

## WPLÝW WYBRANYCH MODYFIKACJI NA WŁAŚCIWOŚCI POWIERZCHNI TYTANU

MAŁGORZATA LEWANDOWSKA\*, HALINA GARBACZ\*,  
BEATA POLAK\*\*, WOJCIECH FABIANOWSKI\*\*, JANUSZ KAMIŃSKI\*,  
MAŁGORZATA LEWANDOWSKA-SZUMIEL\*\*\*

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

\*\*POLITECHNIKA WARSZAWSKA WYDZIAŁ CHEMICZNY,  
UL. NOAKOWSKIEGO 3, 00-664 WARSZAWA

\*\*\*AKADEMIA MEDYCZNA W WARSZAWIE,  
ZAKŁAD BIOFIZYKI I FIZJOLOGII CZŁOWIEKA,  
UL. CHAŁUBIŃSKIEGO 5, 02-004. WARSZAWA

### Streszczenie

Celem niniejszej pracy było przeprowadzenie szeregu modyfikacji powierzchni zwiększających adhezję komórek do materiału oraz określenie ich wpływu na właściwości powierzchni litego tytanu. Zakres pracy obejmował: obserwację zmian topografii powierzchni przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego; pomiary chropowatości powierzchni; pomiary kąta zwilżania oraz badania odporności korozyjnej. Stwierdzono, że przeprowadzone modyfikacje nieznacznie zmieniają topografię powierzchni, powodując wzrost jej rozwinięcia. Modyfikowane powierzchnie zachowują hydrofilowy charakter i odznaczają się zwiększoną odpornością korozyjną.

[Inżynieria Biomateriałów, 47-53,(2005),46-49]

### Wprowadzenie

Właściwości, które wyróżniają tytan spośród innych materiałów to duża odporność na korozję w różnych środowiskach oraz mała gęstość 4,5g/cm<sup>3</sup>. Ponadto tytan jest materiałem niemagnetycznym, o wysokiej temperaturze topnienia, małym współczynnikiem rozszerzalności cieplnej i przede wszystkim wysokiej obojętności biologicznej. Właściwości te spowodowały, że tytan stał się ważnym materiałem dla medycyny. Jest to doskonały biomateriał, z którego wykonuje się różnego rodzaju implanty, narzędzia chirurgiczne, a także w postaci siateczek jest wykorzystywany jako rusztowanie dla żywych komórek i stosowany w inżynierii tkankowej. Z punktu widzenia inżynierii tkankowej podstawowe znaczenie ma stan powierzchni, jej skład chemiczny i topografia.

Podstawowym parametrem opisującym powierzchnię jest jej chropowatość. Zaobserwowano [1], że wzrost chropowatości jest korzystny dla rozwoju komórek kostnych, co zapewnia lepszą integrację wszczepu z kością. Komórki reagują na zmiany chropowatości wynoszące nawet 0,60µm, a powierzchnie wykazujące się większą chropowatością mają charakter bardziej hydrofilowy [2]. Jedną z cech tytanu jest zdolność do samopasywacji. Tworząca się na powierzchni warstwa tlenków zapewnia jej charakter hydrofilowy, co sprzyja wzrostowi komórek, ponieważ wykazuje ona powinowactwo do wody, tworząc wiązania wodorowe [3]. Udowodniono także, że naniesienie cienkiej warstwy hydroksyapatytu korzystnie wpływa na rozwój komórek kostnych [4], a trawienie w roztworze "pirania" powodujące uzyskanie porowatej powierzchni (w skali nano), polepsza adhezję i migrację osteoblastów [5].

Celem niniejszej pracy było przeprowadzenie szeregu mo-

## INFLUENCE OF MODIFICATIONS ON THE PROPERTIES OF TITANIUM SURFACE

MAŁGORZATA LEWANDOWSKA\*, HALINA GARBACZ\*,  
BEATA POLAK\*\*, WOJCIECH FABIANOWSKI\*\*, JANUSZ KAMIŃSKI\*,  
MAŁGORZATA LEWANDOWSKA-SZUMIEL\*\*\*

\*WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY FACULTY OF MATERIALS  
SCIENCE AND ENGINEERING, WOŁOSKA 141, 02-507 WARSAW

\*\*WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY FACULTY OF CHEMISTRY,  
NOAKOWSKIEGO 3, 00-664 WARSAW

\*\*\*MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW, INSTITUTE OF BIOPHYSICS  
AND HUMAN PHYSIOLOGY,  
UL. CHAŁUBIŃSKIEGO 5, 02-004. WARSAW

### Abstract

The aim of this work was to carry out various surface modifications which improve cell adhesion and to determine their influence on the properties of titanium surface. The research included: SEM observations of surface topography, roughness and contact angle measurements and corrosion resistance study. It was found that the applied modifications only slightly change the surface topography and lead to a slight increase of surface roughness. All modified surfaces are hydrophilic and reveal improved corrosion resistance.

[Engineering of Biomaterials, 47-53,(2005),46-49]

### Introduction

Such properties as: high corrosion resistance in various environments and low density (4,5 g/cm<sup>3</sup>) distinguish titanium among other metallic materials. In addition, titanium is nonmagnetic; it exhibits high melting temperature, low coefficient of thermal expansion and, in particular, high biological inertness. Due to these properties titanium is used in biomedical applications as material for implants and surgical tools. In recent years, titanium in the form of meshes was used in tissue engineering as a scaffold for living cells. From this point of view, the properties of surface, its chemical composition and topography play a crucial role.

One of the main parameters describing the surface is its roughness. It was observed [1] that an increase of surface roughness is beneficial for the growth of bone cells, which ensures better integration of the implant with the bone. The living cells are able to detect the change in surface roughness of the order of 0,6 µm and it was found that rougher surfaces reveal more hydrophilic character [2]. On the other hand, one of the characteristic features of titanium is its ability to self-passivation. As a result an oxide layer is formed on the titanium surface. This oxide layer ensures the hydrophilic character of the surface and thus favours the growth of cells [3]. The beneficial role of hydroxyapatite coating [5] and etching in the piranha solution [6] in improving cell adhesion and growth was also reported.

The aim of this work was to carry out various surface modifications which improve cell adhesion and to determine their influence on the properties of titanium surface. These modifications were previously applied to titanium meshes [6] and the preliminary results have shown their beneficial influence on the cell growth in culture. However, the determination of such important parameters as contact angle, roughness and

dyfikacji powierzchni zwiększających adhezję komórek do materiału oraz określenie ich wpływu na właściwości powierzchni litego tytanu. Modyfikacje te zostały wcześniej zastosowane do siateczek tytanowych [6], a wstępna analiza wykazała ich korzystny wpływ na wzrost komórek w hodowli in vitro. Geometria siateczek uniemożliwia jednak określenie szeregu ważnych właściwości, takich jak np. kąta zwilżania, chropowatość, czy odporność korozyjna.

## Materiał i metodyka badań

Materiałem użytym do badań był tytan o czystości technicznej w postaci pręta o średnicy 20 mm, z którego wycięto próbki w postaci wałków o grubości 2 mm. Próbki szlifowano na papierach ściernych o gradacji 600 i 800, wypłukano w płuczce ultradźwiękowej i odtłuszczono acetonem. Tak przygotowane próbki poddano trzem modyfikacjom: (1) trawienie w roztworze stężonego  $H_2SO_4$  i 30%  $H_2O_2$  w stosunku objętościowym 1:1 (tzw. roztwór "pirania") przez 4 godziny w temperaturze pokojowej; (2) naniesienie warstwy dekstranu z poli(kwasem akrylowym) (PAA) i dodatkiem jonów wapnia; (3) naniesienie warstwy aldehydu glutarowego oraz warstwy dekstranu z poli(kwasem akrylowym) (PAA) i dodatkiem jonów wapnia. Wymienione modyfikacje zostały opisane szczegółowo w pracy [6]. Zakres pracy obejmował: obserwację zmian topografii powierzchni przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego; pomiary chropowatości powierzchni; pomiary kąta zwilżania oraz badania odporności korozyjnej. Badania odporności korozyjnej powierzchni tytanu polegały na wykonaniu badań impedancyjnych oraz potencjodynamicznych.

## Wyniki badań i dyskusja wyników

Obserwacje za pomocą SEM pokazały, że powierzchnia w stanie wyjściowym (przed modyfikacją) charakteryzuje się obecnością ukierunkowanych rys, będących wynikiem wcześniejszego szlifowania. Trawienie w roztworze "pirania" spowodowało pojawienie się na powierzchni charakterystycznych mikroporowatości. Natomiast modyfikacje polegające na zanurzeniu w roztworze dekstranu oraz aldehydu glutarowego i dekstranu nie wpływają znacząco na stan powierzchni. Na RYS.1 przedstawiono przykładowe obrazy powierzchni próbek tytanowych.

Pomiar chropowatości przeprowadzono w celu określenia stopnia rozwinięcia powierzchni próbek, w stanie wyjściowym oraz po przeprowadzonych modyfikacjach. Z otrzymanych profili chropowatości wyznaczono i analizowano dwa parametry określające chropowatość Ra i Sm, a ich wartości przedstawiono w TABELI 1. Otrzymane wyniki potwierdzają wpływ przeprowadzonych modyfikacji na stopień rozwinięcia powierzchni. Zarówno trawienie w roztworze "pirania" jak i naniesienie warstw polimerowych spowodowały niewielki wzrost obydwu analizowanych parametrów. Największe zmiany parametru Ra odnotowano dla modyfikacji w roztworze dekstranu, natomiast parametru Sm dla modyfikacji w roztworze aldehydu glutarowego i dekstranu. Kąt zwilżania zmierzono przy użyciu roztworu "DMEM" o złożonym składzie chemicznym, zbliżonym do płynów ustrojowych ludzkiego organizmu. Otrzymane wyniki zestawiono w TABELI 2. Wszystkie przeprowadzone modyfikacje spowodowały wzrost wartości kąta zwilżania. Na uwagę zasługuje fakt, że największy kąt zwilżania zaobserwowano dla próbki trawionej w roztworze piranii, o stosunkowo niewielkim stopniu rozwinięcia powierzchni. Próbka ta charakteryzuje się jednak nano i mikro porowatością, niewykrywalną lub na granicy czułości zastosowanego profilometru,

corrosion resistance was impossible due to the mesh geometry.

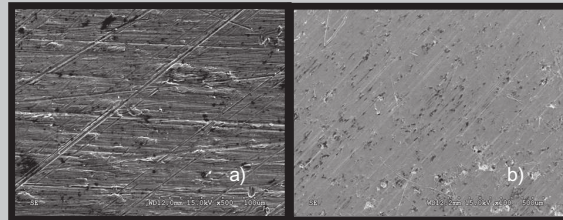
## Material and experimental procedure

The material used in this study was technically pure titanium in the form of 20 mm rod from which samples in the form of 2 mm cylinders were cut out. The samples were polished, ultrasonically rinsed and then degreased in acetone. Next, the samples were subjected to three surface modifications: (1) etching in piranha solution, (2) dextran coating and (3) glutar aldehyd and dextran coating. All these modifications were described elsewhere [6].

The research included: SEM observations of surface topography, roughness and contact angle measurements and corrosion resistance study. Corrosion resistance study of titanium surface consisted in conducting impedance and potentiodynamic tests.

## Results and discussion

SEM observations have shown that the characteristic feature of titanium surface in the initial state is the presence of oriented scratches resulting from polishing. On the surface etched in piranha solution, micro-porosity effects can be seen. Both polymer coatings (dextran and glutar aldehyd + dextran) do not change significantly the surface topography. FIG.1 shows images of unmodified and modified titanium surfaces.



**RYS. 1. Obraz powierzchni próbek tytanowych: w stanie wyjściowym (a) oraz po trawieniu w roztworze pirania (b).**

**FIG. 1. Images of titanium surface: unmodified (a) and after etching in piranha solution (b).**

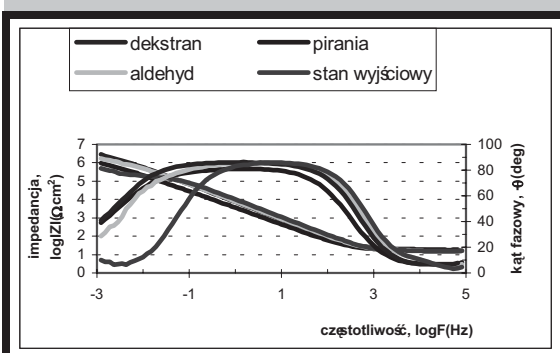
In order to quantify the surface development in the samples with unmodified and modified surfaces, the roughness measurements have been carried out. From the obtained roughness profiles two parameters, Ra and Sm, describing the surface roughness have been determined. Their values are shown in TABLE 1. The results confirm the influence of modifications on surface development. All modifications result in a slight increase of both roughness parameters. The highest changes in Ra parameter were observed for modification in dextran solution, whereas for Sm parameter - for modification in glutar aldehyd + dextran solution.

The contact angle was measured using "DMEM" solution which chemical composition is similar to human body fluids. The obtained values of contact angle are presented in TABLE 2. The results clearly indicate that all modifications lead to the increase of contact angle value (the most significant increase is observed in the sample etched in piranha solution). This sample is characterized by nano- and micro-porosity, undetectable for the used profilometer, which can significantly influence wettability of titanium surface. However, it should be noted that all surfaces have hydrophilic character.

The results of impedance studies are presented in the form of Bode's diagrams (FIG.2). They show the high values of

Rodzaj modyfikacji / Modification	$R_a$ [ $\mu\text{m}$ ]	$S_m$ [ $\mu\text{m}$ ]
Stan wyjściowy / Unmodified	0,110	133
Trawienie w roztworze pirania / Piranha solution	0,175	194
Warstwa dekstranu / Dextran coating	0,225	195
Aldehyd glutarowy i dekstranu / Glutar aldehyd and dextran coating	0,200	237

**TABELA 1. Wartości parametrów określających chropowatość powierzchni tytanowych. ( $R_a$  - średnie arytmetyczne odchylenie profilu chropowatości,  $S_m$  - średni odstęp chropowatości).  
TABLE 1. Roughness parameters for unmodified and modified titanium surfaces. ( $R_a$  - average roughness,  $S_m$  - mean spacing of profile irregularities).**



**RYS. 2. Widma impedancyjne badanych powierzchni tytanowych.  
FIG. 2. Bode's diagrams of titanium surfaces exposed in SBF solutions.**

co w istotny sposób może zmieniać zwilżalność powierzchni tytanu. Należy zaznaczyć, że pomiar kąta zwilżania wykazał hydrofilowy charakter wszystkich badanych powierzchni.

Wyniki badań impedancyjnych przedstawiono w formie wykresów Bode'go (RYS.2). Charakteryzują się one wysokimi wartościami kąta fazowego, bliskimi 90 stopni, w szerokim zakresie częstotliwości. W wyniku przeprowadzonych modyfikacji następuje wyraźny wzrost zakresu częstotliwości w obszarze wysokich wartości kątów fazowych, w porównaniu do stanu wyjściowego, co świadczy o większej trwałości wytworzonych warstw pasywnych. Zauważyć również można przesunięcie modułu impedancji w kierunku wyższych wartości. Jest to związane ze wzrostem wartości parametru  $R_t$ , będącego oporem przejścia elektronów z podłoża do elektrolitu przez warstwę podwójną. Badania potencjodynamiczne (RYS.3) pokazały, że w stosunku do stanu wyjściowego, następuje obniżenie wartości gęstości prądów korozyjnych przy jednoczesnym utrzymaniu stanu pasywnego w szerokim zakresie potencjałów.

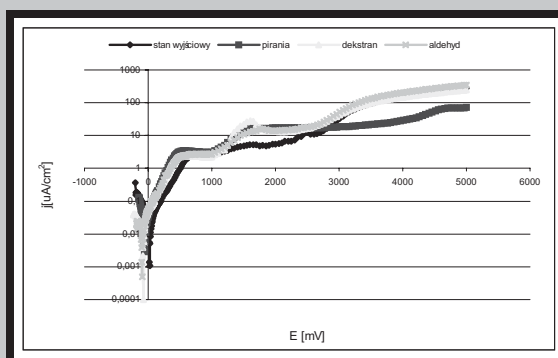
## Wnioski

Z przeprowadzonych badań można wyciągnąć następujące wnioski:

- Zastosowane modyfikacje zwiększają chropowatość powierzchni oraz polepszają odporność korozyjną tytanu.

Rodzaj modyfikacji / Modification	$R_a$ [ $\mu\text{m}$ ]	$S_m$ [ $\mu\text{m}$ ]
Stan wyjściowy / Unmodified	0,110	133
Trawienie w roztworze pirania / Piranha solution	0,175	194
Warstwa dekstranu / Dextran coating	0,225	195
Aldehyd glutarowy i dekstranu / Glutar aldehyd and dextran coating	0,200	237

**TABELA 2. Wartości kąta zwilżania dla powierzchni tytanowych w roztworze DMEM.  
TABLE 2. Values of contact angle for unmodified and modified titanium surfaces. SD is standard deviation.**



**RYS. 3. Krzywe polaryzacji badanych powierzchni tytanowych.  
FIG. 3. Polarisation curves of titanium prior to and after modifications.**

phase angle (close to 90 degrees) at broad frequency range. Due to the modifications carried out, the frequency range in high value phase angles significantly increases in comparison to the unmodified surface. This proves higher resistance of composed passive layers. At the same time, the impedance module moves towards higher values due to the rise of  $R_t$  parameter value. This parameter expresses charge transfer resistance. Polarizations curves (FIG.3) show that - in comparison to unmodified titanium surface - the value of corrosion currents density decreases while passive state does not change in broad potentials' range.

## Conclusions

From the conducted research the following conclusions can be drawn:

- The modifications which have been applied for titanium surface lead to the increase of surface roughness and to the improvement of its corrosion resistance.
- Investigated surfaces exhibit a hydrophilic character.
- Dextran coating seems to be the most promising method of modifications since it improves most significantly corrosion resistance and surface roughness.
- Characteristic micro-porosity, undetectable for profilometer, occurring on surfaces etched in the piranha solution can be an additional factor favourable for cells growth. This problem will be a subject of further research.



- Badane powierzchnie wykazują charakter hydrofilowy.
- Obiecującą modyfikacją wydaje się być naniesiona warstwa dekstranu, która w największym stopniu zwiększa odporność korozyjną oraz chropowatość powierzchni.
- Wytworzenie na powierzchni trawionej w roztworze pirania charakterystycznych mikroporowatości, niewykrywalnych przy zastosowaniu profilometru, może być dodatkowym czynnikiem sprzyjającym wzrostowi komórek. Problem ten będzie przedmiotem dalszych badań.

## Podziękowanie

Praca badawcza zrealizowana w ramach projektu badawczego zamawianego 5/PBZ-KBN-082/T08/2002.

## Piśmiennictwo

- [1] M.Wieland, M.Textor, B.Chehoudai, D. M.Brunette, Synergistic interaction of topographic features in production bone-like nodules on Ti surfaces by rat osteoblasts, *Biomaterials* 26 (2005) 1119-1130.
- [2] D.D.Deligianni, N.Katsala, S. Ledas, D.Sotiropoulou, J.Amedee, Y.F.Missirlis, Effect of surface roughness of titanium alloy Ti-6Al-4V on human bone marrow cell response and on protein adsorption, *Biomaterials* 22(2001) 1241-1251.
- [3] S.Kanagaraja, A.Wennerberg, C.Eriksson, H.Nygren, Cellular reaction and bone apposition to titanium surface with different surface roughness and oxide thickness cleaned by oxidation, *Biomaterials* 22(2001) 1809-1818.

## HYDROLITYCZNA I ENZYMATYCZNA DEGRADACJA KOPOLIMERA GLIKOLIDU Z L-LAKTYDEM

ELŻBIETA PAMUŁA, MAGDALENA M. RUTKOWSKA

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI, KATEDRA BIOMATERIAŁÓW, AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLSKA  
EPAMULA@AGH.EDU.PL

### Streszczenie

Kopolimer glikolidu z L-laktydem (PGLA) poddano degradacji w buforowanym roztworze soli fizjologicznej (PBS) i roztworze PBS zawierającym trypsynę. Zmiany zwilżalności w funkcji czasu degradacji badano metodą kropli, podczas gdy topografię i morfologię powierzchni oceniano za pomocą mikroskopu sił atomowych i mikroskopu do światła odbitego. Wykazano, że folie PGLA tracą spójność w czasie 6 tygodni w wyniku degradacji w masie. Trypsyna nie przyspiesza procesu degradacji PGLA.

[*Inżynieria Biomateriałów, 47-53,(2005),49-52*]

### Wprowadzenie

Kopolimery glikolidu z L-laktydem są z powodzeniem wykorzystywane jako biomateriały, nośniki leków i rusztowania dla komórek w inżynierii tkankowej [1]. Materiały te ulegają degradacji w wyniku reakcji hydroлізу wiązań poliestrowych, chociaż wykazano, że obecność niektórych en-

## Acknowledgement

49

This work was supported by the State Committee for Scientific Research - grant No 5/PBZ-KBN-082/T08/2002.

## References

- [4] J.W.M.Vehof, P.H.M. Spuwen, J.A.Jensen, Bone formation in calcium-phosphate-coated titanium mesh, *Biomaterials* 21 (2000) 2003-2009.
- [5] P. Tambasco de Oliveira, A.Nanci, "Nanotexturing of titanium-based surfaces upregulates expression of bone sialoprotein and osteopontin by cultured osteogenic cells", *Biomaterials* 25 (2004) 403-413.
- [6] M.Lewandowska, H.Garbacz, B.Polak, W.Fabianowski, M.Lewandowska-Szumiał: "Modyfikacje powierzchni siateczek tytanowych przeznaczonych na implanty" *Inżynieria Biomateriałów*. 38-43 (2004) 60-62.

## HYDROLITYCZNA I ENZYMATYCZNA DEGRADACJA DEGRADATION OF POLY-(GLYCOLIDE-CO-L-LACTIDE)

ELŻBIETA PAMUŁA, MAGDALENA M. RUTKOWSKA

AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLAND  
EPAMULA@AGH.EDU.PL

### Abstract

Copolymer of glycolide and L-lactide (PGLA) has been submitted to degradation in phosphate buffered saline (PBS) and in PBS containing trypsin. The evolution of wettability during degradation was studied by sessile drop while topography and morphology were evaluated by atomic force microscopy and optical microscopy. It was shown that PGLA foils lose their integrity within 6 weeks, due to 'in bulk' degradation. Trypsin seems not to accelerate degradation of PGLA. [*Engineering of Biomaterials, 47-53,(2005),49-52*]

### Introduction

Copolymers of glycolide and L-lactide have received considerable attention as degradable devices for medicine, drug delivery, and scaffolds for tissue engineering applications [1]. Such materials degrade through simple hydrolysis of polyester bonds, however it was shown that presence or enzymes isolated from fungi or bacteria can accelerate their degradation time, for example proteinase K preferentially degrades L-lactyl units of poly(lactides) [2-3]. It was recently shown that trypsin can influence degradation of porous scaf-