



POLITECHNIKA POZNAŃSKA



WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ
I FIZYKI TECHNICZNEJ
Instytut Badań Materiałowych i Inżynierii Kwantowej

Rozprawa doktorska

**NOWE METODY MODYFIKACJI
POWIERZCHNI STOPU TYTANU
Ti6Al4V ELI STOSOWANEGO
W IMPLANTOLOGII**

mgr inż. Joanna Szczuka

Promotor

dr hab. inż. Tomasz Buchwald

Promotor pomocniczy

dr hab. inż. Mariusz Sandomierski

POZNAŃ 2025

Dorobek naukowy

Publikacje naukowe

- bezpośrednio związane z rozprawą doktorską
 - **Szczuka, J.**, Sandomierski, M., Voelkel, A., Grochalski, K., Buchwald, T. (2023). Surface modification of Ti6Al4V ELI titanium alloy by poly (ethylene-alt-maleic anhydride) and risedronate sodium. *Materials*, 16(15), 5404.
 - **Szczuka, J.**, Sandomierski, M., Buchwald, T. (2022). Formation of the octadecylphosphonic acid layer on the surface of Ti6Al4V ELI titanium alloy and analysis using Raman spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 265, 120368.
- dodatkowe
 - Jakubowski, M., Domke, A., Ratajczak, M., **Szczuka, J.**, Buchwald, T., Voelkel, A., Sandomierski, M. (2023). Chitosan modified with lanthanum ions as implantable hydrogel for local delivery of bisphosphonates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 230, 123429.
 - Jakubowski, M., Domke, A., Ratajczak, M., **Szczuka, J.**, Buchwald, T., Ławniczak, Ł., Voelkel, A., Sandomierski, M. (2023). Chitosan hydrogel modified with lanthanum as a drug delivery system for epigallocatechin gallate: Investigation of hydrogel–drug interaction by FT-IR and Raman spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 297, 122748.

Wyjazdy stażowe

- staż naukowy - Laboratory of Polymeric and Composite Materials (University of Mons and Materia Nova Research Center), Belgia. Wyjazd w ramach programu European University for Customized Education. Kontynuacja badań nad polimerami do zastosowań medycznych.
Czas trwania - od kwiecień 2022 do listopad 2022
- wymiana naukowa - University of Technology Sydney, Australia. Wyjazd w ramach programu Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej - PROM

Politechnika Poznańska i University of Technology Sydney, międzynarodowa wymiana stypendialna dla doktorantów i pracowników naukowych. Czas trwania - od listopad 2019 do grudzień 2019

- wizyta studyjna - Department of Engineering, University of Cambridge, Wielka Brytania. Wyjazd w ramach programu Erasmus +. Czas trwania - czerwiec 2019

Granty

Laureat finansowania badawczego Politechniki Poznańskiej - „Młoda Kadra 2022” uzyskując dofinansowanie w kwocie 17 404 zł brutto, funkcja: kierownik projektu i wykonawca, tytuł projektu: „Warstwy polimerowe na powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V”. Czas trwania: od marzec 2022 do listopad 2022

Konferencje naukowe

- wystąpienie ustne
 - IX Ogólnopolskie Sympozjum Biomedyczne ESKULAP
Chemiczna i mechaniczna modyfikacja powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V ELI,
J. Szczuka, M. Sandomierski i T. Buchwald, 2.12.2023, online, krajowa
 - V Ogólnopolska Fizyczno - Optyczna Konferencja FOKA 2020
Wpływ warstwy TiO₂ na osadzanie się kwasu okta-decylofosfonowego (ODPA) i hydroksyapatytu (HA) na powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V ELI,
J. Szczuka, M. Sandomierski i T. Buchwald, 11-13.12.2020, online, krajowa
 - III Ogólnopolska Konferencja Naukowa – Polimery w Medycynie
Analiza powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V ELI z naniesionym warstwami kwasu okta-decylofosfonowego (OPDA) oraz hydroksyapatytu (HA) z zastosowaniem spektroskopii ramanowskiej,
J. Szczuka, M. Sandomierski i T. Buchwald, 3.11.2020, online, krajowa

- wystąpienie posterowe

- III Ogólnopolskie Sympozjum Chemii Bioorganicznej, Organicznej i Biomateriałów

Analiza powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V ELI modyfikowanej kwasem oktadecylofosfonowym (ODPA) z zastosowaniem spektroskopii ramanowskiej,

J. Szczuka, M. Sandomierski i T. Buchwald, 07.12.2019, Poznań, krajowa

- IV Polish Scientific Network – PSN 2019

Preparation of Ti6Al4V ELI titanium alloy and octadecylphosphonic acid solution (ODPA) to create an ordered ODPA layer on the alloy surface,

J. Szczuka, M. Sandomierski i T. Buchwald, 19-21.09.2019, Poznań, międzynarodowa

Spis treści

Dorobek naukowy	ii
1 Wprowadzenie	1
1.1 Motywacja	1
1.2 Biomateriały	3
1.3 Właściwości materiałów do budowy endoprotez	4
1.4 Implanty	6
1.5 Endoprotezoplastyka	7
1.5.1 Endoprotezy kończyn dolnych	8
1.5.2 Endoprotezy kończyn górnych	9
2 Materiały	10
2.1 Charakterystyka stopu Ti6Al4V	10
2.1.1 Dwufazowość Ti6Al4V	10
2.1.2 Domieszkowanie a ryzyko toksyczności	11
2.1.3 Właściwości mechaniczno-fizyczne	12
2.1.4 Modyfikacje powierzchni stopów tytanu	13
Modyfikacje fizyczne	13
Modyfikacje chemiczne	14
Modyfikacje mechaniczne	15
2.2 Polimery w medycynie	17
2.3 Kwas oktaacylofosfonowy (ODPA)	19
2.4 Ryzedronian sodu (RSD)	19
3 Metody pomiarowe	21
3.1 Metody pomiarowe	21
3.1.1 Spektroskopia Ramana	21
3.1.2 Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM) i spektrosko- pia dyspersji energii (EDS)	22
3.1.3 Mikroskopia konfokalna	23

3.1.4	Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR)	24
3.1.5	Spektroskopia w ultrafiolecie i zakresie widzialnym (UV-VIS)	25
3.2	Opracowanie metody przygotowania powierzchni stopu tytanu . .	27
4	Utworzenie warstwy kwasu okta-decylofosfonowego (ODPA) na powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V ELI	29
4.1	Cel badań	30
4.2	Materiały i metodyka	31
4.2.1	Materiały	31
	Przygotowanie powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V ELI . .	31
	Wytworzenie warstwy tlenku tytanu TiO ₂	32
	Przygotowanie warstwy kwasu okta-decylofosfonowego (ODPA)	34
	Przygotowanie warstwy hydroksyapatytu (HA)	34
	Przygotowanie roztworu symulowanego płynu ustrojowego (SBF)	35
	Opis przygotowanych próbek	36
4.2.2	Metodyka	36
	Skaningowa mikroskopia elektronowa, spektroskopia dyspersji energii, mikroskopia konfokalna	36
	Spektroskopia Ramana	37
	Pomiar zwilżalności powierzchni	38
4.3	Wyniki i dyskusja	39
4.3.1	Analiza SEM	39
4.3.2	Analiza EDS	41
4.3.3	Analiza z zastosowaniem spektroskopii Ramana - widma .	44
4.3.4	Analiza z zastosowaniem spektroskopii Ramana - mapy . .	49
	Płytki stopu tytanu z warstwą ODPA	49
	Płytki stopu tytanu z warstwą ODPA i HA	51
	Płytki stopu tytanu z warstwą ODPA i HA, po zanurzeniu w SBF	52
4.3.5	Analiza pomiaru zwilżalności powierzchni	55
4.4	Podsumowanie badań	58
5	Modyfikacja powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V ELI za pomocą bezwodnika poli(etylenowo-alt-maleinowego)	59
5.1	Cel badań	60
5.2	Materiały i metodyka	62

5.2.1	Materiały	62
	Przygotowanie płytek stopu tytanu Ti6Al4V ELI	62
	Alkaliczna obróbka cieplna	62
	Utlenianie nadtlutlenkiem wodoru	63
	Silanizacja powierzchni (3-aminopropyl)-trioksy-silanem (APTES)	63
	Wytworzenie warstwy poli(bezwodnika etylenowo-alto- maleinowego) (PEAMA)	63
	Sprzęganie 1,1 -karbonylodiimidazolu (CDI) i komplekso- wanie Zn	63
	Sorpcja ryzedronianu sodu (RSD)	64
	Opis przygotowanych próbek	64
5.2.2	Metodyka	66
	Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM) z analizato- rem EDS	66
	Spektroskopia Ramana	66
	Spektroskopia w podczerwieni z transformatą Fouriera	66
	Pomiar zwilżalności powierzchni	67
	Spektroskopia UV-VIS	67
	Analiza struktury powierzchni	67
5.3	Wyniki i dyskusja	68
5.3.1	Analiza SEM	68
5.3.2	Analiza EDS	70
5.3.3	Analiza z zastosowaniem spektroskopii Ramana	73
5.3.4	Analiza FTIR	77
5.3.5	Analiza pomiaru zwilżalności powierzchni	79
5.3.6	Analiza UV-VIS	81
5.3.7	Analiza struktury powierzchni	83
5.4	Podsumowanie badań	85
	Podsumowanie	87
	Literatura	89
	Spis rysunków	107
	Spis tabel	111

Rozdział 1

Wprowadzenie

1.1 Motywacja

Endoproteza z definicji jest sztucznym urządzeniem zastępującym brakującą część ciała umieszczoną wewnątrz organizmu [1]. Do budowy endoprotez wykorzystywane są biomateriały, które można podzielić na 4 główne grupy: bioceramika (np. bioceramika hydroksyapatytowa); resorbowalne polimery (np. chitozan); materiały kompozytowe (np. ceramiczno-metalowe) oraz metale i ich stopy [2]. Aby poprawić biokompatybilność lub bioaktywność biomateriałów, stosuje się kilka metod modyfikacji powierzchni. Do najważniejszych należą metody mechaniczne (np. szlifowanie); metody chemiczne (np. utlenianie z użyciem H_2O_2) i metody fizyczne (np. fizyczne osadzanie z fazy gazowej) [3, 4]. Dobór biomateriału i modyfikacja zależy bezpośrednio od rodzaju endoprotezy – jakie funkcje będzie ona pełnił w organizmie. Jednym z najczęściej stosowanych materiałów do wytwarzania endoprotez są stopy tytanu domieszkowane glinem (Al) i wanadem (V). Stop ten służy do wytwarzania m.in. szpilek i gniazd nasadowych. Stopy te charakteryzują się dobrymi właściwościami mechanicznymi przy małej gęstości i korzystnym stosunkiem wytrzymałości na rozciąganie do granicy plastyczności – wartościami zbliżonymi do zwartej części kości udowej dorosłego człowieka [5, 6]. Tytan i jego stopy podlegają procesowi pasywacji – powstająca w tym procesie warstwa TiO_2 poprawia biokompatybilność materiału [7].

Z roku na rok niemal we wszystkich krajach obserwujemy wzrost liczby wykonywanych zabiegów endoprotezoplastyki [8, 9, 10]. Niestety, liczba wykonywanych przez chirurgów operacji rewizyjnych, w zależności od kraju, wynosi około 9-10%. Obluzowanie i infekcja to jedne z najczęstszych przyczyn endoprotezoplastyki rewizyjnej [10, 11]. Dlatego tak ważne jest ciągle doskonalenie biomateriałów i poszukiwanie nowych rozwiązań.

Modyfikacja powierzchni implantów, w celu kontrolowanego uwalniania leków,

stanowi obiecującą strategię poprawy ich funkcjonalności. Pozwala na bezpośrednie dostarczanie substancji czynnej do miejsca, gdzie jest najbardziej potrzebna, minimalizując jednocześnie ryzyko efektów ubocznych związanych z systemowym podawaniem leków. W przypadku implantów ortopedycznych, jednym z kluczowych celów jest zapobieganie infekcjom oraz wspieranie osteointegracji.

Przykładem leku, który może być stosowany do modyfikacji powierzchni implantów tytanowych, jest ryzedronian sodu (RSD). RSD jest bisfosfonianem, który wykazuje silne właściwości antyresorpcyjne, co czyni go skutecznym w leczeniu i zapobieganiu osteoporozie. Jego działanie polega na hamowaniu aktywności osteoklastów, co prowadzi do zmniejszenia resorpcji kości i wzmocnienia struktury kostnej. W implantologii, zastosowanie RSD na powierzchni implantu może przyczynić się do poprawy osteointegracji oraz zmniejszenia ryzyka powikłań związanych z utratą masy kostnej wokół implantu.

Kontrolowane uwalnianie RSD z powierzchni implantu może przynieść wiele korzyści. Lokalne dostarczanie leku pozwala na osiągnięcie wysokich stężeń terapeutycznych w miejscu działania, co zwiększa jego skuteczność. Redukuje to konieczność stosowania wysokich dawek leku doustnie, co minimalizuje ryzyko efektów ubocznych. Ponadto, taka strategia może skrócić czas gojenia oraz poprawić stabilność i trwałość implantów, co przekłada się na lepsze wyniki kliniczne i satysfakcję pacjentów.

Poprzez połączenie właściwości mechanicznych i biokompatybilnych tytanu z terapeutycznym działaniem RSD, możliwe będzie stworzenie implantów, które nie tylko spełniają swoje podstawowe funkcje, ale również aktywnie wspierają proces leczenia i regeneracji tkanki kostnej.

W niniejszej pracy opisano wyniki badań, które skupiały się na modyfikacji powierzchni stopu tytanu, stworzeniu stabilnej warstwy pośredniej z zastosowaniem kwasu okta-decylofosfonowego lub polimeru, tak aby docelowo przeprowadzić sorpcję i desorpcję leku z powierzchni stopu.

1.2 Biomateriały

Biomateriały, używane do budowy endoprotez, są kluczowymi elementami nowoczesnej medycyny, szczególnie w dziedzinie ortopedii. Biomateriały to naturalne lub syntetyczne materiały przeznaczone do interakcji z systemami biologicznymi w celu leczenia, poprawy lub zastąpienia funkcji biologicznych. Charakteryzują się one przede wszystkim biokompatybilnością, co oznacza, że nie wywołują reakcji immunologicznej po wprowadzeniu do organizmu. Ponadto powinny być bioobojętne (nie wchodzić w reakcje chemiczne z otaczającymi tkankami), mechanicznie wytrzymałe, odporne na korozję i zużycie oraz łatwe do sterylizacji [12].

Stopy metali są jednymi z najczęściej używanych materiałów w endoprotezach, głównie ze względu na ich doskonałe właściwości mechaniczne, takie jak wysoka wytrzymałość i odporność na zużycie, a najczęściej stosowane to stopy tytanu oraz kobaltowo-chromowe. Tytan i jego stopy, jak Ti6Al4V, są cenione za ich biokompatybilność oraz zdolność do integracji z tkanką kostną, co minimalizuje ryzyko odrzutu implantu przez organizm. Stopy tytanu są szeroko stosowane w endoprotezach stawów biodrowych, kolanowych oraz w implantach dentystycznych [13, 14]. Z kolei stopy kobaltowo-chromowe charakteryzują się wysoką odpornością na korozję oraz znakomitą wytrzymałością, co sprawia, że są idealne do zastosowań w miejscach narażonych na duże obciążenia, takich jak staw biodrowy czy kolanowy [15].

Polimery są kolejną istotną grupą biomateriałów używanych w endoprotezach, głównie w postaci polietylenu o ultra wysokiej masie cząsteczkowej (UHMWPE). Materiał ten jest szeroko stosowany jako powierzchnia stykowa w endoprotezach stawów biodrowych i kolanowych dzięki swojej niskiej masie, wysokiej odporności na ścieranie oraz dobrej biokompatybilności. Polimery mogą być również modyfikowane za pomocą różnych technik, aby poprawić ich właściwości mechaniczne i biologiczne. Na przykład, UHMWPE jest często używany jako wkład w endoprotezach stawu biodrowego, co pozwala na redukcję tarcia między metalowymi komponentami. Ponadto, polimery takie jak polimetakrylan metylu (PMMA) są wykorzystywane jako cement kostny do zakotwiczenia protez w tkance kostnej, co umożliwia stabilne osadzenie implantu [16, 17]. Polimery są również stosowane w endoprotezach kręgosłupa, gdzie materiały takie jak polieteroeteroketon (PEEK) oferują doskonałe właściwości mechaniczne i biokompatybilność, co pozwala na lepszą integrację z kręgami [18].

Ceramiki są trzecią główną kategorią biomateriałów stosowanych w endoprotezach, z szczególnym naciskiem na bioceramiki, takie jak tlenek cyrkonu i tlenek glinu. Materiały te wyróżniają się doskonałą biokompatybilnością oraz wytrzy-

małością na ścieranie, co czyni je idealnymi do zastosowań w miejscach o wysokim stopniu obciążenia. Ceramiki są szczególnie cenione w endoprotezach stawów biodrowych ze względu na ich niski współczynnik tarcia i minimalne zużycie w porównaniu do innych materiałów, co przekłada się na dłuższą żywotność implantów. Tlenek cyrkonu jest używany do produkcji główek stawu biodrowego oraz elementów tocznych w endoprotezach stawu kolanowego, gdzie wysoka odporność na ścieranie jest kluczowa dla trwałości implantu. Tlenek glinu jest również stosowany w główkach stawu biodrowego oraz w implantach dentystycznych, gdzie jego wytrzymałość mechaniczna zapewnia długotrwałą funkcjonalność [19, 20, 21].

Każda z tych grup materiałów posiada unikalne właściwości, które czynią je odpowiednimi do różnych zastosowań w endoprotezach. Stopy tytanu i kobaltowo-chromowe oferują wysoką wytrzymałość i odporność na korozję. Polimery, zwłaszcza UHMWPE, zapewniają doskonałą odporność na ścieranie i niską masę, natomiast ceramiki, takie jak tlenek cyrkonu i tlenek glinu, charakteryzują się wysoką biokompatybilnością i wytrzymałością na ścieranie. Wybór odpowiedniego biomateriału jest kluczowy dla sukcesu implantacji endoprotezy i poprawy jakości życia pacjentów.

1.3 Właściwości materiałów do budowy endoprotez

Biozgodność materiałów i pierwiastków wykorzystywanych w budowie endoprotez jest kluczowym zagadnieniem w medycynie regeneracyjnej i inżynierii biomateriałowej. Charakterystyka tych materiałów obejmuje wiele aspektów, w tym ocenę właściwości mechanicznych, chemicznych i biologicznych, które wpływają na ich interakcję z tkankami ludzkiego ciała. Proces ten jest wieloetapowy i wymaga użycia zaawansowanych technik analitycznych oraz testów *in vivo* i *in vitro*.

Pierwszym krokiem w analizie biomateriałów jest ocena ich właściwości mechanicznych. Materiały stosowane w endoprotezach muszą wykazywać odpowiednią wytrzymałość, elastyczność i trwałość, aby mogły efektywnie pełnić swoje funkcje przez długi czas w warunkach obciążenia mechanicznego. Właściwości te są zwykle oceniane przy użyciu testów wytrzymałościowych, takich jak testy na rozciąganie, ściskanie i zmęczenie materiału [22, 23].

Kolejnym etapem jest analiza chemiczna, która obejmuje ocenę składu chemicznego materiału oraz jego stabilności chemicznej w warunkach fizjologicznych. Analizy te są wykonywane za pomocą technik takich jak spektroskopia mas oraz spektroskopia w podczerwieni [24]. Ważnym parametrem w trakcie oceny mate-

riałów jest również stopień uwalniania jonów metali, które mogą być toksyczne dla organizmu [25, 26].

Ocena biologiczna jest kolejnym kluczowym krokiem, który obejmuje testy cytotoksyczności, hemokompatybilności oraz badania *in vivo* na modelach zwierzęcych. Testy cytotoksyczności są przeprowadzane w celu oceny wpływu materiału na komórki organizmu, co jest kluczowe dla określenia jego bezpieczeństwa biologicznego [27]. Hemokompatybilność jest oceniana poprzez testy krzepnięcia i adhezji płytek krwi, co jest istotne dla zapobiegania zakrzepom [28].

Podział materiałów i pierwiastków na grupy toksyczności jest istotnym aspektem w procesie selekcji biomateriałów. Materiały toksyczne to te, które wykazują negatywny wpływ na tkanki organizmu, prowadząc do stanów zapalnych, nekrozy lub innych niepożądanych reakcji. Przykładem mogą być materiały zawierające nikiel, który jest znanym alergenem i może powodować reakcje alergiczne u pacjentów [29].

Materiały bezpieczne okresowo to te, które mogą wykazywać pewne negatywne efekty biologiczne, ale są tolerowane przez organizm przez określony czas. Przykładem mogą być stopy kobaltowo-chromowe, które mogą uwalniać jony metali, ale są powszechnie stosowane w endoprotezach ze względu na ich wytrzymałość mechaniczną i odporność na zużycie [30].

Materiały obojętne to te, które nie wykazują żadnych negatywnych reakcji w organizmie i są w pełni biokompatybilne. Do tej grupy należą m.in. tytan, który jest szeroko stosowany w medycynie ze względu na dobrą biokompatybilność i odporność na korozję [31]. Tytan jest uważany za materiał idealny do zastosowań medycznych, ponieważ w większości przypadków jest dobrze tolerowany przez okalające tkanki [32, 33].

1.4 Implanty

Implanty reprezentują istotny krok naprzód w dziedzinie medycyny i technologii biomedycznej, umożliwiając poprawę jakości życia pacjentów poprzez zamianę, wsparcie lub modyfikację struktur biologicznych organizmu. Z naukowego punktu widzenia, implanty definiuje się jako sztuczne urządzenia lub materiały wszczepiane do ciała, które mają na celu pełnienie określonych funkcji fizjologicznych lub terapeutycznych [12]. W zależności od rodzaju i zastosowania, implanty mogą być wykonane z różnych materiałów, w tym metali, ceramiki, polimerów i kompozytów.

Implanty muszą spełniać szereg wytycznych i norm, aby mogły być bezpiecznie i skutecznie stosowane w praktyce klinicznej. Kluczowymi aspektami są biokompatybilność, wytrzymałość mechaniczna, odporność na korozję oraz zdolność do integracji z tkankami gospodarza [34]. Biokompatybilność oznacza, że materiał implantu nie wywołuje negatywnej odpowiedzi immunologicznej i jest dobrze tolerowany przez organizm [35]. Wytrzymałość mechaniczna zapewnia, że implant będzie w stanie wytrzymać obciążenia fizyczne, którym będzie poddawany, natomiast odporność na korozję jest kluczowa, aby zapobiec degradacji materiału w środowisku biologicznym [36]. Integracja z tkankami gospodarza jest niezbędna, aby zapewnić stabilność implantu i jego efektywną funkcjonalność w organizmie [37].

Implanty można podzielić na kilka głównych kategorii w zależności od ich funkcji i lokalizacji w ciele. Jednym z podstawowych podziałów jest klasyfikacja na implanty ortopedyczne, stomatologiczne, kardiologiczne oraz neurologiczne.

Implanty ortopedyczne, takie jak endoprotezy stawów biodrowych i kolanowych, mają na celu zastępowanie uszkodzonych struktur kostnych i stawowych [38]. W przypadku endoprotezy stawu biodrowego, stosuje się zazwyczaj materiały takie jak tytan i polietylen, które zapewniają odpowiednią wytrzymałość i biokompatybilność [39]. Tytan jest szczególnie ceniony za swoją wysoką wytrzymałość przy stosunkowo niskiej masie oraz za odporność na korozję, co czyni go idealnym materiałem do długotrwałych implantów. Polietylen jest stosowany jako materiał na powierzchnie stawowe ze względu na jego doskonałe właściwości ślizgowe i odporność na ścieranie [40]. Przykłady takich implantów obejmują endoprotezy stawu biodrowego, składające się z tytanowego trzpienia wszczepianego do kości udowej oraz głowy stawu wykonanej z ceramiki lub metalu, współpracującej z polietylenową panewką umieszczoną w miednicy [41].

Implanty stomatologiczne służą do zastępowania utraconych zębów i mogą być wykonane z tytanu, który dzięki swojej biokompatybilności i zdolności do

osteointegracji (łączenia się z kością) jest szeroko stosowany w tej dziedzinie [42].

Implanty kardiologiczne, takie jak stymulatory serca i zastawki serca, wspomagają lub zastępują funkcje serca. Stymulatory serca są małymi urządzeniami elektronicznymi, które kontrolują rytm serca, natomiast sztuczne zastawki serca są wykorzystywane do zastępowania uszkodzonych zastawek i mogą być wykonane z materiałów biologicznych lub syntetycznych [43].

Implanty neurologiczne, takie jak elektrody do głębokiej stymulacji mózgu, są stosowane w leczeniu chorób neurologicznych, takich jak choroba Parkinsona. Te implanty składają się zazwyczaj z elektrod umieszczonych w określonych obszarach mózgu oraz generatora impulsów, który jest wszczepiany pod skórę [44].

1.5 Endoprotezoplastyka

Endoprotezoplastyka kończyn dolnych i górnych, znana również jako artroplastyka, stanowi zaawansowaną metodę chirurgiczną polegającą na zastąpieniu uszkodzonych stawów i kości sztucznymi implantami. Zabiegi te są przeprowadzane głównie w celu przywrócenia funkcji ruchowych, redukcji bólu oraz poprawy jakości życia pacjentów cierpiących na zaawansowane choroby zwyrodnieniowe stawów, urazy czy choroby zapalne.

Historia endoprotezoplastyki sięga początku XX wieku, jednak prawdziwy rozwój technologiczny i medyczny nastąpił w drugiej połowie tego wieku, zwłaszcza po wprowadzeniu pierwszych endoprotez biodra przez Sir Johna Charnleya w latach 60. XX wieku [45]. Od tego czasu obserwuje się znaczący wzrost liczby wykonywanych operacji endoprotezoplastyki na całym świecie. Wzrost ten można przypisać kilku kluczowym czynnikom.

Po pierwsze, starzenie się populacji globalnej przyczynia się do większej liczby przypadków chorób zwyrodnieniowych stawów, które są głównym wskazaniem do endoprotezoplastyki. Z danych opublikowanych przez Vollset i in. wynika, że liczba osób w wieku powyżej 60 lat znacząco wzrosła i przewiduje się dalszy wzrost w nadchodzących dekadach [46]. Po drugie, postęp w technologiach medycznych i materiałoznawstwie umożliwił opracowanie bardziej trwałych i biokompatybilnych implantów, co z kolei zwiększyło skuteczność i bezpieczeństwo operacji [47].

Endoprotezy kończyn dzielą się na te stosowane w stawach dolnych, takich jak biodro, kolano i staw skokowy, oraz górnych, takich jak staw barkowy, łokciowy i nadgarstkowy.

1.5.1 Endoprotezy kończyn dolnych

Endoprotezy biodra są jednymi z najczęściej stosowanych implantów, szczególnie w przypadkach zaawansowanej choroby zwyrodnieniowej stawów, zwanej koksartrozą. Zabiegi te są szczególnie skuteczne w redukcji bólu i poprawie funkcji stawu. Badania wykazały, że pacjenci po endoprotezoplastyce biodra doświadczają znacznej poprawy funkcjonalnej oraz jakości życia. W badaniu opublikowanym w *The Lancet* przez Learmonth i wsp. (2007), wykazano, że operacja ta jest często określana jako "operacja stulecia" ze względu na jej znaczący wpływ na poprawę jakości życia pacjentów [48]. Również inne badania wskazują na wysoki poziom zadowolenia pacjentów oraz niskie ryzyko powikłań pooperacyjnych [49]. Jednakże, jak każda procedura chirurgiczna, endoprotezoplastyka biodra nie jest pozbawiona ryzyka powikłań. Najczęstszymi przyczynami operacji rewizyjnych są obluzowanie się implantu, infekcje oraz mechaniczne uszkodzenie protezy. Według badań, około 10% endoprotez biodra wymaga operacji rewizyjnej w ciągu 10-15 lat od wykonania pierwotnej operacji [50].

Endoprotezy kolana są powszechnie stosowane w leczeniu zaawansowanej choroby zwyrodnieniowej stawu kolanowego (gonartrozy). Endoprotezoplastyka kolana jest skuteczną metodą pozwalającą na odzyskanie ruchomości i redukcję bólu. Według raportu opartego na danych z USA, liczba tych operacji wzrosła o ponad 150% w ciągu ostatnich dwóch dekad, a prognozy wskazują na dalszy wzrost w najbliższych latach [51]. W artykule Sloan i wsp. (2018) w *The Journal of Bone and Joint Surgery* prognozowano, że liczba operacji endoprotezoplastyki kolana w Stanach Zjednoczonych wzrośnie o 673% do 2030 roku [52]. Najczęstszymi przyczynami operacji rewizyjnych są obluzowanie się implantu, infekcje, problemy z więzadłami oraz mechaniczne uszkodzenie protezy. Około 5-10% endoprotez kolana wymaga operacji rewizyjnej w ciągu 10-20 lat od wykonanej pierwotnej operacji [53].

Endoprotezy stawu skokowego są mniej powszechne, ale stanowią istotne rozwiązanie dla pacjentów z ciężkimi zmianami zwyrodnieniowymi lub pourazowymi tego stawu. Technologia endoprotez stawu skokowego znacznie się rozwinęła w ostatnich latach, co przyczyniło się do poprawy wyników klinicznych. Badania wskazują, że pacjenci po endoprotezoplastyce stawu skokowego doświadczają znacznej redukcji bólu oraz poprawy funkcji chodu [54]. Jednakże, operacje rewizyjne są nadal wyzwaniem, głównie ze względu na problemy z stabilnością implantu oraz infekcje. Szacuje się, że około 10-15% endoprotez stawu skokowego wymaga rewizji w ciągu 10 lat od pierwotnej operacji [55].

1.5.2 Endoprotezy kończyn górnych

Endoprotezy barku stały się standardowym leczeniem zaawansowanej choroby zwyrodnieniowej stawu barkowego oraz pourazowych uszkodzeń rotatorów. Zastosowanie anatomicznych oraz odwrotnych protez barku pozwala na odzyskanie ruchomości oraz znaczną redukcję bólu, wykazano, że endoprotezoplastyka barku prowadzi do znaczącej poprawy jakości życia pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów [56]. Najczęstszymi przyczynami operacji rewizyjnych są obluzowanie się implantu, uszkodzenia mechaniczne oraz infekcje. Około 5-10% endoprotez barku wymaga rewizji w ciągu 10-15 lat od pierwotnej operacji [57].

Endoprotezy łokcia są stosowane w przypadku ciężkich deformacji i urazów stawów wynikających z reumatoidalnego zapalenia stawów oraz innych chorób reumatycznych. Choć mniej powszechne niż endoprotezy biodra czy kolana, endoprotezy łokcia oferują pacjentom znaczną ulgę w bólu oraz poprawę funkcji ruchowych [58]. Jednakże, operacje rewizyjne są częstsze niż w przypadku innych stawów, głównie z powodu problemów z mechaniką stawu oraz infekcji. Około 15-20% endoprotez łokcia wymaga rewizji w ciągu 10 lat od pierwotnej operacji [59].

Endoprotezy nadgarstka są najmniej powszechne spośród wszystkich endoprotez kończyn górnych, ale odgrywają ważną rolę w leczeniu pacjentów z ciężkimi uszkodzeniami stawu nadgarstkowego, głównie wynikającymi z reumatoidalnego zapalenia stawów. Te zabiegi mogą znacząco poprawić funkcję ręki i zmniejszyć ból [60]. Operacje rewizyjne są rzadkie, ale mogą być konieczne w przypadkach obluzowania się implantu, infekcji lub mechanicznych uszkodzeń. Około 10% endoprotez nadgarstka wymaga rewizji w ciągu kilku - kilkunastu lat od pierwotnej operacji [61].

Rozdział 2

Materialy

2.1 Charakterystyka stopu Ti6Al4V

Stopy tytanowe są powszechnie wykorzystywane w medycynie, szczególnie do produkcji endoprotez. Charakteryzują się one wyjątkową wytrzymałością mechaniczną przy jednocześnie niewielkiej masie. Dzięki tym właściwościom stanowią idealny materiał do produkcji implantów, które muszą być zarówno trwałe, jak i lekkie w celu zmniejszenia obciążenia dla pacjenta [62]. Tytan i jego stopy wyróżniają się znakomitą biokompatybilnością, co skutkuje wysoką tolerancją przez organizm ludzki i minimalnym ryzykiem alergii. Ta cecha wynika z tworzenia się bioobojętnego tlenku tytanu (TiO_2) na ich powierzchni [63].

Chociaż zarówno czysty tytan, jak i jego stopy są stosowane w medycynie, istnieją istotne różnice w ich zastosowaniach. Czysty tytan (Ti CP, ang. *commercially pure*) ma niższą wytrzymałość mechaniczną w porównaniu do stopów tytanu, takich jak Ti6Al4V. Z tego powodu stopy tytanu są preferowane w aplikacjach wymagających wyższej wytrzymałości, takich jak endoprotezy stawów biodrowych czy kolanowych [64]. Ponadto, stopy tytanu mają lepszą odporność na zużycie niż czysty tytan, co jest kluczowe w przypadku ruchomych części implantów, które podlegają ciągłemu tarcia. Dodatek innych metali, takich jak glin i wanad w przypadku Ti6Al4V, poprawia właściwości tribologiczne stopu [65].

2.1.1 Dwufazowość Ti6Al4V

Kluczowym aspektem tego stopu jest jego struktura dwufazowa, określana jako $\alpha+\beta$ [66, 67].

Glin, będący jednym z głównych dodatków stopowych w Ti6Al4V, działa jako stabilizator fazy α . Faza α charakteryzuje się heksagonalną zwartą strukturą (hcp) i jest stabilna w niższych temperaturach. Dodatek glinu zwiększa wytrzy-

małość mechaniczną stopu, obniża jego gęstość oraz poprawia odporność na korozję, co jest kluczowe w środowisku biologicznym. Glin sprawia, że stop Ti6Al4V ma wysoką wytrzymałość na rozciąganie i stabilność temperaturową, co czyni go odpornym na długotrwałe obciążenia w ciele pacjenta. Wadą fazy α jest jednak jej niższa plastyczność w porównaniu do fazy β , co może ograniczać możliwości formowania materiału w procesie produkcji implantów [68, 69].

Wanad, drugi główny składnik stopu Ti6Al4V, działa jako stabilizator fazy β . Faza β , o regularnej przestrzennie centrowanej strukturze (bcc), jest stabilna w wyższych temperaturach. Dodatek wanadu umożliwia kontrolowanie mikrostruktury stopu poprzez obróbkę cieplną, co jest kluczowe dla uzyskania optymalnych właściwości mechanicznych. Faza β przyczynia się do zwiększenia plastyczności i formowalności stopu, co jest korzystne podczas produkcji złożonych kształtów implantów. Dodatkowo, możliwość utwardzania stopu przez obróbkę cieplną pozwala na uzyskanie pożądaných właściwości mechanicznych, takich jak wyższa wytrzymałość na zmęczenie [70]. Wadą fazy β jest jej niższa odporność na korozję w porównaniu do fazy α , co może wpływać na długoterminową biokompatybilność stopu [71]

Synergia faz α i β w stopie Ti6Al4V daje wyjątkowe właściwości mechaniczne i biologiczne, które są niezbędne w zastosowaniach biomedycznych. Wytrzymałość na rozciąganie oraz odporność na zmęczenie są wynikiem obecności obu faz, gdzie faza α dostarcza wytrzymałość, a faza β zapewnia plastyczność i zdolność do formowania materiału. Dzięki możliwości kontrolowania mikrostruktury przez obróbkę cieplną, możliwe jest dostosowanie właściwości mechanicznych stopu do specyficznych wymagań implantów medycznych. Odporność na korozję zapewnianą przez fazę α , w połączeniu z właściwościami mechanicznymi fazy β , przyczynia się do długowieczności implantów z Ti6Al4V, minimalizując ryzyko powikłań i konieczność wymiany implantów w ciele pacjenta [72].

2.1.2 Domieszkowanie a ryzyko toksyczności

Glin i wanad mogą wzbudzać obawy związane z ich potencjalnym wpływem na zdrowie pacjentów poprzez uwalnianie się do otaczających tkanek.

Glin, chociaż powszechnie występujący, może stanowić zagrożenie zdrowotne ze względu na jego toksyczność. Badania wskazują na możliwość kumulacji glinu w mózgu, co jest powiązane z ryzykiem rozwoju chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera [73]. Ponadto, glin może mieć negatywny wpływ na procesy metaboliczne, w tym metabolizm wapnia i fosforu, co jest istotne dla zdrowia kości i osteointegracji implantów [37]. Długotrwała ekspozycja na glin może również prowadzić do stresu oksydacyjnego oraz zapalenia, co może

potencjalnie prowadzić do dalszych powikłań zdrowotnych [74].

Wanad, z kolei, jest pierwiastkiem o złożonych właściwościach toksycznych. Badania wykazały, że wanad może wywoływać stres oksydacyjny i uszkadzać okalające tkanki, co może negatywnie wpływać na zdrowie pacjentów [75]. Ponadto, wanad może wpływać na różnicowanie komórek oraz funkcjonowanie układu immunologicznego, co może mieć istotne konsekwencje zdrowotne w długim okresie [76]. Istnieją również dowody na to, że wanad może być związany z ryzykiem rozwoju raka, chociaż mechanizmy tego działania są nadal przedmiotem badań [77].

Badania pokazują, że zarówno glin, jak i wanad mogą być uwalniane z implantów ze stopu Ti6Al4V, zwłaszcza w warunkach korozji, obciążenia mechanicznego i zmieniających się warunków fizykochemicznych otoczenia [78]. Analizy chemiczne oraz badania *in vivo* potwierdzają obecność tych jonów w tkankach otaczających implanty, co podkreśla znaczenie monitorowania biokompatybilności i bezpieczeństwa tych materiałów w kontekście ich długoterminowego stosowania w medycynie. Jednakże pokrywanie implantów powłokami polimerowymi może zmniejszyć uwalnianie jonów metali [79].

Ti6Al4V jest materiałem o wyjątkowych właściwościach mechanicznych, jednak obecność glinu i wanadu może generować potencjalne ryzyko toksyczności dla zdrowia pacjentów.

2.1.3 Właściwości mechaniczno-fizyczne

Pod względem wytrzymałości mechanicznej, stop Ti6Al4V charakteryzuje się wytrzymałością na rozciąganie wynoszącą około 900 MPa, co jest znacznie wyższą wartością w porównaniu do kości korowej, której wytrzymałość wynosi około 100-200 MPa [80, 81]. Taka wytrzymałość jest korzystna w przypadku implantów, które muszą wytrzymać duże obciążenia mechaniczne w ciele człowieka. Jednakże, ta różnica w wytrzymałości może prowadzić do zjawiska "stress shielding"¹, w którym implant przejmuje większość obciążenia, co może prowadzić do resorpcji kości wokół implantu [82].

Elastyczność materiału jest kolejnym istotnym aspektem. Moduł Younga dla Ti6Al4V wynosi około 110 GPa, podczas gdy dla kości korowej wartość ta wynosi około 18-30 GPa [83]. Znacznie wyższy moduł Younga dla stopu tytanu oznacza, że jest on znacznie sztywniejszy niż kość. Ta sztywność może prowadzić do problemów związanych z integracją implantu z tkanką kostną oraz do wspomnianego już zjawiska "stress shielding". Badania nad modyfikacją struktury stopu tytanu, takie jak wprowadzenie porowatych struktur, mają na celu zredukowanie modułu

¹z ang. "osłabienie obciążeniowe" lub "ekranowanie naprężeń"

Younga i zbliżenie go do wartości dla kości, co mogłoby poprawić osseointegrację [25].

Biokompatybilność stopu Ti6Al4V jest jednym z głównych powodów jego powszechnego zastosowania w medycynie. Stop ten jest uznawany za biokompatybilny, co oznacza, że nie wywołuje negatywnych reakcji immunologicznych ani toksycznych w organizmie [39, 84]. W praktyce klinicznej wykazano, że Ti6Al4V dobrze integruje się z tkanką kostną, prowadząc do skutecznej osseointegracji [68, 85].

Pod względem gęstości, stop Ti6Al4V ma gęstość około $4,43 \text{ g/cm}^3$, podczas gdy gęstość kości korowej wynosi około $1,8\text{--}2,0 \text{ g/cm}^3$ [86]. Wyższa gęstość stopu tytanu przyczynia się do jego wyższej wytrzymałości, ale również oznacza, że implanty wykonane z tego materiału są cięższe, co może być niekorzystne w przypadku dużych konstrukcji implantologicznych.

Zastosowanie stopu Ti6Al4V w konstrukcjach implantów wynika z jego korzystnych właściwości mechanicznych i fizycznych. Wysoka wytrzymałość na rozciąganie i dobra biokompatybilność sprawiają, że jest on idealnym materiałem do zastosowań, gdzie wymagana jest duża wytrzymałość i trwałość, takich jak w endoprotezach stawów biodrowych i kolanowych, płytkach i śrubach ortopedycznych oraz implantach dentystycznych. Mimo pewnych ograniczeń np. potencjalne uwalnianie toksycznych jonów, stop Ti6Al4V pozostaje jednym z najważniejszych materiałów w inżynierii biomedycznej, a badania nad jego modyfikacją i ulepszaniem trwają nieustannie.

2.1.4 Modyfikacje powierzchni stopów tytanu

Modyfikacje powierzchni stopów tytanu mają na celu poprawę takich cech jak odporność na zużycie, przyleganie do powierzchni innych materiałów czy bioaktywność. Współcześnie stosowane metody modyfikacji można podzielić na trzy główne kategorie: fizyczne, chemiczne oraz mechaniczne.

Modyfikacje fizyczne

Fizyczne modyfikacje powierzchni obejmują techniki, które polegają na zmianie struktury i właściwości powierzchni stopów tytanu bez wprowadzania nowych materiałów. Przykładem fizycznej modyfikacji jest napyłanie magnetronowe, które umożliwia osadzanie cienkich warstw materiałów na powierzchni stopów tytanu. Metoda ta jest szeroko stosowana w przemyśle elektronicznym oraz medycznym, ze względu na możliwość tworzenia powłok o wysokiej czystości i precyzyjnie kontrolowanej grubości. Napyłanie magnetronowe pozwala

na znaczną poprawę odporności na zużycie oraz właściwości tribologicznych powierzchni tytanu [87]

Laserowe modyfikacje powierzchni to kolejna technika, która polega na wykorzystaniu promieniowania laserowego do przekształcania mikrostruktury powierzchni tytanu. Technika ta jest szczególnie efektywna w modyfikacji mikrostruktury, co z kolei wpływa na właściwości mechaniczne i bioaktywność powierzchni. Dzięki precyzji działania lasera, można uzyskać pożądane właściwości powierzchni w bardzo krótkim czasie, co czyni tę metodę szczególnie atrakcyjną w zastosowaniach medycznych [88].

Modyfikacje chemiczne

Chemiczne modyfikacje powierzchni to techniki polegające na modyfikacji składu chemicznego powierzchni stopów tytanu. Jednym z przykładów jest proces implantacji jonowej, który pozwala na wprowadzenie jonów innych pierwiastków do powierzchni tytanu. Implantacja jonowa może znacznie poprawić odporność na korozję oraz zwiększyć twardość powierzchni, co jest niezwykle istotne w zastosowaniach przemysłowych [89].

Modyfikacja powierzchni poprzez chemiczne wytrawianie jest kolejnym przykładem techniki chemicznej. Proces ten polega na kontrolowanym usuwaniu materiału z powierzchni poprzez działanie substancji chemicznych, co pozwala na uzyskanie specyficznej topografii powierzchni oraz zwiększenie jej powierzchni właściwej. Chemiczne wytrawianie jest powszechnie stosowane w celu poprawy adhezji materiałów powłokowych oraz zwiększenia bioaktywności w zastosowaniach biomedycznych [90].

Trzecim przykładem chemicznej modyfikacji powierzchni jest proces utleniania plazmowego, który umożliwia tworzenie warstw tlenkowych o pożądanych właściwościach chemicznych i mechanicznych. Utlenianie plazmowe pozwala na kontrolę grubości i składu chemicznego warstw tlenkowych, co ma kluczowe znaczenie w aplikacjach medycznych, takich jak implanty ortopedyczne, gdzie wymagana jest wysoka bioaktywność i odporność na korozję [91].

Mechaniczne modyfikacje powierzchni obejmują techniki, które polegają na fizycznym oddziaływaniu na powierzchnię w celu zmiany jej właściwości. Jednym z najczęściej stosowanych procesów jest kulowanie (ang. shot peening), które polega na bombardowaniu powierzchni metalowymi kulkami o wysokiej prędkości. Proces ten prowadzi do utwardzenia powierzchni oraz wprowadzenia naprężeń szczątkowych, co z kolei zwiększa wytrzymałość zmęczeniową i odporność na pękanie stopów tytanu [92].

Obróbka powierzchni poprzez frezowanie wysokiej prędkości jest kolejną me-

tołą mechaniczną, która pozwala na uzyskanie precyzyjnej topografii powierzchni oraz zwiększenie jej twardości. Dzięki zastosowaniu wysokich prędkości obróbki, możliwe jest uzyskanie powierzchni o bardzo niskiej chropowatości, co ma kluczowe znaczenie w zastosowaniach medycznych, np. implantów stawowych, gdzie gładkość powierzchni wpływa na stopień integracji z tkanką biologiczną [93].

Modyfikacje mechaniczne

Ostatnim przykładem mechanicznej modyfikacji powierzchni jest technika szlifowania kriogenicznego, która polega na obróbce powierzchni w niskich temperaturach. Proces ten pozwala na minimalizację naprężeń cieplnych oraz poprawę właściwości mechanicznych powierzchni, co jest szczególnie istotne w przypadku stopów tytanu, które są wrażliwe na przegrzewanie podczas tradycyjnych metod obróbki [94].

W przypadku modyfikacji stopu tytanu - utworzenia cienkiej warstwy nowego materiału na powierzchni, w celu nadania jej specyficznych właściwości, takich jak hydrofobowość, biokompatybilność czy zwiększenie adhezji, można wyróżnić kilka metod osadzania, każda z nich charakteryzuje się unikalnymi właściwościami i zastosowaniami, ale także ograniczeniami.

Jedną z najczęściej stosowanych metod tworzenia cienkich warstw polimerowych na metalach jest metoda osadzania fizycznego z fazy gazowej (PVD). W tym przypadku, polimer lub jego prekursorzy są odparowywane i osadzone na powierzchni metalicznej w warunkach próżni. Jedną z głównych zalet tej metody jest możliwość uzyskania warstw o bardzo precyzyjnie kontrolowanej grubości i składzie. PVD pozwala również na osadzanie warstw na skomplikowanych geometriach i powierzchniach. Niemniej jednak, metoda ta ma swoje ograniczenia, w tym konieczność stosowania wysokiej próżni i ograniczone możliwości w przypadku osadzania na dużych powierzchniach [95]. Procesy PVD są również kosztowne, co ogranicza ich zastosowanie w produkcji masowej.

Osadzanie chemiczne z fazy gazowej (CVD) jest kolejną metodą, która zyskuje na znaczeniu w kontekście osadzania cienkich warstw polimerowych na metalach. W procesie CVD, chemiczne prekursorzy w fazie gazowej reagują na powierzchni metalu, tworząc cienką warstwę polimeru. Zaletą tej techniki jest możliwość tworzenia wysoce jednorodnych i stabilnych chemicznie warstw, które mogą posiadać wyjątkowe właściwości ochronne, takie jak odporność na chemikalia czy podwyższona trwałość mechaniczna [96]. CVD pozwala również na osadzanie polimerów na powierzchniach o skomplikowanej geometrii. Jednakże, podobnie jak w przypadku PVD, proces CVD często wymaga wysokich temperatur i skomplikowanego sprzętu, co może ograniczać jego zastosowanie.

Powlekanie zanurzeniowe (dip-coating) jest kolejną powszechnie stosowaną techniką, szczególnie ze względu na swoją prostotę i niski koszt. W tej metodzie metaliczne podłoże jest zanurzane w roztworze polimeru, a następnie powoli wyciągane, co pozwala na osadzenie cienkiej warstwy na powierzchni. Grubość warstwy zależy od lepkości roztworu, prędkości wyciągania oraz parametrów suszenia. Zaletą powlekania zanurzeniowego jest jego wszechstronność i łatwość skalowania, co czyni je idealnym do produkcji na dużą skalę. Jednakże, metoda ta może prowadzić do powstawania warstw o nierównej grubości, szczególnie na powierzchniach o skomplikowanej geometrii, co ogranicza jej zastosowanie w niektórych aplikacjach [97].

Metoda natryskiwania cieplnego (spray coating) również znajduje szerokie zastosowanie w tworzeniu cienkich warstw polimerowych na metalach. Polega ona na rozpylaniu roztworu polimeru na powierzchnię metalu przy użyciu powietrza lub gazu nośnego. Proces ten pozwala na szybkie pokrycie dużych powierzchni oraz na precyzyjną kontrolę grubości warstwy poprzez zmianę parametrów natryskiwania. Jedną z głównych zalet tej metody jest jej uniwersalność i możliwość stosowania na różnorodnych podłożach i w różnych środowiskach. Wadą natomiast jest potencjalne powstawanie defektów powierzchniowych, takich jak krople lub nierówności, co może wpływać na właściwości końcowej warstwy [98]. Ponadto, podobnie jak w przypadku powlekania zanurzeniowego, konieczne jest stosowanie rozpuszczalników, co może ograniczyć zakres materiałów wykorzystanych do utworzenia warstwy.

Metody zol-żel są również szeroko stosowane w osadzaniu cienkich warstw polimerowych na metalach. Proces zol-żel polega na przygotowaniu zolów, które następnie przechodzą w stan żelu i tworzą cienką warstwę na powierzchni metalu. Metoda ta jest szczególnie atrakcyjna z uwagi na możliwość modyfikacji właściwości warstwy poprzez zmianę składu chemicznego zolu, co pozwala na tworzenie powłok o zróżnicowanych właściwościach, takich jak odporność na korozję, biokompatybilność czy odporność na działanie wysokich temperatur [99]. Zol-żel umożliwia również osadzanie powłok na powierzchniach o złożonej geometrii, co stanowi jej istotną zaletę. Jednakże proces zol-żel wymaga precyzyjnego kontrolowania parametrów procesu, takich jak pH, temperatura i czas reakcji, co może utrudniać jego przemysłowe wdrożenie.

Każda z omówionych metod ma swoje unikalne zalety i ograniczenia, co sprawia, że wybór odpowiedniej techniki zależy od specyficznych wymagań aplikacji, takich jak rodzaj metalu, oczekiwana grubość warstwy, jej właściwości oraz koszt procesu. Takie zintegrowane podejście daje większą kontrolę nad procesem i pozwala na bardziej spersonalizowane dostosowanie technologii do wymogów konkretnej aplikacji, co w efekcie prowadzi do uzyskania wyższej jakości powłok

i lepszej ich funkcjonalności w zastosowaniach przemysłowych. W opisywanych rozwiązaniach uzyskane warstwy nie posiadają dużej adhezji do podłoża tytanowego, co w rezultacie podczas ich długotrwałego użytkowania może wpływać na ich odrywanie.

2.2 Polimery w medycynie

Polimery odgrywają kluczową rolę w nowoczesnej medycynie, szczególnie w dziedzinie implantologii, dzięki swoim unikalnym właściwościom, które umożliwiają szerokie zastosowanie w różnych procedurach medycznych. Ze względu na różnorodność strukturalną i chemiczną, polimery mogą być dostosowane do specyficznych potrzeb klinicznych, co czyni je niezastąpionymi w wielu aplikacjach [12]. W medycynie możemy wyróżnić polimery naturalne oraz syntetyczne.

Polimery naturalne, które są biologicznie pozyskiwane i wykazują dużą zgodność z tkankami ludzkimi. Jednym z najbardziej znanych przykładów polimerów naturalnych jest chitozan, który jest pochodną chityny pozyskiwanej z pancerzy skorupiaków. Chitozan jest powszechnie stosowany w implantologii ze względu na jego biokompatybilność, biodegradowalność oraz zdolność do wspomagania regeneracji tkanek. Przykładowo, chitozan stosowany jest w produkcji rusztowań do regeneracji kości, gdzie jego właściwości wspomagają proces osteogenezy [100]. Kolejnym przykładem jest kolagen, który jest głównym składnikiem tkanki łącznej. Kolagen jest używany do produkcji różnorodnych implantów, takich jak matryce skórne czy zastawki serca, dzięki swojej biokompatybilności i zdolności do integracji z tkanką gospodarza [101]. Trzecim przykładem polimeru naturalnego jest kwas hialuronowy, który znajduje zastosowanie w implantologii ortopedycznej oraz okulistycznej, w szczególności w postaci wiskoelastycznych implantów stawowych i wypełniaczy do zabiegów korekcyjnych [102].

Polimery syntetyczne charakteryzują się możliwością dokładnego dostosowania ich właściwości fizykochemicznych do potrzeb medycznych. Polilaktyd (PLA) jest jednym z najczęściej stosowanych polimerów syntetycznych, wykorzystywanym do produkcji biodegradowalnych implantów ortopedycznych oraz szwów chirurgicznych. PLA, dzięki swojej biodegradowalności i niskiej toksyczności, umożliwia tworzenie implantów, które stopniowo ulegają resorpcji w organizmie, eliminując potrzebę ich chirurgicznego usunięcia [103]. Poliglikolid (PGA), który, podobnie jak PLA, jest stosowany w produkcji biodegradowalnych szwów oraz rusztowań do inżynierii tkankowej. PGA charakteryzuje się szybkim tempem degradacji, co czyni go idealnym materiałem do krótkoterminowych aplikacji medycznych [104]. Trzecim przykładem są poliuretany, które są stosowane w pro-

dukcji różnorodnych implantów medycznych, w tym protez piersi, cewników oraz urządzeń do wspomagania pracy serca. Poliuretany są cenione za swoją elastyczność, odporność na ścieranie oraz biokompatybilność [105]. Polikaprolakton (PCL) charakteryzuje się wolnym tempem degradacji oraz dobrą elastycznością, co umożliwia jego zastosowanie w długoterminowych implantach oraz produkcji rusztowań do regeneracji tkanek miękkich [106]. Kolejnym przykładem jest glikol polietylenowy (PEG), który jest powszechnie stosowany w produkcji hydrożelów medycznych oraz systemów dostarczania leków. PEG jest ceniony za swoją biokompatybilność, niską toksyczność oraz zdolność do tworzenia stabilnych połączeń z różnymi biomolekułami [107]. Ostatnim przykładem jest kopolimer polilaktyd-glikolid (PLGA), który jest kopolimerem łączącym właściwości PLA i PGA. PLGA jest szeroko stosowany w produkcji mikrosfer, które są wykorzystywane w kontrolowanym uwalnianiu leków oraz jako rusztowania do inżynierii tkankowej [108].

Do grupy polimerów syntetycznych można także zaliczyć bezwodnik poli(etylen-alt-maleinowy) (PEAMA), o wzorze $C_{18}H_{18}O_9X_2$ który jest atrakcyjnym materiałem w medycynie ze względu na swoją zdolność do tworzenia stabilnych filmów i membran. Jego zastosowanie obejmuje produkcję biomateriałów do inżynierii tkankowej oraz nośników do kontrolowanego uwalniania leków. PEAMA może być funkcjonalizowany, aby poprawić jego biokompatybilność i właściwości mechaniczne, co czyni go obiecującym materiałem do tworzenia innowacyjnych implantów medycznych [109]. Struktura PEAMA charakteryzuje się cyklicznym, regularnym ułożeniem jednostek etylenowych i maleinowych w łańcuchu polimerowym, co nadaje mu unikalne właściwości chemiczne i fizyczne. Etylen, jako prosty alken, wnosi do struktury polimeru elastyczność i hydrofobowość, natomiast bezwodnik maleinowy, będący związkiem cyklicznym z dwiema grupami karbonyłowymi, wprowadza polarną i reaktywną strukturę, która umożliwia różnorodne chemiczne modyfikacje polimeru [110]. Jedną z kluczowych właściwości PEAMA jest jego zdolność do tworzenia silnych wiązań chemicznych z innymi materiałami. Grupy bezwodnikowe obecne w strukturze są reaktywne i mogą łatwo reagować z grupami hydroksylowymi, aminowymi oraz innymi polarnymi grupami chemicznymi, co umożliwia łączenie PEAMA z innymi polimerami, metalami czy nanocząstkami. Dzięki tej właściwości PEAMA jest szeroko stosowany jako kompatybilizator w mieszkankach polimerowych oraz jako matryca w nanokompozytach [111, 112].

Dalsze badania nad polimerami i ich zastosowaniem w medycynie mogą prowadzić do odkrycia nowych materiałów o jeszcze lepszych właściwościach, co z kolei może przyczynić się do dalszego rozwoju technik implantologicznych i poprawy wyników klinicznych. Przykładowo, rozwój nanotechnologii i inżynierii materiałowej

wej otwiera nowe możliwości w zakresie projektowania polimerów o specyficznych właściwościach, które mogą być wykorzystane do tworzenia bardziej zaawansowanych i skutecznych implantów medycznych. Ponadto, rosnące zainteresowanie zrównoważonym rozwojem i ekologicznymi materiałami prowadzi do poszukiwania nowych źródeł surowców dla produkcji polimerów, co może przyczynić się do redukcji wpływu na środowisko naturalne i zwiększenia dostępności materiałów do zastosowań medycznych.

2.3 Kwas oktadecylofosfonowy (ODPA)

Kwas oktadecylofosfonowy charakteryzuje się specyficznymi właściwościami chemicznymi i fizycznymi, które determinują jego zastosowanie. Jednym z kluczowych aspektów jest obecność długiego, nasyconego łańcucha alkilowego, który nadaje związkowi właściwości hydrofobowe. Dzięki temu ODPA ma zdolność do tworzenia stabilnych, hydrofobowych powłok na różnych powierzchniach, co jest istotne w kontekście modyfikacji powierzchni i ochrony przed korozją [113]. Grupa fosfonianowa ($-\text{PO}_3\text{H}_2$) obecna w ODPA wykazuje silne powinowactwo do powierzchni tlenków metali, takich jak tlenek tytanu (TiO_2) czy tlenek glinu (Al_2O_3), przez co może być wykorzystywana do modyfikacji właściwości powierzchniowych metali i tlenków, takich jak zmiana zwilżalności [114]. Jest również kluczowym związkiem w tworzeniu warstw samoporzadkowanych (SAMs) na powierzchniach metali i tlenków. SAMs z ODPA są wykorzystywane do kontroli właściwości powierzchniowych, takich jak przewodnictwo elektryczne czy stabilność chemiczna, w mikroelektronice oraz inżynierii materiałowej [115].

2.4 Ryzedronian sodu (RSD)

Ryzedronian sodu (RSD) jest organicznym związkiem chemicznym należącym do klasy bisfosfonianów, które są powszechnie stosowane w leczeniu chorób metabolicznych kości. Związek ten jest sodową solą kwasu ryzedroniowego o wzorze chemicznym $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NO}_7\text{P}_2$. Struktura chemiczna ryzedronianu zawiera dwie grupy fosfonowe, które są kluczowe dla jego aktywności biologicznej, ponieważ nadają mu zdolność do chelatowania jonów metali, takich jak wapń. Posiada również pierścień pirydynowy, co odróżnia go od innych bisfosfonianów, takich jak alendronian czy ibandronian [116]. Dodatkowo jest chemicznie stabilny i ma niewielką reaktywność w normalnych warunkach fizjologicznych [117].

Ważną właściwością RSD jest jego zdolność do silnego wiązania się z hydroksyapatytem, głównym składnikiem mineralnym tkanki łącznej kości. Wiązanie to

jest selektywne i preferencyjnie zachodzi w miejscach aktywnej resorpcji kości, co umożliwia skuteczne działanie antyresorpcyjne [118].

RSD znalazł szerokie zastosowanie w medycynie w leczeniu chorób związanych z metabolizmem kostnym takich jak osteoporoza, choroba Pageta [119], wrodzona łamliwość kości [120] czy osteoporoza postmenopauzalna [121]. Znajduje także swoje miejsce w dynamicznie rozwijającym się obszarze inżynierii tkankowej i regeneracji kości [122], w metodach leczenia polegających na uwalnianiu leku z powierzchni [123].

Rozdział 3

Metody pomiarowe

3.1 Metody pomiarowe

3.1.1 Spektroskopia Ramana

Spektroskopia Ramana opiera się na zjawisku nieelastycznego rozpraszania światła, które zostało opisane przez Chandrasekhara Venkata Ramana w 1928 roku. W przypadku tego typu spektroskopii próbka jest naświetlana monochromatycznym światłem laserowym. Gdy fotony lasera oddziałują z cząsteczkami próbki, większość z nich jest rozpraszana elastycznie (rozpraszanie Rayleigha), co oznacza, że energia fotonów pozostaje niezmieniona. Niewielka część fotonów ulega jednak rozproszeniu nieelastycznemu, gdzie dochodzi do wymiany energii między fotonami a wibracjami molekularnymi w próbce, co prowadzi do przesunięcia częstotliwości światła rozproszonego. To przesunięcie jest unikalne dla danej substancji i stanowi chemiczny ”odcisk palca”, który można zarejestrować w postaci widma ramanowskiego [124, 125, 126]

Spektroskop Ramana składa się z kilku podstawowych komponentów: źródła światła (laser), systemu optycznego do kierowania wiązki laserowej na próbkę, detektora do zbierania rozproszonego światła oraz analizatora spektralnego do analizy uzyskanego widma. Wiązka lasera jest kierowana na próbkę, a rozproszone światło jest zbierane i przesyłane do detektora, najczęściej w postaci monochromatora sprzężonego z detektorem CCD (charge-coupled device), który rejestruje intensywność światła w funkcji przesunięcia w częstotliwości [127].

W przypadku stopów tytanu, spektroskopia Ramana jest szczególnie przydatna do identyfikacji różnych faz tlenkowych, które mogą powstawać na powierzchni w wyniku procesów produkcyjnych, takich jak anodowanie lub podczas eksploatacji, na przykład w środowisku [128].

Stosowanie spektroskopii Ramana do analizy stopów tytanu ma wiele zalet. Po

pierwsze, technika ta jest nieinwazyjna przy zastosowaniu optymalnych warunków pomiaru, w tym doborze odpowiedniej mocy lasera, co oznacza, że próbka nie ulega zniszczeniu podczas analizy. Po drugie, umożliwia badanie struktury materiału na poziomie mikro- i nanoskalowym, co jest istotne dla zrozumienia procesów korozyjnych i mechanizmów degradacji. Wadą tej metody w kontekście stopów tytanu może być niska intensywność sygnału ramanowskiego, co utrudnia analizę w obecności innych materiałów o silnym rozpraszaniu. Dodatkowo, metaliczne powierzchnie mogą powodować silne refleksje laserowe, które zakłócają pomiar [129].

Spektroskopia Ramana umożliwia identyfikację różnych grup funkcyjnych w polimerach oraz badanie zmian chemicznych zachodzących podczas modyfikacji powierzchni czy pod wpływem czynników zewnętrznych, takich jak promieniowanie UV czy kontakt z reagentami chemicznymi. Dzięki wysokiej rozdzielczości przestrzennej, technika ta pozwala na badanie nawet bardzo cienkich warstw powierzchniowych, co jest istotne w przypadku powłok i filmów polimerowych [130].

Spektroskopia Ramana pozwala na identyfikację hydroksyapatytu oraz monitorowanie procesów krystalizacji i rekrytalizacji, co jest istotne dla zrozumienia mechanizmów tworzenia i regeneracji tkanki kostnej. Jest to szczególnie ważne w kontekście rozwoju nowych materiałów implantacyjnych [131], dodatkowo technika ta umożliwia badanie interakcji hydroksyapatytu z komórkami i białkami [132].

Jedną z głównych zalet spektroskopii Ramana w badaniach hydroksyapatytu jest jej wysoka rozdzielczość przestrzenna, co pozwala na analizę lokalnych zmian w strukturze chemicznej i krystalicznej. Ponadto, technika ta jest nieinwazyjna, co umożliwia badania *in situ*, na przykład w warunkach biologicznych. Niemniej jednak, istnieją również pewne wady. Próbkę biologiczną mogą wykazywać silną fluorescencję, co może zakłócać sygnał ramanowski [133]. Ponadto, interpretacja widm ramanowskich może być utrudniona ze względu na złożoność chemiczną i strukturalną badanych materiałów, dlatego konieczne jest stosowanie metod uzupełniających - przykładowo spektroskopii FTIR [134].

3.1.2 Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM) i spektroskopia dyspersji energii (EDS)

Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM) jest metodą analityczną, która wykorzystuje wiązkę elektronów do skanowania powierzchni próbki, dostarczając obraz o wysokiej rozdzielczości. SEM działa na zasadzie emisji elektronów z katody, które są przyspieszane w polu elektrycznym i ogniskowane na powierzchni próbki. Elektrony wtórne emitowane z powierzchni próbki są zbierane przez de-

tektor, co pozwala na tworzenie obrazów o dużym powiększeniu i głębi ostrości. SEM jest szeroko stosowany w analizie morfologii powierzchni, struktury krystalicznej oraz topografii materiałów [135].

Spektroskopia dyspersji energii (EDS), często jako uzupełnienie SEM, pozwala na analizę składu pierwiastkowego próbki. EDS wykorzystuje charakterystyczne promieniowanie rentgenowskie emitowane przez próbkę w wyniku bombardowania elektronami do identyfikacji i ilościowej analizy pierwiastków obecnych na powierzchni. Gdy wiązka elektronów uderza w próbkę, wybijane są elektrony z wewnętrznych powłok atomowych. Puste miejsca są następnie wypełniane przez elektrony z wyższych powłok, co powoduje emisję promieniowania rentgenowskiego o charakterystycznej energii dla danego pierwiastka. Analiza tego promieniowania pozwala na określenie składu chemicznego próbki [136].

SEM i EDS mają szerokie zastosowania w materiałoznawstwie, nanotechnologii, biologii oraz medycynie. Na przykład, SEM jest używany do badania powierzchni implantów biomedycznych, co pozwala na ocenę ich morfologii oraz zgodności z tkankami [137]. EDS jest wykorzystywana do analizy składu chemicznego modyfikowanych powierzchni biomateriałów, co jest istotne w kontekście oceny stabilności uzyskanych warstw [138]. SEM i EDS są również stosowane w badaniach korozji, pozwalając na analizę produktów korozji oraz ich rozmieszczenia na powierzchni materiałów [139].

SEM wyróżnia się zdolnością do tworzenia obrazów o bardzo wysokiej rozdzielczości, co pozwala na analizę struktur na poziomie molekularnym. Dodatkowo, EDS umożliwia jednoczesną analizę składu chemicznego, co czyni tę kombinację technik niezwykle wszechstronną. Wadą SEM i EDS jest konieczność pracy w próżni oraz możliwość uszkodzenia próbki przez wiązkę elektronów, co może być problematyczne w przypadku delikatnych materiałów biologicznych [140]. Ponadto, przygotowanie próbek do analizy SEM może wymagać specjalnych procedur, takich jak powlekanie próbek warstwą przewodzącą, co może wpływać na wyniki pomiarów [141].

3.1.3 Mikroskopia konfokalna

Mikroskopia konfokalna jest techniką obrazowania optycznego, która wykorzystuje punktowe źródło światła i detektor punktowy do eliminacji światła pochodzącego spoza płaszczyzny ogniskowania. Dzięki temu możliwe jest uzyskanie obrazów o wysokiej rozdzielczości i kontrastowości w trzech wymiarach. W mikroskopii konfokalnej, laser jest używany jako źródło światła, które przechodzi przez przysłonę ogniskującą na określoną głębokość próbki. Światło odbite lub emitowane z tego punktu przechodzi przez kolejną przysłonę (konfokalną) do de-

tektora, co eliminuje światło pochodzące spoza ogniskowanej płaszczyzny. Jedną z głównych zalet mikroskopii konfokalnej jest jej zdolność do uzyskiwania obrazów w wysokiej rozdzielczości w trzech wymiarach, co jest istotne w badaniach strukturalnych i funkcjonalnych komórek oraz tkanek. Ponadto, możliwość selektywnego obrazowania na różnych głębokościach próbki pozwala na badanie złożonych struktur biologicznych. Wadą mikroskopii konfokalnej jest jej ograniczona penetracja w głąb próbki, co może być problematyczne w przypadku grubszych tkanek. Dodatkowo, technika ta wymaga zastosowania fluoroforów, co może wpływać na wyniki pomiarów oraz wprowadzać artefakty [142].

Mikroskopia konfokalna znajduje zastosowanie w analizie biomateriałów, pozwalając na obrazowanie struktur wewnętrznych komórek oraz tkanek w wysokiej rozdzielczości. Jest powszechnie stosowana w badaniach biologicznych, takich jak analiza dynamicznych procesów komórkowych, obrazowanie struktury cytoszkieletu oraz badanie interakcji między komórkami [143]. Technika ta jest również stosowana w analizie rozkładu leków w tkankach, co pozwala na ocenę ich efektywności oraz mechanizmów działania [144].

3.1.4 Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR)

Spektroskopia FTIR opiera się na absorpcji promieniowania podczerwonego przez cząsteczki, co powoduje wzbudzenie ich drgań wibracyjnych. Technika ta wykorzystuje zjawisko absorpcji promieniowania w zakresie podczerwonym, które powoduje przejścia między poziomami energetycznymi odpowiadającymi drganiom molekularnym. W FTIR, promieniowanie podczerwone jest przepuszczane przez próbkę, a następnie analizowane za pomocą interferometru Michelsona, który rozdziela promieniowanie na poszczególne częstotliwości. Uzyskane widmo absorpcyjne jest charakterystyczne dla specyficznych drgań molekularnych, co pozwala na identyfikację i analizę związków chemicznych [145].

Zasada działania FTIR opiera się na transformacji Fouriera, która przekształca interferogram (sygnał w funkcji czasu) na widmo (sygnał w funkcji częstotliwości). Proces ten umożliwia jednoczesną analizę szerokiego zakresu częstotliwości, co znacznie skraca czas pomiaru w porównaniu do tradycyjnych metod spektroskopii podczerwieni. FTIR jest szeroko stosowana w chemii organicznej, chemii środowiskowej, farmacji oraz badaniach materiałowych. Na przykład, FTIR jest używana do monitorowania reakcji chemicznych oraz identyfikacji produktów reakcji, co jest istotne w syntezie organicznej [146]. W chemii środowiskowej, technika ta jest wykorzystywana do analizy zanieczyszczeń w próbkach gleby, wody oraz powietrza, co pozwala na ocenę ich wpływu na środowisko. W bada-

niach materiałowych, FTIR jest stosowana do analizy polimerów, kompozytów oraz nanomateriałów, umożliwiając ocenę ich składu chemicznego [147].

FTIR wyróżnia się zdolnością do szybkiej i nieniszczącej analizy próbek, co czyni ją idealną do zastosowań w kontroli jakości oraz monitoringu procesów produkcyjnych. Dodatkowo, technika ta może być stosowana do analizy próbek w różnych stanach skupienia, co zwiększa jej wszechstronność [148]. Stanowi również doskonałe uzupełnienie analizy z wykorzystaniem spektroskopii Ramana.

3.1.5 Spektroskopia w ultrafiolecie i zakresie widzialnym (UV-VIS)

Spektroskopia UV-VIS jest techniką analityczną, która mierzy absorpcję promieniowania elektromagnetycznego w zakresie długości fal ultrafioletowych (200-400 nm) i widzialnych (400-700 nm). Zasada działania tej techniki opiera się na wzbudzeniu elektronów walencyjnych w cząsteczkach lub atomach do wyższych stanów energetycznych. Absorpcja światła w zakresie UV-VIS jest związana z przejściami elektronowymi, które są charakterystyczne dla specyficznych grup funkcyjnych w związkach chemicznych. Podczas pomiaru UV-VIS, próbka jest naświetlana światłem o określonej długości fali, a detektor mierzy ilość światła, które nie zostało zaabsorbowane przez próbkę. Widmo absorpcyjne uzyskane w ten sposób może być użyte do identyfikacji i ilościowej analizy substancji chemicznych. Spektroskopia UV-VIS jest szczególnie użyteczna w badaniu struktury i ilościowego oznaczania związków organicznych, takich jak silnie sprzężone związki organiczne, makromolekuły biologiczne (np. białka, kwasy nukleinowe), a także w analizie kinetyki reakcji chemicznych [149].

Przykładem zastosowania spektroskopii UV-VIS jest analiza sorpcji i desorpcji leków z powierzchni materiałów. W takim eksperymencie lek jest adsorbowany na powierzchni materiałów, a następnie jego desorpcja jest monitorowana przez pomiar zmian w absorpcji w czasie. Technika ta pozwala na ocenę efektywności procesu sorpcji, a także badanie kinetyki desorpcji, co jest istotne w kontekście projektowania systemów dostarczania leków i ocenę ich stabilności [150]. Spektroskopia UV-VIS jest również stosowana w badaniach biologicznych, na przykład do analizy białek i kwasów nukleinowych, poprzez pomiar absorpcji przy specyficznych długościach fal [151].

Spektroskopia UV-VIS wyróżnia się prostotą i szybkością pomiarów, a także możliwością analizy próbek w roztworach, co jest szczególnie użyteczne w badaniach chemicznych i biologicznych. Dodatkowo, technika ta jest stosunkowo niedroga i łatwa w obsłudze. Wadą spektroskopii UV-VIS jest jej ograniczona specyficzność w porównaniu do technik takich jak spektroskopia Ramana czy

spektroskopia FTIR, co może utrudniać analizę złożonych mieszanin. Ponadto, absorpcja promieniowania UV-VIS może być zakłócana przez obecność chromoforów i innych absorbujących substancji, co może wpływać na dokładność wyników [152].

Spektroskopia Ramana, skaningowy mikroskopia elektronowy z spektroskopią dyspersji energii, mikroskopia konfokalna, spektroskopia FTIR oraz spektroskopia UV-VIS to techniki analityczne o szerokim zakresie zastosowań w naukach przyrodniczych i technicznych. Każda z tych metod posiada unikalne zalety i wady, które determinują ich zastosowanie w różnych dziedzinach. Spektroskopia Ramana oferuje wysoką specyficzność chemiczną i możliwość analizy próbek w różnych stanach skupienia. SEM i EDS zapewniają obrazy o bardzo wysokiej rozdzielczości oraz jednoczesną analizę składu chemicznego, co czyni je niezastąpionymi w analizie powierzchni. Mikroskopia konfokalna umożliwia uzyskiwanie obrazów w trzech wymiarach z wysoką rozdzielczością, co jest szczególnie użyteczne w badaniach biologicznych. FTIR oferuje szybką i nieniszczącą analizę grup funkcyjnych, co jest istotne w monitoringu reakcji chemicznych oraz ocenie składu materiałów. Spektroskopia UV-VIS wyróżnia się prostotą i szybkością pomiarów oraz możliwością analizy próbek w roztworach. Pomimo swoich wad, takich jak fluorescencja w spektroskopii Ramana, konieczność pracy w próżni w SEM oraz trudności w analizie próbek wodnych w FTIR, te techniki są niezastąpione w wielu dziedzinach nauki i technologii.

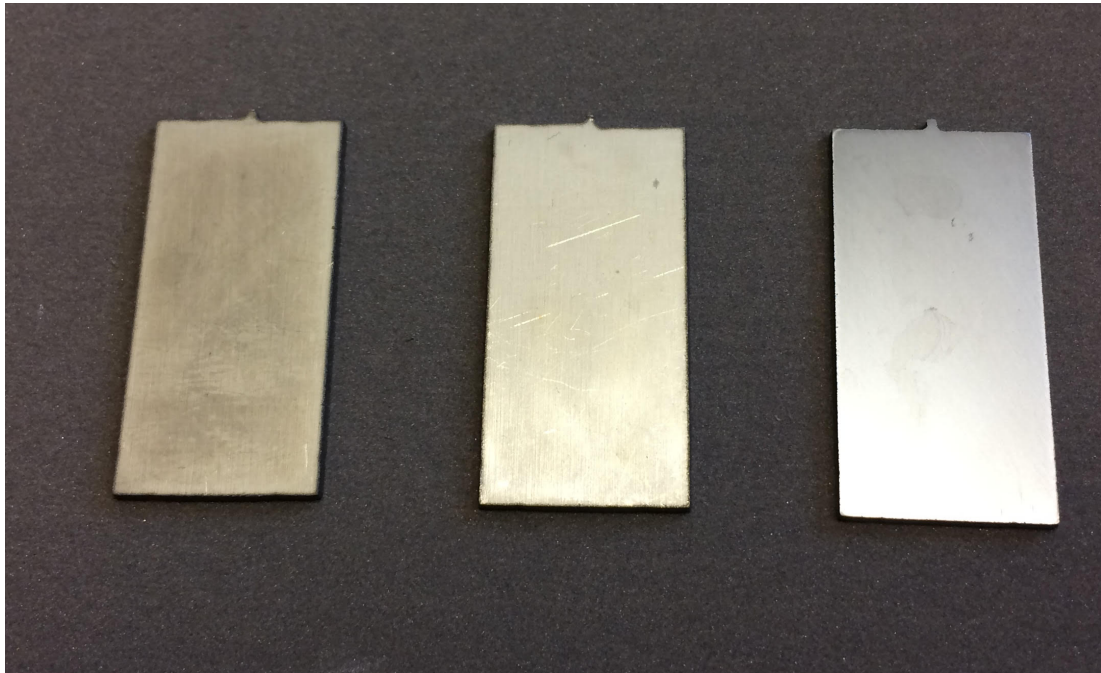
3.2 Opracowanie metody przygotowania powierzchni stopu tytanu

Stop tytanu Ti6Al4V ELI zakupiono w formie arkusza w firmie WOLFTEN Sp. z o.o., Wrocław, Polska. Blachę tę pocięto do wymiarów $12,5 \text{ mm} \times 10 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$.

Opracowanie metody przygotowania powierzchni płytek stopu tytanu do badań był długim procesem. W pierwszej kolejności należało mieć na uwadze, iż metoda przygotowania powinna być prosta do samodzielnego odtworzenia (wykluczenie zleceń zewnętrznych). Metody również musiały być nieniszczące - tak aby płytkę po modyfikacji można było przywrócić do stanu wyjściowego (ze względu na wysokie koszty materiału).

Pierwszym etapem było chemiczne usunięcie smarów i zanieczyszczeń z powierzchni płytek, które pozostały po procesie skrawania. Do tego wykorzystano koncentrat czyszczący EM 404 (firma EMag). Co istotne, płyn jako jeden z nielicznych odtłuszczaczy nie wchodził w reakcje z glinem. Płytki umieszczano w koncentracie rozcieńczonym w 5% objętości wody. Roztwór wraz z płytkami umieszczono w płuczce ultradźwiękowej, z utrzymaniem temperatury 60°C , na okres 20 min. Po tym czasie płytki przepłukiwano w wodzie demineralizowanej. Proces ten powtórzono 3 razy. Następnie płytki przemywano acetonem.

Kolejnym etapem było wyrównanie powierzchni płytek. Pierwotnie skorzystano z past polerskich - mocno-, średnio- i lekko-ściernych, jednak ze względu na konieczność częstego odtłuszczania powierzchni, małą powierzchnię płytek (utrudniona stabilizacja w trakcie polerowania) porzucono ten sposób na rzecz szlifowania na mokro papierami ściernymi do metali o rosnącej gradacji. Wykorzystano papiery ścierne firmy Klingspor o gradacjach 600, 800, 1000, 1500, 2000 oraz 2500. W tym procesie, płytki przyklejano taśmą dwustronną do metalowej głowicy, a następnie owalno-ósemkowym ruchem szlifowano powierzchnię płytek (czas szlifowania po 3 min na każdej gradacji). Przy każdej zmianie gradacji płytki odklejano od głowicy i zanurzano w roztworze acetonu na 15 min, w płuczce ultradźwiękowej. Dzięki tej czynności usuwano produkty ścierania, jak również resztki taśmy dwustronnej. Następnie płytki przepłukiwano w wodzie demineralizowanej oraz osuszano ręcznikiem papierowym. Zestawienie płytek z trzech głównych etapów przygotowania przedstawiono na rysunku 3.1.



RYSUNEK 3.1: Od lewej - płytka: surowa, po procesie odtłuszczania, po całkowitym procesie szlifowania

Rozdział 4

Utworzenie warstwy kwasu oktadecylofosfonowego (ODPA) na powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V ELI

Wszystkie informacje zawarte w niniejszym rozdziale zostały opublikowane:

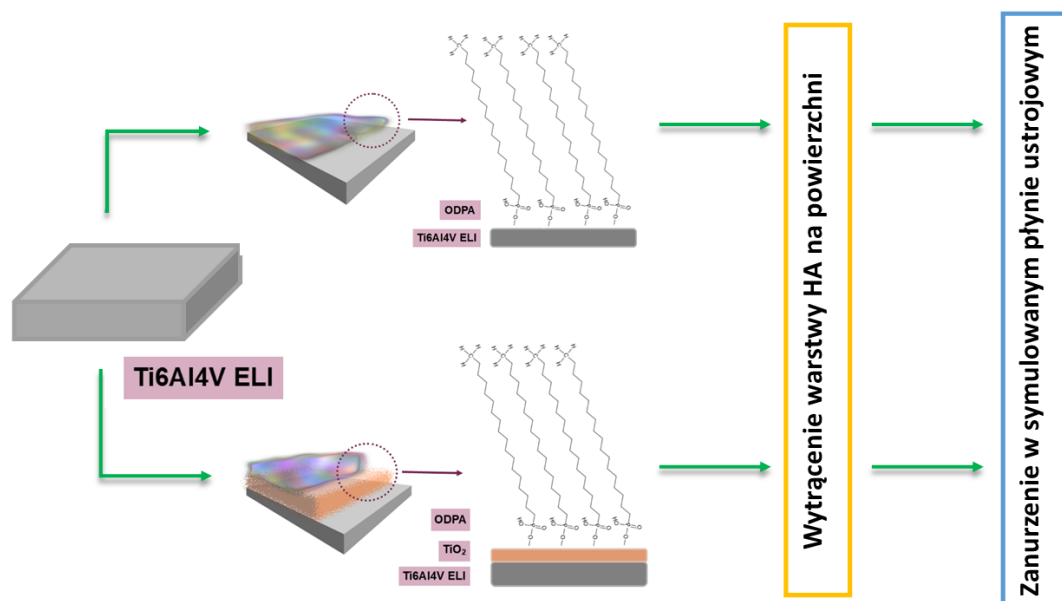
Szczuka, J., Sandomierski, M., Buchwald, T. (2022). Formation of the octadecylphosphonic acid layer on the surface of Ti6Al4V ELI titanium alloy and analysis using Raman spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 265, 120368.

4.1 Cel badań

Głównym celem badań była poprawa wiązania hydroksyapatytu (HA) z powierzchnią stopu tytanu wykorzystywanego do budowy endoprotez. HA, minerał stanowiący główny składnik nieorganicznej części kości i zębów, dzięki swojej chemicznej strukturze i właściwościom znajduje szerokie zastosowanie w biomedycynie, zwłaszcza w implantologii i regeneracji tkanki kostnej [21]. Charakteryzuje się biokompatybilnością – jest dobrze tolerowany przez organizm ludzki i nie wywołuje reakcji immunologicznych, co odgrywa kluczową rolę w zastosowaniach medycznych, takich jak implanty kostne [153]. Dodatkowo, jako materiał bioaktywny i osteokonduktywny, tworzy silne wiązania chemiczne z tkanką kostną, wspomagając regenerację i integrację z naturalną kością, dzięki czemu idealnie nadaje się do zastosowań w regeneracji kości [154].

Badania przebiegały dwutorowo - dla płytek o powierzchni wygrzanej oraz bez wygrzewania. Następnie dla obu grup utworzono warstwę z kwasu okta-decylofosfonowego (ODPA) osadzoną na powierzchni stopu Ti6Al4V ELI. Kolejno zweryfikowano przyłączenie HA (proces wytrącania) do warstwy ODPA, a następnie zmodyfikowane płytki zanurzono w symulowanym płynie ustrojowym (SBF¹), symulując warunki panujące w żywym organizmie. Na każdym etapie badań próbki poddano analizie za pomocą: SEM, EDS i spektroskopii Ramana – wykonano pomiary spektralne i mapowanie powierzchni. Badania uzupełniono pomiarami kąta zwilżania – sprawdzeniem zwilżalności powierzchni, co jest istotne przy analizie biomateriałów oraz pomiarami chropowatości powierzchni metodą mikroskopii konfokalnej. Wyniki pokazują, że ODPA zwiększa ilość wytrącanego HA po zanurzeniu w SBF. Innym interesującym odkryciem jest to, że dodatek ODPA do wyżarzonych stopu tytanu ogranicza wytrącanie się HA na jego powierzchni. Schemat prezentujący przebieg badań został pokazany na rysunku 4.1.

¹z ang. simulated body fluid



RYSUNEK 4.1: Abstrakt graficzny przedstawiający schemat badań opisanych w niniejszym rozdziale [155]

4.2 Materiały i metodyka

4.2.1 Materiały

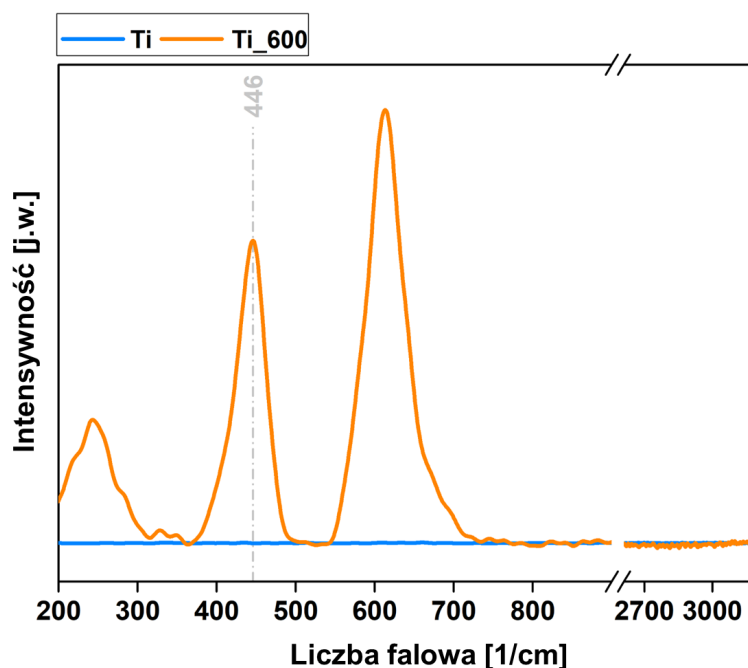
Przygotowanie powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V ELI

Do eksperymentów użyto płytek ELI (ang. Extra Low Interstitial) z tytanu Ti6Al4V produkowanych przez firmę WOLFTEN Sp. z o.o. o wymiarach 12,5 mm × 10 mm × 1 mm, o następującym składzie: Fe – 0,12%; V – 3,85%; Al – 6,15%; C – 0,008%; O – 0,13%; N – 0,004%; Y – <0,0004%; Ti – 89,74%. Spełniają one normę ASTM F136 [156], charakteryzując się zmniejszonymi zawartościami tlenu, azotu, węgla i żelaza, co poprawia ich ciągliwość i wytrzymałość na pękanie.

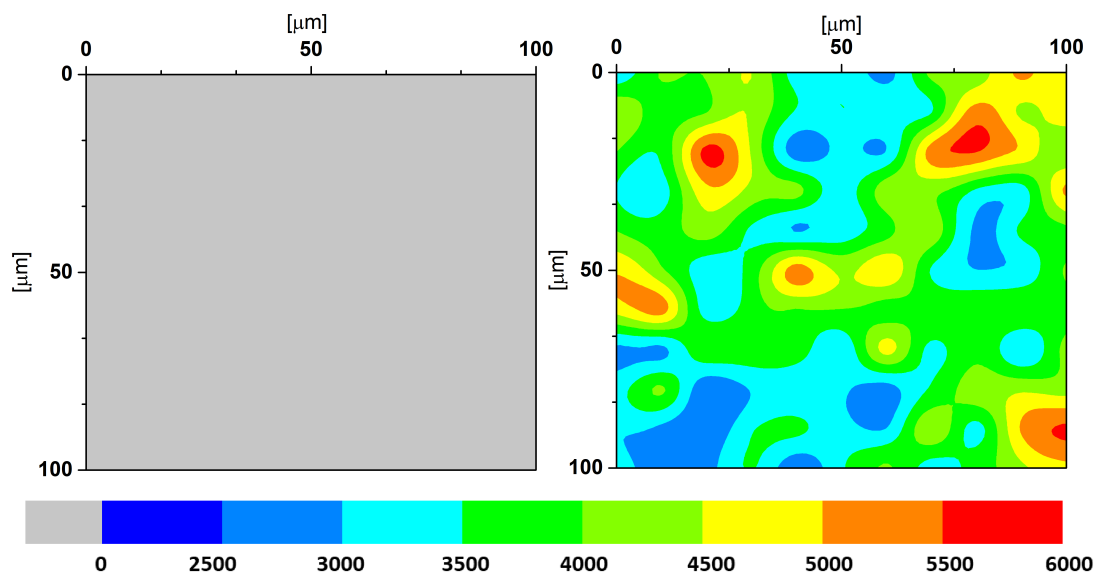
Płytki odtłuszczono poprzez zanurzenie ich w rozpuszczalniku EM 404 (Emag) w myjce ultradźwiękowej. Następnie przeprowadzono proces szlifowania na mokro papierami ściernymi o gramaturze odpowiednio 600, 800, 1000, 1500, 2000, kończąc na 2500. Na koniec przemyto je wodą i roztworem tetrahydrofuranu (THF). Przygotowane w ten sposób próbki były punktem wyjścia do dalszych modyfikacji.

Wytworzenie warstwy tlenku tytanu TiO_2

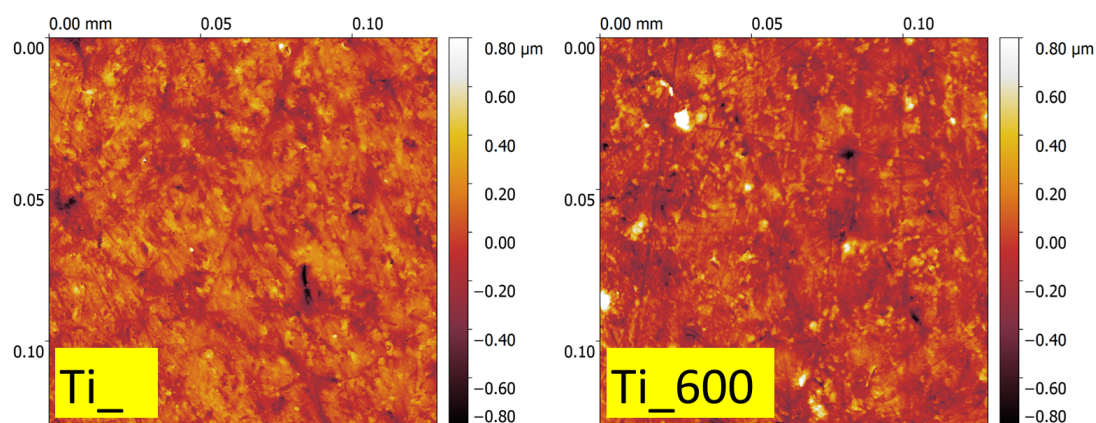
Oczyszczone płytki Ti6Al4V ELI stopniowo wyżarzano w 600°C przez 15 godzin, a następnie stopniowo chłodzono, aby zminimalizować naprężenia. W kolejnym kroku wykonano pomiary ramanowskie – widma (rys. 4.2) i mapowanie powierzchni (rys. 4.3) w celu sprawdzenia otrzymanej warstwy tlenkowej. Zaobserwowano 3 wyraźne pasma pochodzące od drgań $\nu(\text{Ti-O})$, w dalszej części pracy skupiono się na analizie intensywności pasma przy 446 cm^{-1} . Jak wykazały wyniki, na całej powierzchni płytki uzyskano jednorodną warstwę tlenków tytanu. Następnie na tak przygotowanej płytce utworzono warstwę ODPa. Analizując obrazy z mikroskopu konfokalnego przedstawione na rysunku 4.4, można zauważyć formowanie się drobnej struktury na powierzchni płytek po ich wyżarzaniu w temperaturze 600°C . Struktura przypomina łuskowatość z delikatnymi zarysowaniami, co jest charakterystyczne dla metali, jest jednak tak drobna, że ograniczenia rozdzielczości mikroskopu konfokalnego uniemożliwiły uzyskanie bardziej szczegółowych danych, co w rezultacie nie prowadzi do znaczącego wzrostu chropowatości. Choć chropowatość próbek po wyżarzaniu jest wyższa, nawet przy uwzględnieniu rozproszenia wyników, to różnice te nie są znaczące.



RYSUNEK 4.2: Widma ramanowskie dla płytki stopu tytanu (Ti) przed oraz po procesie wyżarzania (Ti-600) [155]



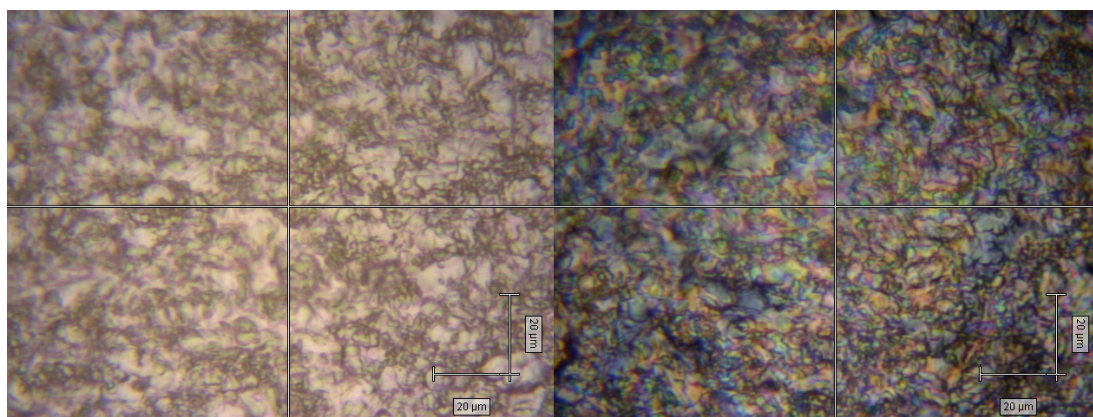
RYSUNEK 4.3: Porównanie powierzchni płytek przed (po lewej) i po (po prawej) wyżarzaniu 600°C - mapa TiO_2 [155]



RYSUNEK 4.4: Obrazy z mikroskopii konfokalnej dla powierzchni Ti oraz Ti_600 [155]

Przygotowanie warstwy kwasu oktadecylofosfonowego (ODPA)

Wytworzenie warstwy ODPA na powierzchni płytki ze stopu tytanu polegało na rozpuszczeniu 0,01 g ODPA w 60 ml THF przy użyciu myjki ultradźwiękowej (roztwór pod przykryciem). Proces mieszania trwał 15 minut. Następnie roztwór wiano do krystalizatora, w którym wcześniej umieszczono płytkę. Całość umieszczono w łaźni wodnej, utrzymując temperaturę 50°C. Czas odparowania rozpuszczalnika wynosił średnio 2,5 godziny. Po tym czasie na płytce ze stopu tytanu można było zobaczyć biały osad. Z drugiej strony, po powiększeniu, warstwa była wielokolorowa, jak pokazano na rysunku 4.5. Warstwę ODPA wykonano również na stopie wygrzewanym.



RYSUNEK 4.5: Porównanie powierzchni płytki przed (po lewej) i po (po prawej) nałożeniu ODPA, pow. x50 [155]

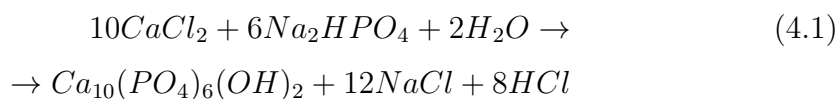
Przygotowanie warstwy hydroksyapatytu (HA)

Warstwę hydroksyapatytową (HA) otrzymano przez wytrącenie z roztworów [157]. Aby przygotować *pierwszy roztwór*, do kolby stożkowej odważono 22,20 g bezwodnego CaCl_2 ; następnie dodano 450 ml wody destylowanej i otrzymano klarowny roztwór; przy ciągłym mieszaniu za pomocą dipola magnetycznego do kolby dodano 6,00 g odważonego wcześniej tris(hydroksymetylo)-aminometanu, cały czas monitorując zmianę pH za pomocą pH-metru; za pomocą automatycznej pipety do kolby dodawano HCl małymi porcjami (200 μl) aż do uzyskania roztworu o pH 7,4; zawartość kolby przelano do cylindra miarowego 0,5 l; otrzymany roztwór CaCl_2 w 2-amino-2-hydroksymetylopropano-1,3-diolu (tris) o pH 7,4 umieszczono w 0,5 l butelce PP.

W celu przygotowania *drugiego roztworu* w kolbie stożkowej umieszczono 0,5 l wody destylowanej i rozpoczęto mieszanie za pomocą dipola magnetycznego; od-

ważony Na_2HPO_4 w ilości 17,04 g dodano porcjami do kolby z mieszaną wodą; otrzymany 0,24 M wodny roztwór Na_2HPO_4 umieszczono w plastikowej butelce o pojemności 0,5 l.

Wytrącanie się HA na powierzchni płytki: 100 ml *pierwszego roztworu* dodano do fiolki, w której wcześniej znajdowała się płytka; po 20 minutach odlano zawartość zlewki i następnie płytkę przemyto wodą destylowaną; przemytą płytkę przeniesiono do zlewki i następnie dodano 100 ml *drugiego roztworu*; po 20 minutach odlano zawartość zlewki i płytkę przemyto wodą destylowaną. Reakcję wytrącania HA opisano poniżej za pomocą podsumowującego wzoru 4.1.



Przemywanie płytki roztworami I i II traktujemy jako jeden cykl wytrącania HA na powierzchni stopu. Proces ten powtórzono, aby zobaczyć, kiedy pasmo HA było zauważalne podczas analizy za pomocą spektrometru Ramana. Ostatecznie przeprowadzono 20 cykli strącania dla każdej płytki.

Przygotowanie roztworu symulowanego płynu ustrojowego (SBF)

Ostatnim etapem badań było sprawdzenie trwałości powierzchni modyfikowanego stopu tytanu poprzez zanurzenie płytek w symulowanym płynie ustrojowym (SBF) [158]. Tabela 4.1 przedstawia skład ilościowy i kolejność dodawania odczynników do wody. Płyn doprowadzono do końcowego pH 7,40 w temperaturze 36,6°C przez miareczkowanie 1,0 M wodnego roztworu HCl do SBF. Próbkę zanurzano w przygotowanym roztworze na okres 2 tygodni, utrzymując temperaturę 36,6°C.

TABELA 4.1: Odczynniki oraz ich czystość jak i ilość potrzebna do przygotowania 1000 mL roztworu SBF [158]

Odczynnik	Czystość[%]	Ilość
NaCl	99.0	8.036 g
NaHCO ₃	99.0	0.352 g
KCl	98.0	0.225 g
K ₂ HPO ₄ * 3H ₂ O	99.0	0.230 g
MgCl ₂ * 6H ₂ O	99.0	0.311 g
1.0 M-HCl	—	40 mL
CaCl ₂	96.0	0.293 g
Na ₂ SO ₄	99.0	0.072 g
TRIS	99.8	6.063 g
1.0 M-HCl	—	0.2 mL

Opis przygotowanych próbek

Poniższa tabela 4.2 zawiera skrócony oraz pełen opis przygotowanych próbek. W dalszej części pracy nazwy próbek będą występować w formie skróconej ze względu na przejrzystość i czytelność tekstu.

TABELA 4.2: Skrócony i pełen opis wykonanych próbek

nazwa skrócona	pełen opis
Ti	plytka stopu tytanu
Ti_600	plytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C
Ti_ODPA	plytka stopu tytanu z warstwą ODPA
Ti_600_ODPA	plytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C z warstwą ODPA
Ti_HA	plytka stopu tytanu po 20 cyklach wytrącania HA
Ti_ODPA_HA	plytka stopu tytanu z warstwą ODPA po 20 cyklach wytrącania HA
Ti_600_ODPA_HA	plytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C z warstwą ODPA, po 20 cyklach wytrącania HA
Ti_HA_SBF	plytka stopu tytanu po 20 cyklach wytrącania HA po zanurzeniu w SBF
Ti_ODPA_HA_SBF	plytka stopu tytanu z warstwą ODPA po 20 cyklach wytrącania HA po zanurzeniu w SBF
Ti_600_HA_SBF	plytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C po 20 cyklach wytrącania HA po zanurzeniu w SBF
Ti_600_ODPA_HA_SBF	plytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C z warstwą ODPA po 20 cyklach wytrącania HA po zanurzeniu w SBF

4.2.2 Metodyka

Skaningowa mikroskopia elektronowa, spektroskopia dyspersji energii, mikroskopia konfokalna

Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM) z powodzeniem stosowana jest do analizy materiałów biologicznych [159] - pozwala na dokładne sprawdzenie rozkładu pierwiastków na badanej, modyfikowanej powierzchni. Obrazy wykonano przy użyciu mikroskopu FEI Quanta 250 FEG pracującego w trybie próżniowym pod ciśnieniem 10 Pa przy napięciu przyspieszającym 10 kV, dla parametrów szerokości pola poziomego (HFW) 41,4 μm i powiększenia 10000x. Za pomocą

spektroskopii dyspersji energii (EDS) przeanalizowano skład chemiczny (rozkład pierwiastków na powierzchni - mapy) próbki i zarejestrowano widma EDS.

Dodatkowo, w celu pomiaru chropowatości powierzchni, wyniki uzupełniono pomiarami przy użyciu materiałowego mikroskopu konfokalnego (Olympus LEXT OLS4100) ze źródłem światła – laserem półprzewodnikowym 405 nm, rozdzielczością pomiaru wysokości 10 nm, rozdzielczością x-y 120 nm oraz badaną powierzchnią $128,0 \times 128,0 \mu\text{m}$.

Spektroskopia Ramana

Badania zmodyfikowanych płytek ze stopu tytanu przeprowadzono na konfokalnym mikroskopie ramanowskim inViaTM z laserem emitującym światło o długości fali 785 nm (laser diodowy) o mocy 20 mW, czasie akumulacji 10 s i powiększeniu 50x. Wiązka lasera była automatycznie skupiana na płytce tytanowej, aby wyeliminować wpływ nierówności powierzchni na intensywność pasm Ramana. Moc lasera była stale kontrolowana. Zastosowano siatkę dyfrakcyjną 1200 l/mm. Wszystkie parametry pasma uzyskano poprzez dopasowanie splotu funkcji Gaussa i Lorentza. Widma Ramana wykonano w zakresie widmowym od 200 do 3200 cm^{-1} . Widma nie były znormalizowane. Zmiany parametrów spektroskopowych wynikające z procesu modyfikacji powierzchni zilustrowano mapami² Ramana – obszar pomiarowy o wymiarach $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ z krokiem $10 \mu\text{m}$. Analizie powierzchni poddano pasma charakterystyczne dla substancji tworzących warstwy, tj. intensywność pasma HA przy 960 cm^{-1} i pasma ODPa przy 1060 cm^{-1} . Pomiarów spektralnych do mapowania nie dokonywano w pełnym zakresie (jak w przypadku widm pojedynczych) lecz w $715\text{-}1268 \text{ cm}^{-1}$. Dla tlenków tytanu wybrano pasmo 446 cm^{-1} i zakres pomiarowy $200\text{-}600 \text{ cm}^{-1}$. Dzięki temu można było lepiej zaobserwować zmiany w intensywności pasm, szczególnie w przypadku próbek wyżarzonych. Dla wszystkich próbek wykonano 2-3 serie mapowań, aby uzyskać lepszy pogląd na zmianę analizowanej powierzchni. Wyniki map wyszły bardzo podobne. Dla każdej próbki i dla każdego pasma wybrano jedną mapę. Do analizy przyjęto intensywność charakterystycznego pasma bez tła, które zostało odcięte w taki sam sposób, jak dla poszczególnych widm. Widma, z których utworzono mapy, nie zostały znormalizowane. Obróbka graficzna map ramanowskich została wykonana w programie OriginLab.

Widma Ramana zmierzono dla próbek po 1, 6, 8, 14 i 20 cyklach wytrącania

²Mapowanie ramanowskie polega na systematycznym przesuwaniu wiązki laserowej po powierzchni próbki i rejestrowaniu widm ramanowskich z kolejnych punktów lub obszarów. W wyniku tego procesu powstaje „mapa” – przestrzenny rozkład widm ramanowskich, która może być później przekształcona na obrazy odpowiadające intensywności poszczególnych pasm.

HA na powierzchni płytek. Zauważono, że charakterystyczne pasmo dla HA wynoszące 960 cm^{-1} można było zaobserwować dopiero po przeprowadzeniu 20 cykli strącania i taką liczbę przyjęto dla wszystkich próbek.

Pomiar zwilżalności powierzchni

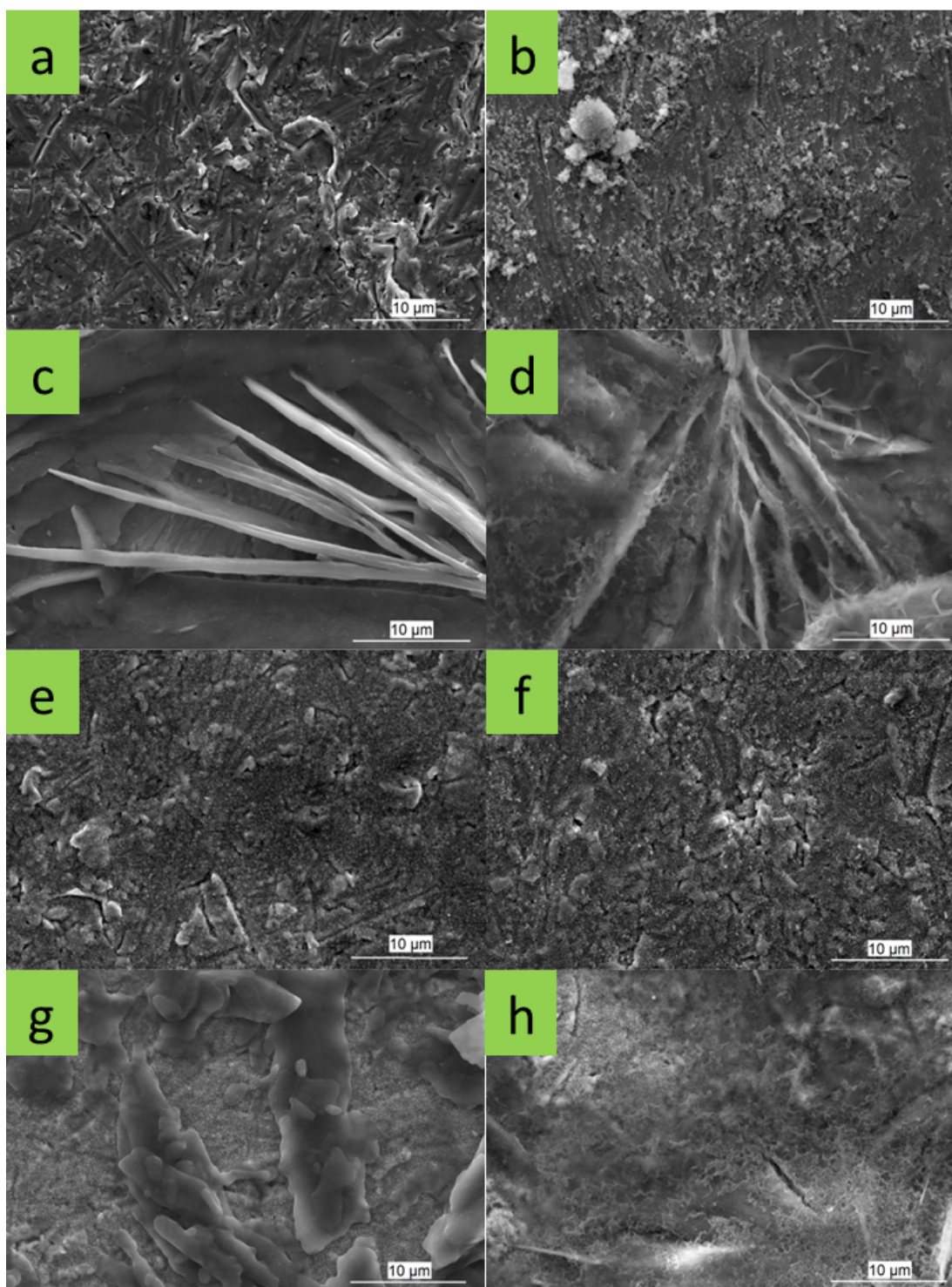
Pomiar zwilżalności powierzchni biomateriału jest obecnie jedną z pierwszych i najprostszych metod stosowanych do określenia właściwości materiału [160]. Proces polegał na upuszczeniu na powierzchnię materiału kropli wody destylowanej o objętości $2,5\text{ }\mu\text{L}$ ze stałej wysokości. Następnie wykonano zdjęcie kropli aparatem po 5 i 30 sekundach od nałożenia. Kąt pomiędzy powierzchnią styku kropli z materiałem a styczną do kropli wykonano w programie ImageJ. Dla każdej próbki wykonano 5 aplikacji kropli, zebrano wartości kątów po obu stronach kropli, a wszystkie wyniki uśredniono.

4.3 Wyniki i dyskusja

4.3.1 Analiza SEM

Obrazy SEM badanych próbek – podstawowych i po wytrąceniu HA, przedstawiono na rysunku 4.6. Występowanie ODPa można bardzo dobrze zaobserwować - zarówno dla płytki niewyżarzanej Ti_ODPA (rys.4.6.c), jak i Ti_ODPA_HA (rys.4.6.d) - w postaci form spiczastych całkowicie pokrywających powierzchnię. Wyniki wyglądają inaczej dla wyżarzanej Ti_600_ODPA (rys.4.6.g) i Ti_600_ODPA_HA (rys.4.6.h). W tym przypadku warstwę ODPa charakteryzują bardziej zaokrąglone krawędzie struktur wystających poza powierzchnię płytek tytanowych. W obu przypadkach – dla płytek wygrzewanych i niewygrzewanych, warstwa ODPa różni się pokryciem powierzchni.

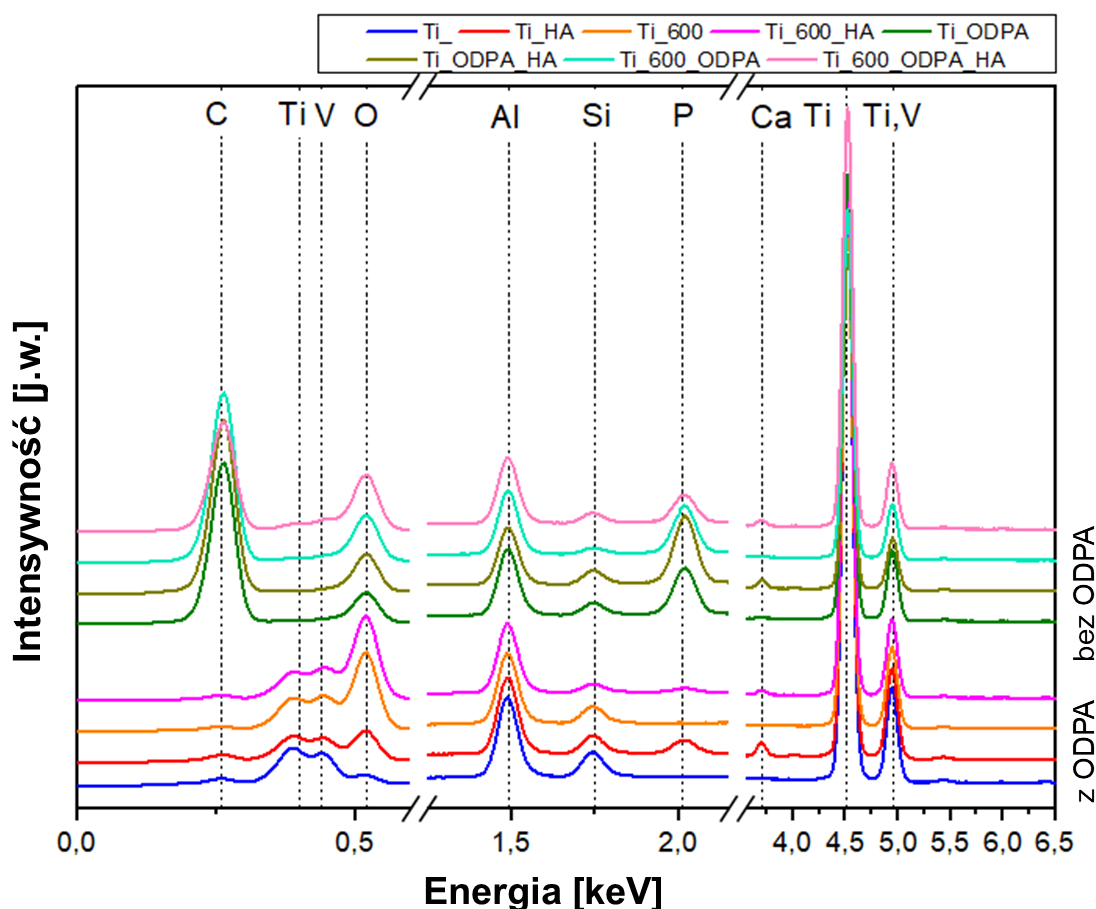
Na modyfikowanych powierzchniach HA widać obecność tego związku w różnych postaciach. W przypadku płytek Ti_HA (rys.4.6.b) i Ti_600_HA (rys.4.6.f) hydroksyapatyt występuje w postaci zwartych, ziarnistych struktur. Natomiast w przypadku Ti_ODPA_HA i Ti_600_ODPA_HA powłoka hydroksyapatytowa ma rozgałęzioną, silnie porowatą strukturę - swoim kształtem przypomina gąbczastą kość.



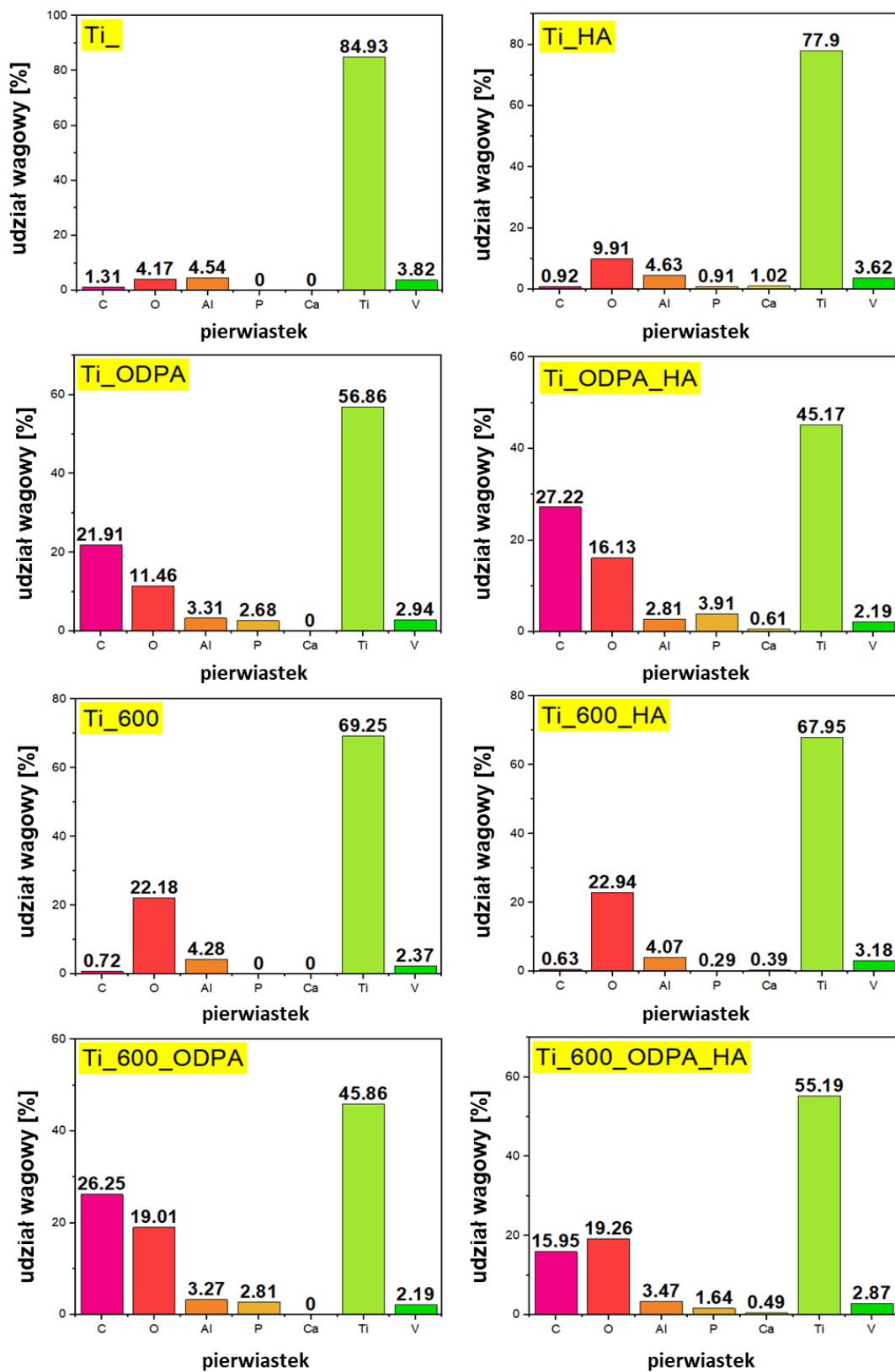
RYSUNEK 4.6: obrazy SEM, HFW $41.4\mu\text{m}$, pow. 10,000 x - dla próbek: (a) - płytka stopu tytanu (Ti.); (b) - płytka stopu tytanu po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_HA); (c) - płytka stopu tytanu z warstwą ODPa (Ti_ODPA); (d) - płytka stopu tytanu z warstwą ODPa po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_ODPA_HA); (e) - płytka stopu tytanu wyżarzana w temperatur 600°C (Ti_600); (f) - płytka stopu tytanu wyżarzana w temperatur 600°C po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_600_HA); (g) - płytka stopu tytanu wyżarzana w temperatur 600°C z warstwą ODPa (Ti_600_ODPA); (h) - płytka stopu tytanu wyżarzana w temperatur 600°C z warstwą ODPa po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_600_ODPA_HA) [155]

4.3.2 Analiza EDS

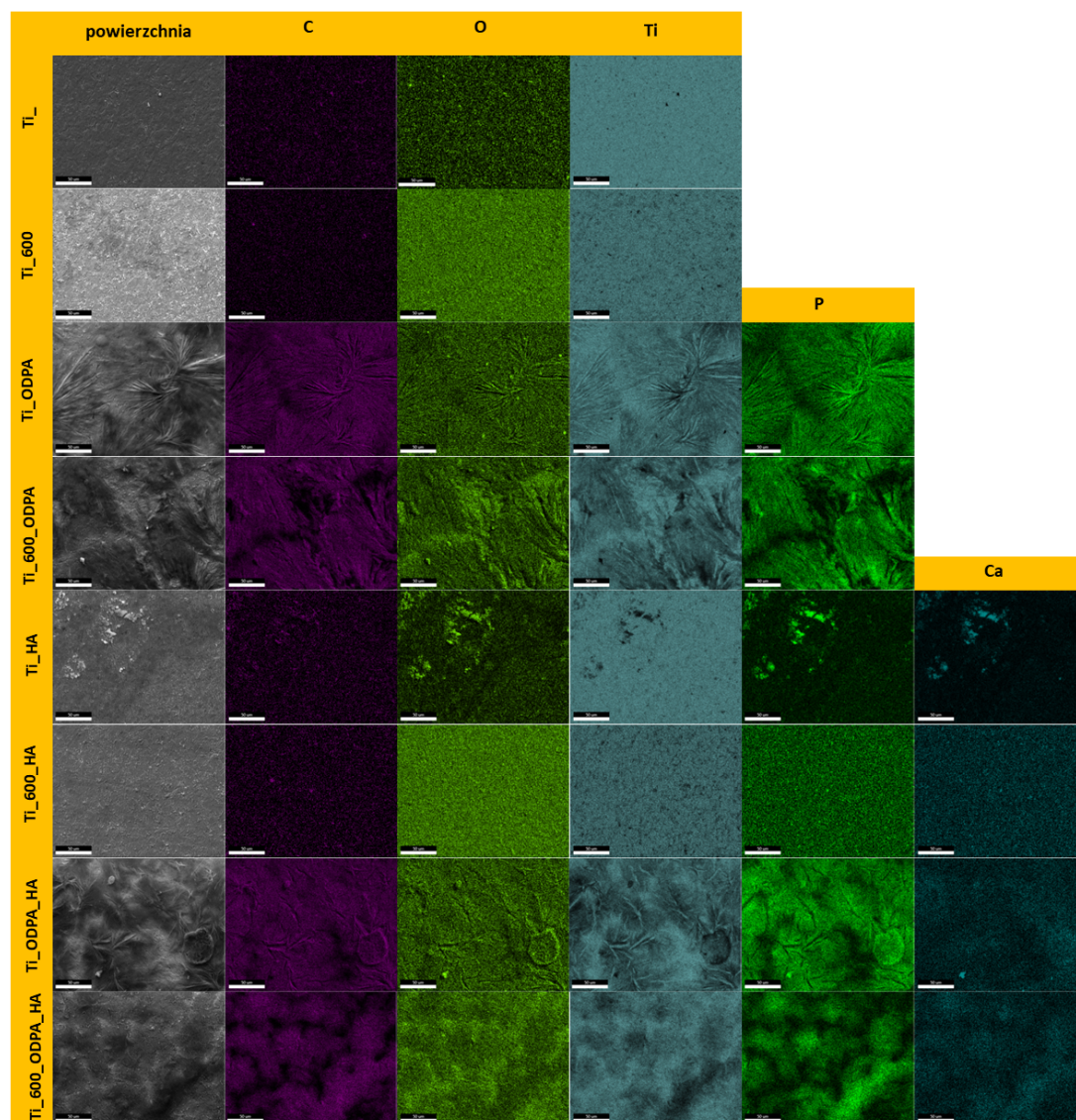
Wyniki widm EDS (rys.4.7) wyraźnie wskazują na obecność poszczególnych pierwiastków na modyfikowanych powierzchniach. Zarówno w płytkach modyfikowanych ODPA, jak i HA można zauważyć intensywne pasmo fosforu (P), gdyż pierwiastek ten występuje w obu związkach. Jednakże pasma dla pierwiastka występujące jedynie w ODPA – węgiel (C) i tylko w HA – wapń (Ca), świadczą o obecności tych warstw na powierzchni stopu tytanu. Wyniki dla EDS – mapowanie powierzchni – wartości procentów wagowych pierwiastków (rys.4.8) dobrze pokazują zmiany ilościowe dla każdej płytki wynikające z dokonanych modyfikacji. Wyraźnie zauważalne są zmiany w płytkach przed i po modyfikacji ODPA - przykładowo zwiększenie o ponad 20% udziału węgla na powierzchni płytki Ti_ODPA w stosunku do Ti lub po wyżarzaniu - kilkunastokrotny wzrost udziału tlenu na powierzchni dla każdej z wygrzanych płytek. Widoczne są także zmiany po naroście HA - najlepiej widać to na obrazach rozmieszczenia pierwiastków (rys.4.9), jednakże uzyskane warstwy nie są w pełni jednolite.



RYSUNEK 4.7: Analiza EDS - widma EDS [155]



RYSUNEK 4.8: Analiza EDS - procentowy udział pierwiastków [155]



RYSUNEK 4.9: Analiza EDS - rozkład pierwiastków na powierzchni płytek [155]

4.3.3 Analiza z zastosowaniem spektroskopii Ramana - widma

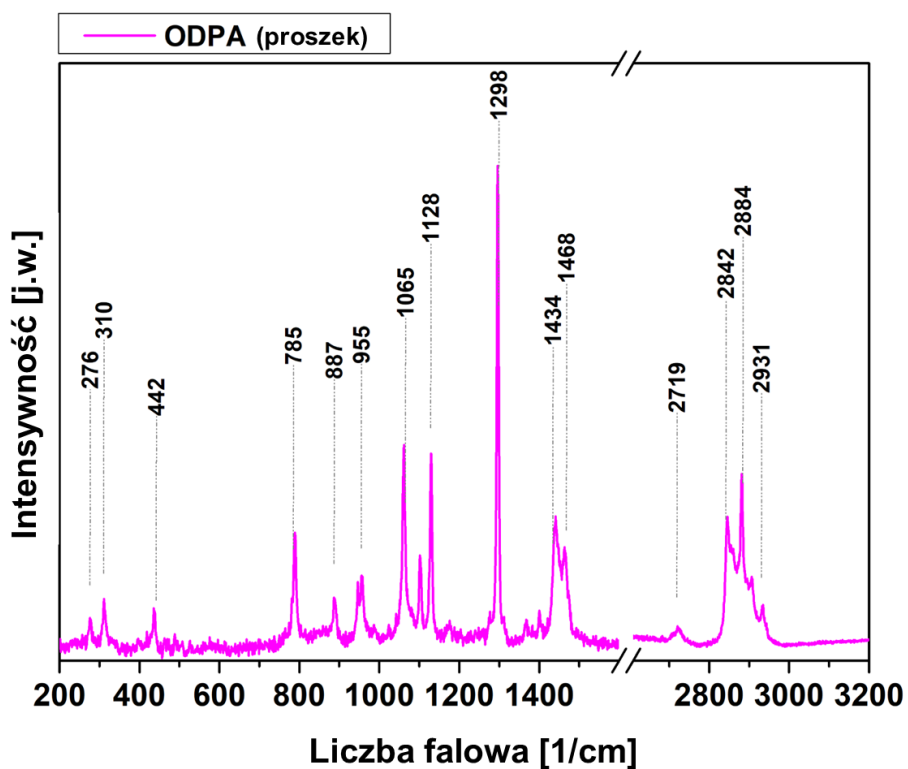
Widmo odniesienia ODPa, mierzone w formie proszkowej wraz z opisem poszczególnych pasm przedstawiono na rysunku 4.10. Wspólne wykresy (rys. 4.11 - 4.14) pokazują widma dla każdej przygotowanej próbki. Szczególną uwagę zwrócono na 3 charakterystyczne pasma, tj. dla tlenku tytanu w 446 cm^{-1} , dla HA w 960 cm^{-1} i ODPa w 1060 cm^{-1} . Podczas pomiarów stosowano bardzo małą moc lasera – aby nie zniszczyć warstwy ODPa. Taka moc wpływa na małą intensywność pasm, dzięki czemu dla próbek modyfikowanego HA obserwuje się jedynie najbardziej intensywne pasmo Ramana.

Na rysunku 4.11 wyraźnie widać pasmo ramanowskie związane z HA³, uzyskane po 20 cyklach strącania i jego utrzymanie po zanurzeniu w SBF. Podobnie HA jest utrzymywany na warstwie ODPa (rys. 4.12). Ważne jest również, aby pasma ODPa z powierzchni płytki pokrywały się z pasmami ODPa w postaci proszku. Oznacza to, że proces tworzenia warstwy poprzez odparowanie THF nie wpłynie niekorzystnie na strukturę składnika aktywnego.

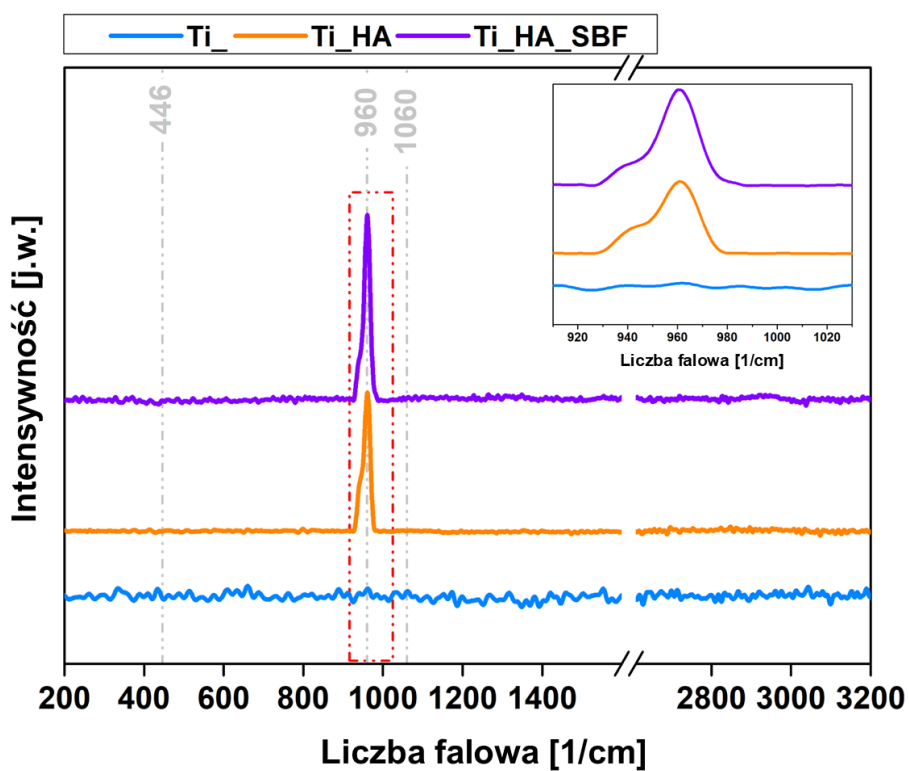
W przypadku samego wyżarzonego stopu tytanu (rys. 4.13), o czym świadczą 3 różne pasma tlenków w zakresie 200 cm^{-1} - 780 cm^{-1} , możemy zauważyć także pasmo HA, choć mniej intensywne niż w przypadku próbki niewyżarzonej. Niestety, na próbce wyżarzonej z warstwą ODPa (rys. 4.14) pasma HA są mało intensywne. Jednakże wraz z wytrącaniem się HA na powierzchni Ti_600_ODPa intensywność charakterystycznych pasm malała, najbardziej widoczna jest zmiana intensywności pasm tlenkowych.

Należy pamiętać, że pomiary widm mogą pomóc w analizie modyfikowanych powierzchni, ale nie pozwolą na jej pełne określenie, ze względu na punktowy charakter pomiaru. Dlatego też, mając informację o widmach Ramana dla każdej próbki, wykonano mapowanie powierzchni, co pozwoliło na uzyskanie dokładniejszych wyników. W tabeli 4.3 przygotowano zbiorcze zestawienie pozycji pasm dla analizowanych płytek wraz z przypisanymi typami drgań.

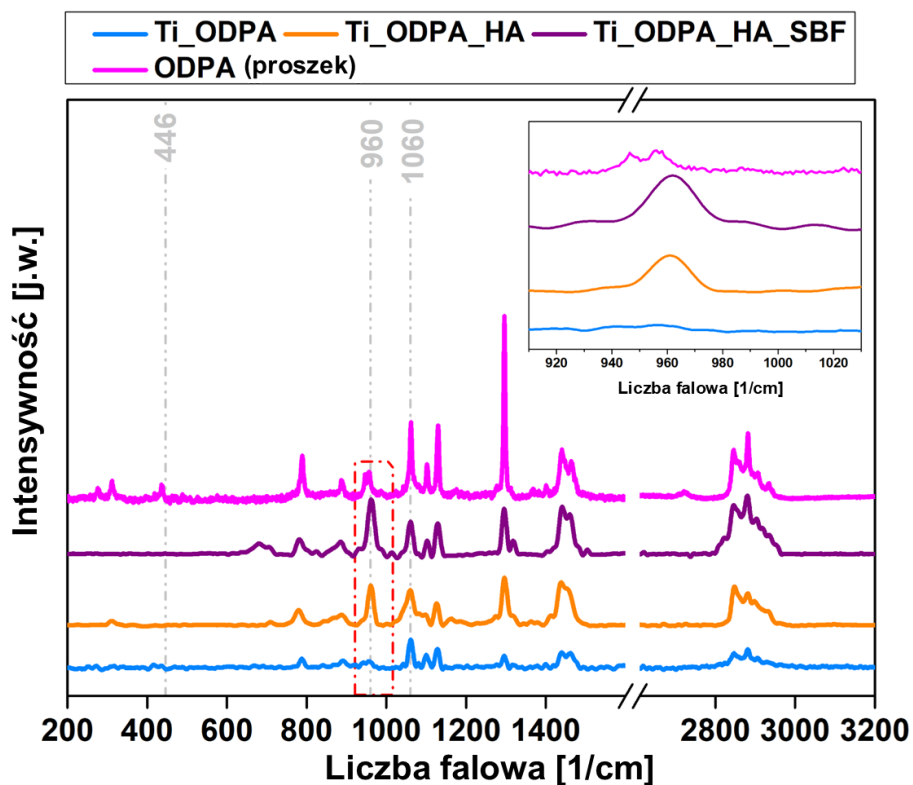
³dalej opisywane skrótowo jako "pasmo HA"



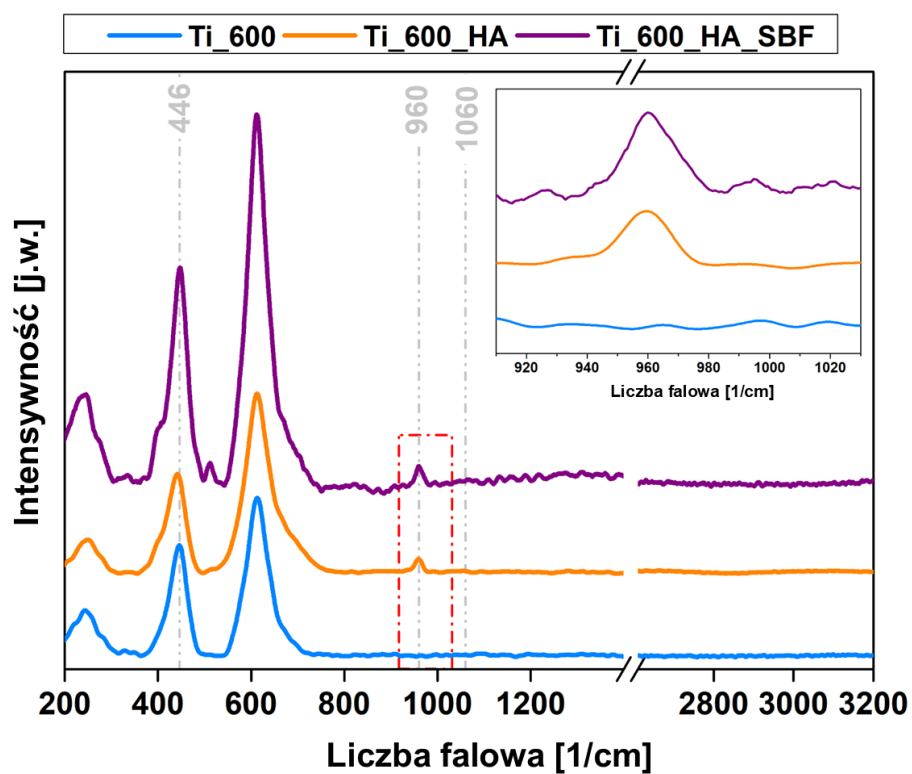
RYSUNEK 4.10: Widmo ramanowskie sproszkowanego ODPA [155]



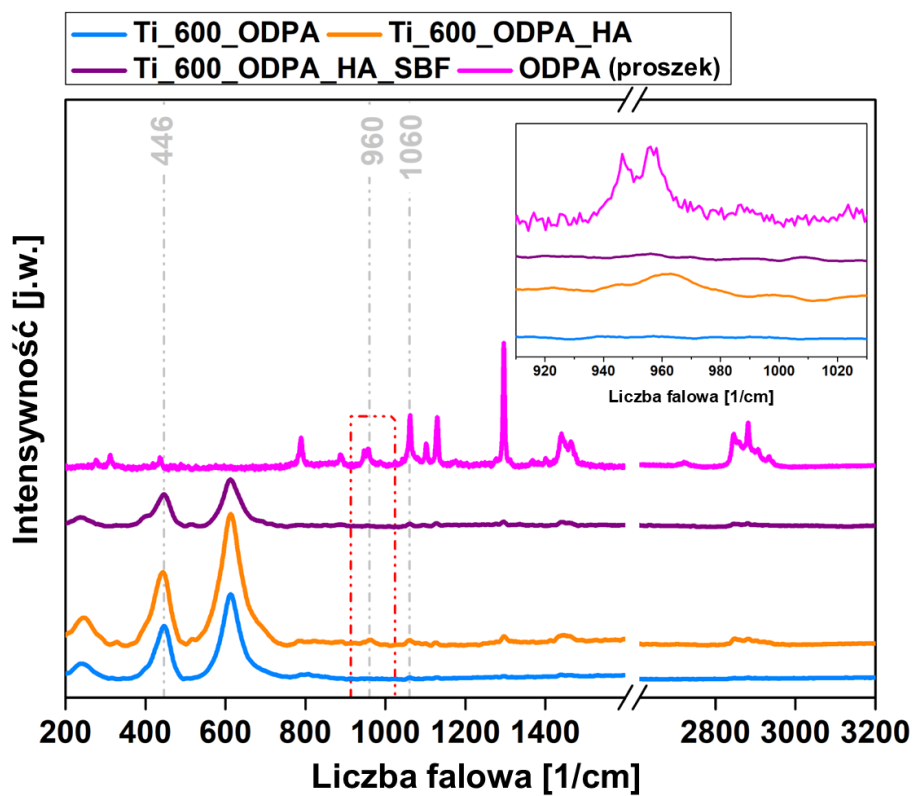
RYSUNEK 4.11: Widma ramanowskie dla płytki stopu tytanu (Ti), po wytrąceniu HA (Ti_HA) oraz zanurzeniu w SBF (Ti_HA_SBF) [155]



RYSUNEK 4.12: Widma ramanowskie dla płytki stopu tytanu z warstwą ODPA (Ti-ODPA), po wytrąceniu HA (Ti-ODPA_HA), zanurzeniu w SBF (Ti-ODPA_HA_SBF) oraz widmo czystego ODPA [155]



RYSUNEK 4.13: Widma ramanowskie dla płytki stopu tytanu po wyżarzaniu (Ti-600), wytrąceniu HA (Ti-600_HA) i zanurzeniu w SBF (Ti-600_HA_SBF) [155]



RYSUNEK 4.14: Widma ramanowskie dla płytki stopu tytanu po wyżarzaniu z warstwą ODP (Ti.600_ODPA), wytrąceniu HA (Ti.600_ODPA_HA) i zanurzeniu w SBF (Ti.600_ODPA_HA_SBF) [155]

TABELA 4.3: Analiza pasm charakterystycznych dla wszystkich analizowanych próbek

Próbka	Pasmo [cm^{-1}]	Typ drgań
ODPA	277, 314, 435	$\delta(\text{C-C})$
	787, 887, 953	$\delta(\text{P=O})$, $\nu(\text{P-O})$
	1061, 1102, 1128	$\nu(\text{C-P})$, $\nu(\text{P=O})$
	1296	$\nu(\text{C-C})$ alifatyczne
	1442	$\delta(\text{CH}_2)$, $\delta(\text{CH}_3)$
	2844, 2881	$\nu(\text{C-H})$ symetryczne i asymetryczne CH_2
Ti	-	-
Ti_600	446	$\nu(\text{Ti-O})$
	613	$\nu(\text{Ti-O})$
Ti_ODPA	789	$\delta(\text{C-C})$
	891, 1094	$\nu(\text{C-P})$
	955, 1128	$\nu(\text{P-O})$
	1061	$\nu(\text{Xmetal-O})$, $\delta(\text{P=O})$
	1438, 1459	$\delta(\text{CH}_2)$, $\delta(\text{CH}_3)$
	2850, 2880	$\nu(\text{C-H})$ symetryczne i asymetryczne CH_2 i CH_3
Ti_600_ODPA	446	$\nu(\text{Ti-O})$
	611, 882	$\nu(\text{C-C})$
	1061	$\nu(\text{Xmetal-O})$, $\delta(\text{P=O})$
	1128, 1298	$\nu(\text{P-O})$
	1438, 1459	$\delta(\text{CH}_2)$, $\delta(\text{CH}_3)$
	2850, 2880	$\nu(\text{C-H})$ symetryczne i asymetryczne CH_2 i CH_3
Ti_HA	960	$\nu(\text{P-O})$, obecność HA
Ti_600_HA	447, 960	$\nu(\text{Ti-O})$, $\nu(\text{P-O})$, obecność HA
Ti_ODPA_HA	314	$\delta(\text{C-C})$
	781, 882	$\nu(\text{C-C})$, $\nu(\text{P=O})$
	963, 1061	$\nu(\text{Xmetal-O})$, $\delta(\text{P=O})$
	1124, 1298	$\nu(\text{P-O})$
	1438	$\delta(\text{CH}_2)$, $\delta(\text{CH}_3)$
	2846, 2884	$\nu(\text{C-H})$ symetryczne i asymetryczne CH_2 i CH_3
Ti_600_ODPA_HA	446, 614	$\nu(\text{Ti-O})$
	958, 965	$\nu(\text{P-O})$
	1065, 1146	$\nu(\text{Xmetal-O})$, $\delta(\text{P=O})$
	1295	$\nu(\text{C-P})$
	1438	$\delta(\text{CH}_2)$, $\delta(\text{CH}_3)$
	2848, 2881	$\nu(\text{C-H})$ symetryczne i asymetryczne CH_2 i CH_3
Ti_HA_SBF	960	$\nu(\text{P-O})$, obecność HA i SBF
Ti_600_HA_SBF	446, 959	$\nu(\text{Ti-O})$, $\nu(\text{P-O})$, obecność HA i SBF
Ti_ODPA_HA_SBF	785, 882	$\nu(\text{C-C})$, $\nu(\text{P=O})$
	959, 961	$\nu(\text{P-O})$, $\delta(\text{P=O})$
	1061	$\nu(\text{Xmetal-O})$, $\delta(\text{P=O})$
	1128, 1298	$\nu(\text{P-O})$
	1412, 1442	$\delta(\text{CH}_2)$, $\delta(\text{CH}_3)$
	2846	$\nu(\text{C-H})$ symetryczne i asymetryczne CH_2
Ti_600_ODPA_HA_SBF	450, 615	$\nu(\text{Ti-O})$
	882	$\delta(\text{C-C})$
	959, 1061	$\nu(\text{P-O})$, $\delta(\text{P=O})$
	1128, 1294	$\nu(\text{P-O})$
	1438	$\delta(\text{CH}_2)$, $\delta(\text{CH}_3)$
	2846, 2880	$\nu(\text{C-H})$ symetryczne i asymetryczne CH_2 i CH_3

Objaśnienia:

$\delta(\text{C-C})$ – drgania deformacyjne wiązań C-C;

$\nu(\text{Xmetal-O})$ – drgania rozciągające wiązań metal-O (Ti-O);

$\delta(\text{CH}_2)$ i $\delta(\text{CH}_3)$ – drgania deformacyjne grup CH_2 i CH_3 ;

$\nu(\text{C-H})$ – drgania rozciągające wiązań C-H w grupach CH_2 i CH_3 ;

$\nu(\text{Ti-O})$ – drgania rozciągające wiązań Ti-O, charakterystyczne dla próbek tytanu;

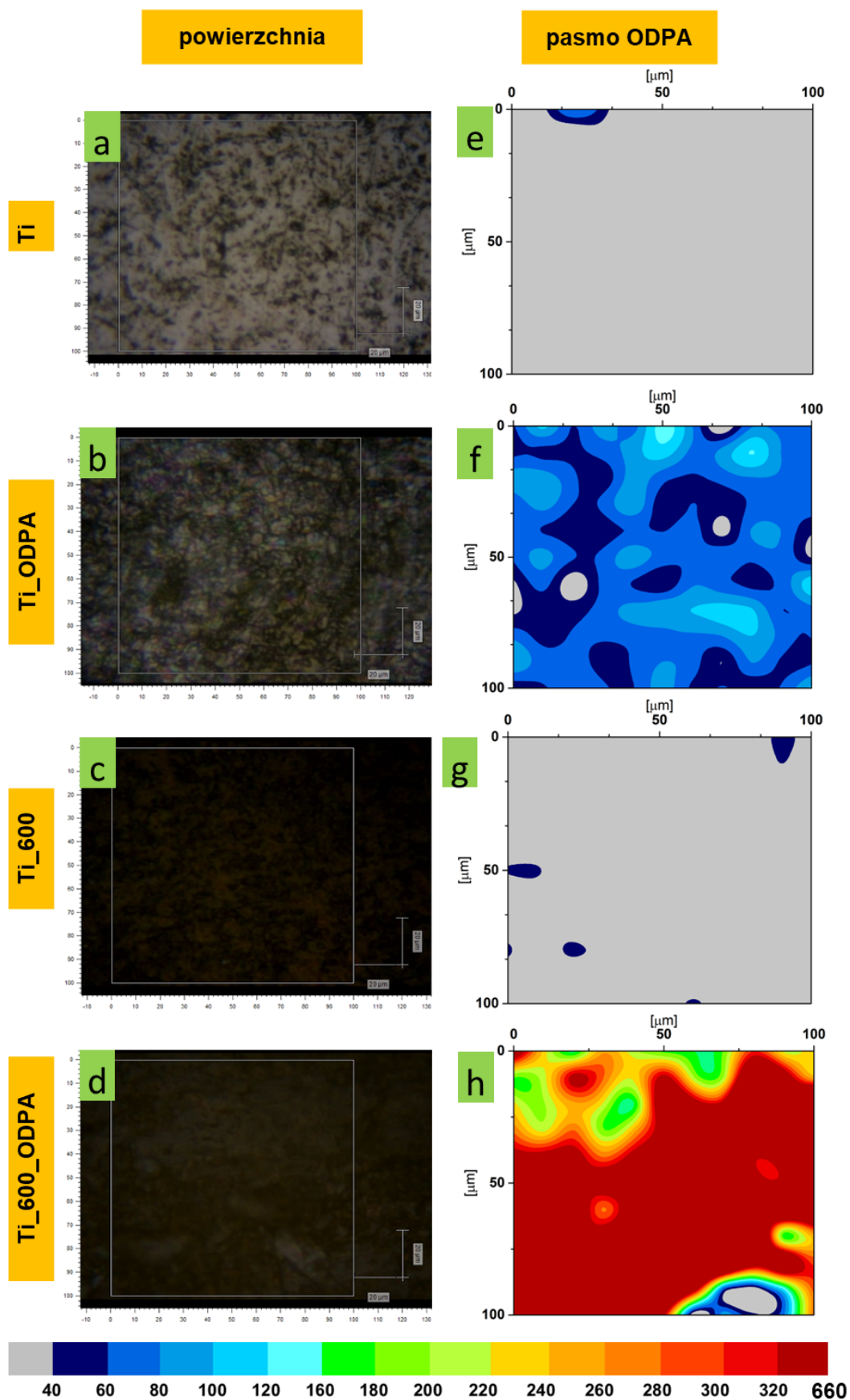
$\nu(\text{P-O})$ i $\delta(\text{P=O})$ – drgania związane z obecnością hydroksyapatytu (HA) i SBF.

4.3.4 Analiza z zastosowaniem spektroskopii Ramana - mapy

Płytki stopu tytanu z warstwą ODPa

Na rysunku 4.15 przedstawiono zestawienie powierzchni wszystkich płytek z pierwszego etapu badań. Obraz uzyskany z mikroskopu optycznego, przedstawiający badaną powierzchnię z zaznaczonym obszarem mapowania (rys. 4.15a-d). Dalszy rysunek przedstawia mapy intensywności widm Ramana dla płytek ze stopu tytanu (Ti, rys. 4.15.e); płytka ze stopu tytanu z warstwą ODPa (Ti_ODPA, rys. 4.15.f); płytka ze stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C (Ti_600, rys. 4.15.g) i płytka ze stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C z warstwą ODPa (Ti_600_ODPA, rys. 4.15.h).

Porównując uzyskane wyniki, można zauważyć, że pokrycie powierzchni stopu tytanu przez ODPa jest bardzo wyraźnie widoczne. Choć już na tym etapie wiadomo, że dla próbki niewyżarzonej nie jest to warstwa jednorodna – obecność różnych intensywności mierzonego pasma ODPa jest niewielka. Odwrotne wyniki zaobserwowano dla próbki Ti_600_ODPA, która charakteryzuje się bardzo dobrym pokryciem ODPa, dodatkowo, prawdopodobnie z powierzchnią stopu związało się znacznie więcej ODPa (niż w Ti_ODPA), o czym świadczy duża intensywność charakterystycznych pasm ODPa.

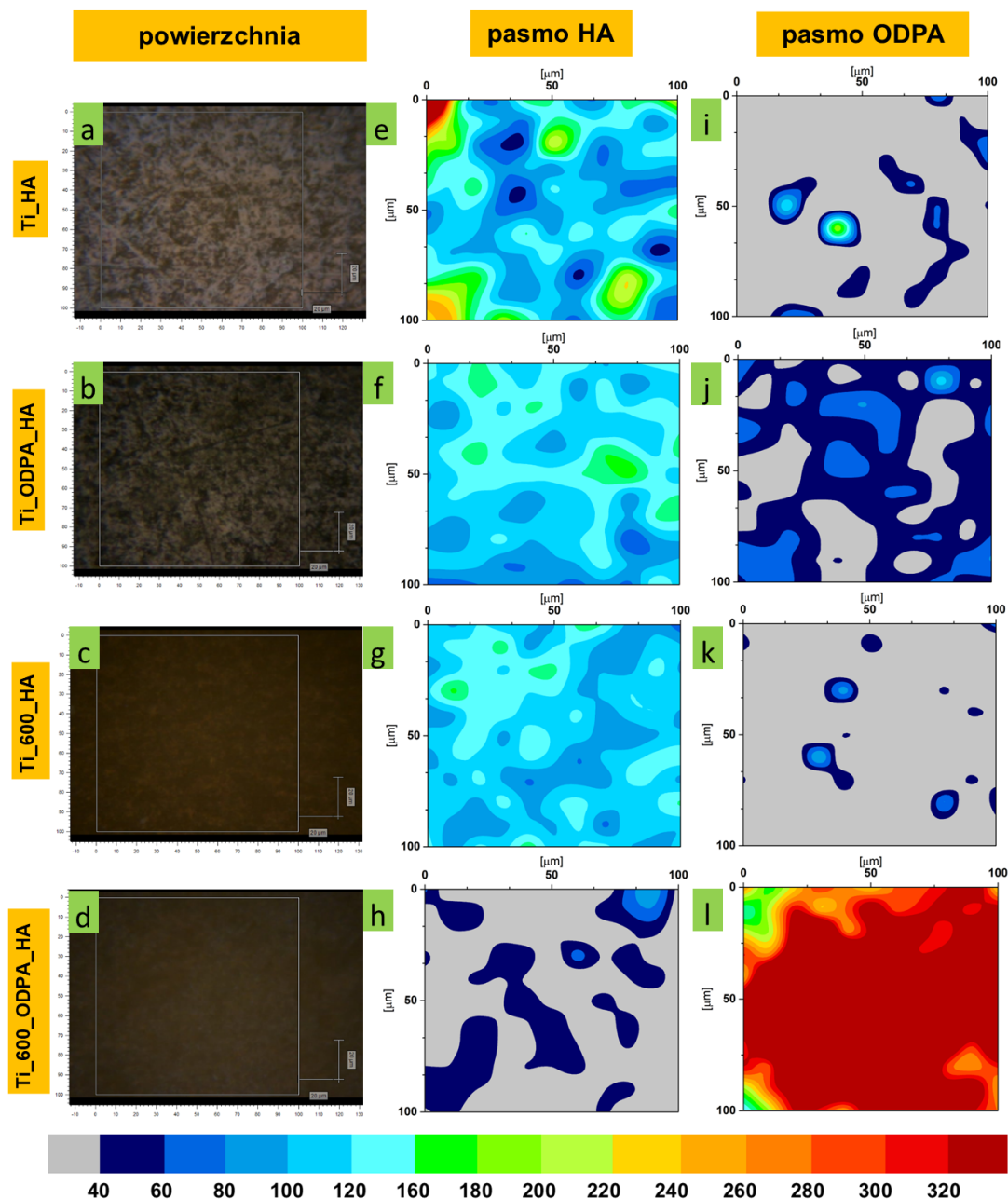


RYSUNEK 4.15: Mapy dla widma Ramana - dla pasma ODPa: (a - d) badana powierzchnia z zaznaczonym obszarem mapowania; (e) płytka stopu tytanu (Ti); (f) płytka stopu tytanu z warstwą ODPa (Ti_ODPA); (g) płytka stopu tytanu wyżarzana w temperatur 600°C (Ti_600) i (h) płytka stopu tytanu wyżarzana w temperatur 600°C warstwa ODPa (Ti.600_ODPA) [155]

Płytki stopu tytanu z warstwą ODPa i HA

Na rysunku 4.16 pokazano zestawienie powierzchni wszystkich płytek z drugiego etapu badań. W pierwszej kolumnie znajdują się zdjęcia powierzchni badanych próbek (rys.4.16.a - d) wraz z zaznaczonym obszarem mapowania. W kolejnych kolumnach znajdują się mapy powierzchni płytek ze stopu tytanu po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_HA: rys.4.16.e pasmo HA, rys.4.16.i pasmo ODPa); płytka ze stopu tytanu z warstwą ODPa po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_ODPA_HA: rys.4.16.f pasmo HA, rys.4.16.j pasmo ODPa); płytka ze stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C po 20 cyklach. Wytrącanie HA (Ti_600_HA: rys.4.16.g pasmo HA, rys.4.16.k pasmo ODPa) i płytka ze stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C z warstwą ODPa po 20 cyklach opadów HA (Ti_600_ODPA_HA: rys.4.16.h pasmo HA, rys.4.16.l pasmo ODPa).

Dla próbek Ti_HA, Ti_ODPA_HA i Ti_600_HA zaobserwowano pasma HA praktycznie na całej badanej powierzchni, o podobnym poziomie intensywności. Dodatkowo wraz z powstawaniem warstwy HA zmniejsza się intensywność pasm ODPa (Ti_ODPA_HA - rys. 4.16.j), co może wskazywać na pokrycie warstwy ODPa. Inaczej sytuacja wygląda w przypadku stopu tytanu wyżarzanego z warstwą ODPa (Ti_600_ODPA_HA), w którym HA występuje w śladowych ilościach, mimo że intensywność ODPa jest na podobnym poziomie jak przed wytrąceniem HA (Ti_600_ODPA).



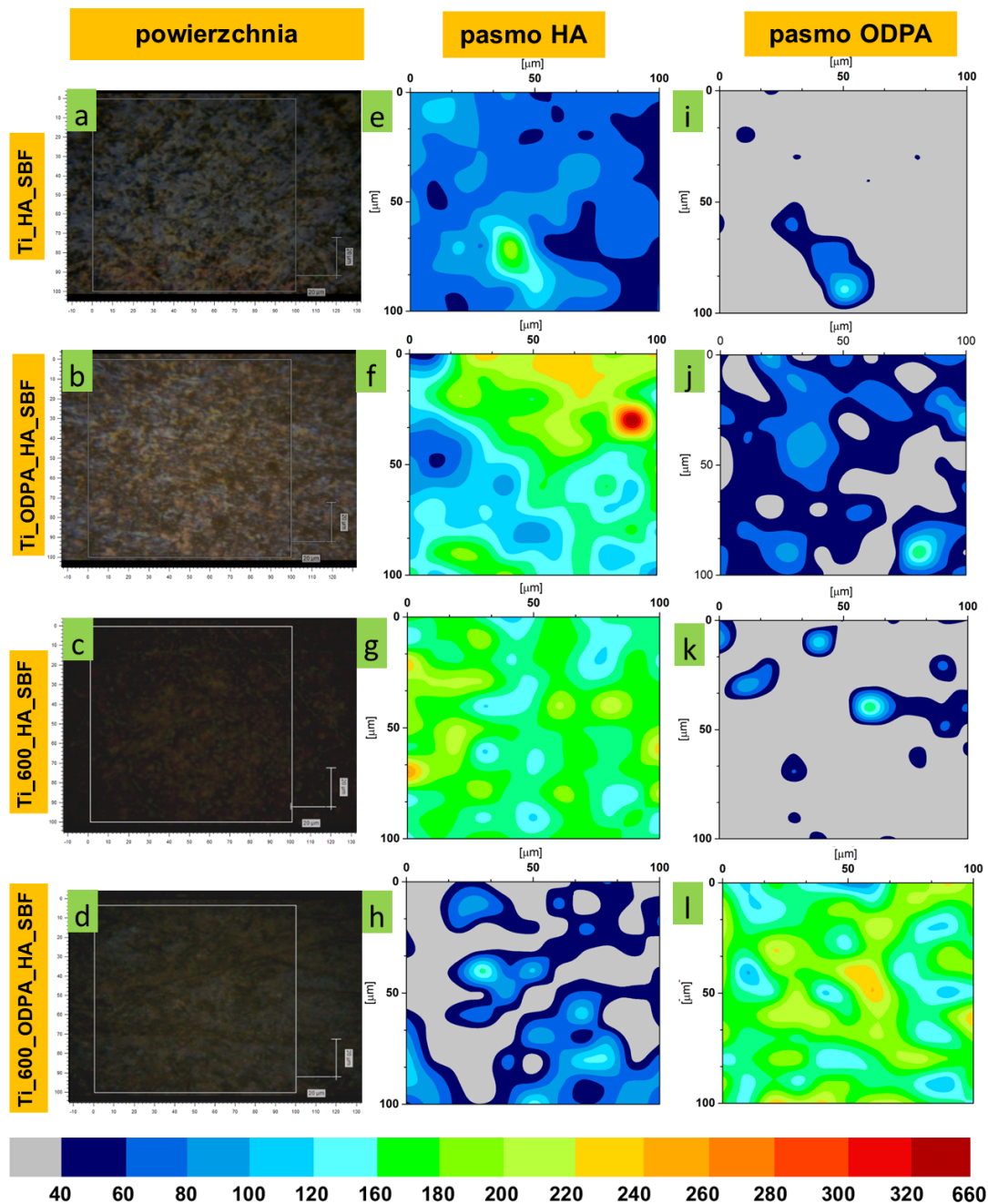
RYSUNEK 4.16: Mapy dla widma Ramana - dla pasm HA i ODPa: (a - d) badana powierzchnia z zaznaczonym obszarem mapowania; (e, i) płytka ze stopu tytanu po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_HA); (f, j) płytka ze stopu tytanu z warstwą ODPa po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_ODPA_HA); (g, k) płytka ze stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_600_HA); (h, l) płytka ze stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C z warstwą ODPa po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_600_ODPA_HA) [155]

Płytki stopu tytanu z warstwą ODPa i HA, po zanurzeniu w SBF

Na rysunku 4.17 pokazano zestawienie całej powierzchni płytki z trzeciego, ostatniego etapu badań. W pierwszej kolumnie znajdują się zdjęcia powierzchni badanych próbek (rys.4.17.a - d) wraz z zaznaczonym obszarem ma-

powania. W kolejnych kolumnach znajdują się mapy intensywności dla płytki ze stopu tytanu po 20 cyklach wytrącania HA i zanurzenia w SBF (Ti_HA_SBF: rys.4.17.e pasmo HA, rys.4.17.i pasmo ODPa); płytka ze stopu tytanu z warstwą ODPa po 20 cyklach wytrącania HA i zanurzeniu w SBF (Ti_ODPA_HA_SBF: rys.4.17.f pasmo HA, Rys.4.17.j pasmo ODPa); płytka ze stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C po 20 cyklach wytrącania HA i zanurzenia w SBF (Ti_600_HA_SBF: rys.4.17.g pasmo HA, rys.4.17.k pasmo ODPa); i płytka ze stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C z warstwą ODPa po 20 cyklach wytrącania HA i zanurzeniu w SBF (Ti_600_ODPA_HA_SBF: Fig.4.17.h Pasma HA, rys.4.17.l pasmo ODPa).

Próbki zanurzono w SBF na dwa tygodnie, utrzymując temperaturę 36,6°C. Widoczny jest spadek intensywności pasma HA dla próbki Ti_HA_SBF, podczas gdy Ti_ODPA_HA_SBF i Ti_600_HA_SBF utrzymują praktycznie ten sam poziom intensywności jak przed zanurzeniem. Dodatkowo, dla próbki Ti_600_ODPA_HA_SBF można zaobserwować wzrost pokrycia powierzchni przez HA. Może to wynikać z wytrącania się struktur HA z symulowanego płynu ustrojowego.

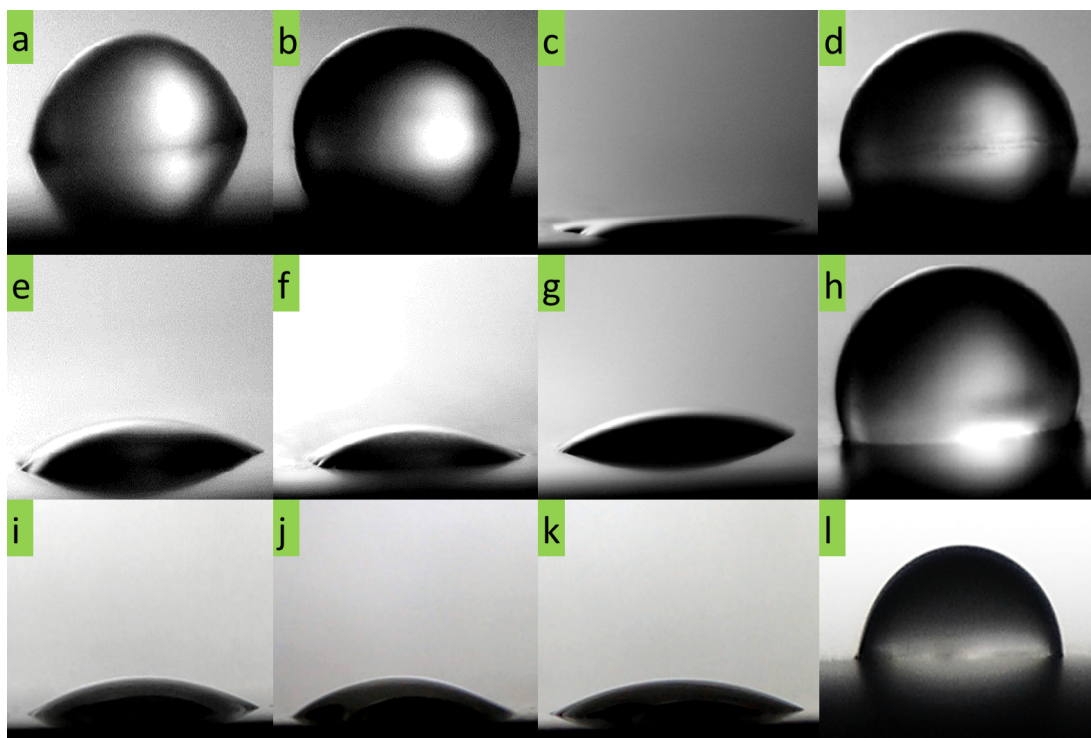


RYSUNEK 4.17: Mapy dla widma Ramana - dla pasm HA i ODP, po zanurzeniu w SBF: (a - d) badana powierzchnia z zaznaczonym obszarem mapowania; (e, i) płytka stopu tytanu po 20 cyklach wytrącania HA i zanurzenia w SBF (Ti_HA_SBF); (f, j) płytka stopu tytanu z warstwą ODP po 20 cyklach wytrącania HA i zanurzenia w SBF (Ti_ODPA_HA_SBF); (g, k) płytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C po 20 cyklach wytrącania HA i zanurzenia w SBF (Ti_600_HA_SBF); (h, l) płytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C z warstwą ODP po 20 cyklach wytrącania HA i zanurzeniu w SBF (Ti_600_ODPA_HA_SBF) [155]

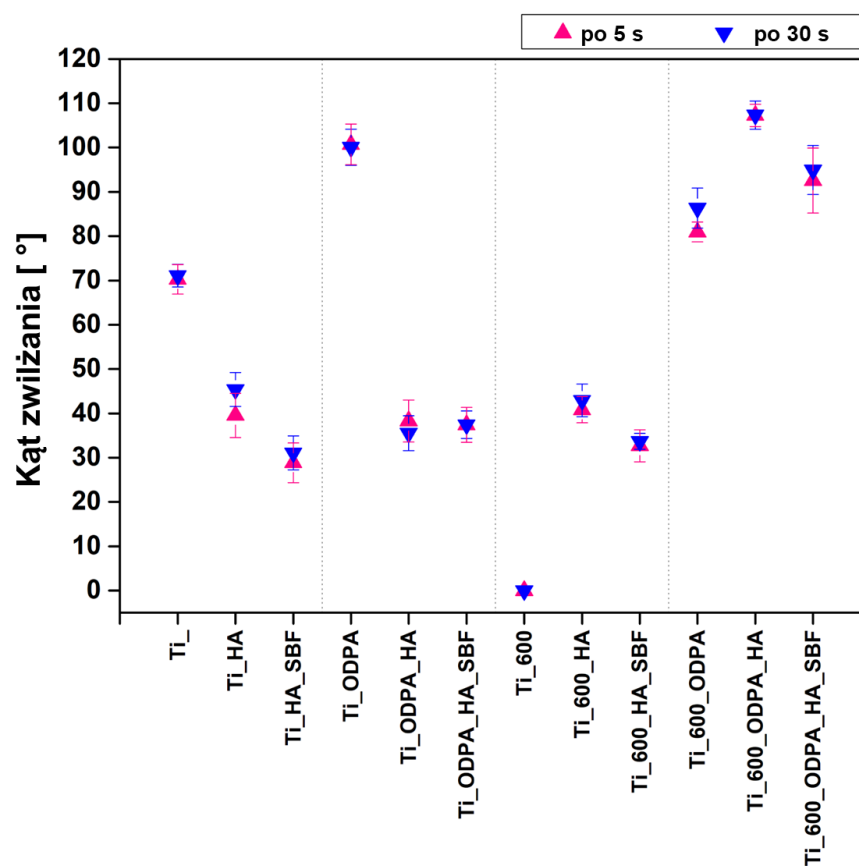
4.3.5 Analiza pomiaru zwilżalności powierzchni

W celu analizy pomiaru zwilżalności powierzchni badanych próbek w pierwszej kolejności wykonano zdjęcia po 5 i 30 sekundach od nałożenia kropli. Wybrane zdjęcia przedstawiono na rysunku 4.18, natomiast średnie wartości ze wszystkich pomiarów przedstawiono na rysunku 4.19.

Z danych tych wynika, że krople były stabilne, nie zaobserwowano znaczącego wzrostu zwilżania powierzchni w czasie. W przypadku płytki niewyżarzonej można zauważyć wyraźną zmianę charakteru powierzchni po nałożeniu ODPa - na wysoce hydrofobową, podobne wartości uzyskano w Bong i in. we wszystkich badaniach [161]. To się jednak zmienia po zastosowaniu HA - spadek wartości ze 100° do 35° . W przypadku próbki wyżarzanej w temperaturze 600°C powierzchnia została całkowicie zwilżona natychmiast po zetknięciu się kropli z powierzchnią (Ti_600). Dla Ti_600_ODPA uzyskano także niższą średnią wartość kąta zwilżania niż w przypadku pomiarów dla próbki Ti_ODPA. Po nałożeniu warstw HA na płytkę Ti_600_ODPA nie uzyskano wzrostu zwilżalności powierzchni. Wyniki te pokrywają się z danymi uzyskanymi z pomiarów mapowania powierzchni - tylko dla tej próbki zaobserwowano znikomą obecność pasm HA (rys. 4.16.h).



RYSUNEK 4.18: Zdjęcia kropli dla pomiarów kąta zwilżania - 30 s po nakropleniu dla: (a) - płytki stopu tytanu (Ti₋); (b) - płytka stopu tytanu z warstwą ODPA (Ti_ODPA); (c) - płytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C (Ti₆₀₀); (d) - płytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C z warstwą ODPA (Ti₆₀₀.ODPA); (e) - płytka stopu tytanu po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_HA); (f) - płytka stopu tytanu z warstwą ODPA po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_ODPA_HA); (g) - płytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C po 20 cyklach wytrącania HA (Ti₆₀₀_HA); (h) - płytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C z warstwą ODPA po 20 cyklach wytrącania HA (Ti₆₀₀.ODPA_HA); (i) - płytka stopu tytanu po 20 cyklach wytrącania HA po zanurzeniu w SBF (Ti_HA_SBF); (j) - płytka stopu tytanu z warstwą ODPA po 20 cyklach wytrącania HA po zanurzeniu w SBF (Ti_ODPA_HA_SBF); (k) - płytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C po 20 cyklach wytrącania HA po zanurzeniu w SBF (Ti₆₀₀_HA_SBF); (l) - płytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C z warstwą ODPA po 20 cyklach wytrącania HA po zanurzeniu w SBF (Ti₆₀₀.ODPA_HA_SBF) [155]



RYSUNEK 4.19: Wyniki pomiarów kątów zwilżania dla wszystkich próbek po 5 i 30 s od naniesienia kropli [155]

4.4 Podsumowanie badań

Badania dotyczyły modyfikacji powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V ELI związkiem ODPa w celu poprawy wiązania HA z powierzchnią materiału – docelowo endoprotezy. Wykonano kilka kombinacji modyfikacji powierzchni stopów, które następnie poddano analizie za pomocą: SEM, EDS, mikroskopii konfokalnej, spektroskopii Ramana i pomiarów kąta zwilżania.

Na podstawie wyników pomiarów kąta zwilżania można przypuszczać, iż w wyniku wytworzenia się warstwy tlenku w procesie wyżarzania łańcuch ODPa wiąże się odwrotnie niż w przypadku próbki nieogrzewanej. Taki układ zapobiega dalszemu przyłączaniu HA. W przypadku analizy próbek z ostatniej części badania – zanurzenia w SBF, dla wszystkich modyfikacji widoczny jest wzrost zwilżalności powierzchni.

Analizując wyniki z SEM można stwierdzić, że modyfikacja powierzchni – wyżarzanie, aplikacja ODPa czy wytrącanie HA [162] przebiegała pomyślnie, ponieważ obserwujemy występowanie pierwiastków (widma EDS) jak również obecność charakterystycznych struktur dla HA i ODPa (obrazy SEM) lub zmiany zwilżalności powierzchni po modyfikacjach (kąta zwilżania). Uzyskano podobne właściwości zaprezentowane przez Mioc oraz Jung [163, 164]. Analiza z zastosowaniem spektroskopii Ramana, uzupełniona próbkami zanurzonymi w SBF, wykazała, że ODPa nie zwiększa ilości HA przyczepionego do nieogrzewanej powierzchni stopu tytanu. Uzyskane wyniki były podobne dla samego stopu. Z drugiej strony zauważono, że po zanurzeniu w SBF na warstwie ODPa pozostało więcej HA niż na płytce bez warstw (Ti₂O₃). Dodatkowo zauważono, że na płytkach pokrytych tlenkami i ODPa nie było możliwości dołączenia HA – widać to zarówno na pomiarach ramanowskich, jak i pomiarach kąta zwilżania (jednak struktury są zauważalne w wynikach SEM).

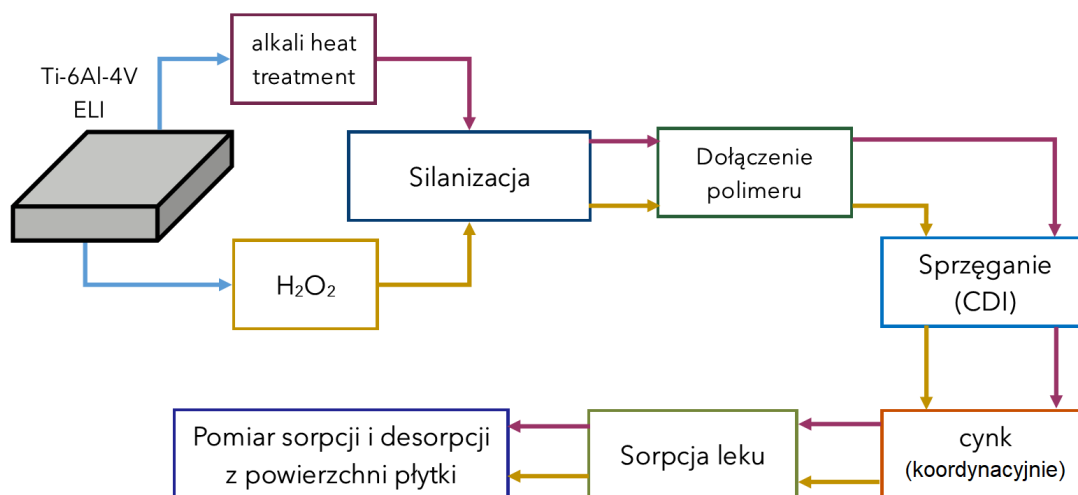
Długotrwałe utrzymywanie się HA na powierzchni ODPa może być ważną informacją do badań powierzchni modyfikowanych lekiem – można uzyskać dłuższe uwalnianie leku z warstwy. Hipoteza ta wymaga jeszcze potwierdzenia. Ostatecznie, stosując standardową metodę analizy biomateriałów – pomiar kąta zwilżania, wykazano zmiany zwilżalności powierzchni dla każdej modyfikacji. Uważamy, że ODPa, z powodzeniem stosowany w metalurgii do tworzenia warstw antykorozyjnych [165], można uznać również za związek wpływający pozytywnie na utrzymanie warstwy HA na modyfikowanej powierzchni. Aby potwierdzić tę hipotezę, potrzebne są jednak dalsze, szersze badania.

Rozdział 5

Modyfikacja powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V ELI za pomocą bezwodnika poli(etylenowo-alt-maleinowego)

Wszystkie informacje zawarte w niniejszym rozdziale zostały opublikowane:

Szczuka, J., Sandomierski, M., Voelkel, A., Grochalski, K., Buchwald, T. (2023). Surface Modification of Ti6Al4V ELI Titanium Alloy by Poly (ethylene-alt-maleic anhydride) and Risedronate Sodium. Materials, 16(15), 5404.



RYSUNEK 5.1: Abstrakt graficzny przedstawiający schemat badań opisanych w niniejszym rozdziale [166]

5.1 Cel badań

Celem badań było opracowanie metody modyfikacji stopu tytanu w celu uzyskania powierzchni zdolnej do uwalniania leku. Schemat prezentujący przebieg badań został pokazany na rysunku 5.1. Materiałem do badań był stop tytanu Ti6Al4V ELI, atestowany w oparciu o normę ASTM F136 [156], stosowany w budowie endoprotez. Kluczową warstwą był bezwodnik poli(etyleno-alt-maleinowy) (PEAMA)¹ osadzony na stopie tytanu po procesie silanizacji, lek dodano w końcowym etapie. Schemat modyfikacji przedstawiono na rysunku 5.2, poszczególne etapy opisano szczegółowo w dalszej części rozdziału.

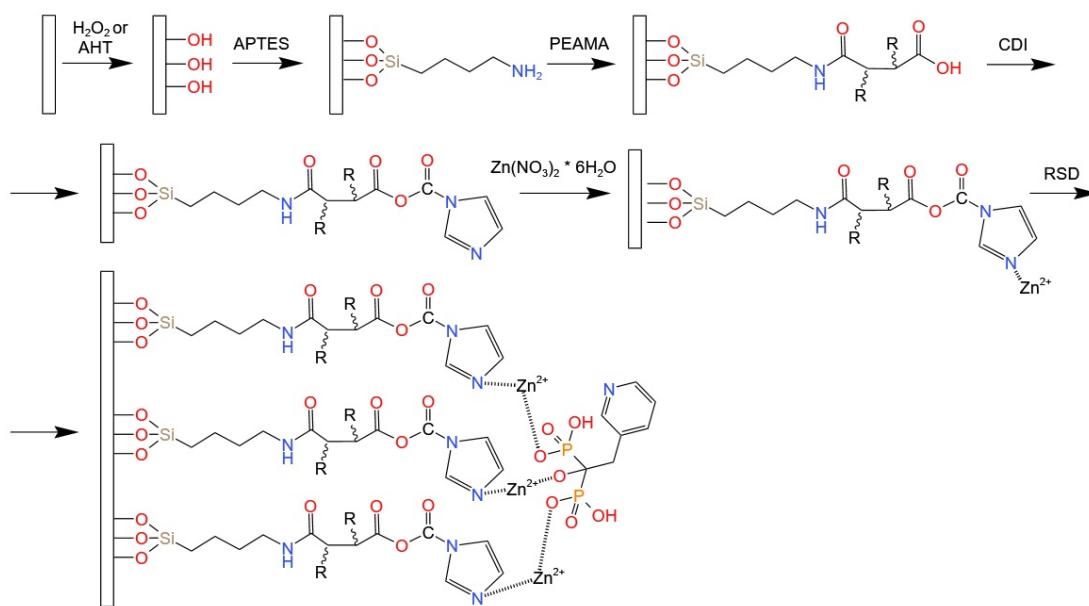
Polimery są szeroko stosowane w konstrukcji materiałów do zastosowań medycznych. Stosowane są do tworzenia kompozytów dentystycznych, cementów kostnych czy elementów endoprotez [167, 168]. Odgrywają także ważną rolę w procesie transportu leków - tworzą otoczki kapsułek lub błony domieszkowane lekami [169, 170]. Odznaczają się właściwościami biodegradowalnymi - w zależności od rodzaju polimeru, po umieszczeniu w korpusie, dana warstwa rozpada się po czasie - od kilku godzin do nawet kilku tygodni.

Poli(bezwodnik etylenowo-alt-maleinowy) (PEAMA) jest popularnym związkiem poprawiającym właściwości mechaniczne i fizykochemiczne, tworzyw sztucznych [171]. Polimer ten jest znacznie tańszy od popularnych obecnie PGA. Przykładowo biorąc pod uwagę ceny z Sigma Aldrich za 1g: PEAMA – 6,89 €; PGA (poli(kwas glikolowy)) – 185 €². Co może znacząco wpłynąć na ostateczny koszt takiego zmodyfikowanego materiału.

¹z ang. poly(ethylene-alt-maleic anhydride)

²wartości odpowiadają cenom na dzień złożenia pracy

1,1'-karbonyldiimidazol (CDI)³ jest jednym z najpopularniejszych związków stosowanych w procesie sprzęgania [172]. Jego obecność jest konieczna do koordynacji warstwy PEAMA z jonami Zn . Oczekuje się, że tworzenie pierścieni imidazoliowych na powierzchni PEAMA nie tylko koordynuje jony cynku, ale ma także ogromny potencjał zwiększania biokompatybilności i osteointegracji. Wynika to z faktu, że takie warstwy wspomagały wcześniej wzrost kości (np. warstwa ZIF-8) [173]. W kolejnym i ostatnim etapie modyfikacji lek został przyłączony wiązaniem koordynacyjnym (pomiędzy jonami Zn i cząsteczkami RSD). Metoda ta ma na celu modyfikację powierzchni różnymi związkami chemicznymi.



RYSUNEK 5.2: Schemat poglądowy przeprowadzonego procesu modyfikacji powierzchni płytek stopu tytanu [166]

³z ang. 1,1'-carbonyldiimidazole

5.2 Materiały i metodyka

5.2.1 Materiały

Przygotowanie płytek stopu tytanu Ti6Al4V ELI

Do badań wykorzystano płytki ze stopu tytanu Ti6Al4V ELI (firmy WOLFTEN Sp. z o.o., Wrocław, Polska) o wymiarach $12,5 \text{ mm} \times 10 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$, procentowy skład stopu: Fe-0,12; V-3,85; Al-6,15; C-0,008; O-0,13; N-0,004; Y - <0,0004; Ti-89,74.

Płytki odtłuszczono zanurzając je w rozpuszczalniku EM 404 (Emag) w myjce ultradźwiękowej. Następnie przeprowadzono proces szlifowania na mokro papierem ściernym o gradacji odpowiednio 600, 800, 1000, 1500, 2000, kończąc na 2500. Na koniec przemyto je wodą i roztworem tetrahydrofuranu (THF). Tak przygotowane próbki stanowiły punkt wyjścia do dalszych modyfikacji.

Alkaliczna obróbka cieplna

Alkaliczna obróbka cieplna⁴ to proces zaproponowany (po raz pierwszy) przez Kim i in. [174] i zmodyfikowany przez Fujibayashi i in. [175] i Su i in. [176]. Metoda pozwala na utworzenie porów na powierzchni stopu, dzięki czemu uzyskuje się lepszą penetrację HA lub ogólną poprawę osseointegracji kość-implant. 8 g NaOH (40 g/mol, Chempur, Polska) podzielono na 4 części i dodano jedną po drugiej do wody MiliQ (20 ml). Zlewka z wodą MiliQ została wcześniej umieszczona w mieszaninie wody i lodu. Po rozpuszczeniu wszystkich granulek roztwór przelano do nowej zlewki z płytkami ze stopu tytanu. Następnie roztwór z próbkami umieszczono w piecu na 24 godziny w temperaturze 60°C. Próbki po obróbce alkalicznej były dwukrotnie płukane przez 15 minut w wodzie demineralizowanej. W ostatnim etapie płytki umieszczono w ceramicznym tyglu a następnie w piecu w temperaturze 600°C na 3 godziny (z krokiem 5°C /min (łącznie 2 godziny) + 3 godziny w 600°C), przy czym płytki dalej oznaczane są jako Ti_AHT.

⁴z ang. Alkali Heat Treatment (AHT)

Utlenianie nadtlakiem wodoru

Nadtlenek wodoru (H_2O_2) jest stosowany jako utleniacz i środek dezynfekujący o działaniu antybakteryjnym. Podczas utleniania stopów tytanu może tworzyć małe pęknięcia na powierzchni [177, 178]. Aby zmodyfikować powierzchnię, 22 płytki zanurzone w 35 ml H_2O_2 na 4 godziny, następnie przemyto wodą dejonizowaną i wysuszono w temperaturze 80°C przez 1 godzinę. Tak przygotowane płytki (dalej oznaczane jako Ti.HO) poddano dalszej analizie.

Silanizacja powierzchni (3-aminopropyl)-triethoxysilanem (APTES)

Proces silanizacji, w pierwszej kolejności polegał na przygotowaniu roztworu - w tym celu rozpuszczono 1,6 ml APTES⁵ (99%, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) i 78,4 ml metanolu. Następnie, po wymieszaniu, płytki zanurzone w roztworze na 2 godziny. Po tym czasie płytki wyjęto z roztworu i przepłukano 2 razy w metanolu (po 15 min) w celu usunięcia nadmiaru/nieprzereagowanego APTES z powierzchni i osuszono.

Wytworzenie warstwy poli(bezwodnika etylenowo-alto-maleinowego) (PEAMA)

Po procesie silanizacji płytki umieszczono w roztworze PEAMA⁶ (średnia M_w 100,000-500,000; Sigma Aldrich, USA) (2,8 g polimeru rozpuszczonego w 80 ml acetonu) na 24 godziny, utrzymując temperaturę 60°C . Następnie płytki przemyto acetonem w celu usunięcia nadmiaru polimeru z powierzchni.

Sprężanie 1,1 -karbonyldiimidazolu (CDI) i kompleksowanie Zn

Najpierw płytki umieszczono w roztworze CDI⁷-acetonu (1,34 g w 6,5 ml) na 24 godziny, utrzymując temperaturę pokojową, a na koniec przepłukano w celu usunięcia nieprzereagowanego CDI. Następnie proces kompleksowania cynku przeprowadzono trzykrotnie w 0,5 molowym roztworze $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ przez 24 godziny każdy. Po tym czasie próbki przepłukano trzykrotnie wodą w celu usunięcia nadmiaru wolnych jonów z powierzchni (3 razy przez 15 minut).

⁵z ang. (3-aminopropyl)-triethoxysilane

⁶z ang. poly(ethylene-alt-maleic anhydride)

⁷z ang. 1,1 - carbonyldiimidazole

Sorpcja ryzedronianu sodu (RSD)

Zmodyfikowane płytki umieszczano w probówkach typu eppendorf, a następnie zalewano roztworem RSD⁸ (certyfikowany materiał referencyjny, Sigma Aldrich) o stężeniu 0,05 mg/ml przygotowanym w buforze TH (TRIS-HCl). Bufor TH uzyskano przez rozpuszczenie 0,1 M TRIS w wodzie i uzyskaniu pH o wartości 7,4 za pomocą HCl. Następnie próbki umieszczono w laboratoryjnym rotorze (Sunlab SU1010, 20 RPM) na 24 godziny [179].

Opis przygotowanych próbek

Poniższa tabela 5.1 zawiera skrócony oraz pełen opis przygotowanych próbek. W dalszej części pracy nazwy próbek będą występować w formie skróconej ze względu na przejrzystość i czytelność tekstu.

⁸z ang. risedronate sodium

TABELA 5.1: Skrócony i pełen opis wykonanych próbek

nazwa skrócona	pełen opis
Ti_HO	płytką stopu tytanu po zanurzeniu w H_2O_2
Ti_HO_APTES_PEAMA	płytką stopu tytanu po zanurzeniu w H_2O_2 , procesie sinalizacji (APTES) oraz dołączeniu polimeru (PEAMA)
Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn	płytką stopu tytanu po zanurzeniu w H_2O_2 , procesie sinalizacji (APTES), dołączeniu polimeru (PEAMA), kompleksowaniu Zn przy udziale CDI
Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD	płytką stopu tytanu po zanurzeniu w H_2O_2 , procesie sinalizacji (APTES), dołączeniu polimeru (PEAMA), kompleksowaniu Zn przy udziale CDI oraz sorpcji leku RSD
Ti_AHT	płytką stopu tytanu po procesie AHT
Ti_AHT_APTES_PEAMA	płytką stopu tytanu po procesie AHT, sinalizacji (APTES) oraz dołączeniu polimeru (PEAMA)
Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn	płytką stopu tytanu po procesie AHT, sinalizacji (APTES) oraz dołączeniu polimeru (PEAMA), kompleksowaniu Zn przy udziale CDI
Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD	płytką stopu tytanu po procesie AHT, sinalizacji (APTES), dołączeniu polimeru (PEAMA), kompleksowaniu Zn przy udziale CDI oraz sorpcji leku RSD

5.2.2 Metodyka

Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM) z analizatorem EDS

W przypadku tej części badań obrazy wykonano przy użyciu mikroskopu FEI Quanta 250 FEG pracującego w trybie próżniowym przy ciśnieniu 10 Pa i napięciu przyspieszającym 10 kV, dla parametrów pozioma szerokość pola (HFW) 41,4 μm i powiększenie 10 000x (TESCAN, Brno, Czechy), zmapowano skład chemiczny próbki i zarejestrowano widma EDS.

Spektroskopia Ramana

Badania zmodyfikowanych płytek ze stopu tytanu przeprowadzono na konfokalnym mikroskopie ramanowskim inViaTM z laserem 514,5 nm, mocą 20 mW, czasem akumulacji 10 s i powiększeniem 50x (Renishaw, Wotton-under-Edge, Wielka Brytania). Wiązka lasera była automatycznie ogniskowana na płytce, aby wyeliminować wpływ nierówności powierzchni na intensywność pasm Ramana. Moc lasera była stale kontrolowana. Zastosowano siatkę dyfrakcyjną 1800 l/mm. Wszystkie parametry pasma uzyskano poprzez dopasowanie splotu funkcji Gaussa i Lorentza. Widma Ramana uzyskano w zakresie spektralnym od 220 do 3500 cm^{-1} . Widma nie były normalizowane. Zmiany parametrów spektroskopowych - wynikające z procesu modyfikacji powierzchni - zostały zilustrowane mapami Ramana - obszar pomiarowy 100 μm na 100 μm z krokiem co 10 μm . Analiza powierzchni koncentrowała się na warstwie TiO_2 , która miała pokazać różnice między wstępną modyfikacją powierzchni (AHT vs HO). Dla pozostałych próbek przeanalizowano widma Ramana w celu określenia obecności danego związku po modyfikacji. Analizowano intensywność charakterystycznego pasma bez tła, które odcinano w taki sam sposób jak dla pojedynczych widm. Widma, na podstawie których tworzone były mapy, nie były normalizowane. Graficzne przetwarzanie map Ramana zostało wykonane w oprogramowaniu OriginLab.

Spektroskopia w podczerwieni z transformatą Fouriera

Powierzchnie stopów tytanu skanowano za pomocą spektrometru FTIR (LUMOS II, Bruker Optics, Ettlingen, Niemcy) w trybie odbicia z analizowaną powierzchnią 900 μm x 900 μm , z krokiem 100 μm . Rozdzielczość spektralna wynosi 4 cm^{-1} , a w każdym punkcie pomiarowym wykonano 60 skanów. Spektrometr

jest wyposażony w detektor TE-MCT i złote lustro jako odniesienie. Jako tryb akwizycji zastosowano odbicie zewnętrzne.

Pomiar zwilżalności powierzchni

Proces pomiaru zwilżalności powierzchni polegał na upuszczeniu kropli wody destylowanej - 2,5 μL ze stałej wysokości na powierzchnię materiału. Zdjęcie kropli zostało następnie wykonane aparatem fotograficznym po 5 s i 30 s od nałożenia. Kąt pomiędzy powierzchnią kontaktu kropli z materiałem a styczną do kropli został określony za pomocą programu ImageJ. Dla każdej próbki wykonano 5 aplikacji kropli, wartości kąta zebrano po obu stronach kropli, wszystkie wyniki uśredniono, a niepewności wyników pomiarów określono na podstawie odchylenia standardowego.

Spektroskopia UV-VIS

W badaniach zastosowano aparat UV-2600 (Shimadzu, Kyoto, Japonia) do oznaczania stężenia ryzedronianu podczas procesu sorpcji i uwalniania. Pomiaru wykonano w zakresie 240-300 nm ($\lambda_{max}=262$ nm).

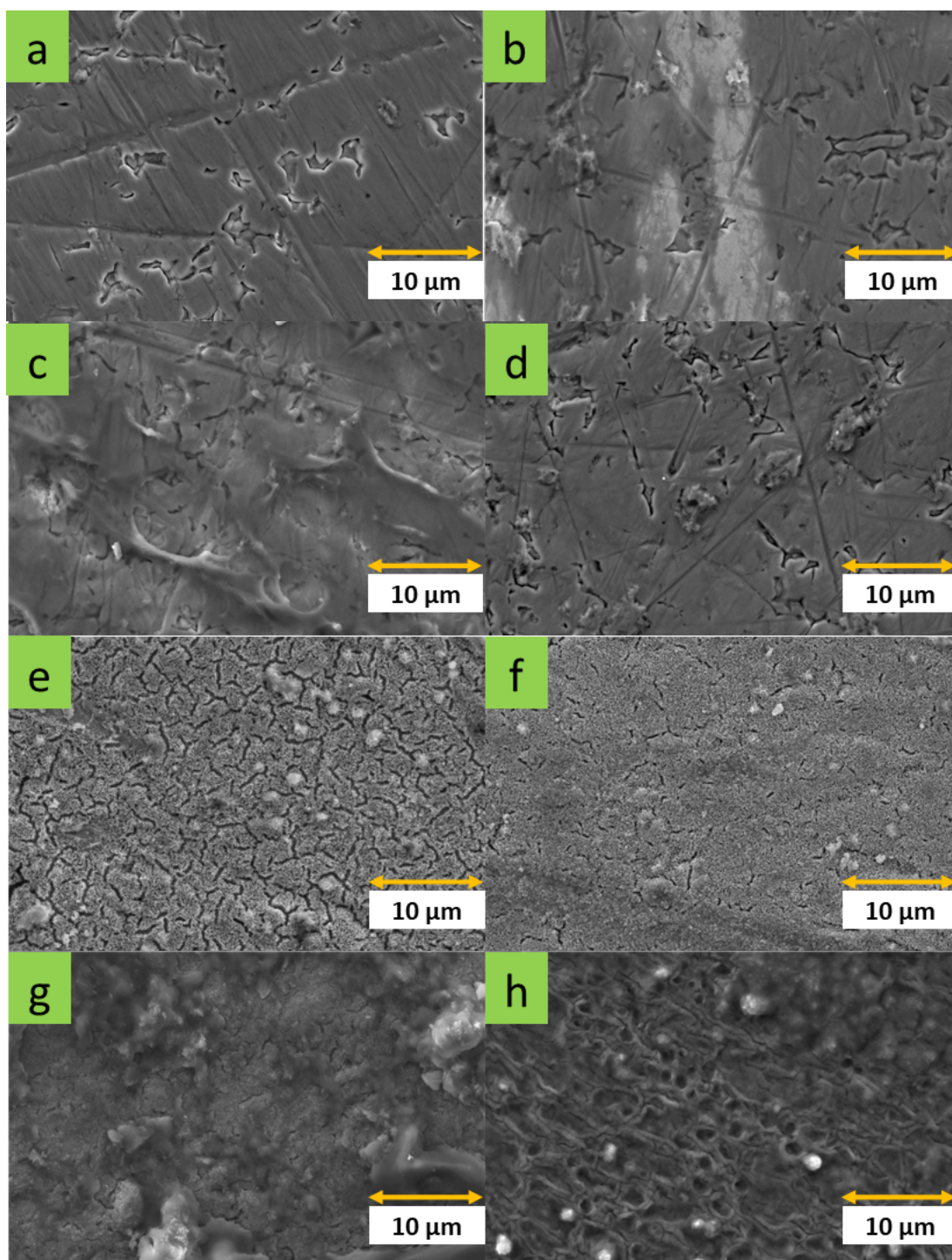
Analiza struktury powierzchni

Analizę struktury powierzchni przeprowadzono metodą kontaktową, przy użyciu urządzenia pomiarowego Hommel T8000 (Hommel-Tester, Hommelwerke GmbH, Niemcy) z głowicą pomiarową TKU 300 i końcówką pomiarową o kącie stożka diamentowego 60° . Parametry pomiarowe były następujące: zakres osi z (pionowej) ± 80 μm , mierzony obszar 4,8 x 4 mm (z czego 4,8 mm to sekcja pomiarowa). Filtrowanie Gaussa przy 0,8 μm , zmierzono 480 profili. Gęstość próbkowania w kierunku osi X (tj. kierunku rejestracji pojedynczego profilu) wynosi 48001 punktów (interwał). Warunki pomiaru wynosiły $20^\circ\text{C} \pm 0,5$. Analizę przeprowadzono dla modyfikacji płytek Ti_HO, Ti_AHT i Ti_HO_APTES_PEAMA_CDIL_Zn_RSD, Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDIL_Zn_RSD .

5.3 Wyniki i dyskusja

5.3.1 Analiza SEM

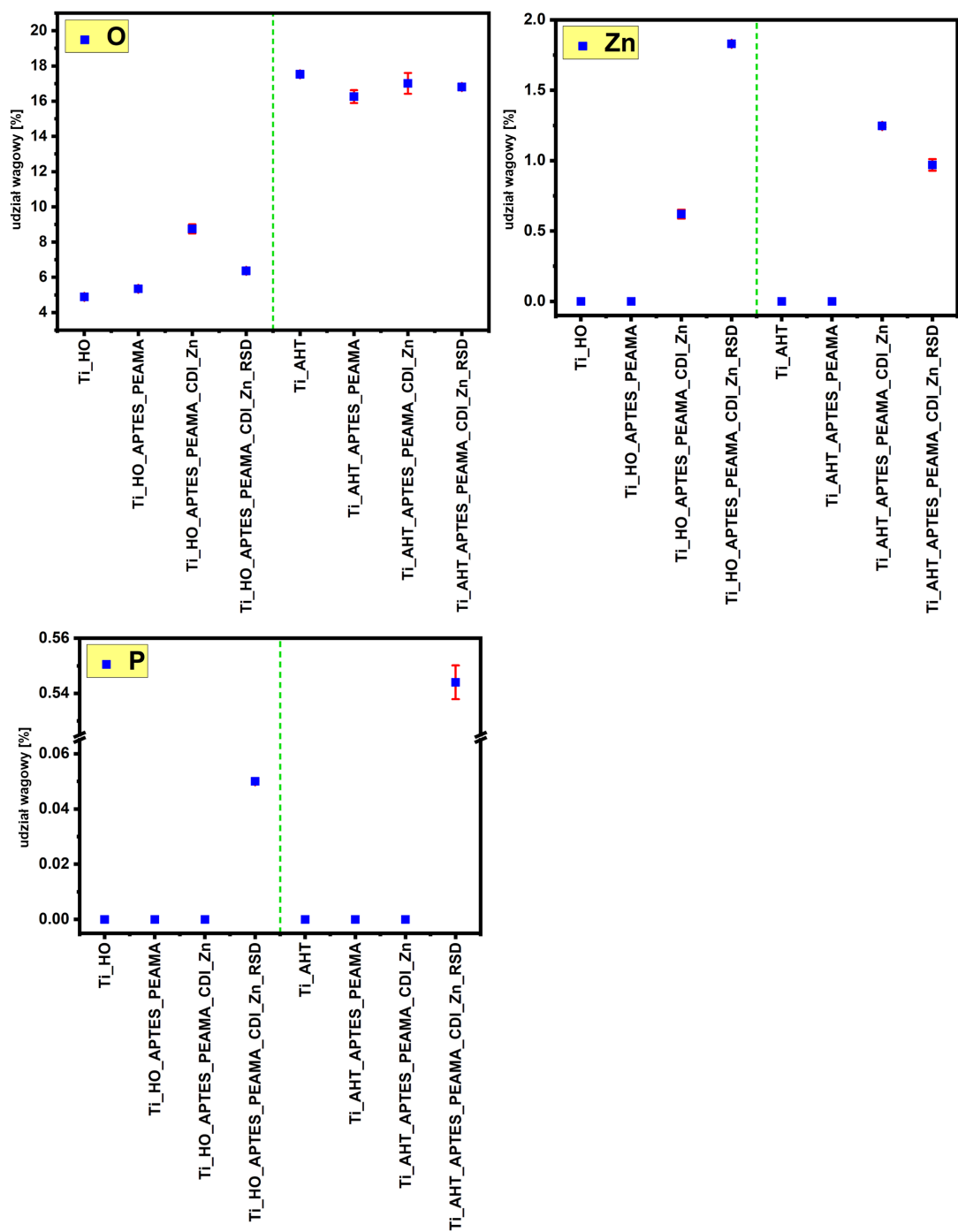
Obrazy SEM wykonano dla 8 rodzajów modyfikacji próbek, które zestawiono na rysunku 5.3. Już po pierwszym etapie modyfikacji powierzchni stopu tytanu można zauważyć wyraźne różnice - gdzie po działaniu H_2O_2 uzyskano pojedyncze, luźno rozmieszczone wytrawione obszary, a powierzchnia (rys. 5.3(a)) posiada jeszcze ślady szlifowania, natomiast po procesie AHT na powierzchni pozostały wyraźne, gęsto rozmieszczone porowate szczeliny rys. 5.3(e). Po procesie silanizacji i dodaniu PEAMA szczeliny zostają wypełnione, co widać w obu przypadkach rys. 5.3(b) i rys. 5.3(f). W przypadku próbki z grupy HO, powierzchnia stopu tytanu nadal prześwituje na obrazach SEM - widoczne są ślady szlifowania powierzchni, co może wskazywać na słabe pokrycie polimerem. Podobną sytuację można zaobserwować na kolejnych etapach - po CDI i kowalencyjnie przyłączonym Zn - w przypadku modyfikacji HO (rys. 5.3(c)) widać wyraźnie wyodrębniające się z powierzchni płytki struktury, które zanikają w kolejnym etapie modyfikacji rys. 5.3(d). W przypadku płytki z grupy AHT, która jest całkowicie pokryta, nie ma szczelin po trawieniu rys. 5.3(g); po sorpcji RSD powierzchnia przybiera gąbczastą strukturę rys. 5.3(h). Dla wszystkich etapów możemy wyraźnie odróżnić powierzchnię czystego stopu tytanu od pierwszego etapu (rys. 5.3(a)), co może oznaczać, że nałożone warstwy są bardzo cienkie (monowarstwy) lub pokrycie/modyfikacja nie jest tak rozległa jak w przypadku płytek z grupy AHT.



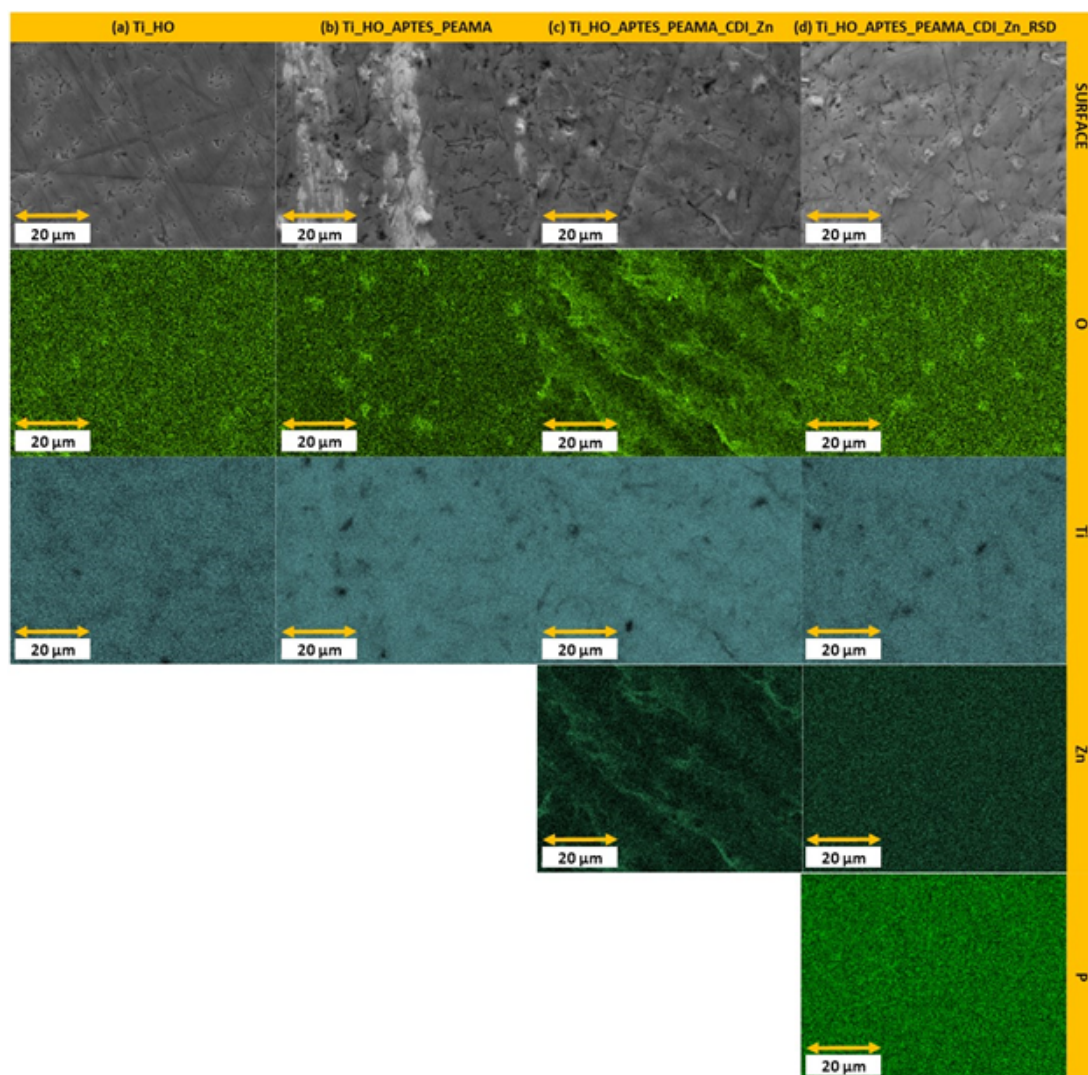
RYSUNEK 5.3: obrazy SEM, HFW 41.4 μm , pow. $\times 10,000$, dla próbek: (a) Ti_HO; (b) Ti_HO_APTES_PEAMA; (c) Ti_HO_APTES_PEAMA_CDILZn; (d) Ti_HO_APTES_PEAMA_CDILZn_RSD; (e) Ti_AHT; (f) Ti_AHT_APTES_PEAMA; (g) Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDILZn; (h) Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDILZn_RSD [166]

5.3.2 Analiza EDS

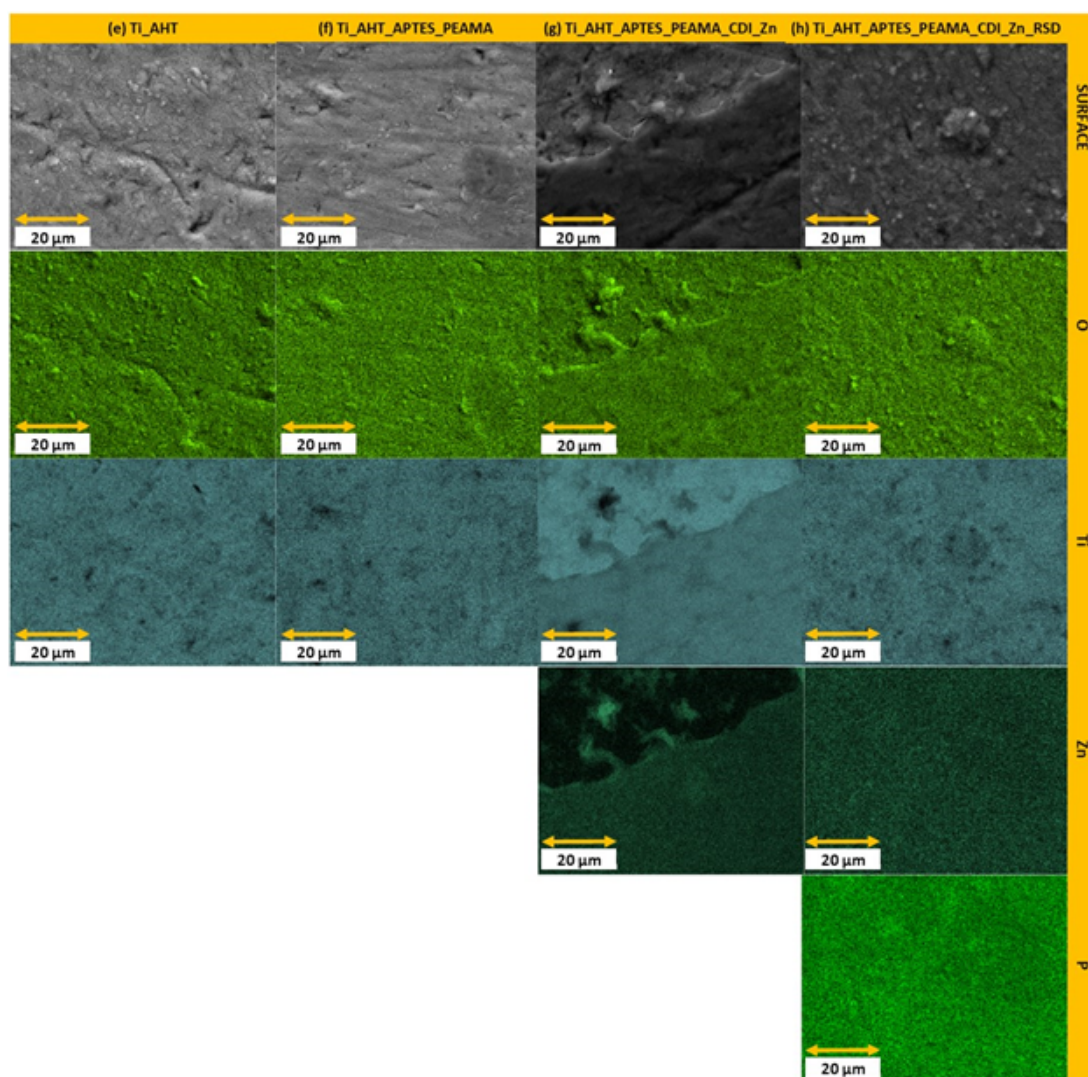
Analiza EDS polegała na pomiarze i określeniu udziału wagowego poszczególnych pierwiastków na powierzchni zmodyfikowanych próbek. Dla każdej próbki i dla każdego pierwiastka (tlen (O), cynk (Zn), fosfor (P)) wykonano pięć pomiarów, które następnie uśredniono, a wyniki wyrażono w procentach, zaznaczając odchylenie standardowe próbek. Uzyskane dane przedstawiono na wykresach na rysunkach 5.4 - wykresy udziałów wagowych; 5.5 - rozkład pierwiastków na powierzchni dla grupy HO; 5.6 - rozkład pierwiastków na powierzchni dla grupy AHT. Porównując obie grupy próbek - HO i AHT, można zauważyć, że ta druga charakteryzuje się większym udziałem tlenu na powierzchni niż w przypadku próbek HO. Dane te korelują z obrazami SEM, gdzie po procesie AHT można było zaobserwować wyraźne, gęsto rozmieszczone pory, co oznacza, że uzyskano więcej grup -OH niż po modyfikacji H_2O_2 . Wyraźną różnicę można zaobserwować w rozkładzie cynku (Zn). Dla próbki AHT zaobserwowano niewielki spadek występowania Zn na powierzchni po procesie sorpcji RSD, co może wynikać z wiązania fosforu znajdującego się w leku. Dla tego typu modyfikacji udało się związać prawie 50x więcej tego pierwiastka niż w przypadku płytki z grupy HO.



RYSUNEK 5.4: Analiza EDS - zestawienie procentowego udziału wagowego pierwiastków [166]



RYSUNEK 5.5: Analiza EDS - obrazy rozkładu pierwiastków na powierzchni próbek: (a) Ti_HO; (b) Ti_HO_APTES_PEAMA; (c) Ti_HO_APTES_PEAMA_CDILZn; (d) Ti_HO_APTES_PEAMA_CDILZn_RSD [166]

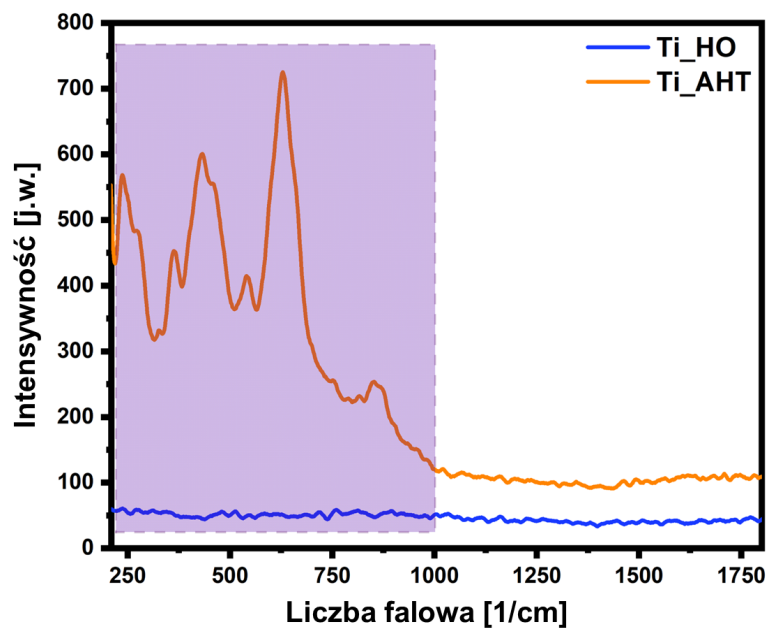


RYСУNEK 5.6: Analiza EDS - obrazy rozkładu pierwiastków na powierzchni próbek: (e) Ti_AHT; (f) Ti_AHT_APTES_PEAMA; (g) Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn; (h) Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD [166]

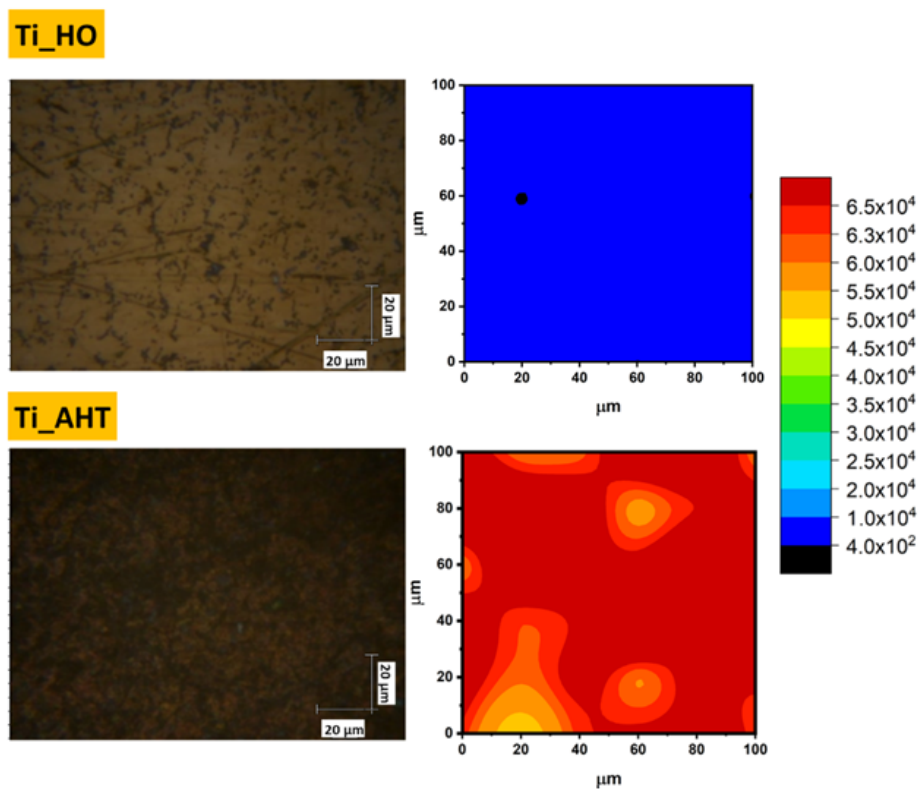
5.3.3 Analiza z zastosowaniem spektroskopii Ramana

Podstawową modyfikacją w badaniach jest wytrawienie powierzchni stopu tytanu - dla płytek po procesie AHT spodziewana jest większa warstwa tlenku. Aby zweryfikować te różnice, zmierzono widma Ramana, które następnie podsumowano na rysunku 5.7. Mapy przedstawiają wartości powierzchni pod krzywą, wyznaczone przez zmierzone widma, w zakresie $200-1000\text{ cm}^{-1}$. Widać, że istnieje wyraźna różnica w intensywności pasm - dla Ti_AHT są one wyraźne i gwałtowne. W kolejnym kroku sprawdzono pokrycie powierzchni tlenkami (rys. 5.8) - wykonano mapy ramanowskie, których wynik pokazano na rysunku 5.8. Mapy potwierdziły, że płytki AHT są pokryte większą ilością tlenków tytanu niż próbki HO.

Jest to ważna informacja, ponieważ w zależności od ilości grup -OH uzyskanych na powierzchni, będą zależały dalsze etapy modyfikacji.

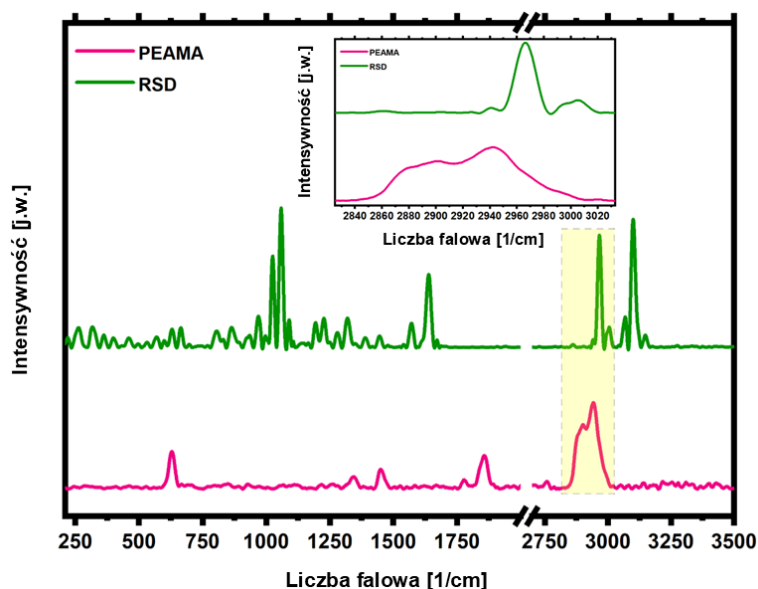


RYSUNEK 5.7: Zestawienie pomiarów dla próbek Ti_HO and Ti_AHT - widma ramanowskie, fioletowy kwadrat oznacza zakres przesunięcia ramanowskiego, w oparciu którego stworzono mapy powierzchni ($200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$)

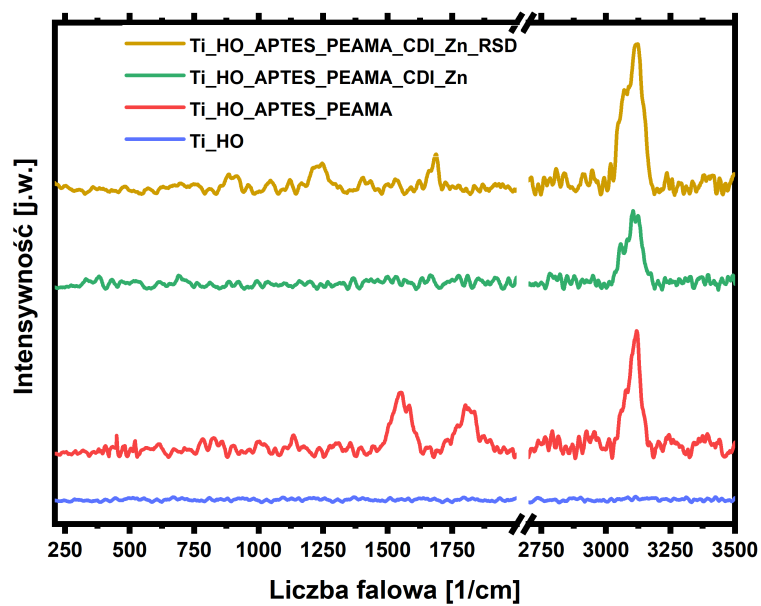
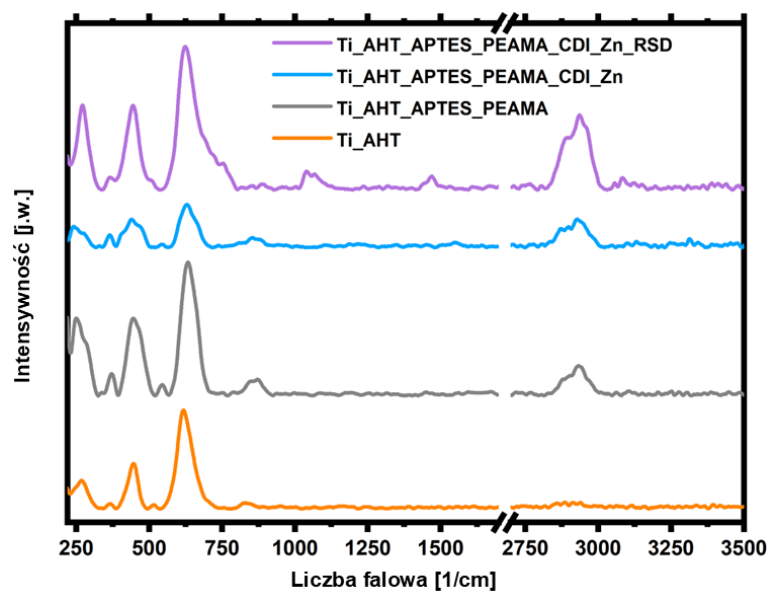


RYSUNEK 5.8: Zestawienie pomiarów dla próbek Ti_HO and Ti_AHT - obszar mapowanych powierzchni próbek oraz mapy ramanowskie próbek

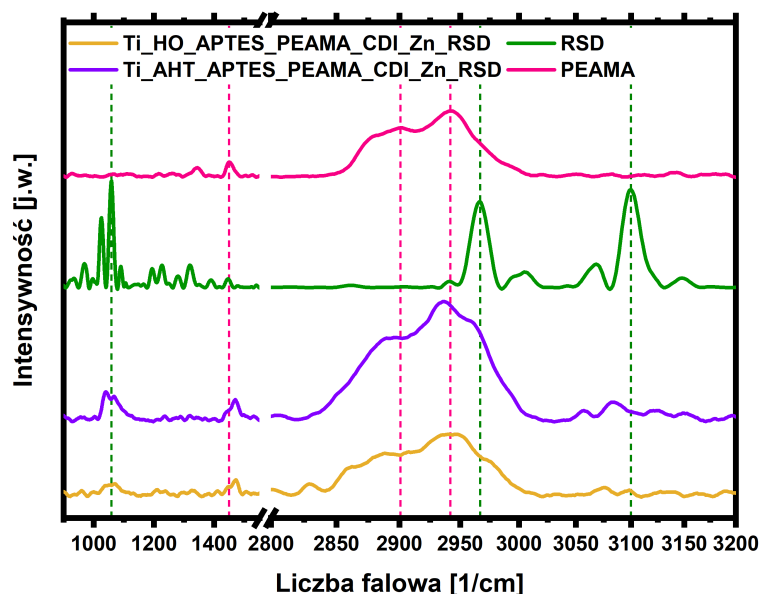
Widma Ramana zmierzono również dla pozostałych modyfikacji, które podsumowano na rysunkach 5.10-5.12. Na rysunku 5.10 podsumowano wszystkie modyfikacje dla grupy HO i przedstawiono te same wyniki dla AHT (rys. 5.11). Pasma PEAMA i RSD (obie substancje w postaci proszku) pokazano na rysunku 5.9. Dla wyraźniejszego porównania wyników, widma dla próbek Ti_HO_APTES_PEAMA_CDIL_Zn_RSD i Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDIL_Zn_RSD z RSD i PEAMA zestawiono razem, na osobnym wykresie, dla zakresu 900 - 3200 cm^{-1} . Na rysunku 5.12 charakterystyczne pasma surowych substratów występujące na zmodyfikowanej powierzchni stopu tytanu są oznaczone kolorowymi liniami przerywanymi. Są to odpowiednio dla: RSD - 1059 cm^{-1} , 1450 cm^{-1} , 2966.3 cm^{-1} , 3010 cm^{-1} (kolor zielony); PEAMA - 1450 cm^{-1} , 2901 cm^{-1} , 2942 cm^{-1} (kolor różowy). Dla obu modyfikacji wyraźnie widoczne są pasma charakterystyczne dla wiązań $\nu(\text{C-H})$ - 2942 cm^{-1} i $\nu(=\text{C-H})$ - 3010 cm^{-1} , wskazujące na obecność zarówno polimeru, jak i leku na powierzchni. W przypadku pasm przy 1450 cm^{-1} - $\nu(\text{CC})$ jest dla obu substancji czynnych przesunięte o kilka cm^{-1} na zmodyfikowanej powierzchni. Porównując uzyskane dane z wynikami SEM można stwierdzić, że dla obu grup modyfikacji uzyskano podobne wyniki - o czym świadczy nakładanie się występowania charakterystycznych pasm. Niestety mapowanie ramanowskie nie było możliwe ze względu na nagrzewanie modyfikowanych powierzchni, co prowadziło do fałszywych odczytów intensywności danego pasma.



RYSUNEK 5.9: Zestawienie widm ramanowskich - RSD (proszek) i PEAMA (proszek)

RYSUNEK 5.10: Zestawienie widm ramanowskich - grupa po procesie H_2O_2 

RYSUNEK 5.11: Zestawienie widm ramanowskich - grupa po procesie AHT

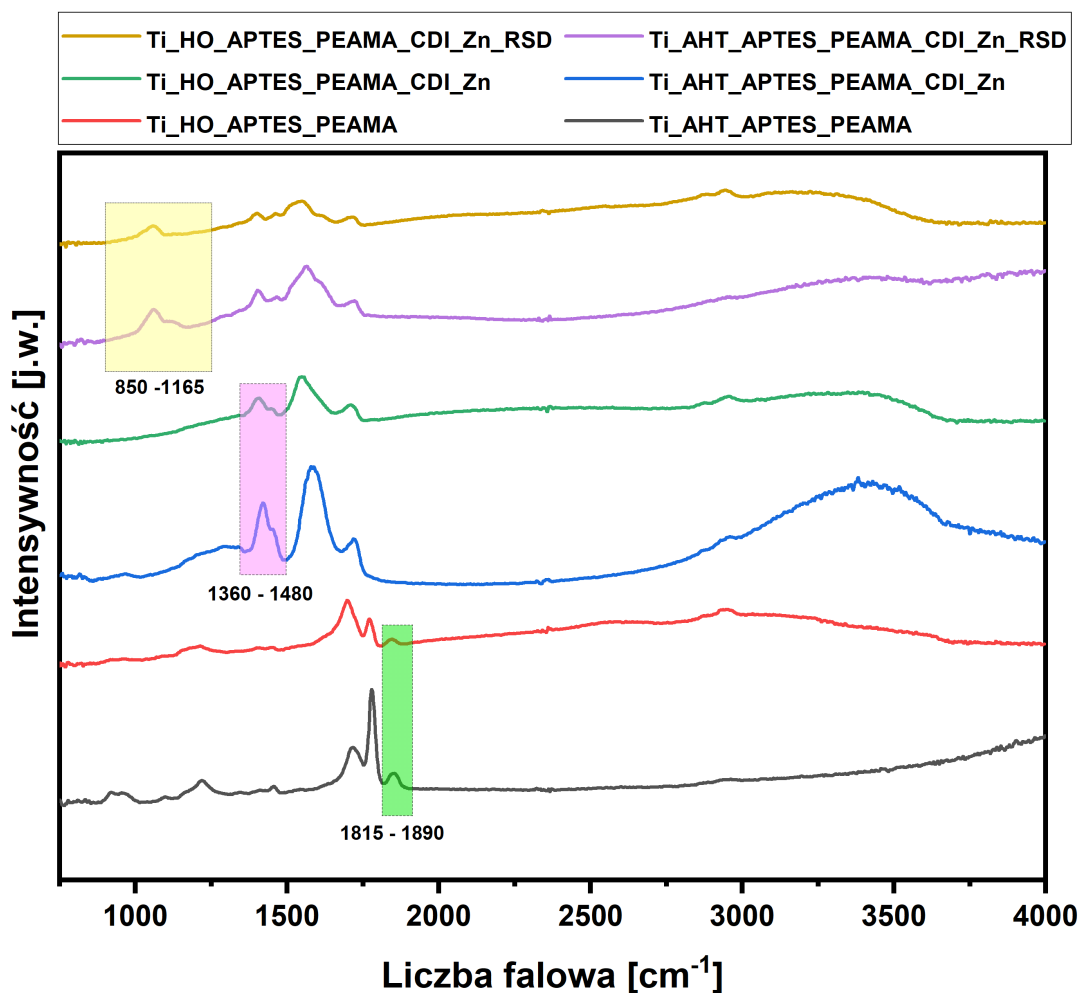


RYSUNEK 5.12: Zestawienie widm ramanowskich - porównanie widm z końcową modyfikacją z widmami referencyjnymi dla RSD (proszek) i PEAMA (proszek) dla zakresu $900\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$

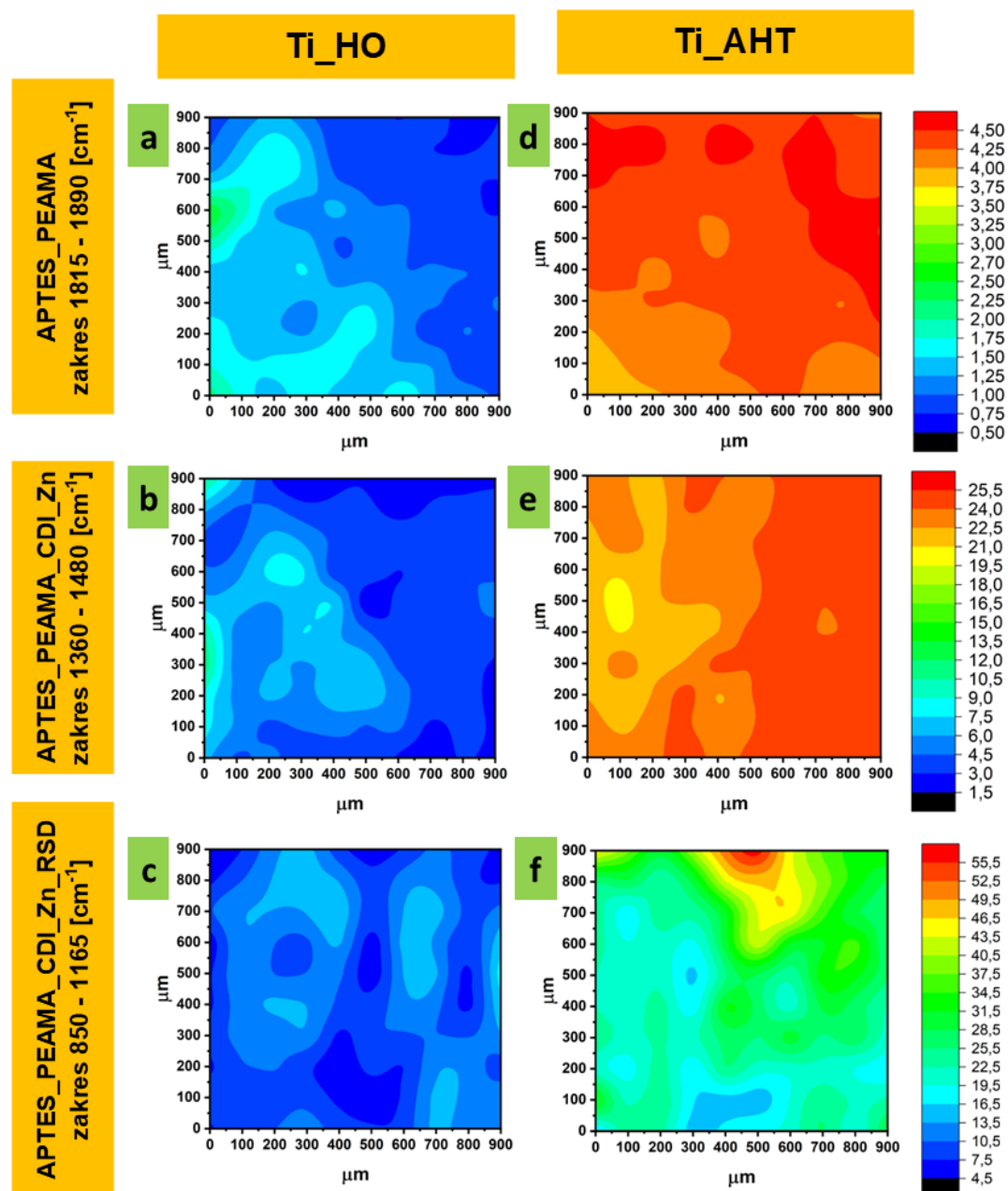
5.3.4 Analiza FTIR

Pomiary mapowania powierzchni przeprowadzono dla 6 modyfikacji - po trawieniu w H_2O_2 i AHT, procesie silanizacji, tworzeniu warstwy PEAMA, koordynacji jonów na powierzchni za pomocą CDI oraz po dodaniu leku. Na rysunku 5.13 zestawiono widma dla każdej badanej próbki i zaznaczono obszar, na podstawie którego obliczono pole powierzchni pod wykresem i utworzono mapy. Wybrano pasma charakterystyczne dla danego związku, których obecność nie pokrywa się z innymi: dla PEAMA analizowany zakres wynosił 1815 cm^{-1} - 1890 cm^{-1} ; po adsorpcji Zn na powierzchni 1360 cm^{-1} - 1480 cm^{-1} ; po dołączeniu RSD 850 cm^{-1} - 1165 cm^{-1} . Rysunek 5.14 przedstawia mapy powierzchni dla (a) Ti_HO_APTES_PEAMA ; (b) $\text{Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn}$; (c) $\text{Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD}$; (d) $\text{Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn}$; (e) $\text{Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn}$; (f) $\text{Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD}$. Dla każdej modyfikacji przedstawiono legendę dla wartości pola pod wykresem do linii bazowej. Wyraźnie widać, że próbki poddane procesowi AHT w pierwszym etapie charakteryzują się wyższą wartością pola, a tym samym intensywnością pasm. Można przypuszczać, że w końcowym etapie, po dodaniu leku RSD, jest go znacznie więcej niż w przypadku powierzchni wytrawionej w H_2O_2 . Analizując wyniki uzyskane dla mapowania powierzchni można zauważyć, że próbki nie są równomiernie pokryte, jednak rozrzut pomiędzy najniższymi i najwyższymi wartościami wynosi od kilku

(dla APTES-PEAMA rys.5.14 (a) i (d)) do kilkunastu (APTES-PEAMA-CDI-Zn rys.8 (b) i (e)) jednostek kwadratowych. Największą rozbieżność można zaobserwować dla płytki Ti-AHT-APTES-PEAMA-CDI-Zn-RSD (rys.5.14(f)) - różnica ta wynosi ponad kilkadziesiąt jednostek kwadratowych, ale i tak zmierzona powierzchnia wykazuje większą intensywność niż po procesie H_2O_2 (rys.5.14(c)).



RYSUNEK 5.13: Widma FT-IR dla próbek: Ti_HO_APTES_PEAMA; Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn; Ti_AHT_APTES_PEAMA; Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn; Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD; Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD.

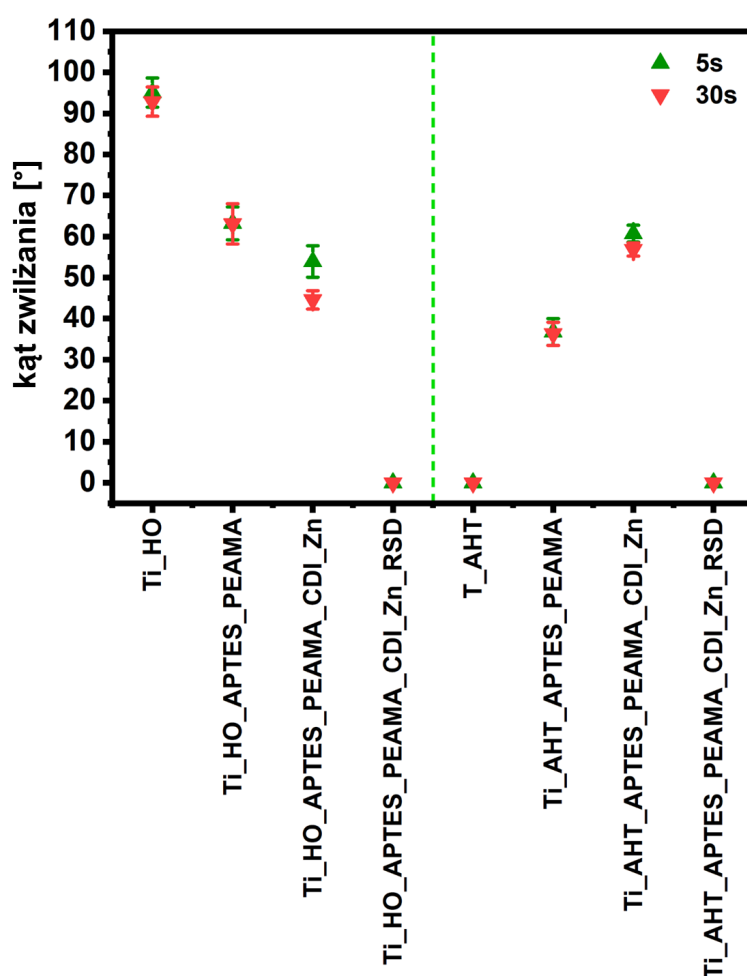


RYSUNEK 5.14: Mapy powierzchni FT-IR dla próbek: (a) Ti_HO_APTES_PEAMA; (b) Ti_HO_APTES_PEAMA_CDILZn; (c) Ti_HO_APTES_PEAMA_CDILZn_RSD; (d) Ti_AHT_APTES_PEAMA; (e) Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDILZn; (f) Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDILZn_RSD.

5.3.5 Analiza pomiaru zwilżalności powierzchni

Zestawiając wyniki pomiarów zwilżalności powierzchni (rys 5.15), pierwszą znaczącą różnicę można zaobserwować po utworzeniu grup -OH; płytki po zanurzeniu w roztworze H_2O_2 charakteryzują się hydrofobowością, podczas gdy stop tytanu po AHT nabiera w pełni hydrofilowych właściwości. Dla każdej ko-

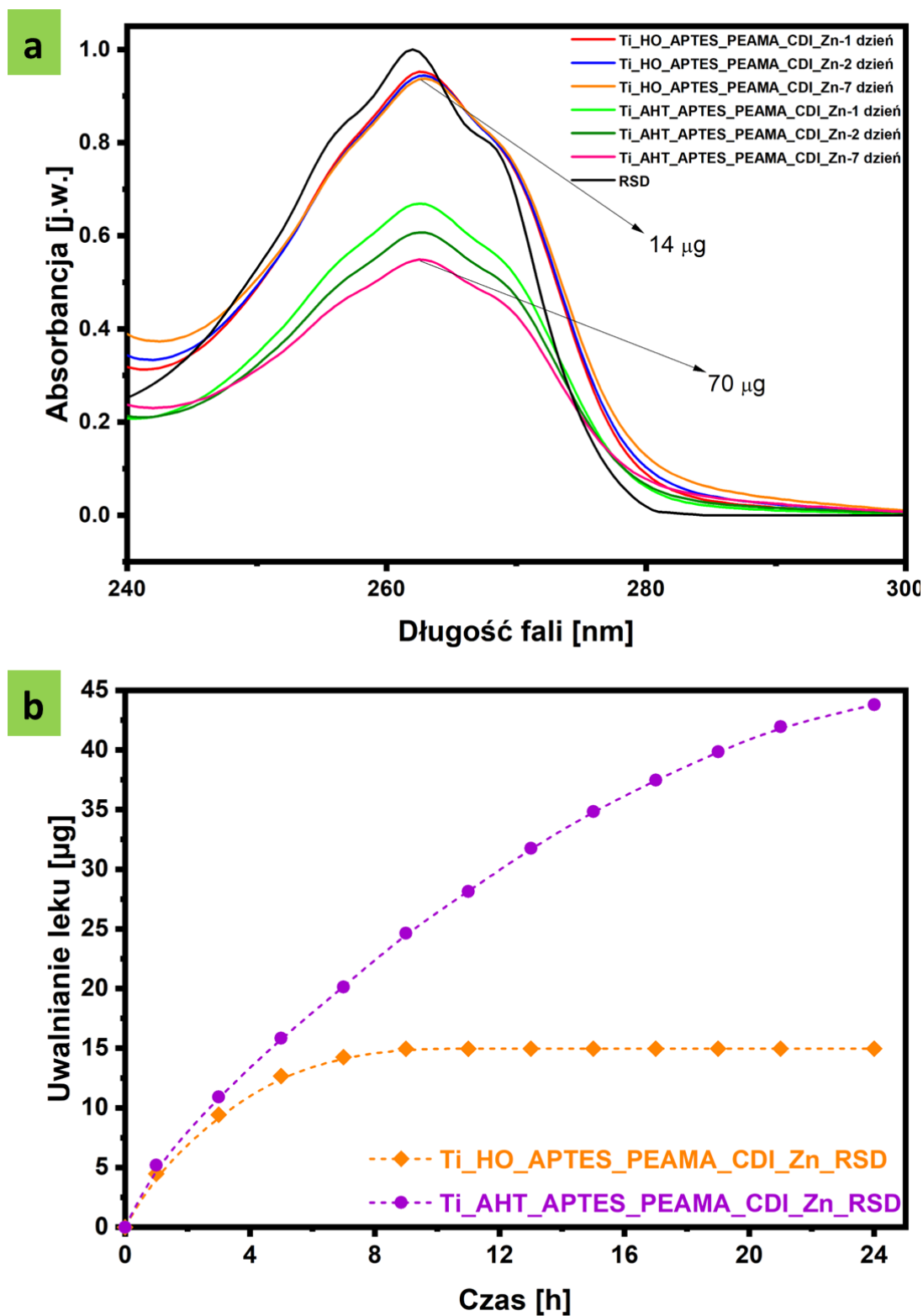
lejnjej modyfikacji obserwuje się zmiany wartości kątów, ale są one przeciwne - dla Ti_HO każda kolejna modyfikacja zmniejsza kąt zwilżania, podczas gdy dla tych samych modyfikacji przy AHT obserwowano odwrotne wyniki (zwiększenie hydrofobowości). Zaobserwowano również, że dopiero po etapie sorpcji leku - RSD, powierzchnia ma ten sam charakter - hydrofilowy, dla obu grup. Wyniki kąta zwilżania dla Ti_AHT są podobne do tych uzyskanych podczas ogrzewania w temperaturze 600°C [166]. Natomiast płytka Ti_HO wyróżnia się wyraźnie wyższą hydrofobowością niż miało to miejsce w przypadku płytki bez utleniania. Ze względu na różne sposoby przygotowania powierzchni do badań i prowadzenia procesu utleniania H_2O_2 (różne stężenia, z temperaturą lub bez) trudno odnieść się do wyników dostępnych w literaturze, ale jedno jest pewne - najczęściej tak przygotowana płytka charakteryzuje się kątem zwilżania powyżej 20°C [180, 181].



RYSUNEK 5.15: Zestawienie wyników pomiarów zwilżalności powierzchni po 5 s i 30 s od nałożenia kropli na powierzchnię próbki [166]

5.3.6 Analiza UV-VIS

Pomiary sorpcji RSD dla modyfikacji stopu tytanu H_2O_2 i AHT przeprowadzono po 1, 2 i 7 dniach trwania sorpcji. Do analizy przygotowano roztwór RSD o stężeniu 0,05 mg/ml. Wyniki przedstawiono na rysunku 5.16. Zmodyfikowana próbka AHT wchłonęła znacznie więcej leku - 5 razy więcej ($70 \mu g$) niż modyfikacja powierzchni przez H_2O_2 ($14 \mu g$). Ponadto w przypadku AHT zaobserwowano stopniowe uwalnianie leku z powierzchni po 24 godzinach, prawie 60% ($43,7 \mu g$) zostało uwolnione, podczas gdy w przypadku H_2O_2 cały lek został uwolniony z powierzchni po 9 godzinach. Jest to bardzo istotna informacja, ponieważ pozwala przypuszczać, że tak zmodyfikowana powierzchnia endoprotezy mogłaby uwalniać lek do organizmu pacjenta stopniowo - kilkadziesiąt godzin po operacji. Dodatkowo, na podstawie wyników UV-VIS można przypuszczać, że metoda przygotowania powierzchni - AHT, pomimo tego że jest bardziej zasobo- i czasochłonna, ma pozytywny wpływ na efekt końcowy niż częściej stosowana metoda trawienia powierzchni poprzez zanurzenie w roztworze H_2O_2 .



RYSUNEK 5.16: Analiza UV-VIS dla: (a)- sorpcja RSD po 1, 2 oraz 7 dniach; (b)- desorpcji w trakcie 24h

5.3.7 Analiza struktury powierzchni

Analizę topograficzną⁹ przeprowadzono dla próbek z początkową modyfikacją oraz dla próbek z ostatniego etapu modyfikacji z wykorzystaniem aparatury pomiarowej Hommel T8000 i głowicą TKU 300/600. Dane dla wybranych parametrów, tj. R_t - całkowita wysokość profilu chropowatości [μm], R_q - odchylenie średniokwadratowe profilu chropowatości i S_a - średnia arytmetyczna chropowatości powierzchni przedstawiono w tabeli 5.2, natomiast mapy topograficzne z krzywymi Abbotta przedstawiono na rysunku 5.17. Zamiast powszechnie stosowanego parametru R_a zdecydowano się przedstawić parametr R_t , ponieważ jest on bardziej wrażliwy na poszczególne wierzchołki i zagłębienia.

W przeprowadzonej analizie powierzchni parametr R_a dawałby słabe informacje o zmierzonym profilu, a jego interpretacja do praktycznego zastosowania byłaby trudna i nie dawałaby informacji o kształcie profilu. Parametr ten jest również niewrażliwy na to, czy profil posiada wierzchołki czy wgłębienia (poda wartość bezwzględną), co jest szczególnie istotne przy określaniu możliwości tworzenia się filmu polimerowego na powierzchni poddanej modyfikacji. Prezentacja parametru R_t bardziej poprawnie przedstawia charakterystykę funkcjonalną powierzchni. Parametr R_q jest statystycznie równy odchyleniu standardowemu rzędnych profilu $Z(x)$, a pojedyncze wysokie wzniesienia i obniżenia profilu wpływają na jego wartość bardziej niż wartość R_a , która w przeprowadzonej analizie tekstury powierzchni jest bardziej poprawna i wierniej oddaje charakter nierówności profilu. Ostatnim parametrem przedstawionym liczbowo jest średnie arytmetyczne wzniesienie powierzchni S_a , czyli średnie arytmetyczne odchylenie powierzchni od powierzchni średniej, będące średnią arytmetyczną wartości bezwzględnych odchyłeń wzniesienia powierzchni od powierzchni średniej. Parametr ten, w odniesieniu do analizy przestrzennej powierzchni jako perytetu, dobrze opisuje jej ogólny charakter odpowiadający krzywej Abbotta.

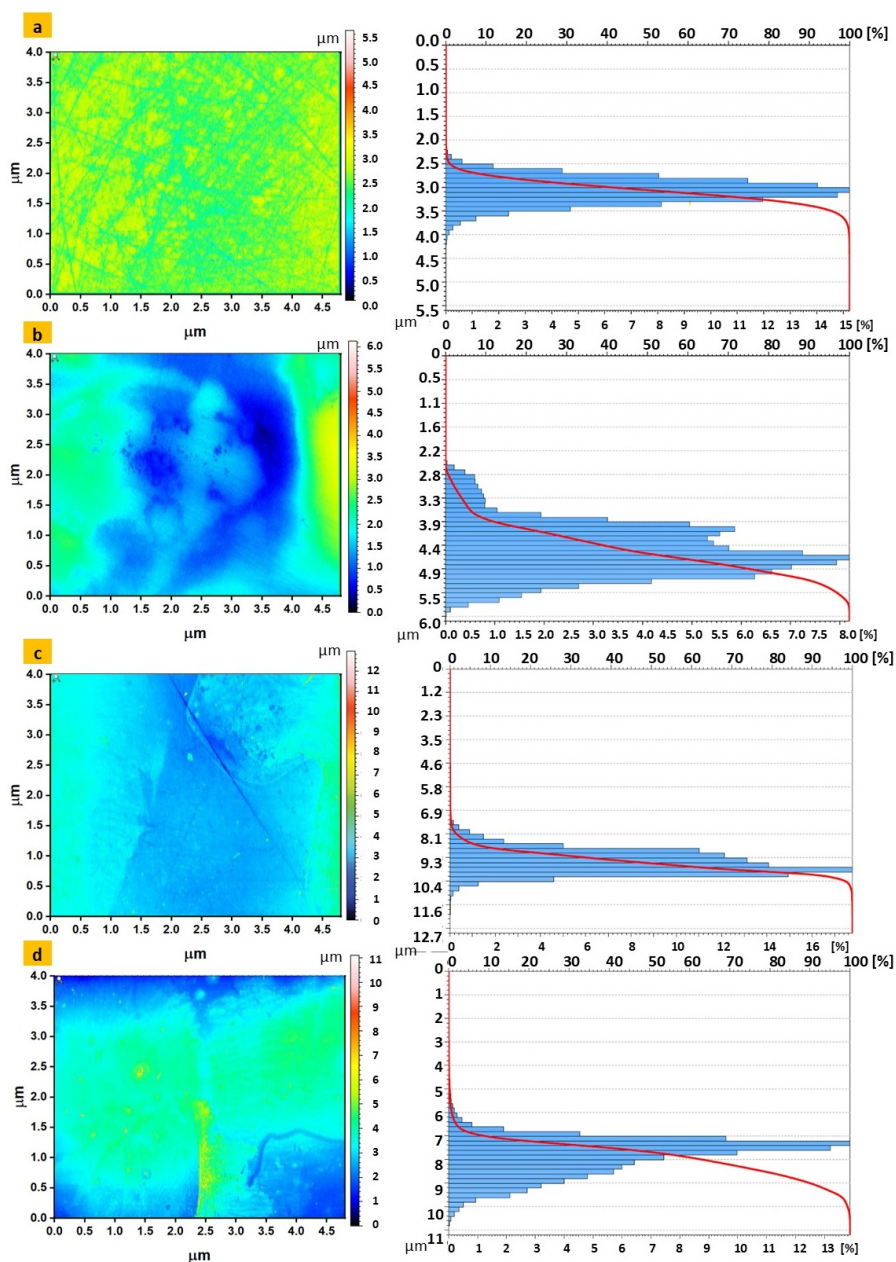
Analizując uzyskane dane można zauważyć, że w obu przypadkach trawienia powierzchnia jest stosunkowo równomiernie zmodyfikowana (prawidłowy przebieg krzywych), jednak na podstawie wartości chropowatości można zauważyć, że to próbka po modyfikacji AHT ma większą chropowatość powierzchni (co jest najlepiej widoczne na zdjęciach SEM). Kolejną obserwacją jest zmiana profilu chropowatości po ostatniej modyfikacji, gdzie w przypadku próbki po trawieniu w H_2O_2 jej profil chropowatości jest spłaszczony, ponieważ substancje aktywne wnikały w duże pory powierzchni. Znajduje to również odzwierciedlenie w krzy-

⁹wykonano przy wsparciu dr inż. Karola Grochalskiego, Wydział Inżynierii Mechanicznej, Instytut Technologii Mechanicznej, Politechnika Poznańska

wej Abbotta (rys. 5.17). Odwrotną sytuację zaobserwowano dla modyfikacji AHT, gdzie zaobserwowano wzrost parametrów chropowatości amplitudowej.

TABELA 5.2: Zestawienie wybranych parametrów topograficznych - R_t , R_q oraz S_a dla próbek po pierwszym i końcowym etapie modyfikacji

Parametr	R_t		R_q		S_a
Próbka	średnia [μm]	odchyl.std [μm]	średnia [μm]	odchyl.std [μm]	[μm]
Ti_HO	1.798	0.479	0.207	0.013	0.204
Ti_HO_APTES_PEAMA_CDILZn_RSD	0.942	0.270	0.103	0.018	0.475
Ti_AHT	2.836	1.200	0.201	0.044	0.453
Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDILZn_RSD	3.152	1.383	0.230	0.075	0.639



RYSUNEK 5.17: Wyniki pomiarów dla topografii powierzchni (2D) oraz uzyskane krzywe Abbotta dla próbek: (a) Ti_HO; (b) Ti_HO_APTES_PEAMA_CDILZn_RSD; (c) Ti_AHT; (d) Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDILZn_RSD.

5.4 Podsumowanie badań

Celem badania było uzyskanie warstwy zdolnej do sorpcji i późniejszej desorpcji leku ryzedronianu. Badanie przeprowadzono na dwóch wstępnych modyfikacjach - płytkach ze stopu tytanu wytrawionych w H_2O_2 (HO) oraz drugiej grupie poddanej alkalicznej obróbce cieplnej (AHT). Pomiar widm i map Ramana wykazały znaczącą różnicę w intensywności tlenków tytanu na korzyść AHT, a tym samym można stwierdzić, że jest ich znacznie więcej niż po zanurzeniu w H_2O_2 . Kolejnym etapem modyfikacji był proces silanizacji przy użyciu APTES, a następnie dodanie polimeru PEAMA. Na podstawie danych ramanowskich można stwierdzić, że w obu modyfikacjach polimer został przyłączony do powierzchni, jednak wyniki FT-IR wyraźnie pokazują, że pasmo charakterystyczne polimeru dla próbki Ti_AHT_APTES_PEAMA jest bardziej intensywne - polimeru jest znacznie więcej niż w przypadku Ti_HO_APTES_PEAMA. Ponadto zmiany w strukturze powierzchni zostały potwierdzone przez obrazy SEM. W przypadku Ti_AHT jest ona bardziej porowata, co może dodatkowo sprzyjać osadzaniu warstwy (większa powierzchnia kontaktu).

Jak widać na rysunku 5.17, modyfikacja powierzchni poprzez nałożenie powłok znacząco wpływa na charakter krzywej udziału materiałowego oraz rozkład poszczególnych wartości amplitud nierówności powierzchni. Wyniki te odzwierciedlają wcześniejsze etapy analizy powierzchni zmodyfikowanych próbek - zwiększona chropowatość powierzchni płytek AHT (w porównaniu do HO) miała pozytywny wpływ na tworzenie się warstwy polimerowej i ostatecznie sorpcję leku. Należy jednak pamiętać, że zalecana wartość Sa dla powinna mieścić się w zakresie 1-1,5 μm [182], dlatego w przyszłości konieczne będzie rozszerzenie badań o sprawdzenie innych parametrów AHT w celu uzyskania lepszych wyników.

Patrząc na zebrane wyniki, można dodatkowo założyć, że warstwy uzyskane na płytkach Ti_HO są niejednorodne (obrazy SEM i wyniki kąta zwilżania). Badania uwalniania leku z zastosowaniem spektroskopii UV-VIS również potwierdziły obecność leku na powierzchni dla obu grup płytek, ale w przypadku modyfikacji AHT osadziło się go znacznie więcej. Można również wysnuć ostateczny wniosek, że uzyskana warstwa dobrze sprawdza się jako warstwa do akumulacji leku (występująca zarówno dla grupy HO, jak i AHT), dlatego będą prowadzone dalsze badania nad wykorzystaniem tego polimeru (planowane jest stworzenie nowych modyfikacji z substancjami aktywnymi).

Warto pamiętać, że jest to początek analiz wykorzystujących ten polimer do zastosowań związanych z powierzchniowym uwalnianiem leków. Obecnie trwają badania nad dalszymi modyfikacjami - domieszkowaniem lekami przeciwbakteryj-

nymi i przeciwbólowymi. Pozwoli to na sprawdzenie kolejnych możliwych zastosowań PEAMA. Planowane jest również uzupełnienie badań o testy antybakteryjne i badania na komórkach, aby mieć jak największą pewność co do bezpieczeństwa stosowania tego materiału w organizmach żywych. Badania przeprowadzono na niewielkich płytkach o wymiarach $10\text{ mm} \times 10\text{ mm} \times 1\text{ mm}$. Użyte próbki miały płaską powierzchnię, bez żadnych krzywizn. W związku z tym planowane są dalsze badania na większą skalę. Ich celem będzie sprawdzenie, czy obecna metodologia sprawdzi się również dla powierzchni o innych kształtach, szczególnie przy zastosowaniu metody AHT.

Podsumowanie

Pierwsza część badań skupiła się na modyfikacji powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V ELI przy użyciu związku ODPa w celu poprawy wiązania hydroksyapatytu (HA) z powierzchnią materiału, co ma zastosowanie w endoprotezach. Analizy wykonane przy użyciu SEM, EDS, mikroskopii konfokalnej, spektroskopii Ramana i pomiarów kąta zwilżania potwierdziły skuteczność zastosowanych metod modyfikacji. Stwierdzono, że warstwa ODPa nie zwiększa ilości HA na powierzchniach nieogrzewanych, jednak na powierzchniach z warstwą ODPa zanurzoną w SBF odnotowano większe ilości HA niż na próbkach bez tej warstwy. Długotrwała obecność HA na modyfikowanej powierzchni może znaleźć zastosowanie w kontrolowanym uwalnianiu leków, co wymaga dalszych badań.

Druga część badań miała na celu uzyskanie warstwy umożliwiającej sorpcję i desorpcję leku ryzedronianu. Modyfikacje przeprowadzono na próbkach poddanych obróbce H_2O_2 oraz alkalicznej obróbce cieplnej (AHT), po czym nałożono warstwę polimerową PEAMA. Analizy Ramanowskie, SEM oraz FT-IR wykazały, że próbki AHT charakteryzują się większą zawartością polimeru i bardziej porowatą powierzchnią, co sprzyja osadzaniu i retencji leku. Wyniki UV-VIS potwierdziły obecność leku na obu typach powierzchni, przy czym modyfikacja AHT wykazała wyższą skuteczność. Co najważniejsze, udało się uzyskać przy pomocy polimeru, który w wielu wcześniejszych pracach występował jako związek pośredniczący w polimeryzacji, związek tworzący samodzielne nanocząstki czy hydrożele [183, 184, 185, 186], bez trwałego osadzenia na powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V ELI. Planowane są dalsze badania nad rozszerzeniem metodologii na inne parametry AHT oraz nowe substancje aktywne.

Dalsze badania mają się koncentrować na opracowaniu nowych modyfikacji stopu tytanu Ti-6Al-4V ELI z użyciem polimerów, takich jak chitozan, w celu uzyskania powierzchni zdolnej do kontrolowanego uwalniania leków. Wykonano wstępne badania z wykorzystaniem procesów silanizacji i plazmy zimnej, które mają na celu skrócenie czasu przygotowania modyfikacji. Głównymi założeniami są zwiększenie stabilności warstw, ocena ich właściwości antybakteryjnych oraz

dostosowanie metod do większych powierzchni i bardziej złożonych kształtów. Obecnie prowadzone są również testy wzrostu bakterii na zmodyfikowanych powierzchniach oraz eksperymenty nad nowymi procesami modyfikacji z dodatkiem leków przeciwbakteryjnych i przeciwbólowych.

Literatura

- [1] Merriam-Webster. “endoprosthesis” medical dictionary. Accessed 3 Apr. 2021.
- [2] Mikhail Isaakovich Shtilman. Polymeric biomaterials, volume 15. VSP, 2003.
- [3] Xuanyong Liu, Paul K Chu, and Chuanxian Ding. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. Materials Science and Engineering: R: Reports, 47(3-4):49–121, 2004.
- [4] Sandeep Devgan and Sarabjeet Singh Sidhu. Evolution of surface modification trends in bone related biomaterials: A review. Materials Chemistry and Physics, 233:68–78, 2019.
- [5] Manmeet Kaur and K Singh. Review on titanium and titanium based alloys as biomaterials for orthopaedic applications. Materials Science and Engineering: C, 102:844–862, 2019.
- [6] M Niinomi and M Nakai. Titanium-based biomaterials for preventing stress shielding between implant devices and bone. International journal of biomaterials, 2011, 2011.
- [7] Katarzyna Suchanek, Mariusz Hajdyla, Alexey Maximenko, Arkadiusz Zarzycki, Marta Marszałek, Benedykt R Jany, and Franciszek Krok. The influence of nanoporous anodic titanium oxide substrates on the growth of the crystalline hydroxyapatite coatings. Materials Chemistry and Physics, 186:167–178, 2017.
- [8] Health at a Glance 2019. OECD, 2019.
- [9] Richard N de Steiger and Stephen E Graves. Orthopaedic registries: the australian experience. EFORT Open Reviews, 4(6):409–415, 2019.
- [10] Brett R Levine, Bryan D Springer, and Gregory J Golladay. Highlights of the 2019 american joint replacement registry annual report. Arthroplasty today, 6(4):998–1000, 2020.
- [11] Thomas K Fehring, Susan Odum, William L Griffin, J Bohannon Mason, and Matthew Nadaud. Early failures in total knee arthroplasty. Clinical Orthopaedics and Related Research®, 392:315–318, 2001.

- [12] Buddy D Ratner. Biomaterials science: an introduction to materials in medicine. Academic press, 2004.
- [13] Mitsuo Niinomi and Masaaki Nakai. Titanium-based biomaterials for preventing stress shielding between implant devices and bone. International journal of biomaterials, 2011(1):836587, 2011.
- [14] Xiaotian Liu, Shuyang Chen, James KH Tsoi, and Jukka Pekka Matinlinna. Binary titanium alloys as dental implant materials—a review. Regenerative biomaterials, 4(5):315–323, 2017.
- [15] Joyce Y Wong, Joseph D Bronzino, and Donald R Peterson. Biomaterials: principles and practices. CRC Press, 2012.
- [16] Steven M Kurtz. UHMWPE biomaterials handbook: ultra high molecular weight polyethylene in total joint replacement and medical devices. Academic press, 2009.
- [17] L Hench and J Jones. Biomaterials, artificial organs and tissue engineering. Elsevier, 2005.
- [18] Steven M Kurtz and John N Devine. Peek biomaterials in trauma, orthopedic, and spinal implants. Biomaterials, 28(32):4845–4869, 2007.
- [19] Jerome Chevalier and Laurent Gremillard. Ceramics for medical applications: A picture for the next 20 years. Journal of the European Ceramic Society, 29(7):1245–1255, 2009.
- [20] Isabelle Denry and J Robert Kelly. State of the art of zirconia for dental applications. Dental materials, 24(3):299–307, 2008.
- [21] Sergey V Dorozhkin. Bioceramics of calcium orthophosphates. Biomaterials, 31(7):1465–1485, 2010.
- [22] Samad Ahadian, Rahaf Rahal, Javier Ramón-Azcón, Raquel Obregón, and Anwarul Hasan. Biomaterials in tissue engineering. Tissue engineering for artificial organs: regenerative medicine, smart diagnostics and personalized medicine, 1:35–83, 2017.
- [23] Adrian JT Teo, Abhinay Mishra, Inkyu Park, Young-Jin Kim, Woo-Tae Park, and Yong-Jin Yoon. Polymeric biomaterials for medical implants and devices. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2(4):454–472, 2016.
- [24] Kamila Chughtai and Ron MA Heeren. Mass spectrometric imaging for biomedical tissue analysis. Chemical reviews, 110(5):3237–3277, 2010.

- [25] Masoud Sarraf, Erfan Rezvani Ghomi, Saeid Alipour, Seeram Ramakrishna, and Nazatul Liana Sukiman. A state-of-the-art review of the fabrication and characteristics of titanium and its alloys for biomedical applications. Bio-design and Manufacturing, pages 1–25, 2021.
- [26] Claudia Fleck and Dietmar Eifler. Corrosion, fatigue and corrosion fatigue behaviour of metal implant materials, especially titanium alloys. International journal of fatigue, 32(6):929–935, 2010.
- [27] Bogdan Huzum, Bogdan Puha, Riana Maria Necoara, Stefan Gheorghevi, Gabriela Puha, Alexandru Filip, Paul Dan Sirbu, and Ovidiu Alexa. Biocompatibility assessment of biomaterials used in orthopedic devices: An overview. Experimental and Therapeutic Medicine, 22(5):1–9, 2021.
- [28] Min A Bag and Loreto M Valenzuela. Impact of the hydration states of polymers on their hemocompatibility for medical applications: a review. International journal of molecular sciences, 18(8):1422, 2017.
- [29] Suna Büyüköztürk, Ash Gelincik, Derya Ünal, Mustafa Demirtürk, Dolay Damla Çelik, Sacide Erden, Bahattin Çolakoglu, and Serap Erdem Kuruca. Oral nickel exposure may induce type i hypersensitivity reaction in nickel-sensitized subjects. International Immunopharmacology, 26(1):92–96, 2015.
- [30] C Yao, J Lu, and TJ Webster. Titanium and cobalt–chromium alloys for hips and knees. In Biomaterials for artificial organs, pages 34–55. Elsevier, 2011.
- [31] Susmita Bose, Dongxu Ke, Himanshu Sahasrabudhe, and Amit Bandyopadhyay. Additive manufacturing of biomaterials. Progress in materials science, 93:45–111, 2018.
- [32] Yang Xue, Jun Chen, Tiexin Ding, Mengting Mao, Shengbo Zhu, Jianhong Zhou, Lan Zhang, and Yong Han. Building biointegration of fe₂o₃–fe₃o₄ coated titanium implant by regulating nir irradiation in an infected model. Bioactive Materials, 8:1–11, 2022.
- [33] Tadashi Taga, Tamon Kabata, Yoshitomo Kajino, Daisuke Inoue, Takaaki Ohmori, Takashi Yamamoto, Tomoharu Takagi, and Hiroyuki Tsuchiya. Comparison with the osteoconductivity and bone-bonding ability of the iodine supported titanium, titanium with porous oxide layer and the titanium alloy in the rabbit model. Journal of Orthopaedic Science, 23(3):585–591, 2018.
- [34] James M Anderson, Analiz Rodriguez, and David T Chang. Foreign body reaction to biomaterials. In Seminars in immunology, volume 20, pages 86–100. Elsevier, 2008.

- [35] Ferdiansyah Mahyudin, Lukas Widhiyanto, and Hendra Hermawan. Biomaterials in orthopaedics. Biomaterials and Medical Devices: A Perspective from an Emerging Country, pages 161–181, 2016.
- [36] Xuanyong Liu, Paul K Chu, and Chuanxian Ding. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. Materials Science and Engineering: R: Reports, 47(3-4):49–121, 2004.
- [37] Calvin C Willhite, Nataliya A Karyakina, Robert A Yokel, Nagarajkumar Yenugadhati, Thomas M Wisniewski, Ian MF Arnold, Franco Momoli, and Daniel Krewski. Systematic review of potential health risks posed by pharmaceutical, occupational and consumer exposures to metallic and nanoscale aluminum, aluminum oxides, aluminum hydroxide and its soluble salts. Critical reviews in toxicology, 44(sup4):1–80, 2014.
- [38] Xiao Lin, Shaofeng Yang, Kalyn Lai, Huilin Yang, Thomas J Webster, and Lei Yang. Orthopedic implant biomaterials with both osteogenic and anti-infection capacities and associated in vivo evaluation methods. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 13(1):123–142, 2017.
- [39] Carlos Nelson Elias, Daniel Jogaib Fernandes, Francielly Moura de Souza, Emília dos Santos Monteiro, and Ronaldo Sérgio de Biasi. Mechanical and clinical properties of titanium and titanium-based alloys (ti g2, ti g4 cold worked nanostructured and ti g5) for biomedical applications. Journal of Materials Research and Technology, 8(1):1060–1069, 2019.
- [40] Gunasekaran Kumar and Badri Narayan. Osseointegrated titanium implants: Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. In Classic papers in orthopaedics, pages 507–509. Springer, 2013.
- [41] Soumya Nag and Rajarshi Banerjee. Fundamentals of medical implant materials. In Materials for medical devices, pages 6–17. ASM International, 2012.
- [42] John W. Nicholson. Titanium alloys for dental implants: A review. Prosthesis, 2(2):11, 2020.
- [43] Saravana Kumar Jaganathan, Eko Supriyanto, Selvakumar Murugesan, Arunpandian Balaji, and Manjeesh Kumar Asokan. Biomaterials in cardiovascular research: applications and clinical implications. BioMed research international, 2014(1):459465, 2014.
- [44] Frances M Weaver, Kenneth A Follett, Matthew Stern, Ping Luo, Crystal L Harris, Kwan Hur, William J Marks Jr, Johannes Rothlind, Oren Sagher, Claudia Moy, et al. Randomized trial of deep brain stimulation for parkinson disease: thirty-six-month outcomes. Neurology, 79(1):55–65, 2012.

- [45] John Charnley. Arthroplasty of the hip: a new operation. The Lancet, 277(7187):1129–1132, 1961.
- [46] Stein Emil Vollset, Emily Goren, Chun-Wei Yuan, Jackie Cao, Amanda E Smith, Thomas Hsiao, Catherine Bisignano, Gulrez S Azhar, Emma Castro, Julian Chalek, et al. Fertility, mortality, migration, and population scenarios for 195 countries and territories from 2017 to 2100: a forecasting analysis for the global burden of disease study. The Lancet, 396(10258):1285–1306, 2020.
- [47] Nadim J Hallab and Joshua J Jacobs. Biologic effects of implant debris. Bulletin of the NYU hospital for joint diseases, 67(2), 2009.
- [48] Ian D Learmonth, Claire Young, and Cecil Rorabeck. The operation of the century: total hip replacement. The Lancet, 370(9597):1508–1519, 2007.
- [49] Robert B Bourne, Bert M Chesworth, Aileen M Davis, Nizar N Mahomed, and Kory DJ Charron. Patient satisfaction after total knee arthroplasty: who is satisfied and who is not? Clinical Orthopaedics and Related Research®, 468(1):57–63, 2010.
- [50] Kevin J Bozic, Steven M Kurtz, Edmund Lau, Kevin Ong, Vanessa Chiu, Thomas P Vail, Harry E Rubash, and Daniel J Berry. The epidemiology of revision total knee arthroplasty in the united states. Clinical Orthopaedics and Related Research®, 468(1):45–51, 2010.
- [51] Edward Yelin, Stuart Weinstein, and Toby King. Seminars in arthritis and rheumatism: The burden of musculoskeletal diseases in the united states. 46(3):259–260, 2016.
- [52] Matthew Sloan, Ajay Premkumar, and Neil P Sheth. Projected volume of primary total joint arthroplasty in the us, 2014 to 2030. JBJS, 100(17):1455–1460, 2018.
- [53] Otto Robertsson, Svetlana Bizjajeva, Anne Marie Fenstad, Ove Furnes, Lars Lidgren, Frank Mehnert, Anders Odgaard, Alma Becic Pedersen, and Leif Ivar Havelin. Knee arthroplasty in denmark, norway and sweden: a pilot study from the nordic arthroplasty register association. Acta orthopaedica, 81(1):82–89, 2010.
- [54] SL Haddad, JC Coetzee, R Estok, K Fahrbach, D Banel, and L Nalysnyk. Intermediate and long-term outcomes of total ankle arthroplasty and ankle arthrodesis: a systematic review of the literature. JBJS, 89(9):1899–1905, 2007.
- [55] Mark Glazebrook, Tim Daniels, Alastair Younger, CJ Foote, Murray Penner, Kevin Wing, Johnny Lau, Ross Leighton, and Michael Dunbar. Comparison of

- health-related quality of life between patients with end-stage ankle and hip arthrosis. JBJS, 90(3):499–505, 2008.
- [56] Chul-Hyun Cho, Du-Han Kim, and Kwang-Soon Song. Reverse shoulder arthroplasty in patients with rheumatoid arthritis: a systematic review. Clinics in Orthopedic Surgery, 9(3):325, 2017.
 - [57] Kamal I Bohsali, Michael A Wirth, and Charles A Rockwood Jr. Complications of total shoulder arthroplasty. JBJS, 88(10):2279–2292, 2006.
 - [58] Chantal L Welsink, Kaj TA Lambers, Derek FP Van Deurzen, Denise Eygendaal, and Michel PJ Van Den Bekerom. Total elbow arthroplasty: a systematic review. JBJS reviews, 5(7):e4, 2017.
 - [59] Ilya Voloshin, David W Schippert, Sanjeev Kakar, Elizabeth Krall Kaye, and Bernard F Morrey. Complications of total elbow replacement: a systematic review. Journal of shoulder and elbow surgery, 20(1):158–168, 2011.
 - [60] D Yeoh and L Turret. Total wrist arthroplasty: a systematic review of the evidence from the last 5 years. Journal of Hand Surgery (European Volume), 40(5):458–468, 2015.
 - [61] Per Fischer, Marcus Sagerfors, Ole Brus, and Kurt Pettersson. Revision arthroplasty of the wrist in patients with rheumatoid arthritis, mean follow-up 6.6 years. The Journal of Hand Surgery, 43(5):489–e1, 2018.
 - [62] Dipankar Banerjee and JC Williams. Perspectives on titanium science and technology. Acta Materialia, 61(3):844–879, 2013.
 - [63] Manivasagam Geetha, Ashok K Singh, Rajamanickam Asokamani, and Ashok K Gogia. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants—a review. Progress in materials science, 54(3):397–425, 2009.
 - [64] Mitsuo Niinomi. Biologically and mechanically biocompatible titanium alloys. Materials transactions, 49(10):2170–2178, 2008.
 - [65] CN Elias, JHC Lima, R Valiev, and MA Meyers. Biomedical applications of titanium and its alloys. Jom, 60:46–49, 2008.
 - [66] Yifei Zhang, Limin Feng, Tao Zhang, Haoyuan Xu, and Jianzhong Li. Heat treatment of additively manufactured ti-6al-4v alloy: microstructure and electrochemical properties. Journal of Alloys and Compounds, 888:161602, 2021.
 - [67] AN Aufa, Mohamad Zaki Hassan, and Zarini Ismail. Recent advances in ti-6al-4v additively manufactured by selective laser melting for biomedical implants: Prospect development. Journal of Alloys and Compounds, 896:163072, 2022.

- [68] Lai-Chang Zhang and Liang-Yu Chen. A review on biomedical titanium alloys: recent progress and prospect. Advanced engineering materials, 21(4):1801215, 2019.
- [69] Mitsuo Niinomi, Masaaki Nakai, and Junko Hieda. Development of new metallic alloys for biomedical applications. Acta biomaterialia, 8(11):3888–3903, 2012.
- [70] Pei Wang, Feng-hua Chen, J Eckert, S Pilz, S Scudino, and KG Prashanth. Microstructural evolution and mechanical properties of selective laser melted ti-6al-4v induced by annealing treatment. Journal of Central South University, 28(4):1068–1077, 2021.
- [71] Shixing Huang, Qinyang Zhao, Cong Wu, Cheng Lin, Yongqing Zhao, Weiju Jia, and Chengliang Mao. Effects of β -stabilizer elements on microstructure formation and mechanical properties of titanium alloys. Journal of Alloys and Compounds, 876:160085, 2021.
- [72] Manivasagam Geetha, Ashok K Singh, Rajamanickam Asokamani, and Ashok K Gogia. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants—a review. Progress in materials science, 54(3):397–425, 2009.
- [73] Stephen C Bondy. Low levels of aluminum can lead to behavioral and morphological changes associated with alzheimer’s disease and age-related neurodegeneration. Neurotoxicology, 52:222–229, 2016.
- [74] Karin Weisser, Sabine Stübler, Walter Matheis, and Wilhelm Huisinga. Towards toxicokinetic modelling of aluminium exposure from adjuvants in medicinal products. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 88:310–321, 2017.
- [75] Severina Pacifico, Marialuisa Gallicchio, Antonio Fiorentino, Anna Fischer, Ulrich Meyer, and Florian Conrad Stintzing. Antioxidant properties and cytotoxic effects on human cancer cell lines of aqueous fermented and lipophilic quince (*cydonia oblonga* mill.) preparations. Food and Chemical Toxicology, 50(11):4130–4135, 2012.
- [76] Courtney M Lappas. The immunomodulatory effects of titanium dioxide and silver nanoparticles. Food and chemical toxicology, 85:78–83, 2015.
- [77] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans et al. Cobalt in hard metals and cobalt sulfate, gallium arsenide, indium phosphide and vanadium pentoxide. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 86:1, 2006.
- [78] Ch T Kwok, PK Wong, FT Cheng, and Hau Chung Man. Characterization and corrosion behavior of hydroxyapatite coatings on ti6al4v fabricated by electrophoretic deposition. Applied surface science, 255(13-14):6736–6744, 2009.

- [79] Stefania Cometa, Maria Addolorata Bonifacio, Monica Mattioli-Belmonte, Luigia Sabbatini, and Elvira De Giglio. Electrochemical strategies for titanium implant polymeric coatings: The why and how. Coatings, 9(4):268, 2019.
- [80] Manmeet Kaur and K Singh. Review on titanium and titanium based alloys as biomaterials for orthopaedic applications. Materials Science and Engineering: C, 102:844–862, 2019.
- [81] Abby E Peters, Riaz Akhtar, Eithne J Comerford, and Karl T Bates. The effect of ageing and osteoarthritis on the mechanical properties of cartilage and bone in the human knee joint. Scientific reports, 8(1):5931, 2018.
- [82] Mitsuo Niinomi. Recent metallic materials for biomedical applications. Metallurgical and materials transactions A, 33:477–486, 2002.
- [83] Amir Mahyar Khorasani, Moshe Goldberg, Egan H Doeven, and Guy Littlefair. Titanium in biomedical applications—properties and fabrication: a review. Journal of biomaterials and tissue engineering, 5(8):593–619, 2015.
- [84] Alain Hoornaert, Luciano Vidal, Romain Besnier, Jean-Francois Morlock, Guy Louarn, and Pierre Layrolle. Biocompatibility and osseointegration of nanostructured titanium dental implants in minipigs. Clinical oral implants research, 31(6):526–535, 2020.
- [85] Francis Froes and Ma Qian. Titanium in medical and dental applications. Woodhead Publishing, 2018.
- [86] Yunhui Chen, Jessica Ellen Frith, Ali Dehghan-Manshadi, Hooyar Attar, Damon Kent, Nicolas Dominique Mathieu Soro, Michael J Bermingham, and Matthew S Dargusch. Mechanical properties and biocompatibility of porous titanium scaffolds for bone tissue engineering. Journal of the mechanical behavior of biomedical materials, 75:169–174, 2017.
- [87] Sukhpreet Kaur, Khashayar Ghadirinejad, and Reza H. Oskoue. An overview on the tribological performance of titanium alloys with surface modifications for biomedical applications. Lubricants, 7(8):65, 2019.
- [88] Y Sasikumar, K Indira, and N Rajendran. Surface modification methods for titanium and its alloys and their corrosion behavior in biological environment: a review. Journal of Bio-and Tribo-Corrosion, 5(2):36, 2019.
- [89] Tapash R Rautray, R Narayanan, and Kyo-Han Kim. Ion implantation of titanium based biomaterials. Progress in Materials Science, 56(8):1137–1177, 2011.

- [90] Petr Vlcek, Jaroslav Fojt, Jan Koller, Jan Drahokoupil, and Vojtech Smola. Surface pre-treatments of ti-nb-zr-ta beta titanium alloy: The effect of chemical, electrochemical and ion sputter etching on morphology, residual stress, corrosion stability and the mg-63 cell response. Results in Physics, 28:104613, 2021.
- [91] Agnieszka Krzakała, Katarzyna Służalska, Magdalena Widziołek, Jacek Szade, Antoni Winiarski, Grzegorz Dercz, Alicja Kazek, Grzegorz Tylko, Joanna Michalska, Aleksander Iwaniak, et al. Formation of bioactive coatings on a ti-6al-7nb alloy by plasma electrolytic oxidation. Electrochimica Acta, 104:407–424, 2013.
- [92] Xiangfan Nie, Weifeng He, Shunlai Zang, Xuede Wang, and Jie Zhao. Effect study and application to improve high cycle fatigue resistance of tc11 titanium alloy by laser shock peening with multiple impacts. Surface and Coatings Technology, 253:68–75, 2014.
- [93] Mustafizur Rahman, Zhi-Gang Wang, and Yoke-San Wong. A review on high-speed machining of titanium alloys. JSME International Journal Series C Mechanical Systems, Machine Elements and Manufacturing, 49(1):11–20, 2006.
- [94] Pankaj Kumar Singh, Santosh Kumar, and Pramod Kumar Jain. Effect of cryogenic grinding on surface characteristics of additively manufactured ti-6al-4v alloy. Surface Topography: Metrology and Properties, 11(1):015014, 2023.
- [95] Hong Chen Guo, Enyi Ye, Zibiao Li, Ming-Yong Han, and Xian Jun Loh. Recent progress of atomic layer deposition on polymeric materials. Materials Science and Engineering: C, 70:1182–1191, 2017.
- [96] Mahriah E Alf, Ayse Asatekin, Miles C Barr, Salmaan H Baxamusa, Hitesh Chelawat, Gozde Ozaydin-Ince, Christy D Petruczok, Ramaswamy Sreenivasan, Wyatt E Tenhaeff, Nathan J Trujillo, et al. Chemical vapor deposition of conformal, functional, and responsive polymer films. Advanced Materials, 22(18):1993–2027, 2010.
- [97] Xiaoning Tang and Xiong Yan. Dip-coating for fibrous materials: mechanism, methods and applications. Journal of Sol-Gel Science and Technology, 81:378–404, 2017.
- [98] Andrea Reale, Luca La Notte, Luigi Salamandra, Giuseppina Polino, Gianpaolo Susanna, Thomas M Brown, Francesca Brunetti, and Aldo Di Carlo. Spray coating for polymer solar cells: an up-to-date overview. Energy Technology, 3(4):385–406, 2015.

- [99] TP Chou, C Chandrasekaran, and GZ Cao. Sol-gel-derived hybrid coatings for corrosion protection. Journal of Sol-Gel Science and Technology, 26(1):321–327, 2003.
- [100] Riccardo AA Muzzarelli. Chitosan composites with inorganics, morphogenetic proteins and stem cells, for bone regeneration. Carbohydrate Polymers, 83(4):1433–1445, 2011.
- [101] Julie Glowacki and Shuichi Mizuno. Collagen scaffolds for tissue engineering. Biopolymers: Original Research on Biomolecules, 89(5):338–344, 2008.
- [102] Jason A Burdick and Glenn D Prestwich. Hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications. Advanced materials, 23(12):H41–H56, 2011.
- [103] Faisal Dakhelallah Al-Shalawi, MA Azmah Hanim, MKA Ariffin, Collin Looi Seng Kim, Dermot Brabazon, Recep Calin, and Maha Obaid Al-Osaimi. Biodegradable synthetic polymer in orthopaedic application: A review. Materials Today: Proceedings, 74:540–546, 2023.
- [104] Kenneth S Ogueri, Tahereh Jafari, Jorge L Escobar Ivirico, and Cato T Laurencin. Polymeric biomaterials for scaffold-based bone regenerative engineering. Regenerative engineering and translational medicine, 5:128–154, 2019.
- [105] G Wei and PX Ma. Polymeric biomaterials for tissue engineering. In Tissue engineering using ceramics and polymers, pages 35–66. Elsevier, 2014.
- [106] Maria Ann Woodruff and Dietmar Werner Hutmacher. The return of a forgotten polymer—polycaprolactone in the 21st century. Progress in polymer science, 35(10):1217–1256, 2010.
- [107] Anisha A D’souza and Ranjita Shegokar. Polyethylene glycol (peg): a versatile polymer for pharmaceutical applications. Expert opinion on drug delivery, 13(9):1257–1275, 2016.
- [108] Soo-Ling Bee, ZA Abdul Hamid, M Mariatti, BH Yahaya, Keemi Lim, Soo-Tween Bee, and Lee Tin Sin. Approaches to improve therapeutic efficacy of biodegradable pla/plga microspheres: a review. Polymer reviews, 58(3):495–536, 2018.
- [109] Dolunay Sakar. Investigation of stability and activity of poly (ethylene-alt-maleic anhydride) copolymer at different phs and in simulated body fluids. Bulgarian Chemical Communications, 53(4), 2021.
- [110] Ayesha Kausar. Physical properties and shape memory behavior of thermoplastic polyurethane/poly (ethylene-alt-maleic anhydride) blends and graphene nanoplatelet composite. Iranian Polymer Journal, 25:945–955, 2016.

- [111] Sungmi Yoo, Mi Hye Yi, Yun Ho Kim, and Kwang-Suk Jang. One-pot surface modification of poly (ethylene-alt-maleic anhydride) gate insulators for low-voltage dntt thin-film transistors. Organic Electronics, 33:263–268, 2016.
- [112] Eudokia K Oikonomou, Nicolitsa Lezi, Georgios Bokias, Joannis K Kallitsis, and Ilias Iliopoulos. Time-dependent Cu^{2+} -induced gelation of poly (ethylene-alt-maleic acid) in aqueous solution. European polymer journal, 45(12):3426–3432, 2009.
- [113] Sergio A Paniagua, Anthony J Giordano, O’Neil L Smith, Stephen Barlow, Hong Li, Neal R Armstrong, Jeanne E Pemberton, Jean-Luc Bredas, David Ginger, and Seth R Marder. Phosphonic acids for interfacial engineering of transparent conductive oxides. Chemical reviews, 116(12):7117–7158, 2016.
- [114] Peter J Hotchkiss, Simon C Jones, Sergio A Paniagua, Asha Sharma, Bernard Kippelen, Neal R Armstrong, and Seth R Marder. The modification of indium tin oxide with phosphonic acids: mechanism of binding, tuning of surface properties, and potential for use in organic electronic applications. Accounts of chemical research, 45(3):337–346, 2012.
- [115] Weijie Zhao, Mats Göthelid, Saman Hosseinpour, Malin B Johansson, Gen Li, Christofer Leygraf, and C Magnus Johnson. The nature of self-assembled octadecylphosphonic acid (odpa) layers on copper substrates. Journal of Colloid and Interface Science, 581:816–825, 2021.
- [116] Jürgen Brüning, Anna Christine Petereit, Edith Alig, Michael Bolte, Jennifer B Dressman, and Martin U Schmidt. Characterization of a new solvate of risedronate. Journal of pharmaceutical sciences, 100(3):863–873, 2011.
- [117] Jonathan R Green. Bisphosphonates: preclinical review. The oncologist, 9(S4):3–13, 2004.
- [118] Serge Cremers, Matthew T Drake, F Hal Ebetino, John P Bilezikian, and R Graham G Russell. Pharmacology of bisphosphonates. British journal of clinical pharmacology, 85(6):1052–1062, 2019.
- [119] Ian R Reid, Paul Miller, Kenneth Lyles, William Fraser, Jacques P Brown, Youssef Saidi, Peter Mesenbrink, Guoqin Su, Judy Pak, Ken Zelenakas, et al. Comparison of a single infusion of zoledronic acid with risedronate for paget’s disease. New England Journal of Medicine, 353(9):898–908, 2005.
- [120] Nick Bishop, Silvano Adami, S Faisal Ahmed, Jordi Antón, Paul Arundel, Christine P Burren, Jean-Pierre Devogelaer, Thomas Hangartner, Eva Hosszú, Joseph M Lane, et al. Risedronate in children with osteogenesis imperfecta: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. The Lancet, 382(9902):1424–1432, 2013.

- [121] Ethel S Siris, JA Simon, IP Barton, MR McClung, and A Grauer. Effects of risedronate on fracture risk in postmenopausal women with osteopenia. Osteoporosis international, 19:681–686, 2008.
- [122] Anwesha Barik and Nishant Chakravorty. Targeted drug delivery from titanium implants: a review of challenges and approaches. Trends in Biomedical Research, pages 1–17, 2020.
- [123] Amany A Mostafa, Azza A Mahmoud, Mohamed A Abdel Hamid, Mona Basha, Mohamed S El-Okaily, Abdel Fattah A Abdelkhalek, Mohamed I El-Anwar, Sara El Moshy, Amr Gibaly, and Elham A Hassan. An in vitro/in vivo release test of risedronate drug loaded nano-bioactive glass composite scaffolds. International Journal of Pharmaceutics, 607:120989, 2021.
- [124] Tayro E Acosta-Maeda, Anupam K Misra, John N Porter, David E Bates, and Shiv K Sharma. Remote raman efficiencies and cross-sections of organic and inorganic chemicals. Applied Spectroscopy, 71(5):1025–1038, 2017.
- [125] Zuzanna Okulus, Tomasz Buchwald, Mirosław Szybowicz, and Adam Voelkel. Study of a new resin-based composites containing hydroxyapatite filler using raman and infrared spectroscopy. Materials Chemistry and Physics, 145(3):304–312, 2014.
- [126] M Kozielski, T Buchwald, M Szybowicz, Z Błaszczak, A Piotrowski, and B Ciesielczyk. Determination of composition and structure of spongy bone tissue in human head of femur by raman spectral mapping. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 22(7):1653–1661, 2011.
- [127] Wolfgang Kiefer. The raman effect—a unified treatment of the theory of raman scattering by molecules. derek a. long, john wiley & sons, ltd., 2002, pp 597. isbn 0-471-49028-8, 2003.
- [128] Stephanie J Rigby, Ala HR Al-Obaidi, Soo-Keun Lee, Daniel McStay, and Peter KJ Robertson. The application of raman and anti-stokes raman spectroscopy for in situ monitoring of structural changes in laser irradiated titanium dioxide materials. Applied surface science, 252(22):7948–7952, 2006.
- [129] Jeremy D Ramsey and Richard L McCreery. Raman microscopy of chromate interactions with corroding aluminum alloy 2024-t3. Corrosion Science, 46(7):1729–1739, 2004.
- [130] Krishna Kant and Sara Abalde-Cela. Surface-enhanced raman scattering spectroscopy and microfluidics: Towards ultrasensitive label-free sensing. Biosensors, 8(3):62, 2018.

- [131] Anna Sroka-Bartnicka, James A Kimber, Leszek Borkowski, Marta Pawlowska, Izabela Polkowska, Grzegorz Kalisz, Anna Belcarz, Krzysztof Jozwiak, Grazyna Ginalska, and Sergei G Kazarian. The biocompatibility of carbon hydroxyapatite/ β -glucan composite for bone tissue engineering studied with raman and ftir spectroscopic imaging. Analytical and bioanalytical chemistry, 407:7775–7785, 2015.
- [132] Ravikumar Ramakrishnaiah, Ghufraan Ur Rehman, Santhosh Basavarajappa, Abdulaziz Abdullah Al Khuraif, BH Durgesh, Abdul Samad Khan, and Ihtesham ur Rehman. Applications of raman spectroscopy in dentistry: analysis of tooth structure. Applied Spectroscopy Reviews, 50(4):332–350, 2015.
- [133] I Notingher, JR Jones, S Verrier, I Bisson, P Embanga, P Edwards, JM Polak, and LL Hench. Application of ftir and raman spectroscopy to characterisation of bioactive materials and living cells. Journal of Spectroscopy, 17(2-3):275–288, 2003.
- [134] Gurjit S Mandair and Michael D Morris. Contributions of raman spectroscopy to the understanding of bone strength. BoneKEy reports, 4, 2015.
- [135] Joseph I Goldstein, Dale E Newbury, Joseph R Michael, Nicholas WM Ritchie, John Henry J Scott, and David C Joy. Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis. springer, 2017.
- [136] Dale E Newbury and Nicholas WM Ritchie. Performing elemental microanalysis with high accuracy and high precision by scanning electron microscopy/silicon drift detector energy-dispersive x-ray spectrometry (sem/sdd-eds). Journal of materials science, 50:493–518, 2015.
- [137] Jolanta Flieger, Wojciech Flieger, Jacek Baj, and Ryszard Maciejewski. Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. Materials, 14(15):4135, 2021.
- [138] Yongseok Jang, Boyce Collins, Jagannathan Sankar, and Yeoheung Yun. Effect of biologically relevant ions on the corrosion products formed on alloy az31b: an improved understanding of magnesium corrosion. Acta biomaterialia, 9(10):8761–8770, 2013.
- [139] Victor Elías Torres Heredia. Silver nanostructures: chemical synthesis of colloids and composites nanoparticles, plamon resonance properties and silver nanoparticles monolayer films prepared by spin-coating. 2011.
- [140] X Jiao, Lucian Roiban, G Foray, and Karine Masenelli-Varlot. Electron tomography on latex particles suspended in water using environmental scanning electron microscopy. Micron, 117:60–67, 2019.

- [141] DJ Stokes. Environmental scanning electron microscopy (esem): principles and applications to food microstructures. In Food Microstructures, pages 3–26. Elsevier, 2013.
- [142] JB Pawley. Handbook of biological confocal microscopy (google ebook), 2010.
- [143] Erin E Diel, Jeff W Lichtman, and Douglas S Richardson. Tutorial: avoiding and correcting sample-induced spherical aberration artifacts in 3d fluorescence microscopy. Nature protocols, 15(9):2773–2784, 2020.
- [144] Richard Cole. Live-cell imaging: The cell’s perspective. Cell adhesion & migration, 8(5):452–459, 2014.
- [145] Francesca Rosi, Laura Cartechini, Diego Sali, and Costanza Miliani. Recent trends in the application of fourier transform infrared (ft-ir) spectroscopy in heritage science: From micro-to non-invasive ft-ir. Physical Sciences Reviews, 4(11):20180006, 2019.
- [146] Stefanie E Glassford, Bernadette Byrne, and Sergei G Kazarian. Recent applications of atr ftir spectroscopy and imaging to proteins. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics, 1834(12):2849–2858, 2013.
- [147] Mukesh Kumar, Kuldeep Singh, Sundeep K Dhawan, Kannan Tharanikkarasu, Jin Suk Chung, Byung-Seon Kong, Eui Jung Kim, and Seung Hyun Hur. Synthesis and characterization of covalently-grafted graphene–polyaniline nanocomposites and its use in a supercapacitor. Chemical Engineering Journal, 231:397–405, 2013.
- [148] Brian C Smith. Infrared spectral interpretation: a systematic approach. CRC press, 2018.
- [149] Govinda Verma and Manish Mishra. Development and optimization of uv-vis spectroscopy-a review. World J. Pharm. Res, 7(11):1170–1180, 2018.
- [150] Alexander Samokhvalov and Bruce J Tatarchuk. Review of experimental characterization of active sites and determination of molecular mechanisms of adsorption, desorption and regeneration of the deep and ultradeep desulfurization sorbents for liquid fuels. Catalysis Reviews, 52(3):381–410, 2010.
- [151] Rafet Kılıncarslan, Emin Erdem, and Hasan Kocaokutgen. Synthesis and spectral characterization of some new azo dyes and their metal complexes. Transition Metal Chemistry, 32:102–106, 2007.
- [152] Basil Munjanja and Edmond Sanganyado. Uv-visible absorption, fluorescence, and chemiluminescence spectroscopy. Handbook of Food Analysis, 31:572–583, 2015.

- [153] Racquel Zapanta LeGeros. Calcium phosphate-based osteoinductive materials. Chemical reviews, 108(11):4742–4753, 2008.
- [154] Yuchun Liu, Jing Lim, and Swee-Hin Teoh. Development of clinically relevant scaffolds for vascularised bone tissue engineering. Biotechnology advances, 31(5):688–705, 2013.
- [155] Joanna Szczuka, Mariusz Sandomierski, and Tomasz Buchwald. Formation of the octadecylphosphonic acid layer on the surface of ti6al4v eli titanium alloy and analysis using raman spectroscopy. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 265:120368, 2022.
- [156] F136 ASTM. Standard specification for wrought titanium-6aluminum-4vanadium eli (extra low interstitial) alloy for surgical implant applications (uns r56401). ASTM F136, 13, 2013.
- [157] Zuzanna Okulus, Mariusz Sandomierski, Monika Zielińska, Tomasz Buchwald, and Adam Voelkel. Zeolite fillers for resin-based composites with remineralizing potential. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 210:126–135, 2019.
- [158] Mariusz Sandomierski, Tomasz Buchwald, Beata Strzemieska, and Adam Voelkel. Modification of ti6al4v surface by diazonium compounds. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 191:27–35, 2018.
- [159] Tomasz Buchwald, Zuzanna Buchwald, and Agata Daktera-Micker. The fluorescence background in raman spectra of sound enamel. Vibrational Spectroscopy, page 103275, 2021.
- [160] Buddy D Ratner, Allan S Hoffman, Frederick J Schoen, and Jack E Lemons. Biomaterials science: an introduction to materials in medicine. Elsevier, 2004.
- [161] Jihye Bong, Jonghun Lee, Jeongbeom Lee, Young-Geun Ha, and Sanghyun Ju. Development of omniphobic behavior in molecular self-assembled monolayer-coated nanowire forests. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 105(1):204–210, 2017.
- [162] Monika Zielinska, Ewa Chmielewska, Tomasz Buchwald, Adam Voelkel, and Pawel Kafarski. Determination of bisphosphonates anti-resorptive properties based on three forms of ceramic materials: Sorption and release process evaluation. Journal of Pharmaceutical Analysis, 11(3):364–373, 2021.
- [163] Ekatarina Kristan Mioc, Zana Hajdari Gretic, and Helena Otmacic Curkovic. Modification of cupronickel alloy surface with octadecylphosphonic acid self-assembled films for improved corrosion resistance.

- [164] Ui-Won Jung, Ji-Wan Hwang, Da-Yae Choi, Kyung-Seok Hu, Mi-Kyung Kwon, Seong-Ho Choi, and Hee-Jin Kim. Surface characteristics of a novel hydroxyapatite-coated dental implant. Journal of Periodontal & Implant Science, 42(2):59–63, 2012.
- [165] Ekatarina Kristan Mioč, Zana Hajdari Gretić, and Helena Otmačić Ćurković. Modification of cupronickel alloy surface with octadecylphosphonic acid self-assembled films for improved corrosion resistance. Corrosion Science, 134:189–198, 2018.
- [166] Joanna Szczuka, Mariusz Sandomierski, Adam Voelkel, Karol Grochalski, and Tomasz Buchwald. Surface modification of ti6al4v eli titanium alloy by poly (ethylene-alt-maleic anhydride) and risedronate sodium. Materials, 16(15):5404, 2023.
- [167] Manfred F Maitz. Applications of synthetic polymers in clinical medicine. Biosurface and Biotribology, 1(3):161–176, 2015.
- [168] Young-Jin Kim and Yukiko T Matsunaga. Thermo-responsive polymers and their application as smart biomaterials. Journal of Materials Chemistry B, 5(23):4307–4321, 2017.
- [169] Bret D Ulery, Lakshmi S Nair, and Cato T Laurencin. Biomedical applications of biodegradable polymers. Journal of polymer science Part B: polymer physics, 49(12):832–864, 2011.
- [170] Reuben T Chacko, Judy Ventura, Jiaming Zhuang, and S Thayumanavan. Polymer nanogels: a versatile nanoscopic drug delivery platform. Advanced drug delivery reviews, 64(9):836–851, 2012.
- [171] Konda Reddy Kunduru, Arijit Basu, and Abraham J Domb. Biodegradable polymers: medical applications. Encyclopedia of polymer science and technology, pages 1–22, 2002.
- [172] Y Yang. Side reactions upon amino acid/peptide carboxyl activation. Side Reactions in Peptide Synthesis, pages 98–118, 2016.
- [173] Xin Zhang, Junyu Chen, Xiang Pei, Jian Wang, Qianbing Wan, Shaokang Jiang, Chao Huang, and Xibo Pei. Enhanced osseointegration of porous titanium modified with zeolitic imidazolate framework-8. ACS applied materials & interfaces, 9(30):25171–25183, 2017.
- [174] Young-Jin Kim and Yukiko T Matsunaga. Thermo-responsive polymers and their application as smart biomaterials. Journal of Materials Chemistry B, 5(23):4307–4321, 2017.

- [175] Shunsuke Fujibayashi, Takashi Nakamura, Shigeru Nishiguchi, Jiro Tamura, Masaki Uchida, Hyun-Min Kim, and Tadashi Kokubo. Bioactive titanium: Effect of sodium removal on the bone-bonding ability of bioactive titanium prepared by alkali and heat treatment. Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 56(4):562–570, 2001.
- [176] Yingmin Su, Satoshi Komasa, Tohru Sekino, Hiroshi Nishizaki, and Joji Okazaki. Nanostructured ti6al4v alloy fabricated using modified alkali-heat treatment: Characterization and cell adhesion. Materials Science and Engineering: C, 59:617–623, 2016.
- [177] Mohammad Khodaei, Kamran Amini, Alireza Valanezhad, and Ikuya Watanabe. Surface treatment of titanium dental implant with h₂o₂ solution. International Journal of Minerals, Metallurgy and Materials, 27(9):1281–1286, 2020.
- [178] Vivian Huynh, Ngan K Ngo, and Teresa D Golden. Surface activation and pretreatments for biocompatible metals and alloys used in biomedical applications. International Journal of Biomaterials, 2019, 2019.
- [179] Mariusz Sandomierski, Marcel Jakubowski, Maria Ratajczak, and Adam Voelkel. Drug distribution evaluation using ft-ir imaging on the surface of a titanium alloy coated with zinc titanate with potential application in the release of drugs for osteoporosis. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 281:121575, 2022.
- [180] Sayed Hossein Mirdamadi, Mohammad Khodaei, Alireza Valanezhad, Ikuya Watanabe, Farahnaz Nejatidanesh, and Omid Savabi. Effect of post heat treatment on surface properties of hydrogen peroxide (h₂o₂) treated titanium. Journal of Materials Research and Technology, 18:584–590, 2022.
- [181] Mohammad Khodaei and Saleh Hossein Kelishadi. The effect of different oxidizing ions on hydrogen peroxide treatment of titanium dental implant. Surface and Coatings Technology, 353:158–162, 2018.
- [182] Guo-li Yang, Fu-ming He, Xiao-feng Yang, Xiao-xiang Wang, and Shi-fang Zhao. Bone responses to titanium implants surface-roughened by sandblasted and double etched treatments in a rabbit model. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology, 106(4):516–524, 2008.
- [183] Faiza Bettahar, Fadila Bekkar, Leyre Pérez-Álvarez, Mohammed Issam Ferahi, Rachid Meghabar, José Luis Vilas-Vilela, and Leire Ruiz-Rubio. Tough

hydrogels based on maleic anhydride, bulk properties study and microfiber formation by electrospinning. Polymers, 13(6):972, 2021.

- [184] Ayhan Temiz, Sine Özmen Toğay, Ayla Şener, Güldem Güven, Zakir MO Rzaev, and Erhan Piskin. Antimicrobial poly (n-vinyl-2-pyrrolidone-alt-maleic anhydride)/poly (ethylene imine) macrocomplexes. Journal of applied polymer science, 102(6):5841–5847, 2006.
- [185] S Sánchez-Valdes, J Méndez-Nonell, FJ Medellín-Rodríguez, E Ramírez-Vargas, JG Martínez-Colunga, H Soto-Valdez, L Muñoz-Jiménez, and G Neira-Velázquez. Effect of pegma/amine silane compatibilizer on clay dispersion of polyethylene-clay nanocomposites. Polymer bulletin, 63:921–933, 2009.
- [186] Rajesha Kumar, Saleh Al-Haddad, Mansour Al-Rughaib, and Maha Salman. Evaluation of hydrolyzed poly (isobutylene-alt-maleic anhydride) as a polyelectrolyte draw solution for forward osmosis desalination. Desalination, 394:148–154, 2016.

Spis rysunków

3.1	Od lewej - płytki: surowa, po procesie odtłuszczenia, po całkowitym procesie szlifowania	28
4.1	Abstrakt graficzny przedstawiający schemat badań opisanych w niniejszym rozdziale [155]	31
4.2	Widma ramanowskie dla płytki stopu tytanu (Ti) przed oraz po procesie wyżarzania (Ti_600) [155]	32
4.3	Porównanie powierzchni płytek przed (po lewej) i po (po prawej) wyżarzaniu 600°C - mapa TiO ₂ [155]	33
4.4	Obrazy z mikroskopii konfokalnej dla powierzchni Ti oraz Ti_600 [155]	33
4.5	Porównanie powierzchni płytki przed (po lewej) i po (po prawej) nałożeniu ODPA, pow. x50 [155]	34
4.6	obrazy SEM, HFW 41.4μm, pow. 10,000 x - dla próbek: (a) - płytki stopu tytanu (Ti_); (b) - płytki stopu tytanu po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_HA); (c) - płytki stopu tytanu z warstwą ODPA (Ti_ODPA); (d) - płytki stopu tytanu z warstwą ODPA po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_ODPA_HA); (e) - płytki stopu tytanu wyżarzana w temperatur 600°C (Ti_600); (f) - płytki stopu tytanu wyżarzana w temperatur 600°C po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_600_HA); (g) - płytki stopu tytanu wyżarzana w temperatur 600°C z warstwą ODPA (Ti_600_ODPA); (h) - płytki stopu tytanu wyżarzana w temperatur 600°C z warstwą ODPA po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_600_ODPA_HA) [155]	40
4.7	Analiza EDS - widma EDS [155]	41
4.8	Analiza EDS - procentowy udział pierwiastków [155]	42
4.9	Analiza EDS - rozkład pierwiastków na powierzchni płytek [155] . . .	43
4.10	Widmo ramanowskie sproszkowanego ODPA [155]	45
4.11	Widma ramanowskie dla płytki stopu tytanu (Ti), po wytrąceniu HA (Ti_HA) oraz zanurzeniu w SBF (Ti_HA_SBF) [155]	45

4.12	Widma ramanowskie dla płytki stopu tytanu z warstwą ODPa (Ti_ODPA), po wytrąceniu HA (Ti_ODPA_HA), zanurzeniu w SBF (Ti_ODPA_HA_SBF) oraz widmo czystego ODPa [155]	46
4.13	Widma ramanowskie dla płytki stopu tytanu po wyżarzaniu (Ti_600), wytrąceniu HA (Ti_600_HA) i zanurzeniu w SBF (Ti_600_HA_SBF) [155]	46
4.14	Widma ramanowskie dla płytki stopu tytanu po wyżarzaniu z warstwą ODPa (Ti_600_ODPA), wytrąceniu HA (Ti_600_ODPA_HA) i zanurzeniu w SBF (Ti_600_ODPA_HA_SBF) [155]	47
4.15	Mapy dla widma Ramana - dla pasma ODPa: (a - d) badana powierzchnia z zaznaczonym obszarem mapowania; (e) płytka stopu tytanu (Ti); (f) płytka stopu tytanu z warstwą ODPa (Ti_ODPA); (g) płytka stopu tytanu wyżarzana w temperatur 600°C (Ti_600) i (h) płytka stopu tytanu wyżarzana w temperatur 600°C warstwa ODPa (Ti_600_ODPA) [155]	50
4.16	Mapy dla widma Ramana - dla pasm HA i ODPa: (a - d) badana powierzchnia z zaznaczonym obszarem mapowania; (e, i) płytka ze stopu tytanu po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_HA); (f, i) płytka ze stopu tytanu z warstwą ODPa po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_ODPA_HA); (g, k) płytka ze stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_600_HA); (h, l) płytka ze stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C z warstwą ODPa po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_600_HA) [155]	52
4.17	Mapy dla widma Ramana - dla pasm HA i ODPa, po zanurzeniu w SBF: (a - d) badana powierzchnia z zaznaczonym obszarem mapowania; (e, i) płytka stopu tytanu po 20 cyklach wytrącania HA i zanurzenia w SBF (Ti_HA_SBF); (f, j) płytka stopu tytanu z warstwą ODPa po 20 cyklach wytrącania HA i zanurzenia w SBF (Ti_ODPA_HA_SBF); (g, k) płytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C po 20 cyklach wytrącania HA i zanurzenia w SBF (Ti_600_HA_SBF); i (h, l) płytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C z warstwą ODPa po 20 cyklach wytrącania HA i zanurzeniu w SBF (Ti_600_ODPA_HA_SBF) [155]	54

4.18	Zdjęcia kropli dla pomiarów kąta zwilżania - 30 s po nakropleniu dla: (a) - płytki stopu tytanu (Ti_-); (b) - płytka stopu tytanu z warstwą ODPA (Ti_ODPA); (c) - płytka stopu tytanu wyżarzana w tempera- turze 600°C (Ti_600); (d) - płytka stopu tytanu wyżarzana w tempe- raturze 600°C z warstwą ODPA (Ti_600_ODPA); (e) - płytka stopu tytanu po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_HA); (f) - płytka stopu ty- tanu z warstwą ODPA po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_ODPA_HA); (g) - płytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C po 20 cyklach wytrącania HA (Ti_600_HA); (h) - płytka stopu tytanu wyża- rzana w temperaturze 600°C z warstwą ODPA po 20 cyklach wytrąca- nia HA (Ti_600_ODPA_HA); (i) - płytka stopu tytanu po 20 cyklach wytrącania HA po zanurzeniu w SBF (Ti_HA_SBF); (j) - płytka stopu tytanu z warstwą ODPA po 20 cyklach wytrącania HA po zanurze- niu w SBF (Ti_ODPA_HA_SBF); (k) - płytka stopu tytanu wyżarzana w temperaturze 600°C po 20 cyklach wytrącania HA po zanurzeniu w SBF (Ti_600_HA_SBF); (l) - płytka stopu tytanu wyżarzana w tem- peraturze 600°C z warstwą ODPA po 20 cyklach wytrącania HA po zanurzeniu w SBF (Ti_600_ODPA_HA_SBF) [155]	56
4.19	Wyniki pomiarów kątów zwilżania dla wszystkich próbek po 5 i 30 s od naniesienia kropli [155]	57
5.1	Abstrakt graficzny przedstawiający schemat badań opisanych w ni- niejszym rozdziale [166]	60
5.2	Schemat poglądowy przeprowadzonego procesu modyfikacji po- wierzchni płytek stopu tytanu [166]	61
5.3	obrazy SEM, HFW 41.4 μm , pow. x 10,000, dla próbek: (a) Ti_HO; (b) Ti_HO_APTES_PEAMA; (c) Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn; (d) Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD; (e) Ti_AHT; (f) Ti_AHT_APTES_PEAMA; (g) Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn; (h) Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD [166]	69
5.4	Analiza EDS - zestawienie procentowego udziału wagowego pierwiast- ków [166]	71
5.5	Analiza EDS - obrazy rozkładu pierwiast- ków na powierzchni próbek: (a) Ti_HO; (b) Ti_HO_APTES_PEAMA; (c) Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn; (d) Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD [166]	72

5.6	Analiza EDS - obrazy rozkładu pierwiastków na powierzchni próbek: (e) Ti_AHT; (f) Ti_AHT_APTES_PEAMA; (g) Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn; (h) Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD [166]	73
5.7	Zestawienie pomiarów dla próbek Ti_HO and Ti_AHT - widma ramanowskie, fioletowy kwadrat oznacza zakres przesunięcia ramanowskiego, w oparciu którego stworzono mapy powierzchni ($200-1000\text{ cm}^{-1}$)	74
5.8	Zestawienie pomiarów dla próbek Ti_HO and Ti_AHT - obszar mapowanych powierzchni próbek oraz mapy ramanowskie próbek	74
5.9	Zestawienie widm ramanowskich - RSD (proszek) i PEAMA (proszek)	75
5.10	Zestawienie widm ramanowskich - grupa po procesie H_2O_2	76
5.11	Zestawienie widm ramanowskich - grupa po procesie AHT	76
5.12	Zestawienie widm ramanowskich - porównanie widm z końcową modyfikacją z widmami referencyjnymi dla RSD (proszek) i PEAMA (proszek) dla zakresu $900-3200\text{ cm}^{-1}$	77
5.13	Widma FT-IR dla próbek: Ti_HO_APTES_PEAMA; Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn; Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD; Ti_AHT_APTES_PEAMA; Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn; Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD.	78
5.14	Mapy powierzchni FT-IR dla próbek: (a) Ti_HO_APTES_PEAMA; (b) Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn; (c) Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD; (d) Ti_AHT_APTES_PEAMA; (e) Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn; (f) Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD.	79
5.15	Zestawienie wyników pomiarów zwilżalności powierzchni po 5 s i 30 s od nałożenia kropli na powierzchnię próbki [166]	80
5.16	Analiza UV-VIS dla: (a)- sorpcja RSD po 1, 2 oraz 7 dniach; (b)- desorpcji w trakcie 24h	82
5.17	Wyniki pomiarów dla topografii powierzchni (2D) oraz uzyskane krzywe Abbotta dla próbek: (a) Ti_HO; (b) Ti_HO_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD; (c) Ti_AHT; (d) Ti_AHT_APTES_PEAMA_CDI_Zn_RSD.	84

Spis tabel

4.1	Odczynniki oraz ich czystość jak i ilość potrzebna do przygotowania 1000 mL roztworu SBF [158]	35
4.2	Skrócony i pełen opis wykonanych próbek	36
4.3	Analiza pasm charakterystycznych dla wszystkich analizowanych próbek	48
5.1	Skrócony i pełen opis wykonanych próbek	65
5.2	Zestawienie wybranych parametrów topograficznych -Rt, Rg oraz Sa dla próbek po pierwszym i końcowym etapie modyfikacji	84

© 2025 mgr inż. Joanna Szczuka



Instytut Badań Materiałowych i Inżynierii Kwantowej
Wydział Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej
Politechnika Poznańska