

Numer 35-36 Rok VII ISSN 1429-7248

CZERWIEC -WRZESIE 2004

WYDAWCA:

Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów w Krakowie

KOMITET REDAKCYJNY:

Redaktor naczelny Stanisław Bła ewicz

Sekretarz redakcji, Skład komputerowy Augustyn Powro nik

Redaktor El bieta Godlewska

RADA NAUKOWA:

Jan Ryszard D browski

Jan Chłopek

Tadeusz Cie lik

Monika Gierzy ska-Dolna

Andrzej Górecki

Wojciech Maria Ku

Jan Marciniak

Stanisław Mazurkiewicz

Stanisław Mitura

Roman Pampuch

Bogna Pogorzelska-Stronczak

ADRES REDAKCJI:

Akademia Górniczo-Hutnicza al. Mickiewicza 30/A-3 30-059 Kraków











SPIS TRE CI

• •

CONTENTS

. . . .

BIOCOMPATIBILITY OF THIN LAYERS	6	BIOCOMPATIBILITY OF THIN LAYERS	6
F. Hollstein, M. ervinka, P. Louda, I. Šubrtová		F. HOLLSTEIN, M. ERVINKA, P. LOUDA, I. ŠUBRTOVÁ	
MODYFIKACJA POWIERZCHNI MATERIAŁU STOSO WANEGO NA STENTY	9	SURFACE MODIFICATION OF MATERIALS USED FOR STENT	9
M. Czerniak, A. Sysa, J. Grabarczyk, A. Pełka, P. Niedzielski, T. W yk		M. Czerniak, A. Sysa, J. Grabarczyk, A. Pełka, P. Niedzielski, T. W yk	
CZY MIKROORGANIZMY MOG MODYFIKOWA TWARDE WARSTWY W GLOWE?	12	CAN MICROORGANISMS MODIFY HARD CARBON COATINGS?	12
A. Kaczorowska, M. Szcz sna-Antczak, T. Antczak, S. Bielecki, S. Mitura, P. Niedzielski, W. Kaczorowsk M. Kozanecki, P. Couvrat	α ,	A. Kaczorowska, M. Szcz sna-Antczak, T. Antczak, S. Bielecki, S. Mitura, P. Niedzielski, W. Kaczorowski M. Kozanecki, P. Couvrat	,
ZASTOSOWANIE METODY ELEMENTÓW SKO CZO NYCH DO SYMULACJI NAPR E POMI DZY WYPEŁNIENIAMI A TKANKAMI Z BA	a 16	FEM APPLICATION IN SIMULATING THE STRESSES BETWEEN DENTAL FILLINGS AND THE TISSUES OF THE TOOTH	16
L. KLIMEK, J. SAWICKI		L. Klimek, J. Sawicki	
ELEKTRONOWY MIKROSKOP SKANINGOWY W BADANIACH MATERIAŁÓW ENDODONTYCZNYCH	22	SCANNING ELECTRON MICROSCOPE IN INVESTIGATION ENDODONTICAL MATERIALS	22
L. Klimek		L. Klimek	
DŁUGOTERMINOWE BADNIA ZMECZENIOWE SZTUCZNEJ ZASTAWKI SERCA POKRYTEJ WARSTW NANOKRYSTALICZNEGO DIAMENTU K. Jó wik, D. Witkowski, D. Obidowski	26	A LONG-TERM MECHANICAL FATIGUE EXAMINATION OF THE ARTIFICIAL HEART VALVE WITH AN NCD COATING K. Jó wik, D. Witkowski, D. Obidowski	26
	_		

Streszczane w Applied Mechanics Reviews Abstracted in Applied Mechanics Reviews Wydanie dofinansowane przez Komitet Bada Naukowych Edition financed by State Committee for Scientific Research

TROMBOZGODNO WARSTW NCD NA POWIERZCHNI STOPÓW TYTANOWYCH	29	THROMBOCOMPATIBILITY OF NCD LAYERS ON A SURFACE OF TITANIUM ALLOYS	29 • • • •
W. Okrój, W. Jakubowski, I. Przybyszewska, M. Pirek, P. Komorowski, M. Mruklik, W. Szyma ski, P. Kos da, B. Walkowiak		W. Okrój, W. Jakubowski, I. Przybyszewska, M. Pirek, P. Komorowski, M. Mruklik, W. Szyma ski, P. Kos da, B. Walkowiak	
WPŁYW WARUNKÓW NANOSZENIA NA JAKO POWŁOK TLENKU TYTANU OTRZYWANYCH METOD ZOL- EL	33	THE INFLUENCE OF DEPOSITION CONDITIONS O QUALITY OF TIO₂ COATINGS DEPOSITED BY SOL-GEL METHOD	N 33
L. KLIMEK, B. PIETRZYK	_	L. Klimek, B. Pietrzyk	
CHEMICZNA MODYFIKACJA POWIERZCHNI PROSZKU DIAMENTOWEGO	36	CHEMICAL SURFACE MODIFICATION OF DIAMOND POWDER PARTICLES	36
W. Jakubowski, B. Walkowiak	_	M. Pirek, W. Okrój, I. Przybyszewska, W. Jakubowski, B. Walkowiak	
ELEKTROCHEMICZNE BADANIA KOROZJI BIOMATERIAŁÓW B. Plaskota, T. Błaszczyk, A. Leniart, H. Scholl	40	ELECTROCHEMICAL INVESTIGATIONS OF BIOMATERIALS' CORROSION	40
	_	B. Plaskota, T. BŁASZCZYK, A. LENIART, H. SCHOLL	
BIOMATERIAŁY W NANOELEKTROCHEMII – BADANIA KOROZYJNE TYTANU I TYTANU Z WARSTWAMI NCD	45	BIOMATERIALS IN NANOELECTROCHEMISTRY – CORROSION INVESTIGATIONS OF TITANIUM AND TITANIUM WITH NCD LAYERS	45
H.Scholl, T.BŁaszczyk, P.Niedzielski, J.Gralewski	_	H.Scholl, T.BŁaszczyk, P.Niedzielski, J.Gralewski	
POTENCJAŁ KONTAKTOWY WODA : BIOMATERIAŁ	54	CONTACT POTENTIAL WATER : BIOMATERIAL	54
A. Sokołowska, S. Mitura, T. Wierzcho , P. Niedzielski, K. Orli ska, P. Sawosz	_	A. Sokołowska, S. Mitura, T. Wierzcho , P. Niedzielski, K. Orli ska, P. Sawosz	
POMIARY PŁYNNO CI I MIKROLEPKO CI ELEMENTÓW MORFOTYCZNYCH KRWI U OSÓB ZE SZTUCZN ZASTAWK SERCA	56	MEASUREMENTS OF FLUIDITY AND MICRO- VISCOSITY OF MORPHOTIC ELEMENTS OF PATIENTS WITH AN ARTIFICIAL HEART VALVE M. Szyller-Tracz, I. akowska, K. Jó wik	56
IVI. SZYLLER-TRACZ, I. AKOWSKA, K. JO WIK			
NANOKRYSTALICZNY DIAMENT (NCD) – NOWY I OBIECUJ CY MATERIAŁ DO ZASTOSOWA MEDYCZNYCH	62	NANOCRYSTALLINE DIAMOND (NCD) – A NEW AND PROMISING MATERIAL FOR MEDICAL APPLICATIONS	62 2
B. Walkowiak, W. Okroj, I. Przybyszewska, M. Pirek, W. Szymanski, P. Kos da, W. Jakubowski		B. Walkowiak, W. Okroj, I. Przybyszewska, M. Pirek, W. Szymanski, P. Kos da, W. Jakubowski	Ш

BICMATERIALOW

4 WŁA CIWO CI WARSTW NCD JAKO POKRY WŁÓKIEN WIATŁOWO DOWYCH W ZALE NO CI OD PARAMETRÓW PROCESU RF PCVD M. MIETANA, J. SZMIDT, M. DUDEK, P. NIEDZIELSKI	67	PROPERTIES OF DIAMOND-LIKE CLADDING FOR OPTICAL FIBRES DEPENDING ON RF PCVD PROCESS PARAMETERS M. MIETANA, J. SZMIDT, M. DUDEK, P. NIEDZIELSKI	67
OBLICZENIA NUMERYCZNE PRZEPŁYWU PRZEZ SZTUCZN ZASTAWK SERCA Z WARSTW NCD K. Jó wik, D. Witkowski	71	NUMERICAL INVESTIGATIONS OF A FLOW THROUGH AN ARTIFICIAL HEART VALVE WITH AN NCD COATING K. Jó wik, D. Witkowski	71
PLAZMOCHEMICZNY SPOSÓB MODYFIKACJI SKROBI ZIEMNIACZANEJ M. Kaczmarek, A. Sobczyk, M. Gazicki-Lipman, H. Szymanowski, L. Klimek, D. Bieli ski	77	PLASMA PROCESSING SYSTEM FOR MODIFICATION OF POTATOE STARCH M. Kaczmarek, A. Sobczyk, M. Gazicki-Lipman, H. Szymanowski, L. Klimek, D. Bieli ski	77

BI MATERIALOW

The Centre of Excellence NANODIAM, which was established in the Technical University of Lodz, Poland, will be conscious of historic necessity to fulfill the mission of European integration, and will share our experience and ideas in participation in the integration process of the European science, especially in the field of nanocrystalline diamond coatings and modification of carbon surface.

Our knowledge, dynamically expanding in the subject of biotechnology, requires constant, or even accelerated, development of the new technologies in many areas, not least in the field of materials engineering. We want to meet these requirements by elaboration of new surfaces for biomedical needs. The experience in this matter strongly indicate that crystalline carbon is an ideal material for these purposes. Features of the prepared surface are dependent mainly on the conditions used for surface formation. The knowledge of the surface allows us to customize the carbon in the deposited carbon to get new and expected properties while retaining properties and attributes already known and accepted. Realization of the above requires the synergistic collaboration of several laboratories which have different profiles of interest and diverse but highly specialized equipment. We also must ensure the rapid and willing exchange of information. In this way, the Centre of Excellence NANODIAM will be an important, if not unique, contributor to the fast and reliable development of the new technologies for biomedical applications.

The first NANODIAM Summer School "Technology of Carbon Surfaces" was held in Lodz, Szklarska Poreba (Poland) and Liberec (Czech Republic) from 21st to 24th of October 2003. The School was in our understanding, a very important and promising event for the young generation of scientists. Finally it was more than 50 participants and there were presented 26 posters during the Poster Session but, before, many of PhD students from Europe were interested in the Summer School.

The Summer School was opened in the Technical University of Lodz on Tuesday, 21st of October 2003 at 11 a.m. by **Professor Rafi Kalish**, from Technion - Israel Institute of Technology. **Professor Rafi Kalish** (co-authors: **V. Richter, B. Fitzgeer, Sh. Michaelson and A. Hoffman**) gave an inaugural lecture "Ion-Induced-electron emission from diamond- Diamond crystals to nano diamond (you can find it on http://www.p.lodz.pl/NANODIAM/lodz_fnl_2.pps). After that, the Summer School participants departed to Szklarska Por ba.

On Wednesday 22nd of October, **Professor Stanisław Mitura**, from the Technical University of Lodz, delivered a lecture "Allotropy of carbon" (http://www.p.lodz.pl/ NANODIAM/wylkad_a.pps) and **Professor Aleksandra Sokolowska**, from the Technical University of Lodz, conducted the lecture "Traps and uncertainties of identification and characterization of diamond thin films", **Professor Boris Spitsyn**, from the Russian Academy of Sciences, gave a lecture: "Nanodiamond: synthesis, purification and functionalization", and **Professor Aleksander Wrobel**, from the Centre for Molecular and Macromolecular Research of the Polish Academy of Science, gave the lecture: "Remote microwave plasma CVD from organosilicon single-sources an useful technique for the production of Si-based thin-film coatings".

Especially interesting was a vivid discussion after each of the lectures. It showed a grand interest in the subject of carbon coatings, and it also allowed PhD students to meet with the fascination of science. The session at the Technical University of Liberec, who is the partner of the Centre of Excellence NANODIAM, took place on Thursday 23rd of October 2003. This meeting resulted from a strong collaboration between the Technical University of Lodz and the Technical University of Liberec. It was an important session, because it allowed the young generation of scientist to understand how important is the creation of a cooperation network between the different laboratories throughout Europe. Such the cooperation exists between Lodz and Liberec laboratories for many years, and now it is even stronger than ever because of the partnership in NANODIAM.

Two Lectures were delivered in Liberec: "Thin Ta_2O_5 and Nb_2O_5 films deposited by PECVD-optical properties and microstructure" (http://www.p.lodz.pl/NANODIAM/ wylkad_c.pps) by **Dr. Hieronim Szymanowski** from the Technical University of Lodz, (co-authors: **J.Sapieha, L.Martinu and O.Zabeida**, from Ecole Polytechnique Montreal) and "Origin, evolution, and some problems of the diamond CVD" (http://www.p.lodz.pl/NANODIAM/ wylkad_b.pps) by **Prof. Boris Spitsyn** from the Russian Academy of Sciences.

On Friday 24th of October, we had the session in Szklarska Poreba again. Three lectures were delivered: "Electrochemical Deposition of Diamond and Diamond-like Carbon Coatings" (http://www.p.lodz.pl/NANODIAM/ wylkad_d.pps) by **Professor Anatoly Kulak**, from the National Academy of Sciences, Minsk, "Biomaterials in nanoelectrochemistry. Theory and practice" (http:// www.p.lodz.pl/NANODIAM/wylkad_e.pps) by **Professor Henryk Scholl** from the University of Lodz (co-author **Barbara Plaskota**), and by **Professor Maciej Gazicki-Lipman**, from the Technical University of Lodz, "Thin Ge:C:H Films RF plasma deposited from organogermanium compounds - potential materials for amorphous superlattice structures".

In the evening of the same day the poster session took place. We found presented paper as a mature and very interesting, and it was confirmed by a lively and fruitful discussion during the session. The main papers presented during the poster session are included in the current issue of the Journal Engineering of Biomaterials. 5

MATERIALOW

BIOCOMPATIBILITY

FRANK HOLLSTEIN*, MIROSLAV ERVINKA**, Petr Louda***, Irena Šubrtová***

*TECHNO-COAT ZITTAU GMBH, HIRSCHFELDER RING 1, D-02763 ZITTAU, GERMANY **LÉKA SKÁ FAKULTA UK, ŠIMKOVA 870, 50001 HRADEC KRÁLOVÉ, CZECH REPUBLIC ***KATEDRA MATERIÁL, TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI, HÁLKOVA 6, 461 17 LIBEREC, CZECH REPUBLIC

Abstract

6

Medical tools for minimally invasive surgery are often used in hard environmental conditions. For more effective protection against corrosion of the substrates, caused by steam sterilization loadings, TiN, TiCN, TiAIN, ZrN PVD - layers were used. All of the considered PVD - coatings have shown a sufficient sterilization resistance and the necessary biotolerance, which is required by the legislator for short-term applications of tools. The biocompatibility was estimated by monitoring and evaluating the growth of certain animal cell cultures. Steam sterilization was performed in an autoclave by the sterilization pressure 105KPa in 60 cycles.

Keywords: PVD coating, medical tools, steam sterilization, biotolerance

Introduction, experimental details

All these PVD coatings TiN, TiAIN, TiCN, ZrN investigated in this work were deposited in TECHNO-COAT Zittau GmbH on mirror-like polished stainless steels substrates, shaped as 5 mm thick circular discs with diameter of 20mm. We have used three steels X20Cr13, X5CrNi189 (AISI 304) and SN 17348 for discs. These steels belong to the most important ones used for tools of minimally invasive surgery. But AISI 304 stainless steels (about 9wt% of nickel) has lost good reputation in some applications of surgical instruments recently. The reason for this is the so-called nickel allergy problem. One of the most frequently asked questions' arising from the surgical tool industry is whether nickel can diffuse into the coating layers. It was demonstrated in [1] even after salt-spray loading above the anchoring region, absolutly no elements of the substrate material including nickel were observed. PVD coatings can protect human body from nickel difusion and as you will find in this paper; these layers can save substrat material from the corrosion and they can be biotolerant.

There were coatings investigated under two entirely different coating conditions in our case; unbalanced d.c.magnetronsputtering using the so-called arc-bound sputtering method (ABS), and poor arc evaporarion. An HTC 1000/4 ABS engine was utilized as the coating device in all cases FIG. 1. This on cross-section hexagonal designed four-source device is equipped with a coating chamber of approxomately 1.5 m³ inner volume, where 0.8 m³ can be used as a loading space. The inner radius of the hexagon is 0.5m and the target shape is rectagular (18 x 60 cm²). Two kinds of deposition methods can be performed. TiN, TiAIN, TiCN were deposited in so called arc mode (a) and ZrN in mode magnetron sputtering (m). All of the circular pieces to be coated were mounted on a triple-planetry substrate holder. For the experiments described here only two rota-



FIG. 1. Cross-section of HTC 1000/4 ABS™ coating device. 1. coating chamber; 2. chamber wall; ABS™ sources; 4. rotation table; 5. vacuum system flange; 6. gas mains.

		Thickness	Hardness	Scratch		CIELAB		Roughness R ₇
		μm	Ηv	N	L*	a*	b*	μm
			L	.ayers				
m-TiAIN	F	3,7	2200	10	47,9	-0,5	-1,8	2,2
	В	1,8	1600	30	48,0	-0,6	-1,5	1,9
m-TiCN	F	1,3	2000	25	68,3	13,4	24,9	3,0
	в	0,6	-	-	-	-	-	-
m-TiN	F	1,1	1400	20	83,9	-0,7	31,4	1,9
	в	0,5	-	-	-	-	-	-
a-ZrN	F	0,6	(1600)	(20)	77,3	2,9	31,7	2,0
	В	0,4	-	-	-	-	-	-
Substrat								
1.4021		0	600	-	81,8	0,2	1,6	1,0
CZ-1734	8	0	280	-	82,7	0,3	4,0	1,0
1.4301		0	230	-	83,8	0,3	4,3	1,0

TABLE 1. The main features (F =foreside, B =back of the specimen; m =Arc-Bound-Sputtering, a =arc-evaporation).

tion axes were used. The whole batch process for a HTC 1000/4ABS[™] device consists of the well-known steps; chamber evacuation, glow discharge (target cleaning and substrate heating/cleaning), ion etching (ion implantation), coating, substrate cooling and chamber venting.

Results

To characterize the mechanical properties of the layers, the usual measurement methods were utilized, e.g. a kalotest for thickness, a scratch-test for adhesion, Vickers hardness for micro-hardness and Hommel Tester TDL for roughness.

Coating colours have been described by the CIELAB sys-



FIG. 2. GDOS Depth profile of the specimen coated TiAIN on 17 348.

tem utilizing a chromameter (TABLE 1). Regarding the three values, L*, a*, b* (lightness, redness-greenness and yellowness-blueness) of the CIE-1976 system, the lightness L* is of particular interest for reflective features of surgical tool. Such a layer's GDO(E)S analyse is down in FIG. 2 regarding the chemical depth profile. Besides some mechanical and optical properties, aspects of biocompatibility and steam sterilization resistance of TiN, TiAIN, TiCN, ZrN on steels were focused on.

Biocompatibility

Tools for minimally invasive surgery have to fulfill the demands of legislators. Simply speaking they have to be at least biotolerant. The observation and evaluation of the growth of certain animal cells is a simple and accredited method how to estimate the biotoleration of a PVD hard coating. The investigations with regard to biocompatibility were performed by Prof. ervinka from UK Faculty of Medicine in Hradec Králové. For this investigation mouse's-cells (cells type EL292) were used with medium MEM and solution 1.5% agar and 0.015% of neutral red (Holborn). Both the coated specimens and the solution were placed into 60 mm plastic tissue culture dish and incubated 24 hours at a body temperature 37°C in an atmosphere of 5% $CO_2/95\%$ air FIG. 3. The cells around the speciemen would die of



FIG. 3. The test of the layers' toxicity - 1. solution, 2. coated specimen, 3. cells, 4. Petri dish.



FIG. 4.The control specimen with toxic substans TW.

FIG. 5. Specimen coated TiAIN on 1.4021.

interaction with toxic material. Then, the scale of a toxic influence will be the zone of the white (dead) cells FIG. 4. There were no toxic impacts against investigated cells in our case FIG. 5. Such a performance could be interpreted as non-toxicity of the PVD-coatings on stainless steels. Nevertheless, this result is only an indication for "general" non-toxicity. And this test have to be repeated for every application.

Steam sterilization

The word sterilization means complete destruction of all micro organisms such as: spores, viruses, bacteria, etc. The most dangerous of all are the bacteria in the spore state, that must be both humidified and heated, in order to be destroyed. Medical tools are disinfected and than sterilized after use. The medical tools are sterilized 1-2x for a day. Common life cycle is 3 years approximately, but it depends on a treatment with such a tool. Unfortunately, it is not exception when paramedical departments have not got money enough to buy new medical tools and the life cycles of these medical tools are longer. The coatings can save basic material and increase the life cycles and the usage of the medical tools.

Steam sterilization has been performed with the help of Halina Doležalová in the Sterilization center of Hospital in Liberec in an autoclave PS 625 CHIRANA (chamber 600l) and GETINGE (chamber 400l) variable. This investigation were performed with coated and uncoated specimens. One sterilization cycle took approximately 1 hour and there has been made 60 cycles in altogether.



FIG. 6. The surface of the uncoated specimen 1.4301 before sterilization (300x). FIG. 7. The surface of the uncoated specimen 1.4301 after sterilization (300x).



FIG. 8. The surface of TiAIN deposited on 1.4301 before sterilization (300x). FIG. 9. The surface of TiAIN deposited on 1.4301 after sterilization (300x).

Sterilization's holding time was 20 minutes under the temperature 121°C and the pressure 105kPa. We have done photos of a surface of the coated specimens before and after the sterilization and photos of uncoated specimens before and after sterilization for comparison. FIG.6-9. You can see corossion on uncoated specimen after sterilization cyckles clearly, but there was no corossion on the coated speciment after sterilization.

MATERIAŁOV

Conclusion

8

One of many ways how to enhance useful value of the solid matter is positive influencing its surface properties. We may speak about the coating of substrat by protective surface that leads to compact system with size of cluster of a few nanometrs. The coatings for medical tools schouldn't have just good mechanical and optikal properties (dark layers TiAIN, TiCN - because bright light from the surface of surgical tools mustn't dirsturb the visual operating field of the surgeon). But this coating must be non-toxically for human body and must protect human body against nickel diffusion and save substrates from corrosion. We can say, that all of the considered PVD - coatings have shown a sufficient sterilization resistance and the necessary biotolerance which is required from the legislatosr for short-term applications of tools.

References

[1] Rother, Vetter, Plasmabeschichtungsverfahren und Hartstoffschichten, 1992.

[2] F. Hollstein, P. Louda, Surface and Coating Technology, 120-121, 1999.

[3] F. Hollstein, D. Kitta, P. Louda, F. Pacal, J. Meinhardt, Surface and Coating Technology, 142-144, 2001.

.

MODYFIKACJA POWIERZ CHNI MATERIAŁU STOSO WANEGO NA STENTY

Małgorzata Czerniak*, Andrzej Sysa**, Jacek Grabarczyk*, Agnieszka Pełka***, Piotr Niedzielski*, Tomasz W yk*

*Zakład In ynierii Biomedycznej, Instytut In ynierii Materia-Łowej, Politechnika Łódzka

Klinika Kardiologii, Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi *Szpital Kliniczny nr.1 im.N.Barlickiego w Łodzi

Streszczenie

Celem naszych bada była modyfikacja powierzchni materiału stosowanego na stenty, jakim była stal medyczna AISI 316L. Modyfikacja zwi zana była z naniesieniem na materiał warstwy diamentowej wytworzonej w plazmie wysokiej cz stotliwo ci pod obni onym ci nieniem RF PCVD. Po naniesieniu warstwy zostały przeprowadzone badania wła ciwo ci mechanicznych stali 316L. Pozwoliły one sprawdzi , czy zmieniaj si wła ciwo ci tego materiału i czy mo e on by po takiej modyfikacji nadal stosowany na stenty.

Słowa kluczowe: stenty, warstwa w glowa, modyfikacja powierzchni

Wprowadzenie

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie stentami, które wykorzystuje si przede wszystkim do udra niania wiatła naczy krwiono nych [1]. Stenty s to cylindryczne rurki utworzone z siatki drucików. rednica drucików jest ok. 0,1 mm. Natomiast rednica stentu zale y od wielko ci naczynia. Wykonuje si je z biologicznie neutralnych materiałów, takich jak: stal medyczna AISI 316L, nitinol, tantal. Musz one mie wysoka wytrzymało na zm czenie, odporno na korozj w płynach ustrojowych, nie mog powodowa uczulenia. Stent po wprowadzeniu do zmienionego chorobotwórczo naczynia pełni role rusztowania i powinien zapobiega ponownemu zarastaniu tego naczynia [1]. Niestety w coraz wi kszej liczbie przypadków dochodzi do zarastania naczynia, co wi e si z przeprowadzaniem kolejnych zabiegów. Dodatkowo istnieje niebezpiecze stwo, e dojdzie do uwolnienia materiału zakrzepowego, co mo e by przyczyn zagro enia ycia.

Aby nie dochodziło do ponownego zarastania naczynia prowadzone s badania nad zmodyfikowaniem powierzchni stentu. Jedn z metod jest, wprowadzenie do stentów leków, które stopniowo uwalniaj si do organizmu [2]. Inn modyfikacj testowan na zwierz tach jest, umieszczenie w stentach genów, które "przechodz " do ciany naczynia [3]. Nasze badania zwi zane z modyfikacj powierzchni materiałów polegaj na wytworzeniu na nich warstwy w glowej uzyskanej z plazmy wysokiej cz stotliwo ci pod obni onym ci nieniem RF PCVD. Jest to metoda, w której reakcje chemiczne s aktywowane metodami fizycznymi. No nikiem w gla potrzebnego do wytworzenia tej warstwy jest metan.

Z literatury wiemy, e zostało przeprowadzonych wiele bada mechanicznych i biologicznych na stali medycznej 316L i tytanie pokrytych warstwami diamentowymi NCD i DLC [4, 5]. Dowodz one, e materiał pokryty tak warstw

SURFACE MODIFICATION OF MATERIALS USED FOR STENT

Małgorzata Czerniak*, Andrzej Sysa**, Jacek Grabarczyk*, Agnieszka Pełka***, Piotr Niedzielski*, Tomasz W yk*

*BIOMEDICAL ENGINEERING DIVISION, INSTITUTE OF MATERIAL SCIENCES AND ENGINEERING, TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, POLAND

**CLINICAL CARDIOLOGY, POLISH MOTHER'S MEMORIAL HOSPITAL

- RESEARCH INSTITUTE, LODZ, POLAND

***BARLICKI CLINICAL HOSPITAL

Abstract

The aim of investigations was surface modifiaction of material used for stent medical stainless steel AISI 316 L. The modification was connected with coating the materials diamond layers manufactured by radio frequency plasma chemical vapour deosition process (RF PCVD). After the layers manufacturing the investigations of mechanical properties will be carried out. They have given the answer how the propertis of material surface change and after modifiaction used for stents still.

Keywords: stents, surface modification, diamond layer

Introduction

Last years caused increase intrest which used to opening a passage of blood - vessels [1]. Stents are tubes cylindrical with mesh of wires. The diameter wires is 0.1 mm. However diameter stent was run on value blood - vassels. They were made from biologically, neutral materials, for instance: medical stainless steel AISI 316 L, tantal, nitinol. They have to have high fatigue strength, corrosion resistance in body fluids and also they can't to allergy reaction cause. Stent after introduction to blood - vessels is as part of scaffolding and he should prevent again overgrowing of blood - vessels [1]. Therefore operations are repeat. In addition is danger that release of thrombotic material, what to possibly the cause of threat of life.

Research over surface modification stent is investigations that overgrowing of vessels were not again.

First of method was introduction medicines to stents [2]. Medicines release oneself to organism gradually. Other modification test on animals it is place genes, in stents. These genes "cross" to wall of vessels [3]. Our research with modifiaction of surface material depend on making the diamond layer on stents. This diamond layer was making by radio frequency plasma chemical vapour deosition process (RF PCVD). Chemical reactions are activate physical methods in this method. The methane is the carrier of carbon to producing this layer.

We know with literatures that a lot of mechanical studies and biological studies were made on medical steel 316L and titanium coated diamond layers NCD (nanocrystalline carbon diamond) and DLC (diamond - like carbon) [4, 5]. Studies shown that material coated those layers had high corrosion resistance and high fatigue limit [5]. During implantation surface haven't alergic reactions, haven't inflamatory reaction. Implnat is not treat as "foregin matter". This is very important. wykazuje zwi kszon odporno ci na korozj [5]. Bardzo wa ne jest to, e przy implantacji powierzchnia taka nie wywołuje odczynów alergicznych, brak jest reakcji zapalnej, implant taki nie jest traktowany jako "ciało obce".

Były równie przeprowadzone badania in vitro na stentach pokrytych warstw DLC [6]. Wyniki wiadcz , e nast piła poprawa biokompatybilno ci stentów pokrytych t warstw .

Materiały i metody

Badania zostały przeprowadzone na drutach ze stali medycznej 316L o rednicy d = 0,1 mm. Druty te zostały pokryte warstw w glow wytworzon w plazmie wysokiej cz stotliwo ci pod obni onym ci nieniem. Wykonane zostały badania mechaniczne takie jak: rozci ganie i przeginanie dwukierunkowe, maj ce na celu porównanie wła ciwo ci czystego drutu i drutu pokrytego warstw .

Rozci ganie

W badaniu tym próbki o długo ci 210 mm były poddane działaniu siły a do momentu ich zerwania. Zostało to wykonane na maszynie wytrzymało ciowej. Dzi ki temu badaniu została okre lona granica plastyczno ci, procent wydłu enia, wytrzymało na rozci ganie. Badanie powierzchni przełomu zostało wykonane za pomoc skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM).

Przeginanie dwukierunkowe

W badaniu tym próbki o długo ci 60mm były przeginane do momentu ich p kni cia. Badanie to było wykonane na specjalnie skonstruowanym urz dzeniu według obowi zuj cej normy. Dzi ki temu badaniu została okre lona ilo cykli, przy których dochodzi do p kni cia materiału. Badanie powierzchni przełomu zostało wykonane za pomoc skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM).

Wyniki i dyskusja

Wyniki uzyskane z rozci gania drutu przedstawione s w TABELI 1 oraz na WYKRESACH 1 i 2. Widoczny jest wzrost wytrzymało ci drutu pokrytego w stosunku do drutu czystego. Jednocze nie zauwa amy spadek wydłu enia drutu pokrytego warstw w glow.

Na RYSUNKACH 3 i 4 s zdj cia (SEM) przedstawiaj ce miejsca, w których próbki uległy zerwaniu. Przełomy próbek s typowe dla przełomów zm czeniowych.

Wyniki z przeginania dwukierunkowego przedstawione s w TABELI 2 oraz na RYSUNKACH 5 i 6 - zdj cia z mikroskopu SEM, przedstawiaj ce miejsce p kni cia próbek. Widoczny jest spadek ilo przegi dla materiału pokrytego, co wiadczy o niekorzystnych zmianach, jakie zaszły w podło u w czasie procesu nanoszenia warstwy diamentowej.

	Rm [MPa]	A [%]	Rp _{0,2} [Mpa]	Fmax [N]
Drut niepokryty Wire uncoated	1292,4	34,48	672,09	10,15
Drut pokryty Wire coated	1356	29,66	715,32	10,65

TABELA 1 TABLE 1 Were made investigation in vitro on stents coated DLC [6]. The results show that stent with layer has better biocompatybility.

Materials and method

A medical stainless steel 316L wires with 0.1 mm in diameter preliminary investigation were conducted. The diamond layer the wires were coating produced by radio frequency plasma chemical vapour deposition. They were executed the mechanical investigation the having in view comparison of propertis of wire uncoated and wire with diamond layer.

Axial tensioning

In this test, samples about length 210 mm was loaded strenght until moment the break. It was to make on strenght machnine. There was to definite the boder of plasticity, the percentage of elongation and strenght tensioning. Test of surface was to make on scaninig electron microscope (SEM)

Two-way overbending

In this test, samples about length 60 mm was bend until moment their facture. In this study used especially device according to valid standard. There was the definite the quantity of periods to facture of material. Test of surface was to make on scaning electron microscope (SEM).

Results and discussion

The test results of axial tensioning are shown in TABLE 1 and GRAPHS 1 and 2. After test was saw increase strenght wire coated diamond layer and decrease elongation wire in ratio to wire uncoated. The picture of samples break are shown in FIGURE 3 and 4. These pictures are made by SEM.

The test results of two - way overbending are given in TABLE 2. Place of samples break are shown in FIGURE 5 and 6. The pictureare made by SEM. In the experiments, were saw outcrease quantity overbending for coated material. It prove that process carry out diamond layer caused unfavoruable changes in coat.



RYS. 1. Wykres rozci gania drutu niepokrytego. FIG. 1. Graph tensioning wire uncoated.

BI MATERIAŁOW



RYS. 2. Wykres rozci gania drutu pokrytego warstw .

FIG. 2. Graph tensioning wire coated.

	rednia ilo przegi Average bends	Wynik Result
Drut niepokryty Wire uncoated	210	p kni cie failure
Drut pokryty Wire coated	140	p kni cie failure



Wnioski

Na podstawie przedstawionych wyników mo na stwierdzi , e wytworzona warstwa nie spełnia naszych oczekiwa . Zamiast podnosi wła ciwo ci mechaniczne powoduje ich osłabienie. Głównym problemem podczas nanoszenia warstwy diamentowej w reaktorze RF PCVD jest wysoka temperatura, która niszczy struktur cienkich drutów. Podczas procesu nanoszenia warstwy nast piło utwardzenie materiału. Spowodowało to obni enie jego wła ciwo ci plastycznych czego konsekwencj jest spadek wytrzymało na obci enia cykliczne. Jest to zjawisko bardzo niekorzystne, bo materiał taki nie nadaje si na stenty.

Wykonane przez nas badania traktujemy jako badania wst pne. Stały si one zach t do podj cia kolejnych prób w celu utworzenia satysfakcjonuj cej nas warstwy.

Poniewa materiałem najbardziej atrakcyjnym do produkcji stentów jest nitinol - stop z pami ci kształtu, dlatego w dalszych pracach zajmiemy si głównie modyfikacj jego powierzchni. B dziemy przeprowadza badania zarówno na drucikach jak i na wi kszych powierzchniach wykonanych z tego materiału. Zmodyfikowane warstw w glow powierzchnie b d badane nie tylko mechanicznie, ale równie b dzie badana hemokompatybilno . Jest to kluczowa własno biomateriałów, które maj bezpo redni kontakt z krwi . Pozwala ona stwierdzi czy zmodyfikowana powierzchnia nie b dzie przyczyniała si do tworzenia materiału zakrzepowego Badania mechaniczne b d obejmowa : rozci ganie, przeginanie dwukierunkowe, odporno korozyjn , adhezje, badanie powierzchni.





11

RYS. 3. Rozci ganie przełom drutu niepokrytego. FIG. 3. Tension test bare wire uncoated.

RYS. 4. Rozci ganie przełom drutu pokrytego warstw . FIG. 4. Tension test bare wire coated.



RYS. 5. Przeginanie d w u k i e r u n k o w eprzełom drutu niepokrytego. FIG. 5. Two-way overbending - bare wire uncoated. RYS. 6. Przeginanie dwukierunkowe-przełom drutu pokrytego warstw FIG. 6. Two-way overbending - bare wire

coated.

Conclusions

Investigations results show that manufactured layer doesn't satisfy expectations. Manufactured layer caused lower mechanical properites instead high them. High temperature during the process coating layer is problem, which destoried the wires teunonus. During the process coating layer followed strengthen material. This caused lower the plasticity properties.

This phenomenon is very unfavourable because the material can't be to use to implantation.

Our investigations are preintroduce. Preintroduces were incentive to made next tests with carbon layers.

The nitinol is very attraction material to make stents. The nitinol is it shape memory alloy. In our investigation will be occupy oneself mostly modification surface nitinol.

We will be to lead investigations on wires and large surface made with nitinol. After coating carbon layer will be made mechanical and hemocompatybility properties. This is key of property biomaterials, which they have from blood direct contact. That property shown whether modification carbon surface wil be not contribute to make grume material.

Mechanical inveastigations which will be make: axial tensioning, two-way overbending, corrosion resistance, adhesion, study of surface.

BICMATERIALOW

Pi miennictwo

References

[1] K kol W., "Symulacja implantowanych stentów"; CadCam Forum: Listopad 2001.

[2] Duerig T., Pelton A., Stöckel D., "An overview of nitinol medical applications"; Materials Science and Engineering: Volume: 273-275, December 15, 1999, pp. 149-160.

[3] Yukihito Saito at.al: "New tubular bioabsorbable knitted airway stent: biocomaptybility and mechanical strength"; The journal of thoracic and cardiovascular surgery: 2002, vol.123, number 1 [4] Rupprecht S, Bloch A, Rosiwal S, Neukam FW, Wiltfang J. "Exainstitute of the second strength interference of the second strength."

mination of the bone-metal interface of titanium implants coated by the microwave plasma chemical vapor deposition method."; Int J Oral Maxillofac Implants: 2002 Nov-Dec, 17(6), 778-85.

CZY MIKROORGANIZMY MOG MODYFIKOWA TWARDE WARSTWY W GLOWE?

Agata Kaczorowska*, Mirosława Szcz sna-Antczak*, Tadeusz Antczak*, Stanisław Bielecki*, Stanisław Mitura**, Piotr Niedzielski**, Witold Kaczorowski**, Marcin Kozanecki***, Patrice Couvrat****

*Instytut Biochemii Technicznej, Wydział Biotechnologii i Nauk o ywno ci, Politechnika Łódzka, Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łód , Polska **nstytut In ynierii Biomedycznej, Wydział Mechaniczny, Politechnika Łódzka, ***Katedra Fizyki Molekularnej, Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka, ****ECAM Lyon, France

Streszczenie

Badano wpływ ró nych drobnoustrojów na powierzchnie pokryte warstwami w glowymi. Powłoki diamentopodobne wytworzono na stali medycznej stosuj c metod RF PCVD. Do bada zastosowano próbki z warstwami naniesionymi przy ró nych parametrach. Próbki te poddano na działanie komórek mikroorganizmów w warunkach hodowli statycznej w podło u stałym. Powłoki w glowe przed i po wzro cie drobnoustrojów analizowano wykorzystuj c mikroskop optyczny i fluorescencyjny, skaningowy mikroskop elektronowy oraz spektroskop Ramana. Wyniki bada dowiodły, e niektóre z zastosowanych drobnoustrojów silnie oddziałuj z tward warstw w glow i prawdopodobnie doprowadzaj do zmian jej struktury.

Wst p

Warstwy w glowe (DLC - diamond-like carbon, NCD - nanocrystalline diamond) zawieraj w swym składzie przede

[5] S. Mitura, A. Mitura, P. Niedzielski, P. Couvrat, "Nanocrystalline diamond coatings" Biomaterials: Volume: 17, Issue: 6, March, 1996, pp. 587-595.

[6] Gutensohn K., Beythien C., Bau J., Fenner T., Grewe P., Koester R., Padmanaban K., Kuehul P., "In vitro analyses of diamond -like carbon coated stents. Reduction onf metal ion release, platelet activation, and thrombogenicity"; Tromb Res. 2000 September 15; 99(6).

[7] Gregg W., Stone A.: "Stenty a pierwotna przezskórna angioplastyka wie cowa"; Ze wiata nauki; 2002-04-03.

[8] Sipehia, Rajender; Mongrain, Rosaire; Rodés, Josep; Tardif, Jean-Claude; et. al., "Biocompatibility aspects of new stent technology"; Journal of the American College of Cardiology Volume: 32, Issue: 3, September, 1998.

CAN MICROORGANISMS MODIFY HARD CARBON COATINGS?

Agata Kaczorowska*, Mirosława Szcz sna-Antczak*, Tadeusz Antczak*, Stanisław Bielecki*, Stanisław Mitura**, Piotr Niedzielski**, Witold Kaczorowski**, Marcin Kozanecki***, Patrice Couvrat****

*INSTITUTE OF TECHNICAL BIOCHEMISTRY, FACULTY OF BIOTECH-NOLOGY AND FOOD SCIENCES, TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, POLAND

**DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING, FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING, TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, POLAND

***DEPARTMENT OF MOLECULAR PHYSICS,

FACULTY OF CHEMISTRY, TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, POLAND

****ECAM LYON, FRANCE

Abstract

An effect of microorganisms on surfaces covered with carbon coatings has been studied. Carbon films on medical stainless steel have been made using RF PCVD method. The samples covered with carbon coatings under different conditions were used. All samples were inoculated with various microorganisms. The carbon layers before and after the growth of the microbes were examined by means of Raman spectroscopy, scanning electron microscopy and optical microscope. It was found that some of the microbes strongly attacked of the surface of carbon films and probably changed their structure.

Introduction

Hard carbon coatings (DLC - diamond - like carbon, NCD - nanocrystalline diamond) consist mainly of the tetragonally coordinated sp³ carbon atoms (typical of diamond), the trigonal in sp² coordinated carbons (typical of graphite) as well

wszystkim wi zania w glowe typu sp³ - charakterystyczne dla struktury diamentu i sp² - charakterystyczne dla grafitu, ale równie w niewielkim stopniu wi zania typu sp¹ [1]. Charakteryzuj si one godnymi uwagi wła ciwo ciami, takimi jak du a odporno na cieranie i twardo , chemiczna oboj tno oraz niski współczynnik tarcia [1, 2].

W artykule przedstawiono wyniki bada nad wpływem wybranych mikroorganizmów na warstwy w glowe wytworzone na stali medycznej z wykorzystaniem metody RF PCVD (radio frequency plasma chemical vapour deposition). Główn cech powłok w glowych naniesionych na stal jest ich bardzo dobra adhezja do podło a. Grubo takich warstw wynosi ok. 1 mm i stanowi one bardzo dobry materiał ochronny stali przed korozj [2]. W ramach dotychczas przeprowadzonych bada nad mo liwo ci stosowania do celów medycznych implantów pokrytych powłokami w glowymi dowiedziono, e s one wysoce odporne w mediach biologicznych o charakterze fizjologicznym [3]. Powłoki diamentopodobne poddawano tak e testom korozyjnym w płynie Tyrod'a, testom histopatologicznym w organizmach zwierz cych oraz wykonano szereg bada ich wytrzymało ci mechanicznej. Nie ma jednak adnych doniesie literaturowych dotycz cych odporno ci warstw w glowych nara onych na działanie fizjologicznie aktywnych mikroorganizmów, których wci nowy potencjał biokatalityczny jest odkrywany. Biotechnolodzy znaj np. gatunki ple ni ligninolitycznych (np. Phanerochaete chrysosporium), które wykazuj zdolno rozpuszczania lignitu (frakcja w gla brunatnego) [4]. Mechanizm tego zjawiska opiera si na degradacji enzymatycznej wspomaganej działaniem substancji alkalicznych oraz chelatuj cych atomy metali (które s obecne w w glu brunatnym), jak np. szczawiany b d ce metabolitami przemian u wielu mikroorganizmów. Oprócz drobnoustrojów degraduj cych ligniny, równie inne, np. ple nie Aspergillus niger, Fusarium oxysporum, Trichoderma spp. oraz Penicillium spp., wykazuj tak e zdolno do upłynniania w gla lub jego gazyfikacji [5-7]. Niektóre spo ród wymienionych wybrano planuj c opisane poni ej badania.

Metodyka

Badania wykonano z u yciem dwóch odmian warstw w glowych (DLC i NCD), które wytworzone zostały z wykorzystaniem metody g stej plazmy RF PCVD (schemat aparatury, RYS.1) na podło u ze stali medycznej AISI 316L (parametry procesów zamieszczono w TABELI 1).

Próbki (w formie dysków o rednicy 8 mm) pokryte warstwami DLC i NCD sterylizowano w temperaturze 121°C w ci gu 20 min. Nast pnie umieszczano je w ró nych, od yw-

Parametry Main parameters	DLC	NCD
Substra t Substrate	AISI 316 L	AISI 316 L
Gaz Gas	Metan Methane	Metan Methane
Ci nienie Pressure	10,8 Pa	10,8 Pa
Ujemny potencjał autopolaryzacji zasilanejelektrody rf Negative self -bias voltage of r .f. powered electrode	420-550 V	600 V
Czas nanoszenia Time of deposition	9-11min	9-11 min

TAB.1. Parametry nanoszenia warstw w glowych. TAB.1. The main parameters of carbon layers. as some sp¹ coordinated ones [1]. They have very attractive properties such as high wear resistance and hardness, chemical inertness and very low friction coefficients [1, 2].

In this paper, we described an influence of viable microorganisms on carbon coatings deposited onto medical stainless steel by RF PCVD (radio frequency plasma chemical vapour deposition) method. The main feature of the thin carbon films is their good adhesion to steel. A thickness of the films is about 1 mm. These coatings show high mechanical strength and ensure good protection of metals against corrosion [2]. The results of studies on biological resistance of implants covered with hard carbon films, histopathological investigations in laboratory animals, the tests of corrosion resistance, as well as mechanical properties and the breakdown tests in Tyrod's solution have been described earlier [3].

However, there is no information on the resistance of carbon coatings against physiologically active microorganisms, well-known are strains of lignin-degrading fungi, which can solubilize lignite (brown coal) like the strain of *Phanerochaete chrysosporium* [4]. The mechanism of this phenomenon probably includes enzymatic degradation assisted by alkalic metabolites and the chelation of atoms of metals (which are present in brown coal) by oxalate ions - metabolites of some microorganisms. Besides typical lignin degrading strains of Basidiomycetes, several other fungi, such as *Aspergillus niger spp. Fusarium oxysporum, Tri-choderma spp.* and *Penicillium spp.* can also solubilize coals [5-7]. Some of these strains were chosen to perform the experiments described below.

Methodology

The investigations were performed on the variety of carbon films deposited on the surfaces of medical stainless steel AISI 316 L using the r.f. dense plasma CVD method



RYS. 1. Aparatura u yta do syntezy warstw w glowych metod g stej plazmy RF PCVD, generator 13,65 MHz, GFMC-system dozowania gazów; G - komora robocza; MU - układ dopasowania.

FIG. 1. An apparatus for carbon film synthesis using the r.f. dense methane plasma CVD method: 13,65 MHz generator; GFMC - gas feeder with microcomputer control; G - vacuum gauge; MU system power adaptation.

*	Ple nie Fungi	Bakterie Bacteria				
	Aspergillus niger Chaetomium globosum Mucor circinelloides Paecilomyces variotii Penicillium ochrochloron Trichoderma viride Fusarium oxysporum Phanerochaete chrysosporium	Pseudomonas fluorescens Bacillus subtilis Escherichia coli Lactobacillus delbrueckii Nos-1a				
	 ⁷ niezidentyfikowany szczep bakterii rozkładaj - cych zwi zki ropopochodne ⁷ the strain of unidentified bacteria able to growth in petrol-oil 					
	TAB. 2. Mikroorganizi	ny wykorzystane w				

TAB. 2. Strains of microorganisms used in the

czych podło ach agarowych i szczepiono zawiesin odpowiedniego mikroorganizmu, spo ród wymienionych w TA-BELI 2.

Szczepy wykorzystane w badaniach uzyskano z kolekcji czystych kultur Instytutu Biochemii Technicznej oraz ŁOCK 105 (WDCC) w Politechnice Łódzkiej.

Do hodowli ple ni stosowano podło a Czapek-Dox i Malt agar, natomiast do hodowli bakterii - agar od ywczy (Difco) oraz podło e MRS. Hodowle prowadzono na szalkach Petriego w 30-37°C przez 2-12 tygodni. W celu utrzymania odpowiedniej wilgotno ci, niezb dnej do wzrostu mikroorganizmów, hodowle uzupełniano odpowiednim podło em płynnym w jednotygodniowych odst pach czasu. Wszystkie próbki przed i po inokulacji drobnoustrojami analizowano z u yciem: spektroskopii ramanowskiej, SEM oraz mikroskopów optycznego i fluorescencyjnego maj c na celu okre lenie siły adhezji komórek do powierzchni warstw w glowych oraz identyfikacj ewentualnych zmian w morfologii i strukturze warstw w glowych po działaniu na mikroorganizmów.

Rezultaty

Istotnym elementem bada była analiza sił adhezji strz pek grzybni oraz komórek bakteryjnych do warstw diamentopodobnych. W tym celu wszystkie próbki po wyj ciu z

a)

RYS. 2a, 2b. Próbki ze stali medycznej pokryte warstw DLC z silnie przylegaj c grzybni *Aspergillus niger* oraz *Mucor circinelloides*. FIG. 2. The samples of medical steel coated with DLC film with tightly stuck *Aspergillus niger* (left) and *Mucor* (right) *mycelia*. (FIG.1).

All samples with NCD and DLC coatings and uncoated medical steel (in the form of disks, 8 mm) were autoclaved at temperature 121°C for 20 minutes. Then the samples were placed on the medium solidified with agar and inoculated with microorganisms listed below (TAB.2).

All strains of microorganisms were obtained from the culture collections at the Institute of Technical Biochemistry and Łock 105 Collection (WDCC), both of the Technical University of Lodz. For fungi - Czapek-Dox medium and malt agar, for bacteria - nutrient agar (Difco) and MRS media were used. The microorganisms were cultured in Petri dishes, at the range of temperature 30-37°C for about 2-12 weeks. To ensure proper humidity for growth of the microorganisms, the cultures were supplemented with the proper liquid medium once a week.

All samples, before and after subjecting to treatment with microorganisms, were examined by: Raman spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM) and optical and fluorescence microscopes. The changes in morphology of the carbon layers resulting from the growth of the microorganisms on them were analyzed.

Results

The strength of adhesion of filamentous fungi to the carbon layers was investigated. For this purpose all samples were cleaned up with detergent solution with shaking (120 rpm, for 120 min) and subjected to an ultrasonic cleaning process for 45 min. Then, the specimens were analyzed by using optical and fluorescence microscopes (after Hoechst 33258 or acridine orange treatment).

It was found that most of tested filamentous fungi strongly adhered to the carbon coatings during cultivation. FIGURES 2a and 2b show the samples coated with DLC film and exposed to Aspergillus niger and Mucor circinelloides.

Furthermore, during the investigation, changes in the color of DLC films from blue to yellow or metallic, and NCD - from yellow to metallic after the growth of the majority of the microscopic fungi, were observed (FIG. 3a, 3b).

The strong influence of some tested microorganisms on carbon coatings deposited on medical stainless steel AISI 316 L was confirmed by using SEM microscopy analysis. FIGURE 4a shows the carbon film morphology and microanalysis of the sample just after the process of deposition, and FIGURE 4b - the same sample after removal of the *Aspergillus niger* mycelium grown on it. The surface of the latter one has the typical structure of medical stainless steel.

The samples subjected to treatment with bacteria (except the *Lactobacillus delbrueckii* and Nos-1a strains) did not show such distinct changes.



RYS. 3a, 3b. Próbka z warstw DLC przed i po hodowli ple ni *Aspergillus niger*. FIG. 3. The sample covered with DLC film before (a) and after (b) the growth of *Aspergillus niger* strain, for approximately 3 months. hodowli poddawano identycznej procedurze oczyszczania polegaj cej na wytrz saniu przez 120 min. przy 120 obrotach/min w roztworze detergentu (TRITON X-100), a nast pnie działaniu na ultrad wi kami przez 45 min. Tak oczyszczone próbki analizowano z u yciem mikroskopu optycznego i /lub fluorescencyjnego (po wybarwieniu oran-

em akrydyny lub Hoechst 33258). Stwierdzono, e zarówno strz pki ple ni jak i komórki niektórych bakterii silnie przylegaj do warstw w glowych. ZDJ CIA 2a i 2b pokazuj próbki pokryte warstw DLC z przylegaj c grzybni ple ni *Aspergillus niger* oraz *Mucor circinelloides* pozostał po zastosowaniu wy ej opisanej procedury oczyszczania.

Wiele ze stosowanych w badaniach mikroorganizmów spowodowało tak e zmiany barwy warstw w glowych: prób DLC - z niebieskiej na ółt lub metaliczn (RYS. 3a, 3b) a NCD - z ółtej na metaliczn .

Silne działanie niektórych mikroorganizmów na warstwy w glowe zostało potwierdzone badaniami z u yciem SEM. ZDJ CIE 4a obrazuje morfologi i wyniki mikroanalizy składu pierwiastkowego warstw w glowych przed, natomiast ZDJ CIE 4B - po hodowli ple ni *Aspergillus niger*. Łatwo zaobserwowa , i powierzchnia próbki po oddziaływaniu drobnoustrojów posiada typow struktur i skład pierwiastkowy stali medycznej. W przypadku próbek poddanych działaniu bakterii i pozostałych ple ni nie stwierdzono a tak daleko id cych zmian.

Zastosowanie do bada warstw DLC i NCD, przed i po traktowaniu ich drobnoustrojami, spektroskopii ramanowskiej pozwoliło na zaobserwowanie ubytku fazy grafitowej na powierzchni niektórych próbek. Przykład spektrogramów Ramana dla próbek poddanych działaniu ple ni Aspergillus niger przedstawiono na RYS.5. Jak wiadomo warstwy wytwarzane metod RF PCVD s zbudowane głównie z dwóch faz: o hybrydyzacji atomów sp² (typowych dla grafitu) i sp³ (typowych dla diamentu). e niektóre drobnoustroje Spektra pokazały, prawdopodobnie wykazuj zdolno usuwania grafitu z powierzchni powłok w glowych, o czym wiadczy mog zmiany relacji mi dzy dwoma widocznymi pikami odpowiadaj cymi diamentowi (1340 cm⁻¹) i grafitowi (~1600 cm ⁻¹).



RYS. 5. Porównanie spektrogramów Ramana otrzymanych z warstwy w glowej przed i po 2, 4 i 6 tygodniowej hodowli ple ni Aspergillus niger. FIG. 5. Comparison of Raman spectra obtained for the diamond-like films: before (reference) and after 2, 4 and 6 weeks of Aspergillus niger growth.

Dyskusja

Wi kszo z zastosowanych w badaniach drobnoustrojów obrosło powierzchnie pokryte warstwami DLC i NCD. Jest to dowód braku toksycznego wpływu tych powłok na



RYS. 4. Obraz SEM oraz mikroanaliza rentgenowska próbek pokrytych warstw DLC przed (a) i po (b) hodowli ple ni *Aspergillus niger*. FIG. 4. SEM pictures and microanalysis of the sample covered with DLC film before (a) and after (b) growth of ASPERGILLUS NIGEr strain on its surface, for about 3 months.

Significant differences between DLC and NCD coatings before and after treatment with some microorganisms were observed by means of the Raman spectroscopy - which is the most suitable method to characterize the graphite phase.

The examples of Raman spectra for samples treated with *Aspergillus niger* are presented in FIGURE 5. The two peaks are referred to as a diamond (1340 cm⁻¹) and a graphite peak (~1600 cm⁻¹). The initial carbon coatings, which are made by RF PCVD method, contains the mixture of sp² (typical of graphite) and sp³ (typical of diamond) hybrid carbon atoms. The picture shows that the microorganisms can remove some graphite phase from DLC coatings.

Discussion

The majority of microbial strains used in the experiments overgrew the surfaces covered with DLC and NCD layers. It proves that these carbon coatings are not toxic for microorganisms. Furthermore, very strong adhesion of the fungal mycelia to DLC and NCD coatings was noticed.

Among of the microorganisms listed in the TABLE 2, the *Aspergillus niger* strain caused the strongest changes in the thin carbon films. The results obtained indicate that apart from the *A. niger* strain, the other filamentous fungi such as *Chaetomium globosum, Phanerochaete chrysosporium* and *Mucor circinelloides* as well as bacteria *L. delbrueckii, Pseudomonas fluorescens* and Nos-1a are highly active against diamond coatings. Changes in the color of the diamond films (FIG. 3a, 3b) resulted from appearing of the typical structure of medical stainless steel (FIG. 4b), and the Raman spectra (FIG. 5) both indicated that the microorganisms could remove the graphite from these coatings.

It is well-known that the carbon materials such as diamond and graphite have significantly different chemical bonding structure. There are double bonds between carbon atoms in the structure of graphite. It was assumed that these bonds can be susceptible to chemical reactions, such as oxidation/hydration, catalyzed by biological catalysts (enzymes).

Probably, enzymes and/or other metabolites produced by microorganisms and released from the cells during their growth have played an important role in the observed degradation (modification?) of carbon coatings. The tested microscopic fungi

BI MATERIALOW

mikroorganizmy. Zaobserwowano tak e siln adhezj wielu ple ni i bakterii do warstw w glowych. Spo ród drobnoustrojów wymienionych w TABELI 2 ple nie *Aspergillus niger* spowodowały najwi ksze zmiany w strukturze powłok diamento-podobnych. Analiza wszystkich powłok w glowych po usuni ciu z nich drobnoustrojów wskazuje, e warstwy te s równie modyfikowane przez ple nie *Chaetomium* globosum, *Phanerochaete chrysosporium*, *Mucor circinelloides* oraz bakterie *Lactobacillus* delbrueckii, *Pseudomonas* fluorescence, jednak w mniejszym stopniu ni przez Aspergillus niger.

Charakterystyczna zmiana barwy warstw w glowych (RYS. 3a, 3b) prowadz ca do ujawnienia struktury typowej dla stali medycznej (RYS. 4b), oraz wyniki analizy widm Ramana (RYS. 5) wskazuj, e drobnoustroje mog narusza faz grafitow obecn w powłokach. Hipotez t postawiono bior c pod uwag ró nice w chemicznej strukturze diamentu i grafitu. W cz steczce grafitu wyst puj podwójne wi zania pomi dzy atomami w gla o hybrydyzacji sp². S to wi zania, które mog ulega reakcjom utleniania b d redukcji. Prawdopodobnie enzymy i/lub inne metabolity wytwarzane przez drobnoustroje podczas ich wzrostu mog odgrywa istotn rol w obserwowanej modyfikacji warstw w glowych.

Wykorzystane w badaniach drobnoustroje produkuj wiele enzymów: ró ne hydrolazy oraz oksydoreduktazy, takie jak peroksydaza i oksydaza manganowa oraz ligninowa, oksydaza p-difenolowa (lakkaza) [8], jak równie w rodowisku ich wzrostu znajdowa si mo e wiele reaktywnych substancji niskocz steczkowych - jony manganu(II), szczawiany, nienasycone kwasy tłuszczowe, które mog współuczestniczy w degradacji lub modyfikacjach powłok diamentopodobnych.

Podsumowanie

Niektóre mikroorganizmy (szczególnie ple nie *A. niger*) modyfikuj powierzchnie powłok DLC i NCD. Obserwacje makro- i mikroskopowe oraz analiza rentgenowska (z SEM) i ramanowska warstw w glowych po działaniu drobnoustrojów wskazuj na usuwanie (?) fazy grafitowej. Niew tpliwie, nale y rozwa y mo liwo zastosowania biokatalizatorów (enzymów lub całych komórek drobnoustrojów) do modyfikacji twardych powłok w glowych.

ZASTOSOWANIE METODY ELEMENTÓW SKO CZO-NYCH DO SYMULACJI NAPR E POMI DZY WYPEŁNIENIAMI A TKANKAMI Z BA

LESZEK KLIMEK, JACEK SAWICKI

Instytut In ynierii MateriaŁowej, Politechniki Łódzkiej 90-924 Łód , ul. Stefanowskiego 1, Polska

Streszczenie

Jedn z przyczyn nieskuteczno ci stomatologicznego leczenia zachowawczego mog by napr eare able to produce plenty of enzymes (biological catalysts), for example various hydrolases, manganese and lignin peroxidases, polyphenol oxidase and other oxidoreductases [8] as well as a number of low-molecular substances, like manganese(II) ions, oxalates and unsaturated fatty acids and their derivatives, which can contribute to the degradation of thin carbon layer deposited on stainless steel.

Conclusion

Some microorganisms can selectively remove/modify(?) the graphite phase of DLC and NCD thin carbon coatings. Undoubtedly, the possibility of an application of the biocatalysts (enzymes or whole cells of microorganisms) for modification of the carbon coatings to modify (improve) their properties should be taken into consideration.

Pi miennictwo References

[1] Lettington A.H., "Applications of diamond-like carbon thin films", Carbon, Vol. 36, No. 5-6, pp. 555-560, 1998.

[2] S. Mitura, E. Mitura, and A. Mitura, "Manufacture of amorphous carbon layers by r.f. dense plasma CVD", Diamond and Related Materials, Vol. 4 (4), pp. 302-303, 1995.

[3] S. Mitura, P. Niedzielski, D. Jachowicz, M. Langer, J. Marciniak, A. Stanishevsky, E. Tochitsky, P. Louda, P. Couvrat, M. Denis and P. Lourdin, "Influence of carbon coatings origin on the properties important for biomedical application", Diamond and Related Materials, Vol. 5(10), 1996, pp. 1185-1188.

[4] J.P. Ralph, D.E.A. Catcheside, "Decolourisation and depolymerisation of solubilized low-rank coal by the white-rot basidiomycete Phanaerochaete chrysosporium" Appl Microbiol Biotechnol 42 (1994) 536-542.

[5] Bumpus, John A., "Regulation of Coal Polymer Degradation by Fungi" NETL Publications, University Coal Research Contractor Review Meeting, 1998 Conference Proceedings.

[6] U. Holker, S. Ludwig, T. Scheel, M. Hofer, "Mechanism of coal solubilization by the deteromycetes Trichoderma atroviride and Fusarium oxysporum", Appl Microbiol Biotechnol (1999) 52: 57-59 [7] J.P. Ralph, D.E.A. Catcheside, "Biological processing of coal", Appl Microbiol Biotechnol 52 (1999) 16-24.

[8] U.Hölker, H. Schmiers, S. Grobe, W. Winkelhöfer, M. Polsakiewicz, S. Ludwig, "Solubilization of low-rank coal by Trichoderma atroviride: Evidence for the involvement of hydrolytic and oxidative enzymes by using 14C-labeled lignite" Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology 28 (2002) 207-212.

FEM APPLICATION IN SIMULATING THE STRESSES BETWEEN DENTAL FILLINGS AND THE TISSUES OF THE TOOTH

LESZEK KLIMEK, JACEK SAWICKI

INSTITUTE OF MATERIALS ENGINEERING, TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ 90-924 LODZ, UL. STEFANOWSKIEGO 1, POLAND

Abstract

The stresses present in the teeth tissues and at the boundary between the fillet and the these tissues

nia panuj ce w tkankach z ba i na granicy pomi dzy wypełnieniem a tymi tkankami. Mog one powodowa ró nego rodzaju niekorzystne zjawiska np. powstawanie szczelin i nieci gło ci, niszczenie tkanek z ba b d materiału wypełnienia, wypadanie wypełnienia itp. Napr enia te pojawiaj si zarówno w wyniku sił działaj cych podczas procesu ucia pokarmów jak i te s wynikiem ró nych wła ciwo ci fizycznych materiałów wypełniaj cych i tkanek z ba. Istotne jest, wi c poznanie ich wielko ci i charakteru. Niestety nie mo na dokona ich bezpo redniego pomiaru. W niniejszym artykule przedstawiono wyniki symulacji napr e panuj cych w z bie podczas procesu ucia. Symulacji tych dokonano dla trzech ró nych materiałów wypełniaj cych i dwóch wielko ci wypełnie .

Wst p

Jednym z głównych zada wypełnie stomatologicznych jest zabezpieczenie przed wnikaniem drobnoustrojów do gł bszych tkanek z ba. W zwi zku z tym pojawienie si wszelkiego rodzaju nieci gło ci na granicy wypełnienie - tkanki z ba jest zjawiskiem niekorzystnym. St d w doborze stomatologicznych materiałów wypełniaj cych du y nacisk kładzie si na zapewnienie odpowiedniej szczelno ci wypełnienia. Dobór odpowiedniego materiału i wła ciwe opracowanie ubytku a nast pnie jego wypełnienie powinny t szczelzapewni . Pojawia si jednak pytanie, co dzieje si na no granicy wypełnienie - tkanki z ba na przestrzeni czasu. Obserwuje si , bowiem, e prawidłowo wykonane wypełnienia po pewnym czasie nie spełniaj swojej roli, obni aj c tym samym skuteczno stomatologicznego leczenia zachowawczego. Jedn z przyczyn tych zmian mog by napr enia panuj ce w tkankach z ba i na granicy pomi dzy wypełnieniem a tymi tkankami. Mog one powodowa ró nego rodzaju niekorzystne zjawiska np. powstawanie szczelin i nieci gło ci, odkruszanie si tkanek z ba lub materiału wypełniaj cego, wypadanie wypełnienia itp. Przyczyny ich powstawania mog by ró norodne. Napr enia pojawiaj si zarówno w wyniku sił działaj cych podczas procesu ucia pokarmów jak i te s wynikiem ró nych wła ciwo ci fizycznych materiałów wypełniaj cych i tkanek z ba (np. ró nych modułów spr ysto ci, ró nych współczynników rozszerzalno ci cieplnej itp.). Istotne jest, wi c poznanie ich wielko ci i charakteru. Niestety pomiaru tych napr e nie mo na dokona w sposób bezpo redni. Zagadnienie to mo na jednak rozwi za przy zastosowaniu symulacji napr e metod elementów sko czonych (MES) [1]. Jest to nowoczesna metoda wykorzystywana do bada wytrzymało ciowych ró nych konstrukcji, pozwalaj ca oblicza napr enia i odkształcenia w nawet bardzo skomplikowanych konstrukcjach, wykonanych z materiałów o ró nych wła ciwo ciach i ró norodnie obci onych [3]. Metoda ta znajduje równie zastosowanie w analizie rozkładów napr e wyst puj cych np. w strukturach kostnych człowieka [4]. Metoda ta polega na zast pieniu ci głego o rodka, jakim jest badany obiekt układem sko czonym mniejszych elementów, poł czonych ze sob w punktach zwanych w złami.

Metodyka bada

Do prowadzenia symulacji napr e panuj cych w z bie, wypełnieniu oraz na granicy tkanki z ba - wypełnienie przyj to model z ba przedstawiony na RYS. 1. Przyj ty model dyskretny z ba stworzono w oparciu o pakiet ANSYS, przyjmuj c do jego budowy elementy płaskie prostok tne o dwóch can be the one of the reasons of the ineffectiveness of the dental conservative treatment. They can cause different kind kinds of disadvantageous phenomena e.g. gaps and discontinuities formation, tooth tissues or fillet material damage, falling out the fillet and so on. These stresses are formed both as a result of acting forces during mastication and different fillings and tooth tissue material properties. It is important to know theirs character and quantity. The direct measurement is impossible, unfortunately. The computer simulations results of the stresses formation in the tooth during mastication process, are shown in this paper. This simulation was run for three different filling materials and two dimensions of these fillets.

Introduction

One of the most important purposes the dental fillings serve is the protection against penetration of the microorganisms into the deeper tissues of the tooth. Therefore occurrence of the all kinds of discontinuity at the boundary filling-tooth tissues is a big disadvantage. Hence in the process of filling material selection, the assurance of appropriate integrity is highly pressed. Selection of proper material and proper dental work out of the loss and following filling it, should assure the proper integrity of the dental fillet. But here appears the question what takes place at the boundary filling-tooth tissues, during the space of time. It was observed that the correctly made fillets don't perform their function after some time, what decreases the efficiency of the dental conservative therapy. The stresses in the tooth tissues and at the boundary between the filling and these tissues can be one of the reason of this changes. These stresses can cause different kinds of adverse phenomena e.g. formation of the cracks and discontinuities, spalling of the tooth tissues or filling material, falling out of the fillet. The reasons of their formation can be various. Theses stresses arise both as a result of forces acting during mastication and different physical properties of filling material and tooth tissues (for example different Young module, thermal expansion coefficients). So, it is very important to know the quantity and character of them. The measurement of these stresses can not be done directly, unfortunately. This problem can be, however, solved by means of computer simulation of the stresses with use of FEM (Finite Element Method) [4]. This is a modern method widely used in strength researches of different constructions, allows calculation of stresses distribution even in highly complicated cases made of various types of materials of different properties and loaded with various ways [3]. This method finds its place also in analyzing the stresses distribution in human bone system [2], and consists in replacing the continuous medium, the investigated object is, with the system of finite small elements connected each other at places called nodes.

Investigations

The tooth model shown in FIGURE 1, was subjected to stresses distribution calculation in the fillet and at the boundary filling-tissues. Assumed discrete model of the tooth was based on the ANSYS software package, and constructed of flat rectangular elements of two freedom degrees in the node - type PLANE 42. Following the two kinds of defects to fill in were modeled and are shown in FIGURE 1. The parameters of the defects were selected to obtain filling only in the enamel in one case, whereas in the second case both in enamel and dentin. Next, the fillings made of differ-

stopniach swobody w w le - typu PLANE 42. Nast pnie zamodelowano w nim dwa rodzaje ubytku maj ce pó niej ulec wypełnieniu. Kształty i wielko ci tych ubytków przedstawiono na RYS. 1. Parametry ubytków dobrano w ten sposób, aby w jednym przypadku uzyska wypełnienie tylko w warstwie szkliwa, natomiast w drugim w warstwie szkliw i z binie. Nast pnie w tak przygotowanych ubytkach symulowano wypełnianie trzema ró nymi materiałami. Były to: amalgamat, kompozyt i masa akrylowa. Wła ciwo ci materiałów wypełnie [2] przyj te do symulacji przedstawiono w TABE-LI 1.

Aby okre li napr enia panuj ce w z bie przyj to, e podczas procesu ucia jest on obci ony sił 1000 N.

W wyniku przeprowadzonej symulacji przy u yciu pakietu ANSYS otrzymano rozkłady napr e zredukowanych s_{zred} , poprzecznych s_x i podłu nych s_y . Analiza wyznaczonych napr e umo liwia ocen nie tylko maksymalnej warto ci i znaku, lecz równie pozwala wskaza miejsca wyst powania ich lokalnych nieci gło ci.



RYS. 1. Model dyskretny z ba i dwa typy wypełnie . FIG. 1. The discrete tooth model with two kinds of defects to fill.

Materiał Material	Szkliwo Enamel	Z bina Dentin	Z bna Periodontium	Ko zbita Dense bone	Ko g bczasta Spongy bone	Amalgamat Amalgam	Kompozyt Composite	Masa akrylowa Acrylic mass
Moduł Younga Young modulus [MPa]	83000	18600	68,9	13700	1370	27600	16600	2760

TABELA 1. Przyj te wła ciwo ci materiałów wypełniaj cych.

TABLE 1. Properties of filling materials.

Wyniki symulacji przedstawiono na RYSUNKACH 2-7.

Wyniki bada

Rozkłady poszczególnych napr e w wypełnieniu płytkim tylko w warstwie szkliwa przedstawiono dla amalgamatu na RYS. 2, kompozytu RYS. 3 i masy akrylowej RYS. 4. Analogiczne rozkłady napr e dla wypełnienia gł bokiego (w warstwie szkliwa i z biny) przedstawiono dla amalgamatu na RYS. 5, kompozytu RYS. 6 i masy akrylowej RYS. 7.

Omówienie wyników bada

Z przedstawionych wyników wida jak rozkładaj si napr enia w z bie obci onym w wyniku procesu ucia. ent materials were simulated. There were: amalgam, composite, and acrylic mass. The filling materials properties [1] are shown in TABLE 1.

To determine the stresses in the tooth we assumed that during mastication process it is loaded with force at level 1000 N.

The reduced stresses s_{red} , transverse s_x and longitudinal s_y ones were obtained as a result of carried out simulations. The local discontinuities, maximum value and the sign of the stress can be determined on the basis of calculated stresses analysis.

The simulation results are shown in FIGURES 2-7.

Results

The distribution of particular stresses in case of shallow fillet-only in enamel layer, for amalgam, composite and acrylic mass are shown in FIGURES 2, 3 and 4 respectively.

Analogous, the stresses distribution for deep fillet (in the enamel and dentin layers) are shown in FIGURES 5, 6 and 7 for amalgam, composite and acrylic mass respectively.



RYS. 2. Rozkład napr e w wypełnieniu płytkim, materiał wypełniaj cy - amalgamat:

a) Rozkład napr e zredukowanych w całym z bie; b) Rozkład napr e zredukowanych w okolicy wypełnienia; c) Rozkład napr e podłu nych w okolicy wypełnienia; d) Rozkład napr e poprzecznych w okolicy wypełnienia.

FIG. 2. The stresses distribution in shallow fillet, filling material-amalgam:

a) Reduced stresses distribution in whole tooth; b) Reduced stresses distribution nearby the fillet;

c) Transverse stresses distribution nearby the fillet; d) Longitudinal stresses distribution nearby the fillet.

BI®MĂTERIĂŁOW



RYS. 3. Rozkład napr e w wypełnieniu płytkim, materiał wypełniaj cy - kompozyt:

a) Rozkład napr e zredukowanych w całym z bie; b) Rozkład napr e zredukowanych w okolicy wypełnienia; c) Rozkład napr e podłu nych w okolicy wypełnienia; d) Rozkład napr e poprzecznych w okolicy wypełnienia.

FIG. 3. The stresses distribution in shallow fillet, filling material-composite:

a) Reduced stresses distribution in whole tooth; b) Reduced stresses distribution nearby the fillet;

c) Transverse stresses distribution nearby the fillet; d) Longitudinal stresses distribution nearby the fillet.



RYS. 4. Rozkład napr e w wypełnieniu płytkim, materiał wypełniaj cy - masa akrylowa:

a) Rozkład napr e zredukowanych w całym z bie; b) Rozkład napr e zredukowanych w okolicy wypełnienia, c) Rozkład napr e podłu nych w okolicy wypełnienia; d) Rozkład napr e poprzecznych w okolicy wypełnienia.

FIG. 4. The stresses distribution in shallow fillet, filling material-acrylic mass:

a) Reduced stresses distribution in whole tooth; b) Reduced stresses distribution nearby the fillet;

c) Transverse stresses distribution nearby the fillet; d) Longitudinal stresses distribution nearby the fillet.



RYS. 5 Rozkład napr e w wypełnieniu gł bokim, materiał wypełniaj cy - amalgamat:

a) Rozkład napr e zredukowanych w całym z bie; b) Rozkład napr e zredukowanych w okolicy wypełnienia; c) Rozkład napr e podłu nych w okolicy wypełnienia; d) Rozkład napr e poprzecznych w okolicy wypełnienia.

FIG. 5. The stresses distribution in deep fillet, filling material-amalgam:

- a) Reduced stresses distribution in whole tooth; b) Reduced stresses distribution nearby the fillet;
- c) Tansverse stresses distribution nearby the fillet; d) longitudinal stresses distribution nearby the fillet.

Na podstawie symulacji przeprowadzonych metod elementów sko czonych mo na dowiedzie si , w których obszary z ba s najwi ksze napr enia, jaki maj znak a tym samym które obszary s najbardziej nara one na zniszczenie. Mimo, e sposób przyło enia siły wskazywałby, e z b powinien by ciskany na przedstawionych symulacjach wida , e w samym z bie wyst puj zarówno napr enia

Discussion

The shown above results show the stresses distribution in the tooth loaded during mastication process. One can find out, on the basis of the computer simulations, in which



RYS. 6. Rozkład napr e w wypełnieniu gł bokim, materiał wypełniaj cy - kompozyt:

a) Rozkład napr e zredukowanych w całym z bie; b) Rozkład napr e zredukowanych w okolicy wypełnienia; c) Rozkład napr e podłu nych w okolicy wypełnienia; d) Rozkład napr e poprzecznych w okolicy wypełnienia.

FIG. 6. The stresses distribution in deep fillet, filling material-composite:

a) Reduced stresses distribution in whole tooth; b) Reduced stresses distribution nearby the fillet;

c) Transverse stresses distribution nearby the fillet; d) Longitudinal stresses distribution nearby the fille.



RYS. 7. Rozkład napr e w wypełnieniu gł bokim, materiał wypełniaj cy - masa akrylowa: a) Rozkład napr e zredukowanych w całym z bie; b) Rozkład napr e zredukowanych w okolicy wypełnienia; c) Rozkład napr e podłu nych w okolicy wypełnienia; d) Rozkład napr e poprzecznych w okolicy wypełnienia.

FIG. 7. The stresses distribution in deep fillet, filling material-acrylic mass:

a) Reduced stresses distribution in whole tooth; b) Reduced stresses distribution nearby the fillet;

c) Transverse stresses distribution nearby the fillet; d) Longitudinal stresses distribution nearby the fille.

ciskaj ce jak i rozci gaj ce, przy czym ich wielko zaley głównie od rodzaju materiału wypełnienia. Np. dla amalgamatu zmieniaj si one dla wypełnie płytkich od wartoci -4 MPa do +5 MPa, dla kompozytu od -9 MPa do +7 MPa i najwi ksze s dla masy akrylowej od -20 MPa do +9 MPa analogicznie dla wypełnie gł bokich: amalgamat od ?9 MPa do +18 MPa, kompozyt od -6 MPa do +24 MPa i masa akrylowa od -12 MPa do +36 MPa. Takie ró nice pomi dzy napr eniami zwi zane s oczywi cie ze znacznymi ró nicami w modułach spr ysto ci poszczególnych materiałów od 27600 MPa dla amalgamatu poprzez 16600 MPa dla kompozytu a do 2760 MPa dla masy akrylowej. Im wi ksze ró nice modułów spr ysto ci pomi dzy tkankami z ba a materiałem wypełniaj cym tym wi ksze powstaj napr enia i wi ksze ró nice mi dzy maksymalnym ciskaj cym a maksymalnym rozci gaj cym. Jest to tak e przyczyn ró nic wielko ci napr e wyst puj cych w wypełnieniach gł bokich i płytkich przy tym samym materiale wypełniai cym.

Dla ka dego rodzaju materiału wypełniaj cego najwi ksze napr enia wyst puj na styku wypełnienie - szkliwo (w przypadku wypełnienia płytkiego) i wypełnienie z bina w przypadku wypełnienia si gaj cego w gł b z biny. I tutaj tak e zaznacza si wyra ny wpływ ró nic wła ciwo ci materiałów na rozkład napr e . Najwi ksze napr enia areas of the tooth the stresses are the highest, what is their sign and therefore which areas run a risk of damage. Although the way of force placement would point, that the tooth should be compressed, there can be seen on shown simulations that there are both compressive and tensile stresses in the tooth, and their level depends mainly on the kind of fillet material. For amalgam, for instance, they change for shallow fillets from -4 MPa to +5 MPa, for composite from -9 MPa to +7 MPa, and they are the biggest for acrylic mass: from -20 MPa to +9 MPa, analogously for deep fillets: amalgam -9 MPa to +18 MPa, composite -6 MPa to +24 MPa and acrylic mass -12 MPa to +36 MPa. These differences between stresses are, of course, connected with large differences between Young module of the particular materials from 27600 MPa for amalgam by 16600 MPa for composite to 2760 MPa for acrylic mass. The higher differences between tissues young module and filling materials ones the highest stresses and higher differences between maximum compressive and tensile stress. This is also the reason of the differences between stresses in deep and shallow fillings with the same filling material.

The highest stresses, for each kind of filling material, occur at contact fillet-enamel (in shallow filling case) and fillet-dentin in case of deep filling reaches inside the dentin. The influence of different materials properties is sharply zredukowane wyst puj przy wypełnieniach płytkich dla masy akrylowej (240 MPa), mniejsze dla kompozytu (119 MPa) i najmniejsze dla amalgamatu (87 MPa). Nieco inaczej wygl da sytuacja przy wypełnieniu gł bokim. W tym przypadku najwi ksze napr enia zredukowane wyst puj przy wypełnieniu z amalgamatu (102 MPa), mniejsze dla kompozytu (100 MPa) i najmniejsze dla masy akrylowej (90 MPa). Takie ró nice uszeregowa wynikaj z faktu, e w przypadku wypełnienia płytkiego o wielko ci napr e decyduje ró nica wła ciwo ci pomi dzy materiałem wypełniaj cym a szkliwem, natomiast w przypadku wypełnienia gł bokiego dochodzi jeszcze ró nica wła ciwo ci mi dzy materiałem wypełnienia a z bin , która ma zdecydowanie gorsze wła ciwo ci ni szkliwo.

Analizuj c rozkłady napr e w okolicach wypełnienia mo na przewidywa jakie b dzie jego dalsze zachowanie si i konsekwencje tego. Przykładowo pojawienie si napr e rozci gaj cych mo e powodowa powstawanie szczeliny pomi dzy wypełnieniem a szkliwem. Konsekwencj tego b dzie wnikanie bakterii w powstał szczelin a tym samym nie spełnienie podstawowej roli wypełnienia i niepowodzenie procesu leczenia.

Przedstawione tutaj symulacje nie wyczerpuj wszystkich przypadków obci e z ba. Przede wszystkim symulacj ograniczono tylko do trzech przykładowych materiałów z całej bardzo szerokiej gamy dost pnych na rynku i stosowanych we współczesnej stomatologii. W badanych przypadkach siła przykładana była tylko w jeden sposób. Przy innym przyło eniu siły, co ma na pewno miejsce przy ró nych budowach aparatu ucia (np. przy wyst powaniu wad zgryzu) układ powstaj cych napr e mo e by zupełnie inny. Kolejnym czynnikiem, który powinien by uwzgl dniony s napr enia powstaj ce w wyniku zmian temperatur pojawiaj cych si podczas spo ywania pokarmów np. gor ce lub zimne napoje, lody itp.

Na podstawie przeprowadzonych bada mo na stwierdzi , e metoda elementów sko czonych mo e by bardzo pomocna w przyszłym projektowaniu materiałów do wypełnie stomatologicznych. Pozwala ona na podstawie właciwo ci tych materiałów oraz wła ciwo ci tkanek z ba przewidzie napr enia panuj ce w układzie z b - wypełnienie, zachowanie si wypełnienia jego interakcj z tkankami z ba.

Wnioski

1. Metoda elementów sko czonych daje du o informacji o mo liwo ciach zachowania si materiałów stomatologicznych i ich interakcjach z tkankami z bów.

2. Napr enia panuj ce w z bie i wypełnieniu w du ym stopniu zale od relacji wła ciwo ci tkanek z ba i materiału wypełnienia. Im wi ksze ró nice wła ciwo ci tym napr enia wi ksze i ich rozkład jest bardziej niejednorodny.

3. W celu okre lenia przydatno ci konkretnego materiału wypełniaj cego konieczne jest przeprowadzenie symulacji uwzgl dniaj cych du o wi cej czynników ni te, które przedstawiono w niniejszej pracy. outlined, also here. The highest reduced stresses occur for shallow fillings with acrylic mass (240 MPa), lower for composite (119 MPa) and the lowest for amalgam (87 MPa). The situation is a little bit different in case of deep fillets. The highest stresses, in this case, occur for amalgam (102 MPa), lower for composite (100 MPa) and the lowest (90 MPa) in case of acrylic mass. Such differences in scheduling come from the fact that, in case of shallow fillet the distinction between filling material and enamel properties is a crucial factor determining the stresses level, whereas in case of deep fillet, the material properties difference between the filling material and the dentin, which has worse properties than enamel, is added.

Analysis of the stresses distribution in the region of the fillet allows one to forecast what will be its future behavior and consequences. For example, the tensile stress occurrence can cause the gap formation between the fillet and the enamel. The bacteria penetration in formed crevice is the consequence, and thereby the basic role of the fillet is not fulfilled and the therapy process is failed.

The all possible cases of loading the tooth shown in this paper, do not exhaust the problem. The simulation was restricted to three basic materials from the whole wide gamut of available on market ones, and applied in modern stomatology. The force was applied only in one way, in examined cases. The system of arising stresses can be totally different, at other force assumption what undoubtedly takes place at different structures of mastication aid (e.g. occlusion faults). The stresses that are formed by reason of temperature changes what takes place during food consumption e.g. hot or cold drinks, ice creams, are the next factor.

On the basis of carried out experiments we can assert, that FEM can be very useful in future design of dental filling materials. This method allows, on the basis of mechanical materials properties, to predict the stresses distribution in the tooth-fillet system, behavior of the fillet and its interaction with tooth tissues.

Conclusions

1. FEM gives a lot of information about possible interactions between dental materials and teeth tissues and theirs behavior.

2. The stresses in the tooth and the fillet depend mostly on the relations between tissues and fillings properties. The higher differences the higher stresses and the most nonununiform their distribution.

3. To determine the usability of the particular filling material it is necessary to carry out simulations taking into account much more factors than authors showed in this paper. Figures, tables, and formulas should be included on the same page they are referred to in the text or, if it is not possible, on the subsequent page.

Pi miennictwo References

 Craig, Powers, Wataha, "Materiały stomatologiczne", Wyd. I polskie pod redakcj H.Limanowskiej-Shaw. Urban&Partner.
 Gierzy ska-Dola M., Krzesi ski G., Rajchel B., "Kryteria doboru rodzaju materiału i obróbki powierzchniowej na endoprotezy stawu biodrowego", In ynieria Materiałowa Nr 5, 1999, pp.553-557.
 Rusi ski E., Czmochowski J., Smolnicki T., "Zaawansowana metoda elementów sko czonych w konstrukcjach no nych", Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej, Wrocław, 2000.
 Zienkiewicz O.C., "Metoda elementów sko czonych", Arkady, Warszawa, 1972. 21

• • • • • • • • •

² ² ² ELEKTRONOWY MIKROSKOP SKANINGO WY W BADANIACH MATE RIAŁÓW ENDODONTYCZNYCH

LESZEK KLIMEK

INSTYTUT IN YNIERII MATERIAŁOWEJ POLITECHNIKA ŁÓDZKA

Streszczenie

We współczesnej endodoncji stosowanych jest wiele materiałów wypełniaj cych i uszczelniaj cych i z ka dym rokiem ich ilo ro nie. Warunkiem zastosowania wła ciwego materiału jest znanie jego właciwo ci, z których jedn z najistotniejszych jest zapewnienie odpowiedniej szczelno ci mi dzy z bin a wypełnieniem. Najcz ciej stosowane metody oparte s na pomiarach penetracji barwnika w gł b wypełnienia. W niniejszej pracy przedstawiono mo liwo ci zastosowania elektronowego mikroskopu skaningowego do okre lenia szczelno ci wypełnie wstecznych. Pokazano jakie daje on mo liwo ci obserwacji i ujawniania nieci gło ci i defektów wypełnie wstecznych, oraz przedstawiono korelacj wyników okre lania szczelno ci w elektronowym mikroskopie skaningowym z badaniem szczelno ci metod penetracji barwnika. Uzyskane wyniki pozwalaj stwierdzi, e obserwacje w elektronowym mikroskopie skaningowym daj informacje niemo liwe do uzyskania innymi metodami. Reasumuj c nale y stwierdzi e mo e on by cennym urz dzeniem uzupełniaj cym badania wypełnie wstecznych.

Wst p

Jednym z istotnych czynników warunkuj cych prawidłowe wsteczne wypełnienie kanałów korzeniowych po zabiegu resekcji jest szczelno wypełnienia. Uzyskanie odpowiedniej szczelno ci zale y zarówno od zachowania odpowiedniej techniki wypełniania, jak i od jako ci zastosowanych materiałów. Bior c pod uwag to ostatnie bardzo wa nym zagadnieniem jest ocena stosowanych materiałów pod k tem zapewnienia najlepszej szczelno ci. Wła ciwo oceniana jest najcz ciej metod penetracji barwnika. Istota jej polega na tym, e po wykonaniu wypełnienia wstecznego i zabezpieczeniu zewn trznych powierzchni z ba przed penetracj barwnika odcina si koniec korzenia i tak przygotowany preparat zanurza si w barwniku na okre lony okres czasu. Po jego upływie wyjmuje si z b z barwnika, przecina wzdłu lub zeszlifowywuje połow z ba i pod mikroskopem optycznym ocenia gł boko penetracji barwnika. Chocia metoda ta jest prosta w sposobie wykonania to jednak ma pewne niedogodno ci, polegaj ce mi dzy innymi na tym, e w wielu przypadkach trudno (a czasami wr cz niemo liwe) jest oceni gł boko na jak wnikn ł barwnik (por. RYS. 1a i b). Samo okre lenie gł boko ci penetracji te nie jest całkiem miarodajn ocen materiału. Je eli we mie si pod uwag, e zachowanie odpowiedniej szczelno ci wypełnienia ma na celu zapobie enie wnikaniu drobnoustrojów w jego gł b to mo e zdarzy si sy-

SCANNING ELECTRON MICROSCOPE IN INVESTIGATION ENDODONTICAL MATERIALS

LESZEK KLIMEK

INSTITUTE OF MATERIAL ENGINEERING, TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, LODZ, POLAND

Abstract

Adequate root canal sealing is a basic prerequisite for achieving successful endodontic treatment and depends not only on a technique of obturation of the whole root canal system but also on proper choice of endodontic material. In contemporary endodontics there are many different materials recommended for root canal obturation and retrograde filling after apicectomy. A dye penetration technique and a scanning electron microscope (SEM) are the methods most often used in evaluation of the quality of fillings. The study presents SEM observations of root canal and retrograde fillings and determines the correlation between the SEM findings and the results of the dye penetration method.

Introduction

One of the most significant prerequisites for adequate root canal filling is its sealing. It depends not only on the technique of filling but also on the quality of endodontic materials used in treatment. Evaluation of materials for providing the best root canal sealing is thus a very important problem. The apical dye penetration method has been most often used to assess the apical seal of root canals. After preparation of a retrograde filling and protection of outer surfaces of the tooth against dye penetration, the root apex is cut off and the tooth specimen is immersed in the dye for a specific time. Next the tooth is cut along the entire length or ground to its half and the depth of dye penetration is checked under the light microscope. Although this method is quite simple, sometimes it can cause problems during evaluation of the depth to which the dye has penetrated the tooth (FIG. 1a and b). Determination of the dye penetration depth alone is not a reliable evaluation of material properties. If we consider that the adequate sealing serves to protect against bacteria penetration, it may happen that the size of the gap is too small to enable micro-organisms to penetrate but it can be large enough to let the dye go inside. In such a case, in spite of the fact that the feeling fulfils its function, the result of penetration will be unfavourable. The next inconvenience is lack of information on details which may affect the guality of retrograde and orthograde (root canal) fillings i.e. distribution of sealers in the root canal, integrity of gaps and fillings etc. These factors can have a significant influence on improvement of current root-end filling materials and designing of quite new ones. Considering all these problems, the dye penetration technique should be carried out together with other examinations, which would provide more complete picture of the quality of retrograde and orthograde fillings.

tuacja, e wielko szczeliny jest zbyt mała aby umo liwi przenikanie drobnoustrojów natomiast wystarczaj ca do wnikni cia barwnika. W takim przypadku, pomimo, e wypełnienie spełnia swoje zadanie zabezpieczaj ce, to wynik penetracji b dzie niekorzystny. Kolejn niedogodno ci jest brak informacji na temat szczegółów mog cych mie istotny wpływ na jako wypełnie wstecznych np. równomierno rozło enia past uszczelniaj cych, ci gło szczeliny itp., które to czynniki mog mie istotne znaczenie w ulepszaniu starych i projektowaniu nowych materiałów do wypełnie wstecznych. Bior c powy sze pod uwag nale ałoby t metod uzupełni o inne badania daj ce pełniejszy obraz jako ci wypełnie wstecznych.

Cel pracy

Wykorzystuj c swoje kilkuletnie do wiadczenia w ocenianiu jako ci wypełnie wstecznych autorzy niniejszej pracy chc zaproponowa obserwacje wypełnie w elektronowym mikroskopie skaningowym jako daj c nowe informacje o jako ci wypełnie wstecznych.

Celem pracy jest pokazanie, na przykładzie wypełnie wykonanych z ró nych materiałów, jakie informacje mo na uzyska podczas obserwacji w elektronowym mikroskopie skaningowym, oraz odniesienie uzyskanych wyników do wyników uzyskanymi metod liniowej penetracji barwnika.

Metodyka bada

Ocen szczelno ci wypełnie wstecznych przy zastosowaniu elektronowego mikroskopu skaningowego mo na wykonywa obserwuj c przekroje wzdłu ne z bów lub przekroje porzeczne wykonywane na ró nych gł boko ciach (RYS. 2). W celu poprawienia jako ci otrzymywanych obrazów wskazane jest (przed obserwacjami) pokrycie powierzchni preparatu cienk warstw w gla, złota lub stopu platyna - pallad, złoto - pallad. Warstwy te umo liwiaj odprowadzenie ładunku elektrycznego z preparatu, a tak e poprawiaj współczynnik emisji elektronów wtórnych co znacznie polepsza jako obrazów umo liwiaj c dokładniejsze pomiary. W niektórych przypadkach (szczególnie w przypadku starszych typów mikroskopów) pokrycie warstw przewodz c mo e by wr cz warunkiem otrzymania prawidłowych obrazów.

W zale no ci, który przekrój zastosujemy do bada to mamy mo liwo uzyskania ró nych informacji. Obserwuj c przekroje wzdłu ne mo emy okre li szczelno wypełnienia na całej jego gł boko ci. Natomiast istotn wad



RYS. 2. Preparaty przygotowane do oceny szczelno ci: a) Przekrój wzdłu ny z ba;

b) Przekrój poprzeczny.

FIG. 2. Specimens prepared for evaluation of sealing:

a) Longitudinal cross-section of the tooth;

b) Transverse cross-section of the tooth.



RYS. 1. Przekrój z ba przygotowany do oceny penetracji barwnika:

a) Przekrój z wyra nie widoczn gł boko ci wnikni cia barwnika;

b) Przekrój z trudn do okre lenia gł boko ci wnikni cia barwnika.

FIG. 1. Longitudinal cross-section of the tooth prepared for evaluation of dye penetration: a) Longitudinal cross-section with difficult to

determine depth of dye penetration;

b) Longitudinal cross-section with definitely visible depth of dye penetration.

The aim of the work

The authors of this study, on the basis of their long experience in evaluation of the quality of root canal and retrograde fillings, suggest the evaluation of fillings in a scanning electron microscope as a method providing additional information on the quality of retrograde and root canal fillings.

The aim of the study is to present the information which can be achieved during the SEM observations using fillings made of various endodontic materials and to compare the results with the findings of the linear dye penetration method.

Methods of the study

The evaluation of the retrograde sealing in the SEM can be carried out through observation of longitudinal crosssections of teeth (FIG. 2a) or through transverse cross-sections cut at different depths (FIG. 2b). In order to obtain images of a better quality it is recommended to cover specimen surfaces with a thin coating of coal, gold and platinumpalladium or gold-palladium alloys. The layers enable the electric charge to leave the specimen and also improve the coefficient of secondary electrons emission to give a better quality of images and provide more precise measurements. In some case (especially in older types of microscopes) covering the specimen with the conducting layer is necessary to achieve proper pictures.

Different information can be obtained depending on the kind of cross-section used for investigations. In case of longitudinal cross-sections, sealing of the filling along its entire depth can be determined. However, this method has a significant disadvantage i.e. sealing can be assessed only at two sites and not on the whole circumference. On the other hand observations of the transverse cross-section permit evaluation of filling adherence on the whole circumference but only at certain chosen depths. Unfortunately, one specimen serves only for preparation of either a longitudinal or transverse cross-section, which is rather inconvenient. This BICMATERIALOW

tej metody jest to, e mo emy oceni szczelno tylko w dwóch miejscach (a nie na całym obwodzie). Natomiast obserwacja przekroju poprzecznego pozwala na ocen przylegania na całym obwodzie wypełnienia, ale z kolei oceniamy na pewnych wybranych gł boko ciach, nie maj c moliwo ci ci głej oceny szczelno ci w gł b wypełnienia. Niestety na jednym preparacie mo liwe jest tylko wykonanie przekroju poprzecznego lub wzdłu nego co jest pewn niedogodno ci , ale dotyczy ona tak e oceny metod penetracji barwnika. Chc c mie pełniejsz informacj nale y wykona wi ksz ilo preparatów i cz z nich obserwowa na przekrojach wzdłu nych a cz na poprzecznych.

Wyniki obserwacji

24



RYS. 3. Wypełnienie wsteczne:

a) dobre przyleganie - brak szczeliny;

b) niewła ciwe przyleganie - szczelina około 10 mm.

FIG. 3. Retrograde filling:

a) adequate sealing of the material - lack of a gap;b) inadequate sealing of the material - a gap of about 10 mm width.



RYS. 4. Szczelina w wypełnieniu wstecznym: a) pomi dzy past uszczelniaj c a z bin ; b) pomi dzy past uszczelniaj c a wiekiem. FIG. 4. The gap in the retrograde filling: a) between the sealer and dentine; b) between the sealer and the gutta-percha point.



RYS. 5. Przebieg nieci gło ci w wypełnieniu:
a) przez past uszczelniaj c;
b) brak pasty uszczelniaj cej.
FIG. 5. Different courses of discontinuity in the filling:
a) through the sealer;
b) visible lack of the sealer.

problem is also encountered when the dye penetration method is used for evaluation. In order to get more complete information, a greater number of longitudinal and transverse cross-sections should be prepared and examined in SEM.

Results of the observation

The SEM radiographs demonstrate lack of integrity and other drawbacks of root canal and retrograde fillings. SEM investigations also reveal the presence of gaps between a filling and dentine. FIG. 3 shows two fillings, one of them with a proper seal between the material and dentine (Fig. 3b), and another one with a visible gap (FIG. 3b). Placement of a marker on the microradiograph allows for precise measurement of the gap width.

The next information, which can be obtained by the examination of SEM radiographs is the course of gaps and material discontinuation. FIG. 4 presents a gutta-percha point filling with a sealer. In the first case (FIG. 4a) the observed gap occurred between the sealer and dentine, in the second one the gap was seen between the sealer and the post. This information is of great significance for further clinical prognosis.

Lack of integrity in the filling can also occur in a different way. FIG. 5 shows the course of the gap from the dentinesealer interface through the sealer to the gutta-percha pointsealer interface. Whereas, FIG. 5b presents the site which lacks the sealer.

Correlations of the sealing results obtained by means of the dye penetration method with the method of gap width measurements in SEM

The authors of this study in their previous in vitro research investigated sealing of different groups of root canal filling materials in endodontic treatment [1-3] including guttapercha points used with the lateral condensation technique and with sealers AH-plus and RSA Roeko Seal Automix [4], Harvard phosphate cement used alone to obdurate canals [5], and also materials for retrograde filling after apicectomy such as Megalloy amalgam used together with or without the Copalite varnish [6], compomer Dyract AP [7], and Super EBA -zinc oxide-eugenol cement reinforced with ortho-ethoxybenzoic acid [7, 8]. The evaluation of sealing was performed using the linear dye penetration method and SEM investigations, in which gap widths were assessed. During the evaluation with the dye penetration method different values of penetration at different depths were observed. On the basis of the results obtained the materials were classified according to the sequence of increasing dye penetration: Dyract AP, gutta-percha with RSA Roeko Seal Automix, Super EBA, gutta-percha with AH-plus, amalgam with Copalite, amalgam without Copalite, and phosphate cement. Direct observation of the materials studied in SEM revealed the presence of gaps of different width between the materials and the canal walls. The evaluation of sealing of canal fillings in SEM showed the greatest gaps in the fillings with phosphate cement (about 20 mm) [9]. Much smaller gaps (about 8 mm) were observed in the amalgam fillings [1]. Slightly smaller gaps than in amalgam were found in the group of teeth filled by the lateral condensation method

W dalszej cz ci pracy przedstawiono fotografie otrzymane w elektronowym mikroskopie skaningowym, pokazuj ce mo liwo ci ujawniania i obserwacji wszelkiego rodzaju nieci gło ci i innych wad wypełnie wstecznych.

Korelacje wyników szczelno ci otrzymanych metod penetracji barwnika z metod pomiarów szeroko ci szczelin w elektronowym mikroskopie skaningowym

Autorzy, przeprowadzili badania szczelno ci ró nych grup materiałów słu cych do wypełniania kanałów w leczeniu endodontycznym [1-3], jak i materiałów do wstecznego ich wypełniania po zabiegu resekcji. Oceniane z by wypełnione zostały metod bocznej kondensacji gutaperki,

wieki uszczelniono pastami AH-plus i RSA Roeko Seal Automix [4]. Cement fosforanowy Harvard stanowił samodzielne wypełnienie kanału korzeniowego [5]. Do wykonania wypełnie wstecznych u yto amalgamatu Megalloy zastosowanego z podkładowym lakierem uszczelniaj cym Copalite i bez tego lakieru [6], materiału z grupy kompomerów Dyract AP [7], oraz cementu tlenkowo-cynkowo-eugenolowego wzmocnionego kwasem orto-etoksybenzoesowym Super EBA [7, 8]. Ocen szczelno ci przeprowadzono metod liniowego przecieku barwnika, a obecno ci szczelin w ró nych miejscach wypełnie dokonano w elektronowym mikroskopie skaningowym. Podczas oceny materiałów metod barwn materiały uszeregowano w kolejno ci zwi kszaj cego si przecieku barwnika: Dyract AP, gutaperka z RSA, Super EBA, gutaperka z AH-plus, amalgamat z Copalitem, amalgamat bez lakieru uszczelniaj cego oraz cement fosforanowy. Metod bezpo redniej obserwacji badanych grup materiałów w elektronowym mikroskopie skaningowym, stwierdzono obecno szczelin o ró nej szeroko ci pomi dzy materiałem a cian kanału. Ocena szczelno ci wypełnie kanałowych przeprowadzona w SEM, wykazała najwi ksz szczelin (około 20 mm) przy wypełnieniu kanału cementem fosforanowym [9]. Zdecydowanie mniejsze szczeliny (około 8 mm) obserwowano przy wypełnieniach z amalgamatów [1]. W grupach z bów wypełnionych metod bocznej kondensacji gutaperki z past RSA i AH-plus warto ci były mniejsze (2-3 mm) [10]. Najlepsz szczelno uzyskano przy materiałach Dyract AP i Super EBA, gdzie szeroko szczeliny była najmniejsza (poni ej 1 mm) [11]. Bior c pod uwag , obserwowan w elektronowym mikroskopie skaningowym, szeroko szczelin pomi dzy wypełnieniem wstecznym a cian ubytku badane materiały mo na wi c uszeregowa , wg malej cych szerokoci szczelin, w nast puj cej kolejno ci: Dyract AP, Super EBA, gutaperka z past RSA, gutaperka z past AH-plus, amalgamat z lakierem Copalit, amalgamat bez lakieru uszczelniaj cego i cement fosforanowy.

Na podstawie przeprowadzonych bada mo na stwierdzi , e wyniki oceny szczelno ci wypełnie kanałowych uzyskane metod penetracji barwnika zbie ne s z ocen szeroko ci szczelin obserwowanych w SEM. Uszeregowanie materiałów w kierunku maksymalnych wła ciwo ci zbliona jest w obu metodach oceny. with gutta-percha and RSA Roeko Seal Automix and AHplus (about 2-3 mm) [10]. The lowest gap values (below 1 mm) providing the best seal were noticed in Dyract AP and Super EBA [11]. Taking under consideration the gap width between the retrograde filling and the cavity wall examined in SEM, a similar classification of the above-mentioned materials into a few separate groups was observed.

Conclusions

The application of the SEM allows in a relatively simple way to observe different sites of specimens at different angles and in different magnifications. Due to the SEM investigations a greater number of information affecting the more precise evaluation of the materials studied can be achieved. Some of this information could not be gained by means of other methods.

The SEM observations permit to evaluate not only the depth but also the width of gaps between dentine and the filling and to assess their course, integrity etc. Measurements can be made on specimens coated with a conducting layer or without it. However, lack of conducting coating causes some difficulties in performing precise measurements.

Previous investigations reveal high agreement in evaluation of materials made with two separate methods (measurements of leakage length and gap width).

The scanning electron microscope appears to be a valuable supplementary means to other investigations of materials used for root canal filings and application of two examination methods provides a more reliable evaluation of sealing of root canal and retrograde fillings.

Pismiennictwo

References

[1] Banaszek K.: "Endodontic and surgical procedures for sealing periapical root region." Ph.D. dissertation, medical University of Łód , 1999.

[2] Banaszek K., Pawlicka H.: "The literature review of materials for retrograde fillings." Magazyn Stomatologiczny 3, 1999, pp. 24-29.

[3] Banaszek K., Pawlicka H., Klimek L.: "Evaluation of root-end filling materials." The 10th Biennial Congress of European Society of Endodontology, Munich, Germany, 4-6 October 2001, R 36.

[4] Pawlicka H., Banaszek K., Klimek L., Olejniczak M.: "Sealing properties of RSA Roeko Seal Automix." Materials of the IV Conference of Biomaterials and Mechanics in Dentistry, Ustro Jaszowiec, 19-22 October 2000, pp. 199-203.

[5] Banaszek K., Pawlicka H., Klimek L.: "Evaluation of sealing properties of root canal filling with a phosphate cement after apicectomy. A laboratory study." Engineering of Biomaterials, no. 17, 18, 19 October 2001, pp. 51-53.

[6] Banaszek K., Klimek L., Pawlicka H.: "Amalgam retrograde fillings - evaluation with the linear dye penetration method." Nowa Stomatologia, 12 (no 1-2/2000), pp. 9-12.

[7] Banaszek K., Pawlicka H., Klimek L.: "Materials for retrograde fillings - evaluation with the linear dye penetration method." Materials of the IV Conference of Biomaterials and Mechanics in Dentistry, Ustro Jaszowiec, 19-22 October 2000, pp. 29-33.

[8] Banaszek K., Pawlicka H., Klimek L.: "Super - EBA as a retrograde filling material after apicectomy - a SEM study." International Conference on Material Engineering - New Materials and Technology Applied in Automotive Industry and Biomaterials. Liberec 4-6 June 2001, p.5, CD Paper 2.

[9] Banaszek K., Klimek L., Pawlicka H.: "Ocena przylegania wypełnie kanałowych z cementu fosforanowego do cian z biny kanałówej - badania w SEM.". Materiały V Konferencji Biomateriały i Mechanika w Stomatologii Ustro Jaszowiec, 17-20 pa dziernik 2002 r - in print.

² ⁶ Podsumowanie

Zastosowanie skaningowego mikroskopu elektronowego daje stosunkowo prost mo liwo ogl dania preparatów w ró nych miejscach, pod ró nymi k tami i przy ró nych powi kszeniach co pozwala na uzyskanie zdecydowanie wi kszej ilo ci informacji maj cych wpływ na pełniejsz ocen badanych materiałów. Niektóre z tych informacji mog by niemo liwe do uzyskania innymi metodami.

Obserwacje w elektronowym mikroskopie skaningowym pozwalaj oceni zarówno gł boko jak i szeroko szczelin wyst puj cych mi dzy z bin a wypełnieniem a tak e ich przebiegu, ci gło ci itp. Pomiarów mo na dokonywa na preparatach napylonych warstwa przewodz c jak równie bez tej warstwy. Brak warstwy przewodz cej powoduje jednak pewne trudno ci z dokonaniem dokładnego pomiaru.

Mikroskop skaningowy mo e by cennym narz dziem uzupełniaj cym inne badania materiałów stosowanych na wypełnienia wsteczne.

[10] Pawlicka H., Banaszek K., Klimek L., Olejniczak M.: "Apical leakage in root canals with gutta-percha using three different sealers." International Conference on Material Engineering - New Materials and Technology Applied in Automotive Industry and Biomaterials. Liberec 4-6 June 2001, p. 9, CD Paper 6.

[11] Banaszek K., Pawlicka H., Klimek L.: "Super EBA and Dyract AP materials as retrograde filings after apicectomy. Conference Materials of Conservative Dentistry Section of the Polish Dental Association "Achievements in Dentistry at the beginning of the XXI Century." Salmed 2001, Pozna , 5-6 April 2001.

DŁUGOTERMINOWE BADANIA ZMECZENIOWE SZTUCZNEJ ZASTAWKI SERCA POKRYTEJ WARSTW NANOKRYSTALICZNEGO DIAMENTU

KRZYSZTOF JÓ WIK, DARIUSZ WITKOWSKI, DAMIAN OBIDOWSKI

Politechnika Łódzka, Instytut Maszyn Przepływowych Zespół Aparatury Medycznej ul. Wólcza ska 219/223, 93-005 Łód , Polska

Streszczenie

Analizuj c prac zastawki, szczególnie z punktu widzenia niezawodno ci działania, nale y uwzgl dni liczb cykli pracy serca. Nawet w poło eniu aortalnym ró nica ci nienia przy zamkni tej zastawce nie stanowi du ego jej obci enia. Natomiast to obci enie i ogromna liczba cykli pracy stwarza niebezpiecze stwo uszkodzenia protezy zastawki. W pracy przedstawiono model układu kr enia oraz stanowisko do bada zm czeniowych zastawek.

Słowa kluczowe: sztuczna zastawka serca, testy zm czeniowe, przepływ pulsacyjny

Wst p

Sztuczna zastawka serca nale y do grupy najbardziej odpowiedzialnych "cz ci zamiennych" wszczepianych ludziom. Ze wzgl du na trudne warunki pracy i ryzyko mierci pacjenta w wyniku uszkodzenia zastawki lub jej nieprawidłowego działania stawiane s jej szczególne wysokie

A LONG-TERM MECHANICAL FATIGUE EXAMINATION OF THE ARTIFICIAL HEART VALVE WITH AN NCD COATING

KRZYSZTOF JÓ WIK, DARIUSZ WITKOWSKI, DAMIAN OBIDOWSKI

Technical University of Łód , Institute of Turbomachinery Division of Medical Apparatus 219/223 Wólcza ska St. 93-005 Łód , Poland

Abstract

Analysing heart valve operation, especially from the viewpoint of operational reliability, one has to take into account the number of cycles of heart operation. The pressure difference for closed heart valve is not a significant load, even for aortal position. However, this load and a huge number of operation cycles creates a danger of artificial heart valve damages. A model of human body cardiovascular system and a test rig for fatigue investigations have been presented.

Key words: Artificial heart valve, fatigue test, pulse flow.

Introduction

An artificial heart valve is one of the most responsible "spear parts" that are implanted into human body. Extremely high reliability and fatigue strength are demanded due to very difficult operation conditions and risk of death of the patient if break of operation or malfunction occurs. Experimental set-up used for valve investigations in such a way that it performs as many cycles per minute as possible has to be introduced to shorten time of mechanical fatigue tests. An assumption that artificial heart valve has to perform 100 wymagania odno nie wytrzymało ci zm czeniowej i niezawodno ci. Celem stawianym stanowisku do wiadczalnemu jest skrócenie czasu potrzebnego na wykonanie testów zm czeniowych poprzez zwi kszenie ilo ci cykli wykonywanych przez zastawk w jednostce czasu. Zakłada si ,

e sztuczna zastawka serca b dzie pracowa nieprzerwanie przez 100 lat.



RYS. 1. Schemat układu krwiono nego człowieka [3].

FIG. 1. Scheme of physical model of human body cardiovascular system [3].

Opis do wiadczenia

Ze wzgl du na kra cowo wysokie ryzyko mierci pacjenta sztuczna zastawka serca musi spełnia wysokie standardy biokompatybilno ci i odporno ci zm czeniowej.

Badania długoterminowe mog zosta skrócone dzi ki pracy w trudniejszych od rzeczywistych warunkach oraz wykonywania wi kszej ilo ci cykli w jednostce czasu ni ma to miejsce w ludzkim organizmie co ma wpływ na szybsze zu ycie zastawki.

Badana zastawka poddana jest pracy w trybie 24 godzin na dob 7 dni w tygodniu i poddawana jest badaniom z wykorzystaniem ró nych metod badawczych w zaplanowanych odst pach czasu.

Układ krwiono ny człowieka mo e zosta uproszczony według schematu zaprezentowanemu na RYSUNKU 1. Głównymi elementami s rozdzielone przedsionki, komory kontrolowane przy pomocy sterownika oraz dwóch oporów odpowiadaj cych obu obiegom krwi.

Stanowisko badawcze [1],[2],[3],[4]

Model układu krwiono nego człowieka zaprezentowany na rysunku 1 mo e słu y to bada przepływowych w poszczególnych fragmentach systemu oraz pozwala na badania odkształce naczy.

W celu uproszczenia budowy stanowiska badawczego skonstruowano bardzo uproszczony model układu krwiono nego składaj cego si z rozdzielnych obiegów: lewego i prawego serca.

Prezentowany na schemacie układ składa si z dwóch niezale nych obiegów - obiegu płucnego i obiegu systemowego - wraz z oddzielnym lewym i prawym sercem. Krew years of continuous operation is made.

Examination procedure

Due to extremely high risk of patient death artificial heart valve has to fulfil very strict biocompatibility and failure strength standards. Long-term mechanical experiments may be shorten by increasing the number of cycles preformed in time interval and by operation in more difficult conditions then in human body which cause faster fatigue of valve elements. An artificial heart valve is operating 24 hours per day, 7 days a week and is examined by means of different methods in assumed time periods.

The human body cardiovascular system may be simplified to the one shown in FIG. 1. Two separated closed atriums, two ventricles driven by controller and two resistances corresponding to both circuits are main elements of this model.

Experimental set-up [1],[2],[3],[4]

The physical model of human body cardiovascular system as presented in Fig. 1 can be used for examination of flow through particular parts of system and for measurements of aorta distortion.

Highly simplified physical model of human body cardiovascular system consisting of separated parts - left and right heart as presented in FIG. 1 - was utilized for simplification of test rig structure. On the basis of this model experimental setup has been designed. It consists of two circulation systems: lung circuit with right heart and system circuit with left heart. A model of atrium is placed downstream every heart ventricle. Pressure in atrium is controlled by the hydrostatic pressure regulated by a liquid elevation in atrium (a height of liquid column measured versus the ventricle level).

All vessels in human body are elastic. In a case of stiff vessels even short pump stoppage causes almost immediate drop of pressure gradient and stop of flow in this vessels. Heart is a pump of pulsating type of operation. Elasticity of blood vessels in body enables maintenance of pressure gradient. Thus energy accumulated in strained vessels is given up when heart is not pumping out blood and maintain the blood flow. A closed box with compressed air in it is a simplified model of this phenomena. The pump operation causes a compression of air in the box. Air is a source of pressure that causes outflow from the box between time periods of pump operation. A model of cardiovascular system has two compliance reservoirs: one for lung circuit and one for system circuit. A compliance may be regulated by means of air pressure thanks to the valve located on the top of box or by liquid level in the box.

As in case of human body presented system is closed that means there is no contact of liquid nor air with the environment. Liquid circulates in the system and there is no delivery of liquid from outside. Pump sucks in liquid from reservoir and pumps it through air reservoir and pulsator to the observation chamber. Pressure is continuously measured thanks to two pressure transducers with displays, and is kept in the range corresponding to physiological conditions.

More difficult operation conditions exist in the left part of heart thus it is assumed that it is enough to examine artificial heart valve for such conditions and obviously it would properly operate when placed it in the right heart. This assumption allows one to introduce experimental set-up performing only work done by left heart and considerably simplify the test rig. Experimental set-up is presented in FIG.

wpływa najpierw do przedsionka a nast pnie do komory
 serca. Ci nienie w przedsionkach kontrolowane ci nieniem hydrostatycznym i regulowane jest wysoko ci słupa cieczy w przedsionku (ponad poziom cieczy w komorze).

Wszystkie naczynia w organizmie człowieka s elastyczne. W przypadku sztywnych naczy nawet krótkotrwałe zatrzymanie pompy powoduje niemal natychmiastowe zatrzymanie przepływu cieczy w tych naczyniach. Serce jest typem pompy pulsacyjnej. Elastyczno naczy krwiononych pozwala utrzymywa gradient ci nie . W czasie gdy serce nie pompuje krwi energia zgromadzona w rozci gni tych naczyniach zostaje uwolniona i powoduje przedłu enie przepływu. W naszym modelu rol rozpr aj cych si naczy pełni spr one powietrze zgromadzone w zbiorniku podatno ci. Powietrze spr a si w chwili pracy serca. Na model układu krwiono nego składaj si dwa z dwa zbiorniki podatno ci. Podatno w zbiorniku regulowana jest dzi ki zaworowi dzi ki któremu mo na zwi kszy lub zmniejszy ilo powietrza a dzi ki temu ci nienie.

Podobnie do układu krwiono nego w ciele człowieka prezentowany system jest zamkni ty co oznacza e ciecz nie ma kontaktu bezpo rednio z otoczeniem. Ciecz kr y w układzie zamkni tym do którego nie dostarcza si ani nie odprowadza si cieczy. Płyn jest pobierany ze zbiornika, przepływa przez zbiornik podatno ci, generator pulsacji i przepływa przez zastawk . Ci nienie jest monitorowane dzi ki dwóm przetwornikom ci nienia z wy wietlaczami i utrzymywane jest w granicach ci nienia fizjologicznego.



RYS. 2. Zdj cie prezentowanego stanowiska. FIG. 2. Experimental set-up designed at the Technical University of Lodz.

2. It realizes 1000 cycles (heart beats) per minute. Thanks to this system it is possible to shorten investigations at least 14 times.



RYS. 3. Porównanie stanowisk eksperymentalnych zaprojektowanych na Politechnice w Achen oraz w Politechnice Łódzkiej.

FIG. 3. Comparison of two experimental set-ups designed in Helmholtz Institute, RWTH Aachen (on the left) and in Institute of Turbomachinery, Technical University of Lodz (on the right) [5].

Discussion of different solutions

Discussed problems one can solve in different ways. A generation of pulsating flow conditions is needed for investigations of mechanical fatigue of artificial heart valves. Two different approaches to pulsator design (necessary for simulations of modelled blood flow trough the heart valve) are presented in FIG 3.

Ze wzgl du na wi kszy gradient ci nie uznaje si e zastawka w lewej komorze serca ma trudniejsze warunki pracy. Zakłada si e zastawka która b dzie zbadana w trudniejszych warunkach b dzie równie dobrze pracowa w zakresie ni szych ci nie . Dzi ki tym zało eniom stanowisko badawcze zostało uproszczone do pojedynczego obiegu zasilanego przez jedn pomp . W którym gradient ci nie odpowiada gradientowi ci nie w układzie systemowym człowieka.

Stanowisko zostało przedstawione na RYSUNKU 2. Pozwala ono na wykonanie 1000 cykli (uderze serca) w ci gu 1 minuty. Dzi ki temu do wiadczenie mo e zosta skrócone 14-krotnie.

Przedstawienie innych rozwi za

Jest wiele ró nych sposobów rozwi zywania problemów. Dla bada zm czeniowych sztucznej zastawki serca przedstawiono poni ej dwa ró ne rozwi zania dla uzyskania pulsacyjnego przepływu niezb dnego do symulacji naturalnego przepływu przez zastawk . Porównanie obu rozwi za przedstawia RYSUNEK 3.

Najwa niejsza ró nica pomi dzy tymi dwoma rozwi zaniami polega na wytworzeniu pulsacyjnego charakteru przepływu cieczy przez sztuczn zastawk serca. Na rysunku po lewej stronie wedle rozwi zania w Achen przepływ cieczy wymuszony jest przez ruch stołu wymuszaj cego zmian ci nienia w komorze ci nienia, podczas gdy na rysunku po prawej stronie charakter przepływu z ci głego zmieniony jest dzi ki obrotowemu wałkowi z otworem poprzecznym zmieniaj c charakter przepływu z ci głego na pulsacyjny. Takie rozwi zanie umo liwia zwi kszenie cz sto ci pracy zastawki.

TROMBOZGODNO WARSTW NCD NA POWIERZCHNI STOPÓW TYTANOWYCH

Okrój W.*, Jakubowski W.*, Przybyszewska I.*, Pirek M.*, Komorowski P.*, Mruklik M.*, Szyma ski W.*, Kos da P.*, Walkowiak B.**

*Instytut In ynierii MateriaŁowej Politechnika Łódzka Łod **Zakład Biofizyki Molekularnej i Medycznej, Uniwersytetu Medycznego, Łód

Kontakt biomateriałów z krwi jest zjawiskiem nie do ko ca wyja nionym. Interakcje powierzchni implantów lub sprz tu medycznego z krwi nie powinny powodowa uszkadzania elementów morfotycznych krwi, zmienia składu elektrolitów, zmienia struktury białek, blokowa czynno ci enzymów oraz wpływa na proces krzepni cia krwi. Materiały krwiozgodne nie mog te wywoływa w otaczaj cych tkankach efektów toksycznych, alergizuj cych ani te skutków mutagennych [1, 2].

Warstwy w glowe, otrzymywane z zastosowaniem ró nych technik, wydaj si by obiecuj cymi modyfikacjami powierzchni implantów do kontaktu z krwi , nie tylko dzi ki ich znakomitym własno ciom fizycznym ale tak e ze wzgl du na ich skład chemiczny, który czyni je biozgodnymi. [3, 4, 5].

Celem pracy było porównanie trombozgodno ci stopu tytanu Ti6Al4V, TiN z powierzchni tych samych materiałów pokrytych warstw nanokrystalicznego diamentu (NCD). The way of generation of pulsating flow supplying the test chamber with an artificial heart valve is the main difference of presented test rigs. In the Aachen solution one can observe that flow of liquid is forced by movement of plate driving pressure capsule while in set-up designed at TU of Lodz liquid is flowing continuously (owing to the continuous pump operation) a rotating shaft with holes creates pulsating flow. Such solution allows one to increase the frequency of heart valve operation.

Pi miennictwo References

[1] Bochenek A., Reicher M., "Anatomia człowieka", Pa stwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa, 1974.

[2] Nawrat Z., Materiały wewn trzne i sprawozdania Fundacji Rozwoju Kardiochirurgii Instytutu Protez Serca w Zabrzu, Zabrze, 2000. [3], Pawlicki G., "Podstawy in ynierii medycznej" Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa, 1997.

[4] Traczyk W., Trzebski A., "Fizjologia człowieka z elementami fizjologii stosowanej i klinicznej", Pa stwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa, 1990.

[5] Papers of Technical University of Aachen.

THROMBOCOMPATIBILITY OF NCD LAYERS ON A SURFACE OF TITANIUM ALLOYS

Okrój W.*, Jakubowski W.*, Przybyszewska I.*, Pirek M.*, Komorowski P.*, Mruklik M.*, Szyma ski W.*, Kos da P.*, Walkowiak B.**

*Institute of Material Sciences and Engineering, Technical University of Lodz- Poland

**DEPARTMENT OF MOLECULAR AND MEDICAL BIOPHYSICS, MEDICAL UNIVERSITY OF LODZ, POLAND

The contact of biomaterials with blood is a not yet fully explained phenomenon. Interactions of implant surface or medical equipment with blood should not cause damages of blood cells, change electrolyte composition, alter protein structure, block enzymatic activity or influence blood clotting. Blood-compatible materials must not cause toxic or allergenic effects in surrounding tissues or develop mutagenic effects [1,2].

Carbonic layers obtained via various techniques seem to be promising modifications of implant surface for contact with blood not only because of their chemical composition which makes them biocompatible [3,4,5].

The aim of this study was to compare thrombocompatibility of titanium alloy Ti6Al4V, TiN with a surface of the same materials but covered with a layer of nanocrystalline diamond (NCD).

³ ⁰ Materiał i metody

Materiał do bada :

Do bada u yto kr ków grubo ci 3 mm i rednicy 8 mm wykonanych ze stopu tytanu (Ti6Al4V) i takich samych kr ków pokrytych azotkiem tytanu (TiN) metod implantacji jonowej. Powierzchnia próbek była obrabiana mechanicznie poprzez obróbk skrawaniem. Cz kr ków została pokryta warstw NCD metod Radio Frequency Plasma Chemical Vapour Deposition (RF PCVD).

Kontakt badanych powierzchni z krwi :

Próbki przed eksperymentem umyto dwukrotnie w wodzie destylowanej a nast pnie w etanolu. Krew pobierano, zgodnie z Deklaracj Helsi sk , od zdrowych ochotników, którzy nie stosowali adnych leków antypłytkowych w ostatnich trzech tygodniach przed badaniem. Jako antykoagulantu u yto 3,8% cytrynianu sodu (1:9, v:v), a nast pnie krew odwirowano (1000xg, 10 min) w celu uzyskania osocza ubogopłytkowego. Wszystkie próbki (Ti6Al4V, TiN, Ti6Al4V+NCD, TiN+NCD) umieszczano w osoczu ubogopłytkowym na kilkana cie godzin w temperaturze 4°C. Nast pnie próbki płukano dwukrotnie w 10mM buforze fosforanowym PBS o pH 7,4 (zawieraj cym 140 mM NaCl). Kolejny etap to kontakt próbek z pełn krwi cytrynianow przez 1 godzin , przy zapewnieniu ci głego ruchu krwi w probówce.

Przygotowanie próbek do obserwacji w skaningowym mikroskopie elektronowym:

Próbki utrwalano w 2,5% aldehydzie glutarowym przygotowanym w 0,1M buforze fosforanowym o pH 7,4 przez 1 godzin w temperaturze 4°C. Nast pnie płukano je w buforze fosforanowym dwa razy po 10 minut. Badane powierzchnie odwadniano stosuj c szereg alkoholi o wzrastaj cym st eniu, suszono na powietrzu i napylano 20-30 nm warstw złota w napylarce JEOL JEE-4X. Obserwacji dokonywano w mikroskopie skaningowym HITACHI-3000 N przy napi ciu 5 kV.

Wyniki

Kontakt krwi pełnej z powierzchni stopu Ti6Al4V i Ti6Al4V+NCD

Po jednogodzinnym kontakcie z pełn krwi powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V stwierdza si obecno licznie zaadherowanych płytek krwi oraz pojedyncze leukocyty o rednicy około 5 mm (RYS. 1a). Wi ksze powi kszenia mikroskopowe ujawniaj, e płytki posiadaj długie, liczne pseudopodia. Krwinki płytkowe przylegaj do podło a pojedynczo lub tworz niewielkie 2-3 płytkowe zespoły (RYS. 1b).

rednio na 100 mm² powierzchni stopu tytanu przypada 3,4 płytki krwi. Natomiast na powierzchni NCD nało onej na stop tytanu Ti6Al4V, po kontakcie z krwi, obserwowano równie liczne płytki krwi rozło one równomiernie na całej powierzchni próbek. Spotykano te niekiedy leukocyty o rednicy 5 mm² (RYS. 1c). Płytki krwi przylegaj pojedynczo i posiadaj liczne, cienkie i długie wypustki (RYS. 1d). Obliczono, e na 100 mm² powierzchni tego stopu pokrytego warstw NCD zaadherowane s rednio 2 płytki krwi, co stanowi około 59 % liczby płytek obserwowanych na stopie tytanu bez warstwy NCD.

Kontakt krwi pełnej z powierzchni TiN i TiN+NCD

Po kontakcie z pełn krwi , na powierzchni azotku tytanu stwierdzono przede wszystkim liczne leukocyty oraz niewielk liczb płytek krwi (RYS. 2a). Wszystkie leukocyty s kształtu kulistego i maj t sam wielko - około 5 mm rednicy. Płytki krwi natomiast s ró nokształtne i posiadaj

Materials and methods

Material for study:

Round bars, 3 mm thick and 8 mm in diameter made of titanium alloy (Ti6Al4V) and similar round bars covered with titanium nitride (TiN) by ionic implantation, were used for the study. Surface of samples was mechanically treated through machining. Part of the samples was covered with NCD layer according to Radio Frequency Chemical Vapor Deposition (RF PCVD) method.

Contact of studied surfaces with blood:

Samples were washed twice, before the experiment. Once in distilled water and then in ethanol washer. Blood was collected, according to Helsinki Declaration, from healthy volunteers who had not used any anti-platelet drugs for the last three weeks before the experiment. 3.8% sodium citrate (1:9, v:v) was used as a anticoagulant and next blood was centrifuged (1000 x G, 10 minutes) in order to obtain platelet poor plasma (PPP). All the samples (Ti6Al4V, TiN, Ti6Al4V+NCD, TiN+NCD) were placed in platelet poor plasma for several hours in temperature 4°C. Then samples were rinsed twice in 10 mM phosphatic buffer PBS with pH 7.4 (containing 140 mM NaCl). Next stage was the contact of the samples with whole citrate blood for one hour, with continuous movement of blood in test tube.

Preparation of samples for observation in scanning electron microscope:

The samples were fixed in 2.5% glutaraldehyde prepared in 0.1 M phosphatic buffer with pH 7.4 for one hour in temperature 4°C. Then they were twice rinsed in phosphatic buffer and gradually increasing concentration of ethanol, air dried and sputter with 20-30 nm layer of gold in JEOL JEE-4X sputtering apparatus. Observations were made under scanning electron microscope HITACHI-3000 N with voltage 5 kV.

Results

Contact of whole blood with surfaces of alloys Ti6Al4V and Ti6Al4V+NCD

After one hour exposition of Ti6Al4V alloy surface to whole blood a presence of numerous adhered blood platelets and single leukocytes of diameter app. 5 µm were found (FIG.



RYS. 1. Obraz powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V (a,b) oraz powierzchni Ti6Al4V pokrytego warstw NCD (c,d) po kontakcie z krwi

FIG. 1. Image of Ti6Al4V titanium alloy surface (a,b) and surface of Ti6Al4V covered with NCD layer (c,d) after exposure to blood.

ró n liczb wypustek (RYS. 2b). Liczba płytek przypadaj ca na 100 mm² wynosi 0,42. Po pokryciu azotku tytanu warstw NCD stwierdzono na tej powierzchni równie du liczb leukocytów, które wydaj si by w ci lejszym kontakcie z podło em, poniewa cz sto obserwuje si wytwarzanie wypustek cytoplazmatycznych przez te komórki. Natomiast liczba zaadherowanych płytek zdecydowanie maleje, bo na 100 mm² przypada ich rednio ok. 0,2, co stanowi 47% liczby płytek obserwowanych na powierzchni azotku tytanu (RYS. 2c, d).



RYS. 2. Powierzchnia azotku tytanu TiN (a,b) i azotku tytanu z naniesion warstw NCD (c,d) po jednogodzinnym kontakcie z krwi . FIG. 2. Surface of titanium nitride TiN (a,b) and titanium nitride with of NCD layer (c,d) after a contact. with blood for one hour.

Dyskusja

Pierwsz reakcj na kontakt krwi ze sztuczn powierzchjest depozycja na powierzchni implantu białek osocza, ni co w konsekwencji mo e powodowa adhezj i aktywacj płytek krwi. Przyleganie krwinek płytkowych do wielu biomateriałów jest mniejsze w porównaniu z przyleganiem do błony podstawnej naczy i do kolagenu, ma jednak decyduj ce znaczenie w serii reakcji prowadz cych do powstania skrzepu. Równocze nie obserwuje si adhezj leukocytów i erytrocytów do obcej powierzchni [1]. Stopie aktywacji płytek krwi [1] zale y od rodzaju zdeponowanego białka: fibrynogen aktywuje adhezj płytek, podczas gdy albuminy zapobiegaj jej. Tak wi c stosunek albumin do fibrynogenu zaadsorbowanego na biomateriale mo e by wska nikiem jego trombozgodno ci. Im mniejsza jest wartego wska nika, tym wi ksz obserwuje si liczb zato adherowanych płytek [2, 6, 7].

Aktywacj płytek krwi mo na oceni poprzez zmian ich kształtu, formowanie pseudopodiów, zmiany chemiczne w błonie komórkowej, indukcje aktywno ci prokoagulacyjnej, uwalnianie zawarto ci ziarnisto ci, inicjowanie agregacji oraz uwalnianie mikrocz stek lub małych p cherzyków błonowych z ich powierzchni [8].

Stwierdzono, e materiały o du ej szorstko ci powoduj przyleganie i mog indukowa kontaktowe naprowadzanie komórek, dzi ki czemu ułatwiony jest ich ruch po biomateriale na skutek reorganizacji cytoszkieletu [9].

Wykazano, e im bardziej zró nicowana mikrostruktura powierzchni tym wi ksza jest liczba zaadherowanych płytek krwi, wy sza ekspresja selektyny P i wi ksza liczba tzw. mikrocz stek uwalnianych z krwinek płytkowych [8, 10]. 1a). Larger microscopic magnifications show that platelets have long, numerous pseudopodia. Blood platelets adhere to a surface alone or form small groups consisting of 2-3 cells (FIG. 1b). Approximately there are 3,4 platelets on 1 mm^2 of a surface. And on NCD surface covering Ti6Al4V titanium alloy, after exposure to blood numerous platelets were observed distributed equally on the whole surface of samples. Sometimes leukocytes of 5 mm diameter were also visible (FIG. 1c). Platelets adhere alone and they have numerous, thin and long pseudopodia (FIG. 1d). It was calculated that for 1 mm^2 of surface of alloy covered with NDC approximately 2 platelets are adhered, which constitutes to app. 59% of the number of platelets observed on titanium alloy without NCD layer.

Contact of whole blood with surface of TiN and TiN+NCD

After exposure to whole blood numerous of leukocytes and small number of platelets were found on surface of titanium nitride (FIG. 2a). All the leukocytes have sperical shape and the same size - app. 5 mm diameter. Blood platelets are, however, heteromorphic and have different number of pseudopodia (FIG. 2b). Number of platelets for 100 mm² is 0.42. After titanium nitride was covered with NCD large number of leukocytes was found on the surface also, and they seem to be in tighter contact with the surface, because its observed formation of cytoplasmic processes by those cells. However, number of adhered platelets, decreases significantly, and for 100 mm² of surface there are app. 0.2, which constitutes 47% of the number of platelets observed on a surface of titanium nitride (FIG. 2c, d).

Discussion

First response of blood on contact with artificial surface is the deposition of plasma proteins, on implant surface. This causes adhesion and activation of blood platelets. Adhesion of blood platelets to many biomaterials is less comparing to the adhesion to basement membrane of vessels and to collagen. It has, however, significant an crucial for clot formation. At the same time adhesion of leukocytes and erythrocytes to foreign surface is observed [1]. Level of activation of platelets depends on a kind of deposited protein: fibrinogen activates platelets on the other hand, and albumines prevent it. Therefore, ratio of albumin to fibrinogen adsorbed on a biomaterial may be an indicator for its thrombocompatibility. The smaller the indicator, the largest number of adhered platelets is observed [2, 6, 7]. Activation of blood platelets may be assessed through the change of their shape, pseudopodia forming, chemical changes in cell membrane, induction of procoagulation activity, release of granules contents, initiation of aggregation and release of microparticles or small membrane vesicles from their surface [8].

It was found that materials of high roughness cause adherence and may induce contact direction of cells allowing them easier movement on biomaterial due to reorganisation of cytoskeleton [9]. Showed that the more differentiated microstructure of a surface, the largest number of adhered platelets, higher expression of P-selectine and larger number of micro-particles released from blood platelets [8, 10].

Titanium and its alloys have excellent osteointegrative properties comparing to the other materials. Mechanism of this phenomenon is not known. In phase just after implantation there is an intensive binding of blood platelets, larger than the one observed for other biomaterials, and their activation is much larger, what is reflected by levels of ß-

Tytan i jego stopy posiadaj znakomite wła ciwo ci osteointegracyjne w porównaniu z innymi biomateriałami. Mechanizm tego zjawiska jest nieznany. W fazie tu po implantacji nast puje intensywne wi zanie płytek krwi, wi ksze w porównaniu do innych biomateriałów a stan ich aktywacji znaczniejszy, co odzwierciedla si poziomem b-tromboglobuliny i Płytkopochodny Czynnik Wzrostu (PDGF). Białka a-granul płytek krwi, i PDGF s znanymi potencjalnymi promotorami osteogenezy, co sugeruje, e zdecydowane trombogeniczne cechy tytanu mog przyczynia si do dobrych wła ciwo ci osteointegracyjnych [11].

W organizmie białka odgrywaj wa n rol w modyfikowaniu i okre laniu fizycznych i chemicznych wła ciwo ci powstaj cych tkanek. Warstwa białek pokrywaj cych implant mo e by głównym czynnikiem determinuj cym biozgodno implantu (12). Dlatego te komórki osteogeniczne nie wchodz w interakcje z implantem ale ze zmodyfikowan przez krew powierzchni implantu (10, 13).

Istnieje wiele doniesie literaturowych, z których wynika, e warstwy w glowe zwi kszaj znacznie trombozgodno biomateriałów. Opisano w badaniach in vitro wzrost stosunku albumin do fibrynogenu na powierzchni DLC w porównaniu z powierzchni azotku w gla (CN) i polimetylometakrylanu (PMMA) (14). Badania morfometryczne Jonesa i wsp. wykazały, e warstwa DLC na tytanie, TiN iTiC powoduje zmniejszenie obszaru powierzchni tego biomateriału zaj tego przez płytki krwi (6, 7). Podobne efekty uzyskano nanosz c DLC na powierzchni stentów ze stali medycznej. Dodatkowo wykazano, e warstwa w glowa redukuje uwalnianie jonów ze stali, co zwi ksza jej biokompatybilno [15]. Pokrycie warstw NCD powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V i TiN w niniejszej pracy zredukowało znacznie trombogenno tych materiałów. Pozostaje wi c pytanie czy redukcja ta jest wystarczaj ca w zastosowaniach do kontaktu z krwi .

Pi miennictwo

[1] Głowi ski St. Biomateriały w kontakcie z krwi . W: Nał cz M.(red) Problemy Biocybernetyki i In ynierii Biomedycznej. T.4 Biomateriały, Wyd.Komunikacji i Ł czno ci, Warszawa 1990:133-197.

[2] Courtney J. M., Lamba L.M., Sundaram S., Forbes C.D. Biomaterials for blood contacting applications. Biomaterials 15,1994,737-744

[3] B kowicz K., Mitura S.: Biocompatibility of NCD. J Wide Band gap Mat. 9,2002,261-271.

[4] Mitura S., Niedzielski P., Jachowicz D., Langer M., Marciniak J., Stanishevsky A., Louda P., Tochisky E., Couvrat P., Denis m., Lourdin P.: Influence of carbon coatings origin on the properties for biomedical application. Diamond Relat. Mat. 5,1996,1185-1188.

[5] Mitura S., Mitura A., Niedzielski P., Couvrat P.: Nanocrystalline diamond coatings. In. S. Mitura (red.) Nanotechnology in Materials Science, Pergamon Press, Elsevier 2000,2165-2176.

[6] Jones M.I., McColl I.R., Grant D.M., Parker K.G., Parker T.L.: Haemocompatibility of DLC and TiC-TiN interlayers on titanium. Diam. Rel. Mat. 8,1999,457-462.

[7] Jones M.J., McCall J.R., Grant D.M., Parker K.G. Parker T.L.: Protein adsorption and platelet atachment and activation on TiN, TiC and DLC coating on titanium for cardiovascular applications. J Biomed. Mater. Res. 52, 2000, 413-431. thromboglobulin and Platelet Derived Growth Factor (PDGF). Proteins of a-granules of blood platelets and PDGF are known potential promoters of osteogenesis which suggests that decides about their thrombogenic features of titanium might contribute to good osteointegrative features [11].

In organism proteins play significant role in modification and defining physical and chemical properties of formed tissues. A layer of proteins covering an implant may by the main factor determining biocompatibility of the implant (12). That's why osteogenic cells do not interact with an implant but with a surface of implant modified by blood [10,13].

There are many scientific reports in literature suggesting that carbonic layers significantly increase thrombocompatibility of biomaterials. Increase of ratio of albumin to fibrinogen ratio in vitro on surface of DLC comparing to carbon nitride (CN) and polymethylmethacrylate (PMMA) was described (14). Morphometric studies of Jones et al. [6,7] showed that DLC layer on titanium, TiN and TiC causes decrease of surface of biomaterials occupied by blood platelets. Similar effects were obtained applying DLC on surface of stents of medical steel. Additionally it was showed that carbonic layer reduces release of ions from steel, and therefore increases biocompatibility [15].

Covering Ti6Al4V and TiN titanium alloys with NCD layer within this study significantly reduced thrombogenicity of those materials. So, a question remains if this reduction is sufficient for usage in exposure to blood.

Acknowledgements

This work was partially supported by the KBN grants no. 7T08D 036 21 and PBZ KBN 082/T08/13

References

[8] Park J.Y., Gemmel H., Davies J.E.: Platelets interactions with titanium: modulation of platelet acivity by surface topography. Biomaterials 20, 2001, 2671-2682.

[9] Czy J.: Zjawisko kontaktowego naprowadzania komórek. Post. Biol. Kom. 20(suppl), 1993,125-133.

[10] Eisenbarth E., Meyle J., Nachtingall W., Breme J.: Influence of the surface structure of titanium materials on the adhesion fibroblast. Biomaterials 17, 1996, 1399-1403.

[11] Hong J., Andersson J., Nilsson Ekdahl K., Elgue G., Axen N., Larsson R., Nilsson B.: Titanium is highly thrombogenic biomaterial: Possible implications for osteogenesis. Thromb. Homeost. 82, 1999, 58-64.

[12] Zeng H., Chttur K.K., Lacefield W.R.: Analysis of bovine serum albumin on calcium phosphate and titanium surfaces. Biomaterials 20, 1999, 377-384.

[13] Park J.Y., Davies J.E.: Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces. Clin. Oral Implant Res. 11, 2001, 530-539.

[14] Cui F.Z., Li D.J.: A review on investigations on biocompatibility of diamond-like carbon and carbon nitride films. Surf. Coat. Technol. 131, 2000, 4811-487.

[15] Gutenssohn K., Beythien C., Bau J., Fenner T., Grewe P., Koester R., Padmanaban K., Kuehnl P.: In vitro analyses of diamondlike coated stents: Reduction of metal ion release, platelet activation and thrombogenicity. Thromb. Res. 99, 2000, 577-585.

WPŁYW WARUNKÓW NANOSZENIA NA JAKO POWŁOK TLENKU TYTANU OTRZYWANYCH METOD ZOL- EL

LESZEK KLIMEK, BO ENA PIETRZYK

Instytut In ynierii MateriaŁowej Politechnika Łódzka, ul Stefanowskiego 1/15, 90-924 Łód

Streszczenie

W niniejszej pracy badano wpływ warunków nanoszenia na jako powłok tlenku tytanu TiO₂ otrzymywanych metod zol- el. Powłoki nanoszono na typowe materiały stosowane na endoprotezy jak stopy Ti, stopy Co, oraz na stal kwasoodporn . Parametrami podlegaj cymi ocenie były: skład zolu, ilo warstw wchodz cych w skład powłoki, oraz warunki suszenia i spiekania poszczególnych warstw (temperatura, czas). Ocen jako ci powłok przeprowadzano za pomoc mikroskopu skaningowego (SEM) i mikroanalizy rentgenowskiej (EDS).

Otrzymane wyniki pozwoliły na ustalenie optymalnego składu zolu, ilo ci warstw wchodz cych w skład powłoki oraz warunków obróbki cieplnej (suszenia i wypalania) powłok TiO₂.

Wst p

Materiały metalowe stosowane s na implanty od wielu lat, jednak ich tolerancja przez organizm ludzki nie jest zadowalaj ca. Prowadzonych jest wi c wiele bada maj cych na celu poprawienie tej wła ciwo ci. Mo na to osi gn przez nało enie na powierzchni metalow ró nego rodzaju powłok. Powłoki te mog poprawia pewne wła ciwo ci jak np. odporno korozyjn (powłoki Al₂O₃) [1, 2], lub nadawa zupełnie nowe wła ciwo ci jak np. bioaktywno poprzez mo liwo zwi zania implantu z ko ci . Ta ostatnia wła ciwo jest szczególnie interesuj ca. Wykazuj j materiały bioaktywne takie jak hydroksyapatyty i bioszkła i polega ona na zarodkowaniu i wzro cie struktur kostnych na powierzchni materiałów w rodowisku ywego organizmu, oraz w sztucznym osoczu krwi (SBF) [1, 3]. Tak e pewne grupy funkcyjne jak Ti-OH, Si-OH, Nb-OH, wykazuj podobne wła ciwo ci [4]. Tak wi c umieszczenie tych grup na powierzchni metalowego implantu powinno prowadzi do jego zwi zania z yw ko ci .

Powłoki TiO₂ otrzymywane metod zol- el i obrabiane cieplnie w niezbyt wysokich temperaturach (poni ej 800°C) powinny zawiera pewn ilo grup Ti-OH i stymulowa wzrost struktur kostnych. Ponadto metoda zol- el posiada szereg zalet jak relatywnie niski koszt wytwarzania powłok, mo liwo pokrywania do du ych powierzchni, łatwo pokrywania zarówno powierzchni płaskich jak osiowo symetrycznych oraz raczej niska temperatura procesu. Powłoki TiO₂ otrzymywane metod zol- el powoduj wzrost odporno ci korozyjnej metalowych implantów, a tak e nadaj ich powierzchni wła ciwo ci bioaktywne.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu składu zolu oraz warunków suszenia i wypalania naniesionych warstw na jako powłok tlenku tytanu otrzymywanych metod zol-

THE INFLUENCE OF DEPOSITION CONDITIONS ON QUALITY OF TiO₂ COATINGS DEPOSITED BY SOL-GEL METHOD

LESZEK KLIMEK, BO ENA PIETRZYK

INSTITUTE OF MATERIALS ENGINEERING, TECHNICAL UNIVERSITY OF ŁÓD , 90-924 ŁÓD , STEFANOWSKIEGO 1, POLAND

Abstract

In this paper the influence of deposition parameters on quality of sol-gel TiO₂ coatings was investigated. TiO₂ was coated on typical materials used for endoprosthesis like Ti- and Co alloy and on stainless steel. Evaluated parameters were: chemical composition of sol, number of layers forming the coatings, temperature and time of heat treatment (drying and sintering). Evaluating of coatings quality was made by scanning electron microscopy (SEM) observations and by X-ray microanalysis (EDS). Taken results allow to stipulate the optimal composition of sol, number of layers of coating and terms of heat treatment of TiO₂ coatings.

Introduction

Metals have been used for implants since many years, but their biotolerance is not quite satisfactory. So a lot of investigations are led for improving biotolerance of metal implants by coating of their surfaces by different materials. These coatings can improve such properties like corrosion resistivity (like Al_2O_3 coatings) [1, 2] or, can give quite new properties like bioactivity by making possible bonding of implant to bone. The last property is especially interesting. It is shown by bioactive materials like hydroxyapatite and bioglass and consist in nucleation and growth bonelike layer on their surfaces in the environment of living organism and in simulated body fluid (SBF) [1, 3]. Also some of the function groups as Ti-OH, Si-OH, Nb-OH show similar properties [4]. So that putting these groups on the metal implant surface should lead to its bonding to living bone.

 TiO_2 coatings deposited by sol-gel method and heat treated in the middle temperature (below 800°C) should include some quantity of Ti-OH groups and stimulate bonelike structure growth. The other advantages of sol-gel method are relatively low cost, possibility of coating relatively big surfaces, easiness of coating flat and axial symmetry surfaces. Besides technology of sol-gel coating is simply and progress in rather low temperature. TiO_2 sol-gel coatings improve corrosion resistance and made the surface of metal implants bioactive.

The aim of this work was to investigate the influence of some parameters like the chemical composition of sol and terms of drying and sintering on quality of TiO_2 coatings deposited by sol-gel method on some substrates used for endoprothesis and on stainless steel.

34

Podło e Substrate	Skład chemiczny Chemical composition
Stal kwasoodporna Stainless steel	Cr–18,6%; Ni–9,39%; Mn–1,23%; Si-0,63%; Mo–0,41%; Ti–0,32%; Cu–0,26%; S–0,061%; Fe–rest
Stop Co Co-alloy	Cr-33,30%; Mo-6,09%; Ni-1,12%; Si-1,07%; Fe-0,94%; Mn-0,65%; Cu-0,10%; S-0,35%; Co-rest
Stop Ti Ti-alloy	Al–7,00%; V–6,33%; Fe–0,33%; Si–0,14%; Cu–0,79%; S-0,028%; Ti–rest

TABELA 1. Skład chemiczny stopów u ytych jako podło a powłok TiO₂.

TABLE 1. Chemical composition of alloys used as substrates for TiO_2 coatings.

el na niektórych podło ach stosowanych jako materiały na endoprotezy i na stali kwasoodpornej.

Metody bada

Powłoki TiO₂ nanoszone były na stopy Ti i Co i na stal kwasoodporn . Skład chemiczny stopów pokazano w TA-BELI 1. Wszystkie podło a przygotowano poprzez szlifowanie papierem ciernym o gradacji 1000, nast pnie płukanie w wodzie destylowanej i odtłuszczanie acetonem w myjce ultrad wi kowej.

Powłoki TiO₂ wytwarzano metod zol- el. Jako prekursor zolu TiO₂ zastosowano Ti(O(CH₂)₃CH₃)₄ o czysto ci 97%. Sposób przygotowania zolu opracowano na podstawie literatury [5,6,7]. Pocz tkowo zol przygotowywano przez mieszanie prekursora z alkoholem etylowym (bezwodnym lub 96%), kwasem solnym i wod destylowan ([Ti]:[H₂O] = 1:2 i [Ti]:[H+] = 100:1) jednak elowanie tych zoli przebiegało bardzo szybko. Znaczna szybko elowania uniemo liwiała poprawne nanoszenie kolejnych warstw powłoki.

Ostatecznie w procesie przygotowywania zolu u ywano jedynie bezwodnego alkoholu etylowego i czynnik zakwaszaj cy (katalizator) zmieniono na kwas octowy. Stosunki molowe wynosiły [Ti]: $[H_2O] = 1:10$ i [Ti]:[H+] = 1:1. Zol był stabilny nawet przez kilka tygodni. Powłoki nakładano metod zanurzeniow . Ka da próbka po zanurzeniu w zolu pozostawała w nim przez około 2 min, a nast pnie była wyci gana ze stał pr dko ci 120 mm/min. Zakres zmian pozostałych parametrów wytwarzania powłok tzn. temperatury i czasu suszenia i wypalania, oraz liczby nakładanych warstw pokazano w TABELI 2. Morfologia i skład chemiczny powłok badano odpowiednio za pomoc scaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) Hitachi S3000N i mikroanalizy rentgenowskiej (EDS-Noran).

Wyniki i dyskusja

W wyniku bada mikroskopowych okre lono morfologi powłok. Badano ci gło , obecno p kni i innych wad powierzchni.

Mikroanaliza rentgenowska potwierdziła skład chemiczny powłok. Spektrogramy EDS podło a ze stopu kobaltu, czystego i z powłok TiO₂ pokazano odpowiednio na RYS. 1 i RYS. 2.

Jednym z najwa niejszych parametrów nakładania powłok TiO₂ metod zol- el okazała si liczba nakładanych warstw, z której wynika grubo pokrycia. Grubo pojedynczej warstwy oszacowano na około 100 nm. Je eli powłoka składa si z jednej warstwy miejscami obserwuje si jej nieci gło ci. Przy liczbie nakładanych warstw wy szej ni cztery pojawiaj si p kni cia powłoki (RYS. 3a), za

Experimental

The TiO_2 coatings were deposited on Ti- and Co- alloy and on stainless steel. Composition of alloys are shown in TABLE 1. All substrates were prepared by grinding with abrasive paper #1000, rinsing with distilled water and degreasing with acetone in an ultrasonic washer.

The film of TiO₂ were prepared by sol-gel method. As the precursor of TiO₂ sol titanium(IV)butoxide Ti[O(CH₂)₃CH₃]₄ (97% pure) was used. The way of preparing of sol was first established on the base of the literature [5,6,7]. The sol was prepared by mixing the precursor with anhydrous or 96% ethanol (C₂H₅OH), hydrochloride acid and distilled water ([Ti]:[H₂O] = 1:2 and [Ti]:[H+] = 100:1), but gelation of these soles progressed very quickly. It made impossible correct deposition of successive layers.

As a revision of procedure finally only anhydrous ethanol was used, and souring agent (catalyst) was changed into acetic acid. The mole ratios were established on [Ti]:[H₂O] = 1:10 and [Ti]:[CH₃COOH] = 1:1. This sol was stable even for a few weeks.

Each samples was dipped into sol for approximately 2 min, then removed with the constant rate of 120 mm/min. The others parameters like temperature and time of drying, firing and number of layers were changed as shown in TABLE 2. By selecting of parameter the number of different versions of processes were chosen.

The morphology and chemical composition of coatings were examined with scanning electron microscope (SEM) Hitachi S3000N and X-ray microanalysis (EDS-Noran), respectively.

Results and discussion

As a result of microscopic examination the morphology of coatings was determined. The continuity, cracks and other surface defects were examined.

EDS analysis confirmed chemical composition of coatings. The EDS spectrogram of Co-alloy sample without and with TiO_2 coating are presented in FIG. 1 and FIG. 2, respectively.

One of the most important parameter of deposition TiO_2 sol-gel coating proved to be number of layers that was connected with thickness of coating. The thickness of single layer was estimated on about 100 nm. When the coating consist of single layer the coating was too thin and shown any discontinuity. For number of layer more then four the cracks appeared (FIG. 3a) and for the thickest (ten layers) also partly delamination (FIG. 3b). The best quality had three layers coatings. They are continuous and smooth (FIG. 3c).

The drying led to good quality of coatings when progressed in room temperature in time longer then 20 minutes. In higher temperature of drying coatings cracked easily because of closing particles of solvent under hard surface of coatings.

The best quality after firing process showed coatings heat treated in 820 K and 1020 K. The TiO_2 coatings firing in higher temperature seemed to be non-homogenous.

Any significant influence of metal substrate on the quality of TiO_2 coating was not observed.

Concluding remarks

It is possible to prepare good quality TiO_2 coatings from $Ti[O(CH_2)_3CH_3]_4$ sol. All investigated factors like: number



Licz Numb	ba warstw ber of layers	1, 3, 5, 7, 10
Suszenie	Czas Time [min]	10, 20, 60
Drying	Temperatura Temperature [K]	295. 500
Czas Wypalani Time [min]		10, 30, 120
Firing	Temperatura Temperature [K]	820, 1020, 1120

 TABELA 2. Warto ci parametrów procesu

 wytwarzania powłok.

TABLE 2. Value of parameters of sol - gel process.

dla najgrubszych powłok (dziesi warstw), tak e cz ciowe odwarstwienia (RYS. 3b). Najlepsz jako wykazywały powłoki składaj ce si z trzech warstw. Były one ci głe i gładkie (RYS. 3c).

Suszenie prowadziło do otrzymania powłok dobrej jako ci, je eli przebiegało w temperaturze pokojowej w czasie dłu szym ni 20 min. Powłoki suszone w wy szej temperaturze łatwo p kały z powodu nierównomiernej zmiany obj to ci powodowanej "zamykaniem" cz steczek rozpuszczalnika pod tward warstw powierzchniow .

Najlepsz jako po procesie wypalania wykazywały po-







RYS. 2. Spektrogram stopu Co z powłok TiO_2 nało on metod zol- el. FIG. 2. EDS spectrogram of Co-alloy with TiO_2 solgel coating.



RYS. 3. Obrazy SEM dla a) 5, b) 10, c) 3 warstwowej powłoki TiO₂ otrzymanej metod zol- el. FIG. 3. SEM image of: a) 5, b) 10, c) 3 layers TiO₂ sol-gel coating.

włoki wygrzewane w temperaturze 820K i 1020K. Powłoki TiO_2 wygrzewane w wy szej temperaturze były niejedno-rodne.

Nie zaobserwowano istotnego wpływu rodzaju metalowego podło a na jako wytwarzanych powłok.

Podsumowanie

Mo liwe jest wytwarzanie dobrej jako ci powłok TiO₂ z zolu otrzymanego z Ti[O(CH₂)₃CH₃]₄. Wszystkie badane czynniki tzn. liczba warstw tworz cych powłok (grubo powłoki), temperatura i czas suszenia oraz temperatura i czas wypalania maj wpływ na jako powłoki. Opracowano najkorzystniejsze warunki wytwarzania powłok : - nakładanie powłoki trzywarstwowej

- suszenie ka dej warstwy w temperaturze pokojowej (co najmniej 20 min)

 wygrzewanie pierwszych dwóch warstw przez 10 min w temperaturze 820K, i pełnej powłoki (3-warstwowej) przez 30 min w 820K lub 1020K of layers of coating, temperature and time of drying and temperature and time of firing, have influence on quality of coatings. The best condition of preparing coatings was work out:

- three layers of coating

- room temperature of drying (minimum 20 min)

- firing 10 min in 820K for first two layers, and 30 min in 820 K or 1020 K for complete coating (3 layers)

Pi miennictwo References

[1] Marciniak J.: "Biomateriały w chirurgii kostnej" Wydawnictwo Politechniki I skiej Gliwice 1992.

[2] Głuszek J.; "Tlenkowe powłoki ochronne otrzymywane metod sol-gel" Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 1998.

[3] Neo M., Kotani S., Nakamura T., Yamamuro T., Ohtsuki C., Kokudo T., Bando Y.; J. Biomed. Mater. Res. 26 (1992) p. 1419,
[4] Miyazaki T., Kim H. M., Kokubo T., Kato H., Nakamura N., Ohtsuki C.; "Bonelike apatite formation on niobum oxide gel in simulated body fluid" Bioceramics 13 (2001) p. 43-46.

[5] L.Hu, T.Yoko, H.Kozuka, S. Saka, "Effect of solvent on properties of sol-gel derived TiO₂ coating films" Thin Solid Films 219, (1992), 18.

[6] Pivetau L., Gasser B., Schlapbach L.; "Evaluating mechanical adhesion of sol-gel titanium dioxide coatings containing calcium phosphate for metal implant application" Biomaterials 21 (2000), s. 2193-2201.

[7] Schmidt H. "Chemistry of material preparation by the sol-gel process", J. Non-Cryst. Solids, 1986, 82, 37-41.

.

••••••••• CHEMICZNA MODYFIKACJA POWIERZCHNI PROSZKU DIAMENTOWEGO

PIREK M.*, OKRÓJ W*, PRZYBYSZEWSKA I.*, JAKUBOWSKI W.*, WALKOWIAK B.**

*Instytut In ynierii MateriaŁowej, Politechnika Łódzka, Łód **Zakład Biofizyki Molekularnej i Medycznej, Uniwersytet Medyczny, Łód

Streszczenie

Ze wzgl du na unikalne wła ciwo ci fizyko-chemiczne, warstwy krystalicznego w gla znajduj szerokie zastosowanie w ró nych dziedzinach. Wysoka biozgodno umo liwia zastosowanie tych warstw do pokrywania implantów medycznych. Dlatego te istnieje obecnie du e zainteresowanie rozwojem metod modyfikacji powierzchni diamentowych. Pozwalai one na formowanie powłok o nowych wła ciwociach. W poni szych badaniach przedstawiono prób modyfikacji proszku diamentowego (DPP - Diamond Powder Particles) polegaj c na wytworzeniu na ich powierzchni grup karboksylowych. W badaniach u yto proszków diamentowych, wytworzonych metod RF PCVD (Radio Fregency Plasma Chemical Vapour Deposition). Proces modyfikacji polegał na reakcji DPP z dwoma silnymi utleniaczami: H₂SO₄ i NaClO₃ w atmosferze argonu. Do charakterystyki proszku u yto skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) i spektroskopu podczerwieni (FTIR).

Wst p

Diament jest materiałem posiadaj cym zarówno specyficzne wła ciwo ci fizyko-chemiczne - szerok przerw energetyczn , wysoki stopie twardo ci, odporno termiczn , przezroczysto w zakresie widzialnym i podczerwieni oraz chemiczn oboj tno [1], jak i unikalne wła ciwo ci decyduj ce o jego dobrej biozgodno ci z tkankami [2-6]. Wszystko to sprawia, e diament jest bardzo u ytecznym i obiecuj cym materiałem dla zastosowa w przemy le i w medycynie [1, 3].

Wykorzystanie naturalnego diamentu jest znacznie ograniczone ze wzgl du na jego wysok cen . Z tego powodu w ostatnich dekadach powstało kilka technik wytwarzania syntetycznego diamentu [1]. Szczególnie du e mo liwo ci aplikacyjne dało wytworzenie diamentu w postaci warstw DLC (diamond-like carbon) i NCD (nanocrystalline diamond) [5, 6].

Nowy rozdział zastosowa otwiera si przed diamentem poddanym procesom modyfikacji. Jak wiadomo organiczne grupy funkcyjne mog by u yteczne do: tworzenia wi za kowalencyjnych, immobilizacji biologicznie czynnych cz steczek organicznych, rozpoznawania cz steczek i innych zastosowa . Kontrolowana modyfikacja polegaj ca na wytworzeniu grup funkcyjnych na powierzchni warstw diamentowych, prowadzi do powstania nowego materiału, posiadaj cego fizyczne cechy diamentu i chemiczne wła-

CHEMICAL SURFACE MODIFICATION OF DIAMOND POWDER PARTICLES

Pirek M.*, Okrój W*, Przybyszewska I.*, Jakubowski W.*, Walkowiak B.**

*Institute of Material Science and Engineering, Technical University of Lodz, Poland **Department of Molecular and Medical Biophysics, Medical University of Lodz, Poland

Abstract

In view of the uniqe physico-chemical properties, the crystalline carbon layers are a very attractive materials for different applications. The high biocompatibility enables to use these layers in medicine as a surface which coat implants. That's why a development of surface modifications' methods arouses currently a great interest. These diamond surfaces allow to make a coatings, which possess a new properties. In this study, we attempt to chemical modification of diamond powder particles (DPP) in order to produce carboxylic groups at the surface. In the investigations we used DPP, witch were synthetised by Radio Frequency Chemical Vapour Deposition. The modification consist in reaction of DPP with two strong oxigenators: sulphuric acid and sodium chlorate in atmosphere of argon. Scanning Electron Microscopy and FT-IR were used to characterize the surface of the diamond powder.

Introduction

Diamond is a material which possess both specific physico-chemical properties - large band gap, high hardness, thermal resistance, transparency over a large wavwlength region, chemical inertness [1] and uniqe properties which decide on a good biocompatibility with tissues [2-6]. These features make that diamond is one of the most useful and promising material for industrial and medical applications [1, 3].

The use of natural diamond is significantly restricted because of its high price. Therefore, during a few last decades, some methods of synthetic diamond's manufacturing were developed [1]. Especially great possibilities of applications gave diamond in a form of diamond-like carbon (DLC) and nanocrystalline diamond layers [5, 6].

A new part of applications opens up a modified diamond. It is known that most organic functional groups can be useful in: formation of covalent bonding, immobilization of biological active organic molecules, molecular recognition and The others applications. Thanks to the controllably modification diamond surface by using organic functional groups, as new material's production, is possible. This material possess the phisical fatures of diamond and chemical properties of attached functional groups.

For the sake of its properties, diamond seems to be resistant to chemical reagents effect. However, recently it was reported about successful attempt of chemical modifications of diamond surface. The starting point for all of chemi-
ciwo ci przył czonych grup funkcyjnych.

Ze wzgl du na swoje wła ciwo ci, diament wydaje si by odporny na działanie czynników chemicznych. Jednak w ostatnich latach pojawiły si doniesienia o udanych próbach chemicznej modyfikacji powierzchni diamentowych. Punktem wyj cia wszystkich modyfikacji chemicznych było uwodornienie powierzchni diamentu poprzez termiczn reakcj z gazowym H₂ [7-10]. Utlenianie powierzchni przeprowadzano głównie dwiema metodami polegaj cymi na termicznej reakcji z H₂O lub poprzez reakcj w fazie ciekłej z silnymi kwasami nieorganicznymi [7, 8, 11-13, 16]. Ando i współpracownicy [7, 8] badali mo liwo pokrycia powierzchni uwdornionego diamentu atomami chloru lub fluoru, poprzez reakcj z gazami Cl₂ lub F₂ w wysokich temperaturach. Natomiast Ikeda I wsp. [9] oraz Tsubota i wsp. [14, 15] opisali proces wysycania powierzchni diamentu jonami chloru, gdzie ródłem chloru był ciekły chloroform (CHCl₃). Miller i wsp. [17] przedstawili fotochemiczny proces modyfikacji powierzchni diamentowej przy u yciu gazowego Cl₂ i H₂S.

W niniejszej pracy przedstawiono wst pne wyniki chemicznej modyfikacji powierzchni diamentowej polegaj cej na wytworzeniu na niej grup karboksylowych.

Cz eksperymentalna

Do bada wykorzystano proszki diamentowe wytworzone metod niskoci nieniowej plazmy CH₄, wzbudzanej polem elektromagnetycznym wysokiej cz stotliwo ci (RF PCVD) [18]. Parametry procesu wytwarzania DPP przed-

Parametry Parameters	
Gaz Gas	Metan Methane
Ci nienie Pressure	12-15 Pa
Generator RF RF generator	27,12 MHz
Napi cie autopolaryzacji elektrody Bias voltage	450-600 V

TABELA 1. Główne parametry procesu wytwarzania DPP metod RF PCVD. TABLE 1. The main parameters of DPP production process.

stawia TABELA 1.

W celu modyfikacji DPP był zawieszany w st onym kwasie siarkowym. Podczas ci głego mieszania, w atmosferze argonu, porcjami dodawano chloran sodu (NaClO₃). Reakcja odbywała si w temperaturze pokojowej przez 8, 16 lub 24 godziny. Nast pnie proszek był pró niowo filtrowany i przemywany wod dejonizowan a do momentu, kiedy woda nie zmieniała warto ci pH. W ostatnim etapie proszek był suszony w temperaturze 100°C przez 24 godz. [19]. Przył czanie białka na powierzchni proszku odbywało si poprzez 12 godzinn inkubacj 5% albuminy wołowej (BSA) z równymi odwa kami proszku diamentowego przed i po modyfikacji. Po zwirowaniu i zebraniu supernatantu, spektrofotometryczne mierzono st enie białka.

Wyniki i dyskusja

Ocen makroskopow DPP przeprowadzono za pomoc skaningowego mikroskopu elektronowego. Wykonane cal modifications was a thermal reaction with a pure gaseous hydrogen [7-10]. Surface oxidation was carried out by two methods: thermal reaction of diamond surface with H₂O or reaction with two strong inorganic acids in liquid phase [7, 8-11-13,16]. Ando at el. [7, 8] prepared diamond which was chlorinated or fluorinated with Cl₂ or F₂ in gas phase by heat treatment. Whereas Ikeda et al. [9] and Tsubota et al. [14,15] described a chlorination proces of diamond surface, where the source of chlorine was liquid chloroform (CHCl₃). Miller et al. [17] attempted photochemical chlornation of a hydrogenated diamond surface using Cl₂ and H₂S in gas phase.

In this paper are reported the preliminary results of chemical modifications of diamond surface which consists in the producing of carboxylic groups.

Experimental part

Diamond powders which were used in investigations were manufactured by Radio Frequency Plasma Chemical Deposition method, which consists in excite a plasma in methane in RF electric field at a relatively low gas pressure [18]. The main parameters of manufacturing process of diamond powder presents TABLE 1.

In order to do modification, DPP were suspended in concentrated sulphuric acid (H_2SO_4). During a continuous starring and slow flow of argon at the room temperature, so-dium chlorate (NaClO₃) was being added in portions for 8, 16 or 24 hours. Next, powder were vacuum-filtered and washed with deionised water until it did not change pH. Finally the treated powder were being dried at the temperature 100°C for 24 hours [19]. The attachement of proteins was carried out in 12 hourlong incubation of 5% Bovine Serum Albumin (BSA) with the equal amount of DPP before and DPP after modification. After centrifuging and collecting of the supernatant the concentration of the protein was spectrofothometrical measured.

Results and discussion

Macroscopic estimation of DPP was carried out by Scanning Electron Microscope.

Photos, which were made, show any changes on the surface of DPP.

In order to estimate the amount of oxygen on DPP surface, X-ray chemical microanalysis was performed. In the figure 2 is presented an increase of oxygen on the surface of three different modificated diamond powders. The quantity of O_2 on the diamond surface increases along with the duration of modification process. The best result of oxygenation is visible after 24 hours of modification.

All samples of DPP, both before and after modification, were examined by FTIR. The maximums of absorption in IR spectrum respond to bonds, which are between atoms. In the case of all samples, the quantity of individual bonds C-O and C=O was increasing along with the duration of chemical reaction.

Intensity of peaks which respond to C=O bonds, 1736 cm⁻¹, is rather low (FIG. 3, curve c), even after 24 hours of modification (FIG. 3, curve b). The peaks of C-O bonds (1110 cm⁻¹) are much more clear. It means that IR spectrums confirm the presence of carboxylic groups on the surface of DPP. The increase of amount of O-H bonds is clear in an area of 1620-1600 cm⁻¹, what can be caused by increase of carboxylic groups. The another source of O-H bonds can be KBr hygroscopic, which was used to sample preparing and also the surface of diamond, which, for the

BICMATERIALOW

zdj cia pokazuj brak jakichkolwiek zmian na powierzchni cz stek diamentowych (RYS. 1).



RYS. 1. Obraz powierzchni DPP w mikroskopie skaningowym: a) DPP przed modyfikacj, b) DPP po 24 godzinach procesu modyfikacji. FIG. 1. Photos of DPP surface carried out by using SEM: a) DPP before modification, b) after 24 hours of modification.

Aby oceni ilo tlenu na powierzchni DPP wykonano mikroanaliz rentgenowsk składu chemicznego. Na RY-SUNKU 2 przedstawiono wzrost zawarto ci tlenu na powierzchni trzech modyfikowanych proszków. Ilo tlenu na powierzchni diamentowej wzrastała wraz z czasem trwania procesu modyfikacji. Jednak najbardziej wyra ny rezultat utleniania powierzchni uzyskano dopiero po 24 godzinach trwania procesu.

Wszystkie próbki DPP, zarówno przed jak i po modyfikacji, poddano badaniom z zastosowaniem w spektroskopu podczerwieni. Maksima absorpcyjne w widmie IR odpowiadaj wi zaniom wyst puj cym pomi dzy atomami. W przypadku wszystkich próbek ilo poszczególnych wi za C-O i C=O rosła wraz z czasem trwania reakcji chemicznej.

Intensywno maksimów odpowiadaj cych C=O, 1736 cm⁻¹, jest niewielka (RYS. 3, krzywa c), nawet po 24 godzinach procesu modyfikacji (RYS. 3, krzywa b). Znacznie wyra niejsze s szczyty odpowiadaj ce wi zaniom C-O przypadaj ce na 1110 cm⁻¹. Tak wi c widma IR potwierdzaj obecno grup karboksylowych na powierzchni DPP. Widoczny jest wyra ny wzrost wi za O-H w obszarze 1620-1600 cm⁻¹. Mo e by on spowodowany wzrostem iloci grup karboksylowych. Innym ródłem wi za O-H mo e by higroskopijno KBr, stosowanego do przygotowania próbki, jak równie sama powierzchnia diamentu, która ze wzgl du na obecno tlenu jest hydrofilowa i mo e przyci ga cz steczki wody.

funkcjonalnie sprawnych grup karboksylo-Obecno wych była potwierdzona przez immobilizacj BSA do zmodyfikowanej powierzchni proszku diamentowego. Na RY-SUNKU 5 przedstawiono zmniejszaj c si koncentracj BSA w supernatancie po 12 godzinnym kontakcie zmodyfikowanego proszku z roztworem białka.

Zmniejszaj ce si st enie BSA w supernatancie oznacza wzrost ilo ci immobilizowanych cz steczek BSA na powierzchni zmodyfikowanego DPP. Niemodyfikowane cz stki diamentowe nie wi zały białka na co wskazuje nie zmieniaj ce si st enie białka.

Wnioski

Rentgenowska mikroanaliza chemiczna oraz widma FTIR potwierdzaj obecno funkcjonalnych grup karboksylowych na powierzchni DPP. llo wykrytych grup funkcyjnych zale y od czasu trwania reakcji chemicznej a maksimum osi ga po 24 godzinach procesu modyfikacji. Obecfunkcjonalnie aktywnych grup karboksylowych na no zmodyfikowanym proszku została potwierdzona prostym



RYS. 2. Zawarto tlenu na powierzchni DPP przed i po modyfikacji. FIG. 2. The amount of O, on the surface of DPP before and after modification.



RYS. 3. Widma FTIR proszku diamentowego: a) przed modyfikacj , b) po 8 godz. modyfikacji, c) po 16 godz. modyfikacji. FIG. 3. IR spectrum of DPP: a) before modification, b) after 8 hours of modification, c) after 16 hours of modification.

sake of oxygen presence, is hydrophilic and can attract molecules of water.

The presence of functional efficient carboxilic groups was confirmed by immobilization of BSA onto modified surface of DPP. FIGURE 5 shows decreasing concentration of BSA after 12 hourlong contact of modified DPP with solution of protein.

Decreasing concentration of BSA in supernatant indicates increase of an amount of the immobilizated molecules of BSA onto the modified surface of DPP. Unmodified diamond particles did not bind a protein at what points a changing concentration of the protein.

Conclusions

The results confirm possibility of chemical modification of diamond surface. X-ray microanalysis points at rising amount of oxygen onto the powder surface after process of modification. The amount of oxygen depend on duration of chemical reaction. The best results were obtained after 24 hour-long process of chemical modification. IR spectrums confirm the presence of carboxylic groups onto the





RYS. 4. Widma FTIR proszku diamentowego: a) przed modyfikacj, b) po 24 godz. modyfikacji. FIG. 4. IR spectrum of DPP: a) before modification, b) after 24 hours of modification.



RYS. 5. St enie BSA po 12 godzinnym kontakcie z proszkiem przed i po modyfikacji. FIG. 5. Concentration of BSA after 12 hourlong contact with DPP before and after modification.

testem immobilizacji białka do powierzchni DPP.

Podzi kowania

Praca finansowana przez KBN - projekt badawczy nr 4T08D 01325 oraz PBZ KBN 082/T08/13 diamond powder surface. The presence of functional efficient carboxilic groups onto the modified powder was confirmed by a simple test of protein's immobilization into the surface.

Acknowledgements

Financial support from the State Committee for Scientific Research (KBN) under the research grant No 4T08D 01325 and 7T08D 03621.

Pi miennictwo References

[1] J. Robertson, Mater. Sci. Eng.R. 37 (2002) 129-281.

[2] L. Tang, C. Tsai, W.W. Gerberich, L. Kruckeberg and D.R. Kania, Biomaterials 16 (1995) 483-488.

[3] R. Hauert, Diamond Relat. Mater. 12 (2003) 583-589.

[4] S.E. Rodil, R. Olivares, H. Arzate, S. Muhl, Diamond Relat. Mater. 12 (2003) 931-937.

[5] S. Mitura, A. Mitura, P. Niedzielski and P. Couvrat, Chaos, Solitions & Fractals 12 (1999) 2165-2176.

[6] B. Walkowiak, V. Kochma ska, W. Jakubowski, W. Okrój, V. Króliczak, J. Wide Bandgap Mat., 4 (2002), 231-242.

[7] T. Ando, M. Nishitani-Gamo, R.E. Rawles, K. Yamamoto, M. Kamo, Y. Sato, Diamond Relat. Mater.5 (1996) 1136-1142.

[8] T. Ando, K. Yamamoto, M. Matsuzawa, Y. Takamatsu, S.Kawasaki, F. Okino, H. Touhara, M. Kamo, Y. Sato, Diamond Relat. Mater.5 (1996) 1021-1025.

[9] Y. Ikeda, T. Saito, K. Kusakabe, S. Morooka, H. Maeda, Y. Taniguchi, Y. Fuijawa, Diamond Relat. Mater.7 (1998) 830-834.
[10] T. Tsubota, K. Urabe, S. Egawa, H. Takagi, K. Kusakabe, S. Morooka, H. Maeda, Diamond Relat. Mater. 9 (2000)219-223.

[11] S. Ida, T. Tsubota, O. Hirabayashi, M. Nagata, Y. Matsumoto, A. Fujishima, T. Tsubota, O. Hirabayashi, S. Ida, S. Nagaoka, M. Nagata, Y. Matsumoto, Phys. Chem. Chem. Phys. 4 (2002) 806-811.

[12] T. Tsubota, O. Hirabayashi, S. Ida, S. Nagaoka, M. Nagata,Y. Matsumoto, Phys. Chem. Chem. Phys. 4 (2002) 806-811.

[13] T. Tsubota, S. Ida, O. Hirabayashi,S. Nagaoka, M. Nagata, Y. Matsumoto, Phys. Chem. Chem. Phys. 4 (2002) 3881-3886.

[14] T. Tsubota, S. Tanii, S. Ida, M. Nagata, Y. Matsumoto, Phys. Chem. Chem. Phys. 5 (2003) 1474-1480.

[15] T. Tsubota, Ó. Hirabayashi, S. Ida, S. Nagaoka, M. Nagata, Y. Matsumoto, Diamond Relat. Mater.11 (2002) 1374-1378.

[16] K. Ushizawa, Y. Sato, T. Mitsumori, T. Machinami, T. Ueda, T. Ando, Chem Phys. Lett. 351 (2002) 105-108.

[17] J.B. Miller, Surf. Sci. 439 (1999) 21-33.

[18] S. Mitura, E. Mitura, A. Mitura, Diamond Relat. Mater. 4 (1995) 302-303.

[19] L. Dong, A.B. Fisher, M. Lu and M.T.Martin, J. Mol. Recogn.9 (1996) 383-388.

.

⁴ ⁰ ELEKTROCHEMICZNE BADANIA KOROZJI BIOMATERIAŁÓW

BARBARA PLASKOTA, TADEUSZ BŁASZCZYK, ANDRZEJ LENIART HENRYK SCHOLL

Katedra Chemii Ogólnej i Nieorganicznej, Wydział Fizyki i Chemii, Uniwersytet Łódzki ul. Narutowicza 68, 90-136 Łód , Polska

Streszczenie

W ostatnich latach, tematyka biomateriałów i materiałów implantowych cieszy si ogromnym zainteresowaniem wielu naukowców. Biomateriały to substancje, które z du ym powodzeniem s stosowane do odbudowywania ubytków organizmu ludzkiego [1]. Problem biotolerancji tych materiałów cz sto sprowadza si do ich odporno ci korozyjnej w rodowisku płynów i tkanek ustroju ludzkiego [2]. Odporno ta uwarunkowana jest przede wszystkim elektrochemiczn natur korozji - szczególnie w przypadku implantów z metali, stopów, ceramiki i kompozytów. Badania wła ciwo ci korozyjnych wymienionych materiałów mo na prowadzi przez zastosowanie ró norodnych elektrochemicznych technik pomiarowych [3, 4]. W pracy przedstawiono podstawy szeregu elektrochemicznych metod badawczych stosowanych w korozji biomateriałów. Niektóre z tych metod zostały zilustrowane wynikami uzyskanymi w roztworach wodnych dla tytanu i tytanu z warstw nanokrystalicznego diamentu (NCD) [5].

Słowa kluczowe: metody elektrochemiczne; korozja biomateriałów; parametry korozyjne; tytan; nanokrystaliczny diament (NCD)

Wst p

Metody elektrochemiczne, które zostan przedstawione w dalszej cz ci artykułu, s szeroko stosowane do bada korozyjnych [3, 4]. Specyfika bada elektrochemicznych w zastosowaniu do biomateriałów zwi zana jest w szczególno ci z typem materiału, rodowiskiem pomiarowym i wpływem dodatkowych efektów [1].

Ludzkie płyny i tkanki ustrojowe s ekstremalnie wyj tkowymi rodowiskami dla biomateriałów, które z definicji wchodz we wzajemny kontakt. W tych rodowiskach biomateriały nara one s na trzy główne grupy czynników korozyjnych: obecno ró nych jonów [3, 6], zwłaszcza Cl-, ró nice potencjałów powoduj ce powstawanie lokalnych ognisk korozyjnych oraz dodatkowe efekty (tarciowe, zm czeniowe, zu ycie materiału), które powoduj wzrost szybko ci korozji [3].

Elektrochemiczne badania korozji mog by prowadzone przy u yciu pomiarów krótkoczasowych i długoczasowych [7]. Oba te typy bada wykorzystuj klasyczne metody elektrochemiczne (potencjostatyczne, galwanostatyczne, kulostatyczne) oraz nowe metody, takie jak elektrochemiczna skaningowa mikroskopia tunelowa czy elektrochemiczna mikroskopia sił atomowych. Jako roztwory do bada korozyjnych stosowane s roztwory proste [3,8] (NaCl, KCl, HCl, H₂SO₄, itp.) oraz roztwory modeluj ce rodowisko fizjologiczne (Tyrode'a, Hank'a, Ringer'a, itp.).

ELECTROCHEMICAL INVESTIGATIONS OF BIOMATERIALS' CORROSION

BARBARA PLASKOTA, TADEUSZ BŁASZCZYK, ANDRZEJ LENIART HENRYK SCHOLL

DEPARTMENT OF GENERAL AND INORGANIC CHEMISTRY, FACULTY OF PHYSICS AND CHEMISTRY, UNIVERSITY OF LODZ, NARUTOWICZA STR. 68, 90-136 LODZ, POLAND

Abstract

During the recent years implantable biomaterials have drawn great interest of numerous researchers throughout the world. Biomaterials have been used with success as repair materials helping to restore deficient human nature [1]. Biotolerance of these materials is often joined with corrosion resistance in human fluids and tissues [2]. Processes of corrosion resistance with respect to metals, alloys, ceramics and composite materials have electrochemical nature. Investigating the nature of corrosion processes may be accomplished by means of different electrochemical methods [3, 4]. This study presents basics of many electrochemical methods used to explore corrosion of biomaterials. Some of these methods are illustrated by examples of results obtained during investigating of Titanium and Titanium with Nanocrystalline Diamond (NCD) [5] in aqueous media.

Keywords: electrochemical methods; biomaterials corrosion; corrosion parameters; titanium; Nanocrystalline Diamond (NCD)

Introduction

Electrochemical methods, presented hereunder, are commonly used for wide-ranging corrosion investigations [3, 4]. Peculiarity of electrochemical investigations in the application of the process of biomaterials' corrosion relates in particular to the material type, research media and additional effects [1].

Human systemic fluids and tissues are extremely exceptional media for biomaterials, which per definition come into direct contact with them. There are three main groups of corrosion agents reacting with biomaterials: presence of different ions [3, 6] - especially Cl⁻, potential differences - originating local corrosion centers and additional effects (frictional, fatigue and fretting effects), which cause an increase of corrosion rate [3].

Corrosion investigations of biomaterials incorporate two types of investigations: "quick" and "longtime" [7]. Both types employ not only classical electrochemical methods (potentiostatic, galvanostatic, coulostatic) but new methods (e.g. electrochemical scanning tunneling microscopy and electrochemical atomic force microscopy) as well. In biomaterials' corrosion investigations both simple solutions [3,8] (NaCl, KCl, HCl, H_2SO_4 etc.) and modeling physiologic solutions (Tyrode's, Hank's, Ringer's etc.) are used as research media.

Elektrochemiczne badania korozji daj podstawowe informacje o biotolerancji i biokompatybilno ci badanego materiału. Z drugiej strony, na podstawie tych pomiarów mo na okre li typ zachodz cej korozji (ogólna czy lokalna) i wyznaczy podstawowe parametry charakteryzuj ce proces korozji [1, 3] (np. potencjał korozyjny, pr d korozyjny, szybko korozji, potencjał przebicia, potencjał repasywacji). Badania te pozwalaj te stworzy teoretyczny model opisuj cy procesy korozyjne.

Metody i przykłady ich zastosowa

Poni ej przedstawione s zasady najwa niejszych metod elektrochemicznych stosowanych w badaniach korozji biomateriałów: OCP, pomiary woltamperometryczne, metoda Sterna-Geary'ego, metoda krzywych Tafela, wyznaczanie potencjałów i napi przebicia oraz repasywacji, EIS, ECSTM, ECAFM, EQCM, SECM oraz LEIS. Niektóre z tych metod zostały zilustrowane wynikami uzyskanymi w roztworach wodnych dla Ti i Ti z warstw nanokrystalicznego diamentu (NCD) [5].

Pomiar potencjału w otwartej p tli (OCP) [7]

Metoda pomiaru potencjału w otwartej p tli potencjostatu (OCP) polega na pomiarze, w warunkach bezpr dowych, warto ci potencjału pomi dzy elektrod robocz a elektrod odniesienia. Potencjał OCP jest zwi zany z reakcjami redox zachodz cymi na elektrodzie roboczej (próbce) b d cej w kontakcie z roztworem. W przypadku biomateriałów reakcje te zwi zane s z procesami korozyjnymi. Ustalona warto potencjału definiowana jest jako potencjał korozyjny E_{corr} , który jest jednym z najwa niejszych parametrów korozyjnych.

Pomiary woltamperometryczne [3, 4, 7, 9]

Typowe charakterystyki woltamperometryczne pokazuj zale no pr du płyn cego przez elektrod w funkcji przykładanego potencjału wzgl dem elektrody odniesienia. Na podstawie uzyskanych charakterystyk mo liwa jest identyfikacja procesów zachodz cych na elektrodzie b d cej w kontakcie z roztworem. Do grupy metod woltamperometrycznych zalicza si ró ne techniki pomiarowe: charakterystyki quasi-statyczne i potencjodynamiczne, metod Sterna-Geary'ego oraz metod krzywych Tafela.

W przypadku, gdy charakterystyki woltamperometryczne rejestrowane s z bardzo mał zmian potencjału, tak aby stan granicy faz elektroda roztwór elektrolitu nie odbiegał od warunków równowagowych, wówczas uzyskane charakterystyki nazywane s charakterystykami quasi-statycznymi. Technika ta jest rzadko stosowana przede wszystkim z powodu bardzo długiego czasu pomiaru (do kilkudziesi ciu godzin). Wygodniejsza i bardziej efektywna jest technika charakterystyk potencjodynamicznych. Technika ta polega na polaryzacji elektrody liniowo zmieniaj cym si potencjałem, od potencjału bliskiego E_{corr} w stron potencjałów dodatnich a do potencjału utlenienia roztworu podstawowego z typow szybko ci zmian polaryzacji 0,1-5 mV/s. Na podstawie uzyskanych charakterystyk potencjodynamicznych mo liwe jest okre lenie charakterystycznych wła ciwo ci badanego układu próbka | roztwór (zakresów aktywno ci, pasywacji, transpasywacji).

Metoda Sterna-Geary'ego i metoda krzywych Tafela [3, 4, 7, 9]

Zasada metody Sterna-Geary'ego i metody krzywych Tafela jest bardzo podobna. Obie te metody polegaj na polaryzacji próbki liniowo zmieniaj cym si potencjałem z bardzo mał szybko ci zmian potencjału. W metodzie Electrochemical corrosion investigations furnish basic information about biotolerance and biocompatibility of the investigated material. Electrochemical measurements of corrosion, on the other hand, provide information about the corrosion type (general or local) and allow determining basic parameters characterizing corrosion process [1,3] (e.g. corrosion potential, corrosion current, corrosion rate, breakdown potential, repassivation potential). These investigations allow to creation of theoretical model describing corrosion processes.

Methods and examples

Below in the text there have been presented principles of the most important electrochemical methods applied in biomaterials corrosion investigations: OCP, voltammetric measurements, Stern-Geary method, Tafel slope method, detection of breakdown and repassivation potentials and voltages, EIS, ECSTM, AFM, EQCM, SECM and LEIS. Some of the methods have been illustrated in the form of exemplary results obtained during research of Ti and Ti with Nanocrystalline Diamond (NCD) [5] in aqueous media.

Open Circuit Potential (OCP) [7]

OCP technique is based on potential measurements between the working electrode and the reference electrode, when current flowing through the working electrode equals zero. OCP is accompanied by redox reactions occurring on the working electrode (sample) - contacting the solution. When speaking about the biomaterials, these reactions are corrosion-related. Established electrode potential, described as corrosion potential E_{corr} , is one of the most important corrosion parameters.

Voltammetric measurements [3, 4, 7, 9]

Typical voltammetric characteristics demonstrate the current flowing through the electrode as a function of the applied potential vs. the reference electrode. Based on such characteristics it is possible to make an identification of processes occurring on the electrode immersed in a solution. This method incorporates different types of measurement techniques: quasi-stationary and potentiodynamic characteristics, Stern-Geary and Tafel slope methods.

If the characteristics are recorded with very small slope polarization - the state of the phase boundary sample "electrolyte solution remains indifferent from the equilibrium conditions - then the obtained characteristics are described as quasi-stationary. This technique is hardly ever used because of the very time-consuming measurements (up to tens hours). Potentiodynamic characteristic technique is more comfortable and effective. It employs linear potential scan, starting typically near $E_{\rm corr}$ and scanning in a positive direction, usually to a potential positive enough to oxidize the basic solution with scan rate typically 0,1-5 mV/s. These characteristics are used to determine the specific features of a given sample | solution system (active, passive and transpassive regions).

Stern - Geary method and Tafel slope method [3, 4, 7, 9]

The principles of Stern-Geary and Tafel slope methods are very similar. Both of them employ polarizing the electrode with linear scan potential with small scan rate. In the Stern-Geary method scanning is done about ± 20 mV near E_{corr} with scan rate not exceeding 1 mV/s. Based on the obtained characteristic a polarization resistance R_p value is calculated, as a slope reciprocal of the linear region of the plot. The obtained polarization resistance value allows calculating the corrosion rate. The Tafel plot is performed by polarizing the electrode about 300 mV anodically and



Sterna-Geary'ego próbka polaryzowana jest w zakresie ±20 mV w pobli u E_{corr} z szybko ci zmian potencjału nie wi ksz ni 1 mV/s. Z tak uzyskanej krzywej wyznacza si warto oporu polaryzacyjnego R_p jako odwrotno współczynnika nachylenia w obszarze liniowym krzywej. Wyznaczona warto oporu polaryzacyjnego pozwala na obliczenie szybko ci korozji. Metoda Tafela polega na polaryzacji elektrody 300 mV w stron anodow i katodow od potencjału E_{corr} z szybko ci zmian potencjału w zakresie 0.1 - 1 mV/s. Na podstawie krzywych Tafela mo liwe jest wyznaczenie pr du korozyjnego, a tym samym obliczenie szybko ci korozji.

RYS. 1. Charakterystyki uzyskane metod Sterna-Geary'ego i obliczone warto ci parametrów korozyjnych dla tytanu (a) i tytanu z warstw NCD (b) w roztworze Tyrode'a (E_{ref} = SCE w nas. KCl, v = 1 mV/s).

FIG. 1. Characteristics obtained by Stearn-Geary method and the calculated corrosion parameters for Ti (a) and Ti with NCD (b) in Tyrode's solution (E_{ref} = SCE in sat. KCI, v = 1 mV/s).



Wyznaczanie potencjałów i napi przebicia i repasywacji [1, 3, 5]

Potencjały przebicia i repasywacji s znane jako bardzo wa ne parametry charakteryzuj ce odporno korozvin materiału. Potencjał przebicia E, jest to potencjał elektrody roboczej wzgl dem elektrody odniesienia w trójelektrodowym układzie potencjostatycznym, przy którym nast puje przebicie warstwy tlenkowej i rozpocz cie tworzenia si ogniska korozyjnego. Powstały w er staje si nieaktywny w potencjale repasywacji E_{rep}. W wielu przypadkach typowy zakres polaryzacji elektrody w warunkach potencjostatycznych jest zbyt mały, aby rozpocz ł si proces korozji. W KChOgiN UŁ został opracowany dwuelektrodowy układ pomiarowy wykorzystuj cy komercyjny potencjostat do polaryzacji elektrody roboczej wzgl dem elektrody pomocniczej z programowan szybko ci zmian napi cia. W takim poł czeniu mierzony pr d jest sum pr dów płyn cych przez elektrod i rezystory. Znaj c warto rezystorów mo liwe jest obliczenie pr du płyn cego jedynie przez elektrod .

Elektrochemiczna Spektroskopia Impedancyjna (EIS) [9]

Metoda elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej polega na pomiarze sinusoidalnie zmiennego napi cia i pr du płyn cego przez elektrod w stałym potencjale w szerokim zakresie cz stotliwo ci (0,001 Hz - 100 kHz). RYS. 2. Elektrochemiczne charakterystyki korozji w erowej dla a) Ti/TiC w 0,1 M KBr, b) Ti w 0,1 M KCl.

FIG. 2. Electrochemical characteristics of pitting corrosion: a) Ti/TiC in 0.1 M KBr solution, b) Ti in 0.1 M KCl solution.

cathodically from the corrosion potential E_{corr} . This method allows the scan rate range of 0.1-1mV/s. Such technique is used for determining the corrosion current, which allows the corrosion rate calculation.

Detection of breakdown and repassivation potentials and voltages [1, 3, 5]

Breakdown and repassivation potentials are known as very important parameters characterizing corrosion resistance of a material. A breakdown potential E_b is the potential of the working electrode vs. the reference electrode in potentiostatic three-electrodes circuit, at which the oxide layer is breaking down and a pitting corrosion center is forming. At the repassivation potential E_{rep} corrosion center becomes inactive. It is, though, worth mentioning that in many cases a typical range of electrode polarization in





Aparatura pomiarowa EIS rejestruje składow rzeczywist i urojon impedancji mierzonego układu. Uzyskan charakterystyk impedancyjn modeluje si poprzez zast pczy obwód elektryczny, składaj cy si z klasycznych elementów elektrycznych (oporniki, kondensatory, cewki indukcyjne) oraz kilku specjalnych elementów elektrochemicznych (takich jak element Warburga zwi zany z dyfuzj). Nast pnie przy u yciu specjalistycznego oprogramowania dopasowuje si (fituje) ten obwód do zmierzonej charakterystyki. Dopasowanie jest najlepsze kiedy fituj ca krzywa pokrywa si z t charakterystyk . Poprzez fitowanie danych impedancyjnych otrzymuje si zbiór parametrów powi zanych z procesami korozji.

Skaningowa Mikroskopia Tunelowa (STM) i Elektrochemiczna Skaningowa Mikroskopia Tunelowa (ECSTM) [10,11]

STM i ECSTM wykorzystuj zjawisko tunelowania elektronu przez barier potencjału istniej c pomi dzy dwoma atomami nale cymi do dwóch elektrod b d cych przewodnikami lub półprzewodnikami. Zjawisko tunelowania zachodzi w przypadku, gdy odległo pomi dzy tymi atomami jest nie wi ksza ni 20A. Elektrochemiczna skaningowa mikroskopia tunelowa polega na pomiarze in situ pr du tunelowego pomi dzy elektrod badan a igł skanuj c . Pomiary technik ECSTM s prowadzone w roztworze elektrolitu, w układzie czteroelektrodowym (bipotencjostatycznym), z jednoczesn kontrol procesów elektrochemicznych zachodz cych na elektrodzie badanej.

Mikroskopia Sił Atomowych (AFM) i Elektrochemiczna Mikroskopia Sił Atomowych (ECAFM) [8]

Pomiary mikroskopem sił atomowych polegaj na pomiarze *in situ* oddziaływa ostrze d wigni - próbka zwi zanymi z wyst puj cymi siłami van der Waalsa, siłami elektrostatycznymi czy tarciowymi. Dlatego te nadaje si do badania zarówno przewodników jak i próbek nieprzewodz cych. Technika ta mo e by stosowana do pomiarów zarówno w powietrzu jak i w płynach. AFM poł czony z potencjostatem (ECAFM) mo e pracowa w roztworach elektrolitów. ECAFM umo liwia pomiar *in situ* powierzchni biomateriałów w trakcie procesu korozji, zwłaszcza w celu detekcji ognisk korozyjnych, w erów czy pomiaru chropowato ci powierzchni. Przy u yciu specjalnych ostrzy d wigni mo liwe jest celowe tworzenie w skali nanometrowej defektów powierzchni badanego materiału dla powstania ogniska korozyjnego.

Elektrochemiczna mikrowaga kwarcowa (EQCM) [8, 12]

Metoda elektrochemicznej mikrowagi kwarcowej jest bardzo czuł metod pozwalaj c na okre lenie ladowych zmian masy rz du kilku nanogramów. Technika ta polega na pomiarze zmian cz stotliwo ci w funkcji zmian masy RYS. 3. Charakterystyki impedancyjne w postaci diagramów Nyquista (a) i Bode (b) oraz zast pczy obwód elektryczny (c) dla tytanu z warstw NCD w roztworze Tyrode'a.

FIG. 3. Nyquist (a) and Bode (b) plots, and equivalent electrical circuit (c) for EIS measurements of titanium with NCD in Tyrode's solution.

potentiostatic conditions, is to small to allow pitting corrosion to occur. In our Department a measuring system utilizes a commercial potentiostat to polarization the working electrode vs. the counter electrode (two-electrodes circuit) with programmed slope voltage was worked out. In such combination the recorded current is a sum of currents flowing through the electrode and resistors. Knowing the value of the resistors it is possible to calculate current that flows just through the working electrode.

Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) [9]

EIS method employs measuring the alternating voltage and current flowing through the electrode, at the fixed DC potential, in wide range of frequencies (0.001 Hz - 100 kHz).

The EIS instrument records the real and imaginary components of the system impedance response. The obtained impedance characteristic is simulated with equivalent electrical circuit in which the electrochemical cell is represented in terms of "classical" electrical components (resistors, capacitors, inductors) and a few specialized electrochemical elements (such as Warburg diffusion elements). A special program fits the best frequency response of the given EIS spectrum. Simulated circuit is the best when the fitting curve overlaps the original EIS characteristic. By fitting the EIS data it is possible to obtain a set of parameters which can be correlated with the corrosion processes.

Scanning Tunneling Microscopy (STM) and Electrochemical Scanning Tunneling Microscopy (ECSTM) [10, 11]

STM and ECSTM employ the phenomenon of tunneling electron through the potential barrier, existing between two atoms belonging to two different electrodes - conductors or semiconductors. Tunneling effect can be observed when the distance between those atoms is in order up to 20A. ECSTM depends on in situ measurement of tunneling current between the tip and the sample. ECSTM measurements are carried out in electrolyte solution using four-electrodes circuit (bipotentiostat), with simultaneous control of electrochemical processes occurring on the working electrode.





RYS. 5. Obrazy AFM próbki Ti po korozji w 0,1 M KBr: a) topografia, b) kontrast fazowy; pomiary w powietrzu, tryb oscylacyjny. FIG. 5. AFM images of Ti sample after corrosion in 0.1 M KBr: a) topography, b) phase contrast; measurements in air, tapping mode.

materiału osadzonego na powierzchni kryształu. Technika EQCM nadaje si zarówno do analitycznych jak i kinetycznych bada procesów elektrochemicznych zwi zanych z przeniesieniem masy poprzez granic faz elektroda | roztwór elektrolitu np. procesów adsorpcji, wymiany jonowej, itp. w procesach korozyjnych.

Skaningowa mikroskopia elektrochemiczna (SECM) [12]

Skaningowa mikroskopia elektrochemiczna bazuje na poł czeniu specjalnego mikroskopu elektrochemicznego ze znanymi technikami skanuj cymi - skaningow mikroskopi tunelow i mikroskopi sił atomowych. Technika ta pozwala na obserwacj lokalnych reakcji elektrochemicznych, np. tworzenia si ognisk korozji w erowej. Ten typ mikroskopii mo e by u ywany w celu scharakteryzowania powierzchni lub jej modyfikowania. Istniej dwie cechy odró niaj ce SECM od takich metod jak ECSTM czy ECAFM: chemiczna czuło igły skanuj cej w SECM oraz u ycie fazy jonowej lub cz steczek jako ródła sygnału pomiarowego.

Skaningowa elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna (LEIS) [13]

LEISł czy w sobie ide metody elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej z metodami skaningowymi. Technika ta, w przeciwie stwie do tradycyjnych pomiarów EIS daj cych warto ci u rednione, umo liwia uzyskanie rozkładu przestrzennego danych impedancyjnych np. w celu oceny korozji lokalnej. Zasady pomiarów technik LEIS s bardzo podobne do zasad tradycyjnej elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej. Do skanowanej - przy u yciu specjalnej igły - powierzchni próbki, przykładany jest sygnał sinusoidalny o małej warto ci. Zmierzona warto lokalnego pr du zmiennego pozwala na obliczenie warto ci impedancji.

Wnioski

U yteczno metod elektrochemicznych do bada korozji biomateriałów przedstawia TABELA 1:

Wszystkie metody oznaczone "+" nie maj ogranicze w zastosowaniu. Metody oznaczone "+/-" posiadaj ogra-

RYS. 4. Topografie uzyskane metod ECSTM dla tytanu w 0,1 M H_2SO_4 : a), b) cienka warstwa tlenkowa, c) gruba warstwa tlenkowa. FIG. 4. Topographies obtained by means of ECSTM for titanium in 0.1 M H_2SO_4 : a), b) thin passive layer, c) thick passive layer.

Atomic Force Microscopy (AFM) and Electrochemical Atomic Force Microscopy (ECAFM) [8]

AFM measures *in situ* cantilever tip - surface interactions due to van der Waals, electrostatic, or frictional forces. It works equally well on insulating as well as on conductive samples. AFM can be operated in air or in liquid. AFM connected to potentiostat (ECAFM) can work in electrolyte solutions. The ECAFM can be used for *in situ* biomaterials surface investigations, during the electrochemical corrosion process, especially for detection of corrosion centers, pits and surface roughness. Special tips can be used either for surface cracking in nanometer scale for local corrosion centre creation.

Electrochemical Quartz Crystal Microbalance (EQCM) [8,12]

EQCM is a sensitive, in situ method used to determine minute mass changes in the order of nanograms. This technique employs measuring the resonant frequency changes as a linear function of the mass of material deposited on the crystal surface. EQCM is suitable for analytical as well as kinetic studies of the electrochemical processes, accompanied by mass transfer across the electrode | electrolyte solution interface, allowing for investigations of adsorption, ion exchange etc. in corrosion processes.

Scanning Electrochemical Microscopy (SECM) [12]

SECM is a technique, based on the use of a special electrochemical microscope similar to the well-known scanning tunneling and atomic force microscopes. This technique allows observing local electrochemical reactions e.g. creation of pitting corrosion centers. Therefore, such microscope can be used to characterize a surface and modify it with high flexibility. There are two features distinguish SECM from all related methods - ECSTM or ECAFM: the chemical sensitivity of the SECM tip, and the use of solution phase ions or molecules as the imaging signal.

Localized Electrochemical Impedance Spectroscopy (LEIS) [13]

LEIS combines established principles of EIS measurements with proven scanning probe technology. This technique allows obtaining spatially resolved impedance data, rather than obtaining the surface-averaged results as it is done using conventional EIS measurement techniques e.g. critical requirement for the evaluation of localized corrosion. The principles of LEIS are similar to those employed in the traditional bulk EIS. A small sinusoidal voltage perturbation is applied to a sample, which is scanned close to niczenie zwi zane głównie ze słab przewodno ci badanych próbek. Metoda krzywych Tafela i STM / ECSTM nie mog by u yte do bada metali i stopów pokrytych słabo przewodz cymi warstwami w glowymi.

tvp biomateriału	metale i stopy	metale i stopy z warstw tlenkow	metale i stopy z warstwami w glowymi metals and alloys with carbon layers		
biomaterial type	metals and alloys	metals and alloys with oxide layer	z dobr przewod- no ci with good conductivity	ze słab przewod- no ci with weak conductivity	
technika technique			·		
OCP	+	+	+	+/-	
Krzywe Tafela Tafel Slope	+	+	+	-	
Wyznaczanie $E_b E_b$ detection	+	+	+	+/-	
EIS	+	+	+	+	
STM / ECSTM	+	+/-	+	-	
AFM / ECAFM	+	+	+	+	
EQCM	+	+	+	+	
SECM	+	+	+	+/-	
LEIS	+	+	+	+/-	

TABELA 1. U yteczno metod elektro chemicznych do bada korozji biomateriałów. TABLE 1. The usability of electrochemical methods for biomaterials' corrosion investigations.

BIOMATERIAŁY W NANOELEKTROCHEMII – BADANIA KOROZYJNE TYTANU I TYTANU Z WARSTWAMI NCD

HENRYK SCHOLL*, TADEUSZ BŁASZCZYK*, PIOTR NIEDZIELSKI**, JACEK GRALEWSKI**

*Katedra Chemii Ogólnej i Nieorganicznej, Uniwersytet Łódzki, ul. Narutowicza 68, 90-136 Łód , Polska **Zakład In ynierii Biomedycznej, Instytut In ynierii Materiałowej, Politechnika Łódzka, ul. Stefanowskiego 1/15, 90-924 Łód , Polska the surface using special measuring tip. The resulting local alternating current is measured and allows calculating the impedance.

Conclusions

TABLE 1 summarizes the usability of electrochemical methods in biomaterials corrosion investigations.

All methods marked with "+" have none limitation. The methods marked "+/-" have a limitation related to low conductivity of investigated samples, in general. Tafel slope method and STM / ECSTM can not be used in investigations of metals and alloys having weakly conductive carbon layers.

Pi miennictwo References

[1] Marciniak J.; Biomateriały w chirurgii kostnej; Wydawnictwo Politechniki I skiej Gliwice (1992).

[2] A Review of Corrosion Behavior of Surgical Implant Alloys; PAR
[3] Baszkiewicz J., Kami ski M.; Podstawy korozji materiałów;
WPW Warszawa (1997), pp. 48-54, 106-113.

[4] Application Note Corr-4 Electrochemistry and Corrosion Overview and Techniques; PAR.

[5] Mitura S., Mitura A., Niedzielski P., Couvrat P.; Nanocrystalline diamond coatings; Chaos, Solitons & Fractals Vol. 10, No. 12, (1999), pp. 2165-2176.

[6] Keun-Taek Oh, Kyoung-Nam Kim, Min Lee, Yong Soo Park; In Vitro Corrosion Resistance of Orthodontic Super Stainless Steel Wire. The Effects of Stress Relieving Heat-Treatment, J. Electrochem. Soc. 149 (2002) pp. B414-B421.

[7] Application Note Corr-1 Basics of Corrosion Measurements; PAR.

[8] Herranen M.; Scanning Force Microscopy and Quartz Crystal Gravimetry Applied to Corrosion Studies of Ti and TiN Films; AUU Uppsala (1997) pp. 4-19.

[9] Scholl H., Błaszczyk T., Krzyczmonik P.; Elektrochemia - zarys teorii i praktyki; WUŁ (1998) pp. 115-136, 186-196.

[10] Binnig G., Rohrer H.; Skaningowa mikroskopia tunelowa - od narodzin do wieku dojrzewania; Post py fizyki 38/6 (1987) pp. 493-510.

[11] Błaszczyk T., Olejniczak W., Kobierski P.; Elektrochemiczny skaningowy mikroskop tunelowy; Pomiary, automatyka, kontrola 12 (1995) pp. 342-346.

[12] Electrochemical Instrumentation ,CH Instruments, pp. 10-15 [13] LEIS 270 - technical information, PAR.

BIOMATERIALS IN NANOELECTROCHEMISTRY – CORROSION INVESTIGATIONS OF TITANIUM AND TITANIUM WITH NCD LAYERS

Henryk Scholl*, Tadeusz Błaszczyk*, Piotr Niedzielski**, Jacek Gralewski**

.

*Department of General and Inorganic Chemistry, University of Lodz, Narutowicza 68, 90-136 Lodz, Poland **Division of Biomedical Engineering, Institute of Material Science and Engineering, Technical University of Lodz, Stefanowskiego 1/15, 90-924 Lodz, Poland

W pierwszej cz ci pracy przedstawiono krótk charakterystyk wła ciwo ci biomateriałów, w szczególno ci biomateriałów stosowanych jako implanty ortopedyczne. Biomateriały te głownie oparte s na metalach i stopach metali. Ich korozj mo na bada stosunkowo łatwo metodami elektrochemicznymi, zarówno w roztworach prostych jak i roztworach modeluj cych naturalne płyny fizjologiczne (Tyrode'a, Hank'a, i Locke'a).

W drugiej cz ci pracy zaprezentowano wyniki bada korozyjnych Ti oraz Ti z warstwami Nanokrystalicznego Diamentu (NCD) i TiC. Przedstawiono pomiary potencjału korozyjnego w otwartej p tli (OCP), charakterystyk woltamperometrycznych, potencjałów przebicia, charakterystyk impedancyjnych i wła ciwo ci topograficznych. Zaproponowano modele granicy faz badane roztwory | próbki Ti i Ti z NCD oraz mo liwe reakcje elektrochemiczne przebiegaj ce na takich granicach. Stwierdzono pozytywny wpływ warstw NCD na wła ciwo ci korozyjne tak zmodyfikowanego tytanu.

Słowa kluczowe: biomateriały; korozja elektrochemiczna biomateriałów; korozja elektrochemiczna tytanu; korozja elektrochemiczna tytanu z warstwami NCD

Wprowadzenie

Biomateriały

Biomateriały, b d c materiałami szeroko stosowanymi w ciele ludzkim powinny spełnia nast puj ce wymagania [1-6]:

1. nie powinny inicjowa adnych reakcji w tkankach otaczaj cych implant;

2. musz wykazywa biotolerancj (czasami biokompatybilno , któr okre la si jako zdolno ciała ludzkiego do zaakceptowania implantu bez uszkodze tkanki); oznacza to, e ciało ludzkie powinno tolerowa pokryte implanty bez wykazywania destrukcji tkanki;

3. musz mie specyficzne wła ciwo ci mechaniczne dobr adhezj i du odporno na zu ycie.

Wła ciwo ci niektórych stali austenitycznych, stopów kobaltu i ró nych stopów tytanu b (zawieraj cych Al, Mo, Cr, V lub Nb) zostały opisane w przegl dowej pracy Rack'a i Long'a [7]. Oni wyci gn li wnioski, e słabe wła ciwo ci stopów tytanowych (wytrzymało na cinanie i oporno zu yciowa) ograniczaj ich u ycie jako biomateriałów.

W grupie biomateriałów specjalne znaczenie maj materiały u ywane do wytwarzania implantów ortopedycznych. Ich niektóre najistotniejsze specyficzne wła ciwo ci zebrane s w TABELI 1.

Podsumowuj c - materiały stosowane w implantach medycznych powinny posiada : dobr biokompatybilno (zgodno z krwi i zgodno tkankow), stabilno chemiczn , która wymaga, aby te materiały nie ulegały degradacji w otaczaj cym rodowisku takim jak alkohol, roztwory do sterylizacji itp., biostabilno , która da aby materiały te nie ulegały degradacji przy biologicznym oddziaływaniu z ciałem, doskonał adhezj , która charakteryzuje granic faz implant | rodowisko, bardzo dobre charakterystyki mechaniczne.

Badania korozyjne

Podstawowe charakterystyki biomateriałów otrzymywane s w ich badaniach korozyjnych. Dane literaturowe zwi zane z tym tematem (badania tytanu stosowanego w im-

Abstract

This paper presents, in its first section, compact characteristics of biomaterials' properties based on behaviour of orthopaedic implants. By choice, orthopaedic implants are produced of different metals or alloys. Their corrosion can easily be investigated by means of different electrochemical methods both in simple and modeling natural physiologic (Tyrode, Hank and Locke) solutions.

Second section discusses corrosion results obtained by investigating Ti, Ti with Nanocrystalline Diamond (NCD) and TiC. Measurements of the corrosion potential in the open loop (OCP), voltammetric characteristics, breakdown potentials, impedance and topography characteristics have been presented. Models of phase boundary investigated solutions | Ti and Ti with NCD samples, and possible electrochemical reactions occurring on such boundaries, have been proposed. Positive interaction of NCD layers on corrosion properties of, in such way modified, Ti have been stated.

Keywords: biomaterials, electrochemical corrosion of biomaterials; electrochemical corrosion of Titanium, electrochemical corrosion of Titanium with NCD layers

Introduction

Biomaterials

Biomaterials have become widely used in the human body. As such they should have the following requirements [1-6]:

1. they must not initiate any detrimental reactions in the tissues surrounding an implant;

2. they must exhibit biotolerance (sometimes biocompatibility which describes the ability of the human body to endure the implants without destruction of the tissue), meaning that human body should tolerate coated implants without exhibiting any tissue intolerance;

3. they must have a specific system of mechanical properties - good adhesion and wear resistance.

Properties of some austenitic steels, cobalt and different titanium b-alloys (containing Al, Mo, Cr, V or Nb) have been described in Rack and Long [7]. In their review they concluded that the poor qualities of titanium alloys (shear strength and wear resistance) limit their use as biomaterials.

Orthopaedic implants are a special group of biomaterials. TABLE 1 summarizes their most important features.

Recapitulating: materials used in human body as medical implants must be characterized by: good biocompatibility (haemo-compatibility and histo-compatibility), chemical stability, meaning that the materials do not degrade in the environmental agents, such an alcohol, sterilizing solutions etc., biostability, meaning that the materials are not degraded as a result of biological interactions within the body, outstanding adhesion, characterized by the implant | layer system, excellent mechanical characteristics.

Corrosion investigations

Basic biomaterials characteristics are mainly based on the results achieved by investigation into their corrosion. Literature data on this subject (investigating titanium used as medical implant or applied in other fields of biomedicine) are focused chiefly on the mechanical, and tribological processes occurring in the classical testing solutions (HCl, H_2SO_4), more natural modelled solutions (Tyrode's or Hank's) or natural solutions obtained from animal organ-

PARAMETR	STAL NIERDZEWNA	STOPY KOBALTOWE	TYTAN I STOPY TYTANOWE TITANIUM and TITANIUM	
PARAMETER	STAINLESS STEELS	COBALT-BASE ALLOYS	BASE ALLOYS	
Oznaczenie		ASTM F-75, ASTM F-799, ASTM F-1537	ASTM F-67, ASTM F-136, ASTM F-1295	
Designation	ASTM F-138 (316 LDVM)	(vv ytaplane i obrablane plastycznie) (Cast and wrought)	(Wytapiane i obrabiane plastycznie) (Cast and wrought)	
Główne składniki stopów (wag%)	Fe (bal.), Cr (17-20),	Co(bal.), Cr (19-30),	Ti (bal.), Al (6), V (4), Nb (7)	
Principal Alloying Elements (wt%)	Ni (12-14), Mo (2-4)	Mo (0-10), Ni (0-37)	Ti + C _{diam.} warstwy Ti + C _{diam.} layers	
		Oporno zu yciowa Oporno korozyjna	Biokompatybilno Oporno korozyjna	
Zalety	Koszt, dost pno procesów technologicznych	Wytrzymało zm czeniowa Wear resistance	Wytrzymało zm czeniowa Biocompatibility	
Advantages	Cost, availability processing	Corrosion resistance Fatigue strength	Corrosion resistance Fatigue strength	
Wady Disadvantages	Długotrwałe zachowanie wła ciwo ci Long term behaviour	Biokompatybilno Biocompatibility	Odporno na zu ycie Mała wytrzymało na cinanie Power wear resistance Low shear strength	

TABELA 1. Szczegółowe charakterystyki materiałów stosowanych w implantach ortopedycznych. TABLE 1. Particulqr characteristics of orthopaedic implant materials.

plantach medycznych lub u ywanego w innych zastosowaniach biomedycznych) s skupione przede wszystkim na mechanicznych i tribologicznych procesach, które mierzone s w klasycznych roztworach testowych (HCI, H_2SO_4) lub zbli onych do naturalnych roztworach modelowych (Tyrode'a lub Hank'a) lub te naturalnych roztworach otrzymywanych z organizmów zwierz cych.

Ze wzgl du na du e powinowactwo do tlenu tytan i jego stopy s szeroko stosowane w ró nych działach techniki. Tytan rozpuszcza si szybko przechodz c w formy jonowe tylko w kwasie fluorowodorowym oraz w rodowiskach rozpuszczalnych fluorków lub silnie kompleksuj cych zwi zków. Wi kszo danych w literaturze elektrochemicznej i korozyjnej jest zwi zana z korozj tytanu w kwasach mineralnych, oboj tnych solach i elektrolitach podstawowych.

Ogólnie rzecz ujmuj c, badania korozyjne metali w roztworach fizjologicznych s trudne do opisania z powodu ró nic w indywidualnej odpowiedzi organizmów (zwierz cych lub ludzkich). Po statystycznej analizie danych pomiarowych naturalnych roztworów zostały zaproponowane sztuczne (modelowe) roztwory fizjologiczne. Roztwory najcz ciej stosowane do bada korozji biomateriałów s przedstawione w TABELI 2.

Składniki tych roztworów podzielone zostały na trzy grupy: I - zwi zki wywołuj ce korozj w erow , II - zwi zki buforuj ce, III - inhibitory korozji.

Nasze badania koncentrowały si na tytanie i tytanie pokrytym Nanokrystalicznym Diamentem w wodnych roztworach 0.1 M KCI, 0.1 M KBr i w roztworze Tyrode'a. Naszym zdaniem ciekawsze od procesów korozji ogólnej s procesy korozji w erowej. Roztwór Tyrode'a zawiera jony Cl⁻, które specyficznie adsorbuj si na powierzchni elektrody. Jony te odgrywaj wa n rol w procesach powstawania w erów. Elektrochemiczne pomiary materiałów z Ti/TiO₂ i Ti/NCD w roztworach KCI and KBr mog słu y pomoc do obja nienia mechanizmów reakcji korozyjnych. isms. Due to the affinity to oxygen, titanium and its alloys are widely used in various fields of industry. Titanium dissolves rapidly to the ionic form only in hydrofluoric acid, in the media of soluble fluorides or strongly complexing agents. Main focus of electrochemical and corrosion literature data are placed on the general corrosion of titanium in mineral acids, neutral salts and basic electrolytes.

Corrosion investigations of metals in natural physiologic solutions are, generally speaking, difficult to describe because of the differences that occur as a result of individual response of an organism (animal or human). Many proposals of the artificial (modelled) physiologic solutions have been proposed, after analysing statistical investigations data of natural solutions. TABLE 2 presents solutions most frequently used in measurements of biomaterial's corrosion [8].

	SUBSTANCJE SUBSTANCES [g/100 cm ³ H ₂ O]	roztwór TYROD'A TYRODE'S solution	roztwór HANK'A HANK'S solution	roztwór LOCKE'A LOCKE'S solution
	NaCl	0.8	0.8	0.9
1	KCI	0.02	0.04	0.042
	CaCl ₂	0.02	0.014	0.024
	MgCl ₂	0.10		
П	NaHCO₃	0.10	0.035	0.01 - 0.03
	NaH ₂ PO ₄	0.005	0.006	
Ш	d-C6H12O6	0.10	0.10	0.01 - 0.25

TABELA 2. Składy sztucznych roztworów fizjologicznych.

TABLE 2. Compositions of artificial physiologic solutions.

All agents of such solutions can be divided into three groups: I - pitting corrosion aggressive agents, II - buffering agents, III - corrosion inhibitor.

Our investigations have been focused on titanium and titanium covered by Nanocrystalline Diamond (NCD) layer in 0.1 M KCl, 0.1 M KBr aqueous and Tyrode's solutions. From our point of view the pitting corrosion processes are more interesting than the general corrosion processes. The Tyrode's solution contains the Cl⁻ ions as an aggressive compound specifically adsorbed on the electrode surface. Those ions play important role in corrosion pits creation. The electrochemical measurements of Ti/TiO₂ and Ti/NCD

Cz eksperymentalna

Preparatyka powierzchni tytanu

48

Badania wykonywane były na próbkach wykonanych z Ti (99.99 - Aldrich) w kształcie walca o rednicy 6.35 mm. Powierzchnia Ti przygotowywana była w dwóch ró norodnych procedurach. Pierwsza zawierała mechaniczne polerowanie na papierze ciernym (z ziarnem SiC do 2000) i płukanie wod destylowan - niektóre pomiary były wykonywane bezpo rednio po takim "prostym" przygotowaniu. W drugiej, po wykonaniu wy ej opisanych czynno ci, powierzchnia była dodatkowo polerowana mechanicznie z u yciem elu diamentowego (z ziarnem 1 mm), płukana acetonem i wod destylowan, trawiona w odczynniku Krolla (kwas fluorowodorowy HF (40%), kwas azotowy HNO3 (70%) i woda w proporcjach obj to ciowych 1:3:5) oraz na koniec powtórnie płukana wod destylowan i suszona argonem. Wi kszo pomiarów była wykonywana po takim "pełnym" przygotowaniu.

Pokrycia w glowe

Po wy ej opisanym przygotowaniu powierzchnia próbek Ti pokrywana była warstwami NCD z u yciem metody RF PCVD. Metoda ta została opracowana na Politechnice Łódzkiej [1, 2]. Procedura wytwarzania warstw NCD przeprowadzana była przy nast puj cych parametrach roboczych:

 trawienie jonowe - ujemny potencjał autopolaryzacji próbki 800 V, cz stotliwo generatora 13.65 MHz, czas 2 min.;
 nanoszenie warstw NCD - ujemny potencjał autopolaryzacji próbki 800 V, strumie obj to ci gazu (CH₄) 25 cm³/ min, temperatura próbki ok. 180°C, czas 10 min.

Pomiary elektrochemiczne i fizyczne

Pomiary elektrochemiczne wykonywane były w specjalnym, szklanym naczy ku elektrolitycznym. Naczy ko posiadało standardowo trzy elektrody - robocz , któr była próbka Ti z powierzchni aktywn ok. 0,1 cm², pomocnicz - w kształcie walca z folii Pt (99,99) i odniesienia - specjalna elektroda kalomelowa w nasyconym roztworze KCI. Wszystkie roztwory pomiarowe były wykonywane z odczynników chemicznych Adrich, Merck - z czysto ci "do analiz" - bez dodatkowego oczyszczania.

Do pomiarów korozyjnych zostały zastosowane nast puj ce metody elektrochemiczne:

]0 mV) w zakresie cz stotliwo ci od 10000 Hz do 0.01 Hz. Wykonywanie bada elektrochemicznych razem z badaniami STM i ECSTM in situ w jednym naczy ku elektrolitycznym daje gwarancj zachowania tych samych warunków pomiarowych [9]. Badania SEM-EDX i AFM były wykonywane ex situ w niezale nych systemach pomiarowych.

Wyniki

Pomiary potencjałów korozyjnych

Potencjały korozyjne E_{CORR} mierzone były w otwartej p tli (OCP) dla Ti po "pełnym" przygotowaniu powierzchni, dla Ti z warstwami NCD oraz dodatkowo dla Ti z warstw TiC. Potencjały E_{CORR} wyznaczone zostały przed anodow polaryzacj próbek, oraz po pełnym cyklu anodowej polaryzacji we wszystkich badanych roztworach. Otrzymane rednie warto ci potencjałów E_{CORR} wzgl dem stosowanej elektrody odniesienia - elektrody kalomelowej w nasyconym roztworze KCI - przedstawione s w TABELI 3.

Analizuj c uzyskane wyniki mo na stwierdzi nast puj ce prawidłowo ci:

- potencjały korozyjne Ti z warstwami NCD i TiC były bardziej dodatnie ni potencjały korozyjne Ti we wszystkich materials in KCI and KBr solutions may help to interpret the corrosion reaction mechanisms.

Experimental

Titanium surface preparation

All measurements were done using cylindrically shaped samples of Ti (99.99 - Aldrich) with diameter 6.35 mm. Ti surface was prepared in two different ways. The first preparation way was completed by means of mechanical polishing with silicon abrasive paper (with grade up to 2000) and rinsing with distilled water - some measurements have been carried out directly after this "simple" preparation. In the second way all previously described steps were repeated, and surfaces additionally, mechanically polished with diamond gel (1 mm grains), rinsed with acetone and distilled water, etched in the Kroll's solution (hydrofluoric acid HF (40%), nitric acid HNO₃ (70%) and water in volume ratio 1:3:5, respectively), and finally rinsed with distilled water and dried in argon. Majority of measurements were carried out after this "full" preparation cycle.

Carbon coatings

The surface of Titanium samples prepared in the above described way were covered by NCD layers, using Radio Frequency Plasma Chemical Vapour Deposition (RF PCVD) method. This technique has been elaborated at the Technical University of Lodz [1, 2]. NCD deposition was prepared with the following technical data:

- ion etching - negative sample autopolarization potential 800 V, generator frequency 13.65 MHz, duration 2 min.;

-deposition of NCD layers - negative sample autopolarization potential 800 V, gas stream velocity (CH₄) 25 cm³/min, sample temperature ca. 180°C, duration 10 min.

Electrochemical and physical measurements

Electrochemical measurements were carried out in a special glassy electrolytic cell. The cell contained typical three electrodes - working electrode, which was a Ti sample with exposed area ca. 0.1 cm², counter Pt (99.99) foil electrode cylindrically shaped, and reference electrode being special calomel electrode in saturated KCI solution. All measuring solutions were prepared from chemical reagents Aldrich, Merck - with purity "for analysis" - without additional purification.

Following electrochemical method are used in corrosion measurements:

- corrosion potentials E_{CORR} detection in open potentiostat loop (OCP);

- polarization curves in the range of +20 mV and -20 mV round $E_{\rm CORR}$ with 1 mV/s potential scan (Stern-Geary method);

- quasi-stationary characteristics in wide polarization potentials range with 1 mV/s potential scan (CV in potentiostatic condition);

- impedance characteristics with sinusoidal signal (E_{AC} = 10 mV) in the frequency range from 10000 Hz to 0.01 Hz (EIS).

Electrochemical investigations as well as STM and ECSTM in situ in one electrolytic cell guarantee the same conditions of measurements [9]. The SEM-EDX and AFM measurements were performed in the independent ex situ systems.

Results

Corrosion potentials measurements

Corrosion potentials E_{CORR} were measured in open potentiostat loop (OCP): for Ti samples after "full" prepara-

	Ti		Ti z warstwami NCD Ti with NCD layers		Ti z warstw TiC Ti with TiC layer	
Roztwór Solution	przed anodow polaryzacj before anodic polarization	po anodowej polaryzacji after anodic polarization	przed anodow polaryzacj before anodic polarization	po anodowej polaryzacji after anodic polarization	przed anodow polaryzacj before anodic polarization	po anodowej polaryzacji after anodic polarization
0.1 M KBr	-0.38±0.03	0.20±0.33	0.15±0.04	0.34±0.06	0.18±0.10	0.75±0.03
0.1 M KCI	-0.31±0.02	0.44±0.02	0.19±0.02	0.72±0.08	-	-
Tyrode	-0.38±0.02	0.36±0.04	0.17±0.02	0.63±0.02	0.03±0.02	0.93±0.03

TABELA 3. Potencjały korozyjne Ti, Ti/NCD i Ti/ TiC. TABLE 3. Corrosion potentials of Ti, Ti/NCD and Ti/TiC.

badanych roztworach;

- po polaryzacji anodowej wszystkie potencjały korozyjne przesuwały si w stron bardziej dodatnich warto ci.

Pomiary woltamperometryczne i korozji w erowej

Pomiary woltamperometryczne we wszystkich badanych roztworach były wykonywane w klasycznym trójelektrodowym, potencjostatycznym układzie poł cze . Korozj w erow zaobserwowano dla takiego układu poł cze jedynie w roztworze 0,1 M KBr. Dodatkowe pomiary korozji w erowej w roztworze 0.1 M KCI były wykonywane z zastosowaniem specjalnego, dwuelektrodowego układu. Układ ten zabezpieczał programowan szybko zmian napi cia mi dzy elektrod pomocnicz a elektrod robocz .

Otrzymane charakterystyki woltamperometryczne dla niektórych badanych próbek i roztworów przedstawione s na RYS. 1.

Kształt charakterystyk woltamperometrycznych, szczególnie dla Ti z warstwami NCD (RYS.1a), nie pozwala na wyznaczenie parametrów korozyjnych z zastosowaniem metody krzywych Tafela.

We wszystkich badanych roztworach stwierdzono wyst powanie wysokich pików pr dowych na elektrodach Ti z warstwami NCD przy potencjale polaryzacji E = ~ 2 V (RYS. 1b). Te piki zwi zane s z reakcjami anodowymi we wszystkich prostych elektrolitach zawieraj cych aniony Cli Br. Obserwowane reakcje mo na opisa bazuj c na modelu p kni i uszkodze pokrycia z nanokrystalicznego diamentu i odsłoni cia tym samym powierzchni TiC. Zachodz ce anodowe reakcje mo na przedstawi w postaci nast puj cego, przykładowego schematu:

 $TiC \xrightarrow{Cl^{-}, H_2O} TiO_2 + \uparrow Cl_2 + \uparrow CO_2$

Taki sam pik pr dowy był obserwowany w roztworze Tyrode'a. W tym roztworze mo e by zaproponowany podobny schemat zachodz cych procesów.

Na krzywych polaryzacyjnych Ti z warstw TiC zostały zmierzone w roztworze 0,1 M KBr potencjały przebicia E_b i repasywacji E_{rep} . Potencjał E_b jest nieodtwarzalny (patrz ni ej), natomiast potencjał E_{rep} jest powtarzalny dla wielu próbek, niezale nie od sposobu ich przygotowania. Potencjał ten okre la wyga ni cie reakcji procesów korozyjnych, zwi zanych z elektroroztwarzaniem czystego Ti.

Na RYS. 2a pokazane s typowe charakterystyki woltamperometryczne Ti w roztworach 0,01 M i 0,1 M KBr, z wyra nie zaznaczon korozj w erow . Natomiast na RYS. 2b pokazane s analogiczne charakterystyki dla jednej badanej próbki Ti, lecz w kolejnych cyklach polaryzacji anodowej. Jak wida , potencjał przebicia po ka dej anodowej polaryzacji przesuwa si coraz bardziej w stron bardziej dodatnich warto ci. tion, for Ti with NCD layers and additionally for Ti with TiC. E_{CORR} values were detected before electrochemical treatment and after anodic polarization in all investigated electrolytic solutions. In TABLE 3 there are presented average values for E_{CORR} obtained vs. reference calomel electrode.

Upon analysis following regularities may be detected: - corrosion potentials for Ti with NCD and TiC layers have been more positive then for Ti in all investigated solutions; -after anodic polarization all corrosion potentials have shifted to more positive values.

Voltametric and pitting corrosion measurements

In all investigated solutions the voltammetric measurements were carried out in typical three-electrodes potentiostatic condition. In this condition only in 0.1 M KBr solution pitting corrosion could have been observed. Additional pitting corrosion measurements in 0.1 M KCI were done using special two-electrodes connection. This connection saved a programmed voltage slope between a counter and working electrodes.

FIG. 1 presents obtained voltammetric characteristics of some investigated samples and solutions.

The course of voltammetric characteristics, especially for Ti with NCD layers (FIG.1a), does not allow calculation of corrosion parameters employing Tafel slope method.

In all investigated solutions the high current peaks at the potential E=~2 V (FIG.1b) on Ti with NCD layers were detected. These peaks illustrate the anodic reactions in all simple electrolytes containing CI and Br anions. Observed reactions can be described base on the model of cracked or defected Nanocrystalline Diamond cover, and exposition of the TiC surface. On this latter surface the following anodic reactions can be presented as an example in the form of the following scheme:

$$\operatorname{TiC} \xrightarrow{\operatorname{Cl}^{-},\operatorname{H}_{2}\operatorname{O}} \xrightarrow{\operatorname{TiO}_{2}} + \cap \operatorname{Cl}_{2} + \cap \operatorname{CO}_{2}$$

The same current peak was observed in Tyrode's solution. The proposal of the processes presented above can be in Tyrode's solution similar.

On the Ti polarization curves with TiC layer in 0.1 M KBr solution there were detected a breakdown E_b and repassivation E_{rep} potentials. E_b potential is not repeatable (see below), whereas, apart from their preparation, E_{rep} is repeatable for many samples. Potential E_{rep} determines an extinction of corrosion processes joined with Ti electrodissolution.

FIG. 2a shows typical voltammetric characteristics of Ti sample in 0.01 M and 0.1 M KBr solutions with distinct pitting corrosion. FIG.2b presents analogous characteristics of one of the investigated Ti sample, but in consecutive anodic polarization cycles. As can be see, breakdown potential is shifted to more positive values after each anodic polarization.

In Ti investigations was stated a fact that breakdown potential E_b strongly depend on surface preparation. It seems that the significance attributed to measurements of this

50



RYS. 1. Charakterystyki woltamperometryczne Ti i Ti z warstwami NCD w a) roztworze 0,1 M KCI i b) roztworze Tyrode'a.

FIG. 1. Voltammetric characteristics of Ti and Ti with NCD layers a) in 0.1 M KCl and b) in Tyrode's solutions.

potential is not fully justified.

In FIG. 3, SEM structure and SEM-EDX elements composition of surface inside and outside of pit, after pitting corrosion of Ti in 0.1 M KBr, are presented.

The presence of Br inside the pits was detected. Similarly, after corrosion investigations in 0.1 M KCl solution the pres-



RYS. 2. Krzywe anodowej polaryzacji elektrody Ti w a) roztworach KBr o st eniach 0,01 M i 0,1 M oraz b) kolejne charakterystyki z potencjałami przebicia w roztworze 0,1 M KBr.

FIG. 2. Anodic polarization curves of Ti electrode a) in 0.01 M and 0.1 M KBr solutions and b) the consecutive breakdown potential characteristics in 0.1 M KBr solution.

W badaniach próbek Ti stwierdzony te został fakt, e potencjał przebicia silnie zale y od sposobu przygotowania powierzchni. Wydaje si, e du e znaczenie w badaniach biomateriałów przypisywane pomiarom tego potencjału nie w pełni jest uzasadnione.

Na RYS. 3 przedstawione s struktura i pierwiastkowy skład powierzchniowy Ti, otrzymane technik SEM i SEM-EDX, wewn trz i na zewn trz w eru, po korozji w roztworze 0,1 M KBr.

W warstwie wierzchniej wewn trz w eru stwierdzono obecno Br. Podobnie, przy badaniu korozji w roztworze 0,1 M KCI stwierdzono obecno CI. wiadczy to o tworzeniu si podczas wzrostu w eru lepiej lub gorzej rozpuszczalnych zwi zków Ti z wy ej wymienionymi jonami halogenkowymi. Przyczyn tak du ej podatno ci na korozj w erow nale y szuka w silnej specyficznej adsorpcji tych jonów na powierzchni badanej próbki [10]. ence of CI was detected. It confirms that, with these halide ions, during creation of pits soluble and insoluble Ti compounds are formed. Specific, strong adsorption of those ions on sample surface is the reason for pitting corrosion [10].

Scanning tunneling microscopy and atomic force microscopy measurements

Scanning tunneling microscopy is very difficult to employ for Ti investigations after corrosion. Obtained STM pictures can not be unequivocally interpreted as surface topography. The reason for this is a big resistance of TiOlayer, which determines a tunneling current flowing between scanning tip and measuring sample. Using STM only a thin NCD layers can be investigated. Thicker NCD layers (above 50 nm) are an insulator for tunneling current and make it impossible to apply STM for investigations of such samples. FIG. 4a shows an exemplary surface topography of Ti with thin NCD layer before corrosion. STM can only be used for determination of topography of the inner part of the corrosion pit, as this part is often bulk metal covered with thin oxide layer. FIG. 4b presents a surface of the bottom part of a pit which was formed in 0.1 M KBr solution.

Atomic force microscopy, on the other hand, is very useful in corrosion investigations. Applying this technique, measurements of surface topography of sample, apart from its conductivity, are possible. With additional oscillations of cantilever is applied in AFM a phase contrast. Phase con-



RYS. 3. Obraz SEM w eru korozyjnego na powierzchni Ti i skład pierwiastkowy SEM-EDX tej powierzchni po korozji w roztworze 0,1 M KBr. FIG. 3. SEM picture of corrosion pit in Ti surface and SEM-EDX element composition of this surface after corrosion in 0.1 M KBr solution.

Pomiary metodami skaningowej mikroskopii tunelowej i mikroskopii sił atomowych

Skaningowa mikroskopia tunelowa jest bardzo trudna do bada elektrod Ti po procesach korozyjnych. Uzyskanych obrazów STM nie mo na jednoznacznie interpretowa jako obrazów topograficznych powierzchni. Przyczyn jest du a oporno warstwy TiO₂, wpływaj ca na pr d tunelowy płyn cy mi dzy skanuj c igł a badan próbk . Technik STM mo na mierzy jedynie cienkie warstwy NCD. Warstwy grubsze (powy ej 50 nm) stanowi izolacyjn barier dla pr du tunelowego i uniemo liwiaj zastosowanie STM do badania takich powłok. RYS. 4a pokazutrast allows detecting specific physical properties such as hardness and flexibility changes, and attributed chemical properties. FIG. 5 is an example of surface topography of Ti with NCD layers after pitting corrosion in 0.1 M KBr solution - pictures a) and b) show topography and phase contrast respectively. In bottom left corner of the contrast phase picture there can be seen a pit which is clearly distinguished from the rest of the surface.

Electrochemical impedance spectroscopy measurements

Electrochemical impedance characteristics, describing phase boundary electrolyte | investigated sample, were measured after immersing the sample in solution and having achieved equilibrium conditions, and after anodic polarization cycle. In both cases the measurements were collected at $E_{\rm cORR}$ potential in frequency range from 10 mHz to 10 kHz, with harmonic signal $E_{\rm AC}$ =10 mV. FIG.6 presents results obtained for Ti and Ti with NCD layers (to results elaboration frequency was restricted to 0.05 Hz). It can be see that all characteristics are similar to the typical Ti characteristics with oxide layer [11]. FIG.6d presents equivalent electrical circuit fitting obtained experimental data.

The circuit was the same for all investigated samples and solutions. It contained uncompensated electrolyte resistor Rs, two identical branches of constant phase elements CPE1 and CPE2, and resistors R1 and R2, connected in series. Given presented results resistor Rs was in the range 100 w- 240 w, CPE1-T in the order of 10-6 and CPE1-P incorporated between 0.8 and 1. The CPE1-P values near 1 testify that CPE1-T is similar to differential electrical double layer capacitance of electrolyte | oxide Ti layer boundary. This assumption confirms that R1 values that are in the order of 10^6 w , 10^7 w. CPE2 and R2 elements have not unequivocal interpretation - these elements can describe an oxide layer | bulk Ti boundary.

Summarizing - impedance characteristics of Ti and Ti



RYS. 4. Obrazy STM: a) Ti z warstwami NCD przed korozj , b) Ti po korozji w roztworze 0.1 M KBr; pomiary w powietrzu, igła skanuj ca Pt(90)Ir(10), E_{τ} =+1,0 V, I_{τ}=+1,0 nA. FIG. 4. STM images: a) Ti with NCD layers - before corrosion, b) Ti after corrosion in 0.1 M KBr solution; measurements in air, tip Pt(90)Ir(10),

E₇=+1.0 V, I₇=+1.0 nA.

je topografi Ti z cienk warstw NCD przed procesami korozyjnymi. STM mo e by zastosowany do okre lenia topografii wn trza w eru, poniewa wn trze to bardzo cz - sto jest czystym metalem pokrytym cienk warstw tlenku. Na RYS. 4b jest przedstawione dno w eru, który powstał w roztworze 0,1 M KBr.



RYS. 5. Obrazy AFM Ti z warstwami NCD po korozji w roztworze 0,1 M KBr: a) topografia i b) kontrast fazowy; pomiary w powietrzu, tryb oscylacyjny.

FIG. 5. AFM images of Ti with NCD layers after corrosion in 0.1 M KBr solution: a) topography and b) phase contrast; measurements in air, tapping mode.



Bardzo przydatn do bada korozyjnych jest mikroskopia sił atomowych. Technika ta pozwala bada topografi próbki niezale nie od jej przewodnictwa elektrycznego. W AFM, przy zastosowaniu dodatkowego oscylacyjnego wzbudzenia d wigni, mo liwe jest u ycie metody kontrastu fazowego. Kontrast fazowy pozwala na detekcj specyficznych wła ciwo ci fizycznych próbki, takich jak zmiana twardo ci, elastyczno ci oraz zwi zanych z nimi wła-

ciwo ci chemicznych. Przykład analizy powierzchni próbki Ti warstwami NCD po korozji w erowej w roztworze 0,1 M KBr przedstawiony jest na RYS. 5 - obrazy a) i b) pokazuj odpowiednio topografi i kontrast fazowy. W lewym dolny rogu widoczny jest w er, wyra nie odró niaj cy si od pozostałej powierzchni, szczególnie w kontra cie fazowym.

Pomiary elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej

Charakterystyki impedancyjne EIS, opisuj ce wła ciwoci elektrochemiczne granicy faz roztwór elektrolitu | badana próbka, wykonywane były po zanurzeniu próbki do roztworu i ustaleniu si warunków równowagowych oraz po polaryzacji anodowej. W obu przypadkach pomiary wykonywano w potencjale E_{CORR} w zakresie cz stotliwo ci od 10 with NCD layers, before and after anodic polarization are similar and do not the important influence of NCD layers on electrochemical and corrosion properties of Ti samples.

Final conclusions

The basic information concerning biomaterials and the results of Ti and Ti with NCD layers investigations presented above may be summarized as follows:

1. The implants immersed in human tissue must be carefully selected as "ideal" materials of the highest quality;

2. Titanium, titanium alloys and titanium covered by Nanocrystalline Diamond layers deposited by means of High Frequency Plasma in High Vacuum atmosphere of CH_4 express high biocompatibility and show no negative responses from the human organism;

3. General corrosion of titanium and titanium based details are rather very small in fluids of the human body, but the specific pitting corrosion can occur, especially in the presence of halide anions like Cl⁻ or Br;

4. The surface of Ti, Ti with NCD and TiC layers is described by the same electrical equivalent circuit according

mHz do 10 kHz, z sygnałem harmonicznym $E_{AC} = 10$ mV. Otrzymane rezultaty dla Ti i Ti z warstwami NCD dla poszczególnych roztworów przedstawione s na RYS.6 (do opracowania wyników zakres cz stotliwo ci ograniczony został do 0,05 Hz). Nale y zauwa y , e wszystkie charakterystyki impedancyjne s podobne do typowych charakterystyk Ti z warstw tlenkow [11]. Na RYS.6d przedstawiony jest te zast pczy obwód elektryczny fituj cy otrzymane dane pomiarowe.

Obwód ten był taki sam dla wszystkich roztworów i wszystkich badanych próbek. Obwód ten zawiera nieskompensowany opór elektrolitu Rs oraz dwie poł czone w szereg identyczne gał zie zbudowane z elementów stałofazowych CPE1 i CPE2 oraz rezystancji R1 i R2. Dla prezentowanych wyników warto opór Rs zawiera si mi dzy ok. 100 w a 240 w, wielko CPE1-T jest rz du 10⁻⁶, a CPE1-P jest w granicach od ok. 0,8 do 1. Takie warto ci CPE1-P wiadcz o tym, e CPE1-T odpowiada pojemno ci ró niczkowej granicy faz roztwór elektrolitu | warstwa tlenkowa Ti. Potwierdzaj to warto ci R1, które s rz du 10⁶ W , 10⁷ W. Interpretacja elementów CPE2 i R2 nie jest jednoznaczna - elementy te mog opisywa granic faz warstwa tlenkowa | materiał bazowy Ti.

Podsumowuj c mo na stwierdzi , e małe ró nice we wszystkich charakterystykach impedancyjnych - dla Ti i Ti z warstwami NCD, przed i po polaryzacji anodowej - nie pokazuj zasadniczego wpływu warstw NCD na wła ciwoci elektrochemiczne, a tym samym i korozyjne, próbek.

Wnioski ko cowe

Przedstawione wy ej informacje o ogólnych wła ciwociach biomateriałów oraz wyniki bada korozji Ti i Ti z warstwami NCD mo na podsumowa nast puj co:

1. Implanty umieszczone w tkankach ludzkich musz by selekcjonowane jako "idealne" materiały o najwy szej jako ci;

2. Tytan, stopy tytanu i tytan z warstwami nanokrystalicznego diamentu, otrzymywanymi technik RF PCVD w atmosferze CH₄, wyró niaj si wysok biokompatybilno ci i nie wykazuj negatywnej odpowiedzi organizmu ludzkiego;

3. W naturalnych roztworach fizjologicznych korozja ogólna tytanu i implantów bazuj cych na tytanie jest raczej słaba, lecz w tych roztworach mo e zachodzi lokalna korozja w erowa, szczególnie w obecno ci takich jonów jak Cllub Br;

4. Powierzchnia tytanu, tytanu z warstwami NCD i TiC mo e by przedstawiona tym samym zast pczym obwodem elektrycznym, zgodnym z danymi literaturowymi;

5. Metody nanoelektrochemiczne s u yteczne do obserwacji w skali nanometrycznej efektów korozji lokalnej zachodz cej w obszarze krystalograficznej dyslokacji. Nanow ery mog by traktowane jako ogniska inicjuj ce lokaln destrukcj materiału implantowego.

Podzi kowania

Badania były finansowane z grantów 506/813 i 505/669 Uniwersytetu Łódzkiego i wspierane przez Centrum Doskonało ci NANODIAM (Program Fundacji Brukselskiej) Politechniki Łódzkiej.

.

to literature data;

5. The nanoelectrochemical methods are very useful in observations of the local corrosion effects, in nanometric scale, occurring in crystalline dislocation area. The nanopits can be treated as beginning of dangerous local destruction of the implant material.

Acknowledgements

This study was financed by 506/813 and 505/669 grants from the University of Lodz and supported by Centre of Excellence NANODIAM (Brussel's Foundation Programme) in Technical University of Lodz.

Pi miennictwo References

[1] Mitura S., Mitura A., Niedzielski P., Couvrat P.; Nanocrystalline Diamond Coatings, Chaos, Solitons & Fractals Vol. 10, No. 12 (1999) pp. 2165-2176.

[2] Mitura S., Mitura A., Niedzielski P. and Couvrat P.; Nanocrystalline Diamond Coatings, in "Nanotechnology in Material Science", Ed. S. Mitura, Elsevier (2000).

[3] Grant D. M., Mccoll I. R., Golozar M.A., Wood J. V. and Braitwhaite N. St. J.; Plasma assisted CVD for biomedical applications, Diamond and Rel. Mater. 1 (1992) pp. 727.

[4] Couvrat P., Denis M., Langer M., Mitura S., Niedzielski P., and Marciniak J.; The corrosion tests of amorphous carbon coatings deposited by r.f. dense plasma onto steel with different chromium contents, Diamond and Rel. Mater. 4 (1995) pp. 1251-1254.

[5] Mitura S., Niedzielski P., Jachowicz D., Langer M., Marciniak J., Stanishevsky A., Tochisky E., Louda P., Couvrat P., Denis M. and Lourdin P.; Influence of carbon coatings origin on the properties important for biomedical application, Diamond and Rel. Mater. 5 (1996) pp. 1185-1188.

[6] Mitura E., Niedzielska A., Niedzielski P., Klimek L., Rylski A., Mitura S. and Moll J. and Pietrzykowski W.; The properties of carbon layers deposited onto titanium substrates, Diamond and Rel. Mater. 5 (1996) pp. 998-1001.

[7] Long M. and J. Rack H.; Titanium alloys in total joint replacement - a materials science perspective, Biomaterials 19 (1998) pp. 1621-1639.

[8] Keun-Taek Oh, Kyoung-Nam Kim, Min Lee, Yong Soo Park; In Vitro Corrosion Resistance of Orthodontic Super Stainless Steel Wire. The Effects of Stress Relieving Heat-Treatment, J. Electrochem. Soc. 149 (2002) pp. B414-B421.

[9] Scholl H., Blaszczyk T., Leniart A. and Niedzielski P.; Investigations of Electrochemical Properties of Titanium and Titanium Covered by Nanocrystalline Diamond Coatings Used for Biomedical Applications, The 203rd International Meeting of

the Electrochemical Society Inc., France, Paris, April 27 - May 2, 2003.

[10] Basame S. B. and White H. S.; Pitting Corrosion of Titanium. The Relationship Between Pitting Potential and Competitive Anion Adsorption at the Oxide Film/Electrolyte Interface, J. Electrochem. Soc. 147 (2000) pp. 1376-1381.

[11] Ibris N., Rosca J. C. M.; EIS study of Ti and its alloys in biological media, J. Electroanal. Chem. 526 (2002) pp. 53-62.

••••• POTENCJAŁ KONTAKTO -WY WODA: BIOMATERIAŁ

A. SokoŁowska*, S. MITURA*, T. WIERZCHO ** P. NIEDZIELSKI*, K. ORLI SKA***, P. SAWOSZ***

*INSTYTUT IN YNIERII MATERIAŁOWEJ, POLITECHNIKA ŁÓDZKA **WydziaŁIn ynierii MateriaŁowej, POLITECHNIKA WARSZAWSKA ***WydziaŁFizyki, Politechnika Warszawska

Streszczenie

W pracy przedstawiono warto ci potencjału na styku woda i biomateriał (platyna, grafit, stop Ti6Al4V, stop Ti6Al4V/TiN, stop Ti6Al4V/NCD, Si typu"p", Si typu"n"). Wyniki wskazuj, e warto i znak potencjału kontaktowego s wielko ciami istotnie charakteryzuj cymi dany materiał w stanie wyj ciowym.

Słowa kluczowe: potencjał kontaktowy, Ti6Al4V, TiN, NCD

Wst p

Ładunek elektryczny, który powstaje na zł czu dwóch ciał ró ni cych si prac wyj cia elektronu nadaje tej powierzchni potencjał kontaktowy charakterystyczny dla danego zł cza. Potencjał ten jest pierwotnym czynnikiem determinuj cym przypowierzchniowe zjawiska dyfuzji i unoszenia, ostatecznie kształtuj ce jego warto . W przypadku gdy zł cze tworzy ciało stałe i elektrolit, potencjał ciała stałego opisuje wzór Nernsta, i po rednio potencjał elektrokinetvcznv.

Warto i znak potencjału kontaktowego wpływa na adhezj wszystkich cz stek znajduj cych si w elektrolicie obdarzonych ładunkiem elektrycznym (jonów i cz steczek polarnych, o grupach funkcyjnych elektrodonorowych i/lub akceptorowych). Mo na zatem przyj , e przyleganie wybranych białek, a tak e receptorów komórek do powierzchni biomateriałowego implantu jest pod silnym wpływem jego potencjału kontaktowego i mo na uzna ten potencjał jako wielko charakteryzuj c biomateriał. Wpływ potencjału lub ładunku elektrycznego na adhezj białek został uwzgl dniony w pracach [1, 2], komórek [3] i trombogenno ci biomateriałów [4, 5].

Celem przeprowadzonych bada było okre lenie potencjału kontaktowego wybranych materiałów z wod, jako wielko ci niezale nej od rodzaju elektrolitu, charakterystycznej tylko dla badanego ciała stałego, pozostaj cej jednak w zwi zku z zastosowaniem materiału w rodowisku organizmu ywego. Cz steczki wody s w przypadku implantu pierwszymi adherentami. W szczególno ci badania miały na celu okre lenie wpływu modyfikacji powierzchniowej materiału na jego potencjał kontaktowy.

Cz do wiadczalna

Do bada zastosowana została woda redestylowana i materiały zestawione w TABELI 1.

Warstwa TiN została wytworzona przez azotowanie jonowe pr du stałego stopu w temperaturze 800°C. Warstwa składa si z powłoki TiN - Ti₂N - N(Ti_a) + N(Ti_b) [6]. Warstwa diamentowa została wytworzona przez piroliz CH₄ w

CONTACT POTENTIAL WATER: BIOMATERIAL

A. Sokołowska*, S. MITURA*, T. WIERZCHO ** P. NIEDZIELSKI*, K. ORLI SKA***, P. SAWOSZ***

*INSTITUTE OF MATERIALS ENGINEERING, TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ **FACULTY OF MATERIALS ENGINEERING, TECHNICAL UNIVERSITY OF WARSAW ***FACULTY OF PHYSICS, TECHNICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Abstract

The paper deals with value of potential at the contact : water and biomaterial (Platinum, Graphite, Ti6AI4V / TiN, Ti6AI4V / NCD, Ti6AI4V, Si "p-type", Si "n-type"). The results point out, that the value and the sign of contact potential essentially characterise the material in initial state.

Key words: contact potential, Ti6Al4V, TiN, NCD

Introduction

The electric charge produced at the contact between two bodies with differing electron work functions creates, at the interface between these two bodies, a certain potential characteristic of this contact. This potential is the primary factor that determines the near-surface diffusion and convection phenomena which, in turn, establishes its final value. If the contact exists between a solid body and an electrolyte, the potential of the solid body is defined by the Nernst formula and, indirectly, by the electro-kinetic poten-

The value and the sign of the contact potential influence the adhesion of all the electric charge carrying particles that are present in the electrolyte (ions and polar molecules of the electro-donor and/or acceptor character). Hence we can assume that the adherence of the selected proteins, and also the cell receptors, to the surface of an implant strongly depends on the contact potential. This, therefore, can be taken to be a characteristic parameter of this biomaterial. Effect of the potential, or the electric charge, onto the adhesion of proteins has been described in refs. [1,2], of cells in refs [3] and its effect on thrombogeneity of biomaterials - in refs. [4,5].

The aim of the present study was to determine the contact potentials induced at the contact between water and certain selected materials, treating the value of this potential as a quantity independent of the kind of the electrolyte but characteristic of the solid body itself, although also related with the contact of this material with the environment of a living organism. In the situation of an implant, its primary adherents are the particles of water. The study was in particular concerned with examining how the contact potential of an implant material can be affected by surface modifications of this material.

Experimental

The materials used in the experiments were re-distilled water and the materials listed in TABLE 1

The TiN coating was produced on the alloy by subjecting it to D.C. ion nitriding at a temperature of 800°C, and

Platyna			
Grafit EK-50 Ringddorffa			
o zawarto ci popiołu <150 ppm			
Graphite EK-50 with the ash content <150ppm,			
delivered by Ringsdorff Co'			
Krzem typu p o oporno ci 5 $^{\div}$ 7 Ω cm			
Silicon, p-type, with a resistivity 5 ÷ 7 Ω cm			
Krzem typu n o oporno ci 0,5 Ω cm			
Silicon, n-type, with a resistivity 0.5Ω cm			
Stop Ti6Al4V			
Ti6Al4V alloy			
Stop Ti6Al4V pokryty warstw TiN-Ti2N-N(Ti) (TiN)			
Ti6AI4V alloy coated with a TiN-Ti2N-N(Ti) (TiN) layer			
Stop Ti6Al4V pokryty warstw diamentow (NCD)			
Ti6AI4V alloy coated with a diamond layer (NCD)			

TABELA 1. Badane ciała stałe. TABLE 1. Solids examined during the present experiments.

plazmie w. cz. Warstwa składa si z nanokrystalicznego diamentu [7].

Układ pomiarowy składał si z uchwytu dla próbek i elektrody odniesienia, któr była minielektroda kalomelowa EK-602 o potencjale 223±5 mV. Miernikiem ró nicy potencjałów był elektroniczny woltomierz Mera typ U722A o oporze wewn trznym R_w =10⁹ W.

Wyniki

W TABELI 2 zestawione s zmierzone potencjały kontaktowe w odniesieniu do umownej warto ci potencjału nasyconej elektrody chinhydrynowej zgodnie z Konwencj Genewsk .

Pomiary wykazywały do du y rozrzut warto ci wyników, które mo na cz ciowo wytłumaczy bł dami w jakoci kontaktów i czuło ci pomiaru na stan chemiczny powierzchni.

Podsumowanie

Badania wykazały, e potencjały kontaktowe materiał/woda silnie ró ni si mi dzy sob dla ró nych materiałów i mo na przyj ten potencjał za wielko dobrze charakteryzuj c stan wyj ciowy układu implant/płyny ustrojowe. Porównuj c potencjały kontaktowe woda/ró ne materiały z potencjałami mierzonymi w badaniach korozyjnych w ró nych o rodkach mo na oceni zjawiska adhezyjne zachodz ce przy elektrodach, zale ne tylko od rodzaju elektrolitu.

Poniewa potencjał kontaktowy wielu komórek oraz białek z płynami ustrojowymi jest ujemny [8], mo na na podstawie znajomo ci potencjałów kontaktowych biomateriałów, prognozowa bioaktywno implantów.

Podzi kowania

Praca finansowana jest przez Komitet Bada Naukowych - projekt badawczy nr 7 T08D03621 was composed of TiN - Ti_2N - $N(Ti_a)$ + $N(Ti_b)$ layers, [6]. The diamond coating was produced by the pyrolysis of CH₄ in a high frequency plasma and consisted of nanocrystalline diamond [7].

The measuring system included a sample holder and an EK-602 calomel chinhydrine minielectrode of the potential +223±5mV which was taken to be the reference electrode. The potential difference was measured using a "MERA"4722A electronic voltmeter with the internal resistance $R_i = 10^9$ W.

Materiał Material	Potencjał Potential [mV]	Bł d Error [%]	(ch
Platyna Platinum	+524	20	ptorow
Grafit Graphite	+304	20	troakce
Stop / Alloy Ti6Al4V / TiN	+239	20	ci elekt
Stop / Alloy Ti6Al4V / NCD	+184	20	la ciwo
Si "p"	-136	10	st w
Stop / Alloy Ti6Al4V	-220	40	Wzro
Si "n"	-266	10	

TABELA 2. Potencjały kontaktowe układu H₂O - biomateriał.

TABLRE 2. Contact potentials H₂O - biomaterial.

Results

TABLE 2 gives the measured values of the contact potential referred to the reference value which, according to the Geneva Convention, was taken to be the potential of the chinhydrone electrode.

The measured values show a pretty wide spread, which can partially be attributed to the inaccuracies in the contact areas and to the sensitivity of the measuring system to the chemical state of the surface.

Conclusions

The experiments have shown that the material/water contact potential greatly differs from one material to another, and that it can be taken to be a characteristic parameter of the initial state of the implant/body-fluids system. By comparing the contact potentials of biomaterials/water with the potentials measured in contact with other electrolytes (in corrosion measurements), we can anticipate which of the adhesion phenomena that proceed at the electrodes depend on the kind of the electrolyte alone.

Knowing that the contact potential of many body cells and proteins in contact with physiological fluids is negative [8], we can anticipate the bioactivity of implants by determining their contact potentials.

Aknowledgements

Investigations are supported by Polish Committee for Scientific Research - project No: 7 T08D03621

Pi miennictwo

56

[1] J. D. Andrade, V. Hlady, L. Feng, K. Tingcy, "Interfacial Phenomena" J. Dekker N. York 1994.

[2] W. Norde, Adv. Colloid Interface Sci. 25 (1986) 267.

[3] R. F. Valentini, T. G. Vargo, J. A. Gardelle, P. Aebisher "Electrically charged polymeric substrates enhance nerve fibre outgrowth in vitro" Biomaterials 13 (1992) 183.

[4] J. W. Park "The Biocompatibility" Plenum Press N. York 1986[5] B. Adam Biomaterials 18 (1997) 107.

POMIARY PŁYNNO CI I MIKROLEPKO CI ELEMENTÓW MORFOTYCZNYCH KRWI U OSÓB ZE SZTUCZN ZASTAWK SERCA

Marta Szyller-Tracz, Izabella akowska, Krzysztof Jó wik

Politechnika Łódzka, Instytut Maszyn Przepływowych Zespół Aparatury Medycznej ul. Wólcza ska 219/223, 93-005 Łód , Polska

Streszczenie

Warstwa Nanokrystalicznego Diamentu (NCD) została wykorzystana w przypadku protez/urz dze maj cych kontakt z komórkami krwi (np.: sztuczne zastawki serca). Warstwy w glowe wykazuj dobre wła ciwo ci biozgodno ci oraz hemozgodno ci.

W prezentowanych badaniach u yta została technika spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) do pomiarów płynno ci i lepko ci wn trza elementów morfotycznych, w szczególno ci erytrocytów. Parametry (opisuj ce płynno lipidów błonowych) zostały okre lone na podstawie widm EPR. Zmiany w płynno ci lipidów błonowych i lepko ci wn trza krwinek czerwonych zostały zbadane przy pomocy spektroskopii EPR przy u yciu znaczników spinowych: trzech kwasów tłuszczowych (kwasów 5-, 12-, 16-doksylostearynowych) oraz Tempaminy.

Celem niniejszej pracy było przedstawienie metod pomiaru parametrów krwinek czerwonych oraz opracowanie statystyczne uzyskanych wyników. Prezentowane metody mog zosta u yte do zbadania oddziaływa warstwy NCD z komórkami krwi.

Przepływ przez sztuczn zastawk serca jest zwi zany z wyst powaniem wi kszych warto ci napr e cinaj cych działaj cych na powierzchni komórek oraz w konsekwencji zmian w strukturze lipidów i białek plazmatycznych. Zmiany w płynno ci lipidów błonowych krwinek czerwonych (RBC) mog obni a ich deformacj oraz zwi ksza ich agregacj, a w konsekwencji mog prowadzi do zmian wła ciwo ci reologicznych krwi ludzkiej.

Słowa kluczowe: sztuczna zastawka serca (AHV), krwinki czerwone (RBC), erytrocyty, płynno lipidów błonowych. [6] E. Czarnowska, T. Wierzcho, A. Maranda, "Improvement of titanium alloy for biomedical applications by nitriding and carbonitriding processes under glow discharge conditions" J. of Mat. Sci.: Materials in Medicine 11 (2000) 73.

[7] S. Mitura "Nanocrystalline diamond for medicine" Proc. SPIE Solid State Crystals in Optoelectronics a Semiconductor Technology 3179 (1997) 79.

[8] J. Marciniak "Biomateriały" Wyd. P. I. Gliwice 2002.

MEASUREMENTS OF FLUIDITY AND MICROVISCOSITY OF MORPHOTIC ELEMENTS OF PATIENTS WITH AN ARTIFICIAL HEART VALVE

Marta Szyller-Tracz, Izabella akowska, Krzysztof Jó wik

TECHNICAL UNIVERSITY OF ŁÓD , INSTITUTE OF TURBOMACHINERY DIVISION OF MEDICAL APPARATUS 219/223 WÓLCZA SKA ST. 93-005 ŁÓD , POLAND

Abstract

Nanocrystalline Diamond Coatings (NCD) have been developed for blood cell contacting-implants/devices (e.g. artificial heart valves). Carbon surfaces have good biocompatibility and haemocompatibility.

In this study the technique of electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy was used for measurements of fluidity and interanal viscosity of morphotic elements, especially erythrocytes. Parameters (describing the membrane lipid fluidity) were determined using EPR spectra. Changes in the membrane lipid fluidity and internal viscosity of red blood cells were examined by means of EPR spectroscopy using spin labelled: three fatty acids (5-, 12-, 16doxylstearic acids) and Tempamine.

The aim of this study was to present the method of measurements of red blood cells and the statistical post-processing of the obtained results. These methods could be used to examine interactions between a NCD layer and blood cells.

The blood flow through an artificial heart valve is connected with high values of the shear stress as acting on cell surfaces and, in consequence, by changes in the structure of membrane of lipids and proteins. Changes in plasma membranes of red blood cells (RBC) can decrease their deformation and increase their aggregation and, in consequence can lead to alterations in the rheological properties of human blood.

Key words: artificial heart valve (AHV), red blood cells (RBC), erythrocytes, membrane lipid fluidity.

Wprowadzenie

W ostatnich latach na całym wiecie, w centrum zainteresowa znajduj si nowe biomateriały [1, 2]. W giel w postaci warstwy diamentowej (nanokrystalicznego diamentu -NCD) posiada atrakcyjne wła ciwo ci w zastosowaniach biomedycznych [3]. Powierzchnie implantów medycznych, wykonane z tych biomateriałów, mog by bardziej biozgodne wobec organizmu człowieka. Zastosowania nowych warstw do implantów (sztucznych zastawek serca) ma wpływ na długo terminowe biologiczne oddziaływania z tkankami je otaczaj cymi. Badania implantów potwierdziły, i biozgodno implantu mo e zosta poprawiona poprzez pokrycie go warstw NCD (Nanokrystaliczny Proszek Diamentowy posiada wła ciwo ci antyutleniaj ce wobec osocza krwi) [4].

Głównym celem niniejszej pracy było przedstawienie metod pomiaru parametrów krwinek czerwonych oraz opracowanie statystyczne uzyskanych wyników. Prezentowane metody mog zosta u yte do badania oddziaływa warstwy NCD z komórkami krwi.

Sztuczna zastawka serca (AHV) kontroluje regulacj przepływu krwi w sercu. Przepływ krwi przez sztuczn zastawk serca jest zwi zany jest z wyst powaniem wi kszych warto ci napr e cinaj cych działaj cych na powierzchnie komórek, kawitacj [5, 6, 7, 8] oraz procesami zapalnymi [9, 10]. Znajomo rozkładu pr dko ci oraz pola ci nienia otaczaj cego sztuczn zastawk serca umo liwia przewidywanie odkształce komórek krwi [11].

Ci głe oddziaływania pomi dzy sztuczn zastawk serca (AHV) a elementami morfotycznymi krwi ludzkiej mog prowadzi do zmian w błonie plazmatycznej erytrocytów. W konsekwencji procesy te mog doprowadzi do zmian w strukturze lipidów oraz białek plazmatycznych. Zmiany w płynno ci lipidów błonowych krwinek czerwonych (RBC) mog wpływa na ich deformacj oraz agregacj, a w konsekwencji prowadzi do zmian wła ciwo ci reologicznych krwi.

W prezentowanych badaniach, technika spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) została u yta do pomiarów płynno ci lipidów błonowych oraz lepko ci wn trza erytrocytów ludzkich, kład c szczególn uwag na molekularny aspekt bada . Metoda ta jest oparta na zmianach kształtu linii widm EPR znaczników spinowych inkorporowanych do błony. Widma EPR charakteryzuj struktur błony plazmatycznej próbki biologicznej.

Płynno błony plazmatycznej odzwierciedla uporz dkowanie i dynamik ła cuchów fosfolipidów. Do okre lenia wpływu sztucznej zastawki serca na erytrocyty zostały u yte trzy doksylostearynowe znaczniki spinowe: (kwasy 5-, 12-, 16-doksylostearynowy), ró ni ce si poło eniem grupy nitroksydowej wewn trz warstwy oraz Tempamina. Badania pozwoliły uzyska informacje na temat płynno ci lipidów błonowych w ró nych regionach membrany [12, 13, 14]. Lepko wn trza została okre lona przy pomocy Tempaminy przy u yciu spektroskopii EPR. Podatno osmotyczna została okre lona spektrofotometrycznie przy u yciu spektrofotometru UV/Vis (Ultospec 2000 firmy Amersham Pharmacia Biotech).

Materiały i metodyka

Preparatyka erytrocytów

Erytrocyty wyizolowano z próbek krwi uzyskanych od pacjentów ze sztuczn zastawk serca oraz od osób zdrowych. Przy doborze grupy osób chorych brano pod uwag równie badania laboratoryjne. wie o pobran , heparynizowan krew, odwirowywano i separowano erytrocyty.

Introduction

New biomaterials have been of great interest for researches during past decades all over the world [1, 2]. Carbon in the form of a diamond coating (nanocrystalline diamond -NCD) has attractive properties for biomedical applications [3]. Surfaces of medical implants, which are made of these biomaterials, could be biocompatible for human body. Applications of the new coatings for implants (artificial heart valves) have an influent on the long-term biological interactions of implants with the surrounding tissues. Implant investigations has proved that implant main biomaterial biocompatibility can be improved by coating it with a NCD layer (Nanocrystalline Diamond Powder has antioxidant properties in the blood plasma) [4].

Methods of measurements of erythrocyte parameters and the statistical post-processing of obtained results have been presented and it has been the main aim of this study. These methods could be used to examine the interactions between the NCD layer and blood cells.

Artificial heart valve (AHV) controls blood flow in the heart. The blood flow through the artificial heart valve is connected with high values of the shear stresses acting on cell surfaces, cavitations [5, 6,7, 8] and inflammatory processes [9, 10]. The knowledge of the velocity distribution and the pressure field in the artificial heart valve surroundings enables one to predict a deformation of blood cells [11].

Permanent interactions between an artificial heart valve and morphotic elements of human blood can lead to changes in the plasma membrane of erythrocytes. These processes in consequence can result in changes in the structure of membrane lipids and proteins. The changes in the membrane lipid fluidity of red blood cells (RBC) can effect their deformation and aggregation, and in consequence, lead to alterations in the rheological properties of blood.

In the presented study, the technique of electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy was used for measurements of membrane lipid fluidity and viscosity of human erythrocyte, especially focused on molecular aspects of the research. The method is based on changes in the shape of EPR line-spectra of the spin probes incorporated to a membrane. These EPR spectra characterize the structure of membranes of biological samples.

Fluidity of the plasma membrane corresponds to the order and dynamics of phospholipid chains. Three doxylstearate spin labelled (5-, 12- and 16-doxylstearic acids), which differ in the location of nitroxide free radical inside the layer and Tempamine were used for determination the influence of an artificial heart valve on erythrocytes. This allowed one to obtain informations about the fluidity of different regions of the membrane [12, 13, 14]. A viscosity of the cell interior was measured using Tempamine, using also EPR spectroscopy. The osmotic fragility was determined spectrophotometrically by means of UV/Visible spectrophotometer (Ultospec 2000, Amersham Pharmacia Biotech).

Materials and methods

Red blood cell preparation

Blood samples obtained from patients with artificial heart valves and healthy donors were used to isolate red blood cells. A group with AHV was also subject to standard laboratory investigations. Fresh, heparinized blood of patients and controls was sampled, centrifuged and RBC were separated. Red blood cells were washed thrice using cooled isotonic salt buffered solution (pH equal to 7.4). Krwinki czerwone przemywano trzykrotnie ozi bionym zbuforowanym roztworem soli fizjologicznej (PBS) (pH równym 7,4).

Ocena płynno ci lipidów błonowych

Płynno lipidów błonowych (w całych komórkach) została okre lona przy u yciu trzech znakowanych kwasów tłuszczowych (kwasy: 5-, 12-, 16-doksylostearynowe). Do zawiesiny erytrocytów dodawano znacznik spinowy rozpuszczony w etanolu i inkubowano przez 30 minut w temperaturze pokojowej. Na podstawie widm znakowanych kwasów tłuszczowych inkorporowanych do lipidów błonowych krwinek czerwonych obliczano parametr (h_{+1}/h_0) (gdzie: h₊₁ oraz h₀ s odpowiednio wysoko ciami amplitud niskopolowej oraz rodkowej linii widma) [14].

wn trza krwinek czerwonych Lepko

rodowiska wewn trz erytrocytu obliczano Lepko według metody Morse'a [15] przy u yciu Tempaminy (4amino-2,2,6,6-tetramethylpiperidino-1-oksyl) jako znacznika spinowego. W celu wyeliminowania znacznika na zewn trz krwinek czerwonych pomiarów dokonywano w 5 mol/m³ PBS z 80 mol/m³ roztworem elazicjanku potasowego. Lepko wn trza komórki została okre lona poprzez porównanie ruchu znacznika spinowego w komórce do jego ruchu w wodzie:

$$\eta = \frac{\tau_{C(RBC)}}{\tau_{C(H_2O)}} \eta_{H_2O} \tag{1}$$

gdzie:

h - współczynnik lepko ci dynamicznej (współczynnik tarcia wewn trznego).

 $t_{C(RBC)}$ - rotacyjny czas korelacji wewn trz erytrocytu,

 $\texttt{t}_{\texttt{C(H2O)}}$ - rotacyjny czas korelacji w wodzie,

h_{H20} - współczynnik lepko ci dynamicznej wody w temperaturze 293K.

Warto rotacyjnego czasu korelacji (tc), odzwierciedlaj cego ruch znacznika spinowego, została obliczona na podstawie równania:

$$\tau_c = k w_0 \left[\sqrt{\frac{h_0}{h_{-1}}} - 1 \right]$$
⁽²⁾

gdzie:

t_c-rotacyjny czas korelacji,

k = 6,5 10-10-stała,

rodkowej linii widma EPR, wo - szeroko

rodkowej linii widma EPR, h₀ - wysoko

h₋₁ - wysoko wysokopolowej linii widma EPR.

Podatno osmotyczna krwinek czerwonych

Pomiary podatno ci osmotycznej zostały wykonane dodaj c zawiesin erytrocytów do roztworów zawieraj cych ró ne st enia NaCl. Absorbancja supernatantu w odniesieniu do wody została okre lona spektrofotometrycznie przy długo ci fali 540 nm. Stopie hemolizy erytrocytów został obliczony przy pomocy zale no ci:

$$H\% = \frac{A_X - A_0}{A_W - A_0} *100\%$$
(3)

gdzie:

H% - frakcja krwinek zhemolizowanych (procent hemolizy).

A_x - absorbancja supernantu poszczególnych próbek,

A₀ - absorbancja supernantu dla st enia 155 mol/m³ NaCl, A_w - absorbancja supernantu po całkowitej hemolizie w wodzie.

Evaluation of the membrane lipid fluidity

Membrane lipid fluidity (from whole cells) was determined using three labelled fatty acids (5-, 12- and 16-doxylstearic acids). A spin label dissolved in ethanol and incubated for 30 minutes at room temperature conditions was introduced to erythrocyte suspension. On the basis of spectra of signed fatty acids incorporated into lipids of erythrocyte membranes the parameter (h_{+1}/h_0) (where h_{+1} and h_0 are the heights of amplitudes of low field and middle field lines of spectrum, respectively) was calculated [14].

Viscosity of red blood cell interior

Intracellular viscosity of erythrocytes was determined according to Morse method [15] using Tempamine (4amino-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl) as a spin label. Owing to have the spin label eliminated outside the red blood cell measurements were conducted in 80 mol/m³ potassium ferricyanide as a broadening agent in 5 mol/m³ phosphate buffer. The viscosity of the cell interior was determined by means of a comparison of the motion of spin label inside a cell and the motion of spin label in water:

$$\eta = \frac{\tau_{C(RBC)}}{\tau_{C(H_2O)}} \eta_{H_2O} \tag{1}$$

where:

h - coefficient of dynamic viscosity (the coefficient of internal friction),

 $t_{C(RBC)}$ - correlation rotating time parameter of Tempamine in erythrocyte,

 $t_{C(H2O)}$ - correlation rotating time parameter of Tempamine in water.

 $\mathrm{h}_{\mathrm{H2O}}\text{-}$ coefficient of dynamic viscosity of water at the temperature 293K.

Values of correlation rotating time parameter (tc), which reflect a motion of spin-label, were calculated according to the following equation:

$$\tau_{c} = k w_{0} \left[\sqrt{\frac{h_{0}}{h_{-1}}} - 1 \right]$$
(2)

where:

t_c-correlation rotating time parameter,

k = 6,5 10-10- constant,

w₀- width of the midfield EPR line spectrum,

h_o - height of the midfield EPR line spectrum,

h₋₁ -height of the high-field EPR line spectrum.

Osmotic fragility of red blood cells

Osmotic fragility measurements were done adding a red blood cell suspension to solutions containing various concentrations of NaCI. The absorbance of supernatant with respect to water was determined using spectrophotometry at the wavelength equal to 540 nm. The ratio of haemolysis was calculated on the basis of the following relation:

$$H\% = \frac{A_X - A_0}{A_W - A_0} *100\%$$
(3)

where:

H% - haemolysis expressed in percents,

A_x - absorbance of supernatant of particular sample,

A₀ - absorbance of supernatant for 155 mol/m³ concentration of NaCl,

A_w- absorbance of supernatant after complete haemolysis in water.

EPR measurements

EPR measurements were carried out at room temperature using Bruker ESP 300E (X-band) spectrometer.

I MĂTERIĂŁŎŴ

Pomiary EPR

Pomiary EPR zostały przeprowadzone w temperaturze pokojowej na spektrometrze firmy Bruker ESP 300E (pracuj cym w pa mie X).

Statystyczne opracowanie wyników

Istotno statystyczna w uzyskanych wynikach została okre lona przy pomocy niesparowanego t-testu.

Warto do wiadczaln obliczano na podstawie wzoru:

$$t_d = \frac{\left|\overline{x_1} - \overline{x_2}\right|}{\sqrt{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}} \sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 - 2)}{n_1 + n_2}}$$
(4)

gdzie:

 $t_{\rm d}$ - warto $% t_{\rm d}$ - obliczona na podstawie danych do wiadczalnych

 s_1^2 , s_2^2 - wariancja próby 1 lub 2, n_1 , n_2 - liczno próby 1 lub 2.

Wyniki i dyskusja

Badania krwinek czerwonych przeprowadzono przy u yciu spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR). U yto trzech znakowanych kwas*ów tłuszc*zowych: kwas 5-, 12-, 16-doksylostearynowy (5-, 12oraz 16-DS), które zostały ulokowane na ró nych gł bokociach w warstwie lipidów błonowych erytrocytów.

U pacjentów ze sztuczn zastawk serca warto płynno ci lipidów błonowych była znacz co wy sza dla doksylowych pochodnych: 5-DS oraz 12-DS. Aby porówna płynno lipidów błonowych krwinek czerwonych od pacjentów z AHV z grup ludzi zdrowych został obliczany parametr (h₊₁/h_o) (gdzie h₊₁ oraz ho s odpowiednio wysoko ciami niskopolowej oraz rodkowej linii widma) [16]. Parametr ten jest na wpół ilo ciowym okre leniem pomiarów elastyczno ci ła cucha acylowego i odpowiada mikrolepko ci rodowiska. Obserwowano wzrost parametru h₊₁/h₀ w krwinkach czerwonych pochodz cych od pacjentów z AHV. Wzrost tego parametru odzwierciedla wzrost płynno ci lipidów błonowych w ró nych regionach warstwy lipidowej.

Na RYSUNKU 1 pokazano istotne statystycznie zmiany w płynno ci lipidów błonowych u osób ze sztuczn zastawk serca dla kwasu 5-doksylostearynowego w porównaniu z grup kontroln (RYS. 1).

Zaobserwowano statystycznie istotny wzrost badanego parametru w hydrofobowym regionie błony erytrocytów pochodz cych od osób z AHV w porównaniu z grup kontroln (RYS. 2).

Obserwowano znacz cy statystycznie spadek płynnoci lipidów błonowych dla 16-DS (RYS. 3) [14].

Jakkolwiek, statystycznie istotny wzrost płynno ci lipidów błonowych był obserwowany tylko dla kwasów 5- i 12doksylostearynowego. Wyniki te mog wskazywa na utlenianie lipidów i/lub utlenianie białek w błon*ie eytrocytarnej.* Podobne rezultaty zostały obserwowane (wzrost w płynno ci lipidów błonowych) po interakcji t-butylowodoronadtlenku z erytrocytami [17, 18].

Lepko wn trza była znacz co wy sza w erytrocytach pochodz cych od osób z AHV (p < 0.05) (RYS. 4).

Wzrost lepko ci wn trza erytrocytów pochodz cych od ludzi z AHV wskazuje na zmiany w składowych białek cytozolowych. Badania pokazuj wzrost podatno ci osmotycznej RBC u osób chorych (RYS. 5).

Wydaje si, e wi ksza płynno lipidów błonowych erytrocytów mo e prowadzi do ułatwionej odkształcalno ci tych komórek w kr eniu podczas ich przepływu przez naczynia u pacjentów z AHV.

Statistical analysis

The statistical significance of obtained results was determined using unpaired t-test. The experimental value was calculated on the basis of equation:

$$t_d = \frac{\left|\overline{x_1} - \overline{x_2}\right|}{\sqrt{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}} \sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 - 2)}{n_1 + n_2}} \quad (4)$$

where:

 $t_{\rm d}$ - value calculated on the basis of the experimental data set,

 s_1^2 , s_2^2 - variances of the probe 1 and 2, respectively, n_1 , n_2 - the number of elements in the group 1 and 2, respectively.

Results and discussion

Red blood cells were investigated by means of electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy. RBC lipid membrane fluidity was determined. Three labelled fatty acids: 5-, 12-, 16-doksylstearic acid (5-, 12- and 16-DS), which were located at different depths in the lipid layer of the erythrocytes, were used.

The lipid membrane fluidity was higher for AHV patients as indicated by doxylderivatives 5-DS and 12-DS. For comparison of lipid membrane fluidity of healthy and AHV red blood cells the spectral parameter h_{+1}/h_0 (where h_{+1} and h_o are the heights of low-field line and middle line of the spectra, respectively) was calculated [16]. This parameter is a semiquantitative in the measurements of acyl chain flexibility corresponding to microviscosity of the environment. The increase in the h_{+1}/h_0 parameter in red blood cells of AHV patients was observed. The increase of this parameter corresponds to the increase of lipid membrane fluidity at different regions of the lipid layer.

The statistically significant changes in RBC plasma membrane lipid fluidity of patients with artificial heart valve for 5doxylstearic acid in comparison with controls are presented in FIG. 1.

One can observe a significant increase in examined parameter in hydrophobic regions of AHV RBC membranes in comparison with controls (FIG. 2).

A significant decrease in the lipid membrane fluidity for 16-DS is visible (FIG. 3) [14].

However, a significant increase in membrane lipid fluidity was observed only for 5- and 12-doxylstearic acid. These results can point out lipid peroxidation and/or protein oxidation in erythrocyte membranes. Similar results (increase in lipid membrane fluidity) were observed after interactions t-butylhydroperoxide and erythrocytes [17,18].

The viscosity of erythrocyte interior was significantly higher for artificial heart valve (AHV) patients (p < 0.05) (FIG. 4).

The increase in viscosity of RBC interior of AHV patients indicates changes in cytosol protein components.

Results show also a significant increase in osmotic fragility of red blood cells of AHV patients (FIG. 5).

It seems, that higher membrane fluidity of erythrocytes can lead to simplified deformation of these cells in microcirculation during their flow in AHV patient vessels.

Above discussed results suggest, that mechanical heart valves affect red blood cell plasma membrane properties and can induce erythrocytes deformation and aggregation and, in consequence, alteration in their rheological properties.

Observed changes in examined parameters can be associated with artificial heart valve implantation and/or with an



RYS. 1. Płynno lipidów błonowych (5-DS) w grupie kontrolnej oraz u pacjentów z AHV (p < 0,001).

FIG. 1. Fluidity of plasma membrane (5-DS) of control and artificial heart valve (AHV) patients (p < 0.001).



RYS. 3. Płynno lipidów błonowych (16-DS) w grupie kontrolnej oraz u pacjentów z AHV (p < 0,05).

FIG. 3. Fluidity of plasma membrane (16-DS) of control and artificial heart valve (AHV) patients (p < 0.05).



RYS. 4. Lepko wn trza (h) wewn trz erytrocytów pochodz cych od pacjentów ze sztuczn zastawk serca w porównaniu z grup kontroln (p < 0,002).

FIG. 4. Viscosity (h) of erythrocyte interior of artificial heart valve patients in comparison with these of control group (p < 0.002).

Powy sze wyniki sugeruj, i mechaniczna zastawka serca wpływa na wła ciwo ci błony plazmatycznej erytrocytów oraz mo e powodowa ich deformacj oraz agregacj, a w konsekwencji zmiany w wła ciwo ci reologicznych tych komórek.

Obserwowane zmiany w badanych parametrach mog



RYS. 2. Parametr h_{\pm}/h_0 w erytrocytach dla 12-DS w grupie kontrolnej oraz u pacjentów z AHV (p < 0,002).

FIG. 2. The h_{+1}/h_0 ratio of red blood cells for 12-DS of control and artificial heart valve (AHV) patients (p < 0.002).

interaction of pharmacotherapy. The influence of a treatment on erythrocytes in will be investigated in future researches.

Conclusions

1. The statistically significant increase in RBC plasma membrane lipid fluidity of patients with artificial heart valve for 5-DS (p< 0,001) and 12-DS (p < 0.002) was revealed.

2. For 16-DS in hydrophobic region of lipid layer, a significant decrease in membrane lipid fluidity of RBC of AHV patients was observed (p < 0.05).

3. The viscosity of erythrocyte interior was higher for artificial heart valve (AHV) patients (p < 0.05).

4. The erythrocytes of AHV patients have higher osmotic fragility in comparison with control group (p < 0.05).

Acknowledgements

This work was supported by grant No. 7 T11E 013 21 (State Committee for Scientific Research, Poland).

Pi miennictwo References

[1] Singh A, Ehteshami G, Massia S, He J, Storer RG, Raupp G., Glial cell and fibroblast cytotoxicity study on plasma-deposited diamond-like carbon coatings. Biomaterials. 24(28), Dec., (2003),5083-9.

[2] Kumari TV, Anil Kumar PR, Muraleedharan CV, Bhuvaneshwar GS, Sampeur Y, Derangere F, Suryanarayanan R., In vitro cytocompatibility studies of Diamond Like Carbon coatings on titanium., Biomedical Materials and Engineering, 12(4), (2002), 329-38.

[3] Mitura S., Mitura A., Niedzielski P. and Couvrat P., Nanocrystalline Diamond Coatings, Chaos, Solitons & Fractals 10(12), (1999), 2165-2176.

[4] B kowiicz K., Mitura S., Biocompatibility of NCD., Journal of Wide Bandgap Materials, 9(4), April (2002), 261-272.

[5] Andersen T. S., Johansen P., Paulsen P. K., Nygaard H., Hasenkam J.M., Indication of cavitation in mechanical heart valve patients., The Journal of Heart Valve Disease, 12(6), Nov. (2003), 790-796.

[6] Biancucci BA, Deutsch S, Geselowitz DB, Tarbell JM.In vitro studies of gas bubble formation by mechanical heart valves. The Journal of Heart Valve Disease., 8(2), Mar., (1999),186-96.

[7] Garrison LA, Lamson TC, Deutsch S, Geselowitz DB, Gaumond RP, Tarbell JM.An in-vitro investigation of prosthetic heart valve cavitation in blood. The Journal of Heart Valve Disease., 3





RYS. 5. Podatno osmotyczna RBC w kontroli oraz u pacjentów ze sztuczn zastawk serca (AHV) (p < 0,05).

FIG. 5. Osmotic fragility of RBC of control and artificial heart valve (AHV) patients (p < 0.05).

by zwi zane z implantacj sztucznej zastawki serca lub/i interakcj stosowanych leków. Wpływ stosowanych leków na erytrocyt zostanie okre lony w pó niejszych badaniach.

Wnioski

1. Wykazano istotny statystycznie wzrost płynno ci lipidów błonowych w erytrocytach pochodz cych od pacjentów ze sztuczn zastawk serca dla znaczników 5-DS (p < 0,001) oraz 12-DS (p < 0,002).

2. Dla kwasu 16-DS., w hydrofobowym rejonie warstwy lipidowej, obserwowano istotny statystycznie spadek płynno ci lipidów błonowych erytrocytów pochodz cych od osób chorych (p< 0,05).

3. Wykazano wzrost lepko ci wn trza krwinek czerwonych wyizolowanych od osób z AHV (p < 0.05).

4. Erytrocyty pochodz ce od osób z AHV były bardziej podatne na hemoliz w porównaniu z grup kontroln (p < 0,05).

Podzi kowania

Badania s realizowane w ramach grantu nr: 7 T11E 013 21 finansowanego przez Komitet Bada Naukowych. Suppl 1, Apr., (1994), S8-22.

[8] Jó wik K:, Bakteryjne zapalenie wsierdzia a zastawki serca., Nowa Klinika, 7(10), (2000), 1052-1056.

[9] Tong E., An overview of artificial heart valve replacement in infants and children., Journal of Cardiovascular Nursing, 6(3), Apr. (1992), 30-43.

[10] Dobrowolska A., Jó wik K., Required properties of artificial heart valves., Mechanics and Mechanical Engineering. International Journal., 4(1), (2000), 39-44.

[11] Jó wik K., Nawrat Z.,, Eksperymentalne badania przepływu przez dyskow zastawk serca z warstw NCD., Cieplne Maszyny Przepływowe. No 117, (2000), 317-323.

[12] Górnicki A., Gutsze A., In vitro effects of ozone on human erythrocyte membranes: An EPR study., 47(4), (2000), 963-971.
[13] Gwo dzi ski K., A spin label study of the action of cupric and mercuric ions on human red blood cells., Toxicology, 65, (1991), 315-323.

[14] akowska I., Jó wik K., Pieni ek A., Gwo dzi ski K., Zmiany parametrów krwinek czerwonych u osób ze sztuczn zastawk serca., Materiały V Sympozjum Modelowanie i Pomiary w Medycynie, MPM'2003, Maj (2003).

[15] Mors P.D, Determining intracellular viscosity from the rotational motions of spin labels., Methods in Enzymology 127, (1986), 239-249.

[16] Gwo dzi ski K., akowska I., Olejniczak J., Pawlicki L., Red blood cell membrane alteration in ischaemia heart disease., (2000), 38-241.

[17] Brzeszczy ska J., Gwo dzi ski K., Erythrocyte membrane damage induced by t-buthyl hydroperoxide., Current Topics in Biophysics 22 (Supplement B), (1998), 238-241.

[18] Zawodnik I.B, Lapshina EA, Bartosz G, Soszy ski M, Bryszewska M., Hypochlorus acid damages erythrocyte membrane proteins and alters lipid bilayer structure and fluidity., Free Radicals in Medicine 15, 30(4), (2001), 363-9.



MANOKRYSTALICZNY DIAMENT (NCD) – NOWY I OBIECUJ CY MATERIAŁ DO ZASTOSOWA MEDYCZNYCH

Bogdan Walkowiak^{*,**}, Wieslawa Okroj^{*}, Iwona Przybyszewska^{*}, Marta Pirek^{*}, Witold Szymanski^{*}, Pawel Kos da^{*}, Witold Jakubowski^{*}

*Instytut In ynierii MateriaŁowej, Politechnika Łódzka **Zakład Biofizyki Molekularnej i Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Nanokrystaliczny diament (NCD) przejawia szereg interesuj cych wła ciwo ci. Niektóre z nich mog by atrakcyjne w zastosowaniach biomedycznych. Niniejsze opracowanie dotyczy bada nad anty-oksydacyjnymi wła ciwo ciami NCD, jego tombozgodno ci oraz odporno ci na powstawanie biofilmu. Badania zrealizowano stosuj c nast puj ce metody:

1. Obserwacja luminolo-zale nej luminescencji, wywoływanej przez reaktywn form tlenu (kwas podchlorawy) generowan przez chloramin T w osoczu krwi, w obecno ci proszków diamentowych. Intensywno mierzonej luminescencji jest wprost proporcjonalna do ilo ci reaktywnych form tlenu w badanym układzie. Stwierdzono, e obecno proszków diamentowych znamiennie i w sposób zale ny od ich koncentracji wpływała na obni enie ilo ci kwasu podchlorawego.

2. Obserwacja adhezji płytek krwi do badanych powierzchni z u yciem skaningowego mikroskopu elektronowego. Wykazano, e płytki krwi tylko w niewielkiej ilo ci, w porównaniu z powierzchni stali medycznej, przylegały do powierzchni NCD. Jednak skazy powierzchni NCD były miejscem intensywnej adhezji płytek krwi.

3. Obserwacja zasiedlania badanych powierzchni przez komórki E.coli, z zastosowaniem mikroskopu fluorescencyjnego. Pokazano, e bakterie najch tniej kolonizowały powierzchni stali medycznej 316L. Znacznie słabiej powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V. Najbardziej oporna na kolonizacj komórkami E.coli była powierzchnia NCD. Uzyskane wyniki wskazuj równie na wzrost podatno ci na kolonizacj przez mikroby powierzchni opłaszczonej białkami.

Wst p

Powierzchnia implantu kontaktuj ca si z płynami ustrojowymi jest miejscem wielu wa nych i cz sto nie do ko ca poznanych procesów. Dla przykładu, korozja metalu prowadzi do gromadzenia si jonów metalu w otaczaj cej tkance, co czasami mo e by wysoce toksyczne. Z drugiej strony korozja mo e przyczynia si do utraty mechanicznych wła ciwo ci implantu. Niepo dane odkładanie si białek oraz adhezja komórek do powierzchni *implantu przezna*czonego do kontaktu z krwi mo e prowadzi do stopnio-

NANOCRYSTALLINE DIAMOND (NCD) – A NEW AND PROMISING MATERIAL FOR MEDICAL APPLICATIONS

Bogdan Walkowiak^{*,**}, Wieslawa Okroj^{*}, Iwona Przybyszewska^{*}, Marta Pirek^{*}, Witold Szymanski^{*}, Pawel Kos da^{*}, Witold Jakubowski^{*}

*Institute of Material Sciences and Engineering, Technical University of Lodz, Poland **Department of Molecular and Medical Biophysics, Medical University of Lodz, Poland

Abstract

Nanocrystalline diamond (NCD) exhibits several interesting properties. Some of them can be attractive in biomedical applications. This study concerns of research on anti-oxidative properties of NCD, its thrombocompatibility, as well as its resistance to bacterial biofilm formation. Results were obtained using following methods:

1. Observation of luminol-depend luminescence caused by reactive oxygen species (hypochlorous acid) generated by chloramine T in blood plasma, in the presence of diamond powders. The intensity of measured luminescence is directly proportional to the amount of reactive oxygen species in the system. We have found, that presence of diamond powder particles (DPP) significantly and concentration-dependently causes decrease in hypochlorous acid amount. 2. Observation of platelets adhesion to examined surface with use of scanning electron microscopy (SEM). It was proved, that blood platelets adhered to NCD surface only in a very small amount when compared to medical steel surface. However, defects of the NCD surface were the place of intensive platelet adhesion. 3. Observation of colonization of examined surfaces by E.coli cells, was performed with use of fluorescence microscope. It was shown that bacteria colonized predominantly medical steel 316 L surface whereas titanium alloy Ti6Al4V surface was colonized considerably less. NCD surface was the most resistant to E.coli cells colonization. The received results also point higher susceptibility to microbial colonization of surface coated by proteins.

Key words: nanocrystalline diamond, diamond powders, reactive oxygen species, antioxidant, platelet adhesion, microbial colonization, biofilm

Introduction

.

An implant surface allowed for contact with body fluids is a place of numerous important but often underestimated processes. For example, a metal corrosion leads to deposition of the metal ions in the surrounding tissue, and it sometimes can be extremely toxic. On the other hand, corrosion can cause loss of mechanical features of implant. Deposition of proteins and cell adhesion to the implant surface, predicted for contact with blood, is unwelcome and wego ograniczania jego roli a do całkowitej utraty jego funkcji. Podatno powierzchni implantu na kolonizacj przez mikroorganizmy jest wysoce niepo dana i mo e by przyczyn gro nych infekcji. Nawet bardzo starannie przygotowana i sterylna powierzchnia implantu, je eli jest przyjazna dla mikroorganizmów, mo e by przez nie skolonizowana. Ukryte w warstwie biofilmu oportunistyczne mikroorganizmy mog by nieosi galne dla układu immunologicznego i mog sta si odporne na rodki farmakologiczne stanowi c jednocze nie ródło toksycznych substancji i potencjalne zagro enie masywn infekcj . Powszechnie uwa ane jako najbardziej biozgodne s materiały wytwarzane na bazie stopów tytanu oraz materiały ceramiczne. Jednak i one nie s wolne od wad. Wydaje si , e powierzchniowe modyfikowanie materiałów metalicznych mo e dostarczy materiałów wysoce biozgodnych, dobrze tolerowanych przez organizm biorcy oraz wykazuj cych te cechy, które s odpowiednie dla danej grupy implantów. Ostatnio uwaga nasza skupiona była na badaniu warstw nanokrystalicznego diamentu (NCD) zsyntetyzowanych na powierzchniach metali. Warstwa NCD wytwarzana była w reaktorze pró niowym metod RF CVD. Metoda ta (1) jest obecnie stosowana do modyfikacji powierzchni metali. Analiza strukturalna i chemiczna warstw w glowych wytworzonych t metod pokazuje obecno warstwy nanokrystalicznego diamentu (96% czystego diamentu) a pozostał stanowi alotropowe formy w gla. Warstwa NCD cz wykazuje bardzo obiecuj ce własno ci mechaniczne i jest dobrze tolerowana przez organizm biorcy (2), wykazuje pozytywne cechy w kontakcie z krwi (3) dodatkowo ukazuj c swe antyoksydacyjne wła ciwo ci (4). Prezentowane poni ej wyniki ukazuj oporno warstwy NCD na adhezj płytek krwi oraz na kolonizacj mikrobiologiczn . Potwierdzaj równie wcze niej opisane działanie antyoksydacyjne (4).

Materiały i metody

Materiał biologiczny

Krew pobierano od zdrowych dawców, nie przyjmuj cych w okresie co najmniej dwóch tygodni przed badaniem adnych leków. Wszyscy dawcy byli poinformowani o celach prowadzonych bada i wyrazili zgod na oddanie krwi. Jako antykoagulantu u yto cytrynianu sodowego w ko cowym st eniu 3,8%. Osocze ubogopłytkowe uzyskiwano z krwi cytrynianowej poprzez wirowanie 1000xg, 10 minut w temperaturze pokojowej. Uzyskane osocze było porcjowane i przechowywane w temperaturze -70°C. Aby ograniczy przypadkowe straty fibrynogenu, osocze rozmra ane było przed u yciem w temp. 37°C, bez mieszania. Komórki bakteryjne *E. coli* (szczep K12) pochodziły z In-

stytutu Biologii Molekularnej Uniwersytetu Łódzkiego.

Odczynniki chemiczne

Wszystkie odczynniki chemiczne zastosowane w badaniach kupiono od firmy SIGMA-ALDRICH.

Proszki diamentowe

Proszki diamentowe uzyskane zostały w Zakładzie Inynierii Biomedycznej Wydziału Mechanicznego PŁ podczas procesu wytwarzania nanokrystalicznych warstw diamentowych metod RF CVPD.

Przygotowanie próbek

Próbki w kształcie kr ków o rednicy 8 mm i grubo ci 2 mm wykonane zostały ze stali medycznej (316L) i stopu tytanu (Ti6Al4V). Przygotowane zostały przez obróbk skrawaniem (toczenie), nast pnie polerowane mechanicznie i elektrochemicznie. Na niektóre próbki wykonane ze stali medycznej naniesiono warstw NCD wykorzystuj c meto-

can lead to a gradual reduction of the implant function, up to a total loss of an expected benefits. A susceptibility of an implant surface to bacterial colonization is essentially unwelcome and can be a reason of dangerous infections. Even very carefully prepared and sterilized implant surface, if friendly for microbes, can be colonized by them. The opportunistic microbes, hidden in a biofilm layer, can be not attained for immunological system and can also be resistant to pharmacological agents. It becomes a source of toxic substances and make a potential risk of massive infection. Titanium alloys and ceramic materials are generally accepted as the most biocompatible. However, they are not free from faults. It seems, that modified metallic surface can give us highly biocompatible materials, well tolerated by a recipient body, and wearing properties suitable for given implant. Our recent effort was focused on examination of nanocrystalline diamond (NCD) layers synthesized on a metal surfaces. NCD layer was formed in a vacuum reactor chamber by a radio frequency plasma activated chemical vapor decomposition (RF PCVD) method (1). Structural and chemical analysis of carbon coating, produced by this method, revealed the presence of nanocrystalline diamond (96% pure diamond), apart from other allotropic carbon forms. NCD coating exhibits very promising mechanical features and is very well tolerated by a recipient body (2), exhibits positive features in contact with blood (3), and additionally showing its anti-oxidative properties (4). The results presented below show resistance of NCD surface to platelet adhesion and microbial colonization, and also proved earlier described antioxidative properties (4).

Materials and methods

Biological material

Blood was taken from healthy donors, who had abstained from any medicines for at least two weeks before the examination. All donors were informed about aims of conducted research and gave assent for blood collection. Sodium citrate was used as an anticoagulant in final concentration 3,8 %. Platelet poor plasma (PPP) was obtained from citrated blood by centrifugation at 1000xg, for 10 minutes at room temperature. The PPP was portioned and stored at -74°C, in order to reduce an accidental loss of fibrinogen, plasma was defrozen at 37°C just before its use. *E.coli* cells (strain K12) were from Department of Molecular Biophysics, University of Lodz.

Chemical reagents

All chemical reagents, used in this research, were purchase from SIGMA-ALDRICH.

Diamond powders

Diamond powders (DPP) were obtained in the Institute of Biomedical Engineering, Mechanical Department, Technical University of Lodz, during production of nanocrystalline diamond layer by RF PCVD method.

Sample preparation

Samples, disc-shape of 8 mm diameter and of 2 mm thickness, were made of stainless steel 316 L or titanium alloy Ti6Al4V. The discs were prepared using machining procedures. Stainless steel samples were then mechanically and electrochemically polished. Same samples made of medical steel were subjected with NCD by RF PCVD method.

Effect of DPP presence on blood plasma luminescense

Diamond powder suspension was prepared for 24 hours before the experiment. The powder was suspended in PBS buffer (140 mM NaCl in 0.2 M phosphate buffer, pH 7.4), in

Efekt obecno ci proszków diamentowych na luminescencj osocza

Na 24 godziny przed do wiadczeniem przygotowano zawiesin proszku diamentowego w buforze PBS (140 mM NaCI w 0,2 M buforze fosforanowym, pH 7,4), w ilo ci 1 g proszku na 1 ml buforu.

Badania przeprowadzono w 96 studzienkowej płaskodennej mikropłytce (NUNCK). Do studzienek dodawano: 25 µl ubogopłytkowego osocza krwi, 10 µl chloraminy T (4 mM) oraz odpowiedni ilo proszku diamentowego: 0, 0,001, 0,025, 0,5, 0,1 mg. Cało uzupełniano do obj to ci 210 µl buforem PBS. Bezpo rednio przed rozpocz ciem pomiaru dodawano 20 µl luminolu. Dodatkowo wykonywane były dwie kontrole nie zawieraj ce proszku diamentowego. Ponadto kontrola I nie zawierała chloraminy T, a kontrola druga nie zawierała osocza. Pomiaru intensywno-

ci luminescencji dokonywano co 3 minuty, w temperaturze 37°C, w czasie 20 minut, korzystaj c z wielofunkcyjnego czytnika mikropłytek VICTOR 1420 (WALLAC) w Zakładzie Biofizyki Molekularnej i Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Ka dy badany proszek analizowany był w trzech powtórzeniach.

Ocena podatno ci powierzchni na adhezj płytek krwi

Próbki wykonane ze stali medycznej, oraz te pokryte warstw NCD, preinkubowane były w obecno ci osocza ubogopłytkowego przez 12 godzin w 4°C. Nast pnie były dokładnie płukane w buforze PBS i poddane kontaktowi z cytrynianow krwi ludzk w ci gu 1godziny. W tym czasie próbki były delikatnie mieszane. Ka da próbka inkubowana była osobno. Po zako czeniu inkubacji próbki dokładnie obmywano PBS-em a nast pnie utrwalano w 3% alutaraldehvdzie (w PBS) w czasie 1 godziny w temp. 4°C. Utrwalone próbki odwadniane były w rosn cym st eniu etanolu i suszone w strumieniu powietrza. W ko cowym etapie preparatyki próbki pokryto 20 nm warstw złota (w napylarce JEE - 4 X Jeol). Do analizy powierzchni próbek zastosowano skaningowy mikroskop elektronowy HITACHI S - 3000N, b d cy własno ci Instytutu In ynierii Materiałowej Politechniki Łódzkiej. Obserwacje prowadzono przy napi ciu 5 kV. Uzyskane obrazy gromadzone były w pami ci komputera w celu ich porównawczej analizy.

Ocena oporno ci powierzchni na kolonizacj przez komórki *E.coli*

Ka da z próbek umieszczona została w oddzielnym pojemniku i zanurzona w po ywce o składzie: NaCI (1%), baktopepton (1%), ekstrakt dro d owy (0.5%), pH7,0. Do po ywki dodano komórki E.coli (2⁻¹⁰³/ml) i prowadzono hodowl przez 3 dni w temp 28°C, z delikatnym mieszaniem. W odr bnej cz ci eksperymentu próbki były poddane działaniu roztworu albuminy wołowej (BSA) (10 mg/ml) lub osocza krwi ubogo płytkowego (PPP) w czasie 24godzin. Po przemyciu wod destylowan próbki te traktowano jak powy ej. Po uko czeniu hodowli próbki były dokładnie przemywane wod destylowan i poddane znakowaniu fluorescencyjnemu. Na powierzchni ka dej z próbek nanoszono 20ml roztworu znacznika bis-benzidiny (100 µg/ ml) i pozwolono na jego wnikni cie do wn trza komórek (10 min. 28°C) chroni c próbki od wiatła. Znacznik we wn trzu komórek wi zał si z dwuniciow form DNA i tylko w tej formie był fluorescencyjnie aktywny. Fluorescencyjnie znakowane próbki poddano obserwacji przy pomocy fluorescencyjnego mikroskopu TE 200 (Nikon) w Instytucie Biofizyki Uniwersytetu Łódzkiego w Łodzi. Obrazy fluorescencyjne rejestrowane były przy pomocy cyfrowego aparatu fotograficznego a nast pnie analizowane w celu okre lenia liczby komórek E.coli zasiedlaj cych badan

the amount of 1 g of DPP per 1 ml of buffer. Study was performed in flat-bottom 96 wells microplate (NUNCK). To each well there was added 25 ml of platelet poor plasma, 10 ml of chloramine T (4 mM) and appropriate amount of diamond powder: 0, 0.001, 0.025, 0.5, 0.1 mg. Wells were then filled up with PBS to volme of 230 ml with PBS. Immediately before measurement 20ml of luminol was added. Two control samples, free from diamond powder, were included. The first one did not contain chloramine T, whereas the second one did not contain plasma. Measurement of luminescence intensity was taken every third minute at temperature of 37°C, within 20 minutes, with use of multipurpose microplate reader VICTOR 1420 (WALLAC). The instrument was available for us in Department of Molecular and Medical Biophysics, Medical University of Lodz. Each sample of diamond powder was analyzed in triplicate.

Evaluation of susceptibility to platelet adhesion

Samples made of medical steel and these coated with NCD were preincubated in platelet poor plasma for 12 h at 4°C. After that, the samples were washed with phosphate buffer and exposed to contact with citrated whole human blood for 1 h. During this exposition samples were gentle mixed. Each sample was incubated separately. The samples, after contact with blood, were washed with PBS, and fixed for 1 h at 4°C with 3% glutaraldehyde in PBS. The fixed samples were then dehydrated with gradient series of ethanol and air-dried. Finally samples were coated with 20 nm thick gold film in a sputtering apparatus (JEE - 4 X Jeol). HITACHI S - 3000N scanning electron microscope, which is owned by Institute of Material Sciences and Engineering, Technical University of Lodz, was used to examine of the specimens. Observations were made at a voltage of 5 kV. Pictures were collected in computer memory for further comparative analysis.

Resistance of surface to bacterial colonization

Every sample was placed into a separate container and submerged in medium containing NaCl (1%), bactopeptone (1%) and yeast extract (0,5%), pH 7,0. A low count of E.coli cells (2 ⁻ 10³ per ml) was added into the medium and incubation was continued for 3 days at 28°C, with gentle mixing. In a separate set of experiments samples were pretreated with bovine serum albumin (BSA) (10 mg/ml), or human platelet poor plasma (PPP), for twenty four hours. After that, samples were extensively washed out, with distilled water, and then were subjected to the same treatment as described above. The incubation was finished by extensive washing of samples with distilled water. Then samples were flourescently labeled by administration of 20ml of a fluorescent marker solution bis-benzidine (100/ µg/ml) onto each sample surface. The day was allowed to penetrate inwards cells (10 min. 28°C), in the dark. The fluorescent marker in cell interior was assimilated by double-strand DNA and in this form was fluorescently active. Finally, bacterial cells present at the sample surface were detected with the fluorescence microscope (Nikon TE 200) in the Department of Molecular Biophysics, University of Lodz. The pictures were documented with a CCD camera and were subjected into further analysis of quantity of E.coli cells present at the samples surface. The results from three independent experiments were statistically evaluated using the F-Snedecor test followed by the t-Student test.

Results and discussion

Any material designed for implants production must rigorously fulfill definite conditions. In the first-order it has to be non-toxic for recipient body. It can not interfere with compowierzchni . Wyniki uzyskane z trzech niezale nych dowiadcze poddano ocenie statystycznej przy u yciu testu F-Snedecor'a oraz testu t-Studenta.

Wyniki i dyskusja

Materiał przeznaczony do wytwarzania implantów musi rygorystycznie spełnia okre lone warunki. W pierwszym rz dzie musi by nietoksyczny dla organizmu biorcy nie mo e interferowa z powszechnie u ywanymi rodkami farmakologicznymi a jego obecno musi by dobrze tolerowana przez organizm biorcy. Ogólnie mówi si wtedy, e dany materiał jest biozgodny i dobrze biotolerowany. Jednak w zale no ci od specyficznych warunków w jakich ma pracowa implant narzucane s dodatkowe warunki, których spełnienie jest niezb dne z punktu widzenia otaczaj cych tkanek. Implanty kostne, przeznaczone do obrastania tkank kostn , musz mie odpowiednio przygotowan powierzchni umo liwiaj c dobr adhezj komórek krwi i wła ciwy rozwój osteoblastów. Z kolei implanty przeznaczone do kontaktu z krwi musz charakteryzowa si bardzo nisk podatno ci na przyleganie komórek krwi i brakiem aktywacji układu krzepni cia i fibrynolizy. Pogodzenie tak przeciwstawnych oczekiwa w jednym idealnym materiale jest niemo liwe. Dlatego te coraz cz ciej d y si do ukierunkowanej modyfikacji powierzchni implantu w celu osi gni cia specyficznych jego cech. Wytwarzanie warstw nanokrystalicznego w gla na metalicznych materiałach wydaje si by wła ciwym krokiem w kierunku uzyskania materiału przyjaznego kontaktowi z krwi . Warstwa NCD charakteryzuje si bardzo dobrymi parametrami mechanicznymi, ogranicza procesy korozyjne i wykazuje korzystn aktywno biologiczn (4).

Osocze krwi ludzkiej składa si z białek i składników mineralnych rozpuszczonych w wodzie oraz rozproszonych tam składników tłuszczowych. Jest to miejsce bardzo intensywnie zachodz cych procesów biochemicznych, w tym powstawania i dezaktywacji wolnych rodników i reaktywnych form tlenu. Te wysoce aktywne chemicznie cz steczki, je li pozostaj zbyt długo w kontakcie z aktywnymi biologicznie makrocz steczkami, s przyczyn niezliczonych chemicznych modyfikacji tych makrocz steczek skutkuj cych zmianami w ich aktywno ci biologicznej. W przeprowadzonym do wiadczeniu wykorzystano model zale nej od luminolu luminescencji, której intensywno jest proporcjonalna do ilo ci aktywnej formy tlenu - kwasu podchlorawego, generowanego przez zewn trznie dodan chloramin T. Nasze badania wykazały, e obecno proszków diamentowych w osoczu ludzkim przyczynia si do usuwania tego silnego oksydanta. RYS.1 przedstawia wyniki pomiaru intensywno ci luminescencji w funkcji koncentracji proszku diamentowego w osoczu. Nale y jednak zauway, e spo ród przebadanych proszków niektóre nie przejawiały tej cechy lub ich działanie było znacznie słabsze. Na obecnym etapie bada nie potrafimy wskaza ani przyczyny aktywno ci proszków w usuwaniu oksydantów, ani te cechy proszku determinuj cej jego antyoksydacyjne wła ciwo ci.

Adhezja płytek krwi do powierzchni implantu po redniczona jest przez adhezywne białka osocza krwi. Preinkubacja próbek stali medycznej i stali medycznej pokrytej warstw NCD w osoczu ubogopłytkowym sprzyjała odkładaniu si białek na powierzchniach. Nast puj cy po tym etapie krótkotrwały kontakt z pełn krwi skutkował adhezj płytek krwi do badanych powierzchni. Jak wynika z przedstawionych przykładowych fotografii ze skaningowego mikroskopu elektronowego (RYS. 2), płytki krwi sporadycznie przylegały do powierzchni NCD, natomiast w du-

monly administered drugs and has to be tolerated by a recipient body well. Generally one can say then, that material is biocompatible and well exhibits high biotolerance. However in dependence on particular circumstances, in which implant has to work, additional conditions must be fulfilled in contact with surrounding tissue. Bone implants, designed to integrate with bone tissue, have to be prepared for enabling good adhesion of blood cells and proper growth of osteoblasts. On the other hand, implants designed for contact with blood have to be characterized by very low susceptibility to blood cells adhesion and lack of activation of thrombosis and fibrynolisis. Reconciliation so opposed expectations in one ideal material is impossible. Therefore present strategies are more and more often oriented to modification of implant surface in aim of achievement its specific needs. Production of nanocrystalline carbon layers on metallic materials seems to be proper step in a direction of obtaining of material friendly for contact with blood. NCD layer is characterized by very good mechanical parameters, limits of corrosion and it also shows profitable bioactivity (4).

Plasma of human blood consists of proteins, mineral components dissolved in water and dispersed aliphatic components. This is the place of very intense biochemical processes, between others formation and deactivation of free radicals and reactive oxygen species occur there. If these chemically extremely active molecules stay in too long contact with biologically active macromolecules, they cause innumerable chemical modifications of these macromolecules. In conducted experiments we have used the luminol dependent luminescence model, where the intensity of luminescence is proportional to quantity of reactive oxygen species - the hypochlorous acid, generated by the added chloramin T. Investigation shows that the presence of diamond powders in human plasma contributes to remove this strong oxidant.

FIGURE 1 presents results of measured luminescence intensity in plasma as a function of amount of DPP. It is worth to note, that some of examined DPP did not manifest these properties or their effect was considerably weaker. The present stage of investigation do not allow us to indicate neither the reason of various activity nor mechanisms of anti-oxidative property of DPP.

Platelet adhesion to implant surface is mediated by adhesive proteins of blood plasma. Preinkubation of samples with platelet poor plasma causes accumulation of proteins on the surfaces. Following this stage, short contact with whole citrated blood resulted in adhesion of blood platelets to the studied surfaces. As it is seen in FIGURE 2 pictures obtained with scanning electron microscope depict rarely adhered platelet to NCD surface, whereas large number of platelets was found on medical steel surface. The only exception was found on damaged fragment of NCD surface, where different blood cells was found.

A susceptibility of surfaces of examined materials to microbial colonization and biofilm formation should be seriously considered during the procedure of implant design and production. If not, opportunistic microorganisms, present in a very limited number in recipient's body, could colonize the implant surface. It is extremely difficult to destroy a bofilm structure and fight down microbes present therein. Very often implant with surface-present biofilm has to be removed or exchanged. In our hands medical steel (316L), titanium alloy (Ti6Al4V) and medical steel coated NCD layer showed various susceptibility to *E.coli* cells colonization. As it is shown in FIGURE 3, the most susceptible to bacterial colonization was medical steel. Considerably less susceptible was titanium alloy whereas the highest re-



ej liczbie były znajdowane na powierzchni stali medycznej. Wyj tek stanowiły obszary uszkodzonej warstwy NCD, gdzie znajdowane były ró ne elementy morfotyczne.

Podatno materiału, przeznaczonego do produkcji implantów, na kolonizacj mkroorganizmami i tworzenie na powierzchni biofilmu powinna by czynnikiem eliminuj cym ten materiał z zastosowa . W przeciwnym wypadku, nawet najbardziej rygorystycznie przestrzegane normy jałowo ci w przygotowania implantu i jego umieszczenia w ciele biorcy mog nie ustrzec przed rozwijaj c si infekcj oportunistyczn . Oportunistyczne mikroorganizmy, ci gle obec-



RYS. 3. Porównanie ilo ci komórek E.coli na powierzchni badanych materiałów. Ilo komórek znajduj cych si na stali medycznej, nie inkubowanej z białkiem, przyj to za 100%. FIG. 3. Comparison of quantity of E.coli cells found at the studied surfaces. The quantity found at the protein non-treated medical steel was used as 100%. RYS. 1. Zmiany w intensywno ci luminescencji w osoczu krwi jako funkcja czasu oraz ilo ci DPP. FIG. 1. Luminescence intensity observed for blood plasma as a function of time and DPP amount.

sistance to bacterial colonization exhibited surface of NCD layer.

Summing up, a high trombocompatibility additionally supported by the resistance to microorganisms colonization and anti-oxidative proprieties of NCD layer, indicate this material as a very promising for use in contact with blood.



deposited on medical steel

RYS. 2. Wynik analizy SEM adhezji płytek krwi do stali medycznej (po prawej) i stali medycznej pokrytej NCD (po lewej).

FIG. 2. Results of SEM analysis of blood platelet adhesion to medical steel (right) and NCD coated medical steel (left).

BIMATERIAŁOW

ne w niewielkiej liczbie w ciele biorcy, wykorzystaj bezwarunkowo sytuacj gdy tylko znajd przyjazn sobie powierzchni . Gdy ju skolonizuj t powierzchni i wytworz biofilm, walka z nimi b dzie praktycznie niemo liwa. Implant taki nadaje si tylko do wymiany. Badane przez nas materiały - to jest stal medyczna, stop tytanu (Ti6Al4V), oraz stal medyczna pokryta warstw NCD, wykazały ró norodn podatno na kolonizacj komórkami *E.coli*. Jak łatwo zauwa y na RYS. 3. Najbardziej podatna na kolonizacj bakteryjn był stal medyczna. Znacznie mniej podatny był stop tytanu. Najwy sz oporno na zasiedlanie komórkami bakteryjnymi wykazywała powierzchnia NCD.

Reasumuj c nasze badania, wysoka trombozgodno warstwy NCD, poparta dodatkowo oporno ci na kolonizacj mikroorganizmami i wła ciwo ciami antyoksydacyjnymi, dobrze rokuje w zastosowaniach tego materiału w kontakcie z krwi .

Podzi kowania

Praca cz ciowo finansowana przez KBN w ramach grantów: 7 T08D 036 21 i PBZ KBN 082/T08/13.

WŁA CIWO CI WARSTW NCD JAKO POKRY WŁÓKIEN WIATŁOWO DOWYCH W ZALE NO CI OD PARAMETRÓW PROCESU RF PCVD

M. MIETANA*, J. SZMIDT*, M. DUDEK**, P. NIEDZIELSKI**

*Instytut Mikroelektroniki i Optoelektroniki, Politechnika Warszawska, Koszykowa 75, 00-665 Warszawa **Instytut In ynierii MateriaŁowej, Politechnika Łódzka, Stefanowskiego 1/15, 90-924 Łód

Streszczenie

Komunikat przedstawia wła ciwo ci pokry diamentopodobnych otrzymanych w metodzie RF PCVD (Radio Frequency Plasma Chemical Vapour Deposition) na kwarcowych rdzeniach wiatłowodów typu PCS (Polymer Clad Silica), które mog by wykorzystane jako głowice czujników. Poruszono problem technologicznego osadzana warstw DLC i NCD na podło ach dielektrycznych oraz opracowano sposób umieszczania próbek w reaktorze i takiego przeprowadzenia procesu, aby otrzyma oczekiwany efekt. Zaprezentowano wpływ parametrów procesu osadzana na transmisj wiatłowodu. Otrzymane pokrycia mo na scharakteryzowa jako trwałe i cechuj ce si dobr adhezja. Wykonano zdj cia pokry za pomoc Skaningowego Mikroskopu Elektronowego (SEM) oraz Mikroskopu Sił Atomowych (AFM). Eksperyment

Acknowledgements

This work was partially supported by the KBN grant No. 7 T08D 036 21 and PBZ KBN 082/T08/13.

Pi miennictwo References

[1] Mitura S., Mitura A., Niedzielski P., Couvrat P., Nanocrystalline Diamond Coatings. J Chaos, Solitons and Fractals, 1999; 10: 2165-2177.

[2] Mitura S., Niedzielski P., Jachowicz D., Langer M., Marciniak J., Stanishevsky A., Tochitsky E., Louda P., Couvrat P., Denis M, Lourdin P., Influence of carbon origin on the properties important for biomedical application. Diamond and Related Materials 1996; 5: 1185-1188.

[3] Walkowiak B., Kochmanska V., Jakubowski W., Okroj W., Kroliczak V. Interaction of body fluids with carbon surfaces. J Wide Bandgap Materials 2002; 9:231-242.

[4] Bakowicz K., Mitura S., Biokompatibility of NCD. Wide Bandgap Materials 9, 2002; 9: 261-272.

PROPERTIES OF DIAMOND-LIKE CLADDING FOR OPTICAL FIBRES DEPENDING ON RF PCVD PROCESS PARAMETERS

M. MIETANA*, J. SZMIDT*, M. DUDEK**, P. NIEDZIELSKI**

*Institute of Microelectronics and Optoelectronics, Warsaw University of Technology, Koszykowa 75, 00-665 Warsaw (Poland) **Institute of Materials Science and Engineering, Technical University of Lodz, Stefanowskiego 1/15, 90-924 Łód (Poland)

Abstract

.

The manuscript presents properties of diamondlike carbon cladding deposited with the Radio Frequency Plasma Chemical Vapour Deposition (RF PCVD) method onto Polymer Clad Silica (PCS) optical fibre, which can be used as a sensing head. A technological subject of depositing diamond-like carbon (DLC) and nanocrystalline diamond (NCD) layers onto dielectric substrates is also raised. An original way of placing samples in a plasma reactor and process taken in order to get a desirable effect were worked out. An influence of deposition process parameters on fibre's transmission is presented. The coats can be characterized by good adhesion and stability. Scanning Electron Microscopy (SEM) and Atomic Force Microscopy (AFM) images of the deposited layer were made. The experiments prove very

68

dowodzi bardzo wysokiej czuło ci otrzymanego układu na zmiany wilgotno ci otoczenia, w tym tak e w otoczeniu płynów organicznych "in vitro". Czuło ta zale y od długo ci pokrycia rdzenia warstw DLC lub NCD oraz od parametrów procesu jej osadzenia. Ze wzgl du na biokompatybilno pokry NCD układ mo e znale zastosowania "in vivo".

Słowa kluczowe: Biomedyczne zastosowania DLC i NCD, charakteryzacja warstw DLC i NCD, czujniki wiatłowodowe, biopokrycia NCD

Wst p

Warstwy diamentopodobne DLC (Diamond-Like Carbon), a tak e czystsze fazowo NCD (Nanocrystalline Diamond), mog znale szerokie zastosowanie jako zabezpieczenie, pasywacja i pokrycia antyodbiciowe dla wielu materiałów [1-6]. Wspaniała wła ciwo kompatybilno ci biochemicznej i inertno ci chemicznej (głównie NCD) tych e warstw daje mo liwo ich wykorzystania jako materiał pokryciowy implantów medycznych, a tak e pokry elementów sztucznych zastawek serca [7-10]. Niniejszy komunikat przedstawia nowatorskie zastosowanie warstw DLC, jako materiał pokryciowy na rdzenie włókien wiatłowodowych typu PCS (Polymer Clad Silica), które znalazły szerokie zastosowanie w sensoryce wiatłowodowej [14-16]. Prezentowane pokrycia uzyskano w metodzie RF PCVD (Radio Frequency Plasma Chemical Vapour Deposition) [11-13]. Wykonano pomiary transmisji układu i porównano do transmisji tego układu po zanurzeniu w cieczy odcinka rdzenia pokrytego warstw NCD. W zale no ci od parametrów procesu RF PCVD uzyskano ró ne warto ci transmisji przedstawionego układu.

Eksperyment

Przygotowanie włókna wiatłowodowego

Przedstawione rozwi zanie wykorzystuje popularne narz dzie refraktometryczne, jakim jest włókno wiatłowodowe, którego płaszcz na pewnym odcinku usuni to [15-16]. Zastosowano wiatłowód typu PCS składaj cy si z kwarcowego rdzenia (o 400µm) pokrytego płaszczem sylikonowym oraz zewn trznym polimerowym pokryciem. Płaszcz i pokrycie usuni to mechanicznie umo liwiaj c osadzenie warstwy NCD wprost na kwarcowy rdze . Przygotowano dwa rodzaje wiatłowodów ró ni ce si długoci odcinka odsłoni cia rdzenia: seria o stałej długo ci odsłoni cia 25 mm i seria o ró nej długo ci odsłoni cia z zakresu 5 do 45 mm ze skokiem co 5 mm. Wszystkie wiatłowody poddano czyszczeniu wst pnemu w k pieli acetonowej poprzedzaj cej proces osadzania.

Czyszczenie plazmowe i osadzanie pokrycia NCD

Warstwy uzyskano w wyniku rozkładu metanu w plazmie RF przy ci nieniu w reaktorze na poziomie 25 Pa. Ustawiano cztery warto ci potencjału autopolaryzacji elektrody RF z zakresu -180 V do -360 V ze skokiem -60 V. Czas nanoszenia wynosił od 3 do 11 minut. wiatłowody umieszczano w uchwytach typu "U" zachowuj c ich dystans 10mm lub 25 mm od elektrody RF. Jednocze nie w ka dym procesie na elektrodzie RF znajdowała si płytka krzemowa. Procesy nanoszenia poprzedzało 3-minutowe czyszczenie plazmowe przy napi ciu autopolaryzacji wynosz cym -420 V.

Pomiary transmisji układu

Ka de włókno wiatłowodowe było instalowane w stanowisku pomiarowym zapewniaj cym stałe poło enie włókhigh sensitivity to humidity. Such a sensor head can also find applications in an "in vitro" organic liquids environment. The sensitivity depends on a length of the uncoated section and deposition process parameters. Considering a biocompatibility of the NCD, presented tool can find "in vivo" applications.

Key words: DLC and NCD biomedical application, DLC and NCD layer characterization, optical fibre sensor, NCD biocoating

Introduction

Diamond-like carbon (DLC) layers and their phase purer variety - nanocrystalline diamond (NCD), can find their applications as protecting, passivating and antireflecting coats for many surfaces [1-6]. Excellent chemical inertness and biocompatibility of a diamond-like film (mainly NCD) make it a promising material for medical implants, cardiovascular surgery and for coating certain components of artificial heart valves [7-10]. This paper presents the NCD layers as a cladding material for partly uncoated Polymer Clad Silica (PCS) optical fibre (OF), commonly used for optoelectronic sensors [14-16]. The coats were successfully obtained using the Radio Frequency Plasma Chemical Vapour Deposition (RF PCVD) method [11-13]. Measurements of this system's transmission were taken and compared with the transmission of the same system drowned in pure water. Depending on RF PCVD process parameters, different values of optical fibre transmission can be observed.

Experimental details

Optical fibre preparation

The presented experiment takes an advantage of a very popular refractometric tool based on partly uncoated optical fibre [15-16]. The PCS optical fibre consists of the SiO₂ core (o 400 μ m) covered with silicone cladding and an exterior protecting polymer coat. Both layers were mechanically removed, allowing the NCD cladding deposition directly onto SiO₂ core. Two types of fibre's uncoated section length were prepared: a 25mm long series and a series of different section length ranging from 5 to 45mm with 5mm intervals. All fibres were cleaned and prepared to plasma precleaning by an acetone bath.

Plasma precleaning and NCD cladding deposition

The film was deposited by the RF decomposition of methane (RF PCVD) under 25 Pa pressure in a reactor chamber. Four voltage values of the self-bias RF powered electrode were set: -180 V to -360 V with -60 V step. The deposition time was set from 3 to 11 minutes. The optical fibres were placed in special "U-type" holders with keeping a 10 mm and 25 mm distance from the RF powered negatively self-biased electrode. Simultaneously, a piece of silicon substrate was placed on the electrode next to the mentioned holder each time. A 3-minute long plasma etching with self-bias voltage equals to -420 V preceded every deposition.

Measurement set-up

Each OF was placed in a special holder ensuring system's balance during measurements [16]. The middle section of the OF was covered by a container allowing to fill it with some liquid (H_2O , refractive index n = 1.32). One end of the OF was supplied by a laser diode (1 = 670 nm), and the other tip connected to a detector system. Two values of transmission were measured: dry OF transmission and transmission of OF drowned in the liquid.

na w trakcie pomiarów. rodkowa cz wiatłowodu była umieszczana w pojemniku umo liwiaj cym jego zapełnienie ciecz (H_2O , współczynnik załamania n = 1,32). Jeden z ko ców włókna zasilono diod laserow (1 = 670 nm), za drugi doprowadzono do układu detekcyjnego. Zmierzono nast puj ce warto ci: transmisj układu przed zanurzeniem oraz transmisj układu po zanurzeniu w cieczy cz ci pokrytej warstw NCD.

Badania pokrycia NCD na rdzeniu wiatłowodu oraz warstwy NCD na podło u Si

Wykonano nast puj ce analizy uzyskanych warstw: obrazy skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) za pomoc urz dzenia Jeol JSM 5200, obrazy mikroskopu sił atomowych (AFM) na NTMDT Solvr P47 oraz badania elipsometryczne z u yciem Gaertner L116 (1 = 623,8 nm). Wszystkich bada dokonano na warstwach pokrywaj cych podło a krzemowe towarzysz ce wiatłowodom podczas ka dego z procesów osadzania. Badania SEM pokry DLC na rdzeniu wiatłowodu umo liwiło ich pokrycie cienk warstw złota.

Wyniki

Uzyskane w metodzie RF PCVD warstwy NCD na podłou SiO₂ mog charakteryzowa si dobr adhezj i stabilno ci . Główna ich faz jest faza diamentowa o strukturze nanokrystalitów [8, 17, 18]. Wyst puj ce zanieczyszczenia innymi fazami (amorficzny i tetraedryczny w giel, grafit) powoduj , e warstwy te mog by oznaczane równie jako DLC. Jednak ze wzgl du na dominuj c faz NCD, tak b d one dalej nazywane (oznaczane). Rdze kwarcowy uległ znacznemu wzmocnieniu po osadzeniu warstwy. Grubo ci wykonanych warstw zawieraj si w przedziale 150÷300nm i charakteryzuj si współczynnikiem załamania z zakresu 2,1÷2,5. Zało ono, i warstwy osadzone na podło ach Si s porównywalne z warstwami pokryciowymi włókien wiatłowodowych w obr bie tego samego procesu.

Zaobserwowano dwa rodzaje procesu osadzania: przypadki, kiedy warto potencjału autopolaryzacji była stabilna w trakcie trwania procesu, oraz kiedy stabilno ta nie była zachowana. Procesy niestabilne s cz sto wyst puj ce i charakterystyczne dla metod plazmowych. Badania elipsometryczne warstw uzyskanych w wyniku procesu niestabilnego nie były mo liwe, co potwierdza ich nanokrystaliczn struktur [17]. Analizy AFM potwierdzaj ich mała trwało i znaczn chropowato . Wyniki pomiarów transmisji układów uzyskanych w obu typach procesów s odmienne. Na obrazach SEM warstw uzyskanych na rdzeniach wiatłowodów mo na zaobserwowa szereg p kni Warstwy uzyskane w procesie niestabilnym maj ich znacznie wi cej i p kni cia te maj wi ksze rozmiary geometryczne, w porównaniu z pokryciami uzyskanymi w procesach stabilnych.

Po zanurzeniu w cieczy zaobserwowano wzrosty transmisji w przypadku procesu stabilnego i spadki w przypadku procesu niestabilnego, a ich warto zale y od długo ci odcinka pokrytego warstw NCD. W obu przypadkach obserwowalne s zmiany warto ci transmisji na skutek par wodnych podczas pozostawania włókna tu ponad powierzchni cieczy. Dla wy szych warto ci potencjału autopolaryzacji (np. -360 V) zaobserwowano wzrosty transmisji, za dla ni szych (np. -180 V) jej spadki. Zauwa ono wzrosty transmisji dla układów z pokryciem NCD osadzonym w procesie krótkim (np. 3 min.) i jej spadki dla układów wykonanych w długim procesie (np. 11 min.). Umieszczenie włókien wiatłowodowych w odległo ci 10 mm nad elektrod daje wi ksze prawdopodobie stwo uzyskania

NCD fibre's cladding and NCD film on Si analyses

Three types of NCD layer analyses were done: Scanning Electron Microscopy images with Jeol JSM 5200, Atomic Force Microscopy images with NTMDT Solvr P47 and ellipsometric measurements with Gaertner L116 (1 = 623.8nm). All mentioned analyses were carried out on the layers deposited onto silicon surfaces accompanying each OF. Only the SEM images of protected by thin gold film OF could be done.

Results and discussions

The NCD film deposited onto SiO_2 substrate with RP PCVD method can be characterised by good adhesion and durability. The dominating phase is a diamond phase in the form of nanocrystals [8, 17, 18]. Presented layers can be also marked as the DLC because of the contamination of the other phases (e.g. amorphous and tetrahedral carbon, graphite). Paying attention to dominating consistence of the NCD phase, the layers will be marked as NCD (called NCD). Depositing the NCD cladding significantly reinforced the SiO₂ core. The film is about 150÷300 nm thin, refractive indexes are 2.1÷2.5. We can assume that the layers deposited onto Si substrates are comparable to layers deposited during the same process onto SiO₂ fibres' cores.

Two kinds of process were observed as the main result: with stable self-bias voltage during the whole process, and the other with fluctuating self-bias voltage. Bringing up in this manuscript unstable type of process is caused by its frequent appearance. An unstable process course is considered as characteristic of plasma methods. Ellipsometric measurements of layers achieved with the unstable process were hardly possible, and that proved nanocrystal structure of them [17]. AFM researches also proving their shortterm durability and roughness. The results of transmission's measurements are significantly different for both types of processes. On SEM images of films deposited onto optical fibres' cores common cracks can be observed. In films deposited with unstable process cracks are wider and there are more of them, comparing to films achieved with stable process.

For the stable process rises in transmission and for the unstable one falls in it can be observed, depending on active (NCD cladding) area. The nonlinear dependence can be caused by imperfect silicone cladding removal. In both types of process, the cladding can be characterised as significantly moistened. Both are sensitive to hydro vapours, which can be observed by transmission changes during a presence of the NCD section over water surface.

Dependence on self-bias voltage transmission rises can be observed for higher values (e.g. -360 V) and falls for low values (e.g. -180 V). Dependence on deposition time can be noticed as rises of transmission for short time process (e.g. 3 min) and falls for long time process (e.g. 11 min). Placing optical fibre 10mm over the electrode, gives high possibility of getting transmission rises. Distance of 25 mm between fibre and electrode surface is more dependent on self-bias voltage value, and we can obtain rises in transmission for higher RF voltages and falls for lower values.

Conclusions

Unique properties of NCD such as biocompatibility and mechanical hardness make it possible to product biomedical "in vitro" and also "in vivo" applications. The NCD coats can protect fibre's core during its contact with a living organism. The fibre optic cores with diamond-like carbon clad-



RYS. 1. Wykres ilustruje zmiany transmisji układu po zanurzeniu w cieczy odcinka rdzenia pokrytego warstw NCD w funkcji długo ci tego odcinka dla procesu o przebiegu stabilnym i niestabilnym. (Parametry procesu: wysoko mocowania próbki: 25 mm; potencjał autopolaryzacji: -300V; czas: 5min; współczynnik załamania cieczy: 1,32).

FIG. 1. The graph illustrates fibre transmission changes regarding a length of NCD cover section for stable and unstable process course. (Process parameters: mounting height: 25 mm; self-bias voltage: -300 V; time: 5 min; working liquid's refractive index: 1.32).

wzrostów transmisji układu. Dla wysoko ci zamocowania włókien wynosz cej 25 mm nad elektrod, zaobserwowano wi ksz zale no warto ci transmisji od potencjału autopolaryzacji i mo liwe jest uzyskanie wzrostów transmisji dla wy szych potencjałów elektrody RF i jej spadków dla ni szych warto ci.

Wnioski

Unikalne wła ciwo ci warstw NCD takie jak twardo biokompatybilno umo liwiaj ich wykorzystanie w zastosowaniach biomedycznych "in vitro", a tak e "in vivo". Pokrycia NCD mog ochroni rdze włókna wiatłowodowego podczas kontaktu z organizmem ywym. wiatłowody pokryte warstw diamentopodobn mog znale zastosowania jako sondy wprowadzaj ce i wyprowadzaj ce sygnał optyczny do i z ywego organizmu. Sterowanie parametrami procesu osadzania warstwy NCD umo liwia kształtowanie charakteru zmian transmisji sygnału optycznego podczas obecno ci przedstawionych sond w otoczeniu o okre lonej wilgotno ci. Włókno wiatłowodowe z odsłoni tym na pewnym odcinku rdzeniem pokrytym warstw NCD mo na wykorzysta jako głowic czujnikow . Eksperyment potwierdza znaczn czuło układu na zmiany wilgotno ci otoczenia zale n od długo ci odsłoni tej cz ci rdzenia oraz parametrów procesu osadzana warstwy NCD. Sondy mog tak e znale zastosowanie jako detektory stabilnoci przebiegu procesu osadzania plazmowego. Przedstawiona metoda diagnostyczna jest prosta i tania.

ding can find their practical applications as probes delivering optical signal into and out of such an organism. By adjusting certain NCD deposition process parameters we can achieve probes characterised by falls or rises of transmitted signal during a contact with wet surrounding. A partly uncoated optical fibre, covered by NCD layer, definitely can act as a hydro vapours sensing head. Such probes can also act as deposition process appropriate course detectors. The presented method of process diagnosis is cheap and easy to put into practice.

Pi miennictwo References

[1] Szmidt J., Diamond-like layers as passivation coating for power bipolar transistors. Diamond and Related Materials, 3(1994) 849.

[2] Mitura S., Sokołowska A., Szmidt J., Balasi ski A., Antireflection, hard carbon coating for IR optics. Applications of Diamond Films and Related Materials (1991) 795.

[3] Lettington A.H., Smith C., Optical properties and applications of DLC coatings. Diamond and Related Materials 1(1992) 805.

[4] Alaluf M., Appelbaum J., Klibanov L., Brinker D., Scheiman D., Croitoru N., Amorphous diamond-like carbon films - a hard antireflecting coating for silicon solar cells. Thin Solid Films 256 (1995) 1-3.

[5] Coad E.J., Pickles C.S.J., Jilbert G.H., Field J.E., Aerospace erosion of diamond and diamond coatings. Diamond and Related Materials 5 (1996) 640-643.

[6] Mitura E., Wawrzyniak P., Rogacki G., Szmidt J., Jakubowski A., The properties of diamond-like carbon layers deposited onto SiO_2 aerogel. Diamond and Related Materials 3 (1994) 868.

[7] Grant D.M., Mccoll I.R., Golozar M.A., Wood J.V., Braithwaite N.St.J., Plasma assisted CVD for biomedical applications. Diamond and Related Materials 1(1992) 727.

[8] Mitura E., Mitura S., Niedzielski P., Has Z., Wolowiec R., Jakubowski A., Szmidt J., Sokolowska A., Louda P., Marciniak J., Koczy B., DLC coatings for biomedical applications. Diamond and Related Materials 3 (1994) 896.

[9] Butter R., Allen M., Chandra L., Lettington A.H., Rushton N., In vitro studies of DLC coating with silicon intermediate layers. Diamond and Related Materials 4 (1994) 857-861.

[10] Grill A., Diamond-like carbon coatings as biocompatible materials - an overview. Diamond and Related Materials 12 (2003) 166-170.

[11] Langer M., Mitura S., Szmidt J., Sokołowska A., Verification of nanocrystalline diamond films' quality. Diamond Based Composites (1997) 211.

[12] Dłu niewski M., Mitura E., Mitura S., Niedzielski P., Przymusiala P., Der-Sahaguian S., Staryga E., Zak J., Skolowska A., Szmidt J., Stanishevsky A., Moll J.A., Moll J.J., Comparison of the surface structure of carbon films deposited by different methods. Diamond'96, paper 11.020.

[13] Robertson J., Improving the properties of diamond-like carbon. Diamond and Related Materials 12 (2003) 79-84.

[14] Abderrahmane S., Himour A., Kherrat R., Chailleux E., Jaffrezic-Renault N., Stremsdoefer G., An optical fibre corrosion sensor with an electroless deposit of Ni-P. Sensors and Actuators, B75 (2001) 1-4.

[15] Adbelmalek F., Chevelon J.M., Lacroix M., Jaffreizic-Renault N., Gagnaire H., The sol-gel approach to prepare functionalized porous silica as sensing part for optical fibre sensor. Proc 11th European Conference on Solid State Transducers EUROSEN-SORS XI, (1997) 1529.

[16] mietana M., Szmidt J., Dudek M., Niedzielski P., Optical properties of diamond-like cladding for optical fibre. To be published in Diamond and Related Materials.

[17] Szmidt J., Electronoic Properties of Nanocrystalline Layers of Wide-Band-Gap Materials, Chaos, Solitons and Fractals, Vol. 10, 12 (1999) 2099-2152.

[18] Mitura S., Mitura A., Niedzielski P., Couvrat P., Nanocrystalline Diamond Coatings, Chaos, Solitons and Fractals Vol. 10, 12 (1999) 2165-2176.

.

OBLICZENIA NUMERYCZNE PRZEPŁYWU PRZEZ SZTUCZN ZASTAWK SERCA Z WARSTW NCD

KRZYSZTOF JÓ WIK, DARIUSZ WITKOWSKI

Politechnika Łódzka, instytut Maszyn Przepływowych Zespół Aparatury Medycznej ul. Wólcza ska 219/223, 93-005 Łód , Polska

Streszczenie

Najwi ksze znaczenie dla wszystkich rodzajów implantów ma biokompatybilno . Wcze niejsze badanie w dziedzinie protez dowiodły e biokompatybilno mo e by poprawiona poprzez pokrycie implantów warstw NCD (nanokrystalicznym diamentem). Sztuczna mechaniczna zastawka serca zaprojektowana przez prof. J. Molla i pokryta warstw NCD jest pierwsza tego typu warstw zarówno w Polsce jak i na wicie. Artykuł ten przedstawia symulacje przepływu przez sztuczn zastawk serca za pomoc programu CFX TASCFlow. Zakres bada obejmował zmiany profilu dysku, przy stałej jego gruboci oraz rednicy. Praca ta przedstawia wyniki oblicze niestacjonarnych w poło eniu maksymalnego otwarcia dysku (maksymalny k t otwarcia wynosi 75°). Obliczenia były przeprowadzone dla przepływu ci głego dla dwóch pr dko ci: 0,5 oraz 1,6 m/s, ci nienie całkowite na wlocie wynosiło 116 kPa.

Słowa kluczowe: zastawka serca biokompatybilno , przepływ krwi, zakrzepy

Wprowadzenie

Zastawka serca stanowi element regulacyjny układu kr enia, który jest odpowiedzialny za prawidłowy przepływ krwi w sercu. Dysfunkcja którejkolwiek z czterech zastawek serca człowieka, powoduje niewydolno serca, jak równie mo e by przyczyn bakteryjnego zapalenia mi nia sercowego [3]. Jedynym sposobem przywrócenia prawidłowego działania zastawek jest ich przeszczep (na inn , pochodz c od dawcy, mechaniczn lub biologiczn). Historia przeszczepu sztucznych zastawek rozpocz ła si na pocz tku lat sze dziesi tych XX wieku, a w chwili obecnej liczba rocznie dokonywanych implantacji osi gn ła na wiecie poziom trzystu tysi cy [2, 4]. Istotnymi z punktu widzenia zdrowia i ycia pacjenta z wszczepion zastawk s :

- pewno działania implantu,

- biokompatybilno materiału, z którego implant jest wykonany,

- odpowiednia struktura przepływu krwi przez zastawk w warunkach organizmu człowieka.

Niedopuszczalne jest, aby wszczepiona zastawka serca uległa mechanicznemu uszkodzeniu, poniewa nast pstwem tego jest mier pacjenta. Natomiast wszelakie oddziaływania materiałów zastawek wywołuj ce alergie lub infekcje powoduj konieczno powtórnej operacji, której niebezpiecze stwo wzrasta wielokrotnie w stosunku do

NUMERICAL INVESTIGATIONS OF A FLOW THROUGH AN ARTIFICIAL HEART VALVE WITH AN NCD COATING

KRZYSZTOF JÓ WIK, DARIUSZ WITKOWSKI

TECHNICAL UNIVERSITY OF ŁÓD , INSTITUTE OF TURBOMACHINERY DIVISION OF MEDICAL APPARATUS 219/223 WÓLCZA SKA ST. 93-005 ŁÓD , POLAND

Abstract

The biocompatibility is of the most significant for all kinds of implants. Earlier investigations in the field of prostheses have proven that their biocompatibility can be improved by coating them with an NCD (nanocrystalline diamond) layer. The mechanical artificial heart valve designed by Prof. J. Moll and coated with an NCD layer is the first innovative design of this type both in Poland and in the world. This paper concerns the simulation with the CFX TASCflow code of a flow through the artificial heart valve. The research range has involved changes in the mechanical heart valve disc profile, at its constant thickness and diameter. In this work, results of non-stationary data in the complete opening position (disc deflection angle was 75°) are presented. The investigations were carried out for a continuous flow with two flow velocities: 0.5 m/s and 1.6 m/s. Total pressure in front of the examined prosthesis was equal to 116 kPa.

Keywords: heart valve, biocompatibility, blood flow, clots

Introduction

The artificial heart valve is a control element of cardiovascular system that is responsible for correct blood flow through the heart. Dysfunction of any of four human artificial heart valves causes heart failure as well as it can be a reason of bacterial inflammation of heart muscle [3]. The only one way to restore correct operation of heart is transplantation of such heart valve (for another: mechanical or biological, or deriving from donor). The history of artificial heart valve transplantation began from the beginning of the sixties of the 20th century and now the number of performed transplantations is close to 300000 per year [2,4]. From the health and patient's live point of view the most important aspects are:

- Reliability of implant operation,

- Biocompatibility of material the implant is made of,

- The proper structure of blood flow through the artificial heart valve for human organism conditions.

It is unacceptable that implanted heart valve would undergo mechanical damages because it would have to result in the death of patient. However, any interactions of valve materials with human body which breed allergies or infections, cause necessity of second operation which danger is repeatedly greater with respect to the first one. In the

pierwszego zabiegu.

72

W latach 70-tych ubiegłego stulecia wprowadzono tytan i w giel pirolityczny jako podstawowe materiały, z których wykonuje si sztuczne zastawki [9]. Pocz tkowo zastosowanie tych materiałów wyeliminowało problemy braku biokompatybilno ci, a główne kierunki bada zostały zogniskowane na odpowiednim ukształtowaniu pól ci nienia i pr dko ci płyn cej krwi. Długoterminowe przebywanie tytanowych implantów w organizmie człowieka i bezpo rednie oddziaływanie krwi na materiał zastawki wywołuje jednak e objawy alergizuj ce, a tak e, co jest ostatnio przedstawiane na konferencjach [4], jest czynnikiem kancerogennym.

W roku 2000 w Instytucie Maszyn Przepływowych Politechniki Łódzkiej, przy współpracy z Fundacj Rozwoju Kardiochirurgii w Zabrzu, Akademi Medyczn z Łodzi i Instytutem Centrum Zdrowia Matki Polki z Łodzi, skonstruowano i wykonano kilka prototypów mechanicznej sztucznej zastawki serca [10, 11], RYS. 1 przedstawia zastawk jednolistkow . Pier cie zastawki, wykonany z tytanu lub jego medycznego stopu, pokryty został warstw nanokrystalicznego diamentu [5, 6] zapewniaj c lepsz biokompatybilno implantu. Dysk zastawki mo e by wykonany z kompozytu w giel-w giel pokryty w glem pirolitycznym, z w gla pirolitycznego lub z derlinu. Wst pne prace s bardzo obiecuj ce i modyfikacja powierzchni tytanowego pier cienia jest jedynym wyj ciem, które zapewni biokompatybilimplantu. Jednocze nie, opracowana konstrukcja daje no bardzo dobre rozkłady pól ci nienia i pr dko ci [7, 8], co w poł czeniu z zastosowanymi materiałami, daje nadzieje na uzyskanie protezy przywracaj cej zdrowie człowiekowi w sposób trwały.

Prezentowana praca zawiera wyniki oblicze przepływu przez opracowan zastawk , dokonanych przy u yciu programu CFX TASCFlow.. Okre lenie rozkładu ci nienia i pr dko ci daje mo liwo oceny prawidłowo ci struktury przepływu ze wzgl du na niszczenie elementów morfotycznych, zjawisko kawitacji oraz powstawanie miejsc zastoiskowych, sprzyjaj cych odkładaniu si płytek krwi i białek.

Warunki przepływu

Obliczenia przepływu przez zastawk (RYS.1) dokonano dla warunków modelowych. Zastawka znajdowała si w prostej rurze o wymiarach odpowiadaj cych kanałowi u ytemu do bada eksperymentalnych. Dla takiego umiejscowienia rozwa anej zastawki przygotowano siatk obliczeniow , któr przedstawiono na RYSUNKU 2.

Obliczenia dokonano dla stacjonarnych i niestacjonarnych warunków przepływu, przy czym dla przepływu niestacjonarnego wykorzystano model turbulencji k-v [1].



RYS. 2. Siatka kanału przepływowego wygenerowana w programie HEXA. FIG. 2. Mesh of the flowing channel generated by means of HEXA code.

seventies of the last century titanium and pyrolitic carbon were introduced as basic materials for heart valves [9]. Initially, an application of these materials eliminated problem of lack of biocompatibility and main research directions were focused on the proper distribution of pressure and velocity of flowing blood. However, a long-term stay of titanium implants in the human body and direct blood interactions with the valve material cause allergic symptoms and also are cancerogenic agents [4].

In the last few years at the Institute of Turbomachinery, Technical University of Lodz, with the co-operation with other polish scientific institutions, several prototypes of mechanical artificial heart valve have been designed and manufactured [10, 11]. The leaflet disc valve is presented in FIG. 1. Retaining ring of the valve is made of titanium or its medical alloy and is coated with nanocrystalline diamond layer [5, 6] ensuring better biocompatibility of the implant. Heart valve disc can be made of carbon-carbon composite coated with pyrolitic carbon, pyrolitic carbon or Derlin®. Initial investigations are very promising and modification of titanium ring surface is the only solution which would ensure implant biocompatibility. Simultaneously, developed construction gives very good distributions of pressure and velocity fields [7, 8]. Flow parameters and applied materials give the hope for obtaining the prosthesis restoring health in a permanent way.

Presented work comprises numerical calculation results of flow through an artificial disc heart valve, performed by means of CFX TASCFlow code. Determination of pressure and velocity distributions gives the possibility of structure correctness evaluation of the flow in consideration of morphotic elements destruction, phenomena of cavitations and creation of stagnation areas which are conducive to thrombocyte and protein aggregation.

Flow conditions

Calculations of the flow through the artificial heart valve (FIG. 1) were conducted for the model conditions. The artificial heart valve was situated in the straight tube of dimensions corresponding to this channel which was used for



RYS. 1. Dyskowa zastawka serca z pier cieniem pokrytym nanokrystalicznym diamentem. FIG. 1. Artificial disc heart valve with the retaining ring coated with nanocrystalline diamond.
Badania przeprowadzono dla przepływu ci głego na wlocie dla dwóch pr dko ci płyn cego czynnika: 0,5 i 1,6 m/s. Ci nienie całkowite przed badan protez ustalono jako stał o warto ci 116 kPa. Dla pr dko ci 0,5 m/s został u yty rozkład paraboliczny a dla pr dko ci 1,6 m/s zastosowano rozkład Prandtla.

Wybrane pr dko ci i ci nienia przedstawiaj przykładowy stan fizjologiczny, czyli s to warunki wyst puj ce w rzeczywistych układach sercowo-naczyniowych przy pełnym otwarciu zastawki aortalnej.

W symulacji jako czynnik został u yty 40% wodny roztwór gliceryny, który jest ciecz newtonowsk o nast puj cych parametrach:

• współczynnik lepko ci dynamicznej - 0,0034 kg/ms (dla krwi w zakresie 0,03-0,04 kg/ms przeci tnych warunków fizjologicznych współczynnik lepko ci dynamicznej przyjmuje si w zakresie i do oblicze zakłada si e krew jest ciecz newtonowsk);

• g sto - 1030 kg/m³ (krew charakteryzuje si w przyblieniu stał g sto ci , której warto mo na przyj na poziomie 1055 kg/m³).

Cały tok oblicze został wykonany dla trzech profili dysku:

• dysk wypukło-wkl sły (w dalszej cz ci nazwany wypukłym),

dysk płaski,

dysk wkl sło-wypukły (w dalszej cz ci nazwany wkl - słym).

Przyj to dodatkowo poło enie dysku odpowiadaj ce maksymalnemu otwarciu, które wynosi 75°, grubo i rednica dysku pozostały stałe dla wszystkich rozwa anych przepływów i kształtów dysku.

Wyniki oblicze

RYSUNKI 3-6 przedstawiaj wyniki oblicze przepływu cieczy modelowej przez rozwa an zastawk dla pr dkoci maksymalnej na wlocie 0,5 i 1,6 m/s oraz dla trzech typów dysków. Wyniki przedstawione s dla dwóch przekrojów znajduj cych si za zastawk w odległo ci 1d oraz 2d (d oznacza rednic wewn trzn pier cienia zastawki) oraz równoległych do płaszczyzny pier cienia [12].

RYSUNKI 3 i 4 zawieraj rozkłady pr dko ci redniej dla v = 0,5 m/s. Analizuj c uzyskane charakterystyki nale y zauwa y , e z punktu widzenia przepływu krwi, dysk płaski wymusza najwi ksze zmiany pr dko ci. Natomiast najmniejsze gradienty s dla dysku wypukłego oraz wkl słego. Przy pr dko ci v = 1,6 m/s uwidacznia si przewaga dysku wypukłego nad dyskiem wkl słym, w którym wyst puj wi ksze gradienty pr dko ci w odległo ci 1d za zastawk . W dalszej cz ci przepływ si stabilizuje i ró nice nie s ju tak dobrze widoczne.

O ile rozkłady pr dko ci redniej s istotne dla przepływu krwi, a zwłaszcza dla procesów niszczenia elementów morfotycznych, to nie daj one pełnego obrazu zjawisk oddziaływuj cych na elementy krwi.

Niezwykle istotnym jest aspekt intensywno ci turbulencji, która dla przepływu krwi nazywana jest turbulencj czasow i zdefiniowana jako:

• turbulencja czasowa, okre lona jako warto odchylenia standardowego zmiennej losowej (pr dko ci) w danym punkcie dla 30 pomiarów, wyra ona jest wzorem

$$S_{v} = \sqrt{E[V - E(V)]^2}$$

gdzie E(V) jest warto ci oczekiwan pr dko ci V, a S_v jest odchyleniem standardowym tej pr dko ci.

experimental investigations. The calculation grid was prepared for the considered valve position (see FIG. 2).

Calculations were performed for stationary and non-stationary flow conditions, and the k-v turbulence model was used for non-stationary flow conditions [1].

Investigations were carried out for continuous flow at inlet for two velocities of the flowing medium: 0.5 and 1.6 m/s. Total pressure at the front of prosthesis was equal to 116 kPa. Parabolic distribution was used for lower velocity and Prandtl distribution was used for higher one. Chosen velocities and pressures correspond to exemplary physiological states. These values of considered quantities exist in real cardiac-vascular systems for fully opened aortic heart valve.

40% glycerine solution in water was used for the simulation as the medium. It is the Newtonian fluid of the following parameters:

• coefficient of dynamic viscosity - 0.0034 kg/ms in the range of average physiological conditions, the coefficient of dynamic viscosity of human blood is accepted in the range of 0.003 - 0.004 kg/ms and it is assumed for calculations that the blood is a Newtonian fluid;

 \bullet density - 1030 kg/m $_{\rm 3}$ (blood is characterised by approximately constant density and its value can be assumed as 1055 kg/m $^{\rm 3}$).

Calculation procedures were performed for three disc profiles:

• convex-concave disc (in further part called convex),

• concave-convex disc (in further part called concave).

The following constant conditions are also assumed: disc position of 75° corresponding to the maximum opening, thickness and diameter of disc for all considered flows and disc shapes.

Results

Calculation results of the model fluid flow through considered heart valve for maximum velocity of the inlet 0.5 and 1.6 m/s and for three disc types are presented in FIG-URES 3 - 6. Results are presented for two sections downstream the valve at the distance 1d and 2d (where d is the inner diameter of valve ring) and parallel to ring plane [12]. Distributions of average velocity for v = 0.5 m/s are presented in FIGS 3 and 4. Analysing obtained profiles one can point out that from blood flow point of view flat disc forces the biggest velocity changes. Whereas, the smallest gradients are for convex and concave discs. For v =1.6 m/s the superiority of the convex disc over concave one is visible. There are bigger velocity gradients at the distance 1d downstream the valve. In further part of the cross-section the flow becomes stabilised and differences are not so significant. Average velocity distributions are important for blood flow and especially for processes of the morphotic element destruction but they do not represent at all influences of flow on blood elements.

The aspect of turbulence intensity is of great importance. Turbulence intensity or time turbulence is defined as:

• turbulence intensity described as the standard deviation value of a random variable in a given point for 30 measurements, is expressed by the relation

$$S_v = \sqrt{E[V - E(V)]^2}$$

where E(V) is velocity, V, expected value, and Sv is the standard deviation value of this velocity. Turbulence intensity distributions determined for maximum velocity 1.6 m/s

[•] flat disc,



RYS. 3. Rozkład pr dko ci w płaszczy nie równoległej do płaszczyzny pier cienia wzdłu osi poziomej przy przepływie ci głym v=0,5 m/s, dla modeli zastawek dyskowych z dyskiem płaskim, wkl słym oraz wypukłym, a) w odległo ci 1d za zastawk , b) w odległo ci 2d za zastawk

FIG. 3. Velocity distribution for the horizontal axis and for v = 0.5 m/s, a) at the distance of one diameter downstream the valve ring, b) at the distance of two diameters downstream the valve ring.

at the valve inlet for two cross-sections at the distance 1d and 2d downstream the ring valve are shown in FIGS 7 and 8. Velocity changes for convex disc are the smallest thus influences on morphotic elements by means of their deformations are the smallest too. Blood element deformation affects changes in morphotic element membrane properties, vitality reduction, and in case of thrombocytes it may cause they activation and, in consequence, formation of blood clots.

0.015

[m]

0.020

0.025

convex disc. non-stationa

flat disc, non-stationary

concave disc. stationary

0,50

0,45

0,40

0.35

0,30

0,25 velocity

0,20

0,15

0,10

0,05 0,00

0,000

0.005

0.010

[m/s]

concave disc. non-station

convex disc, stationary

flat disc, stationary



Rozkłady turbulencji czasowej wyznaczonej dla pr dko ci maksymalnej na wlocie 1,6 m/s w dwóch przekrojach odległych 1d oraz 2d od pier cienia zastawki pokazana jest na RYS. 7 i 8. Dla dysku wypukłego zmiany pr dko ci s najmniejsze, a wi c oddziaływanie na elementy morfotyczne poprzez ich deformacje jest równie najmniejsze. Deformacja elementów krwi wpływa na zmian wła ciwo ci ich błony, skrócenie ywotno ci, a w przypadku płytek krwi, mo e spowodowa ich aktywacj, co wywoła mo e tworzenie koagulantów płytkowych - skrzepów.

RYS. 4. Rozkład pr dko ci w płaszczy nie równoległej do płaszczyzny pier cienia wzdłu osi pionowej przy przepływie ci głym v = 0,5 m/ s, dla modeli zastawek dyskowych z dyskiem płaskim, wkl słym oraz wypukłym, a) w odległo ci 1d za zastawk , b) w odległo ci 2d za zastawk .

FIG. 4. Velocity distribution for the vertical axis and for v = 0.5 m/s, a) at the distance of one diameter downstream the valve ring, b) at the distance of two diameters downstream the valve ring.





RYS. 5. Rozkład pr dko ci w płaszczy nie równoległej do płaszczyzny pier cienia wzdłu osi poziomej przy przepływie ci głym v = 1,6 m/ s, dla modeli zastawek dyskowych z dyskiem płaskim, wkl słym oraz wypukłym, a) w odległo ci 1d za zastawk, b) w odległo ci 2d za zastawk.

FIG. 5. Velocity distribution for the horizontal axis and for v = 1.6 m/s, a) at the distance of one diameter downstream the valve ring, b) at the distance of two diameters downstream the valve ring.

Conclusions

On the basis of discussed in the third part velocity field distributions one can noticed that there is the strong profile asymmetry for all disc types. This is connected with fluid stream separation end deflection from axial direction caused closing element. It is characteristic of all disc valves. Analysing obtained results one can conclude that disc geometry changes can affect velocity field shapes, which are main distinguishing features characterising heart valve from the viewpoint of haemodynamical quality. Obtained results reveal superiority of valve with convex disc - the most uni-



Podsumowanie

Na podstawie omawianych w III rozdziale rozkładów pola pr dko ci mo na zauwa y , e dla wszystkich typów dysków wyst puje silna asymetria charakterystyk. Zwi zane to jest z rozdziałem strugi płynu przez element zamykaj cy oraz odgi cie strugi od kierunku osiowego, co jest charakterystyczne dla wszystkich zastawek dyskowych. Analizuj c uzyskane wyniki mo na wysun wniosek, e zmiana geometrii dysku mo e wpłyn na kształt pól pr dko ci, które s głównym wyró nikiem charakteryzuj cym zastawk w kontek cie jako ci hemodynamicznej. Uzyskane wyniki wykazuj wy szo zastawki z dyskiem wypukłym, otrzymany w tym przypadku stopie jednorodno ci dla wszystkich pr dko ci strugi jest bardzo du y a gradienty s małe (w porównaniu z pozostałymi zastawkami b d cymi przedmiotem bada). Podobne parametry hemodynamiczne wykazuje zastawka z dyskiem wkl słym, jednakRYS. 6. Rozkład pr dko ci w płaszczy nie równoległej do płaszczyzny pier cienia wzdłu osi pionowej przy przepływie ci głym v = 1,6 m/ s, dla modeli zastawek dyskowych z dyskiem płaskim, wkl słym oraz wypukłym, a) w odległo ci 1d za zastawk, b) w odległo ci 2d za zastawk.

FIG. 6. Velocity distribution for the vertical axis and for v = 1.6 m/s, a) at the distance of one diameter downstream the valve ring, b) at the distance of two diameters downstream the valve ring.

form velocity fields for all investigated conditions degree and gradients are small (comprised with other heart valves). The valve with concave disc has similar haemodynamical parameters. However, for bigger flow velocities (1.6 m/s) there is a superiority of convex disc heart valve. For smaller



e przy wy szych pr dko ciach przepływu (dla pr dko ci 1,6 m/s) uwidacznia si przewaga dysku wypukłego. Przy mniejszych pr dko ciach strugi dysk wkl sły powoduje wi ksze gradienty. Znacznie ró ni si obraz rozkładu pól pr dko ci przy przepływie przez zastawk z dyskiem płaskim. Znaczne gradienty oraz du a niejednorodno powoduj, e implantacja takiej zastawki wi e si z du ym zagro eniem wyst pienia oddziaływa destrukcyjnych ze strony przepływu (gradienty pr dko ci). Jedynym pozytywnym czynnikiem wyst puj cym przy tym typie zastawki jest fakt, e przy wi kszych pr dko ciach przepływu mo na zaobserwowa szybsz stabilizacj badanych parametrów, niestety tylko dla pomiarów tych parametrów wzdłu osi równoległej do osi obrotu dysku. Przy analizie parametrów dla dysku płaskiego mo na tak e zaobserwowa silny wpływ odgi cia strugi wypływaj cej spod dysku, czego efektem s wła nie du e ró nice w obrazie pól pr dko ci i cinienia szczególnie w przekrojach oddalonych o odległo 2d za zastawk .

RYS. 7. Rozkład turbulencji czasowej za zastawk w płaszczy nie równoległej do płaszczyzny pier cienia wzdłu osi pionowej przy przepływie ci głym v = 1,6 m/s, dla modeli zastawek dyskowych z dyskiem płaskim, wkl słym oraz wypukłym, a) w odległo ci 1d za zastawk , b) w odległo ci 2d za zastawk .

FIG. 7. Turbulence intensity distribution for the horizontal axis and for v = 1.6 m/s, a) at the distance of one diameter downstream the valve ring, b) at the distance of two diameters downstream the valve ring.



RYS. 8. Rozkład turbulencji czasowej za zastawk w płaszczy nie równoległej do płaszczyzny pier cienia wzdłu osi poziomej przy przepływie ci głym v = 1,6 [m/s], dla modeli zastawek dyskowych z dyskiem płaskim, wkl słym oraz wypukłym, a) w odległo ci 1d za zastawk , b) w odległo ci 2d za zastawk .

FIG. 8. Turbulence intensity distribution for the vertical axis and for v = 1.6 m/s, a) at the distance of one diameter downstream the valve ring, b) at the distance of two diameters downstream the valve ring.

stream velocities concave disc causes bigger gradients. Velocity distributions differ significantly. The bigger velocity gradients and heterogeneity of the flow through the heart valve with flat disc cause the danger of destruction interactions of the blood flow for the implanted heart valve with such disc type. The faster stabilization of investigated parameters can be observed, unfortunately only for measurements along the axis parallel to the disc rotation axis. It is the only positive factor connected with this type of valve. One can also point out that there is a strong influence of the deflection of the stream flowing out from the bottom of the flat disc. It results in significant differences in pressure and velocity distributions, especially for cross-section at the distance of 2d downstream the valve ring.

Pi miennictwo

77

 Elsner W. J., Turbulencja przepływu, PWN, Warszawa, 1987.
 Jó wik K., Niedzielski P., "Warstwa nanokrystalicznego diamentu dla zastawki serca". Materialove Inzenyrstvi se zamerenim na NOVE MATRIALY A TECHNOLOGIE, Liberec, 2000, s. 90-97.
 Jó wik K., "Bakteryjne zapalenie wsierdzia a zastawki serca", Nowa Klinika, Vol. 7, No 10, 2000, s. 1052-1056.

[4] Jó wik K., Medical Overview - Invited Lecture, CD-ROM Proceedings of the International Technical Conference on Diamond, Cubic Boron Nitride and their Applications, INTERTECH'2000, Vancouver-Canada, 17-21 July, 2000.

[5] Jó wik K., Niedzielski P., "Evaluation of Biocompatibility of the Mechanical Disc Heart Valve with an NCD Coating", Proceedings of the 2nd Annual Symposium of the Tissue and Cell Engineering Society, Nottingham, 18-19 September, 2000, S17.

[6] Jó wik K., Moll J.J., "Modyfikacja powierzchni implantów metalowych dla kardiochirurgii". Materiały X Jubileuszowej Konferencji Naukowej "Biomateriały w Medycynie i Weterynarii" Streszczenia, Dział - Sesja Plenarna, s. 5, Rytro, Pa dziernik 2000. [7] Jó wik K., Nawrat Z., Eksperymentalne badania przepływu przez dyskow zastawk serca z warstw NCD, Cieplne Maszyny Przepływowe, 2000, nr 117, s.317-322. Materiały XIV Krajowej Konferencji Mechaniki Płynów. Łód , 2000.

[8] Nawrat Z., Jó wik K., Małota Z., Moll J., "In Vitro Evaluation of the Mechanical Disc Heart Valve with an NCD Coating", Proceedings of the 2nd Annual Symposium of the Tissue and Cell Engineering Society, Nottingham, 18-19 September, 2000, P35.

[9] Recum von A.F., (edytor), Handbook of Biomaterial Evaluation: Scientific, Technical and Clinical Testing of Implant Materials, Macmillan Publishing, New York, 1986.

[10] Moll J.: patent USA 4.661.106, 1987.

[11] Moll J.: patent USA 4.725.275, 1987.

[12] Witkowski D., Raport z projektu badawczego KBN Nr 7 T11E 042 20., "Wpływ zmiany geometrii dysku mechanicznej zastawki serca na wła ciwo ci hemodynamiczne przepływu", Łód , 2002.

.

PLAZMOCHEMICZNY SPOSÓB MODYFIKACJI SKROBI ZIEMNIACZANEJ

ariusz Kaczmarek*, Anna Sobczyk*, Maciej Gazicki-Lipman*, Hieronim Szymanowski*, Leszek Klimek**, Dariusz Bieli ski**

*INSTYTUT IN YNIERII MATERIAŁOWEJ POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ, STEFANOWSKIEGO 1, ŁÓD POLSKA ** INSTYTUT POLIMERÓW POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ, STEFANOWSKIE-GO 12, ŁÓD POLSKA

Streszczenie

Do powierzchniowej modyfikacji skrobi ziemniaczanej, polegaj cej na hydrofobizacji jej ziaren, zastosowany został obrotowy reaktor plazmochemiczny (PECVD) wysokiej cz stotliwo ci. Czynnikami roboczymi u ytymi w procesie modyfikacji był metan lub mieszanina tetrametylosilanu i argonu (TMS/Ar). Wydajno procesu hydrofobizacji badana była w zale no ci od takich parametrów procesu jak: typ gazu roboczego, szybko przepływu gazu, wyj ciowa moc wyładowania jarzeniowego.

Słowa kluczowe: skrobia ziemniaczana, PECVD, hydrofobizacja

Wst p

Skrobia nale y do najbardziej rozpowszechnionych polimerów naturalnych. W obecnych czasach znajduje ona u ycie głównie jako składnik ywno ci. Jednak dzi ki takim jej wła ciwo ciom jak biodegradowalno , powszechna dost pno oraz niskie koszty pozyskiwania trwaj intensywne badania nad zastosowaniem skrobi jako składnika tworzyw termoplastycznych [1]. Układy kompozytowe, w których poliolefina tworzy matryc , za skrobia spełnia rol wypełniacza, stanowi bowiem potencjalne materiały na biodegradowalne opakowania foliowe.

PLASMA PROCESSING SYSTEM FOR MODIFICATION OF POTATOE STARCH

Mariusz Kaczmarek*, Anna Sobczyk*, Maciej Gazicki-Lipman*, Hieronim Szymanowski*, Leszek Klimek**, Dariusz Bieli ski**

*INSTITUTE FOR MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING, TECHNICAL UNIVERSITY OF ŁÓD , ŁÓD , POLAND **INSTITUTE OF POLYMERS, TECHNICAL UNIVERSITY OF ŁÓD , ŁÓD , POLAND

Abstract

A rotating Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition (PECVD) reactor has been used for surface modification of potatoe starch, aimed at the hydrophobization of its grains. Two working media, such as tetramethylsilane (TMS)/argon mixture, or methane have been used as working media. The results of the efficiency of surface hydrophobization of potatoe starch grains, as a function of such process parameters as: type of working gas, gas feed-in rate and RF power input, are presented in this work.

Key Words: potatoe starch, plasma enhanced CVD, hydrophobization

Introduction

Starch belongs to the most abundant natural polymers. At the present time, starch is primarily used as a food ingredient. However, because of its known biodegradability, availability and low cost it is also considered a component in certain thermoplastic applications [1]. A composite material where a polyolefine makes a matrix and starch plays the role of a filler should constitute a good candidate for a biodegradable packaging foil.

Technologie kompozytów cz sto wymagaj mieszania substancji o znacznie ró ni cych si wła ciwo ciach powierzchniowych. Szczególnie wa ny jest rozkład, zarówno w poliolefinie, jako matrycy, jak i w skrobi, jako wypełniaczu, pomi dzy dyspersyjnymi a polarnymi składnikami swobodnej energii powierzchniowej, od którego silnie zale y proces zwil ania. Poliolefina taka jak polietylen, z bardzo nisk warto ci polarnego składnika energii powierzchniowej [2], powoduje niewystarczaj ce zwil anie ziaren skrobi, która charakteryzuje si wysokimi warto ciami tego składnika. Skutkiem tego w kompozycie, w procesie jego wytłaczania, tworz si aglomeraty skrobi. Rozwi zaniem problemu jest minimalizacja energii na powierzchni rozdziału polimer/skrobia [3]. Drog za prowadz ca do tego rozwi zania jest taka modyfikacja skrobi, która znacznie obniy warto polarnego składnika jej energii powierzchniowej i w konsekwencji poprawi warunki wzajemnego oddziaływania matryca - wypełniacz. Procesy plazmochemiczne s powszechnie uznane jako sposób efektywnej hydrofobizacji powierzchni polimerów [4-6]. Niniejsza praca przedstawia zastosowanie obrotowego reaktora PECVD w celu zwi kszenia hydrofobowo ci skrobi ziemniaczanej.

Cz do wiadczalna

Główn cz ci zastosowanego reaktora PECVD jest rurowy element o długo ci 450 mm i o rednicy 40 mm, który mo e obraca si z cz sto ci od 0 do 60 RPM. Reaktor ten jest wyposa ony w układ zewn trznych elektrod, do których energia wysokiej cz stotliwo ci (13.56 MHz) dostarczana jest z generatora w.cz. firmy Plasma Products RF5S poprzez r cznie regulowany układ dopasowania mocy. Do kontroli szybko ci przepływu gazowych mediów roboczych zastosowano regulatory przepływu typu MKS 1179. Szybko przepływu par ciekłego medium (TMS) jest kontrolowana zarówno przez temperatur jak i ci nienie w zbiorniku, a technika rate-of-rise jest u yta do jej pomiaru. Cykl modyfikacji skrobi zaczyna si od ustalenia przepływu medium roboczego oraz szybko ci obrotów elementu rurowego, po czym w reaktorze iniciowane jest wyładowanie jarzeniowe wysokiej cz stotliwo ci. Zawarta w reaktorze skrobia jest efektywnie mieszana, umo liwiaj c depozycj plazmow oraz modyfikacj ka dego ziarna. Opisany reaktor obrotowy jest przedstawiony schematycznie na RYSUNKU 1a, za zdj cie reaktora podczas pracy pokazane jest na RYSUNKU 1b.

Jako media robocze u yte zostały gazy reaktywne takie jak metan oraz mieszanina TMS/Ar. Modyfikacja plazmo-

	ROTARY MECHANISM	PRESSURE GAUGE	
MATCHBOX	THROTTLE VALVE	MASS FLOW CONTF	ROLER
RF			
	VACUUM PUMP		GAS INLET

RYS. 1a. Schemat obrotowego reaktora plazmowego w.cz.

FIG. 1 a. Schematic representation of the rotating RF plasma reactor.

Technologies of composite materials often require mixing substances of significantly differing surface properties. Particularly important is the distribution of the free surface energy, of both a polyolefine as a matrix and starch as a filler, between dispersive and polar components, on which the process of wetting is strongly dependent. A polyolefine, such as polyethylene, with a very low polar component of its surface energy [2], does not sufficiently wet the surface of starch grains, characterized by a relatively high polar component. As a result, agglomerates of starch in polymer are easily formed in the extrusion process. An obvious solution to this problem is a minimization of the surface energy of the interface polymer/starch [3]. One way to realize this process is through such a modification of the surface energy of starch, which will significantly lower the polar component of this energy and, consequently, improve the conditions of matrix-filler interactions. Plasma processes are well known to be effective in hydrophobization of polymer surfaces [4-6]. This work describes an application of a rotating RF plasma reactor for that purpose, and particularly for the purpose of hydrophobizing potatoe starch.

Experimental

The main part of the reactor is a 450 mm long tubular element, 40 mm in diameter, that may be rotated with the frequency ranging from 0 RPM to 60 RPM. The reactor is equipped with a set of external electrodes, to which the RF power is supplied from the Plasma Products RF5S power generator through a self-designed matching circuit. MKS 1179 AX mass flow controllers are used to control the flow rates of gaseous media. The flow rate of a vapour of liquid medium (TMS) is controlled by both the temperature and the pressure of a liquid container, and the rate-of-rise technique is used to measure its magnitude. A starch modification cycle starts with setting the flows of working media, then the rotation of the tubular element with a selected RPM value is introduced, and finally radio frequency plasma is generated in the reactor. Powdered starch contained in this reactor is stirred effectively, thus enabling an effective plasma deposition or modification of the surface of each grain. A schematic representation of the rotary reactor is shown in the FIGURE 1a and a photograph of the reactor at work are presented in the FIGURE 1b.

Reactive gases such as methane, and TMS/Ar mixture have been used as working media. Methane plasma modification was performed at two different magnitudes of flow rate, namely at 2 sccm and 6 sccm, while TMS/Ar plasma modification was carried out at the total flow rate of 7 sccm,



RYS. 1b. Reaktor podczas pracy. FIG. 1b. Reactor at work.

wa przy u yciu metanu wykonana została dla dwóch ró nych szybko ci przepływu wynosz cych 2 i 6 sccm, podczas gdy modyfikacja plazmowa za pomoc mieszaniny TMS/Ar została przeprowadzona przy całkowitej szybko-

ci przepływu 7 sccm oraz stosunku TMS do Ar wynosz cym 1:6. W ka dym z przypadków moc wyładowania była u yta jako parametr operacyjny, dobierany w taki sposób aby zoptymalizowa proces hydrofobizacji. Ci nienie procesu było utrzymywane na poziomie 400-420 mTorr.

Głównym celem procesu modyfikacji jest uzyskanie hydrofobowo ci powierzchni ziaren skrobi tj. zmniejszenie k ta zwil ania jej powierzchni przez wod . Poniewa pomiar k ta zwil ania jest w tych warunkach znacznie utrudniony, efektywno procesu modyfikacji oceniana była z zastosowaniem pomiaru wzniesienia kapilarnego wody w wypełnionej skrobi szklanej rurce o rednicy 1,8 mm. Dodatkowo, zawarto wilgoci w próbkach skrobi została zmierzona grawimetrycznie po dwutygodniowym ich przechowywaniu przy wzgl dnej wilgotno ci atmosfery wynosz cej 70%.

Analizy FTIR wybranych próbek skrobi (zarówno niemodyfikowanej jak i modyfikowanej) zostały wykonane za pomoc spektrometru FTIR firmy BioRad, model 175C wyposa onego w przystawk firmy Harric Sci. do bada próbek z postaci sproszkowanej. System ten pozwala zarejestrowa widmo absorpcyjne z warstwy powierzchniowej ziaren skrobi, na gł boko 200-1800nm, w zale no ci od długo ci fali promieniowania. Obrazy SEM ziaren skrobi wykonane zostały przy u yciu skaningowego mikroskopu elektronowego Hitachi F3000N.

Wyniki bada

Hydrofobizacja i aglomeracja skrobi

Wzniesienie kapilarne zmierzone dla skrobi nie modyfikowanej wyniosło w przybli eniu 60 mm. RYSUNEK 2 przedstawia wyniki tego wzniesienia dla skrobi modyfikowanej metanem, przy przepływie metanu wynosz cym 2 oraz 6 sccm, w funkcji czasu, przy czym parametrem jest moc wyładowania w.cz. Wszystkie uzyskane wyniki mieszcz si w zakresie od 7 do 25 mm, co wskazuje na znaczny wzrost hydrofobowo ci skrobi modyfikowanej.

Maksymalne warto ci wzniesienia kapilarnego z wykresów 2 a i 2 b, przedstawione zostały na RYSUNKU 3 w funkcji mocy wyładowania. Jak wida na tym rysunku, wyniki otrzymane dla przepływu wynosz cego 2 sccm prze-



RYS. 2. Wyniki pomiarów wzniesienia kapilarnego wody skrobi modyfikowanej w plazmie metanu dla pr dko ci przepływu metanu wynosz cych: 2 sccm (a), oraz 6 sccm (b) przy ró nych warto ciach mocy wyładowania.

FIG. 2. Results of water capillary elevation for starch modified with methane plasma at the flow rate of methane of: 2 sccm (a), 6 sccm (b), and different valu.

with the TMS to Ar ratio amounting to 1:6. In each case the RF power was used as an operational parameter in the process optimization. Process pressure was maintained at the 400-420 mTorr level.

The principal aim of the modification process is a surface hydrophobization of starch, i.e. a substantial decrease of its water contact angle. Therefore, an assessment of the process efficiency is comprised of measurements of capillary rise of water in glass tubes (1,8 mm in diameter) filled with starch. In addition, moisture content in the starch samples was measured gravimetrically after 2 weeks of their storage under conditions of 70% of relative humidity.

FTIR studies of selected starch samples (both native and modified) were performed with the help of a BioRad, model 175C, FTIR spectrometer, equipped with a Harric Sci. split-pea attachment and a silicon crystal. Such an experimental configuration allows one to record IR absorption spectra from the surface layer of starch grains, down to the depth of approximately 200 - 1800 nm, depending on the radiation wavelength. SEM imaging of starch particles was carried out, using a Hitachi F 3000 N scanning electron microscope.

Results

Hydrophobization and agglomeration

The measured water capillary elevation of native starch exhibits approximately 60 mm. FIGURE 2 presents a set of water elevation results for starch modified with methane plasma, for the methane flow rate of: 2 sccm (a) and 6 sccm (b) and as a function of the RF power of modification. Since they all remain within the range of 7- 25 mm, the water capillary elevation results shown in this figure indicate much higher hydrophobicity than those obtained for an unmodified starch.

es of RF power

In FIGURE 3, the maximum values of water capillary





79

BICMATERIAŁOW

chodz przez minimum, podczas gdy dla wy szego przepływu, wynosz cego 6 sccm, wykazuj one zale no malej c w całym zakresie zastosowanych warto ci mocy. Nale y przypuszcza , e przebieg tej krzywej stanowi lewe skrzydło zale no ci, osi gaj cej minimum przy warto ciach mocy wy szych ni 100 W. Stosowanie warto ci mocy przewy szaj cych ten poziom było jednak niecelowe ze wzgl du na degradacj skrobi.

Pomiary zawarto ci wilgoci wskazuj na znaczn ró nic pomi dzy niemodyfikowan, a modyfikowan skrobi. Zawarto wody wynosi 15% dla niemodyfikowanej skrobi, oraz 1,5% dla skrobi modyfikowanej plazmowo w metanie przy mocy wynosz cej 40 W i szybko ci przepływu metanu wynosz cej 6 sccm.

Obrazy mikroskopowe SEM skrobi niemodyfikowanej i modyfikowanej w metanie przedstawione s na RYSUN-KU 4. Jak wida na zamieszczonych fotografiach, ziarna wykazuj tendencj do aglomeracji. Tendencja ta jest coraz mniejsza ze wzrastaj c moc wyładowania w.cz. u ytego do modyfikacji skrobi w plazmie metanu, i zgodnie ze wzrastaj c hydrofobowo ci skrobi.

Wyniki wzniesienia kapilarnego wody dla skrobi modyfikowanej plazmowo przy u yciu mieszaniny TMS/Ar pokazane s na RYSUNKU 5, przy czym zale no maksymalnego wzniesienia kapilarnego od mocy wyładowania jarzeniowego przedstawia Rysunek 5b. Zale no ta charakteryzuje si ewidentnym i ostrym minimum w pobli u 20 W, dla którego praktyczna warto wzniesienia kapilarnego wynosi zero. Stanowi to najlepszy z uzyskanych wyników, przy czym nale y podkre li , e d no do tworzenia aglomeratów jest w tym przypadku znacznie ni sza ni zaobserwowana dla skrobi niemodyfikowanej. Tak tendencj zaobserwowano na poziomie mikroskopowym, pokazanym na RYSUNKU 6 w formie obrazu SEM.

Jak wida na powy szych obrazach mikroskopowych, najlepsz separacj ziaren uzyskano dla próbki modyfikoelevation from Figure 2a and 2b are plotted against the RF power. As seen in the figure, the results obtained at the lower value of flow rate pass a minimum, while those obtained for the higher one exhibit a decreasing tendency within the entire range of power values used. The course of this line very likely constitutes a left wing of another minimum reaching dependence, which cannot be tracked along higher RF power values due to starch degradation. In other words, under these conditions the RF power of 100 Watt is the highest power level at which no visible signs of degradation take place.

Moisture content measurements show a large difference between native and modified starch. The content of water amounts approximately to 15% for native starch and to 1.5% for starch plasma modified with methane at 40 Watt of RF power and 6 sccm of methane flow rate. SEM micrographs of unmodified and methane plasma modified starch are



RYS. 4. Obraz mikroskopowy SEM ziaren skrobi niemodyfikowanej (a), i modyfikowanej w plazmie metanu przy ró nych warto ciach mocy: 20 W (b), 40 W (c) oraz 100 W (d).

FIG. 4. SEM micrographs of starch grains: unmodified (a), and modified with methane plasma at different RF power values: 20 Watt (b), 40 Watt (c), 100 Watt (d).



RYS.5. Wyniki wzniesienia kapilarnego skrobi modyfikowanej w plazmie TMS/Ar: przy pr dko ci przepływu wynosz cej7 sccm (6:1) i przy ró nych warto ciach mocy (a), maksimum wzniesienia kapilarnego w funkcji mocy wyładowania jarzeniowego (b)

FIG.5. Results of water capillary elevation for starch modified with TMS/Ar plasma: at the flow rate 7 sccm (6 : 1) and different values of RF power (a), maximum water capillary elevation for starch as a function of the RF power of modification (b)



20

18

16

14

12

10

8

0

Maximum water capillary elevation [mm]

modified starch grains glomeration. This tenng RF power of starch e. along the line of in-

water capillary eleva-MS/Ar plasma on the ed in Figure 5 b In the and sharp minimum at for which the practical der the measurements best result of this work ncy to agglomerate for

BI®I®MĂTERIĀŁŎŴ



RYS. 6. Obraz mikroskopowy SEM ziaren skrobi modyfikowanej w plazmie TMS/Ar przy ró nych warto ciach mocy wyładowania jarzeniowego: 10 W (a), 20 W (b), 25 W (c) oraz 30 W (d).

FIG. 6. SEM micrographs of starch grains modified with TMS/Ar plasma at different RF power values: 10 Watt (a), 20 Watt (b), 25 Watt (c) and 30 Watt (d).



wanej w plazmie TMS/Ar przy mocy wyładowania jarzeniowego wynosz cej 20 W. W pomiarach hydrofobowo ci ta sama próbka wykazuje praktycznie brak jakiegokolwiek wzniesienia kapilarnego wody.

Analiza FTIR

Wybrane próbki skrobi poddane zostały analizie przy u yciu absorpcyjnej spektrofotometrii w podczerwieni FTIR. Zasadnicze cechy strukturalne, które były przedmiotem zainteresowania to: 1) zmiany stopnia usieciowienia skrobi (w obu przypadkach: dla plazmowej modyfikacji w metanie i w mieszaninie TMS/Ar) oraz 2) mo liwo szczepienia zawieraj cych atomy krzemu grup funkcyjnych, ujawniaj ca si w ewentualnej obecno ci takich wi za jak Si-C, Si-O, Si-H (w przypadku plazmowej modyfikacji w mieszaninie TMS/Ar).

Przy porównaniu przedstawionych widm ujawniaj si podobie stwa pomi dzy wynikami plazmowej modyfikacji skrobi z zastosowaniem obydwu mediów roboczych. Podobie stwa te znale mo na głównie w strukturze w glowej powierzchni skrobi i polegaj one na podobnych zmianach proporcji zintegrowanej absorpcji drga rozci gaj cych wi zania C-H znajduj cego si w ró nych otoczeniach chemicznych. Inne zakresy widma pozostaj w znacznej mierze niezmienione. W szczególno ci charakterystyczny jest brak widmie IR próbek modyfikowanych mieszanin TMS/Ar pasm absorpcji odpowiadaj cych zawarto ci zwi zanego krzemu. Skoro jednak cz steczka tetrametylosilanu zawiera cztery grupy metylowe, to oderwanie tych grup od atomu krzemu mo e mie podobny efekt jak przerwanie wi zania C-H w metanie, prowadz c w rezultacie do TMS/Ar plasma modified starch is much lower than that observed for the native material. What this tendency looks like at the microscopic level, is presented in Figure 6 in the form of SEM micrographs.

As seen in the above micrographs, it is the starch sample modified with TMS/Ar plasma at RF power of 20 Watt (sample b), that exhibits the best separation of its grains. It is the same sample that shows practically no water capillary elevation in the hydrophobicity measurements.

FTIR studies

IR absorption spectra have been recorded for selected samples. Principal structural features that constituted a subject of interest were: 1) potential changes in the carbonous network of starch (in both cases: methane and TMS/Ar plasma modification) and 2) grafting of any silicon containing surface functions, reflected in the presence of



RYS. 7. Absorpcja IR w obszarze drga rozci gaj cych wi zania C-H dla: skrobi niemodyfikowanej i skrobi modyfikowanej w plazmie TMS/Ar (a) oraz skrobi modyfikowanej w plazmie metanu przy ró nych warto ciach mocy wyładowania (b).

FIG. 7. C-H bond stretching IR absorption region for: native and TMS/Ar (a) and methane (b), plasma modified starch.

such bonds as Si-C, Si-O or Si-H bonds (in the case of TMS/Ar plasma modification).

A brief comparison of the presented spectra reveals extended similarities between the results of plasma modification of starch with both types of working media. These similarities are predominantly present in the structure of carbon bonding, reflected in the proportions between integrated absorption of stretching vibrations of C-H bonds in different environment. Other absorption ranges remain to a large extent unaltered and, in particular, no silicon containing bonding has been found in the IR spectra of TMS/ Ar plasma modified samples. Since a molecule of tetramethylsilane contains four methyl groups, splitting these groups off the silicon atom should have similar effect as breaking a C-H bond in methane. The fact that silicon carbon bond has a lower bond energy (301 kJ/mole) than hydrogen-carbon bond (416 kJ/mole) [7] explains why the respective magnitudes of RF power necessary to introduce required changes in the starch structure are substantially lower for TMS than for methane.

In FIGURES 7a and 7b the band at 2972 cm⁻¹ is as-

modyfikacji struktury w glowej powierzchni skrobi. Fakt, e wi zanie krzem-w giel posiada ni sz energi wi zania (301 kJ/mol) ni wi zanie w giel-wodór (416 kJ/mol) [7], wyja nia dlaczego warto ci mocy potrzebne do wprowadzenia obserwowanych zmian w jest znacznie ni sza dla TMS ni dla metanu.

Na RYSUNKACH 7 a i 7 b pasmo absorpcji przy 2972 cm-1 przypisane jest asymetrycznym drganiom rozci gaj cym wi zania C-H w grupach metylowych, pasma absorpcji przy 2940 cm⁻¹ i 2927cm⁻¹ asymetrycznym drganiom rozci gaj cym tego wi zania w grupach metylenowych, za pasma absorpcji przy 2906 cm⁻¹ i 2883 cm⁻¹ jego drganiom rozci gaj cym w systemach metinowych. Rejestrowane zmiany polegaj na wzrastaj cej liczbie zarówno grup metylowych jak i trójfunkcyjnych ugrupowa metinowych w porównaniu do zawarto ci grup metylenowych. Podczas gdy szczepianie grup metylowych na powierzchni prowadzi bezpo rednio do wzrostu jej hydrofobowo ci, to zwi kszanie si stosunku liczby grup metinowych do liczby grup metylenowych wiadczy o procesie powierzchniowego usieciowienia. Współzale no pomi dzy wzniesieniem kapilarnym wody a stosunkiem zawarto ci ugrupowa CH/CH₂ w badanych próbkach pokazuje, e powierzchniowe usieciowienie skrobi odnosi podobny skutek, zmniejszaj cefekt wzniesienia kapilarnego wody tzn. podwy szaj c hydrofobowo skrobi.

Wnioski

Z przedstawionych powy ej wyników wysnu mo na nast puj ce wnioski:

1. Modyfikacja plazmowa materiałów sproszkowanych mo e by efektywnie prowadzona w przedstawionym obrotowym reaktorze plazmowym w.cz.,

2. Opisany proces dobrze nadaje si do hydrofobizacji skrobi ziemniaczanej,

3. Najlepszy efekt hydrofobizacji uzyskany został w przypadku modyfikacji skrobi przy u yciu mieszaniny tetrametylosilanu/argonu w łagodnych warunkach mocy w.cz., wynosz cej 20 W,

4. Zmian strukturaln skrobi odpowiedzialn za jej hydrofobizacj jest prawdopodobnie jej powierzchniowe usieciowanie poł czone ze szczepieniem niepolarnych grup metylowych.

Podzi kowania

Niniejsza praca była wspierana przez Polski Komitet Bada Naukowych, numer projektu T08E 049 23, oraz przez Centrum Doskonało ci NANODIAM V FP EU, numer projektu G5MA-CT-2002-04050. signed to asymmetric stretching vibrations of C-H bond in methyl groups, the bands at 2940 cm⁻¹ and at 2927 cm⁻¹ to asymmetric stretching vibrations of the same bond in methylene groups, and those at 2906 cm⁻¹ and at 2883 cm⁻¹ to the stretching vibrations of this bond in methine systems. Changes consist in an increase of a number of both methyl groups and trifunctional methine moieties, as compared to the content of methylene groups. While grafting methyl groups leads directly to an increased hydrophobicity of the surface, an increase of methine/methylene ratio suggests a process of surface cross-linking. The correlation between the water capillary elevation of starch, and the CH/CH₂ ratio in the samples suggests that an increase of this ratio, most likely connected with an enhancement of surface cross-linking of starch, has an effect of lowering its water capillary elevation potential, i.e. of increasing its hydrophobicity.

Conclusions

Out of the presented results the following conclusions may be drawn:

1. RF plasma modification of particulate materials may be effectively carried out in the rotating plasma reactor, presented in this work.

2. The described process is well suited for the purpose of surface hydrophobization of potatoe starch.

3. The best hydrophobizing effect has been achieved in the case of tetramethylsilane/argon plasma modification of starch under relatively mild conditions of RF power (20 Watt).

4. An alteration of starch structure responsible for its hydrophobization appears to be its surface cross-linking combined with grafting of non-polar methyl groups.

Acknowledgements

This work has been supported by the Polish Committee for Scientific Studies (Komitet Bada Naukowych), under the project code of 4 T08E 049 23 and by the Centre of Excellence NANODIAM of the V FP of EU, under the project code of G5MA -CT - 2002 - 04050

Pi miennictwo References

 R. Mani, M. Bhattacharya, Europ. Polym. J. 34, 1467 (1998).
 D. K. Owens, R. C. Wendt, J. Appl. Polym. Sci. 13, 1741 (1969).
 A. W. Adamson, Physical Chemistry of Surfaces, Interscience Publishers Inc., New York 1960.

[4] C. Bamford, K. Al-Lamee, Polymer 37, 4885 (1996).

.

[5] A. Nihlstrand, T.Hjertberg, K.Johanson, Polymer 38, 3581 (1997).

[6] J. Gancarz, G. Po niak, M. Bryjak, Europ. Polym. J. 35, 1419 (1999).

[7] J. Bullot, M.P. Schmidt, Phys. Stat. Sol.(b) 143, 345 (1987).

BI®MĂTERIĀŁŎŴ

Wskazówki dla autorów

Prace do opublikowania w czasopi mie "In ynieria Biomateriałów" b d przyjmowane wył cznie z tłumaczeniem na j zyk angielski.

Ν

ŻΥ

N

MATE

Prosimy je nadsyła na dyskietkach wył cznie w formacie Word 6.x (lub wy szy) wraz z jednym egzemplarzem kontrolnego wydruku i kompletem rysunków i zdj

Mo liwe jest równie doł czanie ilustracji w ró nych formatach grafki typu .eps, .jpg, .tif, .cdr, .cpt, .gif.

Rozmiar artykułu:

- przegl dowego i pracy oryginalnej do 10 stron standardowego maszynopisu,
- komunikatu do 5 stron,
- noty technicznej do 3 stron
- Obowi zuje układ jednostek SI.

Rysunki, tabele i równania powinny by kolejno ponumerowane.

Struktura artykułu:

- streszczenie (do 200 słów),
- słowa kluczowe (3-10 słów),
- wprowadzenie,
- materiał i metodyka,
- wyniki,
- dyskusja,
- wnioski,
- pi miennictwo (wg systemu Harvard).

Odno niki literaturowe w tek cie nale y podawa jako kolejne liczby arabskie w nawiasach kwadratowych.

Pismiennictwo (zawieraj ce nazwiska autorów i skróty ich imion, tytuł artykułu, tytuł czasopisma, tom, rok w na- wiasach okr głych i strony) powinno by zamieszczone na ko cu artykułu. Skrótów tytułów czasopism nale y unika b d podawa zgodnie z Chemical Abstract. Cytuj c ksi ki nale y podawa numery odpowiednich rozdziałów.

Nie przewiduje si wypłacania honorariów autorskich.

Prace nale y nadyła na adres:

Redakcja "In ynieria Biomateriałów"

Akademia Górniczo - Hutnicza Katedra Biomateriałów

30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A-3

fax. (48-12) 617-33-71

tel. (48-12) 617-22-39

e-mail: apowroz@uci.agh.edu.pl

Warunki prenumeraty

Wydawnictwo Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów w Krakowie przyjmuje zamówienia na prenumerat , która mo e obejmowa dowolny okres, w którym wydawane s kolejne zeszyty. Zamawiaj cy otrzyma zaprenumerowane zeszyty pocz wszy od daty dokonania wpłaty. Zamówienia wstecz b d realizowane w miar posiadanych zapasów.

Realizacja zamówienia

Warunkiem realizacji zamówienia jest otrzymanie z banku potwierdzenia dokonania wpłaty przez prenumeratora.

Konto

Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów 30-059 Kraków, al.Mickiewicza 30/A-3 Bank I ski S.A. O/Kraków, nr rachunku 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001

Nale y poda swój adres, tytuł czasopisma, okres prenumeraty i liczb zamawianych egzemplarzy.

Opłata

Cena jednego numeru - 15 PLN

Instructions to authors

Contributions in English language version should be submitted

Editorial Office

to:

Е

R

"Engineering of Biomaterials" AGH University of Science and Technology Department of Biomaterials, Al. Mickiewicza 30/A-3, 30-059 Kraków, Poland fax. (48-12) 617-33-71, tel. (48-12) 617-22-39 e-mail: apowroz@uci.agh.edu.pl

Texts should be delivered on a 3.5-inch diskette, accompanied by a printout (with a double spacing) including drawings, photographs, tables etc. Recommended is IBM-compatible MS format, e.g. Word 6.x (or higher). Illustrations can be enclosed on diskettes in the formats: .eps, .jpg, .tif, .cdr, .cpt, .gif.

Advised paper length is:

- review papers and accounts of original unpublished research
 up to 10 pages (standard manuscript pages);
- short communications up to 5 pages;
- technical notes up to 3 pages.

SI units should be used in the text. Figures, Tables and Equations should be numbered in corresponding consecutive series of the Arabic numbers.

Layout of the paper should be the following:

- Abstract (up to 200 words)
- Key words (3-10 words)
- Introduction
- Materials and Methods
- Results
- Discussion
- Conclusions
- References

References should be made in the text by using consecutive Arabic numbers in brackets. Full references (including author's surname and abbreviated names, title of the paper, title of the journal, volume, year in parenthesis and pages) should be given in a list at the end of the paper. Abbreviations of journal titles should be avoided or used in accordance with those listed in Chemical Abstracts. Whenever a book is cited, the number of the relevant chapter should be given.

The journal makes no page charges.

Subscription terms

Subscription orders should be addressed to the Polish Society for Biomaterials in Kraków.

The ordered issues will be delivered consecutively starting from the date of payment, acknowledged by the bank.

Earlier issues will be supplied if available.

Subscription rates:

Cost of one number - 15.00 PLN

Payment should be made to:

Polish Society for Biomaterials, Al. Mickiewicza 30/A-3, 30-059 Kraków, Poland Bank I ski S.A. O/Kraków, account no. 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001

It is requested to quote the subscriber's name, title of the journal, desired subscription period and number of the ordered copies.