



**WYDZIAŁ MECHANICZNY
KATEDRA INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I SPAJANIA
ZESPÓŁ BIOMATERIAŁÓW**

mgr inż. Michał Bartmański

**Wytwarzanie powłok hydroksyapatytowych
z osłoną biologiczną na stopie tytanu**

ROZPRAWA DOKTORSKA

**Promotor: prof. dr hab. inż. Andrzej Zieliński
Promotor pomocniczy: dr hab. inż. Beata Świczko – Żurek**

Gdańsk 2018

*Serdeczne podziękowania składam Panu profesorowi **Andrzejowi Zielińskiemu**,
który pozostanie dla mnie zawsze niedoścignionym wzorem naukowca,
za ogrom pomocy, życzliwość i cierpliwość
oraz Pani doktor habilitowanej **Beacie Świeczko – Żurek** za wszelką okazaną
pomoc.*

*Dziękuję serdecznie Pani **Annie Pałubickiej** z Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej
i Mikrobiologicznej Szpitala Specjalistycznego w Kościerzynie za pomoc
w wykonaniu badań bakteryjnych.*

*Dziękuję wszystkim koleżankom i kolegom
z **Katedry Inżynierii Materiałowej i Spajania** Wydziału Mechanicznego PG,
Katedry Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego PG oraz
Katedry Fizyki Ciała Stałego Wydziału Fizyki Technicznej i Matematyki
Stosowanej PG za pomoc w realizacji badań, rozmowy i cenne uwagi.*

*Wielkie podziękowania składam również **rodzinie i przyjaciołom** za ich ogromne
wsparcie.*

Spis treści

| | |
|--|-----------|
| Streszczenie | 5 |
| Abstract | 6 |
| Wykaz ważniejszych skrótów i oznaczeń | 7 |
| Wstęp..... | 8 |
| CZĘŚĆ TEORETYCZNA | 10 |
| 1. Implanty | 11 |
| 1.1. Materiały stosowane w implantacji..... | 11 |
| 1.1.1. Stale nierdzewne..... | 12 |
| 1.1.2. Stopy na osnowie kobaltu..... | 14 |
| 1.1.3. Stopy magnezu | 15 |
| 1.1.4. Stopy z pamięcią kształtu | 16 |
| 1.1.4. Tytan i jego stopy | 17 |
| 1.1.5. Materiały polimerowe | 20 |
| 1.1.6. Materiały ceramiczne | 20 |
| 1.1.7. Materiały węglowe i kompozytowe | 21 |
| 1.2. Środowisko i warunki eksploatacyjne implantów..... | 22 |
| 2. Metody modyfikacji powierzchni implantów | 29 |
| 2.1. Powłoki hydroksyapatytowe i nanohydroksyapatytowe | 30 |
| 2.2. Powłoki kompozytowe..... | 35 |
| 3. Zastosowanie srebra i miedzi w aplikacjach medycznych | 39 |
| 3.1. Zastosowanie srebra i nanosrebra | 39 |
| 3.2. Zastosowanie miedzi i nanomiedzi | 42 |
| CZĘŚĆ BADAWCZA | 45 |
| 4. Teza, cel i program pracy | 46 |
| 5. Materiał i metodyka badawcza..... | 49 |
| 5.1. Materiały do badań..... | 49 |
| 5.1.1. Stop tytanu Ti–13Zr–13Nb | 49 |
| 5.1.2. Nanoproszki | 49 |
| 5.2. Osadzanie elektroforetyczne | 49 |
| 5.3. Obróbka termiczna | 51 |
| 5.4. Badania powierzchni | 51 |
| 5.5. Badania składu chemicznego i fazowego..... | 51 |
| 5.6. Badania korozyjne..... | 52 |
| 5.7. Badania mechaniczne | 53 |
| 5.8. Pomiary kąta zwilżania | 53 |

| | |
|--|-----|
| 5.9. Badanie szybkości uwalniania nanosrebra i nanomiedzi | 53 |
| 5.10. Badania bakteryjne | 54 |
| 6. Wyniki badań | 55 |
| 6.1. Badania powierzchni | 55 |
| 6.1.1. Badania makroskopowe | 55 |
| 6.1.2. Badania mikroskopowe | 56 |
| 6.1.3. Badania topografii AFM | 60 |
| 6.2. Badania składu chemicznego i fazowego | 70 |
| 6.2.1. Spektrometria dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego | 70 |
| 6.2.2. Absorpcyjna spektroskopia atomowa | 75 |
| 6.2.3. Dyfrakcja rentgenowska | 75 |
| 6.3. Badania korozyjne | 78 |
| 6.4. Badania mechaniczne | 84 |
| 6.4.1. Nanoindentacja | 84 |
| 6.4.2. Nanoscratch-test | 92 |
| 6.5. Pomiary kąta zwilżania | 98 |
| 6.6. Badanie szybkości uwalniania nanosrebra i nanomiedzi | 100 |
| 6.7. Badania bakteryjne | 101 |
| 7. Dyskusja | 107 |
| 7.1. Determinanty procesu tworzenia, budowy i właściwości powłok nanohydroksyapatytowych z dodatkiem nanosrebra i (lub) nanomiedzi | 107 |
| 7.2. Bioaktywność i właściwości biobójcze powłoki nanohydroksyapatytowej z dodatkiem nanosrebra i (lub) nanomiedzi | 112 |
| 8. Podsumowanie i wnioski | 114 |
| Literatura | 115 |
| Spis rysunków i fotografii | 130 |
| Spis tabel | 135 |

Streszczenie

Obecnie powłoki hydroksyapatytowe wytwarzane na implantach ze stopów tytanu stosowane w celu zapobieganiu zjawisku metalozy, polepszenia odporności korozyjnej oraz zapewnienia odpowiedniej osteointegracji nie w pełni spełniają stawiane im wymagania. Charakteryzują się dużą grubością i słabą adhezją do metalicznego podłoża. Ponadto nie posiadają właściwości antybakteryjnych, a tworzenie biofilmu na powierzchni implantu jest jedną z głównych przyczyn odrzucenia implantu i potrzeby jego rewizji.

Stop tytanu Ti–13Zr–13Nb charakteryzuje się wyższą biokompatybilnością, odpornością korozyjną w środowisku tkanek żywych oraz bardziej zbliżoną do kości ludzkiej wartością modułu Younga w porównaniu do aktualnie najczęściej stosowanego na implanty stopu tytanu Ti–6Al–4V, zawierającego w swoim składzie pierwiastki o udowodnionym szkodliwym wpływie na organizm ludzki.

Przeprowadzone badania pozwoliły sformułować następującą tezę badawczą niniejszej pracy: wytworzenie powłoki nanohydroksyapatytowej zawierającej równocześnie nanosrebro oraz nanomiedź na powierzchni stopu tytanu Ti–13Zr–13Nb pozwoli na uzyskanie powłoki bioaktywnej, o niezbędnych i długoczasowych właściwościach bakteriobójczych oraz wystarczającej adhezji do implantu tytanowego, przewyższających właściwości powłoki zawierającej tylko nanosrebro. Udowodnienie postawionej tezy zmniejszy prawdopodobieństwo wystąpienia odczynów zapalnych lub zakażeń powodujących wystąpienie ryzyka ewentualnego odrzucenia implantu w fazie stabilizacji pierwotnej i właściwej. Celem naukowym pracy było określenie wpływu składu roztworu oraz parametrów procesu wytwarzania powłok na ich skład chemiczny, morfologię, adhezję i właściwości bakteriobójcze, jak też określenie determinant procesu i mechanizmów tworzenia powłoki, jej wiązania z podłożem oraz zdolności zabijania bakterii chorobotwórczych w różnym czasie po wytworzeniu powłoki.

Przeprowadzone badania mikrostruktury, topografii powierzchni, składu chemicznego i fazowego, odporności korozyjnej, mechaniczne nanoindentacji i nanoscratch-test, kąta zwilżania, szybkości uwalniania nanocząstek srebra i miedzi do roztworu sztucznej śliny oraz badania biobójczości wykonane dla powłok nanohydroksyapatytowych, nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem i (lub) nanomiedzią, uzyskanych metodą elektroforetycznego osadzania, potwierdziły pozytywny wpływ obecności nanocząstek srebra i miedzi przede wszystkim na homogeniczność, właściwości mechaniczne (twardość oraz adhezję do tytanowego podłoża) oraz właściwości antybakteryjne. Udowodniono, że powłoki nanoHAp z nanosrebrem i nanomiedzią, w porównaniu z powłokami nanoHAp bez nanometali, charakteryzują się mniejszą liczbą i wielkością pęknięć, mniejszą grubością, wyższymi wartościami twardości i modułu Younga oraz dwukrotnie lepszą adhezją do metalicznego podłoża. Dodatkowo dla powłoki nanoHAp z nanosrebrem i nanomiedzią wykazano długotrwałe uwalnianie nanocząstek metalicznych do roztworu sztucznej śliny oraz zapobieganie powstawania biofilmu na powierzchni powłoki po 7, 14 i 28 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym.

Abstract

Nowadays the hydroxyapatite coatings deposited on titanium alloy implants used to prevent the phenomenon of metalosis, improve corrosion resistance and ensure good osseointegration do not fully comply with requirements. They are characterized by a high thickness and poor adhesion to the metallic substrate. Also, they do not have antibacterial properties, and the creation of biofilms on the surface of the implant is one of the main reasons for the rejection of the implant and the need for its revision.

The Ti–13Zr–13Nb titanium alloy is characterized by higher biocompatibility, corrosion resistance in the environment of living tissues and closer to human bone Young's modulus value in comparison to currently used Ti–6Al–4V titanium alloy titanium containing in its component elements of proven, harmful effect on the human body.

Based on the studies allowed the following thesis of this work was formulated: Preparation of nanohydroxyapatite coating containing nanosilver and nanocopper on the surface of titanium alloy Ti–13Zr–13Nb simultaneously will enable to obtain a bioactive coating, with the necessary and long-term bactericidal properties and sufficient adhesion to the titanium implant, exceeding properties of the coating containing the only nanosilver. Proving the thesis will reduce probability occurrence of inflammatory reactions or infections causing a risk of possible rejection of the implant during the primary and proper stabilization phase. The scientific purpose of this work was to determine the influence composition of the solution and parameters of deposition coating on their chemical composition, morphology, adhesion and bactericidal properties and the term determinants process and mechanisms of formation of the coating, the substrate adhesion and the ability to kill pathogenic bacteria at various times after formation of the coating.

The microstructure characteristics, surface topography, chemical and phase composition, corrosion resistance, the nanoindentation and nanoscratch properties, contact angle, release rate of silver and copper nanoparticles to artificial saliva solution studies and biocidal tests prepared nanohydroxyapatite coatings, nanohydroxyapatite nanosilver and / or nanocopper coatings, obtained by electrophoretic deposition method, confirmed the positive effect of the presence of silver and copper nanoparticles on homogeneity, mechanical properties (hardness and adhesion to the titanium substrate) and antibacterial properties. It has been proven that nanoHAp coatings containing nanosilver and nanocopper, compared to nanoHAp coatings without nanometals, are characterized by a smaller number and size of cracks, lower thickness, higher hardness and Young's modulus and twice higher adhesion to the metallic substrate. Also, the nanoHAp nanosilver and nanocopper coating were shown to release long-term metallic nanoparticles into the artificial saliva solution and prevent biofilm formation on the surface of the coating after 7, 14 and 28 days in bacterial broth.

Wykaz ważniejszych skrótów i oznaczeń

- AFM – mikroskopia sił atomowych (*ang. atomic force microscope*);
- Ag – srebro (*ang. silver*);
- ASA – absorpcyjna spektroskopia atomowa (*ang. atomic absorption spectrometry*);
- CaP – fosforan wapnia (*ang. calcium phosphate*);
- Cu – miedź (*ang. copper*);
- CUF – jednostka tworząca kolonię (*ang. colony forming unit*);
- DNA - kwas deoksyrybonukleinowy (*ang. deoxyribonucleic acid*);
- E – moduł Younga, [GPa];
- E_{kor} – potencjał korozyjny, [V];
- Er – zredukowany moduł Younga, [GPa];
- EDS – spektroskopia dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (*ang. energy-dispersive X-ray spectroscopy*);
- EPD – elektroforetyczne osadzanie (*ang. electrophoretic deposition*);
- Ft – siła trąca [N];
- Fn – siła normalna [N];
- H – twardość, [GPa];
- HAp – hydroksyapatyt (*ang. hydroxyapatite*);
- Lc – siła krytyczna, [N];
- Lf – krytyczna siła tarcia, [N];
- nanoAg – nanosrebro (*ang. nanosilver*);
- nanoCu – nanosrebro (*ang. nanocopper*);
- nanoHAp – nanohydroksyapatyt (*ang. nanohydroxyapatite*);
- PDF – baza danych dyfrakcyjnych (*ang. powder diffraction database*);
- PLD – pulsacyjne osadzanie laserowe (*ang. pulsed laser deposition*);
- ppb - liczba części na miliard (*ang. parts per billion*);
- ppm - liczba części na milion (*ang. parts per million*);
- RTG - rentgenogram
- Sa – parametr chropowatości powierzchni, [μm];
- SEM – skaningowa mikroskopia elektronowa (*ang. scanning electron microscope*);
- SBF – sztuczny płyn ustrojowy (*ang. simulated body fluid*);
- TBS – bulion tryptozowo-sojowy (*ang. tryptic soy bullion*);
- XRD – dyfrakcja promieniowania rentgenowskiego (*ang. X-ray diffraction*);

Wstęp

Wraz ze wzrostem długości ludzkiego życia zwiększa się zapotrzebowanie na operacje wymiany uszkodzonych struktur kostnych, zwanych zabiegami implantacji. Wśród najczęściej wykonywanych zabiegów wymienić można endoprotezoplastyki stawów biodrowych, kolanowych i barkowych oraz implantacje stomatologiczne.

Rosnące zapotrzebowanie na implanty spowodowało w ostatnich latach znaczący rozwój inżynierii materiałowej w zakresie badań nad nowymi biomateriałami. Obecnie w inżynierii biomateriałów najchętniej stosowanym materiałem metalicznym jest tytan i jego stopy. Na implanty ortopedyczne i stomatologiczne najszerze zastosowanie znalazł stop Ti–6Al–4V, mniejsze stop Ti–6Al–7Nb. Badania udowodniły jednak szkodliwy wpływ składników tych stopów (Al i V na organizm ludzki w czasie długiej ekspozycji w tkankach żywych. Coraz większe znaczenie uzyskuje więc nietoksyczny stop tytanu Ti–13Zr–13Nb. Zawiera on w swoim składzie pierwiastki obojętne dla ludzkiego ciała, charakteryzuje się bardzo wysoką odpornością korozyjną w środowisku tkanek ludzkich oraz spośród biomedycznych stopów tytanu posiada właściwości mechaniczne najbardziej zbliżone do wartości kości ludzkiej [1,2].

Powierzchnie biomateriałów poddawane są licznym modyfikacjom, między innymi implantacji jonowej, trawieniu, anodowaniu lub osadzaniu powłok hydroksyapatytowych (HAp) i nanohydroksyapatytowych (nanoHAp). Powłoki HAp i nanoHAp osadzone są na powierzchni implantów w celu zapewnienia odporności korozyjnej, zapobieganiu migracji składników stopowych do otaczających tkanek (zwanej zjawiskiem metalozy) oraz zapewnienia trwałego połączenia implantu z kością poprzez możliwość wrastania kości w powłokę. Ponadto hydroksyapatyt jest materiałem naturalnie występującym w ludzkim organizmie (głównie w kościach i szkliwie zębowym), co dodatkowo zwiększa biokompatybilność implantu. Głównymi metodami wytwarzania powłok na bazie hydroksyapatytu są metody zol – żel, biomimetyczne, natryskiwania plazmowego, natryskiwania cieplnego oraz elektroforetycznego osadzania. Ostatnia z nich pozwala na uzyskanie powłok o szerokim spektrum grubości na elementach o zróżnicowanym kształcie przy jednoczesnych niskich kosztach i nieskomplikowaniu procesu. Niestety stosowane dziś powłoki hydroksyapatytowe charakteryzują się dużą grubością i twardością, co obniża znacznie ich właściwości mechaniczne i stwarza ryzyko uszkodzenia podczas implantacji. Wykruszanie kryształów HAp może inicjować procesy zapalne i powodować zanik kości w sąsiedztwie implantu. Dodatkowo nanoszone głównie metodą natryskiwania plazmowego powłoki charakteryzują się wysokimi, ściskającymi naprężeniami własnymi, które obniżają adhezję do podłoża [1,3].

Obok reakcji alergicznych na pierwiastki występujące w implancie to zakażenia bakteryjne są najczęściej występującym powikłaniem pooperacyjnym. Bakterie mogą dostać się na powierzchnię implantowanego wszczepu już na etapie jego produkcji, jak również podczas wszczepiania i po implantacji. Zakażenie takie prowadzi do powstawania na powierzchni implantu złożonej, wielokomórkowej struktury bakterii zwanej biofilmem, która uniemożliwia wytworzenie połączenia

implantu z kością oraz powoduje stan zapalny w otaczających implant tkankach doprowadzając w konsekwencji do konieczności wymiany wszczepu. Pomimo stosowania odpowiedniej antybiotykoterapii badania stanowią dowód na postępujący proces uodporniania się szczepów bakteryjnych na coraz to nowsze leki. Ponieważ srebro posiada najsilniejsze, spośród metalicznych pierwiastków, właściwości antybakteryjne, prowadzone są badania nad wytwarzaniem powłok hydroksyapatytowych domieszkowanych srebrem w celu zapewnienia osłony biologicznej. Właściwości biobójcze udowodniono również dla złota, miedzi i cynku. Wraz ze spadkiem wielkości cząstek tych metalicznych pierwiastków wzrastają ich właściwości antybakteryjne. Istnieją doniesienia literaturowe na temat powłok nanohydroksyapatytowych domieszkowanych nanosrebrem lub nanomiedzią, lecz nie spotkano informacji na temat wytwarzania powłok równocześnie z nanosrebrem i nanomiedzią [4,5].

CZĘŚĆ TEORETYCZNA

1. Implanty

Mimo, iż definicja biomateriału oznaczonego jako „każda substancja inna niż lek lub kombinacja substancji naturalnych lub syntetycznych, która może być użyta w dowolnym okresie, a jej zadaniem jest uzupełnienie lub zastąpienie tkanek narządu, albo jego części lub spełnienie jego funkcji” pojawiła się dopiero w roku 1987 roku [2], biomateriały wykorzystywane były przez ludzkość już w prehistorii. Potwierdzeniem jest doniesienie o wykorzystywaniu niebiologicznych materiałów datowane na 7000 rok p.n.e., gdzie ostrze włóczni użyte zostało w celu zastąpienia stawu biodrowego [6]. W starożytnej Fenicji używano drutów wykonanych ze złota w celu przymocowania sztucznego zęba do zęba naturalnego, a w zwłokach datowanych na II w. n. e. odnaleziono żelazny materiał mający zastąpić naturalny ząb, który dodatkowo określony został jako odpowiednio zintegrowany z kością. Z początkiem XX wieku zaczęto wykorzystywać stal wanadową, która szybko wyparta została przez stal nierdzewną oraz stopy z kobaltem i chromem na początku lat 30. ubiegłego stulecia, co pozwoliło na pierwszy w historii zabieg całkowitej endoprotezoplastyki stawu biodrowego wykonany w roku 1930 [7]. Materiały polimerowe zaczęto stosować z początkiem lat 30. XX wieku [1]. W ostatnich latach najbardziej popularnymi biomateriałami metalicznymi stały się stopy tytanu, które w połączeniu z materiałami bioceramicznymi należą do najczęściej stosowanych obecnie materiałów biomedycznych [2].

Wykonane z jednego lub większej liczby biomateriałów wszelkie przyrządy medyczne, które umieszczone mogą być w ludzkim organizmie jak również częściowo lub całkowicie pod powierzchnią nabłonka i które mogą przebywać bezpiecznie w środowisku tkanek ludzkich, nazywa się implantami [8].

W poniższym rozdziale przedstawiono analizę literaturową dotyczącą materiałów stosowanych na implanty oraz środowisko i warunki eksploatacyjne implantów w ludzkim organizmie.

1.1. Materiały stosowane w implantacji

Obecnie stosowane materiały na implanty podzielić można na pięć podstawowych podgrup:

- metaliczne,
- ceramiczne,
- polimerowe,
- węglowe,
- kompozytowe (będące kombinacją co najmniej 2 powyższych grup) [1].

Inny podział materiałów biomedycznych ściśle związany jest z zachodzącymi reakcjami pomiędzy materiałem a ludzka tkanką. Wyróżnić można w nim następujące grupy:

- materiały obojętne lub prawie obojętne, które nie reagują z organizmem,
- materiały aktywne, które symulują rozwój nowej tkanki,
- materiały resorbowalne, które po określonym czasie ulegają częściowemu lub całkowitemu rozkładowi w środowisku organizmu [2].

Bezpieczny czas przebywania konkretnego biomateriału w ludzkich tkankach jest ściśle określony. Podział opierający się na tych ograniczeniach wyróżnia dwie grupy:

- biomateriały przeznaczone na implanty krótkotrwałe, których bezpieczny czas przebywania w organizmie żywym wynosi maksymalnie 2 lata,
- biomateriały przeznaczone na implanty długotrwałe, których bezpieczny czas przebywania w organizmie żywym wynosi nawet do 20 lat [9].

Pomimo istnienia różnych kryteriów podziału biomateriałów, materiały stosowane na implanty posiadać muszą szereg właściwości wspólnych dla wszystkich grup. Cechować muszą się:

- wysoką biokompatybilnością, rozumianą jako brak wymiernych szkód spowodowanych przez dany materiał w organizmie gospodarza,
- odpowiednią bioaktywnością i biofunkcjonalnością,
- odpornością na korozję,
- trwałością,
- odpowiednimi właściwościami wytrzymałościowymi, takimi jak wytrzymałość na rozciąganie, zginanie, ściskanie, skręcanie, wytrzymałość zmęczeniowa, odporność na pęknięcie,
- łatwością sterylizacji,
- brakiem tendencji do tworzenia zakrzepów,
- niewywoływaniem reakcji alergicznych,
- odpowiednimi właściwościami fizycznymi (m.in. gęstość) i elektrycznymi,
- akceptowalną ceną [1,10–12].

Wśród materiałów metalicznych stosowanych na implanty wyróżnić można:

- stale nierdzewne,
- stopy na osnowie kobaltu,
- stopy magnezu,
- stopy z pamięcią kształtu,
- tytan i jego stopy [10].

1.1.1. Stale nierdzewne

Obecnie trzy grupy stali austenitycznych (martenzytyczne, ferrytyczne i austenityczne) znalazły zastosowanie jako biomateriały. Obszary i przykłady zastosowań biomedycznych różnych rodzajów stali przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Obszary i przykłady zastosowania stali nierdzewnej w aplikacjach medycznych [10]

| Rodzaj stali | Obszar zastosowania | Przykład zastosowania |
|----------------|---|---|
| Martenzytyczna | przyrządy dentystyczne | wiertła i dłuta dentystyczne kleszcze szcypce ortodontyczne |
| Ferrytyczna | precyzyjne narzędzia chirurgiczne | sztyfty prowadzące |
| Austenityczna | narzędzia chirurgiczne implanty krótkotrwałe implanty długotrwałe | skalpele, igłotrzymacze, kleszcze płytki zespalające, implanty stawu biodrowego |

Najszerze zastosowanie na implanty znalazły nierdzewne stale austenityczne (316 L, 316 LVM). Stale te charakteryzują się dobrą odpornością korozyjną w środowisku tkanek żywych (w początkowej fazie), akceptowalną biokompatybilnością, łatwością obróbki oraz niską ceną, a głównymi dodatkami stopowymi są chrom, nikiel, molibden, mangan i azot. Chrom jest pierwiastkiem odpowiadającym za dobre właściwości korozyjne stali, nikiel natomiast odpowiada za stabilizację struktury austenitycznej. Ponieważ jednak nikiel jest pierwiastkiem uczulającym (szacuje się, że 18% dorosłych i 8 % dzieci jest wrażliwych na ten pierwiastek), trwają badania nad zastąpieniem niklu azotem, ten natomiast może powodować znaczne pogorszenie właściwości plastycznych stali na skutek zwiększenia kruchości [10,13–15].

Na rys. 1 przedstawiono endoprotezę stawu biodrowego (typ Austin–Moore) wykonaną ze stali austenitycznej i będącą implantem długotrwałym.



Rysunek 1. Endoproteza stawu biodrowego Austin–Moore [16]

Niestety udowodniono, że w długim okresie przebywania w ludzkich tkankach stale austenityczne zaczynają korodować, co doprowadzić może do metalozy, będącej zjawiskiem obumierania tkanek w obrębie implantu na skutek działania jonów metali, a następnie do obłuzowania implantu [10,12,17]. Uszkodzenie na skutek korozji implantu wykonanego ze stali austenitycznej przedstawiono na rys. 2.



Rysunek 2. Implant stawu biodrowego ze stali austenitycznej z widocznymi uszkodzeniami korozyjnymi [10]

Z powodu zbyt niskiej odporności korozyjnej stale austenityczne nie są już dzisiaj stosowane na implanty długotrwałe, natomiast dzięki odpowiedniej wykańczającej obróbce powierzchniowej (np. polerowaniu) stały się one najczęściej stosowanym materiałem biomedycznym na implanty krótkotrwałe.

1.1.2. Stopy na osnowie kobaltu

Najczęściej stosowanymi obecnie stopami na osnowie kobaltu są stopy CoCr, CoCrMo, CoCrMoNi oraz CoCrWNi. Stopy na osnowie kobaltu znalazły szerokie zastosowanie jako elementy implantów długotrwałych (głównie CoCrMo) oraz krótkotrwałych (przede wszystkim CoCrWNi) [18].

Stopy kobaltu charakteryzują się biokompatybilnością, wysoką odpornością korozyjną (wynikającą ze zjawiska samorzutnej pasywacji warstwy wierzchniej) w porównaniu ze stalami nierdzewnymi oraz doskonałą odpornością korozyjną w środowiskach bogatych w związki chloru. Stopy te zawierają w swoim składzie chrom, molibden, nikiel, węgiel i wolfram. Chrom, molibden i nikiel podwyższają odporność korozyjną stopu, z kolei węgiel i chrom zapewniają odporność na zużycie. Zawartość niklu powoduje podwyższenie podatności stopów na obróbkę w niskiej i wysokiej temperaturze [10,19]. Pomimo, iż w latach 50. i 60. XX wieku roztwór kobaltu (w postaci CoCl_2) symulujący wytwarzanie czerwonych krwinek używany był w leczeniu anemii, dziś zbyt wysokie stężenie tego pierwiastka uważane jest za szkodliwe. Wysokie uwalnianie kobaltu do tkanek udowodnione zostało w przypadku długotrwałego eksploataowania par trących metal – metal w endoprotezach wykonanych ze stopów kobaltu, powodując zaburzenia neurologiczne (np. utratę słuchu, zaburzenia motoryki lub problemy z pamięcią) [20]. Molibden natomiast będący składnikiem enzymów w organizmach żywych uważany jest za pierwiastek nieszkodliwy [10]. Głównymi wadami stopów kobaltu są ich ograniczona plastyczność oraz w porównaniu z kością ludzką zbyt wysokie właściwości wytrzymałościowe. Wady te uważane są za główną przyczynę uszkodzenia wykonanych z tego materiału implantów [21]. Stopy kobaltu

znalazły zastosowanie głównie jako elementy implantów stawu biodrowego i kolanowego. Głowę endoprotezy stawu biodrowego wykonanej ze stopu CoCr przedstawiono na rys. 3.

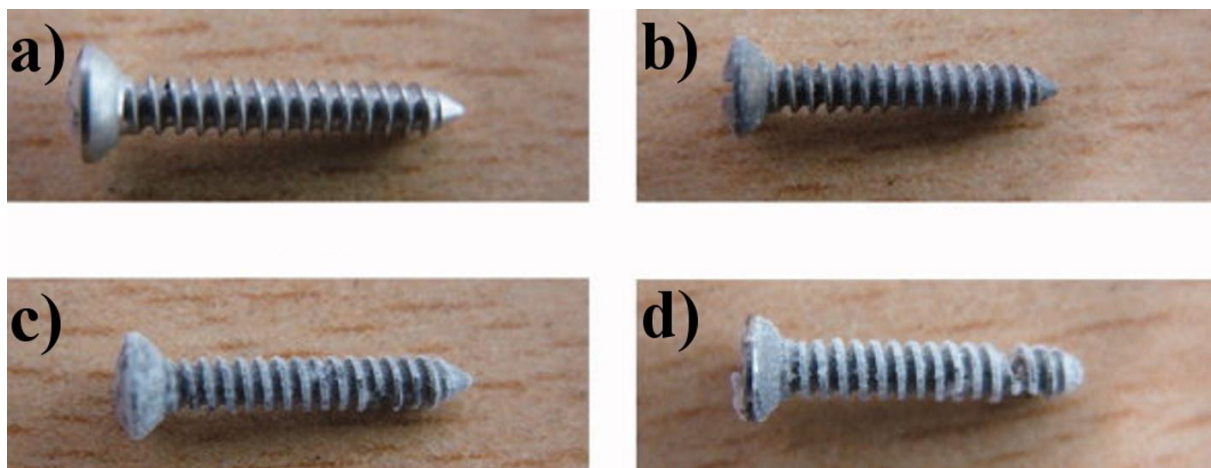


Rysunek 3. Głowa endoprotezy stawu biodrowego wykonana ze stopu CoCr [22]

1.1.3. Stopy magnezu

Stopy magnezu są materiałami charakteryzującymi się wysoką biokompatybilnością i znalazły zastosowanie w implantologii jako materiały biodegradowalne. W organizmie ludzkim magnez jest pierwiastkiem odpowiadającym za ponad 300 reakcji enzymatycznych (m.in. za kontrolę skurczy mięśni), dodatkowo ponad 50 % tego pierwiastka składowane jest w nieorganicznej apatytowej matrycy w kości, co czyni ten pierwiastek wysoce biokompatybilnym. Udowodniono dodatkowo, że magnez może symulować wzrost kości. Opracowane stopy magnezu (takie jak MgAl–AZ31, MgAlZn–AZ91, MgZnCa–ZX152 lub MgCa) charakteryzują się mniejszą resorpcją w porównaniu z czystym magnezem oraz zbliżoną do kości korowej wartością modułu Younga i gęstością. Poprzez kompozycję chemiczną stopów magnezu możliwe jest kontrolowanie ich szybkości resorpcji do tkanek, która powinna zapewniać zachowanie odpowiednich właściwości wytrzymałościowych stopu do czasu wygojenia po implantacji. Ponieważ jednak odporność korozyjna stopów magnezu określana jest jako niewystarczająca, ich zastosowanie w implantacji jest ograniczone [23–26].

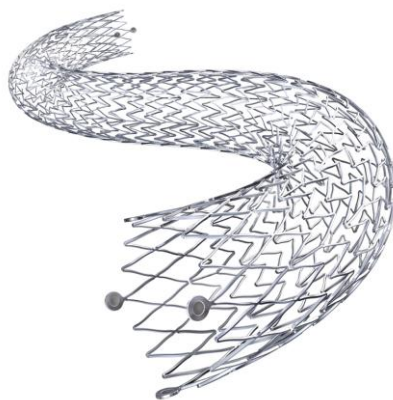
Stopy magnezu określane są mianem biomateriałów trzeciej generacji i znalazły zastosowanie jako śruby, gwoździe i płytki stabilizujące, skafoldy oraz stenty naczyniowe. Na rys. 4 przedstawiono śrubę stabilizującą wykonaną ze stopu MgCaZn przed umieszczeniem (a) oraz po 4 (b), 8 (c) i 12 (d) tygodniach przebywania w roztworze fizjologicznym Hanksa.



Rysunek 4. Śruba stabilizująca wykonana ze stopu magnezu MgCaZn po różnym czasie przebywania w SBF [27]

1.1.4. Stopy z pamięcią kształtu

Stopy z pamięcią kształtu nazwę zawdzięczają zdolności powrotu do kształtu pierwotnego pod wpływem temperatury dzięki przemianie fazowej zwanej także zjawiskiem pseudoelastyczności. Zjawisko pamięci kształtu udowodnione zostało między innymi dla stopów Au–Cd, Cu–Zn, Ni–Ti, Fe–Mn–Si, Ni–Al i Mn–Cu [10]. Ponieważ jednak stopy Ni–Ti charakteryzują się dobrą odpornością na korozję, wytrzymałością zmęczeniową, pamięcią kształtu oraz mniejszą sztywnością w porównaniu z innymi stopami z pamięcią kształtu, to one znalazły najszersze zastosowanie w aplikacjach medycznych wykorzystujących zjawisko pamięci kształtu. Pierwsze zastosowanie stopu Ni–Ti (nitinolu) datowane jest na rok 1973, lecz największy rozwój przypada na lata 90. ubiegłego wieku. Przeprowadzono szereg badań nad biokompatybilnością stopów Ni–Ti nie stwierdzając jednak znaczących różnic pomiędzy stopami na bazie kobaltu oraz stopami tytanu (np. Ti–6Al–4V). Budzić wątpliwość może natomiast duża zawartość niklu (ok. 50 %), pierwiastka o udowodnionych właściwościach kancerogennych oraz przede wszystkim charakteryzującego się wysokim ryzykiem występowania alergii [10,28–30]. Obecnie stopy Ni–Ti stosowane są na stenty naczyniowe. Na rys. 5 przedstawiono stent naczyniowy wykonany ze stopu z pamięcią kształtu.



Rysunek 5. Stent naczyniowy wykonany ze stopu z pamięcią kształtu Ni–Ti [31]

1.1.4. Tytan i jego stopy

Obecnie najczęściej stosowanymi materiałami metalicznymi w aplikacjach medycznych są tytan oraz jego stopy. Tytan (Ti) jest pierwiastkiem o masie atomowej 47,87 g/mol i charakteryzuje się stosunkowo niską gęstością, średnio 60 % niższą niż gęstość żelaza, w zakresie od 4,3 do 4,5 g/cm³ w zależności od odmiany alotropowej i czystości, na podstawie której wyróżnia się cztery gatunki tytanu. Ponieważ komercyjny czysty tytan (cpTi) charakteryzuje się małą wytrzymałością mechaniczną i zmęczeniową, jego zastosowanie na implanty jest ograniczone. Tytan i jego stopy stosowane są najczęściej na implanty dentystyczne, implanty twarzowo-szczękowe oraz implanty kręgosłupowe. Przemiana alotropowa tytanu zachodzi w temperaturze ok. 885 °C, powyżej której odmiana alotropowa α (krystalizująca w sieci heksagonalnej A3) przemienia się w odmianę β (krystalizująca w sieci regularnie przestrzennie centrowanej A2) [1,2,32]. Istnieje szereg stopów na bazie tytanu, które znalazły zastosowanie w aplikacjach medycznych, przede wszystkim na elementy implantów. Struktura stopów tytanu po obróbce termicznej determinuje ich podział na cztery grupy:

- stopy α ,
- stopy pseudo α ,
- stopy α - β ,
- stopy β [10].

Pierwiastki stabilizujące fazy α i β przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Pierwiastki stabilizujące w stopach tytanu [10]

| Stabilizowana faza | Pierwiastek |
|--------------------|---|
| α | O, N, C, B, Al, Ga, Ge |
| β | H, V, Mo, Nb, Cr, Fe, Si, Ta, Cu, Ni, Pd, Co, Mn, W |
| - | Zr, Hf, Sn (pierwiastki obojętne) |

Szereg właściwości stopów tytanu, w porównaniu z innymi biomateriałami, determinuje ich najczęstsze użycie w implantologii. Należą do nich:

- najwyższą odpornością na korozję szczelinową, wżerową, naprężeniową i ogólną w środowisku, w którym występują chlorki,
- niska gęstość,
- najwyższa biokompatybilność,
- niski moduł Younga (najniższy spośród metalicznych biomateriałów),
- korzystny stosunek granicy plastyczności do wytrzymałości na rozciąganie,
- skłonność do samopasywacji,
- wysoka wytrzymałość zmęczeniowa [2,33].

Podział (ze względu na mikrostrukturę i wybrane właściwości mechaniczne) obecnie stosowanego tytanu i jego stopów na implanty medyczne przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Właściwości mechaniczne tytanu i stopów tytanu [1,10]

| Struktura | Stop tytanu | Moduł Younga [GPa] | Wytrzymałość na rozciąganie [MPa] | Granica plastyczności [MPa] | Wydłużenie [%] |
|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------|----------------|
| α | cpTi Grade 1 | 115 | 240 | 170 | 24 |
| | cpTi Grade 2 | 115 | 340 | 280 | 20 |
| | cpTi Grade 3 | 115 | 450 | 380 | 18 |
| | cpTi Grade 4 | 115 | 550 | 480 | 15 |
| α - β | Ti-6Al-4V (ELI) | 110 | 930 | 860 | 10-15 |
| | Ti-6Al-7Nb | 105 | 860 | 975 | 10 |
| | Ti-5Al-2.5Fe | 110 | 900 | 820 | 6 |
| | Ti-3Al-2.5V | 100 | 690 | 585 | 15 |
| β | Ti-13Zr-13Nb | 79-84 | 970-1040 | 840-910 | 10-16 |
| | Ti-12Mo-6Zr-2Fe | 74-85 | 1060-1100 | 1000-1060 | 18-22 |
| | Ti-15Mo | 78 | 800 | 655 | 22 |
| | Ti-16Nb-10Hf | 81 | 850 | 730-740 | 10 |
| | Ti-Zr-Nb-Ta | 46-58 | 650-1000 | - | 5-15 |

Dzisiaj najczęściej stosowanymi stopami tytanu są stopy α - β : Ti-6Al-4V i Ti-6Al-4V (ELI). Stopy te znalazły szereg zastosowań w implantologii jako elementy sztucznych stawów: biodrowego, kolanowego, ramiennego, barkowego, skokowego i palczkowych. Wytwarzane są z nich również śruby stabilizujące, gwoździe śródszpikowe, implanty kręgosłupowe, stomatologiczne, elementy instrumentarium chirurgicznego i wiele innych [1,10]. Na rys. 6 przedstawiono implanty stomatologiczne wykonane ze stopu tytanu Ti-6Al-4V.



Rysunek 6. Implanty stomatologiczne wykonane ze stopu tytanu Ti-6Al-4V [34]

Udowodniono jednak szkodliwy wpływ na organizmy żywe wanadu oraz określanego kiedyś mianem obojętnego - aluminium. Wanad powodować może zmiany neurogenne oraz wywoływać silne stany zapalne w tkankach otaczających implant powodując jego obłuzowanie [11,35]. Określono patologiczny wpływ aluminium na układ nerwowy, zwiększenie ryzyka zachorowania na raka piersi w wyniku długotrwałego kontaktu z tym pierwiastkiem, możliwość wywoływania choroby Alzheimera oraz wpływ na obniżenie gęstości kości wokół implantu, który w swym składzie zawiera aluminium

[10,36,37]. Dodatkowo stopy te charakteryzują się wysoką (w porównaniu z kością zbitą) wartością modułu Younga, co prowadzić może do obłuzowania implantu [38].

W celu eliminacji szkodliwego wpływu, przede wszystkim wanadu, opracowano nowe bezwanadowe stopy tytanu, początkowo zawierające jednak w swoim składzie aluminium. Były to stopy tytanu: Ti-6Al-7Nb, Ti-5Al-2.5Fe oraz Ti-3Al-2.5V. Następnie opracowano stopy tytanu pozbawione obu szkodliwych pierwiastków zastępując je pierwiastkami obojętnymi takimi jak Zr, Nb, Ta, lub Mo. Były to stopy drugiej generacji, β : Ti-13Zr-13Nb, Ti-12Mo-6Zr-2Fe, Ti-35Nb-5Ta-7Zr lub Ti-Zr-Nb-Ta [35].

Ponieważ duża różnica pomiędzy właściwościami mechanicznymi implantu i otaczającej tkanki (w przypadku implantów ortopedycznych – kości) prowadzi do całkowitego przenoszenia obciążeń przez implant, co doprowadzić może do atrofii (zaniku) tkanki i obłuzowania implantu, kierunek badań nad nowymi materiałami implantacyjnymi skupia się na opracowaniu materiału o właściwościach jak najbardziej zbliżonych do kości [10]. W ostatnich latach bardzo wiele badań przeprowadzonych zostało z użyciem stopu Ti-13Zr-13Nb, charakteryzującego się bardzo wysoką biokompatybilnością oraz najbardziej zbliżonym do kości, spośród wszystkich stopów tytanu, modułem Younga [39-42]. Porównanie wartości modułu Younga dla najczęściej stosowanych materiałów metalicznych do implantacji oraz kości zbitej i gąbczastej przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Moduł Younga metalicznych materiałów do implantacji oraz kości (zbitej i gąbczastej) [10,35,43]

| Materiał | Moduł Younga, E [GPa] |
|-----------------------|-----------------------|
| Co-Cr-Mo | 240 |
| Stal nierdzewna 316 L | 200 |
| Ti-6Al-4V | 110 |
| Ti-5Al-2.5Fe | 110 |
| Ti-6Al-7Nb | 107 |
| cp Ti | 105 |
| Ti-13Zr-13Nb | 79 |
| Ti-35Nb-5Ta-7Zr | 55 |
| Stopy magnezu | 40-45 |
| Ni-Ti | 30-50 |
| Kość zbita (korowa) | 10-30 |
| Kość gąbczasta | 0,18-0,33 |

Udowodnione zostało również, że stopy tytanu zawierające w swoim składzie cyrkon, w porównaniu z technicznym stopem tytanu (cpTi), stalą nierdzewną oraz stopami tytanu z aluminium i wanadem, charakteryzują się wyższą odpornością korozyjną w środowisku zawierającym ludzkie komórki [44]. Z powodu najbardziej zbliżonych własności mechanicznych stopu tytanu Ti-13Zr-13Nb do kości, jego wysokiej biokompatybilności, wysokiej odporności na korozję i braku w składzie pierwiastków toksycznych, stop ten jest obecnie najbardziej rekomendowany do stosowania na implanty długotrwałe [10,35].

1.1.5. Materiały polimerowe

Materiały polimerowe podzielić można na naturalne i syntetyczne. Do pierwszej grupy należą: kolageny, fibrynogeny, jedwab i chityna. Do polimerów syntetycznych zaliczyć można: silikony, politetrafluoroetyleny, poliuretany, polietyleny, polipropyleny, poliamidy i polimetakrylany metylu. Polimery znalazły zastosowanie między innymi w rekonstrukcji układu krwionośnego (sztuczne żyły i tętnice, elementy sztucznego serca), w medycynie estetycznej (implanty piersi), chirurgii ogólnej (cewniki, nici i siatki chirurgiczne, sztuczna skóra), implantacji układu ruchu (sztuczne ścięgna, główki i panewki endoprotez stawu biodrowego) oraz jako materiały mogące przenosić leki [1,2,45]. Polietylenowy wkład do panewki sztucznego stawu biodrowego wykonany z polietylenu o ultrawysokiej masie cząsteczkowej (UHMPE) przedstawiono na rys. 7.



Rysunek 7. Wkład do panewki endoprotezy stawu biodrowego z polietylenu [46]

Polimery charakteryzują się powtarzalnością, łatwością formowania i sterylizacji bez zmian kształtu, biogodnością w środowisku tkankowym, nieinicjowaniem stanów zapalnych i alergicznych. Ponieważ jednak główną wadą materiałów polimerowych jest zmiana ich właściwości fizykochemicznych w okresie długiego przebywania w środowisku płynów ustrojowych, ich stosowanie na implanty długotrwałe jest ograniczone [1].

1.1.6. Materiały ceramiczne

Materiały ceramiczne ze względu na swoją bardzo wysoką biokompatybilność znalazły szerokie zastosowanie w aplikacjach medycznych. Bioceramikę podzielić można na 3 grupy:

- bioinercyjną,
- biodegradowalną,
- bioaktywną [32].

Ceramika bioinercyjna charakteryzuje się doskonałą odpornością korozyjną oraz wysoką odpornością na zużycie. Wśród bioinercyjnych materiałów ceramicznych wymienić można: tlenek cyrkonu (ZrO_2), tlenek aluminium (Al_2O_3), tlenek tantalum i inne tlenki metali. Ponieważ tlenek aluminium charakteryzuje się dużą odpornością na zużycie tribologiczne, jest on najczęściej stosowany na elementy trące w endoprotezach stawu kolanowego i biodrowego (np. głowy sztucznego stawu biodrowego). Dodatkowo tlenek cyrkonu stosuje się w celu stabilizacji oraz poprawy twardości bioceramiki hydroksyapatytowej [32,47].

Ceramika biodegradowalna resorbuje do tkanek organizmu żywego. Ponieważ podstawową funkcją ceramiki z tej grupy jest umożliwienie zastąpienia jej przez żywą tkankę (np. kostną), znalazła ona szerokie zastosowanie w leczeniu złamań. Przykładem biodegradowalnej ceramiki są fosforany wapnia z kontrolowaną, za pomocą stosunku stechiometrycznego wapnia do fosforu, rozpuszczalnością. Ponieważ ceramika ta nie jest stabilna w wysokich temperaturach, możliwość jej użycia jako implantu jest znacznie ograniczona [48].

Ostatnią grupą materiałów ceramicznych są ceramiki bioaktywne. Wyróżnić tu należy głównie bioszkła (np. 45S5 Bioglass), które mają możliwość łączenia się z żywą kością symulując tym samym procesy osteointegracyjne, nie są toksyczne dla żywych tkanek i używane są do leczenia uszkodzonych kości, oraz hydroksyapatyt (HAp), który charakteryzuje się symulowaniem wzrostu kości, co pozwala na trwałe połączenie implantu z kością. Ponieważ skład chemiczny HAp zbliżony jest do składu chemicznego kości, ceramika ta jest niezwykle biokompatybilna [32,47].

Na rys. 8. przedstawiono głowy i wkład do panewki wykonane z bioceramiki.



Rysunek 8. Głowy i wkład do panewki wykonane z bioceramiki [49]

1.1.7. Materiały węglowe i kompozytowe

Materiały węglowe i kompozytowe znalazły zastosowanie głównie jako sztuczne ścięgna i więzadła, jako wypełnienia w ubytkach kostnych, w chirurgii twarzowo – czaszkowej i jako nici chirurgiczne [2].

Materiały węglowe oparte są na pierwiastkowym węglu i jego odmianach alotropowych: diamencie, fullerenie, graficie i grafenie. Głównym zastosowaniem w medycynie implantacyjnej włókien węglowych jest rekonstrukcja uszkodzonych więzadeł. Badania prowadzone przez prof. Chłopka z Akademii Górniczo – Hutniczej w Krakowie nie wykazały cytotoksyczności włókniny węglowej przy zachowaniu odpowiednich jej właściwości mechanicznych [1,2]. Nanorurki węglowe zbudowane z grafenowych płaszczyzn zwiniętych w cienie rurki charakteryzują się dużą powierzchnią właściwą i zbiorem wyjątkowych właściwości (są bardzo wytrzymałe na rozciąganie, twardsze od diamentu i lżejsze od aluminium). Wykazują również właściwości bakteriobójcze. Trwają wciąż badania nad zastosowaniem

nanorurek węglowych jako modyfikatorów powierzchni implantów, np. w powłokach HAp [50–52]. Jako powłoki na implanty wykorzystywane są również cienkie warstwy diamentowe [53].

Materiały kompozytowe składają się z osnowy oraz ze zbrojenia. Przykładem stosowanych w implantologii materiałów kompozytowych mogą być włókniste materiały kompozytowe. Ponieważ posiadają strukturę podobną do żywych struktur tkankowych, wykorzystywane mogą być jako materiały zespalające, regenerujące lub zastępujące te struktury. Szczególne znaczenia ma zastosowanie tej grupy materiałów jako implantów obciążalnych, posiadają one bowiem odpowiednie własności mechaniczne przy zachowaniu odpowiedniej odpowiedzi biologicznej. W przypadku materiałów kompozytowych do czynienia mamy z co najmniej dwoma komponentami pochodzącymi z różnych grup materiałowych, a ich połączenie pozwala na uzyskanie unikatowych właściwości. Połączenie właściwości wysoce biokompatybilnej, lecz o słabych właściwościach wytrzymałościowych, ceramiki hydroksyapatytowej z włókami węglowymi, które nie są toksyczne dla ludzkich tkanek i posiadają zespół odpowiednich właściwości wytrzymałościowych, pozwala otrzymać nowy materiał o lepszych, od komponentów, biologicznych właściwościach [1,2,54].

1.2. Środowisko i warunki eksploatacyjne implantów

Organizm ludzki, który w przypadku implantów jest ich środowiskiem eksploatacyjnym, składa się głównie z tlenu, węgla, wodoru, azotu, wapnia, fosforu, siarki, potasu, sodu, chloru, magnezu, żelaza i cynku, które połączone są w wodę, białka, tłuszcze, węglowodany oraz sole kwasów organicznych i nieorganicznych. Głównym składnikiem ludzkiego ciała jest woda, a jej udział zmienia się z wiekiem (90 % w okresie płodowym, 60 % w okresie prokreacyjnym oraz 50 % w okresie starości) [55]. Temperatura i pH organizmu w zależności od warunków wewnętrznych i zewnętrznych są zmienne w pewnym zakresie. Dodatkowo mogą się one różnić w zależności od badanego miejsca. Ogólnoustrojową średnią temperaturą ciała jest 37,2 °C, wiadomo jednak, że w stanie spoczynku temperatura ta nieznacznie spada, a w stanie stanu zapalnego (lokalnie lub nie) temperatura wzrasta. Neutralne pH mieści się w zakresie od 5,0–9,0. Dla krwi pH powinno mieścić się w granicy 7,3–7,45. W przypadku ostrego stanu zapalnego lub nieprawidłowego procesu gojenia się rany pH znacznie spada. W zależności od zastosowanego implantu, środowisko i warunki, w których implant spełniać musi stawiane wymagania, są różne. Na przykład implanty wykonane z materiałów polimerowych i przeznaczone na sztuczne żyły lub tętnice muszą zachować odpowiednie właściwości w środowisku krwi, natomiast implanty długotrwałe stosowane w leczeniu ortopedycznym muszą przede wszystkim odpowiednio integrować się z kością. Ponieważ jednak udział wody w organizmie jest znaczący, a płyny ustrojowe są natlenionym płynem o stosunkowo wysokiej temperaturze, zawierającym do 9 % wielu związków nieorganicznych, każdy z stosowanych implantów musi charakteryzować się wysoką odpornością na korozję elektrochemiczną w obecności chlorków [2,54,56].

Dodatkowo w zależności od zastępowanej przez implant funkcji organizmu warunki eksploatacyjne różnią się między sobą, implanty poddawane są bowiem zmiennym obciążeniom. Tak więc trzpienie endoprotez stawu biodrowego muszą być odporne głównie na zginanie i ścinanie, zaś

głowy oraz wewnętrzne powierzchnie panewek w endoprotezach stawu biodrowego oprócz wysokiej odporności korozyjnej muszą charakteryzować się również długotrwałą odpornością na ścieranie w środowisku, w którym nie występuje już doskonale smarujący płyn maziowy (struktury wytwarzające płyn maziowy usuwane są razem ze strukturami kostnymi uszkodzonego stawu podczas zabiegu endoprotezoplastyki) [38]. Zjawisko tarcia o różnym stopniu intensywności występuje również pomiędzy tzw. parami trącymi, do których zalicza się:

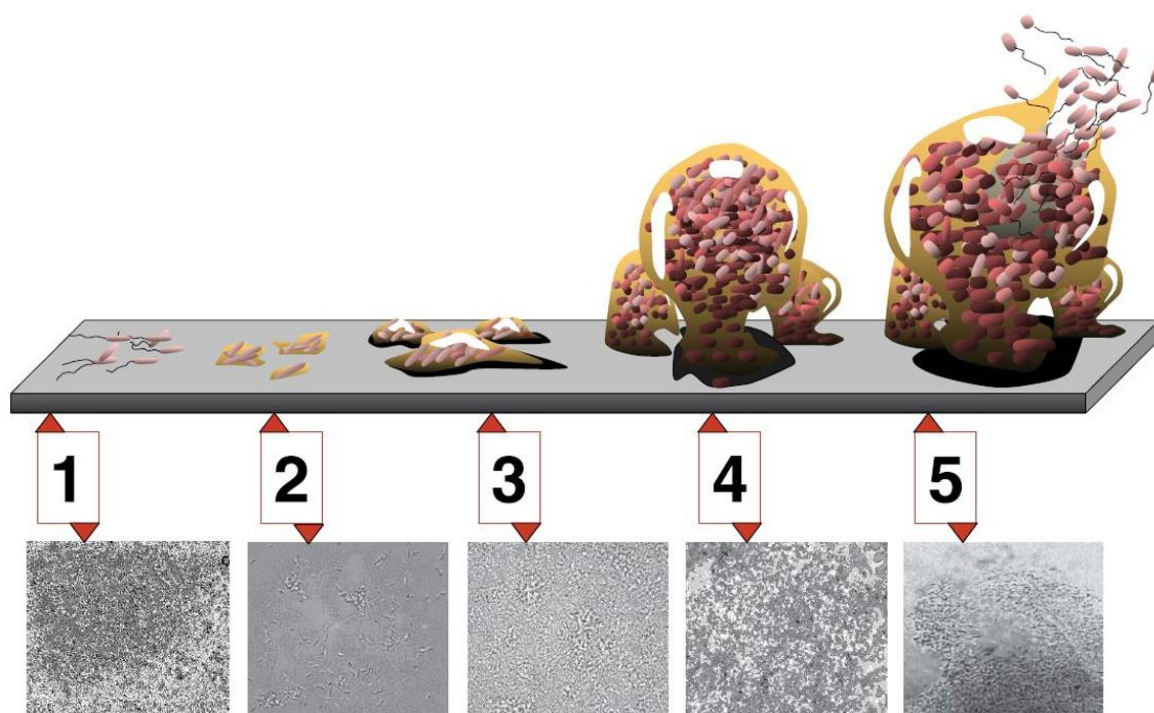
- metal–kość (np. w przypadku trzpienia endoprotezy stawu biodrowego),
- metal–polietylen (np. pomiędzy metalową panewką i polietylenowym wkładem do panewki w endoprotezie stawu biodrowego),
- ceramika–kość (np. w przypadku powłok HAp na powierzchni stopu tytanu do alloplastyki stawowej),
- metal–cement–kość (np. w przypadku cementowej alloplastyki stawowej).

Za pierwszą interakcję organizmu z wszczepionym implantem, traktowanym jako ciało obce, odpowiada układ immunologiczny, który już w początkowej fazie odpowiedzialny może być za odrzucenie implantu. Pomiędzy powierzchnią implantu, a tkanką i płynami ustrojowymi dochodzi do utworzenia wiązań chemicznych (słabych – Van der Walsa lub silnych – kowalencyjnych lub jonowych). Powierzchnia implantu szybko pokryta zostaje mieszaniną małych i dużych biomolekuł (np. protein lub makrocząstek) oraz wody. Skład wytworzonej powłoki uzależniony jest ściśle od właściwości fizykochemicznych powierzchni implantu [2,8]. W przypadku wykrycia zagrożenia przez układ immunologiczny ciała obce pokryte zostaje przez proteiny tego właśnie układu, równocześnie wytworzona zostaje cienka powłoka tkanki włóknistej w celu izolacji ciała obcego oraz wywołany zostaje, przez komórki immunologiczne, stan zapalny [57].

Ważnym problemem z punktu widzenia wszczepiania implantów jest wysokie niebezpieczeństwo infekcji, która doprowadzić może do uszkodzenia tkanek, szybszego niszczenia implantu lub nawet do potrzeby jego całkowitego usunięcia. Ryzyko infekcji wzrasta wraz z możliwością przylegania mikroorganizmów do wszczepianego implantu. Podczas infekcji bakteryjnej, spowodowanej m.in. przez zakażenia występujące na narzędziach chirurgicznych mających bezpośredni kontakt z operowaną tkanką lub implantem lub poprzez naturalnie występującą w organizmie florę bakteryjną, dojść może do zjawiska tworzenia biofilmu bakteryjnego na powierzchni wszczepu [8].

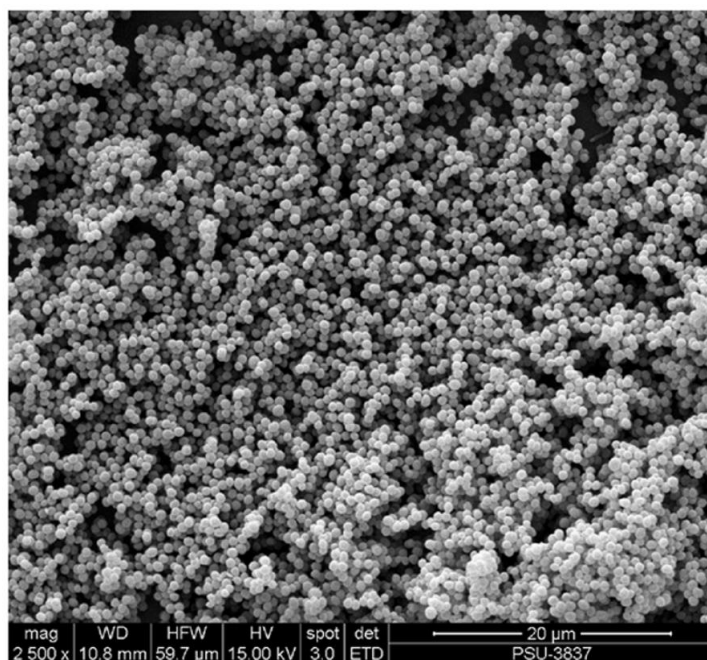
Biofilm określany jest jako wielokomórkowa macierz bakteryjna. W zależności od tworzącego biofilm gatunku bakterii, rodzaju wszczepu i warunków środowiskowych biofilm składać może się z substancji o różnym charakterze chemicznym, m.in. z protein, egzoprotein oraz zewnątrzkomórkowego eDNA. Ponieważ udowodniono oporność biofilmów bakteryjnych na działanie antybiotyków, środków dezynfekcyjnych, czy też odpowiedź immunologiczną organizmu żywego, niezwykle istotne jest odpowiednie zabezpieczenie przed samym powstawaniem biofilmu. Jest to trudne, ponieważ już bardzo mała ilość bakterii (np. *Staphylococcus aureus* lub *Staphylococcus epidermidis*) doprowadzić może do szybkiego pokrycia nawet 95 % powierzchni początkowo zainfekowanego wszczepu [58–60]. Tworzenie biofilmu bakteryjnego składa się z pięciu zasadniczych etapów. Początkowo bakterie

przyczepiają się do materiału wszczepu (etap ten jest jednak odwracalny), następnie dochodzi do rozwoju bakteryjnej macierzy (adhezja bakterii jest już nieodwracalna). Etapy trzeci i czwarty określane są mianem dojrzewania biofilmu. W etapach tych w skład biofilmu oprócz mikroorganizmów wchodzić mogą również martwe komórki, substancje organiczne i wytrącane minerały. Możliwe również jest przyłączanie bakterii innych gatunków. Ostatnim etapem jest migracja bakterii w celu tworzenia nowych kolonii [61]. Graficzny opis etapów tworzenia biofilmu bakteryjnego wraz z obrazami mikroskopowymi dla poszczególnych etapów dla pałeczki ropy błękitnej (*Pseudomonas aeruginosa*) graficznie przedstawiono na rys. 9.



Rysunek 9. Etapy powstawania biofilmu: adhezja odwracalna (1), adhezja nieodwracalna (2), dorastanie (3 i 4), dalsza migracja (5) [61]

Powstawanie biofilmu charakterystyczne jest dla większości gatunków bakteryjnych mikroorganizmów i jest najczęstszą przyczyną odrzucenia implantu przez organizm. Szacuje się, że w przypadku implantów stawu biodrowego i kolanowego od 1,5 do 2,5 %, a w przypadku stabilizujących gwoździ śródszpikowych aż 15 % wszczepów zarażonych zostaje w początkowej fazie po implantacji pierwotnej, co prowadzi do ich rewizji. Dla alloplastycznych implantów rewizyjnych stawu biodrowego i kolanowego odsetek zainfekowanych implantów jest nieco wyższy i wynosi 3,2–5,6 %. Najczęściej za zakażenia bakteryjne na powierzchni implantów odpowiadają bakterie Gram–dodatnie z rodzaju gronkowców: *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis*. Spośród wszystkich zakażeń bakterie te odpowiadają odpowiednio za 34 i 32 % infekcji [58,59]. Zdjęcie SEM biofilmu bakteryjnego bakterii *Staphylococcus epidermidis* na bioszkle przedstawiono na rys. 10.



Rysunek 10. Zdjęcie SEM biofilmu bakteryjnego na bioszkle [62]

Znając czynniki wpływające na powstawanie biofilmu bakteryjnego można minimalizować ryzyko jego występowania. W ostatnich latach w celu eliminacji tego ryzyka lub w celu zmniejszenia wpływu jego występowania zainteresowanie naukowców skupiło się na odpowiednim projektowaniu powierzchni implantów. Udowodniono wpływ chropowatości powierzchni implantu na powstawanie biofilmu. Wraz z jej wzrostem wzrasta ryzyko powstania biofilmu. Rekomendowane jest zatem projektowanie powierzchni implantu o jak najmniejszej chropowatości, co jednak ma znaczący wpływ na osteointegrację; w celu zapewnienia odpowiedniej przyczepności osteoblastów do implantu należy projektować powierzchnię implantu tak, aby chropowatość była jak największa [1,2]. Udowodniono, że srebro i miedź zapobiegają tworzeniu się biofilmu bakteryjnego przy zachowaniu odpowiedniej szybkości namnażania komórek kościotwórczych [60,63].

Prawidłowe funkcjonowanie implantu w środowisku tkanek ustrojowych organizmu ludzkiego ściśle związane jest ze składem chemicznym materiałów na nie stosowanych. Pierwiastki, które występują w implantach, mogą być dla tkanek obojętne, bezpieczne okresowo lub całkowicie toksyczne [1]. Podział biotolerancji metali i stopów w zależności od odporności korozyjnej przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 5. Biotolerancja metali i stopów w zależności od odporności korozyjnej [1]

| Metal / Stop metalu | Biotolerancja |
|------------------------|---------------------------------------|
| Kobalt | toksyczne |
| Miedź | |
| Nikiel | |
| Wanad | |
| Żelazo | bezpieczne okresowo (samopasowane) |
| Aluminium | |
| Molibden | |
| Złoto | |
| Srebro | |
| Stal nierdzewna, 316 L | |
| Stopy Co–Cr | |
| Platyna | obojętne |
| Tantal | |
| Niob | |
| Tytan | |
| Cyrkon | |
| Stopy tytanu | |

Pierwiastki obojętne traktowane są jako biokompatybilne, pozostają bowiem obojętne w środowisku tkanek. Pierwiastki toksyczne powodować mogą odczyny alergiczne, stany zapalne, występowanie zmian nowotworczych lub zjawisko metalozy, polegające na migracji jonów metali do otaczających tkanek powodującej ich obumieranie i w konsekwencji obłuzowanie implantu [1,2]. Chorobowo zmienioną tkankę na skutek metalozy po endoprotezoplastyce stawu kolanowego przedstawiono na rys. 11.



Rysunek 11. Zjawisko metalozy po implantacji stawu kolanowego [64]

Implanty ulegać mogą dodatkowo następującym rodzajom zniszczenia:

- pitting (degradacja materiału związana ze zużyciem zmęczeniowym w parach trących, gdzie w miejsca uszkodzeń pod wpływem ciśnienia umieszczany jest materiał smalny prowadząc tym samym do pęknięcia i wykruszenia materiału),
- fretting (na skutek ruchów oscylacyjnych (drgań) następuje niszczenie materiału i uwalnianie znacznej części produktów uszkodzenia do otaczających tkanek),
- korozja szczelinowa (zachodzi w miejscach, gdzie dopływ środowiska korozyjnego i odpływ produktów korozji jest utrudniony),
- korozja galwaniczna (występuje w przypadku styku dwóch materiałów o różnym potencjale elektrochemicznym w środowisku elektrolitu),
- korozja wodorowa (wynika z absorpcji wodoru i tworzenia pęknięć wskutek uruchomienia poślizgu dyslokacyjnego),
- korozja międzykrystaliczna (występuje na granicach ziaren wskutek pojawiania się obszarów o zróżnicowanym składzie chemicznym),
- uszkodzenia zmęczeniowe (występują na skutek cyklicznych obciążeń i odciążeń elementu, co prowadzi do lokalnego utwardzenia materiału i jego pęknięcia)
- uszkodzenie mechaniczne – pęknięcie (występować może na skutek złego doboru materiału na implant lub niewłaściwego rozkładu sił w układzie materiał–kość) [1,2].

Zdjęcie RTG pękniętego implantu stawu biodrowego przedstawiono na rys. 12.



Rysunek 12. Uszkodzony mechanicznie implant stawu biodrowego [65]

Wykaz ważniejszych mechanizmów niszczenia i możliwych reakcji organizmu na stosowane obecnie materiały na implanty przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6. Mechanizmy niszczenia i możliwe reakcje organizmu dla wybranych materiałów implantacyjnych [8]

| Materiał | Mechanizm niszczenia | Możliwe reakcje organizmu | |
|---------------------|---|---|--|
| Tworzywa metaliczne | stale austenityczne stopy kobaltu stopy tytanu | korozja elektrochemiczna | reakcje toksyczne stany zapalne i metaloza działanie kancerogenne |
| Tworzywa ceramiczne | Al_2O_3 , ZrO_2 | pękanie zużycie ścierne korozja naprężeniowa | materiał obojętny dla organizmu |
| | Bioszkła | pękanie hydroliza | powstanie wiązania |
| | materiały resorbowalne | pękanie resorpcja | odbudowa tkanki kostnej |
| Tworzywa sztuczne | cementy kostne silikony polietylen poliuretan poliester | starzenie degradacja pęcznienie depolimeryzacja zużycie ścierne | reakcje toksyczne reakcje alergiczne działanie kancerogenne stany zapalne |

2. Metody modyfikacji powierzchni implantów

Stosowane dziś metody modyfikacji materiałów metalicznych stosowanych na implanty, takie jak modyfikacja składu chemicznego, metody obróbki plastycznej lub obróbki cieplnej wyczerpały w pewnym zakresie dalsze możliwości poprawy właściwości metalicznych biomateriałów, mające przede wszystkim za zadanie zwiększenie ich biokompatybilności w środowisku tkanek ustrojowych.

Ciągły rozwój metod modyfikacji powierzchni implantów wynika głównie z ograniczonej odporności korozyjnej metalicznych biomateriałów i niewystarczającej ich odporności na zużycie. Modyfikacje powierzchniowe pozwalają jedynie na zachowanie dobrych właściwości mechanicznych materiału metalicznego przy częściowej poprawie właściwości powierzchniowych poprzez wytworzenie warstwy lub powłoki na modyfikowanym materiale. Modyfikacje takie zwiększyć mają (w zależności od zastosowanej metody i założonego efektu) przede wszystkim biokompatybilność poprzez podwyższenie odporności korozyjnej i odporności na zużycie ścierne, zapobieganie zjawisku metalozy oraz poprawę integracji tkanki z kością [54]. Istnieje szereg metod modyfikacji powierzchni, a ogólny ich podział dla implantów tytanowych wyróżnia: metody morfologiczne, fizykochemiczne oraz biochemiczne. Metody morfologiczne (głównie szlifowanie, śrutowanie, polerowanie i trawienie) i fizykochemiczne (głównie anodowanie) mają na celu modyfikację powierzchni tytanu tak, aby zwiększyć adhezję osteoblastów, ich namnażanie, proliferację oraz migrację. Biochemiczne metody mają na celu zwiększenie bioaktywności powierzchni tytanu oraz zapewnienie antybakteryjnych właściwości powierzchni, głównie poprzez osadzanie powłok HAp i nanoHAp, wytwarzanie bioaktywnych hydrożeli zawierających czynniki wzrostu osteoblastów lub dekorowanie cząstkami antybakteryjnymi. Metody modyfikacji powierzchni implantów tytanowych z wyszczególnieniem typu modyfikacji z przywołaniem źródeł literaturowych przedstawiono w tabeli 7 [66,67].

Tabela 7. Techniki modyfikacji powierzchni implantów tytanowych

| Typ modyfikacji | Metoda | Literatura |
|---------------------------------|--|---|
| Morfologiczna i fizykochemiczna | metody mechaniczne: – piaskowanie – polerowanie – szlifowanie | [68] [69–71] [33] |
| | metody chemiczne: – anodowanie – azotowanie – trawienie | [72–74] [75,76] [77] |
| Biochemiczna | powłoki fosforanów wapnia powłoki HAp powłoki nanoHAp bioaktywne i biodegradowalne hydrożele aktywne antybakteryjne cząstki nośniki leków | [78,79] [80,81] [82–84] [57] [85,86] [87,88] |

W celu poprawy odporności korozyjnej oraz zapewnienia lepszej integracji z kością, implanty tytanowe zaczęto pokrywać powłokami fosforanów wapnia (zwanymi apatytami – Ap), a następnie powłokami hydroksyapatytowymi oraz nanohydroksyapatytowymi, będącymi uwodnionymi formami fosforanów wapnia. Wysoka odporność korozyjna tych ceramicznych materiałów znacznie przewyższa odporność korozyjną tworzyw metalicznych, dodatkowo bioceramika hydroksyapatytowa wspomaga osteointegrację powierzchni implantu z kością. Biokompatybilność hydroksyapatytu wynika również z podobnej struktury krystalicznej oraz zbliżonego składu chemicznego do apatytu występującego w naturalnej ludzkiej kości. Ponadto powłoka hydroksyapatytowa zapobiegać może uwalnianiu jonów metali pochodzących z implantu do tkanek go otaczających, czyli zjawisku metalozy. Obecnie wytwarzane powłoki hydroksyapatytowe charakteryzują się jednakże słabą adhezją do metalicznego podłoża.

Poprawę właściwości mechanicznych powłok HAp uzyskać można poprzez wytworzenie powłok kompozytowych, np. HAp z nanosrebrem lub materiałami polimerowymi [66,89–91].

2.1. Powłoki hydroksyapatytowe i nanohydroksyapatytowe

Hydroksyapatyt (HAp) jest uwodnionym fosforanem wapnia (CaP), złożonym z wapnia, fosforu, tlenu i wodoru, o wzorze sumarycznym $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. CaP składem chemicznym przypomina kość, a krystaliczna jego forma jest ważnym składnikiem kości. W zależności od stosunku molowego wapnia do fosforu (Ca/P) po obróbce termicznej wyróżnia się trzy podstawowe formy fosforanów wapnia:

- stosunek $\text{Ca/P} < 1,667$ – trójfosforan wapnia, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, niestabilny w środowisku tkankowym, biodegradowalny, po implantacji może być zastąpiony przez kość,
- stosunek $\text{Ca/P} = 1,667$ – hydroksyapatyt, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, stabilny w środowisku tkankowym,
- stosunek $\text{Ca/P} > 1,667$ – tlenek wapnia, CaO, stabilny w środowisku tkankowym, faza szkodliwa, zaburzać może biologiczną odpowiedź na implant [89,92].

Hydroksyapatyt według występowania podzielić można na trzy grupy: mineralogiczny (występujący w przyrodzie jako składnik skał osadowych i metamorficznych), biologiczny (występujący głównie w zębach, kościach i tkankach, które uległy patologicznym zwapnieniom np. kamienie nerkowe) oraz syntetyczny [43].

Hydroksyapatyt jest najbardziej stabilnym fosforanem wapnia. Zachowuje wysoką odporność korozyjną, dzięki czemu stał się najczęściej używanym w implantacji materiałem ceramicznym stosowanym na powłoki na metalicznych implantach tworząc z nimi kompozyty o unikatowych właściwościach. Właściwości tworzywa hydroksyapatytowego przedstawiono w tabeli 8.

Tabela 8. Wybrane właściwości tworzywa hydroksyapatytowego [93]

| Właściwość | Wartość | Jednostka |
|------------------------|---------|-----------------------------------|
| Gęstość | 3,15 | g/cm ³ |
| Współczynnik Poissona | 0,3 | – |
| Temperatura topnienia | 1660 | °C |
| Ciepło właściwe | 0,15 | cal/g*K |
| Rozszerzalność cieplna | 0,01 | 10 ⁻⁶ *K ⁻¹ |

Hydroksyapatyt jest materiałem ceramicznym charakteryzującym się dużą kruchością. Energia pęknięcia spiekanych materiałów hydroksyapatytowych stanowi 1/100 energii pęknięcia kości zbitej. Szacuje się, że wytrzymałość na ściskanie hydroksyapatytu (gęstego) do zastosowań medycznych powinna być 2–3 razy wyższa niż kości, a wartość modułu Younga jak najbardziej zbliżona. W przypadku wytrzymałości na ściskanie warunek zostaje spełniony, niestety wysoki moduł Younga hydroksyapatytu (~ 120 GPa) znacznie przewyższa moduł kości zbitej (~ 30 GPa), prowadząc do zaniku kości wokół implantu. Powoduje to, że zastosowanie bioceramiki hydroksyapatytowej, bez dodatkowej modyfikacji, w implantacji staje się ograniczone [43].

Porównanie właściwości mechanicznych hydroksyapatytu z właściwościami kości ludzkiej przedstawiono w tabeli 9.

Tabela 9. Właściwości mechaniczne tworzyw hydroksyapatytowych oraz kości zbitej i gąbczastej [43,94–96]

| Materiał | Moduł Younga [GPa] | Wytrzymałość na ściskanie [MPa] | Wytrzymałość na zginanie [MPa] | Wytrzymałość na rozciąganie [MPa] |
|-----------------------|--------------------|---------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| Gęste tworzywo HAp | 80 – 110 | 500 – 100 | 115 – 200 | 40 – 3000 |
| Porowate tworzywo HAp | 20 – 137 | 2 – 100 | 2 – 11 | 3 |
| Kość zbita | 3 – 30 | 100 – 230 | 50 – 150 | 60 – 160 |
| Kość gąbczasta | 0,18 – 0,33 | 1,9 – 7,0 | 15,8 | – |

Opracowano wiele metod wytwarzania syntetycznego hydroksyapatytu:

- mokre – polegające na reakcjach zobojętnienia kwasów i zasad,
- suche – wykorzystujące reakcje zachodzące w stanie stałym w wysokiej temperaturze (powyżej 900 °C),
- hydrotermalne – wykonywane w specjalnych autoklawach pod ciśnieniem pary wodnej,
- topnikowe – wykorzystujące reakcje pomiędzy sproszkowanymi substratami zawierającymi fosfor i wapno, a topnikami,
- żol - żel – polegające na reakcjach w środowisku roztworów wodnych lub alkoholi [1].

Hydroksyapatyt znalazł szerokie zastosowanie w aplikacjach medycznych. Jako granulatu stosowany jest w implantologii stomatologicznej w celu lepszej integracji tkanki kostnej z implantem i szybszej regeneracji uszkodzonej kości. W celu leczenia dużych ubytków kostnych (np. na skutek zmian nowotworowych) stosowane są porowate struktury hydroksyapatytowe, będące ceramicznym rusztowaniem dla nowo narastającej kości. Najpowszechniej jednak hydroksyapatyt wykorzystywany jest jako powłoki na metalicznych implantach zapewniające zwiększoną integrację kości z implantem, lepszą

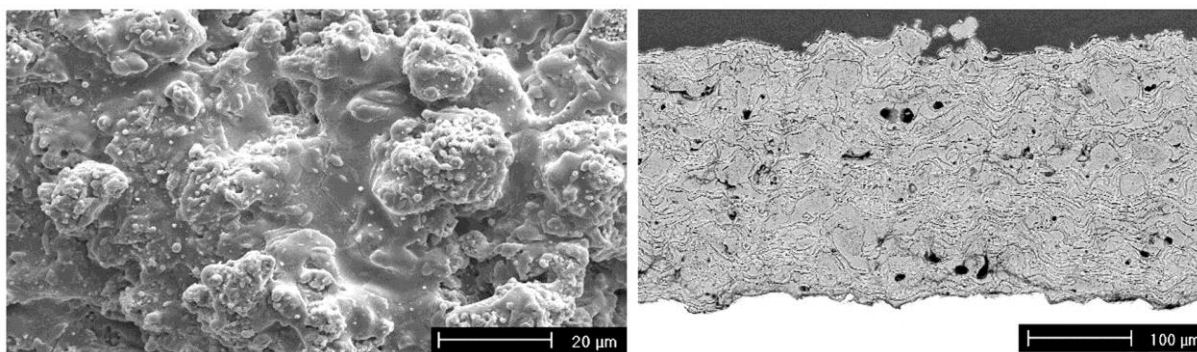
odporność korozyjną i zabezpieczenie przed uwalnianiem jonów metali do otaczających implant tkanek [43,92].

W celu poprawy właściwości hydroksyapatytów opracowane zostały metody wytwarzania nanohydroksyapatytów. Nanokrystaliczny hydroksyapatyt wykazuje lepszą spiekalność, większe zagęszczenie (wynikające ze znacznie większej powierzchni właściwej nanomateriałów), większą odporność na kruche pękanie podczas obróbki termicznej. Udowodniono również, że nanohydroksyapatyt, w porównaniu ze swym odpowiednikiem w skali mikro, charakteryzuje się większą bioaktywnością. Daje to możliwość uzyskania powłok o bardzo małej grubości, wolnych od pęknięć, z lepszymi właściwościami mechanicznymi wpływającymi na adhezję przy zachowaniu doskonałych właściwości przeciwkorozyjnych i biologicznych. Liczne badania potwierdzają, że to nanotechnologia może w znacznym stopniu wpłynąć na poprawę biokompatybilności stosowanych obecnie materiałów na implanty [97,98].

Istnieje szereg metod wykorzystywanych do wytwarzania powłok hydroksyapatytowych (HAp) oraz nanohydroksyapatytów (nHAp). Najpopularniejsze metody to:

- głębokie zanurzania (*ang. dip coating*),
- zol – żel (*ang. sol – gel*),
- elektroforetyczne osadzanie (*ang. electrophoretic deposition – EPD*),
- elektrochemiczne osadzanie (*ang. electrochemical deposition*),
- natryskiwanie plazmowe (*ang. plasma sprayng*),
- rozpylanie magnetronowe (*ang. magnetron sputtering*),
- biomimetyczne (*ang. biomimetic*),
- pulsacyjne osadzanie laserowe (*ang. pulsed laser deposition – PLD*) [3,99].

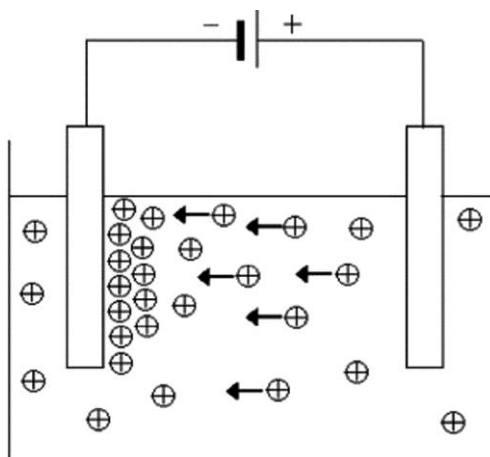
Obecnie najszerszej stosowaną komercyjnie metodą wytwarzania powłok hydroksyapatytowych na powierzchni implantów jest metoda natryskiwania plazmowego. Metoda ta polega na nagraniu proszku hydroksyapatytu do temperatury wyższej niż topnienia (najczęściej do temperatury 10000 lub nawet 30000 K) w celu uzyskania strumienia plazmy, który następnie z dużą prędkością uderza w materiał podłoża. Po osadzeniu powłoki konieczne jest poddanie jej dalszej obróbce termicznej, najczęściej w temperaturze 400 °C. Otrzymane powłoki zawierają w swoim składzie obok krystalicznego HAp i innych fosforanów wapnia, również amorficzny HAp – od 5 do 20 %. Ponadto powłoki uzyskane metodą natryskiwania plazmowego charakteryzują się dużą (powyżej 20 μm), nierównomierną grubością, która dodatkowa obniża i tak słabą adhezję powłoki do metalicznego podłoża. Powłoki wykazują duże naprężenia wewnętrzne, zawierają dużą liczbę aglomeratów, pęknięć i porów, które pogarszają stopień pokrycia powierzchni metalicznej powłoką. Wady te w znaczącym stopniu mogą przyczynić się do uszkodzeń powstających na granicy implant – tkanka [99]. Topografię powierzchni i przekrój powłoki hydroksyapatytowej uzyskanej metodą natryskiwania plazmowego, obserwowanej za pomocą SEM przedstawiono na rys. 13.



Rysunek 13. Topografia (zdjęcie lewe) i przekrój (prawe) powłoki HAp [100]

W wyniku wielu wad otrzymywanych powłok HAp, jak i samego procesu natryskiwania plazmowego, inne techniki wytwarzania powłok są stale rozwijane, wśród nich metoda elektroforetycznego osadzania (EPD).

Proces elektroforetycznego osadzania (EPD), odkryty w roku 1808 przez Rosjanina Ruess'a jest elektrochemiczną metodą wytwarzania powłok, która w ostatnich latach budzi coraz większe zainteresowanie. EPD jest procesem przebiegającym dwuetapowo, zwykle w układzie dwuelektrodowym. W pierwszym etapie pomiędzy elektrody przyłożone zostaje zewnętrzne napięcie, które wymusza migrację odpowiednio naładowanych cząstek, umieszczonych w cieczy, w kierunku przeciwnie naładowanej elektrody. Drugim etapem określa się osadzanie naładowanych cząstek na elektrodzie i wytworzenie na niej stosunkowo zwartej i homogenicznej powłoki [5,101]. Schemat elektroforetycznego osadzania przedstawiono na rys. 14.



Rysunek 14. Schemat elektroforetycznego osadzania w układzie 2–elektrodowym [101]

Do głównych zalet procesu elektroforetycznego należą:

- możliwość osadzania materiałów polimerowych, ceramicznych, metalicznych, biologicznych i kompozytowych,
- możliwość uzyskiwania powłok o zróżnicowanych właściwościach,
- możliwość dokładnego kontrolowania stechiometrii procesu,
- możliwość osadzania materiałów nanometrycznych,

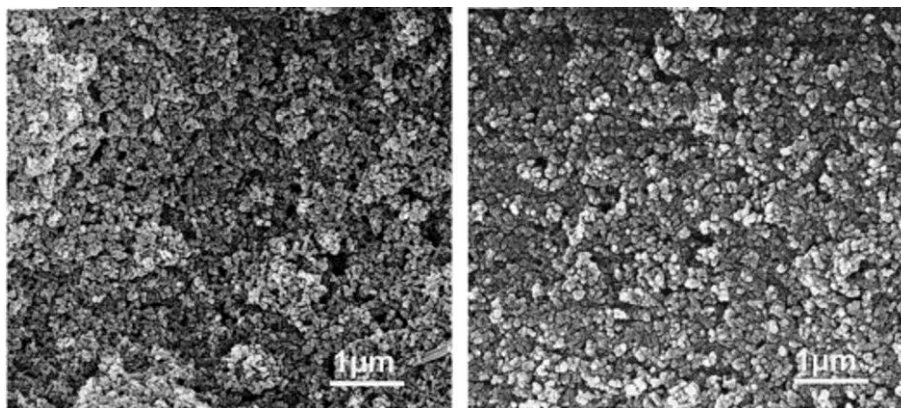
- możliwość równomiernego pokrywania materiałów o skomplikowanym kształcie, również materiałów porowatych,
- powtarzalność procesu,
- wysoka jednorodność uzyskanych powłok,
- niska temperatura procesu,
- niska cena oprzyrządowania,
- szybkość i łatwość przeprowadzania procesu [102,103].

Proces elektroforetycznego osadzania pomimo swej prostoty pozwala na uzyskiwanie powłok o bardzo zróżnicowanych właściwościach. Możliwe jest to dzięki znaczącej liczbie zmiennych parametrów procesu, kontrolowanych podczas osadzania powłok. Wpływ większości parametrów na właściwości uzyskiwanych powłok został już określony [5]. Ponieważ jednak możliwe jest stosowanie kombinacji zmiennych, realna jest także dalsza optymalizacja procesu w kierunku otrzymywania powłok o kontrolowanych właściwościach. Parametry elektroforetycznego osadzania podzielono na te związane z zawiesiną i te związane z procesem:

- związane z zawiesiną:
 - wielkość cząstek – większe cząstki osadzają się trudniej (wynika to głównie z faktu, że potrzeba znacznie większej siły, aby przeciwdziałać sile grawitacji dla dużych cząstek), możliwe jest osadzanie każdej wielkości cząstek, również tych w skali nano,
 - stała dielektryczna stosowanej cieczy – zbyt wysoka wartość stałej dielektrycznej zaburza ruchliwość elektroforetyczną, a zbyt mała wartość powoduje, że osadzanie nie jest możliwe,
 - przewodność zawiesiny – zbyt duża przewodność powoduje, że cząstki migrują bardzo powoli, a zbyt duża oporność powoduje ładowanie elektryczne cząstek i ich destabilizację,
 - lepkość zawiesiny – niskie wartości lepkości zawiesin są pożądane w czasie procesu,
 - potencjał *zeta* cząstek – konieczne jest osiągnięcie równomiernej i wysokiej wartości ładunku powierzchniowego cząstek, niski ładunek powoduje koagulowanie cząstek i uzyskiwanie porowatych struktur, zbyt wysoki ładunek sprawia, że cząstki odpychają się wzajemnie doprowadzając do wysokiej gęstości upakowania cząstek,
 - stabilność zawiesiny – zbyt wysoka nie pozwoli na ruch cząstek pod wpływem małej wartości napięcia, zbyt niska spowoduje szybką sedymentację cząstek,
- związane z procesem:
 - czas osadzania – wraz ze wzrostem czasu wzrasta grubość powłoki, początkowo wzrost czasu powoduje liniową zmianę masy wytworzonej powłoki,
 - przyłożone napięcie – wzrost napięcia powoduje szybszą migrację cząstek, za niskie i za wysokie wartości napięcia zaburzają prawidłową migrację cząstek,

- zawartość cząstek w zawiesinie – wysoka zawartość cząstek powoduje, że wszystkie z nich osadzają się w takim samym tempie, niska natomiast pozwala na transport cząstek zgodnie z ich mobilnością elektroforetyczną,
- przewodność elektrod – niska przewodność zastosowanych elektrod powoduje, że cząstki przemieszczają się zbyt wolno i niepoprawnie powodując powstanie powłok o słabej jakości [5,101,104].

Wszystkie wyżej wymienione parametry pozwalają na odpowiednią optymalizację procesu elektroforetycznego osadzania powłok hydroksyapatytowych i nanohydroksyapatytowych na stopach tytanu. W ostatnich latach dostrzegalny jest znaczący wzrost publikacji dotyczących osadzania powłok nanoHAp metodą EPD, charakteryzują się one bowiem lepszymi właściwościami zarówno mechanicznymi, chemicznymi, jak również biologicznymi [97,105]. Uzyskanie cienkich powłok nanoHAp za pomocą metody EPD jest możliwe, ponieważ proces ten pozwala wykorzystywać cząstki również o bardzo małych wielkościach. Topografię powłok nanoHAp uzyskanych metodą elektroforetycznego osadzania (z zastosowaniem różnych elektrolitów) przedstawiono na rys. 15.



Rysunek 15. Powłoki nanoHAp uzyskane metodą EPD z wykorzystaniem różnych elektrolitów, izopropanolu (po lewej) i butanolu (po prawej) [106]

2.2. Powłoki kompozytowe

Kompozyty, będące materiałami powstałymi na skutek łączenia komponentów z różnych grup materiałów (takich jak materiały metaliczne, ceramiczne, polimerowe czy węglowe) w celu uzyskania unikatowych właściwości, znalazły szerokie zastosowanie w aplikacjach medycznych. Możliwe jest takie projektowanie składu kompozytu, aby uzyskać wymagane właściwości każdego z komponentów. Daje to ogromne możliwości modyfikacji właściwości końcowych materiału kompozytowego. Materiały kompozytowe występują również naturalnie w ludzkim organizmie. Przykładem jest ludzka kość – złożona z włókien kolagenowych i hydroksyapatytowej osnowy [2]. Układy kompozytowe od dawna wykorzystywane są w implantacji. Najwcześniej opracowanym i dotychczas najczęściej wykorzystywanym układem jest pokrycie metalicznego podłoża powłoką z materiału ceramicznego lub wytwarzanie na jego powierzchni warstwy ceramiki. Przykładem układu kompozytowego z metalicznego podłoża i ceramicznej powłoki jest trzpień endoprotezy stawu biodrowego ze stopu tytanu pokryty

powłoką bioceramiki hydroksyapatytowej. Połączenie takie używane jest w implantach długotrwałych już od lat 70. ubiegłego wieku. Trzpień wykonany z materiału metalicznego odpowiada głównie za przenoszenie obciążeń, natomiast bioceramiczna powłoka za odpowiednią integrację implantu z kością. Dodatkowo powłoka zapewnia lepszą odporność korozyjną metalowego trzpienia oraz częściowo zapobiega uwalnianiu jonów metalu do tkanek [1]. Trzpień endoprotezy stawu biodrowego ze stopu Ti-6Al-4V pokrytego powłoką HAp przedstawiono na rys 16.



Rysunek 16. Trzpień endoprotezy stawu biodrowego ze stopu tytanu Ti-6Al-4V pokryty powłoką HAp [107]

Ponieważ powłoki hydroksyapatytowe nie spełniały, i w dalszym ciągu nie spełniają, swoich wymagań (charakteryzują się bowiem dużą kruchością i słabą adhezją do metalicznego podłoża), opracowywane są liczne modyfikacje powłok na bazie HAp. Wybrane metody modyfikacji powłok na bazie HAp z wyszczególnieniem metody wytwarzania oraz składu uzyskanego kompozytu z przywołaniem źródeł literaturowych przedstawiono w tabeli 10.

Tabela 10. Kompozytowe powłoki na bazie HAp

| Skład kompozytu | Metoda wytwarzania powłoki | Literatura |
|-----------------------------------|----------------------------|------------|
| HAp / polikaprolaktyna | głębokie zanurzenie | [108] |
| HAp / nanorurki węglowe | osadzanie laserowe | [109] |
| NanoHAp / kolagen | elektrochemiczne osadzanie | [110] |
| HAp / chitozan / heparyna | | [111] |
| HAp / grafen | | [112] |
| HAp / chitozan | | [113] |
| HAp / silikon / nanorurki węglowe | | [114] |
| HAp / metyloceluloza | zol – żel | [115] |

Przedstawione w tabeli 10. metody modyfikacji powłok na bazie hydroksyapatytu stosowane były głównie w celu poprawy właściwości mechanicznych, adhezji powłoki do metalicznego podłoża, odporności korozyjnej oraz podwyższenia biokompatybilności.

Najczęściej występującym powikłaniem pooperacyjnym, wskutek którego implant musi zostać poddany resekcji, jest występowanie infekcji. Najczęściej dochodzi do nich na skutek oddziaływania z zarażonym środowiskiem operacyjnym (np. narzędziami chirurgicznymi), zakażonym implantem lub z naturalnie występującą w ludzkim organizmie florą bakteryjną. W sytuacji takiej możliwe jest pojawienie się biofilmu bakteryjnego na powierzchni implantu, który uniemożliwia tkankom utworzenie trwałego połączenia wszczepu z kością. W celu uniknięcia występowania infekcji opracowanych zostało wiele kompozytów na bazie HAp lub nanoHAp mających zapewnić lokalną osłonę antybakteryjną w obrębie implantu. Do najczęściej stosowanych biobójczych substancji należą: leki bakteriobójcze (np. wankomycyna i penicylina), pierwiastki metali (głównie srebro, złoto, miedź i cynk), związki nieorganiczne (np. tlenek cynku, ditlenek tytanu) oraz związki organiczne (chitozan, kolagen) [59,116–119].

W tabeli 11. przedstawiono wybrane metody modyfikacji powłok na bazie HAp stosowane w celu zapewnienia osłony antybakteryjnej z wyszczególnieniem metody wytwarzania, składu uzyskanego kompozytu, szczepów bakterii, dla których potwierdzono ich biobójczość oraz z przywołaniem źródeł literaturowych.

Tabela 11. Kompozytowe powłoki na bazie HAp z osłoną biologiczną

| Skład kompozytu | Metoda wytwarzania | Potwierdzona biobójczość | Literatura |
|-----------------------------|--|---|------------|
| HAp / kolagen / wankomycyna | elektrochemiczne osadzanie | <i>Staphylococcus aureus</i> | [116] |
| HAp / Ag / CeO ₂ | natryskiwanie plazmowe | <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> | [120] |
| HAp / Ag | strącanie | <i>Staphylococcus aureus</i> | [121] |
| HAp / nanoAg | przetwarzanie mikrofalowe | <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> | [122] |
| HAp / nanoAg | rozpylanie magnetrone | <i>Escherichia coli</i> | [123] |
| HAp / Cu / Sr | elektroforetyczne osadzanie | <i>Escherichia coli</i> | [124] |
| HAp / TiO ₂ / Ag | anodowanie / elektrochemiczne osadzanie | <i>Escherichia coli</i> | [125] |
| NanoHAp / nanoCu | elektroforetyczne osadzanie | <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> | [126] |
| HAp / Ag / F | pulsacyjne osadzanie laserowe | <i>Escherichia coli</i> | [86] |
| HAp / Cu / Zr | pulsacyjne osadzanie laserowe | <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> | [127] |

Przeprowadzone w zakresie wykorzystania powłok kompozytowych w aplikacjach medycznych studia literaturowe pozwalają stwierdzić, że powłoki na bazie hydroksyapatytu stosowane w celu poprawy właściwości mechanicznych i adhezji z podłożem metalicznym łączone są z materiałami polimerowymi, czy to nieorganicznymi, czy pochodzenia organicznego. Poprawa właściwości

prawdopodobnie wynika z połączenia hydroksyapatytowego zbrojenia o dużej twardości z materiałem polimerowym o znacznie większej plastyczności, który jest w tym układzie kompozytowym ośrodkiem doprowadzającym do relaksacji naprężeń powstających na skutek odkształceń w materiale ceramicznym). Wytwarzanie tego rodzaju powłok jest przykładem biomimetyzmu, będącego ideą naśladowania rozwiązań występujących w naturze [2]. W celu zapewnienia bakteriobójczości powłok na bazie HAp odchodzi się od stosowania antybiotyków zamieniając je pierwiastkami lub związkami z antibakteryjnymi właściwościami.

3. Zastosowanie srebra i miedzi w aplikacjach medycznych

Ponieważ coraz częściej antybiotyki określane są mianem szkodliwych, również dla zdrowych ludzkich tkanek, zaczęto poszukiwać innych rozwiązań w walce z drobnoustrojami. Dodatkowo stwierdzono oporność biofilmu na działanie antybiotykoterapii, a szczepy bakteryjne są w stanie uodparniać się na kolejne rodzaje antybiotyków [4,128].

W celu zapewnienia osłony biologicznej najczęściej wykorzystywanym pierwiastkiem metalicznym jest srebro, które już w starożytności przez Greków stosowane było np. do dezynfekcji naczyń, co miało zmniejszyć ryzyko rozprzestrzeniania się groźnych chorób. Dzisiaj srebro, dzięki swym bakteriobójczym właściwościom, znajduje szerokie zastosowanie np. jako pokrycie elementów narzędzi chirurgicznych, dodatek do plastrów leczących rany oparzeniowe lub jako pierwiastek w kompozytowych powłokach na implanty i w cementach kostnych [129,130].

Obok srebra również złoto i miedź znalazły zastosowanie w aplikacjach medycznych. Pierwszy z pierwiastków posiada równie wysokie właściwości bakteriobójcze jak srebro, dodatkowo złoto ma bardzo duże możliwości przyłączania do swojej powierzchni ligandów lub makrofagów, co pozwala wykorzystywać ten pierwiastek w diagnostyce nowotworowej (obrazowaniu komórek nowotworowych) lub określaniu ryzyka wystąpienia miażdżycy. Miedź posiada mniejsze właściwości bakteriobójcze niż srebro, lecz również stosowana jest w leczeniu bakteryjnych infekcji i jako środek zapobiegawczy (np. pokrycia metalowych elementów w infrastrukturze szpitalnej). Udowodniono, że miedź wykorzystana może zostać w leczeniu nowotworów [129,131].

Ponieważ cząsteczki w skali nano wykazują znacząco wyższą reaktywność chemiczną w porównaniu z ich odpowiednikami w skali mikro, ich właściwości (np. bakteriobójcze) również wzrastają, co prawdopodobnie wynika z ich większej powierzchni właściwej. Rosnące ciągle zainteresowanie nanotechnologią wpływa na stosowane aktualnie antybakteryjne materiały – te w skali nano wypierają swe większe odpowiedniki. Nanomateriały metaliczne obecnie otrzymywane są metodami: chemicznymi (takimi jak redukcja chemiczna czy elektrosynteza), fizykochemicznymi (wykorzystujących głównie zjawiska mikrofal i ultradźwięków), mechanicznymi (przede wszystkim rozdrabnianie z wykorzystaniem młynów kulowych) lub biochemicznymi (wykorzystując do syntezy ekstrakty bakteryjne oraz grzybowe) [4,130].

3.1. Zastosowanie srebra i nanosrebra

Srebro jest metalem szlachetnym o liczbie atomowej 47 i masie molowej 107,87 g/mol, naturalnie występującym w przyrodzie w stanie wolnym. Spośród wszystkich pierwiastków metalicznych posiada ono najwyższy współczynnik odbicia światła oraz najwyższą przewodność cieplną i elektryczną. Temperatura topnienia srebra wynosi 961 °C, niemniej jednak udowodnione zostało, że w przypadku mniejszych cząstek temperatura topnienia może gwałtownie spadać (im mniejsze cząstki, tym niższa temperatura topnienia). W przypadku srebra dla wielkości cząstki 2,4 nm temperatura topnienia wynosi

360 °C. Badania potwierdziły obecność tego pierwiastka we wszystkich lądowych i morskich organizmach żywych, a dzienne zapotrzebowanie w ludzkim organizmie wynosi 1,8–80,0 µg. Mimo to funkcja fizjologiczna tego pierwiastka w żywych organizmach wciąż pozostaje nieznana [132–135].

Srebro i nanosrebro znalazło szerokie zastosowanie w aplikacjach przede wszystkim dzięki swoim silnie antybakteryjnym i antygrzybiczym właściwościom.

Aktualnie pierwiastek ten stosowany jest w obszarach medycznych jako:

- składnik środków dermatologicznych (głównie jako kremy antybakteryjne),
- środki opatrunkowe (przede wszystkim w przypadku poparzeń i długo gojących się ran),
- pokrycia rurek intubacyjnych (wykazano zmniejszone ryzyko występowania zapalenia płuc u chorych intubowanych rurkami ze srebrem),
- inne środki antystatyczne, takie jak krople do oczu, pasty do zębów lub zawiesiny do picia – np. srebro koloidalne,
- nośniki leków,
- środki w terapii nowotworowej (udowodniono niszczenie nowotworowych komórek przez związki zawierające nanosrebro, np. w przypadku białaczki, raka piersi, raka wewnątrztrętrowego lub płuc, przy czym nieuszkodzone pozostawały zdrowe komórki),
- materiał na pokrycia implantów lub ich domieszkowanie (np. implantacja jonowa lub powłoki HAp/nanoAg) [4,136–138].

Pierwiastkowe srebro swoje działanie bakteriobójcze zawdzięcza przede wszystkim możliwości przenikania przez błonę komórkową bakterii, prawdopodobnie bez jej uszkodzenia. Następnie wchodzi w reakcję z cytoplazmą komórkową w jej wnętrzu. Dalej dochodzi do denaturacji rybosomów, hamując tym samym możliwość ekspresji enzymów i białek, które niezbędne są do wytwarzania adenylotryfosforanu (ATP). Komórka bakteryjna w efekcie nie jest zdolna do zachowania struktury swojej błony, co skutkuje jej uszkodzeniem [139]. W przypadku grzybów, srebro powoduje zaburzenia w ich gospodarce wodnej, co ma bezpośredni, negatywny wpływ na ich możliwość namnażania się [133]. W wyniku zwiększonej liczby pojedynczych atomów srebra w jego nanocząsteczkowej postaci oraz znacznie większej powierzchni właściwej w porównaniu z cząstkami w skali makro, zauważono, że nanocząstki srebra zapewniają dłuższą osłonę antybakteryjną (uwalniają się do tkanek przez dłuższy czas), dodatkowo mają silniejsze właściwości biobójcze [140].

Działanie bakteriobójcze nanosrebra potwierdzone zostało dla następujących szczepów:

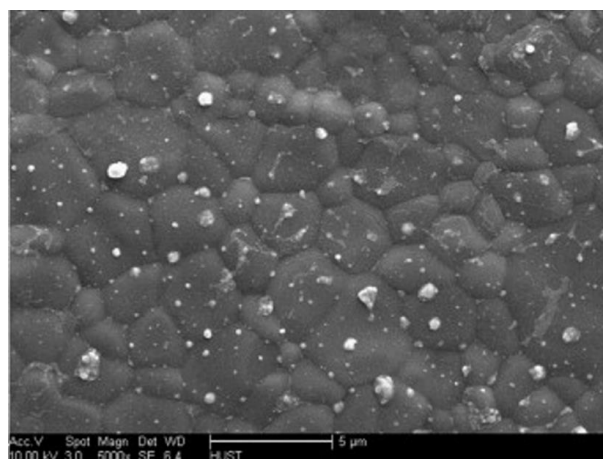
- *Bacillus cereus* (bakteria Gram–dodatnia, tlenowa, może powodować m.in. zatrucie pokarmowe i infekcyjne zapalenie wsierdzia),
- *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty, bakteria Gram-dodatnia, względnie beztlenowa, może powodować m.in. zapalenie kości i szpiku),
- *Micrococcus luteus* (bakteria Gram–dodatnia, tlenowa, może powodować m.in. zapalenie opon mózgowych),
- *Enterococcus* (enterokoki, bakterie Gram–dodatnie, względnie beztlenowe, mogą powodować sepsę),

- *Pseudomonas aeruginosa* (pałeczka ropy błękitnej, bakteria Gram–ujemna, tlenowa powodować może m.in. zakażenia dróg oddechowych i skóry),
- *Salmonella typhimurium* (bakteria Gram–dodatnia, bezwzględnie tlenowa, może powodować m.in. niezbyt żołądkowo–jelitowy),
- *Escherichia coli* (pałeczka okrężnicy, bakteria Gram–ujemna, względnie beztlenowa, odpowiedzialna m.in. za zakażenia pooperacyjne),
- *Klebsiella pneumonia* (pałeczka zapalenia płuc, bakteria Gram–ujemna, względnie beztlenowa, odpowiedzialna m.in. za zapalenie płuc i zakażenia szpitalne) [90,141–144].

Nanocząstki w implantologii wykorzystywane są w wytwarzaniu skafoldów, warstw i powłok na implantach, głównie długotrwałych. Ich antybakteryjne właściwości zapobiegają powstawaniu na powierzchni implantów biofilmu, który odporny jest na działanie antybiotyków. Dodatkowo nanocząstki zapewnić mogą długoterminową osłonę antybakteryjną, pomagają leczyć stan zapalny i sprzyjają odpowiedniemu gojeniu się rany po zabiegu implantacji. W ostatnich latach trwają intensywne badania nad wykorzystaniem nanocząstek srebra między innymi w:

- hydroksyapatytowych skafoldach [145],
- nanohydroksyapatytowych skafoldach kompozytowych [146],
- kompozytowych powłokach hydroksyapatytowych [147],
- powłokach hydroksyapatytowych [148–151],
- powłokach nanohydroksyapatytowych [82,91,152–154].

Powłokę hydroksyapatytową z nanosrebrem przedstawiono na rys. 17.



Rysunek 17. Powłoka hydroksyapatytowa z nanosrebrem [145]

Niestety, wraz z rozwojem nanotechnologii pojawia się coraz więcej zastrzeżeń i obaw związanych ze stosowaniem nowych materiałów lub materiałów, które posiadają odmienne właściwości od swoich odpowiedników w skali mikro. Toksyczność nanomateriałów zależy przede wszystkim od ich reaktywności, a ta z kolei głównie rozmiaru nanocząstki, jej kształtu i w końcu od metody jej otrzymywania. Nie istnieją jednoznaczne doniesienia o stężeniu nanocząstek srebra, którego wartość uważana jest za szkodliwą dla ludzkiego organizmu. Świdwińska – Gajewska na podstawie analizy

zagrożenia nanocząstek srebra określiła, że szkodliwym stężeniem nanosrebra dla ludzkiego organizmu jest $0,01 \text{ mg/m}^3$. Przeprowadzone badania wśród osób pracujących w zakładach produkujących nanometale wykazały, że średnie stężenie nanocząstek w ich organizmach wynosiło $0,35 - 1,35 \text{ g/m}^3$, z czego $0,043 \text{ g/m}^3$ w moczu, a tylko $0,0135 - 0,0340 \text{ mg/m}^3$ znajdowało się we krwi. Obecność srebra we krwi wskazuje, że pierwiastek ten jest sukcesywnie wydalany z organizmu. Przy tak dużych stężeniach nie stwierdzono jakichkolwiek zmian chorobowych [4,155].

Nadmierna dawka srebra w organizmie ludzkim powoduje wystąpienia *argyrii* (srebrzycy). Objawia się ona zmianą zabarwienia skóry, najczęściej w okolicach twarzy, pleców i dłoni, na kolor niebieskoszary, czasem ciemny z metalicznym poblaskiem. W większości przypadków zabarwienie pozostaje permanentne, nawet po zaprzestaniu kontaktu z pierwiastkiem. Niebezpieczeństwo wystąpienia nie jest wysokie, odnotowane przypadki dotyczyły bowiem pacjentów, którzy przyjmowali przez wiele lat środki zawierające w swoim składzie srebro (np. używanie przez 25-letnią kobietę kremu ze srebrem stale od czasów dzieciństwa), a najbardziej narażone są osoby, które mają stały kontakt z pierwiastkiem (przede wszystkim pracownicy kopalni srebra lub zakładów zajmujących się jego przetwórstwem). Minimalna dzienna dawka, przy długofalowym narażeniu, wywołująca srebrzycę, wynosi $0,014 \text{ mg / kilogram ciała}$. Ponieważ dawka ta jest stosunkowo wysoka, w przypadkach racjonalnego przyjmowania srebra, wystąpienie ryzyka srebrzycy określić można na niskie [134,156,157]. Na rys. 18 przedstawiono porównanie koloru skóry u osoby zdrowej i u osoby chorej na srebrzycę.



Rysunek 18. Skóra dłoni u osoby zdrowej i chorej na srebrzycę [158]

3.2. Zastosowanie miedzi i nanomiedzi

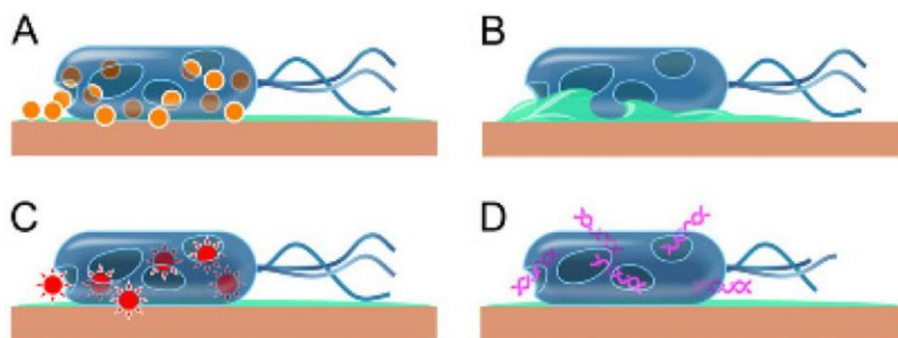
Miedź jest pierwiastkiem o liczbie atomowej 29 i masie molowej $63,55 \text{ g/mol}$. Zaraz po srebrze jest najlepszym przewodnikiem ciepła i prądu elektrycznego. Jej temperatura topnienia jest wyższa od srebra i wynosi $1063,5 \text{ }^\circ\text{C}$. Miedź jest pierwiastkiem pełniącym znaczące funkcje w ludzkim organizmie, a jego obecność wymagana jest do poprawnego rozwoju i funkcjonowania tkanek. Szacuje się, że średnia zawartość pierwiastka w organizmie wynosi około 80 mg , a dzienne zapotrzebowanie około $1,5-4,0 \text{ mg}$. Pierwiastek ten uczestniczy m.in. w metabolizmie tkanek łącznych, utlenianiu komórkowym i niezbędny jest do prawidłowego funkcjonowania mózgu i układu nerwowego. Potwierdzono również poprawę odporności i przyspieszenie gojenia się ran w obecności miedzi. Niedobór powodować może zaburzenia widzenia, uszkodzenia włosów i paznokci, jak również doprowadzić może do anemii [159,160].

Zastosowanie miedzi i nanomiedzi w aplikacjach medycznych jest znacząco mniejsze niż w przypadku srebra i nanosrebra, co potwierdza znacznie mniejsza liczba publikacji na ten temat. Dodatkowo dowiedzione zostało, że miedź posiada mniejsze właściwości bakteriobójcze i grzybobójcze w porównaniu ze srebrem, niemniej jednak właściwości te występują i są wykorzystywane [161,162].

Aktualnie miedź stosowana jest jako:

- pokrycia elementów wyposażenia szpitali (np. klamek, poręczy itp.),
- nośnik leków (np. nanomiedź wykorzystywana jest jako nośnik leków przeciwnowotworowych jako zamiennik do nieobojętnie biologicznie platyny),
- materiały dermatologiczne (m.in. kremy, maseczki),
- inne środki antyseptyczne (roztwory koloidalne do picia, roztwory wspomagające leczenie grzybiczy),
- materiał w powłokach na implanty lub jako ich pierwiastek domieszkujący (np. powłoki nanoCu / nanoHAp lub nanoCu w materiale polimerowym) [126,163–166].

Miedź swoje antybakteryjne właściwości zawdzięcza możliwości oddawania elektronów. Potwierdzono, że im mniejsze są nanocząstki, tym lepsze są ich właściwości antybakteryjne. Początkowo miedź wchodzi w reakcje z bakteryjnymi lipidami, utlenia je i otwiera kanały w błonie komórkowej, zaburzając jej integralność. Proces ten doprowadza do uszkodzenia błony. Następnie miedź wnika do komórki bakteryjnej zaburzając replikację jej DNA i powodując zmiany w metabolizmie komórki, a w konsekwencji jej obumieranie [164,167]. Schemat reakcji cząstek miedzi z komórką bakteryjną przedstawiono na rys. 19.



Rysunek 19. Schemat reakcji miedź–bakteria [164]

Działanie bakteriobójcze miedzi i nanomiedzi potwierdzone zostało m.in dla następujących szczepów i grzybów:

- *Listeria monocytogenes* (bakteria Gram–ujemna, względnie beztlenowa, jedna z najbardziej zjadliwych bakterii pokarmowych – śmiertelność wynosi nawet 30 %),
- *Escherichia coli* (pałeczka okrężnicy, bakteria Gram–ujemna, względnie beztlenowa, odpowiedzialna m.in. za zakażenia pooperacyjne),
- *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty, bakteria Gram-dodatnia, względnie beztlenowa, może powodować m.in. zapalenie kości i szpiku),
- *Candida albicans* (drożdżak, wywołuje grzybicę u osób z obniżoną odpornością),

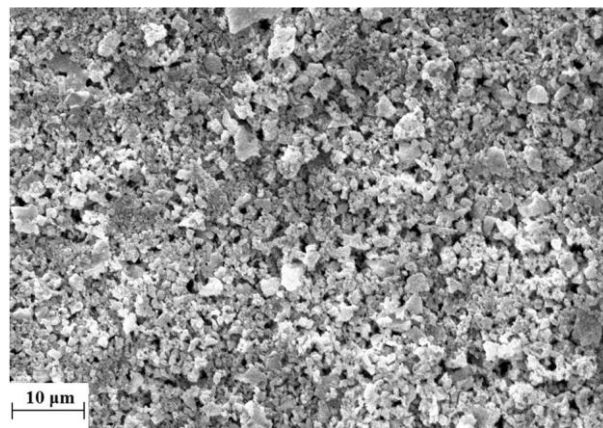
- *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (bakteria Gram-ujemna, powodować może zapalenia wsierdza) [126,165,168,169].

Nanocząstki miedzi oraz miedź znalazły zastosowanie w implantologii jako materiały domieszkujące powłoki na implanty długotrwałe w celu zapewnienia długotrwałej osłony biologicznej, ponieważ miedź określana jest jako pierwiastek nietoksyczny i niepowodujący zmian kancerogennych w organizmie żywym, nawet przy dużym jej stężeniu. Opracowywane są metody wytwarzania implantów kompozytowych z wykorzystaniem tego pierwiastka [170].

Przykładami zastosowania nanomiedzi i miedzi w implantologii są:

- powłoki HAp z nanomiedzią [168],
- kompozyty poliuretanowe z nanomiedzią [171],
- powłoki HAp z miedzią [127,172–174],
- powłoki nanoHAp z nanomiedzią [126,175].

Na rys. 20 przedstawiono powłokę nanohydroksyapatytową z nanomiedzią na stopie tytanu Ti-6Al-4V.



Rysunek 20. Powłoka nanohydroksyapatytowa z nanomiedzią [126]

CZĘŚĆ BADAWCZA

4. Teza, cel i program pracy

Teza pracy:

Wytworzenie powłoki nanohydroksyapatytowej zawierającej równocześnie nanosrebro oraz nanomiedź na powierzchni stopu tytanu Ti–13Zr–13Nb pozwoli na uzyskanie powłoki bioaktywnej, o niezbędnych i długoczasowych właściwościach bakteriobójczych oraz wystarczającej adhezji do implantu tytanowego, przewyższających właściwości powłoki zawierającej tylko nanosrebro. Udowodnienie postawionej tezy zmniejszy prawdopodobieństwo wystąpienia odczynów zapalnych lub zakażeń powodujących wystąpienie ryzyka ewentualnego odrzucenia implantu w fazie stabilizacji pierwotnej i właściwej.

Cel pracy:

Celem naukowym pracy jest określenie wpływu składu roztworu oraz parametrów procesu wytwarzania powłok na ich skład chemiczny, morfologię, adhezję i właściwości bakteriobójcze, jak też określenie determinant procesu i mechanizmów tworzenia powłoki, jej wiązania z podłożem oraz zdolności zabijania bakterii chorobotwórczych w różnym czasie po wytworzeniu powłoki.

Oczekiwane wyniki będą miały istotne znaczenie dla poznania i charakterystyki procesów modyfikacji warstwy wierzchniej stopu Ti–13Zr–13Nb przez nanoszenie powłok hydroksyapatytowych z dodatkiem nanometali oraz wpływu tej modyfikacji na biogodność, oznaczającą brak szkodliwego wpływu na tkanki żywe, osłonę biologiczną determinowaną szybkością uwalniania nanocząstek o właściwościach bakteriobójczych oraz bioaktywność określoną szybkością narastania nowej tkanki kostnej. Stworzą one podstawy do opracowania technologii wytwarzania innowacyjnych powłok hydroksyapatytowych domieszkowanych nanometalami. Pozytywna weryfikacja uzyskanych wyników w biologicznych badaniach *in vitro* oraz *in vivo* pozwoli na ich aplikację w medycynie, a tym samym, na wzrost komfortu pacjentów poddawanych zabiegom implantacji poprzez zapewnienie własnej ochrony biologicznej implantowi, wzrostu siły wiązania implantu z organizmem oraz wzrostu żywotności implantu, co zmniejszy znacznie ryzyko reimplantacji.

Określono następujący plan pracy:

1. Preparatyka próbek i charakterystyka materiału referencyjnego.
Zadanie na celu miało przygotowanie materiału bazowego (stopu tytanu Ti–13Zr–13Nb) oraz jego charakterystykę.
2. Wytwarzanie i charakterystyka powłoki nanoHAp.
Zadanie miało na celu wytworzenie i charakterystykę uzyskanej powłoki nanoHAp na stopie tytanu z różnymi parametrami osadzania elektroforetycznego w celu określenia

determinant osadzania powłoki nanoHAp oraz eliminacji liczby parametrów w kolejnych zadaniach.

3. Wytwarzanie i charakterystyka powłoki nanoHAp-nanoAg.

Zadanie miało na celu wytworzenie i charakterystykę uzyskanej powłoki nanoHAp z dodatkiem nanosrebra na stopie tytanu z różnymi parametrami osadzania elektroforetycznego w celu określenia determinant osadzania powłoki nanoHAp-nanoAg oraz eliminacji liczby parametrów w kolejnych zadaniach.

4. Wytwarzanie i charakterystyka powłoki nanoHAp-nanoCu.

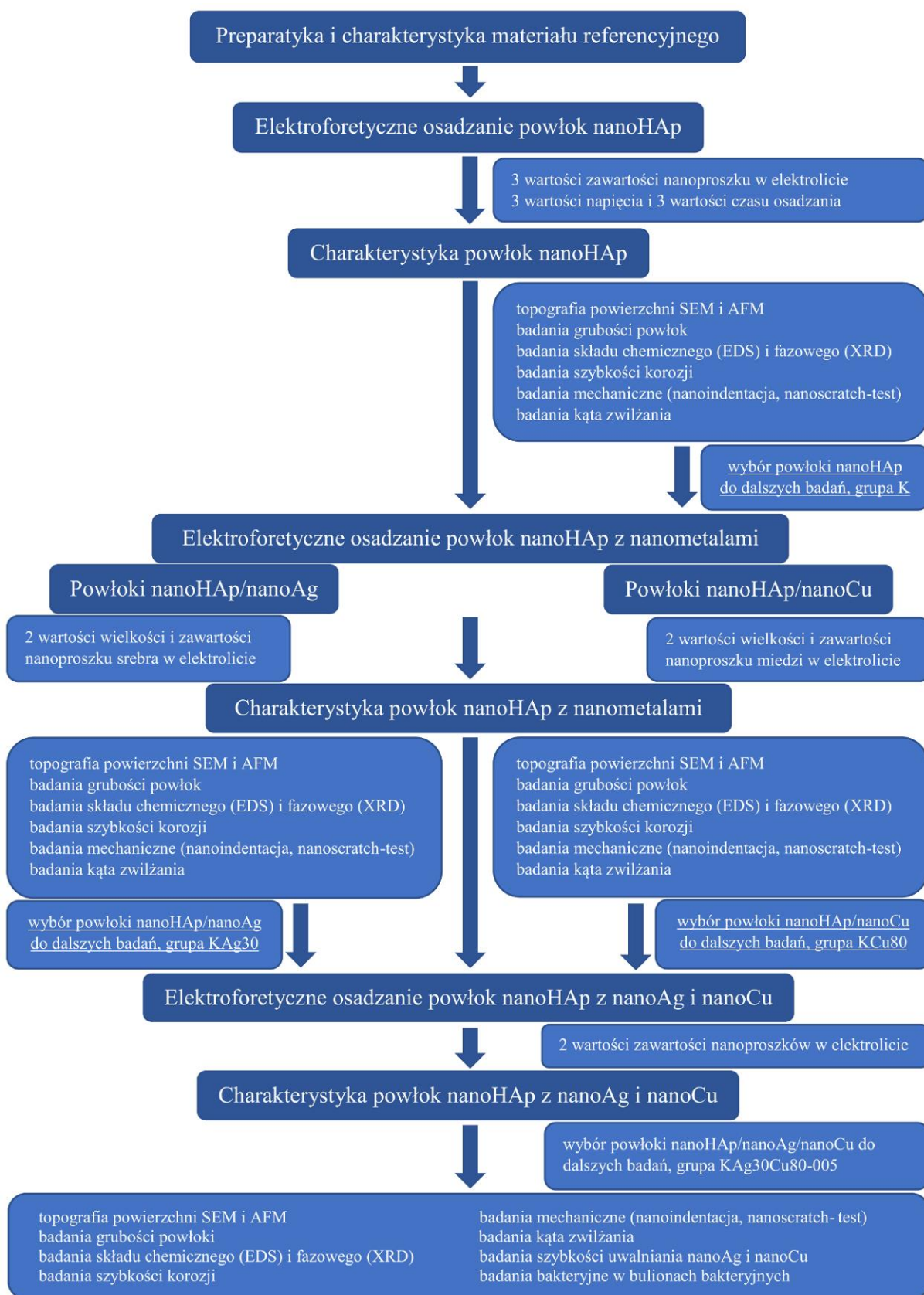
Zadanie miało na celu wytworzenie i charakterystykę uzyskanej powłoki nanoHAp z dodatkiem nanomiedzi na stopie tytanu z różnymi parametrami osadzania elektroforetycznego w celu określenia determinant osadzania powłoki nanoHAp-nanoCu oraz eliminacji liczby parametrów w kolejnych zadaniach.

5. Wytwarzanie i charakterystyka powłoki nanoHAp-nanoAg-nanoCu.

Zadanie miało na celu wytworzenie i charakterystykę uzyskanej powłoki nanoHAp z dodatkami nanosrebra i nanomiedzi na stopie tytanu z różnymi parametrami osadzania elektroforetycznego w celu określenia determinant osadzania powłoki nanoHAp-nanoAg-nanoCu.

6. Analiza wyników i opracowanie rozprawy doktorskiej.

Schemat programu pracy przedstawiono na rysunku 21.



Rysunek 21. Program badań własnych

5. Materiał i metodyka badawcza

5.1. Materiały do badań

Materiałem bazowym (podłożem) użytym do badań był biostop tytanu z cyrkonem i niobem – Ti–13Zr–13Nb. W procesach elektroforetycznego osadzania używano zawiesin nanoproszków – nanohydroksyapatytu, nanosrebra i nanomiedzi o określonych wielkościach ziaren.

5.1.1. Stop tytanu Ti–13Zr–13Nb

Do badań użyto stopu tytanu Ti–13Zr–13Nb o składzie chemicznym podanym w tabeli 12. Próbki w kształcie ćwierćkoła o grubości 4 mm i promieniu 15 mm wycięte zostały z tytanowego pręta. Powierzchnię poddano szlifowaniu papierem ściernym SiC o gradacji 2000 do uzyskania chropowatości powierzchni $S_a = 0,13 \mu\text{m}$. Próbki zostały przemyte izopropanolem, a następnie umieszczone w myjce ultradźwiękowej (Sonic 3, Polsonic, Polska) w wodzie destylowanej na czas 60 minut. Następnie próbki poddane zostały działaniu 25 % kwasu azotowego (HNO_3) na czas 10 minut [176]. Przed osadzaniem elektroforetycznym próbki zostały opłukane wodą destylowaną.

Tabela 12. Skład stopu Ti–13Zr–13Nb

| Pierwiastek | Nb | Zr | Fe | C | N | O | Ti |
|-------------|------|------|------|------|-------|------|-------------|
| % masowy | 13,0 | 13,0 | 0,05 | 0,04 | 0,019 | 0,11 | Pozostałość |

5.1.2. Nanoproszki

Do procesu elektroforetycznego osadzania użyty został nanoproszek hydroksyapatytu o średniej wielkości ziaren 20 nm (MKnano, Kanada) oraz czystości 99,8 %.

W badaniach użyto proszków nanosrebra (Hongwu International Group Ltd, Chiny) o dwóch średnich wielkościach ziaren – 30 nm i 80 nm.

W badaniach użyto proszków nanomiedzi (Hongwu International Group Ltd, Chiny) o dwóch średnich wielkościach ziaren – 40 nm i 80 nm.

5.2. Osadzanie elektroforetyczne

Proces elektroforetycznego osadzania przeprowadzany został w zawieszynie bezwodnego (99,8 %) alkoholu etylowego ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) (Sigma Aldrich) z odpowiednią ilością nanocząstek hydroksyapatytu, srebra, miedzi lub ich mieszanin. Zawiesiny zostały przygotowane poprzez dyspersję odpowiedniej ilości nanocząstek w myjce ultradźwiękowej w 100 ml alkoholu etylowego przez 60 minut. W procesie elektroforetycznym katodą było podłoże ze stopu Ti–13Zr–13Nb, jako anody użyto elektrody platynowej. Elektrody umieszczone w zawieszynie znajdowały się równolegle do siebie w odległości 10 mm. Źródłem napięcia był zasilacz (MCP/SPN-C, Shanghai MPC Corp., Chiny). Zmiennymi parametrami osadzania

elektroforetycznego były: wielkość nanocząstek srebra i miedzi, zawartość nanoproszku hydroksyapatytu, srebra, miedzi lub ich mieszanin w zawieszynie, napięcie między elektrodami oraz czas osadzania. W tabelach 13–16 przedstawiono zmienne parametry osadzania elektroforetycznego dla konkretnych grup próbek. Próbki ostatecznie suszone były w temperaturze pokojowej przez 24 h.

Tabela 13. Zmienne parametry osadzania elektroforetycznego powłok nanohydroksyapatytowych

| Grupa Próbek | Parametry osadzania elektroforetycznego | | |
|--------------|---|--------------|----------------------|
| | Zawartość nanoHAp / 100 ml alkoholu etylowego [g] | Napięcie [V] | Czas osadzania [min] |
| A | 0,1 | 15 | 1 |
| B | 0,1 | 30 | 1 |
| C | 0,1 | 50 | 1 |
| D | 0,2 | 15 | 1 |
| E | 0,2 | 30 | 1 |
| F | 0,2 | 50 | 1 |
| G | 0,5 | 15 | 1 |
| H | 0,5 | 30 | 1 |
| I | 0,5 | 50 | 1 |
| J | 0,1 | 15 | 2 |
| K | 0,1 | 30 | 2 |
| L | 0,2 | 15 | 2 |
| M | 0,1 | 15 | 3 |
| N | 0,1 | 30 | 3 |
| O | 0,2 | 15 | 3 |

Tabela 14. Zmienne parametry osadzania elektroforetycznego powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem

| Grupa Próbek | Parametry osadzania elektroforetycznego | |
|--------------|---|--|
| | Wielkość proszku nanoAg [nm] | Zawartość nanosrebra / 100 ml alkoholu etylowego [g] |
| KAg30 | 30 | 0,01 |
| KAg'30 | 30 | 0,025 |
| KAg80 | 80 | 0,01 |
| KAg'80 | 80 | 0,025 |

Tabela 15. Zmienne parametry osadzania elektroforetycznego powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią

| Grupa Próbek | Parametry osadzania elektroforetycznego | |
|--------------|---|--|
| | Wielkość proszku nanoCu [nm] | Zawartość nanomiedzi / 100 ml alkoholu etylowego [g] |
| KCu40 | 40 | 0,01 |
| KCu'40 | 40 | 0,025 |
| KCu80 | 80 | 0,01 |
| KCu'80 | 80 | 0,025 |

Tabela 16. Parametry osadzania elektroforetycznego powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią

| Parametry osadzania elektroforetycznego | | | |
|---|-----------|--------------|---------------|
| | | Grupa próbek | |
| | | KAg30Cu80-01 | KAg30Cu80-005 |
| Wielkość proszku HAp [nm] | | 20 | |
| Wielkość proszku Ag [nm] | | 30 | |
| Wielkość proszku Cu [nm] | | 80 | |
| Zwartość proszku nHAp [g] | / 100 ml | 0,1 | |
| Zwartość proszku nAg [g] | alkoholu | 0,01 | 0,005 |
| Zwartość proszku nCu [g] | etylowego | 0,01 | 0,005 |
| Napięcie prądowe [V] | | 30 | |
| Czas osadzania [min] | | 2 | |
| Elektroda (katoda) | | Ti-13Zr-13Nb | |
| Elektroda (anoda) | | platynowa | |
| Odległość pomiędzy elektrodami [mm] | | 10 | |
| Temperatura [°C] | | pokojowa | |

5.3. Obróbka termiczna

Stop tytanu z naniesionymi powłokami nanohydroksyapatytowymi, nanohydroksyapatytowymi z nanosrebrem, nanohydroksyapatytowymi z nanomiedzią oraz nanohydroksyapatytowymi z nanosrebrem i nanomiedzią po osuszeniu w zimnym powietrzu poddawany był obróbce termicznej w rurowym piecu (Protherm PC442, Ankara, Turcja) w atmosferze próżni w temperaturze 800 °C przez 120 minut. Nagrzewanie odbywało się od temperatury pokojowej z szybkością 200 °C/h. Chłodzenie do temperatury pokojowej następowało z piecem.

5.4. Badania powierzchni

Makroskopowe obrazy powierzchni powłok wykonane zostały za pomocą aparatu cyfrowego z wysoką rozdzielczością (Nikon D7000, obiektyw Tamron 90mm f/2.8 Macro,).

Powierzchnie oraz przekroje powłok obserwowano za pomocą elektronowego mikroskopu skaningowego (JEOL JSM-7800 F, Stany Zjednoczone) z zastosowaniem różnych powiększeń.

Topografie powierzchni badane były za pomocą mikroskopu sił atomowych (AFM, NaniteAFM, Wielka Brytania) z użyciem bezstykowego modułu z siłą 55 mN na obszarze 80,4 x 80,4 μm. Parametr chropowatości powierzchniowej S_a wyznaczony został za pomocą oprogramowania będącego integralną częścią urządzenia.

5.5. Badania składu chemicznego i fazowego

Badania składu pierwiastkowego oraz rozkładu pierwiastków w powłokach wykonywane były techniką spektrometrii dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (EDS) (Edax Inc., Stany

Zjednoczone), za pomocą instrumentu będącego integralną częścią mikroskopu skaningowego (JEOL JSM-7800 F, Stany Zjednoczone).

Badanie zawartości nanosrebra i nanomiedzi w powłoce nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005) przed i po obróbce termicznej wykonano z wykorzystaniem absorpcyjnej spektroskopii atomowej (ASA) na spektrometrze absorpcji atomowej SensAA (GBC Scientific Equipment Pty Ltd, Australia) z dwuwiązkowym systemem optycznym. Usunięte mechanicznie powłoki w celu otrzymania koloidalnych zawiesin wymieszano z 2 ml wody demineralizowanej. Zawartość ilościowo przeniesiono do gilzy mineralizacyjnej, dodano 5 ml 65 % HNO₃ (czystość Suprapur) i 3 ml 36 % HCl (czystość Suprapur). Następnie próbki zostały poddane mineralizacji wspomaganej mikrofalami z wykorzystaniem mineralizatora (Anton Paar, Mutiwave GO, Austria) polegającej na podgrzewaniu próbek przez 20 minut do temperatury 165 °C i pozostawieniu przez 20 minut w zadanej temperaturze w celu całkowitej mineralizacji. Po przeprowadzeniu mineralizacji próbki zostały ilościowo przeniesione do kolby miarowej o pojemności 10 ml. Długość fali dla Ag, wykorzystywana do analizy wynosiła 328,1 nm, dla Cu 324,7 nm. Do przygotowania roztworów kalibracyjnych użyto standardowych roztworów srebra i miedzi zawierających 1000 mg/L w 2% HNO₃ (VWR Chemicals). W badaniach użyto ośmiu przygotowanych standardowych roztworów kalibracyjnych o stężeniach: 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 oraz 2,5 mg/L. Krzywe kalibracyjne wyznaczone zostały metodą regresji liniowej.

W celu określenia składu fazowego powłok użyto dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego (XRD) (XRD, Philips X'Pert Pro, Holandia) z promieniowaniem monochromatycznym CuK α , zakresem pomiaru 20 – 90 ° i szybkością skanowania 0,02 °/s.

5.6. Badania korozyjne

Badania korozji elektrochemicznej wykonane zostały przy użyciu potencjostatu/galwanostatu (Atlas 0531, Atlas Sollich, Polska) z wykorzystaniem metody potencjodynamicznej. Badania przeprowadzono w roztworze sztucznej śliny będącym jednym z roztworów symulujących płyny ustrojowe SBF (*ang. Simulated Body Fluid*). Roztwór sztucznej śliny przygotowany został według normy PN-EN ISO 10993-15 [177] poprzez rozpuszczenie (NH₂)₂CO (0,13 gL⁻¹), NaCl (0,7 gL⁻¹), NaHCO₃ (1,5 gL⁻¹), Na₂HPO₄ (0,26 gL⁻¹), K₂HPO₄ (0,2 gL⁻¹), KSCN (0,33 gL⁻¹), KCl (1,2 gL⁻¹). Do badań użyto trójelektrodowego układu z badaną próbką jako elektrodą roboczą, elektrodą kalomelową jako elektrodą odniesienia oraz elektrodą platynową jako przeciwelektrodą. Badanie przeprowadzone zostało w temperaturze 38 °C w celu symulacji stanu zapalnego organizmu ludzkiego. Zakres zmian potencjału wynosił od -600 mV do 2000 mV przy szybkości narastania potencjału 1 mV/s. Wykorzystując metodę ekstrapolacji Tafela, wyliczono z uzyskanych krzywych korozji wartości potencjału korozyjnego (E_{kor}) oraz gęstości prądu korozyjnego (i_{kor}).

5.7. Badania mechaniczne

Badania nanotwardości przeprowadzone zostały z wykorzystaniem nanoindentera (NanoTest Vantage, Micro Materials, Wielka Brytania) z użyciem piramidalnego, diamentowego, trójściennego węgelnika Berkovich'a o kącie wierzchołkowym $124,4^\circ$. Powłoki poddane zostały 25 (5 x 5) pomiarom nanoindentacji, a na potrzeby wyznaczenia rozkładu 3D nanotwardości, rozkładu 3D modułu Younga oraz rozkładu 3D maksymalnej głębokości penetracji węgelnika podczas indentacji, dla powłoki nanohydroksyapatytowej (grupa K), nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem (grupa KAg30), nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią (grupa KCu80) oraz powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005) wykonano 100 (10 x 10) pomiarów indentacji. Parametry pomiaru pojedynczej indentacji identyczne były dla wszystkich grup próbek. Siła maksymalna wynosiła 5 mN, czas narastania siły od wartości zerowej wynosił 20 s, czas zatrzymania przy maksymalnej wartości siły wynosił 10 s, a czas odciążania 20 s. Pojedyncze indentacje oddalone były od siebie o odległość 20 μm . Podczas wykonywania pomiaru rejestrowana była krzywa zależności obciążenia od głębokości. Wartości twardości (H), zredukowanego modułu Younga (E_r) oraz modułu Younga (E) wyznaczone zostały z wykorzystaniem metody Olivera–Pharra z użyciem programu do analizy wyników NanoTest. W celu przeliczenia zredukowanego modułu Younga na moduł Younga dla powłok przyjęto współczynnik Poissona równy 0,25 [94].

Badania nanozarysowania (nanoscratch test) wykonane zostały z wykorzystaniem nanoindentera (NanoTest Vantage, Micro Materials, Wielka Brytania) i z użyciem węgelnika Berkovich'a, jak w przypadku badań nanoindentacji. Powłoki poddane zostały 10 testom zarysowania z siłą rosnącą od 0 do 200 mN na dystansie 500 μm i szybkością narastania siły 1,3 mN/s, dodatkowo powłoka nanohydroksyapatytowa z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005) poddana została 10 testom zarysowania z siłą rosnącą od 0 do 400 mN na odległości 1000 μm i szybkością narastania siły 1,3 mN/s. Na podstawie zależności siły trącej (F_t) od siły normalnej (F_n) w programie do analizy wyników NanoTest wyznaczono wartości krytycznej siły tarcia (L_f) oraz siły krytycznej (L_c), która spowodowała oderwanie powłoki od podłoża. Dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005) wykonano zdjęcie pojedynczego zarysowania z wykorzystaniem mikroskopu optycznego (OLYMPUS BX51, Japonia).

5.8. Pomiary kąta zwilżania

Pomiar kąta zwilżania wykonywany został przy użyciu goniometru (Zeiss, Niemcy) z wykorzystaniem kropli wody destylowanej w temperaturze pokojowej, techniką spadającej kropli.

5.9. Badanie szybkości uwalniania nanosrebra i nanomiedzi

Badania szybkości uwalniania nanosrebra i nanomiedzi do roztworu sztucznej śliny (SBF) wykonywane były za pomocą pomiaru stężenia nanocząstek w roztworze z wykorzystaniem absorpcyjnej spektroskopii atomowej (ASA) na spektrometrze absorpcji atomowej SensAA (GBC Scientific

Equipment Pty Ltd, Australia) z dwuwiązkowym systemem optycznym. Długość fali dla Ag wykorzystana do analizy wynosiła 328,1 nm, dla Cu 324,7 nm. Do przygotowania roztworów kalibracyjnych wykorzystano standardowy roztwór srebra i miedzi 1000 mg/L w 2% HNO₃ (VWR Chemicals). W badaniach użyto 8 przygotowanych standardowych roztworów kalibracyjnych o stężeniach: 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 oraz 2,5 mg/L. Krzywe kalibracyjne wyznaczone zostały metodą regresji liniowej. Pomiar dla stężenia nanocząstek w roztworze wykonywany był po 1, 2, 3, 7, 14 i 28 dniach przebywania próbek w roztworze sztucznej śliny w temperaturze 38° C w celu symulacji stanu zapalnego w ludzkim organizmie.

5.10. Badania bakteryjne

Próbki referencyjne Ti–13Zr–13Nb oraz z powłoką nanohydroksyapatytową z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005) umieszczone zostały w płynnym roztworze tryptozowo – sojowym (TSB), o składzie podanym w tabeli 17 [178], zawierającym pięć różnych szczepów bakterii, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, o liczbie początkowej 1,5 x 10⁸ CFU/ml (ang. *CFU- colony forming unit*), pobranych z zakażeń ran pacjentów po zabiegach ortopedycznych wg Patentu nr P409082. Próbki umieszczone zostały w roztworze na okres 7, 14 i 28 dni, a hodowla prowadzona była w warunkach tlenowych w temperaturze 37 ± 2 °C. Po określonym czasie zanurzenia w bulionie bakteryjnym topografia powierzchni próbek obserwowana była z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego (JEOL JSM-7800 F, Stany Zjednoczone).

Tabela 17. Skład chemiczny podłoża tryptozowo - sojowego do badań bakteryjnych

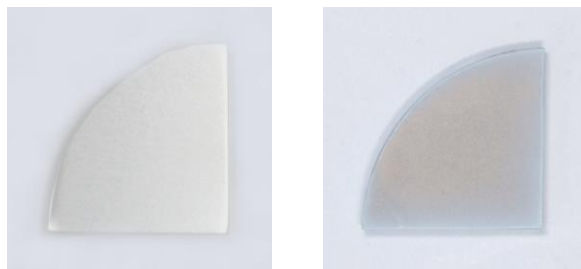
| Skład chemiczny podłoża | |
|--|-----------------|
| Substancja | Zawartość [g/L] |
| Enzymatyczny hydrolizat kazeinowy | 17,0 |
| Enzymatyczny hydrolizat mączki sojowej | 3,0 |
| Chlorek sodu | 5,0 |
| Wodorofosforan dipotasu | 2,5 |
| Glukoza | 2,5 |

6. Wyniki badań

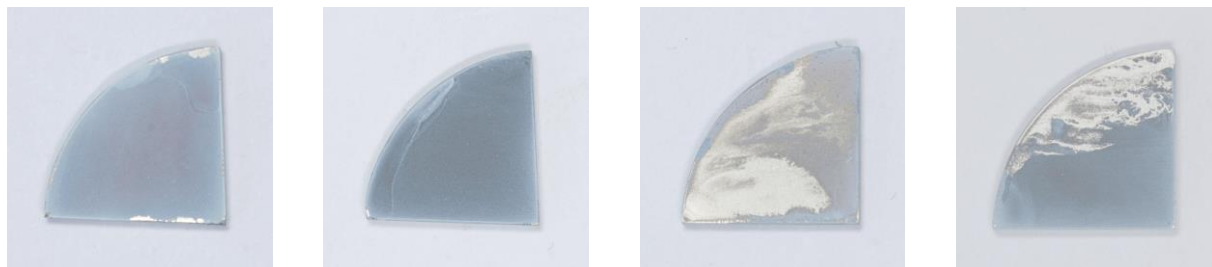
6.1. Badania powierzchni

6.1.1. Badania makroskopowe

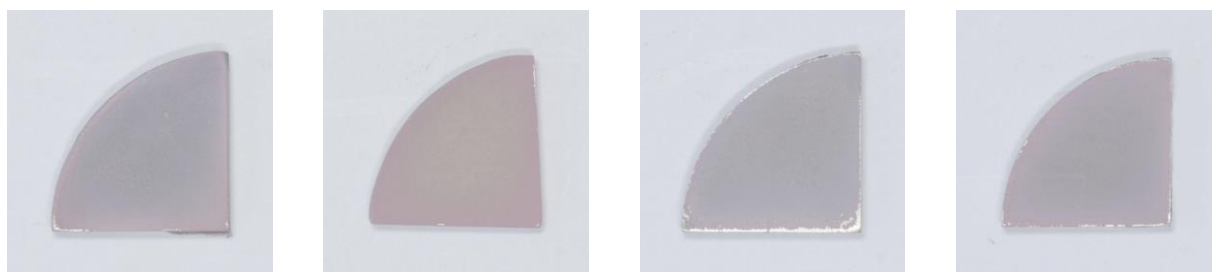
Na rys. 22–25 przedstawiono obrazy makroskopowe referencyjnego stopu Ti–13Zr–13Nb po szlifowaniu oraz powłoki nanohydroksyapatytowej (grupa K), powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem (grupy KAg30, KAg'30, KAg80, KAg'80), nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią (grupy KCu40, KCu'40, KCu80, KCu'800) oraz nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem i nanomiedzią (grupy KAg30Cu80-01, KAg30Cu80-005).



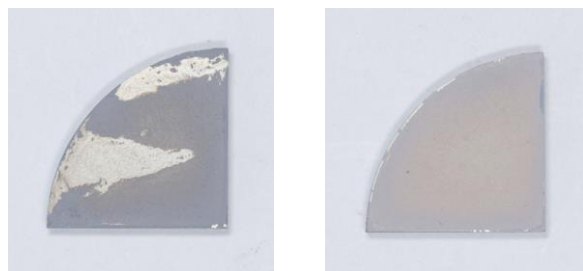
Rysunek 22. Próbką referencyjna Ti–13Zr–13Nb (zdjęcie lewe) oraz powłoka nanohydroksyapatytowa, grupa K (zdjęcie prawe)



Rysunek 23. Powłoki nanohydroksyapatytowe z nanosrebrem (od lewej: grupa KAg30, KAg'30, KAg80, KAg'80)



Rysunek 24. Powłoki nanohydroksyapatytowe z nanomiedzią (od lewej: grupa KCu40, KCu'40, KCu80, KCu'80)

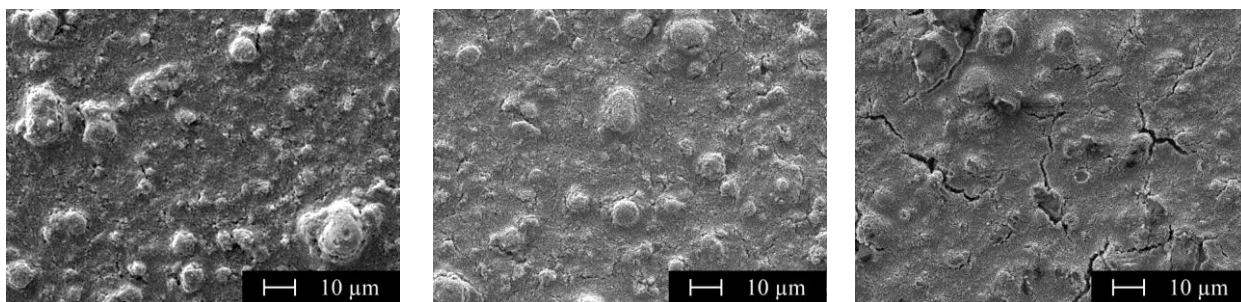


Rysunek 25. Powłoki nanohydroksyapatytowe z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-01 (zdjęcie lewe) oraz KAg30Cu80-005 (zdjęcie prawe)

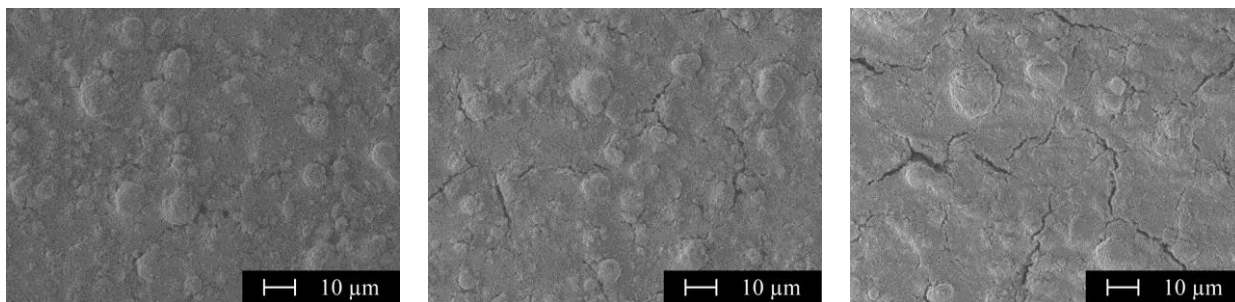
Badania makroskopowe wykonano dla wszystkich grup powłok, ponieważ jednak te z grup A–O różniły się między sobą jedynie barwą (korelującą jednoznacznie z grubością powłok: w cienkich powłokach widać było podłoże, a w najgrubszych widoczna była tylko powłoka), w pracy umieszczono zdjęcie jedynie powłoki z grupy K, która została użyta do dalszych badań. Na zdjęciach makroskopowych zaobserwowano zmianę barwy powierzchni próbek z powłoką w porównaniu z powierzchnią próbki referencyjnej. W przypadku powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem (rys. 23) zaobserwować można zmianę barwy w porównaniu z powłoką nanohydroksyapatytową (powłoki z nanosrebrem posiadały niebieskawy odcień) oraz przy zmianie stężenia nanocząstek srebra w elektrolicie – ciemniejsza powłoka dla większej zawartości nanosrebra. Zmiana ta widoczna jest przy obu średnich wielkościach nanocząstek srebra (30 i 80 nm). W przypadku powłok z grup KAg80 i KAg’80 powstała powłoka jest wyraźnie niejednorodna, prawdopodobnie zbyt duże nanocząstki srebra zaburzyły proces elektroforetycznego osadzania nanohydroksyapatytu. Powłoki te nie zostały użyte w dalszych badaniach. W przypadku powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią (rys. 24) zmiana barwy została zaobserwowana (większa zawartość nanocząstek w elektrolicie powodowała ciemniejszą – miedzianą – barwę), natomiast wszystkie powłoki charakteryzowały się jednorodnością. Nie udało się uzyskać jednorodnych powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem i nanomiedzią (rys. 25) przy większej zawartości nanometali w elektrolicie (powłoka KAg30Cu80-01); po zmniejszeniu ich stężenia o połowę uzyskano jednorodną powłokę nanohydroksyapatytową z nanosrebrem i nanomiedzią (KAg30Cu80-005).

6.1.2. Badania mikroskopowe

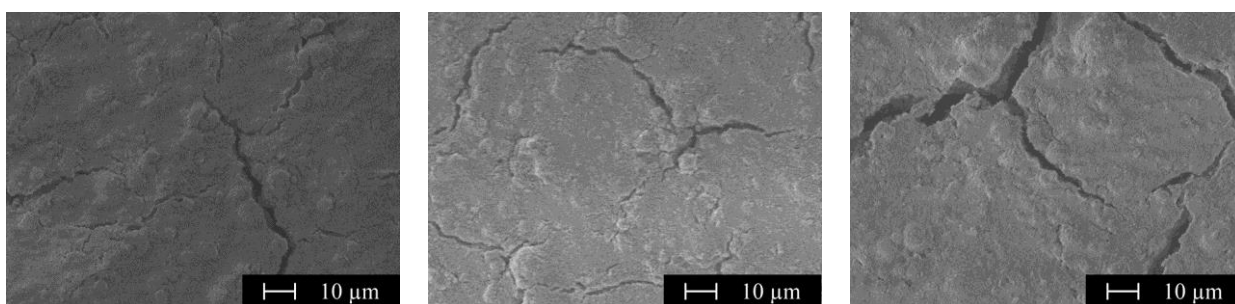
Na rys. 26–30 przedstawiono topografie SEM powierzchni powłok nanohydroksyapatytowych dla grup próbek A–O uzyskanych metodą elektroforetyczną przy zmiennych parametrach procesu wytwarzania.



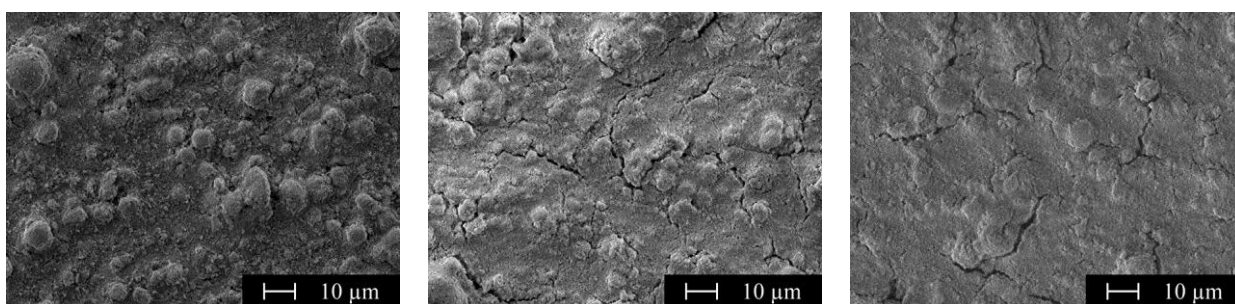
Rysunek 26. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa A (zdjęcie lewe), B (środek), C (zdjęcie prawe)



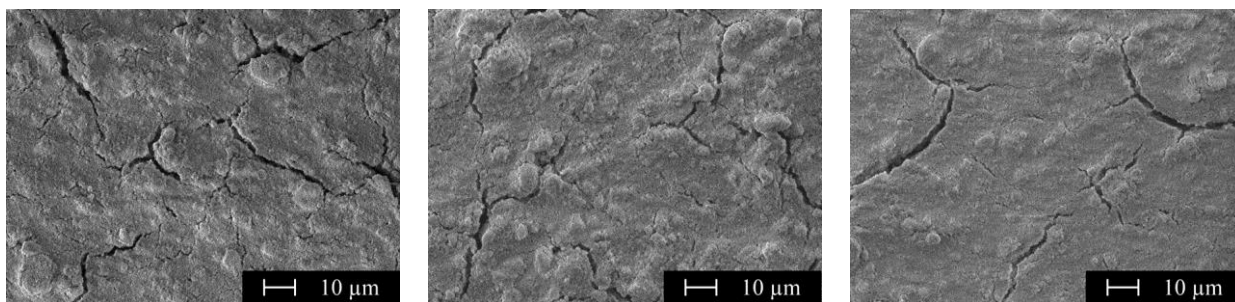
Rysunek 27. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa D (zdjęcie lewe), E (środek), F (zdjęcie prawe)



Rysunek 28. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa G (zdjęcie lewe), H (środek), I (zdjęcie prawe)



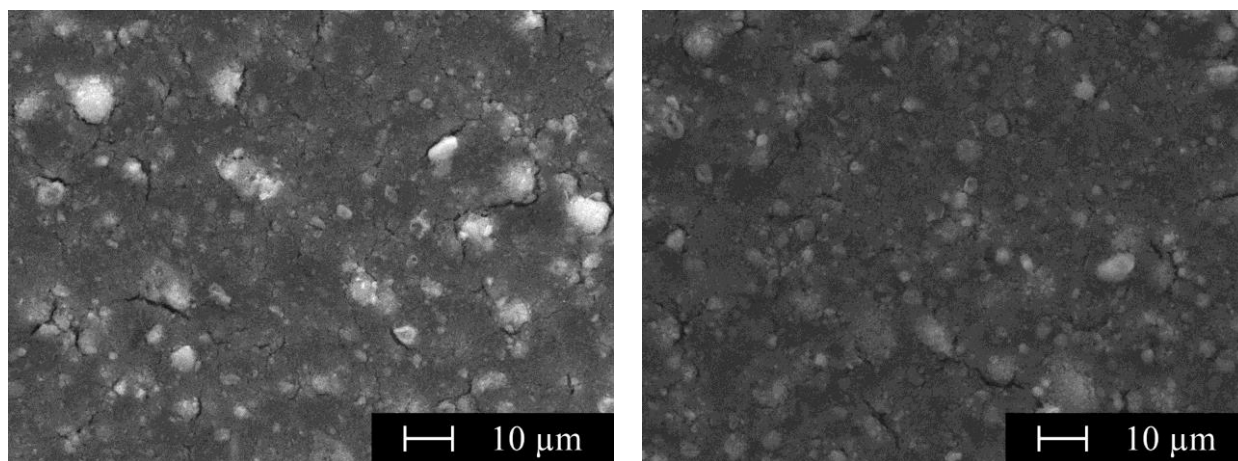
Rysunek 29. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa J (zdjęcie lewe), K (środek), L (zdjęcie prawe)



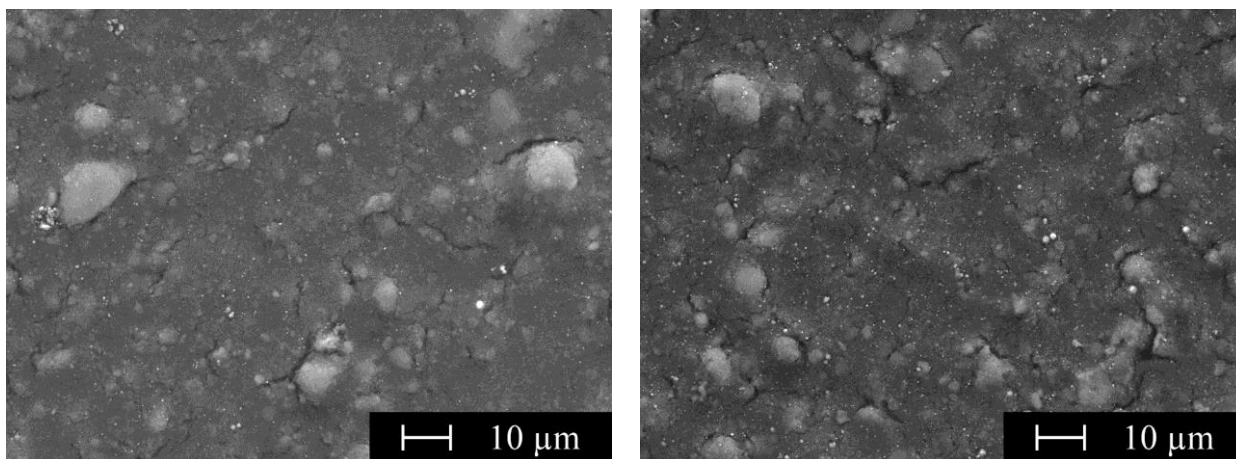
Rysunek 30. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa M (zdjęcie lewe), N (środek), O (zdjęcie prawe)

Na topografii powierzchni powłok nanohydroksyapatytowych zaobserwowano wzrost liczby pęknięć występujących na powierzchni powłok wraz ze wzrostem napięcia aplikowanego podczas procesu osadzania elektroforetycznego. Ponadto, wraz ze wzrostem napięcia maleje liczba widocznych aglomeratów proszku nanohydroksyapatytu. Jedynie powłoki z grup A, B, D i J nie posiadają na swojej powierzchni widocznych pęknięć, posiadają natomiast znaczącą liczbę aglomeratów. Zwiększenie stężenia proszku nanohydroksyapatytu w elektrolicie spowodowało zwiększenie liczby pęknięć przy znacznym zmniejszeniu liczby aglomeratów nanoHAp na powierzchni powłoki, które w przypadku powłok osadzanych z wykorzystaniem elektrolitu z największym stężeniem proszku nanoHAp nie były niemal w ogóle obserwowane. Wydłużenie czasu osadzania do 2 minut (powłoki z grup J, K i L) pozwoliło na wytworzenie powłok nanohydroksyapatytowych z najmniejszą liczbą pęknięć i widocznymi na powierzchni powłoki aglomeratami. Zwiększenie czasu osadzania do 3 minut ograniczyło liczbę widocznych na powierzchni powłok aglomeratów, na powierzchni widać jednak pęknięcia.

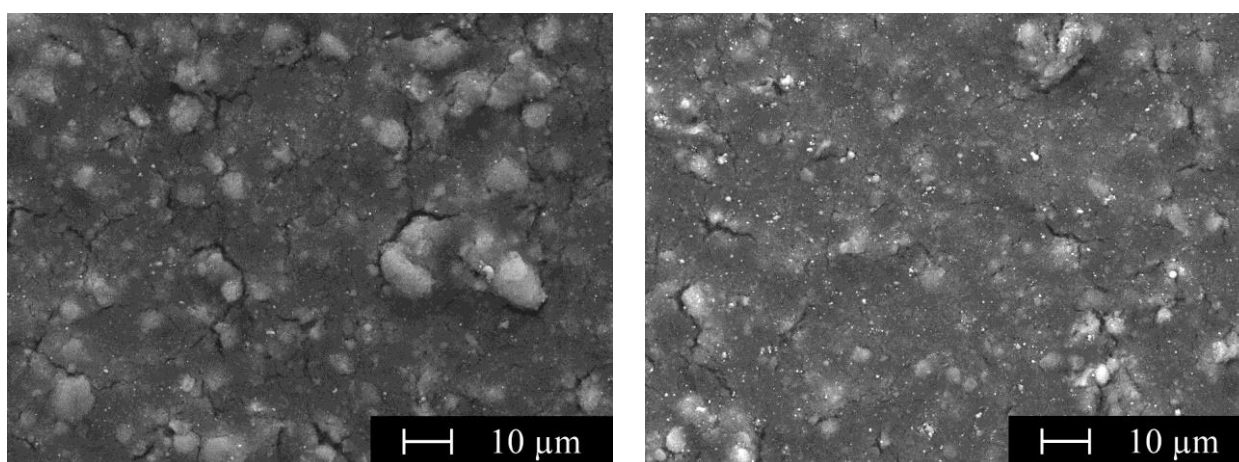
Na rys. 31–33 przedstawiono topografie SEM powierzchni powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem lub z nanomiedzią uzyskanych metodą elektroforetyczną przy zmiennych parametrach.



Rysunek 31. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem: grupa KAg30 (zdjęcie lewe), KAg'30 (zdjęcie prawe)



Rysunek 32. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią: grupa KCu40 (zdjęcie lewe), KCu'40 (zdjęcie prawe)

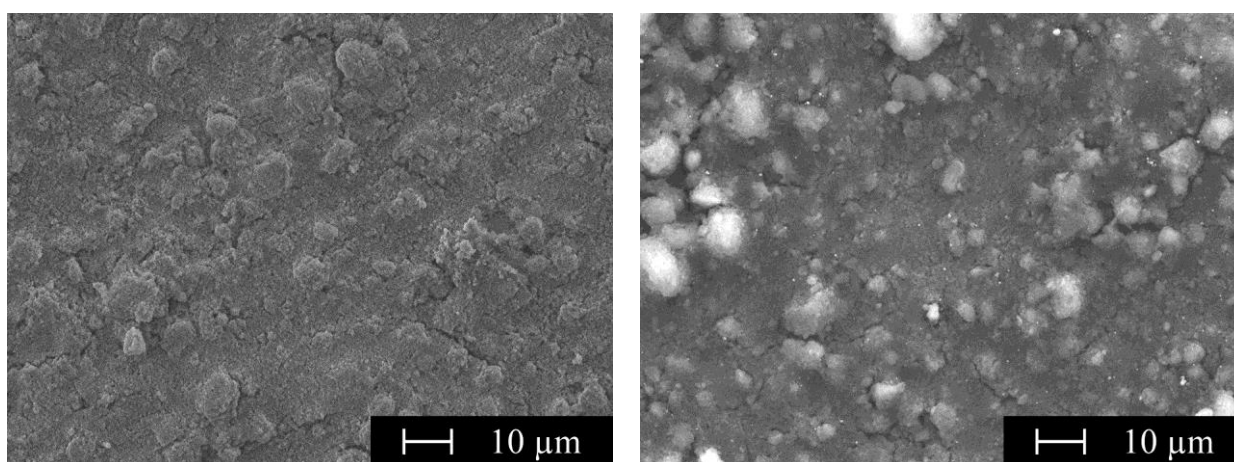


Rysunek 33. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią: grupa KCu80 (zdjęcie lewe), KCu'80 (zdjęcie prawe)

Topografie powierzchni powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem lub z nanomiedzią obserwowane były przy wysokiej wartości napięcia przyspieszającego (15 kV), dzięki czemu wyraźnie zaobserwować można wzbudzoną miedź występującą w postaci widocznych aglomeratów na powierzchni powłok. Topografie powierzchni powłok nanoHAp z nanomiedzią potwierdzają, że możliwe jest wytworzenie powłoki nanoHAp domieszkowanej nanomiedzią podczas jednego procesu elektroforetycznego osadzania. W przypadku powłok z nanosrebrem efekt ten nie był zauważalny. Widoczny jest wpływ obecności nanocząstek metali w powłokach na liczbę i rozmiar pęknięć. W każdej grupie powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem lub nanomiedzią obecność nanocząstek spowodowała zmniejszenie liczby pęknięć na powierzchni powłoki w porównaniu z powłoką nanoHAp, grupa K, która osadzana była przy takich samych parametrach, lecz w elektrolicie nie występowały nanocząstki metali. W przypadku powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem (rys. 31) zaobserwowano, że zwiększenie stężenia nanosrebra w elektrolicie dodatkowo spowodowało zmniejszenie liczby i rozmiaru pęknięć. Taki sam efekt zaobserwowano w przypadku powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, lecz jedynie w przypadku występowania większych nanocząstek miedzi w elektrolicie podczas osadzania (80 nm). W przypadku mniejszych nanocząstek miedzi (40 nm) liczbę i rozmiar pęknięć na powierzchni powłoki dla obu grup (KCu40 i KCu'40)

określono jako zbliżone do siebie. W przypadku wszystkich powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią (rys. 32 i 33) odnotowano, że zwiększenie stężenia nanocząstek miedzi w elektrolicie powoduje wzrost liczby aglomeratów nanocząstek miedzi w postaci jasnych punktów na powierzchni powłok. Wpływu obecności nanocząstek na liczbę aglomeratów nanoHAp na powierzchni powłok nie zaobserwowano.

Na rys. 34 przedstawiono topografię SEM powierzchni powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, uzyskanej metodą elektroforetyczną. W celu wyraźnego wskazania obecności na powierzchni powłoki nanocząstek miedzi, badanie wykonane zostało przy dwóch wartościach napięcia przyspieszającego (odpowiednio 5 i 15 kV).

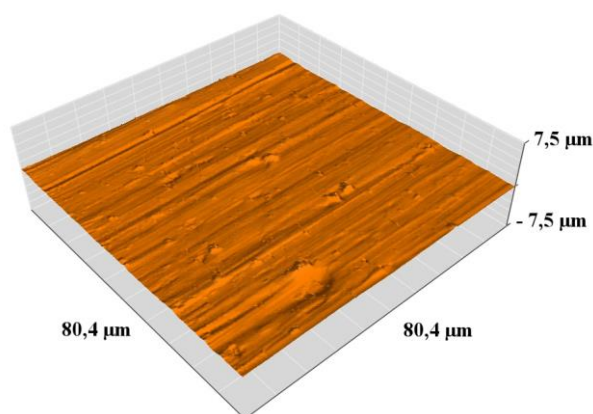


Rysunek 34. Topografia powierzchni SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005, z różną wartością napięcia przyspieszającego: 5kV (zdjęcie lewe), 15 kV (zdjęcie prawe)

Obserwacja topografii powierzchni powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią pokazuje (rys. 34), że w przypadku osadzania powłok z mieszaniną obu nanometali w elektrolicie liczba i rozmiar (długość) pęknięć jest mniejsza w porównaniu z powłokami uzyskanymi tylko z dodatkiem jednego z nanometali (srebra lub miedzi). Dzięki wykonaniu badań z różnymi wartościami napięcia przyspieszającego, przy wartości 15 kV zaobserwowano na powierzchni wzbudzone nanocząstki miedzi (widoczne przy zastosowanym powiększeniu są one prawdopodobnie w formie większych aglomeratów) analogicznie do powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią. Nie stwierdzono wpływu obecności obu nanometali w elektrolicie na liczbę i rozmieszczenie aglomeratów w porównaniu z powłokami nanohydroksyapatytowymi z nanosrebrem lub nanomiedzią. Na podstawie topografii powłoki nanoHAp z nanosrebrem i nanomiedzią stwierdzono znaczącą poprawę jakości powłoki, rozumianą przez występowanie mniejszej liczby pęknięć i aglomeratów, w porównaniu z powłoką nanohydroksyapatytową bez nanometali (grupa K).

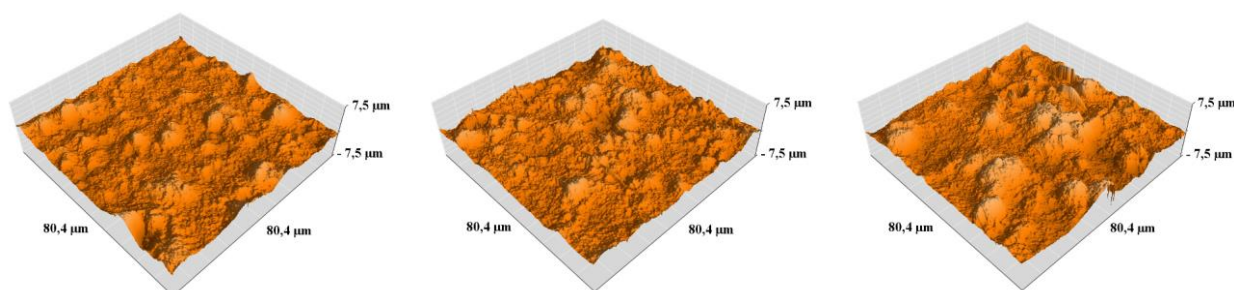
6.1.3. Badania topografii AFM

Na rys. 35 przedstawiono topografię powierzchni próbki referencyjnej Ti-13Zr-13Nb (po szlifowaniu) obserwowaną za pomocą mikroskopu sił atomowych (AFM).

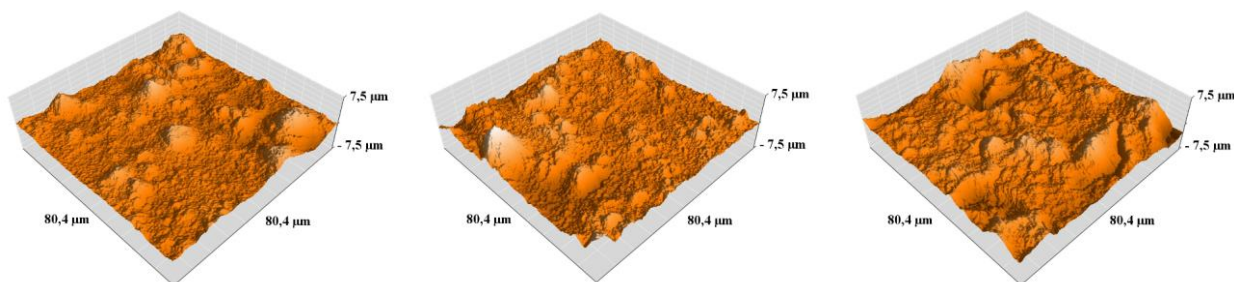


Rysunek 35. Topografia powierzchni AFM próbki referencyjnej

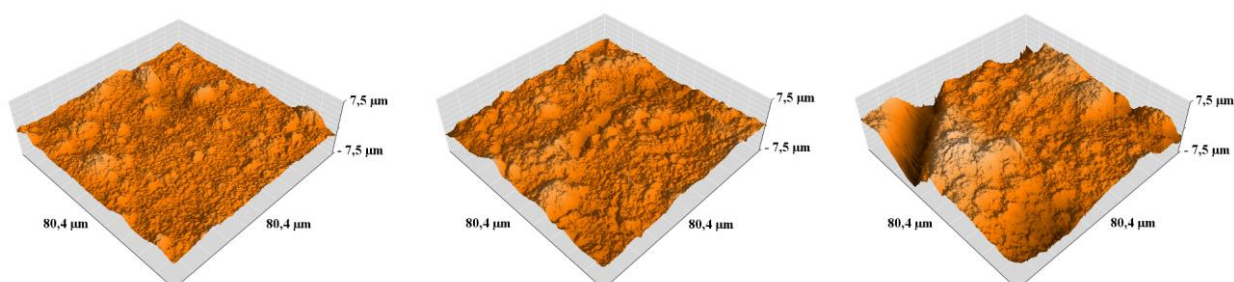
Na rys. 36–40 przedstawiono topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych dla grup próbek A–O.



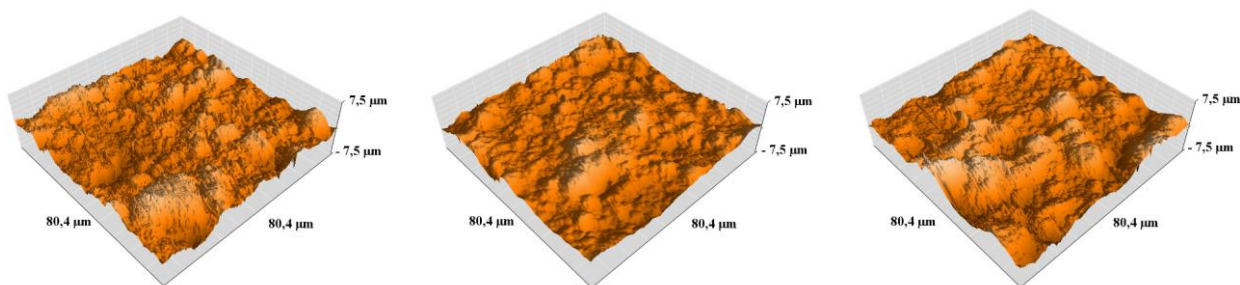
Rysunek 36. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa A (zdjęcie lewe), B (środek), C (zdjęcie prawe)



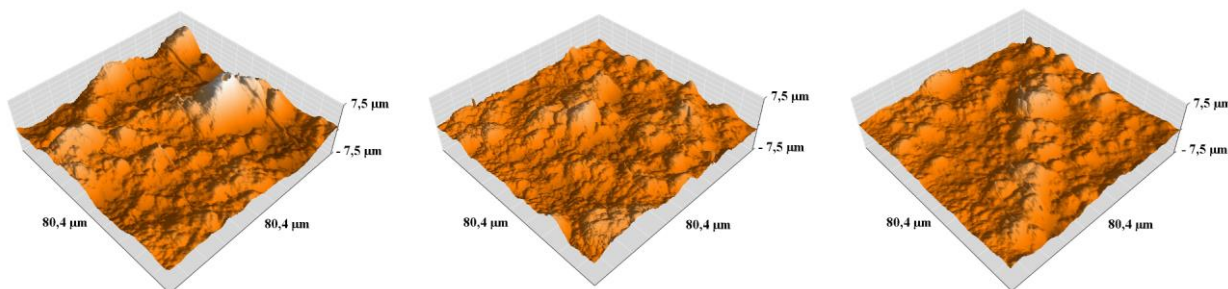
Rysunek 37. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa D (zdjęcie lewe), E (środek), F (zdjęcie prawe)



Rysunek 38. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa G (zdjęcie lewe), H (środek), I (zdjęcie prawe)



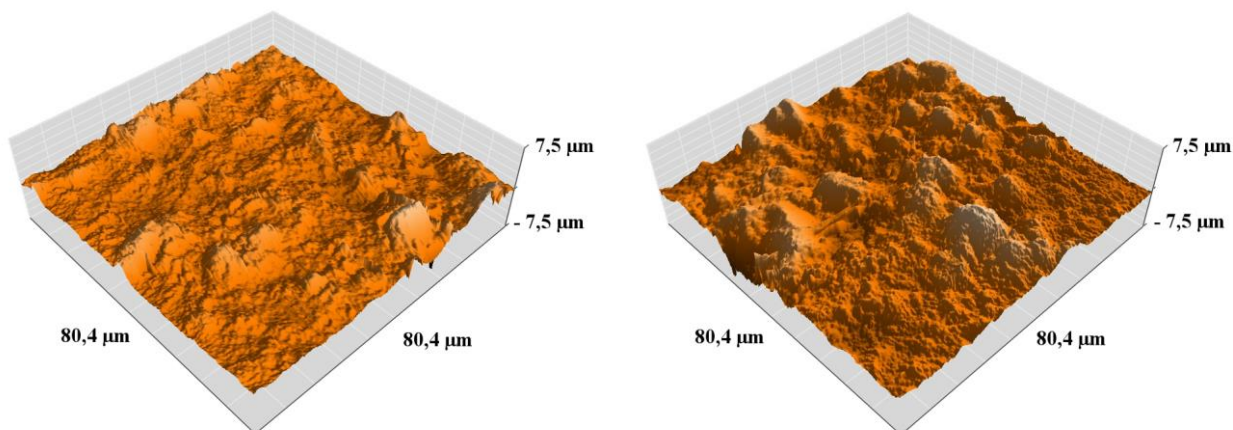
Rysunek 39. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa J (zdjęcie lewe), K (środek), L (zdjęcie prawe)



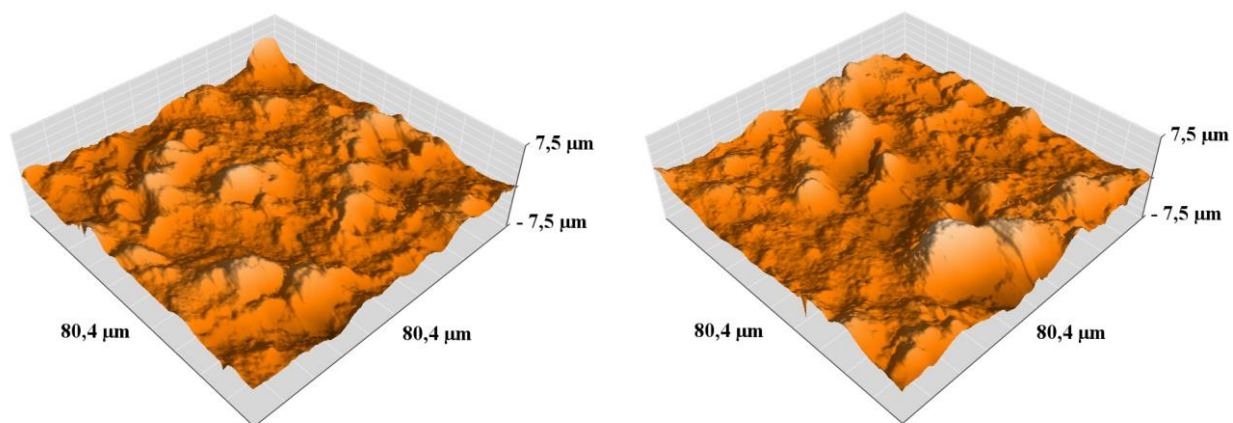
Rysunek 40. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa M (zdjęcie lewe), N (środek), O (zdjęcie prawe)

Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych (grupy A–O) w każdym przypadku wykazały zwiększenie chropowatości powierzchni w porównaniu z powierzchnią próbki referencyjnej Ti–13Zr–13Nb. Na powierzchni uzyskanych powłok zaobserwowano występujące aglomeraty nanohydroksyapatytu. Uzyskane wyniki topografii AFM korelują z wynikami topografii SEM. Przykładowo najmniejszą liczbę aglomeratów nanoHAp zaobserwowano na powierzchni powłoki z grupy G (rys. 38), a najdłuższe pęknięcia na powierzchni powłok z grupy I (rys. 38), co znajduje potwierdzenie w zdjęciach topografii powierzchni wykonanych z wykorzystaniem elektronowego mikroskopu skaningowego dla tych samych powłok (rys. 28).

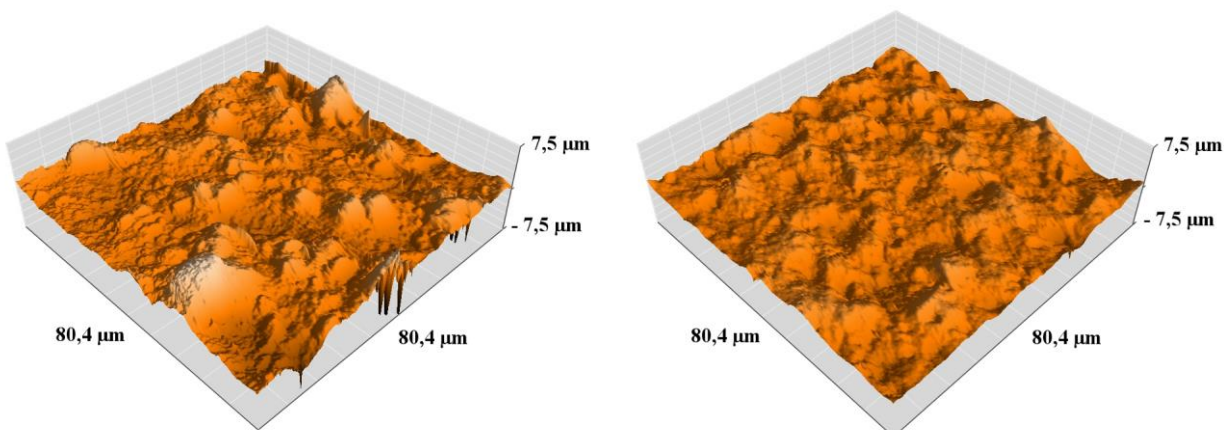
Na rys. 41–43 przedstawiono topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem lub z nanomiedzią.



Rysunek 41. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem: grupa KAg30 (zdjęcie lewe), KAg'30 (zdjęcie prawe)



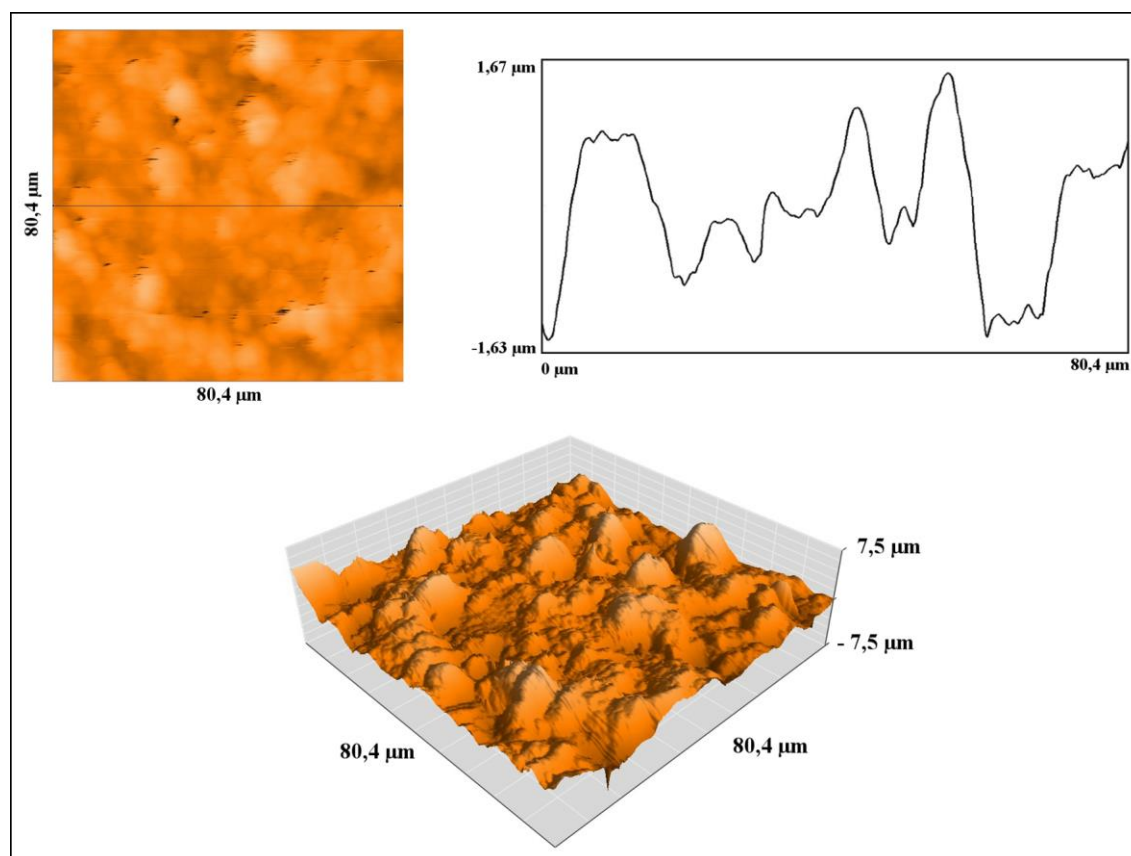
Rysunek 42. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem: grupa KCu40 (zdjęcie lewe), KCu'40 (zdjęcie prawe)



Rysunek 43. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem: grupa KCu80 (zdjęcie lewe), KCu'80 (zdjęcie prawe)

Na rys. 44 przedstawiono mapę nierówności, topografię powierzchni AFM oraz pojedynczy profilogram dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią. Mapa nierówności, z wykorzystaniem różnego nasycenia koloru, przedstawia rozmieszczenie odchyleni igły mikroskopu sił

atomowych podczas pomiaru chropowatości powierzchni. Dodatkowo w środku mapy zaznaczono miejsce pomiaru dla pojedynczego profilogramu, który przedstawiony został po jej prawej stronie.



Rysunek 44. Mapa nierówności, pojedynczy profilograf oraz topografia powierzchni AFM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005

W tabeli 18 przedstawiono wartości parametru chropowatości powierzchni (S_a) dla próbki referencyjnej Ti-13Zr-13Nb, grup A-O z powłokami nanohydroksyapatytowymi, próbek z powłokami nanohydroksyapatytowymi z nanosrebrem (grupy KAg30, KAg'30), próbek z powłokami nanohydroksyapatytowymi z nanomiedzią (grupy KCu40, KCu'40, KCu80 i KCu'80) oraz próbek z powłokami nanohydroksyapatytowymi z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005).

Tabela 18. Wartości parametru chropowatości powierzchni dla próbki referencyjnej i powłok nanohydroksyapatytowych

| Grupa próbek | Chropowatość powierzchni, Sa [μm] |
|---------------------|--|
| Próbka referencyjna | 0,13 |
| A | 0,75 |
| B | 0,55 |
| C | 0,77 |
| D | 0,61 |
| E | 0,41 |
| F | 0,71 |
| G | 0,44 |
| H | 0,57 |
| I | 1,26 |
| J | 0,91 |
| K | 0,64 |
| L | 1,01 |
| M | 1,26 |
| N | 0,67 |
| O | 0,64 |
| KAg30 | 0,52 |
| KAg'30 | 0,89 |
| KCu40 | 0,73 |
| KCu'40 | 0,86 |
| KCu80 | 0,76 |
| KCu'80 | 0,44 |
| KAg30Cu80-005 | 1,03 |

W przypadku powłok preferowanym parametrem chropowatości jest parametr chropowatości powierzchniowej Sa, daje on bowiem informację o stanie powierzchni, a nie pojedynczego przejścia, jak w przypadku parametru Ra. W przypadku wykonanych pomiarów AFM parametr Sa jest średnią pojedynczych profilogramów, wyliczoną automatycznie przez program do obsługi urządzenia. Ponieważ w celu wyznaczenia topografii powierzchni zadano 512 przejść, parametr Sa jest średnią takiej samej liczby wartości parametru Ra. Dodatkowo wykorzystując bezstykowy moduł AFM i stosunkowo długi czas pojedynczego przejścia (2s) możliwe było uzyskanie bardzo dokładnych wyników topografii powierzchni. W przypadku powłok, gdzie aglomeratów na powierzchni jest najwięcej, zauważalna jest większa wartość chropowatości.

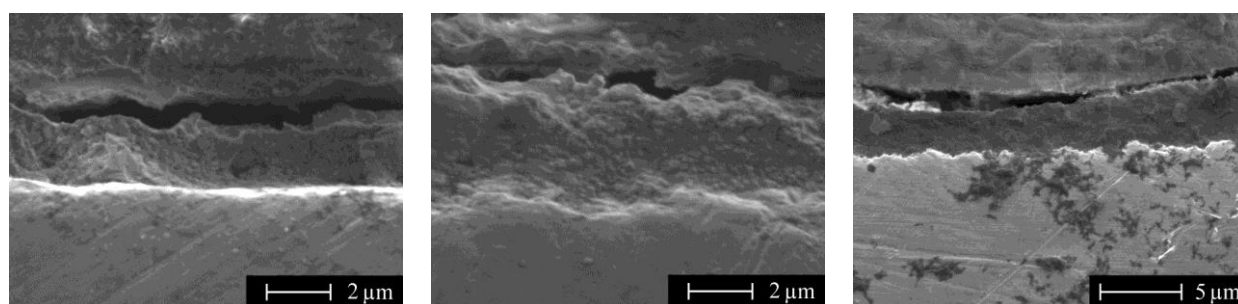
W przypadku wszystkich grup powłok zaobserwowano wzrost chropowatości w porównaniu z powierzchnią próbki referencyjnej. Wzrost napięcia, stężenia nanocząstek w elektrolicie oraz czasu osadzania stosowanego podczas elektroforezy zmniejsza liczbę aglomeratów na powierzchni powłok, co bezpośrednio wpływa na zmniejszenie wartości chropowatości. Ponieważ jednak większe napięcie wiąże się również z występującymi pęknięciami, chropowatość takich powłok jest większa niż w przypadku powłok, gdzie pęknięcia nie występują lub są znacząco mniejsze. Wpływ ten widoczny jest dla wszystkich badanych powłok. Przykładowo otrzymane wyniki chropowatości powłok



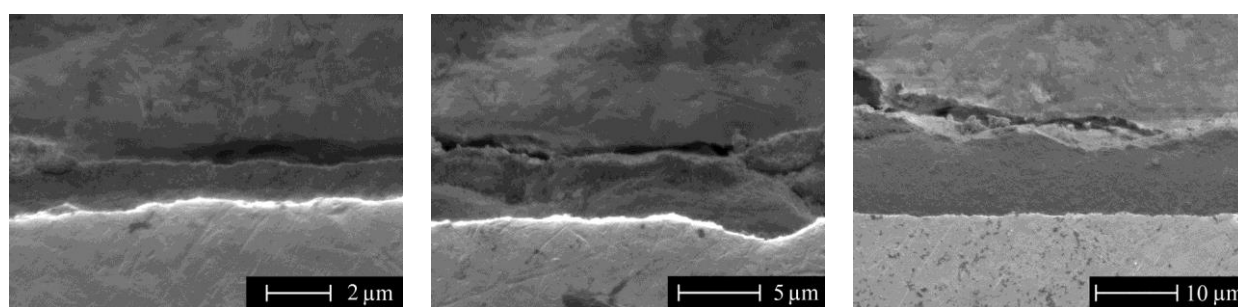
nanohydroksyapatytowych osadzanych w czasie 1 minuty (powłoki z grup A–I) bez dodatku nanometali pozwoliły na zaobserwowanie następujących zależności: początkowo przy małej wartości napięcia podczas procesu EPD (15 V) duża liczba aglomeratów wpływa na wysoką wartość chropowatości, zwiększenie napięcia (do 30 V) powoduje obniżenie chropowatości, która znowu wzrasta przy najwyższej wartości napięcia w wyniku pojawiających się pęknięć na powierzchni powłok. Efekt ten obserwowany jest dla niskich stężeń nanocząstek w zawieszynie, ponieważ dla najwyższej zawartości nanoproszku HAp (0,5 g / 100 ml alkoholu etylowego) pęknięcia występują już na powłokach osadzanych z najniższą wartością napięcia i ich liczba wzrasta wraz z jego wzrostem.

W przypadku powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem zaobserwowano zwiększenie chropowatości wraz ze wzrostem zawartości nanosrebra w elektrolicie. Efekt ten dostrzegalny jest również w przypadku powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, lecz tylko przy zastosowaniu mniejszych nanocząstek metalu. W przypadku powłok z większymi nanocząstkami miedzi efekt jest odwrotny. Osadzanie powłoki z wykorzystaniem zawiesziny z nanosrebrem i nanomiedzią spowodowało podwyższenie chropowatości powłoki z grupy KAg30Cu80-005.

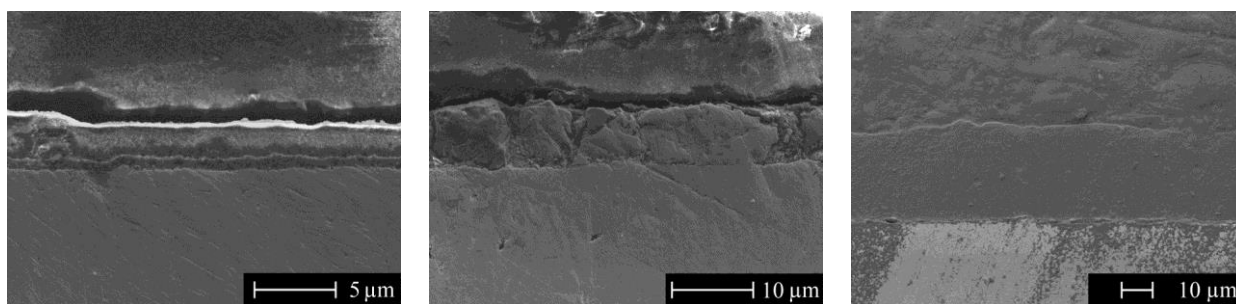
Na rys. 45–49 przedstawiono zdjęcia SEM (wykonane przy różnych powiększeniach) przekrojów powłok nanohydroksyapatytowych dla grup A–O.



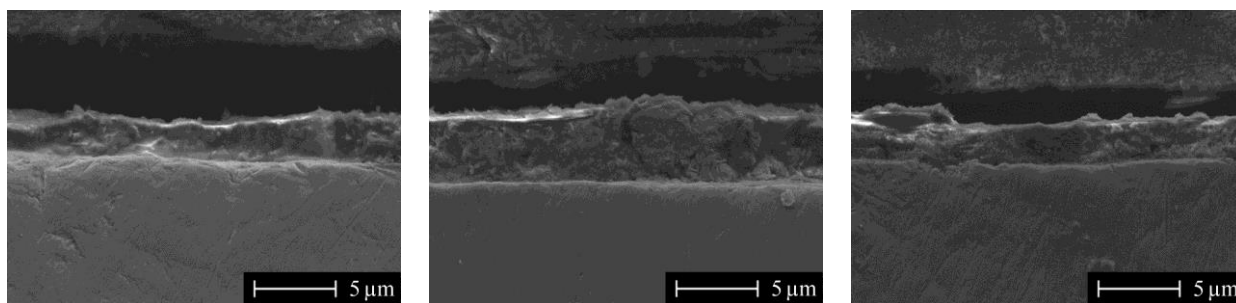
Rysunek 45. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa A (zdjęcie lewe)
B (środek), C (zdjęcie prawe)



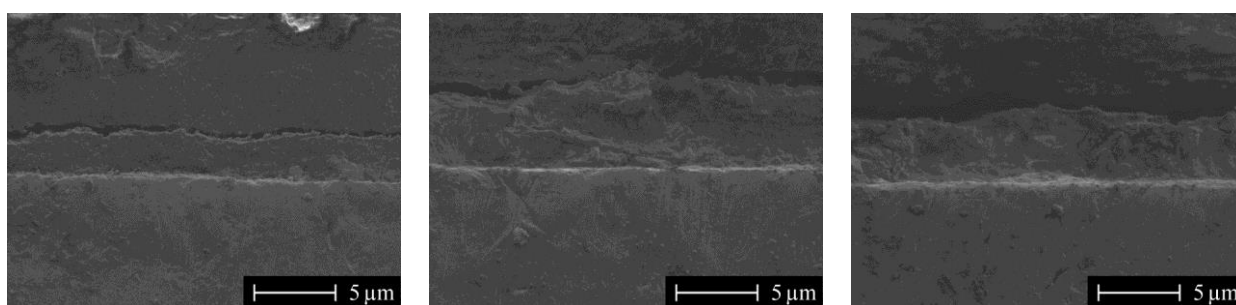
Rysunek 46. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa D (zdjęcie lewe),
E (środek), F (zdjęcie prawe)



Rysunek 47. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa G (zdjęcie lewe), H (środek), I (zdjęcie prawe)



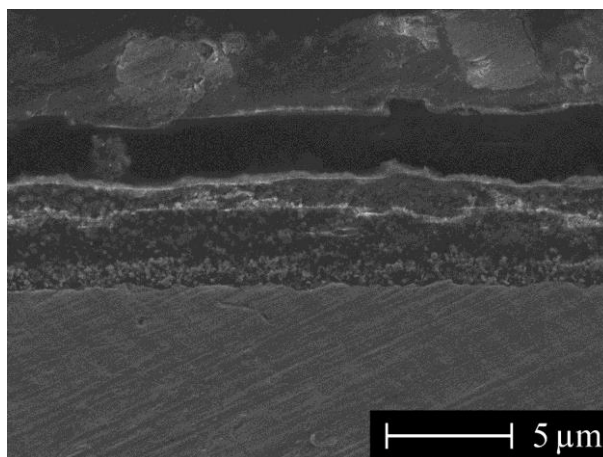
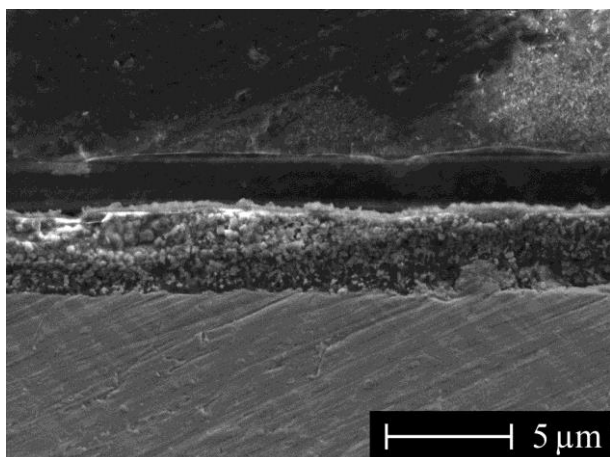
Rysunek 48. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa J (zdjęcie lewe), K (środek), L (zdjęcie prawe)



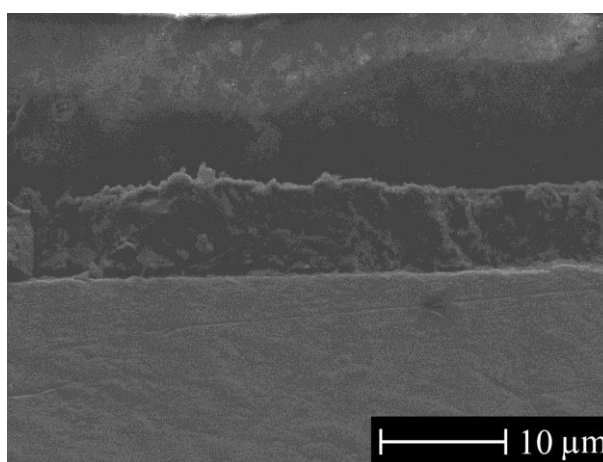
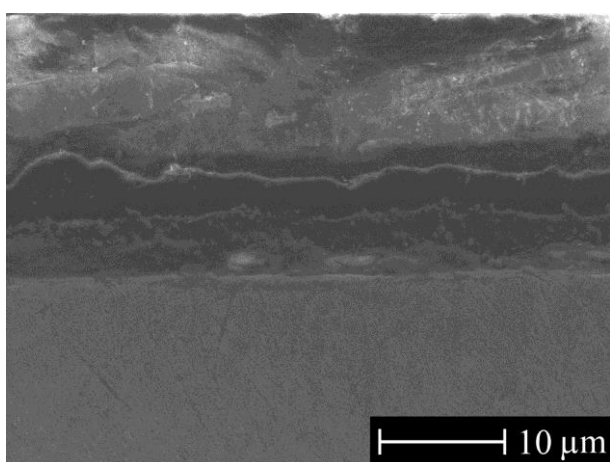
Rysunek 49. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa M (zdjęcie lewe), N (środek), O (zdjęcie prawe)

Na przekrojach powłok nanohydroksyapatytowych (grupy A–O) nie zaobserwowano delaminacji pomiędzy powłoką a podłożem z Ti–13Zr–13Nb, czy występowania pęknięć i pustek w powłokach. Zauważono natomiast nierównomierną grubość powłok, która jest zjawiskiem charakterystycznym dla powłok hydroksyapatytowych uzyskanych metodą elektroforetyczną. Zaobserwowane nierówności powierzchni powłok potwierdzone zostały również za pomocą pomiarów chropowatości uzyskanych z wykorzystaniem mikroskopii sił atomowych (AFM).

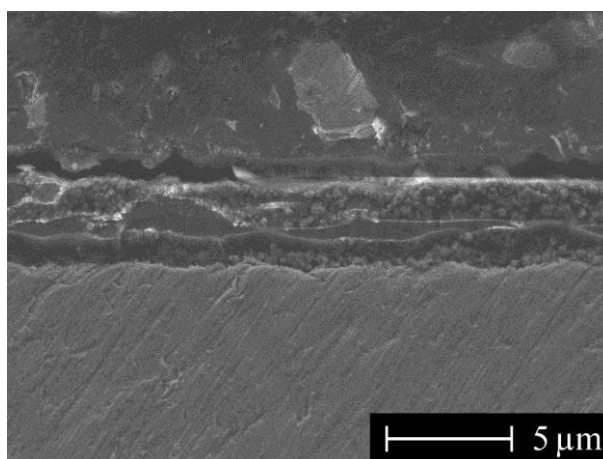
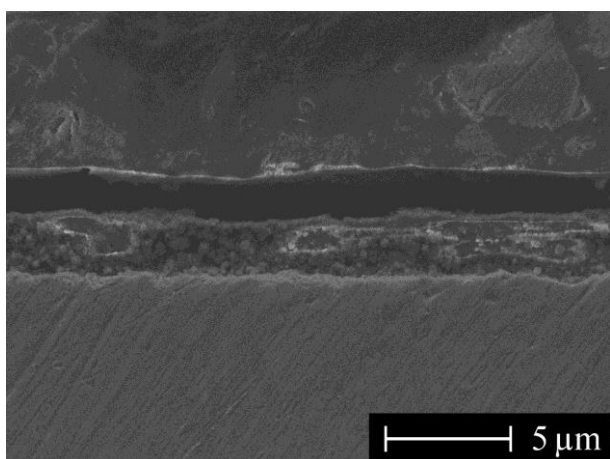
Na rys. 50–52 przedstawiono przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem lub z nanomiedzią, dla grup KAg30, KAg’30, KCu40, KCu’40, KCu80, KCu’80.



Rysunek 50. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem: grupa KAg30 (zdjęcie lewe), KAg'30 (zdjęcie prawe)

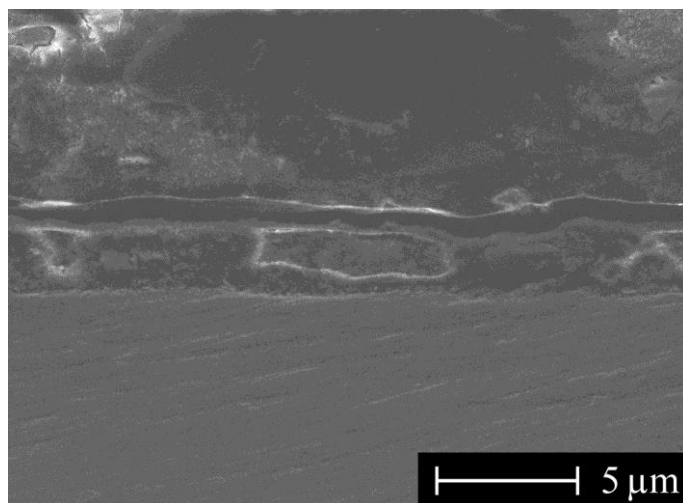


Rysunek 51. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią: grupa KCu40 (zdjęcie lewe), KCu'40 (zdjęcie prawe)



Rysunek 52. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią: grupa KCu80 (zdjęcie lewe), KCu'80 (zdjęcie prawe)

Na rys. 53 przedstawiono przekrój SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005.



Rysunek 53. Przekrój SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005

Nie zauważono wpływu dodatku nanocząstek srebra i miedzi oraz ich stężeń na delaminację powłok, a także występowania pęknięć i pustek w ich przekrojach, w porównaniu z powłoką nanohydroksyapatytową bez nanosrebra i nanomiedzi (grupa K).

W tabeli 19 przedstawiono grubości powłok nanohydroksyapatytowych dla powłok nanohydroksyapatytowych bez nanometali, powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem, powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią oraz powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią.

Tabela 19. Grubość powłok nanohydroksyapatytowych

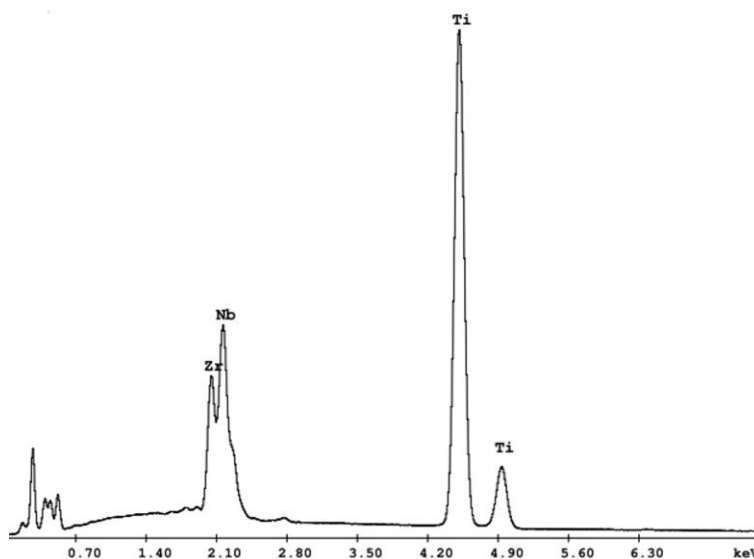
| Grupa próbek | Grubość powłoki [μm] |
|---------------|-----------------------------------|
| A | $2,07 \pm 0,52$ |
| B | $2,67 \pm 0,58$ |
| C | $5,16 \pm 0,53$ |
| D | $2,07 \pm 0,52$ |
| E | $4,06 \pm 1,06$ |
| F | $12,16 \pm 1,70$ |
| G | $2,92 \pm 0,60$ |
| H | $7,99 \pm 2,78$ |
| I | $29,35 \pm 5,09$ |
| J | $2,61 \pm 0,40$ |
| K | $4,67 \pm 1,07$ |
| L | $2,80 \pm 0,50$ |
| M | $2,65 \pm 1,36$ |
| N | $4,21 \pm 1,53$ |
| O | $4,32 \pm 0,95$ |
| KAg30 | $3,64 \pm 0,86$ |
| KAg'30 | $4,49 \pm 0,58$ |
| KCu40 | $6,27 \pm 1,48$ |
| KCu'40 | $7,74 \pm 1,45$ |
| KCu80 | $2,42 \pm 0,34$ |
| KCu'80 | $3,28 \pm 0,31$ |
| KAg30Cu80-005 | $2,45 \pm 0,31$ |

W przypadku każdej z powłok zauważono znaczące odchylenia wartości grubości powłok od średnich grubości, czego powodem jest ich nierównomierność. Wyniki przedstawione w tabeli 19 wyraźnie wskazują na wzrost grubości uzyskanych powłok wraz ze wzrostem napięcia prądu zastosowanego podczas procesu elektroforetycznego osadzania. Dodatkowo wzrost grubości następuje wraz ze wzrostem zawartości proszku nanoHAp w elektrolicie, co zauważalne jest dla powłok z grup A–I. Ponadto zaobserwowano, że dla dużych stężeń proszku nanoHAp w elektrolicie wpływ napięcia na grubość powłok znacząco wzrasta, o czym świadczą wartości grubości dla powłok z grup G–I. Dla niskich wartości napięcia, przy zastosowaniu jednakowego czasu osadzania, efekt wzrostu stężenia proszku nanoHAp na grubość uzyskanych powłok jest zanedbywalny, natomiast przy wzroście czasie osadzania (z 1 minuty do 2 i 3 minut) zaobserwowano nieznaczny wzrost grubości powłok. Wykazano również wzrost grubości powłok wraz ze wzrostem czasu osadzania. W przypadku powłok nanohydroksyapatytowych z nanometalami wykazano spadek grubości powłok, w porównaniu z powłoką nanoHAp bez nanometali (grupa K), dla wszystkich powłok z wykluczeniem grup KCu40i KCu'40, gdzie stwierdzono wzrost ich grubości. Dla powłok nanoHAp z nanosrebrem lub nanomiedzią zauważalny był wzrost grubości wraz ze wzrostem stężenia nanometali w elektrolicie. Ponadto wśród wszystkich powłok nanoHAp z nanometalami jedynie powłoki nanoHAp z nanomiedzią z grup KCu40 i KCu'40 charakteryzowały się znacznym odchyleniem wartości grubości od wartości średniej.

6.2. Badania składu chemicznego i fazowego

6.2.1. Spektrometria dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego

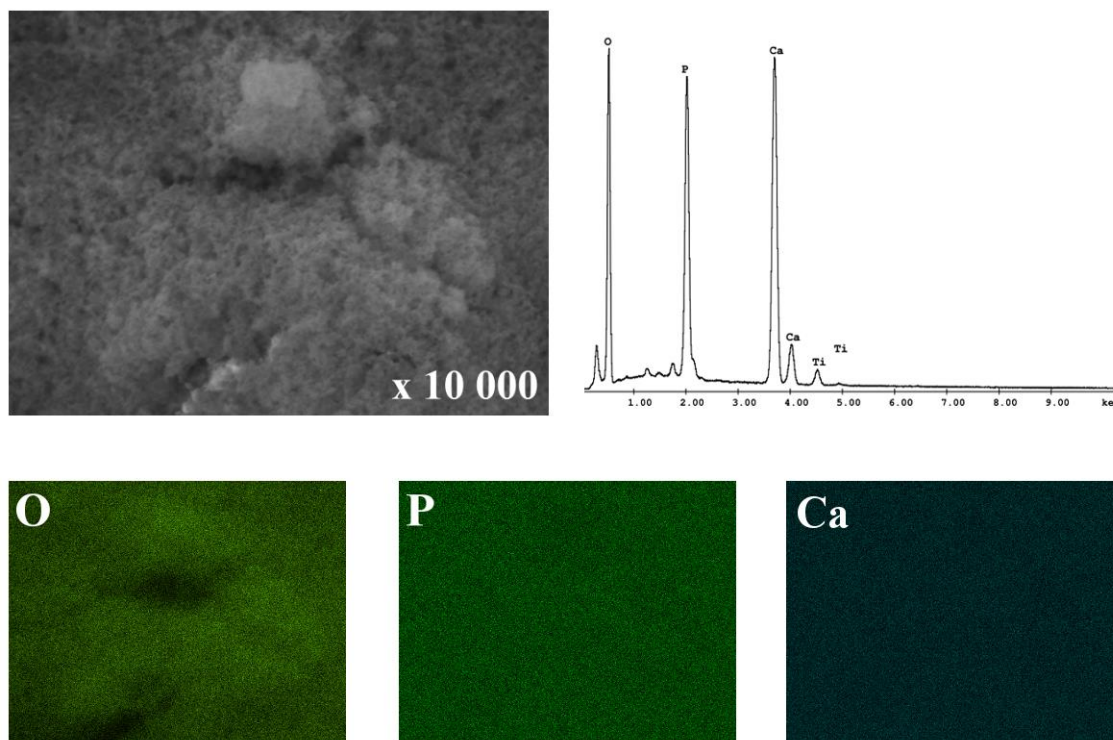
Na rys. 54 przedstawiono wyniki badań spektroskopii dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (EDS) wykonane dla próbki referencyjnej Ti–13Zr–13Nb.



Rysunek 54. Widmo EDS dla próbki referencyjnej Ti–13Zr–13Nb

Wykorzystując spektroskopię dyspersji promieniowania rentgenowskiego wykazano obecność trzech podstawowych pierwiastków stopowych obecnych w materiale rodzimym: tytanu, cyrkonu i niobu. Najintensywniejszy pik zaobserwowany został dla tytanu.

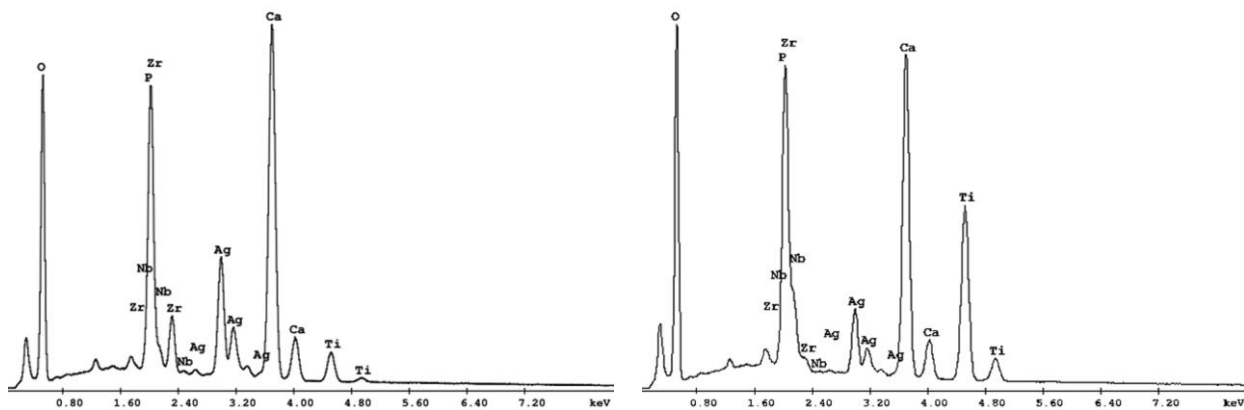
Na rys. 55 przedstawiono widmo EDS, rozkład pierwiastków oraz zdjęcie analizowanego obszaru (wykonane z wykorzystaniem mikroskopu skaningowego) dla powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K.



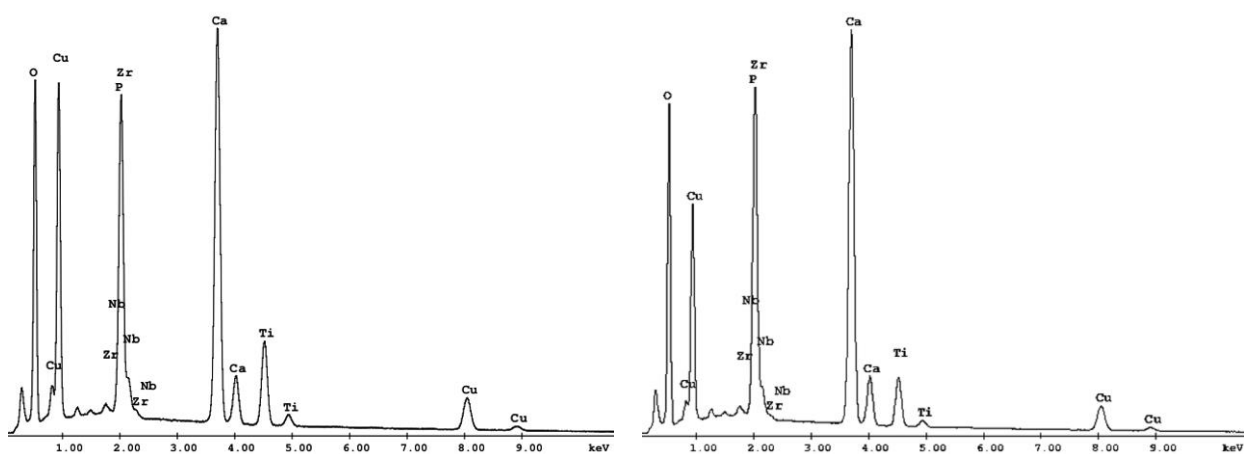
Rysunek 55. Widmo EDS, rozkład pierwiastków oraz zdjęcie SEM analizowanego obszaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K

Analizując widmo EDS powłoki nanohydroksyapatytowej z grupy K (rys. 55) stwierdzono obecność w badanym obszarze następujących pierwiastków powłoki: wapnia, fosforu, tlenu oraz z pierwiastków metalicznego podłoża – jedynie tytanu. Rozkład trzech pierwszych pierwiastków (O, P i Ca) jest jednorodny i charakterystyczny dla powłok hydroksyapatytowych.

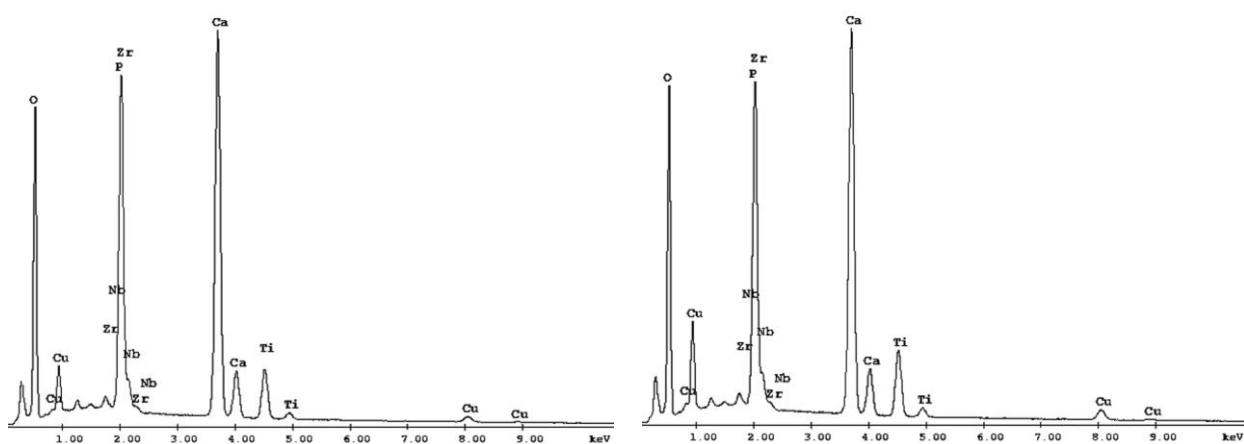
Na rys. 56–58 przedstawiono wyniki badań spektroskopii dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (EDS) wykonane dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem (grupy KAg30 i KAg'30) oraz powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią (grupy KCu40, KCu'40, KCu80, KCu'80).



Rysunek 56. Widma EDS dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem: grupa KAg30 (lewe widmo) i KAg'30 (prawe widmo)



Rysunek 57. Widma EDS dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupa KCu40 (lewe widmo) i KCu'40 (prawe widmo)

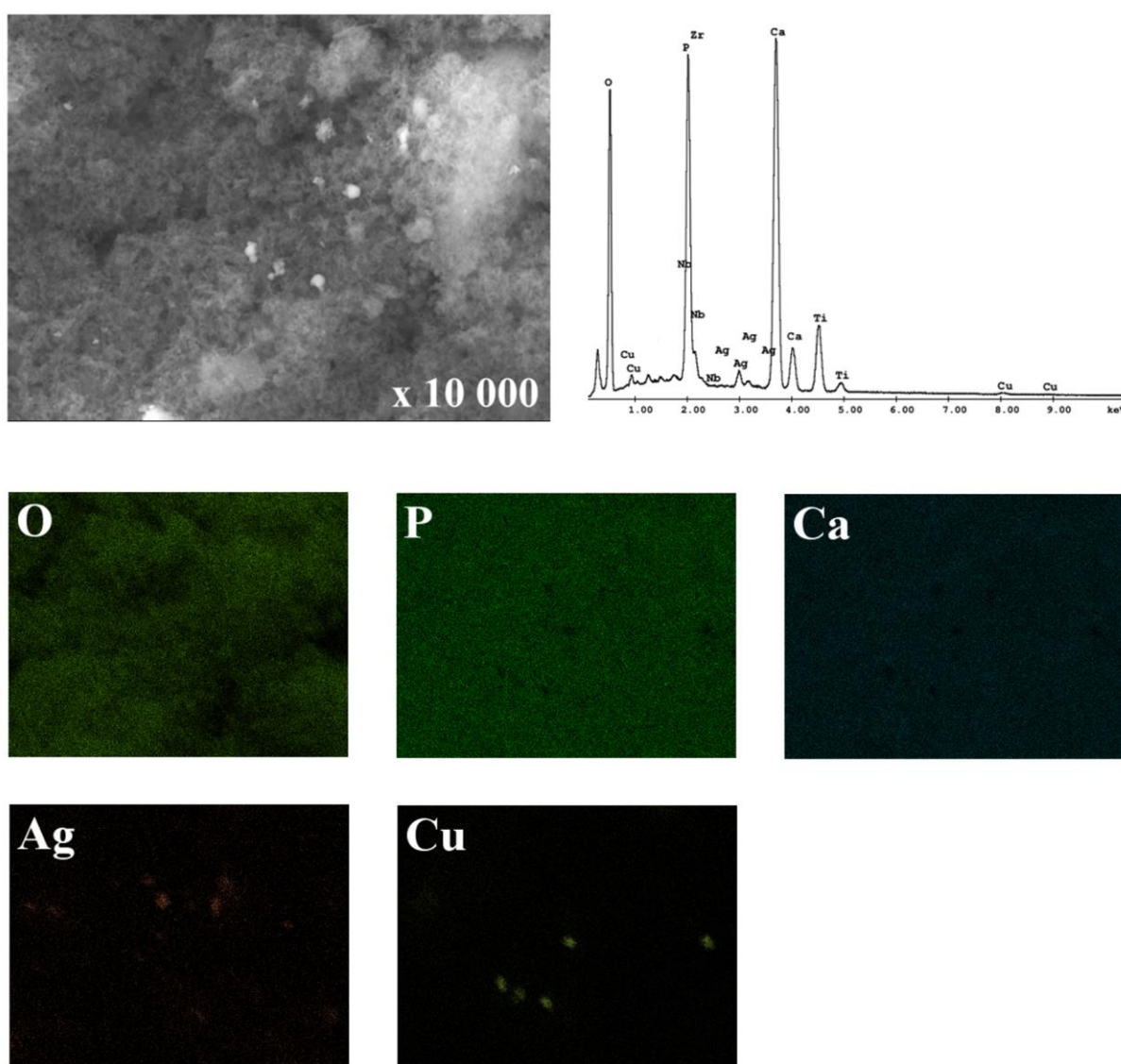


Rysunek 58. Widma EDS dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupa KCu80 (lewe widmo) i KCu'80 (prawe widmo)

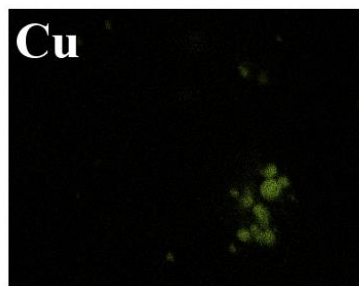
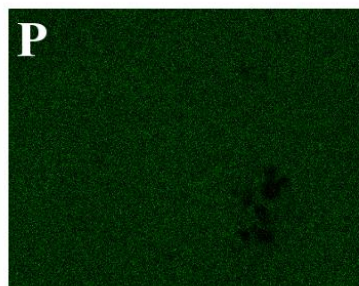
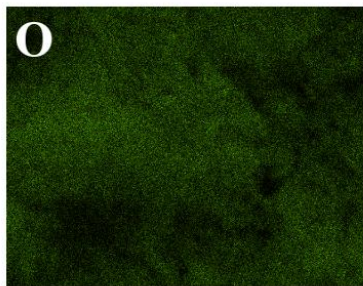
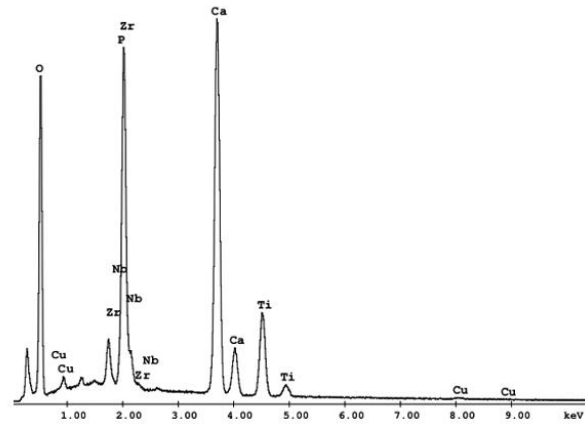
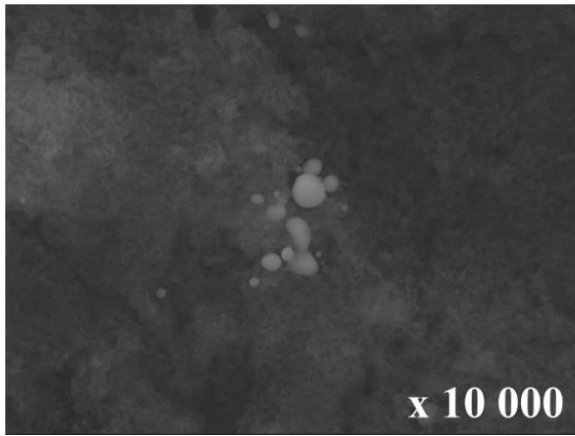
Na widmach EDS dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem (rys. 56) zaobserwowano obecność pochodzących z powłoki pierwiastków: O, Ca, P i Ag, oraz pierwiastków podłoża: Ti, Zr i Nb. W przypadku powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią (rys. 57-58) wykazano obecność następujących pierwiastków powłoki: O, Ca, P i Cu oraz pierwiastków podłoża: Ti, Zr, Nb. Ponieważ

badane powłoki były stosunkowo cienkie, a liczba małych nanocząstek metali była niewielka, aby udowodnić ich obecność, należało zastosować niewielki obszar badawczy powłoki z centrowaniem na widoczne na powierzchni nanocząstki metali. W innym wypadku bowiem niemożliwe było wzbudzenie tak małej liczby nanocząstek metali, aby można byłoby zaobserwować ich piki na widmie EDS. Na przedstawionych widmach EDS dla powłok nanoHAp z nanosrebrem i nanomiedzią nie zaprezentowano zatem rzeczywistej liczby nanocząstek srebra i miedzi w powłokach nanoHAp, a jedynie udowodniono ich obecność.

Na rys. 59 i 60 przedstawiono widma EDS, rozkłady pierwiastków oraz zdjęcia analizowanych obszarów (wykonane z wykorzystaniem mikroskopu skaningowego) dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005) przed i po obróbce termicznej.



Rysunek 59. Widmo EDS, rozkład pierwiastków oraz zdjęcie SEM analizowanego obszaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią przed obróbką termiczną, grupa KAg30Cu80-005



Rysunek 60. Widmo EDS, rozkład pierwiastków oraz zdjęcie SEM analizowanego obszaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią po obróbce termicznej, grupa KAg30Cu80-005

Wykorzystując odpowiednie powiększenia obrazów SEM analizowanych obszarów powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005), udowodniono występowanie, w formie aglomeratów, nanocząstek o odmiennym kształcie niż nanocząstki hydroksyapatytu zarówno przed i po obróbce termicznej. Analizując widma EDS stwierdzono obecność pierwiastków powłoki, takich jak tlen, wapń i fosfor, oraz pierwiastków podłoża, takich jak tytan, cyrkon i niob, zarówno dla powłoki z grupy KAg30Cu80-005 przed, jak i po obróbce termicznej. Obecność pierwiastków podłoża potwierdza małą grubość uzyskanych powłok. Ponadto w analizowanych obszarach przed obróbką termiczną wykryto obecność srebra i miedzi, po obróbce natomiast nie zaobserwowano znaczącej ilości pierwiastkowego srebra. Rozkład pierwiastków zarówno dla powłoki przed obróbką termiczną, jak po niej dla pierwiastków takich jak O, Ca i P, jest równomierny w całym obszarze, co charakterystyczne jest dla powłok hydroksyapatytowych, bowiem każde z ziaren proszku nanoHAp składa się z tych pierwiastków. Ponadto rozkład nanometali (Ag i Cu) wskazuje na małą ilość równomiernie rozłożonych pierwiastków. W analizowanych obszarach występują one głównie w postaci

aglomeratów. Rozkład pierwiastków takich jak srebro i miedź koreluje ściśle z uzyskanymi widmami EDS, bowiem aby zaobserwować pierwiastki te w widmie, należało wzbudzić aglomeraty nanometali, gdyż mniejsze ilości pierwiastków nie były widoczne w widmie. W przypadku powłoki nanoHAp z nanoAg i nanoCu (grupa KAg30Cu80-005) po obróbce termicznej nie zaobserwowano obecności srebra w widmie EDS, jedynie małą ilość w rozkładzie pierwiastków, zaś w przypadku powłoki przed obróbką termiczną zaobserwowano zarówno srebro, jak i miedź. Ponadto analizując rozkład pierwiastków metalicznych wraz ze zdjęciem SEM badanego obszaru stwierdzono, że część nanocząstek srebra i miedzi znajduje się również wewnątrz powłoki nanoHAp, ponieważ na rozkładzie widoczne są obszary świadczące o wzbudzeniu tych pierwiastków.

6.2.2. Absorpcyjna spektroskopia atomowa

W tabeli 20 przedstawiono wyniki pomiarów ilości nanosrebra i nanomiedzi w powłoce nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005) przed obróbką termiczną i po obróbce termicznej, wykonanych z wykorzystaniem absorpcyjnej spektroskopii atomowej (ASA).

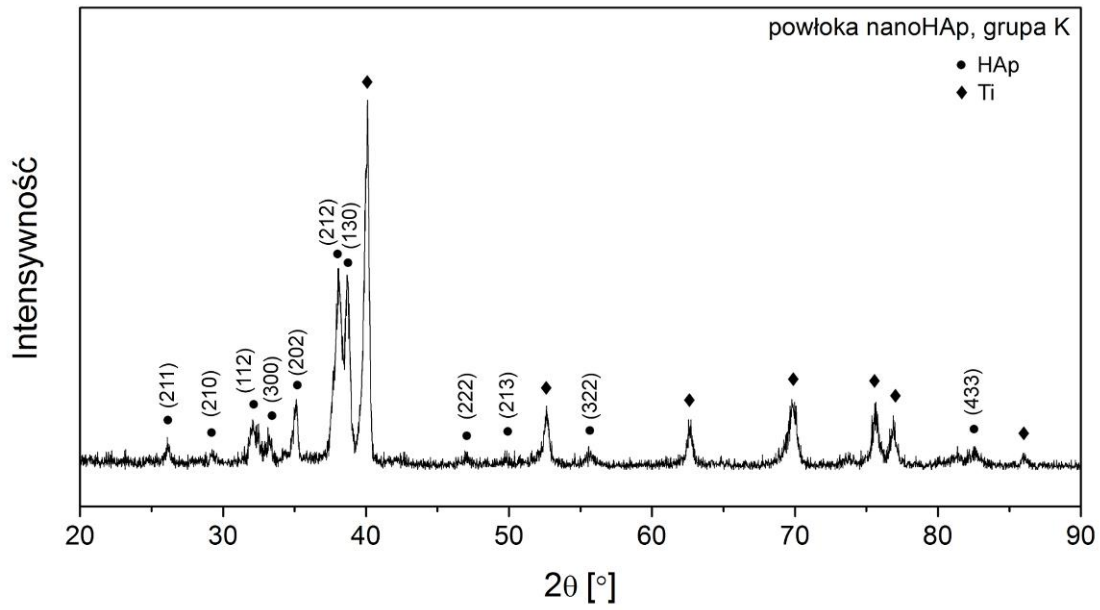
Tabela 20. Zawartość nanometali w powłoce nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią

| Pierwiastek | Zawartość [mg/m ²] | |
|-------------|--------------------------------|-----------------------|
| | przed obróbką termiczną | po obróbce termicznej |
| Srebro | 7460,0 ± 160,0 | 35,2 ± 6,8 |
| Miedź | 8270,0 ± 450,0 | 326,4 ± 9,8 |

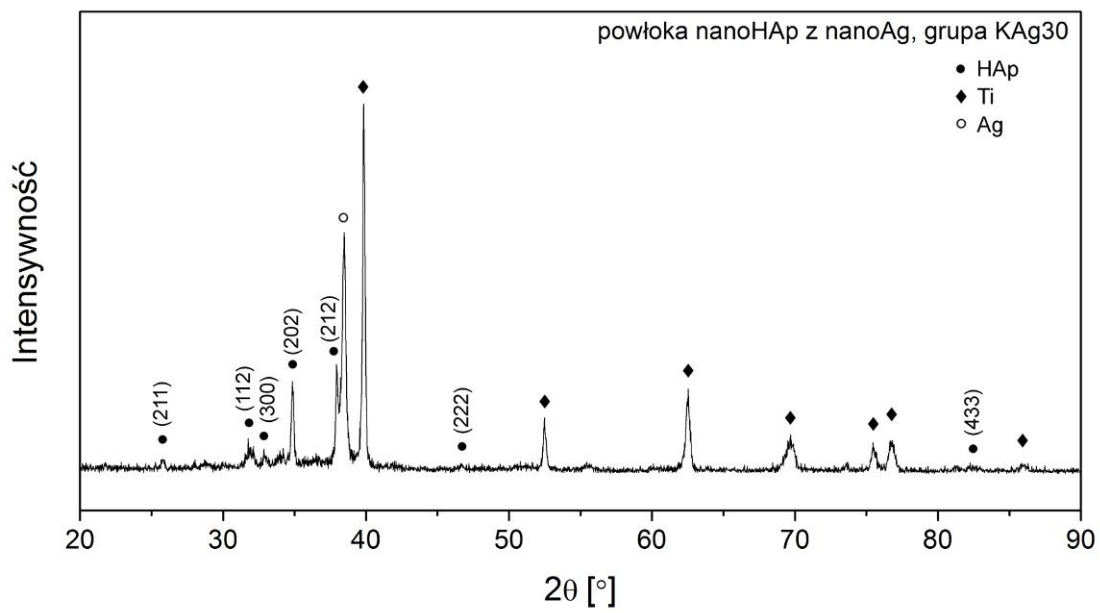
Wyniki zawartości srebra i miedzi przedstawione w tabeli 20 wyrażone zostały jednostką mg/m², przedstawiają bowiem zawartość tych metalicznych pierwiastków na danym jednostkowym obszarze powierzchni, którą w przeprowadzonym badaniu była powierzchnia próbki. W przypadku powłoki przed obróbką termiczną potwierdzono obecność srebra i miedzi o zbliżonej zawartości w powłoce nanohydroksyapatytowej, natomiast po obróbce termicznej zaobserwowano znaczący spadek zawartości obu pierwiastków w powłoce, przy czym miedzi pozostało nadal około dziesięć razy więcej niż srebra.

6.2.3. Dyfrakcja rentgenowska

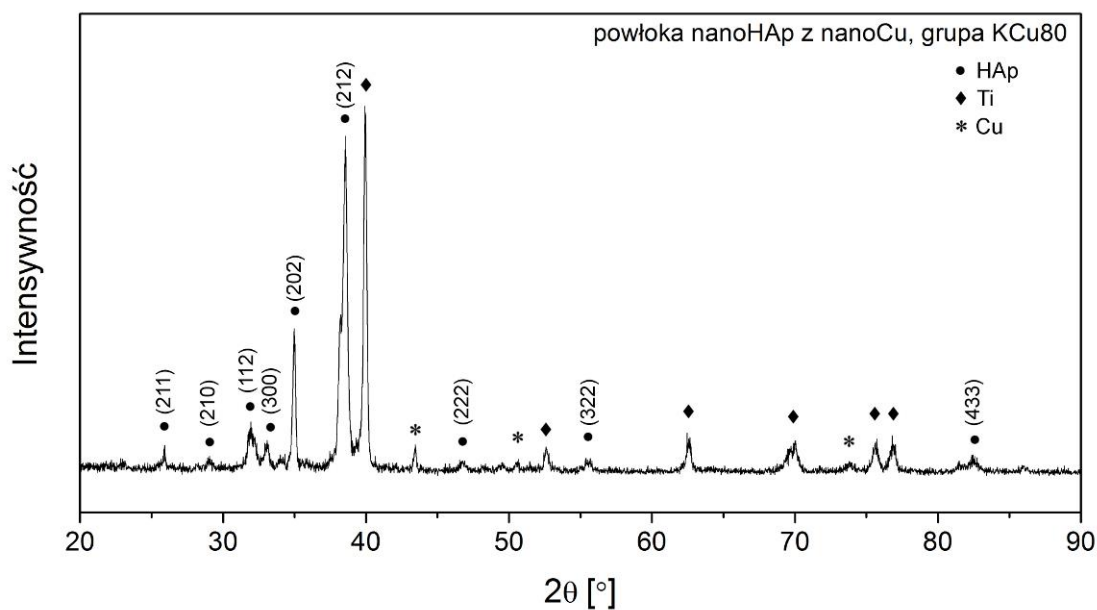
Na rys. 61–64 przedstawiono wyniki analizy fazowej powłoki nanohydroksyapatytowej (grupa K), nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem (grupa KAg30), nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią (grupa KCu80) oraz nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005), uzyskane za pomocą dyfraktografii rentgenowskiej (XRD).



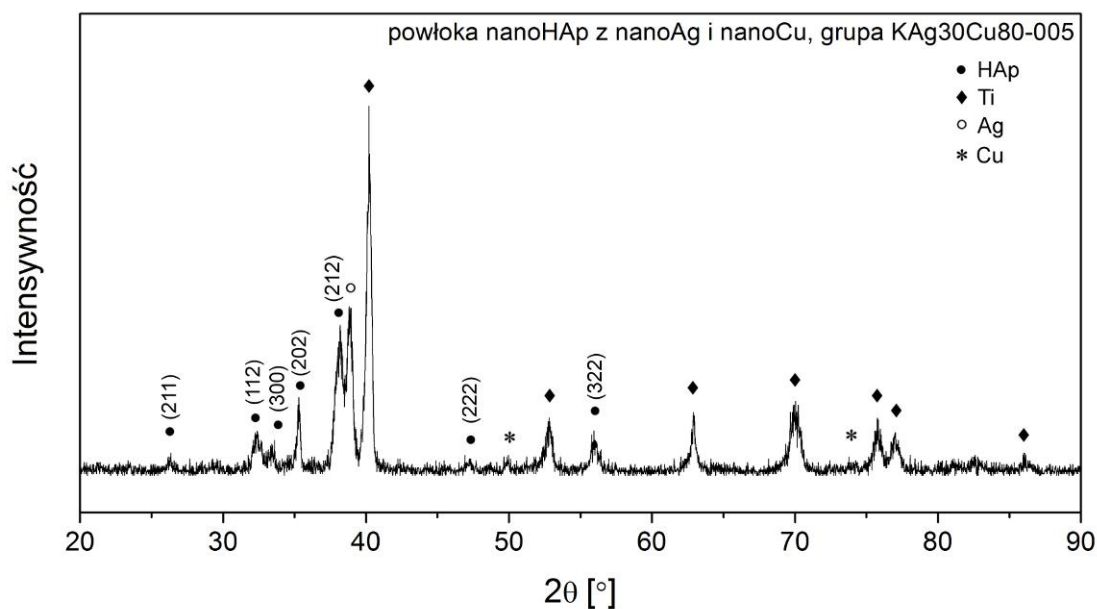
Rysunek 61. Analiza fazowa XRD powłoki nanohydroksyapatytowej (grupa K)



Rysunek 62. Analiza fazowa XRD powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem (grupa KAg30)



Rysunek 63. Analiza XRD powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią (grupa KCu80)



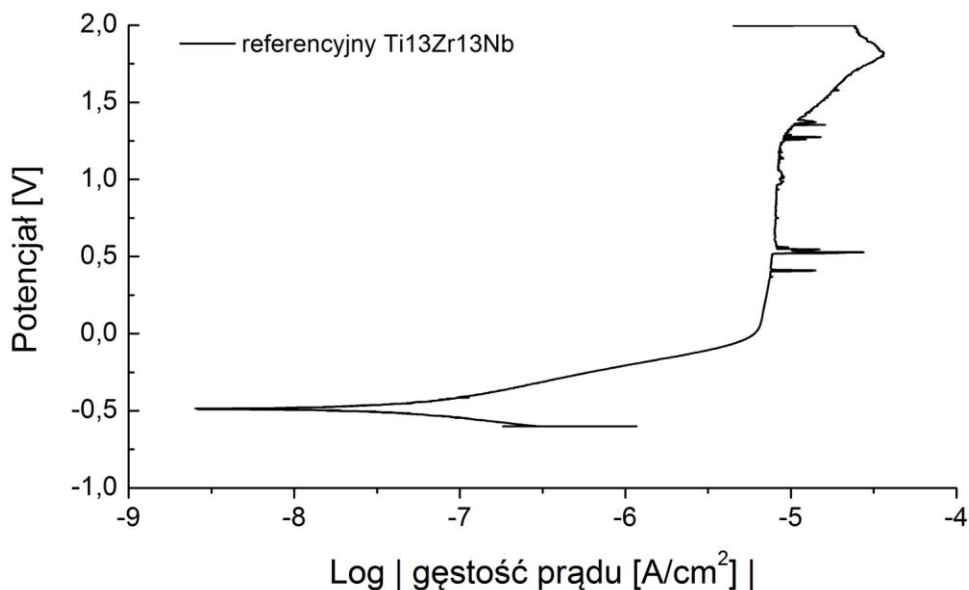
Rysunek 64. Analiza XRD powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (KAg30Cu80-005)

Wykorzystując analizę fazową udowodniono obecność krystalicznego hydroksyapatytu we wszystkich analizowanych powłokach. Dla powłoki nanoHAp z grupy K (rys. 61) zaobserwowano występowanie największej liczby refleksów krystalicznego hydroksyapatytu o określonych pozycjach: (211), (210), (112), (300), (202), (212), (130), (222), (213), (322), (433) – PDF (*ang. powder diffraction data*) 01-074-0566. Ponadto w każdej powłoce zaobserwowano refleksy pochodzące od tytanu (PDF 00-044-1294), co potwierdza małą grubość uzyskanej powłoki. W przypadku powłok nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem (rys. 62), nanomiedzią (rys. 63) oraz nanosrebrem i nanomiedzią (rys. 64) stwierdzono także występowanie refleksów krystalicznego hydroksyapatytu, lecz w mniejszej liczbie niż w przypadku powłoki nanoHAp z grupy K. W przypadku powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem zaobserwowano intensywny refleks srebra (PDF 00-004-0783), a w przypadku powłoki

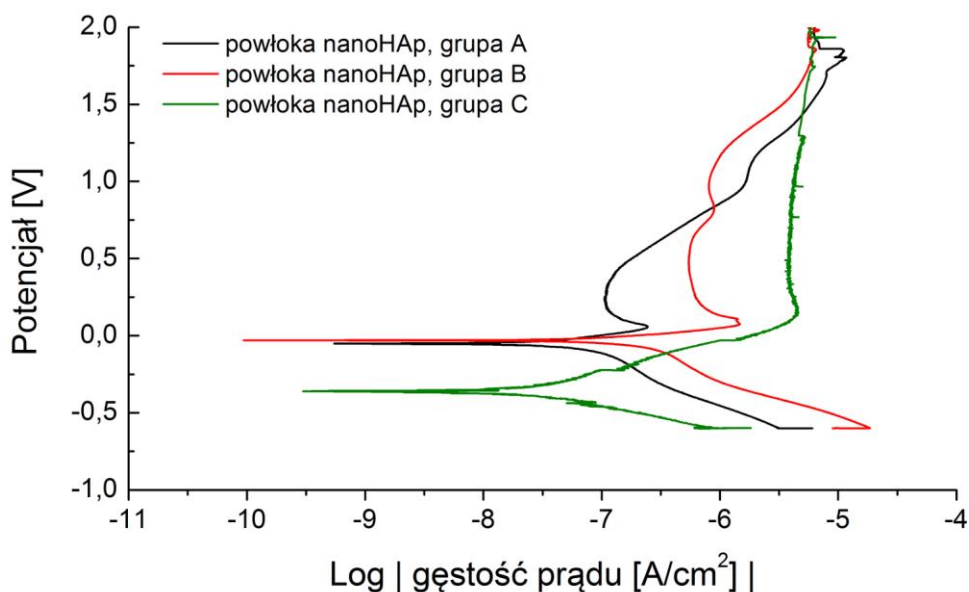
nanoHAp z nanomiedzią zaobserwowano refleksy miedzi (PDF 00-0040836). W przypadku powłoki nanoHAp z nanosrebrem i nanomiedzią analiza XRD udowodniła obecność zarówno srebra, jak i miedzi.

6.3. Badania korozyjne

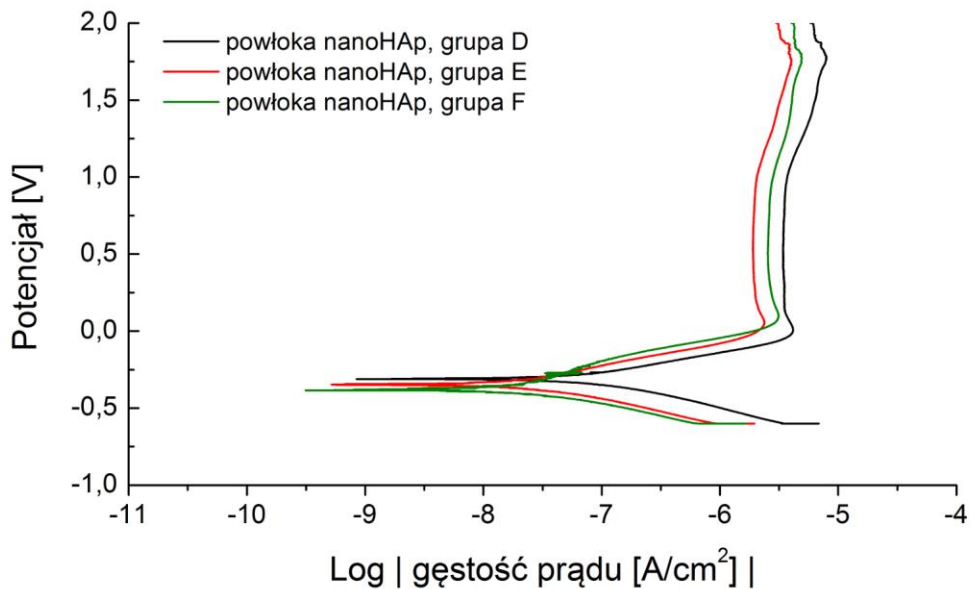
Na rys. 65 przedstawiono wykres krzywych potencjodynamicznych dla próbki referencyjnej stopu Ti-13Zr-13Nb, na rys. 66–70 wykresy krzywych potencjodynamicznych dla powłok nanohydroksyapatytowych z grup A–O.



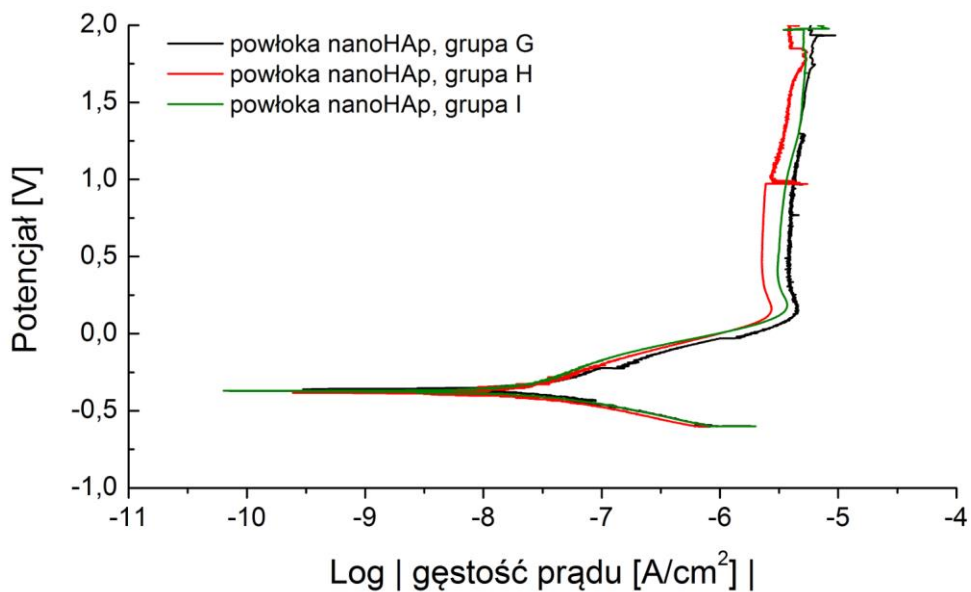
Rysunek 65. Krzywe potencjodynamiczne dla próbki referencyjnej Ti-13Zr-13Nb



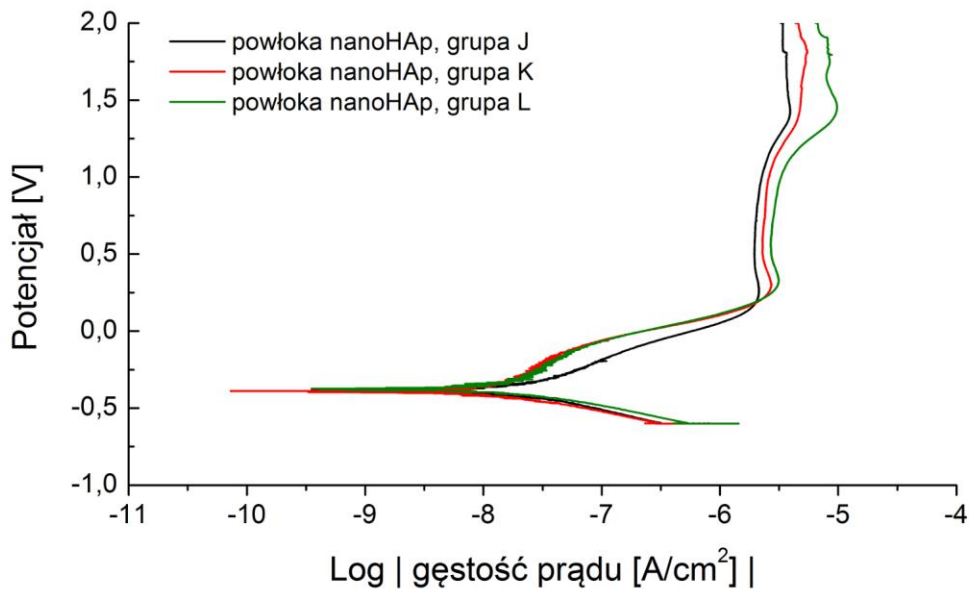
Rysunek 66. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych, grupy A, B i C



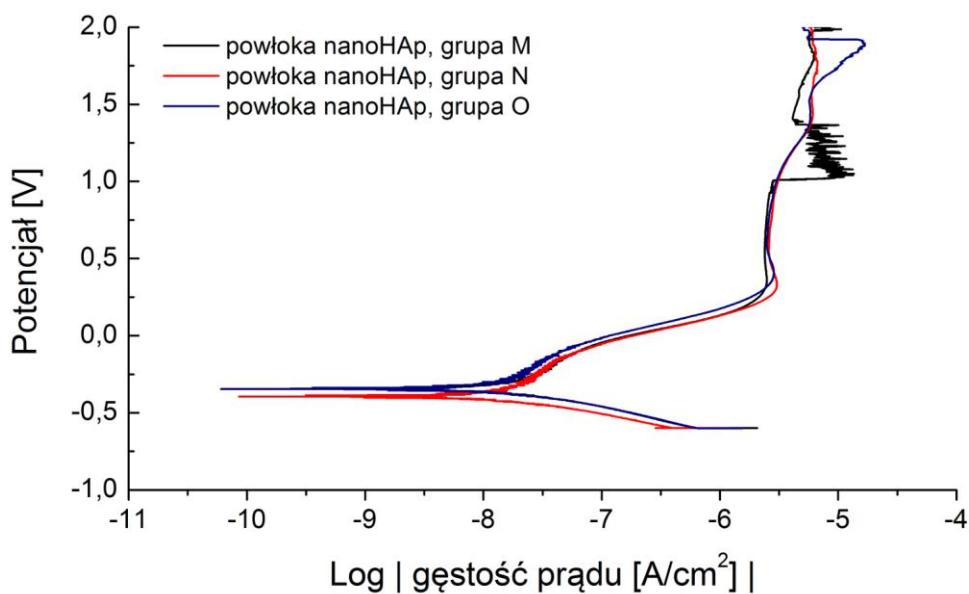
Rysunek 67. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych, grupy D, E i F



Rysunek 68. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych, grupy G, H i I

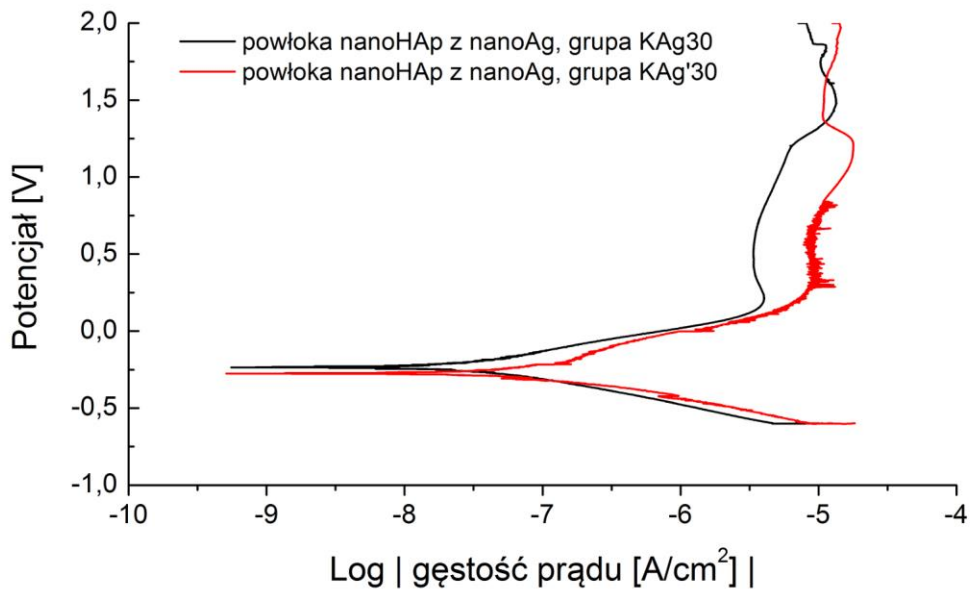


Rysunek 69. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych, grupy J, K i L

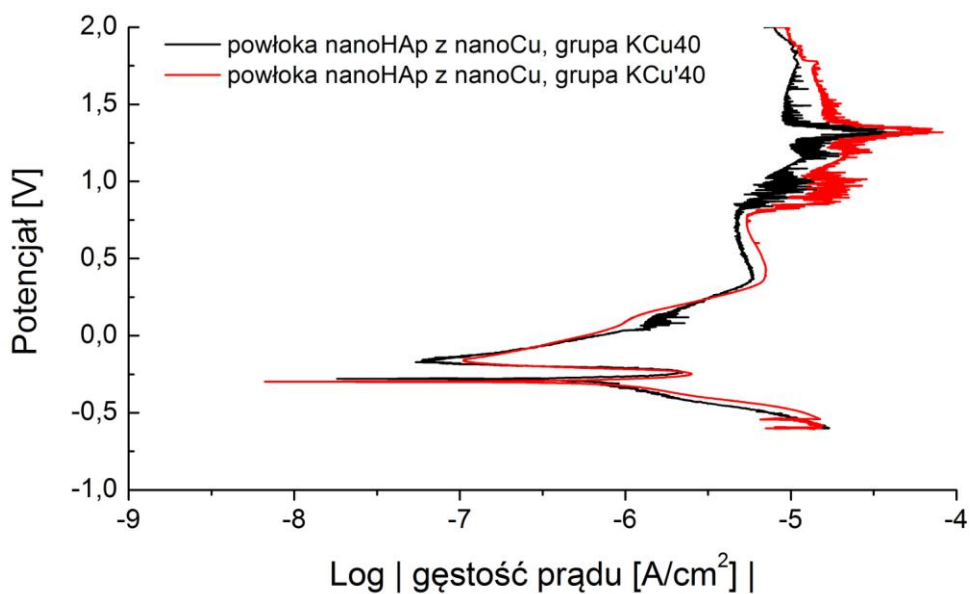


Rysunek 70. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych, grupy M, N i O

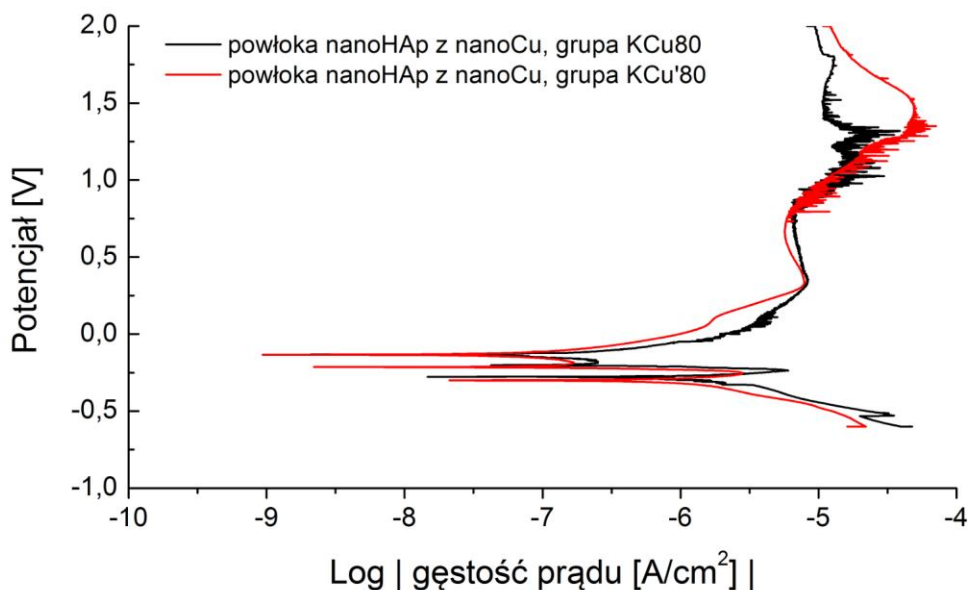
Na rys. 71–74 przedstawiono wykresy krzywych potencjodynamicznych dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem (grupy KAg30, KAg'30), nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią (grupy KCu40, K'Cu40, KCu80, K'Cu80) oraz nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005).



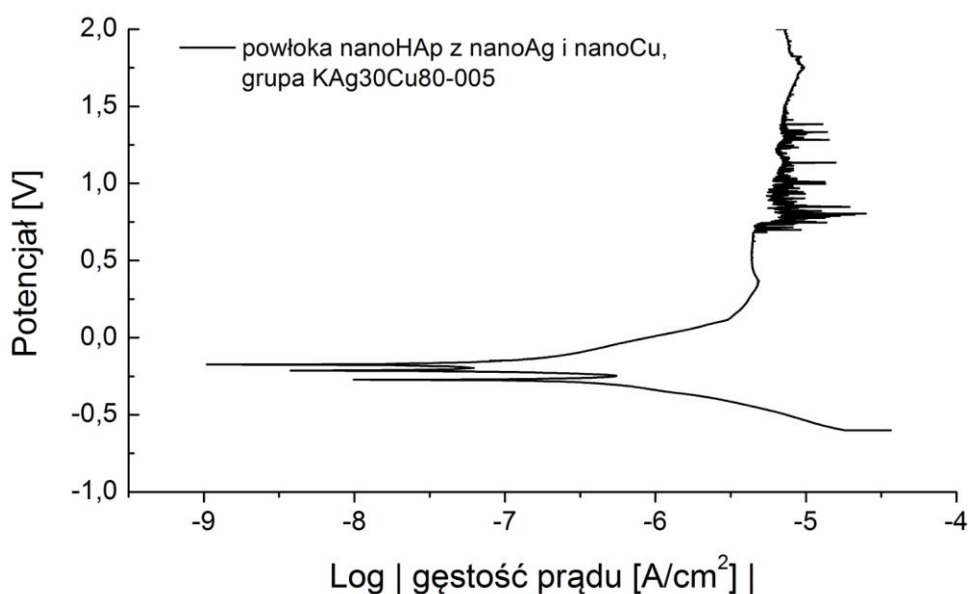
Rysunek 71. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem, grupy KAg30 i KAg'30



Rysunek 72. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupy KCu40 i KCu'40



Rysunek 73. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupy KCu80 i KCu'80



Rysunek 74. Krzywa potencjodynamiczna dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005

Największe rozbieżności krzywych potencjodynamicznych zaobserwowano dla powłok nanohydroksyapatytowych z grup A, B i C (rys. 66). Dla powłok nanoHAp z grup A i B zaobserwowano najwyższe spośród wszystkich badanych powłok wartości potencjału przejścia krzywej anodowej w krzywą katodową, zwanego potencjałem korozyjnym. W przypadku pozostałych krzywych potencjodynamicznych dla powłok nanoHAp bez nanometali (rys. 67–70) oraz powłok nanoHAp z nanosrebrem (rys. 71), kształt krzywych i wartości potencjału korozyjnego dla tych badanych powłok były bardzo do siebie zbliżone. Na krzywych potencjodynamicznych dla powłok nanoHAp z nanomiedzią

z grup KCu40 i KCu'40 (rys. 72) zaobserwowano na krzywych anodowych krótkotrwały spadek wartości prądu powyżej potencjału korozji, natomiast w przypadku powłok nanoHAp z nanomiedzią z grup KCu80 i KCu'80 (rys. 73) – aż dwa takie przypadki. W przypadku krzywych potencjodynamicznych dla powłoki nanoHAp z nanoAg i nanoCu, grupa KAg30Cu80-005 (rys. 74), również stwierdzono występowanie dwóch przypadków krótkotrwałego spadku wartości prądu na krzywej anodowej.

W tabeli 21 przedstawiono wyniki badań właściwości korozyjnych (potencjał korozyjny i gęstość prądu) dla próbki referencyjnej Ti–13Zr–13Nb, próbek z powłokami nanohydroksyapatytowymi (grupy A–O), powłokami nanohydroksyapatytowymi z nanosrebrem (grupy KAg30, KAg'30), powłokami nanohydroksyapatytowymi z nanomiedzią (grupy KCu40, KCu'40, KCu80, KCu'80) oraz z powłoką nanohydroksyapatytową z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005).

Tabela 21. Wartości potencjału korozyjnego i prądu korozyjnego dla próbki referencyjnej oraz powłok nanohydroksyapatytowych

| Grupa próbek | Potencjał korozyjny E_{kor} [V] | Gęstość prądu korozyjnego [nA/cm ²] |
|---------------------|-----------------------------------|---|
| Próbka referencyjna | -0,487 | 51,92 |
| A | -0,046 | 72,54 |
| B | -0,036 | 95,08 |
| C | -0,382 | 103,89 |
| D | -0,304 | 97,63 |
| E | -0,346 | 36,98 |
| F | -0,375 | 36,13 |
| G | -0,361 | 25,63 |
| H | -0,378 | 27,17 |
| I | -0,367 | 36,33 |
| J | -0,380 | 15,85 |
| K | -0,379 | 11,29 |
| L | -0,368 | 24,10 |
| M | -0,337 | 28,62 |
| N | -0,387 | 22,31 |
| O | -0,334 | 25,87 |
| KAg30 | -0,214 | 32,82 |
| KAg'30 | -0,259 | 84,55 |
| KCu40 | -0,280 | 416,81 |
| KCu'40 | -0,301 | 947,49 |
| KCu80 | -0,284 | 1728,98 |
| KCu'80 | -0,311 | 2575,95 |
| KAg30Cu80-005 | -0,278 | 1024,01 |

Najniższą wartość potencjału korozyjnego odnotowano dla próbki referencyjnej Ti–13Zr–13Nb. W przypadku powłok nanoHAp z grup A–O wartości potencjałów korozyjnych są zbliżone do siebie, jedynie wartości dla powłok z grup A i B są znacznie wyższe od pozostałych. Obecność nanocząstek srebra i (lub) nanomiedzi w powłokach nanoHAp z nanometalami spowodowała zwiększenie wartości potencjału korozyjnego w porównaniu z powłoką nanoHAp bez nanometali z grupy K. Najwyższa wartość gęstości prądu korozyjnego dla powłok nanoHAp bez nanometali wyznaczona została dla

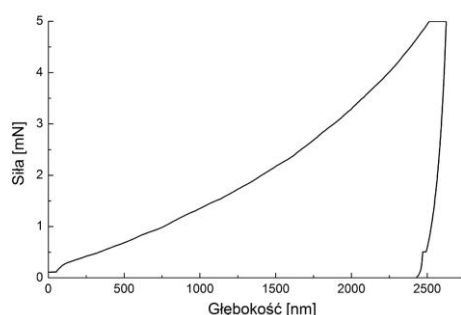
powłoki nanoHAp z grupy C, najniższa natomiast dla powłoki nanoHAp z grupy K. Ponadto jedynie powłoki nanoHAp z grup A–D posiadają wyższą, od próbki referencyjnej Ti–13Zr–13Nb, wartość gęstości prądu korozyjnego. Dodatkowo stwierdzono niewielki wzrost wartości gęstości prądu korozyjnego dla powłok domieszkowanych nanocząstkami srebra (grupy KAg30 i KAg'30) oraz znaczący dla powłok zawierających nanomiedź (grupy KCu40, KCu'40, KCu80, KCu'80 i KAg30Cu80-005) w porównaniu z powłoką nanoHAp bez nanocząstek metali (grupa K), jak też niewielki wzrost wartości gęstości prądu korozyjnego wraz ze wzrostem stężenia nanocząstek dla powłok nanoHAp z nanosrebrem (grupy KAg30 i KAg'30) oraz znaczący dla powłok nanoHAp z nanomiedzią oraz nanoHAp z nanosrebrem i nanomiedzią z grupy KAg30Cu80-005.

6.4. Badania mechaniczne

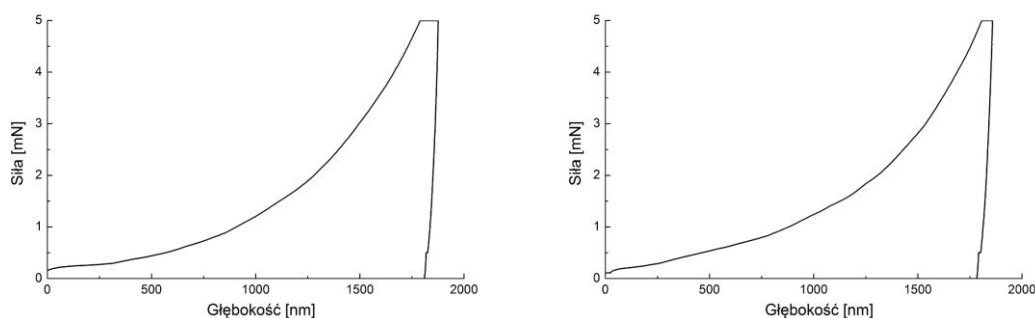
Badania mechaniczne podzielone zostały na 2 grupy: pomiary nanoindentacji w celu określenia właściwości mechanicznych powłok oraz nanoscratch test (badanie nanozarysowania) w celu oceny adhezji powłok do tytanowego podłoża.

6.4.1. Nanoindentacja

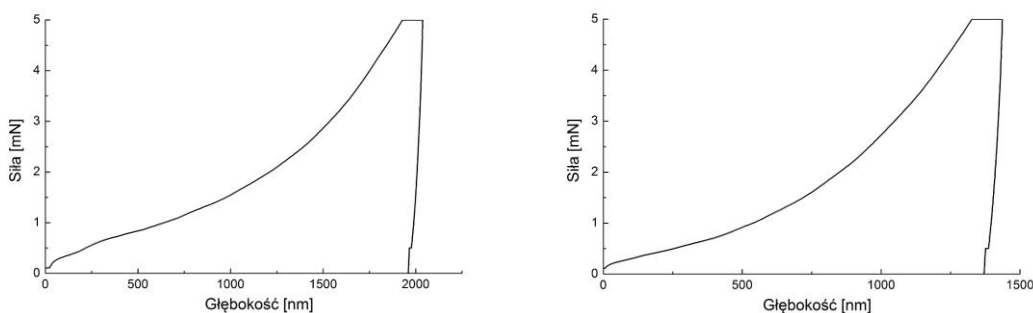
Na rysunkach 75–78 przedstawiono wykresy pojedynczej histerezy obciążenie – odkształcenie dla powłoki nanohydroksyapatytowej (grupa K), powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem (grupy KAg30, KAg'30), powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią (grupy KCu40, KCu'40, KCu80, KCu'80) i powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005).



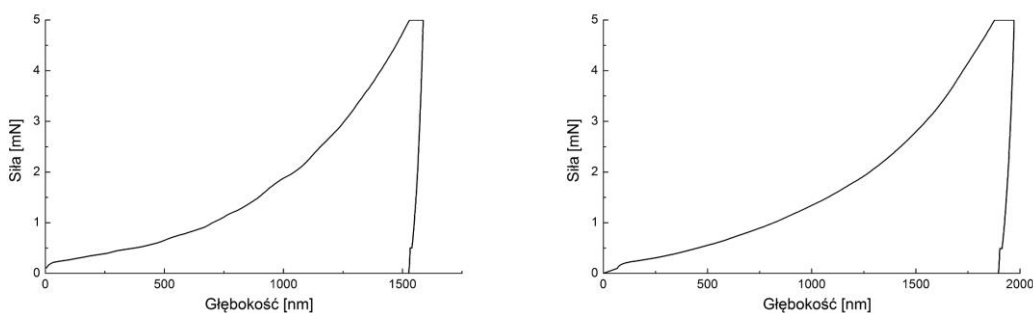
Rysunek 75. Wykres histerezy obciążenie - odkształcenie dla pojedynczego pomiaru indentacji dla powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K



Rysunek 76. Wykresy histerezy obciążenie - odkształcenie dla pojedynczych pomiarów indentacji dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem, grupa KAg30 (wykres lewy), grupa KAg'30 (prawy)



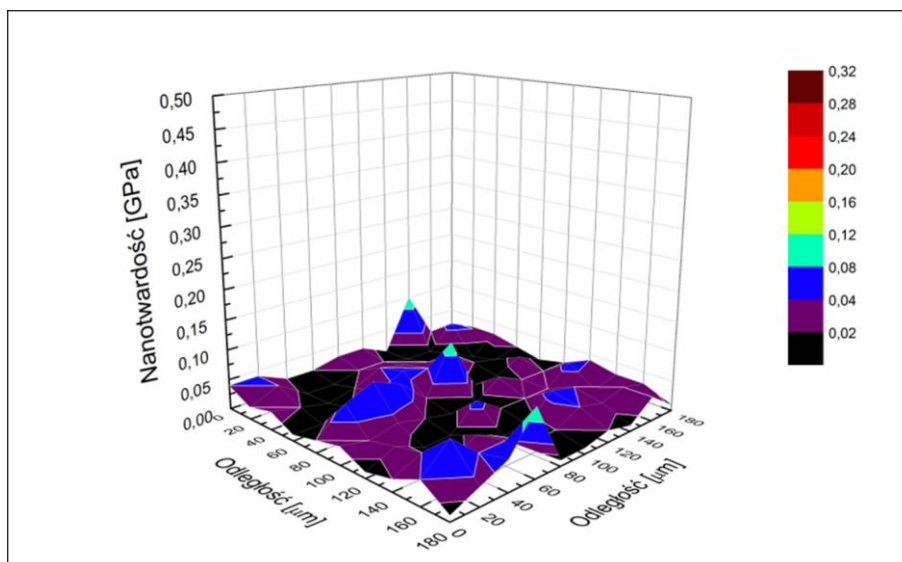
Rysunek 77. Wykresy histerezy obciążenie - odkształcenie dla pojedynczych pomiarów indentacji dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupa KCu40 (wykres lewy), KCu'40 (prawy)



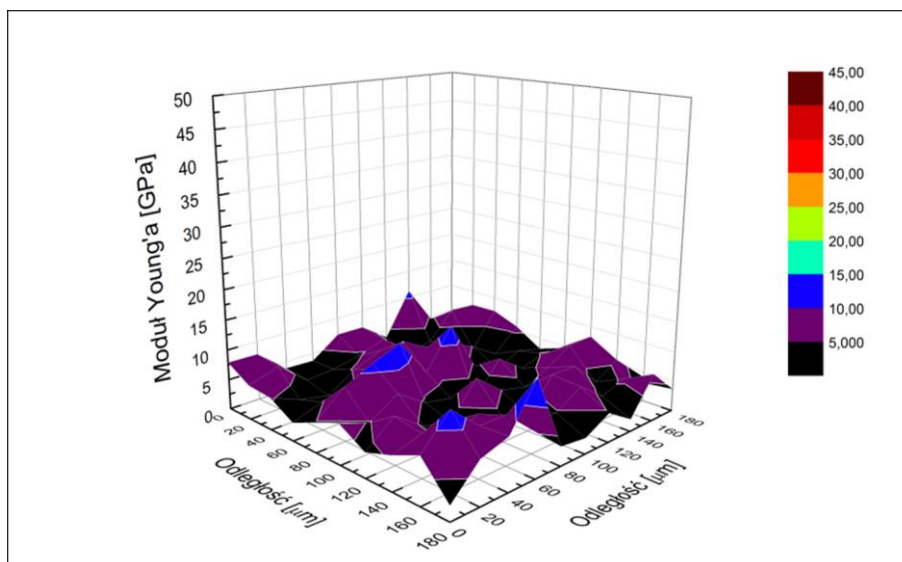
Rysunek 78. Wykresy histerezy obciążenie - odkształcenie dla pojedynczych pomiarów indentacji dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupa KCu80 (wykres lewy), KCu'80 (prawy)

Wykres pojedynczej histerezy obciążenie–odkształcenie złożony z trzech podstawowych odcinków (narastanie siły, wstrzymanie siły z maksymalną wartością oraz odciążanie) wykreślony jest podczas nanoindentacji dla każdego pomiaru. Kształt krzywej odciążania ma bezpośredni wpływ na wyznaczone metodą Olivera–Pharra właściwości mechaniczne badanego materiału. W przypadku krzywych na rys. 75–78 wyraźnie widać różnicę pomiędzy nachyleniem krzywej obciążania, a odkształcenia. Ponadto początek krzywej odkształcenia rozpoczyna się od wartości maksymalnej głębokości penetracji, a kończy się maksymalną wartością głębokości, przy której wgłębnik pozostawał w kontakcie z badaną powierzchnią, określanej jako maksymalna głębokość kontaktu. Niewielkie ugięcia występujące na krzywych odkształcenia spowodowane są dryftem temperaturowym wykonywanym przy każdym pomiarze.

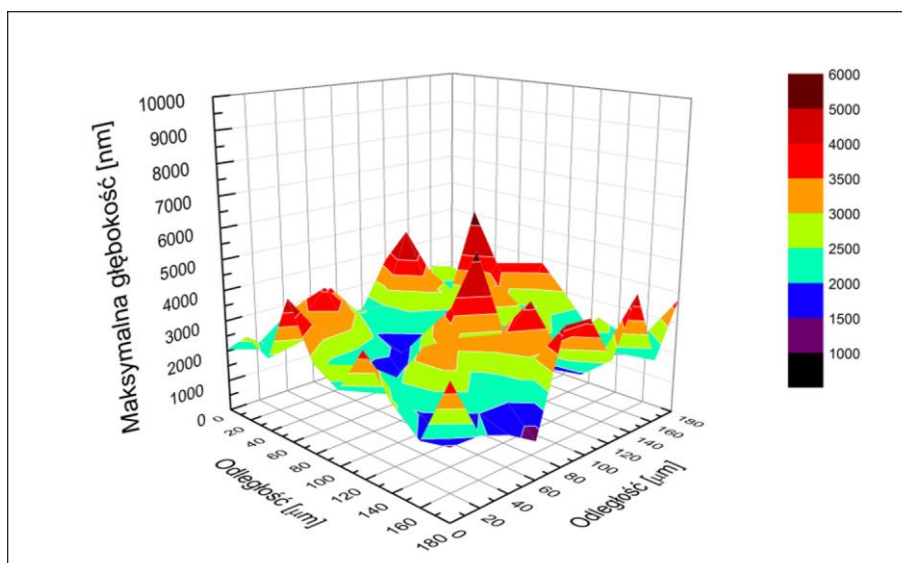
Na rysunkach 79–90 przedstawiono rozkłady 3D nanotwardości, rozkłady 3D zredukowanego modułu Younga oraz rozkłady 3D maksymalnej głębokości wychylenia wgłębника podczas indentacji dla powłoki nanohydroksyapatytowej (grupa K), powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem (grupa KAg30), powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią (grupa KCu80) i powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005).



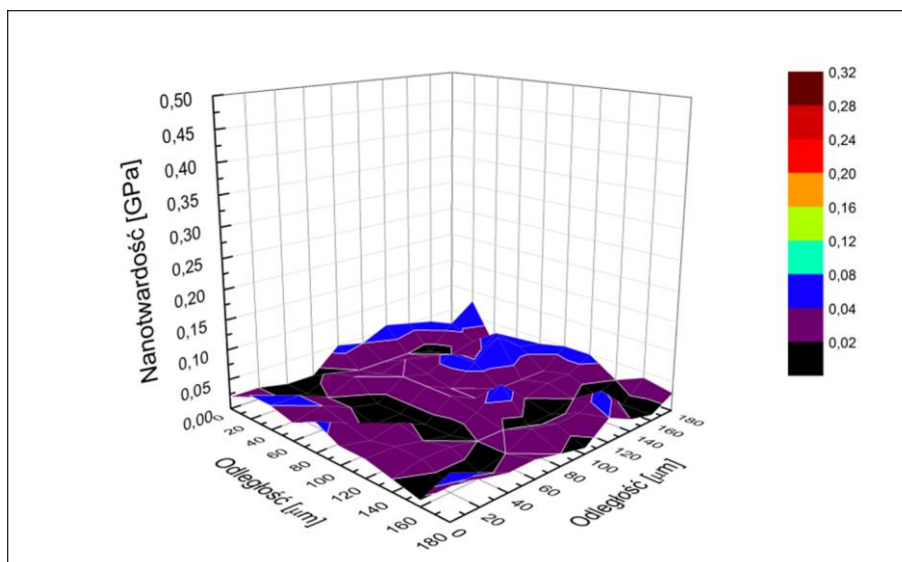
Rysunek 79. Rozkład 3D nanotwardości powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K



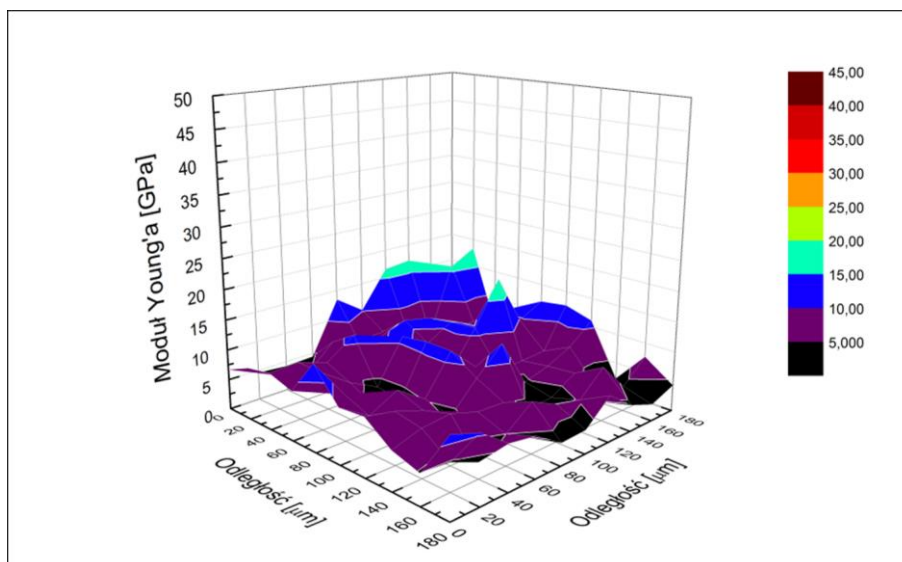
Rysunek 80. Rozkład 3D modułu Young'a powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K



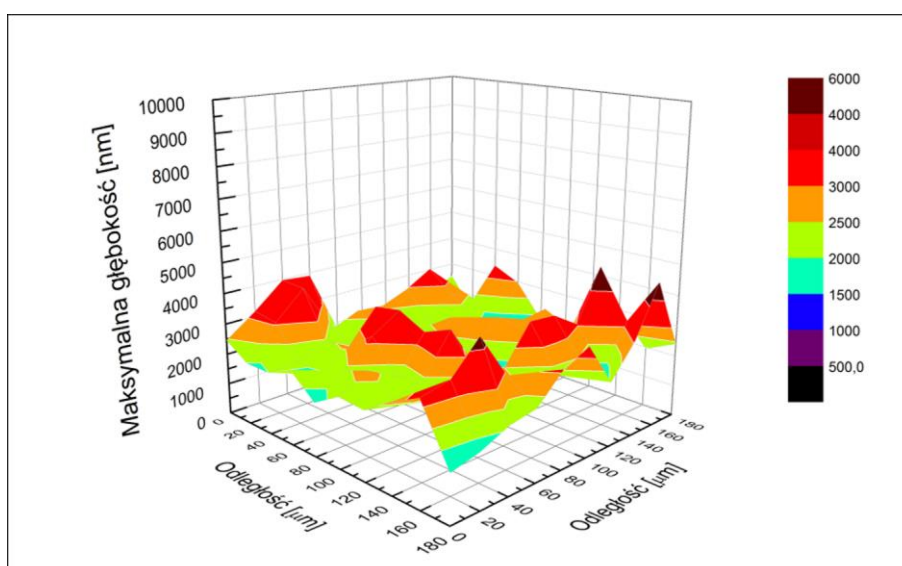
Rysunek 81. Rozkład 3D maksymalnej głębokości penetracji węgelnika podczas indentacji powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K



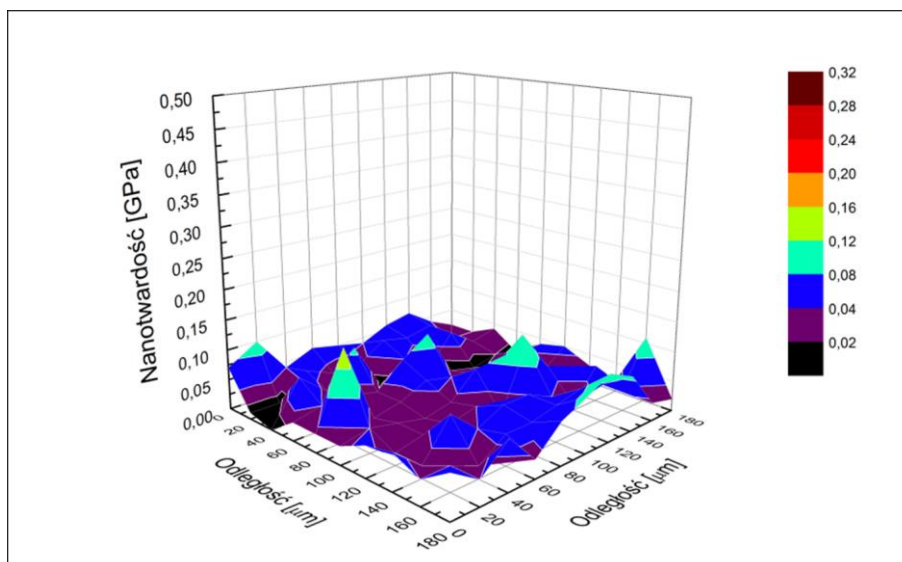
Rysunek 82. Rozkład 3D nanotwardości powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem, grupa KAg30



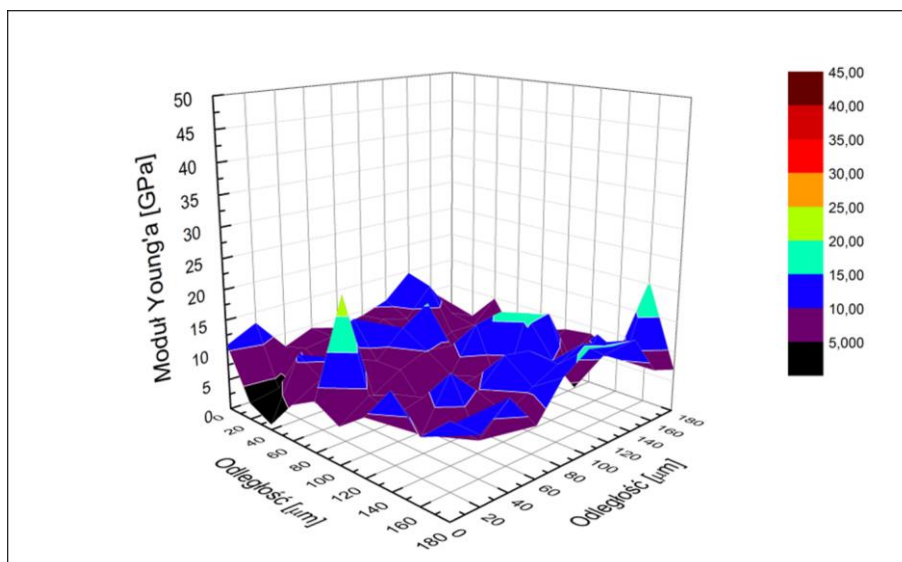
Rysunek 83. Rozkład 3D modułu Young'a powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem, grupa KAg30



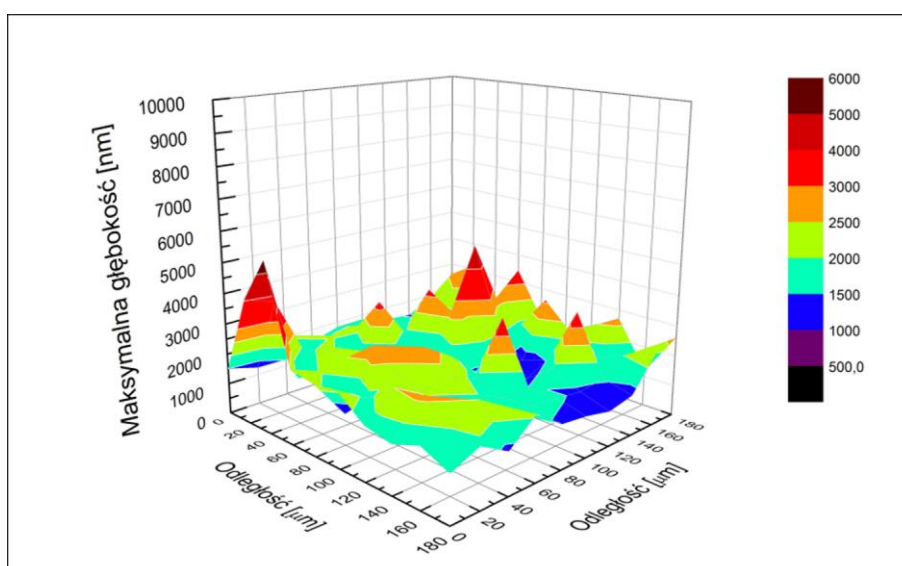
Rysunek 84 Rozkład 3D maksymalnej głębokości penetracji węgelnika podczas indentacji powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem, grupa KAg30



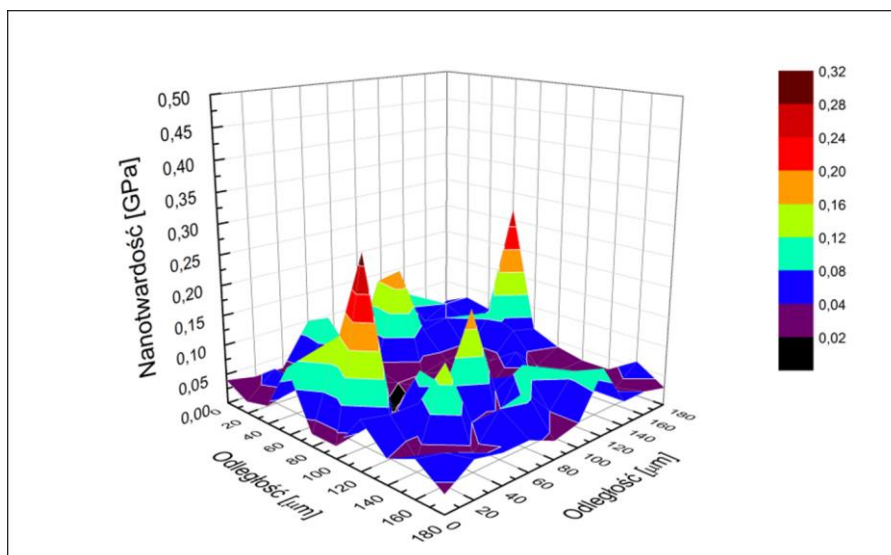
Rysunek 85. Rozkład 3D nanotwardości powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią, grupa KCu80



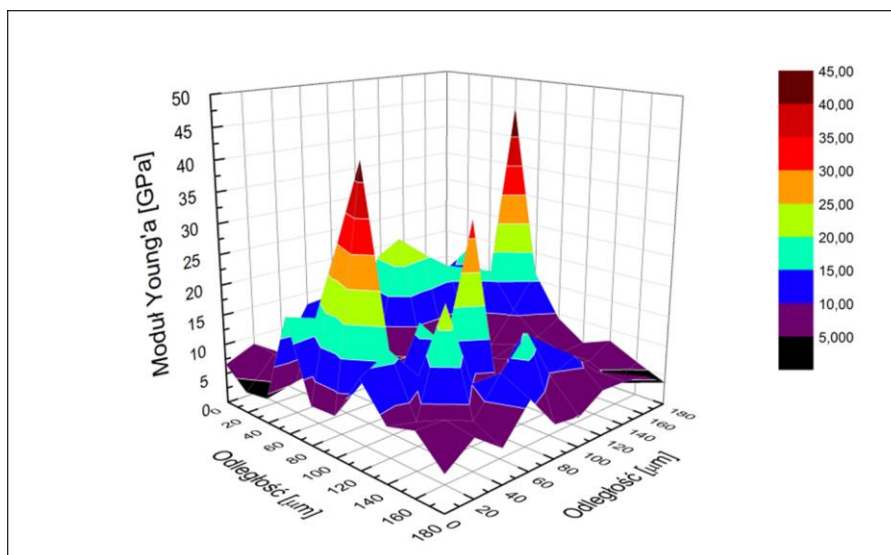
Rysunek 86. Rozkład 3D modułu Young'a powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią, grupa KCu80



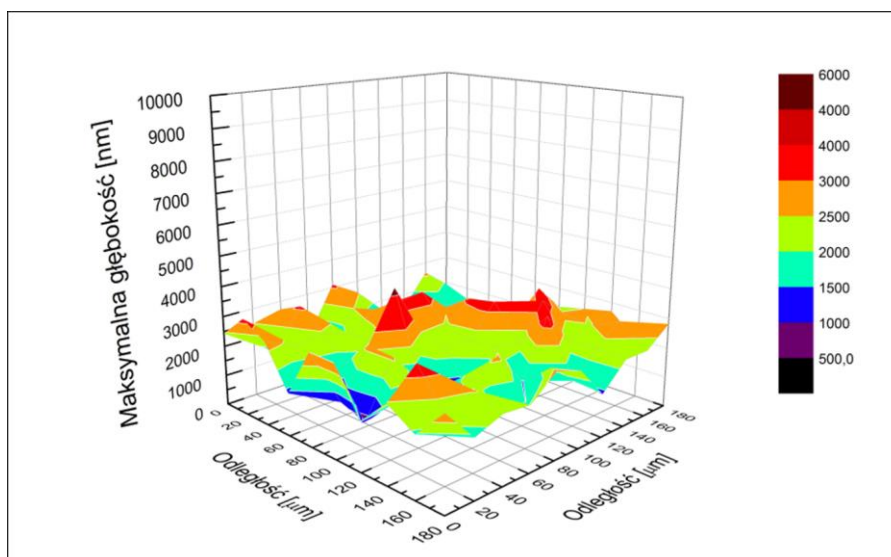
Rysunek 87. Rozkład 3D maksymalnej głębokości penetracji węgelnika podczas indentacji powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią, grupa KCu80



Rysunek 88. Rozkład 3D nanotwardości powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005



Rysunek 89. Rozkład 3D modułu Younga powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005



Rysunek 90. Rozkład 3D maksymalnej głębokości penetracji wglębniaka podczas indentacji powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005

Rozkłady nanotwardości, modułu Younga oraz maksymalnej głębokości odcisku podczas indentacji we wszystkich zaprezentowanych przypadkach wykazały korelację pomiędzy budową powłok (nierównomierna grubość i występowanie aglomeratów), a badanymi właściwościami. W żadnym z analizowanych przypadków nie udało się uzyskać idealnie równomiernych rozkładów, ponieważ wszystkie powłoki (grupa K, KAg30, KCu80 i KAg30Cu80-005) charakteryzują się nierównomierną grubością oraz występowaniem na swojej powierzchni aglomeratów nanoHAp. Na podstawie analizy rozkładu nanotwardości i modułu Younga dla poszczególnych powłok stwierdzono w każdym przypadku wzrost modułu Younga wraz ze wzrostem nanotwardości. Ponadto zaobserwowano wzrost nanotwardości, a więc również wartości modułu Younga, wraz ze spadkiem maksymalnej głębokości penetracji wgłębnika podczas indentacji. W przypadku powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem (grupa KAg30) zaobserwowano nieznacznie wyższą wartość nanotwardości i modułu Younga w porównaniu z powłoką nanoHAp bez nanosrebra (grupa K). Dodatkowo dla rozkładu maksymalnej głębokości odcisku podczas indentacji dla powłoki nanoHAp z nanosrebrem obserwowano większą równomierność uzyskanych wyników w porównaniu z wynikami dla powłoki nanoHAp z grupy K. Podobne zależności widoczne były również dla powłoki nanoHAp z nanomiedzią (grupa KCu80), lecz przyrost nanotwardości i modułu Younga był nieznacznie wyższy niż w przypadku powłoki nanoHAp z nanosrebrem. Najwyższymi wartościami nanotwardości i modułu Younga charakteryzowała się powłoka nanoHAp z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005). Ponadto dla tej powłoki stwierdzono największą nierównomierność wyników rozkładu nanotwardości i modułu Younga przy zachowaniu równomiernych wartości rozkładu maksymalnej głębokości penetracji wgłębnika podczas indentacji.

W tabelach 22 i 23 przedstawiono kolejno właściwości mechaniczne (nanotwardość, zredukowany moduł Younga i moduł Younga) oraz właściwości nanoindentacji (głębokość maksymalną wychylenia wgłębnika, wartość pracy plastycznej, wartość pracy sprężystej) dla powłok nanohydroksyapatytowych z grup A–O, powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem (grupy KAg30, KAg'30, KAg80, KAg'80) lub nanomiedzią (grupa KCu40, KCu'40, KCu80, KCu'80) oraz powłoki nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005).

Tabela 22. Właściwości mechaniczne powłok nanohydroksyapatytowych

| Grupa próbek | Nanotwardość [GPa] | Zredukowany Moduł Younga [GPa] | Moduł Younga [GPa] |
|---------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|
| A | 0,329 ± 0,298 | 43,64 ± 25,84 | 41,28 ± 24,45 |
| B | 0,104 ± 0,046 | 20,17 ± 6,18 | 18,68 ± 5,72 |
| C | 0,029 ± 0,015 | 6,42 ± 2,34 | 5,88 ± 2,14 |
| D | 0,070 ± 0,040 | 14,09 ± 6,00 | 12,98 ± 5,53 |
| E | 0,038 ± 0,020 | 6,09 ± 2,42 | 5,57 ± 2,21 |
| F | 0,019 ± 0,011 | 3,37 ± 1,18 | 3,07 ± 1,07 |
| G | 0,042 ± 0,014 | 5,70 ± 1,178 | 5,20 ± 1,08 |
| H | 0,013 ± 0,005 | 1,64 ± 0,34 | 1,50 ± 0,31 |
| I | 0,012 ± 0,006 | 1,14 ± 0,22 | 1,04 ± 0,20 |
| J | 0,045 ± 0,022 | 9,24 ± 3,42 | 8,48 ± 3,14 |
| K | 0,032 ± 0,009 | 4,88 ± 1,00 | 4,46 ± 0,91 |
| L | 0,017 ± 0,008 | 2,69 ± 1,09 | 2,46 ± 1,00 |
| M | 0,050 ± 0,031 | 12,47 ± 4,56 | 11,47 ± 4,20 |
| N | 0,040 ± 0,018 | 5,44 ± 1,67 | 4,98 ± 1,52 |
| O | 0,034 ± 0,014 | 3,22 ± 0,87 | 2,93 ± 0,79 |
| KAg30 | 0,032 ± 0,015 | 9,03 ± 3,61 | 8,53 ± 3,41 |
| KAg'30 | 0,078 ± 0,026 | 14,48 ± 3,22 | 13,75 ± 3,06 |
| KCu40 | 0,054 ± 0,020 | 10,85 ± 3,34 | 10,27 ± 3,16 |
| KCu'40 | 0,139 ± 0,050 | 18,70 ± 5,75 | 17,82 ± 5,48 |
| KCu80 | 0,051 ± 0,026 | 11,10 ± 3,84 | 10,51 ± 3,63 |
| KCu'80 | 0,059 ± 0,038 | 12,51 ± 6,43 | 11,86 ± 6,09 |
| KAg30Cu80-005 | 0,067 ± 0,055 | 12,78 ± 8,59 | 12,18 ± 8,37 |

Wraz ze wzrostem grubości, w przypadku powłok nanoHAp z grup A–O zauważono spadek wartości nanotwardości. Ponadto wraz ze wzrostem nanotwardości zaobserwowano wzrost modułu Younga. Najwyższymi wartościami nanotwardości i modułu Younga, z grup powłok bez dodatku nanometali, charakteryzowała się powłoka nanoHAp z grupy A, najcieńsza ze wszystkich badanych powłok. Najmniejszymi wartościami nanotwardości i modułu Younga charakteryzowała się natomiast powłoka nanoHAp z grupy I, która była najgrubsza. Wpływ dodatku małej ilości nanocząstek srebra (powłoka nanoHAp z nanosrebrem z grupy KAg30), w porównaniu z powłoką nanoHAp bez nanometali (grupa K) określono jako znikomy, większe stężenie nanosrebra (powłoka z grupy KAg'30) powodowało wzrost nanotwardości i modułu Younga. W przypadku wszystkich powłok nanoHAp z nanomiedzią obserwowano wzrost nanotwardości i modułu Younga, w porównaniu z powłoką nanoHAp z grupy K. Ponadto stwierdzono podwyższenie właściwości mechanicznych wraz ze wzrostem stężenia nanocząstek miedzi. Zastosowanie mieszaniny obu nanocząstek metali spowodowało poprawę mierzonych właściwości mechanicznych w porównaniu z powłoką bez nanometali, natomiast nie spowodowało znaczącej różnicy w porównaniu z powłokami zawierającymi w składzie jedynie jeden z nanometali. Najwyższe wartości nanotwardości i modułu Younga, spośród powłok z nanometalami, stwierdzono dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią z grupy KCu'40.

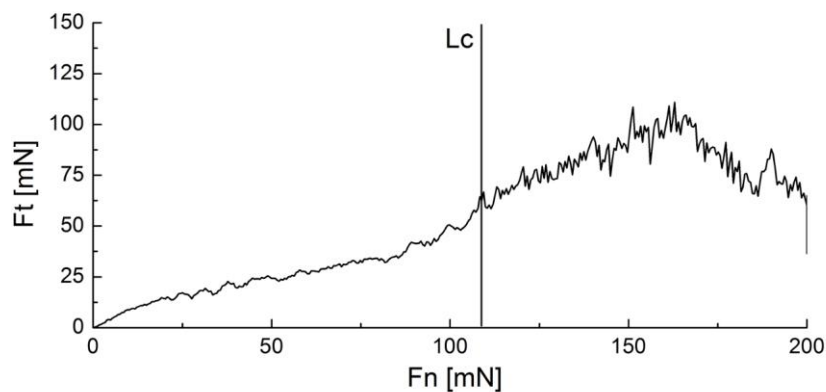
Tabela 23. Właściwości nanoindentacji powłok nanohydroksyapatytowych

| Grupa próbek | Głębokość maksymalna wychylenia wgłębnika [nm] | Praca plastyczna [nJ] | Praca sprężysta [nJ] |
|---------------|--|-----------------------|----------------------|
| A | 1041,20 ± 502,28 | 1,41 ± 0,63 | 0,08 ± 0,03 |
| B | 1540,29 ± 494,25 | 2,41 ± 0,67 | 0,12 ± 0,04 |
| C | 2986,58 ± 814,74 | 5,42 ± 1,47 | 0,22 ± 0,04 |
| D | 1839,47 ± 516,73 | 3,09 ± 0,78 | 0,16 ± 0,04 |
| E | 2585,02 ± 719,79 | 4,62 ± 1,07 | 0,26 ± 0,06 |
| F | 3604,49 ± 797,34 | 6,73 ± 1,19 | 0,31 ± 0,05 |
| G | 2337,59 ± 441,47 | 5,08 ± 0,71 | 0,27 ± 0,04 |
| H | 4306,70 ± 809,75 | 9,96 ± 1,74 | 0,49 ± 0,04 |
| I | 3810,52 ± 886,98 | 8,41 ± 1,75 | 0,77 ± 0,07 |
| J | 2401,30 ± 699,90 | 3,67 ± 1,15 | 0,20 ± 0,07 |
| K | 2617,12 ± 359,26 | 5,05 ± 0,67 | 0,28 ± 0,03 |
| L | 3568,42 ± 860,77 | 6,93 ± 1,33 | 0,34 ± 0,07 |
| M | 2260,47 ± 562,30 | 4,45 ± 1,05 | 0,15 ± 0,02 |
| N | 2444,03 ± 565,56 | 5,14 ± 1,26 | 0,27 ± 0,05 |
| O | 2629,71 ± 577,48 | 5,67 ± 1,35 | 0,41 ± 0,04 |
| KAg30 | 2346,00 ± 602,65 | 4,15 ± 1,10 | 0,18 ± 0,04 |
| KAg'30 | 1713,91 ± 301,47 | 2,77 ± 0,50 | 0,15 ± 0,02 |
| KCu40 | 2084,71 ± 382,15 | 3,83 ± 0,67 | 0,17 ± 0,02 |
| KCu'40 | 1287,28 ± 279,89 | 2,65 ± 0,55 | 0,15 ± 0,04 |
| KCu80 | 1887,62 ± 479,95 | 3,56 ± 0,92 | 0,17 ± 0,03 |
| KCu'80 | 2224,33 ± 757,61 | 3,84 ± 1,26 | 0,17 ± 0,10 |
| KAg30Cu80-005 | 2139,82 ± 719,08 | 4,03 ± 1,41 | 0,16 ± 0,04 |

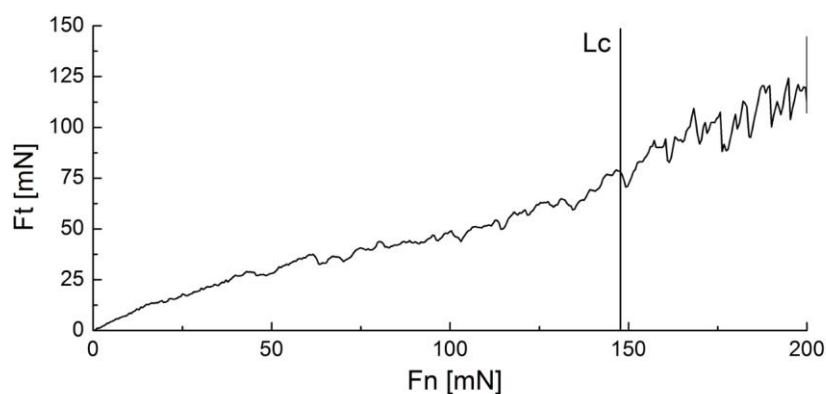
Wraz ze wzrostem grubości powłok nanoHAp bez nanometali stwierdzono wzrost głębokości maksymalnej penetracji wgłębnika. W przypadku wszystkich powłok zaobserwowano, że im niższa jest wartość głębokości maksymalnej penetracji wgłębnika podczas indentacji, tym większa wartość nanotwardości badanych powłok. Ponadto zauważono znaczącą wartość odchyień głębokości maksymalnej dla wszystkich pomiarów. Wykazano, iż wartość pracy plastycznej w każdym przypadku przewyższa wartość pracy sprężystej. Dodatkowo wartość pracy plastycznej dla wszystkich powłok wzrasta wraz ze wzrostem głębokości maksymalnej penetracji wgłębnika, a co za tym idzie wraz ze spadkiem nanotwardości i modułu Younga.

6.4.2. Nanoscratch-test

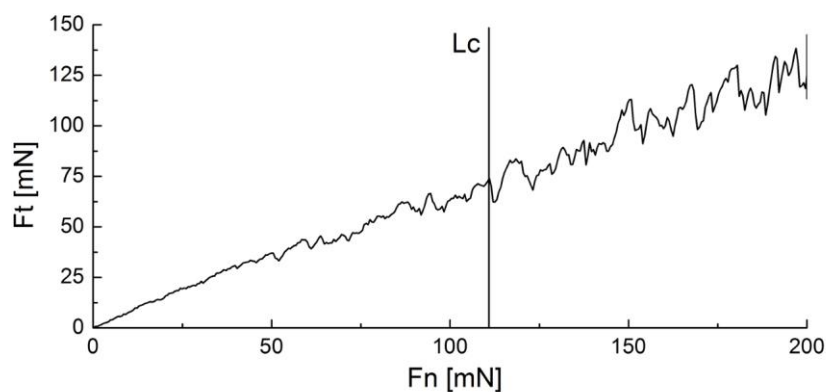
Na rys. 91–97 przedstawiono wykresy siły trącej (Ft) w funkcji siły normalnej (Fn) dla pojedynczego pomiaru nanozarysowania z zaznaczoną wartością siły krytycznej (Lc), odpowiadającej sile całkowicie zrywającej powłokę nanohydroksyapatytową z tytanowego podłoża: dla powłoki nanohydroksyapatytowej (grupa K), powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem (grupy KAg30, KAg'30), powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią (grupy KCu40, KCu'40, KCu80, KCu'80) i powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005).



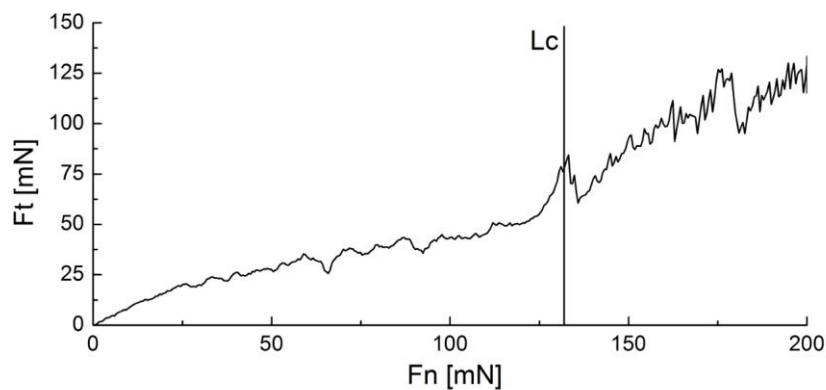
Rysunek 91. Wykres siły trącej (F_t) od siły normalnej (F_n) z zaznaczeniem siły krytycznej (L_c) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K



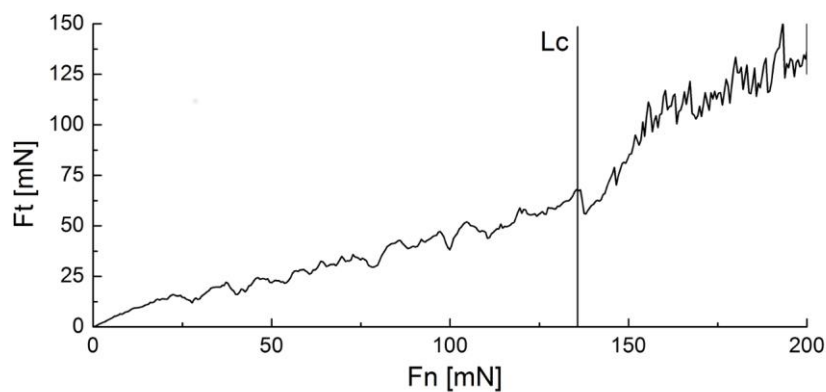
Rysunek 92. Wykres siły trącej (F_t) od siły normalnej (F_n) z zaznaczeniem siły krytycznej (L_c) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem, grupa KAg30



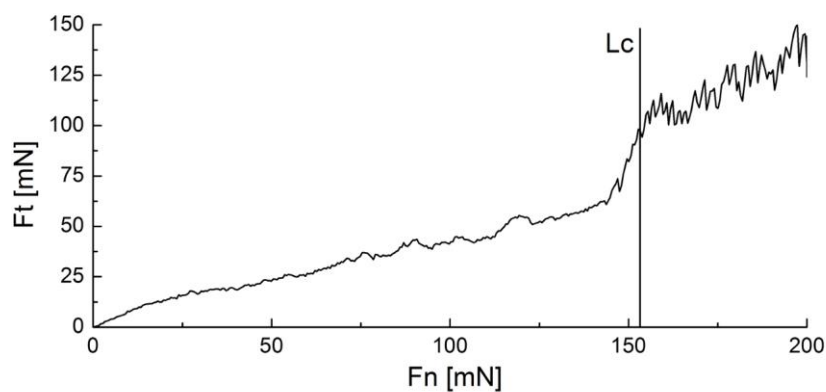
Rysunek 93. Wykres siły trącej (F_t) od siły normalnej (F_n) z zaznaczeniem siły krytycznej (L_c) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem, grupa KAg'30



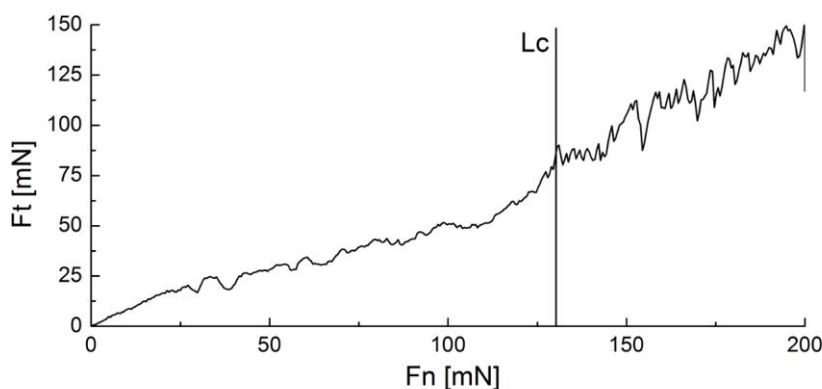
Rysunek 94. Wykres siły trącej (F_t) od siły normalnej (F_n) z zaznaczeniem siły krytycznej (L_c) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią, grupa KCu40



Rysunek 95. Wykres siły trącej (F_t) od siły normalnej (F_n) z zaznaczeniem siły krytycznej (L_c) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią, grupa KCu'40

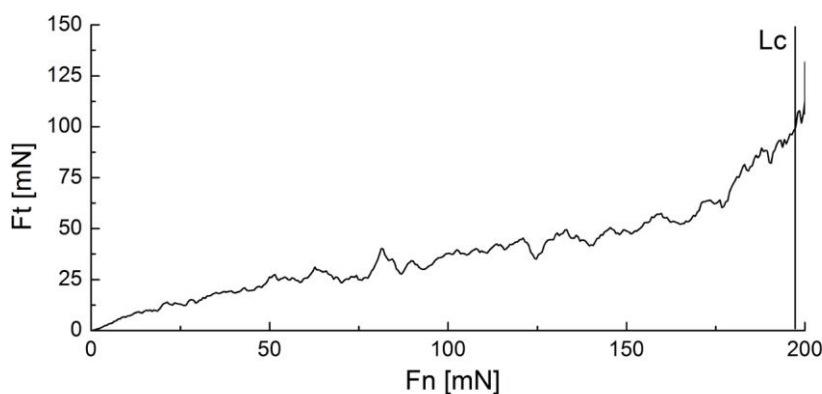


Rysunek 96. Wykres siły trącej (F_t) od siły normalnej (F_n) z zaznaczeniem siły krytycznej (L_c) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią, grupa KCu80

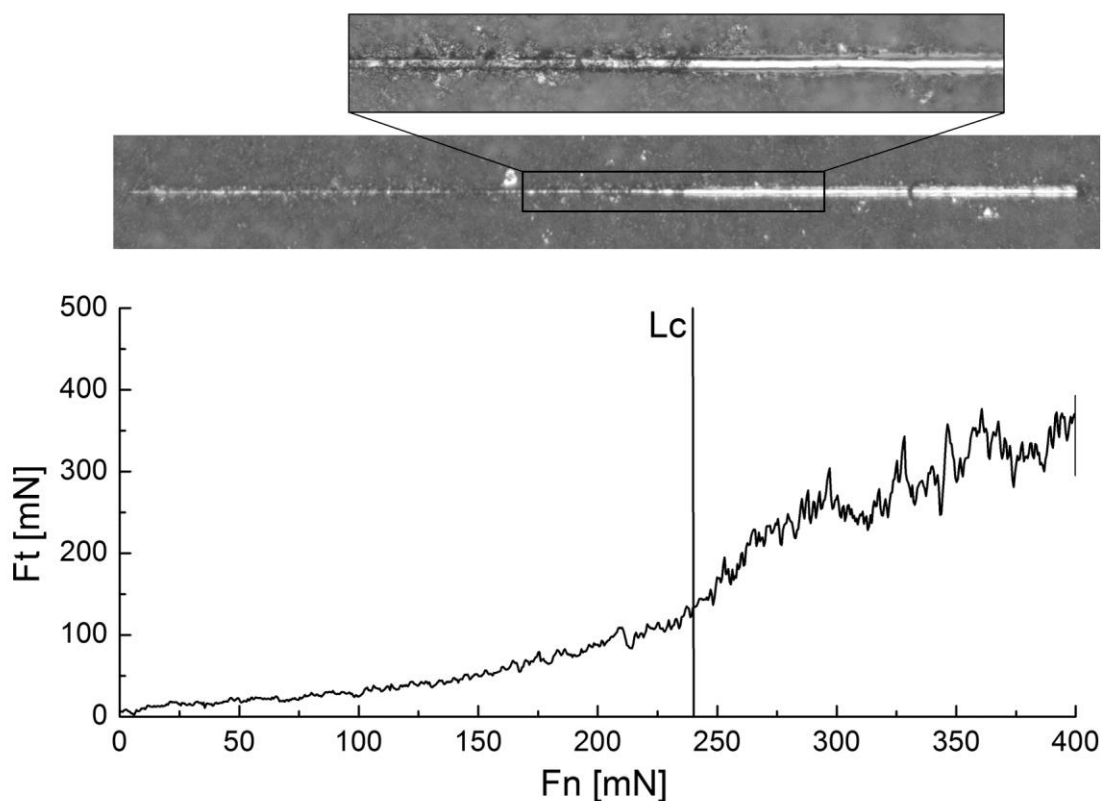


Rysunek 97. Wykres siły trącej (F_t) od siły normalnej (F_n) z zaznaczeniem siły krytycznej (L_c) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią, grupa KCu'80

Na rys. 98 i 99 przedstawiono wykresy siły trącej (F_t) w funkcji siły normalnej (F_n) dla pojedynczego pomiaru nanozarysowania z zaznaczoną wartością siły krytycznej (L_c), odpowiadającej sile całkowicie zrywającej powłokę nanohydroksyapatytową z tytanowego podłoża: dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005) dla siły normalnej 200 mN i długości 500 μm (rys. 98) oraz 400 mN i długości 1000 μm ze zdjęciem obrazującym miejsce zerwania powłoki (rys. 99).



Rysunek 98. Wykres siły trącej (F_t) od siły normalnej (F_n) z zaznaczeniem siły krytycznej (L_c) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią dla maksymalnej siły normalnej 200mN, grupa KAg30Cu80-005



Rysunek 99. Obraz mikroskopowy oraz wykres siły trącej (F_t) od siły normalnej (F_n) z zaznaczeniem siły krytycznej (L_c) dla pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią dla maksymalnej siły normalnej 400mN , grupa KAg30Cu80-005

Ponieważ wartość siły krytycznej (L_c) dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005) dla pomiaru nanozarysowania z zastosowaną siłą normalną 200 mN określona została przy górnej granicy siły normalnej (rys. 98), postanowiono wykonać pomiar nanozarysowania z zastosowaniem dwukrotnie większej wartości siły normalnej (rys. 99). Ponadto dla tego pomiaru wykonano zdjęcie zarysowania za pomocą mikroskopu optycznego, które porównano z wykresem siły normalnej (F_n) od siły trącej (F_t) i potwierdzono całkowite zerwanie powłoki w miejscu zaznaczonym na wykresie oraz na zdjęciu – pojawienie się jasnych refleksów metalicznego podłoża oznaczało zerwanie powłoki. Na wszystkich uzyskanych wykresach wyraźnie zaobserwowano nagłe zmiany siły tarcia, które określają miejsce delaminacji powłok od tytanowego podłoża.

W tabeli 24 przedstawiono wartości siły krytycznej L_c , określającej siłę zrywającą powłokę od podłoża, oraz krytycznej siły tarcia L_f , określającej wartość maksymalną siły trącej przy początku całkowitego zrywania powłoki od metalicznego podłoża, dla powłok nanohydroksyapatytowych (grupy A–O), powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem (grupy KAg30, KAg'30, KAg80, KAg'80), powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią (grupy KCu40, KCu'40, KCu80, KCu'80) oraz powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem i nanomiedzią (KAg30Cu80-005).

Tabela 24. Wartości krytycznej siły krytycznej (Lc) i siły tarcia (Lf) powłok nanohydroksyapatytowych

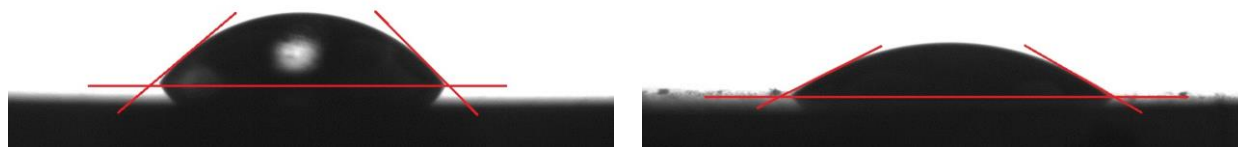
| Grupa próbek | Siła krytyczna Lc [mN] | Krytyczna siła tarcia Lf [mN] |
|---------------|--|-------------------------------|
| A | 41,27 ± 19,07 | 11,38 ± 3,48 |
| B | 64,12 ± 24,48 | 19,17 ± 5,35 |
| C | 78,99 ± 19,26 | 22,94 ± 4,52 |
| D | 71,26 ± 27,37 | 19,03 ± 6,65 |
| E | 84,97 ± 18,91 | 27,29 ± 5,05 |
| F | 34,45 ± 9,09 | 10,47 ± 2,25 |
| G | 66,23 ± 21,11 | 16,91 ± 4,02 |
| H | 21,71 ± 7,34 | 14,08 ± 5,17 |
| I | 27,11 ± 5,13 | 20,32 ± 4,16 |
| J | 60,52 ± 25,78 | 50,83 ± 19,49 |
| K | 106,77 ± 37,51 | 59,18 ± 20,46 |
| L | 49,08 ± 27,67 | 31,00 ± 11,82 |
| M | 90,17 ± 28,79 | 46,59 ± 14,05 |
| N | 97,35 ± 23,09 | 51,89 ± 13,84 |
| O | 128,36 ± 16,25 | 77,09 ± 8,90 |
| KAg30 | 137,09 ± 35,36 | 71,93 ± 17,17 |
| KAg'30 | 77,71 ± 23,10 | 54,91 ± 14,61 |
| KCu40 | 123,84 ± 52,46 | 59,14 ± 24,18 |
| KCu'40 | 141,89 ± 13,09 | 78,99 ± 10,02 |
| KCu80 | 155,24 ± 12,78 | 94,47 ± 9,73 |
| KCu'80 | 128,73 ± 30,39 | 80,39 ± 21,01 |
| KAg30Cu80-005 | dla pomiaru 1 (siła 200 mN, odcinek 500 μm) | |
| | 179,78 ± 19,78 | 101,80 ± 15,69 |
| | dla pomiaru 2 (siła 400 mN, odcinek 1000 μm) | |
| | 220,91 ± 62,19 | 203,26 ± 60,12 |

W przypadku wszystkich badanych powłok stwierdzono wzrost wartości siły krytycznej Lc wraz ze wzrostem krytycznej siły tarcia Lf. Zaobserwowano wzrost siły krytycznej i krytycznej siły tarcia dla powłok nanohydroksyapatytowych z grup A–E, a w przypadku grupy F nastąpił nagły spadek obu mierzonych wartości. W przypadku powłok nanoHAp uzyskanych z wykorzystaniem najwyższego stężenia proszku nanoHAp w elektrolicie (grupy G–I) wykazano najwyższą adhezję dla najcieńszej powłoki z tych grup, grupa G, a następnie jej spadek w przypadku powłok nanoHAp z grup H i I. Zwiększając czas osadzania elektroforetycznego do 2 minut (powłoki nanoHAp, grupy J–L) zauważono wzrost adhezji powłoki nanoHAp z grupy K, następnie jej spadek dla powłoki L. W przypadku powłok osadzanych w czasie 3 minut (grupy M–O) zaobserwowano stały wzrost siły krytycznej i krytycznej siły tarcia. Wzrost adhezji powłok nanoHAp wraz ze wzrostem napięcia, dla powłok osadzanych w czasie 1 minuty, zauważono jedynie w przypadku powłok otrzymanych z wykorzystaniem elektrolitu z najmniejszym stężeniem nanoHAp (powłoki nanoHAp z grup A–C), zaś dla powłok osadzanych w czasie 2 i 3 minut zauważono ten efekt w powłokach z grup J, K oraz M i O. Najwyższa wartość siły krytycznej oraz krytycznej siły tarcia dla powłok nanoHAp bez nanometali zaobserwowana została dla powłoki nanoHAp z grupy O. Dodatek nanocząstek metalicznych w powłokach nanoHAp zwiększył adhezję tych powłok do metalicznego podłoża w porównaniu

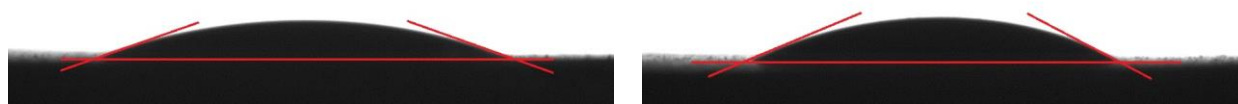
z powłoką nanoHAp bez nanosrebra i nanomiedzi (grupa K) we wszystkich powłokach z nanomiedzią oraz powłoce nanoHAp z nanosrebrem z grupy KAg30. Jedynie w przypadku powłoki nanoHAp z nanosrebrem z grupy KAg'30 zaobserwowano spadek siły krytycznej i krytycznej siły tarcia. Spośród powłok nanoHAp z nanosrebrem najwyższa adhezja zaobserwowana została dla powłoki z grupy KAg30, natomiast spośród powłok nanoHAp z nanomiedzią dla powłoki z grupy KCu80. W przypadku powłoki nanoHAp z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005) zaobserwowano wzrost siły krytycznej i krytycznej siły tarcia w porównaniu z powłoką bez nanometali (grupa K) oraz powłokami zawierającymi nanosrebro lub nanomiedź.

6.5. Pomiary kąta zwilżania

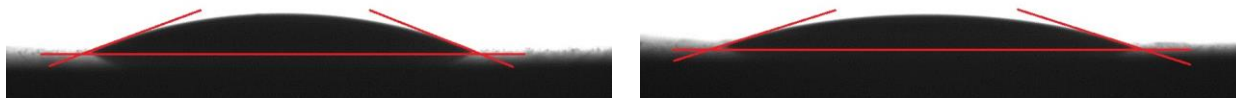
Na rys. 100–104 przedstawiono pomiar kąta zwilżania, wykonany metodą spadającej kropli, dla powłoki nanohydroksyapatytowej (grupa K), powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem (grupy KAg30, KAg'30), powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią (grupy KCu80, KCu'80) oraz powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem i nanomiedzią (KAg30Cu80-005). W tabeli 25 przedstawiono wartości uśrednionego kąta zwilżania dla próbki referencyjnej Ti–13Zr–13Nb oraz powłok nanohydroksyapatytowych (grupy A–O), powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem (grupy KAg30, KAg'30, KAg80, KAg'80), powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią (grupy KCu40, KCu'40, KCu80, KCu'80) oraz powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem i nanomiedzią (KAg30Cu80-005).



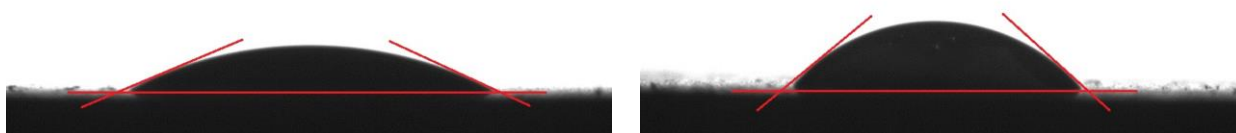
Rysunek 100. Pomiar kąta zwilżania dla próbki referencyjnej Ti–13Zr–13Nb (zdjęcie lewe) oraz powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K (zdjęcie prawe)



Rysunek 101. Pomiar kąta zwilżania powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem, grupa KAg30 (zdjęcie lewe) i grupa KAg'30 (zdjęcie prawe)



Rysunek 102. Pomiar kąta zwilżania powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupa KCu40 (zdjęcie lewe) i grupa KCu'40 (zdjęcie prawe)



Rysunek 103. Pomiar kąta zwilżania powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupa KCu80 (zdjęcie lewe) i grupa KCu'80 (zdjęcie prawe)



Rysunek 104. Pomiar kąta zwilżania powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005

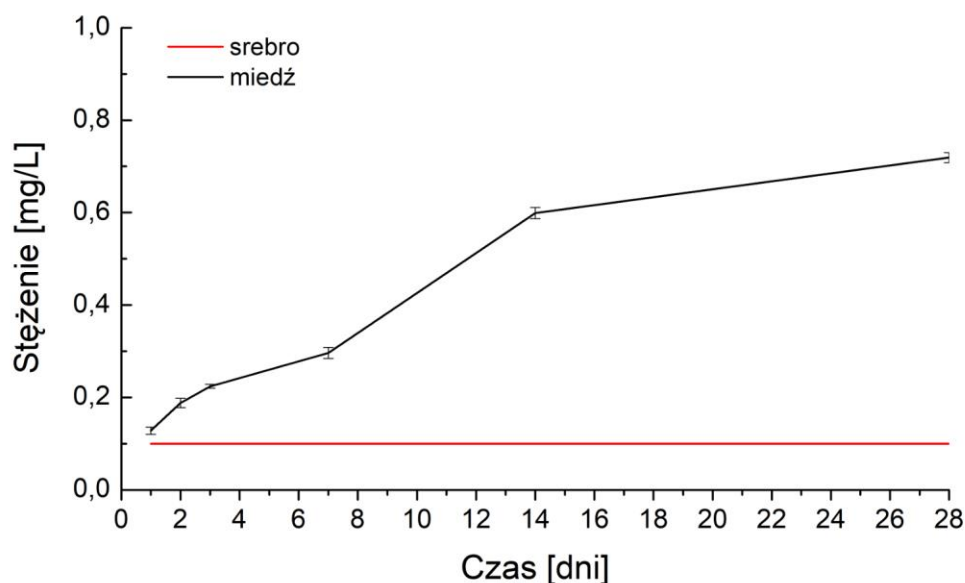
Tabela 25. Wartość uśrednionego kąta zwilżania dla próbki referencyjnej i powłok nanohydroksyapatytowych

| Grupa próbek | Uśredniony kąt zwilżania [°] |
|---------------------|------------------------------|
| Próbka referencyjna | 53,7 ± 2,1 |
| A | 88,6 ± 3,5 |
| B | 50,4 ± 2,2 |
| C | 22,7 ± 1,5 |
| D | 40,2 ± 4,2 |
| E | 25,4 ± 2,6 |
| F | 10,5 ± 1,2 |
| G | 35,8 ± 3,5 |
| H | 15,3 ± 2,2 |
| I | 11,1 ± 3,5 |
| J | 57,5 ± 7,5 |
| K | 35,8 ± 3,5 |
| L | 19,1 ± 2,0 |
| M | 31,4 ± 2,9 |
| N | 11,6 ± 1,4 |
| O | 10,7 ± 1,4 |
| KAg30 | 20,1 ± 2,0 |
| KAg ³ 30 | 20,9 ± 2,5 |
| KCu40 | 22,6 ± 2,2 |
| KCu ⁷ 40 | 18,2 ± 1,9 |
| KCu80 | 26,7 ± 2,8 |
| KCu ⁷ 80 | 48,3 ± 2,5 |
| KAg30Cu80-005 | 8,0 ± 1,1 |

Uzyskane wyniki uśrednionego kąta zwilżania (lewego i prawego) potwierdziły hydrofilowy charakter zarówno materiału referencyjnego Ti-13Zr-13Nb, jak wszystkich badanych powłok. Jedynie w przypadku powłok nanoHAp z grup A i J uśredniony kąt zwilżania jest większy niż w przypadku materiału referencyjnego. W przypadku powłok nanoHAp otrzymanych w czasie 1 minuty (grupy A–I) stwierdzono spadek uśrednionej wartości kąta zwilżania wraz ze wzrostem, zastosowanego podczas procesu elektroforetycznego osadzania, napięcia prądu. W przypadku powłok otrzymanych w czasie 2 i 3 minut efekt ten również został zaobserwowany, ponadto zwiększenie stężenia proszku nanoHAp w elektrolicie dla tych powłok spowodowało spadek wartości uśrednionego kąta zwilżania. Największa zwilżalność, spośród wszystkich badanych powłok, zaobserwowana została dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią z grupy KAg30Cu80-005.

6.6. Badanie szybkości uwalniania nanosrebra i nanomiedzi

Na rys. 105 przedstawiono szybkość uwalniania nanosrebra i nanomiedzi do roztworu sztucznej śliny (SBF) z powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005) po różnym czasie przebywania powłoki w SBF.

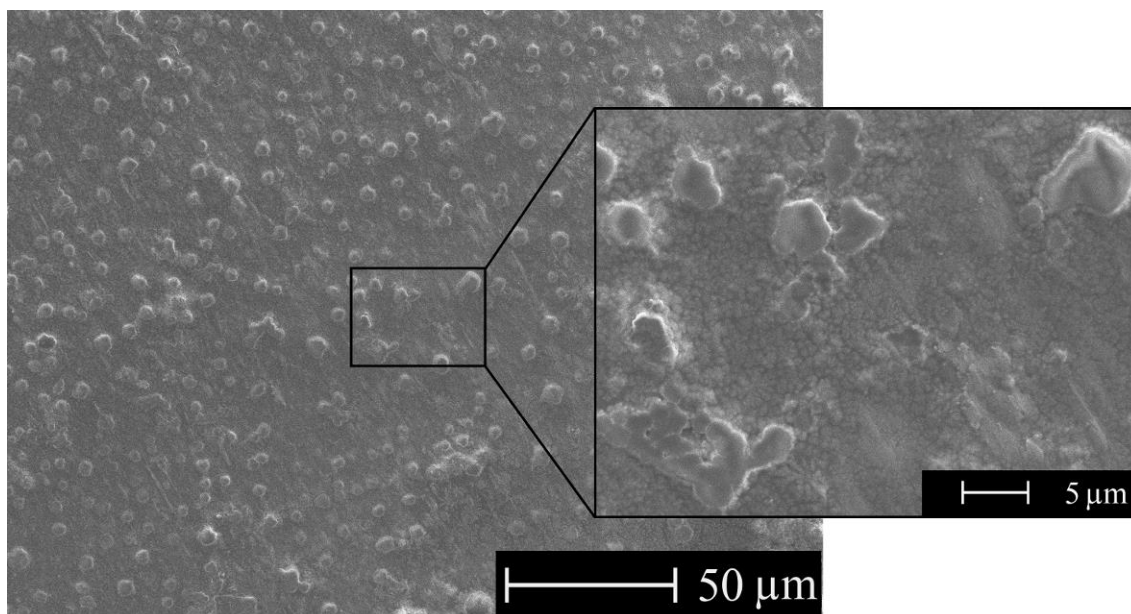


Rysunek 105. Szybkość uwalniania nanometali do roztworu sztucznej śliny

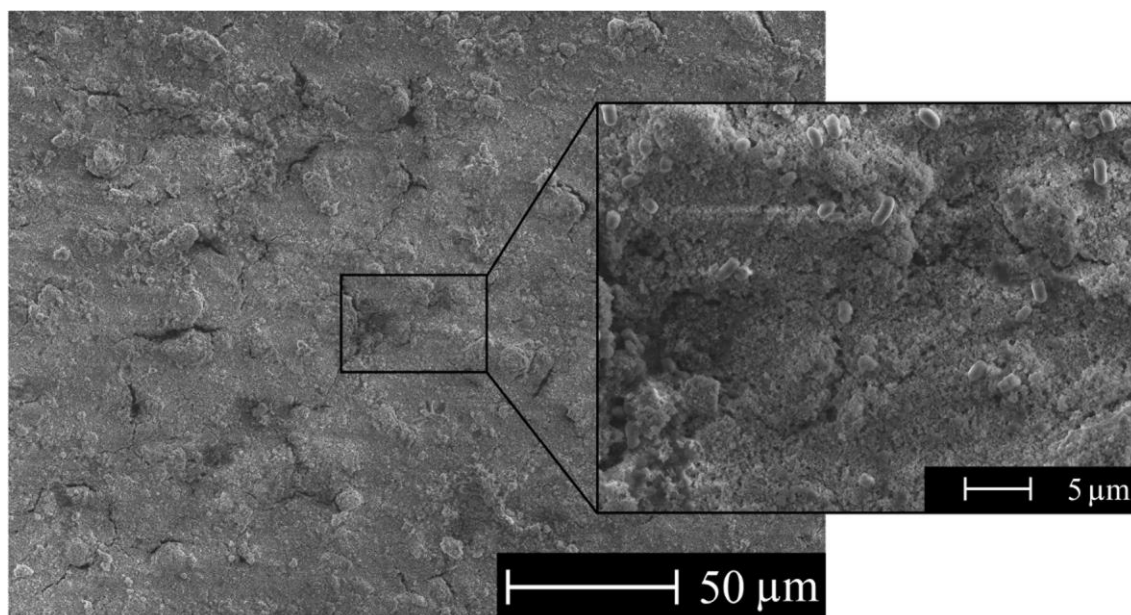
Obecność srebra w roztworze SBF, nawet w przypadku przebywania powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005) w sztucznej ślinie przez okres 28 dni, nie została wykryta. Wartość stężenia srebra znajdowała się, jak z tego wynika, poniżej wartości wykrywalności tego pierwiastka w zastosowanej metodzie. W przypadku miedzi zaobserwowano wzrost jej stężenia w sztucznej ślinie ze wzrastającym czasem przebywania powłoki. Ponadto zauważono największy wzrost szybkości uwalniania miedzi do roztworu sztucznej śliny w początkowym okresie oraz zmniejszającą się szybkość uwalniania w okresie późniejszym, najmniejsza różnica pomiędzy wartościami stężeń tego pierwiastka występowała bowiem pomiędzy 14 a 28 dniem, gdzie okres przebywania powłoki w SBF był najdłuższy. Uzyskane wyniki szybkości uwalniania korelują z wartościami stężeń srebra i miedzi w powłoce po obróbce termicznej przedstawionymi w tabeli 20. Badania zawartości srebra i miedzi w powłoce po obróbce termicznej wykazały bowiem prawie 10-krotnie mniejsze stężenie srebra ($35,2 \pm 6,8 \text{ mg/m}^2$) w powłoce nanoHAp z nanosrebrem i nanomiedzią z grupy KAg30Cu80-005, w porównaniu ze stężeniem miedzi ($326,4 \pm 9,8 \text{ mg/m}^2$).

6.7. Badania bakteryjne

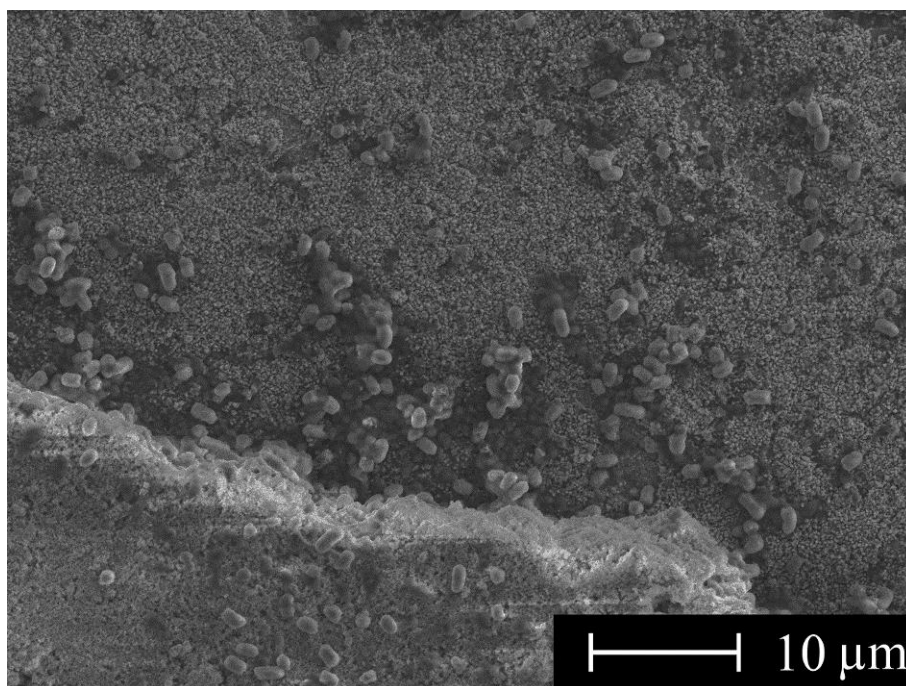
Na rys. 106–114 przedstawiono topografie powierzchni (badanej z wykorzystaniem mikroskopii skaningowej SEM) próbki referencyjnej Ti–13Zr–13Nb oraz powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią po 7, 14 i 28 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym.



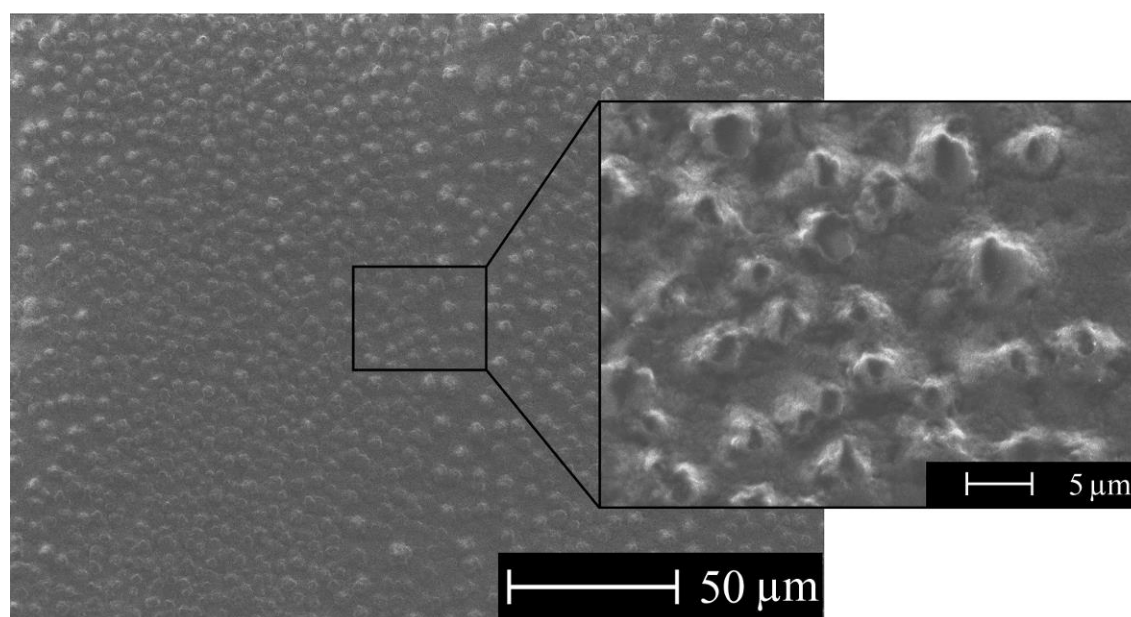
Rysunek 106. Topografia powierzchni SEM próbki referencyjnej Ti-13Zr-13Nb po 7 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym



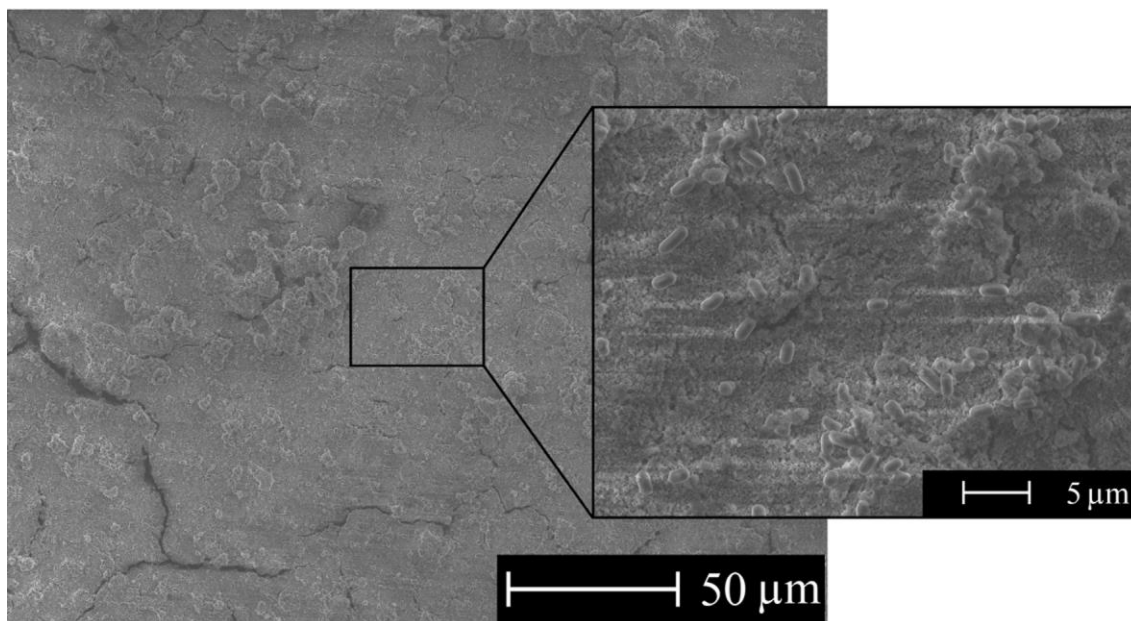
Rysunek 107. Topografia powierzchni SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005, po 7 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym



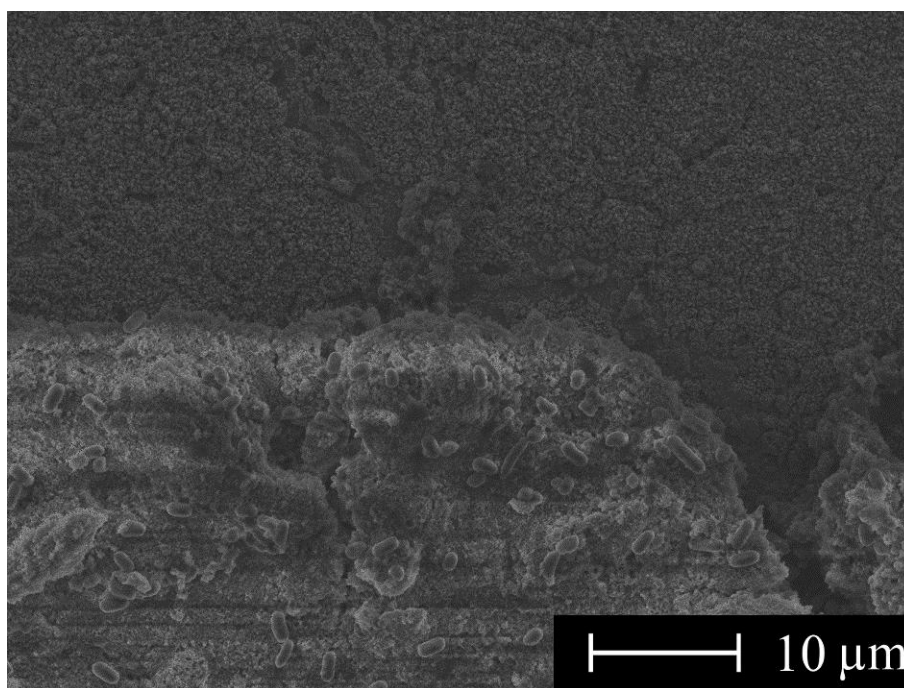
Rysunek 108. Topografia powierzchni SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005, po 7 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym (zdjęcie wykonane na granicy powłoka - materiał referencyjny)



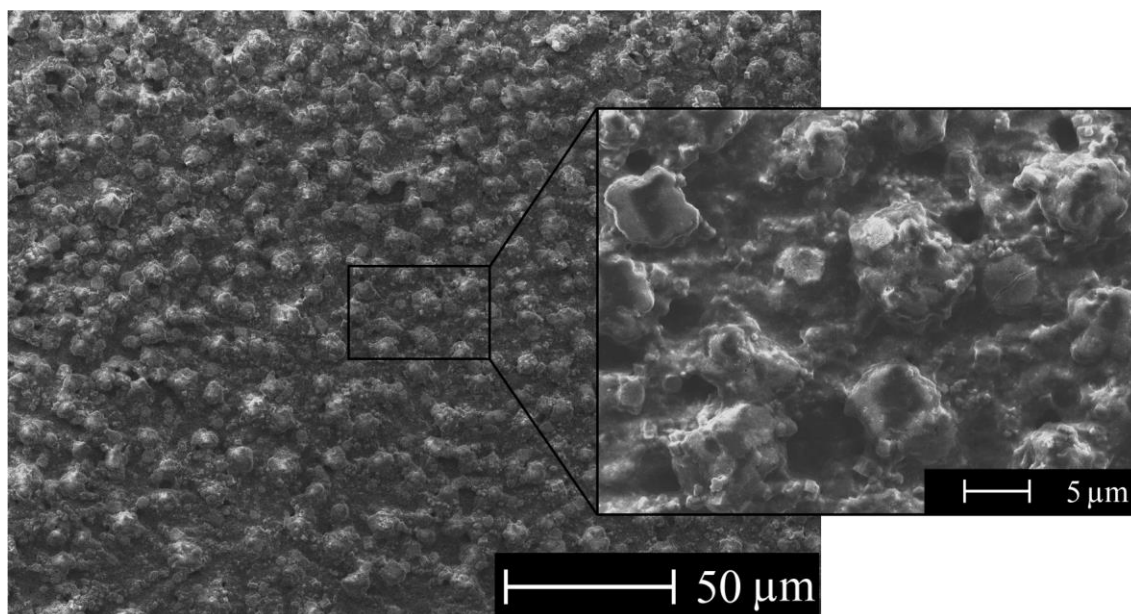
Rysunek 109. Topografia powierzchni SEM próbki referencyjnej Ti-13Zr-13Nb po 14 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym



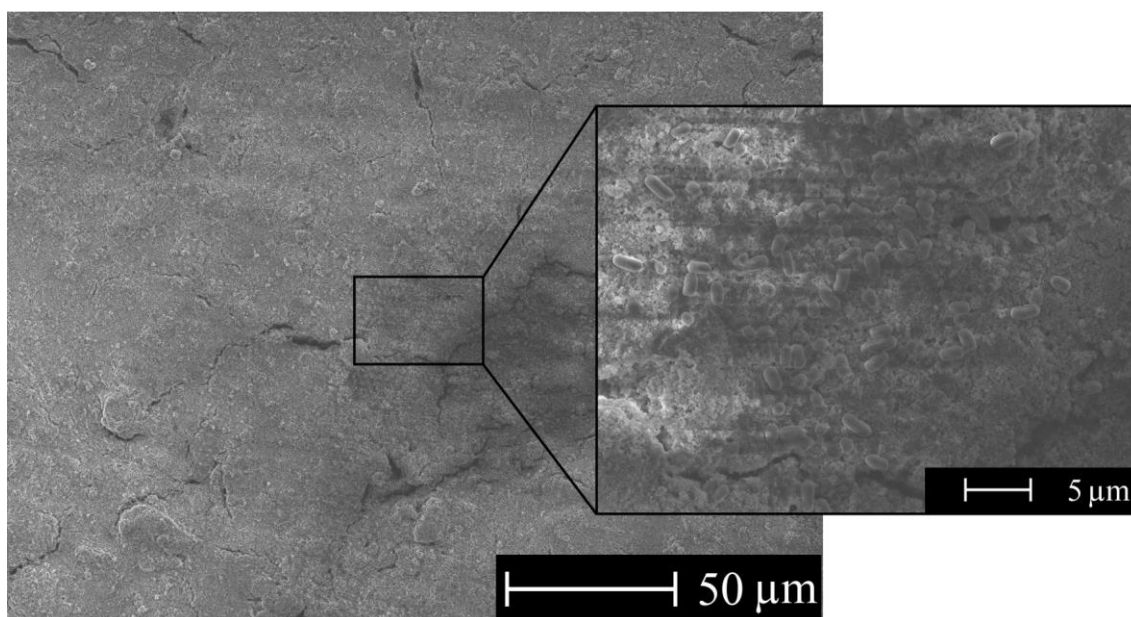
Rysunek 110. Topografia powierzchni SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005, po 14 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym



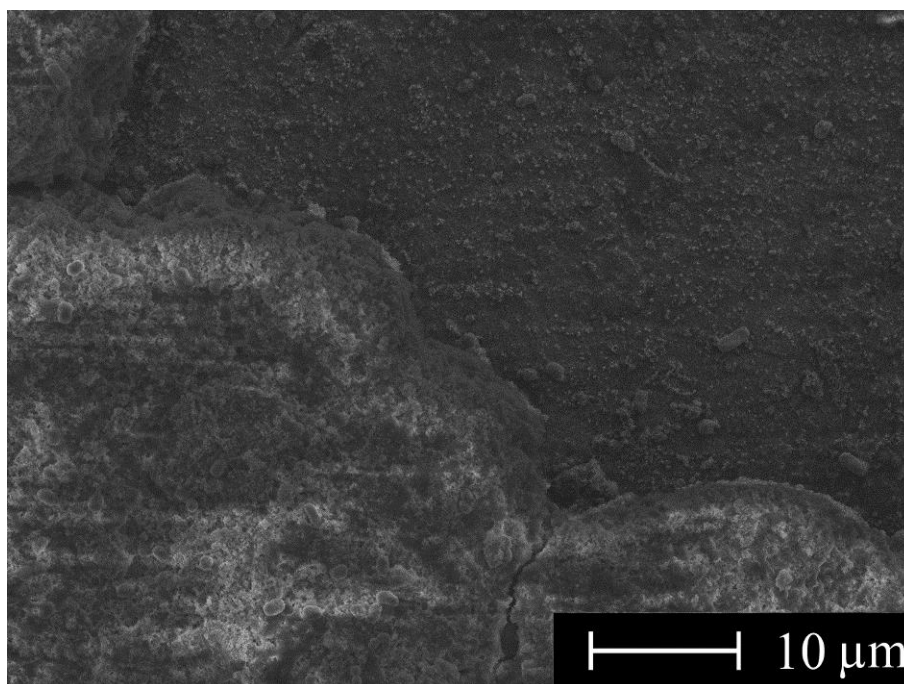
Rysunek 111. Topografia powierzchni SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005, po 14 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym (zdjęcie wykonane na granicy powłoka - materiał referencyjny)



Rysunek 112. Topografia powierzchni SEM próbki referencyjnej Ti-13Zr-13Nb po 28 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym



Rysunek 113. Topografia powierzchni SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005, po 28 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym



Rysunek 114. Topografia powierzchni SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005, po 28 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym (zdjęcie wykonane na granicy powłoka - materiał rodzimy)

W przypadku próbki referencyjnej Ti-13Zr-13Nb zaobserwowano wystąpienie biofilmu bakteryjnego na badanej powierzchni już po 7 dniach przebywania próbki w bulionie bakteryjnym (rys. 106), zatem po najkrótszym okresie czasu, na jaki umieszczone zostały próbki. Jednak, spośród próbek referencyjnych umieszczonych na 7, 14 i 28 dni w bulionie bakteryjnym, jedynie w przypadku próbki referencyjnej badanej po 7 dniach widoczny jest, na powiększonym obrazie SEM, materiał rodzimy stopu tytanu. W przypadku próbek referencyjnych badanych po 14 i 28 dniach (rys. 109 i 112) zaobserwowano zmianę struktury powierzchni biofilmu – wraz ze zwiększeniem czasu przebywania próbek stał się on bardziej zwarty i zwiększyła się liczba dużych aglomeratów, które na próbce referencyjnej badanej po 7 dniach obserwowane były sporadycznie. Ponadto po 14 i 28 dniach przebywania próbek referencyjnych w bulionie na badanej powierzchni nie zaobserwowano materiału podłoża. W przypadku badanej powierzchni powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią z grupy KAg30Cu80-005 zarówno po 7, 14 i 28 dniach nie zaobserwowano zjawiska powstawania biofilmu. Na powierzchni wszystkich badanych powłok nanoHAp z nanoAg i nanoCu zauważalne były jedynie pojedyncze, rozsiane bakterie w kształcie ziarniaków pochodzące z jednego szczepu. Analizując porównawczo powierzchnie powłok (rys. 107, 110 i 103) badanych po trzech okresach czasu przebywania w bulionie bakteryjnym (7, 14 i 28 dni) odnotowano niewielki wzrost liczby bakterii występujący na badanej powierzchni. Na granicy powłoka – materiał rodzimy w przypadku wszystkich badanych próbek (rys. 108, 111 i 114) zauważono na powierzchni powłoki nanoHAp z nanoAg i nanoCu występowanie jedynie jednego szczepu bakteryjnego, przy obecnym na materiale rodzimym biofilmie.

7. Dyskusja

Celem naukowym niniejszej pracy badawczej było określenie wpływu wybranych determinant procesu wytwarzania powłok nanohydroksyapatytowych metoda elektroforetyczną – składu elektrolitu, napięcia procesu osadzania oraz czasu osadzania – na właściwości powłok takie, jak ich skład chemiczny, topografia powierzchni, morfologia, właściwości nanomechaniczne, szybkość korozji w modelowych warunkach ciała ludzkiego, zwilżalność, szybkość uwalniania jonów nanosrebra i nanomiedzi w płynie fizjologicznym, zdolność hamowania tworzenia się biofilmu w środowisku bakterii chorobotwórczych. Otrzymane wyniki stały się podstawą do określenia wzajemnych relacji i ich istotności między determinantami procesu i właściwościami powłok, pogłębionej charakterystyki procesów zachodzących w procesie wytwarzania i zjawisk decydujących o właściwościach powłok.

7.1. Determinanty procesu tworzenia, budowy i właściwości powłok nanohydroksyapatytowych z dodatkiem nanosrebra i (lub) nanomiedzi

Przeprowadzone badania dowodzą, że możliwe jest wytworzenie powłok nanohydroksyapatytowych, nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem, nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią oraz nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem i nanomiedzią na stopie tytanu Ti–13Zr–13Nb, choć ich właściwości są silnie i często niemonotonicznie determinowane przez parametry procesowe. Takie badania nie zostały do tej pory wykonane.

W przypadku powłok z nanosrebrem z grup KAg80 i KAg'80 nie udało się uzyskać jednorodnych powłok, ponieważ srebro jest pierwiastkiem aktywnym oraz posiada doskonałą przewodność elektryczną. Jego obecność doprowadza do zaburzenia procesu migracji mniejszych, mniej aktywnych, cząstek nanoHAp podczas elektroforetycznego osadzania. W przypadku mniejszych nanocząstek srebra (30 nm) efekt ten nie był obserwowany, co dowodzi celowości stosowania zawiesin zawierających mniejsze cząstki nanosrebra. Mirzaee i inni [138] stwierdzili, że obecność nanocząstek srebra o wielkości 30–45 nm w zawiesinie pozwala uzyskać powłoki charakteryzujące się lepszą homogenicznością w porównaniu z powłokami osadzonymi z zawiesiny jedynie z nanohydroksyapatytem. Ponadto mniejsze cząstki tworzą bardziej koloidalne i stabilne zawiesiny na skutek występujących w cieczach ruchów Browna, a te pozwalają z kolei na uzyskanie lepiej przylegających i charakteryzujących się wyższą gęstością powłok [5].

Dodatek nanomiedzi w powłokach nanoHAp domieszkowanych tym pierwiastkiem działa jako faza wzmacniająca zapobiegająca rozprzestrzenianiu się pęknięć występujących w powłoce HAp [126]. Stwierdzono wcześniej, że domieszkowanie powłok HAp metalami może polepszać właściwości powłok [179]. W przypadku powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią z grupy KAg30Cu80-01 (rys. 25) zbyt wysokie stężenie nanocząstek metalicznych w zawiesinie zaburzyło migrację cząstek. Zmniejszając ilości nanocząstek srebra i miedzi w zawiesinie o połowę uzyskano

jednorodną powłokę z grupy KAg30Cu80-005, potwierdzając tym samym doświadczalnie istotny wpływ stężenia nanocząstek na proces migracji wszystkich cząstek obecnych w zawieszynie.

Skurcz termiczny powłok nanoHAp podczas wysokotemperaturowej obróbki cieplnej powoduje ich pękanie. Większa grubość powłoki powoduje, iż większa ilość materiału ulega skurczowi, przez co pęknięć jest więcej. Dodatek nanosrebra i (lub) nanomiedzi w powłokach zmniejsza liczbę pęknięć w wyniku redukcji naprężeń wewnętrznych występujących podczas obróbki termicznej.

Wszystkie powłoki wytworzone z użyciem niskiego napięcia podczas procesu elektroforetycznego charakteryzują się dużą liczbą występujących na powierzchni powłoki aglomeratów nanoHAp. Zbyt niskie napięcie podczas procesu EPD powoduje nieprawidłową migrację cząstek nanoHAp, przez co w konsekwencji wytworzone powłoki nie są homogeniczne [180]. Ponadto aglomeraty zaobserwowane na badanych powłokach, osadzanych przy zwiększonej wartości napięcia, wynikają z szybszej kinetyki procesu migracji cząstek i zmniejszenia przez to czasu niezbędnego do krystalizacji w najbardziej odpowiednim (dopasowanym) miejscu w celu wytworzenia jednorodnej powłoki [98,106,181]. Dodatkowo najmniejsza liczba aglomeratów obserwowanych na powierzchni powłok nanoHAp (grupy A–O), osadzanych przy najwyższej wartości napięcia, spowodowana jest największą nadaną cząstkom nanohydroksyapatytu wartością prędkości elektroforetycznej, będącej zależną od napięcia i wielkości cząstek. Sprawia to, że jako pierwsze i w największej liczbie osadzają się cząstki najmniejsze, które są w stanie przyłączyć się do istniejących już aglomeratów [181].

W przypadku osadzania powłok z wykorzystaniem zawieszin z wyższym stężeniem proszku nanoHAp w czasie 1 minuty (powłoki nanoHAp z grup D–I), w którym liczba cząstek nanoHAp jest odpowiednio 2 i 5 razy większa niż w przypadku powłok nanoHAp z grup A–C, mniejsza liczba aglomeratów spowodowana jest obecnością w zawieszynie większej liczby małych cząstek, którym łatwiej jest zająć właściwe pozycje pomiędzy dużymi aglomeratami. Kiedy zwiększa się natomiast czas osadzania powłok nanoHAp dwukrotnie lub trzykrotnie (powłoki z grup J–O), cząstki nanoHAp mają więcej czasu do bardziej energetycznie korzystnego osadzenia się w powłoce, a małe cząstki - do zajęcia pozycji pomiędzy aglomeratami na powierzchni stopu tytanu. Efekt ten widoczny jest bardziej w przypadku wydłużenia czasu osadzania do 3 minut, ponieważ prędkość elektroforetyczna, największa dla najmniejszych cząstek, nie jest zależna od czasu, dlatego też aglomeraty nanocząstek znajdujące się blisko powierzchni elektrody zostają na niej osadzone, lecz najmniejsze cząstki mają więcej czasu i są wiązane w bardziej korzystnych położeniach wokół aglomeratów. W przypadku powłok nanoHAp z nanosrebrem i/lub nanomiedzią mniejsza liczba aglomeratów, w porównaniu z powłoką nanoHAp z grupy K, wynikać może z zaburzenia procesu migracji aglomeratów nanoHAp wskutek znacznie większej aktywności nanometali i ich większego rozmiaru. W takim przypadku jedynie pojedyncze nanocząstki oraz mniejsze aglomeraty nanoHAp są w stanie migrować prawidłowo razem z nanocząstkami metali.

Topografie AFM korelują ze zdjęciami SEM w przypadku wszystkich badanych powłok. Parametr chropowatości powierzchni S_a powłok stosowanych na implanty ma istotne znaczenie w przypadku adhezji osteoblastów i bakterii. Ponadto jego wartość determinuje możliwość odpowiedniej interakcji

ludzkich tkanek z implantem już w początkowej fazie po wszczępieniu implantu. Wysoki poziom chropowatości zapewnia lepszą możliwość adhezji tkanek oraz stabilizację pierwotną pomiędzy implantem a kością [182,183]. Chropowate powierzchnie dodatkowo ułatwiają adhezję większej liczby osteoblastów i mogą symulować wytwarzanie macierzy pozakomórkowej, dlatego też w przypadku implantów powierzchnie projektuje się w kierunku wzrostu tego parametru [140,184,185]. Wzrost chropowatości ułatwiać może, co jest niekorzystnym zjawiskiem, również adhezję komórek bakteryjnych, co udowodnione zostało między innymi dla *Staphylococcus epidermidis* [185].

Grubość badanych powłok nanoHAp bez dodatku nanometali wzrasta wraz ze wzrostem napięcia stosowanego podczas elektroforetycznego osadzania, zgodnie z prawem Coulomba, jak też ze wzrostem stężenia proszku nanoHAp w elektrolicie na skutek możliwości osadzenia większej liczby cząstek na powierzchni oraz także ze wzrostem czasu osadzania, ponieważ nanocząstki HAp mają więcej czasu na migrację i osadzenie się na tytanowym podłożu. Wzrost czasu osadzania elektroforetycznego nie powoduje liniowego wzrostu grubości powłok nanoHAp bez nanometali. Zjawisko to charakterystyczne jest dla procesu EPD przy stałym napięciu i wynika z faktu odkładania się cząstek nanoHAp na elektrodzie (tutaj materiale referencyjnym Ti–13Zr–13Nb), izolowaniu jej i spadku pola elektrycznego pomiędzy elektrodami (zwiększenia rezystancji obwodu), między którymi różnica potencjału jest stała. Jednak z powodu różnego osadzania się powłok na elektrodach w zależności od różnych determinant procesu wytwarzania, zmiany pola elektrycznego i grubości powłok powinny być analizowane indywidualnie. We wcześniejszych badaniach wykazano, że zwiększenie napięcia i czasu osadzania może powodować zwiększenie grubości uzyskanych powłok [186]. Abdeltawab i inni [181] zaobserwowali, że zwiększanie czasu osadzania, przy stałej wartości napięcia, początkowo powodowało zwiększenie grubości, jednak wraz z dalszym wzrostem czasu efekt ten nie był widoczny, a więc napięcie stosowane podczas elektroforezy silniej determinuje grubość uzyskanych powłok. Zmniejszenie grubości powłok nanohydroksyapatytowych z dodatkiem nanometali spowodowane zostało możliwością spowalniania osadzania cząstek hydroksyapatytu w obecności cząstek srebra i miedzi [125]. W obecnych badaniach zaobserwowano wzrost grubości powłok ze wzrostem stężenia nanometali (zarówno nanosrebra w powłokach z grup KAg30 i KAg'30, jak i miedzi w powłokach z grup KCu40, KCu'40, KCu80 i KCu'80), co związane jest prawdopodobnie z ich doskonałą przewodnością elektryczną i większą aktywnością w porównaniu z cząstkami nanoHAp.

Analiza EDS powłoki nanoHAp z grupy K, udowodniła obecność pierwiastków charakterystycznych dla powłok HAp. Zaobserwowano również pik tytanu z powodu małej grubości powłoki. W przypadku powłok domieszkowanych nanosrebrem lub nanomiedzią udowodniono obecność zarówno srebra, jak i miedzi, przy widocznych pikach powłoki i tytanowego podłoża. W powłoce nanoHAp z nanosrebrem i nanomiedzią z grupy KAg30Cu80-005 po obróbce termicznej srebro nie zostało zaobserwowane w widmie EDS, a jedynie w małych ilościach w mapie rozkładu pierwiastków. Ponadto zwrócono uwagę na zmianę morfologii nanocząstek miedzi przez i po spiekaniu, widocznych w postaci aglomeratów na powierzchni powłoki (rys. 59 i 60). Brak srebra spowodowany jest najprawdopodobniej zjawiskiem parowania tego pierwiastka, choć temperatura topnienia i wrzenia srebra

w warunkach normalnych (961 °C i 2162 °C) jest wyższa od temperatury stosowanej podczas obróbki termicznej powłok (800 °C). W przypadku próżni oraz stosowania cząstek w skali nano temperatury te mogą się obniżać, co doprowadziło do odparowania nanosrebra z powłoki. W przypadku nanomiedzi, której temperatura topnienia i wrzenia są wyższe niż srebra, efekt nie został zauważony. Na problem parowania srebra i niskiej temperatury topnienia zwrócono uwagę wcześniej [187], jednak z powodzeniem poddawano powłoki nanoHAp domieszkowane nanosrebrem obróbce termicznej w atmosferze próżni w wyższej temperaturze [188]. Dużo niższe wartości zawartości srebra i miedzi w powłokach przed i po spiekaniu, przedstawione w tabeli 20, spowodowane są prawdopodobnie częściowym odparowaniem obu tych pierwiastków z powierzchni powłoki (srebra w znacznie większym stopniu). Ponadto mniejsze cząstki srebra (30 nm) odparowują szybciej niż miedzi (80 nm).

Analiza rentgenowska uzyskanych powłok pozwoliła na zidentyfikowanie w każdym przypadku pików charakterystycznych dla krystalicznego hydroksyapatytu. Ponadto w każdej badanej próbce w widmie występują piki dla tytanu, co spowodowane jest małą grubością badanych powłok. Intensywność pików krystalicznego hydroksyapatytu największa jest dla powłoki bez dodatku nanometali i maleje w przypadku powłok z nanosrebrem i (lub) nanomiedzią. Spowodowane jest to obecnością w powłoce nanosrebra oraz nanomiedzi. Brak obecności amorficznego hydroksyapatytu podnosi bioaktywność uzyskanych powłok, ponieważ jest on niestabilny w ludzkim organizmie (może rozpuścić się już kilka dni po implantacji), dodatkowo może powodować obłuzowanie implantu [103,189].

Badania korozyjne wykazały, że powłoki nanoHAp z grup A–D charakteryzują się niższą odpornością korozyjną niż materiał referencyjny Ti–13Zr–13Nb, co spowodowane jest ich małą grubością i defektami powstałymi w procesie osadzania i pękania w trakcie obróbki cieplnej. Powoduje to powstawanie tuneli (szczelin) korozyjnych, a w konsekwencji korozję miejscową w płynie fizjologicznym, który wnika w tunele zwiększając szybkość obu reakcji, katodowej i anodowej. Niemniej jednak szybkość korozji pozostaje na bardzo niskim poziomie. Powłoki nanoHAp zawierające w składzie nanomiedź charakteryzują się najniższą odpornością korozyjną wynikającą prawdopodobnie z doskonałej przewodności elektrycznej tego pierwiastka. W przypadku pozostałych powłok nanoHAp szybkość korozji jest niższa w porównaniu z próbką referencyjną Ti–13Zr–13Nb. Podobne wyniki otrzymane zostały przez Farrokhi–Rad [190]. Przyczyny obserwowanej nagłej i chwilowej pasywacji powłoki HAp zawierającej miedź nie mogą być jeszcze określone z całkowitą pewnością, a w literaturze brak jest jakichkolwiek doniesień na ten temat. Podobne, choć o wiele słabsze efekty obserwowano w przypadku powłoki HAp zawierającej chitozan i azotan miedzi [191], nie tłumacząc jednak źródła efektu. W [192] stwierdzono jedynie poprawę odporności na korozję dla powłok HAp, w którym wapń w cząsteczce częściowo podstawiono miedzią. Można postawić hipotezę, iż jeden lub więcej gwałtownych spadków prądu korozji wynikać może z dwóch przyczyn. Pierwsza z nich to tworzenie ogniwa, w którym tlenek tytanu w szczelinie powłoki HAp stanowi warstwę pasywną, zaś miedź ulega roztwarzaniu chroniąc substrat. Rozpuszczanie się aglomeratów nanomiedzi zachodzi w sposób przypadkowy, zależny od stopnia jej związania z hydroksyapatytem i położenia w powłoce, a więc przy różnych potencjałach. Druga możliwa przyczyna nagłej pasywacji to wytwarzanie przez jony miedzi

wodorotlenku miedziawego i miedziowego, o niskiej rozpuszczalności, powodującego chwilowe blokowanie szczeliny, a zatem zwiększenie rezystancji elektrycznej.

Nanoindentacja jako metoda pomiaru własności mechanicznych jest metodą dedykowaną dla przypadku nanomateriałów. Rozkłady 3D nanotwardości, modułu Younga i maksymalnej głębokości penetracji wgłębnika podczas indentacji dla powłoki nanoHAp z grupy K charakteryzują się nierównomiernościami wynikającymi z budowy powłoki – występującymi pęknięciami i aglomeratami nanoHAp. W przypadku powłok nanoHAp z nanosrebrem lub nanomiedzią, bardziej równomierne rozkłady własności mechanicznych wynikają z lepszej homogeniczności tych powłok będącej skutkiem obecności nanocząstek metali w powłokach. W przypadku powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (grupa KAg30Cu80-005) zaobserwowany najbardziej równomierny rozkład maksymalnej głębokości penetracji wgłębnika podczas badania indentacji wynika z jej największej homogeniczności, natomiast występujące wysokie piki twardości oraz modułu Younga na rozkładach wartości spowodowane są prawdopodobnie nierównomiernym rozmieszczeniem metalicznych nanocząstek w powłoce. Wraz ze wzrostem grubości powłok nanoHAp grup A–O odnotowano spadek twardości, co spowodowane jest skurczem powłok podczas obróbki termicznej. W przypadku powłok cieńszych skurcz jest mniejszy, a w efekcie powłoki posiadają mniejszą liczbę pęknięć pogarszających właściwości mechaniczne. Najwyższa wartość twardości odnotowana została dla powłoki nanoHAp z grupy A, która charakteryzowała się brakiem pęknięć widocznych na powierzchni i najmniejszą grubością. Obecność nanocząstek metali w powłokach, na skutek wzrostu homogeniczności, spowodowała wzrost właściwości mechanicznych. Ponadto miedź w powłokach nanoHAp działa jako faza wzmacniająca, zapobiegająca rozprzestrzenianiu się pęknięć występujących w powłoce HAp [126].

Duże wartości odchyień standardowych wartości właściwości mechanicznych i właściwości nanoindentacji przedstawione w tabelach 22 i 23 można przypisać znacznej chropowatości powierzchni powłok spowodowanej obecnością aglomeratów i pęknięć na powierzchniach. Przy dużej liczbie pojedynczych pomiarów wykonywanych dla każdej powłoki jest to oczekiwany efekt, potwierdzający rzetelność i poprawność wykonanych testów. Obniżone właściwości mechaniczne powłok nanoHAp można przypisać wysokiej porowatości powłok, a także wpływowi kształtu i rozmiaru cząstek proszku nanoHAp. He i inni [94] podali, że wzrost porowatości powłoki powodował pogorszenie właściwości mechanicznych. Wei i inni [193] zaobserwowali, że iglasty kształt cząstek HAp powodować może większą podatność na pękanie podczas skurczu, po którym następuje spadek właściwości mechanicznych. Niska twardość powłok hydroksyapatytowych przypisywana jest również występowaniu w strukturze dużych ilości amorficznego HAp, który w badanych powłokach nie został jednak wykryty [151]. Drevet i inni [98] otrzymali wyniki zbliżone do przedstawionych w niniejszej pracy, nie podając jednak grubości uzyskanych w procesie elektroforetycznym powłok i przyczyny uzyskania niskich właściwości mechanicznych. Właściwości mechaniczne powłok stosowanych na implanty powinny mieć wartości zbliżone do tych dla kości korowej [194]. Niestety, powłoki o słabych właściwościach mechanicznych mogą szybko rozpuszczać się w środowisku ludzkiej tkanki [195].

Odpowiednia adhezja powłok hydroksyapatytowych do podłoża metalowego jest jedną z najważniejszych właściwości decydujących o jakości powłok. Oderwane cząstki powłok HAp mogą inicjować procesy zapalne i zanik kości w okolicy implantu [101]. Analiza adhezji powłok nanoHAp bez dodatku nanometali określona metodą nanozarysowania pozwoliła stwierdzić, iż powłoki charakteryzujące się większym upakowaniem nanocząstek lepiej przylegają do tytanowego podłoża, prawdopodobnie na skutek spadku wewnętrznej porowatości. Efekt ten zaobserwowany został w przypadku powłok nanoHAp z grup A–C, gdzie powłoka z grupy C posiadała najwyższą adhezję do podłoża. Efekt ten występuje jedynie w przypadku powłok, które nie zawierają pęknięć o dużej liczbie i wielkości. Zaobserwowany wzrost adhezji powłok nanoHAp z nanometalami (z wykluczeniem powłoki nanoHAp z nanoAg z grupy KAg'30) można przypisać wyższej homogeniczności tych powłok. Ponadto w przypadku powłok nanoHAp z nanometalami możliwe jest wytworzenie wiązań metalicznych pomiędzy nanosrebrem i nanomiedzią w powłoce oraz materiałem podłoża. Efekt ten zaobserwowany został dla powłok nanoHAp z nanomiedzią [126]. Wysokie wartości odchyłeń standardowych uzyskanych wyników spowodowane są nierównomierną grubością badanych powłok, jak również występowaniem aglomeratów i pęknięć na ich powierzchni.

7.2. Bioaktywność i właściwości biobójcze powłoki nanohydroksyapatytowej z dodatkiem nanosrebra i (lub) nanomiedzi

Bioaktywność badanych powłok określona została za pomocą pomiaru kąta zwilżania z wykorzystaniem metody spadającej kropli. Wszystkie przebadane powłoki posiadają wartość uśrednionego kąta zwilżania mniejszą niż w przypadku próbki referencyjnej Ti–13Zr–13Nb, co spowodowane jest ich silnie porowatą strukturą, która umożliwia cieczy wnikanie w głąb powłoki. Dodatkowo niskie wartości kąta zwilżania dla wszystkich badanych powłok spowodowane są występowaniem dużej ilości grup hydroksylowych na powierzchni. Ponadto wszystkie powłoki, jak również powierzchnia materiału referencyjnego charakteryzują się hydrofilowością, która wymagana jest od materiałów stosowanych na implanty w celu poprawy osteointegracji implantu z kością [196]. W przypadku badanych powłok nanoHAp bez dodatku nanometali stwierdzono, że wzrost grubości oraz liczby i wielkości występowania nieciągłości (pęknięć) uzyskanych powłok determinuje zwiększenie wartości kąta zwilżania, bowiem większa ilość cieczy jest w stanie wnikać do powłok o większej grubości. Ponadto pęknięcia ułatwiają wnikanie płynu. W przypadku powłok nanoHAp z nanometalami uzyskane niskie wartości kąta zwilżania wynikają z większej zwilżalności metali w porównaniu z materiałami ceramicznymi. W przypadku powłoki nanoHAp z nanomiedzią z grupy KCu'80, zbyt duże stężenie stosunkowo dużych nanocząstek może zapobiegać przedostawaniu się cieczy wewnątrz powłoki, dlatego też wartość kąta zwilżania jest znacznie większa niż w przypadku pozostałych powłok nanoHAp z nanometalami. Silnie porowata struktura i obecność w składzie obu metalicznych nanocząstek

w przypadku powłoki nanoHAp z grupy KAg30Cu80-005 spowodowała, że powłoka ta ma najniższy kąt zwilżania, co pozwala na określenie jej przewidywanej wysokiej biokompatybilności i bioaktywności.

Badania szybkości uwalniania nanosrebra i nanomiedzi do roztworu sztucznej śliny nie wykazały obecności srebra w roztworze SBF. Wykazano natomiast wyraźny wzrost stężenia miedzi w roztworze wraz ze wzrostem przebywania w roztworze, wynikający z utleniania się nanocząstek miedzi w kontakcie z wodnym roztworem. Początkowo nanocząstki metaliczne znajdują się na powierzchni powłoki, następnie utleniają się oraz uwalniają się z powierzchni. Udowodniona w badaniach topografii SEM duża liczba nanocząstek miedzi występująca na powierzchni determinuje fakt obecności wykrywalnej ilości miedzi w roztworze sztucznej śliny już po pierwszym dniu. Początkowo ilość uwalnianej miedzi jest największa, następnie maleje. Spowodowane jest to prawdopodobnie wolniejszym uwalnianiem nanocząstek znajdujących się w powłoce. Zmniejszenie szybkości roztwarzania pozwala uzyskać efekt długoterminowego uwalniania. Podobny efekt zaobserwowany został również dla srebra i miedzi [82,125]. Badania nie potwierdziły obecności nanosrebra w roztworze sztucznej śliny, nie mniej jednak dolna granica wykrywalności pierwiastka wynosiła 0,1 ppm. Potwierdzono natomiast bardzo małą ilość nanosrebra w powłoce z wykorzystaniem absorpcyjnej spektroskopii atomowej oraz mapowania EDS.

Badania powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią z grupy KAg30Cu80-005 z wykorzystaniem bulionu bakteryjnego udowodniły jej antibakteryjny charakter. W przypadku powłok nanoHAp z nanometalami po 7, 14 i 28 dniach nie zaobserwowano biofilmu na powłokach. Zaobserwowano jednak występujące pojedyncze bakterie, najprawdopodobniej Gram-ujemne ze szczepu *Enterobacter cloacae*. Obecność tego szczepu świadczyć może o jego bardzo wysokiej oporności względem antibakteryjnych nanocząstek srebra i miedzi. Istnieją doniesienia literaturowe świadczące o ograniczonej biobójczości srebra, która wynikać może z faktu, iż gruba warstwa peptydoglikogenu może chronić komórki bakteryjne przed wnikaniem jonów Ag^+ [197]. Odpowiednia szybkość uwalniania nanocząstek metalicznych z powłoki do otaczającego bulionu bakteryjnego skutecznie zapobiega adhezji komórek bakteryjnych powierzchni powłok oraz zapewnia odpowiednią osłonę antibakteryjną, bowiem nanometale przenikając przez błony komórkowe bakterii zaburzają proces replikacji DNA uniemożliwiając komórkom dalszy podział. W przypadku powierzchni materiału referencyjnego Ti-13Zr-13Nb biofilm zaobserwowany został już po 7 dniach. Odpowiednia chropowatość powierzchni, jej hydrofobowość oraz brak osłony bakteryjnej referencyjnej próbki spowodowały, że powierzchnia stopu tytanu zastała po dłuższym okresie pokryta zwartą powłoką biofilmu. Pomimo, iż w badaniach szybkości uwalniania nie wykryto obecności nanosrebra, właściwości antibakteryjne tego pierwiastka potwierdzone zostały już przy stężeniu mniejszym niż 35 ppb (*ang. parts-per bilion*) [197], dlatego uprawnione jest twierdzenie, że zarówno nanomiedź, jak nanosrebro brały udział w procesach biobójczych.

8. Podsumowanie i wnioski

1. Metoda elektroforetyczna pozwala na wytworzenie powłok nanohydroksyapatytowych, nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem, nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią oraz nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem i nanomiedzią na stopie tytanu Ti–13Zr–13Nb, których właściwości istotnie zależą od zawartości nanometali w zawiesinie, napięcia wytwarzania oraz czasu osadzania.
2. Wielkość i zawartość nanocząstek nanosrebra i nanomiedzi stanowią bardzo istotne parametry procesowe. Zbyt duże nanocząstki zaburzają proces migracji cząstek do tworzącej się powłoki i powodują spadek jej homogeniczności. Zbyt duże stężenie nanocząstek wywiera podobny wpływ. Dodatek nanomiedzi przeciwdziała propagacji pęknięć powstających w wyniku naprężeń cieplnych po obróbce termicznej.
3. Czas osadzania ma istotny wpływ na proces i budowę powłok. Kiedy zwiększa się czas osadzania powłok nanoHAp dwukrotnie lub trzykrotnie, cząstki nanoHAp mają możliwość korzystniejszego energetycznie osadzenia się dużych cząstek w powłoce, a w przypadku małych cząstek – do osadzenia się pomiędzy aglomeratami na powierzchni stopu tytanu.
4. Wzrost napięcia i czasu osadzania powoduje wzrost chropowatości powłoki, co sprzyja większej bioaktywności powierzchni dzięki spodziewanej lepszej adhezji większej liczby osteoblastów i wytwarzaniu macierzy pozakomórkowej.
5. Grubość powłok wzrasta wraz ze wzrostem napięcia zgodnie z prawem Coulomba, ze wzrostem stężenia proszku nanoHAp w elektrolicie na skutek możliwości osadzenia większej liczby cząstek na powierzchni oraz ze wzrostem czasu osadzania, ponieważ nanocząstki HAp mają więcej czasu na migrację i osadzenie się na tytanowym podłożu. Wzrost grubości powłok ze wzrostem stężenia wynika z ich bardzo wysokiej przewodności elektrycznej i większej aktywności w porównaniu z cząstkami nanoHAp.
6. Powłoki nanoHAp charakteryzują się szybkością korozji podobną, jak stop Ti–13Zr–13Nb, zaś niewielkie obniżenie odporności korozyjnej w przypadku części powłok można przypisać ich małej grubości i defektom powstałymi w procesie osadzania i pękaniu w trakcie obróbki cieplnej, a w ślad za tym tworzenia tuneli (szczelin) korozyjnych oraz korozji lokalnej.
7. Powłoki charakteryzujące się większym upakowaniem nanocząstek lepiej przylegają do tytanowego podłoża, co można przypisać spadkowi porowatości powłoki i wzrostowi homogeniczności powłok.
8. Wzrost porowatości struktury i obecność metalicznych nanocząstek powoduje spadek kąta zwilżania, a w konsekwencji wzrost biokompatybilności i bioaktywności.
9. Powłoki nanohydroksyapatytowe z nanosrebrem i nanomiedzią wykazują antybakteryjny charakter zapobiegając powstawaniu biofilmu. Efekt ten ma charakter długotrwały i w pierwszej fazie wywołany jest obecnością nanomiedzi, zaś obu nanometali – w dalszym etapie procesu roztwarzania powłoki.

Literatura

- [1] J. Marciniak, *Biomateriały*, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice, 2013.
- [2] B. Świeczko-Żurek, *Biomateriały*, Wydawnictwo Politechniki Gdańskiej, Gdańsk, 2009.
- [3] C.F. Koch, S. Johnson, D. Kumar, M. Jelinek, D.B. Chrisey, A. Doraiswamy, C. Jin, R.J. Narayan, I.N. Mihailescu, Pulsed laser deposition of hydroxyapatite thin films, *Materials Science and Engineering C*. 27 (2007) 484–494. doi:10.1016/j.msec.2006.05.025.
- [4] A.M. Świdwińska-Gajewska, S. Czerczak, Nanosrebro - dopuszczalne poziomy narażenia zawodowego, *Medycyna w Pracy*. 66 (2015) 429–442.
- [5] L. Besra, M. Liu, A review on fundamentals and applications of electrophoretic deposition (EPD), *Progress in Materials Science*. 52 (2007) 1–61. doi:10.1016/j.pmatsci.2006.07.001.
- [6] B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons, *Biomaterials Science*, Academic Press, San Diego, 1996.
- [7] G.M. Raghavendra, K. Varaprasad, T. Jayaramudu, *Biomaterials: Design, Development and Biomedical Applications, Nanotechnology Applications for Tissue Engineering*. (2015) 21–44. doi:10.1016/B978-0-323-32889-0.00002-9.
- [8] J. Łaskawiec, R. Michalski, *Zagadnienia teoretyczne i aplikacyjne w implantach*, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice, 2002.
- [9] J. Jakubowicz, Formation of porous TiOx biomaterials in H3PO4 electrolytes, *Electrochemistry Communications*. 10 (2008) 735–739. doi:10.1016/j.elecom.2008.02.027.
- [10] Q. Chen, G.A. Thouas, *Metallic implant biomaterials*, *Materials Science and Engineering R: Reports*. 87 (2015) 1–57. doi:10.1016/j.mser.2014.10.001.
- [11] M. Nałęcz, S. Błazewicz, L. Stoch, *Biomateriały*, Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT, Warszawa, 2003.
- [12] R.I.M. Asri, W.S.W. Harun, M. Samykano, N.A.C. Lah, S.A.C. Ghani, F. Tarlochan, M.R. Raza, Corrosion and surface modification on biocompatible metals: A review, *Materials Science and Engineering C*. 77 (2016) 1261–1274. doi:10.1016/j.msec.2017.04.102.
- [13] K.-Y. Hung, S.-C. Lo, C.-S. Shih, Y.-C. Yang, H.-P. Feng, Y.-C. Lin, Titanium surface modified by hydroxyapatite coating for dental implants, *Surface and Coatings Technology*. 231 (2013) 337–345. doi:10.1016/j.surfcoat.2012.03.037.
- [14] T. Narushima, *New-generation metallic biomaterials*, Woodhead Publishing Limited, Tohoku University, Japan, 2010. doi:10.1016/B978-1-84569-434-0.50018-8.
- [15] E. Czarnobilska, K. Obtulowicz, K. Wsołek, J. Pietowska, R. Spiewak, Mechanizmy alergii na nikiel, *Przegląd Lekarski*. 64 (2007) 502–505.
- [16] Endoproteza Austin - Moore, (2012). <http://www.auxein.com/product/austin-moore-hip-prosthesis-step-ball-regular-finish/> (accessed May 13, 2018).
- [17] M. Sankar, S. Suwas, S. Balasubramanian, G. Manivasagam, Comparison of electrochemical behavior of hydroxyapatite coated onto WE43 Mg alloy by electrophoretic and pulsed laser

- deposition, *SCT*. 309 (2017) 840–848. doi:10.1016/j.surfcoat.2016.10.077.
- [18] E.P. Ivanova, K. Bazaka, R.J. Crawford, *Metallic biomaterials: types and advanced applications, New Functional Biomaterials for Medicine and Healthcare*. (2014) 121–147. doi:10.1533/9781782422662.121.
- [19] M. Niinomi, M. Nakai, J. Hieda, *Development of new metallic alloys for biomedical applications, Acta Biomaterialia*. 8 (2012) 3888–3903. doi:10.1016/j.actbio.2012.06.037.
- [20] L. Leyssens, B. Vinck, C. Van Der Straeten, F. Wuyts, L. Maes, *Cobalt toxicity in humans—A review of the potential sources and systemic health effects, Toxicology*. 387 (2017) 43–56. doi:10.1016/j.tox.2017.05.015.
- [21] Z. Komorek, M. Kuchta, W.A. Techniczna, *Wpływ warunków wytwarzania na właściwości mechaniczne stopu stomatologicznego Co-Cr-Mo-C, Archives of Foundry*. 6 (2006) 279–282.
- [22] *Głowa endoprotezy stawu biodrowego*, (2018). <http://www.healthbase.com/resources/orthopedics/hip-resurfacing-surgery-implants/biomet-recap-femoral-resurfacing-head-hip-resurfacing-india-doctors-implant.html> (accessed May 13, 2018).
- [23] L. Zhang, J. Zhang, C. fu Chen, Y. Gu, *Advances in microarc oxidation coated AZ31 Mg alloys for biomedical applications, Corrosion Science*. 91 (2015) 7–28. doi:10.1016/j.corsci.2014.11.001.
- [24] H.S. Brar, M.O. Platt, M. Sarntinoranont, P.I. Martin, M. V. Manuel, *Magnesium as a biodegradable and bioabsorbable material for medical implants, Jom*. 61 (2009) 31–34. doi:10.1007/s11837-009-0129-0.
- [25] M.A. Surmeneva, R.A. Surmenev, *Microstructure characterization and corrosion behaviour of a nano- hydroxyapatite coating deposited on AZ31 magnesium alloy using radio frequency magnetron sputtering, Vacuum*. 117 (2015) 60–62. doi:10.1016/j.vacuum.2015.04.004.
- [26] R. Rojaee, M. Fathi, K. Raeissi, *Electrophoretic deposition of nanostructured hydroxyapatite coating on AZ91 magnesium alloy implants with different surface treatments, Applied Surface Science*. 285 (2013) 664–673. doi:10.1016/j.apsusc.2013.08.108.
- [27] *Śruba stabilizująca ze stopu magnezu MgCaZn*, (2012). https://www.researchgate.net/figure/Mg-Ca-Zn-alloy-bone-screws-following-immersion-in-Hanks-solution-Color-figure-can-be_fig1_232745725 (accessed May 15, 2018).
- [28] P. Kowalski, B. Łosiewicz, T. Goryczka, *Deposition of chitosan layers on NiTi shape memory alloy, Archives of Metallurgy and Materials*. 60 (2015) 171–176. doi:10.1515/amm-2015-0027.
- [29] V. Khalili, J. Khalil-Allafi, C. Sengstock, Y. Motemani, A. Paulsen, J. Frenzel, G. Eggeler, M. Koller, *Characterization of mechanical properties of hydroxyapatite-silicon-multi walled carbon nano tubes composite coatings synthesized by EPD on NiTi alloys for biomedical application, Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 59 (2016) 337–352. doi:10.1016/j.jmbbm.2016.02.007.
- [30] N.B. Morgan, *Medical shape memory alloy applications - The market and its products, Materials Science and Engineering A*. 378 (2004) 16–23. doi:10.1016/j.msea.2003.10.326.
- [31] *Stent naczyniowy ze stopu NiTi*, (2018). <http://www.bostonscientific.com/en-EU/products/stents->

vascular/innova-self-expanding-stent-system.html (accessed May 15, 2018).

- [32] M.Z. Ibrahim, A.A.D. Sarhan, F. Yusuf, M. Hamdi, Biomedical materials and techniques to improve the tribological, mechanical and biomedical properties of orthopedic implants – A review article, *Journal of Alloys and Compounds*. 714 (2017) 636–667.
doi:10.1016/j.jallcom.2017.04.231.
- [33] R. Strietzel, A. Hösch, H. Kalbfleisch, D. Buch, In vitro corrosion of titanium, *Biomaterials*. 19 (1998) 1495–1499. doi:10.1016/S0142-9612(98)00065-9.
- [34] Implant stomatologiczny ze stopu tytanu Ti-6Al-4V, (2018). https://www.marrodent.pl/wp-content/uploads/2015/05/katalogAB_2015_high_net_v06.pdf#page=5 (accessed May 16, 2018).
- [35] M. Abdel-Hady Gepreel, M. Niinomi, Biocompatibility of Ti-alloys for long-term implantation, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 20 (2013) 407–415.
doi:10.1016/j.jmbbm.2012.11.014.
- [36] C. Oldani, A. Dominguez, Titanium as a Biomaterial for Implants, *Recent Advances in Arthroplasty*. (2012) 149–162. doi:10.5772/1445.
- [37] G. Crisponi, V.M. Nurchi, V. Bertolasi, M. Remelli, G. Faa, Chelating agents for human diseases related to aluminium overload, *Coordination Chemistry Reviews*. 256 (2012) 89–104.
doi:10.1016/j.ccr.2011.06.013.
- [38] L. Kunčická, R. Kocich, T.C. Lowe, Advances in metals and alloys for joint replacement, *Progress in Materials Science*. 88 (2017) 232–280. doi:10.1016/j.pmatsci.2017.04.002.
- [39] A. Zielinski, S. Sobieszczyk, T. Seramak, W. Serbinski, B. Swieczko-Zurek, A. Ossowska, Biocompatibility and Bioactivity of Load-Bearing Metallic Implants, *Advances in Materials Sciences*. 10 (2011) 21–31. doi:10.2478/v10077-010-0013-1.
- [40] M. Szklarska, G. Dercz, W. Simka, B. Łosiewicz, A.c. impedance study on the interfacial properties of passivated Ti₁₃Zr₁₃Nb alloy in physiological saline solution, *Surface and Interface Analysis*. 46 (2014) 698–701. doi:10.1002/sia.5383.
- [41] D. Jugowiec, A. Łukaszczyk, Ł. Cieniek, M. Kot, K. Reczyńska, K. Cholewa-Kowalska, E. Pamuła, T. Moskalewicz, Electrophoretic deposition and characterization of composite chitosan-based coatings incorporating bioglass and sol-gel glass particles on the Ti-13Nb-13Zr alloy, *Surface and Coatings Technology*. 319 (2017) 33–46. doi:10.1016/j.surfcoat.2017.03.067.
- [42] A. Smółka, G. Dercz, K. Rodak, B. Łosiewicz, Evaluation of Corrosion Resistance of Nanotubular Oxide Layers on the Ti₁₃Zr₁₃Nb Alloy in Physiological Saline Solution / Ocena Odporności Korozyjnej Nanotubularnych Struktur Tlenkowych Na Stopie Ti₁₃Zr₁₃Nb W Środowisku Płynów Ustrojowych”, *Archives of Metallurgy and Materials*. 60 (2015) 8–13. doi:10.1515/amm-2015-0432.
- [43] Zima.A, Wpływ dodatków modyfikujących na właściwości hydroksyapatytowych wielofunkcyjnych tworzyw implantacyjnych przeznaczonych na nośniki leków, *Praca Doktorska*. (2007).
- [44] A.E. Medvedev, A. Molotnikov, R. Lapovok, R. Zeller, S. Berner, P. Habersetzer, F. Dalla Torre,

- Microstructure and mechanical properties of Ti-15Zr alloy used as dental implant material, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 62 (2016) 384–398.
doi:10.1016/j.jmbbm.2016.05.008.
- [45] R. Malviya, Extraction characterization and evaluation of selected mucilage as pharmaceutical excipient, *Polimery w Medycynie*. 41 (2011) 39–44. <http://www.polimery.am.wroc.pl/pdf/153.pdf>.
- [46] Wkład do panewki endoprotezy stawu biodrowego wykonany z polietylenu, (2018).
<http://www.impol.com.br/impol-detalle.asp?cda=635&ID=MULLER - COMPONENTE ACETABULAR EM POLIETILENO> (accessed May 16, 2018).
- [47] S. V. Dorozhkin, Calcium orthophosphate bioceramics, *Eurasian Chemico-Technological Journal*. 12 (2010) 247–258. doi:10.1016/j.ceramint.2015.08.004.
- [48] L.L. Hench, Bioceramics: From Concept to Clinic, *Journal of the American Ceramic Society*. 74 (1991) 1487–1510. doi:10.1111/j.1151-2916.1991.tb07132.x.
- [49] Glow i wkład do panewki wykonane z bioceramiki, (2018). <http://williamsima.com/hip-replacement-technology/> (accessed May 16, 2018).
- [50] L. Fathyunes, J. Khalil-Allafi, Characterization and corrosion behavior of graphene oxide-hydroxyapatite composite coating applied by ultrasound-assisted pulse electrodeposition, *Ceramics International*. 43 (2017) 13885–13894. doi:10.1016/j.ceramint.2017.07.113.
- [51] G.M. Neelgund, A.R. Oki, Influence of carbon nanotubes and graphene nanosheets on photothermal effect of hydroxyapatite, *Journal of Colloid and Interface Science*. 484 (2016) 135–145. doi:10.1016/j.jcis.2016.07.078.
- [52] S. Mohajernia, S. Pour-Ali, S. Hejazi, M. Saremi, A.R. Kiani-Rashid, Hydroxyapatite coating containing multi-walled carbon nanotubes on AZ31 magnesium: Mechanical-electrochemical degradation in a physiological environment, *Ceramics International*. 44 (2018) 8297–8305. doi:10.1016/j.ceramint.2018.02.015.
- [53] P. Strakowska, R. Beutner, M. Gnyba, A. Zielinski, D. Scharnweber, Electrochemically assisted deposition of hydroxyapatite on Ti6Al4V substrates covered by CVD diamond films - Coating characterization and first cell biological results, *Materials Science and Engineering C*. 59 (2016) 624–635. doi:10.1016/j.msec.2015.10.063.
- [54] J. Łaskawiec, R. Michalik, *Zagadnienia teoretyczne i aplikacyjne w implantach*, Wydawnictwo Politechniki Gdańskiej, Gliwice, 2002.
- [55] *Anatomia i fizjologia*, (2013). <https://cnx.org/contents/FPtK1znh@6.27:raNQgZ7E@3/Overview-of-Anatomy-and-Physio> (accessed May 17, 2018).
- [56] I. Całkosiński, M. Dobrzyński, M. Całkosińska, E. Seweryn, A. Bronowicka-szydelko, K. Dzierża, *Charakterystyka odczynu zapalnego*, (2009) 395–408.
- [57] S. Bose, S.F. Robertson, A. Bandyopadhyay, Surface Modification of Biomaterials and Biomedical Devices using Additive Manufacturing, *Acta Biomaterialia*. 66 (2017) 6–22. doi:10.1016/j.actbio.2017.11.003.
- [58] C.R. Arciola, D. Campoccia, P. Speziale, L. Montanaro, J.W. Costerton, Biofilm formation in

- Staphylococcus implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials, *Biomaterials*. 33 (2012) 5967–5982.
doi:10.1016/j.biomaterials.2012.05.031.
- [59] J.H. Lee, H. Wang, J.B. Kaplan, W.Y. Lee, Effects of *Staphylococcus epidermidis* on osteoblast cell adhesion and viability on a Ti alloy surface in a microfluidic co-culture environment, *Acta Biomaterialia*. 6 (2010) 4422–4429. doi:10.1016/j.actbio.2010.05.021.
- [60] S.W.P. Wijnhoven, W.J.G.M. Peijnenburg, C.A. Herberts, W.I. Hagens, A.G. Oomen, E.H.W. Heugens, B. Roszek, J. Bisschops, I. Gosens, D. Van De Meent, S. Dekkers, W.H. De Jong, M. van Zijverden, A.J.A.M. Sips, R.E. Geertsma, Nano-silver: a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment, *Nanotoxicology*. 3 (2009) 109–138. doi:10.1080/17435390902725914.
- [61] D. Monroe, Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms, *PLoS Biology*. 5 (2007) 2458–2461. doi:10.1371/journal.pbio.0050307.
- [62] Biofilm bakteryjny - *Staphylococcus epidermidis*, (2012).
<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2012/159797/fig3/> (accessed May 17, 2018).
- [63] Z. Radovanovic, B. Jokic, D. Veljović, S. Dimitrijević, V. Kojić, R. Petrović, D. Janačković, Applied Surface Science Antimicrobial activity and biocompatibility of Ag + - and Cu 2 + -doped biphasic hydroxyapatite / β -tricalcium phosphate obtained from hydrothermally synthesized Ag + - and Cu 2 + -doped hydroxyapatite β -tricalcium phosphate, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 307 (2014) 513–519.
- [64] Metaloza po endoprotezoplastyce stawu kolanowego, (2018).
<https://www.ceramtec.com/bioloX/knee-joint-components/> (accessed May 18, 2018).
- [65] Uszkodzony mechanicznie implant stawu biodrowowego, (2007).
http://www.priory.com/surgery/Femoral_Fracture.htm (accessed May 18, 2018).
- [66] K. Subramani, R.T. Mathew, Titanium Surface Modification Techniques for Dental Implants-From Microscale to Nanoscale, *Emerging Nanotechnologies in Dentistry*. (2012) 85–102.
doi:10.1016/B978-1-4557-7862-1.00006-7.
- [67] P. Pachauri, L.R. Bathala, R. Sangur, Techniques for dental implant nanosurface modifications., *The Journal of Advanced Prosthodontics*. 6 (2014) 498–504. doi:10.4047/jap.2014.6.6.498.
- [68] F. Rupp, L. Liang, J. Geis-Gerstorfer, L. Scheideler, F. Hüttig, Surface characteristics of dental implants: A review, *Dental Materials*. 34 (2017) 40–57. doi:10.1016/j.dental.2017.09.007.
- [69] M.E. Barbour, D.J. O’Sullivan, H.F. Jenkinson, D.C. Jagger, The effects of polishing methods on surface morphology, roughness and bacterial colonisation of titanium abutments., *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 18 (2007) 1439–1447. doi:10.1007/s10856-007-0141-2.
- [70] T. Hryniewicz, R. Rokicki, K. Rokosz, Corrosion and surface characterization of titanium biomaterial after magnetoelectropolishing, *Surface and Coatings Technology*. 203 (2009) 1508–1515. doi:10.1016/j.surfcoat.2008.11.028.
- [71] T. Hryniewicz, K. Rokosz, R. Rokicki, F. Prima, Nanoindentation studies of TNZ and Ti2448 biomaterials after magnetoelectropolishing, *Advances in Materials Science*. 13 (2013) 17–25.

doi:10.2478/adms.

- [72] A. Ossowska, R. Beutner, D. Scharnweber, A. Zielinski, Properties of composite oxide layers on the Ti13Nb13Zr alloy, *Surface Engineering*. 33 (2017) 841–848.
doi:10.1080/02670844.2017.1305657.
- [73] K.C. Popat, L. Leoni, C.A. Grimes, T.A. Desai, Influence of engineered titania nanotubular surfaces on bone cells, *Biomaterials*. 28 (2007) 3188–3197.
doi:10.1016/j.biomaterials.2007.03.020.
- [74] K. Rokosz, T. Hryniewicz, S. Raaen, W. Malorny, Fabrication and characterisation of porous coatings obtained by plasma electrolytic oxidation, *Journal of Mechanical and Energy Engineering*. 1 (2017) 23–30.
- [75] A. Tokarz, L. Jeziorski, Odporność korozyjna stopów tytanu stosowanych na biomateriały po azotowaniu jarzeniowym, (2006) 951–954.
- [76] T. Frączek, K. Maźniak, M. Ogórek, Ocena efektywności azotowania tytanu technicznego w różnych obszarach wyładowania jarzeniowego, (2014) 711–722.
- [77] M.R. Kaluderovic, J.P. Schreckenbach, H.L. Graf, Titanium dental implant surfaces obtained by anodic spark deposition-From the past to the future, *Materials Science and Engineering C*. 69 (2016) 1429–1441. doi:10.1016/j.msec.2016.07.068.
- [78] L. Clèries, E. Martínez, J.M. Fernández-Pradas, G. Sardin, J. Esteve, J.L. Morenza, Mechanical properties of calcium phosphate coatings deposited by laser ablation, *Biomaterials*. 21 (2000) 967–971. doi:10.1016/S0142-9612(99)00240-9.
- [79] J.M. Fernández-Pradas, L. Clèries, G. Sardin, J.L. Morenza, Characterization of calcium phosphate coatings deposited by Nd:YAG laser ablation at 355 nm: influence of thickness., *Biomaterials*. 23 (2002) 1989–1994.
- [80] R. Manoj Kumar, K.K. Kuntal, S. Singh, P. Gupta, B. Bhushan, P. Gopinath, D. Lahiri, Electrophoretic deposition of hydroxyapatite coating on Mg-3Zn alloy for orthopaedic application, *Surface and Coatings Technology*. 287 (2016) 82–92. doi:10.1016/j.surfcoat.2015.12.086.
- [81] G. Goller, F.N. Oktar, S. Agathopoulos, D.U. Tulyaganov, J.M.F. Ferreira, E.S. Kayali, I. Peker, Effect of sintering temperature on mechanical and microstructural properties of bovine hydroxyapatite (BHA), *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. 37 (2006) 111–115.
doi:10.1007/s10971-006-6428-9.
- [82] M. Bartmanski, B. Cieslik, J. Glodowska, P. Kalka, L. Pawlowski, M. Pieper, A. Zielinski, Electrophoretic deposition (EPD) of nanohydroxyapatite - nanosilver coatings on Ti13Zr13Nb alloy, *Ceramics International*. (2017). doi:10.1016/j.ceramint.2017.06.026.
- [83] J. Yu, H. Yang, K. Li, J. Lei, L. Zhou, C. Huang, A novel application of nanohydroxyapatite/mesoporous silica biocomposite on treating dentin hypersensitivity: An in vitro study, *Journal of Dentistry*. 50 (2016) 21–29. doi:10.1016/j.jdent.2016.04.005.
- [84] S.K. Gupta, R. Kumar, N.C. Mishra, Influence of quercetin and nanohydroxyapatite modifications of decellularized goat-lung scaffold for bone regeneration, *Materials Science and Engineering C*.

- 71 (2017) 919–928. doi:10.1016/j.msec.2016.10.085.
- [85] S. Gomes, C. Vichery, S. Descamps, H. Martinez, A. Kaur, A. Jacobs, J.-M. Nedelec, G. Renaudin, Cu-doping of calcium phosphate bioceramics: From mechanism to the control of cytotoxicity, *Acta Biomaterialia*. 65 (2018) 462–474. doi:10.1016/j.actbio.2017.10.028.
- [86] M. Turkoz, A. Onur, Z. Evis, Silver and fluoride doped hydroxyapatites : Investigation by microstructure , mechanical and antibacterial properties, *Ceramics International*. 39 (2013) 8925–8931. doi:10.1016/j.ceramint.2013.04.088.
- [87] E.P. Ivanova, K. Bazaka, R.J. Crawford, Advanced bioactive and biodegradable ceramic biomaterials, 2014. doi:10.1533/9781782422662.187.
- [88] A. Dubnika, D. Loca, V. Rudovica, M.B. Parekh, L. Berzina-Cimdina, Functionalized silver doped hydroxyapatite scaffolds for controlled simultaneous silver ion and drug delivery, *Ceramics International*. 43 (2017) 3698–3705. doi:10.1016/j.ceramint.2016.11.214.
- [89] E. Mohseni, E. Zalnezhad, A.R. Bushroa, Comparative investigation on the adhesion of hydroxyapatite coating on Ti-6Al-4V implant: A review paper, *International Journal of Adhesion and Adhesives*. 48 (2014) 238–257. doi:10.1016/j.ijadhadh.2013.09.030.
- [90] F. Augusto, C. Andrade, L. Cristina, D.O. Vercik, F. Jorge, E. Cristina, Preparation , characterization and antibacterial properties of silver nanoparticles – hydroxyapatite composites by a simple and eco-friendly method, *Ceramics International*. 42 (2016) 2271–2280. doi:10.1016/j.ceramint.2015.10.021.
- [91] M. Bartmanski, The Properties of Nanosilver – Doped Nanohydroxyapatite Coating On the Ti13Zr13Nb Alloy, *Advances in Materials Science*. 17 (2017). doi:10.1515/adms-2017-0008.
- [92] A. Puchalska, *Metody wytwarzania powłok hydroksyapatytowych na stopach tytanu*, 2014. (n.d.). <http://chps.fsid.cvut.cz/pt2010/pdf/PuchalskaAnna.pdf> (accessed May 18, 2018).
- [93] M. Nałęcz, *BIOMATERIAŁY - Biocybernetyka i inżynieria biomedyczna*, Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT, Warszawa, 2003.
- [94] L.H. He, O.C. Standard, T.T.Y. Huang, B.A. Latella, M. V. Swain, Mechanical behaviour of porous hydroxyapatite, *Acta Biomaterialia*. 4 (2008) 577–586. doi:10.1016/j.actbio.2007.11.002.
- [95] J. Dusza, M. Hnatko, S. Republic, MICROSTRUCTURE AND MECHANICAL PROPERTIES OF Si₃N₄ + SiC NANOCOMPOSITES, 3 (2005) 350–353. doi:10.3724/SPJ.1077.2014.13469.
- [96] T. Kokubo, H.M. Kim, M. Kawashita, Novel bioactive materials with different mechanical properties, *Biomaterials*. 24 (2003) 2161–2175. doi:10.1016/S0142-9612(03)00044-9.
- [97] H. Zhou, J. Lee, Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering, *Acta Biomaterialia*. 7 (2011) 2769–2781. doi:10.1016/j.actbio.2011.03.019.
- [98] R. Drevet, N. Ben Jaber, J. Fauré, A. Tara, A. Ben Cheikh Larbi, H. Benhayoune, Electrophoretic deposition (EPD) of nano-hydroxyapatite coatings with improved mechanical properties on prosthetic Ti6Al4V substrates, *Surface and Coatings Technology*. 301 (2015) 94–99. doi:10.1016/j.surfcoat.2015.12.058.
- [99] W.S.W. Harun, R.I.M. Asri, J. Alias, F.H. Zulkifli, K. Kadirgama, S.A.C. Ghani, J.H.M.

- Shariffuddin, A comprehensive review of hydroxyapatite-based coatings adhesion on metallic biomaterials, *Ceramics International*. 44 (2017) 1250–1268. doi:10.1016/j.ceramint.2017.10.162.
- [100] Y.C. Yang, Investigation of residual stress generation in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings with various spraying programs, *Surface and Coatings Technology*. 205 (2011) 5165–5171. doi:10.1016/j.surfcoat.2011.05.013.
- [101] I. Corni, M.P. Ryan, A.R. Boccaccini, Electrophoretic deposition: From traditional ceramics to nanotechnology, *Journal of the European Ceramic Society*. 28 (2008) 1353–1367. doi:10.1016/j.jeurceramsoc.2007.12.011.
- [102] F. Pishbin, L. Cordero_arias, S. Cabanas_Polo, A. Boccaccini, Bioactive polymerecalcium phosphate composite coatings by electrophoretic deposition, *Surface Coating and Modification of Metallic Biomaterials*. (2015) 359–377. doi:10.1007/978-3-319-20556-4.
- [103] A. Tahmasbi Rad, M. Solati-Hashjin, N.A.A. Osman, S. Faghihi, Improved bio-physical performance of hydroxyapatite coatings obtained by electrophoretic deposition at dynamic voltage, *Ceramics International*. 40 (2014) 12681–12691. doi:10.1016/j.ceramint.2014.04.116.
- [104] A.R. Boccaccini, I. Zhitomirsky, Application of electrophoretic and electrolytic deposition techniques in ceramics processing - Part 2, *InterCeram: International Ceramic Review*. 54 (2005) 242–246. doi:10.1016/S1359-0286(02)00080-3.
- [105] M. Farrokhi-Rad, Effect of morphology on the electrophoretic deposition of hydroxyapatite nanoparticles, *Journal of Alloys and Compounds*. 741 (2018) 211–222. doi:10.1016/j.jallcom.2018.01.101.
- [106] M. Farrokhi-Rad, T. Shahrabi, Effect of suspension medium on the electrophoretic deposition of hydroxyapatite nanoparticles and properties of obtained coatings, *Ceramics International*. 40 (2014) 3031–3039. doi:10.1016/j.ceramint.2013.10.004.
- [107] Trzpień endoprotezy stawu biodrowego pokryty powłoką HAp, (2018). <http://www.leaderbiomedical.com/product/mueller-straight-stem/> (accessed May 22, 2018).
- [108] M.F. Mohd Yusoff, M.R. Abdul Kadir, N. Iqbal, M.A. Hassan, R. Hussain, Dipcoating of poly (ϵ -caprolactone)/hydroxyapatite composite coating on Ti6Al4V for enhanced corrosion protection, *Surface and Coatings Technology*. 245 (2014) 102–107. doi:10.1016/j.surfcoat.2014.02.048.
- [109] X. Pei, J. Wang, Q. Wan, L. Kang, M. Xiao, H. Bao, Functionally graded carbon nanotubes/hydroxyapatite composite coating by laser cladding, *Surface and Coatings Technology*. 205 (2011) 4380–4387. doi:10.1016/j.surfcoat.2011.03.036.
- [110] X. Zhao, H. Li, Z. Xu, K. Li, S. Cao, G. Jiang, Selective preparation and characterization of nano-hydroxyapatite/collagen coatings with three-dimensional network structure, *Surface and Coatings Technology*. 322 (2017) 227–237. doi:10.1016/j.surfcoat.2017.05.042.
- [111] F. Sun, X. Pang, I. Zhitomirsky, Electrophoretic deposition of composite hydroxyapatite-chitosan-heparin coatings, *Journal of Materials Processing Technology*. 209 (2009) 1597–1606. doi:10.1016/j.jmatprotec.2008.04.007.
- [112] A. Janković, S. Eraković, M. Mitrić, I.Z. Matić, Z.D. Juranić, G.C.P. Tsui, C.Y. Tang, V. Mišković-

- Stanković, K.Y. Rhee, S.J. Park, Bioactive hydroxyapatite/graphene composite coating and its corrosion stability in simulated body fluid, *Journal of Alloys and Compounds*. 624 (2015) 148–157. doi:10.1016/j.jallcom.2014.11.078.
- [113] X. Pang, I. Zhitomirsky, Electrophoretic deposition of composite hydroxyapatite-chitosan coatings, *Materials Characterization*. 58 (2007) 339–348. doi:10.1016/j.matchar.2006.05.011.
- [114] V. Khalili, J. Khalil-Allafi, J. Frenzel, G. Eggeler, Bioactivity and electrochemical behavior of hydroxyapatite-silicon-multi walled carbon nano-tubes composite coatings synthesized by EPD on NiTi alloys in simulated body fluid, *Materials Science and Engineering C*. 71 (2017) 473–482. doi:10.1016/j.msec.2016.10.036.
- [115] W. Fan, H. Du, Y. An, C. Guo, Y. Wei, L. Hou, Fabrication and characterization of a hydroxyapatite-methylcellulose composite coating on the surface of AZ31 magnesium alloy, *Materials Letters*. 152 (2015) 32–35. doi:10.1016/j.matlet.2015.03.068.
- [116] D. Ionita, D. Bajenaru-Georgescu, G. Totea, A. Mazare, P. Schmuki, I. Demetrescu, Activity of vancomycin release from bioinspired coatings of hydroxyapatite or TiO₂nanotubes, *International Journal of Pharmaceutics*. 517 (2017) 296–302. doi:10.1016/j.ijpharm.2016.11.062.
- [117] Z. Zhong, J. Qin, J. Ma, Electrophoretic deposition of biomimetic zinc substituted hydroxyapatite coatings with chitosan and carbon nanotubes on titanium, *Ceramics International*. 41 (2015) 8878–8884. doi:10.1016/j.ceramint.2015.03.145.
- [118] Y. Chen, X. Zheng, Y. Xie, H. Ji, C. Ding, H. Li, K. Dai, Silver release from silver-containing hydroxyapatite coatings, *Surface and Coatings Technology*. 205 (2010) 1892–1896. doi:10.1016/j.surfcoat.2010.08.073.
- [119] K.R. Mohamed, Z.M. El-rashidy, A.A. Salama, In vitro properties of nano-hydroxyapatite / chitosan biocomposites, 37 (2011) 3265–3271. doi:10.1016/j.ceramint.2011.05.121.
- [120] A. Pandey, S. Midha, R.K. Sharma, R. Maurya, V.K. Nigam, S. Ghosh, K. Balani, Antioxidant and antibacterial hydroxyapatite-based biocomposite for orthopedic applications, *Materials Science and Engineering C*. 88 (2018) 13–24. doi:10.1016/j.msec.2018.02.014.
- [121] M. Riaz, R. Zia, A. Ijaz, T. Hussain, M. Mohsin, A. Malik, Synthesis of monophasic Ag doped hydroxyapatite and evaluation of antibacterial activity, *Materials Science and Engineering C*. 90 (2018) 308–313. doi:10.1016/j.msec.2018.04.076.
- [122] N. Rameshbabu, T.S.S. Kumar, T.G. Prabhakar, V.S. Sastry, K.V.G.K. Murty, K. Prasad Rao, Antibacterial nanosized silver substituted hydroxyapatite: Synthesis and characterization, *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*. 80 (2007) 581–591. doi:10.1002/jbm.a.30958.
- [123] M.A. Surmeneva, A.A. Sharonova, S. Chernousova, O. Prymak, K. Loza, M.S. Tkachev, I.A. Shulepov, M. Epple, R.A. Surmenev, Incorporation of silver nanoparticles into magnetron-sputtered calcium phosphate layers on titanium as an antibacterial coating, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 156 (2017) 104–113. doi:10.1016/j.colsurfb.2017.05.016.
- [124] Y. Huang, M. Hao, X. Nian, H. Qiao, X. Zhang, X. Zhang, G. Song, J. Guo, X. Pang, H. Zhang, Strontium and copper co-substituted hydroxyapatite-based coatings with improved antibacterial

- activity and cytocompatibility fabricated by electrodeposition, *Ceramics International*. 42 (2016) 11876–11888. doi:10.1016/j.ceramint.2016.04.110.
- [125] Y. Yan, X. Zhang, Y. Huang, Q. Ding, X. Pang, Antibacterial and bioactivity of silver substituted hydroxyapatite/TiO₂ nanotube composite coatings on titanium, *Applied Surface Science*. 314 (2014) 348–357. doi:10.1016/j.apsusc.2014.07.027.
- [126] M. Hadidi, A. Bigham, E. Saebnoori, S.A. Hassanzadeh-Tabrizi, S. Rahmati, Z.M. Alizadeh, V. Nasirian, M. Rafienia, Electrophoretic-deposited hydroxyapatite-copper nanocomposite as an antibacterial coating for biomedical applications, *Surface and Coatings Technology*. 321 (2017) 171–179. doi:10.1016/j.surfcoat.2017.04.055.
- [127] B.M. Hidalgo-Robatto, M. López-Álvarez, A.S. Azevedo, J. Dorado, J. Serra, N.F. Azevedo, P. González, Pulsed laser deposition of copper and zinc doped hydroxyapatite coatings for biomedical applications, *Surface and Coatings Technology*. 333 (2018) 168–177. doi:10.1016/j.surfcoat.2017.11.006.
- [128] P. Szymczyk, A. Junka, G. Ziółkowski, D. Smutnicka, M. Bartoszewicz, E. Chlebus, The ability of *S.aureus* to form biofilm on the Ti-6Al-7Nb scaffolds produced by Selective Laser Melting and subjected to the different types of surface modifications, *Acta of Bioengineering and Biomechanics*. 15 (2013) 69–76. doi:10.5277/abb130109.
- [129] J. Rzeszutek, M. Matysiak, M. Czajka, K. Sawicki, P. Rachubik, M. Kruszewski, L. Kapka-Skrzypczak, Zastosowanie nanocząstek i nanomateriałów w medycynie, *Hygeia Public Health*. 49 (2014) 449–457.
- [130] D. Malina, A. Sobczyk-Kupiec, Z. Kowalski, Nanocząstki srebra - przegląd chemicznych metod syntezy, *Czasopismo Techniczne. Chemia*. 107 (2010) 183–192.
- [131] G. Ren, D. Hu, E.W.C. Cheng, M.A. Vargas-Reus, P. Reip, R.P. Allaker, Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications, *International Journal of Antimicrobial Agents*. 33 (2009) 587–590. doi:10.1016/j.ijantimicag.2008.12.004.
- [132] Właściwości srebra, (2018). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/23954#section=Uses> (accessed May 22, 2018).
- [133] A. Mielczarek, Wybrane przykłady wykorzystania nano - cząsteczek srebra w procedurach medycznych, (2012) 117–121.
- [134] R. Żelazowska, K. Pasternak, METALE SZLACHETNE: SREBRO (Ag), ZŁOTO (Au), PLATYNA (Pt) W BIOLOGII I MEDYCYNIE, *Bromat. Chem. Toksykol.* 2 (2007) 205–209.
- [135] K. Technologii, C. Ug, L. Otrzymywanie, Otrzymywanie Nanocząstek Złota , Srebra I Miedzi Metodą Redukcji Chemicznej, (2015) 1–9.
- [136] T. Khampieng, S. Wongkittithavorn, S. Chairwut, P. Ekabutr, P. Pavasant, P. Supaphol, Silver nanoparticles-based hydrogel: Characterization of material parameters for pressure ulcer dressing applications, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 44 (2018) 91–100. doi:10.1016/j.jddst.2017.12.005.
- [137] V. Pacheco-Fowler, T. Gaonkar, P.C. Wyer, S. Modak, Antiseptic impregnated endotracheal tubes

- for the prevention of bacterial colonization, *Journal of Hospital Infection*. 57 (2004) 170–174.
doi:10.1016/j.jhin.2004.03.011.
- [138] M. Mirzaee, M. Vaezi, Y. Palizdar, Synthesis and characterization of silver doped hydroxyapatite nanocomposite coatings and evaluation of their antibacterial and corrosion resistance properties in simulated body fluid, *Materials Science and Engineering C*. 69 (2016) 675–684.
doi:10.1016/j.msec.2016.07.057.
- [139] M. Yamanaka, K. Hara, J. Kudo, Bactericidal Actions of a Silver Ion Solution on *Escherichia coli* , Studied by Energy-Filtering Transmission Electron Microscopy and Proteomic Analysis
Bactericidal Actions of a Silver Ion Solution on *Escherichia coli* , Studied by Energy-Filtering Transmi, *Applied and Environment Microbiology*. 71 (2005) 7589–7593.
doi:10.1128/AEM.71.11.7589.
- [140] T.R. Rautray, R. Narayanan, K.H. Kim, Ion implantation of titanium based biomaterials, *Progress in Materials Science*. 56 (2011) 1137–1177. doi:10.1016/j.pmatsci.2011.03.002.
- [141] N. Jayaprakash, J. Judith Vijaya, L. John Kennedy, K. Priadharsini, P. Palani, R. Louis, J. Muthumary, B. Silver, P. Bright, R. Dichlorotriazine, Antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized from serine, *Materials Science and Engineering: C*. 49 (2014) 316–322.
doi:10.1016/j.msec.2015.01.012.
- [142] J. Suwanprateeb, F. Thammarakcharoen, K. Wasoontarat, W. Chokevivat, P. Phanphiriya, Preparation and characterization of nanosized silver phosphate loaded hydroxyapatite by single step co-conversion process, *Materials Science and Engineering C*. 32 (2012) 2122–2128.
doi:10.1016/j.msec.2012.05.051.
- [143] S.A.H. Jalali, A.R. Allafchian, Assessment of antibacterial properties of novel silver nanocomposite, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 59 (2016) 506–513.
doi:10.1016/j.jtice.2015.08.004.
- [144] J. Baj, Z. Markiewicz, *Biologia molekularna bakterii*, Wydawnictwa Naukowe PWN S.A., Warszawa, 2015.
- [145] K. Zhou, C. Dong, X. Zhang, L. Shi, Z. Chen, Y. Xu, H. Cai, Preparation and characterization of nanosilver-doped porous hydroxyapatite scaffolds, *Ceramics International*. 41 (2015) 1671–1676.
doi:10.1016/j.ceramint.2014.09.108.
- [146] S. Saravanan, S. Nethala, S. Pattnaik, A. Tripathi, A. Moorthi, N. Selvamurugan, Preparation, characterization and antimicrobial activity of a bio-composite scaffold containing chitosan/nano-hydroxyapatite/nano-silver for bone tissue engineering, *International Journal of Biological Macromolecules*. 49 (2011) 188–193. doi:10.1016/j.ijbiomac.2011.04.010.
- [147] R. Socrates, N. Sakthivel, A. Rajaram, U. Ramamoorthy, S.N. Kalkura, Novel fibrillar collagen-hydroxyapatite matrices loaded with silver nanoparticles for orthopedic application, *Materials Letters*. 161 (2015) 759–762. doi:10.1016/j.matlet.2015.09.089.
- [148] V.O. Carmona, C. Martínez Pérez, R. De Lima, L.F. Fraceto, J. Romero García, A. Ledezma Pérez, S. Marke, C. Rodríguez González, A.H. Macías, A. Martínez-Villafañe, Effect of Silver

- Nanoparticles in a Hydroxyapatite Coating applied by Atmospheric Plasma Spray, *Int. J. Electrochem. Sci. Int. J. Electrochem. Sci.* 9 (2014) 7471–7494. www.electrochemsci.org.
- [149] V. Lazić, I. Smičiklas, J. Marković, D. Lončarević, J. Dostanić, S.P. Ahrenkiel, J.M. Nedeljković, Antibacterial ability of supported silver nanoparticles by functionalized hydroxyapatite with 5-aminosalicylic acid, *Vacuum*. 148 (2018) 62–68. doi:10.1016/j.vacuum.2017.10.039.
- [150] G. Ciobanu, S. Ilisei, C. Luca, Hydroxyapatite-silver nanoparticles coatings on porous polyurethane scaffold, *Materials Science and Engineering C*. 35 (2014) 36–42. doi:10.1016/j.msec.2013.10.024.
- [151] M. Jelinek, T. Kocourek, J. Remsa, M. Weiserová, K. Jurek, J. Mik, J. Strnad, Antibacterial, cytotoxicity and physical properties of laser — Silver doped hydroxyapatite layers, 33 (2013) 1242–1246. doi:10.1016/j.msec.2012.12.018.
- [152] X. Liu, Y. Mou, S. Wu, H.C. Man, Synthesis of silver-incorporated hydroxyapatite nanocomposites for antimicrobial implant coatings, *Applied Surface Science*. 273 (2013) 748–757. doi:10.1016/j.apsusc.2013.02.130.
- [153] A. Bharti, S. Singh, V.K. Meena, N. Goyal, Structural Characterization of Silver-Hydroxyapatite Nanocomposite: A Bone Repair Biomaterial, *Materials Today: Proceedings*. 3 (2016) 2113–2120. doi:10.1016/j.matpr.2016.04.116.
- [154] V. Stanić, D. Janačković, S. Dimitrijević, S.B. Tanasković, M. Mitrić, M.S. Pavlović, A. Krstić, D. Jovanović, S. Raičević, Synthesis of antimicrobial monophasic silver-doped hydroxyapatite nanopowders for bone tissue engineering, *Applied Surface Science*. 257 (2011) 4510–4518. doi:10.1016/j.apsusc.2010.12.113.
- [155] L. Wei, J. Lu, H. Xu, A. Patel, Z.S. Chen, G. Chen, Silver nanoparticles: Synthesis, properties, and therapeutic applications, *Drug Discovery Today*. 20 (2015) 595–601. doi:10.1016/j.drudis.2014.11.014.
- [156] J.P. Sterling, Silver-resistance, allergy, and blue skin: Truth or urban legend?, *Burns*. 40 (2014) S19–S23. doi:10.1016/j.burns.2014.10.007.
- [157] Srebrzyca - minimalna dawka, (2018). https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=99 (accessed May 24, 2018).
- [158] Srebrzyca dłoni, (2018). http://www.cracked.com/article_22250_6-bizarre-medical-conditions-that-shouldnt-be-possible.html (accessed May 24, 2018).
- [159] M. Cieczińska, Wielofunkcyjna bioaktywna szkło-ceramika, *Materiały Ceramiczne*. 2 (2006) 64–67.
- [160] Miedź, (2018). <https://encyklopedia.pwn.pl/haslo/miedz;3940671.html> (accessed May 24, 2018).
- [161] Y.A. Krutyakov, A.A. Kudrinskiy, A.Y. Olenin, G. V Lisichkin, Synthesis and properties of silver nanoparticles: advances and prospects, *Russian Chemical Reviews*. 77 (2008) 233–257. doi:10.1070/RC2008v077n03ABEH003751.
- [162] S. Lugovskoy, D. Weiss, U. Tsadok, A. Lugovskoy, Surface & Coatings Technology Morphology and antimicrobial properties of hydroxyapatite – titanium oxide layers on the surface of Ti – 6Al –

- 4V alloy, *Surface & Coatings Technology*. 301 (2015) 0–4. doi:10.1016/j.surfcoat.2015.11.050.
- [163] D.R.K. Weerasuriya, W.P.S.L. Wijesinghe, R.M.G. Rajapakse, Encapsulation of anticancer drug copper bis(8-hydroxyquinoline) in hydroxyapatite for pH-sensitive targeted delivery and slow release, *Materials Science and Engineering C*. 71 (2017) 206–213. doi:10.1016/j.msec.2016.10.010.
- [164] A. Kierzkowska, Właściwości i zastosowanie miedzi przeciwdrobnoustrojowej w zapobieganiu zakażeniom szpitalnym w placówkach medycznych, *Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia*. 70 (2018) 83–90.
- [165] J. Pulit, M. Banach, Z. Kowalski, Właściwości nanocząstek miedzi, platyny, srebra, złota i palladu, *Czasopismo Techniczne, Chemia*. 2 (2011) 202–203.
- [166] S.M. Hinsia-Leasure, Q. Nartey, J. Vaverka, M.G. Schmidt, Copper alloy surfaces sustain terminal cleaning levels in a rural hospital, *American Journal of Infection Control*. 44 (2016) e195–e203. doi:10.1016/j.ajic.2016.06.033.
- [167] M. Vincent, P. Hartemann, M. Engels-Deutsch, Antimicrobial applications of copper, *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 219 (2016) 585–591. doi:10.1016/j.ijheh.2016.06.003.
- [168] V. Stanić, S. Dimitrijević, J. Antić-Stanković, M. Mitrić, B. Jokić, I.B. Plećaš, S. Raičević, Synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper and zinc-doped hydroxyapatite nanopowders, *Applied Surface Science*. 256 (2010) 6083–6089. doi:10.1016/j.apsusc.2010.03.124.
- [169] S. Ferraris, S. Spriano, Antibacterial titanium surfaces for medical implants, *Materials Science and Engineering C*. 61 (2016) 965–978. doi:10.1016/j.msec.2015.12.062.
- [170] Miedź -zagrożenia, (2018). https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=368 (accessed May 24, 2018).
- [171] Y. Savelyev, A. Gonchar, B. Movchan, A. Gornostay, S. Vozianov, A. Rudenko, R. Rozhnova, T. Travinskaya, Antibacterial polyurethane materials with silver and copper nanoparticles, *Materials Today: Proceedings*. 4 (2017) 87–94. doi:10.1016/j.matpr.2017.01.196.
- [172] S. Shanmugam, B. Gopal, Copper substituted hydroxyapatite and fluorapatite : Synthesis , characterization and antimicrobial properties, *Ceramics International*. 40 (2014) 15655–15662. doi:10.1016/j.ceramint.2014.07.086.
- [173] M. Othmani, A. Aissa, H. Bachoua, M. Debbabi, Surface modification of calcium-copper hydroxyapatites using polyaspartic acid, *Applied Surface Science*. 264 (2013) 886–891. doi:10.1016/j.apsusc.2012.10.182.
- [174] Y. Huang, M. Hao, X. Nian, H. Qiao, X. Zhang, X. Zhang, G. Song, J. Guo, X. Pang, H. Zhang, Strontium and copper co-substituted hydroxyapatite-based coatings with improved antibacterial activity and cytocompatibility fabricated by electrodeposition, *Ceramics International*. 42 (2016) 11876–11888. doi:10.1016/j.ceramint.2016.04.110.
- [175] S. Banerjee, B. Bagchi, S. Bhandary, A. Kool, N.A. Hoque, P. Thakur, S. Das, A facile vacuum

assisted synthesis of nanoparticle impregnated hydroxyapatite composites having excellent antimicrobial properties and biocompatibility, *Ceramics International*. 44 (2017) 1066–1077. doi:10.1016/j.ceramint.2017.10.051.

- [176] L. Mohan, D. Durgalakshmi, M. Geetha, T.S.N. Sankara Narayanan, R. Asokamani, Electrophoretic deposition of nanocomposite (HAp + TiO₂) on titanium alloy for biomedical applications, *Ceramics International*. 38 (2012) 3435–3443. doi:10.1016/j.ceramint.2011.12.056.
- [177] J. Loch, H. Krawiec, Corrosion behaviour of cobalt alloys in artificial saliva solution, *Archives of Foundry Engineering*. 13 (2013) 101–106.
- [178] Monika Zimmermann, *Karta Kontroli Jakości Bulionu Tryptozowo - Sojowego (TBS)*, Starogard Gdański, 2018.
- [179] G. Singh, S. Singh, S. Prakash, Surface characterization of plasma sprayed pure and reinforced hydroxyapatite coating on Ti6Al4V alloy, *Surface and Coatings Technology*. 205 (2011) 4814–4820. doi:10.1016/j.surfcoat.2011.04.064.
- [180] R. Boccaccini, S. Keim, R. Ma, Y. Li, I. Zhitomirsky, Electrophoretic deposition of biomaterials., *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society*. 7 (2010) 581–613. doi:10.1098/rsif.2010.0156.focus.
- [181] A.A. Abdeltawab, M.A. Shoeib, S.G. Mohamed, Electrophoretic deposition of hydroxyapatite coatings on titanium from dimethylformamide suspensions, *Surface and Coatings Technology*. 206 (2011) 43–50. doi:10.1016/j.surfcoat.2011.06.034.
- [182] B. Feng, J. Weng, B.C. Yang, S.X. Qu, X.D. Zhang, Characterization of surface oxide films on titanium and adhesion of osteoblast, *Biomaterials*. 24 (2003) 4663–4670. doi:10.1016/S0142-9612(03)00366-1.
- [183] K.A. Gross, M. Babovic, Influence of abrasion on the surface characteristics of thermally sprayed hydroxyapatite coatings, *Biomaterials*. 23 (2002) 4731–4737. doi:10.1016/S0142-9612(02)00222-3.
- [184] B.D. Boyan, T.W. Hummert, D.D. Dean, Z. Schwartz, Role of material surfaces in regulating bone and cartilage cell response, *Biomaterials*. 17 (1996) 137–146. doi:10.1016/0142-9612(96)85758-9.
- [185] Y. Wu, J.P. Zitelli, K.S. TenHuisen, X. Yu, M.R. Libera, Differential response of Staphylococci and osteoblasts to varying titanium surface roughness, *Biomaterials*. 32 (2011) 951–960. doi:10.1016/j.biomaterials.2010.10.001.
- [186] K. Dudek, T. Goryczka, Electrophoretic deposition and characterization of thin hydroxyapatite coatings formed on the surface of NiTi shape memory alloy, *Ceramics International*. 42 (2016) 19124–19132. doi:10.1016/j.ceramint.2016.09.074.
- [187] X. Pang, I. Zhitomirsky, Electrodeposition of hydroxyapatite-silver-chitosan nanocomposite coatings, *Surface and Coatings Technology*. 202 (2008) 3815–3821. doi:10.1016/j.surfcoat.2008.01.022.
- [188] X. Lu, B. Zhang, Y. Wang, X. Zhou, J. Weng, S. Qu, B. Feng, F. Watari, Y. Ding, Y. Leng, Nano-Ag-loaded hydroxyapatite coatings on titanium surfaces by electrochemical deposition., *Journal of*

- the Royal Society, *Interface / the Royal Society*. 8 (2011) 529–539. doi:10.1098/rsif.2010.0366.
- [189] S. Limin, B.C. C., G.K. A., K. Ahmet, Material fundamentals and clinical performance of plasma- sprayed hydroxyapatite coatings: A review, *Journal of Biomedical Materials Research*. 58 (2002) 570–592. doi:10.1002/jbm.1056.
- [190] M. Farrokhi-Rad, Electrophoretic deposition of fiber hydroxyapatite/titania nanocomposite coatings, *Ceramics International*. 44 (2018) 622–630. doi:10.1016/j.ceramint.2017.09.221.
- [191] Y. Huang, X. Zhang, R. Zhao, H. Mao, Y. Yan, X. Pang, Antibacterial efficacy, corrosion resistance, and cytotoxicity studies of copper-substituted carbonated hydroxyapatite coating on titanium substrate, *Journal of Materials Science*. 50 (2015) 1688–1700. doi:10.1007/s10853-014-8730-1.
- [192] H. Le Guyader, A. Grolleau, V. Debout, Corrosion behaviour of copper alloys in natural sea water and polluted sea water, *Telecom.Copper.Org.* (n.d.) 1–22.
http://telecom.copper.org/applications/cuni/pdf/debout_1264.pdf.
- [193] M. Wei, A.J. Ruys, B.K. Milthorpe, C.C. Sorrell, Precipitation of hydroxyapatite nanoparticles: effects of precipitation method on electrophoretic deposition., *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*. 16 (2005) 319–324. doi:10.1007/s10856-005-0630-0.
- [194] D. Sidane, D. Chicot, S. Yala, S. Ziani, H. Khireddine, A. Iost, X. Decoopman, Study of the mechanical behavior and corrosion resistance of hydroxyapatite sol-gel thin coatings on 316 L stainless steel pre-coated with titania film, *Thin Solid Films*. 593 (2015) 71–80.
doi:10.1016/j.tsf.2015.09.037.
- [195] L. Cléries, J.. Fernández-Pradas, J.. Morenza, Behavior in simulated body fluid of calcium phosphate coatings obtained by laser ablation, *Biomaterials*. 21 (2000) 1861–1865.
doi:10.1016/S0142-9612(00)00060-0.
- [196] Y. Su, C. Luo, Z. Zhang, H. Hermawan, D. Zhu, J. Huang, Y. Liang, G. Li, L. Ren, Bioinspired surface functionalization of metallic biomaterials, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 77 (2018) 90–105. doi:10.1016/j.jmbbm.2017.08.035.
- [197] Z. Geng, R. Wang, X. Zhuo, Z. Li, Y. Huang, L. Ma, Z. Cui, S. Zhu, Y. Liang, Y. Liu, H. Bao, X. Li, Q. Huo, Z. Liu, X. Yang, Incorporation of silver and strontium in hydroxyapatite coating on titanium surface for enhanced antibacterial and biological properties, *Materials Science and Engineering: C*. 71 (2016) 852–861. doi:10.1016/j.msec.2016.10.079.

Spis rysunków i fotografii

| | |
|---|----|
| Rysunek 1. Endoproteza stawu biodrowego Austin–Moore | 13 |
| Rysunek 2. Implant stawu biodrowego ze stali austenitycznej z widocznymi uszkodzeniami korozyjnymi | 14 |
| Rysunek 3. Głowa endoprotezy stawu biodrowego wykonana ze stopu CoCr | 15 |
| Rysunek 4. Śruba stabilizująca wykonana ze stopu magnezu MgCaZn po różnym czasie przebywania w SBF | 16 |
| Rysunek 5. Stent naczyniowy wykonany ze stopu z pamięcią kształtu Ni–Ti..... | 16 |
| Rysunek 6. Implanty stomatologiczne wykonane ze stopu tytanu Ti–6Al–4V..... | 18 |
| Rysunek 7. Wkład do panewki endoprotezy stawu biodrowego z polietylenu | 20 |
| Rysunek 8. Głowy i wkład do panewki wykonane z bioceramiki..... | 21 |
| Rysunek 9. Etapy powstawania biofilmu: adhezja odwracalna (1), adhezja nieodwracalna (2), dorastanie (3 i 4), dalsza migracja (5) | 24 |
| Rysunek 10. Zdjęcie SEM biofilmu bakteryjnego na bioszkle | 25 |
| Rysunek 11. Zjawisko metalozy po implantacji stawu kolanowego..... | 26 |
| Rysunek 12. Uszkodzony mechanicznie implant stawu biodrowego..... | 27 |
| Rysunek 13. Topografia (zdjęcie lewe) i przekrój (prawe) powłoki HAp | 33 |
| Rysunek 14. Schemat elektroforetycznego osadzania w układzie 2–elektrodowym | 33 |
| Rysunek 15. Powłoki nanoHAp uzyskane metodą EPD z wykorzystaniem różnych elektrolitów, izopropanolu (po lewej) i butanolu (po prawej) | 35 |
| Rysunek 16. Trzpień endoprotezy stawu biodrowego ze stopu tytanu Ti–6Al–4V pokryty powłoką HAp..... | 36 |
| Rysunek 17. Powłoka hydroksyapatytowa z nanosrebrem | 41 |
| Rysunek 18. Skóra dłoni u osoby zdrowej i chorej na srebrzycę | 42 |
| Rysunek 19. Schemat reakcji miedź–bakteria..... | 43 |
| Rysunek 20. Powłoka nanohydroksyapatytowa z nanomiedzią..... | 44 |
| Rysunek 21. Program badań własnych..... | 48 |
| Rysunek 22. Próbką referencyjna Ti–13Zr–13Nb (zdjęcie lewe) oraz powłoka nanohydroksyapatytowa, grupa K (zdjęcie prawe)..... | 55 |
| Rysunek 23. Powłoki nanohydroksyapatytowe z nanosrebrem (od lewej: grupa KAg30, KAg'30, KAg80, KAg'80)..... | 55 |
| Rysunek 24. Powłoki nanohydroksyapatytowe z nanomiedzią (od lewej: grupa KCu40, KCu'40, KCu80, KCu'80)..... | 55 |
| Rysunek 25. Powłoki nanohydroksyapatytowe z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-01 (zdjęcie lewe) oraz KAg30Cu80-005 (zdjęcie prawe)..... | 56 |
| Rysunek 26. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa A (zdjęcie lewe), B (środek), C (zdjęcie prawe)..... | 57 |
| Rysunek 27. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa D (zdjęcie lewe), E (środek), F (zdjęcie prawe) | 57 |
| Rysunek 28. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa G (zdjęcie lewe), H (środek), I (zdjęcie prawe) | 57 |
| Rysunek 29. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa J (zdjęcie lewe), K (środek), L (zdjęcie prawe) | 57 |
| Rysunek 30. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa M (zdjęcie lewe), N (środek), O (zdjęcie prawe) | 58 |
| Rysunek 31. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem: grupa KAg30 (zdjęcie lewe), KAg'30 (zdjęcie prawe) | 58 |

| | |
|---|----|
| Rysunek 32. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią: grupa KCu40 (zdjęcie lewe), KCu'40 (zdjęcie prawe)..... | 59 |
| Rysunek 33. Topografia powierzchni SEM powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią: grupa KCu80 (zdjęcie lewe), KCu'80 (zdjęcie prawe)..... | 59 |
| Rysunek 34. Topografia powierzchni SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005, z różną wartością napięcia przyspieszającego: 5kV (zdjęcie lewe), 15 kV (zdjęcie prawe) | 60 |
| Rysunek 35. Topografia powierzchni AFM próbki referencyjnej | 61 |
| Rysunek 36. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa A (zdjęcie lewe), B (środek), C (zdjęcie prawe)..... | 61 |
| Rysunek 37. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa D (zdjęcie lewe), E (środek), F (zdjęcie prawe) | 61 |
| Rysunek 38. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa G (zdjęcie lewe), H (środek), I (zdjęcie prawe) | 61 |
| Rysunek 39. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa J (zdjęcie lewe), K (środek), L (zdjęcie prawe)..... | 62 |
| Rysunek 40. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa M (zdjęcie lewe), N (środek), O (zdjęcie prawe)..... | 62 |
| Rysunek 41. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem: grupa KAg30 (zdjęcie lewe), KAg'30 (zdjęcie prawe) | 63 |
| Rysunek 42. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem: grupa KCu40 (zdjęcie lewe), KCu'40 (zdjęcie prawe)..... | 63 |
| Rysunek 43. Topografie powierzchni AFM powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem: grupa KCu80 (zdjęcie lewe), KCu'80 (zdjęcie prawe)..... | 63 |
| Rysunek 44. Mapa nierówności, pojedynczy profilograf oraz topografia powierzchni AFM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005..... | 64 |
| Rysunek 45. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa A (zdjęcie lewe) B (środek), C (zdjęcie prawe)..... | 66 |
| Rysunek 46. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa D (zdjęcie lewe), E (środek), F (zdjęcie prawe)..... | 66 |
| Rysunek 47. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa G (zdjęcie lewe), H (środek), I (zdjęcie prawe)..... | 67 |
| Rysunek 48. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa J (zdjęcie lewe), K (środek), L (zdjęcie prawe)..... | 67 |
| Rysunek 49. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych: grupa M (zdjęcie lewe), N (środek), O (zdjęcie prawe)..... | 67 |
| Rysunek 50. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem: grupa KAg30 (zdjęcie lewe), KAg'30 (zdjęcie prawe)..... | 68 |
| Rysunek 51. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią: grupa KCu40 (zdjęcie lewe), KCu'40 (zdjęcie prawe)..... | 68 |
| Rysunek 52. Przekroje SEM powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią: grupa KCu80 (zdjęcie lewe), KCu'80 (zdjęcie prawe)..... | 68 |
| Rysunek 53. Przekrój SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005..... | 69 |
| Rysunek 54. Widmo EDS dla próbki referencyjnej Ti-13Zr-13Nb | 70 |
| Rysunek 55. Widmo EDS, rozkład pierwiastków oraz zdjęcie SEM analizowanego obszaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K | 71 |
| Rysunek 56. Widma EDS dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem: grupa KAg30 (lewe widmo) i KAg'30 (prawe widmo) | 72 |
| Rysunek 57. Widma EDS dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupa KCu40 (lewe widmo) i KCu'40 (prawe widmo) | 72 |

| | |
|--|----|
| Rysunek 58. Widma EDS dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupa KCu80 (lewe widmo) i KCu'80 (prawe widmo) | 72 |
| Rysunek 59. Widmo EDS, rozkład pierwiastków oraz zdjęcie SEM analizowanego obszaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią przed obróbką termiczną, grupa KAg30Cu80-005..... | 73 |
| Rysunek 60. Widmo EDS, rozkład pierwiastków oraz zdjęcie SEM analizowanego obszaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią po obróbce termicznej, grupa KAg30Cu80-005..... | 74 |
| Rysunek 61. Analiza fazowa XRD powłoki nanohydroksyapatytowej (grupa K)..... | 76 |
| Rysunek 62. Analiza fazowa XRD powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem (grupa KAg30).... | 76 |
| Rysunek 63. Analiza XRD powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią (grupa KCu80)..... | 77 |
| Rysunek 64. Analiza XRD powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią (KAg30Cu80-005)..... | 77 |
| Rysunek 65. Krzywe potencjodynamiczne dla próbki referencyjnej Ti-13Zr-13Nb | 78 |
| Rysunek 66. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych, grupy A, B i C..... | 78 |
| Rysunek 67. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych, grupy D, E i F..... | 79 |
| Rysunek 68. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych, grupy G, H i J..... | 79 |
| Rysunek 69. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych, grupy J, K i L | 80 |
| Rysunek 70. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych, grupy M, N i O..... | 80 |
| Rysunek 71. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem, grupy KAg30 i KAg'30 | 81 |
| Rysunek 72. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupy KCu40 i KCu'40 | 81 |
| Rysunek 73. Krzywe potencjodynamiczne dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupy KCu80 i KCu'80 | 82 |
| Rysunek 74. Krzywa potencjodynamiczna dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005 | 82 |
| Rysunek 75. Wykres histerezy obciążenie - odkształcenie dla pojedynczego pomiaru indentacji dla powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K | 84 |
| Rysunek 76. Wykresy histerezy obciążenie - odkształcenie dla pojedynczych pomiarów indentacji dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem, grupa KAg30 (wykres lewy), grupa KAg'30 (prawy)..... | 84 |
| Rysunek 77. Wykresy histerezy obciążenie - odkształcenie dla pojedynczych pomiarów indentacji dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupa KCu40 (wykres lewy), KCu'40 (prawy)..... | 85 |
| Rysunek 78. Wykresy histerezy obciążenie - odkształcenie dla pojedynczych pomiarów indentacji dla powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupa KCu80 (wykres lewy), KCu'80 (prawy)..... | 85 |
| Rysunek 79. Rozkład 3D nanotwardości powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K | 86 |
| Rysunek 80. Rozkład 3D modułu Younga powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K..... | 86 |
| Rysunek 81. Rozkład 3D maksymalnej głębokości penetracji wgłębnika podczas indentacji powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K | 86 |
| Rysunek 82. Rozkład 3D nanotwardości powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem, grupa KAg30 | 87 |
| Rysunek 83. Rozkład 3D modułu Younga powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem, grupa KAg30..... | 87 |
| Rysunek 84. Rozkład 3D maksymalnej głębokości penetracji wgłębnika podczas indentacji powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem, grupa KAg30 | 87 |
| Rysunek 85. Rozkład 3D nanotwardości powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią, grupa KCu80 | 88 |

| | |
|---|-----|
| Rysunek 86. Rozkład 3D modułu Younga powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią, grupa KCu80..... | 88 |
| Rysunek 87. Rozkład 3D maksymalnej głębokości penetracji wglębniaka podczas indentacji powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią, grupa KCu80..... | 88 |
| Rysunek 88. Rozkład 3D nanotwardości powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005..... | 89 |
| Rysunek 89. Rozkład 3D modułu Younga powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005 | 89 |
| Rysunek 90. Rozkład 3D maksymalnej głębokości penetracji wglębniaka podczas indentacji powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005..... | 89 |
| Rysunek 91. Wykres siły trącej (Ft) od siły normalnej (Fn) z zaznaczeniem siły krytycznej (Lc) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K..... | 93 |
| Rysunek 92. Wykres siły trącej (Ft) od siły normalnej (Fn) z zaznaczeniem siły krytycznej (Lc) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem, grupa KAg30 | 93 |
| Rysunek 93. Wykres siły trącej (Ft) od siły normalnej (Fn) z zaznaczeniem siły krytycznej (Lc) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem, grupa KAg'30 | 93 |
| Rysunek 94. Wykres siły trącej (Ft) od siły normalnej (Fn) z zaznaczeniem siły krytycznej (Lc) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią, grupa KCu40 | 94 |
| Rysunek 95. Wykres siły trącej (Ft) od siły normalnej (Fn) z zaznaczeniem siły krytycznej (Lc) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią, grupa KCu'40 | 94 |
| Rysunek 96. Wykres siły trącej (Ft) od siły normalnej (Fn) z zaznaczeniem siły krytycznej (Lc) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią, grupa KCu80 | 94 |
| Rysunek 97. Wykres siły trącej (Ft) od siły normalnej (Fn) z zaznaczeniem siły krytycznej (Lc) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanomiedzią, grupa KCu'80 | 95 |
| Rysunek 98. Wykres siły trącej (Ft) od siły normalnej (Fn) z zaznaczeniem siły krytycznej (Lc) pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią dla maksymalnej siły normalnej 200mN , grupa KAg30Cu80-005..... | 95 |
| Rysunek 99. Obraz mikroskopowy oraz wykres siły trącej (Ft) od siły normalnej (Fn) z zaznaczeniem siły krytycznej (Lc) dla pojedynczego pomiaru dla powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią dla maksymalnej siły normalnej 400mN , grupa KAg30Cu80-005 | 96 |
| Rysunek 100. Pomiar kąta zwilżania dla próbki referencyjnej Ti–13Zr–13Nb (zdjęcie lewe) oraz powłoki nanohydroksyapatytowej, grupa K (zdjęcie prawe)..... | 98 |
| Rysunek 101. Pomiar kąta zwilżania powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem, grupa KAg30 (zdjęcie lewe) i grupa KAg'30 (zdjęcie prawe)..... | 98 |
| Rysunek 102. Pomiar kąta zwilżania powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupa KCu40 (zdjęcie lewe) i grupa KCu'40 (zdjęcie prawe)..... | 99 |
| Rysunek 103. Pomiar kąta zwilżania powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią, grupa KCu80 (zdjęcie lewe) i grupa KCu'80 (zdjęcie prawe)..... | 99 |
| Rysunek 104. Pomiar kąta zwilżania powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005..... | 99 |
| Rysunek 105. Szybkość uwalniania nanometali do roztworu sztucznej śliny..... | 101 |
| Rysunek 106. Topografia powierzchni SEM próbki referencyjnej Ti–13Zr–13Nb po 7 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym..... | 102 |
| Rysunek 107. Topografia powierzchni SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005, po 7 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym | 102 |

| | |
|--|-----|
| Rysunek 108. Topografia powierzchni SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005, po 7 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym (zdjęcie wykonane na granicy powłoka - materiał referencyjny) | 103 |
| Rysunek 109. Topografia powierzchni SEM próbki referencyjnej Ti-13Zr-13Nb po 14 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym..... | 103 |
| Rysunek 110. Topografia powierzchni SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005, po 14 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym | 104 |
| Rysunek 111. Topografia powierzchni SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005, po 14 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym (zdjęcie wykonane na granicy powłoka - materiał referencyjny) | 104 |
| Rysunek 112. Topografia powierzchni SEM próbki referencyjnej Ti-13Zr-13Nb po 28 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym..... | 105 |
| Rysunek 113. Topografia powierzchni SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005, po 28 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym | 105 |
| Rysunek 114. Topografia powierzchni SEM powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią, grupa KAg30Cu80-005, po 28 dniach przebywania w bulionie bakteryjnym (zdjęcie wykonane na granicy powłoka - materiał rodzimy) | 106 |

Spis tabel

| | |
|---|-----|
| Tabela 1. Obszary i przykłady zastosowania stali nierdzewnej w aplikacjach medycznych | 12 |
| Tabela 2. Pierwiastki stabilizujące w stopach tytanu | 17 |
| Tabela 3. Właściwości mechaniczne tytanu i stopów tytanu | 18 |
| Tabela 4. Moduł Younga metalicznych materiałów do implantacji oraz kości (zbitej i gąbczastej) | 19 |
| Tabela 5. Biotolerancja metali i stopów w zależności od odporności korozyjnej..... | 26 |
| Tabela 6. Mechanizmy niszczenia i możliwe reakcje organizmu dla wybranych materiałów implantacyjnych..... | 28 |
| Tabela 7. Techniki modyfikacji powierzchni implantów tytanowych | 29 |
| Tabela 8. Wybrane właściwości tworzywa hydroksyapatytowego | 31 |
| Tabela 9. Właściwości mechaniczne tworzyw hydroksyapatytowych oraz kości zbitej i gąbczastej..... | 31 |
| Tabela 10. Kompozytowe powłoki na bazie HAp..... | 36 |
| Tabela 11. Kompozytowe powłoki na bazie HAp z osłoną biologiczną..... | 37 |
| Tabela 12. Skład stopu Ti–13Zr–13Nb | 49 |
| Tabela 13. Zmienne parametry osadzania elektroforetycznego powłok nanohydroksyapatytowych | 50 |
| Tabela 14. Zmienne parametry osadzania elektroforetycznego powłok nanohydroksyapatytowych z nanosrebrem..... | 50 |
| Tabela 15. Zmienne parametry osadzania elektroforetycznego powłok nanohydroksyapatytowych z nanomiedzią | 50 |
| Tabela 16. Parametry osadzania elektroforetycznego powłoki nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią..... | 51 |
| Tabela 17. Skład chemiczny podłoża tryptozowo - sojowego do badań bakteryjnych..... | 54 |
| Tabela 18. Wartości parametru chropowatości powierzchni dla próbki referencyjnej i powłok nanohydroksyapatytowych | 65 |
| Tabela 19. Grubość powłok nanohydroksyapatytowych..... | 69 |
| Tabela 20. Zawartość nanometali w powłoce nanohydroksyapatytowej z nanosrebrem i nanomiedzią ... | 75 |
| Tabela 21. Wartości potencjału korozyjnego i prądu korozyjnego dla próbki referencyjnej oraz powłok nanohydroksyapatytowych | 83 |
| Tabela 22. Właściwości mechaniczne powłok nanohydroksyapatytowych | 91 |
| Tabela 23. Właściwości nanoindentacji powłok nanohydroksyapatytowych | 92 |
| Tabela 24. Wartości krytycznej siły krytycznej (Lc) i siły tarcia (Lf) powłok nanohydroksyapatytowych..... | 97 |
| Tabela 25. Wartość uśrednionego kąta zwilżania dla próbki referencyjnej i powłok nanohydroksyapatytowych | 100 |