

# METODY NAKŁADANIA POWŁOK APATYTOWYCH NA STOPOWE PODŁOŻE TYTANOWE

M. ROKITA, A. STOCH, A. ADAMCZYK, E. DŁUGOŃ, A. BROŻEK

WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI  
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA W KRAKOWIE  
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW  
E-MAIL: ROKITA@AGH.EDU.PL

## Streszczenie

W pracy zaprezentowano różne sposoby nakładania warstw apatytowych na metaliczne podłoże stopowe Ti6Al4V. Opracowano metodykę nakładania warstw apatytowych metodą elektroforezy. Stosowano również sposoby wywodzące się z metody zol-żel; nanoszenie na podłoże stopowe powłok z wodnych roztworów prostych soli nieorganicznych (o składzie umożliwiającym powstanie, w wyniku reakcji chemicznych, fosforanów wapnia) z dodatkiem żelatyny zwierzęcej lub roślinnej oraz nakładanie powłok z zoli na bazie TEOS-u i TEOT-u, wzbogaconych cząstkami hydroksyapatytu (syntetycznego i naturalnego). Opracowano warunki obróbki termicznej otrzymanych powłok.

Wszystkie próbki poddano badaniom pod mikroskopem scanningowym z przystawką do mikroanalizy rentgenowskiej oraz badaniom spektroskopowym i rentgenowskim. Badania powtórzono dla całej serii próbek po termostatowaniu w sztucznym osoczu (SBF). Zaobserwowano narastanie apatytu na powierzchni próbek w wyniku termostatowania, potwierdzając przydatność tego typu powłok do modyfikacji podłoża implantów metalicznych.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),187-190]

## Wstęp

Stop Ti6Al4V jest wykorzystywany w jako materiał na implanty o bardzo dobrych właściwościach mechanicznych. Ze względu na to, że zadawalającym właściwościom mechanicznym stopu nie towarzyszy bioaktywność materiału, korzystna jest modyfikacja powierzchni implantów w postaci powłok. Powłoki mają z jednej strony w pewnym stopniu izolować metaliczny, nieprzyjazny żywej tkance implant, z drugiej – stwarzać szansę lepszego zakotwiczenia implantu w tkance [1]. Zadania takie mają szansę wypełniać powłoki otrzymywane niskotemperaturowymi metodami takimi jak zol-żel, współstrącanie z roztworu (zolu) czy elektroforeza. Dobrze dobrana powłoka powinna przede wszystkim umożliwiać narastanie na jej powierzchni faz o składzie zbliżonym do składu żywej tkanki, a więc fosforanów wapnia (apatytów).

## Preparatyka

Po uprzednim odtłuszczeniu i wytrawieniu blaszki ze stopu Ti6Al4V pokryto dwukrotnie podwarstwą zolu tytanowo-krzemionkowo ( $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$  i  $\text{Ti}(\text{OC}_3\text{H}_7)_4$  w etanolu), charakteryzującą się dobrą przyczepnością do podłoża [2]. Na blaszki pokryte utwardzoną termicznie podpowłoką nakładano warstwy właściwe.

**Powłoki z wodnych roztworów prostych soli nieorganicznych z dodatkiem żelatyny zwierzęcej lub roślinnej**

Zol do nanoszenia powłok apatytowych [3, 4] sporzą-

# APATITE LAYERS ON Ti6Al4V BASE – TECHNIQUES OF COVERING

M. ROKITA, A. STOCH, A. ADAMCZYK, E. DŁUGOŃ, A. BROŻEK

FACULTY OF MATERIAL SCIENCE AND CERAMICS  
AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY  
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW  
E-MAIL: ROKITA@AGH.EDU.PL

## Abstract

Different techniques of apatite layers depositing on the titanium alloy Ti6Al4V are presented. The method of apatite layers formation by electrophoresis was worked out. Two ways derived from of sol-gel method were used. The layers on the alloy base were deposited from inorganic salt aqua solution (the composition of solution enabled the calcium phosphate formation as the result of chemical reaction) with the addition of animal or plant gelatine as well as from TEOS and TEOT sol with natural or synthetic hydroxyapatite particles. The conditions of heat treatment of obtained layers were worked out.

All the samples were examined using scanning microscopy with EDX as well as infrared spectroscopy and XRD equipment, before and after soaking in simulated body fluid (SBF). The apatite growing on the samples surface during soaking process was observed. This effect confirms usability of obtained materials for implant base materials modification.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),187-190]

## Introduction

The implants from titanium alloy Ti6Al4V have very good mechanical properties. However this material is not bioactive one, therefore the modification of base surface in the form of layers is desired. The layer should isolate metal material from alive tissue and improve bone fixation [1]. The layers obtained using low temperature methods like sol-gel, co-precipitation from solution (sol) or electrophoresis can perform the above conditions. The well chosen layer should enable the surface growing of calcium phosphates (apatites), as the phases of similar composition as alive tissue.

## Experimental

After the degreasing and pickling process the Ti6Al4V alloy samples were twice covered by titanium silica gel sublayer ( $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$  and  $\text{Ti}(\text{OC}_3\text{H}_7)_4$  in ethanol). This sublayer is characterised by good adhesion to the base surface [2]. The proper layers were deposited no thermal heated sublayer.

**The layers from inorganic salt aqua solution with the addition of animal or plant gelatine**

The sol for depositing of apatite layer [3,4] was prepared from aqua solutions of  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  and  $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  with agar or gelatine. pH of sols were stabilized using  $\text{NH}_4\text{OH}$ . The solutions were prepared keeping the proper molar ratio of Ca/P not less then 1,67 (like in hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ). The layers were deposited by dipping and heated in argon in temperature of 750°C.

**The layers from hydroxyapatite (HAp) suspension**

Introducing the HAp particles to the layer should active its biological properties [5]. Synthetic hydroxyapatite (Ele-

dzono z wcześniej przygotowanych roztworów wodnych  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  i  $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  oraz agaru lub żelatyny, pH zoli ustalano przy pomocy  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Roztwory wyjściowe sporządzono tak by zachować odpowiedni stosunek molarowy Ca/P nie mniejszy niż 1,67 (jak w hydroksyapatycie  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ). Warstwy były nakładane metodą zanurzeniową, a następnie wygrzewane w argonie w temperaturze  $750^\circ\text{C}$ .

#### Powłoki z zawiesin zawierających drobne cząstki hydroksyapatytu (HAp)

Wprowadzone na powłokę cząstki HAp mają za zadanie biologiczne uaktywnienie powłoki [5]. Stosowano hydroksyapatyt handlowy (Elektromet – Rzeszów) oraz naturalny, uzyskany z kości zwierzęcych (metoda prof. Haberko, AGH, Kraków). Uzyskiwano powłoki hydroksyapatytowe metodą elektroforezy z zawiesiny HAp w etanolu. Regulowano grubość powłoki poprzez dobór czasu osadzania i parametrów elektrycznych elektroforezy. Otrzymano również powłoki tytanowo - krzemianowo - hydroksyapatytowe stosując zawieszynę cząstek HAp w zolu tytanowo - krzemianowym. Różne stężenia zolu oraz proporcji zol/HAp, jak również wielokrotne nakładanie, pozwoliły na otrzymanie powłok o zróżnicowanej grubości.

#### Termostatowanie w SBF

Wszystkie próbki pokryte powłokami termostatowano w SBF (osocze syntetyczne o składzie zbliżonym do osocza krwi ludzkiej) w temperaturze  $37^\circ\text{C}$  przez okres 14 oraz 30 dni (wymiana SBF co 7 dni).

#### Badania powłok

Badania rentgenowskie (XRD) powłok przeprowadzono przy pomocy dyfraktometru X'Pert firmy Philips (promieniowanie monochromatyczne o długości fali  $1.5418\text{Å}$ , odpowiadające linii  $\text{CuK}_\alpha$ ). Badania powłok przeprowadzono w dwóch wariantach: badając powłokę nałożoną na podłoże metodą proszkową lub GID (zespół optyki wiązki równoległej) lub badając sam materiał zdrapany z powłoki metodą proszkową.

Przy pomocy spektrometrów fourierowskich BioRad: FIR-FTS60v, MIR-FTS60v, Excalibur z mikroskopem UMA500, NIR-MIR FTS6000 z przystawką ramanowską i laserem Nd-YAG wykonano badania spektroskopowe zarówno stosowanych zoli i zawiesin (po uprzednim wysuszeniu bądź wygrzaniu) jak i powłok na podłożu metalicznym oraz materiału zdrapanego z powłok.

Przeprowadzono również badania z zastosowaniem mikroskopu scanningowego z przystawką do mikroanalizy rentgenowskiej (FEI/Philips ESEM XL30 TMP z EDX-EDAX).

## Wyniki i dyskusja

Analiza rentgenowska otrzymanych powłok (metoda GID) wykazała, że są one słabokrystaliczne z domieszką fazy amorficznej, przy czym powłoki otrzymane odmiennymi technikami różnią się od siebie zarówno krystalicznością, jak i składem fazowym. Na RYS.1 przedstawiono przykładowe rentgenogramy powłok, po termostatowaniu w SBF. Powłoka apatytowa w agar-agar po 30-dniowym termostatowaniu w SBF jest dosyć gruba i szczelna, o czym świadczy niska intensywność pików pochodzących od podłoża (mimo wysokiej krystaliczności stopu  $\text{TiAl6V4}$ ). Charakteryzuje się ona dużą zawartością hydroksyapatytu. Ze względu na specyfikę badania cienkich powłok na podłożu metalicznym nie można wykluczyć obecności w powłoce innych faz, lecz zawartość hydroksyapatytu jest tu zdecydowanie dominująca. Powłoka z cząstek HAp w zolu tytanowo-krzemianowym po 10 dniowym termostatowaniu w SBF jest zdecydowanie bardziej amorficzna (o czym świadczy charakterystyczne podniesienie tła rentgenogramu w zakresie  $20\text{--}25^\circ$ ). Na pod-

ktromet – Rzeszów, Poland) as well as natural one, prepared from animals bones (prof. Haberko method, UST-AGH, Kraków, Poland) was used. The layers were obtained by electrophoresis from ethanol Hap suspension. The thickness of layer was controlled by selecting of depositing time and electric parameters of electrophoresis process. Besides the titanium – silica – hydroxyapatite layers were obtained using HAp suspension in titanium – silica sol. Different concentrations of sol and proportion sol/HAp as well as multiple deposition process enabled to obtain the different thickness of layers.

#### Soaking in SBF

All the samples were soaked in simulated body fluid (SBF) in temperature of  $37^\circ\text{C}$  during 14 and 30 days (changing of SBF every 7 days).

#### Research methods

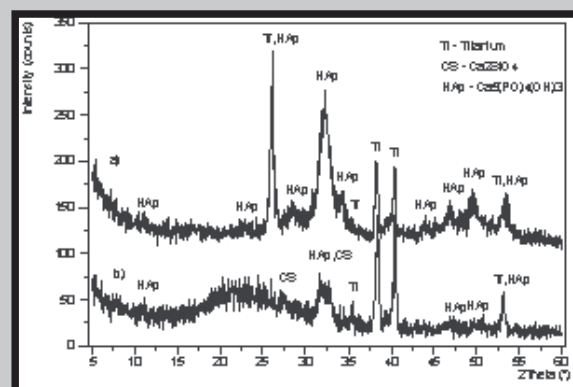
The X-ray diffraction measurements were made using X'Pert Philips and FPM Seifert XRD7 diffractometer (monochromatic radiance with wave length of  $1.5418\text{Å}$  -  $\text{CuK}_\alpha$  line). The two variants of measurements were realised: for the layer on the base material (GID and powder method) and for the powdered layer scraped from the base (powder method).

The infrared spectroscopy measurements were performed using BioRad fourier diffractometers: FIR-FTS60v, MIR-FTS60v, Excalibur with microscope UMA500 and NIR-MIR FTS6000 with Raman equipment and Nd-YAG laser.

The morphology, homogeneity and estimated chemical microanalysis were made using FEI/Philips ESEM XL30 TMP with EDX-EDAX scanning microscope with X-ray microanalyse detector.

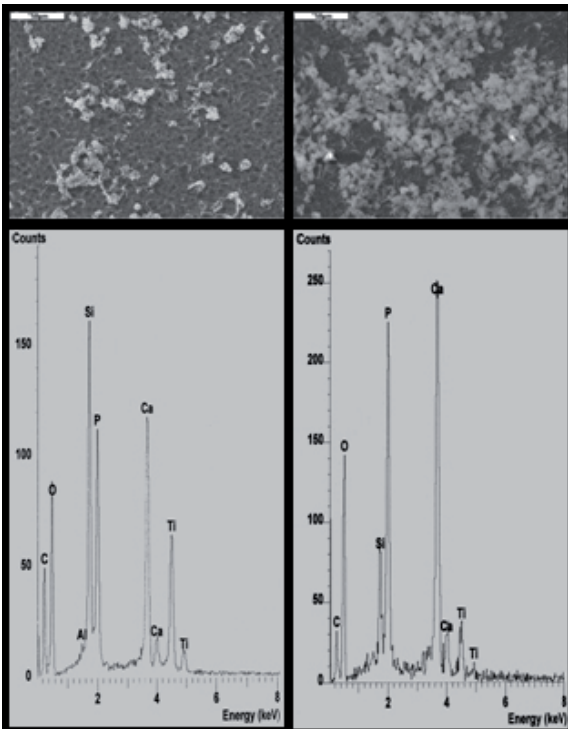
## Results and discussion

The XRD analysis of obtained layers (GID method) showed their fine – crystallinity or even amorphous character. The layers obtained using different techniques have different crystallinity and phase composition. The exemplary XRD patterns of layers after soaking in SBF are presented on FIG. 1. The apatite-agar-agar layer - after 30 days of SBF soaking is rather thick and hermetic. We can observe the low intensity if peaks characteristic for base material although the high crystallinity of  $\text{Ti6Al4V}$  alloy. There is rather high



RYS.1. Rentgenogramy powłok uzyskane techniką GID: a) powłoka apatytowa w agar-agar po 30-dniowym termostatowaniu w SBF, b) powłoka z cząstek HAp w zolu tytanowo-krzemianowym po 10 dniowym termostatowaniu w SBF.

FIG.1. XRD patterns of layers: a) apatite-agar-agar layer - after 30 days of soaking in SBF, b) HAp-titanium-silica sol layer after 10 days of soaking in SBF.



**RYS.2. Morfologia powierzchni oraz analiza EDS warstwy apatytowej w żelatynie przed (a) i po (b) 30-dniowym termostataowaniu w SBF.**  
**FIG.2. SEM morphology and EDS analysis of apatite – gelatine layers before and after 30 days of soaking in SBF.**

stawie analizy rentgenogramu można stwierdzić, że fazami krystalizującymi w tej powłoce są hydroksyapatyt i prawdopodobnie niewielkie ilości krzemianu wapnia  $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$ . Dla poszczególnych powłok porównywano dyfraktogramy próbek przed i po termostataowaniu oraz dyfraktogramy wysuszonych zoli, w celu stwierdzenia, czy obecność fazy HAp jest związana z termostataowaniem próbek w SBF. W celu potwierdzenia narastania na otrzymanych powłokach hydroksyapatytu w trakcie termostataowania w SBF przeprowadzono obserwacje próbek pod mikroskopem scanningowym oraz mikroanalizę EDS. Obecność na zdjęciu jasnych wytrąceń (RYS.2), w których składzie przeważa wapń i fosfor (przy czym zawartość wapnia powinna być wyższa niż fosforu) świadczy o obecności apatytu w próbkach. Obserwacje próbek przed i po cyklu termostataowania potwierdzają wzrost zawartości hydroksyapatytu. Badaniom spektroskopowym w podczerwieni z zakresu MIR poddano zarówno wysuszone zole (RYS.3) (technika absorpcyjna) jak i powłoki na podłożu metalicznym (technika transmisyjna). O narastaniu apatytu w warstwie świadczy wzrost intensywności pasm przy ok.  $565$  i  $600\text{ cm}^{-1}$ . W przypadku apatytu węglanowego na widmie zaznaczają się dodatkowo pasma w zakresie  $1380\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$ .

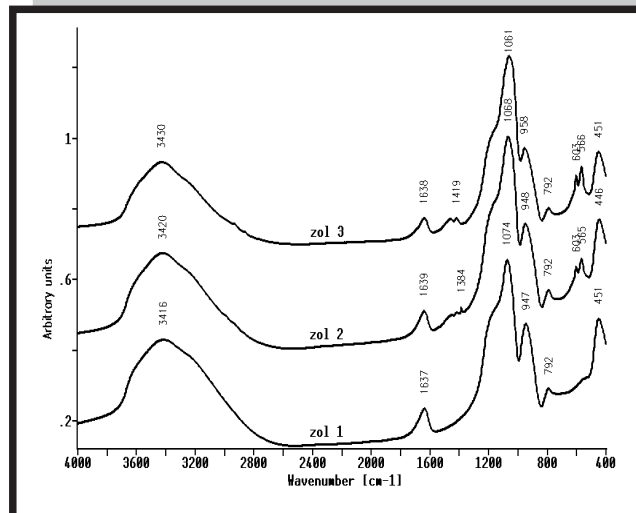
## Wnioski

1. Równoczesne zastosowanie kilku metod badawczych (XRD, MIR, SEM z EDX) pozwala nie tylko na stwierdzenie obecności apatytu (bądź hydroksyapatytu) w badanych warstwach, ale również na określenie, czy w trakcie termostataowania w SBF nastąpił przyrost fazy apatytowej na powierzchni próbek.
2. Intensywne narastanie apatytu obserwowano w przy-

contents of hydroxyapatite on this layer. We can not exclude the presence of some other phases in this case, because of the specific character of XRD analysis of layers on metal base, but Hap phase dominate in this layer. The layer from HAp – titanium - silica sol after 10 days of soaking is more amorphous then the first one (see characteristic background rise in the range of  $20\text{--}25^\circ$ ). On the base of XRD analysis we can state that the layer contains HAp phase and probably the little amount of calcium silicate  $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$ . The XRD patterns of analogous samples before and after soakings and XRD patterns of dried sols were compared to state if the presence of HAp in layers is connected with SBF soaking process.

In order to confirm the growing of HAp during SBF soaking, the scanning microscope observations and EDS microanalysis were performed. The presence of light inclusions (FIG.2 - SEM morphology), where the contents of calcium and phosphorus dominate (the amount of calcium should be higher than phosphorus –FIG.2 – EDS analysis), testify to presence of apatite in samples. Observations of samples before and after SBF soaking confirm the growth of hydroxyapatite amount.

The dried sols (FIG.3) (absorbance technique) and layers on alloy base (transmission technique) were examined using infrared spectroscopy in the MIR region. The growth of bands intensity at about  $565$  and  $600\text{ cm}^{-1}$  confirms the growth of apatite amount. In case of carbonate apatite the presence of bands in range of  $1380\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$  can be observed additionally.



**RYS.3. Widma w podczerwieni (MIR) stosowanych zoli po wysuszeniu: zol 1 – zol tytanowo krzemionkowy, zol 2–zol tytanowo krzemionkowy wzbogacony zawiesiną HAp (1:1), zol 3–zol tytanowo krzemionkowy wzbogacony zawiesiną HAp (1:2).**

**FIG.3. MIR Spectra of dried sols: zo1 1- titanium silica sol, sol 2 – titanium silica sol with HAp suspension (1:1), sol 3 – titanium silica sol with HAp suspension (1:2).**

## Conclusion

1. The complementary use of several research methods (XRD, MIR, SEM z EDX) enable not only to confirm the presence of apatite (or hydroxyapatite) in examined layers. It allows to confirm the growth of apatite during SBF soaking process, too.

padku powłok z wodnych roztworów soli nieorganicznych z dodatkiem żelatyny zwierzęcej lub roślinnej. Najślabszy wzrost hydroksyapatytu następował na powłokach otrzymanych na drodze elektroforezy.

3. Hydroksyapatyt naturalny (najprawdopodobniej ze względu na lepsze rozwinięcie powierzchni, niższą krystaliczność i zawartość grup węglanowych) jest, w przypadku powłok o oczekiwanych własnościach bioaktywnych, dodatkiem korzystniejszym niż hydroksyapatyt syntetyczny.

4. W dalszych badaniach wydaje się celowe zwiększenie stosunku C:P w powłokach z żelatyną oraz zwiększenie zawartości HAp w stosowanych zawiesinach.

## Podziękowania

Praca jest finansowana z grantu KBN nr 3 T08C 054 30.

## Piśmiennictwo

- [1] G. L. de Lange K. Donath, *Biomaterials* 10 (1989) 121
- [2] T. Hayashi, T. Yamada, H. Saito, *J. Mat. Sci.* 18 (1983) 3137.
- [3] K. S. Tenhuisen, P. W. Brown, *J. Biomol. Mater. Res.* 28 (1994) 27.

## BADANIA WPŁYWU DŁUGOTRWAŁEGO KONTAKTU Z TKANKĄ LUDZKĄ NA ZACHOWANIE BIOMATERIAŁÓW AUSTENITYCZNYCH

STANISŁAW RYMKIEWICZ, BEATA ŚWIECZKO-ŻUREK,  
PIOTR TKACZYK

POLITECHNIKA GDAŃSKA, WYDZIAŁ MECHANICZNY,  
KATEDRA INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ  
UL. G. NARUTOWICZA 11/12, 80-952 GDAŃSK,  
E-MAIL: SRYMKIEW@PG.GDA.PL

[*Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),190-192*]

## Wprowadzenie

Badania opierają się na studium pojedynczego przypadku dwóch wkrętów ze stali austenitycznej, które były implantowane do organizmu człowieka jako element łączący złamaną kość piszczelową. Oba wkręty zostały wkręcone w jednakowych warunkach, jednakową metodą w jednakowym czasie, odległość pomiędzy śrubami wynosiła około 3 cm. Zostały umieszczone w ludzkim organizmie na okres 1 roku, po którym miały zostać wyjęte. Na skutek komplikacji życiowej nosiciela wkręty te zostały usunięte dopiero podczas zabiegu po okresie 8 lat.

Podczas zabiegu usuwania implantów pierwszy z wkrętów udało się wykręcić bez większych problemów, drugi natomiast stawiał wyraźny opór i nie dało się go wykręcić przy użyciu zwykłego wkrętaka. Czas wykręcanie pierwszego implantu wyniósł minutę, drugiego natomiast 40 minut.

Stop austenityczny z którego były wykonane implanty jest podawany w literaturze jako okresowo bezpieczny (okres implantacji nie powinien przekraczać 30 dni) [1-5].

Stale austenityczne przeznaczone na implanty mają ściśle ustalone składy chemiczne, które zapewniają im para-

2. The intensive growth of apatite was observed in case of the layers from inorganic salt aqua solution with the addition of animal or plant gelatine. The poorest growth of HAp was observed in case of layers obtained using electrophoresis method.

3. Natural hydroxyapatite (probably because of better surface development, lower crystallinity and carbonate groups contents) is, in case of layers of potential bioactive properties, the more advisable addition than synthetic HAp

4. The increase of C/P ratio in case of layers with gelatine and amount of HAp in using suspensions is planned in further experiments.

## Acknowledgements

This work is supported By Polish Committee for Scientific Research under grant no. 3 T08C 054 30.

## References

- [4] A. Stoch, W. Jastrzębski, E. Długoń, W. Lejda, B. Trybalska, G. J. Stoch, A. Adamczyk, *J. Mol. Struct.* 744-747 (2005) 633
- [5] M. Rokita, A. Brożek, M. Handke *J. Mol. Struct.* 744-747 (2005) 589

## THE INFLUENCE OF DURABLE CONTACT ON HUMAN TISSUE ON AUSTENITIC BIOMATERIALS BEHAVIOUR

STANISŁAW RYMKIEWICZ, BEATA ŚWIECZKO-ŻUREK,  
PIOTR TKACZYK

THE DEPARTMENT OF MECHANICAL ENGINEERING,  
GDANSK UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,  
80-952 GDANSK, NARUTOWICZA 11/12,  
E-MAIL: SRYMKIEW@PG.GDA.PL

[*Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),190-192*]

## Introduction

The research concerns two screws of austenitic steel, which were implanted into human body as a link joining the broken tibia bone. Both screws were tightened in the same conditions, in the same manner and time; the distance between the screws was about 3 cm. They were implanted into a human body for a year and then they were to be removed. However the screws remained in the body for 8 years.

During the intervention one of them came out immediately but the other turned out irremovable with a common screwdriver. The first implant was removed in a minute and the other in 40 minutes.

The austenitic alloy used for the implants is considered relatively safe (the time of remaining in the body should not be longer than 30 days) [1-5].

The austenitic steels used for implants have a strictly defined chemical composition, which results in paramagnetic structure. The mechanical properties of the steels can be formed with cold plastic treatment making by strain hardening [6 and 7]. The criteria of chemical components are contained in standards in accordance with the ASTM Medical Committee