (control group). Clinical evaluation (the ladder rung walking task and the climbing from the water test) was carried out 10 weeks post implantation.

Wyniki i dyskusja

Uzyskane wyniki wskazują, iż sam żel kolagenowy jest wystarczający do poprawy funkcji motorycznych i zdolności ruchowej szczurów po uszkodzeniu chrząstki stawowej. Wskazywać to może na bardziej efektywny proces regeneracji.

Wnioski

Żel kolagenowy może stanowić odpowiedni biomateriał biorący udział w regeneracji uszkodzonej chrząstki stawowej. Niemniej jednak, dodatkowe badania są niezbędne do potwierdzenia uzyskanych wyników.

Podziękowania

Autorzy pragną podziękować Narodowemu Centrum Nauki (NCN, Polska, Grant nr: UMO-2011/03/D/ST8/04600) za wsparcie finansowe tego projektu

TABELA 1. Ocena testów klinicznych po 10 tygodniach od implantacji.
TABLE 1. The clinical test evaluation after 10 weeks post implantation.

Test drabinkowy [sek] The ladder rung walking task [sec]		
Grupa kontrolna Control group	Grupa 1 Group 1	Grupa 2 Group 2
7.55 ± 0.515	6.21 ± 0.460	6.57 ± 1.064
Test wspinania z wody [sek] The climbing from the water test [sec]		
6.92 ± 0.509	4.66 ± 0.786	8.62 ± 1.815

Results and discussion

Our results show that collagen gel alone is enough to improve the motor function and movement capacity of rats after cartilage defects. Comparing to the two other groups the rats, in which the defects were filled only with collagen gel were faster. This can indicate on more efficient regeneration process.

Conclusion

The collagen gel alone can serve as a kind of scaffold applicable to the repair of a cartilage defect. However, additional evaluation is needed to confirm this results.

Acknowledgments

The authors would like to thank the National Science Centre (NCN, Poland, Grant no: UMO-2011/03/D/ST8/04600) for providing financial support to this project

Piśmiennictwo

- [1] Heng BC, Cao T, Lee EH.: Directing Stem Cell Differentiation into the Chondrogenic Lineage In Vitro. *Stem Cells* 2004; 22: 1152-1167
- [2] Weiss S, Hennig T, Bock R, Steck E, Richter W.: Impact of Growth Factors and PTHrP on Early and Late Chondrogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *J Cell Physiol* 2010; 223: 84-93

References

- [3] Hwang NS, Im SG, Wu PB, Bichara DA, Zhao X, Randolph MA, Langer R, Anderson DG.: Chondrogenic Priming Adipose-Mesenchymal Stem Cells for Cartilage Tissue Regeneration. *Pharm Res* 2011; 28: 1395-1405of Wrocław, Wrocław 2013.

WŁAŚCIWOŚCI ANTYKOROZYJNE POWŁOKI TiO₂ OTRZYMYWANEJ METODĄ ZOL-ŻEL W ZALEŻNOŚCI OD PH ŚRODOWISKA I OBECNOŚCI BIAŁKA OSOCZA KRWI

BARBARA BURNAT*, TADEUSZ BŁASZCZYK , ANDRZEJ LENIART

UNIwersytet Łódzki, Wydział Chemii,
Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej,
ul. Tamka 12, 91-403 Łódź, Polska
*E-MAIL: BURNAT@CHEMIA.UNI.LODZ.PL

Streszczenie

Zbadano wpływ pH środowiska i obecności białka osocza krwi na właściwości antykorozyjne powłoki tlenku tytanu TiO₂. Powłokę TiO₂ o strukturze amorficznej z krystalitami anatazu otrzymywano metodą zol-żel na powierzchni stopu biomedycznego M30NW. Badania korozyjne z wykorzystaniem metod elektrochemicznych przeprowadzono w temperaturze 37°C w roztworze 0.9 % NaCl (sól fizjologiczna) o pH 4.5 oraz 7.4.

ANTICORROSION PROPERTIES OF TiO₂ SOL-GEL COATING IN RELATION TO PH OF SOLUTION AND PRESENCE OF SERUM PROTEIN

BARBARA BURNAT*, TADEUSZ BŁASZCZYK , ANDRZEJ LENIART

UNIVERSITY OF LODZ, FACULTY OF CHEMISTRY,
DEPARTMENT OF INORGANIC AND ANALYTICAL CHEMISTRY,
12 TAMKA STR., 91-403 LODZ, POLAND
*E-MAIL: BURNAT@CHEMIA.UNI.LODZ.PL

Abstract

In this study we investigated the influence of solution pH and serum protein on the anticorrosion properties of titanium dioxide TiO₂ coating. This TiO₂ coating with amorphous structure containing crystallites of anatase was obtained by the sol-gel method on the surface of M30NW biomedical alloy. Corrosion measurements using electrochemical methods were carried out in 0.9 % NaCl (physiological saline) solution at pH of 4.5 and 7.4.

Wartości pH wybrane do badań pozwoliły przybliżyć warunki naturalnie występujące w środowisku tkankowym (pH=7.4) oraz warunki stanu zapalnego, który może pojawić się w organizmie (pH=4.5). Aby jeszcze lepiej odwzorować środowisko tkankowe, do roztworu soli fizjologicznej dodano albuminę - białko występujące w osoczu krwi w największej ilości. Właściwości antykorozyjne powłoki TiO₂ określono w oparciu o wyznaczone wartości potencjału korozyjnego E_{cor}, oporu polaryzacyjnego R_p, szybkości korozji CR, gęstości prądu w obszarze pasywnym i_{0,5} oraz potencjałów przebicia E_b i repasywacji E_{rep}.

Stwierdzono, że modyfikacja powierzchni stopu M30NW powłoką TiO₂ powoduje zwiększenie odporności korozyjnej badanego stopu w roztworach NaCl o pH równym 4.5 i 7.4 - antykorozyjne działanie powłoki TiO₂ widoczne jest zarówno w potencjale korozyjnym jak i przy polaryzacji anodowej. Dodatek albuminy ma niejednoznaczny wpływ na antykorozyjne właściwości powłoki TiO₂ w potencjale korozyjnym. Natomiast przy polaryzacji anodowej wpływ białka zaznacza się jedynie w roztworze NaCl o pH 4.5 - albumina powoduje istotne zwiększenie potencjału przebicia dla stopu z powłoką TiO₂.

Słowa kluczowe: biomateriał, TiO₂, zol-żel, białko, korozja, metody elektrochemiczne

[Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 50-55]

Wprowadzenie

Poprawę odporności korozyjnej biomateriałów metalicznych uzyskuje się dzięki różnorodnym modyfikacjom ich powierzchni, w tym dzięki nanoszeniu powłok ochronnych. Do tego celu doskonale nadają się materiały ceramiczne: węgliki, azotki, borki, krzemki oraz tlenki. Dużą popularnością cieszy się ditlenek tytanu (TiO₂), który zwiększa odporność metali i stopów na działanie wysokich temperatur, zużycie i korozję [1-3]. Zwiększenie odporności korozyjnej jest równoznaczne ze zwiększeniem biotolerancji biomateriałów.

Wiele badań dowodzi, że białka obecne w płynach ustrojowych wpływają na zmianę właściwości elektrochemicznych biomateriałów. Doniesienia literaturowe wskazują, że w odpowiednich warunkach białka adsorbują się na powierzchni implantu w czasie krótszym od 1 minuty [4]. W efekcie tej adsorpcji tworzy się tzw. biofilm białkowy, który może zarówno sprzyjać tworzeniu trwałych połączeń tkankaimplant, jak również niepożądanych okołowszczepowych stanów zapalnych. Z tego powodu istotne jest określenie właściwości korozyjnych materiałów biomedycznych w roztworach symulujących zarówno naturalnie występujące środowisko tkankowe, jak i takie, które może pojawić się w przypadku stanów zapalnych.

Głównym celem pracy było określenie wpływu pH i białka osocza krwi na właściwości antykorozyjne powłoki ditlenku tytanu otrzymanej metodą zol-żel na powierzchni stopu biomedycznego M30NW. Pomiar korozyjne były prowadzone w roztworach 0.9% NaCl o pH 4.5 i 7.4, bez i z użyciem albuminy surowicy wołowej. Właściwości antykorozyjne powłoki TiO₂ określono w oparciu o wyznaczone z pomiarów elektrochemicznych wartości potencjału korozyjnego E_{cor}, oporu polaryzacyjnego R_p, szybkości korozji CR, gęstości prądu w obszarze pasywnym i_{0,5} oraz potencjałów przebicia E_b i repasywacji E_{rep}.

The pH values selected for the tests simulate both natural body conditions (pH=7.4) and inflammatory conditions which may occur in the body (pH=4.5). Much better simulation of tissue environment was achieved by adding of albumin – protein found in blood plasma in the greatest amount. Anticorrosion properties of TiO₂ coating were determined on the basis of corrosion potential E_{cor}, polarization resistance R_p, corrosion rate CR, current density in the passive range i_{0,5} and also breakdown E_b and repassivation potentials E_{rep}.

It was stated that modification of M30NW alloy surface by TiO₂ coating cause increase in corrosion resistance of the investigated alloy in NaCl solutions both at pH of 4.5 and 7.4 - anticorrosive effect of TiO₂ coating is evident both at corrosion potential and during the anodic polarization. The addition of albumin has an ambiguous effect on the anticorrosion properties of the TiO₂ coating at the corrosion potential. Whereas during the anodic polarization the protein effect is visible only in NaCl solution at pH of 4.5 - albumin causes significant increase in the breakdown potential of the alloy coated by TiO₂.

Keywords: biomaterial, TiO₂, sol-gel, protein, corrosion, electrochemical methods

[Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 50-55]

Introduction

Improved corrosion resistance of metallic biomaterials is achieved through a variety of surface modifications, including through applying protective coatings. For this purpose are suitable ceramic materials: carbides, nitrides, borides, silicides and oxides. The most popular is titanium dioxide (TiO₂), which increases the resistance to high temperatures, wear and corrosion of metals and alloys [1-3]. Increased corrosion resistance amounts to increasing the biocompatibility of biomaterials.

Many studies have shown that the proteins present in body fluids alter the electrochemical properties of the biomaterials. Literature reports indicate that under appropriate conditions the proteins are adsorbed on the surface of the implant in less than 1 minute [4]. In effect of this adsorption a so-called protein biofilm is created, which can contribute to both formation of a fixed connection tissue-implant, as well as undesirable inflammatory responses. For this reason, it is important to determine the corrosion properties of biomedical materials in solutions simulating both naturally occurring tissue environment, as well as one that may occur in the case of inflammation.

The main objective of this study was to determine the effect of both solution pH and serum protein on the anticorrosion properties of titanium dioxide coating applied on M30NW biomedical alloy surface using sol-gel method. Corrosion measurements were carried out in 0.9% NaCl solution at pH 4.5 and 7.4, with and without the bovine serum albumin. Anticorrosion properties of TiO₂ coating were specified based on the determined values of corrosion potential E_{cor}, polarization resistance R_p, corrosion rate CR, current density in passive range i_{0,5} and also breakdown E_b and repassivation E_{rep} potentials.

Badanym biomateriałem był stop M30NW (AUBERT & DUVAL, Francja) spełniający wymogi normy ISO 5832-9 [5]. Próbkę stopu miały kształt krążków o średnicy 22 mm i grubości ok. 3 mm. Skład stopu (%wag.) według certyfikatu producenta był następujący: Cr (20.62), Ni (9.53), Mn (4.13), Mo (2.12), N (0.40), Nb (0.31), C (0.032) i Fe (reszta). Przed nanoszeniem powłok TiO_2 próbki stopu były przygotowywane zgodnie z procedurą opisaną w [6]. Prekursorem dla powłok TiO_2 był izopropylan tytanu (IV) $Ti[OCH(CH_3)_2]_4$ (Sigma-Aldrich). Powłoki TiO_2 (jednowarstwowe) nanoszono metodą zol-żel na powierzchni próbek stopu z wykorzystaniem techniki zanurzeniowej przy użyciu dip-coatera typu DCMono 75 (NIMA Technology) [6]. Właściwe wypalanie powłoki TiO_2 prowadzono w temperaturze $400^\circ C$ przez 1 godzinę. Bezpośrednio przed pomiarami elektrochemicznymi próbki przemywano alkoholem etylowym i osuszano Ar. Pomiary korozyjne prowadzono w odtlenionym roztworze soli fizjologicznej (0.9% NaCl) o pH równym 4.5 oraz 7.4. Wpływ obecności białka oceniano na podstawie dodatku albuminy osocza wołowego (BSA) w ilości 1 g/l. Pomiary korozyjne przeprowadzono z użyciem potencjostatu - galvanostatu PGSTAT 30/1 (Autolab) w roztworach o temperaturze $37^\circ C$. Zastosowane metody elektrochemiczne to pomiar potencjału korozyjnego w otwartym obwodzie, metoda Stern-Geary'ego, elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna i charakterystyki potencjodynamiczne w szerokim zakresie polaryzacji anodowej. Wszystkie wartości potencjałów podane są względem elektrody kalomelowej ($E^\circ=0.236V$ wzgl. NEW). Powierzchnia aktywna próbek wynosiła ok. 0.64 cm^2 . Charakter powstałych zmian korozyjnych został określony z zastosowaniem optycznego mikroskopu metalograficznego MMT800BT (Mikrolab).

Wyniki i dyskusja

Na podstawie przeprowadzonych badań korozyjnych wyznaczono szereg wielkości charakteryzujących właściwości korozyjne badanego stopu M30NW zarówno bez warstw jak i z warstwami TiO_2 : potencjał korozyjny E_{cor} , opór polaryzacyjny R_p , szybkość korozji CR, gęstość prądu w obszarze pasywnym $i_{0.5}$ oraz potencjały przebicia E_b i repasywacji E_{rep} . Na ich podstawie można określić antykorozyjne działanie powłok TiO_2 w różnych warunkach pomiarowych. Prezentowane wyniki są uśrednionymi wartościami wraz z odchyleniami standardowymi obliczonymi z pomiarów serii 3 próbek.

Na RYS. 1. przedstawiono wartości potencjału korozyjnego E_{cor} we wszystkich badanych roztworach.

Analiza wartości potencjału E_{cor} jednoznacznie pokazuje wpływ powłoki TiO_2 i pH roztworu na tę wielkość. Zastosowanie powłoki TiO_2 powoduje wzrost E_{cor} o ok. $0.21-0.23\text{ V}$ w roztworze o pH 4.5 i o ok. 0.28 V w roztworze o pH 7.4. Świadczy to, wg klasycznego traktowania zmian E_{cor} [7], o zwiększeniu odporności stopu M30NW na korozję w wyniku modyfikacji jego powierzchni powłoką TiO_2 . Z danych przedstawionych na RYS.1 wynika również, że potencjał E_{cor} przyjmuje wyższe wartości w roztworach o pH 4.5 niż pH 7.4. Różnica w wartościach potencjału E_{cor} w roztworach o różniącym się pH wynosi ok. $0.20-0.22\text{ V}$ w przypadku stopu niepokrytego, i ok. 0.15 V w przypadku stopu z powłoką TiO_2 . Wpływ albuminy jest trudny do jednoznacznego wyznaczenia. We wszystkich badanych układach wartości E_{cor} są ok. 0.02 V niższe w roztworach zawierających to białko. Ale nie można zignorować tego, że zmiana ta mieści się w granicach odchylenia standardowego.

Materials and methods

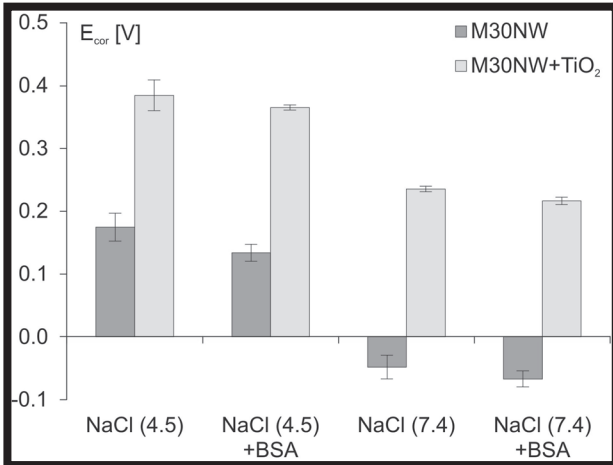
The investigated M30NW alloy (AUBERT & DUVAL, France) meets the requirements of ISO 5832-9 standard [5]. The alloy samples had the shape of discs with a diameter of 22 mm and a thickness of about 3 mm. The alloy composition (% wt.) according to manufacturer's certificate is as follows: Cr (20.62), Ni (9.53), Mn (4.13), Mo (2.12), N (0.40), Nb (0.31), C (0.032) and Fe (rest). Prior to application of TiO_2 coating alloy samples were prepared according to the procedure described in [6]. The precursor for TiO_2 coating was titanium (IV) isopropoxide $Ti[OCH(CH_3)_2]_4$ (Sigma-Aldrich). TiO_2 coating (as single layer) was applied onto alloy surface by dip-coating technique using a dip-coater DCMono 75 (NIMA Technology) [6]. The final annealing of applied coating was carried out at temperature of $400^\circ C$ for 1 hour. Just before electrochemical measurements, samples were rinsed with ethanol and dried with Ar. Corrosion measurements were carried out in deoxygenated physiological saline (0.9% NaCl) solution with a pH 4.5 and a pH 7.4. The influence of proteins were evaluated based on the addition of bovine serum albumin (BSA) at concentration of 1 g/l. Corrosion measurements were performed using potentiostat - galvanostat PGSTAT 30/1 (Autolab) in solutions at $37^\circ C$. Following electrochemical methods were used: measurement of corrosion potential in open circuit, Stern-Geary's method, electrochemical impedance spectroscopy and potentiodynamic characteristics in wide range of anodic polarization. All potentials reported in this paper are given versus calomel electrode ($E^\circ=0.236\text{ V vs. SHE}$). Working area of each sample was ca. 0.64 cm^2 . The character of corrosion effects arisen on investigated samples was determined using metallographic optical microscope MMT800BT (Mikrolab).

Results and discussions

During corrosion tests numerous quantities characterizing the corrosion properties of investigated M30NW alloy were determined: corrosion potential E_{cor} , polarization resistance R_p , corrosion rate CR, passive current density $i_{0.5}$, breakdown potential E_b and repassivation potential E_{rep} . On this basis, the anticorrosive effect of TiO_2 coating in different measurement conditions may be determined. The results presented in this paper are averaged values with standard deviations obtained from measurements of 3 samples.

In FIG.1 are shown values of corrosion potential E_{cor} in all tested solutions.

Analysis of E_{cor} values clearly shows the impact of TiO_2 coating and pH of the solution on this quantity. Application of TiO_2 coating increases E_{cor} about $0.21-0.23\text{ V}$ in solution at pH 4.5 and about 0.28 V in solution at pH 7.4. According to classical approach to the E_{cor} changes [7], this fact indicates the increase in corrosion resistance of M30NW alloy due to modification of its surface by TiO_2 coating. The data shown in FIG.1 also show that the potential E_{cor} assumes higher values in solutions of pH 4.5 than at pH 7.4. The difference in E_{cor} values in NaCl solutions with different pH is about $0.20-0.22\text{ V}$ in the case of the uncoated alloy, and approximately 0.15 V for the alloy with TiO_2 coating. The effect of albumin is difficult to be clearly determined. In all the examined systems the E_{cor} values are about 0.02 V lower in solutions containing the protein, but this change is within the standard deviation.



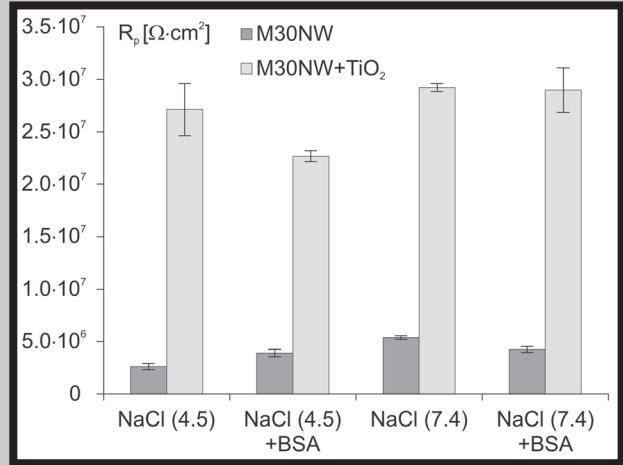
RYS.1. Potencjał korozyjny stopu M30NW bez i z powłoką TiO₂ w zależności od pH roztworu i dodatku albuminy

FIG.1. Corrosion potential of M30NW alloy with and without TiO₂ coating versus solution pH and addition of albumin

Z nachylenia charakterystyk Stern–Geary’ego wyznaczono wartości oporu polaryzacyjnego R_p , które przedstawione są na RYS.2. Na bazie wyznaczonych wartości R_p obliczono gęstości prądu korozyjnego i_{cor} oraz szybkości korozji CR. Korzystano z wytycznych zawartych w normie ASTM G 102–89 [8] zakładając, że w potencjale E_{cor} zachodząca korozja jest korozją równomierną. Ze względu na różny charakter medium korozyjnego wartości równoważnika wagowego EW użytego do obliczeń CR wynosiły 24.54 i 19.18 odpowiednio w roztworach o pH 4.5 i 7.4. Obliczone wartości szybkości korozji CR przedstawiono na RYS.3.

Na podstawie wyników przedstawionych na RYS.2 i RYS.3 można stwierdzić, że odporność korozyjna stopu M30NW bez powłoki TiO₂ zależy od pH roztworu pomiarowego. W roztworze o pH 4.5 charakteryzuje on się wyższą wartością CR, a tym samym słabszą odpornością na korozję niż w roztworze o pH 7.4. Analizując wpływ albuminy na odporność korozyjną stopu M30NW można stwierdzić, że w warunkach stanu zapalnego (pH=4.5) białko to wpływa inhibitorycznie na korozję tego stopu. Bazując na danych literaturowych [4] można przyjąć, że przyczyną tego może być tworzenie się na powierzchni stopu filmu białkowego. Efektu takiego nie obserwuje się w roztworze o pH 7.4.

Analiza RYS.2 i RYS.3 wskazuje, że we wszystkich badanych układach powłoka TiO₂ zwiększa opór polaryzacyjny R_p i istotnie obniża szybkość korozji CR badanego stopu. Zmiany tych wielkości mieszczą się w zakresie od ok. 5.4 do ok. 10.3 razy. W przypadku stopu z powłoką TiO₂ szybkość korozji CR jest tylko ok. 1.5 razy większa w roztworze o pH 4.5 w porównaniu z CR w roztworze o pH 7.4. Białko nieznacznie zwiększa CR w roztworze o pH 4.5 (ok. 1.2 razy), natomiast nie ma żadnego wpływu w roztworze o pH 7.4.



RYS.2. Opór polaryzacyjny stopu M30NW bez i z powłoką TiO₂ w zależności od pH roztworu i dodatku albuminy

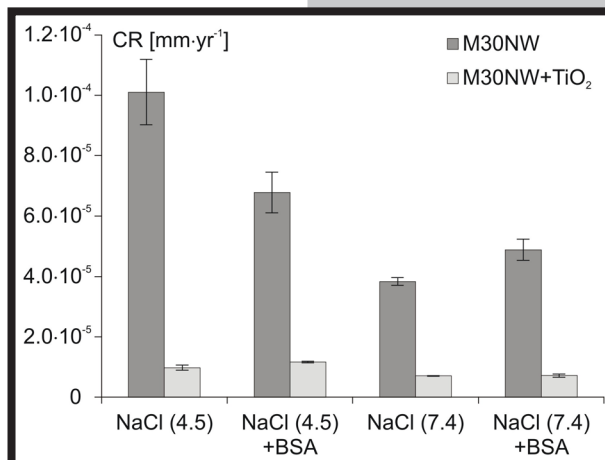
FIG.2. Polarization resistance of M30NW alloy with and without TiO₂ coating versus solution pH and addition of albumin

From the slope of the Stern–Geary’s characteristics were determined values of polarization resistance R_p , which are shown in FIG.2. Based on determined values of R_p the values of corrosion current density i_{cor} and corrosion rate CR were calculated. In these calculations were used the assumptions of standard ASTM G 102–89 [8], that the corrosion processes at E_{cor} potential occurs as uniform corrosion. Due to the different nature of the corrosive medium the values of equivalent weight EW used in the calculations of CR were 24.54 and 19.18, respectively in solutions with pH of 4.5 and 7.4. Obtained values of corrosion rate CR are presented in FIG.3.

Based on the results shown in FIG.2 and FIG.3 it can be stated that the corrosion resistance of the M30NW alloy without TiO₂ coating depends on the solution pH. In a solution with pH of 4.5 it has a higher value of the CR, and thus its corrosion resistance is weaker than in a solution of pH 7.4. Analyzing the effect of albumin on the corrosion resistance of the M30NW alloy it can be concluded that under conditions of inflammation (pH=4.5), the protein inhibits the corrosion processes of the alloy. Based on the literature data [4], it

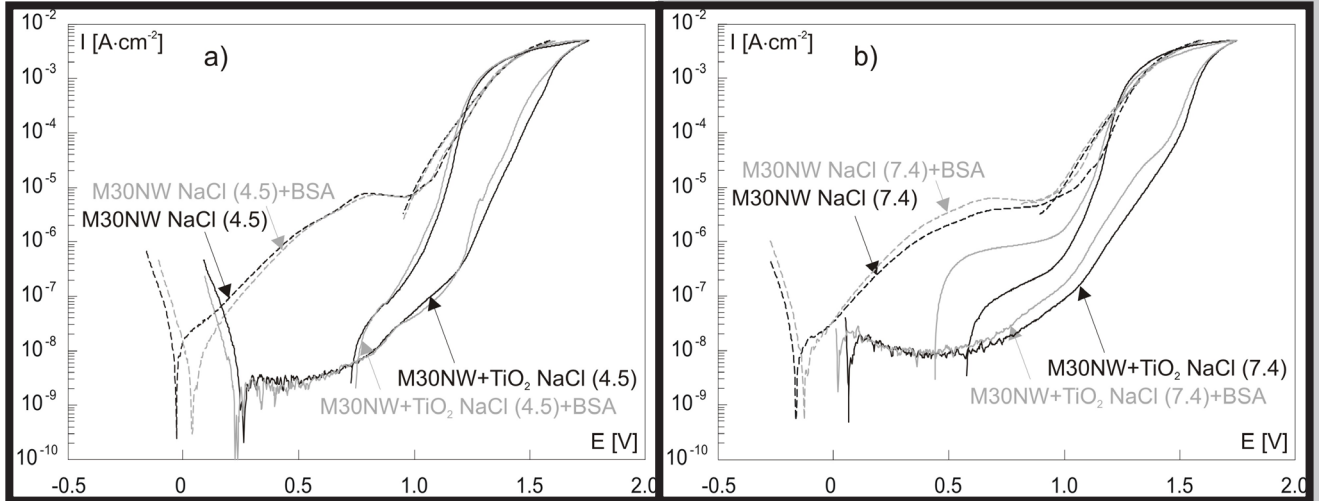
can be assumed that the reason for this may be the formation of a protein film on the alloy surface. Such an effect is not observed in a solution with pH of 7.4.

Analysis of FIG.2 and FIG.3 shows that TiO₂ coating increases the polarization resistance R_p and significantly reduces the corrosion rate CR of the alloy in all investigated systems. The changes in these values are in the range of ca. 5.4 to ca. 10.3 times. In the case of TiO₂-coated alloy the corrosion rate CR is only about 1.5 times higher in the solution with pH of 4.5 as compared to CR in solution at pH 7.4. The protein slightly increases CR value in solution with pH of 4.5 (about 1.2 times), but there is no effect in solution with pH of 7.4.



RYS.3. Szybkość korozji stopu M30NW bez i z powłoką TiO₂ w zależności od pH roztworu i dodatku albuminy.

FIG.3. Corrosion rate of M30NW alloy with and without TiO₂ coating versus solution pH and addition of albumin.



RYS.4. Charakterystyki potencjodynamiczne stopu M30NW bez i z powłoką TiO₂ w roztworach o: a) pH 4.5 i b) pH 7.4
FIG.4. Potentiodynamic characteristics of M30NW alloy with and without TiO₂ coating at solutions with: a) pH of 4.5 and b) pH of 7.4

Wyniki uzyskane z metody Stern-Geary'ego zostały potwierdzone wynikami pomiarów impedancyjnych.

Charakterystyki potencjodynamiczne stopu M30NW bez jak i z powłoką TiO₂ rejestrowane w szerokim zakresie polaryzacji anodowej we wszystkich roztworach pomiarowych przedstawiono na RYS.4 (dla większej przejrzystości powrotne gałęzie charakterystyk zostały obcięte). Na podstawie tych charakterystyk wyznaczono: gęstość prądu w zakresie pasywnym przy arbitralnie wybranym potencjale równym $E=0.5V$ $i_{0.5}$, potencjał przebicia E_b i potencjał repasywacji E_{rep} . Wielkości te zostały zgromadzone w TABELI 1.

Charakterystyki potencjodynamiczne stopu M30NW wskazują na jego dobrą odporność na korozję wżerową w roztworach NaCl. Gwałtowny wzrost prądu związany z powstawaniem lokalnego uszkodzenia korozyjnego występuje przy potencjale przebicia E_b równym ok. 1.1V niezależnie od pH roztworu i obecności albuminy. Stop ten ma zdolność do szybkiej repasywacji powstających zniszczeń korozyjnych - wartości potencjału repasywacji E_{rep} we wszystkich roztworach pomiarowych są bliskie 1V.

Modyfikacja powierzchni stopu M30NW powłoką TiO₂ powoduje istotną zmianę kształtu i położenia rejestrowanych charakterystyk potencjodynamicznych. W przypadku próbek stopu z powłoką TiO₂ gęstość prądu w zakresie pasywnym przy potencjale równym $E=0.5V$ $i_{0.5}$, jest o 2 rzędy wielkości niższa niż w przypadku stopu niepokrytego. Wynik ten pozostaje w zgodności z opisanymi wcześniej wynikami szybkości korozji, i wskazuje, że naniesiona powłoka TiO₂ wykazuje właściwości zabezpieczające przed korozją ogólną.

The results obtained from the Stern-Geary's method have been confirmed by the results of impedance measurements.

Potentiodynamic characteristics in wide range of anodic polarization of M30NW alloy with and without TiO₂ coating in all investigated solutions are shown in FIG.4 (for better transparency backward branches of characteristics were cut off). Based on these characteristics following quantities were determined: current density in the passive range at arbitrary chosen potential $E=0.5V$ $i_{0.5}$, breakdown potential E_b and repassivation potential E_{rep} . The values of these quantities are collected in TABLE 1.

The registered potentiodynamic characteristics of the M30NW alloy demonstrate its good resistance to pitting corrosion in NaCl solutions. The rapid increase in current associated with the formation of local corrosion damage occurs at the breakdown potential E_b equal to about 1.1V regardless of the solution pH and the presence of albumin. This alloy has the ability to quickly repassivation of formed corrosion damage - values of repassivation potential E_{rep} are close to 1V in all test solutions.

Surface modification of the M30NW alloy by TiO₂ coating results in a significant change in the shape and position of the recorded potentiodynamic characteristics. In the case of alloy samples coated with TiO₂ the current density in the passive range at a potential equal to $E=0.5V$ $i_{0.5}$ is about 2 orders of magnitude lower than for the uncoated alloy. This result is in agreement with previously described results of the corrosion rate, and indicates that the applied TiO₂ coating exhibits protection against general corrosion.

TABELA 1. Wartości wielkości korozyjnych odczytanych z charakterystyk potencjodynamicznych.
TABLE 1. Values of corrosion quantities determined from potentiodynamic characteristics.

sample/próbka	solution/roztwór	$i_{0.5}$ [A·cm ⁻²]	E_b [V]	E_{rep} [V]
M30NW	NaCl (4.5)	$(1.54 \pm 0.19) \cdot 10^{-6}$	1.082 ± 0.019	1.005 ± 0.024
	NaCl (4.5) + BSA	$(1.46 \pm 0.15) \cdot 10^{-6}$	1.079 ± 0.002	0.990 ± 0.016
	NaCl (7.4)	$(2.23 \pm 0.33) \cdot 10^{-6}$	1.109 ± 0.040	0.962 ± 0.006
	NaCl (7.4) + BSA	$(3.66 \pm 0.13) \cdot 10^{-6}$	1.076 ± 0.008	0.934 ± 0.021
M30NW+TiO ₂	NaCl (4.5)	$(3.90 \pm 1.26) \cdot 10^{-9}$	1.198 ± 0.010	0.724 ± 0.015
	NaCl (4.5) + BSA	$(2.20 \pm 0.26) \cdot 10^{-9}$	1.430 ± 0.049	0.759 ± 0.008
	NaCl (7.4)	$(1.02 \pm 0.08) \cdot 10^{-8}$	1.457 ± 0.068	0.543 ± 0.058
	NaCl (7.4) + BSA	$(1.15 \pm 0.10) \cdot 10^{-8}$	1.471 ± 0.037	0.469 ± 0.023

Z danych przedstawionych w TABELI 1 widać, że powłoka TiO_2 powoduje istotne podwyższenie wartości potencjału przebicia, przy jednoczesnym obniżeniu wartości potencjału repasywacji. Próbkę stopu z powłoką TiO_2 wykazują różną odporność na korozję wżerową w roztworze NaCl w zależności od jego pH. W roztworze o odczynie kwaśnym ($\text{pH}=4.5$) potencjał przebicia wynosi ok. 1.2 V, podczas gdy w roztworze o $\text{pH}=7.4$ potencjał ten przyjmuje wyższą wartość ok. 1.5 V. Obecność albuminy wpływa istotnie na wartość potencjału E_b tylko w przypadku roztworu o $\text{pH}=4.5$. Wartości potencjału repasywacji próbek z powłoką TiO_2 są zależne jedynie od pH roztworu pomiarowego - wraz ze wzrostem pH potencjał ten ulega obniżeniu.

Analiza mikroskopowa zniszczeń korozyjnych pokazała, że w przypadku samego stopu M30NW powstawały wżery o kształcie głębokich szczelin w obszarach blisko uszczelki. Natomiast w przypadku tego stopu z powłoką TiO_2 zniszczenia korozyjne były wżerami o kształcie kolistym, rozłożonymi przypadkowo na całej powierzchni. Charakter powstających zniszczeń jest niezależny zarówno od pH roztworu jak i dodatku białka.

Wnioski

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że modyfikacja powierzchni stopu M30NW powłoką TiO_2 powoduje zwiększenie odporności korozyjnej badanego stopu. Najlepsze właściwości antykorozyjne powłoka ta wykazuje w roztworze NaCl o pH 4.5 bez dodatku białka - szybkość korozji stopu po modyfikacji jest 10-krotnie niższa niż tego stopu bez warstw. W przypadku roztworu NaCl o pH 7.4 powłoka TiO_2 powoduje zmniejszenie szybkości korozji stopu w mniejszym stopniu - ok. 5 razy. Antykorozyjne działanie powłoki TiO_2 widoczne jest również przy polaryzacji anodowej stopu - w obydwu roztworach potencjał przebicia stopu z powłoką TiO_2 był znacząco wyższy niż dla stopu niepokrytego. Dodatek albuminy ma niejednoznaczny wpływ na antykorozyjne właściwości powłoki TiO_2 w potencjale korozyjnym. W przypadku polaryzacji anodowej wpływ białka widać jedynie w roztworze o pH 4.5 - albumina powoduje istotne zwiększenie potencjału przebicia.

Podziękowania

Badania wykonane zostały w ramach grantu NCN Nr N 507 501339. Stop biomedyczny M30NW zakupiony został w firmie MEDGAL (Białystok, Polska).

Piśmiennictwo

- [1] Siva Rama Krishna D., Sun Y., Thermally oxidised rutile- TiO_2 coating on stainless steel for tribological properties and corrosion resistance enhancement, *Applied Surface Science*, 252 (2005) 1107–1116.
- [2] Shen G.X., Chen Y.C., Lin C.J., Corrosion protection of 316 L stainless steel by a TiO_2 nanoparticle coating prepared by sol-gel method, *Thin Solid Films*, 489 (2005) 130–136.
- [3] Shan C.X., Hou X., Choy K.-L., Corrosion resistance of TiO_2 films grown on stainless steel by atomic layer deposition, *Surface & Coatings Technology*, 202 (2008) 2399–2402.
- [4] Paduch D.A., Niedzielski J., Materiały biomedyczne. Część I: Pojęcie filmu biologicznego (biofilmu) i fizykochemiczne podstawy przyczepności substancji organicznych do biomateriałów, *Chirurgia Polska*, 7 (2005) 180–191.
- [5] ISO Standard 5832-9:2007 Implants for surgery - Metallic materials - Part 9: Wrought high nitrogen stainless steel

From the data presented in TABLE 1 it can be seen that TiO_2 coating results in a significant increase in the breakdown potential, while decreasing the repassivation potential. The alloy samples coated with TiO_2 have different resistance to pitting corrosion in a solution of NaCl depending on its pH. In acidic solution ($\text{pH}=4.5$) breakdown potential is approximately 1.2 V, while in the solution of $\text{pH}=7.4$ the potential has a higher value of about 1.5 V. The presence of albumin significantly affects the value of the potential E_b only in the case of a solution with pH of 4.5. Values of repassivation potential of the samples with TiO_2 coating are dependent only on the pH of the test solution - with increasing pH, this potential is lowered.

Microscopic analysis of corrosion damage has shown that in the case of the uncoated M30NW alloy pits in the shape of the deep crevices were formed close to the gasket. Whereas in the case of alloy with TiO_2 coating the corrosion damage was in the shape of a circular pits, distributed randomly on the whole surface. The nature of the resulting damage was independent of both the pH of the solution and the addition of protein.

Conclusions

On the basis of performed studies it was found that the modification of the M30NW alloy surface by TiO_2 coating increases the corrosion resistance of the investigated alloy. The best anticorrosive properties this coating exhibits in NaCl solution with pH of 4.5 and without the addition of protein - corrosion rate of the alloy after modification is 10-fold lower than corrosion rate of the uncoated alloy. In the case of NaCl solution with pH of 7.4 the TiO_2 coating reduces the corrosion rate of the alloy to a lesser extent - about 5 times. Anticorrosive effect of TiO_2 coating is visible also during the anodic polarization - in both solutions breakdown potential for the alloy with TiO_2 coating was significantly higher than for the uncoated alloy. The addition of albumin has an ambiguous effect on the anticorrosion properties of the TiO_2 coating at the corrosion potential. In the case of anodic polarization the protein effect is visible only in NaCl solution at pH of 4.5 - albumin causes significant increase in the breakdown potential.

Acknowledgments

The investigations were supported by grant No. N N507 501339 of the National Science Centre. The M30NW biomedical alloy was bought from MEDGAL (Białystok, Poland).

References

- [6] Burnat B., Błaszczak T., Leniart A., Scholl H., The effect of TiO_2 sol-gel layers on corrosion properties of M30NW biomedical alloy in 0.9% NaCl solution, *Engineering of Biomaterials*, 106-108 (2011) 133-139.
- [7] Calle L.M., Kolody M.R., Vinje R.D., Corrosion behavior of stainless steels in neutral and acidified sodium chloride solutions by electrochemical impedance spectroscopy, [in:] Shifler D.A. (ed.) *Corrosion in Marine and Saltwater Environments II*, Electrochemical Society, 2005, 143–154.
- [8] ASTM G 102-89:2004 Standard Practice for Calculation of Corrosion Rates and Related Information from Electrochemical Measurements

NOWE BIODEGRADOWALNE PIERŚCIENIE DO ZESPALANIA JELITA GRUBEGO

ROMUALD DROP¹, STANISŁAW MAZURKIEWICZ²,
BARBARA SZARANIEC^{3*}, ZENON WOŹNY², KAROL GRYŃ³,
RAFAL CYGAN¹

¹SZPITAL SPECJALISTYCZNY IM. STEFANA ŻEROMSKIEGO,
ODDZIAŁ CHIRURGII OGÓLNEJ I NACZYŃ.

UL. NA SKARPIE 66, 31-913, KRAKÓW

²POLITECHNIKA KRAKOWSKA IM. TADEUSZA KOŚCIUSZKI,
INSTYTUT MECHANIKI STOSOWANEJ,

AL. JANA PAWŁA II 37, 31-864 KRAKÓW

³AGH AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

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

Streszczenie

Próby łączenia jelit za pomocą implantów sięgają początków XIX w, kiedy to opracowane zostały pierwsze pierścienie zespalające przez Denansa (1827) i Henroza (1826). Kolejna konstrukcja zaproponowana przez Murphyeego, tzw. guzik Murphyeego, stała się inspiracją dla komercyjnych implantów, ulegających fragmentacji pierścieni Valtrac® (Biofragmentable Anastomotic Ring) do zespołów jelitowych, których produkcję w latach osiemdziesiątych XX wieku rozpoczęła firma Davis & Geck. Równocześnie rozwijane były techniki zespalaenia jelit za pomocą staplerów (Hültl 1908, Petz 1924, Androsow 1950), które również w latach osiemdziesiątych XX wieku stały się jednym ze standardów postępowania w chirurgii jelita grubego. Prace nad opracowaniem skutecznego, łatwego w aplikacji i ulegającego w pełni biodegradacji implantu do zespołów jelit nadal trwają. Zakładają one dążenie do możliwie najmniejszego uszkodzenia tkanek, zapewnienia szczelności zespolenia i odpowiedniej wielkości jego światła, przy zachowaniu prawidłowego ukrwienia i niewywoływaniu nadmiernego napięcia w jelitach.

Jedną z propozycji nowoczesnego rozwiązania problemu związanego z zespalaeniem jelita grubego może stanowić w pełni biodegradowalny układ pierścieni wykonany z poliestrów alifatycznych mocowanych bezszwowo. Aplikacja pierścieni zakłada odwinięcie zespalanych części jelita na zewnątrz jego światła, a następnie ich połączenie przez docisk dzięki odpowiedniemu systemowi blokującemu. Prototypy implantów do zespalaenia jelit otrzymano metodą wtrysku przy użyciu wtryskarki ślimakowej Multiplas. Temperatura wtrysku wynosiła 160-170°C, a ciśnienie w układzie 60-90 kg/cm². Prototypy implantów wykonano z polimeru resorbowalnego - polilaktidu PLA firmy NatureWork, USA (PLA Ingeo 3251D). Pierwsze doświadczenia prowadzone *in vitro* i *in vivo* wskazują, że wykonane implanty mogą z powodzeniem spełniać wspomniane powyżej założenia i dodatkowo dzięki łatwej aplikacji znacznie skrócić czas trwania operacji. Zaproponowana konstrukcja układu pierścieni oraz właściwości fizyko-mechaniczne zastosowanego materiału polimerowego pozwoliły w prosty sposób zespolić jelito uzyskując jednakowy regulowany docisk na jego obwodzie.

[Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 56-57]

NEW BIODEGRADABLE RINGS FOR LARGE INTESTINE INTEGRATION

ROMUALD DROP¹, STANISŁAW MAZURKIEWICZ²,
BARBARA SZARANIEC^{3*}, ZENON WOŹNY², KAROL GRYŃ³,
RAFAL CYGAN¹

¹THE STEFAN ŻEROMSKI SPECIALIST HOSPITAL,
DEPARTMENT OF GENERAL AND VASCULAR SURGERY,
66 NA SKARPIE STR., 31-913 KRAKÓW, POLAND.

²CRACOW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING
37 JAN PAWEŁ II AVE., 31-864 KRAKÓW, POLAND

³AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
30 MICKIEWICZ AVE., 30-059 KRAKÓW, POLAND

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

Abstract

The attempts at integrating intestines by means of implants date back to the beginning of the 19th century, when integrating rings were developed by Denans (1827) and Henroz (1826). Another construction, proposed by Murphy, the, so called, Murphy's button, became an inspiration for commercial implants – the Valtrac® fragmentable rings (Biofragmentable Anastomotic Rings) for intestine integration, whose production was initiated in 1980s by Davis & Geck. Simultaneously developed were techniques of intestine integration with the use of staplers (Hültl 1908, Petz 1924, Androsow 1950), which, also in the 1980s, became one of the standards for large intestine surgery procedures. Works on the development of an effective, easily applicable and fully biodegradable implant for intestine integration are still being conducted.

The main goal, providing a minimal tissue damages, is to obtain a leakproof anastomosis with a proper size of its inner diameter along with the preservation of the adequate blood supply and no excessive tensions in the intestines.

One of the proposals of a modern solution to the problem connected with large intestine integration can be a fully biodegradable system of rings made of seamless-mounted aliphatic polyesters. The applying procedure assumes turning parts of the intestine, which are meant to be integrated, inside-out and stretching their edges on the rings. Next, rings are joined together by pressing them "face to face" and locking with the appropriate seamless blocking system. Prototypes of large intestine integration implants were obtained by the injection moulding (screw injection moulding machine Multiplas). The injection temperature was 160-170°C and the pressure in the system was 60-90 kg/cm². The implant prototypes were prepared from a polymer – the PLA polylactide by NatureWork, USA (PLA Ingeo 3251D). The initial *in vitro* and *in vivo* experiments show that the elaborated implants can successfully meet the above mentioned assumptions and, additionally, because of their easy application, significantly shorten the time of the surgical procedure. The proposed construction of the ring system and the physico-mechanical properties of the applied polymer material made it possible to easily integrate the intestine and achieve a similar, regulated, pressure on its circumference. [Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 56-57]

Podziękowania

Praca finansowana z projektu Nr N N518 286040 pt. "Egzoluminarne zespalanie jelit materiałami biodegradowalnymi typu nici lub kształtki z zastosowaniem nowatorskiego zszywacza".

Acknowledgements

The investigations were supported by grant No. N N518 286040 of the National Science Centre.

Piśmiennictwo

- [1] W. Feil, H. Lippert, P. Lozac'h, G. Palazzini (eds). Atlas of Surgical Stapling 2000. Heidelberg: Johann Ambrosius Barth. 2000
British Journal of Surgery Society
- [2] A. Thiede, R. Engemann, S. Vogel, B. Lünstedt: Multiple Application of the Bioabsorbable Anastomosis Ring in Gastrointestinal Surgery. Intestinal Anastomoses with Bioabsorbable Anastomosis Rings Springer, Berlin 1993, 75-93

References

- [3] M. L. Corman, E. D. Prager, T. G. Hardy, M. P. Bubrick: Comparison of the Valtrac biofragmentable anastomosis ring with conventional suture and stapled anastomosis in colon surgery. *Bubrick Diseases of the Colon & Rectum* 1989, Vol. 32, Issue 3, 183-187
- [4] R. Drop, S. Mazurkiewicz, Z. Woźny, P. Majcher, A. Tabor: New egzoluminal circular surgical stapler., *Acta Bioeng Biomech.* 2010;12(3):113-7.

ANTYKOROZYJNA WARSTWA TiN/TiO₂ DLA OCHRONY POWIERZCHNI STOPU NiTi WYKAZUJĄCEGO EFEKT PAMIĘCI KSZTAŁTU

T.GORYCZKA*¹, B.ŁOSIEWICZ¹, J.LEŁĄTKO¹, T.WIERZCHOŃ²

¹UNIWERSYTET ŚLĄSKI, ŚLĄSKIE MIĘDZYUCZELNIANE CENTRUM
EDUKACJI I BADAŃ INTERDYSCYPLINARNYCH,
INSTYTUT NAUKI O MATERIAŁACH,
UL. 75 PUŁKU PIECHOTY 1A, 41-500 CHORZÓW

²POLITECHNIKA WARSZAWSKA, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ,
UL. WOŁOSKA 141, 02-507 WARSZAWA

*E-MAIL: TOMASZ.GORYCZKA@US.EDU.PL

[*Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 58-60*]

Wstęp

Stopy Ni-Ti wykazujące efekt pamięci kształtu są znane z praktycznych zastosowań w medycynie [1]. Powodem tak licznych zastosowań jest występujący w nich efekt pamięci kształtu, pojawiający się pod wpływem zmiany temperatury. Stopy NiTi z powodzeniem były zastosowane na klamry, pierścienie czy druty ortodontyczne itd. [2]. Jednakże nadal w literaturze istnieje dyskusja nad ich biokompatybilnością i odpornością korozyjną.

W celu ochrony ludzkiego organizmu przed migracją jonów niklu zostało zaproponowanych szereg technik. Dane literaturowe opisują zastosowanie pokryć stopów azotkami tytanu, tlenkami tytanu lub warstwami diamentopodobnymi, które mają stanowić barierę przeciwko uwalnianiu się niklu i dostatecznie redukować korozję stopów [3]. Ponadto zachowanie odpowiedniej gładkości powierzchni pozwala na redukcję przyczepności bakterii oraz tworzenie się biofilmów. Zastosowanie metod osadzania warstw tlenkowych, azotkowych i in. wymaga stosowania podwyższonej temperatury [4], co może prowadzić do rozkładu fazy β na fazy równowagowe takie, jak Ni₃Ti czy Ti₂Ni. Efekt pamięci kształtu jest ściśle powiązany z odwracalną przemianą martenzytyczną, która zachodzi pomiędzy fazą β a martenzytem. Zatem, zmniejszanie w stopie udziału fazy β wpływa na efekt pamięci kształtu poprzez zmniejszenie stopnia odzysku kształtu.

Celem prezentowanej pracy było naniesienie cienkiej, podwójnej warstwy składającej się z podwarstwy azotku tytanu oraz dwutlenku tytanu na powierzchnię stopu NiTi wykazującego efekt pamięci kształtu. Warstwa ta ma pełnić rolę antykorozyjną i ochronną dla stopu NiTi. Jako technikę nanoszenia podwarstwy TiN i TiO₂ zastosowano odpowiednio azotowanie i utlenianie jarzeniowe.

Część eksperymentalna

Do badań zastosowano komercyjny stop NiTi o nominalnym składzie chemicznym: 50,6%at. Ni oraz 49,4%at. Ti. Powierzchnia próbek wyciętych w kształcie prostokąta o wymiarach 12 mm x 8 mm x 0,8 mm została wypolerowana mechanicznie z końcową gradacją roztworu koloidalnego 1 μ m. Antykorozyjna warstwa utworzona z azotku oraz dwutlenku tytanu została naniesiona techniką jarzeniową. Najpierw powierzchnię stopu NiTi poddano azotowaniu w temperaturze 300°C przez 15 minut, a następnie otrzymaną powierzchnię utleniało w temperaturze 300°C przez 10 minut.

ANTICORROSION TiN/TiO₂ LAYER FOR SURFACE PROTECTION OF NiTi SHAPE MEMORY ALLOY

T.GORYCZKA*¹, B.ŁOSIEWICZ¹, J.LEŁĄTKO¹, T.WIERZCHOŃ²

¹UNIVERSITY OF SILESIA, SILESIAN INTERDISCIPLINARY
CENTRE FOR EDUCATION AND RESEARCH,
INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE,
1A 75 PUŁKU PIECHOTY STR., 41-500 CHORZÓW, POLAND

²WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING,
141 WOŁOSKA STR., 02-507 WARSZAW, POLAND

*E-MAIL: TOMASZ.GORYCZKA@US.EDU.PL

[*Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 58-60*]

Introduction

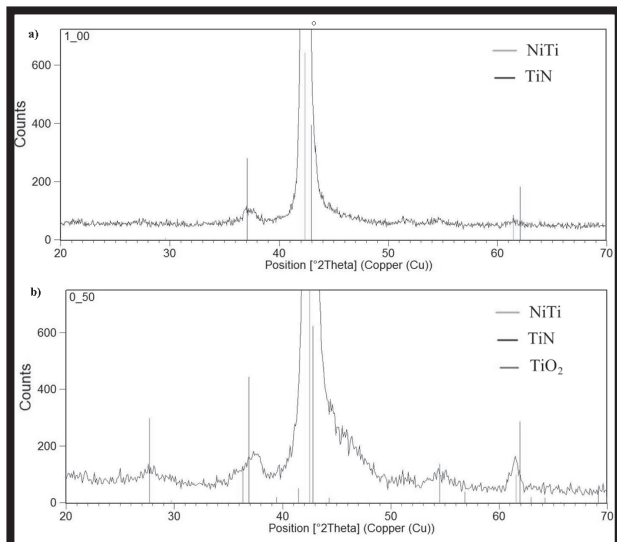
The NiTi shape memory alloys have been recognized as a material suitable for application in medicine [1]. It is due to the presence of a unique effect connected to shape change as a result of temperature increase or decrease. The NiTi alloy was successfully applied for clamps, rings, orthodontic wires ect. [2]. However, there still exists discussion over their biocompatibility and corrosion resistance.

In order to protect human body against migration of nickel ion several covering techniques was proposed. It was reported that, protective coating with titanium nitrides, titanium oxides or diamond-like phase seems to be an attractive way to create a barrier against ion of nickel and sufficiently reduces corrosion [3]. Additionally, surface smoothing reduces adhesion of bacteria as well as a biofilm formation. Applied deposition processes (oxidation, nitriding etc.) require elevation of temperature [4]. However, it may lead to decomposition of the β -phase to equilibrium phases such as: Ni₃Ti and Ti₂Ni. The shape memory effect is closely correlate to the reversible martensitic transformation which occurs between the β -phase and martensite. Decrease of the β -phase amount causes decrease of the shape memory effect.

The aim of the presented paper was deposition of thin bilayer, composed from titanium nitride and titanium dioxide sublayers, on surface of NiTi shape memory alloy. Such a layer is supposed to play anticorrosion and protective role for the NiTi alloy. As a technique of the TiN and TiO₂ sublayer deposition, the nitriding and oxidation glow discharge was applied, respectively.

Experimental data

The commercial NiTi alloy with nominal chemical composition: 49.4 at.% Ti and 50.6 at.% Ni was used as a substrate for titanium nitride and oxide deposition. Surface of rectangular samples of the alloy with dimension of 12 mm x 8 mm x 0.8 mm was prepared by means of mechanical polishing with diamond suspensions down to 1 μ m colloidal suspension. Anticorrosion layer, formed from titanium nitride and dioxide, were deposited using glow discharge technique. First, sample was nitrided at 300°C for 15 minutes, then oxidized at 300°C for 10 minutes.



RYS.1. Dyfraktogramy rentgenowskie zarejestrowane przy stałym kącie padania wiązki pierwotnej dla $\alpha=1.0^\circ$ (a) oraz $\alpha=0.5^\circ$ (b).

FIG.1. GIXRD patterns measured at incidence angle of 1.0° (a) and 0.5° (b).

Strukturę stopu NiTi z naniesionymi warstwami badano przy zastosowaniu dyfrakcji promieni rentgenowskich przy stałym kącie padania wiązki pierwotnej (SKP). Badania prowadzono za pomocą dyfraktometru X'Pert-Pro.

Odporność korozyjną tlenoazotanego stopu NiTi badano w roztworze symulowanego płynu ustrojowego Ringera (Solutio Ringeri, Fresenius Kabi) przy pH w zakresie od 6.58 do 7.09 (CP-101 Elmetron pH-meter) w temperaturze $37\pm 1^\circ\text{C}$. Przed każdym pomiarem świeży płyn Ringera był od powietrza za pomocą argonu (czystość 99,999%) przez 30 min. Elektrode pracującą stanowił tlenoazotanowy stop NiTi. Przeciwelektrodą była folia Pt (2 cm^2). Wszystkie wartości potencjałów mierzono względem nasyconej elektrody kalomelowej (NEK). Potencjał obwodu otwartego, E_{oc} , stabilizowany był przez 3h. Potencjodynamiczne krzywe polaryzacji cyklicznej rejestrowano z szybkością polaryzacji 1 mV s^{-1} od wartości potencjału o 150 mV bardziej ujemnej względem E_{oc} do $E=2,5\text{ V}$ zgodnie z normą ASTM F2129-08 [5] stosując zestaw elektrochemiczny Autloab PGSTAT12 Potentiostat/Galvanostat firmy Metrohm/Eco Chemie. Po badaniach korozyjnych pH roztworów zmieniało się w zakresie 9,27-10,48.

Wyniki badań i ich dyskusja

Strukturę wytworzonych warstw oraz ich sekwencję określono na podstawie przeprowadzonej identyfikacji fazowej stosując dyfrakcję rentgenowską. Dyfraktogramy były rejestrowane techniką SKP przy wartościach kąta wiązki padającej: 0.3 ; 0.5 ; 0.8 oraz 1 stopnia. Na RYS. 1 przedstawiono dyfraktogramy zmierzone przy kątach padania wiązki pierwotnej 0.5 oraz 1 stopnia. Na dyfraktogramie zmierzonym pod kątem 1 stopnia występujące linie dyfrakcyjne były zidentyfikowane jako pochodzące od fazy macierzystej stopu NiTi – B2 (PDF-2 karta nr 65-0917) oraz TiN (PDF-2 karta nr 65-0414). Oznacza to, że bezpośrednio na powierzchni stopu NiTi została utworzona cienka warstwa TiN. Zmniejszenie kąta padania wiązki pierwotnej do wartości 0.5 stopnia spowodowało zmniejszenie jej głębokości penetracji. Na dyfraktogramie zarejestrowanym przy kącie 0.5 stopnia oprócz wcześniej zidentyfikowanych faz stwierdzono obecność dodatkowych linii dyfrakcyjnych przynależących do tlenku tytanu - TiO_2 (PDF-2 karta nr 77-0441).

Structure of the coated NiTi alloy was studied using the grazing incidence X-ray diffraction technique (GIXRD) using X-ray diffractometer X'Pert-Pro.

Corrosion resistance of the oxynitrided NiTi alloy was studied in Ringer's simulated body fluid (RSBF, Solutio Ringeri, Fresenius Kabi) of pH ranging from 6.58 to 7.09 (CP-101 Elmetron pH-meter) at $37\pm 1^\circ\text{C}$. Before each measurement the fresh RSBF was deaerated by bubbling Ar (99.999% purity) for 30 min. The working electrode was the oxynitrided NiTi alloy. The counter electrode was a Pt foil (2 cm^2). All measured potentials are referred to the saturated calomel electrode (SCE). Open circuit potential, E_{oc} , was stabilized for 3h. Cyclic potentiodynamic polarization curves were registered at a sweep rate of 1 mV s^{-1} from the potential value 150 mV more negative in relation to E_{oc} to $E = 2.5\text{ V}$ in accordance with the ASTM F2129-08 standard [5] using a Metrohm/Eco Chemie Autloab PGSTAT12 Potentiostat/Galvanostat Electrochemical System. The solution pH after corrosion tests changed in the range of 9.27-10.48.

Results and discussion

Structure of deposited layers and their sequence was determined from the phase analysis done with use of the X-ray diffraction patterns. The GIXRD patterns were collected at constant incidence angle of: 0.3 , 0.5 , 0.8 and 1 degrees. FIG. 1 shows the GIXRD pattern measured for oxynitrided NiTi sample at incidence angle of 0.5 and 1 degree. At the diffraction pattern measured at $\alpha=1$ degree the diffractions lines were identified, which belong to the parent phase – B2 (PDF-2 card no 65-0917) and to TiN (PDF-2 card no 65-0414). It means that directly on the surface of NiTi alloy the thin TiN layer was formed. Decreasing of the angle of incidence beam to 0.5 degree caused that its penetration depth was lower. The diffraction pattern registered at angle of 0.5 degree revealed, apart from the presence of previously identified phases, also the occurrence of additional diffraction lines, which were belonging to the TiO_2 phase (PDF-2 card no 77-0441). Summing-up, it could be ascertained that the obtained results of phase identification, confirmed the following sequence of the deposited layers: directly on the surface of the NiTi alloy the thin TiN layer was formed, and on that, the TiO_2 (rutile) layer was deposited. It is worthy to notice that the applied parameters of the glow discharge process did not cause any decomposition of the parent phase into adverse equilibrium phases of Ti_2Ni or Ni_3Ti . In the X-ray diffraction patterns no presence of diffraction lines, which would be characteristic for them, was ascertained.

In cyclic potentiodynamic polarization measurements carried out for the oxynitrided NiTi electrode in RSBF at 37°C , the potentiostat was connected to three electrodes, and the potential of the working electrode, with respect to the reference, was scanned through a voltage range from negative to positive, and then reversed to its starting potential according to the ASTM F2129-08 [5]. The resulting current between the working and counter electrodes was recorded. The obtained current-voltage characteristic was then plotted on a semi-log graph, allowing the resulting curve to be analyzed for key-point voltages and currents (FIG.2). The potentiodynamic anodic polarization curve was the basis for determination the parameters describing the corrosion resistance of the material under investigation. The values of corrosion potential ($E_{\text{corr}}=10.0\pm 0.4\text{ mV}$) and corrosion current density ($j_{\text{corr}}=3.45\pm 0.13\text{ }\mu\text{A cm}^{-2}$), were determined from the minimum observed in the curve of $\log j=f(E)$. One can also see that hysteresis is present in FIG.2 which indicates the susceptibility of the electrode to pitting corrosion.

Podsumowując można stwierdzić, że, otrzymane wyniki z identyfikacji fazowej potwierdzają następującą sekwencję wytworzonych warstw: bezpośrednio na powierzchni stopu NiTi wytworzyła się cienka warstwa TiN, a na niej osadzona została warstwa TiO₂ – rutylu. Warto podkreślić jest fakt, że zastosowane parametry procesu jarzeniowego nie spowodowały rozkładu fazy macierzystej na niekorzystne fazy równowagowe Ti₂Ni lub Ni₃Ti. Na dyfraktogramach nie stwierdzono obecności linii dyfrakcyjnej, które byłyby dla nich charakterystyczne.

W potencjodynamicznych pomiarach polaryzacji cyklicznej przeprowadzonych dla tlenoazotowanej elektrody NiTi w RSBF w temperaturze 37°C potencjostat był podłączony do trzech elektrod, a potencjał elektrody pracującej względem elektrody odniesienia, był zadawany w zakresie potencjałów od ujemnych wartości do dodatnich, a następnie zwracany do potencjału wyjściowego zgodnie z normą ASTM F2129-08 [5]. Mierzony był prąd płynący pomiędzy elektrodą pracującą i przeciw elektrodą. Następnie, otrzymana charakterystyka prądowo-napięciowa była przedstawiana w postaci krzywej półlogarytmicznej, na podstawie, której analizowano kluczowe wartości napięcia i prądu. Potencjodynamiczna krzywa polaryzacji anodowej była podstawą do określenia parametrów opisujących odporność korozyjną badanego materiału. Wartość potencjału korozyjnego ($E_{kor}=10,0\pm 0,4$ mV) i gęstości prądu korozyjnego ($j_{kor}=3,45\pm 0,13$ $\mu\text{A cm}^{-2}$) została wyznaczona z minimum obserwowanego na krzywej $\log j=f(E)$. Na RYS.2 można także zaobserwować pętlę histerezy, która świadczy o podatności elektrody na korozję wżerową. Obserwowana wartość potencjału przebicia (ang. breakdown potential, E_b) i gęstości prądu przebicia (ang. breakdown current density, j_b) warstwy TiN/TiO₂ wynosi odpowiednio $2,439\pm 0,001$ V oraz $27,2\pm 4,9$ mA cm⁻². Wartość E_b/j_b jest mniejsza niż 0,01. Potencjał ochronny (ang. protection potential, E_p) wynosi $0,707\pm 0,007$ V i został wyznaczony z powrotnej krzywej anodowo-katodowej w punkcie, w którym gęstość prądowa była mniejsza niż gęstość prądowa zarejestrowana dla krzywej katodowo-anodowej.

Wnioski

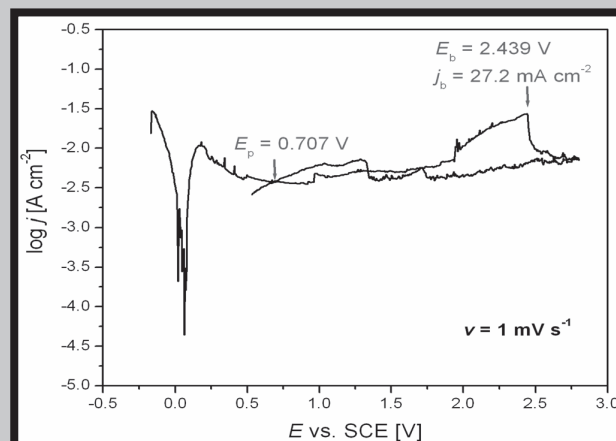
- Na powierzchni stopu NiTi wykazującego pamięć kształtu została utworzona homogeniczna podwójna warstwa składająca się z podwarstwy TiN oraz TiO₂.
- Zastosowane parametry procesu azotowania i utleniania jarzeniowego nie wpłynęły na rozkład fazy macierzystej na niekorzystne fazy równowagowe Ti₂Ni or Ni₃Ti.
- Charakterystyka odporności korozyjnej modyfikowanego stopu NiTi wykazującego efekt pamięci kształtu (potencjał korozyjny: 0,01 V i potencjał przebicia: 2,44 V) wykazała, że proponowana kombinacja warstw TiN/TiO₂ może być z powodzeniem stosowana na antykorozyjne pokrycia stopów NiTi.

Podziękowanie

Badania były finansowane z projektu N N507 230540 fundowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Piśmiennictwo

- [1] T.Yoneyama, S.Miyazaki, "Shape memory alloys for biomedical applications", Woodhead Publishing Ltd., Cambridge 2008.
- [2] Y.Y.Chu, L.C.Zhao, "Shape memory materials and its applications", Proc. of SMST-SMM conference, Kunming 2001, China.
- [3] G.C.McKay, R.Mac Macnair, C.MacDonald, M.H. Grant, Biomaterials, 17 (1996) p. 1339.



RYS.2. Potencjodynamiczna krzywa polaryzacji cyklicznej dla tlenoazotowanej elektrody NiTi w RSBF w temperaturze 37°C.

FIG.2. Cyclic potentiodynamic polarization curve for the oxynitrided NiTi electrode in RSBF at 37°C.

The observed breakdown potential, E_b , and breakdown current density, j_b , for the TiN/TiO₂ layer, was found to be 2.439 ± 0.001 V and 27.2 ± 4.9 mA cm⁻², respectively. E_b/j_b was lower than 0.01. The protection potential, $E_p=0.707\pm 0.007$ V, was determined from the reverse anodic-cathodic scan when the current becomes less than the current in the forward cathodic-anodic scan.

Conclusions

- The homogeneous bilayer coating consisted of the TiN and TiO₂ sublayers was formed on the surface of the NiTi shape memory alloy.
- The applied parameters of the nitriding and oxidation glow discharge process did not cause any decomposition of the parent phase into adverse equilibrium phases of Ti₂Ni or Ni₃Ti.
- Characterization of the corrosion resistance of the modified NiTi shape memory alloy in RSBF (corrosion potential: 0.01 V and breakdown potential: 2.44 V) revealed that the proposed combination of the TiN/TiO₂ layers can be successfully applied as anticorrosion coating for NiTi alloys.

Acknowledgements

The studies were financially supported from the project N N507 230540 funded by The National Science Centre (NCN).

References

- [4] J.Lelaćko, T.Goryczka, T.Wierzchoń, M.Ossowski, B.Łosiewicz, E.Rówiński, H.Morawiec, Solid State Phenomena, 163 (2010) p. 127.
- [5] ASTM F2129-08: Standard test method for conducting cyclic potentiodynamic polarization measurements to determine the corrosion susceptibility of small implant devices.

WYZNACZANIE WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNYCH WYBRANYCH KOMPOZYTÓW MIKRO-HYBRYDOWYCH W TEŚCIE TRÓJPUNKTOWEGO ZGINANIA

JAROSŁAW FILIPIAK¹, MAŁGORZATA JAMKA-KASPRZYK^{2*}, ANNA NIKODEM¹

¹POLITECHNIKA WROCŁAWSKA, WYDZIAŁ MECHANICZNY, ZAKŁAD INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ I MECHANIKI EKSPERYMENTALNEJ, UL. ŁUKASIEWICZA 7/9, 50-371 WROCŁAW

²MJK-STOMATOLOGIA INDYWIDUALNA PRAKTYKA LEKARSKA LEK.DENT. MAŁGORZATA JAMKA KASPRZYK 32-420 GDÓW 911

*E-MAIL: JAMKA.KASPRZYK@GMAIL.COM

Streszczenie

Materiałami stosowanymi najczęściej w stomatologii, do leczenia zachowawczego jako wypełnienia stałe, są materiały złożone takie jak: cementy szkło – jonomerowe oraz materiały kompozytowe. Materiały stomatologiczne odbudowując i przywracając funkcję tkanek zęba muszą spełniać szereg wymagań. Od materiałów tych wymaga się, aby posiadały dużą adhezję do szkliwa i zębiny, mały objętościowo skurcz polimeryzacyjny oraz miały działanie profilaktyczne na okolice tkanki, a z punktu widzenia właściwości estetycznych, miały również łatwość doboru barwy i połysku. Materiały kompozytowe, z uwagi na swoje właściwości estetyczne oraz mechaniczne gwarantują lepszą trwałość wypełnień, zarówno ubytków zębów przednich oraz bocznych również tych pochodzenia próchnicowego. Zastosowanie kompozytów daje możliwość użycia techniki warstwowej, która pozwala na wymodelowanie poszczególnych warstw wypełnienia, które mogą jednak posiadać różne właściwości. Materiały kompozytowe posiadają bardzo dobrą adhezję do tkanek zęba, jednak ich wadą jest duży skurcz polimeryzacyjny prowadzący do mikropęknięć dodatkowo wprowadzając zmiany we właściwościach fizycznych i mechanicznych poszczególnych warstw pracującego wypełnienia. Materiały stomatologiczne powinny się charakteryzować odpowiednią twardością, tak aby nie powodować abrazji współpracujących tkanek zębów, a z drugiej strony powinny być odpowiednio twarde i trwałe. Z uwagi na wszystkie te wymagania, materiały stosowane jako wypełnienia stałe powinny charakteryzować się odpowiednimi właściwościami fizycznymi oraz mechanicznymi zarówno na ściskanie jak i na zginanie. Celem pracy jest analiza porównawcza właściwości mechanicznych próbek wybranych materiałów kompozytowych, poddanych próbie zginania trójpunktowego. Na podstawie uzyskanych rezultatów można zaobserwować wpływ techniki warstwowej na właściwości mechaniczne badanych materiałów.

Słowa kluczowe: kompozyty stomatologiczne, właściwości mechaniczne, gęstość

[*Inżynieria Biomateriałów*, 122-123, (2013), 61-63]

DETERMINATION OF THE MECHANICAL PROPERTIES OF SELECTED MICRO-HYBRID COMPOSITES IN THREE-POINT BENDING TEST

JAROSŁAW FILIPIAK¹, MAŁGORZATA JAMKA-KASPRZYK^{2*}, ANNA NIKODEM¹

¹WROCLAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, DIVISION OF BIOMEDICAL ENGINEERING AND EXPERIMENTAL MECHANICS, 7/9 ŁUKASIEWICZ STR., 50-371 WROCŁAW, POLAND

²MJK-INDIVIDUAL DENTAL MEDICAL PRACTICE, MAŁGORZATA JAMKA-KASPRZYK 32-420 GDÓW 911

*E-MAIL: JAMKA.KASPRZYK@GMAIL.COM

Abstract

Glass-ionomer, cements and composites are the most often used materials in dentistry, for medical treatment as a dental fillings. Dental materials used to rebuild and restore the function of the teeth must meet a number of requirements. Materials are required to have high adhesion to dentin and enamel, a small volume shrinkage, a prophylactic effect on the surrounding tissue, and a simple choice of colour and gloss had to be guaranteed for esthetical reason. Due to mechanical properties, composite materials ensure better durability of fillings for defects in both anterior and lateral also the origin of caries. Application of dental composites give possibility to use layer techniques and build fillings layer by layer. This technique allows to shape each layer separately but simultaneously may lead to different mechanical properties of each layer. Dental composites have very good adhesion to surrounding dental tissues, but simultaneously they shrink quite heavily which may lead to marginal microleakage, resulting in the formation of microcracks that in turn affect physical and mechanical properties of each layers and the whole filling. Dental materials should have appropriate hardness, to ensure that they don't lead to erosion of teeth cooperating tissue while still being sufficiently hard and durable. According to all these requirements, the materials used as dental fillings should have a suitable physical and mechanical properties of both the compressive and flexural strengths. The main aim of the work is a comparative analysis of the mechanical properties of samples of selected composite materials in three-point bending test. Based on the results it can be seen that layering technique impacts mechanical properties.

Keywords: dental composites, mechanical properties, density

[*Engineering of Biomaterials*, 122-123, (2013), 61-63]

Zęby, pozwalając na wstępną obróbkę pokarmu, umożliwiają późniejsze procesy trawienia produktów spożywczych. Rozdrobnienie pokarmu umożliwia właściwy przebieg procesu trawienia, którego pierwszym etapem jest enzymatyczne oddziaływanie śliny, tym samym zęby narażone są na działanie niekorzystnych czynników panujących w jamie ustnej (środowisko wodne o zmiennym składzie, pH i temperaturze, obecność drobnoustrojów i ich pozakomórkowych produktów). Do czynników pochodzenia mechanicznego zaliczamy atrycję, czyli niszczenie sąsiadujących tkanek zębów w wyniku wzajemnego tarcia lub abrazja, czyli ścieranie tkanek zęba poprzez kontakt z twardymi przedmiotami. Czynniki mechaniczne przyspieszającymi powstawanie ubytków jest erozja tkanek, spowodowana oddziaływaniem substancji takich jak kwas mlekowy, wytwarzany przez florę bakteryjną jamy ustnej [2]. Czynniki te wpływają na procesy demineralizacji szkliwa zębów, a tym samym na tempo powstawania ubytków. Nielezione ubytki, mogą doprowadzić do zapalenia miążgi zęba, a nawet do całkowitego zniszczenia tkanek zęba i konieczności ich ekstrakcji, prowadząc tym samym do dysfunkcji narządu żucia [3]. Aby zapobiec utracie funkcjonalności narządu żucia, w stomatologii zachowawczej stosuje się leczenie poprzez usunięcie chorobowo zmienionych tkanek zęba oraz szczelne wypełnienie ubytków. W zależności od miejsca ubytku, rodzaju uzupełnienia oraz sił mechanicznych działających na dany ząb, stosuje się materiały o zróżnicowanych właściwościach mechanicznych. W celu zagwarantowania jak najlepszej współpracy zdrowych tkanek zębów z materiałami uzupełnień dentystrycznych, poszukuje się takich materiałów, których właściwości fizyczne oraz parametry mechaniczne (moduł Younga, gęstość czy twardość) będą zbliżone do parametrów mechanicznych tkanek zęba. Dzięki odpowiedniemu dopasowaniu tych parametrów, zapewnione zostanie trwałe połączenie tkanek z materiałami wypełnienia.

Obecnie w stomatologii najczęściej stosowanymi materiałami są kompozyty, kompomery, oraz cemeny szkło – monomerowe [1]. Nowoczesne kompozyty nie dysponują idealnymi parametrami do wypełniania ubytków. Jest to spowodowane dużym skurczem polimeryzacyjnym (2,5-4%), prowadzącym do zmniejszenia objętości wprowadzonego materiału i powstaniem nieszczelności brzeżnej, a tym samym do mikroprzecieku bakteryjnego. Nieprawidłowe przyleganie kompozytu do otaczających tkanek zęba, może być wywołane różnymi współczynnikami rozszerzalności cieplnej materiału wypełnienia i struktury zęba. Zastosowanie kompozytów daje możliwość użycia techniki warstwowej, która jest efektywnym sposobem uzyskania wypełnień spełniających najwyższe kryteria estetyczne. Niemniej jednak wymodelowanie poszczególnych warstw wypełnienia, może spowodować różne właściwości mechaniczne tych warstw. Celem niniejszej pracy jest analiza porównawcza właściwości mechanicznych wybranych materiałów kompozytowych stosowanych w stomatologii.

Materiały i metody

Przedmiotem badań były próbki przygotowane z kompozytów mikro-hybrydowych Te-Econom Plus (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein), oraz Arkon (Arkona, Polska). Kompozyt Te-Econom Plus jest złożonym materiałem zawierającym w swoim składzie dimetakrylany i TEGDMA (22% wag), wypełniacze nieorganiczne-szkło barowe, trójtlenek iterbu, dwutlenek krzemu i mieszaninę innych tlenków (76% wag), o średniej wielkości cząsteczek wypełniacza wynosi 0,85 µm.

Introduction

Teeth grind food and in this way support digest process. Enzymatic reaction with saliva is the first stage of digesting, but saliva also changes environmental conditions inside oral cavity (variable composition, change in pH, temperature as well as micro-organisms) and adversely affects teeth. Grinding the food also affects teeth mechanically through attrition, destruction of neighbouring teeth as a result of friction, and abrasion – wear out of teeth resulting from their contact with hard materials. Mechanical tissue wear out is accelerated by chemical interaction with lactic acid that is produced by bacterial flora in oral cavity [2]. Chemical factors influence on enamel demineralisation and consequently accelerate teeth destruction and development of cavities. Untreated teeth cavities may lead to necrotic and even to complete destruction of the tooth, its extraction and dysfunction of chewing organ [3]. Non-invasive treatment can help to avoid such dysfunction through removal of destroyed tooth's tissue and infilled with building. Depending on the location of the cavity, method of infilling and mechanical forces affecting the tooth various building materials are used. On one hand material used has to have suitable mechanical properties. On the other hand building material has to ensure the best possible interaction with health tooth's tissue. Therefore, dentists look for materials that have physical and mechanical properties (Young modulus, density, hardness) close to physical and mechanical properties of healthy teeth. Proper adjustment of those parameters ensures that filling is durable.

Currently composites, compositers, cements and monomeric glass are the most often used materials for dental fillings [1]. Although widely used composites don't have the optimal parameters for dental fillings due to large volume shrinkage (2.5-4%) that leads to marginal and microbacterial leakage. Improper fitting of dental filling to surrounding tooth tissue may be caused by different thermal expansion coefficients of the filling and the tissue. Composites allow to use layering technique that gives the best esthetical results. Unfortunately, fillings constructed using this technique may have heterogeneous mechanical properties that differ from layer to layer. This paper compares mechanical properties of various composite materials used in stomatology.

Materials and methods

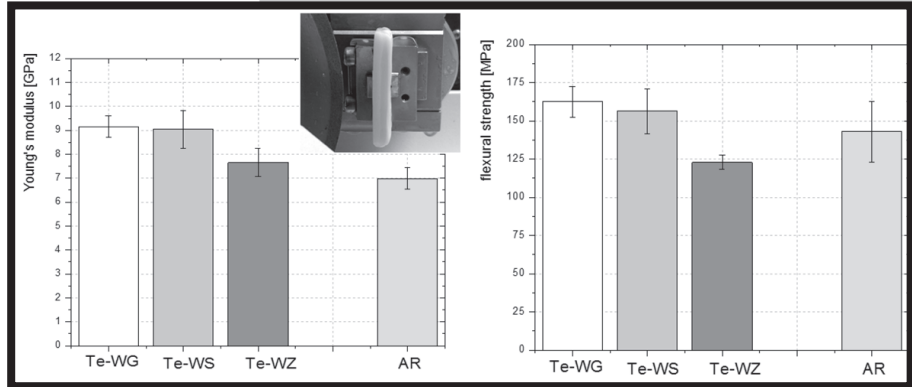
This study was conducted on samples prepared from commercial dental micro-hybrid composites: Te-Econom Plus (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein) and Arkon (Arkona, Poland). Te-Econom is a composite material containing dimethacrylate and TEGDMA (22%wt) inorganic fillers, barium glass, ytterbium trioxide, silicon dioxide and mixture of other oxides (76 wt%). Average particle size of the filler is 0,85µm in diameter. Arkon is a composite material consisting of an organic base structure (diglycydoeteru bisphenol A dimethacrylate, diurethane dimethacrylate, triethylene glycol dimethacrylate) containing inorganic solid fillers (glass barium aluminum silicate, silica, pyrogenic titanium dioxide). Average particle size of the filler is 0.74 µm. Material of study consisted of cuboid samples of the size 2x2x40 [mm] (±0.1 mm), prepared in accordance with EN ISO 10477 standard, in the aluminum form with dimensions of 10x10x40 [mm]. Te-Econom Plus composite was applied layer by layer, each layer having a thickness of 2mm (total of 3 layer were made). For Arkon composite only one layer was created. The polymerization was done with LED lamp, equipped with a fiber width of 8 mm, irradiating the sample 5 times for 20 seconds. Until the mechanical tests samples were stored in a saline bath at room temperature.

Kompozyt Arkon jest materiałem składającym się z organicznej struktury podstawowej (dimetakrylan diglicydoeteru bisfenolu A, dimetakrylan diuretanu, dimetakrylan glikolu trójetylenowego) zawierającej nieorganiczne wypełniacze stałe (szkło barowo-glinowo-krzemowe, krzemionka ogniowa, dwutlenek tytanu). Średnia wielkości cząsteczek wypełniacza w kompozycie Arkon wynosi 0,74 μm . Materiał badawczy stanowiły prostokątne próbki o wymiarach 2x2x40 [mm] ($\pm 0,1$ m), przygotowane zgodnie z normą EN ISO 10477, w aluminiowej formie metalowej o wymiarach 10x10x40 [mm]. Kompozyt Te-Econom Plus nakładano w metalowej formie warstwowo, przy czym każda z warstw miała grubość 2 mm. W przypadku kompozytu Arkon, metalową formę wypełniono tylko 1 warstwą. Polimeryzację próbek przeprowadzono lampą LED, wyposażoną w światłowód o szerokości 8mm, naświetlając próbki 5 razy po 20 sekund. Do czasu pomiaru, próbki przechowywano w kąpielii soli fizjologicznej w temperaturze pokojowej. Próbki (N=12) przygotowano z użyciem przecinarki metalograficznej Accutom-5, Struers® z prędkością posuwu 1 mm/s. Badaniom poddano próbki z 3 warstw: zewnętrznej (WZ), środkowej (WS) oraz głębokiej (WG), kompozytu Te-Econom Plus oraz jednej warstwy kompozytu Arkon. Każdą z próbek poddano badaniom gęstości fizycznej, a następnie badaniom mechanicznym.

Wyniki i dyskusja

Badania gęstości fizycznej przeprowadzono z użyciem systemu pomiaru gęstości ciał stałych i cieczy oraz wagi Radwag 1000/PS/CW. Pomiar właściwości mechanicznych przeprowadzono w próbie zginania trójpunktowego, z użyciem uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej MTS 858 MiniBionix. Badania mechaniczne przeprowadzono z prędkością obciążenia 1 [mm/min] i rozstawie podpór równym 20 mm.

Na podstawie uzyskanych charakterystyk siła - ugięcie, określono wartości parametrów mechanicznych takich jak: moduł Younga, wytrzymałość oraz sztywność na zginanie. W badaniach dla kompozytu Arkon (AR) średnia wartość gęstości wynosiła 2,15 [g/cm³], a dla kompozytu Te-econom zawiera się w zakresie oraz 2,16-2,18 [g/cm³], przy czym różnica dla poszczególnych warstw wynosi ok.0,5%. Najwyższe wartości gęstości, podobnie jak w przypadku wartości parametrów mechanicznych (moduł Younga oraz wytrzymałość na zginanie) uzyskano dla warstwy głębokiej (Te-WG). Największą różnicę w wartościach parametrów mechanicznych uzyskano między warstwami zewnętrznymi Te-WG i Te-WZ (w przypadku modułu Younga różnica ta wynosiła 15%, a wytrzymałości na zginanie 23%). Porównując wartości parametrów mechanicznych pomiędzy poszczególnymi materiałami, można zauważyć, iż kompozyt Te-econom charakteryzuje się wyższymi wartościami tych parametrów. Uzyskane w pracy różnice w wartościach parametrów mechanicznych związane są ze stosunkiem wagowym drobin wzmocnienia do osnowy polimerowej oraz średnią wielkością drobin wzmocnienia badanych kompozytów. W odniesieniu do wartości podanych w dokumentacji producenta, uzyskana wartość różni się od wartości literaturowych o około 10%.



RYS.1. Porównanie wartości modułu Younga (lewy rys.), wytrzymałości na zginanie (prawy rys.), uzyskanych dla próbek 3 warstw (WZ, WS i WG) kompozytu Te-econom oraz kompozytu Arkon w próbie trójpunktowego zginania.
FIG.1. Young modulus (left) and flexural strength (right) for WZ, WS and WG samples of Te-econom composite and Arkon composite.

Test samples (N=12) were prepared using a cutting metallographic machine Accutom-5, Struers® with a feed speed of 1 [mm/s]. The study involved samples of the Te-Econom Plus composite, prepared from three layers: an outer (WZ), middle (WS) and deep (WG), and one layer of Arkon composite. For each sample physical density and mechanical properties were measured.

Results and discussions

Physical density was measured with Radwag 1000/PS/CW scale and dedicated system for measuring density of solid bodies and liquids. Mechanical properties were measured in three-point bending test (MTS 858 MiniBionix mechanical testing machine was used) with supports 20 mm apart and loading speed of 1 mm/min.

Based on load-displacement characteristics, derived from three-point bending test, mechanical parameters (Young modulus, strength and stiffness) were estimated. A density measurements for Arkon (AR) composite yield mean value of 2.15 g/cm³. For Te-econom composite density varied between WZ, WS and WG samples and ranges between 2.16-2.18 g/cm³. Difference in density between WG and WS as well as between WS and WZ samples is approximately 0.5%. The biggest density and the mechanical properties were observed for WG samples while the smallest for WZ samples. The difference in mechanical properties between WG and WZ samples reached 15% for Young modulus and 23% for flexural strength. Comparison between different composites reveals that Te-econom has larger values of mechanical properties compared to Arkon. The difference may result from different weight ratio of reinforcement particles to the polymer matrix and average size of reinforcement particles for both composites. Measured values are slightly higher (up to 10%) compared to values reported in manufacturer's documentation.

Piśmiennictwo

- [1] Dejak B., Kacprzak M., Suliborski B., Śmielak B.: Struktura i niektóre właściwości ceramik dentystrycznych w uzupełnieniach pełnoceramicznych w świetle literatury, *Protet. Stomatol.*, 2006, LVI, 6, 471-477.
- [2] Kordasz P., Wolanek Z.: *Materiałoznawstwo protetyczno-stomatologiczne*, PZWL, Warszawa, 1983
- [3] Marciniak J.: *Biomateriały w stomatologii*, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice, 2008.

References

WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE I TRIBOLOGICZNE CIECZY SYNOWIALNEJ

JOANNA MYSTKOWSKA^{1*}, MICHAŁ KARPIŃSKI²,
MARCIN KLEKOTKA¹, JANUSZ POPKO^{2*}, JAN R. DĄBROWSKI^{1*}

¹ POLITECHNIKA BIAŁOSTOCKA, WYDZIAŁ MECHANICZNY,
KATEDRA INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I BIOMEDYCZNEJ,
UL. WIEJSKA 45C, 15-351 BIAŁYSTOK

² UNIwersytet Medyczny w Białymstoku,
KLINIKA ORTOPEDII I TRAUMATOLOGII DZIECIĘCEJ UDSK,
UL. WASZYNGTONA 17, 15-274 BIAŁYSTOK

* E-MAIL: J.MYSTKOWSKA@PB.EDU.PL, JPOPKO@UMWB.EDU.PL,
J.DABROWSKI@PB.EDU.PL

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań in vitro wybranych właściwości reologicznych i tribologicznych naturalnej cieczy synowialnej, pobranej od pacjentów po urazie kolana. Oceniano lepkość dynamiczną w funkcji prędkości ścinania oraz współczynnik tarcia dla pary tribologicznej, wykonanej ze stopu kobaltu, testowanej w środowisku mazi stawowej. Otrzymane wyniki badań wykazały różnice pomiędzy testowanymi próbkami w zakresie przeprowadzonych badań.

Słowa kluczowe: ciecz synowialna, lepkość, biotribologia, współczynnik tarcia
[Inżynieria Biomateriałów, 122-123, (2013), 64-65]

Wprowadzenie

Drugim, co do wielkości, stawem w organizmie człowieka jest staw kolanowy. Jednym z istotnych aspektów decydujących o efektywności biomechanicznej tego stawu są zjawiska tarcia na współpracujących powierzchniach. Medium smarującym w tym układzie jest ciecz synowialna, zapewniająca prawidłowe funkcjonowanie stawu [1,2].

Prawidłowy płyn stawowy ma kolor od bezbarwnego do słomkowego oraz pH 7,2-7,4 i charakteryzuje się sporą lepkością [3]. Jednak w pewnych sytuacjach patologicznych i chorobowych dochodzi do zmian w składzie chemicznym płynu stawowego. Mało jest prac badawczych na temat wpływu tych zmian na biomechaniczne właściwości płynu stawowego.

Celem niniejszej pracy jest ocena właściwości smarnych (badania reologiczne i tribologiczne) płynu stawowego w stanach pourazowych.

Materiały i metody badań

Badaniom poddano ciecz synowialną pobraną od 6 pacjentów w wieku: 10-22 lata, którzy doznali urazu kolana.

Badania reologiczne przeprowadzono przy wykorzystaniu reometru RheoStress 6000, firmy HAAKE. Podczas badań oceniano wpływ prędkości ścinania na wartość lepkości dynamicznej. Pomiar lepkości dynamicznej wykonano przy zastosowaniu układu stożek-płytki. Testy tribologiczne zostały przeprowadzone przy użyciu tribometru z zastosowaniem geometrii pomiarowej typu trzpień-tarcza. Para tribologiczna (trzpień i tarcza) została wykonana ze stopu CoCrMo. Badania tarcia wykonane w środowisku naturalnej cieczy synowialnej. Testy te przeprowadzono przy zastosowaniu następujących parametrów: zmienny nacisk jednostkowy w strefie tarcia: 1, 5, 10 MPa; czas tarcia pojedynczej próby $t = 1$ h. Podczas badań oceniano współczynnik tarcia.

RHEOLOGICAL AND TRIBOLOGICAL PROPERTIES OF SYNOVIAL FLUIDS

JOANNA MYSTKOWSKA^{1*}, MICHAŁ KARPIŃSKI²,
MARCIN KLEKOTKA¹, JANUSZ POPKO^{2*}, JAN R. DĄBROWSKI^{1*}

¹ BIALYSTOK UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING,
DEPARTMENT OF MATERIALS AND BIOMEDICAL ENGINEERING,
WIEJSKA 45C, 15-351 BIALYSTOK, POLAND

² MEDICAL UNIVERSITY OF BIALYSTOK, DEPARTMENT OF CHILDREN
ORTHOPAEDICS AND TRAUMATOLOGY UDSK,
WASZYNGTONA 17, 15-274 BIALYSTOK, POLAND

* E-MAIL: J.MYSTKOWSKA@PB.EDU.PL, JPOPKO@UMWB.EDU.PL,
J.DABROWSKI@PB.EDU.PL

Abstract

The aim of the work was the assessment of rheological and tribological properties of natural synovial fluids from patients with knee trauma. A viscosity in function of shear rate and coefficient of friction were evaluated. Wear tests were made using pin-on-disc tester in a synovial fluid environment. The obtained results clearly indicate differences between synovial samples.

Keywords: synovial fluid, viscosity, biotribology, coefficient of friction
[Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 64-65]

Introduction

Taking into account the size of human joints, the second one is knee joint. One of the significant aspects, which decide about biomechanical effectiveness of this knee are friction phenomena at cooperating surfaces. The lubricating medium in this system is synovial fluid, which provides the correct knee functionality [1,2].

The healthy synovial fluid has colour from colourless to straw and pH 7.2-7.4 and is characterized by high viscosity [3]. However, at some pathological and morbidity situations some changes in chemical composition of synovial fluid occurred. There are not sufficient research works about the influence of these changes on biomechanical synovial fluid properties.

The aim of this work is the evaluation of lubricating properties (rheological and tribological investigations) of synovial fluid during knee trauma.

Materials and methods

Samples for tests were synovial fluids acquired from the knee joints of six patients (10-22 years old) after knee trauma (1 and 30 days after trauma).

Rheological tests were conducted using the RheoStress 6000 rheometer of the HAAKE company. The viscosity of the studied synovial fluids as a function of shear rate was determined. Rheological investigations were made using cone-plate geometry. Friction tests were conducted using a pin-on-disc tester in a synovial fluid environment. The friction pair consisted of the following pair of materials: CoCrMo alloy (pin) – CoCrMo alloy (disc). Friction tests were conducted with the observance of the following testing parameters: average unit pressure $p = 1, 5, 10$ MPa, friction time (for each unitary load) $t = 1$ h. Friction force was registered during wear tests. After tribological testing, microscope observations of sample surfaces were made.

Po badaniach tribologicznych, dokonano obserwacji mikroskopowych powierzchni próbek w celu określenia rodzaju zużycia materiału.

Wyniki i dyskusja

Wyniki badań lepkości dla wybranych 4 przypadków (2 płyny po 1 dniu od urazu i 2 płyny po 30 dniach od urazu), zamieszczono na RYS. 1. Wyniki te potwierdzają nienewtonowski charakter cieczy synowialnej [4]. Wyniki wskazują na niewielkie różnice w analizowanej właściwości płynu stawowego pomiędzy poszczególnymi przypadkami. Lepkość wynosiła ok. 0,01 Pas przy prędkości ścinania $\gamma = 5 \text{ s}^{-1}$ oraz ok. 0,005 Pas przy $\gamma = 150 \text{ s}^{-1}$.

Kolejny etap badań objął testy tarciove analizowanych płynów. Podczas badań tribologicznych zmierzono siły tarcia, na podstawie których obliczono współczynniki tarcia par tribologicznych wykonanych ze stopu kobaltu. Wartości współczynnika tarcia dla cieczy testowanych po 1 dniu od urazu mieszczą się w granicach 0,18-0,25, a dla cieczy przy 30-dniowym urazie - współczynnik tarcia wynosi około 0,17. Właściwości smarnej cieczy synowialnej pobranej od pacjentów niedługo po urazie kolana są gorsze w porównaniu do właściwości cieczy utrzymującej się w stawie miesiąc od urazu. Różnice te wynikają z innego składu obu cieczy oraz z faktu ustępowania stanu zapalnego kolana, odbudowywania się jego pierwotnej struktury, co w rezultacie prowadzi do poprawy właściwości smarnych płynu stawowego.

Obserwacje mikroskopowe powierzchni śladu tarcia wykazały, że w strefie tarcia pary kinematycznej stopu CoCrMo - CoCrMo w środowisku naturalnej cieczy synowialnej dochodzi głównie do zużycia ściernego z elementami zużycia zmęczeniowego.

Wnioski

Badania reologiczne wykazały, że płyn stawowy, pobrany z pourazowego kolana wykazywał właściwości cieczy nienewtonowskiej. Współczynnik tarcia dla płynu pobranego po 30 dniach od momentu urazu kolana był niższy w porównaniu do cieczy po świeżym urazie. Można więc wnioskować, że właściwości smarnej mazi stawowej, pobranej z kolana po urazie, ulegają poprawie wraz z upływem czasu.

Podziękowanie

Praca naukowa sfinansowana ze środków pracy statutowej Katedry Inżynierii Materiałowej i Biomedycznej (Wydział Mechaniczny, Politechnika Białostocka, S/WM/1/09).

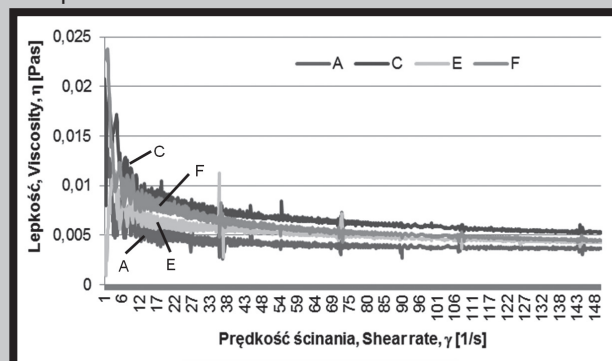
Piśmiennictwo

- [1] Unsworth A.: Recent developments in the tribology of artificial joints. *Tribology Int.*, 7 (1995) 485-495.
- [2] Mazucco D., Scott R., Spector M.: Composition of joint undergoing total knee replacement and revision arthroplasty: correlation with flow properties. *Biomaterials*, 25 (2004) 4433-4445.
- [3] Chernyakova Y.M., Pinchuk L.S.: The synovial joint as an "intelligent" friction unit. *J Frict Wear* 28(4) (2007) 389-394.
- [4] Altman R.D.: Status of hyaluronan supplementation therapy in osteoarthritis, *Current Rheumatology Reports* 5 (2003) 7-14.

References

Results and Discussion

FIG. 1 presents selected results of rheological tests of experimental synovial fluids taken from four patients (2 fluids after 1 day of trauma and 2 fluids after 30 days of trauma). The figure shows changes in viscosity as a function of shear rate. The obtained results confirm the non-newtonian properties of synovial fluids [4]. During tests were observed some differences between tested synovial samples. The greatest viscosity (0.01 Pas) of the synovial fluids was observed for the shear rate $\gamma = 5 \text{ s}^{-1}$ and the lowest (0.005 Pas) at shear rate $\gamma = 150 \text{ s}^{-1}$.



RYS. 1. Lepkość cieczy synowialnej w funkcji prędkości ścinania: A,C – 30 dni od urazu, E,F – 1 dzień po urazie kolana.

FIG. 1. Viscosity of synovial fluids in function of shear rate: A,C – 30 days after trauma, E,F – 1 day after knee trauma.

The second essential element of the work was tribological testing. During wear tests the friction forces were measured in aim to calculate the coefficients of friction for cobalt alloy tribological pairs. It results from these studies that coefficients of friction for synovial fluids tested after 1 day from trauma was about 0.18-0.25, and for fluids tested after 30 days from trauma was about 0.17. Thus, it could be noted that lubricating properties of synovial fluids taken from patients just after trauma are worse in comparison to fluids taken from knee joint after one month after trauma. These differences are because of different chemical composition of both types of fluids, regeneration of damaged knee joint, which in fact result in better lubrication properties of synovial fluid.

The microscopic observations of cobalt alloy surfaces after tribological tests in a synovial fluid environment indicated that mainly abrasive wear with elements of fatigue wear has occurred.

Conclusions

Rheological investigations indicated that synovial fluids taken from trauma knee joint were non-newtonian fluids. The coefficient of friction obtained in environment of fluids taken 30 days after knee trauma was lower in comparison to fluid after fresh trauma. It could be concluded that lubricating properties of synovial fluid taken from knee joint after trauma, are going to be improved with time.

Acknowledgement

This scientific work was financed from research funds of Statutory Work of Department of Materials and Biomedical Engineering (Faculty of Mechanical Engineering, Bialystok University of Technology), number S/WM/1/09.

VERIFICATION OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF POLY- ϵ -CAPROLACTON (PCL) AS THE MATERIAL DEDICATED TO MEDICINE AND BIOTECHNOLOGY

JAROSŁAW WIECZOREK^{1*}, IZABELA GRAD¹,
EWA STODOLAK-ZYCH², YURIY KOSENYUK¹

¹ NATIONAL RESEARCH INSTITUTE OF ANIMAL PRODUCTION,
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY OF ANIMAL REPRODUCTION
1 KRAKOWSKA STR., BALICE, POLAND

² AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,
30 MICKIEWICZ AVE, 30-059 KRAKOW, POLAND

*E-MAIL: JAROSLAW.WIECZOREK@IZOO.KRAKOW.PL

Abstract

The aim of the study was evaluation of possibility of poly- ϵ -caprolacton (PCL) application as potential material for production of medical devices, as catheters for obtaining and transporting of embryos as well as dishes for embryos culture in vitro and covers for cryoconservation. The possible application of this biomaterial needs verification of its biological properties on embryos culture. The foil discs made of polycaprolacton, thickness 0.5 mm, diameter 3.5 mm, were prepared in two forms: the baseline one (nPCL) and thermally modified by freezing with liquid nitrogen (mPCL). The verification of PCL bioconcordance was performed by evaluation of 102 pig embryos. To evaluate poly- ϵ -caprolacton bioconcordance we performed 5-day long culture of embryos on the evaluated material, not frozen (nPCL) and frozen in liquid nitrogen (mPCL) and additionally culture after short contact with poly- ϵ -caprolacton, lasting 15 minutes (nPCL-15). In all evaluated study groups the development of embryos was suppressed shortly after transfer to the culture with PCL. In the control group. 74%-78% of embryos reached blastocyst stage. Polycaprolacton cannot be used as the material for catheter production used in biotechnology of animal reproduction and other materials used for in vitro culture and cryoconservation.

Keywords: embryos, poly- ϵ -caprolacton (PCL), culture, catheter, pigs

[Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 66-68]

Introduction

During the last few years, the big progress was made in biotechnology of animals reproduction, concerning i.a. fertilization and obtaining of embryos in vitro (IVF/IVM - in vitro fertilization / in vitro maturation), embryos preservation in low temperature, obtaining of transgenic animals for breeding and medical purposes as well as sexing and cloning of embryos. Development of these biotechnological disciplines is not possible without effective methods of embryos transfer.

The main limitation of embryos transfer is the lack of catheters for embryos obtaining and transferring which would have desirable and confirmed biological properties to ensure high bioconcordance and low toxicity.

Catheters used routinely for embryos obtaining and transfer are tools used for insemination, urology and other medical purposes, but their bioconcordance with embryos was never confirmed.

For these reasons, in our study we attempted to develop the modern set of catheters designed for the contact with embryos, based on the biomaterial characterized by good biological and mechanical properties, with optimal resilience and plastic properties, with possibility of free shaping and expanding a straw of the diameter of 1–2 mm. The material that hypothetically fulfills biological requirements and at the same time gives possibility of free shaping is the resorbable polymer used for the long time in many fields of medicine - poly- ϵ -caprolacton (PCL). Because of its biological and physical properties it was taken into consideration to use this biomaterial for in vitro embryos culture and for cryoconservation. However its potential application requires verification of its biological properties in embryos culture. The positive verification of bioconcordance and low toxicity can allow for application of poly- ϵ -caprolacton as the material for production of catheters dedicated for biotechnology of animal reproduction and gynecology.

Materials and methods

The material used for the study were discs made of PCL foil of thickness 0.5 mm and diameter 3.5 cm. Experiments were performed with employment of 102 pigs embryos, at the development stage of two to four blastomers. Embryos were obtained surgically by rinsing out from the fallopian tube. The embryos donors were ten female pigs, age six to eight, breeding in one farm. To obtain the highest possible number of embryos at the same time the donors underwent hormonal synchronization of sexual cycle and superovulation according to the schedule presented in the TABLE 1.

TABLE 1. The schedule of oestrus and superovulation synchronization.

Day	Hour	Hormone	Donors
0	8 ⁰⁰	PMSG or eCG	1000–1500 j.m.
3 (72 hours after PMSG)	8 ⁰⁰	hCG	750–1000 j.m.
4 (24 hours after hCG)	8 ⁰⁰ 20 ⁰⁰		Insemination
5 - 11	8 ⁰⁰		Embryos collection

PMSG-pregnant mare's serum gonadotropin; eCG-equine choriogonadotropin; hCG-human chorionic gonadotropin

On the third day after surgery animals were sent back to the owner for further breeding. The rinsed embryos were transferred to collective dishes with PBS filled up with 20% fetal bovine serum. The embryos were evaluated under stereoscopic microscope (magnification 100x); after evaluation they were transferred for in vitro culture. The embryos culture lasted five days and was performed in medium NCSU-23, in an incubator, in the temperature 39°C and the atmosphere with 5% of CO₂ in the air. Obtained embryos were divided into five groups: one control group and four study groups: K–control embryos culture (n=38), nPCL-1–culture of embryos with continuous contact with not frozen

TABLE 2. Effectiveness of pigs embryos culture.

Group	Number of embryos in culture (2–4 blastomers)	Stage of development after 5 days culture	
		2-4 blastomers	Blastocyste
I Stage			
Control	9	2	7
nPCL-1	17	17	0
mPCL-1	10	10	0
II Stage			
Control	29	6	21
nPCL-2	20	20	0
nPCL-15"	17	17	0

nPCL-1 – culture of embryos with continuous contact of embryos with not frozen PCL; mPCL-1 – culture of embryos with continuous contact of embryos with PCL frozen in liquid nitrogen; nPCL-2 - culture of embryos with continuous contact of embryos with purified PCL; nPCL-2-15" – culture of embryos after short (15 minutes) contact with purified PCL

PCL (n=17), nPCL-2–culture of embryos with continuous contact with PCL frozen in liquid nitrogen (n=10), nPCL-2 – culture of embryos with continuous contact with purified PCL (n=20) and nPCL-2-15" - culture of embryos after short (15 minutes) contact with purified PCL (n=17).

The experiment was divided into two stages. In the first, stage, embryos were cultured for five days on not frozen polycaprolacton (Group nPCL-1) and PCL frozen in liquid nitrogen (Group mPCL-1). For the second stage, the new production of polycaprolacton was performed, with PCL dried for 24 hours in the temperature of 40°C. The aim of the prolonged and strictly controlled drying was to exclude the potential possibility of contamination of PCL with dissolvent. In the second stage, we gave up the embryos culture on the frozen material. Culture was performed on the not frozen, purified polycaprolacton only (Group nPCL-2). We additionally add one group in which the contact of embryos with dedicated material was limited to 15 minutes (nPCL-2-15").

Results and discussion

The performed experiment was the first attempt of verification of biological properties of the biomaterial for the dedicated application in biotechnology of reproduction to the best of authors' knowledge. This kind of experiment which aimed to confirm the properties of biomaterials in the contact with embryos were not performed so far and they are no data concerning this subject in literature. In the performed study the possible wide employment of polycaprolacton was taken into consideration, mainly as the potential material for the production of catheters for embryos transfer, but also dishes for in vitro culture as well as straws and probes for cryoconservation. In the case of application such catheters as the tools for transferring of embryos in vitro and in vivo, the most important feature of biomaterial, because of its application, would be bioconcordance and facility of processing of polymer dedicated as the material temporarily introduced into organism. These conditions are fulfilled by bioconcordant polymer poly-ε-caprolacton (PCL). PCL is the material that has been known for over 40 years. During this time, its biological properties were verified many times in different experimental models. Due to its properties it is widely used in medicine, i.a. for the production of surgical sutures that undergo biodegradation or implants for cardiology, ophthalmology, transplantology and other fields of medicine [10-13]. Additionally, easy methods of processing this material, with the possibility of forming it into any shape (i.a. polymer tubes, 10-40 cm long) make PCL the potentially useful material for production of catheters for embryos transfer. Because sensitivity of embryos to toxins is ex-

tremely high, much higher than somatic cells, it was necessary to confirm biological properties of poly-ε-caprolacton in in vitro embryos culture.

The experiment was based on the culture of embryos in five days long incubation with chosen material. In the first stage, in two study groups nPCL-1 (0/17) and mPCL-1 (0/10) none of the cultured embryos developed to the blastocyste. In the control group, we obtained blastocyste stage in 78% of embryos (7/9). In both study groups (nPCL-1 (0/17) and mPCL-1 (0/10)) after five day culture all embryos had the same stage of development as at the moment of the transfer to culture. The restriction of embryos development took place short after transferring embryos to culture on polycaprolacton. We took into consideration two possible causes of development restriction during culture: the mistake during production of the polycaprolacton with not proper drying of foil with possibility of leaving the dissolvent or the strong toxic impact of PCL on the embryos. To exclude the possible impact of dissolvent, the PCL was produced again with very careful drying of the foil as described above. Additionally, we established the additional group in which contact of embryos with biomaterial was limited to 15 minutes. In the instituted schedules of embryos transfer it is extremely important to transfer embryos from culture to the natural environment, i.e. Fallopian tube or uterus as fast as possible, depending on the stage of embryos development. As the rule, the contact of embryos with catheters is restricted to 1–2 minutes. For this reason we decided to evaluate toxicity of biomaterial after short (15 minutes) contact of PCL with embryos. The results were similar as in the first stage of the experiment. Blastocystes developed only in control group (74%, 21/29). In two study groups, nPCL-2 and nPCL-15", no blastocystes were observed. Development of the most of embryos was stopped shortly after transfer to culture. These results were similar as for the first part of our experiment.

Conclusions

Polycaprolacton is toxic for embryos in in vitro culture. Because of proved cytotoxic impact on embryos it cannot be used as material for production of catheters used for biotechnology of animals reproduction and other medical devices used for in vitro embryos culture and cryoconservation.

Acknowledgments

This work was financially supported by the Polish Ministry of Science and Higher Education project number: N N302 632140

References

- [1] Saad B, Hirt TD, Welti M, Uhlschmid GK, Neuenschwander P, Suter UW. Development of degradable polyester urethanes for medical applications: in vitro and in vivo evaluations. *J Biomed Mater Res.* 1997 Jul;36(1):65-74.
- [2] Vaquette C, Fawzi-Grancher S, Lavalle P, Frochot C, Viriot ML, Muller S, Wang X. In vitro biocompatibility of different polyester membranes. *Biomed Mater Eng.* 2006;16(4 Suppl):S131-6
- [3] Pitt CG, Gratzl MM, Kimmel GL, Surles J, Schindler A. Aliphatic polyesters II. The degradation of poly (DL-lactide), poly (epsilon-caprolactone), and their copolymers in vivo. *Biomaterials.* 1981 Oct;2(4):215-20.
- [4] Woodward SC, Brewer PS, Moatamed F, Schindler A, Pitt CG. The intracellular degradation of poly(epsilon-caprolactone). *J Biomed Mater Res.* 1985 Apr;19(4):437-44.
- [5] Jiao Y, Ubrich N, Marchand-Arvier M, Vigneron C, Hoffman M, Lecompte T, Maincent P. In vitro and in vivo evaluation of oral heparin-loaded polymeric nanoparticles in rabbits. *Circulation.* 2002 Jan 15;105(2):230-5.
- [6] Wang XY, Baba A, Taniguchi K, Hagio M, Miyazaki K. Study on rat subcutaneous reaction to experimental polyurethane elastomers. *Dent Mater J.* 2004 Dec;23(4):512-6.
- [7] Oh T, Rahman MM, Lim JH, Park MS, Kim DY, Yoon JH, Kim WH, Kikuchi M, Tanaka J, Koyama Y, Kweon OK. Guided bone regeneration with beta-tricalcium phosphate and poly L-lactide-co-glycolide-co-epsilon-caprolactone membrane in partial defects of canine humerus. *J Vet Sci.* 2006 Mar;7(1):73-7
- [8] Brennan MP, Dardik A, Hibino N, Roh JD, Nelson GN, Papadimitris X, Shinoka T, Breuer CK. Tissue-engineered vascular grafts demonstrate evidence of growth and development when implanted in a juvenile animal model. *Ann Surg.* 2008 Sep;248(3):370-7.
- [9] Ribeiro CM, Silva Júnior VA, Silva Neto JC, Vasconcelos BC. Clinical and histopathological study of tissue reactivity to monofilament suture materials: nylon and poliglecaprone 25 in rats. *Acta Cir Bras.* 2005 Jul-Aug;20(4):284-91.
- [10] Ozawa T, Mickle DA, Weisel RD, Koyama N, Ozawa S, Li RK. Optimal biomaterial for creation of autologous cardiac grafts. *Circulation.* 2002 Sep 24;106(12 Suppl 1):I176-82.
- [11] Kavlock KD, Pechar TW, Hollinger JO, Guelcher SA, Goldstein AS. Synthesis and characterization of segmented poly(esterurethane urea) elastomers for bone tissue engineering. *Acta Biomater.* 2007 Jul;3(4):475-84.
- [12] Filová E, Straka F, Mirejovský T, Masín J, Bacáková L. Tissue-engineered heart valves. *Physiol Res.* 2009;58 Suppl 2:S141-58
- [13] E.Stodolak, T. Gumula, R. Leszczynski, J. Wieczorek, S. Blazewicz A composite material used as a membrane for ophthalmology applications *Composites Science and Technology*, Volume 70, Issue 13, 15 November 2010, Pages 1915-1919

CORRELATION OF COMPOSITION AND STRUCTURE OF SHARK TEETH

O.PRYMAK^{1*}, J.ENAX¹, H.FABRITIUS², D.RAABE², M.EPPLE¹

¹ UNIVERSITY OF DUISBURG-ESSEN, INSTITUTE OF INORGANIC CHEMISTRY AND CENTER FOR NANOTECHNOLOGY (CeNIDE), ESSEN, GERMANY

² MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR EISENFORSCHUNG, MICROSTRUCTURE PHYSICS AND ALLOY DESIGN, 1 MAX-PLANCK-STR., 40237 DÜSSELDORF, GERMANY
*E-MAIL: OLEG.PRYMAK@UNI-DUE.DE

Abstract

*In contrast to mammalian teeth with the biomineral phase hydroxyapatite, the shark teeth contain harder mineral phase fluoroapatite with partial substitutions of phosphate by carbonate and of fluoride by hydroxide [1]. Their excellent mechanical properties are due to a special hierarchical structure of the constituting fluoroapatite crystals and organic matrix [2]. The two main structural elements of teeth, i.e. hard and mineral-rich enameloid on the outside and softer and less mineralized dentin on the inside, were structurally, chemically and mechanically characterized [3]. The teeth of two different shark species mako shark (*Isurus oxyrinchus*) and tiger shark (*Galeocerdo cuvier*) were investigated and their hierarchical structure by high-resolution scanning electron microscopy presented (Fig. 1). X-ray diffraction showed that the inorganic matrix of both enameloid and dentin consisted of fluoroapatite, with a high crystalline phase in enameloid and nanocrystalline phase in dentin. FTIR-spectra of the shark teeth showed the characteristic bands of biological apatite. It was found by thermogravimetry that dentin had a higher content of water, organic matrix and carbonate than enameloid. To investigate the mechanical properties of the teeth in longitudinal and cross sections, nanoindentation and Vickers microhardness were carried out. Both methods gave comparable results: the enameloid of both shark teeth was approximately six times harder than the dentin with an isotropic hardness (longitudinal or cross section).*

[Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 68]

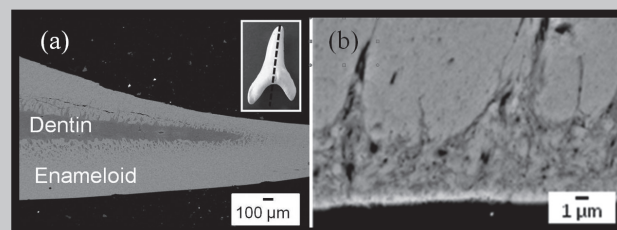


FIG.1. Scanning electron micrographs (back-scattered electron mode) of the axial cross section of a tooth of *Isurus oxyrinchus* showing the interface between dentin and enameloid (a) and also the topological arrangement of the apatite crystals (b)

References

- [1] G. Daculsi, L. M. Kerebel, Ultrastructural study and comparative analysis of fluoride content of enameloid in sea-water and fresh-water sharks, *Arch. Oral Biol.* 25 (1980) 145
- [2] J.W.C. Dunlop, P.Fratzl, Biological composites, *Annu. Rev. Mater. Res.* 40 (2010) 1
- [3] J. Enax, O. Prymak, D. Raabe, M. Epple, Structure, composition, and mechanical properties of shark teeth, *J. Struct. Biol.* 178 (2012) 290

IN VITRO BIOCOMPATIBILITY STUDY OF BIODEGRADABLE HYBRID COMPOSITES BASED ON POLYLACTIDENANOFIBRES AND CALCIUM ALGINATE NANOCOMPOSITE FIBRES

E.MENASZEK¹, G.SZPARAGA³, P.KRÓL³, E.STODOLAK-ZYCH², M.BOGUŃ³

¹JAGIELLONIAN UNIVERSITY – COLLEGIUM MEDICUM, DEPARTMENT OF CYTOBIOLOGY, KRAKÓW, POLAND;

²AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, KRAKÓW, POLAND

³TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, DEPARTMENT OF MATERIAL AND COMMODITY SCIENCES AND TEXTILE METROLOGY, ŁÓDŹ, POLAND;

Keywords: polylactide nanofibres, calcium alginate nanocomposite fibres, HAp, magnetite, spinning method

[*Engineering of Biomaterials*, 122-123, (2013), 69-70]

Introduction

Bone tissue engineering requires a suitable biomaterial scaffold that provides an environment for cell growth and bone tissue remodelling [1]. By combining properties of biodegradable fibrous polymers with high surface area and porosity with the bioactive properties of hydroxyapatite and magnetite nanoparticles, the temporary environment can be tailored to enhance the cell migration, proliferation and differentiation [2,3]. The aim of the study was to evaluate the biocompatibility of biodegradable hybrid composites based on polylactidenanofibres and calcium alginate nanocomposite fibres.

Materials and methods

Three-dimensional biomaterials were prepared from calcium alginate (CA) fabrics covered with thin layer of synthetic fibrous polylactide (PLA). Various spinning methods were used in order to obtain composite materials of different composition and structure. Micrometric CA fibres (12-15 μm) were obtained by the traditional spinning method

TABLE 1. Composition of materials.

Symbol	Composition	BET [g/m ²]
W1	CA+Hap CA+Fe ₃ O ₄ 90%:10%	91,26
W2	CA+Hap CA+Fe ₃ O ₄ 85%:15%	93,18
W3	CA+Hap CA+Fe ₃ O ₄ 50%:50%	75,58
W4	CA+Hap CA+Fe ₃ O ₄ 20%:80%	106

(wet forming from solution). The fibres were modified by nanoadditives: hydroxyapatite and magnetite in different ratio (TABLE 1). Submicrometric PLA fibres (4-6 μm) were obtained by the electrospinning method.

Samples of biomaterials were examined in vitro. The biocompatibility of biomaterials was compared using normal human osteoblasts NHOst and murine macrophages RAW 264.7. The cells were cultured in media optimized for their growth, in standard conditions (5% CO₂ and 95% air atmosphere, 37°C). After three passages the cells were brought into suspension and seeded onto sterile biomaterial samples fitted to the size of culture-plate wells. Tissue culture polystyrene bottom of empty wells served as a positive control. After 3 and 7 days' culture viability/proliferation and cytotoxicity tests were performed. Morphology and adhesion of cells grown on biomaterials were observed under SEM and fluorescent microscopy.

Results and conclusions

Results of tests evaluating the viability and proliferation of cells cultured on biomaterials and cytotoxic effects of the materials, indicate the biocompatibility of these materials. Of the four tested materials only W4 is characterized by high cytotoxicity and low viability of both cell lines used in the experiment, so this material should be excluded from further study.

The proper interpretation of the results of cytotoxicity tests requires their reference to the number of cells grown on the materials, expressed as the total level of the adenylate kinase activity (FIG. 1a,b). Presentation of a number of dead cells as a% of total cell number shows that the cytotoxic effect of biomaterials on cell cultures is similar to the positive control. The number of cells growing on biomaterials W1, W2, W3 in a 7-day series is also similar

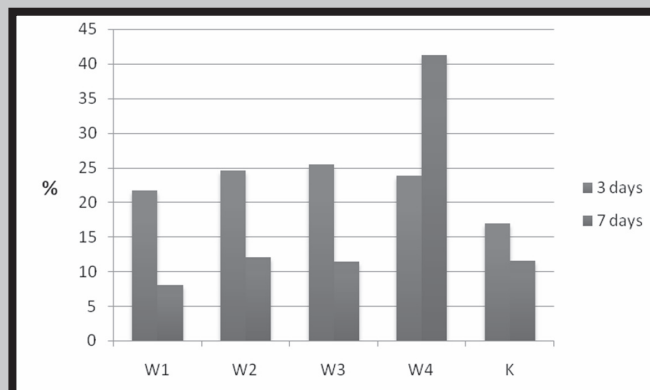


FIG.1a. Cytotoxicity of biomaterials expressed as a percentage of dead cells to the total NHOst cells number estimated with ToxiLight 100% lysis reagent and ToxiLight Bioassay kit.

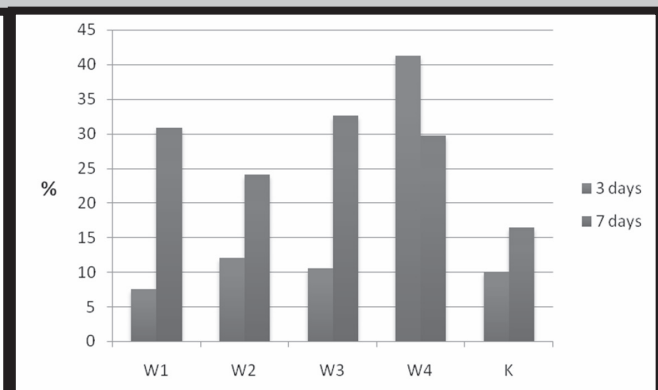


FIG.1b. Cytotoxicity of biomaterials expressed as a percentage of dead cells to the total RAW 264.7 cells number estimated with ToxiLight 100% lysis reagent and ToxiLight Bioassay kit.

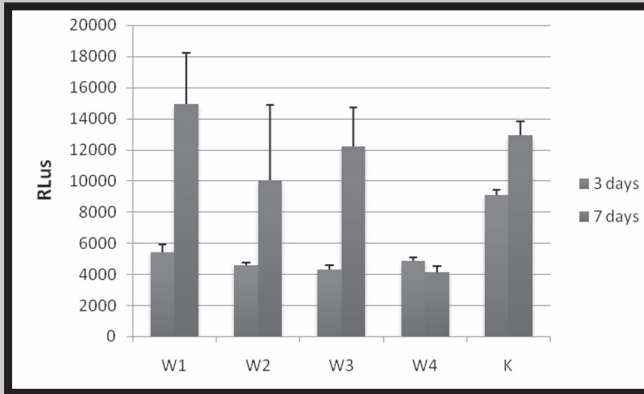


FIG. 2a. Proliferation of NHOst grown on the biomaterials for 3 and 7 days estimated with ToxiLight 100% lysis reagent and ToxiLight Bioassay kit. RLUs – relative luminescence units.

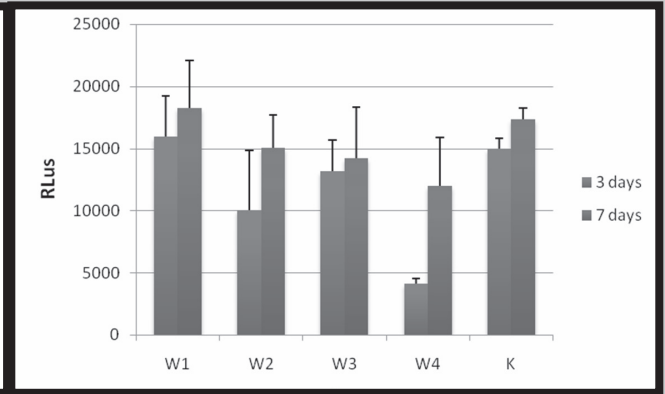


FIG. 2b. Proliferation of RAW 264.7 grown on the biomaterials for 3 and 7 days estimated with ToxiLight 100% lysis reagent and ToxiLight Bioassay kit. RLUs – relative luminescence units.

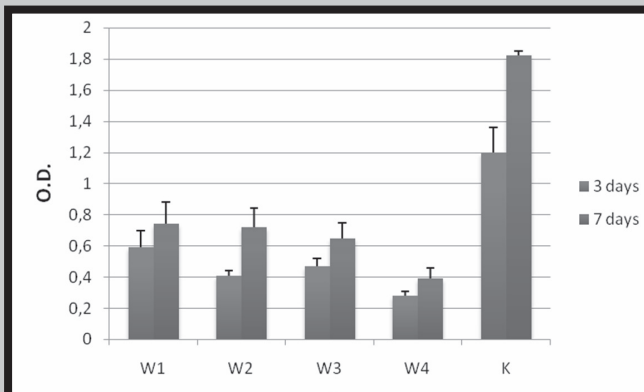


FIG.3a. Viability of NHOst grown on the biomaterials for 3 and 7 days measured by XTT test. O.D – optical density.

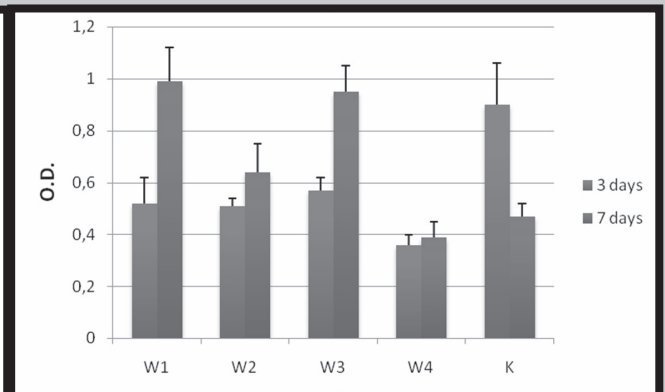


FIG.3b. Viability of RAW 264.7 grown on the biomaterials for 3 and 7 days measured by XTT test. O.D – optical density.

to the control, indicating stabilization of the culture after 3 days of experiment (FIG.2a, 2b). Although in the case of NH osteoblasts a decrease of viability compared to the control is observed (FIG.3a), which is probably due to the difficulty in adhesion and flattening of the large cells on the fibrous structure of the biomaterial, the proliferation of smaller RAW 264.7 macrophages, grown on biomaterials W1, W2 and W3, is similar, and viability on W1 and W2 is significantly higher (FIG.3b)

Acknowledgments

The work was supported by Polish Ministry of Science and Higher Education -National Centre for Research and Development (project no.NR08-0032-10/2010).

References

- [1.] H. Yoshimoto, M. Shin, H. Terai, J.P. Vacanti. A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering, *Biomaterials*, 24, (2003), 2077-2082.
- [2.] Y. Ito, H. Hasuda, M. Kamitakahara, Ch. Ohtsuki, M. Tanihara, I. Kang, O.H. Kwon. A composite of hydroxyapatite with electrospun biodegradable nanofibres as a tissue engineering material, *J. Biosci. Bioeng.* 100, (2005), 43-49.
- [3.] D. Zhang, A.B. Karki, D. Rutman, D. P. Young, A. Wang, D. Cocke, T. H. Ho, Z. Guo. Electrospun polyacrylonitrile nanocomposite fibers reinforced with Fe_3O_4 nanoparticles: Fabrication and property analysis. *Polymer* 50 (2009) 4189–4198.

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF NOVEL CALCIUM PHOSPHATES/ POLYURETHANE COMPOSITES FOR BONE TISSUE ENGINEERING

PIOTR SZCZEPAŃCZYK*, JAN CHŁOPEK, KINGA PIELICHOWSKA

AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS
30 MICKIEWICZA AV. 30-059 KRAKÓW
*E-MAIL: PSZCZEPA@AGH.EDU.PL

[*Engineering of Biomaterials*, 122-123, (2013), 71-72]

Introduction

Biodegradable materials for bone tissue engineering are currently intensively developed due to increasing number of injuries against background of sport or cancer. There are still many problems to solve connected with bioactivity, biocompatibility, vascularization etc.

There is an increasing demand of, which ideally biodegrade in register with controlled, progressive osseous regeneration [1] [2]. Autografts pose currently the gold standard therapy in bone healing though in many cases this method is not sufficient and the harvest of graft tissue leads to donor site morbidity. In turn, allografts are clinically limited due to eventuality of immune rejection and lack of donor sources [3] [4]. Regenerative medicine reposes hope in tissue engineering of which approaches have demonstrated potential solutions for bone tissue regeneration [3] [5]. The objective of this study was to fabricate PUR-based composite scaffolds filled with β -TCP nanoparticles with potential to be applied as injectable, resorbable biomaterials.

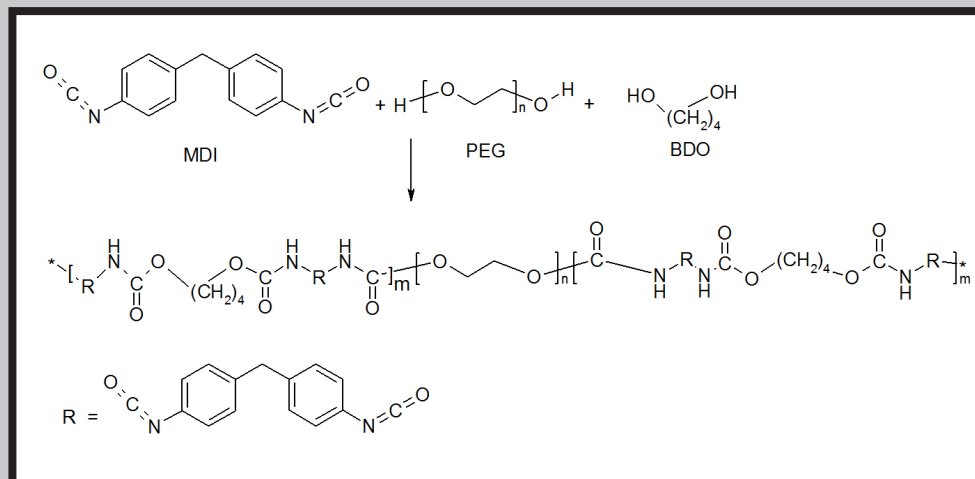


FIG.1. Mechanism of reaction of synthesis of polyurethane

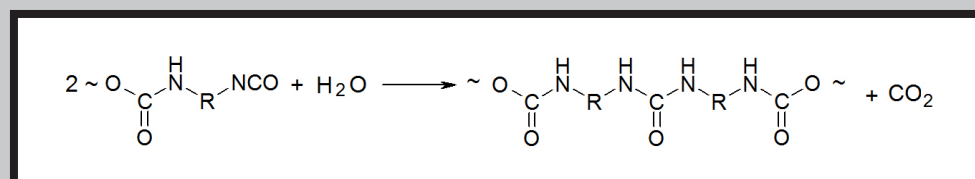


FIG.2. Mechanism of reaction of foaming of polyurethane

Materials and methods

The PUR foam was synthesized by one step bulk polymerization method, using water as expanding agent, methylene diphenyl diisocyanate (MDI), polyethylene glycol (PEG). Composite scaffolds have been obtained by addition of β -TCP nanoparticles to the polymerization mixture.

On the basis of microscope observations of samples, the area of hollow spaces and whole visible composite surface was determined. The pore-to-volume ratio in the scaffolds, also called porosity, was determined from the ratio of the nonsolid volume (pores) to the total volume of material including the solid and nonsolid parts. Fourier transform infrared (FTIR) spectra of the composites were obtained with a BIO-RAD FTS60V FTIR spectrometer in the middle infrared range with samples mixed with the KBr powder (about of 0.1-2% of the KBr amount) and pressed into pellets. The SEM microphotographs were measured on NanoNova SEM (FEI) scanning microscopy. Investigation of compressive resistance were carried out with the aid of a mechanical testing machine Zwick on samples before and after incubation in phosphate buffered saline.

Results and discussions

The structure of obtained the polyurethane was confirmed by FTIR method. The FTIR spectra are shown in the FIG. 3.

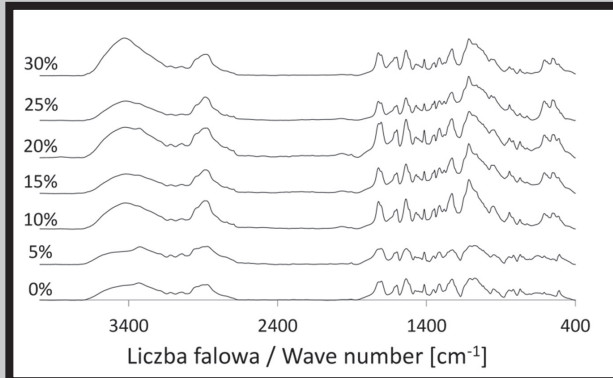
The characteristic absorption band for ethers in range $1150-1085 \text{ cm}^{-1}$ is caused by asymmetric stretching vibrations C-O-C. The band located at 3330 cm^{-1} proves presence of N-H stretching vibrations and band at 2934 and 2850 cm^{-1} is assigned to asymmetric and symmetric vibrations of group CH_2 . Bands at 1700 and 1730 cm^{-1} attest to presence of stretching vibrations of carbonyl group. Backbone vibrations causing stretch of the C-C binding within aromatic ring absorb radiation in range $1600-1585 \text{ cm}^{-1}$ and $1500-1400 \text{ cm}^{-1}$. Stretching vibration C-N, in turn, absorbs radiation of

wavenumber 1222 cm^{-1} . The band at 1535 cm^{-1} is assigned to bending vibrations of N-H group. The bands at 570 cm^{-1} and 600 cm^{-1} are assigned to the O-P-O bending mode. The intensities of absorption of these bands increased with an increase of concentration of β -TCP in PUR composite.

The porosity was determined from the ratio of the nonsolid volume (pores) to the total volume of material including the solid and nonsolid parts. The calculated results are put in the TABLE 1.

TABLE 1. Porosity determined for samples with different concentrations of β -TCP.

Concentration of β -TCP	0%	5%	10%	15%	20%	25%	30%
Porosity	41%	27%	38%	33%	44%	53%	46%

**FIG.3. FTIR spectra for PUR/ β -TCP composite sample trochlear groove filled with the implant material (b).**

The influence of β -TCP on the bioactivity of PUR-based scaffolds was investigated by immersion tests in acellular simulated body fluid (SBF) with ion concentrations nearly equal to those of human blood plasma according to procedure described in work [6]. There is shown a SEM microphotograph of investigated samples after incubation and the EDX analysis results in the FIG. 4.

Measures of compressive strength were carried out on samples before and after incubation in phosphate buffer saline (PBS). The modulus was calculated on basis of force-strain relationship curvatures. The results are shown in the TABLE 2.

The above results show a decrease of modulus of samples after incubation what proves hydrolysis of β -TCP during incubation [7]. There is additionally an observable increase in modulus with increasing concentration of β -TCP in PUR composite samples, what a result is of big contribution of ceramics in mechanical strength of composite [8].

Conclusions

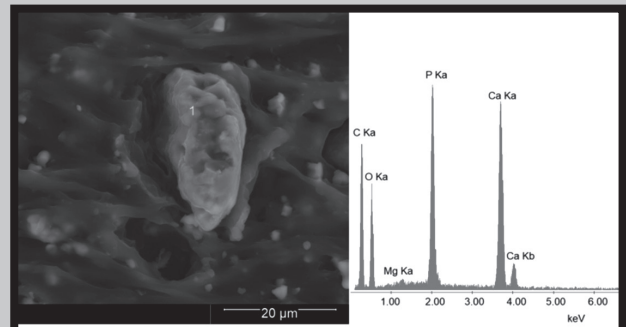
Porous composite materials containing bioactive ceramics were obtained through synthesis. Summarizing, these biomaterials bode well in orthopaedic applications' terms and the obtained results indicate purposefulness of further investigations.

Acknowledgements

This work was financed by statutory research 11.11.160.256 of Faculty of Materials Science and Ceramics, AGH University of Science and Technology.

TABLE 2. Calculated modulus results for PUR/ β -TCP composite samples.

Before PBS incubation		After PBS incubation	
Concentration of β -TCP	Modulus [MPa]	Concentration of β -TCP	Modulus [MPa]
0%	0,53±0,08	0%	0,33±0,08
5%	0,55±0,09	5%	0,35±0,07
10%	0,60±0,05	10%	0,40±0,08
15%	0,64±0,03	15%	0,49±0,04
20%	0,73±0,04	20%	0,54±0,06
25%	0,75±0,05	25%	0,60±0,05
30%	1,00±0,10	30%	0,86±0,08

**FIG.4. SEM microphotograph of PUR/ β -TCP composite surface.**

References

- [1] Zhang J, Doll BA, Beckman EJ, Hollinger JO, „A biodegradable polyurethane-ascorbic acid scaffold for bone tissue engineering,” *Journal of Biomedical Materials Research*, pp. 389-400, 1 November 2003.
- [2] Doll B, Sfeir C, Winn S, Huard J, Hollinger J, „Critical aspects of tissue-engineered therapy for bone regeneration,” *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, pp. 173-198, 2001.
- [3] You Z, Bi X, Fan X, Wang Y, „A functional polymer designed for bone tissue engineering,” *Acta Biomaterialia*, 11 November 2011.
- [4] D. Puppi, F. Chiellini, A.M. Piras, E. Chiellini, „Polymeric materials for bone and cartilage repair,” *Progress in Polymer Science*, pp. 403-440, 2010.
- [5] Rezwan K, Chen QZ, Blaker JJ, Boccaccini AR, „Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering,” *Biomaterials*, 28 February 2006.
- [6] Kokubo T, Takadama H, „How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?,” *Biomaterials*, pp. 2907-2915, 31 January 2006.
- [7] Kobayashi S, Sakamoto K, „Effect of hydrolysis on mechanical properties of tricalcium,” *The Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, pp. 379-386, 21 September 2008.
- [8] M. Bagheri Hossein Abadi, I. Ghasemi, A. Khavandi, M.A. Shokrgozar, M. Farokhi, S.Sh. Homaeigohar, A. Eslamifar, „Synthesis of Nano β -TCP and the Effects on the Mechanical & Biological Properties of β -TCP/HDPE/UHMWPE,” *Polymer Composites*, pp. 1745-1753, 2010.

BIOACTIVITY ASSESSMENT OF CERAMIC NANOPARTICLES USED AS A FILLER IN NANOCOMPOSITE MATERIALS

KAROL GĘGOTEK¹, ŁUKASZ ZYCH², EWA STODOLAK-ZYCH^{3*}

AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
30 MICKIEWICZ AVE., 30-059 KRAKOW, POLAND:

¹FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING, AUTOMATICS,
COMPUTER SCIENCE AND BIOMEDICAL ENGINEERING,

²FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF CERAMICS AND REFRACTORIES

³FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS.

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

Abstract

The paper presents research on degree of bioactivity of nanometric ceramic particles used as a nanofiller in nanocomposite materials based on polymers. The nanoparticles used in our examination were: different bioceramics powders such as: hydroxyapatite (HAp), β -phosphate (V) calcium (β TCP), silica (SiO_2) and bioglass (BG). Based on ζ -potential measurements dynamics of processes occurring on the surface of nanoparticles in stimulated body fluid (SBF) was determined and it confirmed possibility of apatite formation. This study showed predominance of bioglass over other bioceramic materials, Bioglass nanoparticles were the most bioactive ones. In the end of the experiment the bioacermic particles were used as a nanofiller of poli-L/DL-lactide (PLDLA) matrix composites. The composite materials were prepared by casting from solution. Bioactivity tests were performed in simulated body fluid (artificial plasma of various ions concentration, and SBF 2SBF). Based on surface microstructure observed in the SEM (EDS) analysis were confirmed the degree of bioactivity of various materials depending on the type nanofiller.

Keywords: nanocomposite, bioactivity, scaffolds, regenerative medicine, bioceramics, zeta potential
[Engineering of Biomaterials, 122-123, (2013), 73-74]

Introduction

Currently, the greatest interest in tissue engineering materials is focused on composites and nanocomposites based on polymers. They better match with properties of the material of living tissue. Moreover, nanoparticles characterized unique surface properties which influence on mechanical properties, physicochemical properties and durability of nanocomposites materials. Ceramic nanoparticles in polymer matrix shown similar structure which can be find in natural tissue – bone tissue. Introduction of ceramic phase can improve such characteristics of the material as bioactivity. It is guarantee better reactivity nanocomposites surface and faster fixation implant made with nanocomposites materials into human body [1,2].

Therefore the most commonly used materials are biodegradable polymers (synthetic or natural for example: PLA, PGA,) and bioactive ceramics [3]. For polymers based on lactic acid and glycolic acid (PLA, PGLA) degradation products appear to be safe because of their presence in the

metabolic pathways of the body. Unfortunately, the change of degradation degree of the polymer can lead in their case to local pH changes resulting from increased concentration of the metabolites. This may result in acceleration or inhibition of tissue regeneration [4]. Applications of bioceramic particles as the fillers provide bioactivity to the material (osteoconductivity - HAp or osteoinductivity – BG). The phenomenon of bioactivity of bone tissue applies to ability of an implant surface to the formation of chemical bonds with the bone tissue without forming an intermediate layer (connective tissue). Hydroxyapatite is similar to natural bone apatite, HAp with β tri-calcium phosphate(V) belong to osteoconductive ceramics. In case of BG (bioglass) and silica process of formation of bond between implant and bone is multistage, in which formation of silica gel is a common stage for silicon materials [3]. Calcium ions layer on the negatively charged surface of the materials is future nucleation center of hydroxyapatite. Hydroxyl groups (in the form of Si-OH, P-OH) are responsible for the negatively charged surface. Surface properties play a key role in the formation of apatite layer. In the case of bioactive materials their electrical double layer is one of the most important factors deciding whether the material is able to produce permanent connection to the bone in the form of hydroxyapatite apatite similar to bone apatite. Electrokinetic potential (ζ -potential) is used for characterization of electrical properties of the surface [5,6]. Presence of the nanofiller increases (usually faster) the degree of degradation of the polymer matrix and enhances its mechanical properties.

The paper presents the process of production of nanocomposite materials based on resorbable polymer (PLDLA) which was modified with the nanometric bioceramics particles. The research was performed in several stages. The first part concerned in the analysis of change of ζ potential of the nanoparticles in SBF suspension vs time. In second stages nanocomposite materials which were incubated in SBF and double concentrated 2SBF for 3 and 7 days were prepared. Changes in the microstructure of the nanocomposite materials (SEM) confirmed their bioactivity.

Materials and method

As the nanofillers were used: HAp (particle size <200 nm, BET), silica (particle size 5-5nm, TEM) β -phosphate (V) calcium (β TCP) (particle size <100 nm, TEM) produced by Sigma-Aldrich. Bioglass 45S5 was obtained at AGH-UST in Krakow. The bioglass particles were characterized by submicron size (average particle size – 800 nm). All materials were prepared using synthetic copolymer of L/DL-lactide (the ratio of units L:DL 80:20, MW 20 kDa) from Purac®. The polymer had the FDA attestation confirming its biocompatibility.

Polymer-ceramic nanocomposite materials obtained using the casting from solution method. The first stage was prepared solvent mixture. As solvent used DCM and DFM (POCh, Gliwice) in a weight ratio of 9:1. Next polymer PLDLA was dissolved in solvent mixture (DCM:DMF, 10:1). The mixture of the polymer was homogenized mechanically. To the thus prepared solution was added ceramic powder in an amount equivalent to 2%wt. the filler content in the composite (after drying). After introduction of a mixture of nanoadditive used ultrasonic homogenizer. Solvent was evaporated by 24 hours on the air. All nanocomposite materials were examined in the bioactivity test – incubation in simulated body fluid, one concentrated (SBF) and double concentrated (2SBF) in in vitro condition (37°C).

The ceramics nanoparticles were incubated in SBF solution for one to ten days. The rate of change of zeta potential vs. time of the bioceramics nanoparticles in SBF suspension determined changes of their surface chemistry.

Study of electrokinetic potential (ζ) of the nanoparticles in SBF solution were performed using Nanosizer ZS (Malvern Instruments). The scanning electron microscope (SEM Nova NanoSEM 200, FEI) was used to observe surface microstructure of the nanocomposites after incubation in plasma in two time intervals i.e. 3 and 7 days. Bioactivity test was carried out by incubation of the material in the immersion medium - artificial plasma-alone (SBF) and double concentrated (2SBF) for 3 and 7 days.

Results and discussion

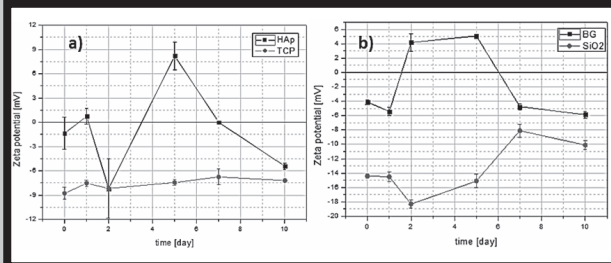


FIG.1. Zeta potential vs. time for materials from group: (on the left) CaPs-calcium phosphate, (on the right) silica.

Studies of electrokinetic potential (ζ) of the ceramic nanoparticles in SBF solution showed that the fastest changes surface charge occur in for bioglass and hydroxyapatite (FIG. 1). Bioglass particles earlier achieved potential greater than zero than HAp particles. Change of sign of the potential observed in bioglass was caused by the diffusion of the calcium ions from the environment towards negatively charged silica surface. After reaching the maximum value, the potential decreased. It is the starting point of transport of phosphate ions to the surface and crystallization of calcium phosphate on the surface. This way most stable HAp ($\text{pH} > 4.2$) can be observed.

For the hydroxyapatite nanoparticles surface itself is the center of crystallization. OH- group attracted calcium ions (positive ζ potential), which then together with phosphate ions led to precipitation of apatite (drop potential).

In the case of the silica nanoparticles noticeable changes in the ζ potential in direction the positive values were observed which indicated enhanced diffusion of Ca ions. It is possible that in this case the bioactivity is only partial and not on the entire surface or the rate of change of the potential is too high and thus difficult to observe. The β -TCP particles showed through the entire incubation process only small fluctuations of the surface charge. This phenomenon consisted of dissolution and hydrolysis of the same ceramic material.

The observations of the surface microstructure of the nanocomposites modified by ceramic nanoparticles (SEM/EDS) showed that the best bioactive potential characterized polymer with bioglass. Only PLDLA/BG had the ability of forming a layer rich in phosphorus and calcium in both types of medium immersion (SBF and 2SBF). In case of materials incubated in SBF for 7 days, on the surface of the composites of HAp, β -TCP, SiO_2 precipitates occurred which contained an increased content of Ca and P (EDS analysis). Apatite nucleation was observed locally. The first precipitates on the surface of each materials were chlorides (crystals with regular shapes), and phosphates precipitated later on the materials surface (SBF). For samples incubated in 2SBF (FIG.2) it was observed that apatite layer precipitated fastest on the edge of materials: PLA/HAp, PLA/ β TCP. The nanocomposite of silica surface apatite was covered after 14 days bioactivity test.

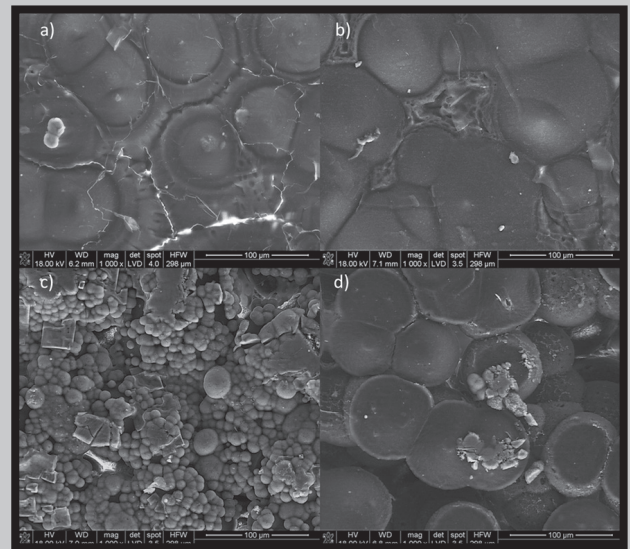


FIG.2. SEM image of a surface of PLDLA/2% a) HAp b) TCP c) BG d) SiO_2 after 7 days incubation in 2SBF.

The richest apatite layer was observed on the surface of the composite with bioglass. Almost the entire surface of the material was coated with calcium phosphate. The phosphates precipitates had the characteristic shape of "cauliflower" (FIG.2c). The relatively small amount of the precipitates in the form of calcium phosphate on the surface of the nanocomposite materials based on polylactide may be caused by several factors. The first one is the very small amount of the nano-additive (2%wt.). The second reason of moderate bioactivity of the received materials is slow degradation of PLDLA matrix covered nanoparticles.

Conclusions

Results of the zeta potential measurements showed that the most bioactive material seemed to be bioglass, while β -TCP had the lowest degree of bioactivity. Analysis of the SEM images with EDS method led to following biological activity of the nanoparticles: $\text{BG} > \text{HAp} > \beta\text{TCP} > \text{SiO}_2$. The nanocomposite material with 2%wt. bioglass content in the PLDLA matrix has a good chance to find in the group of bioactive materials for scaffolds for tissue engineering.

References

- [1] F. R. Baxter, C. R. Bowen, I. G. Turner, A. C. E. Dent "Electrically Active Bioceramics: A Review of Interfacial Responses", Annals of Biomedical Engineering, 2010
- [2] E. Stodolak, A. Frączek-Szczypta, M. Błażewicz, Nanocomposite Polymer Scaffolds for Bone Tissue Regeneration, Acta Physica Polonica A, 2012
- [3] A. Kaźnica, R. Joachimiak, New trends in tissue engineering - Arthroscopy and Joint Surgery, 2007;
- [4] S. K. Misra, D. Mohn, "Comparison of nanoscale and microscale bioactive glass on the properties of P(3HB)/Bioglass composites", Biomaterials, 2008
- [5] M. A. Lopes, F. J. Monteiro, J. D. Santos, Hydrophobicity, surface tension, and zeta potential measurements of glass-reinforced hydroxyapatite composites, Journal of Biomedical Materials Research, 1999.
- [6] M. Kawashita, M. Nakao, "Apatite-forming ability of carboxyl group-containing polymer gels in a simulated body fluid", Biomaterials, 2003

ADHESION, GROWTH AND DIFFERENTIATION OF HUMAN OSTEOBLAST-LIKE CELLS ON THERMALLY OXIDIZED Ti AND TiNb SUBSTRATES

LUCIE BACA KOVA¹, MARTA VANDROVCOVA¹, IVAN JIRKA², KATARINA NOVOTNA¹, VLADIMIR STARY³

¹INSTITUTE OF PHYSIOLOGY, ACAD. SCI. CR, VIDENSKA 1083, PRAGUE 4, CZECH REPUBLIC

²J. HEYROVSKY INSTITUTE OF PHYSICAL CHEMISTRY, ACAD. SCI. CR, DOLEJSKOVA 3, 182 23 PRAGUE 8, CZECH REPUBLIC

³CZECH TECHNICAL UNIVERSITY IN PRAGUE, FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING, INSTITUTE OF MATERIALS ENGINEERING, 13 KARLOVO SQ., PRAGUE 2, CZECH REPUBLIC

[*Engineering of Biomaterials*, 122-123, (2013), 75-76]

Abstract

Metallic materials are essential for construction of load-bearing bone implants, such as replacements of hip, knee and other joints. For these applications, modern materials used in advanced tissue engineering, e.g. resorbable porous or fibrous polymeric and ceramic scaffolds are mechanically insufficient, even if these materials enable the ingrowth of bone cells and bone tissue formation. Therefore, searching for new metallic materials and their surface modifications improving their biocompatibility and osseointegration is still desirable.

As first metallic materials for bone implantation, AISI 316L stainless steel and Co-Cr alloys were used. In the 1950's, the Ti-6Al-4V alloy was developed. These materials are still frequently used for construction of implants because of their relatively low price [1]. However, these materials are biomechanically incompatible with the bone tissue, because their Young's modulus is markedly higher (110-220 GPa) than that of the bone (10-40 GPa). Implants with high stiffness take over a considerable part of load from the bone. This phenomenon, referred as "stress-shielding effect", can then cause the bone resorption and loosening of the implant [1].

Also chemical compositions of the mentioned metallic materials limit their biocompatibility, because they contain harmful elements as V, Al, Co and Cr, which can act as cytotoxic, catabolic, immunogenic or even carcinogenic agents [2,3], and can also cause serious neurological problems [4]. Due to these adverse reactions, new types of Ti-alloys have been developed, namely low-rigidity β -type Ti alloys, containing non-toxic and non-allergenic elements (Nb, Ta, Zr etc.) and having good mechanical properties and workability [4,5].

The goal of this study was to evaluate the adhesion, growth and differentiation of osteoblast-like MG-63 and Saos-2 cells on titanium-niobium alloys after their surface modification by thermal oxidation at two different temperatures (165°C and 600°C). Pure titanium (treated at 165°C and 600°C) and polystyrene culture dishes (PS) were used as control materials. Possible immune activation of the cells was tested by the levels of TNF- α secreted to the cell culture media by murine macrophage-like RAW 264.7 cells cultured on the tested materials.

On samples treated at 165°C, the number of initially adhered MG-63 and Saos-2 cells was on an average higher on TiNb than on Ti or PS. On day 3 after seeding, the trend of the cell numbers remained similar, with the highest cell density found on TiNb. Similar results were obtained on samples treated at 600°C, where the difference in cell number between TiNb and Ti samples became more apparent. This cell behavior could be attributed to a less negative zeta potential on TiNb samples. In samples treated at 165°C, the zeta potential of TiNb surfaces was on the average less negative than on Ti surfaces, but this difference was not significant. However, in samples treated at 600°C, this difference became much more pronounced, which was probably due to the formation of T-Nb₂O₅ phase on the surface of the TiNb samples. This phase was of a crystalline structure, while at 165°C, the structure of Nb₂O₅ was amorphous. In addition, both Ti and TiNb samples treated at 600°C contained rutile, while the samples treated at 165°C contained anatase in their surface layer. It has been shown that rutile films deposited on PEEK enhanced the adhesion and growth of osteoblasts more than anatase films [6]. This phenomenon was explained by an increase in the material surface wettability, and particularly to the presence of -OH- groups on the rutile films.

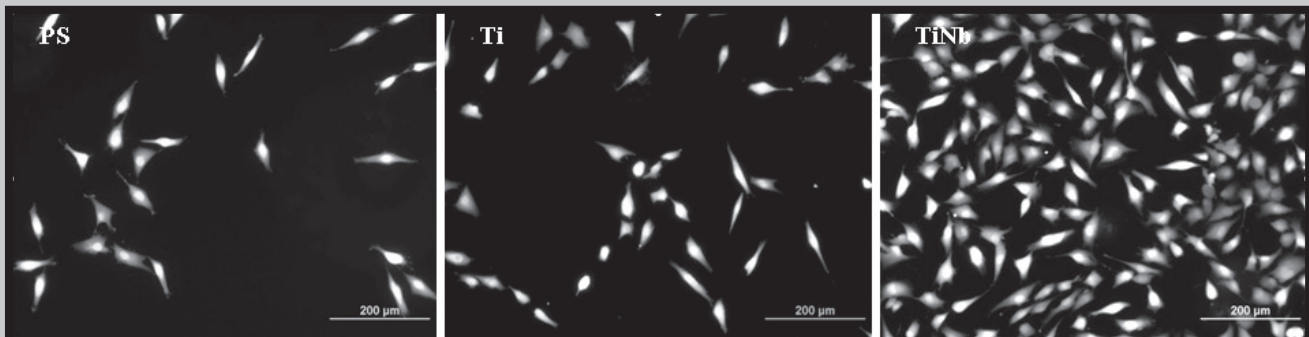


FIG.1. Human osteoblast-like MG 63 cells on day 1 after seeding on polystyrene dishes (PS), and Ti or TiNb subjected to thermal oxidation at 600°C. Cells stained with LIVE/DEAD viability/cytotoxicity kit for mammalian cells. Olympus IX 51 microscope, DP 70 digital camera. Obj. 10x, bar=200 µm.

The expression of collagen I and osteocalcin, i.e. an early and late marker of osteogenic cell differentiation, respectively, was higher on Ti than on TiNb samples, and this difference was more apparent in samples treated at 165°C. At the same time, no considerable immune activation of the cells on all tested samples was found. The production of TNF- α by RAW 264.7 cells was very low in comparison with cells grown in the presence of bacterial lipopolysaccharide, and also significantly lower than on untreated samples.

These results indicate that TiNb substrates increased the proliferation of human bone cells, while pure Ti rather supported the cell differentiation. The effect on cell proliferation was more apparent in samples treated at the higher temperature (600°C), while the effect on cell differentiation was more pronounced at the lower temperature (165°C). None of the tested samples induce significant cell proinflammatory activation. Thus, all tested samples are suitable as carriers for bone cells; only an appropriate application (i.e., requiring either proliferation or quick differentiation of osteogenic cells) should be selected.

Acknowledgements

This study was supported by the Grant Agency of the Czech Republic (grant No. P107/12/1025), by the Technological Agency of the Czech Republic (grant No. TA01011141) and by the Ministry of Industry and Trade (grant No. FR-TI3/088).

References

- [1] Geetha M, Singh AK, Asokamani R, Gogia: Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review. *Prog Mater Sci* 54: 397-425, 2009
- [2] Tsaousi A, Jones E, Case CP: The in vitro genotoxicity of orthopaedic ceramic (Al₂O₃) and metal (CoCr alloy) particles. *Mutat Res* 697: 1-9, 2010
- [3] Zeng Y, Feng W: Metal allergy in patients with total hip replacement: a review. *J Int Med Res* 41: 247-252, 2013
- [4] da Silva LM, Claro AP, Donato TA, Arana-Chavez VE, Moraes JC, Buzalaf MA, Grandini CR. Influence of heat treatment and oxygen doping on the mechanical properties and biocompatibility of titanium-niobium binary alloys. *Artif Organs* 35: 516-521, 2011
- [5] Cremasco A, Messias AD, Esposito AR, de Rezende Duek EA, Caram R: Effects of alloying elements on the cytotoxic response of titanium alloys. *Mat Sci Eng C-Mater* 31: 833-839, 2011
- [6] Tsou HK, Hsieh PY, Chi MH, Chung CJ, He JL. Improved osteoblast compatibility of medical-grade polyetheretherketone using arc ionplated rutile/anatase titanium dioxide films for spinal implants. *J Biomed Mater Res A* 100: 2787-2792, 2012

IMPROVED ADHESION AND GROWTH OF OSTEOBLAST-LIKE MG-63 CELLS IN CULTURES ON TITANIUM MODIFIED BY GOLD PARTICLES

MARTIN PARIZEK¹, TOMAS BASE², MARTIN HRUBY³,
VERA LISA¹, LUCIE BACAKOVA¹

¹ INSTITUTE OF PHYSIOLOGY, ACAD. SCI. CR,
VIDENSKA 1083, 142 20 PRAGUE 4-KRC, CZECH REPUBLIC
E-MAIL: PARIZEK@BIOMED.CAS.CZ, LUCY@BIOMED.CAS.CZ

² INSTITUTE OF INORGANIC CHEMISTRY, ACAD. SCI. CR,
250 68 HUSINEC-REZ 101, CZECH REPUBLIC
E-MAIL: TBASE@IIC.CAS.CZ

³ INSTITUTE OF MACROMOLECULAR CHEMISTRY, ACAD. SCI. CR,
HEYROVSKY SQ. 2, 162 06 PRAGUE 6, CZECH REPUBLIC
E-MAIL: MHRUBY@CENTRUM.CZ

Abstract

Metallic materials are important for load-bearing bone implants. The osteointegration of these implants can be improved by appropriate surface modifications. Therefore, we present here a study of the cell growth on titanium surfaces modified with films created from gold microparticles. These particles in the form of microplates or polyhedral microcrystals were deposited on titanium plates from ethanol solutions, dried and annealed with a hydrogen flame. Some samples were additionally modified by polyethylene imine. The materials engendered from these modifications were used to investigate the adhesion and growth of human osteoblast-like MG-63 cells on these surfaces in the DMEM medium with 10% of fetal bovine serum.

One day after seeding, the highest number of initially adhered cells was found on the surfaces modified by both types of gold microparticles. This trend was the same three and seven days after seeding. The numbers of cells on pure Ti and Ti modified only with gold particles were significantly higher than on samples which were modified with polyethylene imine. The cell spreading areas projected on the materials were significantly larger in cells on the samples with polyethylene imine modification. However, the shape of these cells was mostly rounded or star-like with thin and long protrusions, while on the materials without polyethylene imine, it was mostly polygonal.

The cell proliferation activity was estimated from XTT test, based on the activity of mitochondrial enzymes. This test showed that the proliferation activities of osteoblast-like MG-63 cells of the 3rd and 7th days of the experiment were more pronounced on the samples modified only by gold microparticles.

Immunofluorescence showed that the focal adhesion plaques containing vinculin and the fibers containing β -actin were most apparent, more numerous and more brightly stained in cells on Ti modified by gold microplates and gold polyhedral microcrystals, especially in comparison with the corresponding samples modified with polyethylene imine (Fig. 1).

Thus, it can be concluded that the modification of titanium samples by both types of gold microparticles enhanced the adhesion and growth of MG 63 cells.

Keywords: metallic material, titanium, surgical implants, gold microparticles, cell adhesion, cell growth

[*Engineering of Biomaterials*, 122-123, (2013), 77]

Acknowledgement

Supported by the Grant Agency of the Czech Republic (grant No. P108/10/1106) and Technological Agency of the Czech Republic (grant No. TA01011141).

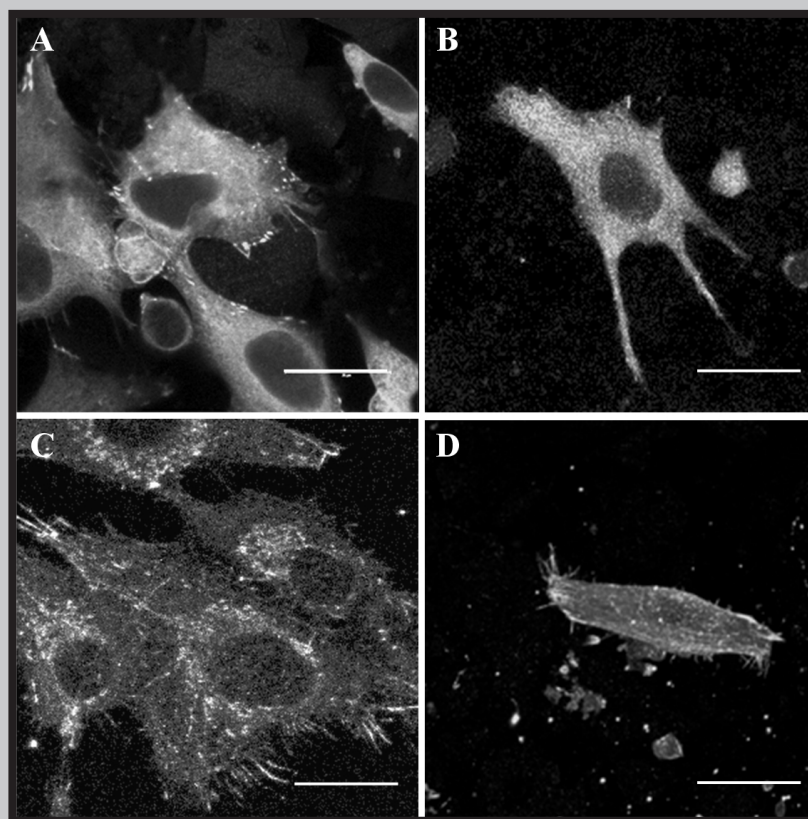


FIG. 1. Immunofluorescence staining of vinculin, an integrin-associated protein of focal adhesion plaques (A, B), and β -actin cytoskeleton (C, D) in osteoblast-like MG-63 cells on day 5 after seeding on Ti samples modified by gold microplates (A, C) or by gold microplates and polyethylene imine (B, D). Leica confocal laser scanning microscope (TCS SP2, Germany), obj. 60x, zoom 2x, bar = 25 μ m.

