

# POLEPSZENIE WŁAŚCIWOŚCI KOMPOZYTÓW KRÓTKIE WŁÓKNA Ca-P/POLILAKTYD POPURZECZ MODYFIKACJĘ POWIERZCHNI WŁÓKIEŃ KWASEM LAURYLOWYM

MONIKA BIERNAT<sup>1\*</sup>, ZBIGNIEW JAEGERMANN<sup>1</sup>,  
PAULINA TYMOWICZ-GRZYB<sup>2</sup>, ZDZISŁAW WIŚNIEWSKI<sup>1</sup>

INSTYTUT CERAMIKI I MATERIAŁÓW BUDOWLANYCH,  
ODDZIAŁ CERAMIKI I BETONÓW,  
UL. POSTĘPU 9, 02-676 WARSZAWA

<sup>1</sup> ZAKŁAD BIOMATERIAŁÓW,

<sup>2</sup> LABORATORIUM BADAWCZE,

\*E-MAIL: M.BIERNAT@ICIMB.PL

## Streszczenie

Kompozyty polimerowo-ceramiczne są powszechnie stosowane w medycynie regeneracyjnej, zwłaszcza w ortopedii, gdyż istnieje wiele metod modyfikowania ich właściwości w zależności od przewidywanego zastosowania. Jedną z nich jest wypełnianie matrycy polimerowej wypełniaczami, które nadają kompozytom pożądane właściwości mechaniczne. Bardzo ważny jest wówczas dobór rodzaju i ilości wypełniacza, a także środka poprawiającego adhezję pomiędzy wypełniaczem a polimerem. Wypełniaczem poprawiającym wytrzymałość mechaniczną mogą być krótkie włókna (whiskersy) apatytowe (Ca-P). Jako środki proadhezyjne do materiałów implantacyjnych dobiera się natomiast związki nietoksyczne, wzmacniające połączenie polimer-wypełniacz. Przy wyborze bierze się również pod uwagę inne cechy, korzystne dla kompozytu, np. właściwości przeciwbakteryjne.

W pracy przedstawiono wyniki badań dotyczące wpływu modyfikacji powierzchni włókien Ca-P kwasem laurylowym (LA) na właściwości kompozytów, uzyskanych metodą prasowania na gorąco. Kwas laurylowy zastosowano w celu poprawy chemicznej kompatybilności pomiędzy włóknami a matrycą polimerową, a wytypowano go ze względu na jego nietoksyczność i właściwości przeciwbakteryjne. W celu przygotowania kompozytów zmieszano polilaktyd PLA - RESOMER<sup>®</sup> LR 706 S (Evonik) i zsyntezowane trójfazowe włókna Ca-P (niezmodyfikowane i zmodyfikowane LA). Właściwości otrzymanych kompozytów określano poprzez pomiar wytrzymałości na rozciąganie oraz pomiar kąta zwilżania. Analizowano również obrazy mikroskopowe przełamów.

Uzyskane wyniki badań wykazują, że modyfikacja powierzchni włókien Ca-P kwasem laurylowym pozwala na uzyskanie lepszego połączenia międzyfazowego pomiędzy tymi włóknami a matrycą z polilaktytu. W rezultacie daje to lepszą wytrzymałość na rozciąganie niż w przypadku kompozytów z udziałem włókien niezmodyfikowanych. Istotne jest również, że zastosowanie kwasu laurylowego jako modyfikatora powierzchni włókien pozwala uzyskać kompozyty o zwiększonej hydrofilowości, co ma znaczenie dla przyłączania i wzrostu komórek.

**Słowa kluczowe:** kompozyty, włókna fosforanowo-wapniowe, kwas laurylowy, modyfikacja powierzchni

[Inżynieria Biomateriałów 145 (2018) 20-29]

# IMPROVEMENT OF SHORT Ca-P WHISKERS/POLYLACTIDE COMPOSITES BY SURFACE MODIFICATION WITH LAURIC ACID

MONIKA BIERNAT<sup>1\*</sup>, ZBIGNIEW JAEGERMANN<sup>1</sup>,  
PAULINA TYMOWICZ-GRZYB<sup>2</sup>, ZDZISŁAW WIŚNIEWSKI<sup>1</sup>

INSTITUTE OF CERAMICS AND BUILDING MATERIALS,  
CERAMIC AND CONCRETE DIVISION,  
9 POSTĘPU ST, 02-676 WARSAW, POLAND

<sup>1</sup> DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,

<sup>2</sup> RESEARCH LABORATORY,

\*E-MAIL: M.BIERNAT@ICIMB.PL

## Abstract

Polymer-ceramic composites are widely used in regenerative medicine, especially in orthopedics, as there are many methods of modifying their properties depending on the intended use. One of them is filling the polymer matrix with fillers, giving the composite adequate mechanical strength. It is very important then to choose the type and amount of the filler, as well as the agent improving the adhesion between filler and polymer. Short apatite whiskers (Ca-P) are interesting fillers improving mechanical strength. As the proadhesive agents for implant materials, non-toxic compounds which strengthen the polymer-filler connection are chosen. Other features that are beneficial to the composite, e.g. antibacterial properties, are also contemplated in the selection.

The paper presents results of research on the effect of Ca-P whiskers surface modification with lauric acid (LA) on the properties of composites obtained by hot pressing. Lauric acid was used to improve the chemical compatibility between whiskers and polymer matrix, and it was selected due to antibacterial properties and non-toxicity. The polylactide PLA - RESOMER<sup>®</sup> LR 706 S (Evonik) and the synthesized triphasic Ca-P whiskers (unmodified and LA modified) were mixed to prepare the composites. The properties of the obtained composites were determined by measuring the tensile strength and the contact angle. Microscopic images of fractures were also analyzed.

The obtained tests results show that modification of the Ca-P whiskers surface with lauric acid allows to obtaining a better interfacial connection between these whiskers and the polylactide matrix. It results in better tensile strength than in the case of composites with unmodified whiskers. It is also important that the use of lauric acid as a surface modifier of the whiskers allows to obtain composites with increased hydrophilicity, which is important for the attachment and growth of cells.

**Keywords:** composites, calcium-phosphate whiskers, lauric acid, surface modification

[Engineering of Biomaterials 145 (2018) 20-29]

## Wprowadzenie

Poli-L-laktyd (PLLA) to biodegradowalny polimer szeroko stosowany w medycynie, zwłaszcza w chirurgii ortopedycznej (płytki, wkręty, gwoździe) [1], a także w inżynierii tkankowej (rusztowaniach do wzrostu komórek) [2]. Niestety PLLA ulega degradacji do kwaśnych monomerów, które mogą powodować reakcje zapalne i alergiczne [3]. Ponadto właściwości mechaniczne PLLA są często niewystarczające dla niektórych, bardziej wymagających zastosowań. Wiadomo również, że PLLA jest hydrofobowy, co utrudnia wysiewanie, przyłączanie, proliferację i różnicowanie komórek.

W celu poprawy właściwości mechanicznych i zapewnienia lepszego środowiska do przyłączania i proliferacji komórek, do kompozytów PLLA często dodawane są jako wypełniacze fosforany wapnia (Ca-P). Kompozyty takie charakteryzują się zwykle lepszą osteokondukcyjnością niż czysty PLLA [4]. Materiały na bazie Ca-P są biokompatybilne i bioaktywne, a ich zasadowy charakter neutralizuje kwaśne produkty degradacji polimerów [5-7]. Jako obiecujące materiały do wzmocnienia kompozytów polimerowych brane są często pod uwagę włókna hydroksyapatytowe (HA) [8] i lepiej wchłanialne dwu- lub trójfazowe mieszaniny fosforanów wapnia [9].

Aby zapewnić maksymalne wzmocnienie kompozytów składających się z hydrofobowej matrycy polimerowej i hydrofilowych wypełniaczy apatytowych, powierzchnię tych wypełniaczy często poddaje się modyfikacji. Pozwala to na zwiększenie adhezji powierzchniowej i chemicznej kompatybilności pomiędzy wypełniaczem i matrycą, co z kolei pozwala uzyskać lepsze właściwości mechaniczne kompozytu. Wzmocnienie wzajemnego oddziaływania pomiędzy wypełniaczem a matrycą polimerową jest bardzo ważne przy stosowaniu kompozytów do implantacji. Warstwa międzyfazowa jest bowiem pierwszą warstwą ulegającą degradacji, co powoduje łatwe odłączenie wypełniacza od matrycy, a tym samym zmniejszenie wytrzymałości mechanicznej implantu [10].

Do modyfikacji powierzchni wypełniaczy nieorganicznych stosuje się różne związki, takie jak silanowe czynniki sprzęgające [8, 11-13], izocyjaniiny [14], polikwasy [15] i inne polimery [16]. Niektóre z nich jednak nie mogą być stosowane do materiałów dla zastosowań medycznych ze względu na ostrą toksyczność przy wysokim stężeniu [11]. Biorąc pod uwagę powyższe dane, wciąż poszukuje się nowych, nietoksycznych związków, które mogłyby działać jako promotory adhezji i wzmacniać połączenie polimer-wypełniacz w kompozytach. Dodatkową zaletą materiałów w zastosowaniach implantacyjnych byłyby również właściwości przeciwbakteryjne, które zapobiegałyby szkodliwym skutkom ubocznym, w tym zapaleniom bakterijnym.

Jako modyfikator powierzchni można rozpatrywać łatwo dostępny, naturalny nasycony kwas tłuszczowy występujący w orzechach kokosowych, jakim jest kwas laurylowy (LA). LA występuje również w mleku matki, gdzie jest bardzo ważnym elementem budowania odporności rozwijającego się organizmu [17]. Jest uznawany za nietoksyczny i bezpieczny zarówno w zastosowaniu wewnętrznym, jak i zewnętrznym. LA wykazuje ograniczoną cytotoxyczność w zastosowaniach biomedycznych *in vitro* i *in vivo* [18, 19]. Zgodnie z wcześniejszymi badaniami kwas laurylowy wykazuje aktywność przeciw szkodliwym bakteriom, dlatego jest stosowany w kosmetykach i dermatologii. Może on skutecznie hamować adhezję bakterii przeciwko *P. acnes*, *S. aureus* i *S. epidermidis* [20].

## Introduction

Poly-L-lactide (PLLA) is a biodegradable polymer widely used in medicine, especially for orthopedic surgery (plates, screws, nails) [1] as well as scaffolds for tissue engineering [2]. Unfortunately, PLLA degrades to acidic monomers which may cause inflammatory and allergic reactions [3]. Furthermore, mechanical properties of PLLA are often insufficient for some applications. It's also known that PLLA is hydrophobic, what impedes cell seeding, attachment, proliferation and differentiation.

In order to improve mechanical properties and to provide a better environment for cell attachment and proliferation, calcium-phosphates (Ca-P) are often added into PLLA composites as fillers. Such composites usually have better osteoconductivity than pure PLLA [4]. Ca-P based materials are biocompatible, bioactive and their basic nature neutralizes the acidic degradation products from the polymers [5-7]. Hydroxyapatite (HA) whiskers [8], and more resorbable bi- or triphasic calcium phosphate mixtures [9] are considered as promising reinforcement for polymeric composites.

To ensure maximum reinforcement of composites consisting of hydrophobic polymer matrix and hydrophilic apatite fillers, these fillers are often subjected to surface modification. It allows to increase the surface adhesion and chemical compatibility between the filler and the matrix, which in turn allows to obtain better mechanical properties of the composite. Enhancement of the interaction between filler and polymer matrix is very important when using composites for implantation. Interfacial layer is the first to undergo degradation, resulting in easy detachment of the filler from the matrix and thus a decrease in the mechanical strength of the implant [10].

Various compounds are used for the surface modification of inorganic fillers, such as silane coupling reagents [8, 11-13], organic isocyanates [14], polyacids [15] and polymers [16]. Some of them, however, cannot be used as modifying agents for medical applications due to their acute toxicity at high concentration [11]. Considering the above data, new compounds with no toxicity that could act as adhesion promoters and strengthen the polymer-filler connection in the composites are still being sought. An additional advantage of such compounds in implantation applications could be also their antibacterial properties, what prevent deleterious side effects, including bacteria-induced inflammation.

Lauric acid (LA) as an easily available, natural saturated fatty acid found in coconuts could be considered as surface modifier. LA is also found in breast milk, where it is a very important element in building the immunity of the developing organism [17]. It is recognized as non-toxic and safe in both internal and external use. LA shows limited cytotoxicity for biomedical applications *in vitro* and *in vivo* [18, 19]. According to previous studies, lauric acid has activity against harmful bacteria, therefore it is used in cosmetics and dermatology. LA could efficiently inhibit bacteria adhesion against *P. acnes*, *S. aureus* and *S. epidermidis* [20]. It is likely that LA kills gram-positive bacteria by separating their inner and outer membranes, resulting in the cytoplasmic disorganization of the bacterium [20]. LA inhibits also the growth of gram-negative bacteria, especially *Helicobacter* [21]. LA limits bacterial growth already at very low concentrations (ppm) [22, 23], and is also biodegradable.

LA zabija bakterie gram-dodatnie prawdopodobnie poprzez oddzielenie ich błony wewnętrznej i zewnętrznej, co prowadzi do cytoplazmatycznej dezorganizacji bakterii [20]. LA hamuje również wzrost bakterii gram-ujemnych, zwłaszcza *Helicobacter* [21]. LA ogranicza rozwój bakterii już przy bardzo niskich stężeniach (ppm) [22,23]. Ważną cechą w użyciu LA w kompozytach biodegradowalnych jest to, że sam ulega biodegradacji.

W niniejszej pracy, w celu przygotowania nowych biodegradowalnych kompozytów o ulepszonych właściwościach mechanicznych, zmieszano polilaktyd i trójfazowe włókna fosforanowo-wapniowe. Aby poprawić chemiczną kompatybilność pomiędzy włóknami a matrycą polimerową, powierzchnię tych włókien zmodyfikowano kwasem laurylowym (LA).

## Materialy i metody

### Materialy

Materialy wyjściowe obejmowały: dedykowany do celów medycznych (inżynieria tkankowa) polilaktyd PLA - RESOMER® LR 706 S (Evonik) będący kopolimerem poli(L-laktidu) i poli(D,L-laktidu) 70:30, kwas laurylowy (LA) o czystości 98% (Sigma-Aldrich), 99,8% etanol (Avantor), 99,5% dichlorometan (Avantor) stosowany jako rozpuszczalnik do polilaktidu oraz włókna fosforanowo-wapniowe (Ca-P) o składzie 72% hydroksyapatytu, 15% whitlockitu i 12% pirofosforanu wapnia, które zostały zsyntetyzowane w prostej metodzie, opisaną szczegółowo w naszej poprzedniej pracy [24].

### Modyfikacja powierzchni włókien Ca-P z użyciem kwasu laurylowego

Włókna dyspergowano ultradźwiękowo przez 20 min w wodzie dejonizowanej z wytworzeniem zawiesiny. Do zawiesiny włókien wlewo kwas laurylowy rozpuszczony w etanolu w temperaturze 60°C i zmieszano. Roztwór mieszało przez 1 godzinę, a następnie rozpuszczalnik odsączono. Włókna przemyto kilkakrotnie etanolem i wysuszono.

### Przygotowanie kompozytów włókna Ca-P /polilaktyd

Przez rozpuszczanie polilaktidu w dichlorometanie przez 24 godziny przygotowano 10% roztwór polimeru. Następnie do roztworów dodano różne ilości włókien Ca-P (zmodyfikowane LA lub niezmodyfikowane) w celu otrzymania zawiesiny o ustalonej proporcji włókien do polimeru. Zawiesiny wymieszano w celu homogenizacji, odlano do form, a następnie odparowano rozpuszczalnik. Przygotowano kompozyty o zawartości włókien Ca-P równej 10% wag., 20% wag. lub 30% wag. Następnie kompozyty w formach prasowano na gorąco w 195°C przez 1 min, stosując ciśnienie 0,7 MPa i przygotowano próbki do badań rozciągania i kąta zwilżania.

### Charakterystyka i badania właściwości mechanicznych

Za pomocą STEM zbadano morfologię włókien przed i po modyfikacji kwasem laurylowym. Metoda SEM została wykorzystana do badań morfologii powierzchni kompozytów i obserwacji próbek zerwanych podczas rozciągania. Obserwacje mikroskopowe przeprowadzono przy użyciu elektronowego mikroskopu skaningowego z emisją polową (Nova NanoSEM 200, FEI). Obrazowanie mikrostruktury próbki przeprowadzono w warunkach wysokiej próżni za pomocą detektora ETD przy napięciu przyspieszającym 10 kV.

In this research polylactide and triphasic calcium-phosphate whiskers were mixed to prepare new biodegradable composites with improved mechanical properties. In order to improve surface chemical compatibility between whiskers and the polymer matrix, the whiskers surface was modified with lauric acid (LA).

## Materials and Methods

### Materials

The starting materials included: dedicated for medical purposes (tissue engineering) polylactide PLA - RESOMER® LR 706 S (Evonik) characterized as poly(L-lactide-co-D,L-lactide) 70:30, lauric acid (LA) with 98% purity (Sigma-Aldrich), 99.8% ethanol (Avantor), 99.5% dichloromethane (Avantor) used as the solvent for polylactide, calcium-phosphate (Ca-P) whiskers with composition of 72% hydroxyapatite, 15% whitlockite and 12% calcium pyrophosphate, that were synthesized by one-pot single method described in detail in our previous study [24].

### Surface modification of Ca-P whiskers with lauric acid

The whiskers were dispersed ultrasonically for 20 min in deionized water to form a suspension. Lauric acid was dissolved in ethanol at 60°C, poured into the whiskers suspension and mixed. The solution was stirred for 1 h and then the solvent was filtered out. The whiskers were washed several times with ethanol and dried.

### Preparation of Ca-P whiskers/polylactide composites

A 10% solution of polylactide was prepared by dissolving the polymer in dichloromethane for 24 h. Then various amounts of Ca-P whiskers (LA modified or unmodified) were added to obtained suspensions with fixed proportions of whiskers to polymer. The suspensions were mixed to homogenize, casted into molds and then the solvent was evaporated. Composites with 10 wt.%, 20 wt.% or 30 wt.% of Ca-P whiskers were prepared. Then the composites in the molds were hot-pressed at 195°C for 1 min under the pressure of 0.7 MPa. Samples for tensile tests and contact angle tests were prepared.

### Characterization and mechanical properties tests

The morphology of the whiskers before and after modification by lauric acid was investigated by STEM. The SEM method was used for composites surface morphology investigations and observation of side view of tensile samples fractures. Microscopic observations were performed using a field emission scanning electron microscope (Nova NanoSEM 200, FEI). Imaging of sample microstructure was performed in high vacuum conditions using ETD detector at 10 kV accelerating voltage. Before the study, the samples were covered with conductive material (10 nm gold film) using a sputter coater, Leica EM SCD500. STEM detector was installed in SEM. In STEM observations, the whiskers were placed on a copper mesh and observed at 25 kV accelerating voltage.

Functional groups of samples were identified by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Measurements of absorbance were made using a TENSOR 27 (BRUKER) equipped with a DLaTGS detector. Analysis was performed in the wavelength range of 400 cm<sup>-1</sup> to 4000 cm<sup>-1</sup>. Samples were prepared as pressed tablet shape KBr molds.

The specific surface area for samples was measured by BET method using nitrogen adsorption at -195.8°C with Gemini VII instrument, Micromeritics. Before the measurements were taken, the samples were degassed for 1 h at 120°C.



Przed badaniem próbki pokryto materiałem przewodzącym (złota powłoka o grubości 10 nm) za pomocą napylarki Leica EM SCD500. Detektor STEM został zainstalowany w SEM. W obserwacjach STEM włókna umieszczono na miedzianej siatce i obserwowano przy napięciu przyspieszającym 25 kV.

Grupy funkcyjne próbek identyfikowano za pomocą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR). Pomiarów absorpcji dokonywano za pomocą TENSOR 27 (BRUKER) wyposażonego w detektor DLaTGS. Analizę przeprowadzono w zakresie długości fal od  $400\text{ cm}^{-1}$  do  $4000\text{ cm}^{-1}$ . Próbki przygotowano w postaci sprasowanych pastylek z KBr.

Powierzchnię właściwą dla próbek mierzono metodą BET z zastosowaniem adsorpcji azotu przy  $-195,8^\circ\text{C}$  z użyciem aparatu Geminii VII, Micromeritics. Przed pomiarem próbki zostały odgazowane przez 1 godzinę w temperaturze  $120^\circ\text{C}$ .

Kąt zwilżania kompozytów wyznaczano metodą osadzonej kropli. W skrócie,  $5\ \mu\text{l}$  kroplę deionizowanej wody osadzano za pomocą mikrostrzykawki na płaskiej powierzchni próbki, utrzymując tą samą minimalną wysokość igły nad badaną powierzchnią i kierunek ścinania jej wierzchołka. Po 5 sekundach od momentu nałożenia kropli na powierzchnię próbki wykonywano jej zdjęcie aparatem Canon EOS 450D. Oznaczenia kąta zwilżania dokonywano przez poddanie zdjęć kropli analizie za pomocą programu ZWCAD 2017, prowadząc styczną do konturu kropli w miejscu kontaktu z powierzchnią próbki. Każdą końcową wartość kąta zwilżania uzyskano przez uśrednienie sześciu wartości mierzonych w różnych punktach.

Właściwości mechaniczne kompozytów oceniano za pomocą prób rozciągania. Badania przeprowadzono na maszynie wytrzymałościowej Tinius Olsen w temperaturze pokojowej z prędkością rozciągania  $1\text{ mm/min}$ . Rozmiar próbek rozciągania wynosił  $20\text{ mm}$  długości,  $3\text{ mm}$  szerokości i  $2\text{ mm}$  grubości.

Wyniki badań kątów zwilżania i wytrzymałości na rozciąganie przedstawiono na wykresach zależności od rodzaju kompozytów z różną zawartością włókien Ca-P. Wyniki te przedstawiają wartości średnie  $\pm\text{SD}$  (odchylenie standardowe). Dla uzyskanych wyników kątów zwilżania i wytrzymałości na rozciąganie przeprowadzono analizę statystyczną. Statystycznie istotne różnice (wartość  $p$ ) dla dwóch niezależnych grup próbek oceniano za pomocą testu t-Studenta.

## Wyniki i dyskusja

Stosując wyżej opisaną procedurę modyfikacji, otrzymano włókna Ca-P modyfikowane LA. Na RYS. 1 przedstawione są widma FTIR kwasu laurylowego i włókien Ca-P przed i po modyfikacji. Na RYS. 1a pasma absorpcji przy liczbie falowej  $565, 609, 1033, 1093\text{ cm}^{-1}$  przypisane do drgań zginających i rozciągających grup fosforanowych  $\text{PO}_4^{3-}$  [25], pasma przy  $729$  i  $1215\text{ cm}^{-1}$  przypisane grupom  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  w pirofosforanie wapnia [26,27] i dwa pasma absorpcji przy  $945$  i  $973\text{ cm}^{-1}$  przypisane do whitlockitu [25], potwierdzają skład trójfazowych włókien Ca-P. RYS. 1c przedstawia charakterystyczne pasma kwasu laurylowego. Pasma absorpcji przy  $2850$  i  $2919\text{ cm}^{-1}$  odpowiadają odpowiednio pikom symetrycznych i asymetrycznych drgań rozciągających grup  $-\text{CH}_2-$ , pasmo absorpcji przy  $2960\text{ cm}^{-1}$  odpowiada pikowi asymetrycznych drgań rozciągających grupy  $-\text{CH}_3$ , a pasmo absorpcji przy  $1703\text{ cm}^{-1}$  odpowiada pikowi drgań rozciągających grupy karbonylowej w kwasie karboksylowym. Obecność tych charakterystycznych pasm kwasu laurylowego na widmie FTIR modyfikowanych włókien Ca-P potwierdza modyfikację ich powierzchni (RYS. 1b).

The water contact angle of the composites was measured according to the sessile-drop method. Briefly,  $5\ \mu\text{l}$  of deionized water droplet was deposited by microsyringe on a flat sample surface while maintaining the same minimum height of the needle over the surface being tested and the direction of shearing of its tip. The photo of the drop was made with the Canon EOS 450D camera after 5 seconds from the moment it was deposited on the surface of the sample. Measurement of the contact angle was made by subjecting photos of drops to the analysis using the ZWCAD 2017 program by leading a tangent to the outline of the drop at the point of contact with the surface of the sample. Each final water contact angle value was obtained by averaging six water contact angle values of different spots.

Mechanical properties of the composites were evaluated by tensile tests. The tests were performed on a Tinius Olsen testing machine at room temperature with loading speed of  $1\text{ mm/min}$ . Size of the tensile samples was  $20\text{ mm}$  in gauge,  $3\text{ mm}$  in width and  $2\text{ mm}$  in thickness.

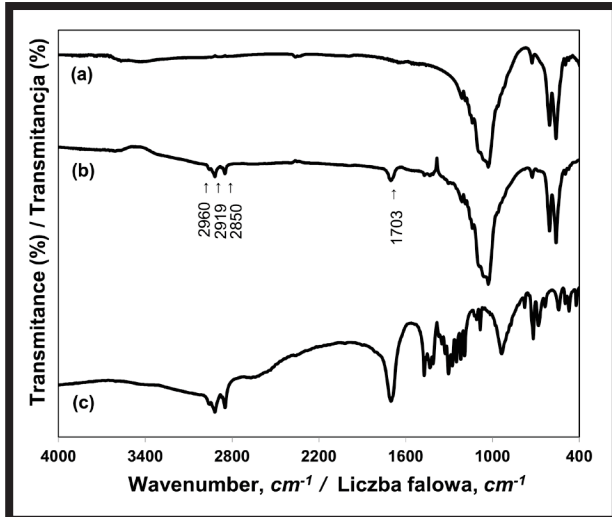
The results of water contact angles and tensile strengths measurements are presented on diagrams of dependence on the type of composites with different content of Ca-P whiskers. These results represent mean values  $\pm\text{SD}$  (standard deviation). Statistical analysis for the obtained results of water contact angle and tensile strength was performed. Statistically significant differences ( $p$ -value) for two independent groups of samples were evaluated by t-Student test.

## Results and Discussions

Using the above described procedure of modification, the LA modified Ca-P whiskers were obtained. The FTIR spectra of lauric acid, and Ca-P whiskers before and after modification are presented in FIG. 1. In FIG. 1a the absorption bands at  $565, 609, 1033, 1093\text{ cm}^{-1}$  attributed to the bending and stretching modes of the phosphate  $\text{PO}_4^{3-}$  groups [25], the bands at  $729$  and  $1215\text{ cm}^{-1}$  attributed to  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  groups in calcium pyrophosphate [26,27] and two absorption bands at  $945$  and  $973\text{ cm}^{-1}$  attributed to whitlockite [25] confirm the composition of triphasic Ca-P whiskers. FIG. 1c presents characteristic bands of lauric acid. The absorption bands at  $2850$  and  $2919\text{ cm}^{-1}$  correspond to the symmetric and asymmetric stretching vibration peaks of  $-\text{CH}_2-$  groups respectively, the absorption band at  $2960\text{ cm}^{-1}$  corresponds to the anti-symmetric stretching vibration peak of  $-\text{CH}_3$  group and the absorption band at  $1703\text{ cm}^{-1}$  corresponds to the stretching vibration peak of the carbonyl group in carboxylic acid. The presence of these characteristic bands of lauric acid in the FTIR spectrum of modified whiskers confirms their surface modification (FIG. 1b).

The surface modification was also confirmed by observations on STEM micrographs (FIG. 2). It was noted that the boundaries of Ca-P whiskers before modification were clear and the surfaces were smooth. After modification, the surfaces of whiskers were rough and boundaries were unclear which is probably related to the presence of lauric acid on the surface of the whiskers.

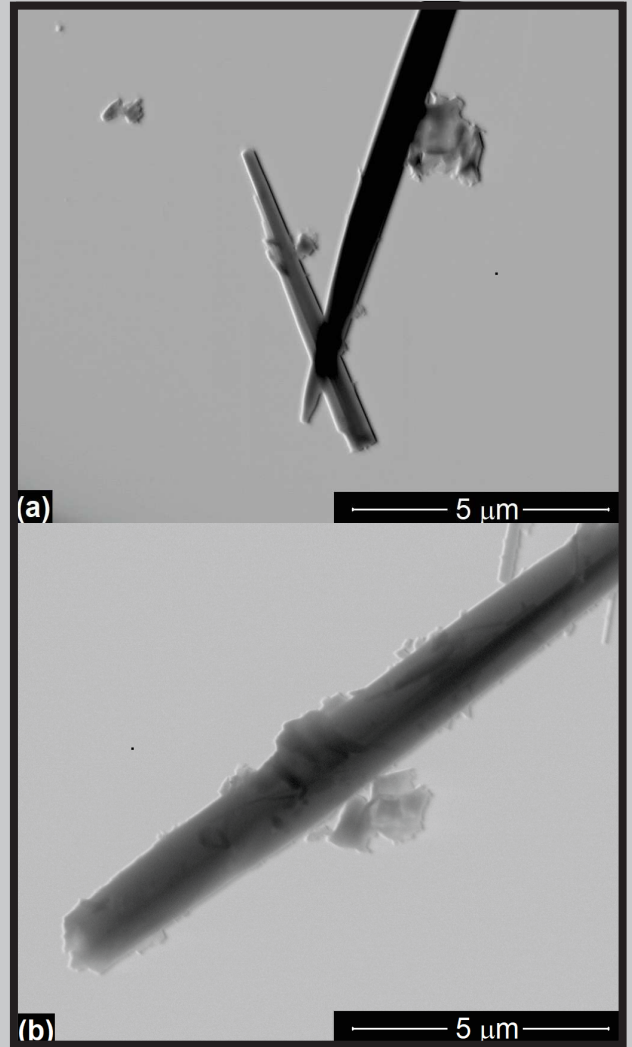
The formation of a rough and uneven LA layer on the whiskers surface resulted in a greater development of their surface. BET tests showed that specific surface area  $S_{\text{BET}}$  of LA modified whiskers was greater than the specific surface area of unmodified whiskers by nearly 9.5% (TABLE 1). On the basis of the obtained results, it was expected that the specific surface area growth of the whiskers would to a certain extent affect the strength of the interfacial connection between these whiskers and the polymer matrix in composites.



**RYS. 1.** Widma spektroskopii w podczerwienu z transformacją Fouriera dla: a) otrzymanych włókien Ca-P, b) włókien Ca-P zmodyfikowanych kwasem laurylowym, c) kwasu laurylowego.  
**FIG. 1.** Fourier-transform infrared spectroscopy spectrum of: a) Ca-P whiskers as received, b) Ca-P whiskers modified with lauric acid, c) lauric acid.

Modyfikację powierzchni potwierdzono również obserwacjami STEM (RYS. 2). Zauważono, że granice włókien Ca-P przed modyfikacją były wyraźne, a powierzchnie gładkie. Po modyfikacji, powierzchnie były szorstkie, a granice niewyraźne, co prawdopodobnie jest związane z obecnością kwasu laurylowego na powierzchni włókien.

Utworzenie szorstkiej i nierównej warstwy LA na powierzchni włókien spowodowało zwiększenie stopnia jej rozwinięcia. Badania BET wykazały, że powierzchnia właściwa  $S_{BET}$  zmodyfikowanych włókien była większa niż powierzchnia właściwa włókien niezmodyfikowanych o prawie 9,5% (TABELA 1). Na podstawie uzyskanych wyników oczekiwano, iż wzrost powierzchni właściwej włókien będzie w pewnym stopniu wpływać na wytrzymałość połączenia międzyfazowego pomiędzy tymi włóknami a matrycą poliimerową w kompozytach.



**RYS. 2.** Obrazy STEM: a) otrzymanych włókien Ca-P, b) włókien Ca-P modyfikowanych kwasem laurylowym.

**FIG. 2.** STEM images of: a) Ca-P whiskers as received, b) Ca-P whiskers modified with lauric acid.

**TABELA 1.** Wartości powierzchni właściwej  $S_{BET}$  włókien Ca-P niezmodyfikowanych i zmodyfikowanych kwasem laurylowym.

**TABLE 1.** Values of specific surface area  $S_{BET}$  of Ca-P whiskers as received and Ca-P whiskers modified with lauric acid.

Próbka Sample	$S_{BET}$ [m <sup>2</sup> /g]	Współczynnik korelacji Correlation coefficient
Włókna Ca-P niezmodyfikowane Ca-P whiskers as received	3.7 ± 0.01	0.9999718
Włókna Ca-P zmodyfikowane LA Ca-P whiskers modified with LA	4.0 ± 0.03	0.9998477

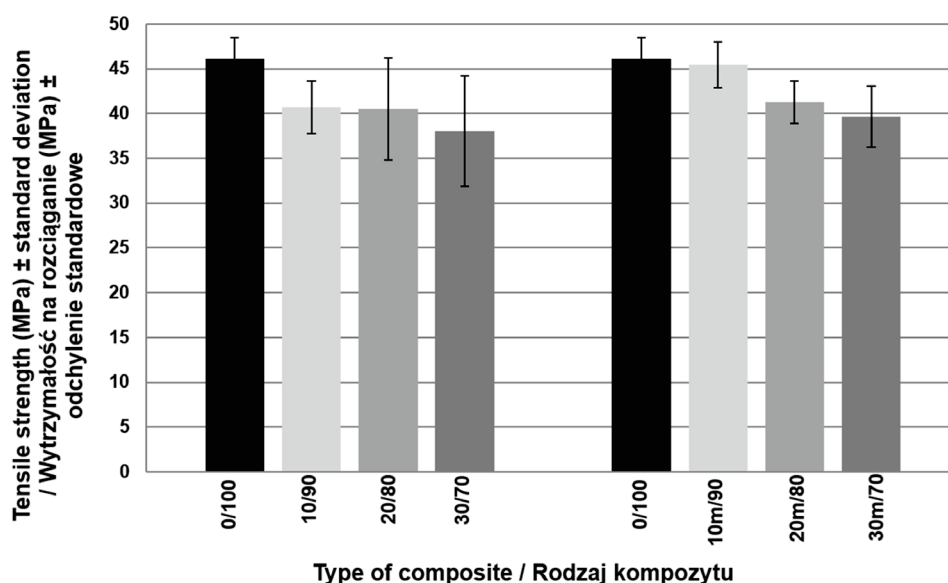
Kompozyty otrzymano ze zmodyfikowanych i niezmodyfikowanych krótkich włókien Ca-P oraz polilaktidu, zmieszanych w różnych proporcjach wagowych (TABELA 2). Uzyskano próbki do badań wytrzymałości na rozciąganie i określono wytrzymałość na rozciąganie otrzymanych kompozytów. Wyniki wytrzymałości na rozciąganie przedstawiające wartości średnie ± odchylenie standardowe pokazano na RYS. 3. Kompozyty włókna Ca-P/polilaktid wykazują mniejszą wytrzymałość na rozciąganie niż czysty polimer, co jest zgodne z doniesieniami innych autorów [28].

The composites were obtained on the base of modified and unmodified short Ca-P whiskers and polylactide mixed in various weight ratios (TABLE 2). Tensile samples were obtained and tensile strength of the obtained composites was determined. The results of tensile strengths presented mean values ± SD (standard deviation) are showed in FIG. 3. Ca-P whiskers/polylactide composites show lower tensile strength than pure polymer, what is consistent with reports by other authors [28].

TABELA 2. Skład procentowy kompozytów sporządzonych z polilaktydu i włókien Ca-P (niemodyfikowanych i modyfikowanych).

TABLE 2. Percent composition of composites made of polylactide and Ca-P whiskers (as received and modified).

Kompozyt Composite	Zawartość / Content [%]		
	polilaktyd polylactide	niemodyfikowane włókna Ca-P Ca-P whiskers as received	zmodyfikowane włókna Ca-P modified Ca-P whiskers
0/100	100	-	-
10/90	90	10	-
20/80	80	20	-
30/70	70	30	-
10m/90	90	-	10
20m/80	80	-	20
30m/70	70	-	30



RYS. 3. Wytrzymałość na rozciąganie w zależności od rodzaju kompozytu.

FIG. 3. Tensile strength depending on the type of composite.

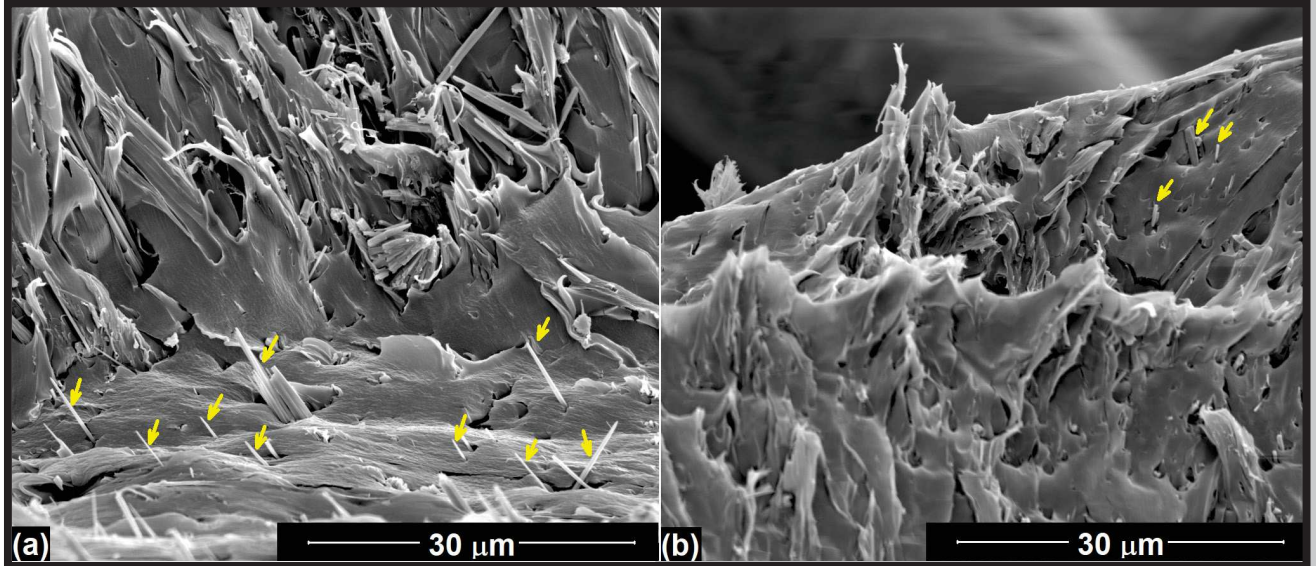
Badania wytrzymałości na rozciąganie tych kompozytów pokazują, że wraz ze wzrostem ilości włókien wytrzymałość na rozciąganie maleje. Jednakże kompozyty oparte na zmodyfikowanych włóknach wykazują nieco większą wytrzymałość na rozciąganie niż kompozyty z włóknami niemodyfikowanymi (RYS. 3). Pomiedzy wartościami wytrzymałości na rozciąganie dla kompozytów zawierających niemodyfikowane włókna Ca-P nie stwierdzono istotnych statystycznych różnic. Istotne statystycznie różnice ( $p < 0,05$ ) stwierdzono natomiast pomiędzy wartościami wytrzymałości na rozciąganie dla kompozytów 10m/90 i 20m/80 z udziałem 10% i 20% zmodyfikowanych włókien Ca-P oraz dla kompozytów 10m/90 i 30m/70 z udziałem 10% i 30% zmodyfikowanych włókien Ca-P.

Zaobserwowany wzrost wytrzymałości kompozytów z udziałem włókien modyfikowanych LA można przypisać poprawie połączenia międzyfazowego pomiędzy włóknami Ca-P i matrycą polimerową. Możliwe jest również, że utworzenie nierównej i chropowatej warstwy LA na powierzchni włókien spowodowało, iż potrzebne były większe siły do „wyciągnięcia” zmodyfikowanych włókien z matrycy polimerowej w porównaniu do niemodyfikowanych włókien o gładkiej powierzchni, w trakcie próby rozciągania.

Tensile strength tests of Ca-P whiskers/polylactide composites show that with the increase of whiskers amount, the tensile strength decreases. However, the composites based on modified whiskers show slightly higher tensile strength than the composites with unmodified whiskers (FIG. 3). No statistically significant differences were observed between the tensile strength values for composites containing unmodified Ca-P whiskers. However statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) were observed between the tensile strength values for composites 10m/90 and 20m/80 containing 10% and 20% of modified Ca-P whiskers and for composites 10m/90 and 30m/70 containing 10% and 30% of modified Ca-P whiskers.

The observed increase in strength of composites with modified LA whiskers can be attributed to improvement of interfacial connection between Ca-P whiskers and polymer matrix. It is also possible that formation of an uneven and rough LA layer on the whiskers surface caused during the stretching test an increase in the pull forces of modified whiskers from the polymer matrix compared to whiskers with a smooth surface.





**RYS. 4.** Obrazy SEM widoku powierzchni próbek zerwanych podczas rozciągania kompozytów z 10%: a) niezmodyfikowanych włókien Ca-P, b) włókien Ca-P zmodyfikowanych kwasem laurylowym (strzałki wskazują na włókna wyciągnięte z matrycy polimerowej).

**FIG. 4.** SEM images of side view of tensile samples fractures of composites with 10% of: a) unmodified Ca-P whiskers, b) Ca-P whiskers modified with lauric acid (arrows indicate whiskers drawn out of the polymer matrix).

Obserwacje SEM (RYS. 4) pokazują, że podczas próby rozciągania, niezmodyfikowane włókna są wyciągane z matrycy polimerowej. Modyfikacja włókien kwasem laurylowym powoduje, że połączenie międzyfazowe jest silniejsze, a zatem warstwa międzyfazowa wytrzymuje większe naprężenia ścinające. Można zauważyć, że po modyfikacji, tylko niektóre z włókien są wyciągane z matrycy polimerowej, podczas gdy większość z nich pod obciążeniem jest zrywana. W ten sposób obciążenie jest częściowo przenoszone z matrycy do włóknistego wypełniacza i cały układ jest wzmocniony.

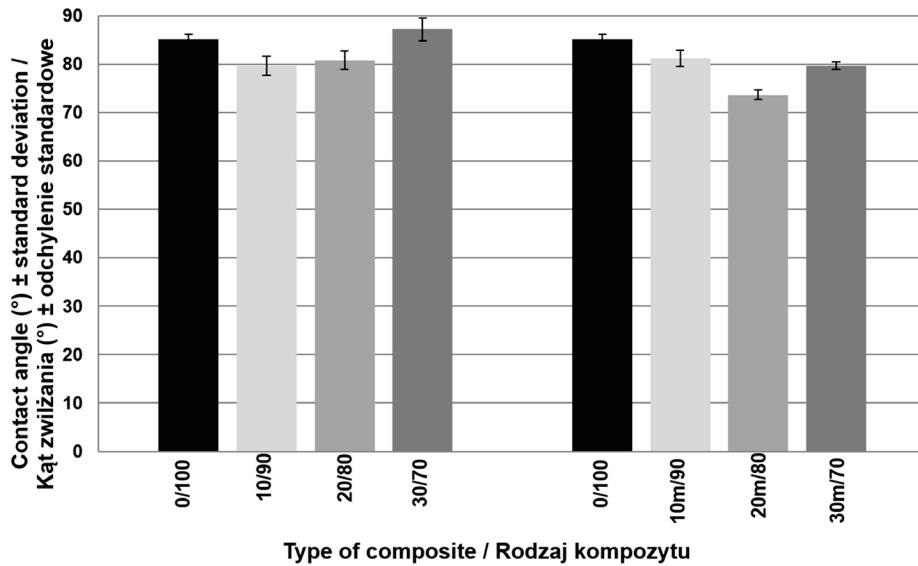
Poza wytrzymałością mechaniczną materiałów do niektórych zastosowań implantacyjnych, niezwykle istotna jest również zwilżalność powierzchni implantów, która wpływa na oddziaływanie komórka-implant. Wcześniejsze badania wykazały, że sekwencja procesów adhezji komórkowej, takich jak: kontakt, przyłączenie, rozprzestrzenianie i proliferacja, jest znacznie opóźniona i osłabiona na powierzchniach hydrofobowych (słabo zwilżalnych w wodzie) [29]. Powierzchnie hydrofilowe wykazują lepszą skuteczność przyłączania i krótsze okresy indukcji fazy wzrostu komórek osteoblastycznych w porównaniu z powierzchniami hydrofobowymi [29].

Zmiana hydrofilowości powierzchni kompozytów polimerowych pod wpływem dodatku napełniacza była już opisywana wielokrotnie wcześniej przez innych autorów [30-33]. Wiadomo, że stosowane dodatki, a zwłaszcza nanocząstki mogą modyfikować zwilżalność powierzchni polimeru za pomocą dwóch mechanizmów: (a) mogą modyfikować skład chemiczny powierzchni, wpływając w ten sposób bezpośrednio na oddziaływanie międzycząsteczkowe pomiędzy ciałem stałym i wodą, (b) mogą modyfikować morfologię powierzchni.

SEM observations (FIG. 4) show that during the tensile test, unmodified whiskers are drawn out of the polymer matrix. Modification of the whiskers with lauric acid makes the interfacial bonding stronger and therefore interface withstands higher shear stresses. It can be seen that after modification only some of the whiskers are drawn out of the polymer matrix, while most of them under the load are broken. In this way, the load is partially transferred from the matrix to the whisker filler and the system is reinforced.

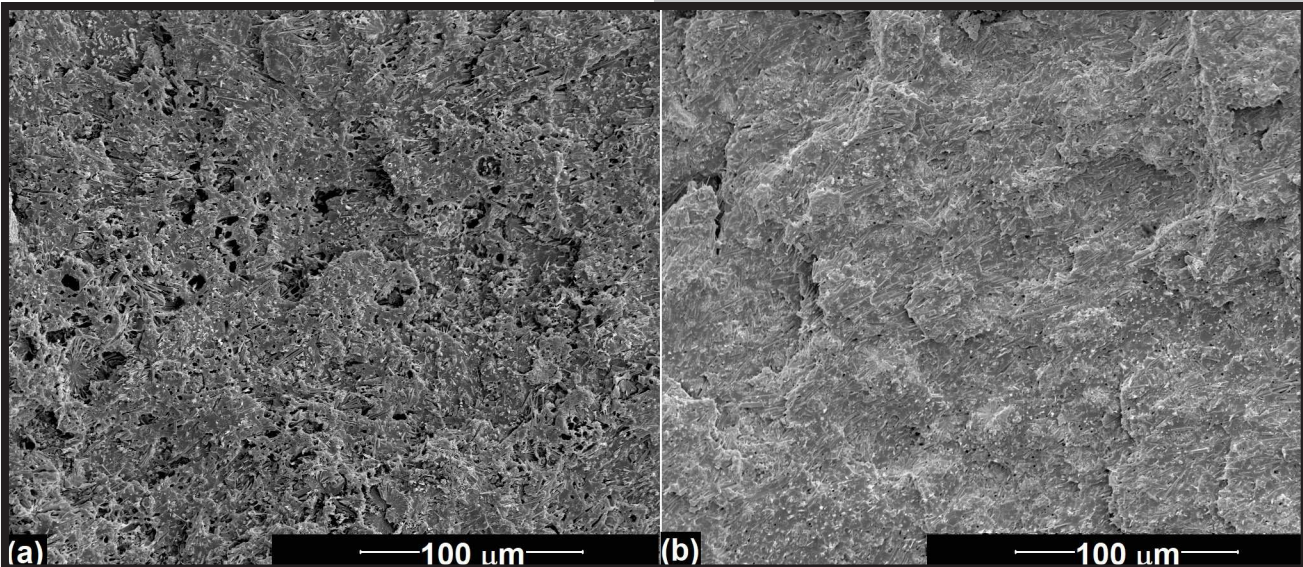
Besides of mechanical strength of materials for some implant applications, the wettability of the implant surface is also very important property, which affects the cell-implant interaction. Previous studies have shown that the sequence of cell adhesion events such as contact, attachment, spreading and proliferation is significantly delayed and impaired on hydrophobic surfaces (poorly water-wettable) [29]. Hydrophilic surfaces show better attachment efficiency and shorter induction periods of osteoblastic cell growth phase compared to hydrophobic surfaces [29].

The change of the hydrophilicity of the polymer composites surface with the filler addition has already been described many times before by other authors [30-33]. It is known that the additives used, especially nanoparticles, can modify the wettability of the polymer surface by means of two mechanisms: (a) by modifying the chemical composition of the surface, thus directly affecting intermolecular interactions between solid and water, (b) by modifying the surface morphology.



RYS. 5. Kąt zwilżania w zależności od rodzaju kompozytu.

FIG. 5. Water contact angle depending on the type of composite.



RYS. 6. Obrazy SEM powierzchni kompozytów z 30% wag.: (a) niezmodyfikowanych włókien Ca-P, (b) włókien Ca-P zmodyfikowanych kwasem laurylowym.

FIG. 6. SEM images of composites surface with 30% of: a) unmodified Ca-P whiskers, b) Ca-P whiskers modified with lauric acid.

W celu określenia zwilżalności powierzchni kompozytów otrzymanych w niniejszej pracy, wyznaczono ich kąty zwilżania wodą. Wartości tych kątów przedstawiono na RYS. 5. Jak można zauważyć w porównaniu z czystą próbką polilaktydu, hydrofilowość kompozytów początkowo rosła po dodaniu napełniacza, po czym malała w różnym tempie w zależności od tego czy włókna Ca-P były zmodyfikowane czy nie. Kompozyty zawierające niezmodyfikowane włókna Ca-P wykazały największą hydrofilowość przy zawartości włókien równej 10% wag., a kompozyty zawierające zmodyfikowane włókna Ca-P przy zawartości włókien równej 20% wag. Istotnych statystycznie różnic pomiędzy wartościami kątów zwilżania nie stwierdzono jedynie dla kompozytów 10/90 i 20/80 z udziałem 10% i 20% niezmodyfikowanych włókien Ca-P oraz dla kompozytów 10m/90 i 30m/70 z udziałem 10% i 30% zmodyfikowanych włókien Ca-P.

In order to determine the surface wettability of the obtained composites, their water contact angles were evaluated. Values of the water contact angles are shown in FIG. 5. As can be seen in comparison with pure PLLA sample, hydrophilicity of the composites increased initially after addition of the filler, and then decreased at different rates depending on whether the whiskers were modified or not. Composites containing unmodified Ca-P whiskers showed the highest hydrophilicity at the whiskers content of 10 wt% and composites containing modified Ca-P whiskers at the whiskers content of 20 wt%. Statistically significant differences between the contact angle values were not observed only for composites 10/90 and 20/80 containing 10% and 20% of unmodified Ca-P whiskers and for composites 10m/90 and 30m/70 containing 10% and 30% of modified Ca-P whiskers.



Zaobserwowana różnica pomiędzy składem kompozytów z udziałem włókien niezmodyfikowanych i zmodyfikowanych, dla których zarejestrowano najmniejsze kąty zwilżania wydaje się być ciekawa, biorąc pod uwagę hydrofobowy charakter kwasu laurylowego. Wytłumaczeniem obserwowanego zjawiska może być różnica w jakości powierzchni uzyskanych kompozytów. Z literatury wiadomo, że na zwilżalność powierzchni wpływa jej chropowatość [34,35]. Zakładając, że woda nie zwilża głębokich zagłębień chropowatej powierzchni ponieważ pewna ilość otaczającego gazu jest uwięziona w tych zagłębieniach, uzyskuje się w rezultacie wzrost wartości kąta zwilżania. RYS. 6 przedstawia powierzchnię kompozytów utworzonych z udziałem (a) włókien niezmodyfikowanych i (b) zmodyfikowanych. Zauważyć można, że niezmodyfikowane włókna Ca-P mają tendencję do nierównomiernego rozmieszczenia w matrycy polimerowej, co powoduje powstawanie ich skupisk i wielu porów, podczas gdy zmodyfikowane włókna rozkładają się bardziej jednorodnie, a powierzchnia kompozytu jest mniej chropowata. Stąd prawdopodobnie wynika również większy spadek kąta zwilżania dla kompozytów z udziałem włókien zmodyfikowanych aniżeli dla kompozytów z udziałem włókien niezmodyfikowanych.

Biorąc pod uwagę otrzymane wyniki oraz wspomniane powyżej dane literaturowe [29], można przypuszczać, że adhezja i wzrost komórek osteoblastycznych w ewentualnych zastosowaniach implantacyjnych dla niektórych z kompozytów uzyskanych przy udziale włókien zmodyfikowanych kwasem laurylowym, mogą być zwiększone.

## Wnioski

Modyfikacja powierzchni włókien fosforanowo-wapniowych kwasem laurylowym pozwala na uzyskanie lepszego połączenia międzyfazowego pomiędzy tymi włóknami a matrycą z polilaktydu. W rezultacie, otrzymane kompozyty charakteryzują się lepszą wytrzymałością na rozciąganie. Zastosowanie kwasu laurylowego jako modyfikatora powierzchni włókien pozwala również uzyskać kompozyty o zwiększonej hydrofilowości, co ma znaczenie dla przyłączenia i wzrostu komórek. Dodatkowo, biorąc pod uwagę właściwości przeciwbakteryjne kwasu laurylowego, wydaje się on obiecującym środkiem modyfikującym do zastosowań w medycynie.

## Podziękowania

*Praca została sfinansowana ze środków przeznaczonych na działalność statutową Instytutu Ceramiki i Materiałów Budowlanych w Warszawie.*

The observed difference between the composition of composites with unmodified and modified whiskers, for which the lowest contact angles were recorded, seems to be interesting, taking into account the hydrophobic nature of lauric acid. The difference in surface quality of the obtained composites may be the explanation for the observed phenomenon. It is known from the literature that the wettability of the surface is affected by its roughness [34,35]. Assuming that the water does not wet the deep hollows of the rough surface because a certain amount of the surrounding gas is trapped in these hollows, the result is an increase in the value of the contact angle. FIG. 6 shows the surface of composites formed with unmodified (a) and modified (b) whiskers. It can be noticed that the unmodified whiskers tend to have uneven distribution in the polymer matrix which results in the formation of clusters and many pores, while the modified whiskers distribute more homogeneously and the composite surface is less rough. It is probably also the reason of greater decrease of the contact angle for composites with modified whiskers than for composites with unmodified whiskers.

Considering the results obtained and the abovementioned literature data [29], it can be assumed that the adhesion and growth of osteoblastic cells in possible implantation applications for some of the composites obtained with the participation of whiskers modified with lauric acid may be increased.

## Conclusions

The modification of calcium-phosphate whiskers surface with lauric acid allows for a better interfacial connection between these whiskers and the polylactide matrix. As a result, the obtained composites are characterized by better tensile strength. The use of lauric acid as a surface modifier of the whiskers also allows to obtain composites with increased hydrophilicity, which is important for the attachment and growth of cells. In addition, lauric acid appears to be a promising modifier for applications in medicine considering its antibacterial properties.

## Acknowledgments

*The work was financed from resources assigned to the statutory activity of the Institute of Ceramics and Building Materials in Warsaw.*

## Piśmiennictwo

- [1] Yu H., Huang N., Wang C., Tang Z.: Modeling of poly(L-lactide) thermal degradation: Theoretical prediction of molecular weight and polydispersity index. *J. Appl. Polym. Sci.* 88 (2003) 2557-2562.
- [2] Teo W.E., Liao S., Chan C., Ramakrishna S.: Fabrication and characterization of hierarchically organized nanoparticle-reinforced nanofibrous composite scaffolds. *Acta Biomater.* 7 (2011) 193-202.
- [3] Suganuma J., Alexander H.: Biological response of intramedullary bone to poly-L-lactic acid. *J. Appl. Biomater.* 4 (1993) 13-27.
- [4] Emadi R., Tavangarian F., Roohani Esfahani S.I., Sheikhsosseini A., Kharaziha M.: Nanostructured Forsterite Coating Strengthens Porous Hydroxyapatite for Bone Tissue Engineering. *J. Am. Ceram. Soc.* 93 (2010) 2679-2683.
- [5] Hasegawa S., Ishii S., Tamura J., Furukawa T., Neo M., Matsusue Y., Shikunami Y., Okuno M., Nakamura T.: A 5-7 year in vivo study of high-strength hydroxyapatite/poly(L-lactide) composite rods for the internal fixation of bone fractures. *Biomaterials* 27 (2006) 1327-1332.
- [6] Kikuchi M., Koyama Y., Yamada T., Imamura Y., Okada T., Shirahama N., Akita K., Takakuda K., Tanaka J.: Development of guided bone regeneration membrane composed of  $\beta$ -tricalcium phosphate and poly(L-lactide-co-glycolide-co- $\epsilon$ -caprolactone) composites. *Biomaterials* 25 (2004) 5979-5986.
- [7] Liao S., Watari F., Zhu Y., Uo M., Akasaka T., Wang W., Xu G., Cui F.: The degradation of the three layered nano-carbonated hydroxyapatite/collagen/PLGA composite membrane in vitro. *Dent. Mater.* 23 (2007) 1120-1128.
- [8] Fang Z., Feng Q.: Improved mechanical properties of hydroxyapatite whisker-reinforced poly(L-lactic acid) scaffold by surface modification of hydroxyapatite. *Mat. Sci. Eng. C* 35 (2014) 190-194.
- [9] LeGeros R.Z., Lin S., Rohanizadeh R., Mijares D., LeGeros J.P.: Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 14 (2003) 201-209.
- [10] Kobayashi S., Yamada S.: Strain rate dependency of mechanical properties of TCP/PLLA composites after immersion in simulated body environments. *Compos. Sci. Technol.* 70 (2010) 1820-1825.
- [11] Dupraz A.M.P., van der Meer S.A.T., de Wijn J.R., Goedemoed J.H.: Biocompatibility screening of silane-treated hydroxyapatite powders for use as filler in resorbable composites. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 7 (1996) 731-738.
- [12] Deb S., Wang M., Tanner K.E., Bonfield W.: Hydroxyapatite polyethylene composites: effect of grafting and surface treatment of hydroxyapatite. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 7 (1996) 191-193.
- [13] Yang C.L., Cheng K., Weng W.J., Yang C.Y.: OTS-modified HA and its toughening effect on PLLA/HA porous composite. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 20 (2009) 667-672.
- [14] Liu Q., de Wijn J.R., Bakker D., van Blitterswijk C.A.: Surface modification of hydroxyapatite to introduce interfacial bonding with polyactivet 70/30 in a biodegradable composite. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 7 (1996) 51-57.
- [15] Liu Q., de Wijn J.R., Bakker D., van Toledo M., van Blitterswijk C.A.: Polyacids as bonding agents in hydroxyapatite polyester-ether (polyactivet 30/70) composites. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 9 (1998) 23-30.
- [16] Wang Y., Dai J., Zhang Q.C., Xiao Y., Lang M.: Improved mechanical properties of hydroxyapatite/poly( $\epsilon$ -caprolactone) scaffolds by surface modification of hydroxyapatite. *Appl. Surf. Sci.* 256 (2010) 6107-6112.
- [17] Beare-Rogers J., Dieffenbacher A., Holm J.V.: Lexicon of lipid nutrition (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* 73(4) (2001) 685-744.
- [18] Arpornmaeklong P., Suwatwirote N., Pripatnanot P., Oungbho K.: Growth and differentiation of mouse osteoblasts on chitosan-collagen sponges. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 36 (2007) 328-337.

## References

- [19] Nakatsuji T., Kao M.C., Fang J.Y., Zouboulis C.C., Zhang L., Gallo R.L., Huang C.M.: Antimicrobial property of lauric acid against *Propionibacterium acnes*: its therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris. *J. Invest. Dermatol.* 129(10) (2009) 2480-2488.
- [20] Yang D., Pornpattananangkul D., Nakatsuji T., Chan M., Carson D., Huang C.M., Zhang L.: The antimicrobial activity of liposomal lauric acids against *Propionibacterium acnes*. *Biomaterials* 30 (2009) 6035-6040.
- [21] Petschow B., Batema R., Ford L.: Susceptibility of *Helicobacter pylori* to bactericidal properties of medium-chain monoglycerides and free fatty acids. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40 (2) (1996) 302-306.
- [22] Huang C.B., Alimova Y., Myers T.M., Ebersole J.L.: Short- and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms. *Arch. Oral. Biol.* 56 (2011) 650-654.
- [23] Nobmann P., Bourke P., Dunne J., Henehan G.: In vitro antimicrobial activity and mechanism of action of novel carbohydrate fatty acid derivatives against *Staphylococcus aureus* and MRSA. *J. Appl. Microbiol.* 108 (2010) 2152-2161.
- [24] Biernat M., Jaegermann Z., Tymowicz-Grzyb P., Konopka G., Ciolek L., Pęczkowski P., Taźbierski P.: Short calcium phosphate whiskers for medical applications. *Engineering of Biomaterials* 143 (2017) 17.
- [25] Jalota S., Bhaduri S.B., Tas A.C.: In vitro testing of calcium phosphate (HA, TCP and biphasic HA-TCP) whiskers. *J. Biomed. Mater. Res. A* 78(3) (2006) 481-490.
- [26] Roeder R.K., Converse G.L., Kane R.J., Yue W.: Hydroxyapatite-reinforced polymer biocomposites for synthetic bone substitutes. *JOM.* 60(3) (2008) 38-45.
- [27] Mendelson B.C., Jacobson S.R., Lavoipierre A.M., Huggins R.J.: The fate of porous hydroxyapatite granules used in facial skeletal augmentation. *Aesthetic Plast. Surg.* 34(4) (2010) 455-461.
- [28] Liu Q., de Wijn J.R., van Blitterswijk C.A.: Composite biomaterials with chemical bonding between hydroxyapatite filler particles and PEG/PBT copolymer matrix. *J. Biomed. Mater. Res.* 40 (1998) 490-497.
- [29] Liu X.M., Lim J.Y., Donahue H.J., Dhurjati R., Mastro A.M., Vogler E.A.: Influence of substratum surface chemistry/energy and topography on the human fetal osteoblastic cell line hFOB 1.19: phenotypic and genotypic responses observed in vitro. *Biomaterials* 28 (2007) 4535-4550.
- [30] Manoudis N.P., Karapanagiotis I.: Modification of the wettability of polymer surfaces using nanoparticles. *Prog. Org. Coat.* 77 (2014) 331-338.
- [31] Chibowski E., Hołysz L., Terpilowski K., Jurak M.: Investigation of super-hydrophobic effect of PMMA layers with different fillers deposited on glass support. *Colloids Surf. A* 291(1-3) (2006) 181-190.
- [32] Tiwari M.K., Bayer I.S., Jursich G.M., Schutzius T.M., Megaridis C.M.: Highly liquid-repellent, large-area, nanostructured poly(vinylidene fluoride)/poly(ethyl 2-cyanoacrylate) composite coatings: Particle filler effects. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2 (2010) 1114-1119.
- [33] Manoudis P.N., Karapanagiotis I., Tsakalof A., Zuburtikudis I., Panayiotou C.: Superhydrophobic composite films produced on various substrates. *Langmuir* 24 (2008) 11225-11232.
- [34] Viveta L., Joudrierb A.L., Tana K.L., Morellea J.M., Etcheberryb A., Chalumeau L.: Influence of nickel-phosphorous surface roughness on wettability and pores formation in solder joints for high power electronic applications. *Appl. Surf. Sci.* 287 (2013) 13-21.
- [35] Belaud V., Valette S., Stremstoerfer G., Bigerelle M., Benayoun S.: Wettability versus roughness: Multi-scales approach. *Tribol. Int.* 82 (2015) 343-349.