

MIKROSTRUKTURA I WŁAŚCIWOŚCI WARSTW TLENOAZOTOWANYCH WYTWORZONYCH W OBRÓBCE HYBRYDOWEJ W NISKOTEMPE- RATUROWEJ PLAZMIE

MICHAŁ TARNOWSKI^{1*}, AGNIESZKA SOWIŃSKA²,
JUSTYNA OLEKSIĄK³, TOMASZ BOROWSKI¹,
ELŻBIETA CZARNOWSKA², TADEUSZ WIERZCHOŃ¹

¹ WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ,
POLITECHNIKA WARSZAWSKA,
UL. WOŁOSKA 121, 02-507 WARSZAWA

² INSTYTUT "POMNIK" CENTRUM ZDROWIA DZIECKA,
ZAKŁAD PATOLOGII,
AL. DZIECI POLSKICH 20, 04-730 WARSZAWA

³ WYDZIAŁ MECHATRONIKI, POLITECHNIKA WARSZAWSKA,
UL. ŚW. ANDRZEJA BOBOLI 8, 02-525 WARSZAWA

* E-MAIL: MICTARN@GMAIL.COM

Streszczenie

Szczególne właściwości tytanu i jego stopów, takie jak: niska gęstość, wysoka wytrzymałość właściwa oraz dobra odporność na korozję i korzystny moduł Younga w zestawieniu z powszechnie stosowanymi stalami chirurgicznymi na implanty kostne powodują, że znajdują one coraz szersze zastosowanie w medycynie. Obecnie jednym z rozwijanych kierunków badań w aspekcie poprawy biogodności tytanu i jego stopów jest poprawa łączenia się implantu z kością poprzez zwiększenie adhezji oraz aktywacji płytek krwi. Cel ten można osiągnąć poprzez zastosowanie technik inżynierii powierzchni, takich jak metody PVD i CVD, implantację jonów oraz obróbki jarzeniowe, np. tlenoazotowanie w niskotemperaturowej plazmie.

Celem niniejszych badań była ocena mikrostruktury (SEM), składu chemicznego (EDS), topografii powierzchni (profilometr optyczny), mikrotopografii oraz mikrochropowatości powierzchni (AFM), mikro-twardości, odporności korozyjnej w roztworze Ringera (metoda potencjodynamiczna) oraz biogodności warstw tlenoazotowanych wytworzonych podczas procesu tlenoazotowania jarzeniowego w niskotemperaturowej plazmie w temperaturze 650°C. Dyfuzyjna warstwa typu $TiO_2+TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$ wytworzona na stopie tytanu Ti6Al4V charakteryzuje się wysoką twardością, dobrą odpornością korozyjną i wyższą, niż stop tytanu w stanie wyjściowym, twardością. Badania biogodności w zakresie adhezji i aktywacji płytek krwi wykazały, że adherowały one w większym stopniu i wykazywały cechy większej aktywacji na warstwach tlenoazotowanych niż na stopie tytanu Ti6Al4V w stanie wyjściowym. Rezultaty wskazują, że wytworzenie warstwy tlenoazotowanej pozwala poprawić właściwości biomateriałów tytanowych w aspekcie integracji z kością.

Słowa kluczowe: tlenoazotowanie, warstwy powierzchniowe, mikrostruktura, topografia powierzchni, adhezja płytek krwi

[Inżynieria Biomateriałów 120 (2013) 13-18]

MICROSTRUCTURE AND PROPERTIES OF OXYNITRIDED SURFACE LAYER PRODUCED UNDER HYBRID LOW TEMPERATURE PLASMA TREATMENT

MICHAŁ TARNOWSKI^{1*}, AGNIESZKA SOWIŃSKA²,
JUSTYNA OLEKSIĄK³, TOMASZ BOROWSKI¹,
ELŻBIETA CZARNOWSKA², TADEUSZ WIERZCHOŃ¹

¹ FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING,
WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
UL. WOŁOSKA 121, 02-507 WARSAW, POLAND

² THE CHILDREN'S MEMORIAL HEALTH INSTITUTE,
PATHOLOGY DEPARTMENT,
AL. DZIECI POLSKICH 20, 04-730 WARSAW, POLAND

³ FACULTY OF MECHATRONICS, WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
UL. ŚW. ANDRZEJA BOBOLI 8, 02-525 WARSAW, POLAND

* E-MAIL: MICTARN@GMAIL.COM

Abstract

Specific properties of titanium and its alloys such as: low density, high tensile strength, good corrosion resistance and advantageous elastic modulus in comparison to commonly used surgical steels for bone implants are the reasons for their wider application in medicine. Nowadays, one of the most expandable directions of investigation in the aspect of enhancing biocompatibility of titanium and its alloys is improvement of platelets adhesion and activation to bone implant. This goal can be achieved through the use of several surface engineering methods like PVD and CVD methods, ion implantation and treatment in glow discharge conditions like low temperature plasma oxynitriding.

This study was aimed to evaluate the microstructure (SEM), chemical composition (EDS), topography (optical profilometer), microtopography and microroughness (AFM), microhardness, corrosion resistance in Ringer solution (potentiodynamic method) and biocompatibility of oxynitrided surface layer produced at low temperature of glow discharge process. The diffusive surface layer of $TiO_2+TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$ type produced on Ti6Al4V titanium alloy exhibited advantageous properties such as high hardness, good corrosion resistance and higher than titanium alloy microhardness. Biocompatibility investigated in range of platelets adhesion and activation revealed that these cells adhered in higher extent and displayed morphological features of larger activation on oxynitrided layer compared to titanium alloy. Results suggest that produced oxynitrided surface layer have a potential to improve titanium biomaterials in range of integration with bone.

Keywords: oxynitriding, surface layers, microstructure, platelets adhesion

[Engineering of Biomaterials 120 (2013) 13-18]

Proces tlenoazotowania w warunkach wyładowania jarzeniowego wydaje się być jedną z bardziej perspektywicznych metod inżynierii powierzchni do wytwarzania tlenków na azotowanej powierzchni tytanu i jego stopów w aspekcie polepszenia ich biologicznego kontaktu z kością. Ten hybrydowy proces składający się z procesów azotowania i utleniania w niskotemperaturowej plazmie pozwala na wytworzenie warstw dyfuzyjnych typu $TiO_2+TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$ na detalach o skomplikowanych kształtach, w temperaturze poniżej $680^\circ C$, więc bez znaczącej zmiany w mikrostrukturze obrabianego materiału [1,2]. Tlenki tytanu polepszają biologiczne właściwości w zakresie kontaktu tytanu i jego stopów z kością (tzw. efekt biomimetyczny w roztworze fizjologicznym – SBF [3]), podczas gdy warstwa azotowana $TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$ eliminuje efekt metalozy [4].

Wiadome jest, że implanty tytanowe tworzą pasywną warstwę TiO_2 , która natychmiast wchodzi w kontakt z proteoglikanami tkanki włóknistej na powierzchni rozdziału kość-implant. Jednak pasywna powłoka TiO_2 ma słabe właściwości mechaniczne [5]. Dlatego tlenki tytanu wytworzone w różnych procesach obróbkę powierzchniowych na stopach tytanu zostały dogłębnie przebadane w aspekcie poprawy właściwości mechanicznych, biogodności i odporności na korozję [6,7]. Ich struktura i topografia powierzchni są najważniejszymi parametrami warunkującymi adsorpcję protein, adhezję i proliferację osteoblastów oraz wzrost tkanki kostnej [8]. Stosując technologię tlenoazotowania w warunkach wyładowania jarzeniowego można w łatwy sposób wytwarzać dyfuzyjne warstwy wierzchnie, które zapobiegają zjawisku metalozy, a zewnętrzna strefa tlenku tytanu TiO_2 może być modyfikowana w szerokim zakresie. Celem tej pracy była ocena właściwości i biogodności tlenoazotowanych warstw powierzchniowych wytworzonych na stopie tytanu Ti6Al4V w warunkach wyładowania jarzeniowego w niskiej temperaturze z rozwiniętą zewnętrzną strefą tlenku tytanu - TiO_2 .

Materiały i metody

Na szlifowanych próbkach ze stopu tytanu Ti6Al4V została wytworzona w warunkach wyładowania jarzeniowego warstwa tlenoazotowana. Proces tlenoazotowania składał się z dwóch etapów: azotowania w temperaturze $680^\circ C$ przez 4 godziny, a następnie utleniania w temperaturze $650^\circ C$ w czasie 20 min. Wytworzone warstwy zostały przebadane pod kątem mikrostruktury i składu chemicznego przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego (Hitachi S-3500N) wyposażonego w energorozdzielczy spektrometr rentgenowski (EDS – ThermoFisher), topografii powierzchni przy użyciu skaningowego profilometru optycznego (Wyko NT9300) oraz mikroskopu sił atomowych (AFM – Veeco Multimode V) w trybie „tapping mode” i odporności korozyjnej w roztworze Ringera metodą potencjodynamiczną wykorzystując potencjostat Atlas-Solich 0531.

Próbki do badań biologicznych były sterylizowane plazmowo (Sterrad 100, atmosfera H_2O_2 , temperatura $54^\circ C$, ciśnienie 7 mbar). Badania zostały przeprowadzone przy użyciu bogato płytkowego osocza (PRP) przygotowanego z krwi zdrowych dawców, w zakresie adhezji i aktywacji płytek krwi. PRP było inkubowane w statycznych warunkach na powierzchni próbek przez 2 godziny w temperaturze $37^\circ C$. Niezaadherowane komórki zostały wypukane. Zaadherowane komórki zostały rutynowo utrwalone, odwodnione i pokryte cienką powłoką złota do badań na skaningowym mikroskopie elektronowym (JEOL JSM-7600F).

Introduction

The oxynitriding process under glow discharge conditions seems to be one of the prospective methods of surface engineering of producing oxides on the nitrided surface of titanium and its alloys in order to improve their biological contact with bone. This hybrid process combined oxidizing followed the low temperature nitriding allows the production of $TiO_2+TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$ diffusive surface layers on details of complicated shapes at the temperatures below $680^\circ C$, so without significant changes in the substrate microstructure and properties of Ti6Al4V titanium alloy [1,2]. Titanium oxides improve biological properties for better contact of titanium and its alloys with bone (so called biomimetic effect in physiological solution – SBF [3]), whereas a nitrided $TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$ layer, as previous examinations revealed [4], eliminates metallosis effect.

It is known that titanium implants form native TiO_2 coating which immediately goes in close contact with proteoglycans of fibrous tissue in the bone-implant interface. However, this native TiO_2 layer has poor mechanical properties [5]. Therefore, titanium oxides produced by various surface treatments on titanium alloys have been extensively investigated due their superior mechanical properties, biocompatibility and corrosion resistance [6,7]. Their structure and topography are the most important features for protein adsorption, osteoblasts adhesion and proliferation and bone tissue ingrowth [8]. Applying glow discharge oxynitriding process can be easy to produce diffusion surface layers, which protect against effect of metallosis and external zone of TiO_2 can be widely modified. The aim of this study was verification of properties and biocompatibility oxynitrided surface layer produced on Ti6Al4V alloy under glow discharge conditions at low temperature, with developed external zone of TiO_2 .

Materials and Methods

On grinded samples of Ti6Al4V alloy, under glow discharge conditions, oxynitrided surface layers were produced. The oxynitriding process consisted of two steps: nitriding at temperature of $680^\circ C$ for 4 h and then oxidizing at temp. $650^\circ C$ for 20 min. Produced layers were tested for the microstructure and chemical composition using a scanning electron microscope (Hitachi S-3500N with ThermoFisher EDS analyzer), and surface topography with scanning optical profilometer (Wyko NT9300) and atomic force microscope (AFM – Veeco Multimode V) using tapping mode, and corrosion resistance in Ringer solution by potentiodynamic method using Atlas-Solich 0531 Analyser.

Samples for biological examinations were plasma sterilized (Sterrad 100, atmosphere of H_2O_2 , temp. $54^\circ C$, pressure 7 mbar). Investigations were conducted with fresh platelet rich plasma (PRP) prepared from the blood of healthy donors in range platelets adhesion and activation. PRP was incubated in static conditions on the samples' surface by 2 h at temperature of $37^\circ C$. Not adhered cells were rinsed. Adhered cells were routinely fixed and dehydrated and covered with fine layer of gold for investigations in scanning electron microscope (Jeol JSM-7600F). Platelets number and morphology were analyzed with morphometric program CellSense (Olympus, Germany) on images taken from ten areas of each samples. Value of measurements for three samples with oxynitrided surface and three reference titanium alloy were expressed as Mean \pm SD.

Liczebność płytek krwi oraz ich morfologia były analizowane przy pomocy morfometrycznego programu Cell^{sense} (Olympus) na zdjęciach zrobionych z 10 obszarów z każdej próbki. Wartości pomiarów dla trzech próbek po tlenoazotowaniu jarzeniowym oraz 3 próbek z referencyjnego stopu tytanu Ti6Al4V zostały wyrażone w postaci wartości średniej \pm odchylenie standardowe.

Wyniki i dyskusja

Wytworzone warstwy tlenoazotowane $\text{TiO}_2+\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti}(\text{N})$ mają dyfuzyjny charakter oraz posiadają grubość około 3 μm , z zewnętrzną strefą tlenków o grubości około 300 nm (RYS. 1). Parametry chropowatości powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V w stanie wyjściowym oraz po procesie tlenoazotowania jarzeniowego otrzymane podczas badania na profilometrze optycznym przedstawia TABELA 1.

Parametry mikrochropowatości powierzchni stopu Ti6Al4V w stanie wyjściowym oraz po procesie tlenoazotowania jarzeniowego otrzymane podczas badania przy użyciu mikroskopu sił atomowych przedstawiono w TABELI 2, natomiast obrazy fazowe oraz topografię powierzchni na RYS. 2 i 3.

Obrazy fazowe uwidaczniają strukturę szlifowanego stopu tytanu Ti6Al4V (RYS. 2), która składa się z odkształconych plastycznie na skutek szlifowania faz α i β , z kolei w przypadku tlenoazotowania jarzeniowego tworzy się struktura tlenków tytanu równomiernie rozmieszczonych na powierzchni stopu. Badany stop tytanu Ti6Al4V w stanie wyjściowym charakteryzuje się dużym rozwinięciem powierzchni ze względu na fakt, iż został on wstępnie poddany szlifowaniu papierem ściernym o gradacji 240, natomiast proces tlenoazotowania powoduje wzrost parametrów chropowatości, zarówno w skali makro, jak i mikro, szlifowanej powierzchni stopu tytanu (TABELA 2, RYS. 3).

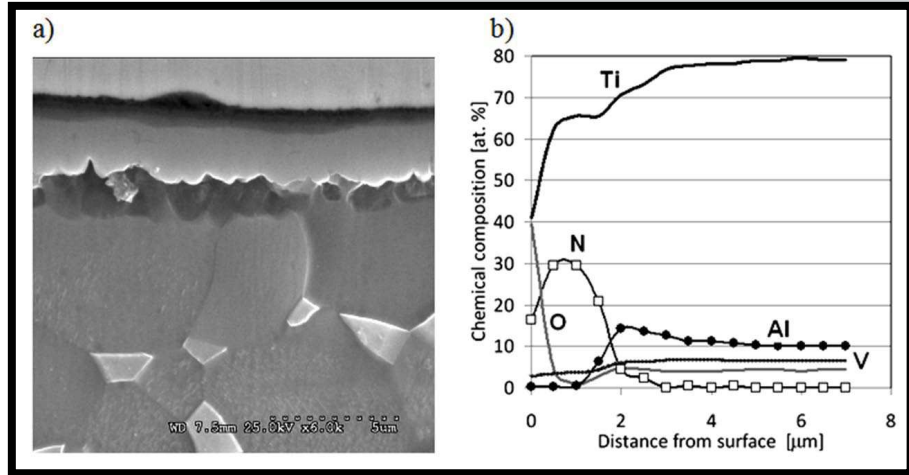
TABELA 1. Parametry chropowatości powierzchni stopu Ti6Al4V w stanie wyjściowym oraz po wytworzeniu dyfuzyjnej warstwy typu $\text{TiO}_2+\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti}(\text{N})$ w procesie tlenoazotowania jarzeniowego uzyskane przy pomocy profilometru optycznego.

TABLE 1. Surface roughness parameters of Ti6Al4V alloy in its initial state and with produced in plasma oxynitriding process diffusive layer $\text{TiO}_2+\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti}(\text{N})$ obtained with the use of optical profilometer.

Badany materiał Examined material	Parametr chropowatości Surface roughness parameters		
	Ra [μm]	Rq [μm]	Rz [μm]
Ti6Al4V	0.600	0.748	6.172
$\text{TiO}_2+\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti}(\text{N})$	0.733	0.914	7.420

Results and Discussions

The produced oxynitrided layers had diffusive character and were $\text{TiO}_2+\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti}(\text{N})$ type. Their thickness was about 3 μm , and external titanium oxide zone was about 300 nm (FIG. 1). Surface roughness parameters of Ti6Al4V titanium alloy in initial state and after plasma oxynitriding process obtained during optical profilometer investigations are presented in TABLE 1.



RYS. 1. Mikrostruktura (a) i skład chemiczny (b) warstwy tlenoazotowanej.
FIG. 1. Microstructure (a) and chemical composition (b) of the oxynitrided layer.

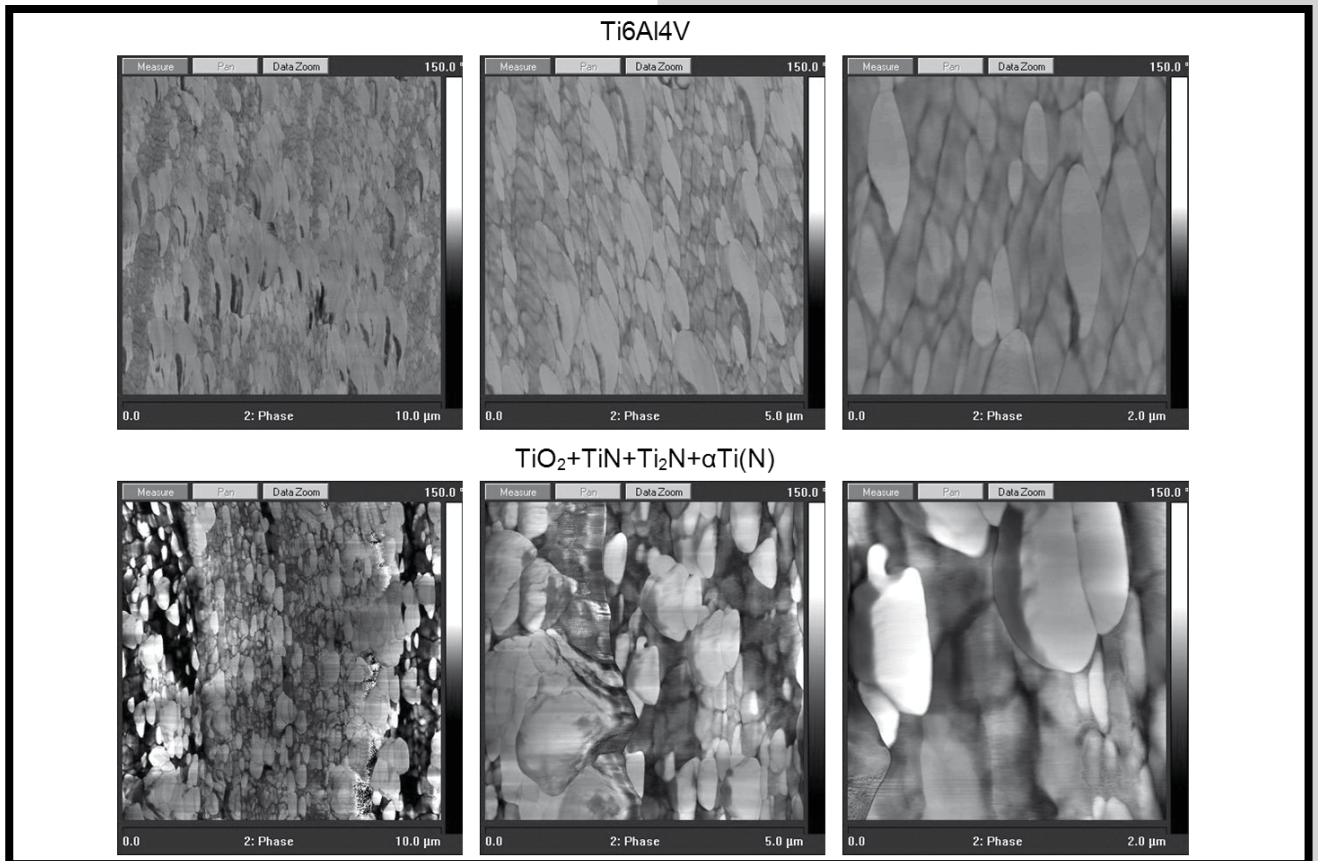
Surface roughness parameters of Ti6Al4V titanium alloy in initial state and after oxynitriding in glow discharge conditions obtained with the use of atomic force microscope are presented in TABLE 2 while phase images and surface topography are presented in FIGS 2 and 3.

Phase images show the structure of grinded Ti6Al4V titanium alloy (FIG. 2), which consists of plastically deformed – due to grinding – phases α and β . After oxynitriding in glow discharge conditions phase images show structure of titanium oxide evenly located on titanium alloy's surface. Examined Ti6Al4V titanium alloy in initial state is characterized by high surface development due to the fact, that it has been grinded with abrasive papers of 240 gradation. Oxynitriding in glow discharge conditions enhanced surface roughness parameters of grinded surface of titanium alloy in macro and micro scale (TABLE 2, FIG. 3).

TABELA 2. Parametry chropowatości powierzchni stopu Ti6Al4V w stanie wyjściowym oraz po wytworzeniu dyfuzyjnej warstwy typu $\text{TiO}_2+\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti}(\text{N})$ uzyskane przy pomocy mikroskopu sił atomowych.

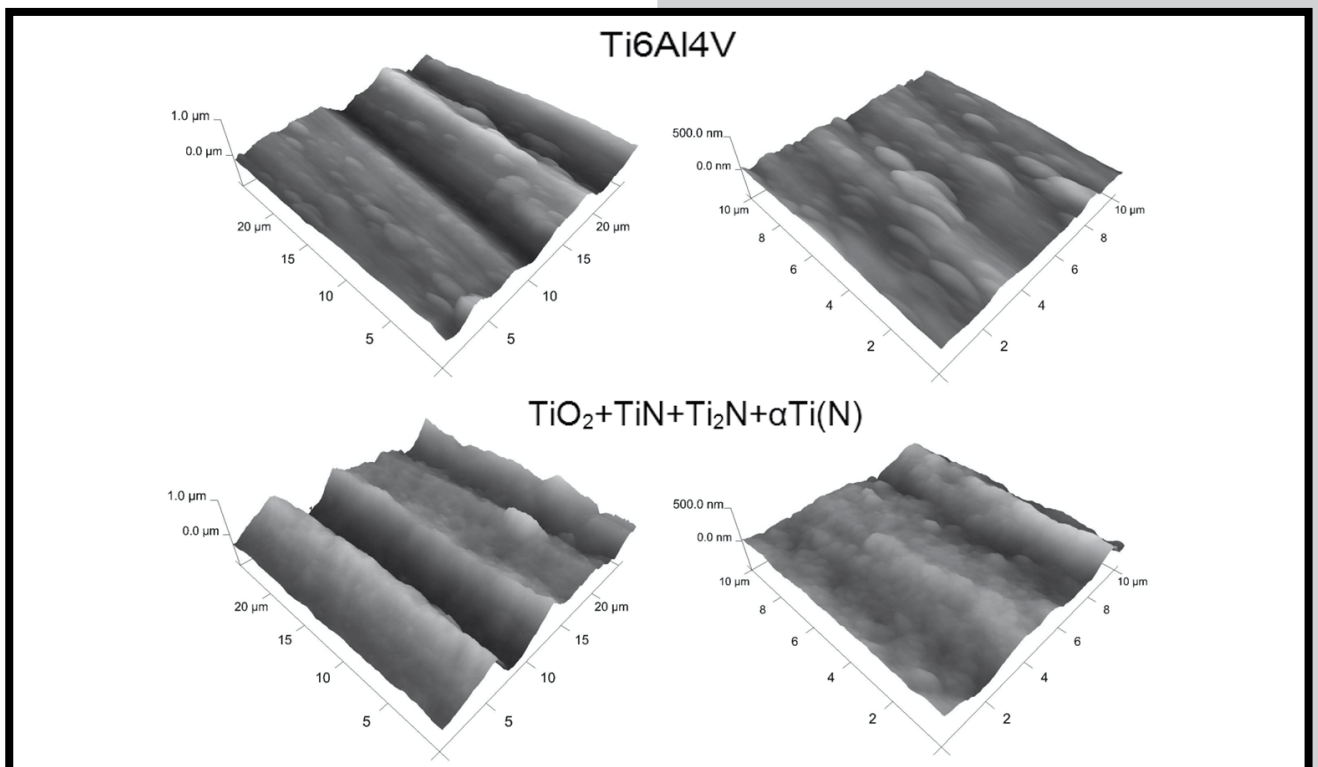
TABLE 2. Surface roughness parameters of Ti6Al4V alloy in its initial state and with produced diffusive layer $\text{TiO}_2+\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti}(\text{N})$ obtained with the use of atomic force microscope.

Badany materiał Examined material	Parametr chropowatości Surface Roughness Parameters		
	Ra [nm]	Rq [nm]	Rz [nm]
Ti6Al4V	26.5	33.6	196
$\text{TiO}_2+\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti}(\text{N})$	57.4	71.8	445



RYS. 2. Obrazy fazowe (AFM) powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V po szlifowaniu oraz warstwy TiO₂+TiN+Ti₂N+αTi(N) wytworzonej w procesie tlenoazotowania jarzeniowego.

FIG. 2. Phase images (AFM) of the surface of Ti6Al4V titanium alloy after grinding and TiO₂+TiN+Ti₂N+αTi(N) layer produced in plasma oxynitriding process.



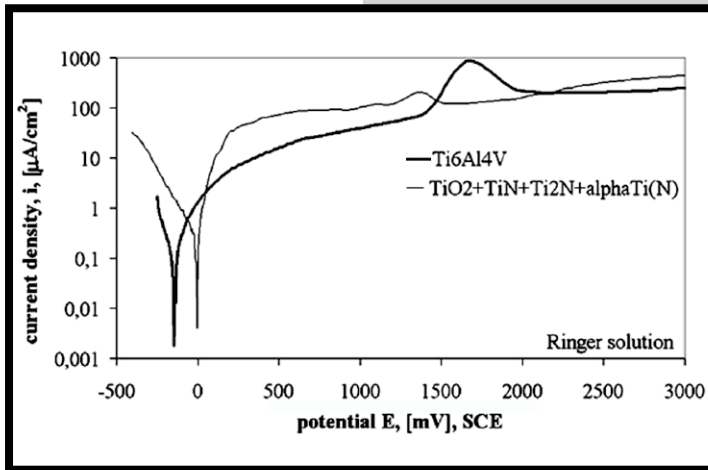
RYS. 3. Topografia powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V po szlifowaniu i warstwy typu TiO₂+TiN+Ti₂N+αTi(N) wytworzonej w procesie tlenoazotowania jarzeniowego.

FIG. 3. Surface topography of Ti6Al4V titanium alloy after grinding and TiO₂+TiN+Ti₂N+αTi(N) layer produced in plasma oxynitriding process.

Powierzchnia warstwy tlenoazotowanej charakteryzowała się znacznie wyższą mikrotwardością (1040 HV0,02) w porównaniu ze stopem tytanu Ti6Al4V w stanie wyjściowym (380 HV0,02) i nieco lepszą odporność korozyjną (RYS. 4).

Inkubacja próbek w PRP wykazała wyższą adhezję i agregację płytek krwi na powierzchni tlenoazotowanej w stosunku do stopu tytanu w stanie wyjściowym (RYS. 5).

Obserwacje mikroskopowe wykazały, że płytki krwi były również nieznacznie bardziej aktywowane i charakteryzowały się dendrycznym kształtem z wieloma wypustkami o większych rozmiarach (RYS. 6).



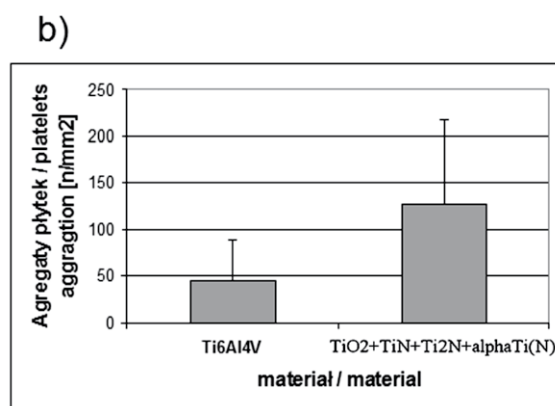
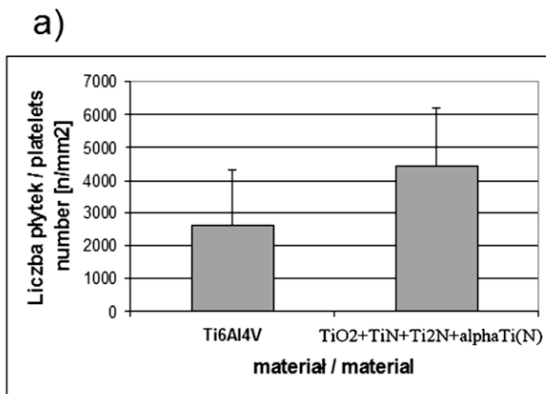
RYS. 4. Odporność korozyjna stopu Ti6Al4V w stanie wyjściowym oraz po tlenoazotowaniu jarzeniowym w temperaturze 650°C.

FIG. 4. Corrosion resistance of the Ti6Al4V alloy in initial state and oxynitrided in glow discharge conditions at 650°C.

The oxynitrided surface layer exhibited a higher microhardness (1040 HV0.02) in comparison with Ti6Al4V alloy in initial state (380 HV0.02) and slightly better corrosion resistance (FIG. 4).

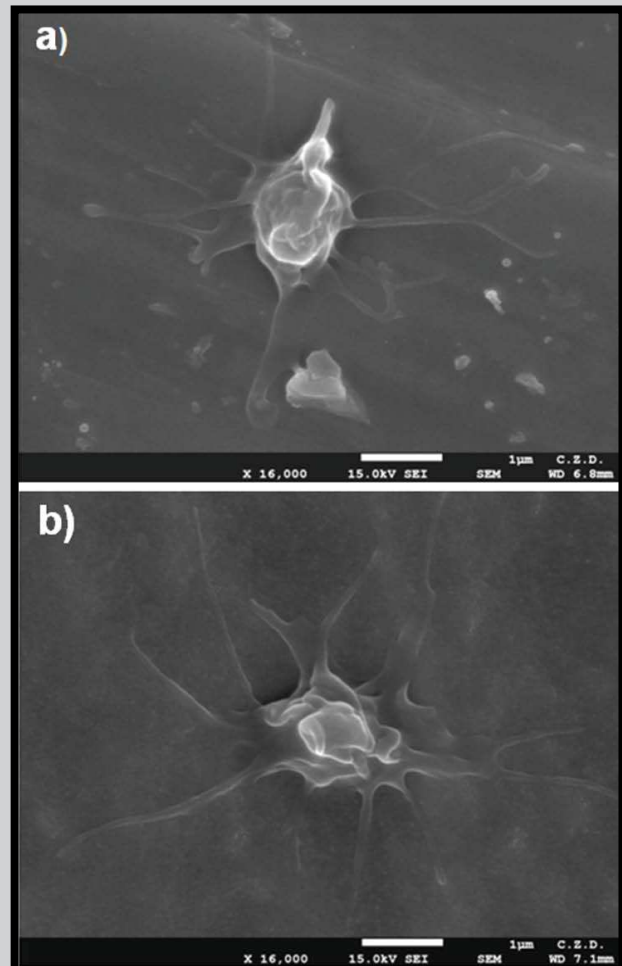
Samples incubation with PRP revealed platelets higher adhesion and aggregation on oxynitrided surface layers than on titanium alloy (FIG. 5).

Imaging demonstrated that platelets were also slightly more activated exhibiting spread dendritic shape with multiple pseudopodia and larger size (FIG. 6).



RYS. 5. Adhezja (a) i agregacja płytek krwi (b) na referencyjnym stopie tytanu w stanie wyjściowym oraz warstwie tlenoazotowanej wytworzonej na stopie Ti6Al4V.

FIG. 5. Platelets adhesion (a) and aggregation (b) on reference titanium alloy in initial state and oxynitrided surface layer produced on Ti6Al4V titanium alloy.



RYS. 6. Morfologia płytek krwi zaadherowanych na referencyjnym stopie tytanu Ti6Al4V (a) i warstwie tlenoazotowanej wytworzonej na stopie Ti6Al4V (b).

FIG. 6. Morphology of platelets adhered on reference Ti6Al4V titanium alloy in initial state (a) and oxynitrided surface layer produced on Ti6Al4V alloy (b).

Analiza morfometryczna potwierdziła te obserwacje wykazując, że średni rozmiar zaadherowanych płytek krwi na powierzchni warstwy tlenoazotowanej był większy. To sugeruje, że polepszyła się interakcja pomiędzy płytkami krwi a tlenoazotowaną powierzchnią [8]. Wiadomo z danych literaturowych [9-11], że na powierzchni tlenku tytanu – TiO_2 zwiększa się adhezja komórek, oraz że większe rozwinięcie powierzchni spowodowane procesem tlenoazotowania jarzeniowego polepsza adhezję płytek krwi. Dodatkowo, zewnętrzna strefa tlenku TiO_2 gwarantuje tworzenie się fosforanów wapnia podczas ekspozycji w płynach ustrojowych, dając pozytywne efekty w aspekcie łączenia się implantu z kością [1,3].

Wnioski

- Proces tlenoazotowania jarzeniowego stopu tytanu Ti6Al4V umożliwia wytworzenie tlenku tytanu – TiO_2 , w strefie zewnętrznej warstwy azotowanej $TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$.
- Topografia powierzchni tlenku tytanu i zastosowana sterylizacja plazmowa wpływają na wzrost adhezji płytek krwi oraz lepsze połączenie kość–implant tytanowy.
- Wyniki badań wykazują, że warstwy tlenoazotowane mogą poprawić właściwości biomateriałów tytanowych w aspekcie integracji implantu z kością.

Podziękowania

Praca zrealizowana została w ramach projektu Narodowego Centrum Nauki nr 2011/01/B/ST8/07554.

Morphometric analyses confirmed this observation showing that mean size of platelets adhered on oxynitrided surface layers was bigger. This suggest that an interaction of platelets with oxynitrided surface was increased [8]. It is known that on TiO_2 surface adhesion of cells is improved [9-11], and we also found that oxynitridation process enhances platelet adhesion. Additionally, outer TiO_2 zone guaranties the formation of calcium phosphates during exposure for body fluids, giving advantageous effect during implant bonding with bone [1,3].

Conclusions

- Glow discharge assisted oxynitriding of titanium alloy Ti6Al4V enables producing of titanium oxide – TiO_2 at the external zone $TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$ nitrided layer.
- The roughness of TiO_2 and applied plasma sterilization influence on increase platelets adhesion and bone-titanium biomaterials interface.
- The results suggest that the oxynitrided surface layers have a potential to improve titanium biomaterials in rage of integration with bone.

Acknowledgments

The presented study was performed within the framework of research project no. 2011/01/B/ST8/07554 sponsored by Polish National Centre of Science.

Piśmiennictwo

- [1] Czarnowska E., Morgiel J., Ossowski M., Major L., Sowińska A., Wierzchoń T.: Microstructure and biocompatibility of titanium oxides produced on nitrided surface layers under glow discharge conditions. *J. of Nanoscience and Nanotechnology* 11 (2011) 8917-8923.
- [2] Tarnowski M., Garbacz H., Ossowski M., Brojanowska A., Wierzchoń T.: Modifying of Ti6Al4V titanium alloy functional properties in low-temperature glow discharge nitriding process. *Kovové materiály - Metallic Materials – under review*
- [3] Kokubo T.: Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment. *Acta Materialia* 46 (1998) 2519-2517.
- [4] Czarnowska E., Wierzchoń T., Maranda A., Kaczmarewicz E.: Improvement of titanium alloy for biomedical applications by nitriding and carbonitriding process under glow discharge conditions. *J. Mater. Sci.: Mat. in Med.* 11 (2000) 73-81.
- [5] Feng B., Chen Jy, Qi S.K., He L., Zhao J.Z, Zhang X.: Characterization of surface oxide films on titanium and bioactivity. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 13(5) (2002) 457-464.

References

- [6] Liu X., Zhao X., Li Baoe, Cao C., Dong Y., Ding C., Chu P.: UV-irradiation-induced bioactivity on TiO_2 coatings with nanostructural surface. *Acta Biomaterialia* 4 (2008) 544-552.
- [7] Necula B.S., Fratila-Apachitei L.E., Zaat S.A.J., Apachitei I., Duszczuk J.: In vitro antibacterial activity of porous TiO_2 -Ag composite layers against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Acta Biomaterialia* 5 (2009) 3573-3580.
- [8] Bandyopadhyay A., Espana F., Balla V.K., Bose S., Ohgami Y., Davies N.M.: Influence of porosity on mechanical properties and in vivo response of Ti6Al4V implants. *Acta Biomaterialia* 6 (2010) 1640-1648.
- [9] Das K., Bose S., Bandyopadhyay A.: Surface modifications and cell-materials interactions with anodized Ti. *Acta Biomaterialia* 3 (2007) 573-585.
- [10] Park J.Y., Gemmel C.H., Davies J.E.: Platelets interaction with titanium: modulation of platelets activity by surface topography. *Biomaterials* 22 (2001) 2671-2682.
- [11] Davies J.E.: Mechanisms of endosseous integration. *Int. J. Prosthodont.* 11 (1998) 391-401.