

# ENGINEERING OF BIOMATERIALS

INŻYNIERIA BIOMATERIAŁÓW  
CZASOPISMO POLSKIEGO STOWARZYSZENIA BIOMATERIAŁÓW  
I WYDZIAŁU INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI AGH

**Number 88**

Numer 88

**Volume XII**

Rok XII

**GRUDZIEŃ 2009**

DECEMBER 2009

**ISSN 1429-7248**

**PUBLISHER:**

WYDAWCA:

**Polish Society  
for Biomaterials  
in Cracow**

Polskie  
Stowarzyszenie  
Biomateriałów  
w Krakowie

**EDITORIAL  
COMMITTEE:**

KOMITET  
REDAKCYJNY:

**Editor-in-Chief**

Redaktor naczelny  
**Jan Chłopek**

**Editor**

Redaktor  
**Elżbieta Pamuła**

**Secretary of editorial**

Sekretarz redakcji

**Design**

Projekt  
**Katarzyna Trała  
Augustyn Powroźnik**

**ADDRESS OF  
EDITORIAL OFFICE:**

ADRES REDAKCJI:

**AGH-UST**

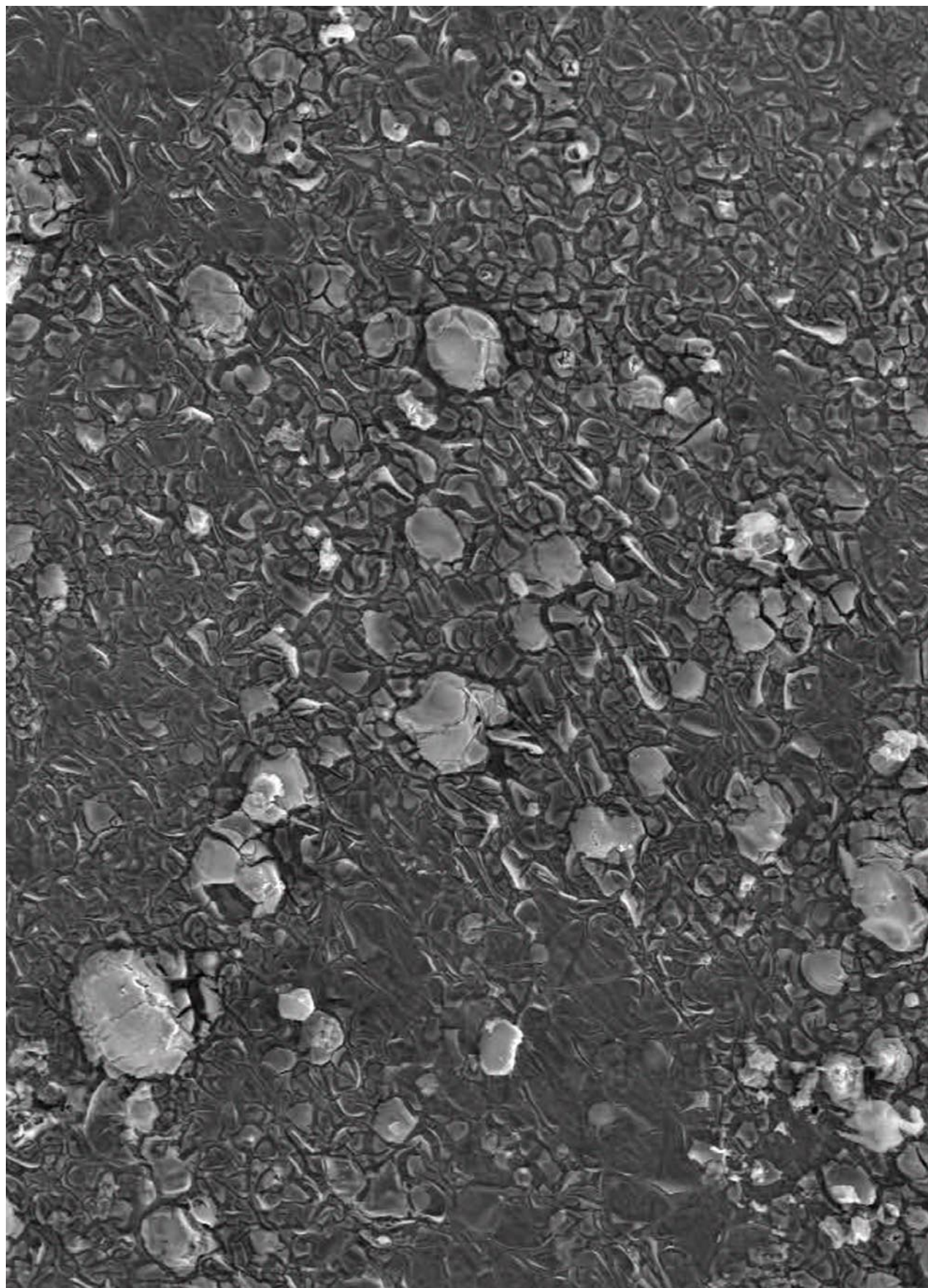
**30/A3, Mickiewicz Av.  
30-059 Cracow, Poland**  
Akademia  
Górnictwo-Hutnicza  
al. Mickiewicza 30/A-3  
30-059 Kraków

**Issue: 200 copies**

Nakład: 200 egz.

**Scientific Publishing  
House AKAPIT**

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



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

**Iulian Antoniac**

UNIVERSITY POLITEHNICA OF BUCHAREST, ROMANIA

**Lucie Bacakova**

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

**Romuald Będziński**

POLITECHNIKA WROCLAWSKA / WROCLAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**Marta Błażewicz**

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

**Stanisław Błażewicz**

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

**Maria Borczuch-Łączka**

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

**Tadeusz Cieślik**

ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY / MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA

**Jan Ryszard Dąbrowski**

POLITECHNIKA BIAŁOSTOCKA / BIAŁYSTOK TECHNICAL UNIVERSITY

**Andrzej Górecki**

WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY / MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

**Robert Hurt**

BROWN UNIVERSITY, PROVIDENCE, USA

**James Kirkpatrick**

JOHANNES GUTENBERG UNIVERSITY, MAINZ, GERMANY

**Wojciech Maria Kuś**

WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY / MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

**Małgorzata Lewandowska-Szumiet**

WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY / MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

**Jan Marciniak**

POLITECHNIKA ŚLĄSKA / SILESIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**Sergey Mikhalovsky**

UNIVERSITY OF BRIGHTON, GREAT BRITAIN

**Stanisław Mitura**

POLITECHNIKA ŁÓDZKA / TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ

**Roman Pampuch**

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

**Stanisław Pielka**

AKADEMIA MEDYCZNA WE WROCLAWIU / WROCLAW MEDICAL UNIVERSITY

**Jacek Składzień**

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

**Andrei V. Stanishevsky**

UNIVERSITY OF ALABAMA AT BIRMINGHAM, USA

**Anna Ślósarczyk**

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

**Tadeusz Trzaska**

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

**Dimitris Tsipas**

ARISTOTLE UNIVERSITY OF THESSALONIKI, GREECE

## Wskazówki dla autorów

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

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

tel. (48 12) 617 25 03, 617 22 38  
 tel./fax: (48 12) 617 45 41  
 e-mail: chlopek@agh.edu.pl,  
 kabe@agh.edu.pl,  
 Augustyn.Powroznik@agh.edu.pl,  
 www.biomat.krakow.pl

## Warunki prenumeraty

Zamówienie na prenumeratę prosimy przysyłać na adres:  
 apowroz@agh.edu.pl, tel/fax: (48 12) 617 45 41  
 Konto:  
 Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów  
 30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A-3  
 Bank Śląski S.A. O/Kraków,  
 nr rachunku 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001  
 Opłaty: Cena 1 numeru wynosi 20 PLN

## Instructions for authors

1. Papers for publication in quarterly magazine „Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów” should be written in English.
2. All articles are reviewed\*.  
 (\* Non-reviewed articles, including conference materials, will be printed in special issues at the end of the year.)
3. Manuscripts should be submitted to Editor's Office by e-mail to kabe@agh.edu.pl, or Augustyn.Powroznik@agh.edu.pl
4. A manuscript should be organized in the following order:  
 • TITLE • Authors and affiliations • Abstract (100-200 words) • Keywords (4-6) • Introduction • Materials and methods • Results and Discussions • Conclusions • Acknowledgements • References
5. Authors' full names and affiliations with postal addresses should be given. If authors have different affiliations use superscripts 1,2...
6. All illustrations, figures, tables, graphs etc. preferably in black and white or grey scale should be presented in separate electronic files (format .jpg, .gif, .tiff, .bmp) and not incorporated into the Word document. High-resolution figures are required for publication, at least 300 dpi. All figures must be numbered in the order in which they appear in the paper and captioned below. They should be referenced in the text. The captions of all figures should be submitted on a separate sheet.
7. References should be listed at the end of the article. Number the references consecutively in the order in which they are first mentioned in the text.
8. Opinion or notes of reviewers will be transferred to the author. If the corrected article will not be supplied on time, it means that the author has resigned from publication of work in our magazine.
9. Editorial does not pay author honorarium for publication of article.
10. Papers will not be considered for publication until all the requirements will be fulfilled.
11. Manuscripts should be submitted for publication to:

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

tel. (48 12) 617 25 03, 617 22 38  
 tel./fax: (48 12) 617 45 41  
 e-mail: chlopek@agh.edu.pl,  
 kabe@agh.edu.pl,  
 Augustyn.Powroznik@agh.edu.pl  
 www.biomat.krakow.pl

## Subscription terms

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

*XX Conference on  
BIOMATERIALS  
IN MEDICINE  
AND  
VETERINARY  
MEDICINE*

*14-17 October 2010*

*Hotel "Perla Poludnia", Rytro*

**<http://galaxy.uci.agh.edu.pl/~apowroz/biomat/>**



## SPIS TREŚCI

<b>EFFECT OF SIMULATED BODY FLUID ON THE MICROSTRUCTURE OF MELT SPUN COMPOSITE FIBERS</b>	<b>2</b>
I. RAJZER, M. ROM, J. FABIA, E. SARNA, D. BINIAŚ, A. ZIMA, A. ŚLÓ SAR CZYK, J. JANICKI	
<b>POROUS TITANIUM SCAFFOLDS WITH MODIFIED SURFACE: <i>IN VITRO</i> CELL BIOLOGY ASSESMENT</b>	<b>5</b>
A. ŚCISŁOWSKA-CZARNECKA, E. MENASZEK, B. SZARANIEC, J. CHŁOPEK, E. KOŁACZKOWSKA	
<b>NOWY KOMPOZYT HAp-FAZA ORGANICZNA JAKO OBIECUJĄCY WYPEŁNIACZ UBYTKÓW KOŚCI</b>	<b>11</b>
A. BELCARZ, G. GINALSKA, A. ZIMA, I. POLKOWSKA, A. ŚLÓ SAR CZYK, A. SZYSZKOWSKA	
<b>WPŁYW BIODEGRADOWALNEJ OSNOWY POLIMEROWEJ NA BAZIE TERMOPLASTYCZNEJ SKROBI I PLA NA WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNE I DEGRADACJĘ KOMPOZYTÓW Z WŁÓKNEM WĘGLOWYM</b>	<b>16</b>
S. KUCIEL, A. LIBER-KNEĆ	
<b>RESORBOWALNE PŁYTKI POLIMEROWE W CHIRURGII TWARZOWO-SZCZĘKOWEJ</b>	<b>20</b>
B. SZARANIEC, M. DWORAK, J. CHŁOPEK	
<b>BADANIA Z WYKORZYSTANIEM SPEKTROSKOPII FTIR ŻELI I POWŁOK Z UKŁADU <math>Al_2O_3-TiO_2-SiO_2</math></b>	<b>24</b>
A. ADAMCZYK, E. DŁUGOŃ	

## CONTENTS

<b>EFFECT OF SIMULATED BODY FLUID ON THE MICROSTRUCTURE OF MELT SPUN COMPOSITE FIBERS</b>	<b>2</b>
I. RAJZER, M. ROM, J. FABIA, E. SARNA, D. BINIAŚ, A. ZIMA, A. ŚLÓ SAR CZYK, J. JANICKI	
<b>POROUS TITANIUM SCAFFOLDS WITH MODIFIED SURFACE: <i>IN VITRO</i> CELL BIOLOGY ASSESMENT</b>	<b>5</b>
A. ŚCISŁOWSKA-CZARNECKA, E. MENASZEK, B. SZARANIEC, J. CHŁOPEK, E. KOŁACZKOWSKA	
<b>NEW HAp-ORGANIC COMPOSITE AS A PROMISING FILLER OF BONE DEFECTS</b>	<b>11</b>
A. BELCARZ, G. GINALSKA, A. ZIMA, I. POLKOWSKA, A. ŚLÓ SAR CZYK, A. SZYSZKOWSKA	
<b>INFLUENCE OF BIODEGRADABLE POLYMER MATRIX ON THE BASE OF THERMOPLASTIC STARCH AND PLA ON MECHANICAL PROPERTIES AND DEGRADABILITY OF COMPOSITES WITH CARBON FIBER</b>	<b>16</b>
S. KUCIEL, A. LIBER-KNEĆ	
<b>RESORBABLE POLYMER PLATES IN MAXILLOFACIAL SURGERY</b>	<b>20</b>
B. SZARANIEC, M. DWORAK, J. CHŁOPEK	
<b>THE FTIR STUDIES OF GELS AND THIN FILMS OF <math>Al_2O_3-TiO_2-SiO_2</math> SYSTEMS</b>	<b>24</b>
A. ADAMCZYK, E. DŁUGOŃ	

*STRESZCZANE W APPLIED MECHANICS REVIEWS  
 ABSTRACTED IN APPLIED MECHANICS REVIEWS*

*WYDANIE DOFINANSOWANE PRZEZ MINISTRA NAUKI  
 I SZKOLNICTWA WYŻSZEGO  
 EDITION FINANCED BY THE MINISTER OF SCIENCE  
 AND HIGHER EDUCATION*

# EFFECT OF SIMULATED BODY FLUID ON THE MICROSTRUCTURE OF MELT SPUN COMPOSITE FIBERS

IZABELLA RAJZER<sup>1\*</sup>, MONIKA ROM<sup>1</sup>, JANUSZ FABIA<sup>1</sup>,  
EWA SARNA<sup>1</sup>, DOROTA BINIAŚ<sup>1</sup>, ANETA ZIMA<sup>2</sup>,  
ANNA ŚLÓSARCZYK<sup>2</sup>, JAROSŁAW JANICKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ATH UNIVERSITY OF BIELSKO-BIALA,  
FACULTY OF MATERIALS AND ENVIRONMENTAL SCIENCES,  
INSTITUTE OF TEXTILE ENGINEERING AND POLYMER SCIENCE,  
DEPARTMENT OF POLYMER MATERIALS,  
2 WILLOWA, 43-309 BIELSKO-BIALA, POLAND

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

\* E-MAIL: IRAJZER@ATH.BIELSKO.PL

## Abstract

*Poly(lactic acid) (PLA) offers unique features of biodegradability and thermal processability, that offer potential applications in medicine. PLA can be transformed into fibers by spinning enabling then subsequent fabrication of desirable three dimensional fabrics which may be used as scaffolds for tissue engineering applications. Incorporation of synthetic nano-hydroxyapatite into the fibrous polymer matrix can enhance bioactive properties of the prospective scaffold.*

*In the present work, the method of production of composite fibers based on poly(lactic acid) (PLA) and nano-hydroxyapatite (n-HAp) is proposed. Obtained fibers have shown excellent apatite-forming ability when immersed in simulated body fluid.*

**Keywords:** composites fibers, simulated body fluid, poly(lactic acid), hydroxyapatite, bone tissue regeneration

[*Engineering of Biomaterials*, 88, (2009), 2-4]

## Introduction

Linear aliphatic polyesters such as poly(lactic acid), have been broadly used as biomaterials supporting tissue regeneration [1]. PLA is biodegradable and biocompatible polymer, which makes it highly attractive for medical application. PLA degradation product (lactic acid) obtained by hydrolysis is normally present in the metabolic pathways of the human body [2]. The transformation of PLA into textile structures is complicated and depends on structural changes in the polymer during processing. Extrusion of the polymer into fibers may be achieved by melt spinning, dry spinning, wet spinning, and by dry-jet-wet spinning [3]. Owing to the thermoplastic nature of PLA, it is possible to melt the polymer. Melt spinning process is a solvent-free process and provides an economical and ecofriendly route. However, bulk degradation of PLA (when implanted in living tissues) leads to the build-up of acidic degradation products lowering the pH within the polymeric matrix [2]. This might result in local inflammation in tissues if purity of degradation products is insufficient [4]. Incorporation of synthetic nano-hydroxyapatite into the fibrous PLA matrix could help to buffer degradation products [5].

Due to the chemical similarity between HAp and mineralized bone of human tissue, synthetic HAp exhibits strong affinity to host hard tissues [6]. When osteoconducting materials, which have the ability to directly form a chemical bond with living bone are implanted in living tissue, new bone forms around the materials via cell attachment, proliferation, differentiation and extracellular matrix production and organization [7].

In this study HAp was incorporated into the PLA melt spun fibers during the technological process. Fibrous PLA/n-HAp composites should have better osteoconductivity compared with fibrous polymers alone. In this work the effect of simulated body fluid on microstructure of composite PLA/n-HAp fibers was investigated.

## Materials and methods

### Preparation of PLA/n-HAp fibers

The hydroxyapatite was produced in Department of Technology of Ceramics and Refractories, AGH-UST, Krakow, Poland. Wet method was used to prepare hydroxyapatite powder (patent PL nr 154957). The specific surface area of the n-HAp was 79.9 m<sup>2</sup>/g. Extracted and powdered PLA (NatureWorks Ingeo 3051D) was used as a polymer matrix. Fibers were obtained by melt spinning process, using the prototype laboratory extruder. Three weight percent of hydroxyapatite was added to the polymer powder before melting. Polymer melt (temp. 215°C) was extruded through the monofilament die ( $\phi=0.2$  mm) using the compressed nitrogen pressure (0.4 MPa). The spinning speed was 460 m/min. Two types of fibers were obtained using this method: PLA/n-HAp and PLA fibers (as reference).

Morphology of fibers were estimated using scanning electron microscopy (SEM, Jeol JSM 5400 – equipped with EDX Link ISIS 300 X-ray micro analyzer and Jeol JSM 5500). Polymer fibers were sputtered with gold prior to observation (Jeol JFC 1200 sputter).

The presence of the n-HAp in the polymer matrix, and its influence on the properties of the PLA/n-HAp fibers was verified using Fourier Transformed Infrared Spectroscopy FTIR (spectrophotometer Nicolet 6700) and Wide Angle X-Ray Scattering WAXS. All IR spectra were recorded using fotoacoustic reflectance device (MTEC Photoacoustics 300 THERMO NICOLET) at the range of 4000-400 cm<sup>-1</sup> using at least 64 scans and 4 cm<sup>-1</sup> resolution. X-ray diffraction experiments were carried out in the reflection mode at room temperature with Seifert URD-6 diffractometer, equipped with a scintillation counter. Ni-filtered CuK $\alpha$  radiation was used. Diffraction patterns were registered with the step of 0.1° in the 2 $\theta$  range 5-60° in the case of fibres and 10-70° in the case of HAp powder. Samples of fibres were powdered using microtome in order to avoid effects of orientation. By means of Origin 7.5 software, a linear background was subtracted.

### Study of bone-like apatite growth in simulated body fluid (SBF)

Simulated body fluid (SBF) was prepared according to Kokubo et al. [8]. The bioactivity tests were performed using SBF of pH 7.4, at the temperature of 37°C. PLA fibers modified with nanoparticles as well as nonmodified fibers were incubated during 14 days in 1.5 x SBF fluid, in closed polyethylene containers. SBF solution was replaced every 2.5 days. After 1, 3, 7, 14 days of soaking, samples were removed from the SBF, gently washed with deionized water, and dried at room temperature. SEM, FTIR and WAXS methods were used to monitor the microstructure and composition of the apatite formed on the surface of the PLA/n-HAp samples.

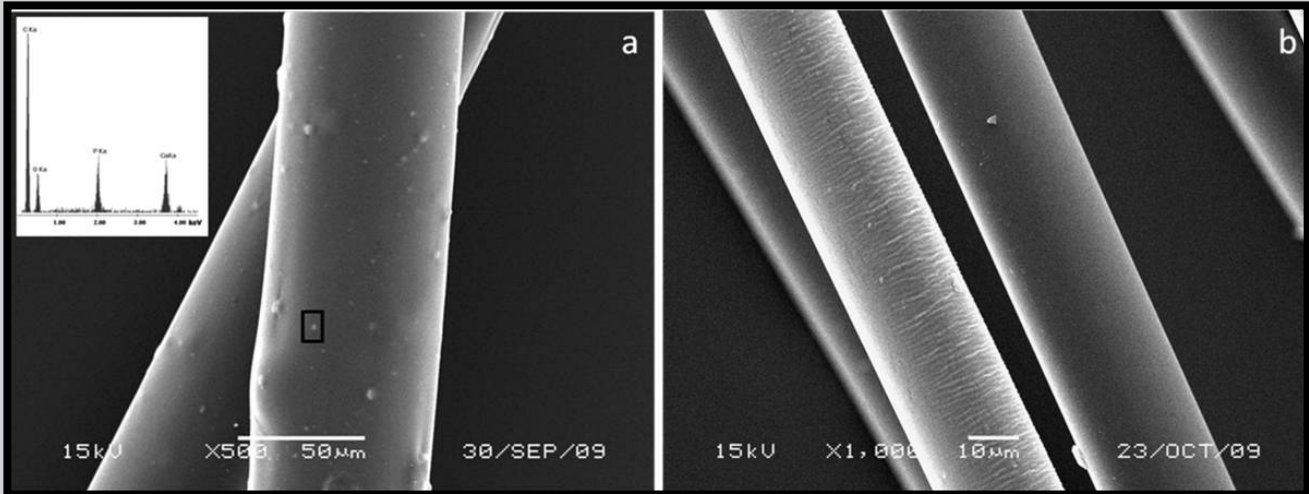


FIG. 1. Microstructure and EDX analysis of PLA/n-HAp fibers (a) and unmodified PLA fibers (b).

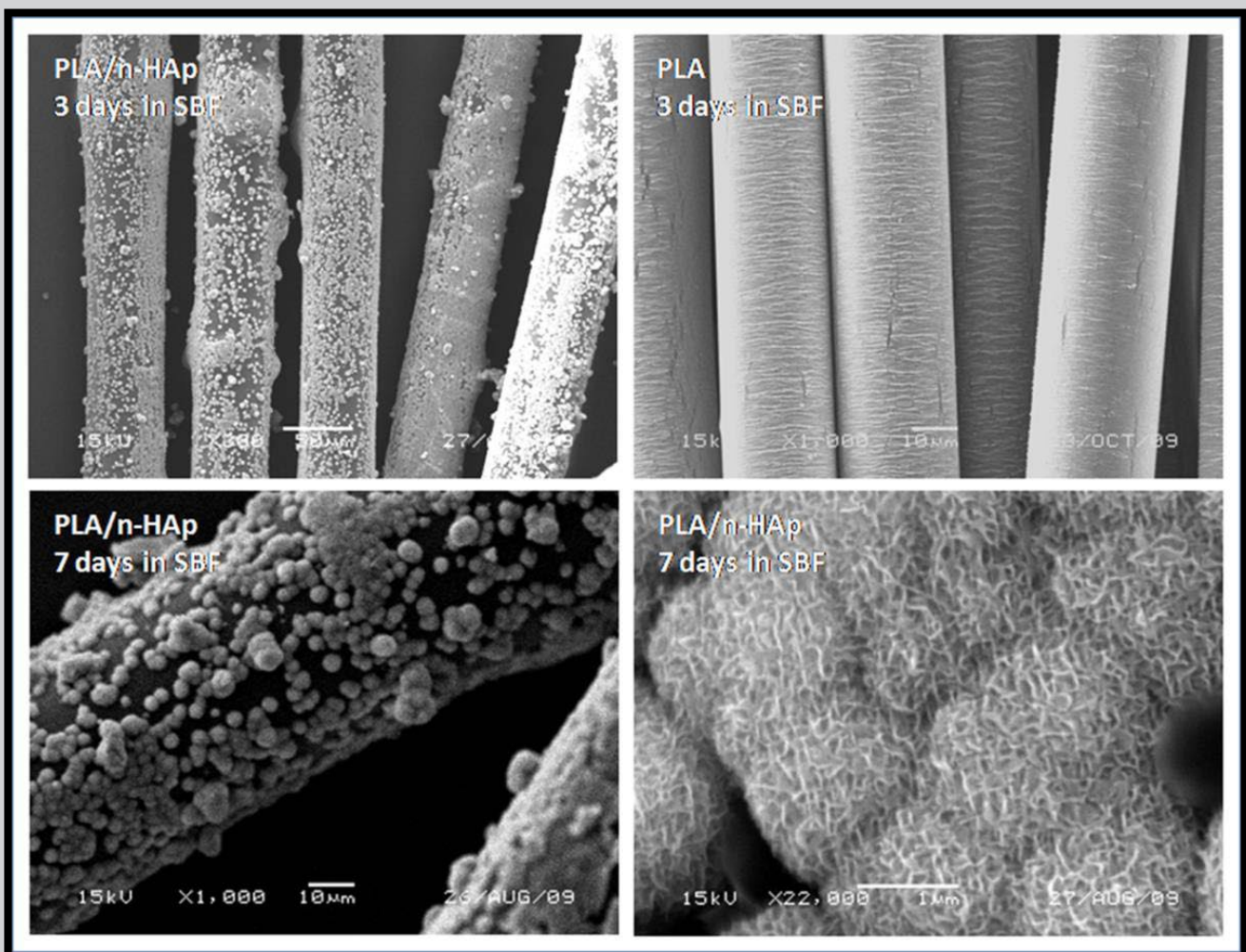


FIG. 2. Microstructure of PLA/n-HAp and PLA fibers after 3 and 7 days of immersion in SBF.

## Results

FIG. 1 shows the SEM images of PLA/n-HAp and PLA fibers. The unmodified PLA fibers (FIG. 1b) have a smooth surface whereas the flat surface of PLA/n-HAp composite fibers (FIG. 1a) was interrupted by some protuberances due to the HAp particles. EDX analysis confirmed apatite presence on the surface of PLA/n-HAp fibers – demonstrating that the HAp particles were successfully incorporated into melt spun fibers.

SEM analysis showed remarkable changes in the morphology of composite fibers surface during the incubation period in SBF as shown in FIG. 2. Some deposits were evident on the surface of the samples. Observations done at higher magnifications, confirmed that those deposits were composed of crystals with typical morphology of apatite. The surface of unmodified PLA fibers after immersion in SBF solution remained without any changes.

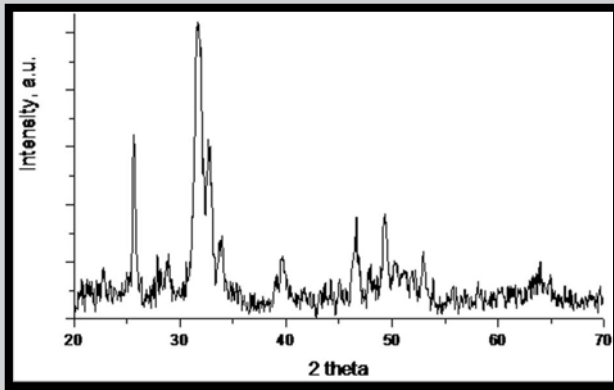


FIG. 3. XRD pattern of HAp powder.

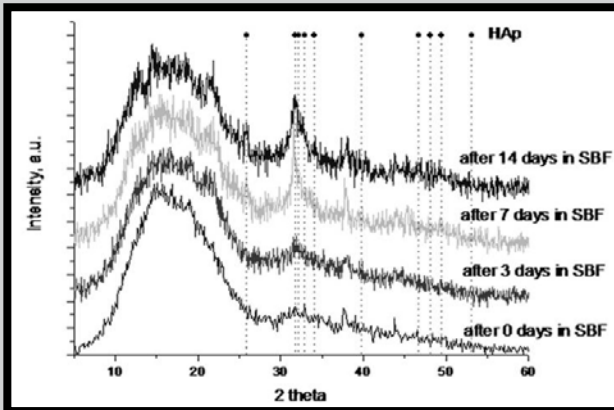


FIG. 4. XRD patterns PLA/n-HAp samples after different time of immersion in SBF solution.

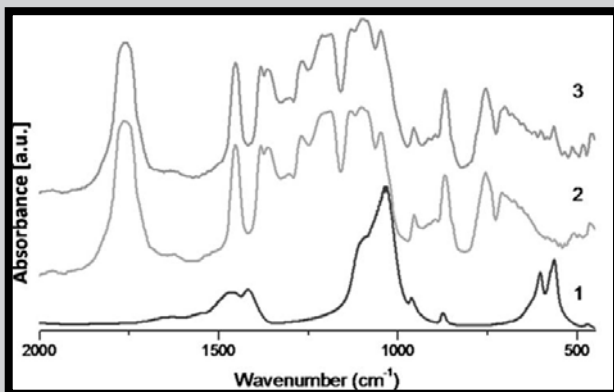


FIG. 5. FTIR spectra of HAp powder (1) as well as PLA/n-HAp fibers before (2) and after (3) immersion in SBF solution.

The XRD pattern of HAp powder (FIG. 3) exhibit diffraction maxima characteristic of the hydroxyapatite. The diffraction maxima of HAp clearly seen in HAp powder were not evident in the WAXS patterns of PLA/n-HAp sample before immersion in SBF solution (FIG. 4) so that the presence of HAp in the structure at this stage could not be unequivocally confirmed using this method, as the quantity of additive was probably too low.

The content of apatite in the PLA/n-HAp samples increases markedly during incubation time (FIG. 4). In particular, the intensive diffraction maximum at  $31.8^\circ$  corresponding to the hydroxyapatite (211) lattice plane appears clearly, which is a strong evidence of apatite growth on the surface of PLA/n-HAp samples after 7 and 14 days of immersion in SBF.

The FTIR spectra of PLA/n-HAp fibers before and after immersion in SBF solution are shown in FIG. 5.

The characteristic bands of PLA located at  $1745\text{ cm}^{-1}$  are corresponding to the C=O stretching vibrations. The bands at  $1050\text{--}1250\text{ cm}^{-1}$  were related to the C-O, C-O-C stretching vibrations. Three bands in the range of  $1300\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$  were attributed to symmetric and asymmetric deformational vibrations of C-H in  $\text{CH}_3$  groups. Bands characteristic for HAp powder corresponding to the stretching vibrations of  $\text{PO}_4^{3-}$  ( $956$ ;  $1047$ ;  $1099\text{ cm}^{-1}$ ) and deformation vibrations of  $\text{PO}_4^{3-}$  ( $563$ ;  $605\text{ cm}^{-1}$ ) are presented in FIG. 5 (1). Comparing the PLA/n-HAp spectra before and after immersion in SBF, some differences related to the presence of  $\text{PO}_4^{3-}$  groups in the spectra of composite fibers after 14 days of immersion in SBF could be observed.

## Discussions

In this work the morphological evolution of surfaces of composite fibers consisting of a PLA matrix filled with HAp subjected to the *in vitro* simulated physiological conditions was studied. In general, the results obtained in this study indicated that incorporation of the HAp particles in the polymer induced interesting changes in the surface morphology of the material. SEM observations revealed the formation of calcium phosphate (CaP) precipitates on the composite fibers surface. Already after 3 days the fibers surface was partially covered by the CaP formation. XRD and FTIR analysis confirmed presence of the apatite on the fibers surface after immersion in simulated body fluid.

## Conclusions

Tests performed in SBF proved bioactivity of PLA/n-HAp fibers. The proposed method of production of PLA fibres described above allowed to obtain new composite fibers with desired bioactive properties. These fibers can then be easily transformed - by mechanical needle punching - into three dimensional porous structure, which may be potentially useful in tissue engineering applications, particularly as three-dimensional substrates for bone growth.

## Acknowledgments

The authors would like to thank Mrs. S. Morcinek for her help in samples preparation. This work was supported by the Minister of Science and Higher Education; project POL-POSTDOK III no. PBZ/MNiSW/07/2006/53 (2007-2010).

## References

- [1] Yuan X et al. Characterization of poly (L-lactic acid) fibers produced by melt spinning. *Journal of Applied Polymer Science* 2001; 81, 251-60.
- [2] F. Barre' re et al. Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions. *Materials Science and Engineering* 2008; R 59: 38-71.
- [3] Gupta B, Revagade N, Hiborn J. Poly(lactic acid) fiber: An overview. *Progress in Polymer Science* 2007; 32: 455-482.
- [4] M. Navarro et al. In vitro degradation behavior of a novel bioresorbable composite material based on PLA and soluble CaP glass. *Acta Biomaterialia* 2005; 1: 411-419.
- [5] Jose MV et al. Aligned PLGA/HA nanofibrous nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia* 2009; 5: 305-315.
- [6] Kalita S.J. et al. Nanocrystalline calcium phosphate ceramics in biomedical engineering. *Materials Science and Engineering* 2007; C 27: 441-449.
- [7] Kasuga T et al. Preparation of poly(lactic acid) composites containing calcium carbonate (vaterite). *Biomaterials* 2003; 24: 3247-3253.
- [8] Kokubo T et al. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials* 2006; 27 (15): 2907-2915.



# POROUS TITANIUM SCAFFOLDS WITH MODIFIED SURFACE: *IN VITRO* CELL BIOLOGY ASSESSMENT

ANNA ŚCISŁOWSKA-CZARNECKA<sup>1\*</sup>, ELŻBIETA MENASZEK<sup>2,3</sup>,  
BARBARA SZARANIEC<sup>2</sup>, JAN CHŁOPEK<sup>2</sup>, ELŻBIETA KOŁACZKOWSKA<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ACADEMY OF PHYSICAL EDUCATION, FACULTY OF ANATOMY, KRAKOW, POLAND

<sup>2</sup> AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, KRAKOW, POLAND

<sup>3</sup> JAGIELLONIAN UNIVERSITY, COLLEGIUM MEDICUM, DEPARTMENT OF CYTOBIOLOGY, KRAKOW, POLAND

<sup>4</sup> JAGIELLONIAN UNIVERSITY, DEPARTMENT OF EVOLUTIONARY IMMUNOBIOLOGY, INSTITUTE OF ZOOLOGY, KRAKOW, POLAND

\* E-MAIL: SCIS@POCZTA.ONET.PL

## Abstract

*Interaction of host cells with a biomaterial surface is important for biocompatibility and thus is essential for biomedical applications. Therefore investigations are undertaken to scrutinize for an appropriate surface coating with physical and chemical properties minimizing undesirable activation of immunological response. For this the current study was aimed at examining the effects of different surface modifications of titanium by its coating with ceramic materials - hydroxyapatite, bioglass and CaO-SiO<sub>2</sub> on osteoblast morphology and secretory activity. Titanium is known for its excellent mechanical properties but its surface has low bioactivity. We report that CaO-SiO<sub>2</sub> coating decreased a number of attached osteoblasts and altered their morphology. Moreover, the ceramic coatings temporarily upregulated release of pro-inflammatory cytokines IL-6 (all of them) and TNF-α (CaO-SiO<sub>2</sub>). However, overall the levels of the cytokines were low. In contrast, levels of neutrophil-attracting chemokine IL-8 were the highest. IL-8 was produced mostly by cells incubated with hydroxyapatite titanium coating in contrary to those incubated with either bioglass or CaO-SiO<sub>2</sub> titanium modifications. In conclusion, the titanium coated with ceramics such as hydroxyapatite or bioglass had the best effect on cell adhesion; however, hydroxyapatite might potentially stimulate destructive neutrophils while CaO-SiO<sub>2</sub>-coating has a negative effect on cell adhesion.*

**Keywords:** osteoblasts, cytokines, cell adherence, morphology, titanium, hydroxyapatite, bioglass, CaO-SiO<sub>2</sub>

[*Engineering of Biomaterials*, 88, (2009), 5-10]

## Introduction

All implanted materials communicate with the surrounding living environment through their surface and the type and the strength of such communications are determined by chemical and physical properties of the biomaterial surface [1]. Titanium materials have been widely used in orthopaedics for their mechanical properties (e.g. [2-4]). Porous structure of titanium implant preserves its strength and additionally reduces the stiffness mismatch between implant and bone and promotes the bone tissue ingrowth and osseointegration [5].

However, the quest for improved biomaterials directs further studies towards engineering of surface modified titanium materials. In the current study three surface ceramic coatings of titanium were tested: hydroxyapatite, bioglass and CaO-SiO<sub>2</sub>. The ceramic materials were chosen in relation to their known bio-related characteristics.

Hydroxyapatite contains an interconnected network of channels appropriate for bone cell ingrowth. Furthermore, small particles of hydroxyapatite might be biodegradable and stimulate bone ingrowth as they dissolve [6]. Hydroxyapatite layer is compatible with the mineral phase of the bone as an ion-exchange reaction between the biomaterial and fluids present in the host environment results in the formation of a biologically active carbonate-containing hydroxyapatite layer on the implant [7]. Moreover, hydroxyapatite has a very slow resorption rate *in vivo* as for example in dogs neither volume nor width of this ceramic material was changed after 4 years confirming its low/absent biodegradability [8]. Other bioactive ceramics include bioglass and glass ceramics that are based on CaO-SiO<sub>2</sub> [7]. This was shown that wollastonite (CaSiO<sub>3</sub>), dicalcium silicate (Ca<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>) and diopside coatings (Ca<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub>) have excellent bone bioactivity and high bonding strength to titanium alloys [7]. Moreover, the bioglass designed and produced for the first time 40 years ago was found to bind to living bone [7].

Variation of the surface properties might affect cellular response to the biomaterial. For example Chou et al. reported that MG-63 osteoblasts adhere better to titanium characterized by rougher surface [9]. This is due to the fact that rough surfaces produce better bone fixation than the smooth ones [10]. The surface also determines the cell behaviour on contact. As previously shown, cells in contact with a biomaterial surface might sequentially attach, adhere and spread and the quality of the adhesion will determine their capacity for proliferation and further differentiation [1]. For example, it was demonstrated that structure of hydroxyapatite, either porous, dense or spinel-like affected differentially osteoblasts morphology and proliferation [11].

The titanium implants are commonly used for bone replacement and for this its safe and biocompatible interaction with bone forming cells is critical. Bone is a highly vascularised tissue in which the close spatial and temporal connection between blood vessels and bone cells is crucial for maintaining skeletal integrity [12]. Osteoblasts are bone-forming cells producing large amounts of collagen type I and thus responsible for matrix formation within the bone tissue [13]. However, when the trauma to the bone occurs the inflammatory response takes place and subsequently osteoclasts are engaged that facilitate bone resorption by removal of necrotic tissue [12]. Thus one of the obstacles in biomaterial engineering is avoidance of induction of inflammation. The inflammatory reaction is characterized by a release of pro-inflammatory cytokines (e.g. TNF-α, IL-1β, IL-12), and among them chemokines (e.g. IL-8), while its resolution depends on release of immunosuppressive cytokines such as IL-10 and TGF-β [14-16]. There are also cytokines with dual pro- and anti-inflammatory properties such as IL-6 [17]. Interestingly, the same cytokines control remodelling of the bone by osteoclasts and osteoblasts [18,19]. The *in vitro* studies on bone forming cells are commonly undertaken on immortalized human osteoblast-like cells such as MG-63 cells as the expression of a variety of cytokines, growth factors and their receptors was shown to be similar to those in primary human osteoblast cultures [13,20].

Therefore the aim of the study was to evaluate biocompatibility of porous titanium covered with different ceramic coatings (hydroxyapatite, bioglass and CaO-SiO<sub>2</sub>) by evaluation of morphology of MG-63 osteoblasts and biomaterial impact on inflammatory cytokine production by the cells co-cultured with the materials.

**Titanium surface modification**

Porous titanium disks were prepared by powder metallurgy. Titanium (Atlantic Equipment Engineers, USA) and porogen  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (Chempur, Poland) powders were mixed with weight ratio 70:30. Blowing agent was removed under argon atmosphere at 200°C and then sintered under vacuum at 1200°C, 5h [36]. In order to improve bioactivity titanium surface was modified with hydroxyapatite (HAp) by electrophoresis, with bioglass  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$  (80-4-16%) (BG), or calcium-silica sol with  $\text{CaO/SiO}_2$  ratio of 1.2 (CS) by sol-gel method [37].

**Cell studies***Cell culturing*

The human osteoblast cell line MG-63 was used in the studies. The cells were cultured in 75-ml plastic bottles (Nunc, Denmark) in DMEM culture medium enriched with glucose, L-Glutamine (PAA, Austria), 10% fetal bovine serum (PAA, Austria) and 5% antibiotic solution containing penicillin (10 UI/ml) and streptomycin (10 mg/ml) (Sigma-Aldrich, Germany). The cells were cultured at 37°C and 5% of  $\text{CO}_2$  in the appropriate incubator (Nuair, USA). Every 2-3 days, when the cells were forming high confluence monolayers, the cells were passaged by trypsinization (0.25% solution of trypsin; Sigma-Aldrich, Germany) and transferred to new bottles.

*In vitro studies*

Before the cell culture studies the titanium samples were washed in 70 % ethanol, sterilized with UV irradiation (45 min for each side) and placed at the bottom of 48-well dishes (Nunc, Dania). For titanium disk testing the cells were harvested after 7 to 10 passages. Subsequently the harvested cells were counted in Burker's hemocytometer and diluted to  $1.5 \times 10^4$  cell/ml, and thereafter they were placed in the wells of 48-well culture dishes (Nunc, Denmark) on the top of the titanium disks. In such conditions the cells were cultured for either 3 or 7 days. Subsequently, supernatants from cell cultures were collected and frozen at -20°C prior to cytokine evaluation by flow cytometry. The cells were used for either cell adherence studies or they were collected for morphology evaluation by scanning electron microscopy. The two latter analyses were performed on different occasions.

**Cell adherence**

The ability of cells to adhere to titanium surfaces was tested using the crystal violet test (CV) as reported previously [21]. The cells adhering to the disks were fixed with 2% paraformaldehyde for 1 hour, and then stained with crystal violet (CV; 0.5% in 20% methanol, 5 min). After that time the disks were washed with water and transferred to a new 48-well culture plate. After drying, the absorbed dye was extracted by addition of 1 ml of 100% methanol (POCH, Poland) to every well. After that the optical density (O.D.) was measured at 570 nm with the Expert Plus spectrophotometer (Asys Hitach, Austria). Since the materials absorb some crystal violet, additional controls were run. These were containing biomaterials and cell-free medium only.

**Scanning electron microscopy**

In order to evaluate cell morphology scanning electron microscopy (SEM) studies were carried out as described previously [22]. Briefly, the cells attached to the disks were fixed in 2.5% glutaraldehyde (Sigma, Germany) in PBS (30-60 min). After washing with PBS, dehydration was performed by slow water replacement using series of ethanol solutions (50%, 70%, 96%, 100%) for 5 min. Then cells were

dried at carbon dioxide critical point (Critical Point Research Industries LADD, USA), sputter coated with a thin gold layer (JEOL JFC – 1100E, Japan) and examined with JEOL JSM 5410 scanning electron microscope (Japan).

**Flow cytometry: cytokine measurement**

Cytometric Bead Array (Human Inflammation kit, CBA; BD Biosciences, USA) was used to study cytokines and chemokines in supernatants refrozen directly prior to analysis [23]. A human inflammation kit was used according to the manufacturer's instructions to simultaneously detect human TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 and IL-12p70. Briefly, a mixture of 6 capture bead populations (50  $\mu\text{l}$ ) with distinct fluorescence intensities (detected in FL3) coated with antibodies specific for the above cytokines/chemokines was mixed with each sample/standard (50  $\mu\text{l}$ ). Additionally, PE-conjugated detection antibodies (detected in FL-2; 50  $\mu\text{l}$ ) were added to form sandwich complexes. After the 3-hour incubation (in dark) the samples were washed once (200 g, 5 min) and resuspended in 300  $\mu\text{l}$  of wash buffer before acquisition on a FACScan cytometer (FACSCalibur™ flow cytometer, BD Biosciences). Following acquisition of data by two-colour cytometric analysis, the sample results were analysed using CBA software (BD Biosciences). Standard curves were generated for each cytokine using the mixed cytokine/chemokine standard provided with the kit. The concentration for each cytokine in cell supernatants was determined by interpolation from the corresponding standard curve. The sensitivities of the CBA for TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 and IL-12p70 were 3.7, 7.2, 2.5, 3.6, 3.3, 1.9 pg/ml, respectively.

**Statistical analyses**

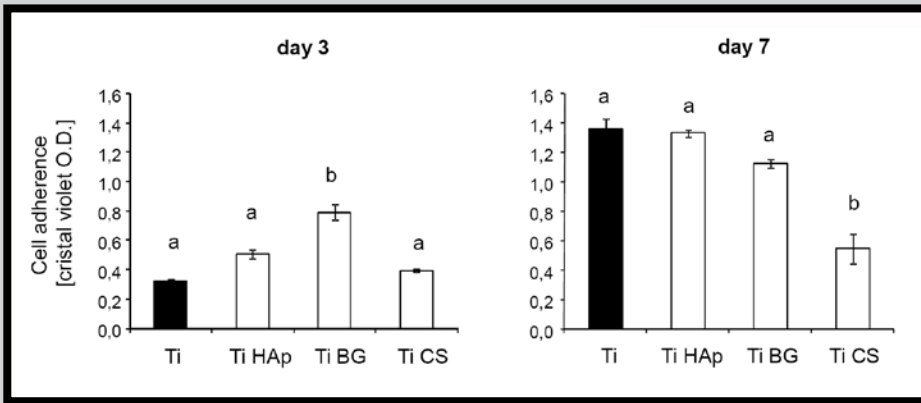
All values are reported as means  $\pm$  SD. The differences between the unmodified titanium and the modified titanium samples were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by *post hoc* Tukey's test. Differences were considered statistically significant at  $p \leq 0.05$ .

**Results and Discussion**

Among the most important features of any potential implant are chemical and physical characteristics of its surface. This is due to the fact that interaction between host tissue(s) and the implanted biomaterial takes place on its surface [24]. The importance of such interactions is confirmed by studies showing that cell adherence to the implant depends even on a method used for its sterilization as shown in the case of commercially pure titanium [25,26]. These data show that sterilization-induced chemical modifications of the surface may be responsible for cell-implant contact.

The surface-related obstacles are important for two main reasons. Firstly, the surface composition might facilitate (or impede) required host cell adhesion providing local stabilization of the implanted material [1]. Secondly, as after implantation, biomaterials spontaneously acquire a layer of host proteins [27], the composition of attracted proteins might favour (or inhibit) phagocyte migration thus initiating (or preventing) an undesired inflammatory response.

Titanium is one of the most commonly applied materials in engineered bioimplants (e.g. [3,4]). This is mostly due to its good mechanical properties such as high fatigue stress and corrosion resistance as well as its good biocompatibility and low toxicity [28]. The two latter features are directly connected to the titanium effect on biological tissues and their cellular components. Multiple studies were undertaken to study the effects of titanium surface topography (roughness and texture), chemistry, surface charge and hydrophilicity on cell proliferation, differentiation and adherence (e.g. [29,30]).



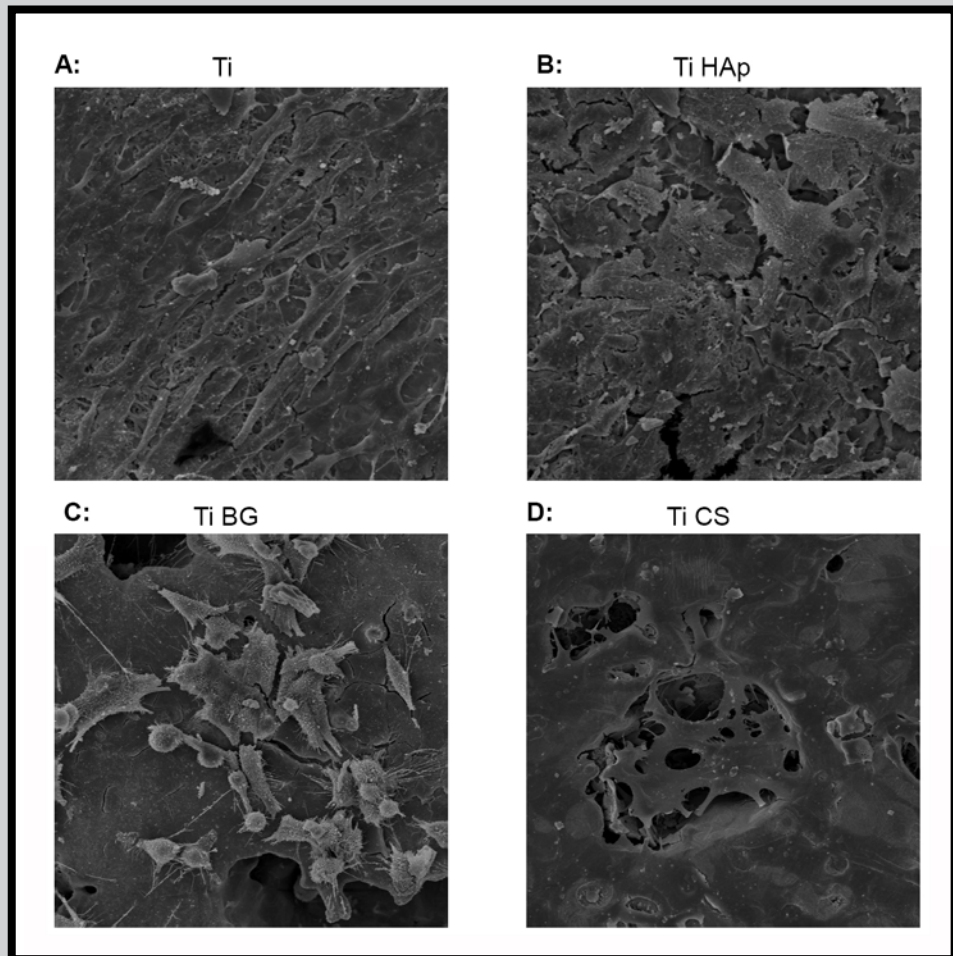
**FIG. 1. Adherence of osteoblasts to modified titanium surfaces.** The cells were cultured on unmodified titanium or on titanium disks coated with hydroxyapatite, bioglass or  $\text{CaO-SiO}_2$  for either 3 (left) or 7 days (right). The cell adherence to the tested materials was verified by a crystal violet test (CV). All results are shown as means  $\pm$  SD from at least 3 independent experiments. Mean values not sharing letters (a, b) are statistically significantly different according to ANOVA ( $p < 0.05$ ).

At this point it is unknown if it is due to weak cell attachment to this surface or defective proliferation induced by Ti CS. Alternatively the coating might be cytotoxic. The studies revealed that also hydroxyapatite (Ti HAp) and bioglass coatings partially modified morphology of osteoblasts as some rounded cells were observed among the spread ones (FIG. 2 B and C, respectively). Additionally, in the case of the bioglass coating not whole surface was covered by the cells (FIG. 2 C). The poor cell adhesion together with the altered morphology indicates that  $\text{CaO-SiO}_2$ -coated titanium might have a cytotoxic effect. This, however, must be confirmed by cell death (apoptosis/necrosis) evaluation and the appropriate studies are in progress.

The current study focused on titanium surfaces modified by their coating with hydroxyapatite, bioglass and silicate ( $\text{CaO-SiO}_2$ ) ceramics. The ceramic-coated materials were shown previously to bind directly to the living bone tissue and thus ensure a secure mechanical anchoring in the bone, in contrast to titanium itself that shows poor surface bioactivity [7,31].

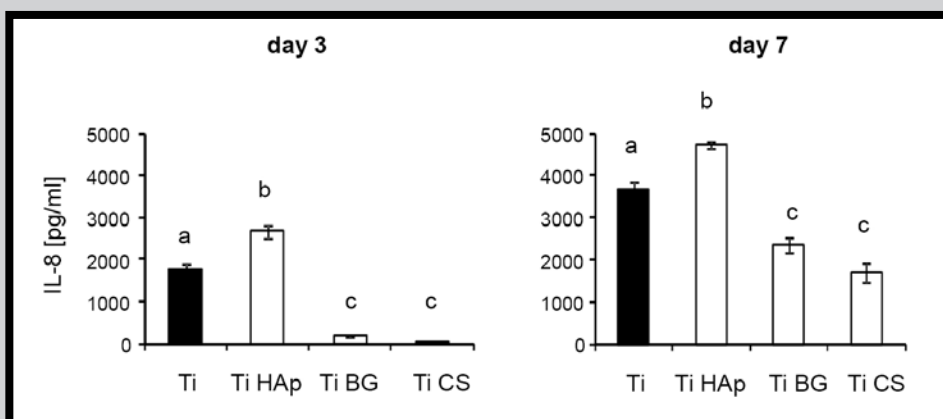
Osteoblast represent a cell type which requires cell adhesion for normal functioning and moreover the cell adherence to the implant surfaces confirms its biocompatibility [12,13]. The data presented herein show that osteoblast adherence to the tested materials was improved by titanium coating with bioglass (Ti BG) on day 3 of the experiment (FIG. 1 left) while the long-term 7-day incubation with the titanium disks had similarly good effect on the cell attachment as of that of the unmodified titanium or the ones coated with hydroxyapatite and bioglass (FIG. 1 right). In contrast, coating of the titanium with  $\text{CaO-SiO}_2$  (Ti CS) significantly reduced osteoblast adherence (FIG. 1 right) thus not only that it did not improve cell attachment in comparison to uncoated titanium but even worsen the process. The latter effect was further confirmed by morphological evaluation as the scanning microscopy studies revealed much less numerous cells spread on the silicate coating in comparison to any other tested titanium (FIG. 2, representative scanning electron micrographs). Moreover, the shape of the cells was changed, they were rounded and not spread as well as on control titanium (FIG. 2D vs. A).

Titanium and some components of the ceramic biomaterials are not naturally present in living organisms and for this they might be considered as foreign material once implanted into the body. Implantation of a foreign material triggers an automatic immunological response called inflammation [14].

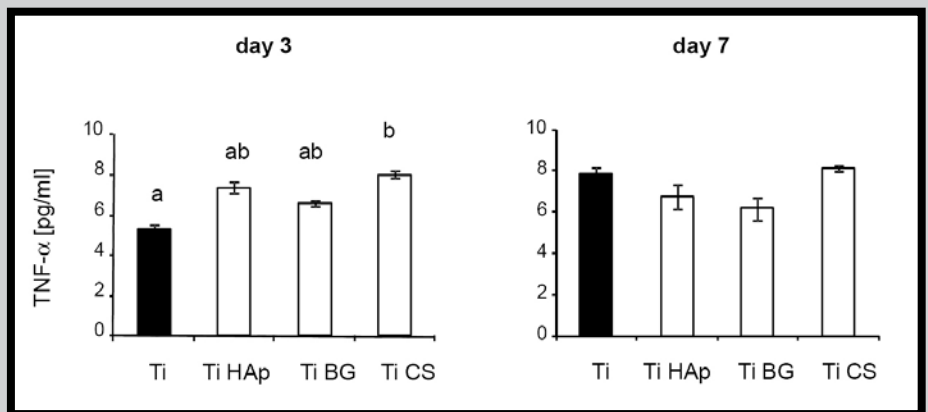


**FIG. 2. Morphology of MG-63 osteoblasts co-cultured on titanium coated with ceramic materials analyzed by SEM.** The cells were cultured on unmodified titanium (A) or on titanium disks coated with hydroxyapatite (B), bioglass (C), or  $\text{CaO-SiO}_2$  (D) for 7 days. The cell morphology was evaluated by means of scanning microscopy. Representative microphotographs are presented.

The reaction is meant to destroy the intruder if dangerous and then to heal the wounds [15]. If however the new implant does not strongly stimulate leukocytes, the cells of the immune system, the inflammatory response is only moderate and transient thus the implant shows good biocompatibility with the organism. In the present study we verified impact of unmodified titanium and its three surface modifications on cytokine and chemokine production. Cytokines are molecules synthesised and released by numerous cell types, including osteoblasts [14, 18]. Synthesis of some of them (e.g. TNF- $\alpha$  and IL-1, IL-12) stimulates inflammation while others limit the immunological reaction (e.g. IL-10) [14, 16]. We detected that firstly (on day 3) titanium surface covered with CaO-SiO<sub>2</sub> (CS), in contrast to any other material, significantly augmented TNF- $\alpha$  synthesis by osteoblast, however this effect was temporary and was not detected on day 7 (FIG. 3). Moreover, the levels of TNF- $\alpha$  were not very high (lower than 8 pg/ml) similarly as in the case of another pro-inflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and IL-12p70 (data not shown) which production was unchanged by the presence of any titanium preparation. The levels of the three cytokines were very low and thus potentially biologically irrelevant as for example during an acute inflammatory response induced by cell wall of yeast *Saccharomyces cerevisiae* the levels of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  can reach values of 3500 and 100 pg/ml, respectively [32]. In contrast, in the present study we observed strong synthesis of IL-8 which is an effective chemokine attracting neutrophils to the site of inflammation. The function of neutrophils is to engulf and eliminate the foreign material thus their recruitment suggests rather strong stimulation of the immune system [33]. All tested titanium preparations were promoting IL-8 synthesis, with hydroxyapatite-covered disks being the stronger stimulants while titanium covered with bioglass and CaO-SiO<sub>2</sub> were the weakest IL-8 inducers in comparison to control titanium (FIG. 4).



**FIG. 4. Production release of neutrophil-attracting chemokine IL-8 by MG-63 osteoblasts incubated on titanium coated with ceramic materials. The cells were cultured on unmodified titanium or on titanium disks coated with ceramic hydroxyapatite, bioglass or CaO-SiO<sub>2</sub> for either 3 (left) or 7 days (right). The contents of IL-8 were tested in supernatants collected from the co-cultures by flow cytometry. All results are shown as means  $\pm$  SD from at least 3 independent experiments. Mean values not sharing letters (a, b) are statistically significantly different according to ANOVA ( $p < 0.05$ ).**

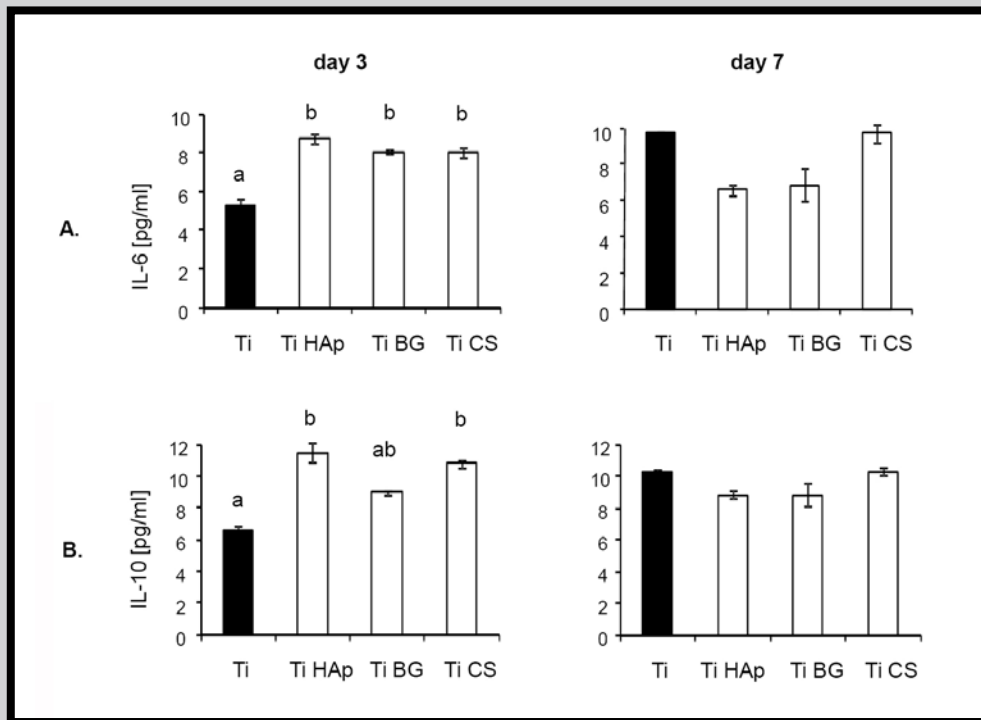


**FIG. 3. Production/release of pro-inflammatory cytokine TNF- $\alpha$  by MG-63 osteoblasts incubated on titanium disks with different surface modifications. The cells were cultured on unmodified titanium or on titanium disks coated with ceramic hydroxyapatite, bioglass or CaO-SiO<sub>2</sub> for either 3 (left) or 7 days (right). The contents of TNF- $\alpha$  were tested in supernatants collected from the co-cultures by flow cytometry. All results are shown as means  $\pm$  SD from at least 3 independent experiments. Mean values not sharing letters (a, b) are statistically significantly different according to ANOVA ( $p < 0.05$ ).**

Moreover, this should be underlined that the levels of IL-8 generated in the presence of bioglass and silicate coating on day 7 were similar to those of unmodified titanium on day 3 and at least twice lower to those on day 7 for the control titanium (FIG. 4). Therefore the above data suggest that bioglass significantly attenuates chemoattraction of neutrophils to the site of titanium implantation. Fritz et al. reported that titanium particles induce immediate release of IL-8 and MCP-1 (monocyte/macrophage chemoattractant) from cultured human osteoblasts [34] and therefore the bioglass coating tested herein seem to prevent this unwanted phenomenon. The data interpretation in the case of titanium covered with CaO-SiO<sub>2</sub> should be more careful as the decreased IL-8 release might be directly connected with low numbers of cells present in cultures with this material.

Exaggerated inflammatory response might lead to self-tissue destruction thus it is controlled by numerous mechanisms such as autoantibodies (neutralizing inflammatory mediators, e.g. anti-IL-1 antibodies), soluble receptors (e.g. soluble receptors that bind TNF- $\alpha$  thus sequestering the cytokine) and anti-inflammatory cytokines [16, 35].

The latter group inhibits action of pro-inflammatory cytokines mostly by its negative impact on nuclear factor NF- $\kappa$ B which induces pro-inflammatory gene expression [15]. The production of IL-10 that represents one of such anti-inflammatory cytokines was significantly enhanced in the presence of hydroxyapatite and CaO-SiO<sub>2</sub>(CS)-modified titanium on day 3, in comparison to unmodified titanium (FIG. 5B), suggesting that although CS upregulated synthesis of pro-inflammatory TNF- $\alpha$  it also simultaneously triggered the anti-inflammatory reaction. These data are not contradictory as production of anti-inflammatory cytokines precedes the time of their resolving effects that take hours.



**FIG. 5.** Production release of anti-inflammatory cytokines by MG-63 osteoblasts co-cultured on titanium coated with ceramic materials. The cells were cultured on unmodified titanium or on titanium disks coated with ceramic hydroxyapatite, bioglass or CaO-SiO<sub>2</sub> for either 3 (left) or 7 days (right). The contents of (A) IL-6 and (B) IL-10 were tested in supernatants collected from the co-cultures by flow cytometry. All results are shown as means  $\pm$  SD from at least 3 independent experiments. Mean values not sharing letters (a, b) are statistically significantly different according to ANOVA ( $p < 0.05$ ).

IL-6 is a unique cytokine that processes characteristics of both pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine [17]. Its pro-inflammatory action is observed in a context of acute phase response generating the acute phase proteins while its anti-inflammatory action is a consequence of downregulation of chemokine expression leading to suppression of neutrophil infiltration and control of the apoptotic process [17]. Moreover, IL-6 along with TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and prostaglandins play a very important role in another undesirable process i.e. bone resorption. The cytokines and eicosanoids activate osteoclasts and reduce osteoblastic bone formation [18]. In our studies the levels of IL-6 were increased by all titanium modifications only on day 3 while at the later time point there was a tendency to decreased IL-6 released by osteoblasts cultured on hydroxyapatite and bioglass-modified titanium (FIG. 5 A). This suggests that neither of the coatings would significantly initiate the bone resorption. Borsari et al. studied the effect of roughness and density of titanium on IL-6 synthesis and observed that medium roughness titanium preparations generated higher levels of the cytokine in contrast to high and ultrahigh titanium surfaces [31]. Therefore the study showed that titanium is a strong inducer of the bone remodelling and thus coating of its surface with ceramics might prevent the process.

## Conclusions

The study allowed for estimation of morphological and basic immunological parameters of human osteoblast-like cells cultured in the presence of three ceramic coatings applied on titanium samples. In particular the study revealed that:

1. There was a poor osteoblast adherence to the CaO-SiO<sub>2</sub>-modified titanium and the morphology of the cells was changed in the presence of this coating.
2. The increased synthesis/release of inflammation and/or bone resorption-inducing cytokines TNF- $\alpha$  (CaO-SiO<sub>2</sub>-coating) and IL-6 (all modifications) was only transient and thus should not initiate the above processes.
3. Coating of titanium with hydroxyapatite significantly upregulated production of IL-8 that has a very strong capacity of chemoattracting phagocytic neutrophils. However, at the same time the coating significantly increased synthesis of anti-inflammatory IL-10 suppressing chemokines.

## Acknowledgments

*This study was supported by a research grant No. 103/GRE/2007/02 from the Ministry of Sciences and High Education, Warszawa, Poland.*

## References

- [1] Anselme K. Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials* 2000, 21 (7), 667-81.
- [2] Hazan R., Brener R., Oron U. Bone growth to metal implants is regulated by their surface chemical properties. *Biomaterials* 1993, 14 (8), 570-4.
- [3] Yazici M., Emans J. Fusionless instrumentation systems for congenital scoliosis: expandable spinal rods and vertical expandable prosthetic titanium rib in the management of congenital spine deformities in the growing child. *Spine (Phila Pa 1976)* 2009, 34 (17), 1800-7.
- [4] Goldstein W. M., Branson J. J. Modular femoral component for conversion of previous hip surgery in total hip arthroplasty. *Orthopedics* 2005, 28 (9 Suppl), s1079-84.
- [5] Muller U., Imwinkelried T., Horst M., Sievers M., Graf-Hausner U. Do human osteoblasts grow into open-porous titanium? *Eur Cell Mater* 2006, 11, 8-15.
- [6] Ohgushi H., Okumura M., Yoshikawa T., Inoue K., Senpuku N., Tamai S., Shors E. C. Bone formation process in porous calcium carbonate and hydroxyapatite. *J Biomed Mater Res* 1992, 26 (7), 885-95.
- [7] Liu X., Morra M., Carpi A., Li B. Bioactive calcium silicate ceramics and coatings. *Biomed Pharmacother* 2008, 62 (8), 526-9.
- [8] Holmes R. E., Bucholz R. W., Mooney V. Porous hydroxyapatite as a bone graft substitute in diaphyseal defects: a histometric study. *J Orthop Res* 1987, 5 (1), 114-21.
- [9] Chou L., Firth J. D., Uitto V. J., Brunette D. M. Substratum surface topography alters cell shape and regulates fibronectin mRNA level, mRNA stability, secretion and assembly in human fibroblasts. *J Cell Sci* 1995, 108 ( Pt 4), 1563-73.
- [10] Lee S. J., Choi J. S., Park K. S., Khang G., Lee Y. M., Lee H. B. Response of MG63 osteoblast-like cells onto polycarbonate membrane surfaces with different micropore sizes. *Biomaterials* 2004, 25 (19), 4699-707.
- [11] Ruan J., Grant M. H. Biocompatibility evaluation in vitro. Part I: Morphology expression and proliferation of human and rat osteoblasts on the biomaterials. *J Cent South Univ Technol* 2001, 8 (1), 1-8.
- [12] Kanczler J. M., Oreffo R. O. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone. *Eur Cell Mater* 2008, 15, 100-14.
- [13] Torricelli P., Fini M., Giavaresi G., Borsari V., Carpi A., Nicolini A., Giardino R. Comparative interspecies investigation on osteoblast cultures: data on cell viability and synthetic activity. *Biomed Pharmacother* 2003, 57 (1), 57-62.
- [14] Majno G., Joris I. *Cells, tissues, and disease: principles of general pathology*. Blackwell: Oxford, 2004.
- [15] Medzhitov R., Horng T. Transcriptional control of the inflammatory response. *Nat Rev Immunol* 2009, 9 (10), 692-703.
- [16] Kolaczowska E. Zapalenie (ostre) jako reakcja korzystna dla organizmu – historia badań a najnowsze osiągnięcia. *Kosmos* 2007, 56 (1-2), 27-38.
- [17] Rose-John S., Scheller J., Elson G., Jones S. A. Interleukin-6 biology is coordinated by membrane-bound and soluble receptors: role in inflammation and cancer. *J Leukoc Biol* 2006, 80 (2), 227-36.
- [18] Takei H., Pioletti D. P., Kwon S. Y., Sung K. L. Combined effect of titanium particles and TNF-alpha on the production of IL-6 by osteoblast-like cells. *J Biomed Mater Res* 2000, 52 (2), 382-7.
- [19] Caetano-Lopes J., Canhao H., Fonseca J. E. Osteoimmunology-the hidden immune regulation of bone. *Autoimmun Rev* 2009, 8 (3), 250-5.
- [20] Bilbe G., Roberts E., Birch M., Evans D. B. PCR phenotyping of cytokines, growth factors and their receptors and bone matrix proteins in human osteoblast-like cell lines. *Bone* 1996, 19 (5), 437-45.
- [21] Scislowska-Czarnecka A., Pamula E., Plytycz B., Kolaczowska E. Effect of biomaterials on adhesion and activity of murine fibroblasts L929. *Engineering of Biomaterials* 2008, 81-84, 83-86.
- [22] Pamula E., Dobrzynski P., Szot B., Kretek M., Krawciow J., Plytycz B., Chadzinska M. Cytocompatibility of aliphatic polyesters-in vitro study on fibroblasts and macrophages. *J Biomed Mater Res A* 2008, 87 (2), 524-35.
- [23] Kolaczowska E., Barteczko M., Plytycz B., Arnold B. Role of lymphocytes in the course of murine zymosan-induced peritonitis. *Inflamm Res* 2008, 57 (6), 272-8.
- [24] Tirrelli M., Kokkoli E., Biesalski M. The role of surface science in bioengineered materials. *Surface Science* 2002, 500, 61-83.
- [25] Vezeau P. J., Koorbusch G. F., Draughn R. A., Keller J. C. Effects of multiple sterilization on surface characteristics and in vitro biologic responses to titanium. *J Oral Maxillofac Surg* 1996, 54 (6), 738-46.
- [26] Stanford C. M., Keller J. C., Solursh M. Bone cell expression on titanium surfaces is altered by sterilization treatments. *J Dent Res* 1994, 73 (5), 1061-71.
- [27] Tang L., Ugarova T. P., Plow E. F., Eaton J. W. Molecular determinants of acute inflammatory responses to biomaterials. *J Clin Invest* 1996, 97 (5), 1329-34.
- [28] Martin J. Y., Schwartz Z., Hummert T. W., Schraub D. M., Simpson J., Lankford J., Jr., Dean D. D., Cochran D. L., Boyan B. D. Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG-63). *J Biomed Mater Res* 1995, 29 (3), 389-401.
- [29] Hambleton J., Schwartz Z., Khare A., Windeler S. W., Luna M., Brooks B. P., Dean D. D., Boyan B. D. Culture surfaces coated with various implant materials affect chondrocyte growth and metabolism. *J Orthop Res* 1994, 12 (4), 542-52.
- [30] Davies J. E. Mechanisms of endosseous integration. *Int J Prosthodont* 1998, 11 (5), 391-401.
- [31] Borsari V., Giavaresi G., Fini M., Torricelli P., Tschon M., Chiesa R., Chiusoli L., Salito A., Volpert A., Giardino R. Comparative in vitro study on a ultra-high roughness and dense titanium coating. *Biomaterials* 2005, 26 (24), 4948-55.
- [32] Kolaczowska E., Seljelid R., Plytycz B. Role of mast cells in zymosan-induced peritoneal inflammation in Balb/c and mast cell-deficient WBB6F1 mice. *J Leukoc Biol* 2001, 69 (1), 33-42.
- [33] Soehnlein O., Weber C., Lindbom L. Neutrophil granule proteins tune monocytic cell function. *Trends Immunol* 2009, 30 (11), 538-46.
- [34] Fritz E. A., Glant T. T., Vermes C., Jacobs J. J., Roebuck K. A. Titanium particles induce the immediate early stress responsive chemokines IL-8 and MCP-1 in osteoblasts. *J Orthop Res* 2002, 20 (3), 490-8.
- [35] Mosser D. M., Zhang X. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol Rev* 2008, 226, 205-18.
- [36] Szaraniec B., Ziabka M., Chłopek J., Papargyri S., Tsiapas D.: Obtaining of porous titanium for medical implants. *Engineering of Biomaterials* 2008, vol. 11, no. 81-84, 49-52
- [37] Szaraniec B., Chłopek J., Dymia G. Porowate biomateriały tytanowe modyfikowane ceramiką bioaktywną. *Inżynieria Materiałowa* 2009, 30 (5), 449-451.

# NOWY KOMPOZYT HAp-FAZA ORGANICZNA JAKO OBIECUJĄCY WYPEŁNIACZ UBYTKÓW KOŚCI

ANNA BELCARZ<sup>1\*</sup>, GRAŻYNA GINALSKA<sup>1</sup>, ANETA ZIMA<sup>2</sup>,  
IZABELLA POLKOWSKA<sup>3</sup>, ANNA ŚLÓSARCZYK<sup>2</sup>,  
ANNA SZYSZKOWSKA<sup>4</sup>

<sup>1</sup> KATEDRA I ZAKŁAD BIOCHEMII,

UNIwersytet Medyczny w Lublinie, POLSKA

<sup>2</sup> WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,  
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW, POLSKA

<sup>3</sup> KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII ZWIERZĄT,  
WYDZIAŁ MEDYCZYNY WETERYNARYJNEJ,  
UNIwersytet Przyrodniczy w Lublinie, POLSKA

<sup>4</sup> WYDZIAŁ CHIRURGII SZCZĘKOWEJ,  
UNIwersytet Medyczny w Lublinie, POLSKA

\* E-MAIL: ANNA.BELCARZ@AM.LUBLIN.PL

## Streszczenie

*Powszechnie znana wada hydroksyapatowego materiału implantacyjnego w postaci granul dotyczy braku poręczności chirurgicznej. Problem ten może być rozwiązany poprzez przygotowanie odpowiedniego materiału kompozytowego. Wytworzono nowy małoplastyczny organiczno/nieorganiczny kompozyt posiadający korzystne właściwości mechaniczne, który okazał się być zdolnym do częściowego dopasowywania do kształtu i wymiarów miejsca implantacyjnego. Kompozyt może być suszony i ponownie nasączaony, daje się przechowywać przez co najmniej 2 lata i sterylizować bez utraty swoich właściwości. Jego parametry mechaniczne przypominają te, które wykazuje kość gąbczasta. Po implantacji do przetok ustno-nosowych w modelu psim, okazał się być dobrym materiałem w procesie ich leczenia, zapobiegając zapaleniom nosa i zachłystowemu zapaleniu płuc. Te właściwości czynią opisany kompozyt obiecującym materiałem dla wypełnień ubytków kości.*

*[Inżynieria Biomateriałów, 88, (2009), 11-15]*

## Wstęp

Hydroksyapatyt (HAp), szczególnie w formie porowatej, jest dobrze znanym materiałem dla wypełnień ubytków kości. Jest on ceniony dzięki swej biokompatybilności, bioaktywności, minimalnemu ryzyku wystąpienia reakcji alergicznych, brakowi właściwości rakotwórczych oraz brakowi wrażliwości na procesy sterylizacyjne [1,2,3]. Pomimo tych pozytywnych cech, ceramika ta ma ograniczone zastosowanie ze względu na słabą resorpcję, wysoki moduł Younga oraz niską odporność na kruche pękanie [4]. Znane są liczne handlowe preparaty HAp dostępne na rynku, włączając w to polski HA-Biocer (Rzeszów, Polska). HAp, poza funkcją wypełniacza ubytków kostnych, może służyć również jako nośnik substancji aktywnych: antybiotyków, chemioterapeutyków, czynników wzrostu itp. Bioceramika HAp może być również stosowana jako składnik kompozytów, jako czynnik zwiększający cytokompatybilność, bioaktywność, osteokonduktywność, przyleganie powłok oraz moduł ściskania.

# NEW HAp-ORGANIC COMPOSITE AS A PROMISING FILLER OF BONE DEFECTS

ANNA BELCARZ<sup>1\*</sup>, GRAŻYNA GINALSKA<sup>1</sup>, ANETA ZIMA<sup>2</sup>,  
IZABELLA POLKOWSKA<sup>3</sup>, ANNA ŚLÓSARCZYK<sup>2</sup>,  
ANNA SZYSZKOWSKA<sup>4</sup>

<sup>1</sup> CHAIR AND DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY,  
MEDICAL UNIVERSITY OF LUBLIN, POLAND

<sup>2</sup> FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,  
AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,  
KRAKOW, POLAND

<sup>3</sup> CHAIR AND DEPARTMENT OF ANIMAL SURGERY,  
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE,  
UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES, LUBLIN, POLAND

<sup>4</sup> DEPARTMENT OF DENTAL SURGERY,  
MEDICAL UNIVERSITY OF LUBLIN, POLAND

\* E-MAIL: ANNA.BELCARZ@AM.LUBLIN.PL

## Abstract

*Commonly known disadvantage of granular hydroxyapatite implantation material concerns the lack of its surgical handiness. This problem can be solved by preparing the suitable composite material. A new low ductile organic/inorganic composite possessing profitable mechanical properties has been created and it was found to be able to adapt to some extent to shape and dimensions of implantation site. The composite can be dried and soaked again, may be stored for at least 2 years and sterilized without loss of its properties. Its mechanical parameters resemble those of spongy bone. After implantation into oronasal fistulae dog model, it served as a good material for fistula's repair, preventing appearance of nasal rhinitis and aspiration pneumonia. These properties make the composite a promising biomaterial for filling of bone defects.*

*[Engineering of Biomaterials, 88, (2009), 11-15]*

## Introduction

Hydroxyapatite (HAp), specially in a porous form, is a well known material for filling of bone defects. It is appreciated due to its biocompatibility, bioactivity, osteoconductivity, minimal risk of allergic reactions appearance, lack of carcinogenous properties and lack of sensitivity to sterilization processes [1,2,3]. Nevertheless, despite these advantages, it is a ceramics with limited application due to its poor resorption, substantially high Young modulus and low fracture toughness [4]. There are numerous commercial preparations of HAp available on the market, including Polish HA-Biocer (Rzeszow, Poland). Aside of a bone filler, HAp may serve also as a carrier of active substances: antibiotics, chemotherapeutics, growth factors etc. HAp bioceramics can be also applied as a component of composites, as a factor increasing their cytocompatibility, bioactivity, osteoconductivity, adhesion of coatings and compression modulus.

On the other hand, HAp is a problematic biomaterial because of the lack of surgical handiness. The granules made of this material are not easy to handle; the porous scaffolds are tough and non-adaptable to the implantation site. As a solution of this problem may be a combination of hard and stiff HAp (in the form of powder or granules) with the ductile fibrin glue.

Z drugiej strony, HAp jest materiałem problematycznym ze względu na brak poręczności chirurgicznej. Granule wykonane z tego materiału są nieporęczne; zaś porowate rusztowania są kruche i nie dopasowują się do miejsc implantacji. Rozwiązaniem tego problemu może być połączenie twardego hydroksyapatytu (w formie proszku lub granul) z plastycznym żelom fibrynowym. Połączenie takie może prowadzić do otrzymania dającego się kształtować i twardniejącego biomateriału kompozytowego [5]. Jednak przygotowanie żelu fibrynowego jest kosztowne; zalecane jest ponadto pozyskiwanie jego składnika – fibrynogeny – z autologicznej krwi.

Aby rozwiązać problem wynikający z niskiej plastyczności hydroksyapatytu, w prezentowanej pracy wytworzono nowy materiał kompozytowy składający się z porowatych granul hydroksyapatytowych oraz polimeru organicznego. Otrzymany materiał pozwala na łatwą obróbkę oraz wykazuje dobrą adaptację do kształtu oraz wymiarów ubytku kostnego. Ponadto, ze względu na możliwość nasączenia, kompozyt ten może służyć jako nośnik leków. Potencjalne zastosowanie tego materiału dotyczy głównie wypełnienia przetok ustno-nosowych, ale może on też być wykorzystywany jako wypełniacz ubytków kostnych, ubytków szczękowo-twarzowych oraz wypełnień kieszonek zębowych itp. Niebezpieczeństwo wystąpienia przetok ustno-nosowych wynika z pojawienia się ciągłości pomiędzy jamami ustną i nosową. W takich przypadkach pożywienie pojawiające się w przetoce prowadzi do wystąpienia chronicznych zapaleń nosa i innych powikłań [6].

## Materiały i Metody

### Wykonanie kompozytów

Próbki kompozytów HAp-polimer przygotowano według procedur opisanych w zgłoszeniach patentowych [7,8]. Składały się one z porowatych granul hydroksyapatytowych (frakcja: 0,1-1 mm; 68% porowatość) i polimeru polisacharydowego w stężeniach w zakresie 8-25% (w/w).

### Określenie parametrów

Siła ściskania została określona przy użyciu aparatu Instron 3345. Moduł Younga zmierzono metodą ultradźwięków (aparat ultradźwiękowy MT-541,  $f = 0,5$  MHz).

Nasiąkliwość ustalono dla próbek wysuszonych w temperaturze 37°C przez 48 godzin, następnie nasączonych wodą w 37°C przez 20 godzin. Ilości wody zaabsorbowanej przez kompozyt obliczano z różnicy pomiędzy masami całkowicie wysuszonych i nasączonych próbek. Ilość wody przeliczono na 1 g suchej masy kompozytu.

### Procedura implantacyjna

Próbki kompozytu zaimplantowano do przetok ustno-nosowych u psów. Procedura implantacyjna została zaprobowana przez miejscową Lokalną Komisję Etyczną do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach (Zgoda nr. 15/2009). Skład biomateriału zastosowanego w przeprowadzonych eksperymentach był następujący: 12,5% polimer organiczny, maksymalny stopień upakowania granulami HAp (frakcja granul: 0,2-0,3:0,5-0,6 mm w proporcji 3:1) oraz 10 mg gentamycyny na 1 g suchej masy kompozytu. Próbki suszono i sterylizowano tlenkiem etylenu (55°C, 5 godzin); przechowywano je przez 2-10 miesięcy w temperaturze pokojowej. W naszych próbach *in vivo* uczestniczyło 6 psów (4 płci męskiej i 2 żeńskiej, wiek 4-11 lat), pacjentów Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, przyjętych ze zwichniętymi kłami. Procedury chirurgiczne przeprowadzono pod całkowitym znieczuleniem. Domitor (4 mg/kg masy ciała) i Ketamina (2 mg/kg masy ciała) zostały wstrzyknięte dożylnie.

Combining the bioceramic powders or granules with fibrin glue provides a mouldable and self-hardening composite biomaterial [5]. Since, preparation of fibrin glue is expensive; it is also advised to possess its component – fibrinogen – from autologous blood.

To solve the problem originating from low ductility of HAp we have developed a new composite material consisting of porous hydroxyapatite granules and organic polymer. The obtained material allows easy manipulation and good adaptation to the shape and dimension of bone defects. Besides, as it may be soaked with liquids, the composite may serve as a carrier for drugs. The potential use of such biomaterial includes mainly filling of oronasal fistulae, but also it could be applied as a material for closure of bone, maxillofacial and palatine defects and filling for gingival pockets etc. Danger of oronasal fistulae appearance comes from the continuity between nasal and oral cavities. In such case food in the nasal passage leads to chronic nasal discharge and chronic rhinitis [6].

## Materials and Methods

### Preparation of composites

HAp-polymer composite samples were prepared according to procedure described in Patent pendings [7,8]. They consisted of porous hydroxyapatite granules (fraction: 0.1-1 mm; 68% porosity) and polysaccharide polymer at concentrations in the range of: 8-25% (w/w).

### Estimation of parameters

Compressive strength was estimated using Instron 3345. Young modulus was measured by ultrasonic method (MT-541 ultrasonic apparatus,  $f = 0.5$  MHz)

Soaking capacity was established on samples dried at 37°C during 48h, subsequently soaked with excessive volume of water at 37°C for 20 h. Amount of water absorbed by composite was calculated from the difference between the weights of totally dried and soaked samples. The water amounts were calculated per 1 g of dried composite.

### Implantation procedure

The composite samples were implanted into oronasal fistulae of dogs. The protocol was approved by the Local Ethic Committee for Animal Studies (Agreement no. 15/2009). The composition of the biomaterial used in our experiments was as follows: 12.5% organic polymer, maximum HAp granules loading (granules fraction: 0.2-0.3:0.5-0.6 mm in proportion 3:1) with 10 mg/g of dry weight gentamicin. The samples were dried and sterilized by ethylene oxide (55°C, 5 h); stored for 2-10 months at room temperature. In our *in vivo* trial 6 dogs (4 male and 2 female, age: 4-11 years) with luxated canine teeth which were the patients of Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin, Poland were used. The surgical procedures were performed under general anesthesia. Domitor (4 mg/kg of body weight) and Ketamine (2 mg/kg of body weight) were injected intravenously. Fragments of investigated composite were soaked in sterile water few seconds before implantation and fitted with scissors to dimensions approximate to those of extracted canine tooth. Composite implantable material was placed within fistulae. The excessive fragments were cut off and the wounds were closed with surgical sutures (Dexon 2-0, Tyco Healthcare, UK). After the implantation, the animals were recovered from anesthesia by application of Antisedane (2 mg/kg of body weight).

Post-operative treatment included Metronidazole applied locally and Enrobiofloxx 5% (0.1 ml/kg of body weight) intramuscularly for 7 days. Healing results were clinically estimated.



Fragmenty badanego kompozytu byly nasaczane sterylna woda kilka sekund przez implantacja i dopasowywane przy uzyciu jalowych nozyczek do wymiarow i wielkosc zblizonej do ekstrahowanego kla psa. Kompozytowy material implantacyjny umieszczano wewnatrz przetok. Nadmiar probek odcinano, a rany zaszywano przy pomocy nici chirurgicznych (Dexon 2-0, Tyco Healthcare, UK). Po zabiegu zwierzata wyprowadzono ze znieczulenia poprzez zaaplikowanie Antisedanu (2 mg/kg masy ciata).

Pooperacyjne leczenie rany obejmowalo miejscowa aplikacje Metronidazolu oraz domiesniowe dawki Enrobioflu 5% (0,1 ml/kg masy ciata) przez 7 dni. Wyniki leczenia okreslano klinicznie.

## Wyniki i Dyskusja

Podczas ostatnich 30 lat ceramika wapniowo-fosforanowa, rowniez hydroksyapatytowa, stala sie powszechnie stosowana w leczeniu ubytkow kostnych. Pomimo swej slabej zdolnosci do resorpcji jest ceniona za swietna bioaktywnosc i osteokonduktywnosc. Porowate granule sa preferowana forma preparatow hydroksyapatytowych. Jednakze, w przeciwienstwie do bloczkow bioceramicznych, ktore moga byc ksztaltowane do potencjalnych miejsc wszczepienia, granule sa wysoce nieporęczne. Mają one tendencje do rozsypywania sie w miejscu implantacji, pozostawiajac wiele pustych przestrzeni pomiedzy soba a otaczajaca je tkanka kostna, w ten sposob powodujac mechaniczna niestabilnosc implantowanego biomateriału. Zatem zasadne jest poszukiwanie metod uplastyczniania granul ceramicznych tak, aby nie pozostawiac pomiedzy nimi pustych przestrzeni. W naszych badaniach, aby polaczyc granule w zwarta mase, zastosowano naturalny polimer organiczny.

Nowe kompozyty, zawierajace rózne ilosci granul HAp (2-78% w/w) i polimeru organicznego (8-25% w/w) wykazywaly odpowiednia plastycznosc. Kompozyty daly sie formowac w rózne ksztalty (RYS. 1), jak rowniez, w stanie wilgotnym, mogle byc latwo ciete skalpelem lub nozyczkami przed implantacja. Dzieki szerokiemu zakresowi proporcji skladnikow bazowych, parametry mechaniczne kompozytow mogle byc modyfikowane. Okreslenie wytrzymałosci na sciskanie i modulu Younga pozwolilo stwierdzic, ze kompozyt zawierajacy 12,5% (w/w) polimeru organicznego i 60% (w/w) granul HAp (0,2-0,3:0,5-0,6 w proporcji 3:1) wykazywal podobne parametry mechaniczne (wytrzymałosc na sciskanie: 3,2-5,9 MPa i wspolczynnik Younga: 0,4-0,8 GPa) jak kosć gabczasta (TABELA 1). Wytrzymałosc na sciskanie kompozytu byla rowniez w wysokim stopniu zgodna z wartoscia tego parametru charakterystyczna dla normalnej chrzastki ludzkiej, ktora okreslono na 1,9 to 14,4 MPa [9,10].

**TABELA 1. Parametry mechaniczne kompozytu (12,5% polimer organiczny, max. upakowanie granulami HAp, frakcja granul: 0,2-0,3:0,5-0,6 w proporcji 3:1) w stosunku do ludzkiej kosci.**

**TABLE 1. Mechanical parameters of composite (12.5% organic polymer, max. HAp granules loading, granules fraction: 0.2-0.3:0.5-0.6 in proportion 3:1) versus human bone.**

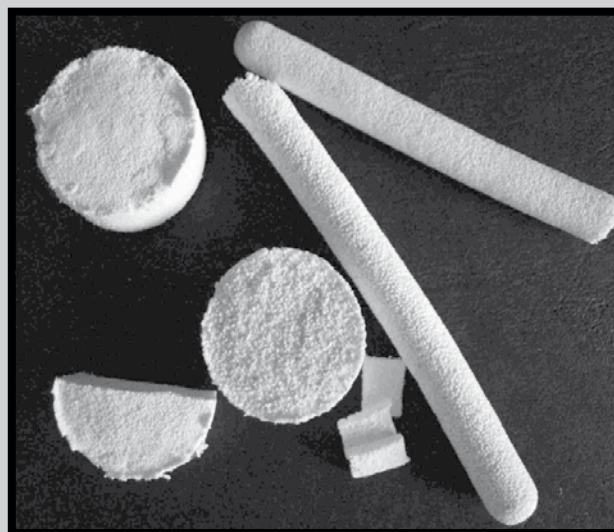
	Kompozyt / Composite	Kosć gabczasta / Spongy bone <sup>1</sup>	Kosć zbita / Compact bone <sup>2</sup>
Wytrzymałosc na sciskanie Compression strength (MPa)	3.2 - 5.9	1.9 - 7.0	170 - 193
Modul Younga Young's modulus (GPa)	0.4 - 0.8	0.18 - 0.33	17 - 19

<sup>1</sup> Aoki H. Medical applications of hydroxyapatite. Ishiyaki EuroAmerica, Inc., Tokyo, St. Louis 1994.

<sup>2</sup> Suchanek W, Yoshimura M. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement. J. Mater. Res. 13, (1998), 94-117.

## Results and Discussion

During the last 30 years calcium phosphate ceramics, including hydroxyapatite one, have been commonly used for treatment of bone defects. Despite its poor resorbability and low toughness, it is appreciated for its great bioactivity and osteoconductivity. Porous granules are preferable to others form of hydroxyapatite preparations. However, in contrast to bioceramic blocks which could be shaped to potential surgical sites, the granules are difficult to handle. They tend to spread all around the implantation site, creating a lot of empty spaces between them and surrounding bone tissue, thus resulting in mechanical instability of the implanted material. Therefore, it is reasonable to search for the methods of plasticization of ceramic granules, leaving no empty spaces between. In our experiment, to combine HAp granules into compact mass, we have applied nature-derived organic polymer.



**RYS. 1. Kompozyt – rózne zawartosci skladnikow i ksztalty.**

**FIG. 1. Composite - different contents and shapes.**

New composites, containing different amount of HAp granules (2-78%) and organic polymer (8-25%), were found to possess good ductility. Composites are able to be formed into different shapes (FIG. 1), as well as they can be cut easily with lancet or scissors before implantation, while wet. Due to a broad range of main components proportions their mechanical parameters can be modified. Estimation of compressive strength and Young modulus allowed to state that composite containing 12.5% (w/w) organic polymer and 60% (w/w) HAp granules (0.2-0.3:0.5-0.6 in proportion 3:1) revealed similar mechanical properties (compressive strength: 3.2-5.9 MPa and Young modulus: 0.4-0.8 GPa) to those of spongy bone (TABLE 1). The values of compressive strength are also in good agreement with those of normal human cartilage which was established to be ranging from 1.9 to 14.4 MPa [9,10].

Określono, że nasiąkliwość materiału zależy od stężenia polimeru organicznego i stopnia upakowania granulami HAp (TABELA 2). Generalnie, w wersjach z wysokim upakowaniem granulami HAp, pojemność wodna jest tym większa, im wyższe jest stężenie polimeru organicznego. Jednakże w przypadkach kompozytu o niskim stopniu upakowania granulami, ta tendencja jest odwrotna. Ważną cechą badanego materiału jest to, że może on być wielokrotnie suszony (24 godziny w 37°C) i nawilżany bez zmian jego właściwości mechanicznych. Ponieważ wysuszony kompozyt może być łatwo w krótkim czasie nasączony, może on potencjalnie służyć jako nośnik substancji aktywnych (leków, czynników wzrostu itp.). Zdolność do pobierania i zatrzymywania wody wewnątrz struktury jest cenną zaletą biomateriałów, ponieważ wysoka zawartość wody (zawierającej rozpuszczony tlen i składniki odżywcze) jest niezbędna dla regeneracji ubytków kostno-chrzęstnych i chrząstki.

Inną zaletą otrzymanych kompozytów jest ich podatność na sterylizację tlenkiem etylenu w postaci wysuszonej bądź metodą autoklawowania w stanie wilgotnym. Następnie jałowe próbki mogą być przechowywane przez okres co najmniej 2 lat bez zmiany swej struktury oraz właściwości mechanicznych. Uzyskane pozytywne parametry otrzymanego kompozytu sugerują, że nasz nowy materiał może znaleźć potencjalne zastosowanie w wypełnieniach ubytków kości gąbczastej.

Otrzymane próbki kompozytu zostały użyte do leczenia przetok ustno-nosowych w modeli psim. Przetoka pojawia się jako rezultat wywichnięcia kłów, wskutek urazu lub infekcji. Tak powstała pusta przestrzeń pomiędzy jamą nosową i ustną stanowi bramę, przez którą bakterie mogą przedostać się do płuc. Infekcje bakteryjne, często pojawiające się w takich przypadkach, mogą rozwinąć się w zachyłkowe zapalenie płuc.



**RYS. 2.** Implantacja kompozytu (12,5% polimeru organicznego, max. upakowanie granulami HAp, frakcja granul: 0,2-0,3:0,5-0,6 w proporcji 1:3). A - zwichnięty kiel; B - wyekstrahowany ząb i fragment kompozytu; C - implantacja fragmentu kompozytu wewnątrz przetoki; D - miejsce operacyjne po 9 dniach leczenia.

**FIG. 2.** Implantation of composite (12.5% organic polymer, max. HAp granules loading, granules fraction: 0.2-0.3:0.5-0.6 in proportion 1:3). A - luxated canine tooth; B - extracted tooth and piece of composite; C - implantation of composite piece into fistula; D - operation site after 9 days of healing.

**TABELA 2.** Pojemność wodna kompozytu jako funkcja stężenia polimeru organicznego i stopnia upakowania granulami HAp.

**TABLE 2.** Soaking capacity of composite as a function of organic polymer concentration and degree of HAp granules loading.

Maksymalne upakowanie granulami HAp Maximum HAp granules loading		Minimalne upakowanie granulami HAp Minimum HAp granules loading	
Stężenie fazy organicznej Organic phase concentration (%)	Pojemność wodna Soaking capacity (ml/g d.w. of composite)	Stężenie fazy organicznej Organic phase concentration (%)	Pojemność wodna Soaking capacity (ml/g d.w. of composite)
8.1	1.0237	8.1	5.3695
10	1.0115	10	4.8026
12.5	1.2118	12.5	4.2002
15	1.4243	15	3.6778
17.5	1.6217	17.5	3.292
20	1.8245	20	3.066
25	1.9577	25	2.505

It was estimated that soaking capacity of the material depends on concentration of organic polymer and degree of HAp granules loading (TABLE 2). Generally, in versions with high granules loading, the soaking capacity is higher, the higher is also concentration of organic polymer. However, in the case of composites with low degree of HAp granules loading, this tendency is opposite. An important feature of

investigated material is that it can be dried (24h at 37°C) and soaked several times without changing its mechanical properties. As dried composite may be soaked easily within short time, it can be also potentially used as a carrier for active substances (drugs, growth factors etc.). The capability to uptake and preserve liquids within its structure is an important feature because high water content (with oxygen and nutrients dissolved within) are requisites for osteochondral and cartilage defects regeneration.

Another advantage of the obtained composite is its susceptibility to sterilization (with ethylene oxide while dried and by autoclaving in wet state). Then the sterile samples can be stored for at least 2 years without loss of its structure and during this period they retain their mechanical properties. The positive features of the composite suggest that our new material may be potentially applied for filling of spongy bone defects.

Techniki używane standardowo do zamykania przetok ustno-nosowych [11] są często nieefektywne, ponieważ zamknięte przetoki mogą się łatwo otworzyć wskutek gryzienia lub lizania miejsca operacyjnego przez psa. Zatem wypełnianie przetoki kompozytem, który adaptuje się do jej kształtu może zablokować penetrację bakterii do płuc, zapobiegając w ten sposób poważnym komplikacjom, jak ciężkie stany zapalne czy zachyłkowe zapalenie płuc. W tym celu fragmenty badanego kompozytu (12,5% (w/w) polimeru organicznego i 60% (w/w) granul HAp frakcji 0,2-0,3:0,5-0,6 w proporcji 3:1) zostały zaimplantowane do przetok ustno-nosowych u 6 psów. Przetoki te były wynikiem zwichnięcia kłów, w większości przypadków wskutek urazu mechanicznego (RYS. 2A). Podczas procedury operacyjnej materiał wykazywał wysoką poręczność chirurgiczną i częściowo adaptował się do miejsca implantacji. Wymiary fragmentów kompozytu użytego do wypełnień przetok nie musiały ściśle odpowiadać wymiarom przetoki (RYS. 2B). Po umieszczeniu wewnątrz przetoki, kompozyty ulegały natychmiastowemu nasączeniu krwią pacjenta (RYS. 2C), w ten sposób stając się bardziej kompatybilne dla sąsiednich tkanek. Już po 7-9 dniach po operacji rana ulegała pełnemu zaleczeniu (RYS. 2D) i w 4-miesięcznym okresie pooperacyjnym nie obserwowano żadnych śladów stanów zapalnych.

## Wnioski

Opracowano innowacyjny, łatwy w użyciu i tani materiał kompozytowy organiczno-nieorganiczny. Nowy kompozyt wykazuje zdolność adaptacji do kształtu wypełnianego ubytku kostnego i zadowalające parametry mechaniczne w trakcie procedury implantacyjnej. Może on być suszony i ponownie nawilżany, przechowywany przez co najmniej 2 lata i sterylizowany bez utraty swych właściwości. Jego parametry mechaniczne są zbliżone do wykazywanych przez kość gąbczastą. Badany materiał może być użyty w leczeniu przetok ustno-nosowych *in vivo* w modelu psim. Cechy kompozytu czynią go obiecującym materiałem dla wypełnień ubytków kostnych.

## Podziękowania

Pracę współfinansowano z środków grantu UDA-POIG.01.03.01-00-005/09-00 oraz DS2/09 i PA1/09 Uniwersytetu Medycznego w Lublinie.

## Piśmiennictwo

- [1] Jarcho M, Kay JF, Kumar KI, Doremus RH, Drobeck HP. Tissue, cellular and subcellular events at a bone-ceramic hydroxyapatite interface. *J. Biosci. Bioeng.* 1, (1977), 79-91.
- [2] Kokubo T, Kim H-M, Kawashita M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials* 24, (2003), 2161-2175.
- [3] Sopyan I, Mel M, Ramesh S, Khalid KA. Porous hydroxyapatite for artificial bone applications. *Sci. Tech. Adv. Mater.* 8, (2007), 116-123.
- [4] Porter AE, Botelho CM, Lopes MA, Santos JD, Best SM, Bonfield W. Ultrastructural comparison of dissolution and apatite precipitation on hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite in vitro and in vivo. *J. Biomed. Mater. Res A* 69, (2004), 670-679.
- [5] Le Nihouannen D, Saffarzadeh A, Aguado E, Goyenvall E, Gauthier O, Moreau F, Pilet P, Spaethe G, Daculsi G, Layrolle P. Osteogenic properties of calcium phosphate ceramics and fibrin glue based composites. *J. Mater. Sci: Mater. Med.* 18, (2007), 225-235.

The obtained samples of our composite has been used for oronasal fistula repair in dog model. The fistula appears as a result of luxation of canine teeth, caused by mechanical trauma or infections. Such an empty space connecting oral and nasal cavity creates a gate for bacteria which penetrate into lungs. Bacterial infection, frequently resulting in such cases, may often develop into aspiration pneumonia. The techniques commonly used for oronasal fistulae repair [11] are often ineffective at healing because the fistulae may reopen easily as the result of licking or biting. Therefore, filling the fistula with the composite which can adapt to fistula's shape may block the bacteria penetration into lungs thus preventing the serious complications, as severe aspiration and purulent rhinitis and aspiration pneumonia. For this purpose, the pieces of investigated biomaterial (12.5% (w/w) organic polymer and 60% (w/w) HAp granules of fractions 0.2-0.3:0.5-0.6 in proportion 3:1) were implanted into oronasal fistulae in 6 dogs. The fistulae resulted from luxation of canine teeth, in most cases caused by mechanical trauma (FIG. 2A). During the operation procedures, the material revealed high operational handiness and partial adaptiveness to the site of implantation. The dimensions of composite pieces used for fistulae filling did not have fit perfectly the fistulae (FIG. 2B). After placing within fistula, the composites were soaked immediately with blood (FIG. 2C), thus they became more compatible with surrounding tissues. Just 7-9 days after the operation, the wounds were found to be completely healed (FIG. 2D) and no signs of inflammation were observed within 4 months of post-operative period.

## Conclusions

We have obtained an innovative, easy to use and cost effective organic – inorganic composite material. The new composite allows for good adaptation to the shape and dimensions of bone defects and reveals sufficient mechanical strength during implantation procedures. The composite can be dried and soaked again, may be stored for at least 2 years and sterilized without loss of its properties. Its mechanical properties resemble those of spongy bone. The investigated material can be used for treatment of oronasal fistulae in dog *in vivo* model. These properties make the composite a promising material for filling of bone defects.

## Acknowledgements

This work was supported by grant No UDA-POIG.01.03.01-00-005/09-00, DS2/09 and PW1/09 of medical University in Lublin.

## References

- [6] Crossley D., Penman S. *Manual of Small Animal Dentistry*. BSAVA, UK, 1995.
- [7] Belcarz A, Ginalska G, Ślósarczyk A, Paszkiewicz Z. Kompozyt bioaktywny oraz sposób wytwarzania kompozytu bioaktywnego. (2009), Patent pending 387872.
- [8] Belcarz A, Ginalska G, Szyszkowska A, Polkowska I. Kompozyt bioaktywny zawierający leki przeciwbakteryjne oraz sposób jego wytwarzania. (2009), Patent pending 388951.
- [9] Zheng-Qiu G, Jiu-Mei X, Xiaang-Hong Z. The development of artificial articular cartilage-PVA-hydrogel. *Biomed. Mater. Eng.* 8, (1998), 75-81.
- [10] Magnussen RA, Guilak F, Vail TP. Cartilage degeneration in post-collapse cases of osteonecrosis of the human femoral head: altered mechanical properties in tension, compression and shear. *J. Orthop. Res.* 23, (2005), 576-583.
- [11] Wetering A. Repair of an oronasal fistula using a double flap technique. *J. Vet. Dent.*, 22, (2005), 243- 245.

# WPŁYW BIODEGRADOWALNEJ OSNOWY POLIMEROWEJ NA BAZIE TERMOPLASTYCZNEJ SKROBI I PLA NA WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNE I DEGRADACJĘ KOMPOZYTÓW Z WŁÓKNEM WĘGLOWYM

STANISŁAW KUCIEL, ANETA LIBER-KNEĆ

POLITECHNIKA KRAKOWSKA,  
KATEDRA MECHANIKI DOŚWIADCZALNEJ I BIOMECHANIKI

## Streszczenie

*W pracy zbadano wpływ stopnia plastyfikacji polimerowej osnowy na zmiany podstawowych właściwości mechanicznych kompozytów polimerowych napełnianych włóknem węglowym. Osnowę biokompozytów stanowiły dwa rodzaje termoplastycznej skrobi modyfikowanej polilaktydem lub kopoliestrami. Dodatkowo oceniono wpływ stopnia plastyfikacji polimerowej osnowy na szybkość biodegradacji w roztworze soli fizjologicznej oraz w przymie kompostowej.*

**Słowa kluczowe:** kompozyty, termoplastyczna skrobia, polilaktyd, włókna węglowe, degradacja, właściwości mechaniczne

[Inżynieria Biomateriałów, 88, (2009), 16-19]

## Wprowadzenie

Wykorzystanie w służbie zdrowia produkowanych z roślin polimerów biodegradowalnych (których światowa produkcja ciągle wzrasta, a ceny zmniejszają się i osiągnęły poziom 2-3 € za kilogram) pozwoli na otrzymywanie biodegradowalnych artykułów medycznych bezpiecznych toksykologicznie i ulegających naturalnemu rozkładowi w okresie do 6 miesięcy, co jest istotne z punktu widzenia ochrony naturalnego środowiska człowieka [1]. Dodatkowym argumentem jest ich wysoka barierowość, uniemożliwiająca szybkie przenikanie tlenu przez opakowanie i znacznie niższa skłonność do wywoływania alergii kontaktowych [2,3]. Nienapełniane biopolimery, wykorzystywane dotychczas głównie na opakowania posiadają stosunkowo dobre właściwości mechaniczne, jednak dla zwiększenia ich wytrzymałości i sztywności korzystne jest wytworzenie odpowiednich kompozytów. Rozwiązaniem tego problemu mogą stać się biokompozyty na polimerowej osnowie modyfikowane fazą ceramiczną w postaci cząstek lub włókien [4,5]. Dobór odpowiednich modyfikatorów pozwala na projektowanie materiałów o określonych właściwościach mechanicznych i o określonym zachowaniu biologicznym [6].

## Materiały i metody

Badania wykonano dla dwóch naturalnych polimerów: mieszaniny polilaktydu ze skrobią ziemniaczaną oraz kopoliestru ze skrobią ziemniaczaną (o okresie degradacji ok. 6 miesięcy) produkcji niemieckiej firmy BIOTEC Biologische Naturverpackungen GmbH & Co. [7] oraz ich kompozytów z włóknem węglowym:

- Bioplast GS2189 (PLA + skrobia ziemniaczana), BGS,

# INFLUENCE OF BIODEGRADABLE POLYMER MATRIX ON THE BASE OF THERMOPLASTIC STARCH AND PLA ON MECHANICAL PROPERTIES AND DEGRADABILITY OF COMPOSITES WITH CARBON FIBER

STANISŁAW KUCIEL, ANETA LIBER-KNEĆ

KRAKOW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,  
DIVISION OF EXPERIMENTAL MECHANICS AND BIOMECHANICS

## Summary

*In the work, the influence of polymer matrix plasticization degree on changes of basic mechanical properties of the composites filled with carbon fiber, was tested. As a matrix two types of thermoplastic starch modified with polylactide and copolyesters were used. Additionally the influence of plasticization grade of polymer matrix on biodegradation rate in physiological saline and compost were estimated.*

**Keywords:** composites, thermoplastic starch, polylactide, carbon fiber, degradation, mechanical properties

[Engineering of Biomaterials, 88, (2009), 16-19]

## Introduction

Application in medicine of biodegradable polymers produced from plants (world production of which is still growing and prices are decreasing being on the level of 2-3 € per kilogram) will allow to produce non-toxic biodegradable medical articles, undergoing degradation time of six months; it is important from the point of view of the protection of the natural environment [1]. Additional argument is their high barrier properties, preventing quick penetration of oxygen through the packaging and considerably low possibility of causing contact allergies [2,3]. Not-filled biopolymers, used mainly for packaging, have good mechanical properties, however, for increasing their strength and stiffness it is beneficial to use fillers and make composites on their base. The solution for this problem may be biocomposites on the base of polymer matrix modified with ceramic phase in the form of particles or fibers [4,5]. The selection of suitable modifiers enables to design materials with defined mechanical properties and defined biological behavior [6].

## Materials and methods

The research has been done for two natural polymers: polylactide with potato starch and copolyester with potato starch (period of degradation about 6 months) produced by German company BIOTEC Biologische Naturverpackungen GmbH & Co. [7] and their composites with carbon fibers:

- Bioplast GS2189 (PLA + potato starch), BGS,
- Bioplast GS2189 + 25% carbon fiber (PLA + potato starch + 25% carbon fiber), BGS 25C,
- Bioplast GF106/02 (copolyesters + potato starch), BGF,

- Bioplast GS2189 + 25% włókna węglowego (PLA + skrobia ziemniaczana + 25% włókna węglowego), BGS 25C,
- Bioplast GF106/02 (kopoliestry + skrobia ziemniaczana), BGF,
- Bioplast GF106/02 + 25% włókna węglowego (kopoliestry + skrobia ziemniaczana + 25% włókna węglowego), BGF 25C.

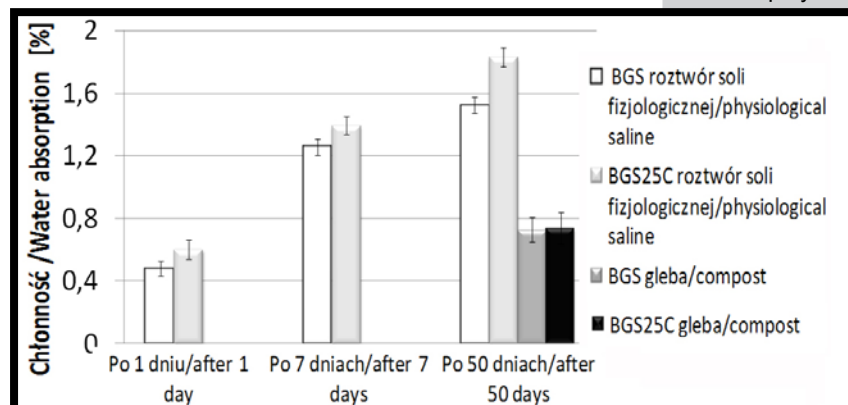
Standardowe próbki do badań w kształcie wiosełek zostały wytworzone metodą wtrysku w Zakładach Azotowych S.A w Tarnowie na maszynie Engel ES 200/40 HSL. W przypadku kompozytów granulat otrzymano przez zmieszanie biopolimeru z włóknem węglowym na laboratoryjnej linii do compoundingu TM 30 VI o L/D=40 z odgazowaniem próżniowym i wydajnością od 5-35 kg/h i obrotach ślimaków 50-500 RPM. Parametry procesu wtrysku dla biopolimeru Bioplast GF 106/02 wyniosły: temperatura wtrysku 150°C, temperatura formy 50°C, ciśnienie wtrysku 80 MPa, czas cyklu 25 s, czas chłodzenia 15 s. Dla biopolimeru Bioplast GS 2189 parametry procesu były takie same jak dla Bioplast z wyjątkiem temperatury wtrysku, która wyniosła 155°C.

W celu oceny wpływu procesu biodegradacji na właściwości badanych materiałów, próbki umieszczono na okres 50 dni w roztworze soli fizjologicznej o temperaturze 40°C oraz w kompoście ogrodowym (od marca do maja przez 50 dni). Następnie przeprowadzono próby rozciągania przy użyciu maszyny wytrzymałościowej firmy Instron wg PN-EN ISO 527-1 dla próbek przed i po inkubacji w roztworze soli fizjologicznej i kompoście. Oznaczono wytrzymałość na rozciąganie, moduł sprężystości i odkształcenie przy zerwaniu. Badanie chłonności wody wykonano zgodnie z PN-81/C-89032 na podstawie pomiaru masy, stosując próbki w postaci wtryskiwanych wiosełek o wymiarach 4x10x130 mm. Analizowano po 5 próbek z każdego przypadku, obliczano wartość średnią i odchylenie standardowe, które nie przekraczało 5% wartości średniej.

## Wyniki i dyskusja

Polimery na bazie skrobi i kopoliestrow (BGF) charakteryzują się znacznie większą chłonnością wody niż polimery modyfikowane polilaktydem (BGS) – RYS. 1 i 2. Wyraźny wzrost chłonności wody obserwowany jest już po 1 dniu przebywania w roztworze soli fizjologicznej o temperaturze 40°C. W warunkach kompostowania w glebie chłonność wody polimeru i jego kompozytu jest porównywalna - RYS. 2.

Na wartość modułu Younga badanych biokompozytów, większy wpływ wywarło środowisko naturalne niż płyn fizjologiczny. Najmniej odporny na działanie środowiska naturalnego okazał się biopolimer wzmocniony włóknem węglowym BGF25C. Wartość modułu Younga tego kompozytu uległa obniżeniu o około 75% (RYS. 3).



**RYS. 1. Chłonność wody dla skrobi ziemniaczanej z polilaktydem (BGS) i ich kompozytów przed i po inkubacji w soli fizjologicznej i kompoście.**  
**FIG. 1. Water absorption of starch and poly lactide (BGS) and their composites before and after incubation in physiological saline and compost.**

- Bioplast GF106/02 + 25% carbon fiber (copolyesters + potato starch + 25% carbon fiber), BGF 25C.

Standard samples in the form of paddles were produced by injection molding in Zakłady Azotowe in Tarnow using Engel ES 200/40 HSL. Granulate in the case of composites was obtained by mixing biopolymer and carbon fiber in laboratory compounding line TM 30 VI with L/D=40, vacuum circulation degassing, capacity from 5 – 35 kg/h and screw rotation 50-500 RPM. The parameters of the injection process for biopolymer Bioplast GF 106/02 were the following: the temperature of injection 150°C, temperature of form 50°C, the pressure of injection 80 MPa, time of cycle 40 s (time of cooling 15 s). For biopolymer Bioplast GS 2189 parameters of the process were the same as for Bioplast GF106/02 with except of temperature of injection which was 155°C.

To estimate the influence of biodegradation process on the properties of tested materials, the samples were placed in physiological saline for 50 days at 40°C as well as in the garden compost - (since March till May, for 50 days). Then tensile tests with the use of the Instron tensile machine according to PN - EN ISO 527-1 for the samples before and after incubation in physiological saline and compost were made. Tensile strength, modulus of elasticity and strain at break were calculated. The absorption of water was tested according to PN-81/C-89032 by measuring the weight using samples in the form of paddles with dimension 4x10x130 mm. Five samples for each composite were analyzed; mean value and standard deviation (lower than 5 %) were calculated.

## Results and discussion

Polymers on the base of starch and copolyesters (BGS) have higher water absorption than polymers modified with polylactide (BGS) – FIG. 1 and 2. Significant increase of absorption can be observed even after one day of incubation in physiological saline at 40°C. In conditions of composting, the absorption of water for this polymer and their composite is comparable – FIG. 2.

Natural environment influenced more the value of Young's modulus than physiological saline. The least resistant was the polymer reinforced with carbon fibers BGF25C. Young's modulus of this composite decreased of about 75% (FIG. 3).

Similarly like in the case of Young's modulus, the larger influence on tensile strength of both biopolymers, had the process of degradation during composting in soil. The smallest changes of tensile strength (decrease up to 8%) of the biocomposite BGS25C were observed. The largest decrease of tensile strength (about 45%) we can observe for biopolymers BGF and BGF25C (FIG. 4).

The noticeable decrease of elongation at break for all tested materials submitted to degradation can be observed. Particularly high fall is visible in the case of pure biopolymers. The addition of carbon fibers causes increase of elongation at break of the samples submitted to degradation (FIG. 5).

The thermoplastic matrix on the base of potato starch and copolyesters BGF shows better ability to be reinforced with carbon fibers. Young's modulus for the composite with 25% of carbon fiber BGF25C increases more than 800%, about two times more than for the matrix on the base of starch and PLA BGS25C (more than 400%) (FIG. 7). Lower influence of the type of applied matrix on tensile strength of material is observed, for both types of biopolymers it is similar - about 40% (FIG. 6).

Na wartość wytrzymałości na rozciąganie obu biopolimerów, podobnie jak w przypadku modułu Younga, większy wpływ wywarł proces degradacji podczas kompostowania w glebie w porównaniu z inkubacją w płynie fizjologicznym. Najmniejsze zmiany wytrzymałości obserwuje się dla biopolimeru BGS25C, którego wytrzymałość na rozciąganie zmniejszyła się o 8%. Największy około 45% spadek wytrzymałości na rozciąganie obserwuje się dla biopolimerów na osnowie skrobi i poliestrów BGF i BGF25C (RYS. 4).

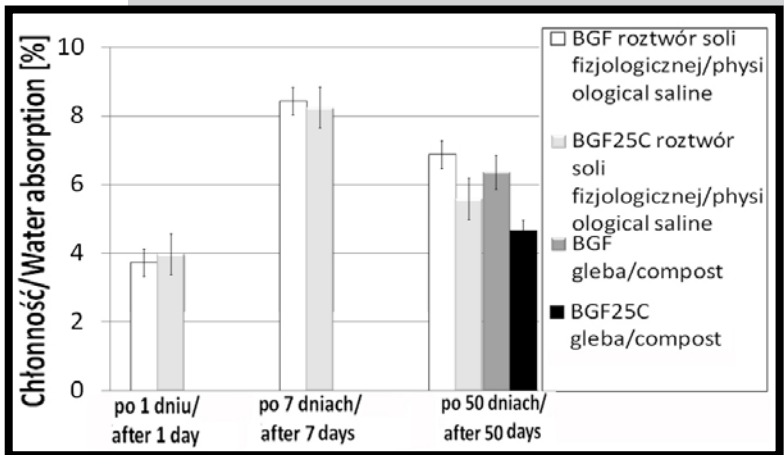
Wszystkie badane biokompozyty charakteryzują się wyraźnym spadkiem odkształcenia przy zerwaniu w obu analizowanych środowiskach biodegradacji. Szczególnie wysoki spadek widoczny jest dla samych biopolimerów. Dodatek włókna węglowego powoduje wzrost odkształceń przy zerwaniu w wyniku procesu degradacji (RYS. 5).

Termoplastyczna osnowa na bazie skrobi ziemniaczanej i kopoliestrów, czyli biopolimer BGF wykazuje dużo większą zdolność do wzmocnienia włóknem węglowym. Wzrost wartości modułu Younga dla kompozytu z 25% wzmocnieniem włóknem węglowym BGF25C wyniósł ponad 800%, o dwa razy więcej niż dla osnowy na bazie skrobi i PLA BGS25C – ponad 400% (RYS. 7). Mniejszy wpływ rodzaju zastosowanej osnowy obserwuje się w przypadku wytrzymałości na rozciąganie, która dla obu rodzajów biopolimerów jest podobna i wynosi około 40% (RYS. 6).

## Wnioski

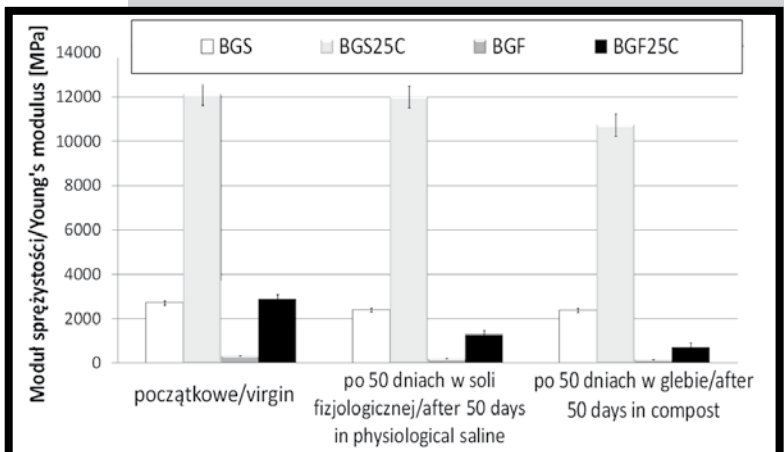
Plastyfikowane biopolimery na osnowie termoplastycznej skrobi i kopoliestrów (BGF) dają większą możliwość wzmocniania włóknami przy zachowaniu znacznej zdolności do odkształceń. Mogą być one wykorzystane np. jako materiały na płytki zespalające, śruby, wkręty wykorzystywane w miejscach gdzie wprowadzony implant spełnia rolę kosmetyczną lub jako podłoża regenerującej się tkanki.

Większe bezwzględne wartości zarówno wytrzymałości na rozciąganie jak i modułu sprężystości (pomimo mniejszej efektywności wzmocnienia), ale przy mniejszej zdolności do odkształceń - wykazują kompozyty na osnowie termoplastycznej skrobi i PLA. Mogą one być wykorzystane, jako materiały na małe stabilizatory lub elementy sprzętu medycznego. Dla zastosowania badanych biokompozytów jako bioresorbowalnych implantów i innych elementów wspomagających funkcje organizmu ludzkiego, konieczne jest przeprowadzenie dodatkowych specjalistycznych badań, mających na celu sprawdzenie odpowiedzi środowiska biologicznie czynnego na reakcje wywołane przez zaaplikowany implant.



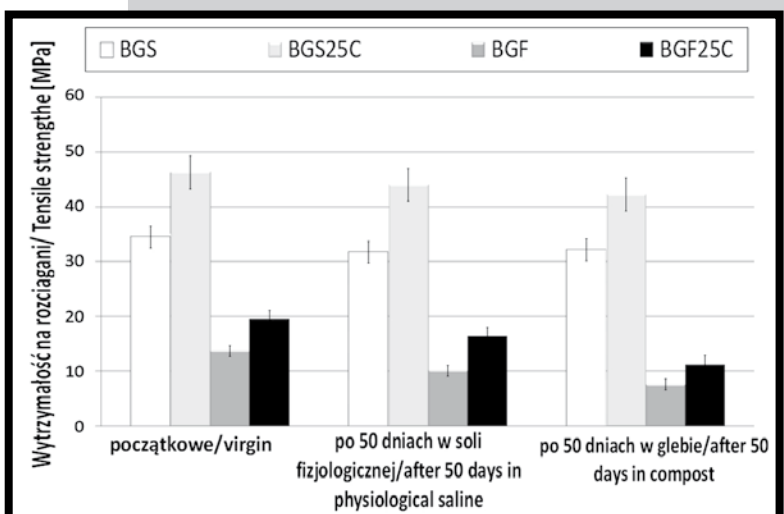
RYS. 2. Chłonność wody dla badanych skrobi ziemniaczanej z kopoliestrem (BGF) i ich kompozytów przed i po inkubacji w soli fizjologicznej i kompoście.

FIG. 2. Water absorption of starch and copolyester (BGF) and their composites before and after incubation in physiological saline and compost.



RYS. 3. Moduł sprężystości badanych materiałów dla próbek wyjściowych i po inkubacji w soli fizjologicznej i kompoście.

FIG. 3. Young's modulus of investigated materials before and after incubation in physiological saline and compost.



RYS. 4. Wytrzymałość na rozciąganie badanych materiałów dla próbek wyjściowych i po inkubacji w soli fizjologicznej i kompoście.

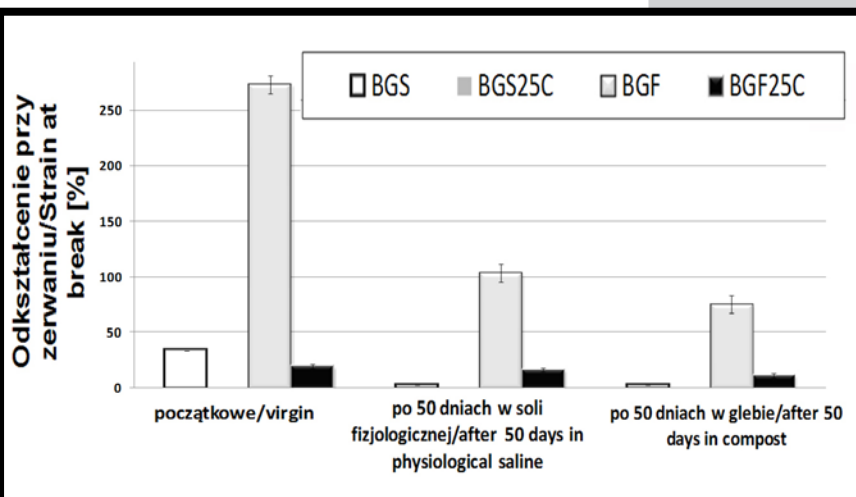
FIG. 4. Tensile strength of investigated materials before and after incubation in physiological saline and compost.

## Conclusions

The plasticized biopolymers on the base of thermoplastic starch and copolyesters (BGF) provide better possibility to be reinforced with carbon fibers, still maintaining considerable ability to deformations. They can be used for example as materials for plates and screws, screws used in the places where implant fulfils cosmetic role or acts as scaffold for regenerating tissue.

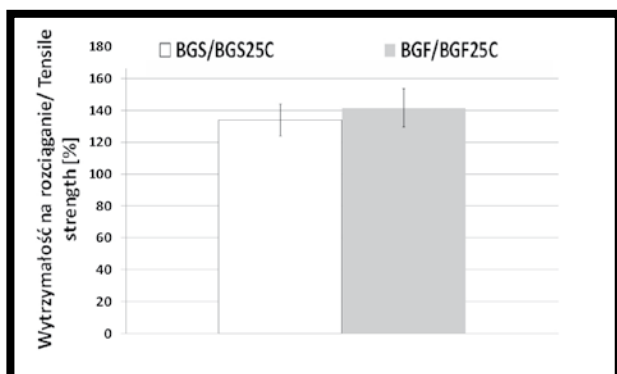
Higher absolute values of both the tensile strength and the modulus of elasticity (in spite of smaller efficiency of the reinforcement), but lower ability to deformations – show composites on the base of thermoplastic starch and PLA. They can be used as materials for small stabilizers or elements of medical equipment. For applying tested composites as bioresorbable implants and other elements supporting the functions of human

organism, it is necessary to carry on additional specialized investigations, aiming at evaluation of biological environment on the reactions caused by applied implant.



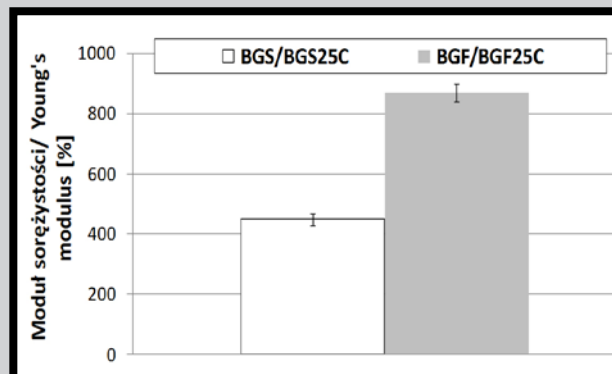
RYS. 5. Odkształcenie przy zerwaniu badanych materiałów dla próbek wyjściowych i po inkubacji w soli fizjologicznej i kompoście.

FIG. 5. Elongation at break of investigated materials before and after incubation in physiological saline and compost.



RYS. 6. Procentowy wzrost wytrzymałości na rozciąganie dla kompozytów na bazie biopolimerów w stosunku do czystych biopolimerów.

FIG. 6. Percentage increase of tensile strength of biopolymers/carbon fibers composites related to raw biopolymers.



RYS. 7. Procentowy wzrost modułu sprężystości dla kompozytów na bazie biopolimerów w stosunku do czystych biopolimerów.

FIG. 7. Percentage increase of Young's modulus of biopolymers/carbon fibers composites related to raw biopolymers.

## Piśmiennictwo

- [1] S. Cavallo, Les emballages biodegradables en NatureWorks PLA, Avignon 2007.
- [2] L. T. Drzal, Natural Fibers Biopolymers and Biocomposites, Taylor&Francis Group USA 2005.
- [3] H. Kaczmarek, K. Bajera, Metody badania biodegradacji materiałów polimerowych, Polimery 51 nr 10 (2006).

## References

- [4] M. Nałęcz, Biomateriały tom 4, Wydawnictwo Exit, Warszawa 2003.
- [5] P. Rosół, Określenie trwałości implantów z kompozytów polimerowych, Praca doktorska, Kraków AGH 2006.
- [6] [www.fao.org/ag/magazine/pdf/starches.pdf](http://www.fao.org/ag/magazine/pdf/starches.pdf)
- [7] [www.biotec-distribution.eu/EN/bioplast\\_products.html](http://www.biotec-distribution.eu/EN/bioplast_products.html)

# RESORBOWALNE PŁYTKI POLIMEROWE W CHIRURGII TWARZOWO-SZCZĘKOWEJ

BARBARA SZARANIEC, MICHAŁ DWORAK, JAN CHŁOPEK

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

## Streszczenie

Praca przedstawia wstępne wyniki dotyczące otrzymywania i badań właściwości mechanicznych resorbowalnych płytek dla chirurgii twarzowo-szczękowej wykonanych z polilaktydu oraz kompozytu polilaktyd/TCP. Płytki otrzymano metodą wtrysku z biodegradowalnego, termoplastycznego poli-L-laktydu (PLLA, Biomer) oraz proszku fosforanu triwapnia (TCP, Fluka). Na maszynie wytrzymałościowej Zwick 1435 przeprowadzono badania mechaniczne. W próbie rozciągania określono wytrzymałość, moduł sprężystości, odkształcenie przy sile maksymalnej oraz na podstawie testów pełzania wyznaczono zależność pomiędzy naprężeniem a czasem zniszczenia.

**Słowa kluczowe:** polilaktyd, pełzanie, kompozyty polimerowe

[Inżynieria Biomateriałów, 88, (2009), 20-23]

## Wstęp

Zainteresowanie współczesnej chirurgii implantami z polimerów resorbowalnych i ich kompozytów stale wzrasta. Możliwość sterowania parametrami mechanicznymi i czasem resorpcji pozwala na uzyskanie szerokiej gamy degradowalnych w środowisku biologicznym materiałów implantacyjnych. Niewątpliwym atutem tego typu materiałów jest fakt, iż nie wymagają usunięcia z organizmu, a tym samym przeprowadzenia powtórnej operacji chirurgicznej [1,2]. Jedną z istotnych przyczyn ograniczających możliwości zastosowania polimerów resorbowalnych na implanty pełniące funkcję biomechaniczną (na przykład jako elementy zespalające) jest ich niska wytrzymałość oraz występujące powszechnie zjawisko pełzania [3]. Nawet jeśli wszczep poddawany jest niewielkim obciążeniom mogą one w stosunkowo niedługim czasie spowodować obłuzowanie zespolenia lub doprowadzić do zniszczenia implantu. Dlatego w przypadku polimerów oraz kompozytów polimerowych istotne jest określenie dopuszczalnych obciążeń pozwalających na bezpieczną realizację przez nie funkcji biomechanicznych [4].

## Materiały i metody

Badaniom poddano trójramienne mini-płytki (Y) z polilaktydu (PLLA) oraz polilaktydu modyfikowanego cząstkami fosforanu triwapnia (PLLA/TCP) (RYS. 1). Płytki otrzymywano metodą wtrysku na wtryskarce ślimakowej Multiplas przy temperaturze z zakresu 170-180°C oraz ciśnieniu 45 MPa. Do otrzymania próbek użyto polilaktydu BIOMER®9000 (Biomer, Niemcy) oraz fosforanu triwapnia (Fluka, Niemcy).

# RESORBABLE POLYMER PLATES IN MAXILLOFACIAL SURGERY

BARBARA SZARANIEC, MICHAŁ DWORAK, JAN CHŁOPEK

AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,  
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,  
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,  
30 MICKIEWICZ AVE., 30-059 KRAKOW, POLAND

## Abstract

*The presented work demonstrates preliminary results on manufacturing and mechanical properties assessment of pure PLLA and PLLA/TCP composite plates, as potential candidates for maxillofacial surgery application. Biodegradable, thermoplastic polymer poly-L-lactide (PLLA, Biomer) and tricalcium phosphate (TCP, Fluka) particles were applied for the samples manufacturing in injection moulding process. The plates were investigated using universal testing machine Zwick 1435 – in static tensile and creep tests. The mechanical properties (tensile strength, Young modulus, elongation) of the polymer and its composite were determined and the lifetime, performed with the scope of their potential application in osteosynthesis, were predicted.*

**Keywords:** polylactide, creep, polymer composites

[Engineering of Biomaterials, 88, (2009), 20-23]

## Introduction

Resorbable polymers and their composites are the materials of raising interest and hopes due to their high potential for the use in surgical applications. Their design allows to develop materials with time-controllable properties fully biocompatible with body tissues [1,2]. Application of such materials would not require additional surgery for the removal of the implant, because they will biodegrade into the substances removable from the body on the basis of natural cell metabolism processes. The use of bioresorbable polymer matrices is limited to implants working under low loads because of inherent low strength and prevalence of creep process among such a polymers [3]. That is why determination of permissible loads for such a polymers and their composites is essential in order to ensure secure realization of their biomechanical functions. Additionally, the biomechanical function of these materials will be fulfilled for a limited time only, which will be adjusted to tissue regeneration process [4].

## Materials and methods

Two types of Y-shaped mini plates made of pure polylactide (PLLA) and polylactide modified with 7%wt. tricalcium phosphate particles (PLLA/TCP) were investigated (FIG. 1). Plates were manufactured by injection moulding – vertical injection machine Multiplas V-4S at temperature 170-180°C and injection pressure of 45 MPa. Polylactide BIOMER®9000 (Biomer, Germany) and tricalcium phosphate (Fluka, Germany) were used.

Mechanical properties of the plates were investigated in uniaxial tension test. For pure PLLA and PLLA/TCP composite tensile strength, Young's modulus and elongation at maximum force were determined. Plates were attached to wooden blocks with metal screws as shown in FIG. 1b.

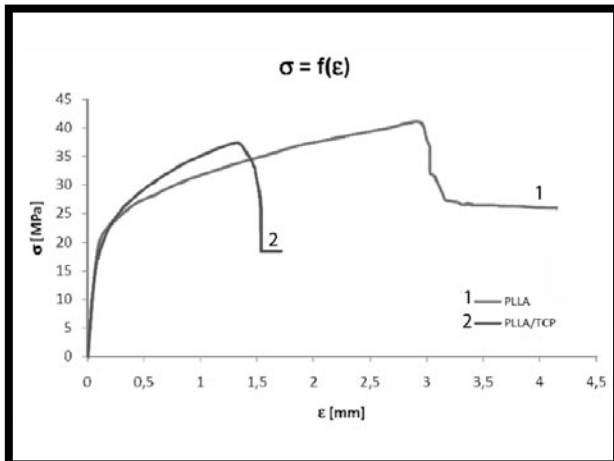


Właściwości mechaniczne płytek zbadano w próbie jednoosiowego rozciągania na maszynie wytrzymałościowej Zwick 1435. Dla płytek z czystego PLLA oraz kompozytu PLLA/TCP wyznaczono wartości wytrzymałości, modułu Younga oraz wydłużenia przy maksymalnej sile. Płytki mocowano do drewnianych klocków za pomocą metalowych wkrętów w sposób pokazany na RYS. 1b.

Dla wybranych obciążeń od 30 do 90% naprężenia maksymalnego przeprowadzono testy pełzania płytek określając tym samym wpływ działania stałego obciążenia na ich trwałość. Analiza uzyskanych krzywych pełzania pozwoliła na określenie czasu do zniszczenia oraz dopuszczalnych naprężeń dla badanych materiałów.

## Dyskusja

Przykładowe charakterystyki mechaniczne dla obu rodzajów otrzymanych płytek (PLLA oraz PLLA/TCP) przedstawiono na RYS. 2, natomiast średnie wartości wytrzymałości, modułu Younga oraz wydłużenia przy sile maksymalnej zestawiono w TABELI 1. Analiza otrzymanych wyników pozwala stwierdzić, że dodatek TCP do osnowy polilaktydowej nieznacznie osłabia polimer, wpływa na podwyższenie modułu sprężystości oraz ponad dwukrotnie obniża wielkość odkształcenia zniszczenia w porównaniu z czystym PLLA.



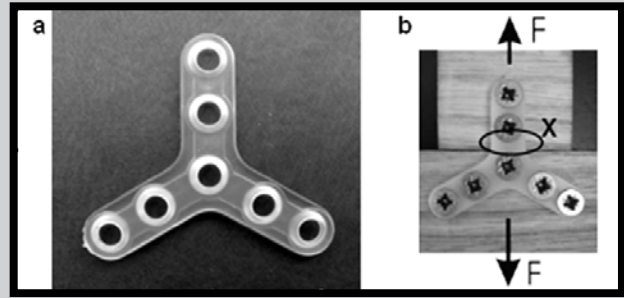
**RYS. 2. Zależności naprężenie - wydłużenie podczas rozciągania mini płytek PLLA oraz PLLA/TCP.**  
**FIG. 2. Stress - elongation curves from the tension tests for the PLLA and PLLA/TCP mini plates.**

Podczas przeprowadzonych testów pełzania dla każdego przyjętego naprężenia wykreślona została krzywa pełzania. Zakres stosowanych naprężeń dla próbek PLLA wynosił od 30 do 40 MPa, co odpowiada 69 do 92% wytrzymałości wyjściowej. W przypadku kompozytu PLLA/TCP stosowane naprężenia zawierały się w granicach od 12 do 17 MPa, co odpowiada 33 do 46% wytrzymałości wyjściowej. Uzyskane rodziny krzywych pełzania dla badanych materiałów przedstawiono na RYS. 3 i 4.

Na podstawie krzywych pełzania wyznaczono wartości natychmiastowych odkształceń oraz czasów zniszczenia (TABELA 2 i 3). Uzyskane dane pozwoliły na wykreślenie zależności między obciążeniami a odpowiadającymi im czasami do zniszczenia dla płytek z polilaktydu i kompozytu PLLA/TCP (RYS. 5 i 6). Zależności te opisać można następującymi równaniami:

$$\sigma = -2,6521 \ln(t_2) + 42,369 \text{ dla PLLA}$$

$$\sigma = -1,3161 \ln(t_2) + 17,629 \text{ dla PLLA/TCP}$$



**RYS. 1. a) mini płytka Y, b) sposób mocowania płytki podczas rozciągania.**  
**FIG. 1. a) Y mini plate, b) sample fixation mode during tension tests.**

For loads ranging from 30% to 90% of tensile strength creep test was performed. On the creep tests basis the implants lifetime and load permissible levels were predicted.

## Results

Selected stress – elongation curves from the tension tests for pure PLLA and PLLA/TCP composite mini plates are shown in FIG. 2. Mean values of tensile strength, Young's modulus and elongation at maximum force are summarized in TABLE 1. The results reveal that TCP addition slightly weaken the polylactide matrix. On the other hand, the presence of such a modifier causes Young's modulus increase and reduces strain at break over twice as compared with pure PLLA.

**TABELA 1. Wyznaczone wytrzymałości, moduły Younga oraz wydłużenia przy sile maksymalnej dla mini płytek z PLLA oraz PLLA/TCP.**  
**TABLE 1. Determined tensile strength, Young's modulus and elongation at maximum force for the PLLA and PLLA/TCP mini plates.**

Material/Material	$\sigma$ [MPa]	E [GPa]	$\epsilon F_{max}$ [mm]
PLLA	43,37 ± 3,46	9,20 ± 1,17	3,77 ± 2,98
PLLA/TCP	36,61 ± 7,19	10,97 ± 3,95	1,45 ± 0,45

Creep tests were performed for stresses ranged from 30 to 40 MPa (69 to 92% of tensile strength) for pure PLLA samples and from 12 to 17 MPa (33 to 46% of tensile strength) for PLLA/TCP composite samples. For each stress applied creep curve was plotted. Obtained in such a way families of creep curves are shown in FIG. 3 and 4.

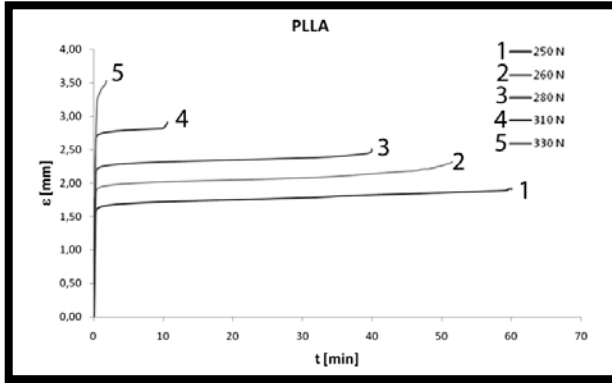
On the creep tests basis implants immediate strain and lifetime were determined (TABLE 2 and 3). It allowed to plot load – lifetime dependence for pure PLLA and PLLA/TCP composite as depicted in FIG. 5 and 6. The resulted regression lines can be described as follows:

$$\sigma = -2,6521 \ln(t_2) + 42,369 \text{ for PLLA}$$

$$\sigma = -1,3161 \ln(t_2) + 17,629 \text{ for PLLA/TCP}$$

To assume six weeks as a time essential to bone growth (related to implant work time) safe load values for both materials were determined (TABLE 4). Biomechanical function of the materials can be fulfilled only for loads below 30% of the initial tensile strength for pure PLLA and below 9% of the initial tensile strength for PLLA/TCP composite.

Making an assumption that 10 N force corresponds to a bite of lower jaw bone during eating liquid and semi-liquid food, plates from polylactide can be considered as implants in maxillofacial surgery. TCP powder introduction into the polymer allows also to limit materials deformability. Additionally, presence of bioactive phase facilitates bone-implant bonding what leads to reinforcement of the union.



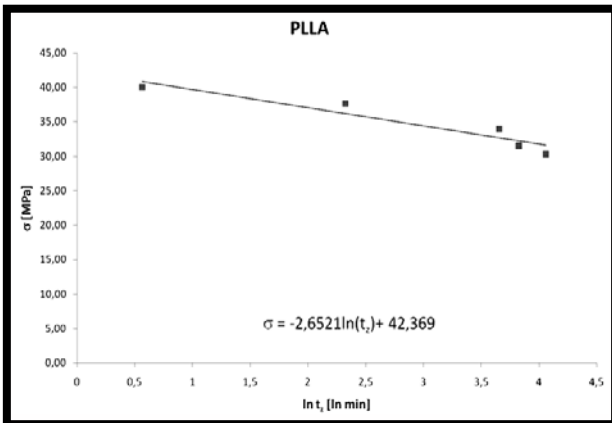
RYS. 3. Rodzina krzywych pełzania dla czystego PLLA.

FIG. 3. A family of creep curves for pure PLLA.

TABELA 2. Wartości natychmiastowych odkształceń  $\epsilon_0$  oraz czasów zniszczenia  $t_z$  wyznaczone dla rodziny krzywych pełzania próbek PLLA.

TABLE 2. Immediate strain  $\epsilon_0$  and lifetime  $t_z$  for a family of pure PLLA creep curves.

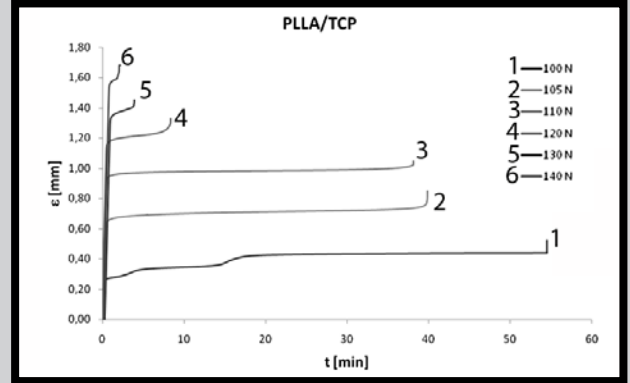
F [N]	$\sigma$ [MPa]	$\epsilon_0$ [mm]	$t_z$ [min]
330	40,06	3,21	1,76
310	37,63	2,69	10,22
280	33,99	2,18	38,67
260	31,56	1,89	45,89
250	30,34	1,61	57,95



RYS. 5. Zależność pomiędzy naprężeniem a czasem zniszczenia dla PLLA.

FIG. 5. The load – lifetime dependence for pure PLLA.

Zakładając czas niezbędny do uzyskania zrostu kostnego (odpowiadający czasowi pracy implantu) wynoszący około 6 tygodni wyznaczono bezpieczne wartości obciążeń dla obu badanych materiałów (TABELA 4). Widoczne jest, iż wartości dopuszczalnych obciążeń pozwalających na bezpieczną realizację funkcji biomechanicznych przez te materiały w stosunku do wytrzymałości wyjściowej wynoszą odpowiednio ok. 30% dla czystego PLLA oraz ok. 9% dla kompozytu PLLA/TCP.



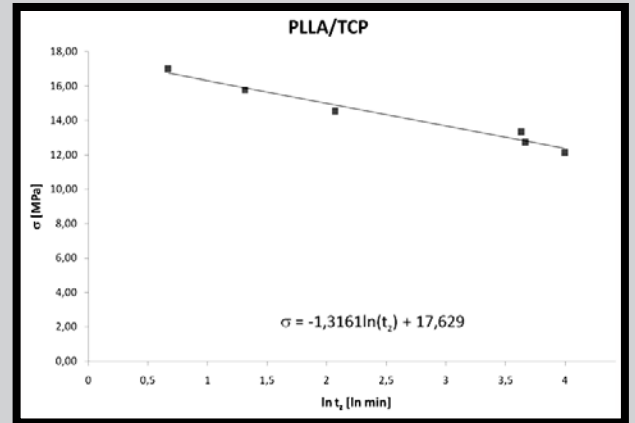
RYS. 4. Rodzina krzywych pełzania dla kompozytu PLLA/TCP.

FIG. 4. A family of creep curves for PLLA/TCP composite.

TABELA 3. Wartości natychmiastowych odkształceń  $\epsilon_0$  oraz czasów zniszczenia  $t_z$  wyznaczone dla rodziny krzywych pełzania próbek PLLA/TCP.

TABLE 3. Immediate strain  $\epsilon_0$  and lifetime  $t_z$  for a family of PLLA/TCP composite creep curves.

F [N]	$\sigma$ [MPa]	$\epsilon_0$ [mm]	$t_z$ [min]
140	16,99	1,54	1,95
130	15,78	1,33	3,72
120	14,57	1,19	7,93
110	13,35	0,95	37,83
105	12,74	0,67	39,12
100	12,14	0,27	54,41



RYS. 6. Zależność pomiędzy naprężeniem a czasem zniszczenia dla kompozytu PLLA/TCP.

FIG. 6. The load – lifetime dependence for PLLA/TCP composite.

TABELA 4. Wielkości dopuszczalnych obciążeń badanych materiałów dla czasu leczenia 6 tygodni.

TABLE 4. Materials load permissible levels for 6 weeks bone treatment.

Material	$\sigma_{max}$ [MPa] (czas gojenia 6 tygodni/6 weeks treatment)
PLLA	13,17
PLLA/TCP	3,14

Przyjmując, że zwarcie żuchwy pacjenta przy odżywianiu pokarmami płynnymi i półpłynnymi odpowiada siła 10 N wydaje się, że płytki z czystego polilaktydu mogą być stosowane jako implanty w chirurgii twarzowo-szczękowej. Wprowadzenie do polimeru proszku TCP pozwala dodatkowo ograniczyć odkształcalność materiału i dzięki obecności bioaktywnej fazy utworzyć wiązanie z kością, tym samym uzyskując wzmocnienie zespolenia. Pewnym ograniczeniem w tym przypadku może być jednak zbyt szybki spadek wytrzymałości kompozytu w czasie.

## Wnioski

Testy pełzania pozwoliły wyznaczyć zależność pomiędzy naprężeniem a czasem zniszczenia dla płytek polilaktydowych oraz z kompozytu polilaktyd/TCP. 7-proc. dodatek proszku TCP powoduje wzrost modułu Younga, niewielki spadek wytrzymałości na rozciąganie oraz spadek odkształcalności w odniesieniu do czystego polimeru. Równocześnie wielkość dopuszczalnych obciążeń w przypadku kompozytów z dodatkiem TCP ulega obniżeniu.

## Podziękowania

*Praca finansowana przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu 0408/R/2/T02/06/01.*

## Conclusion

Creep tests allowed to determine the stress - lifetime dependence for polylactide and polylactide/TCP composite plates. Preliminary examinations indicate that addition of 7 wt% amount of the modifier to the polymer causes negligible increase of Young's modulus, slight decrease of tensile strength and decrease of deformability in comparison with pure polylactide. Additionally, materials permissible load levels are lower for composites with TCP. Application of these materials in maxillofacial surgery is permissible only for loading about 13 MPa for PLLA and 3 MPa for PLLA/TCP plates.

## Acknowledgements

*Financial support for this research was provided by MNiSW grant no. 0408/R/2/T02/06/01.*

## Piśmiennictwo

- [1] B.L. Eppley: Use of resorbable plates and screws in pediatric facial fractures. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2005, vol. 63, 385-391.  
 [2] B. Szaraniec, K. Kotula, J.: Chłopek Kompozyty gradientowe dla medycyny regeneracyjnej. *Kompozyty* 2009, vol. 9, 205-209.

## References

- [3] D.M. Estok, C.R. Bragdon, G.R. Plank, A.M. Huang, O.K. Muratoglu: The Measurement of Creep in Ultrahigh Molecular Weight Polyethylene. *The Journal of Arthroplasty* 2005, vol. 20, 239-243.  
 [4] J. Chłopek, P. Rosół, A. Morawska-Chochół: Durability of polymer-ceramics composite implants determined in creep tests. *Composites Science and Technology* 2006, vol. 66, 1615-1622.

# BADANIA Z WYKORZYSTANIEM SPEKTROSKOPII FTIR ŻELI I POWŁOK Z UKŁADU $Al_2O_3-TiO_2-SiO_2$

ANNA ADAMCZYK\*, ELŻBIETA DŁUGOŃ

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA IM. S. STASZICA,  
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,  
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

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

## Streszczenie

W pracy zajęto się badaniami próbek monolitycznych oraz powłok z układu  $Al_2O_3-TiO_2-SiO_2$ , wykorzystując do syntezy metodę zol-żel. Żele były wygrzewane w różnych temperaturach (500°C, 850°C oraz 1100°C) odpowiadających temperaturom wygrzewania cienkich filmów na różnego typu podłożach. Powłoki były nanoszone poprzez zanurzanie próbek, a następnie ich wynurzanie ze stałą prędkością z odpowiedniego zolu. Powłoki glinowo-tytanowo-krzemionkowe nanoszono w ten sposób na podłoża węglowe, ze stali oraz na stop tytanowy. Wszystkie otrzymane próbki badano, wykorzystując spektroskopię FTIR, dyfrakcję rentgenowską XRD oraz mikroskopię elektronową SEM wraz z mikroanalizą rentgenowską EDS.

We wszystkich widmach IR można było wyróżnić pasma pochodzące od drgań rozciągających grupy OH (przy około 3432-3672  $cm^{-1}$ ) oraz pasma przypisane drganiom zginającym w cząsteczkach  $H_2O$  (przy 1630  $cm^{-1}$ ), co może być wynikiem zastosowania metody zol-żel do syntezy. Intensywność wymienionych pasm maleje w miarę wygrzewania próbek. W widmach IR próbek z układu  $Al_2O_3-TiO_2-SiO_2$  zaobserwowano dodatkowo obecność pasm pochodzących od drgań połączeń Si-O oraz Al-O.

[Inżynieria Biomateriałów, 88, (2009), 24-27]

## Wprowadzenie

Pokrywanie różnorodnych materiałów powłokami pozwala nadać im korzystniejsze właściwości. Nałożenie ceramicznych powłok o różnym składzie na podłoża metaliczne, węglowe czy również ceramiczne pozwala w kontrolowany sposób zmieniać właściwości optyczne, mechaniczne czy elektryczne tych materiałów. Takie „polepszone” tworzywa mogą znaleźć zastosowanie w wielu dziedzinach, dlatego też powłoki z układu  $Al_2O_3-TiO_2-SiO_2$  należą do grupy powłok często obecnie wykorzystywanych [1]. Kolejnym problemem jest wybór właściwej metody nanoszenia cienkiego filmu, adekwatnie do rodzaju materiału (powłoki i podłoża), kształtu podłoża czy wreszcie uwzględniając aspekt ekonomiczny. Szeroko znane metody syntezowania powłok można podzielić na dwie grupy ze względu na sposób ich otrzymywania: poprzez suche oraz mokre procesy. Do pierwszej grupy zaliczamy metody CVD czy PVD, wymagające z reguły specjalistycznego wyposażenia oraz generujące wysokie koszty, podczas gdy druga grupa wydaje się być bardziej korzystna, choćby ze względu na brak ograniczeń (w większości przypadków) kształtu oraz wielkości próbek [2]. Dlatego też w niniejszej pracy wybrano metodę zol-żel.

# THE FTIR STUDIES OF GELS AND THIN FILMS OF $Al_2O_3-TiO_2-SiO_2$ SYSTEMS

ANNA ADAMCZYK\*, ELŻBIETA DŁUGOŃ

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

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

## Abstract

*In this work, samples of  $Al_2O_3-TiO_2-SiO_2$  system, in the form of bulk ones and thin films were obtained using the sol-gel method. The bulk samples were heated at different temperatures (500°C, 850°C and 1100°C) corresponding to the annealing process of coatings, deposited on different substrates by dipping and pulling out samples from the proper sol with the stable speed. Thin films of  $Al_2O_3-TiO_2-SiO_2$  system were deposited on carbon, steel and titanium alloy substrates. All bulk samples were studied by the FTIR spectroscopy and the X-ray diffractometry while thin films were also investigated by the electron microscopy together with the EDS method.*

*In all IR spectra measured, the bands assigned to the stretching vibrations of OH groups (at about 3432-3672  $cm^{-1}$ ) together with the bending vibrations in  $H_2O$  molecules (at about 1630  $cm^{-1}$ ) are observed, what is connected with the sol-gel synthesis. The intensity of all those bands decreases during an annealing process. In the IR spectra of samples of  $Al_2O_3-TiO_2-SiO_2$  system the presence of bands assigned to the Si-O bond vibrations and bands due to Al-O bond vibrations are observed.*

[Engineering of Biomaterials, 88, (2009), 24-27]

## Introduction

The synthesis of thin films allows to improve some properties of materials. Ceramic coatings of different composition deposited on metals, carbon and also ceramics change in a control way their optical, mechanical or electrical properties. Such “improved” materials can be then applied in many fields. Thin films of  $Al_2O_3-TiO_2-SiO_2$  system become one of recently very widely used ceramic coatings [1]. The other problem is to choose a proper deposition method, adequate to material type, shape of sample and also economy point of view. There are many methods of thin films deposition, which can be divided in two groups generally: dry processes (CVD, PVD) and wet ones. The first group requires special equipment and generates rather high costs whereas the wet processes group seems to be more advantageous and mostly does not limit the shape and area of substrate [2]. Thus the sol-gel method was applied for synthesis and deposition of coatings in this work.

## Materials and methods

Three components ( $Al_2O_3 : TiO_2 : SiO_2=1$ ) sol and one-component  $Al_2O_3$  and  $TiO_2$  or  $SiO_2$  sols were prepared using the following precursors: for  $Al_2O_3$  - aluminium secondary butoxide ATSB:  $Al(C_4H_9O)_3$ , for  $TiO_2$  - titanium tetraisopropanolane  $Ti(C_3H_7O)_4$ , whereas for  $SiO_2$ : tetraethoxysilane

## Materiały i metody

Do przygotowania zolu trójskładnikowego ( $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2=1$ ) oraz zoli jednoskładnikowych wykorzystane zostały następujące prekursorzy: tributanolan glinu  $\text{Al}(\text{OC}_4\text{H}_9)_3$  cz.d.a, tetraizopropanolan tytanu  $\text{Ti}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O})_4$  cz.d.a oraz tetraetoksylan TEOS -  $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$  cz.d.a. [3,4,5]. Do syntezy wybrano metodę zol-żel opartą na reakcjach hydrolizy i polikondensacji, zachodzących pomiędzy alkoholami i alkoksylanami rozpuszczonymi w niewodnych rozpuszczalnikach. W celu zwiększenia homogenizacji zolu tytanowego oraz glinowego zastosowano dodatkowo sonokatalizę.

Wszystkie próbki lite otrzymano poprzez wygrzewanie w powietrzu trójskładnikowego zolu, w trzech różnych temperaturach: 500°C, 850°C oraz 1100°C. Powłoki na podłożach węglowych, ze stali oraz ze stopu tytanowego syntezowano metodą zol-żel w dwójaki sposób: jako pojedyncze warstwy nanoszone z jednoskładnikowych zoli  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{TiO}_2$  oraz  $\text{SiO}_2$  lub jako powłoki nanoszone z zolu trójskładnikowego  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$ . Próbki wygrzewano w kontrolowanej atmosferze. I tak, w argonie były wygrzewane warstwy na podłożach węglowych oraz ze stopu tytanu, podczas gdy powłoki na stali – w powietrzu.

Widma IR próbek otrzymano, wykorzystując Digilab Division FTS -60V spektrometr firmy BIO-RAD. Widma zmierzono zarówno techniką absorpcyjną jak i refleksyjną, w zakresie 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ , z rezolucją 4  $\text{cm}^{-1}$ . Obrazy SEM otrzymano w mikroskopie elektronowym NOVA SEM 200 FEI. Dla wszystkich próbek przeprowadzono pomiary z wykorzystaniem dyfraktometrii rentgenowskiej, w dyfraktometrze X'Pert Analytical, stosując promieniowanie rentgenowskie  $\text{CuK}\alpha$ , w standardowej konfiguracji, a także w konfiguracji GID ( $\omega = 1\text{-}3^\circ$ ).

## Wyniki i dyskusja

### Spektroskopia FTIR żeli i powłok z układu $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$

We wszystkich zmierzonych widmach FTIR (RYS. 1,2,3,4 oraz 4) można było wyróżnić pasma pochodzące od drgań rozciągających grupy OH (przy około 3432-3672  $\text{cm}^{-1}$ ) razem z drganiami zginającymi cząsteczkę  $\text{H}_2\text{O}$ , przy około 1630  $\text{cm}^{-1}$ . Pasma te mogą wynikać z zastosowania metody zol-żel do syntezy powłok, czego potwierdzeniem jest ich zanikanie wraz z podnoszeniem temperatury w procesie wygrzewania powłok czy żeli. Przypisanie pasm pochodzących od drgań połączeń Ti-O dokonano poprzez porównanie zmierzonych widm z wcześniej otrzymanymi widmami czystego rutyłu i anatazu. Na widmach wyraźnie zaznaczyła się także obecność pasm przypisanych drganiom połączeń Si-O(Si) czy Si-O(Al). Pasma przy 450  $\text{cm}^{-1}$  można przypisać drganiom zginającym połączenie O-Si-O, podczas gdy pasmo przy 790  $\text{cm}^{-1}$  może pochodzić od symetrycznych drgań rozciągających mostki Si-O-Si. Z kolei w zakresie 1034-1051  $\text{cm}^{-1}$  znajdują się pasma pochodzące od asymetrycznych drgań rozciągających połączenia Si-O(Si) oraz Si-O(Al) dla glinu w koordynacji tetraedrycznej [6]. W widmach można zaobserwować jeszcze jedno pasmo, przy około 1205  $\text{cm}^{-1}$ , które może być przypisane drganiom podwójnego wiązania Si=O.

### Badania XRD żeli i powłok z układu $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$

Dla wszystkich próbek przeprowadzono pomiary w standardowej konfiguracji oraz w konfiguracji GID, wykorzystując promieniowanie  $\text{CuK}\alpha$ . Praktycznie prawie wszystkie próbki (cienkie filmy i próbki lite) były w dużej części amorficzne i jednocześnie homogeniczne do temperatury 850°C.

TEOS:  $\text{Si}(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_4\text{.OCH}_3$  [3,4,5]. The method based on the hydrolysis and the polycondensation reactions among the alkoxides and alkoxysilanes dissolved in non-aqueous solvents was applied in those studies. The sonocatalysis was also used to improve the homogenization of alumina and titania sols.

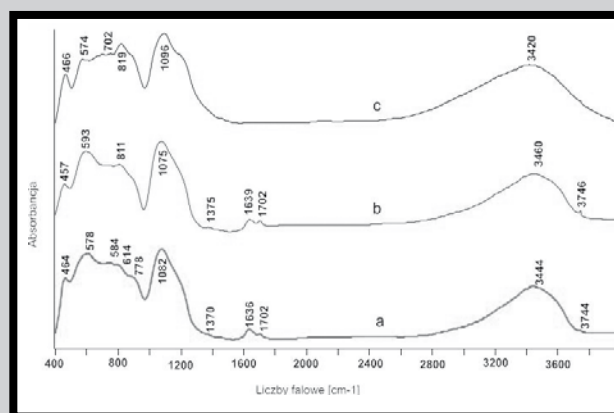
All bulk samples were prepared by annealing (in air) of three component gel at different temperatures: from 500°C, through 850°C and up to 1100°C. Coatings on carbon, steel and titanium alloy samples were deposited by sol-gel method as separate  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{TiO}_2$  and  $\text{SiO}_2$  layers or from the mixture of those three sols (1:1:1), annealed then in air (steel) and in argon (carbon and titanium alloy) at 700°C and 500°C.

The FTIR spectra were obtained with Digilab Division FTS-60V spectrometer by BIO-RAD produced. They were measured as absorption spectra and also as reflection ones. All spectra were obtained in the range of 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ , with 4  $\text{cm}^{-1}$  resolution. The SEM images were observed with NOVA SEM 200 FEI microscope. All samples were also studied with the XRD diffractometry, using X'Pert Analytical Diffractometer and  $\text{CuK}\alpha$  radiation, in standard or GID (Grazing Incidence Diffraction) configuration ( $\omega=1\text{-}2^\circ$ ).

## Results and discussion

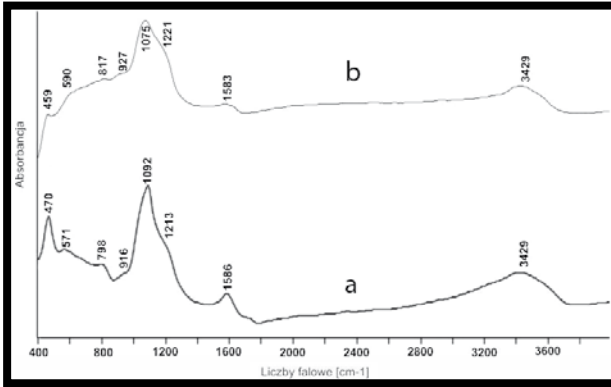
### The FTIR studies of gels and thin films of $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$ system

In all spectra measured (FIG. 1,2,3,4), the bands assigned to the stretching vibrations of OH groups (at about 3432-3672  $\text{cm}^{-1}$ ) together with the bending vibrations in  $\text{H}_2\text{O}$  molecules (at about 1630  $\text{cm}^{-1}$ ) are observed, what is connected with the sol-gel synthesis. The intensity of all those bands decreases during an annealing process. In all spectra of bulk samples and coatings, the positions of Ti-O bond vibrations were ascribed basing on the IR spectra of the pure anatase and rutile. One can observed the strongly marked presence of bands assigned to the Si-O and also Si-O-Al bonds vibrations. In the case of bulk samples and coatings, bands at 450  $\text{cm}^{-1}$  are connected with the bending vibrations of O-Si-O linkage whereas the bands at 790  $\text{cm}^{-1}$  one can be assigned to the symmetric stretching vibrations of Si-O-Si bridges. In the range of 1034-1051  $\text{cm}^{-1}$ , bands due to the asymmetric stretching vibrations of Si-O(Si) and Si-O(Al) connections are observed (Al is present in tetrahedral coordination in this case) [6]. One additional band appears in spectra described, at about 1205  $\text{cm}^{-1}$  which can be assigned to the double Si=O bond.

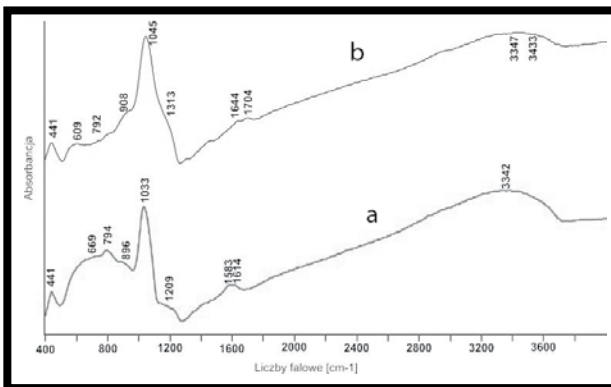


RYS. 1. Zestawienie widm IR otrzymanych dla żelu z układu  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$ , wygrzewanego w temperaturach: 500°C (a), 850°C (b) and 1100°C (c).

FIG. 1. The comparison of the FTIR spectra of gel of  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$  system annealed at: 500°C (a), 850°C (b) and 1100°C (c).

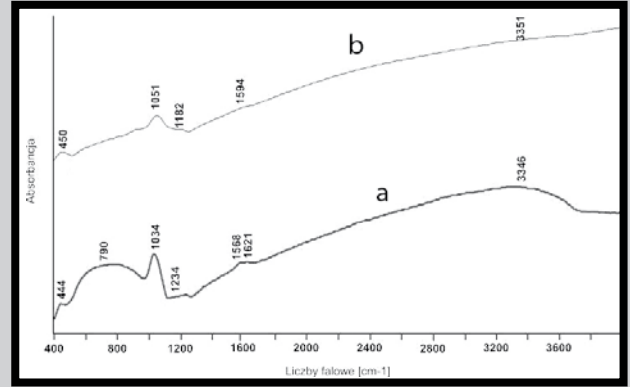


**RYS. 2.** Widmo IR cienkiego filmu z układu  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$ , naniesionego na podłoże węglowe w postaci pojedynczych warstw (a) oraz z mieszaniny zoli (b).  
**FIG. 2.** The FTIR spectrum of  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$  thin film deposited on carbon substrate as separate layers (a) and from sols mixture (b).



**RYS. 3.** Widmo IR cienkiego filmu z układu  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$ , naniesionego na podłoże ze stopu tytanowego w postaci pojedynczych warstw (a) oraz z mieszaniny zoli (b).  
**FIG. 3.** The FTIR spectrum of  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$  thin film deposited on titanium alloy substrate as separate layers (a) and from sols mixture (b).

W próbkach litych, wygrzewanych powyżej  $850^\circ\text{C}$ , można było zaobserwować pojawiającą się w niewielkich ilościach fazę krystaliczną, podobnie jak w niektórych powłokach, nawet poniżej  $850^\circ\text{C}$ .



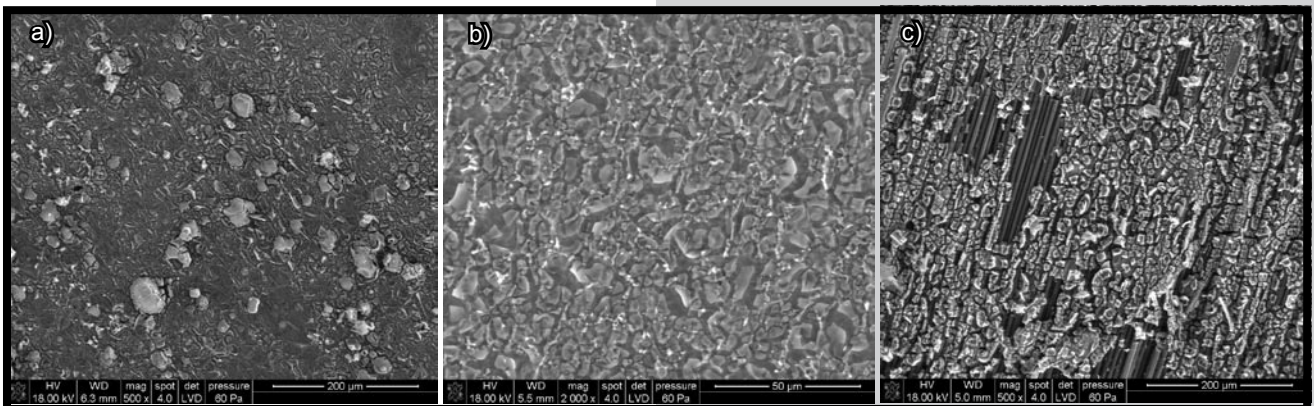
**RYS. 4.** Widmo IR cienkiego filmu z układu  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$ , naniesionego na podłoże ze stali w postaci pojedynczych warstw (a) oraz z mieszaniny zoli (b).  
**FIG. 4.** The FTIR spectrum of  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$  thin film deposited on steel substrate as separate layers (a) and from sols mixture (b).

### The X-ray diffraction studies

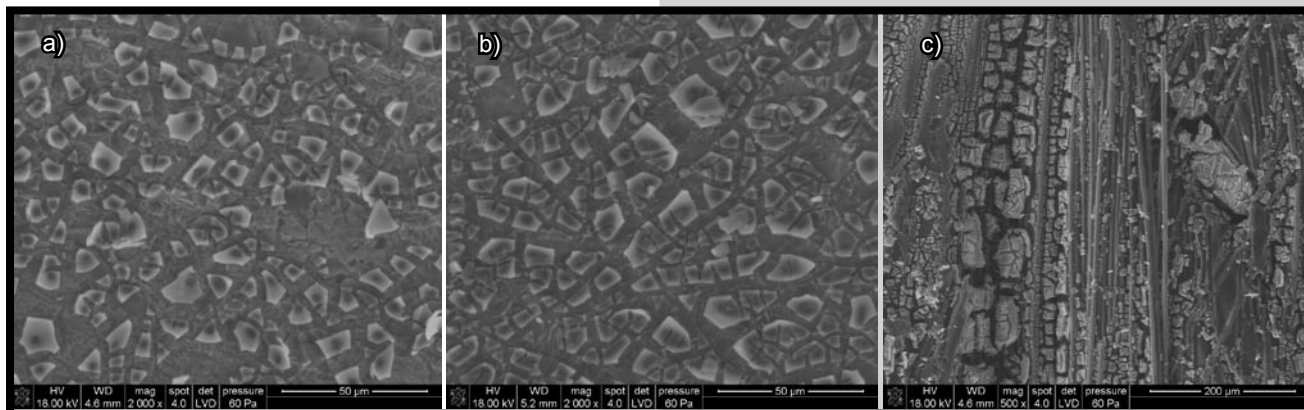
All samples were measured in standard and GID configuration, using  $\text{CuK}\alpha$  radiation. Almost all samples (thin films and bulk ones) were mostly amorphous at different temperatures and thus homogeneous up to  $850^\circ\text{C}$ . However, crystalline phases were observed in bulk samples annealed at temperatures higher than  $850^\circ\text{C}$  and their small amounts were also found in particular thin films.

### The SEM studies of samples of $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$ system

The SEM pictures of three component coatings (FIG. 5,6), as well those deposited as three separate layers as these synthesized from mixture of three sols distinctly point out on two thin films obtained on Ti alloy and steel as three separate  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{TiO}_2$  and  $\text{SiO}_2$  layers, each twice deposited. These thin films play the role of the best anticorrosive layers with probably good adhesion and density, what results from optical observations. Such properties of thin films should be confirmed by additional proper investigations. Also the thin film deposited on the titanium alloy from three component sol seems to be a perspective one. The SEM studies allow to estimate the average thickness of the coatings at about  $1\ \mu\text{m}$  for all samples.



**RYS. 5.** Zdjęcia SEM powłoki naniesionej z mieszaniny zoli na podłoże ze stali (a), ze stopu tytanu (b) oraz węglowe (c).  
**FIG. 5.** The SEM images of  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$  thin film deposited on steel (a), titanium alloy (b) and carbon (c) substrate from the mixture of sols.



**RYS. 6.** Zdjęcia SEM powłoki naniesionej z pojedynczych zoli na podłoże ze stali (a), ze stopu tytanu (b) oraz węglowe (c).

**FIG. 6.** The SEM images of  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$  thin film deposited on steel (a), titanium alloy (b) and carbon (c) substrate as separate sols.

### Badania SEM i EDS próbek z układu $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$

Obrazy SEM syntezowanych trójskładnikowych powłok (RYS. 5,6), zarówno nakładanych sekwencyjnie, jak i z zolu trójskładnikowego wyraźnie wskazują na dwie powłoki nakładane sekwencyjnie na podłoża ze stopu tytanu oraz ze stali, które mogą w najlepszy sposób pełnić rolę powłok antykorozyjnych z uwagi na ich przypuszczalnie dobrą szczelność i przyczepność do podłoża, co można wywnioskować z obserwacji optycznych. Precyzyjne określenie tych właściwości powłok wymagałoby dodatkowych, odpowiednich badań. Podobnie warstwa otrzymana z zolu trójskładnikowego na podłożu ze stopu tytanowego wydaje się być perspektywicznym tworzywem ochronnym. Na podstawie badań SEM i EDS można oszacować grubość wszystkich otrzymywanych powłok na około  $1\ \mu\text{m}$ .

### Wnioski

1. Jednoczesne przeprowadzenie syntezy próbek litych oraz próbek otrzymywanych jako powłoki pozwoliło na porównanie struktury tego samego tworzywa ale w różnej postaci, również w temperaturach wyższych niż wygrzewane były powłoki.

2. Badania XRD wykazały, że wszystkie próbki były w dużej części amorficzne do temperatury  $850^\circ\text{C}$ . Od temperatury  $850^\circ\text{C}$  zaczęły pojawiać się różne fazy krystaliczne, przede wszystkim w próbkach litych. Można zatem stwierdzić, że do temperatury  $850^\circ\text{C}$  badane materiały były w przeważającej większości homogeniczne.

3. Przeciętną grubość powłok oszacowano na podstawie badań SEM i EDS na około  $1\ \mu\text{m}$ .

4. W układzie  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$ , Al występuje przede wszystkim w koordynacji tetraedrycznej, prawdopodobnie podstawiając atomy Si w jednostkach  $\text{SiO}_4$ .

5. Jako najlepsze powłoki antykorozyjne, ze względu na ich strukturę i morfologię wybrano warstwy otrzymane sekwencyjnie z zoli jednoskładnikowych  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{TiO}_2$  oraz  $\text{SiO}_2$  na podłożach ze stopu tytanowego i na stali. Również w przypadku powłok otrzymywanych z zolu trójskładnikowego  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$  można wybrać warstwę na podłożu ze stali jako perspektywiczne tworzywo pełniące rolę powłoki antykorozyjnej.

### Podziękowanie

Badania finansowane są z grantu AGH, No 11.11.160.80.

### Conclusions

1. The synthesis of samples in form of bulk and thin films enabled to compare the structure of the same type of material but obtained in different forms, also in temperatures higher than those of thin films deposition.

2. All samples (thin films and bulk ones) were mostly amorphous and thus homogeneous up to  $850^\circ\text{C}$ , above that temperature, different crystalline phases were obtained according to the XRD studies.

3. The average thickness of thin films deposited on carbon, steel and titanium alloy can be estimated at about  $1\ \mu\text{m}$  according to the SEM and EDS studies.

4. In the  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-TiO}_2\text{-SiO}_2$  system, Al can be mostly observed in tetrahedral coordination, probably substituting Si atoms in  $\text{SiO}_4$  units.

5. The best thin films, because of their structure and morphology, that can play the role of anticorrosive coatings, were obtained as separate  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{TiO}_2$  and  $\text{SiO}_2$  layers on titanium alloy and steel. Also the thin film deposited from three component sol on the titanium alloy seems to be a perspective anticorrosive coating.

### Acknowledgement

The financial support of the AGH University of Science and Technology, grant No 11.11.160.80.


### Piśmiennictwo

### References

- [1] A. Stabel, A. Caballero, J. P. Espinos, F. Yubero, A. Justo, A. R. Gonzales-Elipse, Surf. and Coat. Techn. 100-101 (1998) 142-145.
- [2] A. Muroya, A. Motoki, K. Shimanoe, T. Maeda, Y. Haruta, Y. Teraoka, N. Yamazoe, Surf. And Coat. Techn. 201 (2006) 880-885.
- [3] S. Sakka K. Kammiya, J. of Non. Cryst. Solids. 147 (1992) 394-403.
- [4] B. E. Yoldas, Ceram. Bull. 54 Nu 3 (1975) 285-290.
- [5] B. E. Yoldas, J. Amer. Ceram. Soc. 65 (8) (1992) 387-393.
- [6] W. Mozgawa, M. Król, T. Bajda, J. Mol. Structure 693-698 (2009) 924-926.

# STUDIA PODYPLOMOWE

## Biomateriały – Materiały dla Medycyny 2009/2010

 <p><b>Organizator:</b> Akademia Górniczo-Hutnicza Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki Katedra Biomateriałów</p> <p><b>Kierownik:</b> Dr hab. inż. Elżbieta Pamuła</p>	<p><b>Adres:</b> 30-059 Kraków, Al. Mickiewicza 30 Pawilon A3, p. 108 lub 107 tel. 12 617 44 48, 12 617 34 41; fax. 12 617 33 71 email: epamula@agh.edu.pl stodolak@agh.edu.pl <a href="http://www.agh.edu.pl/pl/studia-w-agh/studia-podyplomowe/biomateriały-materiały-dla-medycyny.html">http://www.agh.edu.pl/pl/studia-w-agh/studia-podyplomowe/biomateriały-materiały-dla-medycyny.html</a></p>
<p><b>Charakterystyka:</b></p> <p>Tematyka prezentowana w trakcie zajęć obejmuje przegląd wszystkich grup materiałów dla zastosowań medycznych: metalicznych, ceramicznych, polimerowych, węglowych i kompozytowych. Studenci zapoznają się z metodami projektowania i wytwarzania biomateriałów a następnie możliwościami analizy ich właściwości mechanicznych, właściwości fizykochemicznych (laboratoria z metod badań: elektronowa mikroskopia skaningowa, mikroskopia sił atomowych, spektroskopia w podczerwieni, badania energii powierzchniowej i zwilżalności) i właściwości biologicznych (badania: in vitro i in vivo). Omawiane są regulacje prawne i aspekty etyczne związane z badaniami na zwierzętach i badaniami klinicznymi (norma EU ISO 10993). Studenci zapoznają się z najnowszymi osiągnięciami medycyny regeneracyjnej i inżynierii tkankowej.</p>	
<p><b>Sylwetka absolwenta:</b></p> <p>Studia adresowane są do absolwentów uczelni technicznych (inżynieria materiałowa, technologia chemiczna), przyrodniczych (chemia, biologia, biotechnologia) a także medycznych, stomatologicznych, farmaceutycznych i weterynaryjnych, pragnących zdobyć, poszerzyć i ugruntować wiedzę z zakresu inżynierii biomateriałów i nowoczesnych materiałów dla medycyny.</p> <p>Sluchacze zdobywają i/lub pogłębiają wiedzę z zakresu inżynierii biomateriałów. Po zakończeniu studiów wykazują się znajomością budowy, właściwości i sposobu otrzymywania materiałów przeznaczonych dla medycyny. Potrafią analizować wyniki badań i przekładać je na zachowanie się biomateriału w warunkach żywego organizmu. Ponadto sluchacze wprowadzani są w zagadnienia dotyczące wymagań normowych, etycznych i prawnych niezbędnych do wprowadzenia nowego materiału na rynek. Ukończenie studiów pozwala na nabycie umiejętności przygotowywania wniosków do Komisji Etycznych i doboru metod badawczych w zakresie analizy biogodności materiałów.</p>	
<p><b>Zasady naboru:</b></p> <p>Termin zgłoszeń: od 1 X 2009 do 15 I 2010 (liczba miejsc ograniczona - decyduje kolejność zgłoszeń). Wymagane dokumenty: dyplom ukończenia szkoły wyższej. Miejsce zgłoszeń: Kraków, Al. Mickiewicza 30, Pawilon A3, p. 108 lub 107. Osoby przyjmujące zgłoszenia: Dr hab. inż. Elżbieta Pamuła (tel. 12 617 44 48, e-mail: epamula@agh.edu.pl) Dr inż. Ewa Stodolak (tel. 12 617 34 41, e-mail: stodolak@agh.edu.pl)</p>	
<p><b>Czas trwania:</b> Semestr letni 2009/10</p>	<p><b>Opłaty:</b> 2 000 zł</p>
<p><b>Informacje dodatkowe:</b></p> <p>Zajęcia: 7 zjazdów (soboty-niedziele) co 2 tygodnie. Przewidywana liczba godzin: 120. Przewidywana data rozpoczęcia: 27 II 2010.</p>	