



You have downloaded a document from  
**RE-BUŚ**  
repository of the University of Silesia in Katowice

**Title:** Struktura i charakterystyka wielofunkcyjnych warstw powierzchniowych na stopie NiTi wykazującym efekt pamięci kształtu

**Author:** Karolina Dudek

**Citation style:** Dudek Karolina. (2017). Struktura i charakterystyka wielofunkcyjnych warstw powierzchniowych na stopie NiTi wykazującym efekt pamięci kształtu. Praca doktorska. Katowice : Uniwersytet Śląski

© Korzystanie z tego materiału jest możliwe zgodnie z właściwymi przepisami o dozwolonym użytku lub o innych wyjątkach przewidzianych w przepisach prawa, a korzystanie w szerszym zakresie wymaga uzyskania zgody uprawnionego.



UNIWERSYTET ŚLĄSKI  
W KATOWICACH



Biblioteka  
Uniwersytetu Śląskiego



Ministerstwo Nauki  
i Szkolnictwa Wyższego

Uniwersytet Śląski  
Wydział Informatyki i Nauki o Materiałach  
Instytut Nauki o Materiałach  
Zakład Badań Strukturalnych

PRACA DOKTORSKA

**Struktura i charakterystyka wielofunkcyjnych warstw  
powierzchniowych na stopie NiTi wykazującym efekt  
pamięci kształtu**

Autor: mgr inż. Karolina Dudek  
Promotor: dr hab. Tomasz Goryczka

Chorzów 2017

*Dziękuję Panu dr hab. Tomaszowi Goryczce  
za pomoc w realizacji niniejszej pracy.*

Dyplomantka była stypendystką w ramach projektu „DoktoRIS - Program stypendialny na rzecz innowacyjnego Śląska” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.



## Spis treści

Spis oznaczeń ujętych w pracy .....	7
I. Wstęp .....	8
II. Przegląd literatury .....	10
1. Struktura i właściwości stopów NiTi.....	10
2. Biokompatybilność i zastosowanie stopów NiTi w medycynie .....	15
3. Modyfikacja powierzchni stopów NiTi do zastosowań w medycynie .....	17
4. Ceramika oparta o fosforany wapnia (CaP).....	20
4.1. Ceramika hydroksyapatytowa (HAp).....	21
4.2. Ceramika whitlockitowa - trójfosforan wapnia, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , TCP, $\text{C}_3\text{P}$ .....	23
4.3. Ceramika dwufazowa oparta o fosforany wapnia - BCP .....	24
5. Pasywacja stopów NiTi w autoklawie parowym .....	25
6. Metoda elektroforetycznego osadzania - EPD .....	26
III. Cel, zakres i teza pracy .....	29
IV. Część eksperymentalna .....	31
1. Metodyka badań .....	31
1.1. Charakterystyka zawiesiny koloidalnej .....	31
1.2. Metody analizy termicznej .....	31
1.2.1. Dylatometria (TD).....	31
1.2.2. Termogravimetria (TGA, TG) i termiczna analiza różnicowa (DTA).....	31
1.2.3. Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC) .....	31
1.3. Badania strukturalne .....	32
1.3.1. Rentgenowska analiza strukturalna (RAS).....	32
1.3.2. Transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM).....	32
1.3.3. Spektroskopia Ramana.....	32
1.4. Charakterystyka morfologii i topografii wytworzonych warstw .....	33
1.4.1. Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM).....	33
1.4.2. Mikroskopia sił atomowych (AFM).....	33
1.4.3. Badania profilografometryczne.....	33
1.5. Badanie właściwości mechanicznych .....	33
1.5.1. Badanie adhezji warstw do podłoża NiTi .....	33
1.5.2. Badanie odporności warstw na odkształcenie związane z indukowaniem efektów pamięci kształtu.....	34
1.6. Zwilżalność warstw.....	34
1.7. Badania korozyjne warstw .....	34
1.8. Ocena biologiczna warstw.....	35
1.8.1. Badanie cytotoksyczności metodą MTS .....	35
1.8.2. Ocena morfologii komórek - mikroskopia fluorescencyjna .....	35
1.9. Odporność wytworzonych warstw na rozwój drobnoustrojów.....	36
2. Charakterystyka materiału badań w stanie wyjściowym .....	37
2.1. Podłoże NiTi.....	37
2.2. Hydroksyapatyt - HAp, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ .....	40

2.3.	Ceramika whitlockitowa - $\beta$ -TCP, $\beta$ -Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> , $\beta$ -C <sub>3</sub> P .....	42
3.	Charakterystyka warstwy pasywowanej .....	45
4.	Modyfikacja powierzchni spasywowanego stopu NiTi hydroksyapatytem .....	47
4.1.	Dobór optymalnych parametrów osadzania elektroforetycznego (EPD) powłok HAp .....	47
4.1.1.	Dobór warunków tworzenia stabilnej zawiesiny koloidalnej HAp użytej do EPD .....	47
4.1.2.	Parametry prądowo - czasowe osadzania elektroforetycznego HAp .....	49
4.1.3.	Wpływ zastosowanych parametrów osadzania na strukturę powłok HAp .....	51
4.1.4.	Wpływ zastosowanych parametrów osadzania na jakość wytworzonych powłok HAp 53	
4.2.	Dobór optymalnych warunków obróbki cieplnej powłok HAp .....	57
4.2.1.	Wpływ temperatury na skurcz i strukturę proszku HAp .....	57
4.2.2.	Zastosowane warunki obróbki cieplnej powłok HAp .....	59
4.2.3.	Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na strukturę warstw HAp oraz podłoża NiTi .....	60
4.2.4.	Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na jakość warstw HAp .....	62
4.2.5.	Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na przebieg przemiany martenzytycznej w stopie NiTi .....	67
4.2.6.	Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na adhezję warstw do podłoża	69
4.3.	Odporność wytworzonych warstw HAp na odkształcenie związane z indukowaniem efektu pamięci kształtu .....	70
4.4.	Odporność korozyjna wytworzonych warstw HAp w środowisku symulowanych płynów ustrojowych .....	73
4.5.	Zwilżalność powierzchni wytworzonych warstw HAp .....	74
4.6.	Biologiczna ocena biogodności wytworzonych warstw HAp .....	74
4.7.	Odporność wytworzonych warstw HAp na rozwój drobnoustrojów .....	77
5.	Modyfikacja powierzchni spasywowanego stopu NiTi ceramiką whitlockitową ( $\beta$ -TCP) .....	78
5.1.	Dobór optymalnych parametrów osadzania elektroforetycznego (EPD) powłok ceramiki whitlockitowej .....	78
5.1.1.	Charakterystyka zawiesiny koloidalnej ceramiki whitlockitowej użytej do EPD .....	78
5.1.2.	Parametry prądowo - czasowe osadzania elektroforetycznego ceramiki whitlockitowej .....	78
5.1.3.	Wpływ parametrów osadzania na strukturę powłok ceramiki whitlockitowej .....	79
5.1.4.	Wpływ parametrów osadzania na jakość wytworzonych ceramiki whitlockitowej...	82
5.2.	Dobór optymalnych warunków obróbki cieplnej osadzonych powłok ceramiki whitlockitowej .....	84
5.2.1.	Wpływ temperatury na skurcz i strukturę proszku ceramiki whitlockitowej .....	84
5.2.2.	Zastosowane warunki obróbki cieplnej powłok ceramiki whitlockitowej .....	86
5.2.3.	Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na strukturę warstw ceramiki whitlockitowej oraz podłoża NiTi .....	86
5.2.4.	Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na jakość warstw ceramiki whitlockitowej .....	88
5.2.5.	Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na przebieg przemiany martenzytycznej w stopie NiTi .....	92
5.2.6.	Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na adhezję warstw do podłoża	93

5.3.	Odporność wytworzonych warstw ceramiki whitlockitowej na odkształcenie związane z indukowaniem efektu pamięci kształtu .....	94
5.4.	Odporność korozyjna wytworzonych warstw ceramiki whitlockitowej w środowisku symulowanych płynów ustrojowych .....	96
5.5.	Zwilżalność powierzchni wytworzonych warstw ceramiki whitlockitowej .....	96
5.6.	Biologiczna ocena biogodności wytworzonych warstw ceramiki whitlockitowej .....	97
5.7.	Odporność wytworzonych warstw ceramiki whitlockitowej na rozwój drobnoustrojów	100
6.	Modyfikacja powierzchni spasywowanego stopu NiTi ceramiką dwufazową opartą o fosforany wapnia (BCP) .....	101
6.1.	Dobór optymalnych parametrów osadzania elektroforetycznego (EPD) powłok BCP ....	101
6.1.1.	Charakterystyka zawiesiny koloidalnej BCP użytej do EPD .....	101
6.1.2.	Parametry prądowo - czasowe osadzania elektroforetycznego powłok BCP .....	102
6.1.3.	Wpływ zastosowanych parametrów osadzania na jakość wytworzonych powłok BCP	103
6.1.4.	Wpływ zastosowanych parametrów osadzania na strukturę powłok BCP .....	104
6.2.	Charakterystyka warstw BCP po obróbce cieplnej.....	105
6.2.1.	Dobór warunków obróbki cieplnej powłok BCP .....	105
6.2.2.	Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na strukturę warstw BCP oraz podłoża NiTi.....	106
6.2.3.	Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na jakość warstw BCP .....	109
6.2.4.	Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na przebieg przemiany martenzytycznej w stopie NiTi .....	110
6.2.5.	Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na adhezję warstw do podłoża	111
6.3.	Odporność wytworzonych warstw BCP na odkształcenie związane z indukowaniem efektu pamięci kształtu.....	112
6.4.	Odporność korozyjna wytworzonych warstw BCP w środowisku symulowanych płynów ustrojowych.....	113
6.5.	Zwilżalność powierzchni wytworzonych warstw BCP .....	114
6.6.	Biologiczna ocena biogodności wytworzonych warstw BCP .....	115
6.7.	Odporność wytworzonych warstw BCP na rozwój drobnoustrojów .....	117
7.	Porównanie właściwości wytworzonych warstw .....	118
8.	Aplikacyjny aspekt zastosowania wielofunkcyjnych warstw na stopie NiTi .....	119
9.	Dyskusja wyników .....	124
10.	Wnioski.....	134
	Literatura.....	135
	Spis rysunków.....	140
	Spis tabel .....	143

## Spis oznaczeń ujętych w pracy

- CaP - ceramika fosforanowa
- HAp - hydroksyapatyt, ceramika hydroksyapatytowa
- C-HAp - apatyt węglanowy
- TCP, C<sub>3</sub>P - ortofosforan (V) wapnia, ceramika whitlockitowa
- C<sub>2</sub>P - pirofosforan (V) wapnia
- BCP - ceramika dwufazowa oparta o fosforany wapnia
- EPD - osadzania elektroforetyczne
- A<sub>s</sub> - temperatura początku odwrotnej przemiany martenzytycznej B19' → B2
- A<sub>f</sub> - temperatura końca odwrotnej przemiany martenzytycznej B19' → B2
- R<sub>s</sub> - temperatura początku przemiany B2 → R
- R<sub>f</sub> - temperatura końca przemiany B2 → R
- M<sub>s</sub> - temperatura początku przemiany martenzytycznej
- M<sub>f</sub> - temperatura końca przemiany martenzytycznej
- ΔH - entalpia przemiany
- Ra - średnia arytmetyczna rzędnych profilu
- Rz - największa wysokość profilu
- Rt - maksymalna wysokość chropowatości
- E<sub>OC</sub> - potencjał obwodu otwartego
- E<sub>kor</sub> - potencjał korozyjny
- J<sub>kor</sub> - gęstość prądu korozyjnego
- E<sub>pb</sub> - potencjał przebicia
- J<sub>pb</sub> - gęstość prądu przebicia



## I. Wstęp

Stopy NiTi o składzie chemicznym zbliżonym do równoatomowego wykazują unikatową właściwość tj. zjawisko pamięci kształtu. Materiały te posiadają ponadto bardzo dobre właściwości plastyczne i mechaniczne, akceptowalną biogodność, oporność elektryczną oraz odporność na korozję. Niekonwencjonalne właściwości stopów NiTi związane z efektami pamięci kształtu i ich biogodność sprawiły, że materiały te znajdują coraz szersze i stale rosnące zastosowanie w medycynie. Stanowią one ważną grupę materiałów używanych do wyrobu implantów oraz sprzętu wykorzystywanego w małoinwazyjnej chirurgii i diagnostyce. Stopy NiTi są stosowane w ortopedii, kardiochirurgii, chirurgii tkanek miękkich, stomatologii oraz ortodontacji, jednak ich właściwości biomechaniczne sprawiają, że bardziej niż inne materiały metaliczne nadają się do zespołów kostnych [1-4].

W celu ochrony implantu przed działaniem agresywnego środowiska płynów ustrojowych, zwiększenia odporności korozyjnej i ograniczenia związanego z korozją przenikania toksycznych jonów Ni do tkanek okołowszczepowych, powierzchnia stopów NiTi przeznaczonych do zastosowań medycznych jest modyfikowana poprzez wytwarzanie biogodnych ochronnych warstw powierzchniowych [5, 6]. Powierzchnię stopów NiTi pokrywa się warstwami polimerowymi, ceramicznymi, metalicznymi lub kompozytowymi [7]. Pożądane jest, aby zwiększały one również funkcjonalność powierzchni implantów np. poprzez przyspieszanie osteointegracji. Najlepsze wiązanie powierzchni metalowego implantu z tkanką kostną uzyskuje się poprzez wcześniejsze wytworzenie na jego powierzchni warstw opartych o fosforany wapnia (CaP) takich jak hydroksyapatyt (HAp), ceramika whitlockitowa (TCP) lub dwufazowa ceramika oparta o fosforany wapnia (BCP) [8-11].

Największe znaczenie dla przyjęcia implantu przez organizm oraz na procesy metabolizmu osteoblastów ma skład, jakość oraz topografia powierzchni. Jakość wytworzonych warstw powierzchniowych oraz ich właściwości mogą być modyfikowane poprzez zastosowanie zróżnicowanych metod inżynierii powierzchni. Każda z metod w określony sposób wpływa na mikrostrukturę, porowatość, stopień amorficzności, skład chemiczny i fazowy, siłę adhezji, morfologię warstwy wierzchniej oraz stan naprężeń. W kształtowaniu właściwości powierzchni implantów powinno się również uwzględnić zwilżalność, która ma znaczący wpływ na absorpcję molekuł sprzyjających adhezji fibroblastów i/lub bakterii oraz odporność na rozwój drobnoustrojów na styku wszczep - tkanka. W przypadku stopów NiTi wykazujących efekt pamięci kształtu warstwy powinny również wykazywać zdolność do odkształceń w zakresie podobnym do odkształceń wynikających z efektu pamięci kształtu. Istotne znaczenie dla zachowania efektu pamięci kształtu ma także grubość i sztywność wytworzonej warstwy powierzchniowej, ponieważ zbyt grube i/lub

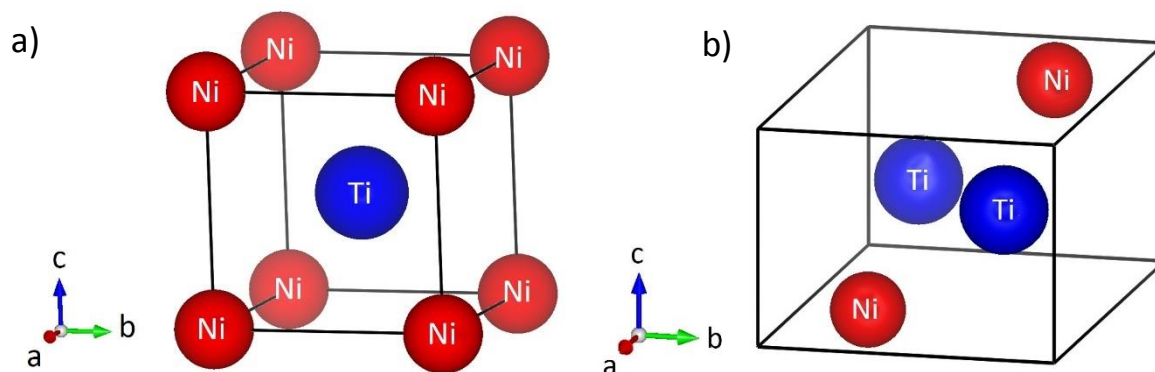
sztynne warstwy mogą ograniczyć lub całkowicie zablokować efekt pamięci kształtu. Ważny jest także wybór metody modyfikacji powierzchni, która nie powoduje negatywnego działania na zjawisko pamięci kształtu poprzez rozkład fazy macierzystej B2 na fazy równowagowe. Od metod wytwarzania warstw powierzchniowych wymaga się również takich zalet jak: prostota, powtarzalność, szybkość procesu i niskie koszty, stąd na szczególną uwagę zasługuje metoda pasywacji w autoklawie parowym [7] oraz elektroforetycznego osadzania (EPD) [12-14]. Techniki te stwarzają ponadto możliwości wytwarzania różnego rodzaju warstw w szerokim zakresie grubości na podłożach o złożonych kształtach.

W niniejszej pracy zaproponowano sposób modyfikacji powierzchni stopów NiTi poprzez wytworzenie wielofunkcyjnych warstw złożonych  $\text{TiO}_2$  / CaP (HAp,  $\beta$ -TCP i BCP) poprawiających biokompatybilność stopu z jednoczesnym zachowaniem zjawisk pamięci kształtu.

## II. Przegląd literatury

### 1. Struktura i właściwości stopów NiTi

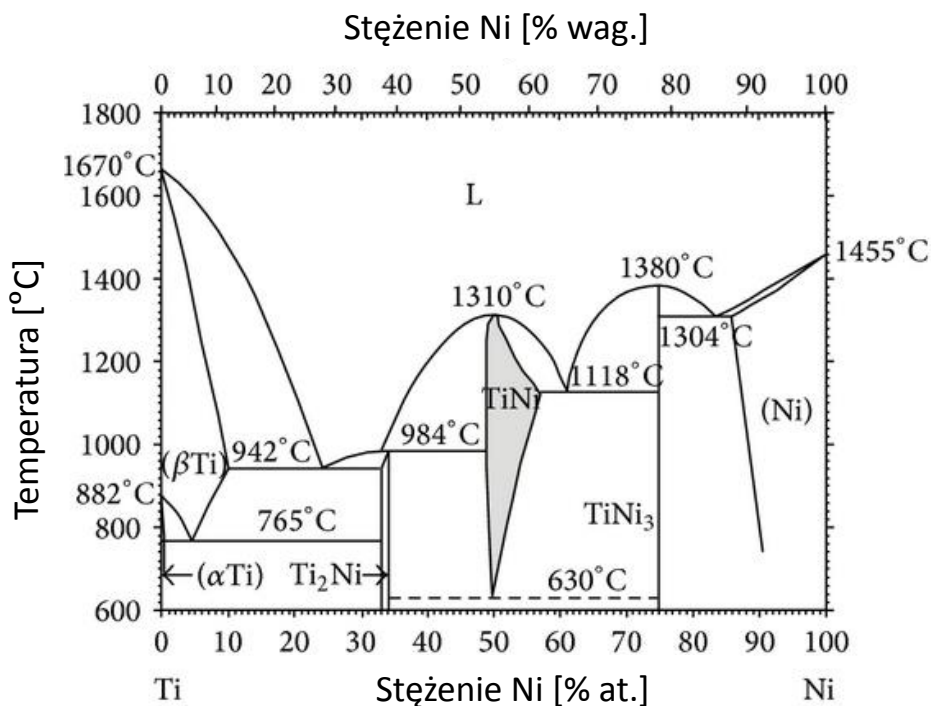
Stopy NiTi o składzie chemicznym zbliżonym do równoatomowego wykazują niekonwencjonalne właściwości takie jak jedno- i dwukierunkowy efekt pamięci kształtu oraz nadsprężystość. Zjawiskiem wywołującym zmianę kształtu jest odwracalna, termosprężysta przemiana martenzytyczna indukowana termicznie lub poprzez zewnętrzne naprężenie. Zachodzi ona pomiędzy wysokotemperaturową fazą macierzystą (austenityczną) o sieci regularnej przestrzennie centrowanej typu CsCl (B2) (Rysunek 1a) i niskotemperaturową fazą martenzytu o sieci jednoskośnej typu AuCd (B19') (Rysunek 1b). Zjawisko to jest związane z rekonfiguracją atomów, prowadzącą do przebudowy sieci krystalicznej w obszarze o tym samym składzie chemicznym. Przemiana wykazuje charakter bezdyfuzyjny i zachodzi poprzez zarodkowanie nowej fazy oraz wzrost jej zarodków [1-4].



Rysunek 1. Komórka elementarna faz: B2 (a) oraz B19' (b). Rysunek wygenerowano w programie VESTA [15].

W układzie Ni-Ti zakres składu chemicznego występowania fazy B2 jest ograniczony i mieści się pomiędzy 49,5 % at. a 57 % at. Ni (Rysunek 2). Dla stopów o podwyższonej zawartości tytanu, zakres tworzenia się fazy B2 mieści się od 50,0 do 50,5 % at. i istnieje do temperatury około 650 °C, co sprawia, że w temperaturze pokojowej występują w nich cząstki równowagowej fazy  $Ti_2Ni$  powstałej w wyniku przemiany perytektycznej rozmieszczone po granicach ziaren osnowy [16]. Stopy o zawartości niklu powyżej 50,5 % at. ulegają szybciej rozpadowi podczas powolnego chłodzenia lub wskutek starzenia przesyconej fazy B2. Proces rozpadu zachodzi na drodze wydzielenia. Zastosowanie wysokich temperatur i długich czasów obróbki cieplnej prowadzi do wydzielenia fazy równowagowej  $Ni_3Ti$ , natomiast w przypadku zastosowania niższych temperatur lub krótszych

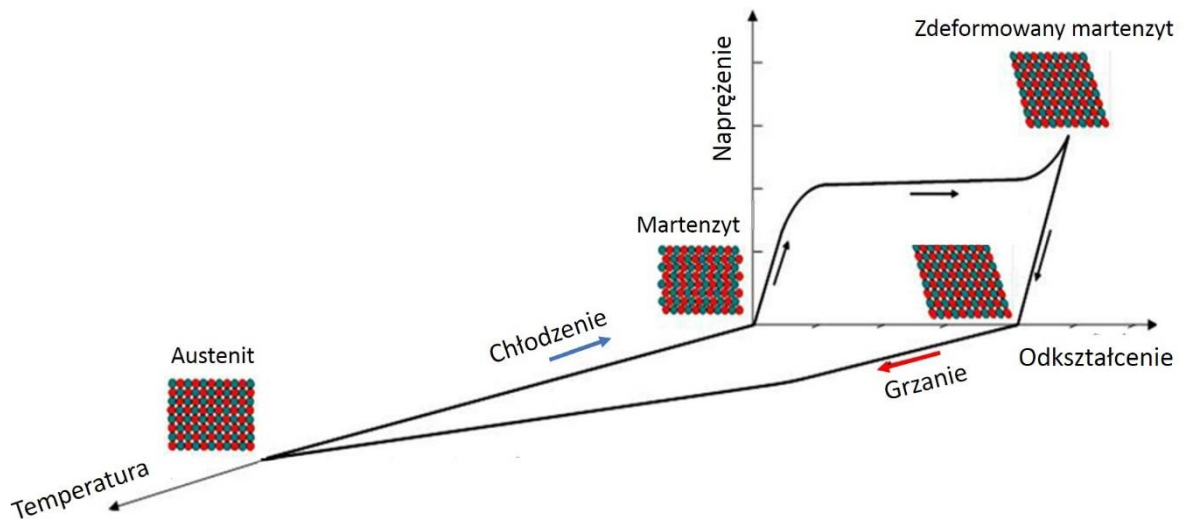
czasów proces rozpadu zachodzi przez metastabilne fazy pośrednie. Podczas niskotemperaturowego starzenia w fazie B2 następuje wydzielanie płytkowej, romboedrycznej fazy  $Ni_4Ti_3$  o grupie przestrzennej R3. Wydłużenie czasu starzenia skutkuje powstawaniem fazy  $Ni_3Ti_2$  przy równoczesnym rozpuszczaniu się cząstek  $Ni_4Ti_3$ , a następnie następuje wydzielanie cząstek równowagowej fazy  $Ni_3Ti$  o strukturze heksagonalnej typu DO3 [17, 18]. Obszar jednofazowy NiTi poniżej temperatury 600 °C jest ograniczony do bardzo wąskiego zakresu wokół składu równoatomowego [1-4].



Rysunek 2. Układ równowagowy Ni-Ti (opracowano na podstawie [19]).

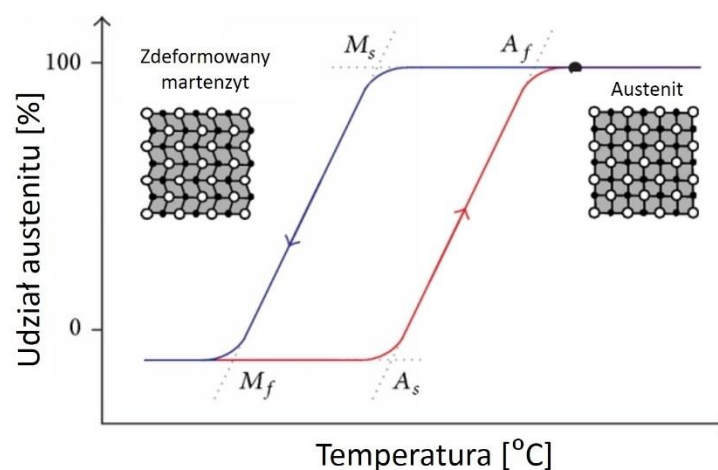
W stopach NiTi o składzie atomowym zbliżonym do równoatomowego mogą występować następujące efekty pamięci kształtu:

- 1. Jednokierunkowy efekt pamięci kształtu** (Rysunek 3) polega na tym, że materiał odkształcony w stanie martenzytycznym powraca po nagrzaniu powyżej temperatury początku odwrotnej przemiany martenzytycznej  $A_s$  do kształtu nadanego w fazie macierzystej. Podczas deformacji martenzytu następuje zmiana jego struktury spowodowana reorganizacją płytek na skutek przemieszczania się granic bliźniaczych [1, 2, 4].



Rysunek 3. Schemat przebiegu oraz zmiany struktury występujące podczas jednokierunkowego efektu pamięci kształtu (opracowano na podstawie [20]).

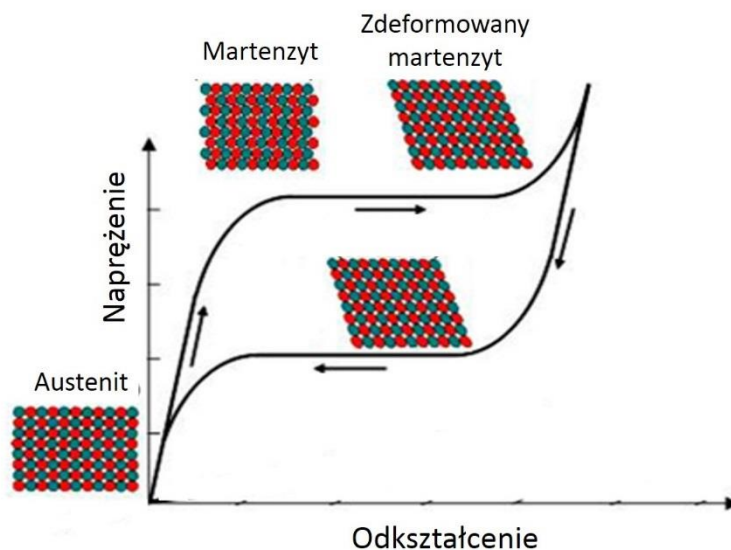
2. **Dwukierunkowy efekt pamięci kształtu** (Rysunek 4) polega na zmianie kształtu elementu jedynie pod wpływem zmian temperatury. Temperatury przemian martenzytycznej i przemiany odwrotnej są przesunięte względem siebie tworząc temperaturową pętlę histerezy [1, 2, 4].



Rysunek 4. Schemat przebiegu dwukierunkowego efektu pamięci kształtu [21].

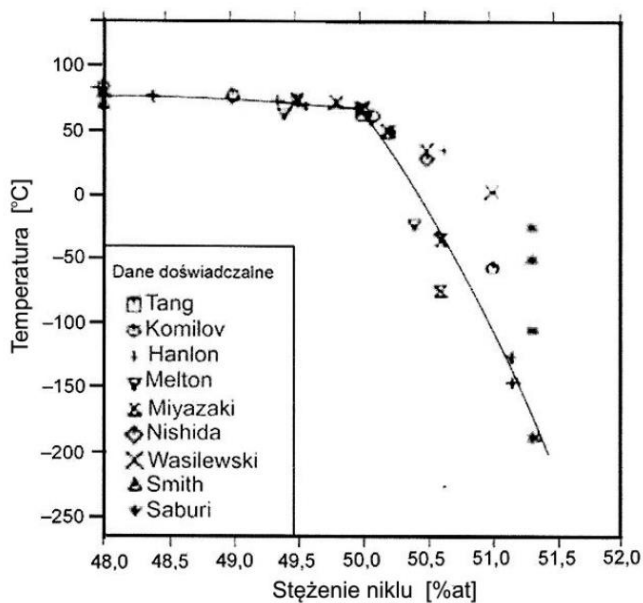
3. **Zjawisko nadspężystości** (pseudospężystości, superelastyczności) (Rysunek 5) - związane jest z przemianą martenzytyczną indukowaną zewnętrznym naprężeniem. Pod wpływem działającego naprężenia następuje reorganizacja płytek martenzytu, co skutkuje uzyskaniem dużej wartości

odkształcenia. Po usunięciu naprężenia następuje powrót do fazy macierzystej w wyniku odwrotnej przemiany martenzytycznej [1, 2, 4].



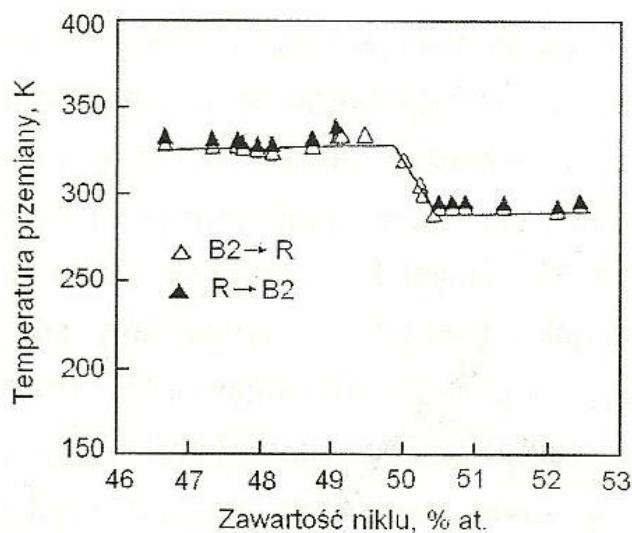
Rysunek 5. Schemat przebiegu oraz zmiany struktury występujące podczas zjawiska nadspężystości (opracowano na podstawie [20]).

Temperatury charakterystyczne przemiany martenzytycznej ściśle zależą od składu chemicznego stopu NiTi. Wzrost zawartości niklu powyżej 50 % at. powoduje znaczne obniżenie temperatury początku przemiany martenzytycznej  $M_s$  (Rysunek 6). Z tego powodu w medycynie znalazły zastosowanie stopy NiTi o zawartości 50 - 51 % at. Ni, w których przemiana występuje w zakresie temperatury pomiędzy pokojową a około  $-120\text{ }^\circ\text{C}$  [1].



Rysunek 6. Zależność temperatury  $M_s$  od składu chemicznego stopu NiTi [1].

Na temperatury charakterystyczne przemiany martenzytycznej ma także wpływ zastosowana obróbka cieplna oraz cieplno - mechaniczna. Zabiegi te mogą również prowadzić do zmiany sekwencji przemiany martenzytycznej - z jednostopniowej ( $B2 \leftrightarrow B19'$ ) na dwustopniową z udziałem fazy R o strukturze romboedrycznej ( $B2 \leftrightarrow R \leftrightarrow B19'$ ). Przemiana poprzez fazę R posiada cechy odwracalnej termosprężystej przemiany martenzytycznej. Przyczyną powstania fazy R jest obecność w stopie NiTi o podwyższonej zawartości niklu koherentnych wydzieliń  $Ni_4Ti_3$  powstałych podczas starzenia i/lub wewnętrznych naprężeń wynikających z podwyższenia gęstości defektów punktowych lub gęstości dyslokacji i ich specyficznej konfiguracji [1, 2, 4, 17]. Temperatura przemiany fazy macierzystej w fazę R ( $T_R$ ) jest również ściśle uzależniona od zawartości niklu w stopie (Rysunek 7) [1].



Rysunek 7. Zależność  $T_R$  od stężenia niklu [4].

Przemiany w stopach NiTi mogą mieć następujące sekwencje, uzależnione od składu chemicznego stopu i zastosowanej obróbki cieplnej lub cieplno-mechanicznej:

- $B2 \leftrightarrow B19'$ ,
- $B2 \rightarrow R \rightarrow B19'$  podczas chłodzenia oraz  $B19' \rightarrow B2$  podczas grzania,
- $B2 \rightarrow R \rightarrow B19'$  podczas chłodzenia oraz  $B19' \rightarrow R \rightarrow B2$  podczas grzania [17].

Stopy NiTi z efektem pamięci kształtu wykazują również dobre właściwości mechaniczne i plastyczne, obniżoną w stosunku do innych materiałów metalicznych gęstość i moduł sprężystości oraz dobre właściwości tłumiące drgania mechaniczne. Ponadto materiały te charakteryzuje wysoka oporność elektryczna, dobra odporność korozyjna oraz akceptowalna biokompatybilność [1, 3, 4].

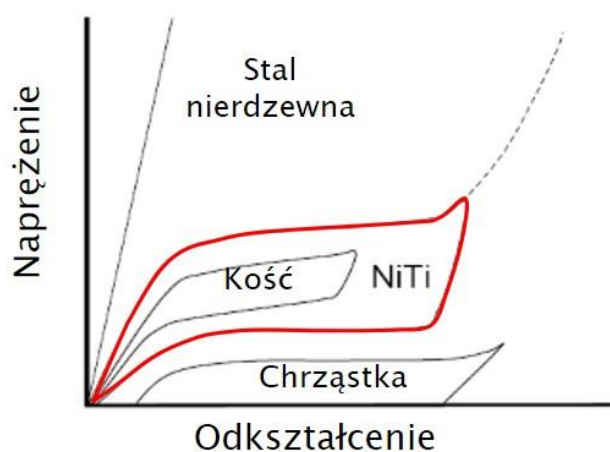
## 2. Biokompatybilność i zastosowanie stopów NiTi w medycynie

Dobra biokompatybilność stopów NiTi wykazujących efekt pamięci kształtu jest związana z odpornością korozyjną materiału wynikającą z samorzutnej pasywacji. Powierzchnia stopów NiTi w czasie mikrosekund jest pokrywana stabilną warstwą tlenków tytanu, a w przypadku uszkodzenia ulega natychmiastowej repasywacji w obecności tlenu lub wody [1, 3, 7, 22-24]. Najbardziej stabilną fazą wśród powstających tlenków tytanu jest rutyl - tetragonalny  $\text{TiO}_2$  [7]. Rutyl jest obojętny chemicznie, wykazuje niskie przewodnictwo elektronowe i słabą tendencję do przechodzenia w stan jonowy w środowisku wodnym. Warstwę  $\text{TiO}_2$  charakteryzuje wysoka odporność korozyjna i biokompatybilność oraz bardzo dobra adhezja do metalicznego podłoża. Wykazuje ona ponadto właściwości bioaktywne, zapobiega tworzeniu się skrzepów, pozytywnie wpływa na gojenie się tkanki kostnej i wytwarzanie przeszczepu nabłonkowego, przez co zmniejsza ryzyko odrzucenia implantu przez żywy organizm [5, 22, 25-28]. Jednak konsekwencją powstawania warstw tlenkowych jest wzbogacenie strefy podpowierzchniowej stopów NiTi w nikiel, który może występować zarówno w postaci metalicznej oraz tlenków. Nikiel jest pierwiastkiem o właściwościach alergicznych, cytotoksycznych oraz kancerogennych [5, 10, 22]. W postaci atomowej jest uwalniany do otaczających tkanek znacznie łatwiej i szybciej niż w postaci tlenkowej [24]. Ilość uwalnianych atomów Ni oraz szybkość procesu zależą od czasu i jakości powierzchni - szorstkie i niejednorodne powierzchnie są bardziej wrażliwe na korozję niż powierzchnie topograficznie jednorodne. Wraz z czasem maleje ilość tego pierwiastka przy powierzchni i tym samym jego szybkość uwalniania zmniejsza się [5, 25, 29]. W przypadku stopów o wysokim stopniu porowatości, ilość uwolnionych jonów Ni jest wyższa niż w przypadku stopów litych [22]. Udowodniono jednak, że zjawisko to zachodzi na poziomie niższym od cytotoksycznego [6, 30]. Dotychczas przeprowadzone badania *in vitro* nie wykazały znaczącej genotoksyczności, cytotoksyczności ani kancerogenności stopów NiTi [1, 22, 30], jedynie produkty ścierania w dużej ilości powodowały negatywną reakcję tkanek, co mogło doprowadzić do osteolizy [22]. Wykazano również, że uwalnianie kationów Ni w ilościach niegroźnych dla organizmu, powoduje ujemne ładowanie powierzchni implantu, co sprzyja odpychaniu ujemnie naładowanych składników krwi takich jak fibrynogen, a tym samym zapobiega okluzji w pierwszych godzinach po operacji i restenozie [24].

Unikatowe właściwości stopów NiTi związane z efektami pamięci kształtu i ich biokompatybilność sprawiły, że znajdują coraz szersze i stale rosnące zastosowanie w medycynie. Stanowią one ważną grupę materiałów używanych do wyrobu implantów oraz sprzętu wykorzystywanego w małoinwazyjnej chirurgii i diagnostyce. Stopy NiTi są stosowane w ortopedii, chirurgii sercowo-naczyniowej, chirurgii tkanek miękkich oraz ortodontacji. Aplikacja implantów



z pamięcią kształtu jest łatwiejsza w porównaniu do stosowanych powszechnie technik operacyjnych, skraca czas trwania zabiegu operacyjnego i zwiększa bezpieczeństwo procedury chirurgicznej, natomiast ich zastosowanie zapewnia chorym większy komfort leczenia oraz znacząco skraca czas i koszty rekonwalescencji [1, 31-42]. Właściwości biomechaniczne stopów NiTi sprawiają, że bardziej niż inne materiały metaliczne nadają się do zespołów kostnych. Ich moduł sprężystości na rozciąganie jest dużo niższy w porównaniu z innymi biomateriałami metalicznymi, co ogranicza ryzyko wystąpienia efektu ekranowania naprężeń, ponadto zachowanie stopu NiTi pod wpływem naprężeń czyni ten materiał podobnym do materiałów biologicznych takich jak kości (Rysunek 8), co sprawia, że zastosowanie stopów NiTi na implanty do osteosyntezy przyczynia się do szybszego i prawidłowego zrostu złamań [1, 34].



Rysunek 8. Krzywe umocnienia dla różnych materiałów (opracowano na podstawie [34]).

Pomimo dobrej biokompatybilności stopów NiTi wykazujących efekt pamięci kształtu, porównywalnej do biokompatybilności czystego tytanu, zastosowanie tych materiałów na długoterminowe implanty budzi jednak wątpliwości ze względu na wysoką zawartość niklu i ryzyko uwalniania jego jonów w wyniku korozji w agresywnym środowisku płynów ustrojowych. Istnieją dwie możliwości poprawy biokompatybilności stopów NiTi. Pierwszą z nich jest zastępowanie niklu w stopie pierwiastkami mniej toksycznymi takimi jak Pt, Pd, Zr, Hf lub Nb, jednak dodatki stopowe znacząco zmieniają temperatury charakterystyczne przemiany martenzytycznej, wykluczając tym samym możliwość zastosowania tych stopów w medycynie [43-49]. Innym sposobem poprawy biokompatybilności stopów NiTi może być modyfikacja ich powierzchni.

### 3. Modyfikacja powierzchni stopów NiTi do zastosowań w medycynie

W celu ochrony implantu przed działaniem agresywnego środowiska płynów ustrojowych, zwiększenia odporności korozyjnej i ograniczenia związanego z korozją przenikania toksycznych kationów Ni do tkanek okołowszczepowych, powierzchnia stopów NiTi przeznaczonych do zastosowań medycznych jest modyfikowana poprzez wytwarzanie powierzchniowych warstw ochronnych [7]. Modyfikacja powierzchni może również przyczynić się do poprawy właściwości użytkowych oraz zwiększenia funkcjonalności implantów. Dotychczas na powierzchni stopów NiTi zostały wytworzone następujące warstwy powierzchniowe:

- Ceramiczne:  $\text{TiO}_2$  [6, 7, 29, 50-60], TiN [59, 61-64], TiC,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SiO}_2$  [7],  $\text{ZrO}_2$  [65], oparte o fosforany wapnia (CaP) [66-75], ZnO [76];
- Metaliczne: Pt [77], Ta [78-80], Zr [7];
- Inne: DLC [81], bioszkoło [82];
- Polimerowe: polilaktyd [83], chitozan [84], PEEK [85], poliuretany [86], poliamidy [87];
- Kompozytowe:  $\text{TiO}_2$  / TiN [61,88],  $\text{TiO}_2$  / Ti [88],  $\text{TiO}_2$  /  $\text{SiO}_2$  [52,89], TiN / HAp [90, 91], HAp /  $\text{TiO}_2$  [92], HAp /  $\text{ZrO}_2$  [93], Zn / HAp /  $\text{TiO}_2$  [94], chitozan / heparyna [95], PEI / heparyna [95], chitozan / Ag [96], chitozan / HAp [97], HAp / chitozan / heparyna [98], chitozan / bioszkoło [97], kolagen / CaP [99], HAp / CNT [100], HAp / Si / MWCNT [101, 102], HAp / Si [103], PEEK / bioszkoło [85], CNT / poliuretan [104], ZrN / Zr [105], AuNPs / chitozan [106], Ti / TiC, TiC / DLC [107], Zr / TiC [108], Zr / TiN [108], Zr / TiC / TiN [108].

W zależności od miejsca zastosowania, warstwę powierzchniową stopów stosowanych na implanty poza dużą tolerancją biologiczną powinna charakteryzować również odpowiednia twardość, wytrzymałość mechaniczna, odporność chemiczna, dobra adhezja do metalicznego podłoża, odpowiednia grubość, chropowatość i porowatość. W kształtowaniu właściwości powierzchni implantów powinno się również uwzględnić zwilżalność, energię powierzchniową i skład chemiczny. Zwilżalność powierzchni ma znaczący wpływ na absorpcję molekuł sprzyjających adhezji fibroblastów i/lub bakterii. Wykazano, że powierzchnie hydrofilowe posiadają lepszą aktywność biologiczną w kontakcie z płynami ustrojowymi, a tym samym zapewniają lepszą osteointegrację [10, 109, 110]. Wszczepienie implantu do organizmu wiąże się z koniecznością przeprowadzenia zabiegu operacyjnego, w wyniku, którego mogą zostać wprowadzone drobnoustroje powodujące w późniejszym okresie rozwój stanu zapalnego. Stąd koniecznym jest również, aby implant był

odporny na rozwój drobnoustrojów na styku wszczep - tkanka i nie powodował niepożądanych reakcji w organizmie.

W przypadku stopów NiTi wykazujących efekt pamięci kształtu warstwy powierzchniowe muszą spełniać dodatkowy warunek - powinny wykazywać zdolność do odkształceń mechanicznych w zakresie podobnym do wielkości efektu pamięci kształtu. Istotne znaczenie dla zachowania efektu pamięci kształtu ma także grubość i sztywność wytworzonej warstwy powierzchniowej. Gdy jest ona zbyt cienka, łatwo może ulec uszkodzeniu, natomiast zbyt grube i/lub sztywne warstwy powierzchniowe nie są wskazane, gdyż mogą prowadzić do ograniczenia efektu pamięci kształtu lub pękać i odpryskiwać, dlatego bardzo istotny jest dobór metody modyfikacji powierzchni, która umożliwi wytworzenie warstw powierzchniowych w określonym zakresie grubości wykazujących jednocześnie dobrą adhezję do metalicznego podłoża. Każda z metod inżynierii powierzchni w określony sposób wpływa na mikrostrukturę, porowatość, stopień amorficzności, skład chemiczny i fazowy, siłę adhezji, morfologię warstwy powierzchniowej oraz stan naprężeń [7, 10, 25, 109]. Znanych jest wiele metod modyfikacji powierzchni stopów do zastosowań medycznych. W przypadku stopów NiTi najczęściej stosowane są: metoda zol-żel, osadzanie elektroforetyczne (EPD) lub elektrochemiczne, metody napyłania plazmowego, CVD, PVD, natryskiwanie termiczne lub plazmowe, rozpylanie jonowe lub magnetronowe, utlenianie, osadzanie jarzeniowe, metody laserowe, hydrotermalne, osadzanie biomimetyczne, implantacja jonów [7]. Metody modyfikacji powierzchni powinny również cechować się prostotą, powtarzalnością i szybkością procesu. Istotne są również aspekty ekonomiczne związane z zakupem i użytkowaniem bardzo często kosztownej aparatury. Większość z wymienionych technik wymaga również stosowania podwyższonej temperatury, co w przypadku stopu NiTi, może spowodować rozkład fazy macierzystej B2 na fazy równowagowe takie jak  $Ni_3Ti$  i  $Ti_2Ni$  lub nierównowagowe, nie biorące udziału w zjawiskach pamięci kształtu. Ich obecność wpływa niekorzystnie na odzysk kształtu oraz zjawisko nadspężystości w stopie. Dlatego w przypadku stopów NiTi szczególną uwagę powinno się skupić na zastosowaniu niskotemperaturowych metod modyfikacji powierzchni. Temperatura wytwarzania warstw powierzchniowych ma również znaczenie dla rodzaju osadzanego materiału oraz struktury i właściwości utworzonej z niego warstwy powierzchniowej.

Spośród wyżej wymienionych warstw powierzchniowych wytworzonych różnicowanymi metodami inżynierii powierzchni na powierzchni stopu NiTi, zdecydowana większość nie została zbadana kompleksowo pod kątem potencjalnych zastosowań medycznych. Publikacje w głównej mierze dotyczyły doboru optymalnych parametrów wytwarzania wybranymi metodami, charakterystyki strukturalnej, topograficznej, adhezji, bioaktywności lub odporności korozyjnej otrzymanych warstw powierzchniowych. W większości przypadków nie został określony wpływ modyfikacji powierzchni na przebieg przemiany martenzytycznej w stopie NiTi oraz nie zostało

zbadane zachowanie się warstw powierzchniowych podczas odkształcenia związanego z indukowaniem efektów pamięci kształtu. Szereg publikacji nie uwzględniał również charakterystyki biokompatybilności zmodyfikowanej powierzchni oraz długoterminowych badań mikrobiologicznych.

Wśród stosowanych metod modyfikacji powierzchni na szczególną uwagę zasługuje metoda pasywacji w autoklawie parowym [7, 60] oraz elektroforetycznego osadzania (EPD) [12-14, 53, 67-69, 72-74, 76, 82, 84, 85, 98, 101, 102]. Obie są metodami ekonomicznymi, charakteryzującymi się dużą szybkością procesu oraz powtarzalnością wyników, a ponadto stwarzają możliwość modyfikacji powierzchni obiektów o złożonych kształtach i zróżnicowanej morfologii.

Właściwości biomechaniczne stopów NiTi sprawiają, że lepiej niż inne materiały metaliczne nadają się do zastosowania jako zespolenia kostne. Najlepsze wiązanie metalowego implantu z tkanką kostną uzyskuje się poprzez wcześniejsze wytworzenie na jego powierzchni warstwy powierzchniowej opartej o fosforany wapnia [8-11].

## 4. Ceramika oparta o fosforany wapnia (CaP)

Ceramika oparta o fosforany wapnia (CaP) zajmuje wyjątkowe miejsce wśród materiałów stosowanych w ortopedii, traumatologii i stomatologii [8-11, 110, 111]. Z układu CaO - P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> tylko cztery związki o różnym stosunku Ca / P mają istotne znaczenie dla implantologii (Tabela 1). Wszystkie z wymienionych były testowane w warunkach *in-vivo*, natomiast C<sub>2</sub>P, C<sub>3</sub>P i C<sub>4</sub>P dodatkowo poddano próbom klinicznym. Największym zainteresowaniem z tego układu cieszy się trójfosforan wapnia - TCP. Z układu CaO - P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - H<sub>2</sub>O (Tabela 2) tylko hydroksyapatyt (HAp) znalazł szerokie zastosowanie w inżynierii biomateriałów. Pozostałe fosforany wapnia z tego układu są stosowane głównie jako surowce do otrzymywania TCP lub HAp. W medycynie stosowane są również ceramiczne dwufazowe materiały implantacyjne oparte o fosforany wapnia - BCP, zawierające w swym składzie HAp i TCP [8-11, 110, 112].

Tabela 1. Związki układu CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> o znaczeniu dla medycyny [110].

Oznaczenie	Nazwa związku	Nazwa mineralogiczna	Wzór chemiczny	Stosunek Ca / P
CP	Metafosforan (V) wapnia	-	Ca(PO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,5
C <sub>2</sub> P, CPP	Pirofosforan (V) wapnia	-	Ca <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	1,0
C <sub>3</sub> P, TCP	Ortofosforan (V) wapnia	Whitlockit	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	1,5
C <sub>4</sub> P, TTCP	Dziewięciotlenek difosforu (V) tetrwapnia	Hilgenstockit	Ca <sub>4</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> O	2,0

Tabela 2. Związki układu CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-H<sub>2</sub>O o znaczeniu dla medycyny [110].

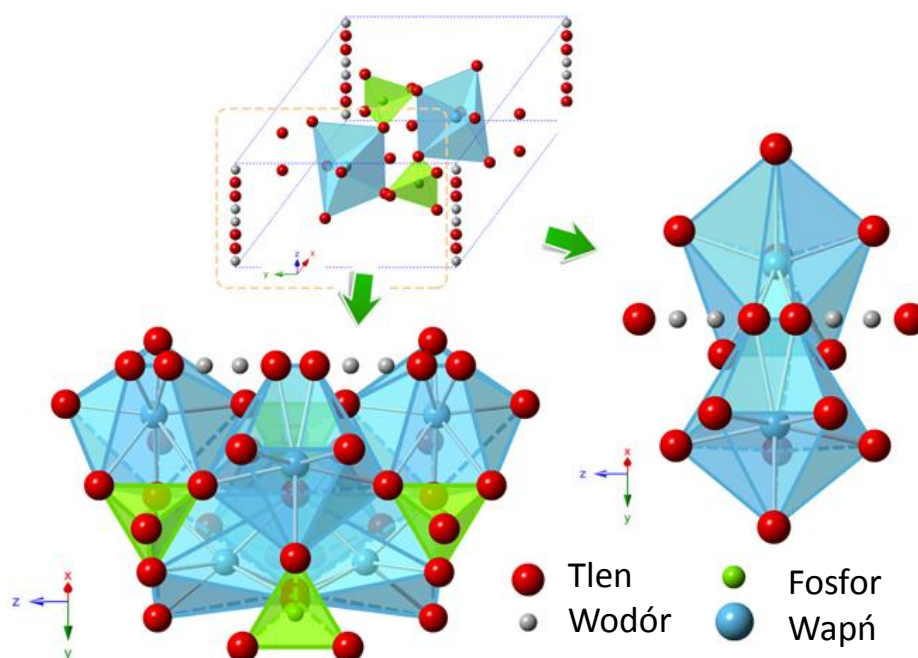
Oznaczenie	Nazwa związku	Nazwa mineralogiczna	Wzór chemiczny	Stosunek Ca / P
MCPA	Diwodoroortofosforan (V) wapnia	-	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	0,5
MCPM	1-hydrat diwodorofosforanu (V) wapnia	-	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	0,5
DCPD	2-hydrat wodorofosforanu (V) wapnia	Brushyt	CaHPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	1,0
DCPA	Wodorofosforan (V) wapnia	Monetyt	CaHPO <sub>4</sub>	1,0
OCP	5-hydrat diwodoro-szescioortofosforanu (V) ośmiowapnia	-	Ca <sub>8</sub> H <sub>2</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> ·2H <sub>2</sub> O	1,333
HAp, HA	Sześćoortofosforan (V) diwodorotlenku dziesięciowapnia	Hydroksyapatyt, apatyt hydroksylowy	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub> Ca <sub>5</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> (OH)	1,667

Ceramika fosforanowa cechuje się bioaktywnością oraz bardzo dużą biogodnością zarówno w stosunku do tkanek twardych jak i miękkich. Dobra biotolerancja tej ceramiki wynika z dużego podobieństwa jej składu chemicznego i fazowego oraz właściwości do apatytów biologicznych występujących w kościach i zębach [8-11, 110, 112, 113].

Istotne znaczenie dla zastosowania ceramiki CaP w medycynie ma również to, że jest ona dielektrykiem. Wykonane z niej implanty nie nagrzewają się w czasie prowadzenia zabiegów fizykoterapeutycznych i nie zaburzają przebiegającego w organizmie za pośrednictwem nerwów transportu sygnałów elektrycznych [8-10, 110].

#### 4.1. Ceramika hydroksyapatytowa (HAp)

Ceramika hydroksyapatytowa (HAp) jest jednym z wiodących materiałów w chirurgii kostnej. Wyróżnia się hydroksyapatyt stechiometryczny (s-HAP) o stosunku molowym Ca/P równym 1,67 (o wzorze  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  lub  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ ) oraz niestechiometryczny (ns-HAP). Modelowym związkiem odpowiadającym fazie kości jest ns-HAp, natomiast hydroksyapatyty syntetyczne obejmują zarówno s-HAp jak i ns-HAp. Hydroksyapatyt syntetyczny, mineralogiczny i biologiczny krystalizują w sieci o układzie heksagonalnym o symetrii opisanej grupą przestrzenną  $P6_3/m$  [8-11, 110, 114]. Rysunek 9 przedstawia rozmieszczenie atomów w sieci krystalicznej hydroksyapatytu.



Rysunek 9. Komórka elementarna hydroksyapatytu. Rysunek wygenerowano w programie Crystalmaker 2.3.0.

HAp charakteryzuje się wysokim stopniem biozgodności, osteokondukcyjności oraz zdolności do tworzenia z żywymi tkankami połączeń chemicznych. Właściwości mechaniczne tworzyw hydroksyapatytowych determinuje ich skład chemiczny, gęstość, porowatość i wielkość ziaren. Pokrycie implantów metalicznych warstwą tego związku zapewnia lepsze ich umocowanie wewnątrz organizmu i znacznie wydłuża czas ich użytkowania. Poniżej pH = 6 HAp posiada ujemny potencjał w roztworach wodnych, co sprzyja odpychaniu bakterii [8-11, 25, 110]. Warstwy hydroksyapatytowe polepszają również odporność korozyjną implantów, odporność na ścieranie i stanowią barierę ochronną dla jonów Ni [9, 10, 65, 66, 71, 114]. W przypadku porowatych stopów, warstwa hydroksyapatytu formuje się również w porach [9, 10, 66, 110].

W środowisku żywego organizmu HAp jest materiałem słabo rozpuszczalnym i wolno resorbującym się w tkankach. Szybkość resorpcji pokrycia hydroksyapatytowego zależy od umiejscowienia w organizmie i jest większa w miejscach, gdzie implant nie ma kontaktu z kością (np. w przestrzeniach szpikowych), a prawie nie występuje w obszarach, w których implant przylega do kości. Większej resorpcji sprzyja również niski stopień krystaliczności ceramiki hydroksyapatytowej [110].

Struktura hydroksyapatytu przyjmuje różnorodne podstawienia izomorficzne, zarówno w podsieci kationowej jak i anionowej, bez niszczenia struktury komórki elementarnej (Tabela 3). Obecność obcych pierwiastków śladowych w podsieci kationowej wpływa na aktywność enzymów związanych z działaniem komórek kostnych. Ilość wbudowywanych pierwiastków zależy od warunków tworzenia się struktury, a ich obecność może wpływać również na stechiometrię HAp, krystaliczność oraz stabilność termiczną i chemiczną związku [8, 10, 110, 115, 116].

Tabela 3. Możliwości podstawień jonowych w strukturze hydroksyapatytu (opracowane na podstawie [10, 110]).

Jon podstawiany	Jon podstawiający
Ca <sup>2+</sup>	H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Li <sup>+</sup> , Ag <sup>+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Ba <sup>2+</sup> , Hg <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Sr <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Al <sup>3+</sup> , Cr <sup>3+</sup> , Fe <sup>3+</sup>
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , AsO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , VO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , BO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>
OH <sup>-</sup>	F <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup> , CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , Br <sup>-</sup> , J <sup>-</sup> , O <sub>2</sub> <sup>2-</sup>

Podstawienie w podsieci anionowej grupami CO<sup>3-</sup> skutkuje powstawaniem tzw. apatytów węglanowych (CO<sub>3</sub>Ap, CHAp, C-HAp). Jeżeli jony CO<sup>3-</sup> zastępują grupy OH<sup>-</sup>, wówczas powstaje tzw. apatyt węglanowy typu A (A - CO<sub>3</sub>Ap, A - CHAp), natomiast w przypadku podstawień jonów PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, powstaje apatyt węglanowy typu B (B - CO<sub>3</sub>Ap, B - CHAp). W układach biologicznych najczęściej występuje B-CHAp. Aniony węglanowe w hydroksyapatycie biologicznym są również zaadsorbowane na jego powierzchni [110, 117-119]. Wbudowanie jonów Mg<sup>2+</sup> i CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> powoduje obniżenie rozmiarów

krystalitów oraz zwiększenie rozpuszczalności. Efektem niskiej krystaliczności jest duża reaktywność apatytów mająca swe odzwierciedlenie w procesach resorpcji kości [120-122].

Temperatura rozkładu hydroksyapatytu zależy w głównej mierze od składu chemicznego związku, wielkości jego cząstek i ciśnienia cząstkowego pary wodnej. Stechiometryczny HAp wykazuje stabilność termiczną do temperatury 1430 °C, powyżej której rozkłada się do  $\alpha'$  TCP ( $\alpha'$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) i TTCP (Ca<sub>4</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>O). Podczas ogrzewania następuje stopniowa dehydroksylacja hydroksyapatytu polegająca na utracie wody konstytucyjnej z zachowaniem struktury związku. Wraz ze wzrostem temperatury HAp traci w sposób odwracalny grupy OH<sup>-</sup> i przechodzi stopniowo w oksyhydroksyapatyt (OHAp, Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2-2x</sub>O<sub>x</sub>□<sub>x</sub>, gdzie □ oznacza wakansy), a następnie w oksyapatyt (OAP, Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>O) [110, 123-126]. Z uwagi na to, że HAp, OHAp i OAP są rentgenograficznie nierozróżnialne, dla wszystkich przyjęto stosować określenie „ceramika hydroksyapatytowa” [110].

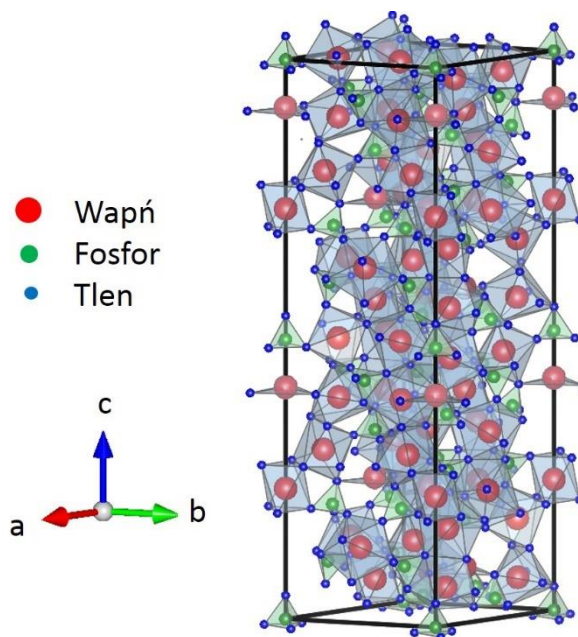
#### 4.2. Ceramika whitlockitowa - trójfosforan wapnia, Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, TCP, C<sub>3</sub>P

Ceramika TCP (*tricalcium phosphate*) jest drugim obok hydroksyapatytu najczęściej stosowanym w medycynie biomateriałem opartym o fosforany wapnia. Zaliczana jest do materiałów wysoce biozgodnych, bioaktywnych i resorbowalnych. W warunkach in vitro wykazuje znacznie większą rozpuszczalność chemiczną i biologiczną od hydroksyapatytu oraz większą skłonność do resorpcji i biodegradacji, co sprzyja szybszej regeneracji kości w miejscu wszczepienia. Tworzywa TCP wykazują również wysoką stabilność chemiczną [8, 10, 110, 127-130]. TCP występuje w dwóch odmianach polimorficznych: niskotemperaturowej  $\beta$ -TCP o strukturze heksagonalnej (trwała do 1125 °C) i wysokotemperaturowej  $\alpha$ -TCP o strukturze jednoskośnej (oraz jej forma  $\alpha'$  trwała powyżej temperatury 1300 °C). Rysunek 10 przedstawia komórkę elementarną  $\beta$ -TCP.

Temperatury przemian polimorficznych są uzależnione od zawartości zanieczyszczeń (głównie Mg i Fe) oraz szybkości wygrzewania. Przemianie polimorficznej  $\beta$ -TCP →  $\alpha$ -TCP towarzyszy zmiana objętości o ok. 7,3 %. Skutkuje to powstawaniem podczas chłodzenia naprężeń mogących doprowadzić do spękań i tym samym obniżenia wytrzymałości mechanicznej. Czysty  $\beta$ -TCP nie występuje w układach biologicznych. Część jonów Ca<sup>2+</sup> jest zastępowanych jonami Mg<sup>2+</sup>, w wyniku czego powstaje whitlockit ( $\beta$ -TCMP,  $\beta$ -(Ca, Mg)<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>). Jony Mg<sup>2+</sup> stabilizują strukturę związku. Natomiast  $\alpha$ -TCP nie jest w ogóle spotykany w żywych organizmach. Faza ta wykazuje wyższą rozpuszczalność i szybkość rozpuszczania oraz około pięciokrotnie wyższą skłonność do resorpcji w stosunku do odmiany niskotemperaturowej [8, 10, 110, 128].



W środowisku płynów ustrojowych zachodzi hydroliza oraz/lub rozpuszczanie ceramiki whitlockitowej, a następnie ponowne wytrącanie obecnych w roztworze jonów wapniowych i fosforanowych w postaci ns-HAp. Procesy te powodują pokrycie powierzchni ceramiki TCP stabilną warstwą hydroksyapatytową wiążącą implant z kością, co zapewnia wysoki stopień osteointegracji.  $\beta$ -TCP wszczepiony w ubytki kostne ulega resorpcji przez komórki olbrzymie i makrofagi. W warunkach korzystnych następuje jego progresywne zastępowanie przez nowo tworzącą się kość. W przeciwieństwie do HAp, osteokonduktywne właściwości TCP są obserwowane już we wczesnym etapie po implantacji [110, 128, 130, 131].



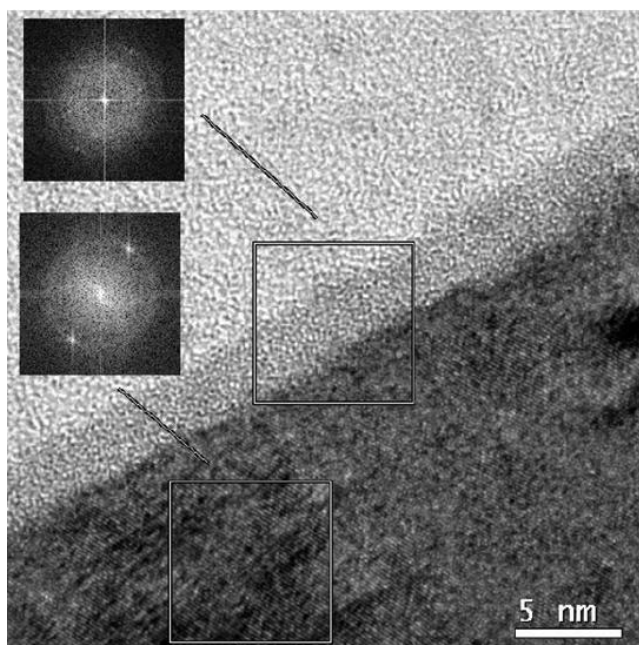
Rysunek 10. Komórka elementarna  $\beta$ -TCP. Rysunek wygenerowano w programie VESTA 3 [15].

#### 4.3. Ceramika dwufazowa oparta o fosforany wapnia - BCP

Ceramiczne materiały dwufazowe oparte o fosforany wapnia - BCP (*biphasic calcium phosphates*) wzbudzają coraz większe zainteresowanie do zastosowań implantacyjnych. Zawierają one w swoim składzie ceramikę hydroksyapatytową i whitlockitową. Występowanie obok HAp-u dodatkowej fazy towarzyszącej jaką stanowi TCP podnosi resorbowalność ceramiki. Dodatek  $C_3P$  sprawia, że powierzchnia materiału w środowisku żywego organizmu, podobnie jak w przypadku monofazowej ceramiki whitlockitowej, zostaje pokryta stabilną warstwą hydroksyapatytową. Badania wykazały, że ceramika dwufazowa wykazuje większą aktywność osetogeniczną od materiałów monofazowych oraz szybciej i mocniej wiąże implant z kością. Dobór stosunku zawartości obu faz oraz porowatości ceramiki pozwala na regulację szybkości i stopnia resorpcji [10, 110, 112, 132-135].

## 5. Pasywacja stopów NiTi w autoklawie parowym

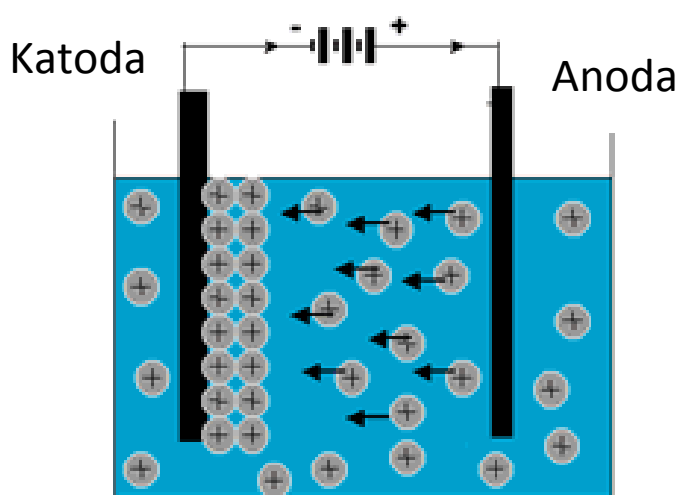
Wśród metod modyfikacji powierzchni stopów NiTi na szczególną uwagę zasługuje metoda pasywacji w autoklawie parowym. Jest to metoda szybka, prosta, ekonomiczna, dająca powtarzalne wyniki i umożliwiająca modyfikację powierzchni implantów o skomplikowanych kształtach i morfologii. Badania wykazały, że w wyniku autoklawizacji na powierzchni stopu NiTi uzyskuje się samorepasywującą się amorficzną warstwę  $\text{TiO}_2$ , polepszającą odporność korozyjną stopu. Konsekwencją tego jest brak defektów strukturalnych będących źródłem elektrochemicznego przebicia. Otrzymane tą metodą warstwy tlenków tytanu w czasie 30 minut w temperaturze  $134^\circ\text{C}$  mają grubość ok. 3,5 nm i ściśle przylegają do podłoża. Zwiększenie czasu pasywacji prowadzi jedynie do liniowego wzrostu grubości warstwy tlenkowej i nie powoduje zaburzenia jej amorficzności. Otrzymane warstwy charakteryzują się dobrą adhezją do metalicznego podłoża, dużą jednorodnością na całej długości i małą chropowatością (Rysunek 11), a ponadto posiadają zdolność do zastosowań w warunkach dynamicznych. Powierzchnie pasywowane w autoklawie wykazują również bardzo niski stosunek metalicznego niklu do niklu tlenkowego wynoszący 0,1. Jednak pasywacja w przegrzanej parze wodnej jest wystarczająca jedynie dla potrzeb krótkoterminowych implantów [1, 7, 60].



Rysunek 11. Obraz HRTEM obserwowany na przekroju warstwy otrzymanej na podłożu NiTi po 30 minutach pasywacji w autoklawie parowym w temperaturze  $134^\circ\text{C}$  [60].

## 6. Metoda elektroforetycznego osadzania - EPD

Metoda osadzania elektroforetycznego - EPD (*electrophoretic deposition*) zasługuje na szczególną uwagę ze względu na szereg zalet takich jak: duża prędkość otrzymywania powłoki, niski koszt oraz prostota urządzenia do elektroforezy, brak konieczności stosowania podwyższonych temperatur, możliwość osadzania na podłożach o skomplikowanych kształtach i morfologii oraz porowatych, możliwość otrzymywania powłok homogenicznych, wielowarstwowych lub gradientowych. Metoda ta umożliwia ponadto kontrolowanie grubości i morfologii powstającej powłoki poprzez dobór parametrów zawiesiny koloidalnej oraz czasowych i elektrycznych parametrów procesu osadzania. W porównaniu do innych metod modyfikacji powierzchni jest uniwersalna i łatwo przystosowywana do specyficznych zastosowań. EPD jest odwracalnym procesem elektrokinetycznym polegającym na ruchu jednoimiennie naładowanych cząstek fazy rozpraszanej układu koloidalnego względem fazy rozpraszającej pod wpływem przyłożonego pola elektrycznego. Naładowane cząstki są przyciągane i osadzone w wyniku koagulacji na przewodzącym podłożu o przeciwnym znaku. W zależności od znaku ładunku cząstek i podłoża wyróżnia się kateforezę (podłoże jest katodą) i anaforezę (podłoże jest anodą). Do wytwarzania warstw ceramicznych stosowana jest kateforeza. Schemat procesu przedstawiono na Rysunku 12. Osadzanie elektroforetyczne można przeprowadzać używając stałego lub zmiennego napięcia bądź przy natężeniu pola w zakresie do  $10 \text{ V} / \text{m}^{-1}$  (elektroforeza niskonapięciowa) lub wyższych wartości (elektroforeza wysokonapięciowa) [12-14, 25, 127, 136].



Rysunek 12. Schemat metody osadzania kateforetycznego.

Główną siłę napędową osadzania elektroforetycznego stanowi ładunek cząstek i ich ruchliwość elektroforetyczna w rozpuszczalniku pod wpływem pola elektrycznego. Na natężenie prądu w trakcie procesu składa się ładunek cząstek oraz ładunek wolnych jonów obecnych w zawieszynie co powoduje, że ilość osadzonych cząstek nie zależy w prosty sposób od natężenia prądu [25, 127, 136].

Na przebieg procesu elektroforetycznego osadzania oraz jakość wytworzonych tą metodą powłok mają wpływ:

- Właściwości zawiesiny koloidalnej [12-14, 136-143]: dyspersja cząstek koloidalnych [13, 14, 136-139, 144], ich rozmiar [13, 14, 136, 139, 140, 145], potencjał Zeta [13, 14, 136, 137, 140], stężenie cząstek stałych w zawieszynie [13, 14, 98, 136, 140], przewodnictwo zawiesiny koloidalnej [13, 14, 136, 140, 141]. Parametry takie jak dyspersja cząstek koloidalnych, ich rozmiar i potencjał Zeta odgrywają główną rolę w tworzeniu stabilnej zawiesiny koloidalnej i są ściśle zależne od pH roztworu.
- Zastosowane parametry osadzania takie jak czas depozycji oraz wysokość przyłożonego napięcia / natężenia prądu [12-14, 136-148].
- Sposób przygotowania zawiesiny i podłoża [12-14, 136-142].

Pomimo wielu zalet, niedogodnością EPD w przypadku osadzania powłok ceramicznych jest ich słaba adhezja do metalicznego podłoża oraz konieczność zastosowania obróbki cieplnej [12-14, 136]. Spiekanie prowadzi do poprawy adhezji oraz konsolidacji osadzonych cząstek ceramicznych. Kluczowy jest dobór odpowiedniej temperatury i czasu obróbki cieplnej. Zastosowanie zbyt wysokiej temperatury może doprowadzić do rozkładu cząstek ceramiki i metalicznego podłoża oraz może skutkować pękaniem i łuszczeniem się osadzonych powłok.

Dane literaturowe dowodzą, że dotychczas na stopach NiTi metodą elektroforezy zostały wytworzone i scharakteryzowane następujące warstwy oparte o fosforany wapnia: HAp [66, 67, 71, 73, 149],  $\beta$ -TCP [68, 149, 150] oraz BCP [72], z czego wszystkie publikacje poza [66, 71] są efektem badań związanych z niniejszą pracą doktorską. Autorzy publikacji [66, 71] wytworzyli metodą EPD warstwy hydroksyapatytu na stopie NiTi z roztworu koloidalnego sporządzonego poprzez dodanie 8 g proszku HAp o wielkości cząstek około 1  $\mu\text{m}$  do 100 ml n-butanolu. Wytworzona zawieszina koloidalna miała pH = 10,7 oraz wykazywała przewodnictwo 4,4  $\mu\text{S} / \text{cm}$ . Podłoże NiTi do osadzania zostało przygotowane poprzez szlifowanie na papierach ściernych do gradacji 800. Zastosowano stałonapięciowe osadzanie kataforetyczne przy napięciu 40, 60 i 80 V w czasie 120 s. Użyto przeciwelektrody wykonanej z grafitu. Jednorodne i gęste powłoki ceramiczne otrzymano przy zastosowaniu napięcia 60 V. Następnie w celu zwiększenia adhezji, próbki zostały poddane obróbce cieplnej w 800 °C przez 2 godziny w atmosferze ochronnej argonu. Zastosowane warunki spiekania doprowadziły do częściowego rozkładu HAp do  $\beta$ -TCP.

Wytworzone warstwy miały grubość ok. 120  $\mu\text{m}$  i wykazywały adhezję do metalicznego podłoża równą  $(18,1 \pm 3,2)$  MPa. Potwierdzono również ich bioaktywność. Wszystkie z wytworzonych warstw stanowiły barierę dla uwalnianych jonów niklu, ale najlepsze właściwości ochronne posiadały warstwy osadzone przy 60 V. Wykazywały one również najlepsze właściwości korozyjne ( $E_{\text{kor}} = -157$  mV,  $I_{\text{kor}} = 4,3 \cdot 10^{-5}$  mA /  $\text{cm}^2$ ).

W publikacjach [66, 71] nie został jednak uwzględniony wpływ zastosowanych parametrów wytwarzania, w szczególności spiekania ( $800^\circ\text{C} / 2\text{h}$ ), na rozkład podłoża NiTi. Obróbka cieplna przeprowadzona w podwyższonej temperaturze może skutkować niekorzystnym rozkładem fazy macierzystej B2 na fazy równowagowe ( $\text{Ni}_3\text{Ti}$ ,  $\text{Ti}_2\text{Ni}$ ) bądź nierównowagowe, nie wykazujące efektów pamięci kształtu. W pracach [66, 71] informacje dotyczące stopu NiTi zostały pominięte. Nie został również poruszony aspekt wpływu zastosowanych parametrów wytwarzania na przebieg przemiany martenzytycznej odpowiedzialnej za występowanie efektów pamięci kształtu. Nie zbadano też odporności tak grubych warstw ( $\approx 120 \mu\text{m}$ ) na odkształcenie związane z indukowaniem efektów pamięci kształtu. Zbyt grube i/lub sztywne warstwy mogą ograniczyć te zjawiska, a przy odkształceniu mogą pękać i odrywać się od metalicznego podłoża. Autorzy publikacji [66, 71] wykonali badania bioaktywności wytworzonych warstw w sztucznych płynach ustrojowych, ale nie poruszyli istotnego zagadnienia biogodności istotnego dla zastosowań medycznych.

### III. Cel, zakres i teza pracy

Dokonana w przeglądzie literaturowym analiza aktualnego stanu zagadnień wskazuje na zasadność podjętego tematu pracy, ponieważ zdecydowana większość pozycji literaturowych nie uwzględnia:

- Kompleksowej charakterystyki wytworzonych warstw pod potencjalne zastosowania medyczne;
- Zagadnień związanych z wpływem zastosowanych parametrów wytwarzania warstw powierzchniowych na przebieg przemiany martenzytycznej odpowiedzialnej za występowanie efektów pamięci kształtu w stopie NiTi;
- Odporności wytworzonych warstw powierzchniowych na odkształcenie związane z indukowaniem efektów pamięci kształtu;
- Badań zwilżalności i biogodności zmodyfikowanej powierzchni oraz długoterminowych badań mikrobiologicznych niezwykle istotnych dla zastosowań w medycynie implantacyjnej;
- Prób wytwarzania warstw powierzchniowych na implantach mających zastosowanie w praktyce, które swoim kształtem i wielkością odbiegają od próbek testowych.

Studia literaturowe oraz wstępne badania i analizy własne z zakresu modyfikacji powierzchni stopu NiTi umożliwiły sformułowanie następującej tezy pracy:

***Wielofunkcyjne warstwy złożone  $TiO_2$  / CaP wytworzone na powierzchni stopu NiTi poprawiają jego biokompatybilność z jednoczesnym zachowaniem zjawiska pamięci kształtu.***

Z powyższej tezy wynika cel pracy:

***Celem pracy jest opracowanie warunków wytwarzania wielofunkcyjnych warstw złożonych z tlenków tytanu oraz fosforanów wapnia na powierzchni stopu NiTi oraz ich kompleksowa charakterystyka.***

Dla potwierdzenia słuszności tezy i osiągnięcia założonego celu pracy wytypowano następujące zadania pracy:

1. Charakterystyka materiałów w stanie wyjściowym.
2. Dobór optymalnych warunków wytwarzania warstw  $TiO_2$  / CaP na powierzchni stopu NiTi. Warstwy  $TiO_2$  zostały wytworzone poprzez pasywację w autoklawie parowym, natomiast CaP metodą elektroforetycznego osadzania.
3. Charakterystyka struktury, morfologii i topografii wytworzonych powłok CaP.

4. Charakterystyka właściwości mechanicznych warstw takich jak adhezja i odporność na odkształcenie związane z indukowaniem efektów pamięci kształtu.
5. Określenie wpływu zastosowanych metod wytwarzania powłok na przebieg przemiany martenzytycznej.
6. Ocena odporności korozyjnej.
7. Ocena zwilżalności.
8. Ocena biologiczną biogodności i aktywności mikrobiologicznej.
9. Dobór warunków wytwarzania warstw na stosowanym w praktyce implancie oraz ich charakterystyka.

## IV. Część eksperymentalna

### 1. Metodyka badań

#### 1.1. Charakterystyka zawiesiny koloidalnej

Potencjał Zeta i przewodnictwo zawiesiny koloidalnej oraz wielkość cząstek w zawieszynie i ich elektroforetyczna mobilność zostały określone przy użyciu urządzenia Zetasizer Nano-ZS firmy Malvern. Wodorotlenek sodu (NaOH) i kwas solny (HCl) zostały zastosowane do regulacji pH zawiesiny. Pomiar wielkości cząstek w zawieszynie opiera się na zjawisku ruchów Browna i technice dynamicznego rozpraszania światła (DLS - *Dynamic Light Scattering*), a potencjału Zeta na połączeniu zjawiska elektroforezy i techniki LDV (*Laser Doppler Velocimetry*).

#### 1.2. Metody analizy termicznej

##### 1.2.1. Dylatometria (TD)

Do pomiaru zmian wymiarów liniowych proszków wyjściowych (HAp,  $\beta$ -TCP i BCP) w zależności od temperatury użyto Dylatometru TMA-92 firmy SETARAM. Przyrząd mierzy zmianę długości lub objętości próbek powodowaną zmianą temperatury. Badania prowadzono w temperaturach od 20 do 1400 °C z szybkością grzania 20 °C / min.

##### 1.2.2. Termograwimetria (TGA, TG) i termiczna analiza różnicowa (DTA)

Termograwimetria (TGA) jest metodą polegającą na pomiarze temperaturowej zależności ubytku masy próbki w czasie ogrzewania. W celu łatwiejszej interpretacji krzywych TG stosuje się krzywą różniczkową DTG, wskazującą szybkość ubytku masy w zależności od temperatury ( $-dm / dt = f(T)$ ). Natomiast termiczna analiza różnicowa (DTA) polega na pomiarze różnicy temperatury między próbką badaną a wzorcem w celu określenia efektów cieplnych związanych z zachodzącymi w próbce przemianami fizycznymi i chemicznymi.

Do pomiaru trwałości termicznej proszków wyjściowych (HAp,  $\beta$ -TCP i BCP) użyto analizatora termicznego STA 409 PC firmy NETZSCH sprzężonego z kwadrupolowym spektrometrem masowym QMS 403 C Aëolos (EGA). Próbki były ogrzewane w tyglach wykonanych z  $Al_2O_3$  w atmosferze argonu przy przepływie 40 ml / min. Pomiarzy wykonano w zakresie temperatur od 40 °C do 1450 °C z szybkością grzania / chłodzenia 10 °C / min.

##### 1.2.3. Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC)

Temperatury przemian fazowych stopu NiTi określono metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej kalorymetrem DSC1 firmy Mettler Toledo. DSC jest techniką, w której mierzy się zmiany



różnicy strumienia cieplnego powstającego między próbką badaną a referencyjną w trakcie programu temperaturowego. Pomiar wykonano w atmosferze ochronnej argonu przy chłodzeniu układu ciekłym azotem, w zakresie temperatur od  $-120\text{ }^{\circ}\text{C}$  do  $120\text{ }^{\circ}\text{C}$  przy szybkości grzania / chłodzenia  $10^{\circ}/\text{min}$ . Z otrzymanych termogramów wyznaczono temperatury charakterystyczne i energię odwracalnej przemiany martenzytycznej.

### 1.3. Badania strukturalne

#### 1.3.1. Rentgenowska analiza strukturalna (RAS)

Badania rentgenograficzne przeprowadzono przy użyciu dyfraktometru rentgenowskiego X'Pert Pro firmy Philips używając promieniowania  $\text{Cu}_{K\alpha}$ , wyposażonego w przystawkę do badania cienkich warstw. Badania materiałów wyjściowych (podłoża NiTi oraz proszków ceramicznych) wykonano metodą Bragg-Brentano w zakresie kątowym  $2\Theta$  od  $5$  do  $140^{\circ}$ . Strukturę naniesionych warstw powierzchniowych analizowano przy zastosowaniu metody stałego kąta padania wiązki pierwotnej (SKP) przy stałym kącie padania wiązki pierwotnej  $\alpha$  o wartościach:  $0,2$ ;  $0,3$ ;  $0,5$  i  $1,0$  w zakresie kątowym  $2\Theta$  od  $5$  do  $85^{\circ}$ . Analizę fazową jakościową i ilościową przeprowadzono przy pomocy programu komputerowego X'Pert HighScore wyposażonego w bazę kartotek ICDD - PDF - 4. Parametry komórki elementarnej i zawartość procentowa poszczególnych faz zostały wyliczone metodą Rietvelda.

Dla warstwy pasywowanej zostały przeprowadzone badania metodą reflektometrii w zakresie kątowym  $2\Theta$  od  $0,2$  do  $3,0^{\circ}$ . Obliczenia grubości warstw, ich gęstość oraz chropowatość zostały wykonane w programie WinGixa.

#### 1.3.2. Transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM)

Transmisyjny mikroskop elektronowy (JEM 3010 firmy JEOL) został wykorzystany do obserwacji warstwy pasywowanej oraz próbek po obróbce cieplnej. Badania prowadzone były na cienkich foliach, które wykonano metodą przekrojów poprzecznych poprzez polerowanie jonowe korzystając z polerki typu PIPS firmy Gatan.

#### 1.3.3. Spektroskopia Ramana

Spektroskopia Ramana wykorzystywana jest do określenia w sposób pośredni składu chemicznego danego związku poprzez analizę pasm dostarczających informacje o drganiach poszczególnych grup funkcyjnych. Dla części warstw została wykonana również analiza klastrowa pozwalająca rozróżnić od siebie poszczególne fazy obecne w próbce na podstawie różnic pomiędzy widmami (położenie linii, ich intensywność i liczba).

Widma ramanowskie zbierane były przy pomocy mikroskopu konfokalnego WITec CRM alpha 300 sprzężonego z linią wzbudzącą o długości fali  $532\text{ nm}$  ( $50\text{ mW}$ ) jak również kamerą CCD. Widma o rozdzielczości spektralnej  $3\text{ cm}^{-1}$  rejestrowano w zakresie  $120 - 4000\text{ cm}^{-1}$  oraz w temperaturze

pokojuj wykorzystując obiektyw Olympus (100 x / 0.9 NA). Zarejestrowane dane zostały skorygowane przy pomocy korekcji linii bazowej oraz dopasowane z wykorzystaniem procedury fitującej oraz funkcji Lorentz-Gauss.

## 1.4. Charakterystyka morfologii i topografii wytworzonych warstw

### 1.4.1. Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM)

Do obserwacji i oceny jakości powierzchni wytworzonych warstw powierzchniowych zastosowano elektronowy mikroskop skaningowy (SEM). Obserwacje prowadzono przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego JEOL JSM - 6480 oraz TESCAN Mira 3 LMU, wyposażonych w detektory elektronów wtórnych (SEI), odbitych (BSE) i charakterystycznego promieniowania rentgenowskiego EDS. Powierzchnię próbek napyłono 5 nm warstwą chromu lub węgla przy użyciu napyłarki Quorum Q150T ES. Do określenia grubości wytworzonych warstw, zostały wykonane przekroje poprzeczne. W tym celu próbki zostały przecięte poprzecznie, zainkludowane w żywicy grafitowej, a następnie szlifowane i polerowane przy użyciu papierów ściernych (o gradacji do 2000), past diamentowych (do 1  $\mu\text{m}$ ) i ostatecznie zawiesiny koloidalnej  $\text{SiO}_2$  (0,1  $\mu\text{m}$ ).

### 1.4.2. Mikroskopia sił atomowych (AFM)

Mikroskop sił atomowych (AFM) firmy Hysitron został użyty do zobrazowania 3D i badania chropowatości powierzchni stopu NiTi oraz wytworzonych warstw powierzchniowych zarówno dla próbek przed jak i po obróbce cieplnej. Pomiaru wykonano w trybie bezkontaktowym w atmosferze powietrza na obszarach o wielkości 1 x 1  $\mu\text{m}$ , 5 x 5  $\mu\text{m}$ , 15 x 15  $\mu\text{m}$  i 40 x 40  $\mu\text{m}$ . Następnie zostały wyliczone parametry chropowatości takie jak  $R_a$  (średnia arytmetyczna rzędnych profilu, średnia chropowatość) i  $R_z$  (największa wysokość profilu). Jako wartości wymienionych parametrów wzięto średnią z 6 pomiarów wykonanych w różnych częściach badanej powierzchni.

### 1.4.3. Badania profilografometryczne

Wybrane parametry chropowatości według PN-EN ISO 4287:1999 takie jak  $R_a$  (średnia arytmetyczna rzędnych profilu),  $R_z$  (największa wysokość profilu) i  $R_t$  (całkowita wysokość profilu) zostały również określone przy użyciu profilometru stykowego SurfTest SJ-500 firmy Mitutoyo. Pomiaru zostały wykonane zgodnie z normą PN-ISO 4288:1998. Jako wartości wymienionych parametrów wzięto średnią z 10 pomiarów wykonanych w różnych częściach badanej powierzchni.

## 1.5. Badanie właściwości mechanicznych

### 1.5.1. Badanie adhezji warstw do podłoża NiTi

Siła adhezji wytworzonych warstw do podłoża została wyznaczona zgodnie z normą ASTM F1044. Próbkę z naniesioną warstwą sklejało z próbką niezmodyfikowanego podłoża klejem na bazie żywicy

epoksydowej. Następnie układ poddano działaniu sił ścinających. Badania przeprowadzono na uniwersalnej maszynie wytrzymałościowej INSTRON 5982 / 2127, przy obciążeniu 10 kN i prędkości 1,0 mm / min. Za siłę adhezji została przyjęta maksymalna siła powodująca oderwanie się próbek od siebie.

#### 1.5.2. Badanie odporności warstw na odkształcenie związane z indukowaniem efektów pamięci kształtu

Aby określić odporność wytworzonych warstw na odkształcenie związane z indukowaniem efektów pamięci kształtu, próbki zostały poddane stopniowym odkształceniom mechanicznym, a powierzchnia warstw była obserwowana przy użyciu elektronowego mikroskopu skaningowego. Badania miały na celu określenie stopnia odkształcenia, przy którym następuje przerwanie ciągłości warstw. W przypadku klamer wykonanych ze stopu NiTi, próbki zostały najpierw zanurzone w ciekłym azocie w celu zaindukowania przemiany martenzytycznej, a następnie odkształcone. Po powrocie do kształtu wyjściowego w temperaturze pokojowej, zabieg został powtórzony. Obserwacje mikroskopowe powierzchni wykonano na próbkach w stanie wyjściowym.

#### 1.6. Zwilżalność warstw

Pomiary kąta zwilżania wody przez wytworzone warstwy przeprowadzono przy użyciu goniometru CAM101 z dokładnością do  $\pm 0,01^\circ$  metodą siedzącej kropli w powietrzu. 30 obrazów kropli wody o objętości  $\approx 10 \mu\text{l}$  umieszczonej na badanej powierzchni było rejestrowanych w czasie 30 s. Na podstawie uzyskanych obrazów obliczono średnie wartości kąta zwilżania (CA). Ostateczne wartości kąta zwilżania przyjęto średnią z trzech pomiarów wykonanych w różnych częściach badanej powierzchni.

#### 1.7. Badania korozyjne warstw

Odporność korozyjną wytworzonych warstw badano w odpowietrzonym za pomocą argonu (Ar, czystość 99,999 %), w roztworze Ringera w temperaturze  $37 \pm 2^\circ\text{C}$ . Do badań wykorzystano klasyczne naczynie trójelektrodowe. Elektrodam pracującą była próbka stopu NiTi ze zmodyfikowaną powierzchnią, przeciwelektrodę stanowiła folia platynowa, a wszystkie wartości potencjałów mierzone były względem nasyconej elektrody kalomelowej (NEK). Pomiary prowadzono stosując zestaw elektrochemiczny Autolab / PGSTAT30 Potentiostat / Galwanostat firmy Metrohm / ECO CHEMIE. Obejmowały one rejestrację potencjału metodą obwodu otwartego (EOC) w określonym dla różnych powierzchni czasie, a następnie przeprowadzono badania potencjodynamiczne.

## 1.8. Ocena biologiczna warstw

Doświadczenia wykonywano na komórkach prawidłowych fibroblastów linii NHDF (*Normal Human Dermal Fibroblasts*). Badania miały na celu ilościowe i jakościowe określenie cytotoksyczności zmodyfikowanych warstw.

### 1.8.1. Badanie cytotoksyczności metodą MTS

Test MTS został przeprowadzany zgodnie z protokołem CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay (firmy Promega). W eksperymencie określono ilościowo wpływ cytotoksyczny zmodyfikowanej powierzchni na komórki fibroblastów. Komórki znajdujące się w hodowli w wykładniczej fazie wzrostu trypsynowano, a następnie wysiewano w pożywce hodowlanej DMEM / F12 na płytki Petriego o średnicy 3 cm w ilości  $6,6 \times 10^3$  komórek / 300  $\mu$ l. Stanowiły one grupy kontrolne i do nich odnoszono wyniki testu MTS. Po 24, 48 i 72 godzinach standardowej inkubacji medium hodowlane zostało usunięte, komórki przepłukano PBS<sup>-</sup> i do każdej płytki dodawano 1 ml DMEM (Sigma) bez czerwieni fenolowej. Następnie wykonano test MTS.

Test MTS jest kolorymetryczną metodą pozwalającą ocenić przeżywalność komórek w oparciu o aktywność enzymu dehydrogenazy mitochondrialnej. Podstawą metody jest reakcja redukcji soli błękitu tetrazolowego (3-(4,5-dimetylotiazol-2-yl) -5-(3-karboksymetoksyfenyl) -2-(4-sulfofenyl) -2H-tetrazolium - MTS) do barwnego formazanu przeprowadzana w żywych komórkach z udziałem dehydrogenazy. Ilość formazanu jest proporcjonalna do liczby funkcjonalnych komórek. Do każdej płytki dodano po 200  $\mu$ l odczynnika MTS. Następnie płytki umieszczano w inkubatorze CO<sub>2</sub> na okres 2 godzin. Po tym czasie zawartość płytek przepipetowano po 120  $\mu$ l /dołek na płytki 96 dołkowe i dokonywano spektrofotometrycznego pomiaru absorbancji przy długości fali 490 nm za pomocą czytnika do płytek wielodołkowych SYNERGY4 (firmy BioTek Instruments, USA). Standardowo mierzono również tzw. ślepą próbę (roztwór 100  $\mu$ l DMEM bez czerwieni fenolowej i 20  $\mu$ l MTS). Frakcję przeżywającą wyznaczano w odniesieniu do komórek kontrolnych.

### 1.8.2. Ocena morfologii komórek - mikroskopia fluorescencyjna

Komórki znajdujące się w hodowli w wykładniczej fazie wzrostu trypsynowano, liczone, a następnie wysiewano w pożywce hodowlanej DMEM / F12 na płytki Petriego o średnicy 3 cm (firmy Nunc). Te komórki stanowiły grupy kontrolne. Takie same ilości komórek wysiano również na zmodyfikowane podłoża. Ilości komórek dobrano tak, aby konfluencja komórek na powierzchni podłoża modyfikowanego nie przekraczała 60 - 100 %. Po 24, 48 i 72 godzin standardowej inkubacji medium hodowlane usuwano, komórki przepłukiwano PBS<sup>-</sup> i do każdej płytki dodawano 400  $\mu$ l 5  $\mu$ M Cell Tracker TMGreen CMFDA (Molecular Probes) przygotowanego w DMEM bez czerwieni fenolowej i bez FBS. Komórki inkubowano w ciemności w standardowych warunkach przez 30 minut. Następnie barwnik odpłukiwano przy użyciu PBS<sup>-</sup> a płytki przenoszono na szkiełko mikroskopowe i analizowano. Barwnik CMFDA wnika do żywych komórek, a po wzbudzeniu  $\lambda_{ex} = 492$  nm emituje

światło zielone ( $\lambda_{em} = 517 \text{ nm}$ ). Obserwacje mikroskopowe wykonano przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego Olympus IX81.

### 1.9. Odporność wytworzonych warstw na rozwój drobnoustrojów

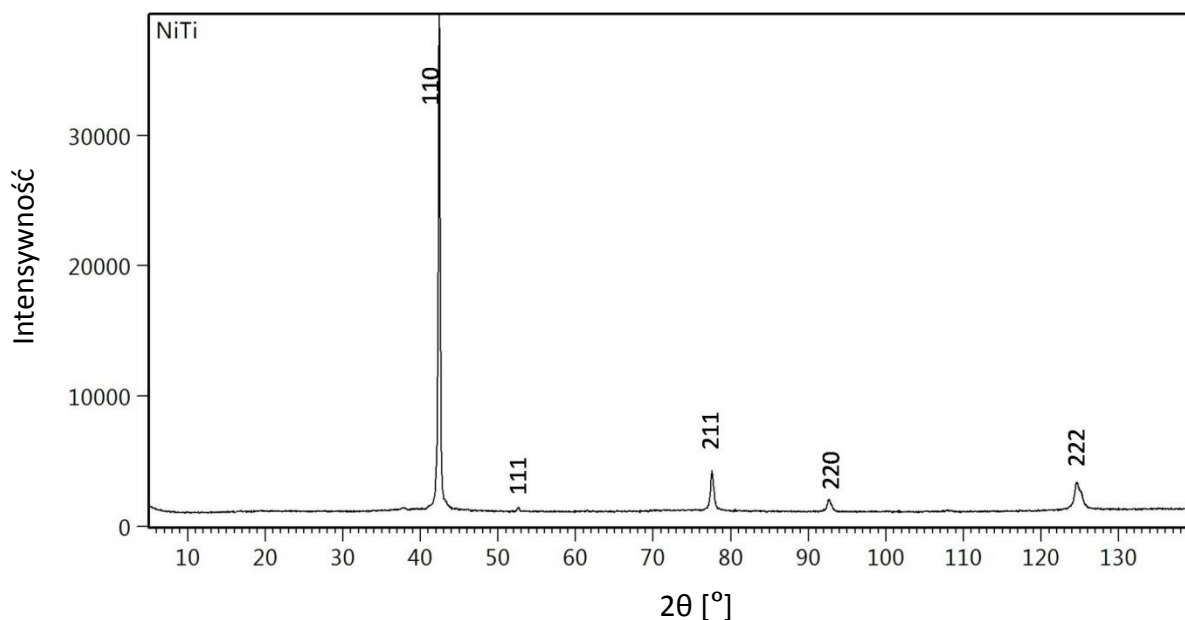
Badanie umożliwia ocenę odporności implantów na rozwój drobnoustrojów w warunkach *in vitro*. Testy uwzględniają interakcje pomiędzy różnymi szczepami bakterii a implantem i pozwalają na ocenę ich adhezji do powierzchni, powstania biofilmu i identyfikację śladów po obecności mikroorganizmów.

Roztwór zawierający mieszaninę bakterii przygotowano zgodnie z proporcjami zawartymi w zgłoszeniu patentowym P 409082 z 4. 08. 2015 r. - „Sposób oceny biodegradacji implantów metalicznych, sposób otrzymywania roztworu bakteryjnego do oceny biodegradacji implantów metalicznych oraz kompozycja bakteryjna do oceny biodegradacji implantów metalicznych”. Do 1 litra wody destylowanej dodano pepton kazeinowy (17,0 g), pepton S (3,0 g), chlorek sodu (5,0 g), fosforan dipotasu (2,5 g) i glukozę (2,5 g), utrzymując pH roztworu na poziomie  $7,3 \pm 0,2$ . Do tak przygotowanej osnowy zaszczepiono kompozycję bakteryjną 5 najczęściej występujących bakterii w polu operacyjnym, o składzie: *Staphylococcus aureus* 20 % obj. kompozycji, *Staphylococcus epidermidis* 20 % obj. kompozycji, *Enterococcus faecalis* 15 % obj. kompozycji, *Enterobacter cloacae* 10 % obj. kompozycji i *Pseudomonas aeruginosa* 35 % obj. kompozycji. Próbkę stopu NiTi ze zmodyfikowaną powierzchnią zostały umieszczone w kolbach z tak przygotowanym roztworem na okres 1, 3 i 6 miesięcy w cieplarni w temperaturze 38 °C w warunkach ciśnienia atmosferycznego. Po upływie określonego czasu, zostały wyjęte z roztworu i zdezynfekowane środkiem odkażającym. Następnie powierzchnia próbek była obserwowana na mikroskopie skaningowym (Philips XL-30).

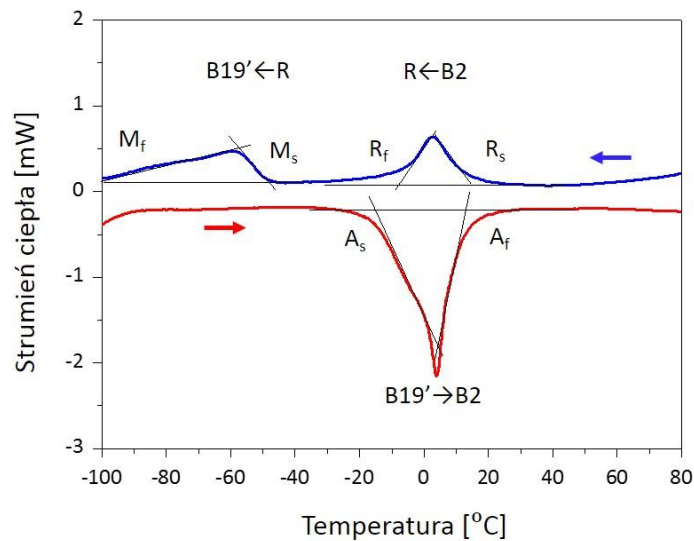
## 2. Charakterystyka materiału badań w stanie wyjściowym

### 2.1. Podłoże NiTi

Jako podłoża do nanoszenia powłok fosforanów wapnia użyto komercyjnego stopu NiTi o składzie chemicznym 50,6 % at. Ni i 49,4 % at. Ti firmy Memry GmbH. Z blachy o grubości około 0,8 mm zostały wycięte próbki o wymiarach 15 mm x 10 mm. Badania rentgenowskie wykazały, że materiał wyjściowy w temperaturze pokojowej występował w fazie  $\beta$  o strukturze typu B2 i grupie przestrzennej  $Pm\bar{3}m$  (ICDD-PDF4 01-078-4618) (Rysunek 13). Stop wykazywał obecność dwustopniowej przemiany martenzytycznej  $B2 \rightarrow R \rightarrow B19'$  podczas chłodzenia oraz jednostopniową przemianę odwrotną  $B19' \rightarrow B2$  podczas grzania (Rysunek 14). Wystąpienie dwustopniowego przebiegu przemiany martenzytycznej jest spowodowane dużym stanem naprężeń będących następstwem deformacji plastycznej na zimno. Parametry charakterystyczne przemian zestawiono w Tabeli 4. Zarówno zakres przemiany martenzytycznej ( $A_f - M_f$ ) jak i pętla histerezy ( $A_f - M_s$ ) wykazywały wysokie wartości, wynoszące odpowiednio 108,3 °C i 58 °C. Badania DSC potwierdziły zakończenie przemiany odwrotnej poniżej temperatury otoczenia.



Rysunek 13. Dyfraktogram rentgenowski stopu NiTi w stanie wyjściowym zarejestrowany w temperaturze pokojowej.

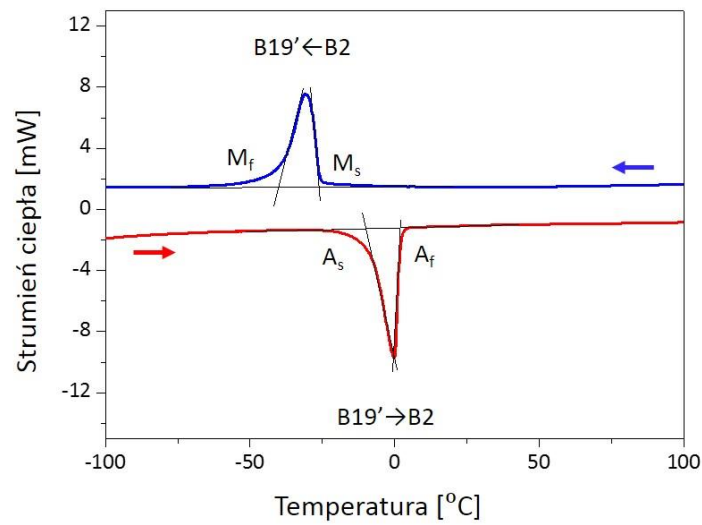


Rysunek 14. Termogram zarejestrowany dla stopu NiTi w stanie wyjściowym.

Tabela 4. Parametry charakterystyczne przemian fazowych określone dla stopu NiTi w stanie wyjściowym.

$A_s$ [°C]	$A_f$ [°C]	$\Delta H$ B19' → B2 [J/g]	$R_s$ [°C]	$R_f$ [°C]	$\Delta H$ B2 → R [J/g]	$M_s$ [°C]	$M_f$ [°C]	$\Delta H$ R → B19' [J/g]
-3,8	9,1	-13,2	12,9	-6,7	4,0	-48,9	-99,2	5,7

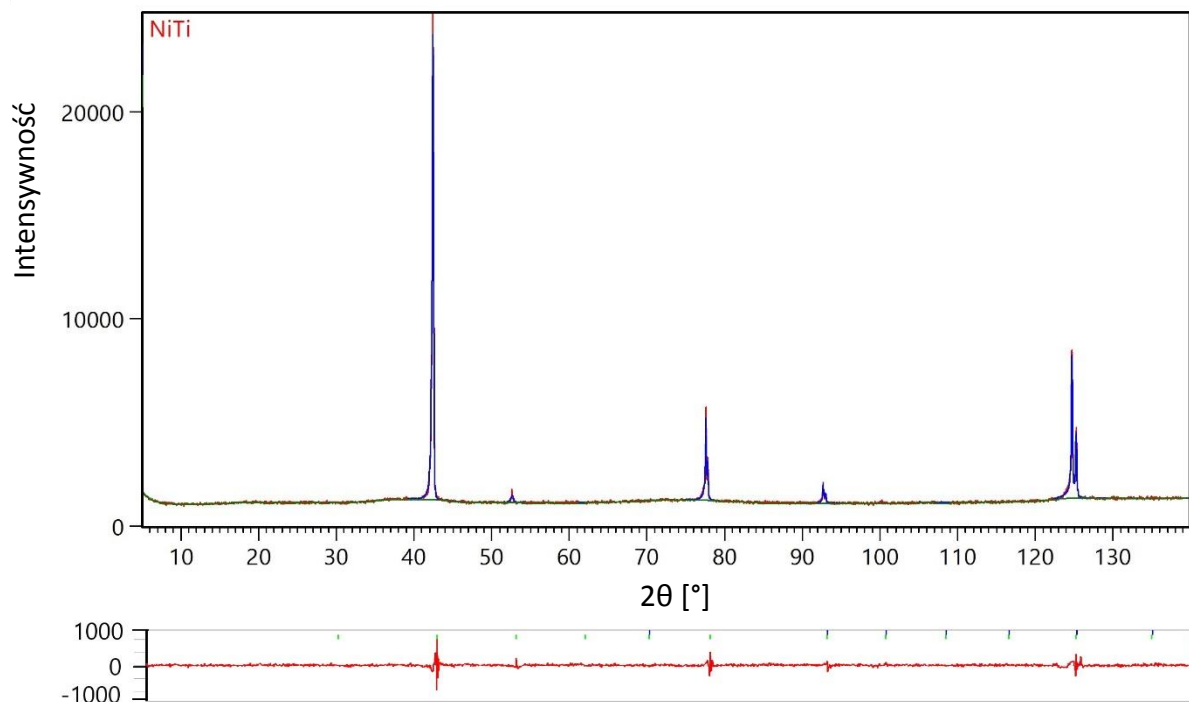
W celu zmniejszenia naprężeń i zakresu przemiany martenzytycznej, podłoże NiTi zostało poddane przesycaaniu. Materiał został wygrzany w 850 °C przez 30 minut, a następnie szybko schłodzony w wodzie z lodem. Konsekwencją zabiegu była zmiana sekwencji przemiany martenzytycznej z dwustopniowej na jednostopniową B2 → B19' (Rysunek 15). Parametry charakterystyczne przemian przedstawia Tabela 5. Zastosowany zabieg obróbki cieplnej skutkowało obniżeniem wartości zakresu przemiany i pętli histerezy odpowiednio do 37,5 °C i 24,2 °C. Nastąpił również wzrost entalpii przemian. W temperaturze pokojowej przesycony stop NiTi w temperaturze pokojowej występował w fazie  $\beta$  o strukturze typu B2 (ICDD- DF 01-078-4618), co potwierdziły badania rentgenowskie (Rysunek 16). Parametr komórki elementarnej stopu NiTi wyznaczony metodą Rietvelda wynosił  $a_0 = 3,011(6)$  Å przy następujących współczynnikach dopasowania:  $R_{wp} = 5,57$  %,  $R_{exp} = 2,24$  % oraz współczynnika jakości dopasowania  $G_{OF} = 2,48$ .



Rysunek 15. Termogram zarejestrowany dla stopu NiTi po przesycaeniu.

Tabela 5. Parametry charakterystyczne przemian fazowych określone dla stopu NiTi w stanie wyjściowym po przesycaeniu.

$A_s$ [°C]	$A_f$ [°C]	$\Delta H$ B19' $\rightarrow$ B2 [J/g]	$M_s$ [°C]	$M_f$ [°C]	$\Delta H$ B2 $\rightarrow$ B19' [J/g]
-8,6	1,9	-19,4	-22,3	-35,6	19,8



Rysunek 16. Dyfraktogram rentgenowski z dopasowaniem Rietvelda dla przesyconego stopu NiTi w temperaturze pokojowej, gdzie dyfraktogram eksperymetalny to (—), teoretyczny (—), a krzywa poniżej dyfraktogramu (—) to krzywa różnicowa.



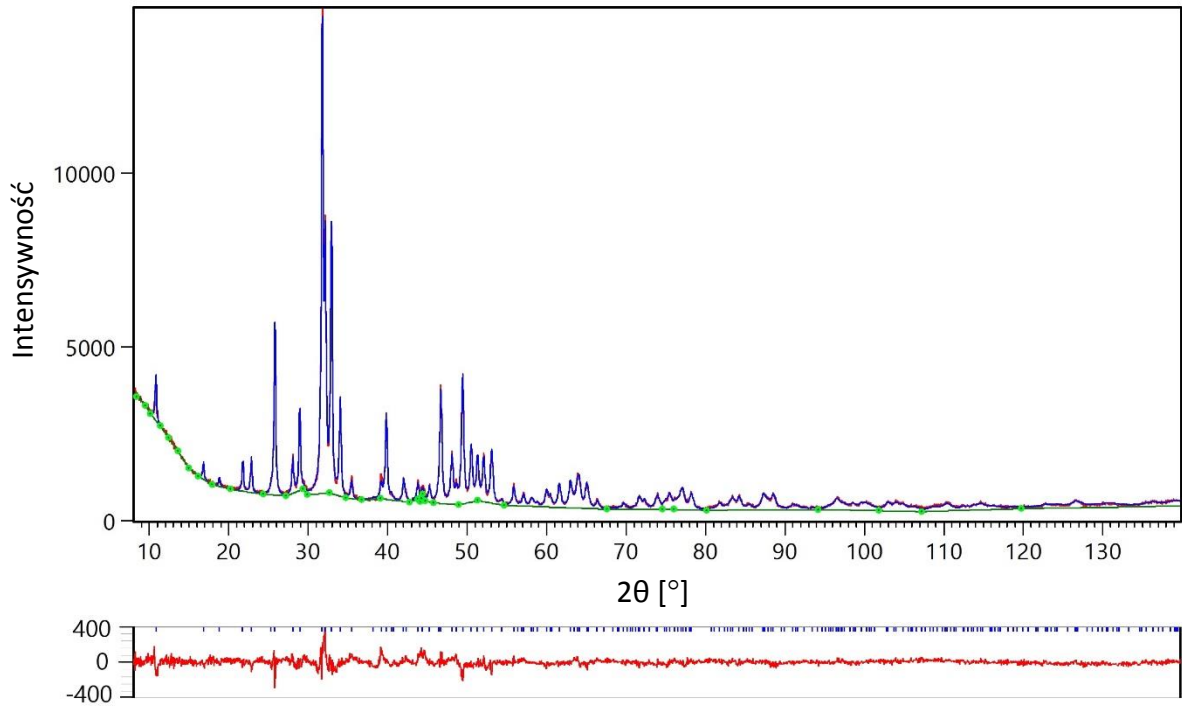
Powierzchnia przesyconego stopu NiTi została przygotowana do wytwarzania warstw poprzez szlifowanie papierami ściernymi o gradacji do 3000 i polerowanie przy zastosowaniu zawiesin diamentowych o rozmiarach cząstek do 1  $\mu\text{m}$ , a następnie zawiesiny koloidalnej  $\text{SiO}_2$  o rozmiarze cząsteczek 0,1  $\mu\text{m}$ .

## 2.2. Hydroksyapatyt - HAp, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$

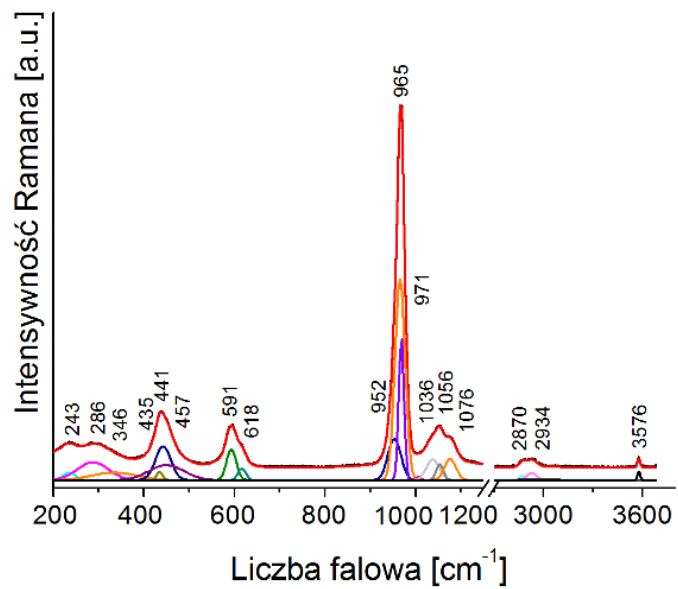
Do wytworzenia zawiesiny koloidalnej niezbędnej do elektroforetycznego osadzania powłok hydroksyapatytu został użyty krystaliczny komercyjny proszek hydroksyapatytu (HAp) firmy Sigma Aldrich. Wszystkie zarejestrowane linie dyfrakcyjne zostały przypisane fazie  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  o symetrii opisanej grupą przestrzenną  $P6_3/m$  (ICDD-PDF 04-016-2958) (Rysunek 17). Wyznaczone parametry komórki elementarnej użytego materiału oszacowane metodą Rietvelda wynosiły odpowiednio:  $a_0 = b_0 = 9,416(5) \text{ \AA}$ ,  $c_0 = 6,893(7) \text{ \AA}$ , przy następujących współczynnikach dopasowania:  $R_{\text{wp}} = 4,17 \%$ ,  $R_{\text{exp}} = 2,59 \%$  oraz współczynnika jakości dopasowania  $G_{\text{OF}} = 1,61$ .

Charakterystyka struktury proszku HAp została uzupełniona badaniami wykorzystującymi spektroskopię ramanowską (Rysunek 18). Badania wykazały, że najsilniejsze pasmo zlokalizowane w regionie pomiędzy  $1000 - 950 \text{ cm}^{-1}$  związane jest z drganiami symetrycznymi (drżania o charakterze  $\nu_1$ ) pomiędzy P-O w obrębie tetraedru  $(\text{PO}_4)^{3-}$ . Dwa pasma obserwowane przy  $971$  oraz  $952 \text{ cm}^{-1}$  są przypisywane, odpowiednio do jednofazowej oraz do amorficznej odmiany fosforanu wapnia (ACP). Pozostałym pasmom zlokalizowanym w regionach  $450 - 400$ ,  $1190 - 1020$  oraz  $635 - 560 \text{ cm}^{-1}$  przypisuje się drżania łamiące symetryczne (drżanie o charakterze  $\nu_2$ ), antysymetryczne rozciągające (drżanie o charakterze  $\nu_3$ ) oraz antysymetryczne łamiące (drżanie o charakterze  $\nu_4$ ) mające miejsce w obrębie tetraedrów  $(\text{PO}_4)^{3-}$ . Ponadto przy niskich liczbach falowych w zakresie  $350 - 150 \text{ cm}^{-1}$  widoczne były drżania charakterystyczne dla O-Ca-O, O-P-O o charakterze translacyjnym oraz libracyjnym całych fragmentów molekularnych zawierających tetraedry  $(\text{PO}_4)^{3-}$ . Przy wysokich liczbach falowych występują dwa pasma o niewielkiej intensywności ( $2870$  i  $2934 \text{ cm}^{-1}$ ), które są związane z zanieczyszczeniami HAp materią organiczną pochodzącą z procesu produkcyjnego. Pasmo zlokalizowane przy  $3576 \text{ cm}^{-1}$  jest charakterystyczne dla drgań związanych z grupami hydroksylowymi  $(\text{OH}^-)$  [119, 152-158] (Rysunek 9).

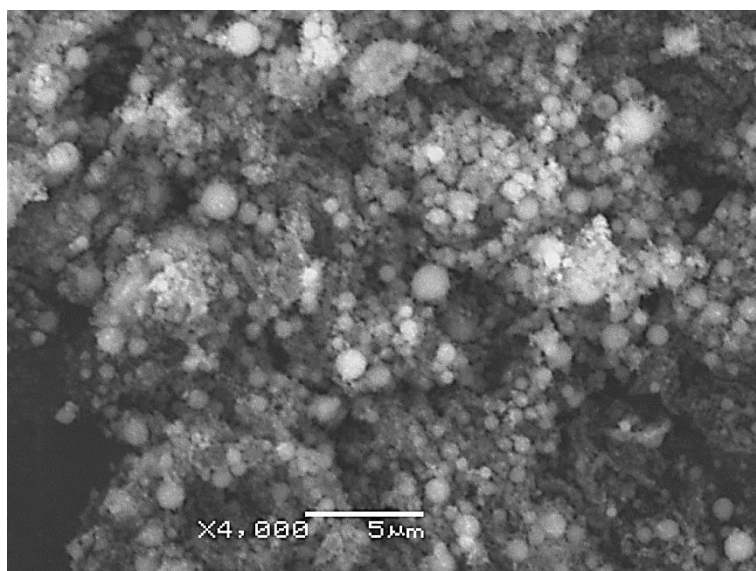
Obserwacje mikroskopowe ujawniły, że ziarna proszku miały kształt sferyczny i wykazywały zróżnicowaną wielkość (Rysunek 19).



Rysunek 17. Dyfraktogram rentgenowski z dopasowaniem Rietvelda dla proszku hydroksyapatytu, gdzie dyfraktogram eksperymentalny to (—), teoretyczny (—), a krzywa poniżej dyfraktogramu (—) to krzywa różnicowa.



Rysunek 18. Widmo ramanowskie proszku hydroksyapatytu.



Rysunek 19. Obraz mikroskopowy obserwowany dla proszku hydroksyapatytu.

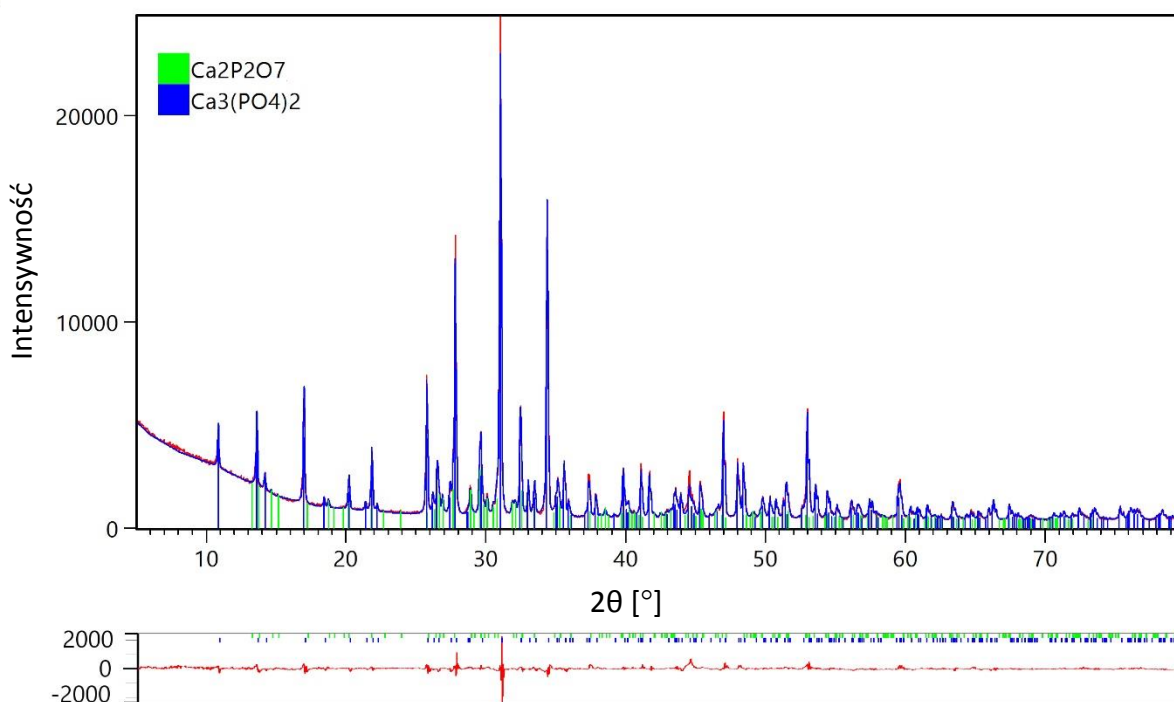
### 2.3. Ceramika whitlockitowa - $\beta$ -TCP, $\beta$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, $\beta$ -C<sub>3</sub>P

Do wytworzenia zawiesiny koloidalnej zastosowanej do elektroforetycznego osadzania powłok ceramiki whitlockitowej został użyty komercyjny proszek  $\beta$ -TCP w stanie krystalicznym firmy nGimat. Badania rentgenowskie wykazały, że proszek poza główną fazą  $\beta$ -TCP stanowiącą  $87,1 \pm 1,0$  %, zawiera również domieszkę fazy  $\beta$ -C<sub>2</sub>P ( $\beta$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) w ilości  $12,9 \pm 0,2$  % (Rysunek 20). Zarejestrowane linie dyfrakcyjne zostały przypisane fazie  $\beta$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> o symetrii opisanej grupą przestrzenną  $R\bar{3}c$  (ICDD-PDF 00-055-0898) oraz fazie  $\beta$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> o symetrii opisanej grupą przestrzenną  $P4_1$  (ICDD-PDF 04-009-8733). Parametry komórki elementarnej  $\beta$ -TCP wynosiły odpowiednio:  $a_0 = b_0 = 10,422(2)$  Å,  $c_0 = 37,363(8)$  Å, a dla fazy  $\beta$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>:  $a_0 = b_0 = 6,687(3)$  Å,  $c_0 = 24,156(7)$  Å. Współczynniki dopasowania przyjęły następujące wartości:  $R_{wp} = 5,65$  %,  $R_{exp} = 2,12$  %, a współczynnik jakości dopasowania  $G_{OF} = 2,62$ .

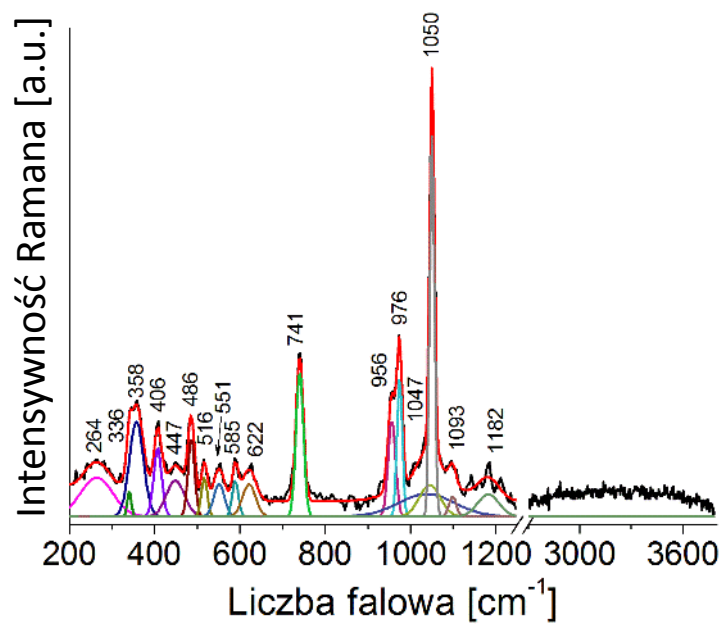
Widmo Ramana ceramiki whitlockitowej zostało przedstawione na Rysunku 21. Badania wykazały, że w skład proszku wchodzi  $\beta$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> oraz  $\beta$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. Główne pasma w widmie związane są z drganiami P - O w obrębie tetraedrów fosforowo-tlenowych  $\beta$ -TCP i anionu dwufosforanowego P<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>4-</sup>. W regionie pomiędzy 1000 - 950 cm<sup>-1</sup> są obecne dwa silne pasma (978 i 958 cm<sup>-1</sup>), związane z drganiami symetrycznymi (drganie o charakterze  $\nu_1$ ) pomiędzy P - O w obrębie tetraedru (PO<sub>4</sub>)<sup>3-</sup>. Obecność dwóch pasm o podobnej intensywności świadczy o różnym otoczeniu chemicznym i różnej symetrii tetraedrów fosforowo-tlenowych. Pozostałym pasmom zlokalizowanym w regionach 450 - 400, 1190 - 1020 oraz 635 - 560 cm<sup>-1</sup> przypisuje się drgania łamiące symetryczne (drganie o charakterze  $\nu_2$ ), antysymetryczne rozciągające (drganie o charakterze  $\nu_3$ ) oraz antysymetryczne

łamiące (drżanie o charakterze  $\nu_4$ ) występujące w obrębie tetraedrów  $(\text{PO}_4)^{3-}$ . Podobnie w przypadku niskich liczb falowych poniżej  $350\text{ cm}^{-1}$ , gdzie występują pasma charakterystyczne dla drgań w obrębie O-Ca-O, O-P-O o charakterze translacyjnym i libracyjnym całych fragmentów molekularnych. W regionach  $1050\text{ cm}^{-1}$  oraz  $741\text{ cm}^{-1}$  dominują pasma związane z wiązaniami P-O-P. Pasmu przy wyższej liczbie falowej odpowiadają drżania symetryczne  $\nu_3$  wiązania P-O-P łączącego dwa tetraedry  $(\text{PO}_4)^{3-}$  anionu dwufosforanowego, podczas gdy niższemu pasmu odpowiadają drżania P-O w obrębie grupy  $\text{PO}_3$  [156-162] (Rysunek 10).

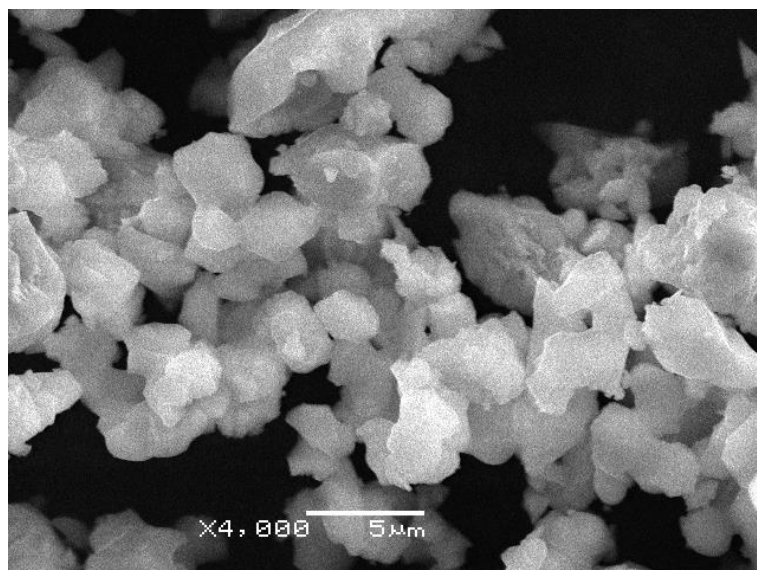
Obserwacje mikroskopowe wykazały, że ziarna proszku mają zróżnicowaną wielkość i nieregularne kształty (Rysunek 22).



Rysunek 20. Dyfraktogram rentgenowski z dopasowaniem Rietvelda dla proszku ceramiki whitlockitowej, gdzie dyfraktogram eksperymentalny to (—), teoretyczny (—), a krzywa poniżej dyfraktogramu (—) to krzywa różnicowa.



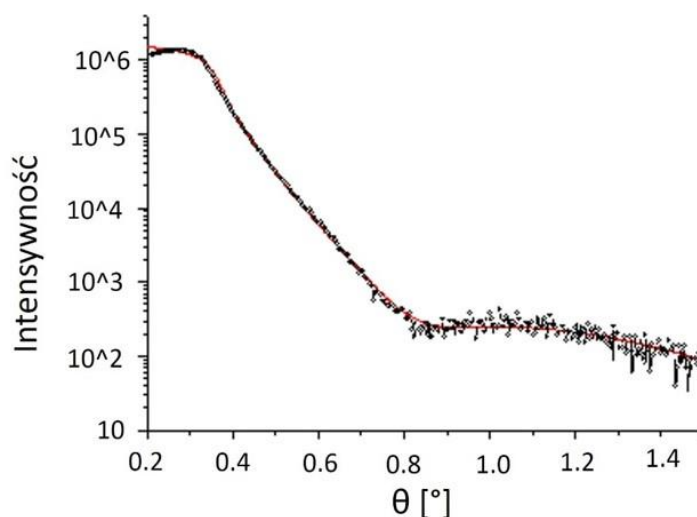
Rysunek 21. Widmo ramanowskie ceramiki whitlockitowej.



Rysunek 22. Obraz mikroskopowy obserwowany dla proszku ceramiki whitlockitowej.

### 3. Charakterystyka warstwy pasywowanej

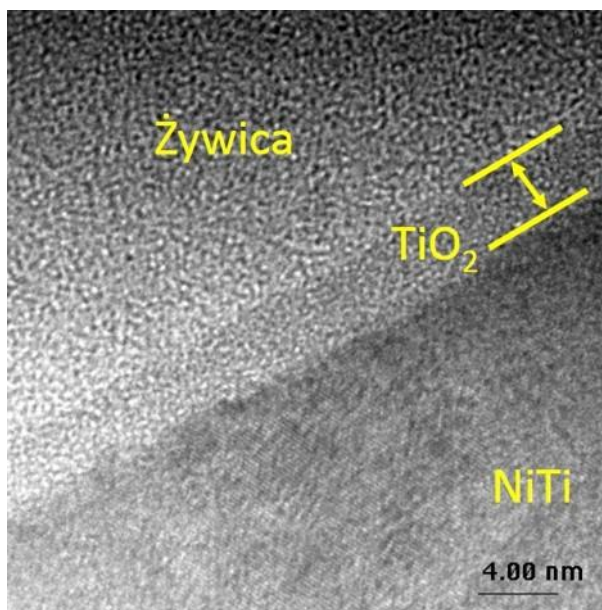
Powierzchnia stopu NiTi została zmodyfikowana poprzez wytworzenie amorficznej warstwy tlenku tytanu metodą pasywacji w autoklawie parowym w temperaturze 134 °C w czasie 30 minut. Badania reflektometryczne (Rysunek 23) i obserwacje mikroskopowe (Rysunek 24) wykazały, że otrzymana tą metodą warstwa ma grubość ok. 3,5 nm. Jej chropowatość była mniejsza od chropowatości granicy rozdziału między warstwą a podłożem NiTi, a gęstość niższa od gęstości czystego tlenku tytanu (IV) (Tabela 6). Z obserwacji mikroskopowych wynika, że wytworzona warstwa była ciągła i jednorodna na całej długości (Rysunek 24). Badania ramanowskie wykazały obecność pasm o niskiej intensywności oraz relatywnie dużej wartości szerokości połówkowej, co sugeruje obecność  $\text{TiO}_2$ , podczas gdy charakter widma wskazuje na obecność fazy amorficznej (Rysunek 25) [68].



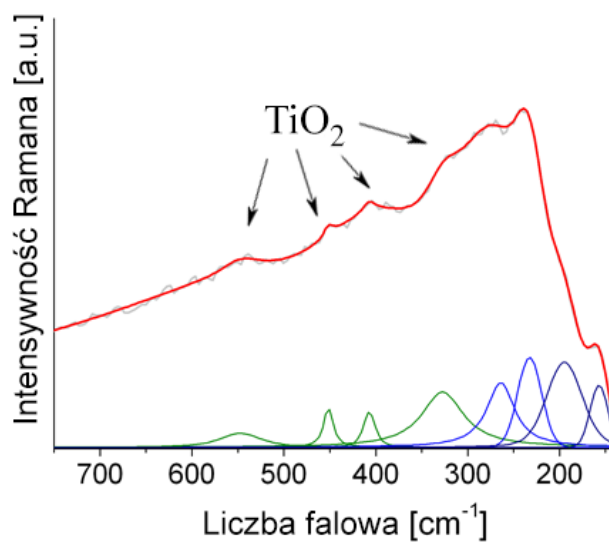
Rysunek 23. Krzywa uzyskana metodą reflektometrii dla warstwy tlenkowej na podłożu NiTi wytworzonej metodą autoklawizacji w temperaturze 134 °C w czasie 30 minut.

Tabela 6. Parametry uzyskane na podstawie krzywej reflektometrycznej dla warstwy wytworzonej na powierzchni stopu NiTi metodą autoklawizacji w temperaturze 134 °C w czasie 30 minut.

	Grubość [nm]	Chropowatość [nm]	Gęstość [g / cm <sup>3</sup> ]
NiTi	-	8,7	6,08
Warstwa pasywowana	3,6	1,2	3,94



Rysunek 24. Obraz HRTEM obserwowany dla warstwy utworzonej na powierzchni stopu NiTi metodą autoklawizacji w temperaturze 134 °C w czasie 30 minut.



Rysunek 25. Widmo Ramana dla warstwy utworzonej na powierzchni stopu NiTi metodą autoklawizacji w temperaturze 134 °C w czasie 30 minut [68].

## 4. Modyfikacja powierzchni spasywowanego stopu NiTi hydroksyapatytem

### 4.1. Dobór optymalnych parametrów osadzania elektroforetycznego (EPD) powłok HAp

#### 4.1.1. Dobór warunków tworzenia stabilnej zawiesiny koloidalnej HAp użytej do EPD

Do nanoszenia powłok HAp metodą elektroforezy, został wytworzony roztwór koloidalny o stężeniu 0,1 % wag. HAp w 99,8 % etanolu firmy Avantor Performance Materials. Przygotowana zawiesina koloidalna została umieszczona w mieszadło magnetycznym na 15 minut, a następnie w kąpeli ultradźwiękowej przez 1 godzinę.

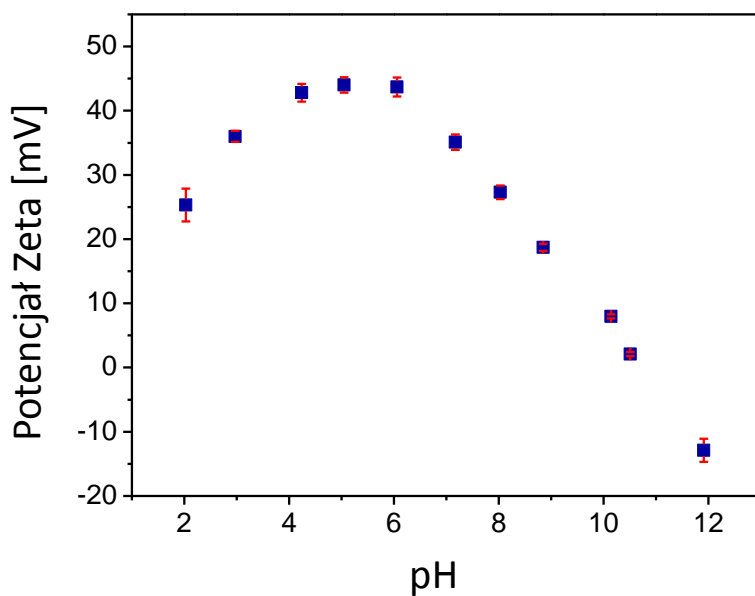
W celu doboru parametrów tworzenia stabilnej i dobrze zdyspergowanej zawiesiny koloidalnej, zostały zbadane zależności potencjału Zeta, wielkości cząstek i ich mobilności w zależności od pH sporządzonego roztworu [12-14, 135-143] (Rysunek 26-28). Badania wykazały, że zawiesina HAp / etanol charakteryzuje się najwyższą wartością potencjału Zeta równą  $(44,0 \pm 2,2)$  mV osiągniętą przy  $\text{pH} \approx 5$  (Rysunek 26). Wraz ze wzrostem pH w kierunku zasadowym, następował gwałtowny spadek wartości potencjału. Punkt izoelektryczny zawiesiny występował w okolicach pH równego 11. Do tej wartości w zawieszynie przeważały formy kationowe, co umożliwiło przeprowadzenie kataforezy. Natomiast po przekroczeniu  $\text{pH} \approx 11$  w zawieszynie dominowały formy anionowe, co daje możliwość zastosowania anaforezy.

Badania wykazały, że dla  $\text{pH} \approx 5$  wielkość cząstek HAp była najmniejsza (230,9 nm) (Rysunek 27). Fakt ten świadczy o dobrym zdyspergowaniu zawiesiny. Wraz ze wzrostem pH, nastąpił widoczny wzrost wielkości cząstek w zawieszynie, spowodowany ich aglomeracją. Dla  $\text{pH} \approx 11$ , średni rozmiar cząstek HAp był równy  $(1,3 \pm 0,2)$   $\mu\text{m}$ . Aglomeracja cząstek w zawieszynie koloidalnej jest zjawiskiem niekorzystnym w przypadku osadzania elektroforetycznego. Zostały również przeprowadzone badania mobilności cząstek HAp w roztworze (Rysunek 28). Największą elektroforetyczną mobilność, wynoszącą  $0,97 \mu\text{m}\cdot\text{cm} / \text{V}\cdot\text{s}$ , wykazywały cząstki w zawieszynie o  $\text{pH} \approx 5$ . Zjawisko to jest ściśle powiązane z rozmiarem cząstek i potencjałem Zeta, które dla  $\text{pH} \approx 5$  osiągnęły odpowiednio wartość najmniejszą (Rysunek 27) i największą (Rysunek 28).

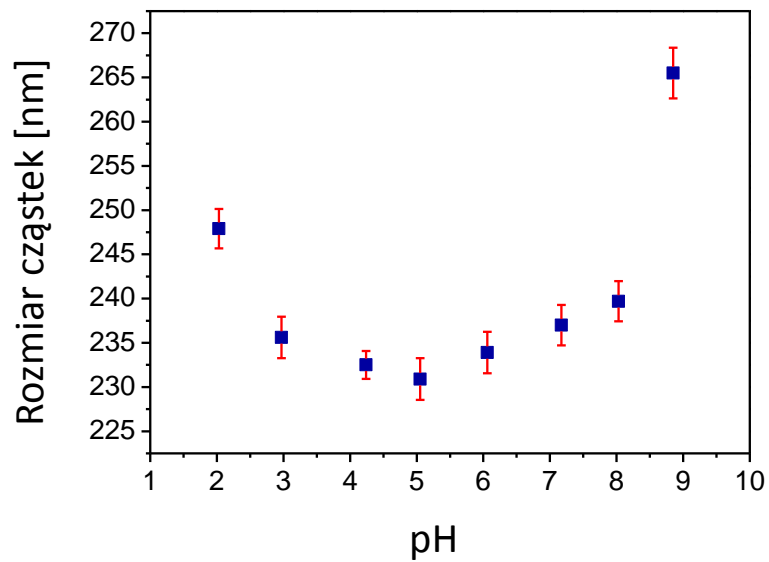
Bazując na powyższych wynikach, najlepsze parametry do przeprowadzenia osadzania elektroforetycznego wykazywała zawiesina HAp / etanol o  $\text{pH} \approx 5$ . Dla takiego roztworu została wykonana szczegółowa analiza rozkładu wielkości cząstek (Rysunek 29). Badania wykazały, że



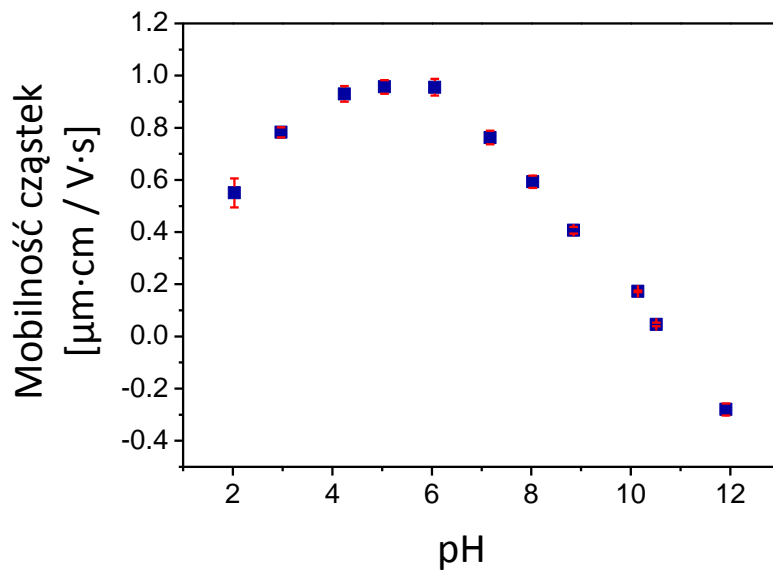
w zawieszynie dominują cząstki w rozmiarze około 100 nm. Roztwór koloidalny wykazywał przewodnictwo  $7,93 \pm 0,14 \mu\text{S} / \text{cm}$  [73].



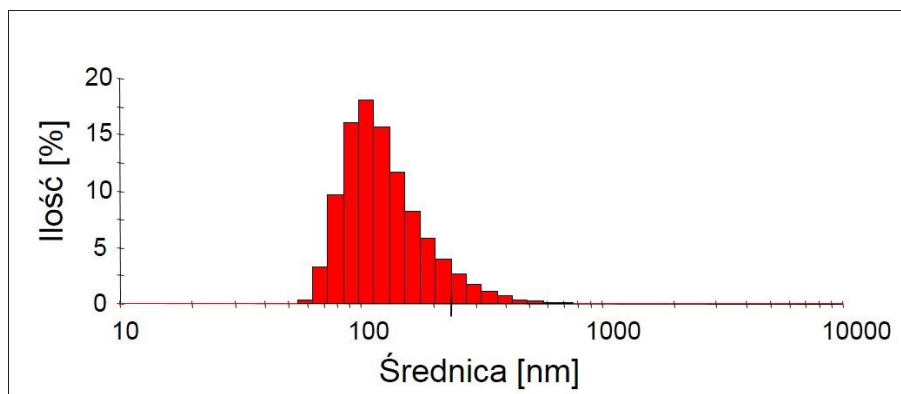
Rysunek 26. Zależność potencjału Zeta zawieszyny HAp / etanol od pH [73].



Rysunek 27. Zależność wielkości cząstek HAp od pH zawieszyny [73].



Rysunek 28. Zależność mobilności cząstek HAp od pH zawiesiny [73].



Rysunek 29. Rozkład wielkości cząstek dla zawiesiny HAp / etanol o pH  $\approx$  5 [73].

#### 4.1.2. Parametry prądowo - czasowe osadzania elektroforetycznego HAp

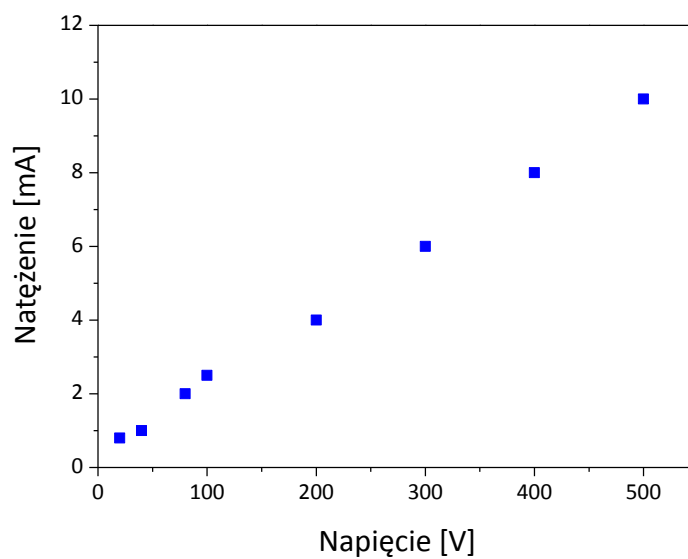
Powłoki HAp zostały naniesione na spasywowane podłoże NiTi metodą EPD w temperaturze pokojowej przy zróżnicowanych parametrach prądowo - czasowych (Tabela 7). Zostało zastosowane stałonapięciowe nanoszenie kataforetyczne nisko- i wysokonapięciowe, w zakresie od 20 do 500 V, przy czasach depozycji od 10 do 120 s. Zastosowana przeciwelektroda była wykonana z platyny. Elektrody były umieszczone w roztworze równoległe do siebie w odległości 15 mm. Osadzone powłoki były suszone w temperaturze pokojowej przez 24 godziny.

Wartość natężenia prądu wpływa na intensywność procesów wydzieleniowych zachodzących na elektrodach, które mogą mieć istotny wpływ na jakość osadzonych powłok.

Stąd został określony wpływ przyłożonego napięcia na wartość zmierzonego natężenia prądu (Rysunek 30). Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem przyłożonego napięcia, liniowo wzrastało zarejestrowane natężenie prądu. Przy zastosowaniu najniższego napięcia (20 V) natężenie prądu wynosiło 0,8 mA, natomiast przy najwyższym przyłożonym napięciu (500 V) wartość natężenia wzrosła do 10 mA.

Tabela 7. Parametry osadzania powłok hydroksyapatytowych metodą EPD.

Napięcie [V]	Czas [s]
20	10 / 60 / 120
40	60 / 120
80	60 / 120
100	60
200	60
300	60
400	60
500	60

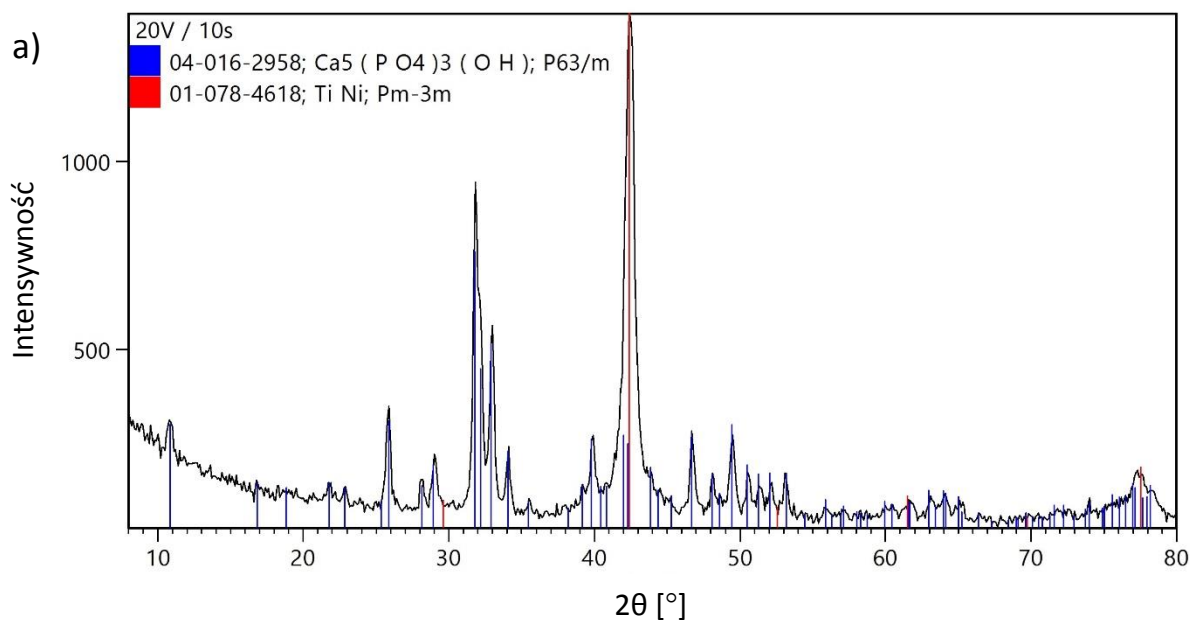


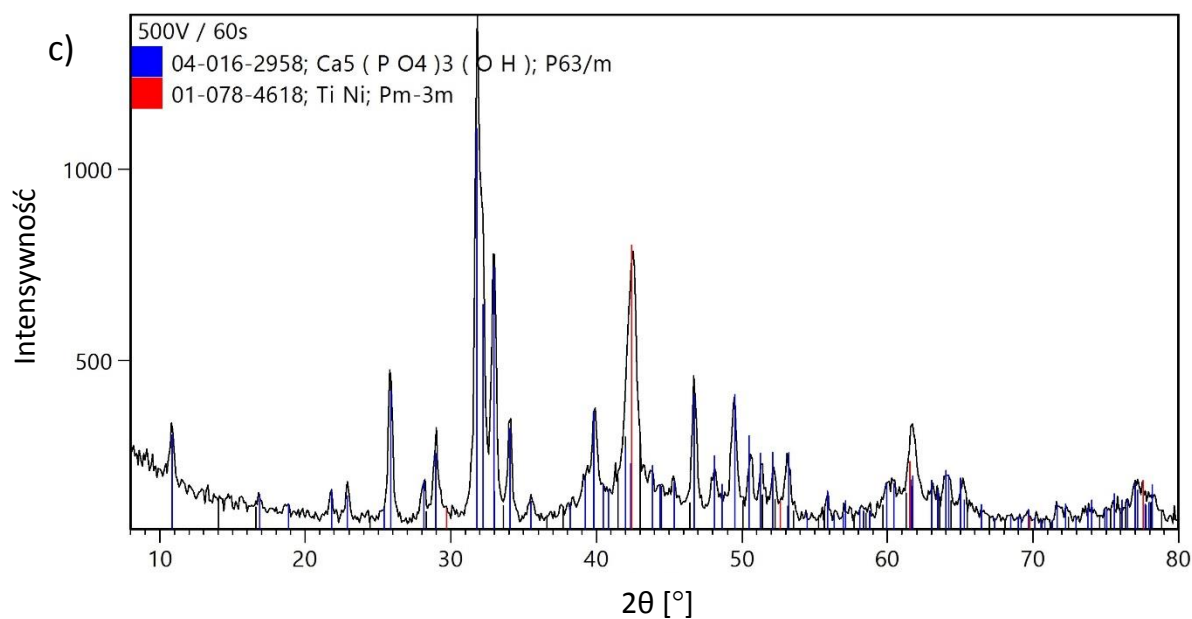
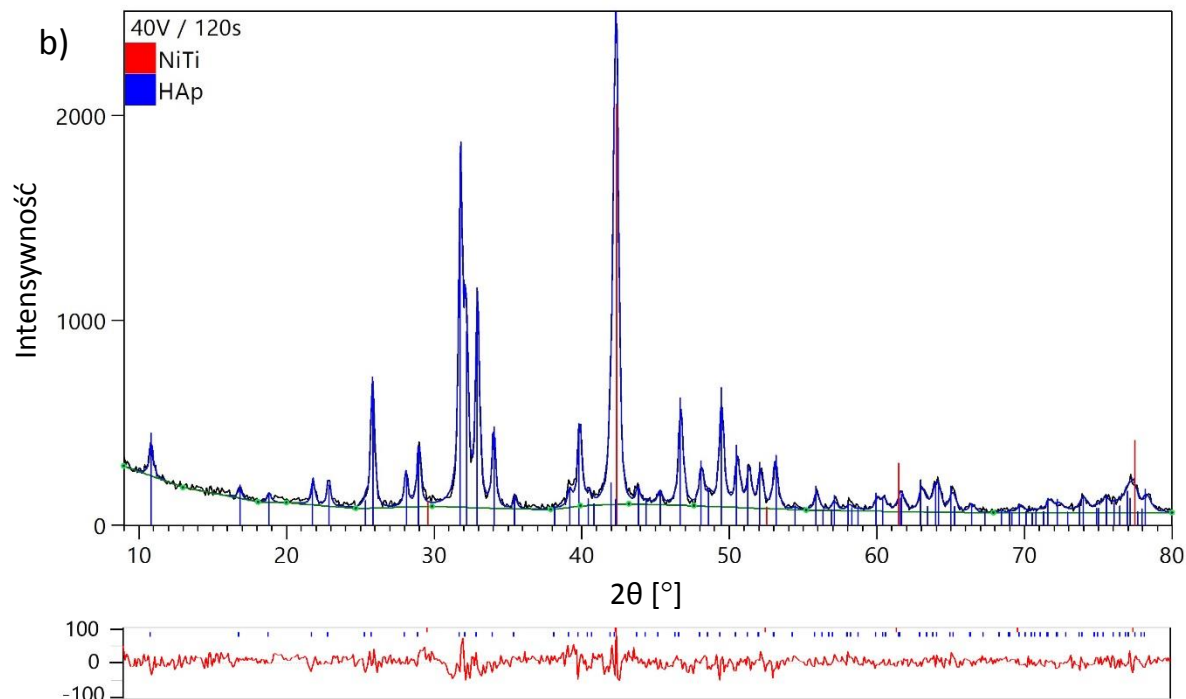
Rysunek 30. Charakterystyka prądowo-napięciowa wyznaczona podczas osadzania elektroforetycznego dla powłok hydroksyapatytowych [73].

#### 4.1.3. Wpływ zastosowanych parametrów osadzania na strukturę powłok HAp

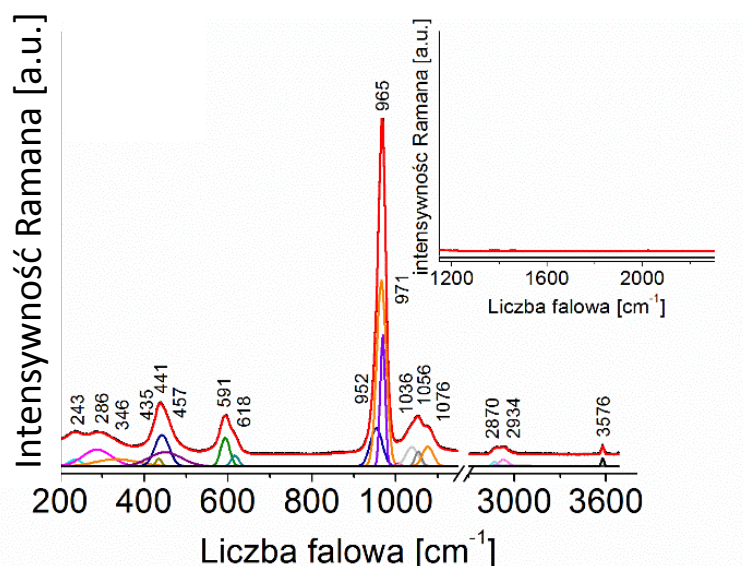
Badania rentgenowskie potwierdziły, że wytworzone powłoki składały się z hydroksyapatytu  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  (ICDD - PDF 04-016-2958). Zidentyfikowano również fazę  $\beta$  podłoża NiTi (ICDD - PDF 01-078-4618). Nie zaobserwowano obecności linii dyfrakcyjnych pochodzących od innych faz. Przykładowe dyfraktogramy zarejestrowane dla próbek wytworzonych przy najniższych wartościach parametrów osadzania (20V / 10s), pośrednich (40V / 120s) oraz najwyższych (500V / 60s) przedstawia Rysunek 31. Wyznaczone parametry komórek elementarnych dla próbki 40V / 120s (Rysunek 31 b) wynosiły odpowiednio  $a_0 = b_0 = 9,409(8) \text{ \AA}$  i  $c_0 = 6,890(1) \text{ \AA}$  dla HAp oraz  $a_0 = 3,014(9) \text{ \AA}$  dla NiTi. Współczynniki dopasowania osiągnęły następujące wartości  $R_{\text{wp}} = 7,81 \%$ ,  $R_{\text{exp}} = 7,17 \%$  i  $G_{\text{OF}} = 1,09$ . Uzyskane wartości parametrów komórek elementarnych nie różniły się znacząco od materiałów w stanie wyjściowym.

Badania ramanowskie (Rysunek 32) wykonane dla powłok HAp po osadzeniu na stopie NiTi wykazały, że główne pasma, podobnie jak w przypadku proszku w stanie wyjściowym (Rysunek 18), są związane z drganiami P-O. Nie zaobserwowano różnic w położeniach oraz szerokościach połówkowych poszczególnych pasm. W ten sposób poszczególne pasma w regionach  $1190 - 1020$ ,  $1000 - 950$ ,  $635 - 560$  oraz  $450 - 400 \text{ cm}^{-1}$  można przypisać odpowiednio drganiom o symetrii  $\nu_3, \nu_1, \nu_4, \nu_2$  P-O w obrębie tetraedrów fosforanowo - tlenowych hydroksyapatytu [115, 148-154].





Rysunek 31. Dyfraktogramy rentgenowskie zarejestrowane przy stałym kącie padania wiązki pierwotnej ( $\alpha = 0,2^\circ$ ) dla powłoki HAp osadzonej przy 20V / 10s (a), 40V / 120s z dopasowaniem Rietvelda (b) oraz 500V / 60s (c), gdzie dyfraktogram eksperymentalny to (—), teoretyczny (—), a krzywa różnicowa to (—).

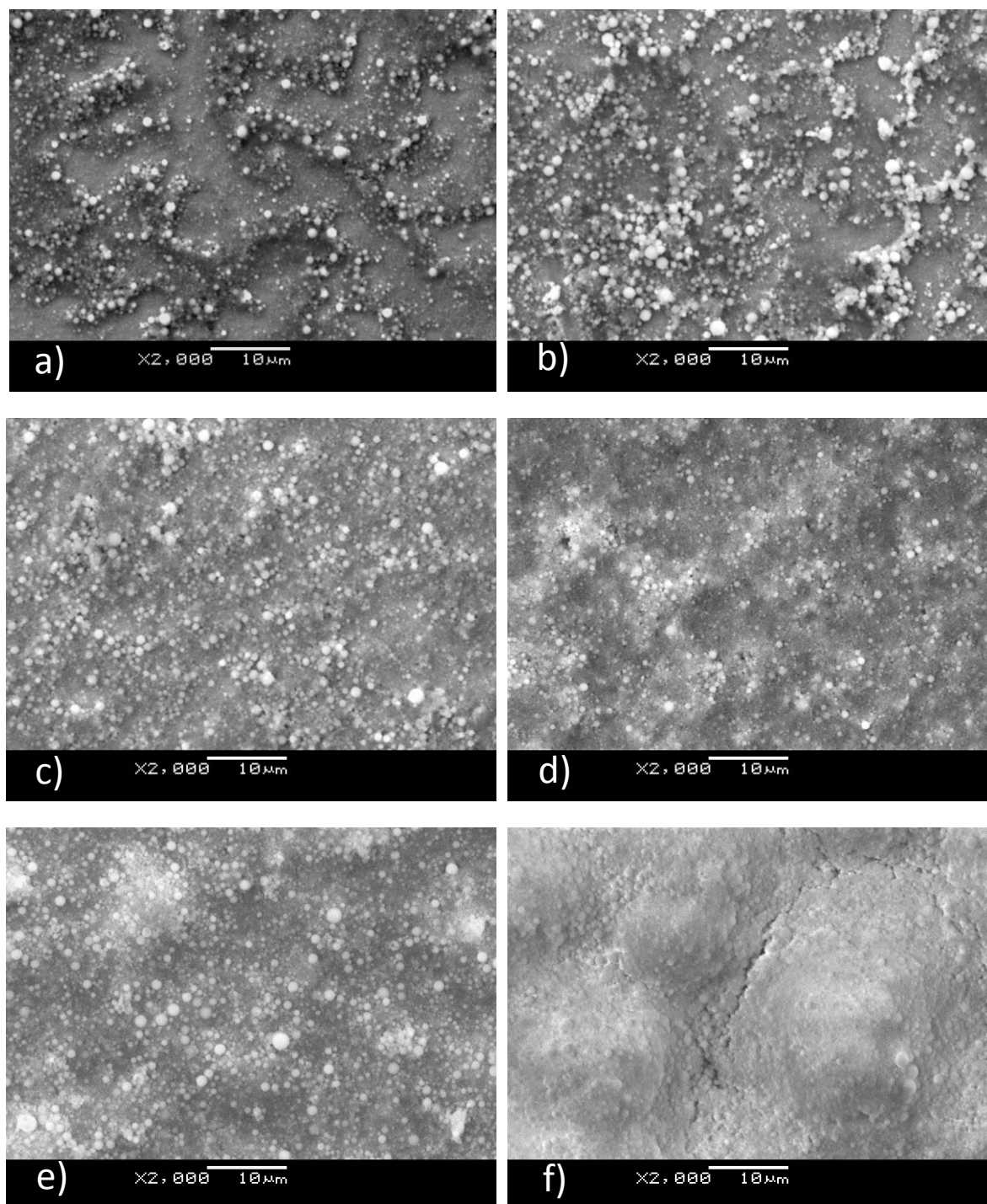


Rysunek 32. Widmo ramanowskie warstwy HAp po osadzeniu na stopie NiTi (40V / 120s).

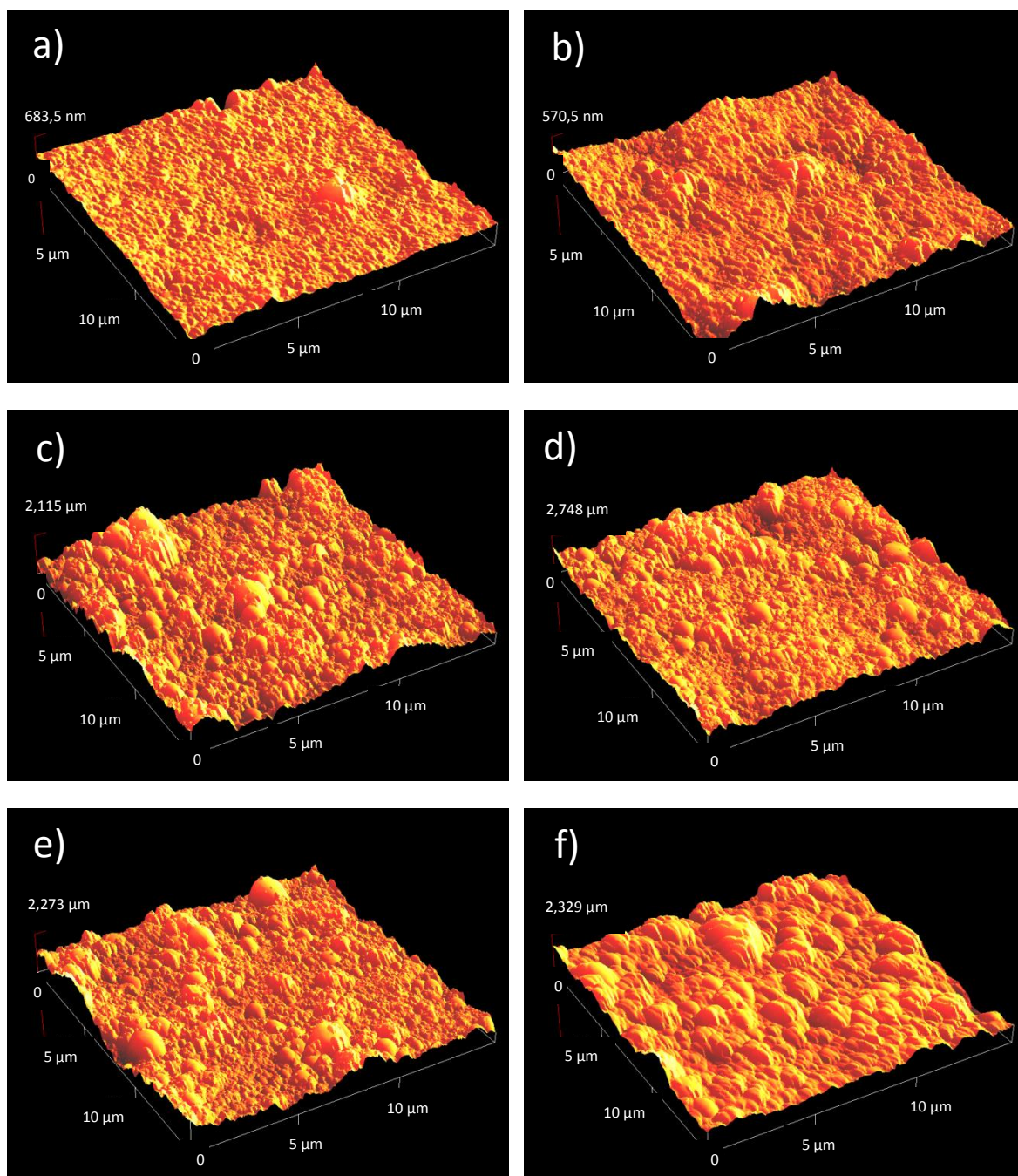
#### 4.1.4. Wpływ zastosowanych parametrów osadzania na jakość wytworzonych powłok HAp

Obserwacje mikroskopowe oraz badania przy użyciu AFM ujawniły wpływ zastosowanych parametrów osadzania elektroforetycznego na jakość wytworzonych powłok (Rysunki 33 i 34). Badania wykazały, że zarówno czas jak i zastosowane napięcie znacząco wpływają na wielkość osadzanych cząstek i sposób ich rozmieszczenia w powłoce. Najmniejsze cząstki, które osiągnęły największą prędkość pod wpływem przyłożonego napięcia, zostały osadzone na podłożu jako pierwsze. W następnej kolejności osadzaniu ulegały cząstki większych rozmiarów. Katarforeza przeprowadzona przy niskim napięciu (20 V) skutkowała wytworzeniem niejednorodnych powłok. Na obrazach mikroskopowych obserwowano obszary o zwiększonej ilości cząstek hydroksyapatytu oraz obszary prawie nie pokryte cząstkami. Nawet wydłużenie czasu depozycji do 120 s nie poprawiło ich jakości (Rysunek 33 a i b). Dopiero zwiększenie napięcia do 40 V i czasu do 120 s przyczyniło się do uzyskania jednorodnego pokrycia powierzchni (Rysunek 33 c). Powłoki osadzone przy wysokich napięciach (80 - 500 V) były również jednorodne i wykazywały gęste upakowanie cząstek (Rysunek d-f), jednakże w przypadku powłok otrzymanych przy najwyższym zastosowanym napięciu 500 V zaobserwowano pęknięcia na ich powierzchniach (Rysunek 33 f). Przerwanie ciągłości powłok mogło być rezultatem zbyt intensywnych procesów wydzieleniowych na katodzie będących następstwem zastosowania wysokiego napięcia i natężenia prądu (Rysunek 30) lub mogło nastąpić podczas schnięcia powłok. Badania wykazały, że wraz ze wzrostem napięcia rośnie ilość osadzonych cząstek HAp o dużym rozmiarze (Rysunek 34). Obserwacje powierzchni przy użyciu AFM potwierdziły również

powstanie powłok o gęstym upakowaniu przy zastosowaniu wysokich napięć. Efekt ten jest szczególnie widoczny przy napięciu 500 V (Rysunek 34 f).



Rysunek 33. Obrazy mikroskopowe powierzchni powłok HAp osadzonych przy następujących parametrach: 20V / 10s (a), 20V / 120s (b), 40V / 120s (c), 80V / 120s (d), 300V / 60s (e) i 500V / 60s (f) [73].

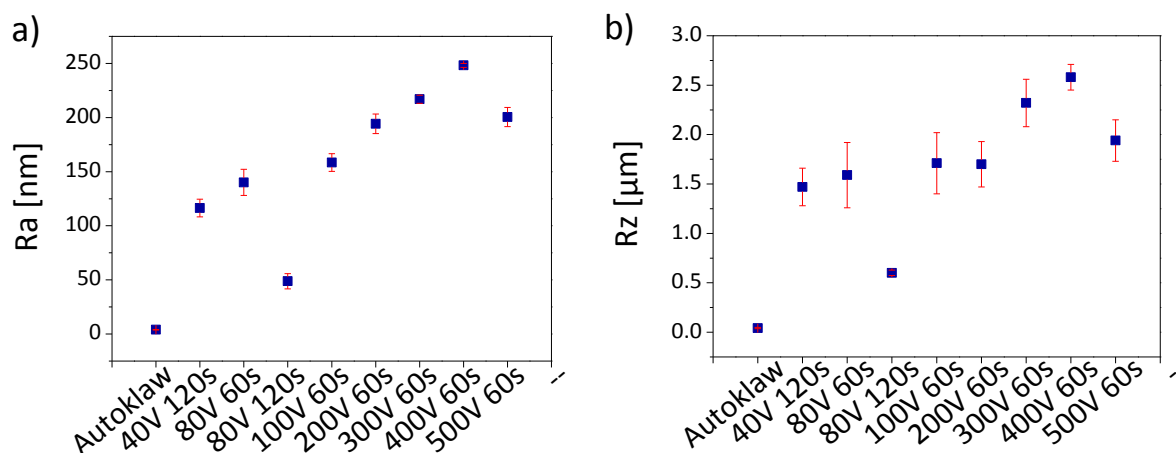


Rysunek 34. Obrazy 3D powierzchni  $15\ \mu\text{m} \times 15\ \mu\text{m}$  (AFM) powłok HAp osadzonych przy następujących parametrach: 40V / 120s (a), 80V / 120s (b), 200V / 60s (c), 300V / 60s (d), 400V / 60s (e) i 500V / 60s (f).

Badania chropowatości powierzchni powłok przy użyciu AFM (Rysunek 35) wykazały, że dla większości przypadków wraz ze wzrostem napięcia następuje wzrost parametrów chropowatości:  $R_a$  (średniej arytmetycznej rzędnych profilu) oraz  $R_z$  (największej wysokości profilu). Jednakże zastosowanie takiego samego napięcia (80 V) i wydłużenie czasu depozycji z 60 do 120 s skutkowało widocznym obniżeniem wartości ww. parametrów -  $R_a$  z  $(140,1 \pm 12,1)$  nm dla 80V / 60s do  $(48,8 \pm 7,1)$  nm dla 80 V / 120s oraz  $R_z$  z  $(1,6 \pm 0,3)$   $\mu\text{m}$  dla 80V / 60s do  $(0,6 \pm 0,1)$   $\mu\text{m}$

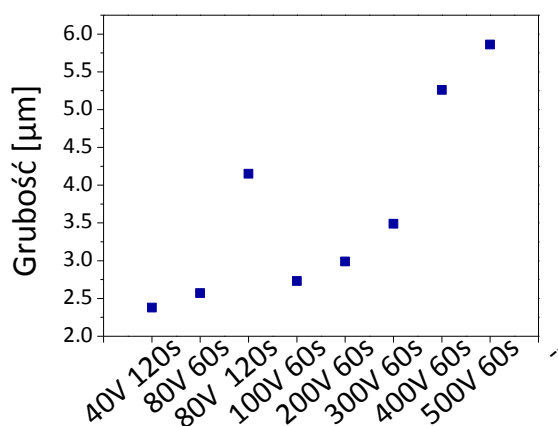


dla 80V / 120s. Wszystkie powłoki wykazywały wyższe wartości chropowatości w stosunku do spasywowanej powierzchni stopu NiTi.

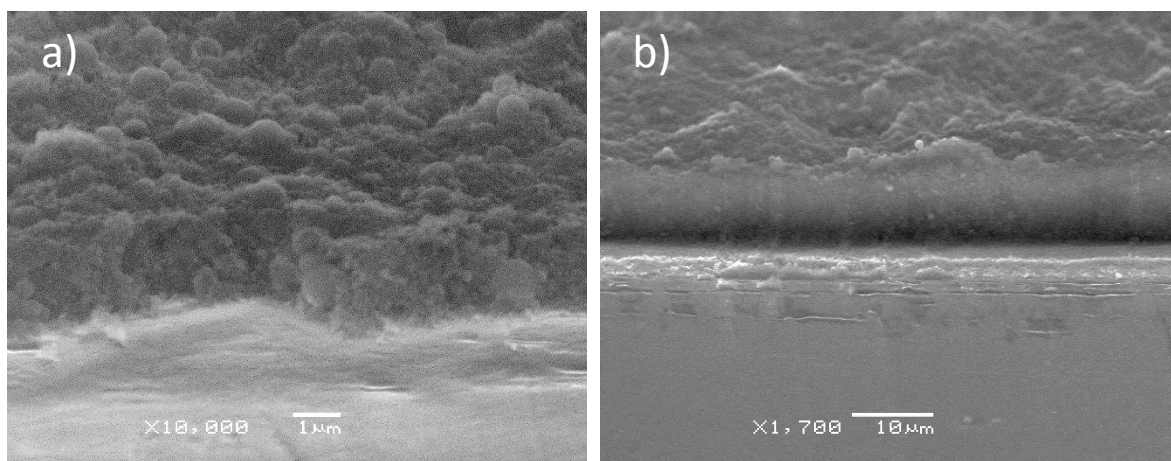


Rysunek 35. Parametry chropowatości osadzonych powłok HAp wyznaczone przy użyciu AFM z powierzchni 15 μm x 15 μm.

Jednym z istotnych parametrów charakteryzujących warstwy jest ich grubość. Na Rysunku 36 przedstawiono zmiany grubości powłok w zależności od zastosowanych parametrów osadzania. Wzrost zastosowanego napięcia osadzania jak i czasu depozycji skutkował wzrostem ilości osadzonych cząstek HAp, a tym samym wpłynął na wzrost grubości powłok. Jednorodne powłoki otrzymane przy 40V / 120s wykazywały grubość około 2,4 μm (Rysunki 36 i 37 a). Powłoki osadzone przy najwyższym zastosowanym napięciu 500 V w czasie 60 s miały grubość około 6 μm (Rysunki 36 i 37 b). Badania wykazały, że decydujący wpływ na grubość naniesionych powłok miał czas osadzania. Na przykład powłoki otrzymane przy napięciu 80V / 60s wykazywały grubość ok. 2,6 μm, natomiast dwukrotne zwiększenie czasu depozycji spowodowało przyrost grubości do ok. 4,2 μm.



Rysunek 36. Grubość wytworzonych powłok w zależności od zastosowanych parametrów osadzania [73].

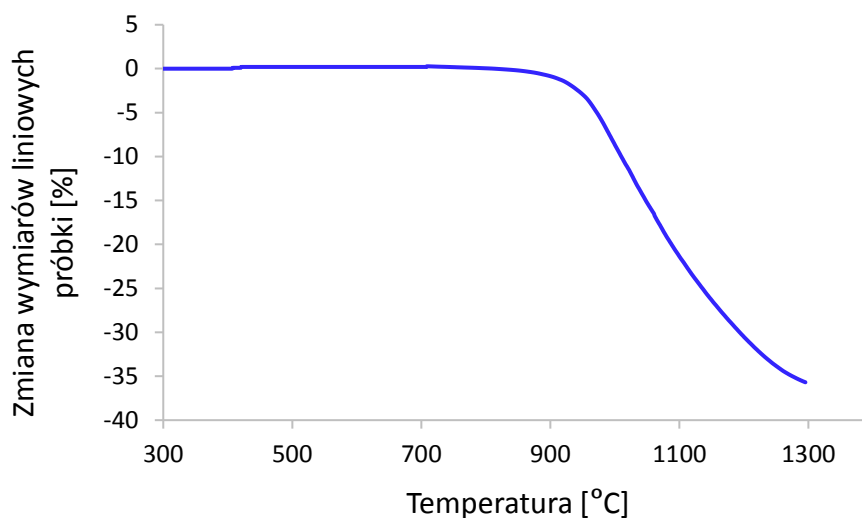


Rysunek 37. Obraz mikroskopowy obserwowany dla przekroju poprzecznego powłoki HAp otrzymanej przy 40V / 120s (a) oraz 500V / 60s (b).

## 4.2. Dobór optymalnych warunków obróbki cieplnej powłok HAp

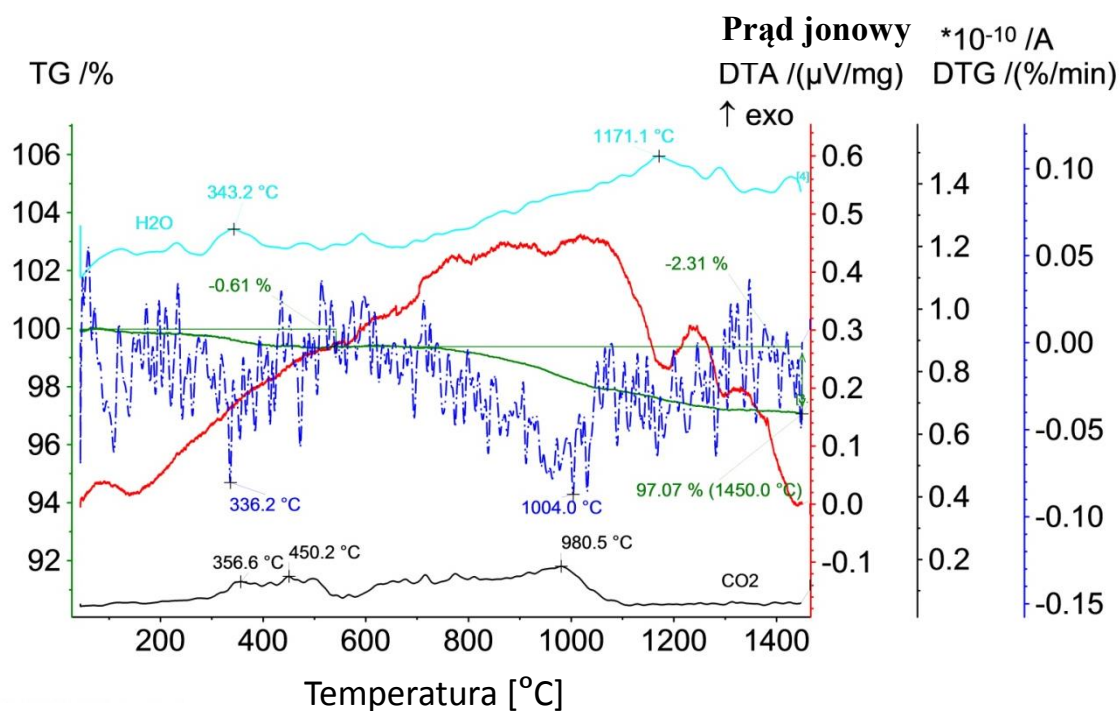
### 4.2.1. Wpływ temperatury na skurcz i strukturę proszku HAp

W celu zwiększenia przyczepności elektroforetycznie osadzonych powłok hydroksyapatytowych do metalicznego podłoża oraz w celu konsolidacji cząstek ceramicznych, powłoki muszą zostać poddane obróbce cieplnej [12-14, 136]. Zbyt wysoka temperatura spiekania może skutkować skurczem powłoki i powstawaniem wewnętrznych naprężeń prowadzących do pęknięć. Dobór warunków spiekania opierał się na analizie danych literaturowych i analizie zmian wymiarów liniowych proszku HAp w zależności od temperatury (Rysunek 38). Z przeglądu literaturowego wynika, że powłoki hydroksyapatytu elektroforetycznie osadzone na stopach medycznych były spiekane w zakresie temperatur od 800 °C do 1300 °C [12-14, 132, 135, 136, 138-144]. Badania wykonane dla proszku w stanie wyjściowym wykazały, że maksymalną rozszerzalność cieplną wynoszącą 0,4 % materiał wykazywał w temperaturze 420 °C. Od 813 °C następował skurcz materiału, który w temperaturze 1300°C osiągnął maksymalną wartość wynoszącą 36 %.



Rysunek 38. Zależność wymiarów liniowych proszku HAp od zmian temperatury.

Badania termograwimetryczne (Rysunek 39) wykazały, że wraz ze wzrostem temperatury następuje uwalnianie cząstek  $H_2O$  z hydroksyapatytu. W temperaturach do około  $350\text{ }^{\circ}\text{C}$  zjawisko to związane jest z zaabsorbowaną wodą. Od około  $800\text{ }^{\circ}\text{C}$  rozpoczęła się stopniowa dehydroksylacja HAp spowodowana utratą wody konstytucyjnej [106, 119-122], która najintensywniej przebiegała w  $1171\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Do temperatury ok.  $1100\text{ }^{\circ}\text{C}$  zaobserwowano również wydzielanie się dwutlenku węgla. Najprawdopodobniej pochodził on z niewielkiej ilości zanieczyszczeń organicznych znajdujących się w użytym proszku HAp, których obecność została stwierdzona w badaniach ramanowskich (Rysunek 18). Badania wykazały, że w temperaturze ok.  $1200\text{ }^{\circ}\text{C}$  rozpoczął się rozkład cząstek HAp - zgodnie z danymi literaturowymi do TCP oraz TTCP [8-10, 106, 119-122]. Ubytek masy podczas wygrzewania do  $1450\text{ }^{\circ}\text{C}$  wyniósł  $2,31\%$  i był związany z uwalnianiem cząstek  $CO_2$  oraz  $H_2O$ .



Rysunek 39. Krzywe DTA / TGA / EGA dla proszku HAP.

#### 4.2.2. Zastosowane warunki obróbki cieplnej powłok HAP

Do dalszych badań zostały wybrane powłoki osadzone przy napięciu 40 V w czasie 120 s. Powłoki te charakteryzowały się ciągłością powierzchni oraz najmniejszą grubością. Próbki zostały spieczone w zakresie temperatur od 400 do 800 °C w czasie 5 i 120 minut (Tabela 8) w piecu próżniowym ( $10^{-7}$  Pa)

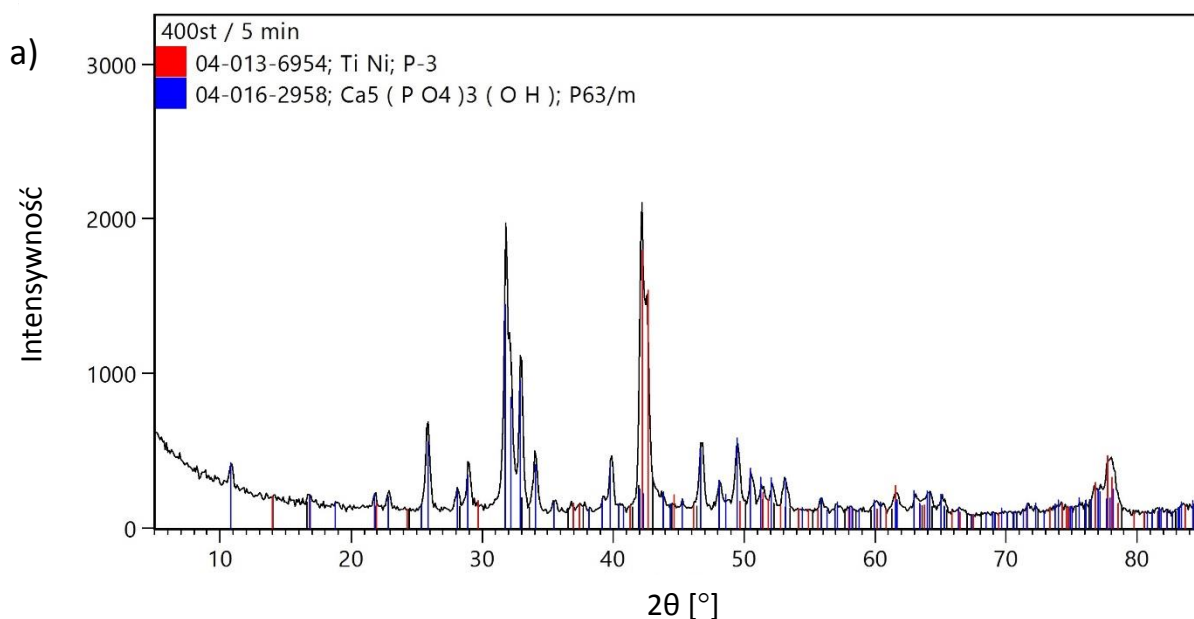
Tabela 8. Parametry obróbki cieplnej powłok HAP.

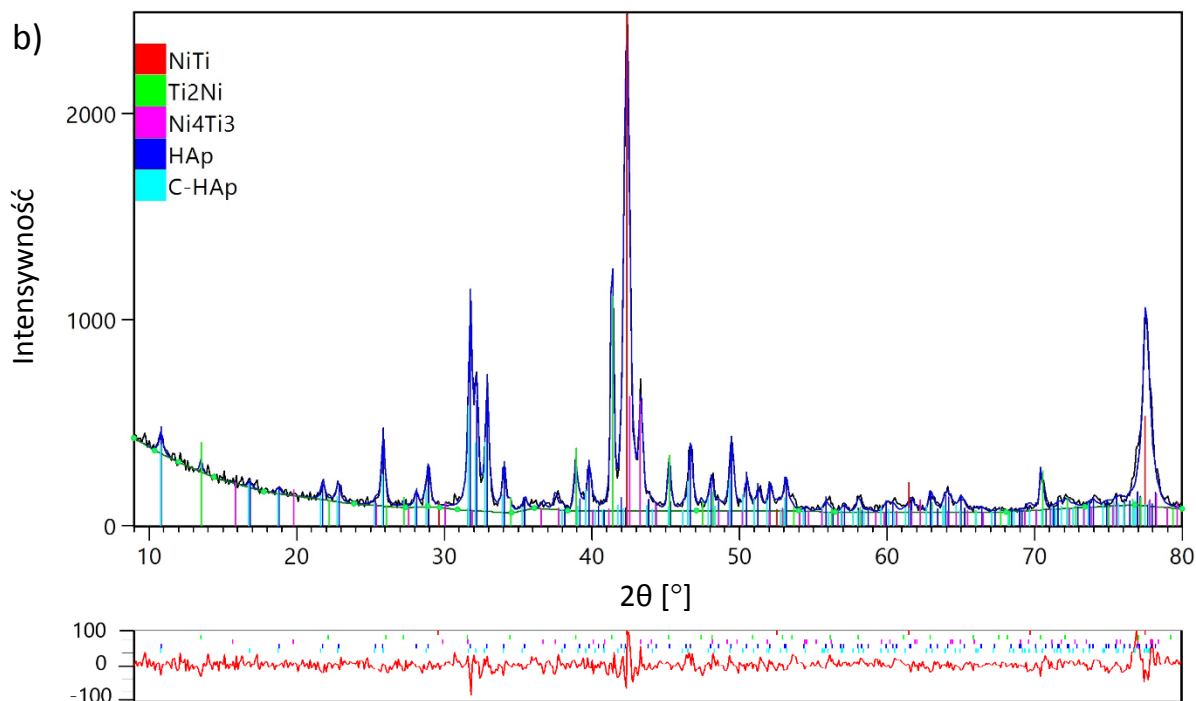
Temperatura [°C]	Czas [min]
400	5
	120
500	5
600	5
700	5
	120
800	5
	120

#### 4.2.3. Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na strukturę warstw HAp oraz podłoża NiTi

Badania rentgenowskie wykonane dla wszystkich próbek po spiekaniu potwierdziły obecność hydroksyapatytu  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  (ICDD - PDF 04-016-958). Dyfraktogramy zarejestrowane dla próbek poddanych spiekaniu w skrajnych warunkach przedstawiono na Rysunku 40. Podczas obróbki cieplnej doszło do powstania defektów strukturalnych i wbudowania się grup węglanowych ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) w strukturę HAp, co skutkowało powstaniem śladowych ilości apatytów węglanowych (C-HAp) typu A i B [116, 118, 119-122] takich jak np.  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_{2,7}(\text{CO}_3)_{0,8}(\text{OH})_{0,3}$  (ICDD - PDF 04-016-7498). Nawet w przypadku zastosowania najwyższej temperatury (800 °C) oraz najdłuższego czasu (2 godzin) nie stwierdzono obecności linii dyfrakcyjnych mogących pochodzić od produktów rozkładu cząstek HAp (Rysunek 40 b). Parametry komórki elementarnej wyznaczone metodą Rietwelda dla poszczególnych faz próbki spieczonej w 800°C / 2h przedstawia Tabela 9. Współczynniki dopasowania przyjęły następujące wartości:  $R_{\text{wp}} = 10,11 \%$ ,  $R_{\text{exp}} = 6,80 \%$ , a współczynnik jakości dopasowania  $G_{\text{OF}} = 1,49$ .

Dla niższych temperatur z przedziału 400°C i 500°C zaobserwowano w temperaturze pokojowej obecność fazy R o strukturze romboedrycznej  $\bar{P}3$  (ICDD - PDF 04-013-6954) (Rysunek 40 a). Natomiast rezultatem zastosowania obróbki cieplnej w zakresie temperatur od 600 do 800 °C pojawienie się wydzieleni faz: równowagowej  $\text{Ti}_2\text{Ni}$  (ICDD - PDF 04-007-1531) o strukturze regularnej ( $\text{Fd}\bar{3}m$ ) oraz nierównowagowej  $\text{Ni}_4\text{Ti}_3$  (ICDD - PDF 04-014-1415) o strukturze romboedrycznej  $\bar{R}3$  (Rysunek 40 b). Obecność wydzieleni  $\text{Ti}_2\text{Ni}$  i  $\text{Ni}_4\text{Ti}_3$  w fazie macierzystej stopu NiTi została potwierdzona obserwacjami przeprowadzonymi na mikroskopie transmisyjnym (Rysunek 41).

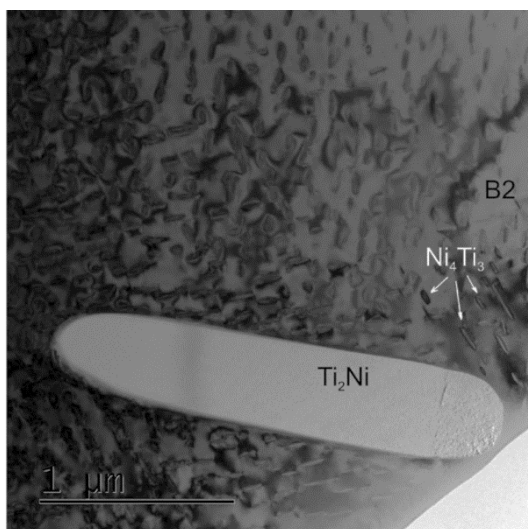




Rysunek 40. Dyfraktogramy rentgenowskie zmierzone przy stałym kącie padania wiązki pierwotnej ( $\alpha = 0,2^\circ$ ) dla warstw spieczonych w  $400^\circ\text{C}/5\text{min}$ . (a) oraz  $800^\circ\text{C}/2\text{h}$  z dopasowaniem Rietvelda (b), gdzie dyfraktogram eksperymentalny to (—), teoretyczny (—), a krzywa różnicowa to (—).

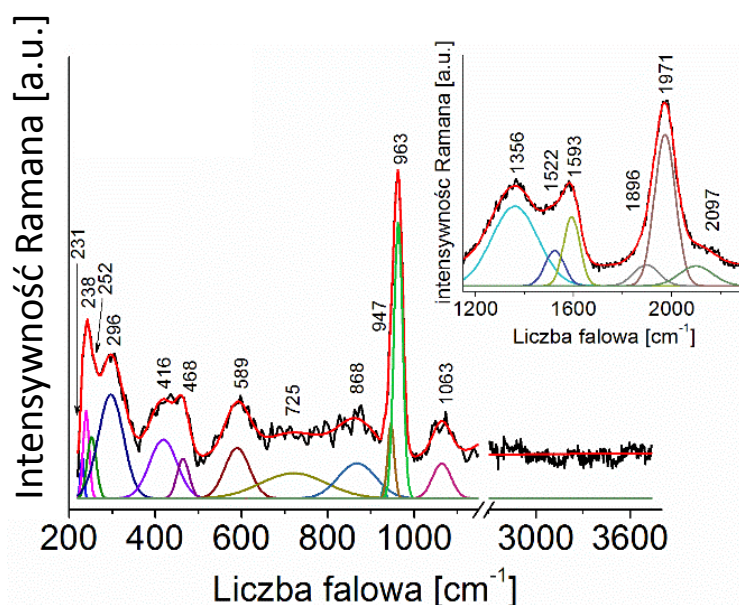
Tabela 9. Parametry komórek elementarnych wyznaczone metodą Rietvelda dla poszczególnych faz próbki spieczonej w  $800^\circ\text{C}/2\text{h}$ .

Hydroksyapatyt $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$	Apatyt węglanowy C-HAp	NiTi	$\text{Ti}_2\text{Ni}$	$\text{Ni}_4\text{Ti}_3$
$a_0 = 9,424(4) \text{ \AA}$ $c_0 = 6,890(9) \text{ \AA}$	$a_0 = 9,478(6) \text{ \AA}$ $c_0 = 6,882(9) \text{ \AA}$	$a_0 = 3,015(2) \text{ \AA}$	$a_0 = 11,339(2) \text{ \AA}$	$a_0 = 11,328(1) \text{ \AA}$ $c_0 = 5,055(4) \text{ \AA}$



Rysunek 41. Obraz TEM obserwowany dla podłoża NiTi po obróbce cieplnej w  $800^\circ\text{C}$  przez 2h [162].

Rysunek 42 przedstawia widmo Ramana warstw HAp po spiekaniu w 800°C / 2h. Pasma w regionie 1190 - 900 cm<sup>-1</sup> oraz 635 - 400 cm<sup>-1</sup> można przypisać drganiom poszczególnych podjednostek strukturalnych, podobnie jak w przypadku warstw przed spiekaniem (Rysunek 32), tj. drganiom rozciągającym antysymetrycznym ( $\nu_3$ ) i symetrycznym ( $\nu_1$ ) pomiędzy P–O w obrębie tetraedru fosforanowo - tlenowego oraz łamiącym ( $\nu_4$ ,  $\nu_2$ ) pomiędzy O–P–O. Badania wykazały, że nastąpiło znaczne obniżenie intensywności pasma przy 3576 cm<sup>-1</sup>, charakterystycznego dla krystalicznego HAp co wskazuje na częściową dehydratację materiału. Zidentyfikowano również dodatkowe pasma: o symetrii  $\nu_3$  (1985 - 1970 cm<sup>-1</sup>),  $\nu_1$  (955 - 945 cm<sup>-1</sup>),  $\nu_4$  (650 - 540 cm<sup>-1</sup>) oraz  $\nu_2$  (500 - 400 cm<sup>-1</sup>) związane z drganiami grupy (PO<sub>4</sub>)<sup>3-</sup>, które mogą pochodzić od amorficznej fazy fosforanowej (ACP) [115, 148-154]. Pasma w regionie 1985 - 1970 cm<sup>-1</sup> mogą pochodzić również od powierzchniowo zaadsorbowanej grupy (CO<sub>3</sub>)<sup>2-</sup> [164]. Badania wykazały również obecność pasm w regionach 1985 - 1970 cm<sup>-1</sup>, 1550 - 1280 cm<sup>-1</sup>, 1593 cm<sup>-1</sup> oraz 879 cm<sup>-1</sup> pochodzących od drgań grup (-CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) wbudowanych w strukturę hydroksyapatytu. Pasma przy 1593 i 879 cm<sup>-1</sup> świadczą o podstawieniu jonów -OH<sup>-</sup> przez anion (CO<sub>3</sub>)<sup>2-</sup> (defekty typu A), podczas gdy pasmo przy 1356 cm<sup>-1</sup> odzwierciedla częściowe podstawienie grupy (CO<sub>3</sub>)<sup>2-</sup> w pozycji jonu (PO<sub>4</sub>)<sup>3-</sup> (defekty typu B) [165-167].



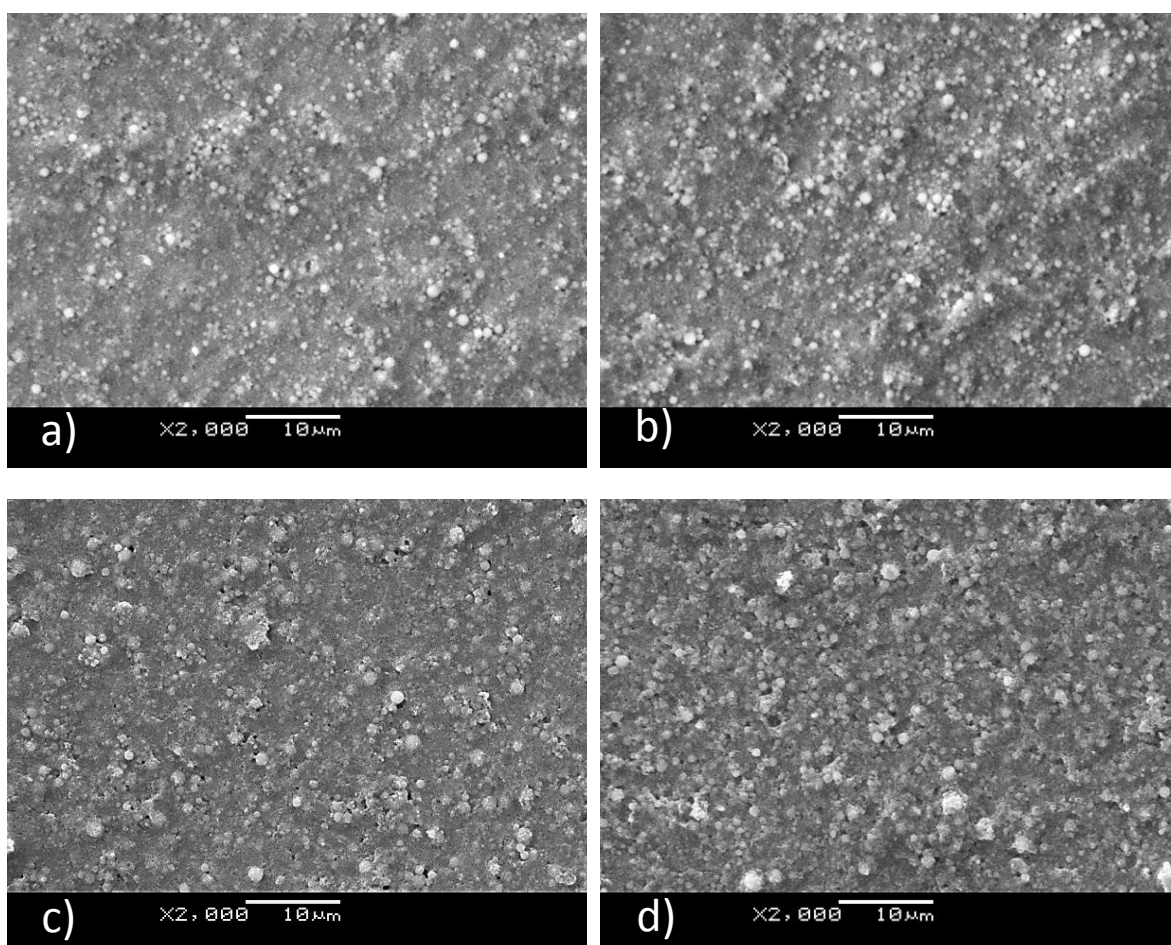
Rysunek 42. Widmo Ramana warstw HAp po spiekaniu w 800 °C / 2h.

#### 4.2.4. Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na jakość warstw HAp

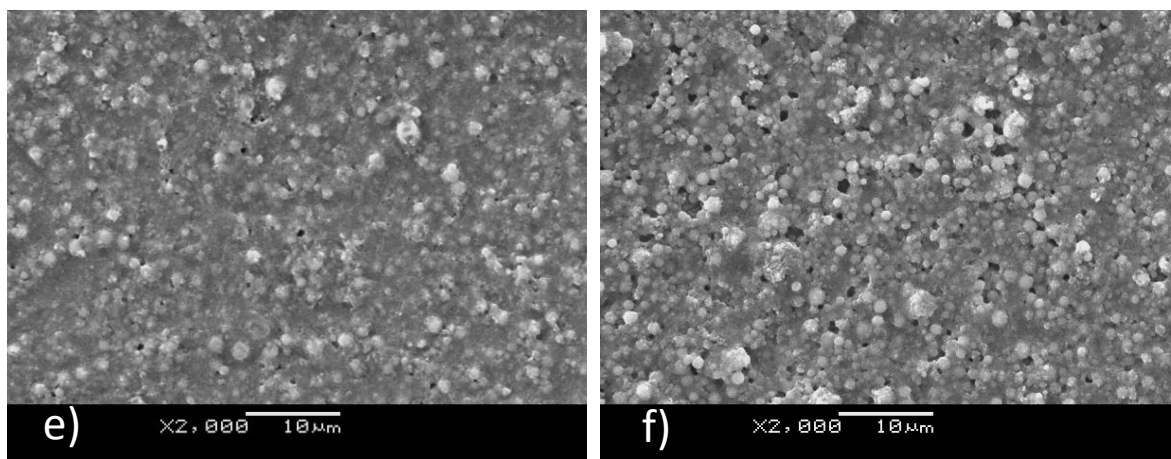
Obserwacje mikroskopowe oraz badania przy użyciu AFM ujawniły wpływ zastosowanych warunków spiekania na jakość wytworzonych warstw (Rysunki 43 i 44). Badania wykazały, że zastosowanie niskich temperatur spiekania nie wpływa znacząco na zmianę morfologii warstw

(Rysunki 43 a-b i 44 a-b), które przypominały powłoki po osadzeniu 40V / 120 s (Rysunki 33 c i 34 c), dopiero podniesienie temperatury do 700 °C skutkowało widocznymi zmianami morfologii (Rysunki 43 c-f i 44 c-f). Spiekanie spowodowało koalescencję cząstek ceramicznych. Zaobserwowano, że wydłużenie czasu spiekania z 5 minut do 2 godzin spowodowało bardziej zauważalne zmiany powierzchni niż zastosowanie wyższej temperatury. Nie zaobserwowano obecności pęknięć, które mogą powstawać w warstwach ceramicznych w wyniku zastosowanej obróbki cieplnej.

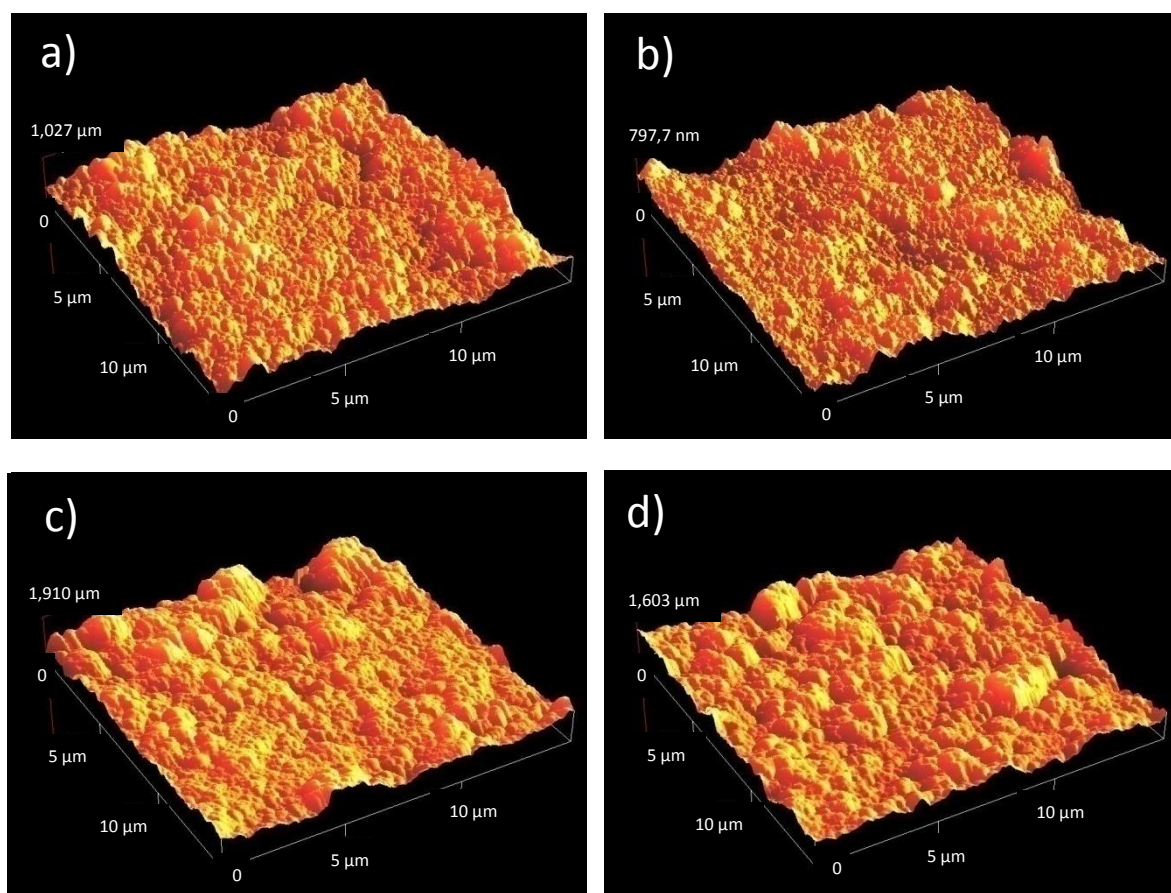
Badania chropowatości powierzchni przy użyciu AFM dla wytworzonych warstw HAP (Rysunek 45) wykazały, że wydłużenie czasu spiekania z 5 minut do 2 godzin przy tej samej temperaturze skutkuje obniżeniem wartości parametrów chropowatości Ra i Rz. Wszystkie warstwy, z wyjątkiem spieczonej w 400 °C / 5 min., wykazywały większą chropowatość od powłok HAP osadzonych elektroforetycznie przy 40V / 120s. Próby wykonania pomiarów chropowatości dla większego obszaru przy użyciu profilometru (Rysunek 46) ujawniły, że wszystkie warstwy HAP, z wyjątkiem tych spieczonych w 700 °C / 2h i 800 °C / 2h, wykazują bardzo słabą przyczepność do podłoża, co skutkowało ich oderwaniem w trakcie wykonywania pomiarów. Z tego powodu wartości parametrów chropowatości wyznaczone metodą profilometryczną dla większości próbek były porównywalne z Ra i Rz dla spasywowanego NiTi.

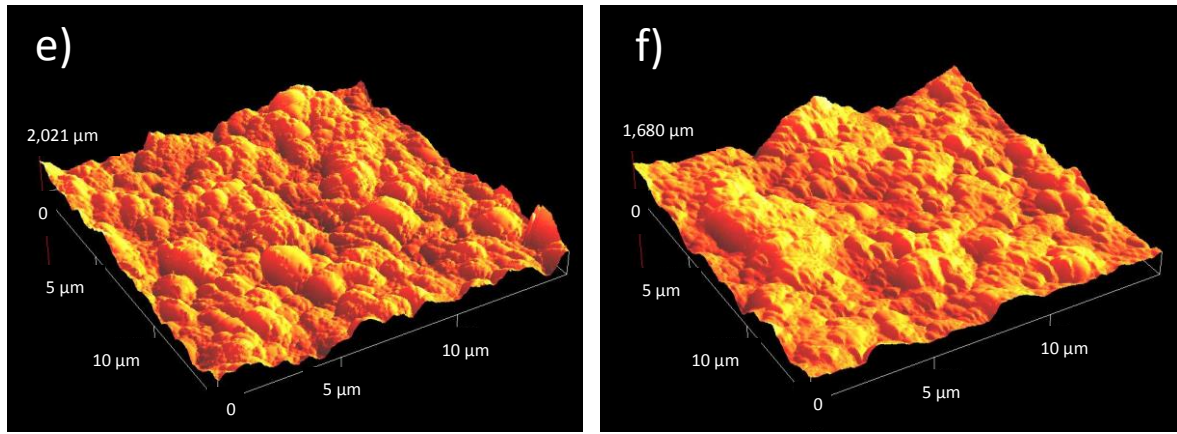




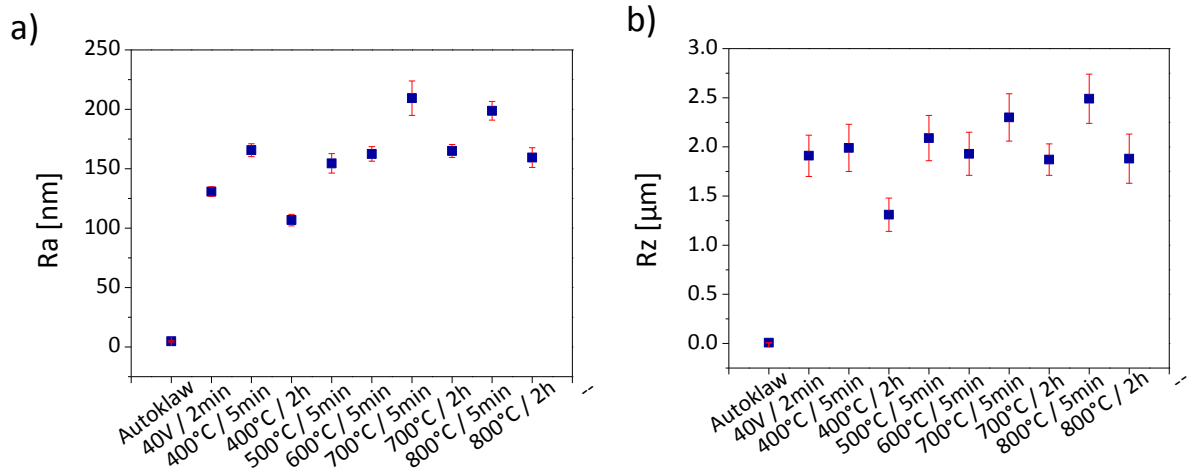


Rysunek 43. Obrazy mikroskopowe powierzchni obserwowane dla warstw HAp (40V / 120s) po spiekaniu w następujących warunkach: 400°C / 5min. (a), 400°C / 2h (b), 700°C / 5min. (c), 700°C / 2h (d), 800°C / 5min. (e) i 800°C / 2h (f) [73].

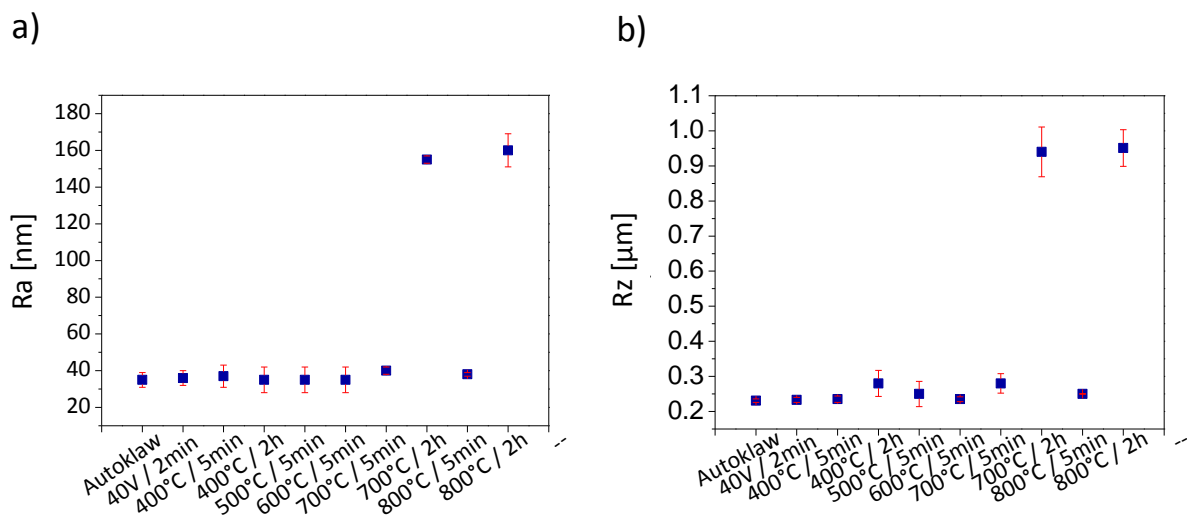




Rysunek 44. Obrazy 3D powierzchni 15  $\mu\text{m}$  x 15  $\mu\text{m}$  (AFM) warstw HAp po spiekaniu: 400°C / 5min. (a), 400°C / 2h (b), 700°C / 5min. (c), 700°C / 2h (d), 800°C / 5min. (e) i 800°C / 2h (f).

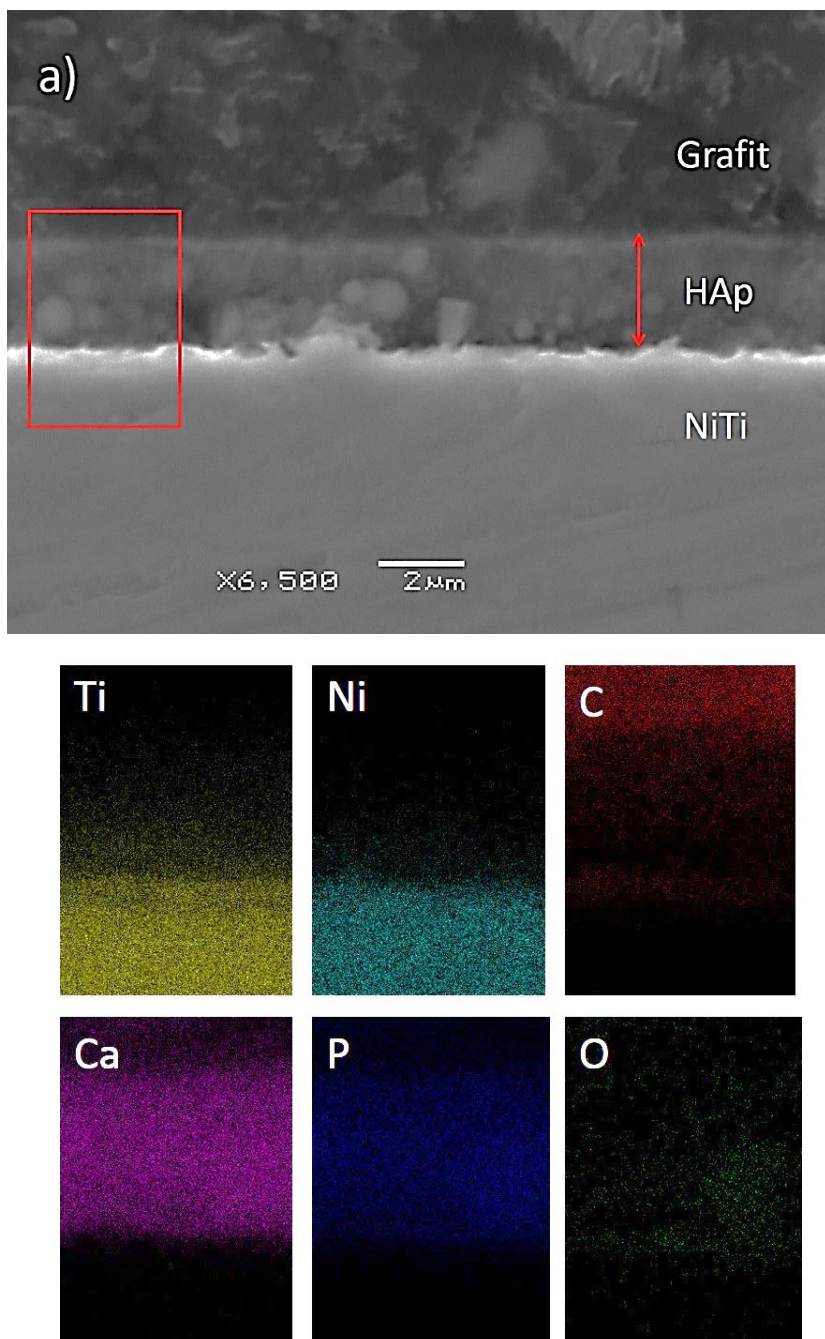


Rysunek 45. Parametry chropowatości warstw HAp wyznaczone przy użyciu AFM z powierzchni 15  $\mu\text{m}$  x 15  $\mu\text{m}$ .



Rysunek 46. Parametry chropowatości warstw HAp wyznaczone przy użyciu profilometru.

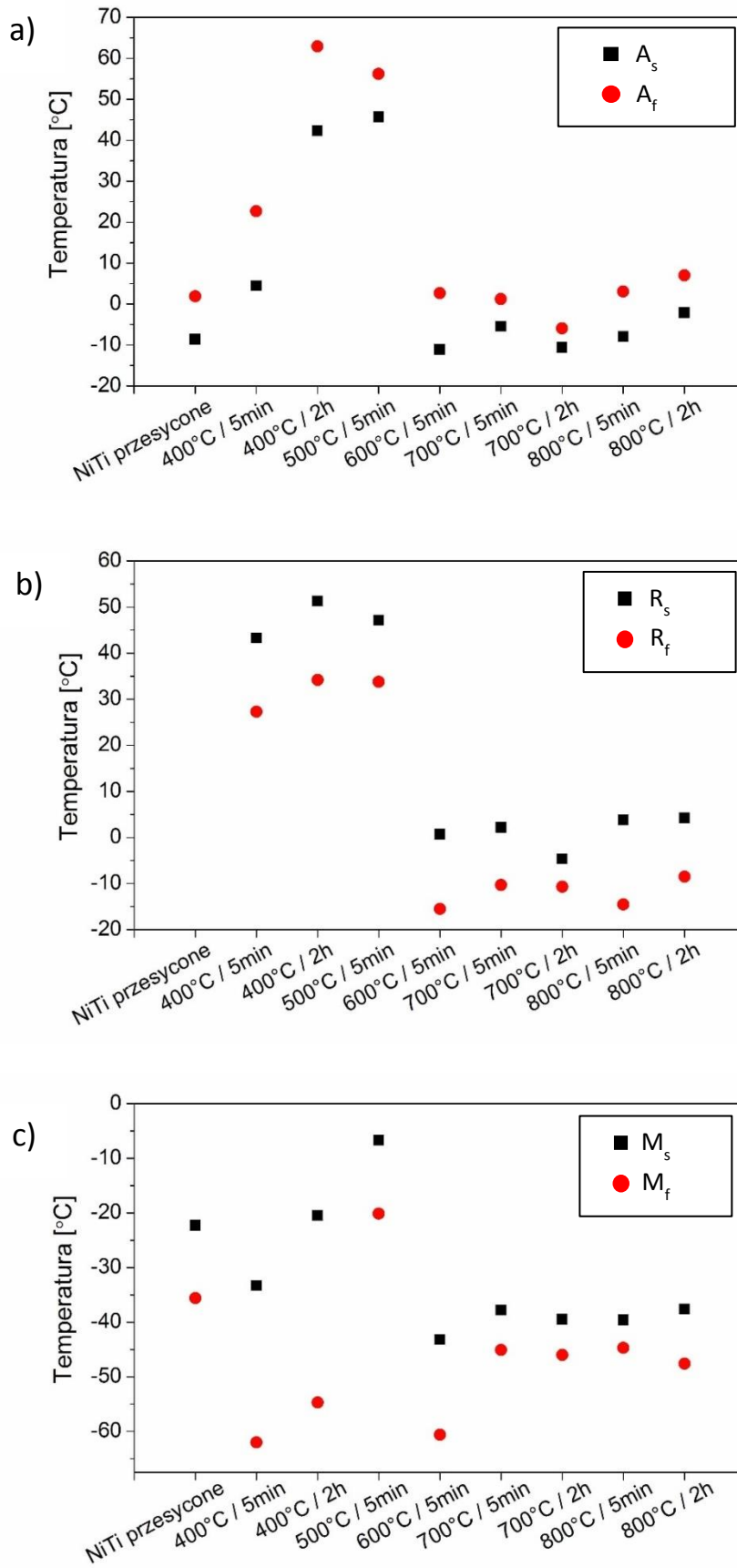
Dla próbki spieczonej w 800 °C / 2h przeprowadzono obserwacje mikroskopowe (Rysunek 47 a). Badania wykonano na przekroju poprzecznym próbki. Z obrazów wyznaczono grubość warstwy, która wynosiła około 2,4 μm. Zmierzone mapy rozkładu pierwiastków (Rysunek 47 b) potwierdziły obecność pierwiastków budujących cząstki HAp (wapnia, fosforu i tlenu) w miejscu widocznej warstwy.



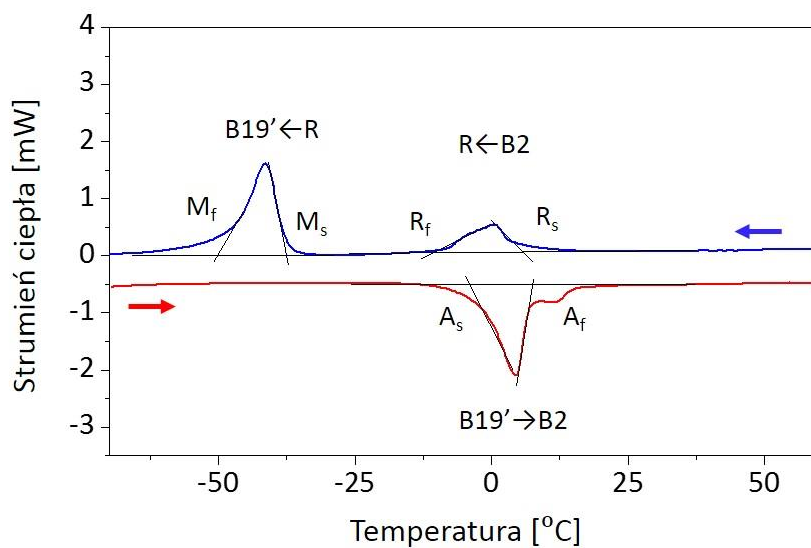
Rysunek 47. Obraz mikroskopowy obserwowany dla przekroju poprzecznego warstwy HAp 40V / 120s spieczonej w 800 °C / 2h (a) oraz mapy rozkładu pierwiastków (b) [73].

#### 4.2.5. Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na przebieg przemiany martenzytycznej w stopie NiTi

Badania DSC wykazały, że zastosowane warunki spiekania przyczyniły się do zmiany sekwencji odwracalnej przemiany martenzytycznej z jednostopniowej ( $B2 \rightarrow B19'$ ) na dwustopniową ( $B2 \rightarrow R \rightarrow B19'$ ). Temperatry charakterystyczne przemian przedstawia Rysunek 48. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem temperatury do 500 °C następował wzrost temperatury początku ( $A_s$ ) i końca ( $A_f$ ) odwrotnej przemiany martenzytycznej  $B19' \rightarrow B2$ , które osiągnęły odpowiednio wartości 45,7 °C i 56,2 °C. Dla pozostałych warunków spiekania temperatury te mieściły się w zakresie od -11,1 °C ( $A_s$  dla 600 °C / 5 min.) do 7,0 °C ( $A_f$  dla 800 °C / 2h) (Rysunek 48 a). Również temperatury początku ( $R_s$ ) i końca ( $R_f$ ) przemiany  $B2 \rightarrow R$ , dla próbek spiekanych do 500 °C / 5min. były znacznie wyższe niż dla pozostałych warunków zastosowanej obróbki cieplnej (Rysunek 48 b). Dla wszystkich przypadków temperatury początku ( $M_s$ ) oraz końca ( $M_f$ ) przemiany  $R \rightarrow B19'$  wykazywały ujemną wartość. W temperaturze pokojowej stop występował w fazie R, co potwierdzają badania rentgenowskie (Rysunek 40 a). Można również zaobserwować, że  $M_s$  i  $M_f$  dla próbek spiekanych w 700 °C i 800 °C były przybliżone. W pozostałych przypadkach występował znaczny ich rozrzut (Rysunek 48 c). Powyższe badania wykazały, że dla niższych temperatur obróbki cieplnej (poniżej 600 °C) zakres przemiany ( $A_f - M_f$ ) oraz pętla histerezy ( $A_f - M_s$ ) miały dużo wyższe wartości niż dla pozostałych. Dla próbek spiekanych powyżej 600 °C stop NiTi w temperaturze pokojowej występował w fazie B2. Przykładowy termogram zmierzony dla próbki spieczonej w 800 °C / 2h przedstawia Rysunek 49. Zostały ze zmierzonych termogramów wyznaczono entalpię poszczególnych przemian. W przypadku obróbki cieplej w najwyższej zastosowanej temperaturze wartości entalpii przedstawiały się następująco (800 °C / 2h)  $\Delta H B19' \rightarrow B2 = -14,7$  J/g,  $\Delta H B2 \rightarrow R = 3,5$  J/g, a  $\Delta H R \rightarrow B19' = 8,3$  J/g. Wartości te są niższe w porównaniu ze stopem NiTi po przesycaeniu (Tabela 5), co jest spowodowane częściową dekompozycją fazy macierzystej stopu NiTi i równoczesnym pojawieniem się wydzieleni  $Ti_2Ni$  oraz  $Ni_4Ti_3$  (Rysunki 40 i 41).



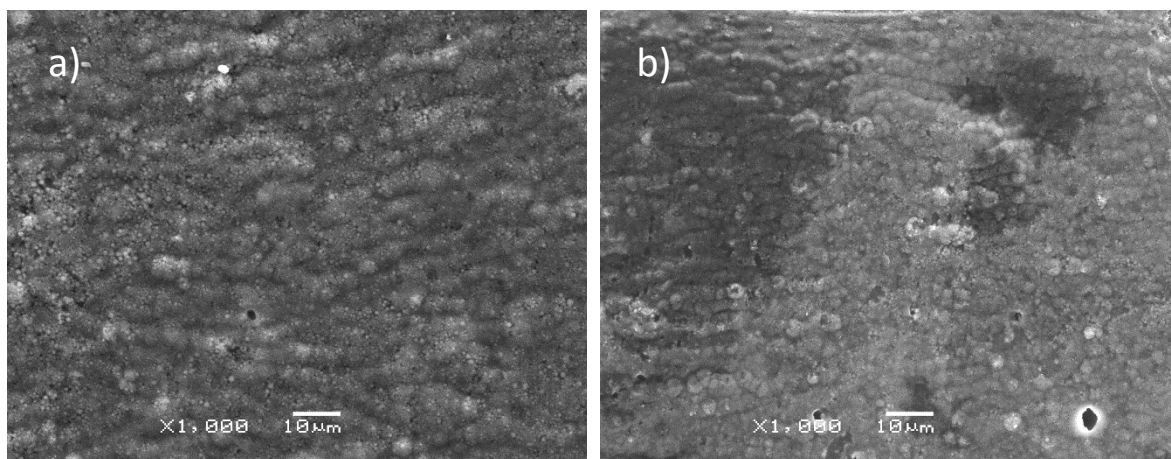
Rysunek 48. Zmiany temperatur charakterystycznych odwracalnej przemiany martenzytycznej w zależności od zastosowanej temperatury obróbki cieplnej.



Rysunek 49. Termogram zmierzony dla próbki spieczonej w 800 °C / 2h [73].

#### 4.2.6. Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na adhezję warstw do podłoża

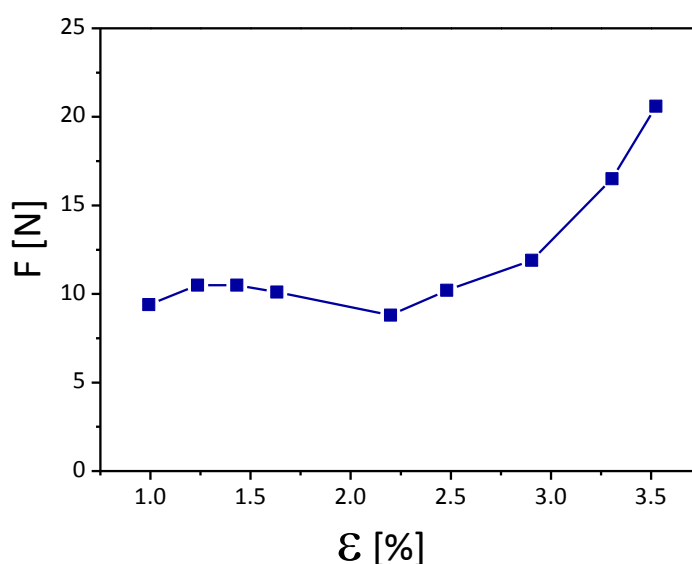
Próby wykonania pomiarów chropowatości przy użyciu profilometru (Rysunek 46) wykazały, że wszystkie warstwy HAp, z wyjątkiem spieczonych w 700 °C / 2h i 800 °C / 2h, wykazują bardzo słabą przyczepność do podłoża. Z praktycznego punktu zastosowania takich powłok byłyby one bezużyteczne. Z tego powodu pomiary adhezji zostały wykonane tylko dla próbek 700 °C / 2h i 800 °C / 2h zgodnie z normą ASTM F1044-05. Adhezja warstw HAp spieczonych w 700 °C / 2h do spasywowanego podłoża NiTi wynosiła  $(9,3 \pm 1,0)$  MPa, natomiast dla warstw HAp spieczonych w 800 °C / 2h  $(15,1 \pm 1,4)$  MPa. Obserwacje mikroskopowe powierzchni po zrywaniu wykazały, że część warstwy, w obydwu przypadkach, ściśle przylegała do podłoża (Rysunek 50). Z uwagi na powyższe fakty dalsze badania prowadzono jedynie dla próbek spiekanych w 700 °C i 800 °C przez 2 godziny.



Rysunek 50. Obraz mikroskopowy powierzchni próbek po pomiarach adhezji: 700 °C / 2h (a) i 800 °C / 2h (b).

#### 4.3. Odporność wytworzonych warstw HAp na odkształcenie związane z indukowaniem efektu pamięci kształtu

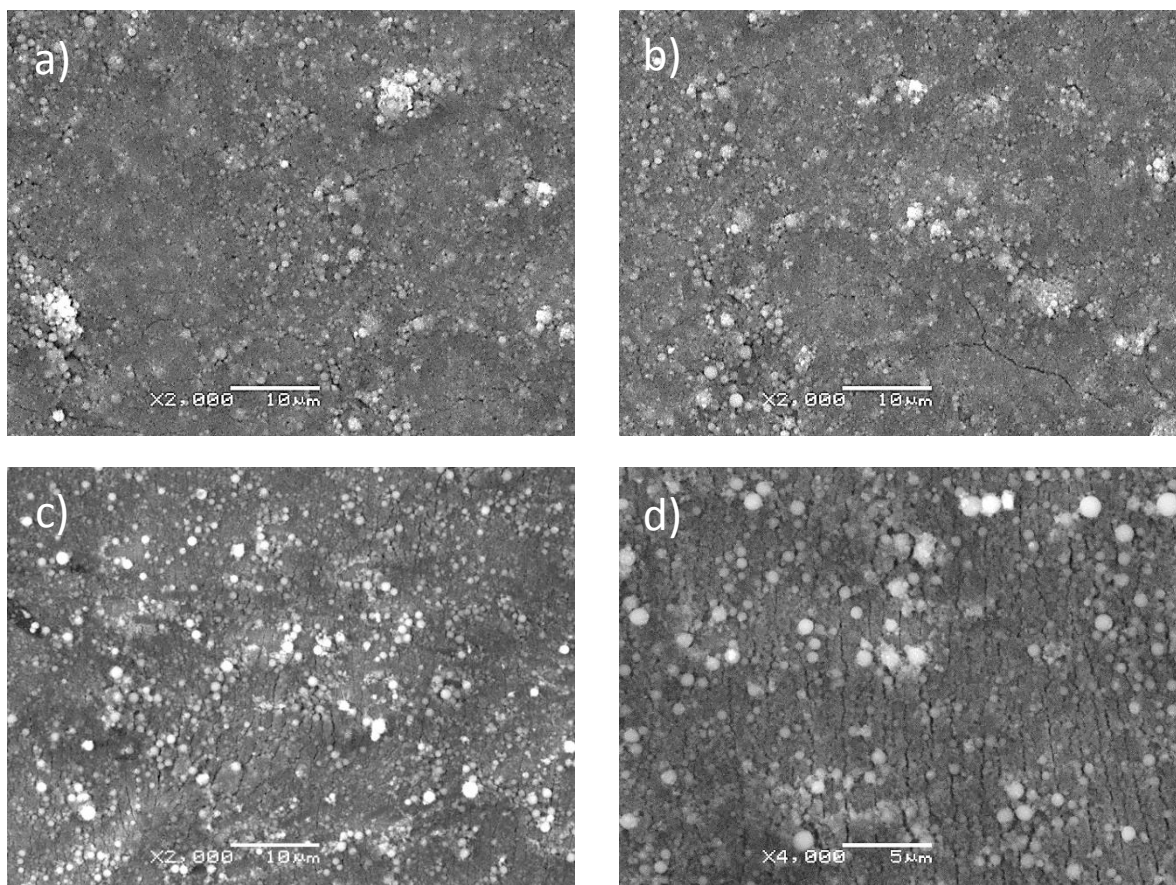
W celu określenia odporności wytworzonych warstw HAp na odkształcenia związane z indukowaniem efektu pamięci kształtu w stopie NiTi, próbki zostały poddane badaniom *in-situ* w mikroskopie skaningowym. Badania wykazały, że przyłożenie siły do 10 N powoduje odkształcenie stopu do około 3 % związane ze zjawiskiem nadsprężystości. Dalszy wzrost siły prowadził do odkształceń sprężystych martenzytu (Rysunek 51).



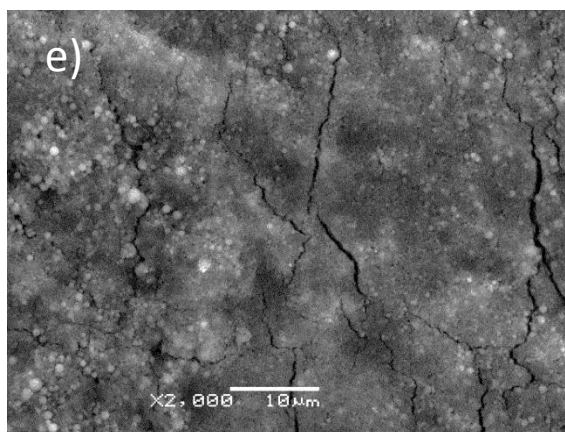
Rysunek 51. Zależność siły  $F$  od odkształcenia  $\epsilon$  związanego z efektem pamięci kształtu wyznaczona dla próbki spieczonej w 700 °C / 2h.

Pierwsze drobne pęknięcia warstw HAp spiekanych w 700 °C / 2h zostały zaobserwowane przy  $\epsilon = 2,15 \%$  (Rysunek 52 a). Zwiększenie odkształcenia do 2,45 % (Rysunek 52 b), nieznacznie zmieniło obraz powierzchni. Dopiero zastosowanie  $\epsilon = 2,61 \%$  (Rysunek 52 c) spowodowało pojawienie się bardzo drobnej sieci pęknięć na całej powierzchni warstwy, które po wzroście odkształcenia do 2,98 % ulegały propagacji i zwiększyły swoje wymiary (Rysunek 52 d). Jednak nawet  $\epsilon = 3,36 \%$  (Rysunek 52 e) nie powodowało odrywania się cząstek HAp. Nie zaobserwowano również delaminacji warstwy.

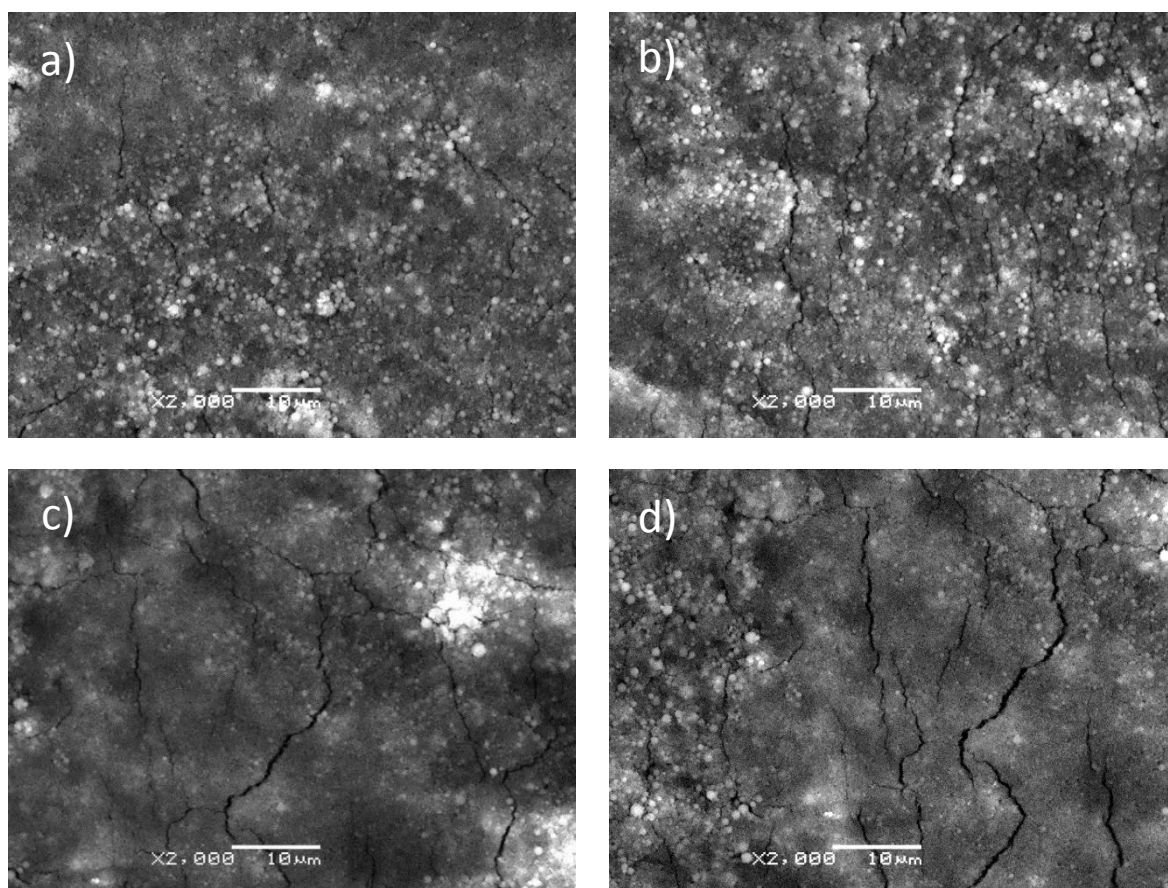
W przypadku warstw HAp spiekanych w 800 °C / 2h pierwsze pęknięcia zostały zaobserwowane dopiero przy odkształceniu  $\epsilon = 2,48 \%$  (Rysunek 53 a). Podobnie jak w przypadku próbki 700 °C / 2h, wraz ze wzrostem odkształcenia pojawiła się bardziej gęsta sieć pęknięć (Rysunki 53 b-d). Nawet przy maksymalnym zastosowanym odkształceniu  $\epsilon = 3,53 \%$  nie doszło do oderwania się warstwy od podłoża, ani też pojedynczych cząstek HAp od siebie.







Rysunek 52. Obrazy mikroskopowe powierzchni warstwy HAp 700 °C / 2h po odkształceniu:  $\epsilon = 2,15\%$  (a),  $\epsilon = 2,45\%$  (b),  $\epsilon = 2,61\%$  (c),  $\epsilon = 2,98\%$  (d) i  $\epsilon = 3,36\%$  (e).

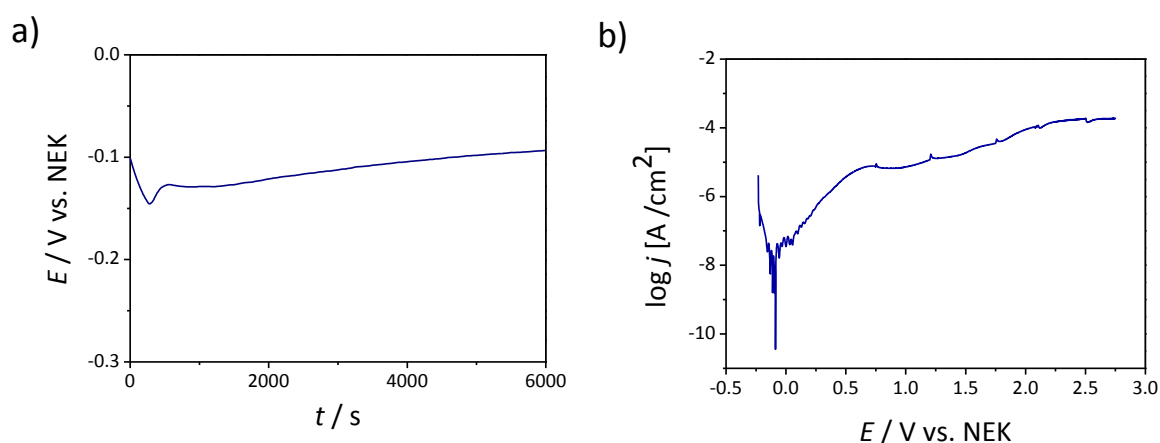


Rysunek 53. Obrazy mikroskopowe powierzchni warstwy HAp 800 °C / 2h po odkształceniu:  $\epsilon = 2,48\%$  (a),  $\epsilon = 2,90\%$  (b),  $\epsilon = 3,31\%$  (c) i  $\epsilon = 3,53\%$  (d) [73].

#### 4.4. Odporność korozyjna wytworzonych warstw HAp w środowisku symulowanych płynów ustrojowych

Pomiar potencjału obwodu otwartego wykonany dla warstw HAp 40V / 120s po obróbce cieplnej 700°C / 2h i 800°C / 2h trwał 100 minut. Krzywe potencjału obwodu otwartego w funkcji czasu dla obydwu próbek miały podobny przebieg. Przykładowy wykres przedstawia Rysunek 54 a. Po około 50 minutach nastąpiła równowaga jonowo - elektronowa na granicy próbka | elektrolit. Wyższą wartość potencjału obwodu otwartego  $E_{oc} = -0,081$  V, a tym samym lepszą odporność korozyjną wykazywała warstwa hydroksyapatytu spieczona w 800°C / 2h (Tabela 10).

Podstawowe wartości do oceny odporności korozyjnej uzyskano w wyniku badań metodą krzywych polaryzacji. Przykładową krzywą przedstawia Rysunek 54 b. Wartości gęstości prądu  $J_{kor}$  i potencjału korozyjnego  $E_{kor}$  pozwoliły na określenie stopnia odporności korozyjnej. Podobnie jak w przypadku pomiaru potencjału obwodu otwartego, wyższe wartości, a tym samym lepszą odporność korozyjną wykazywała warstwa spieczona w wyższej temperaturze (Tabela 10).



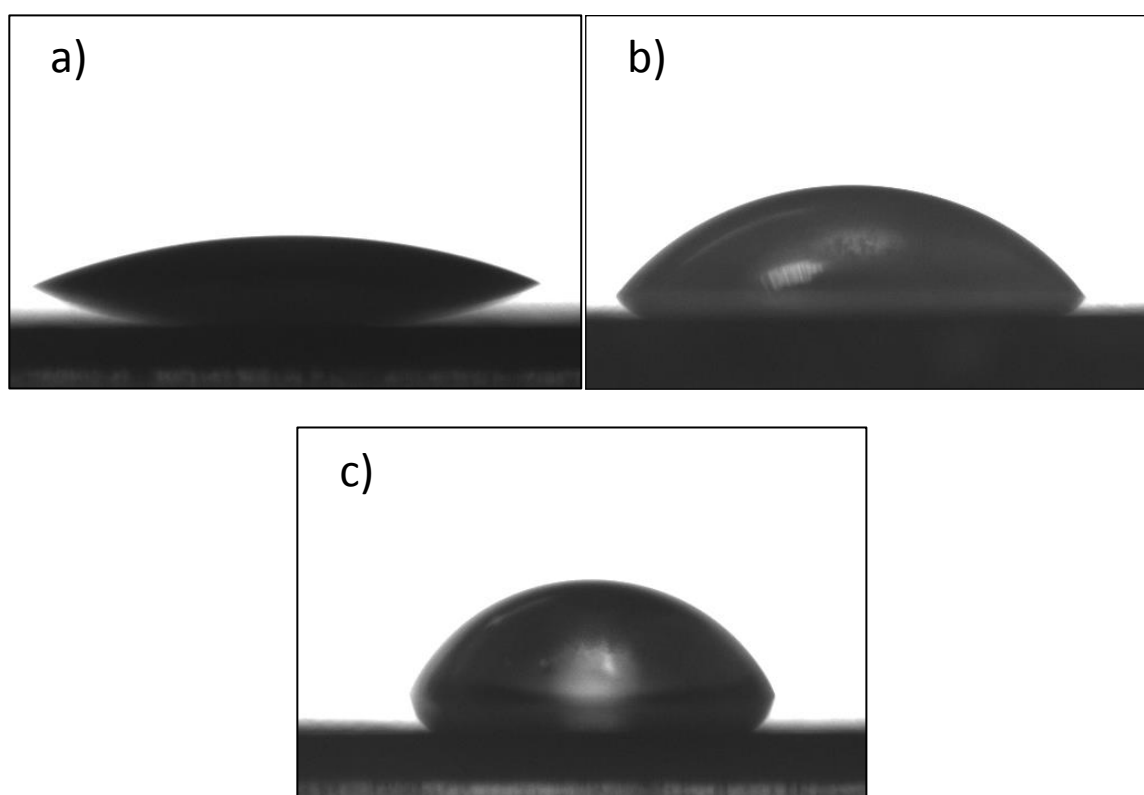
Rysunek 54. Potencjał obwodu otwartego w funkcji czasu (a) i krzywa polaryzacji anodowej (b) dla warstwy HAp 40V / 120s 800 °C / 2h w roztworze Ringera w temperaturze 37 °C.

Tabela 10. Parametry odporności korozyjnej wyznaczone w badaniach potencjału obwodu otwartego i anodowych krzywych polaryzacji w roztworze Ringera w temp. 37 °C dla warstw HAp 40V / 120s spiekanych w 700 °C / 2h i 800 °C / 2h.

Próbka	$E_{oc}$ [V]	$E_{kor}$ [V]	$J_{kor}$ [ $A\ cm^{-2}$ ]
HAp 40V / 120s 700°C / 2h	-0,131	-0,139	$7,22 \cdot 10^{-9}$
HAp 40V / 120s 800°C / 2h	-0,081	-0,089	$7,54 \cdot 10^{-8}$

#### 4.5. Zwilżalność powierzchni wytworzonych warstw HAp

W kształtowaniu właściwości powierzchni implantów powinno się również uwzględnić zwilżalność, która wpływa na ich aktywność biologiczną w środowisku płynów ustrojowych. Badania zwilżalności powierzchni wytworzonych warstw wykazały, że kąt przylegania ( $\Theta$ ) zmierzony dla powłoki po osadzeniu HAp przy 40V / 120s (Rysunek 55 a) oraz dla warstw HAp po spiekaniu w 700 °C / 2h (Rysunek 55 b) i 800 °C / 2h (Rysunek 55 c) przyjął kolejno następujące wartości:  $(25,3 \pm 0,4)^\circ$ ,  $(59,4 \pm 0,3)^\circ$  i  $(66,5 \pm 0,6)^\circ$ . Wykonane badania potwierdziły korzystny hydrofilowy charakter wytworzonych warstw.



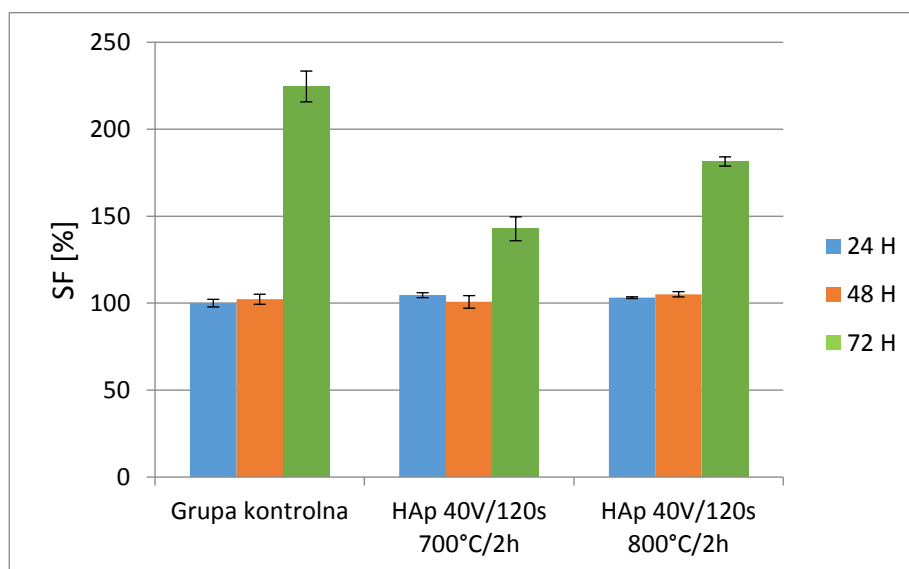
Rysunek 55. Obraz kropli wody na powierzchni warstwy: HAp 40V / 120s (a), HAp spieczonej w 700 °C / 2h (b) oraz w 800 °C / 2h (c).

#### 4.6. Biologiczna ocena biozgodności wytworzonych warstw HAp

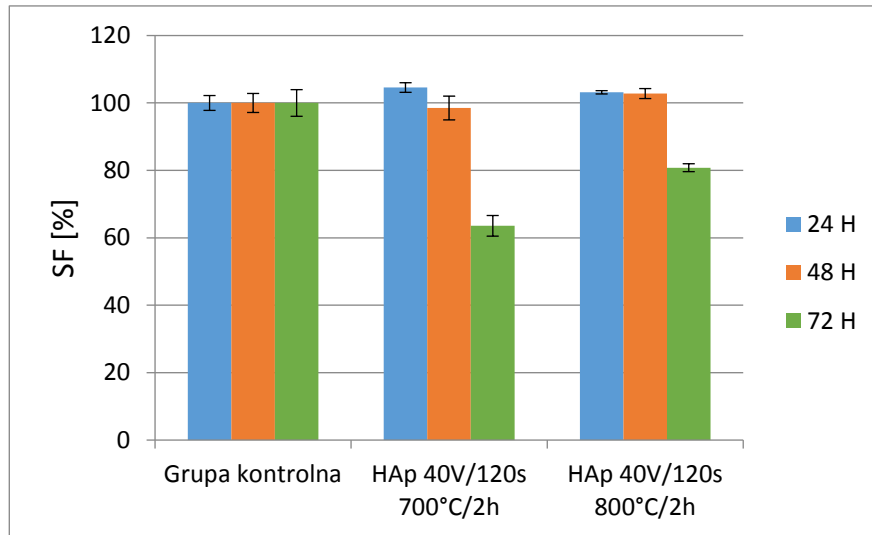
Badania metodą MTS umożliwiły ilościowe określenie cytotoksyczności wytworzonych warstw HAp w stosunku do komórek ludzkich fibroblastów linii NHDF. Wykonano również obserwacje mikroskopowe wysianych komórek mające na celu znalezienie nieprawidłowych zmian w ich morfologii. Eksperymenty przeprowadzono na próbkach 40V / 120s poddanych obróbce cieplnej w 700 °C i 800 °C przez 2 godziny.

Badania wykazały, że komórki w grupie kontrolnej zaczęły się intensywnie dzielić dopiero w trzeciej dobie od wysiania, osiągając po 72 godzinach poziom ok. 225 % w stosunku do ilości po 24 godzinach przyjętych za 100 %. Świadczy to o ich prawidłowej żywotności. W przypadku warstw HA<sub>p</sub> zaobserwowano mniejszy przyrost ilości komórek po 72 godzinach hodowli niż w przypadku grupy kontrolnej, a dla podłoża HA<sub>p</sub> 700 °C / 2h mniejszy w porównaniu z HA<sub>p</sub> 800 °C / 2h (Rysunek 55). W przypadku warstw HA<sub>p</sub>, aktywność enzymatyczna komórek została zahamowana po 48 godzinach i komórki przestały dzielić się tak intensywnie, jak w przypadku grupy kontrolnej. Zarówno na podłożu HA<sub>p</sub> spiekanym w 700 °C, jak i w 800 °C, do 48 godzin hodowli utrzymane było 100 % komórek w stosunku do grupy kontrolnej i dopiero po 72 godzinach zaobserwowano zahamowanie ich wzrostu odpowiednio do 60 i 80 % (Rysunek 57).

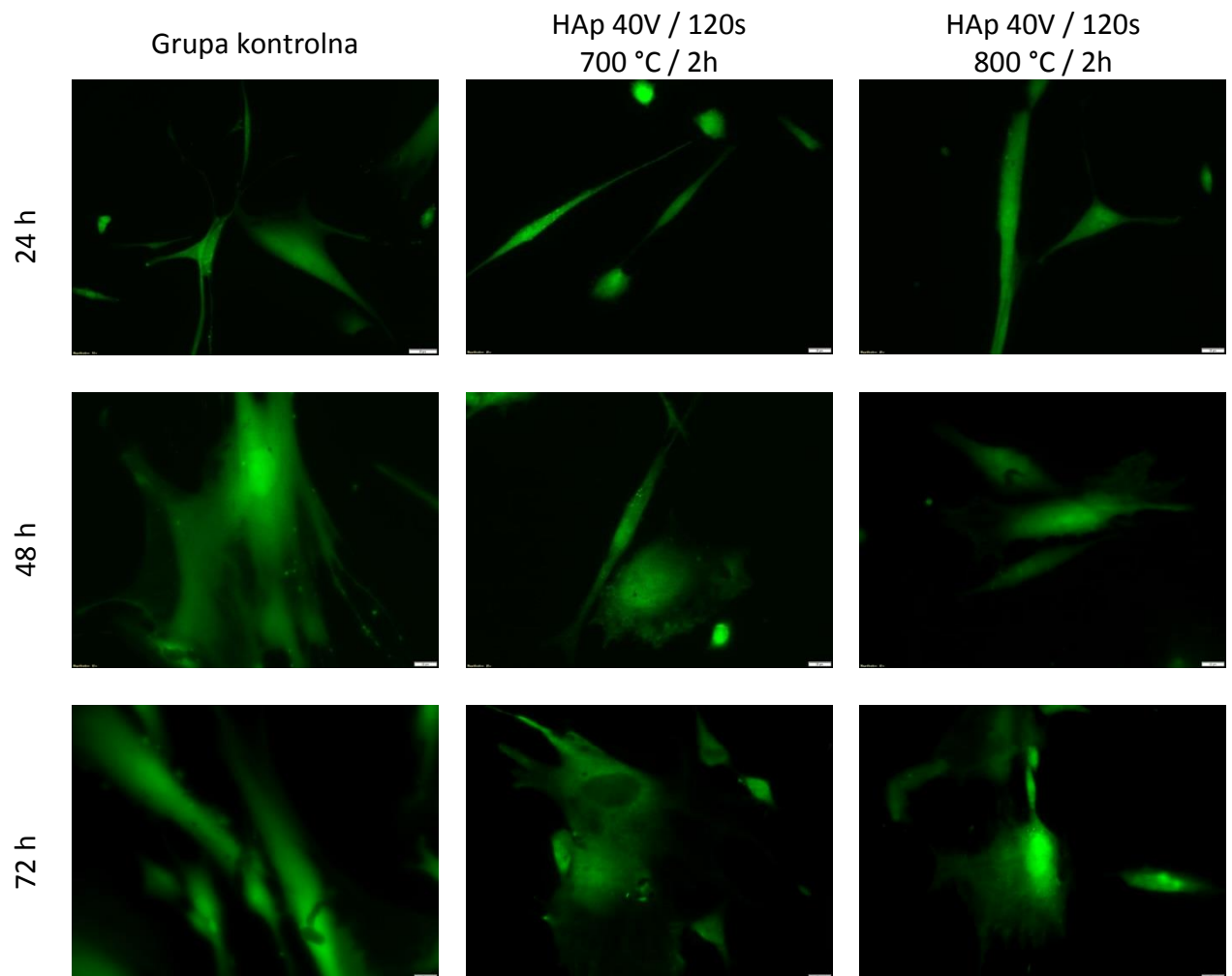
Obserwacje mikroskopowe (Rysunek 58) wykazały, że komórki były prawidłowo rozpostarte, a ich morfologia nie wykazywała odstępstw od normy. Wraz z wydłużeniem czasu inkubacji, komórki wykazywały wzrost i prawidłową morfologię, analogicznie jak w próbie kontrolnej. Fakt ten wskazuje na biokompatybilność wytworzonych warstw hydroksyapatytowych.



Rysunek 56. Przeżywalność komórek na warstwach HA<sub>p</sub>. Wartość grupy kontrolnej po 24 h została przyjęta jako 100 %, natomiast pozostałe wyniki przedstawione są względem tej wartości.



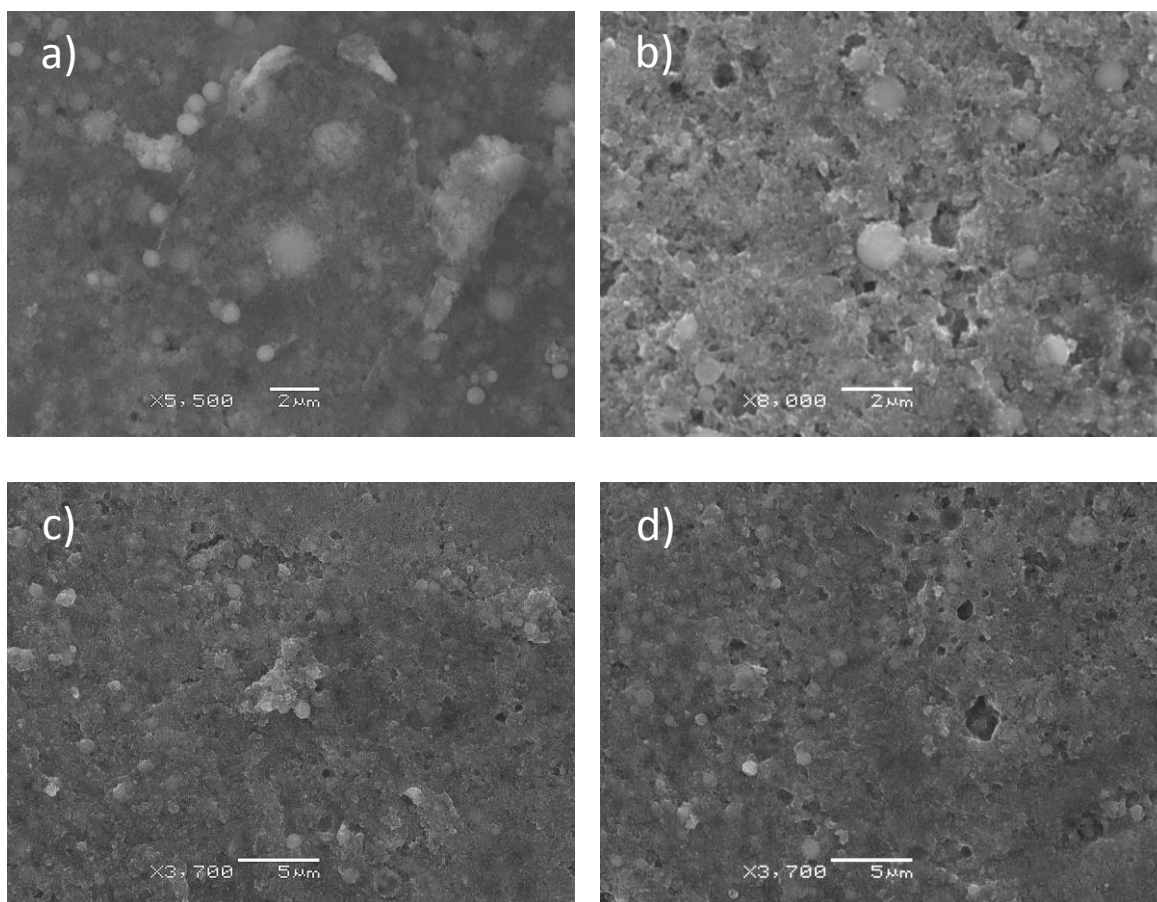
Rysunek 57. Przeżywalność komórek na warstwach HAp. Próba kontrolna do każdego czasu została przyjęta jako 100 % i w stosunku do każdorazowej próby kontrolnej została wyliczona frakcja przeżywiająca na danym podłożu.



Rysunek 58. Obrazy mikroskopowe fibroblastów linii NHDF po 24, 48 i 72 godzinach inkubacji dla grupy kontrolnej, warstwy HAp 40V / 120s 700 °C / 2h oraz warstwy HAp 40V / 120s 800 °C / 2h, obserwowane przy powiększeniu 20 x.

#### 4.7. Odporność wytworzonych warstw HAp na rozwój drobnoustrojów

Oceny odporności implantów na rozwój drobnoustrojów w warunkach *in vitro* dokonano na podstawie obserwacji powierzchni przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego. Uzyskane wyniki wykazały, że po okresie 1, 3 i 6 miesięcy powierzchnie próbek HAp 40V / 120s 700 °C / 2h oraz 800 °C / 2h nie zostały skolonizowane przez bakterie. Nie zaobserwowano również wytworzenia biofilmu. Przykładowe zdjęcia powierzchni warstw po inkubacji w roztworach bakteryjnych przedstawiono na Rysunku 59.



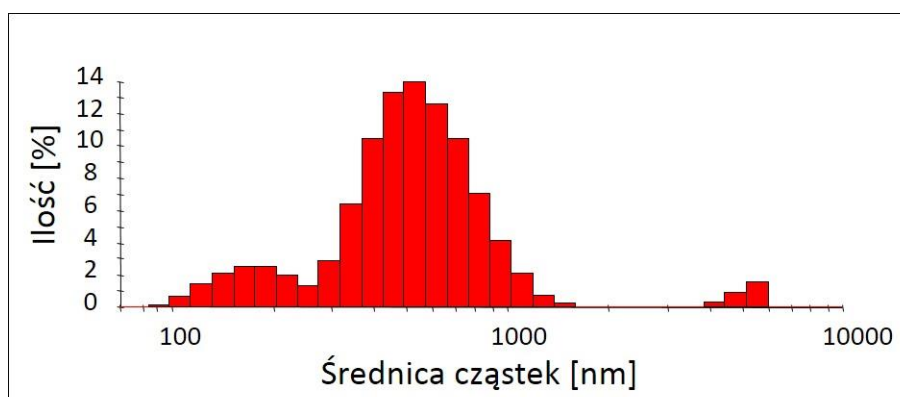
Rysunek 59. Obrazy mikroskopowe warstw HAp 40V / 120s 700°C / 2h po 1 miesiącu (a) i po 6 miesiącach (b) inkubacji w roztworze bakteryjnym oraz HAp 40V / 120s 800°C / 2h po 1 miesiącu (c) i po 6 miesiącach (d) inkubacji w roztworze bakteryjnym.

## 5. Modyfikacja powierzchni spasywowanego stopu NiTi ceramiką whitlockitową ( $\beta$ -TCP)

### 5.1. Dobór optymalnych parametrów osadzania elektroforetycznego (EPD) powłok ceramiki whitlockitowej

#### 5.1.1. Charakterystyka zawiesiny koloidalnej ceramiki whitlockitowej użytej do EPD

Do nanoszenia powłok ceramiki whitlockitowej metodą elektroforezy został użyty roztwór koloidalny o stężeniu 0,1 % wag. proszku  $\beta$ -TCP (nGimat) w 99,8 % etanolu (Avantor Performance Materials) o pH = 6,7. Przygotowana zawiesina koloidalna została umieszczona w mieszadło magnetycznym na 15 minut, a następnie w kąpeli ultradźwiękowej przez 1 godzinę. Analiza rozkładu wielkości cząstek wykazała, że w zawiesinie dominują cząstki o wielkości około 550 nm (Rysunek 60). Średni rozmiar cząstek wynosił  $(720 \pm 37)$  nm. Roztwór koloidalny wykazywał przewodnictwo  $(0,60 \pm 0,05)$   $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Elektroforetyczna mobilność cząstek ceramicznych wynosiła  $0,73 \pm 0,03$   $\mu\text{m}\cdot\text{cm}/\text{V}\cdot\text{s}$ . Potencjał Zeta wytworzonej zawiesiny był równy  $(33,5 \pm 1,4)$  mV, co umożliwiło przeprowadzenie osadzania kateforetycznego.



Rysunek 60. Rozkład wielkości cząstek dla zawiesiny  $\beta$ -TCP / etanol [68].

#### 5.1.2. Parametry prądowo - czasowe osadzania elektroforetycznego ceramiki whitlockitowej

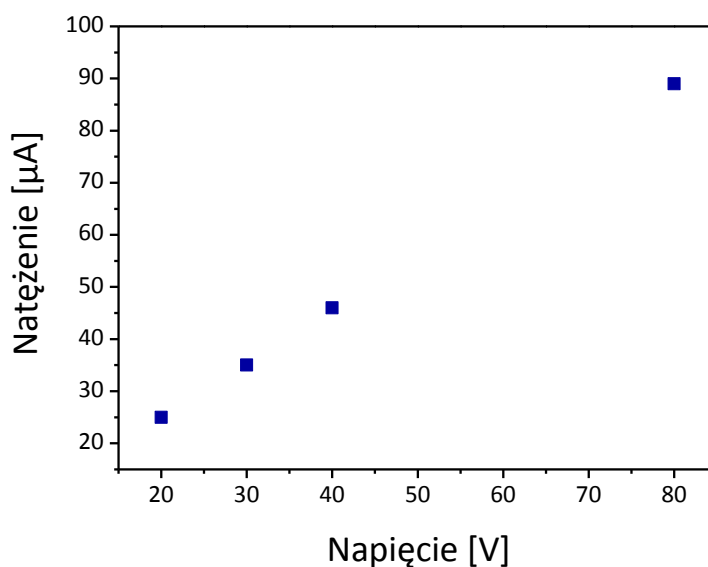
Powłoki ceramiki whitlockitowej zostały naniesione na spasywowane podłoże NiTi metodą EPD w temperaturze pokojowej przy zróżnicowanych parametrach prądowo - czasowych (Tabela 11). Zostało zastosowane stałonapięciowe nanoszenie kateforetyczne nisko- i wysokonapięciowe,

w zakresie od 20 do 80 V, przy czasach depozycji od 30 do 120 s. Przeciwelektrodę stanowiła folia platynowa. Elektrody były umieszczone w roztworze równoległe do siebie w odległości 15 mm. Osadzone powłoki były suszone w temperaturze pokojowej przez 24 godziny.

Został również określony wpływ przyłożonego napięcia na wartość zmierzonego natężenia prądu (Rysunek 61). Wraz ze wzrostem przyłożonego napięcia, liniowo wzrastało zarejestrowane natężenie prądu. Przy zastosowaniu najniższego napięcia (20 V) natężenie prądu wynosiło 25  $\mu\text{A}$ , natomiast przy najwyższym przyłożonym napięciu (80 V) wartość natężenia wzrosła do 89  $\mu\text{A}$ .

Tabela 11. Parametry osadzania powłok  $\beta$ -TCP metodą EPD.

Napięcie [V]	Czas [s]
20	30 / 60 / 120
40	30 / 60 / 120
80	30 / 60 / 120



Rysunek 61. Charakterystyka prądowo-napięciowa wyznaczona podczas osadzania elektroforetycznego dla powłok ceramiki whitlockitowej.

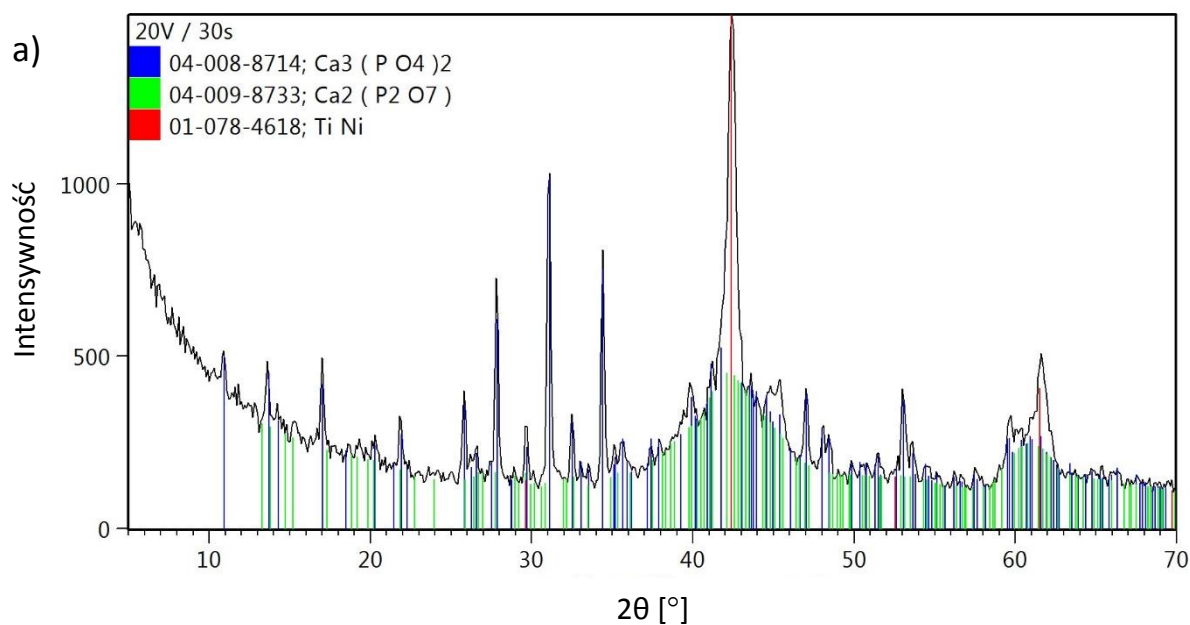
### 5.1.3. Wpływ parametrów osadzania na strukturę powłok ceramiki whitlockitowej

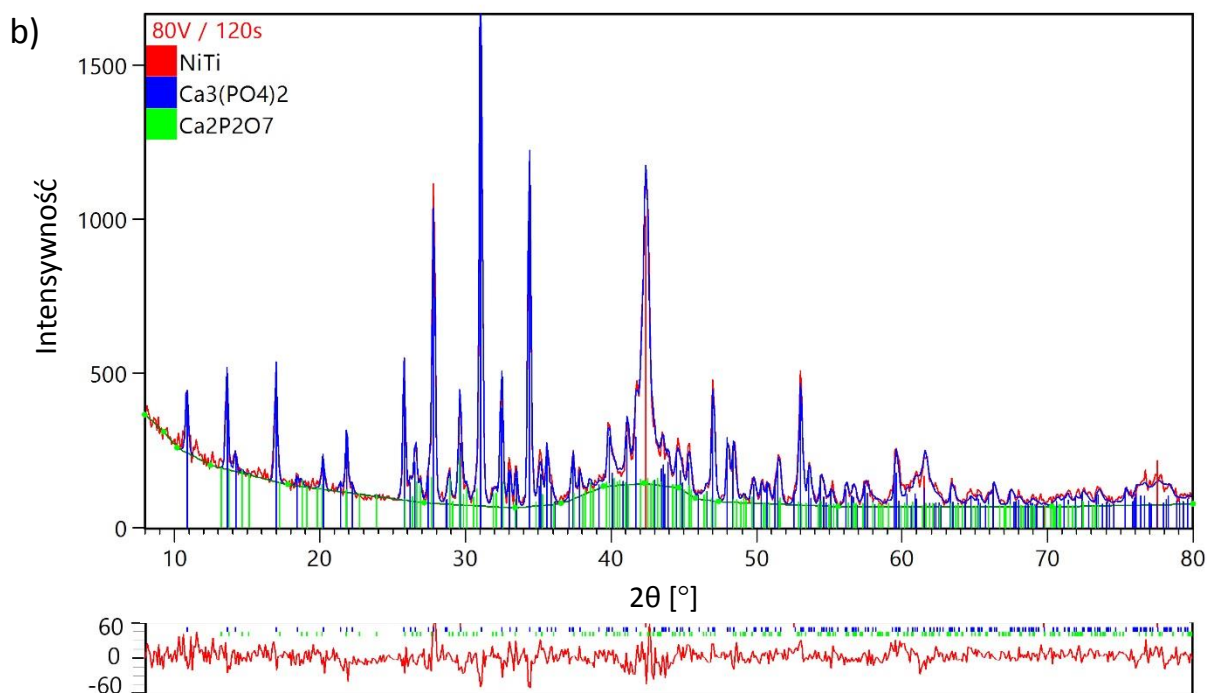
Badania rentgenowskie wykonane dla wszystkich próbek potwierdziły, że w skład wytworzonych powłok wchodził  $\beta$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (ICDD - PDF 04-008-8714) oraz śladowe ilości fazy  $\beta$ - $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  (ICDD - PDF 04-009-8733). Na dyfraktogramach widoczne były również linie dyfrakcyjne należące do fazy  $\beta$  podłoża NiTi (ICDD - PDF 01-078-4618). Przykładowe dyfraktogramy



zarejestrowane dla zastosowanych skrajnych parametrów osadzania 20V / 30s i 80V / 120s przestawiono na Rysunku 62.

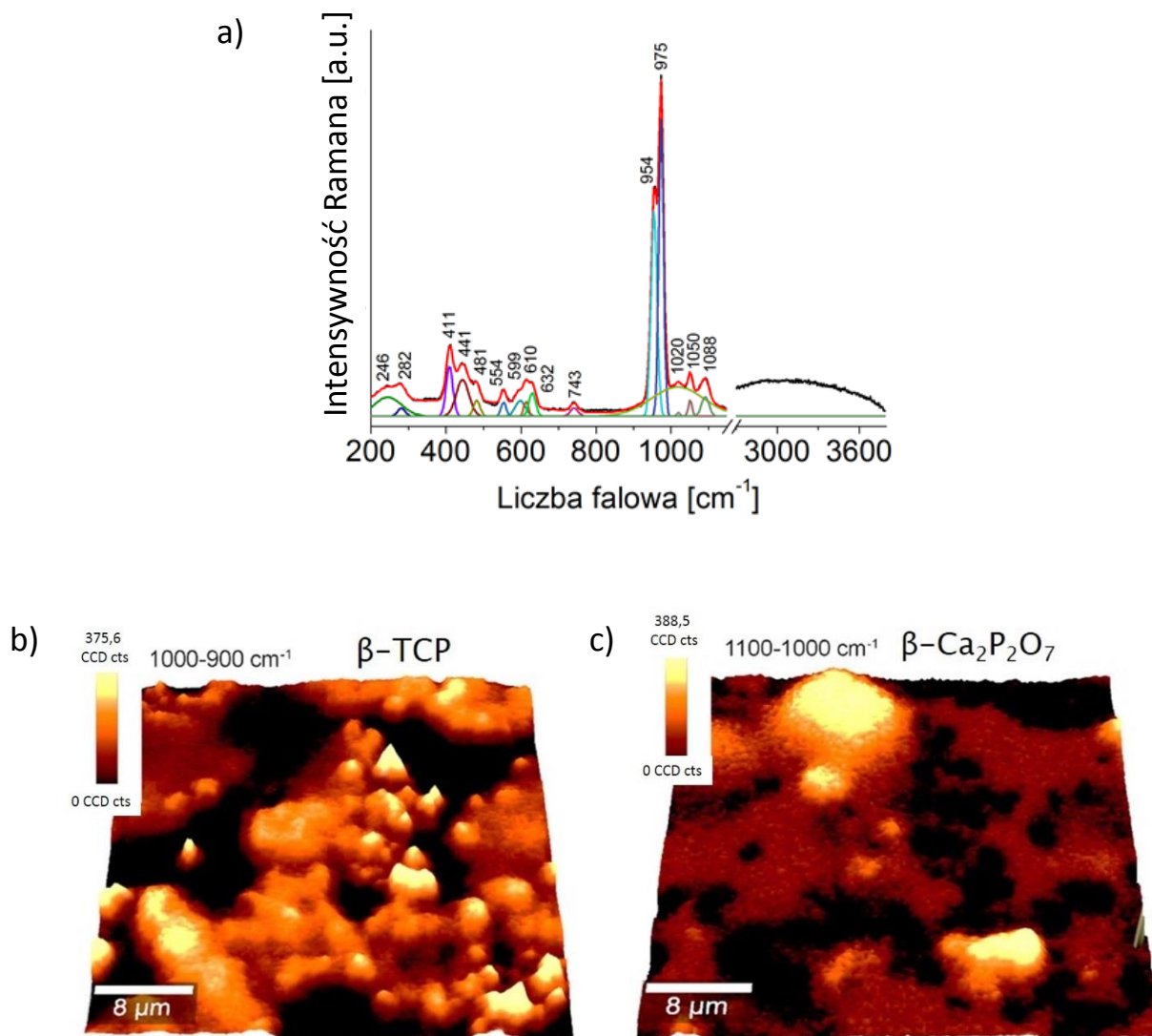
Parametry komórek elementarnych oszacowane metodą Rietvelda dla próbki otrzymanej przy najwyższych parametrach procesu (80V / 120s) (Rysunek 25 b) wynosiły odpowiednio dla  $\beta$ -TCP  $a_0 = b_0 = 10,421(9) \text{ \AA}$ ,  $c_0 = 37,366(2) \text{ \AA}$ , dla  $\beta$ -C<sub>2</sub>P  $a_0 = b_0 = 6,688(2) \text{ \AA}$ ,  $c_0 = 24,152(9) \text{ \AA}$  oraz dla NiTi  $a_0 = 3,013(4) \text{ \AA}$  dla NiTi. Współczynniki dopasowania osiągnęły następujące wartości  $R_{wp} = 9,06 \%$ ,  $R_{exp} = 7,35 \%$  i  $GOF = 1,23$ . Uzyskane wartości parametrów komórek elementarnych nie różniły się od parametrów wyznaczonych dla proszku ceramiki whitlockitowej w stanie wyjściowym. Nie zaobserwowano również obecności linii dyfrakcyjnych pochodzących od innych faz, co świadczy o tym, że nie doszło do zmian strukturalnych materiałów wyjściowych podczas osadzania.





Rysunek 62. Dyfraktogramy rentgenowskie zarejestrowane przy stałym kącie padania wiązki pierwotnej  $\alpha = 0,2^\circ$  dla powłoki ceramiki whitlockitowej osadzonej przy 20V / 30s (a) oraz 80V / 120s (b), gdzie dyfraktogram eksperymentalny to (—), teoretyczny (---), a krzywa różnicowa poniżej dyfraktogramu to (—).

W celu uzupełnienia wiedzy o strukturze osadzonych powłok, przeprowadzono badania ramanowskie. Wykonane badania ujawniły obecność pasm 1190 - 1020, 1000 - 950, 635 - 560 oraz 450 - 400  $\text{cm}^{-1}$  (Rysunek 63 a), które podobnie jak w przypadku materiału wyjściowego (Rysunek 21), są związane z drganiami w obrębie tetraedrów fosforanowo - tlenowych ( $\beta$ -TCP) lub wiązań P-O-P ( $\beta$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) [155-158]. Nie zaobserwowano różnic w położeniach oraz szerokościach półwłokowych poszczególnych pasm. Wyniki te potwierdzają, że proces elektroforezy nie doprowadził do zmian strukturalnych w materiałach wyjściowych podczas EPD. Widma Ramana wyeksportowane na podstawie analiz integracyjnych wykonanych dla  $\beta$ -TCP (pasmo 1000-900  $\text{cm}^{-1}$ ) (Rysunek 63 b) i  $\beta$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (pasmo 1100 - 1000  $\text{cm}^{-1}$ ) (Rysunek 63 c) zobrazowały wzajemne rozmieszczenie oraz zmiany zawartości faz w badanym obszarze. Jasny obszar oznacza obecność silnego pasma w analizowanym zakresie liczb falowych, podczas gdy ciemny sygnalizuje jego brak lub niewielką intensywność. Badania wykazały, że aglomeraty osadzonej ceramiki składały się zarówno z ugrupowań cząstek  $\beta$ -Ca<sub>2</sub>P jak i  $\beta$ -C<sub>3</sub>P.

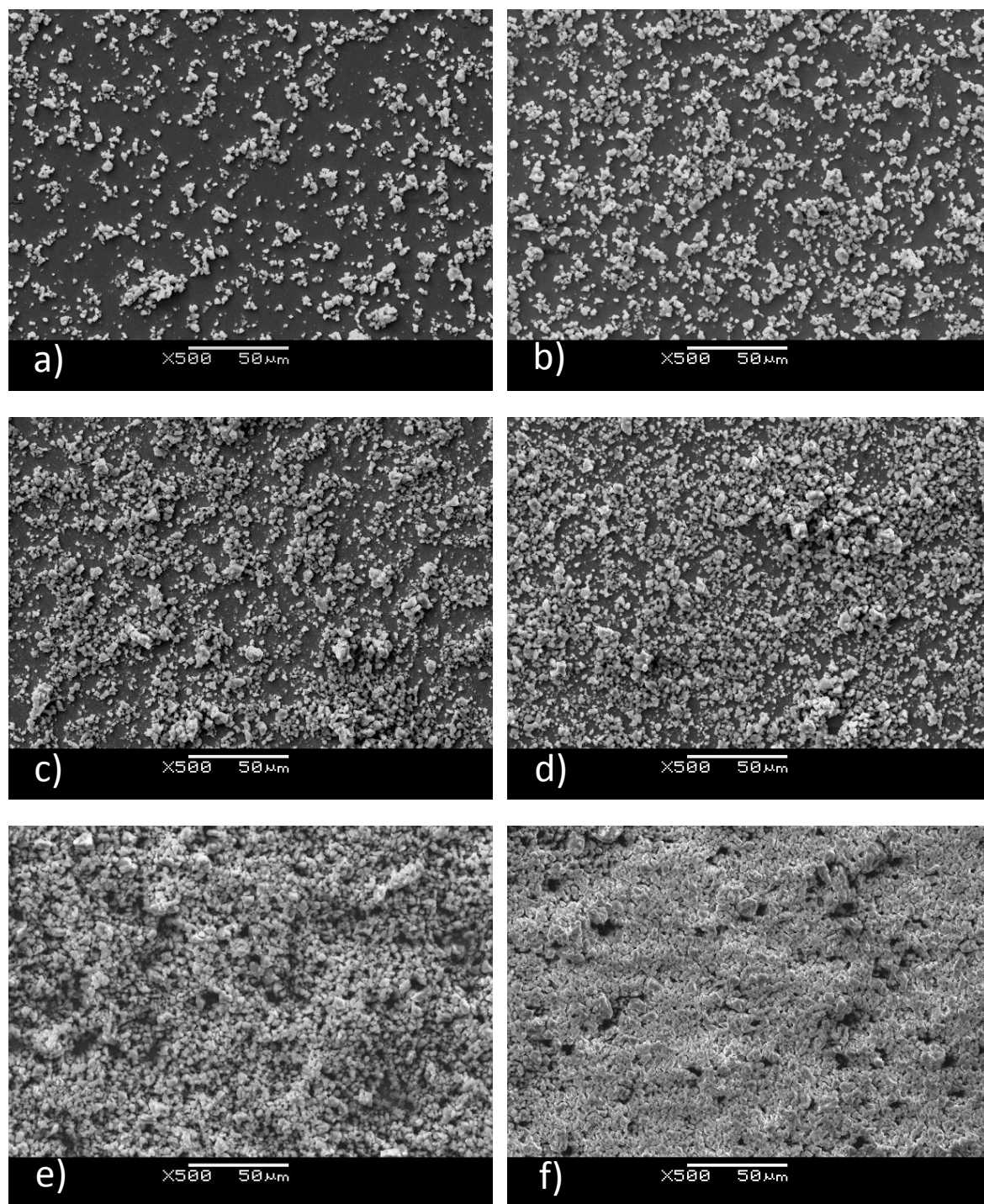


Rysunek 63. Mapy integracyjne wykonane dla pasm w zakresie w zakresie  $1000-900\text{ cm}^{-1}$  (a) i  $1100-1000\text{ cm}^{-1}$  (b) oraz widmo Ramana (c) wykonane dla warstwy ceramiki whitlockitowej (20V / 60s).

#### 5.1.4. Wpływ parametrów osadzania na jakość wytworzonych ceramiki whitlockitowej

Badania mikroskopowe ujawniły, że zarówno czas jak i zastosowane napięcie znacząco wpływają na morfologię wytworzonych powłok (Rysunek 64). Powłoki wytworzone przy niskim napięciu i krótkim czasie osadzania (20V / 30s) charakteryzowały się nierównomiernym rozmieszczeniem niedużych skupisk cząstek ceramiki (Rysunek 64 a). Wraz z wydłużaniem czasu i wzrostem napięcia wzrastała ilość oraz wielkość osadzonych aglomeratów. Zastosowanie warunków 80V / 120s skutkowało wytworzeniem zwartej i grubej powłoki (Rysunek 64 f). Badania mikroskopowe wykazały, że wydłużenie czasu przy zastosowaniu tego samego napięcia ma większy

wpływ na ilość osadzonych cząstek i uformowanych z nich aglomeratów niż zastosowanie wyższego napięcia przy niezmiennym czasie depozycji [68].



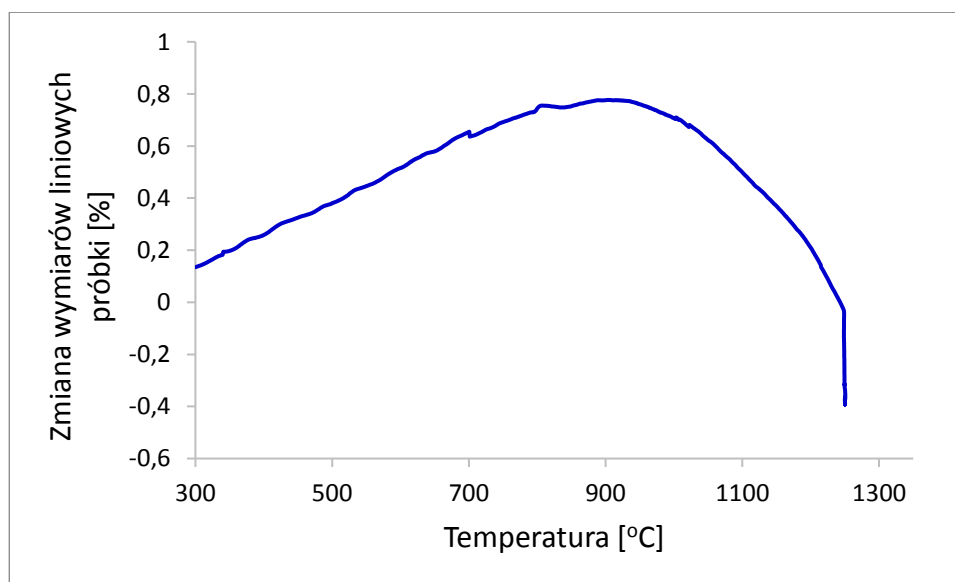
Rysunek 64. Obrazy mikroskopowe powierzchni próbek po osadzeniu ceramiki whitlockitowej przy następujących parametrach: 20V / 30s (a), 20V / 60s (b), 20V / 120s (c), 80V / 30s (d), 80V / 60s (e) i 80V / 120s (f) [68].

## 5.2. Dobór optymalnych warunków obróbki cieplnej osadzonych powłok ceramiki whitlockitowej

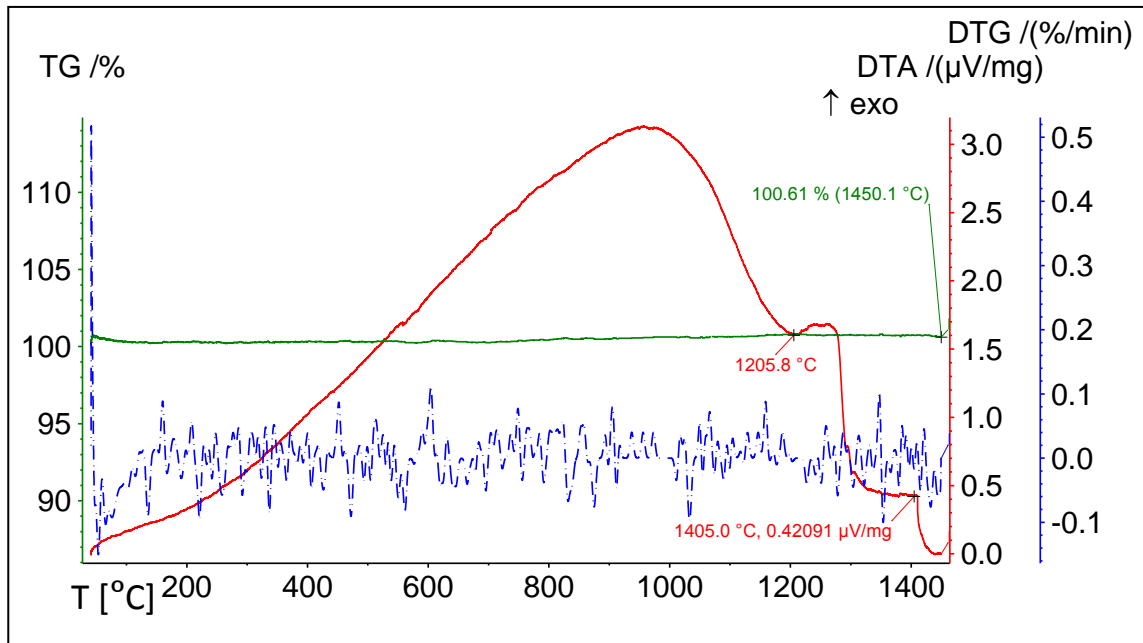
### 5.2.1. Wpływ temperatury na skurcz i strukturę proszku ceramiki whitlockitowej

W celu zwiększenia adhezji i konsolidacji elektroforetycznie osadzonych powłok ceramiki whitlockitowej, należało je poddać spiekaniu. Dobór warunków obróbki cieplnej opierał się na analizie zmian wymiarów liniowych proszku ceramiki whitlockitowej w zależności od temperatury (Rysunek 65) oraz wcześniejszych wynikach badań wykonanych dla powłok HAp. Badania wykazały, że rozszerzalność cieplna proszku charakteryzowała się niską wartością i wzrastała wraz ze wzrostem temperatury do ok. 900 °C. W tej temperaturze osiągnęła maksymalną wartość wynoszącą 0,8 %. Po przekroczeniu 900 °C wartość rozszerzalności cieplnej malała, a od 1237 °C następował skurcz wynoszący w 1250 °C zaledwie 0,4 %.

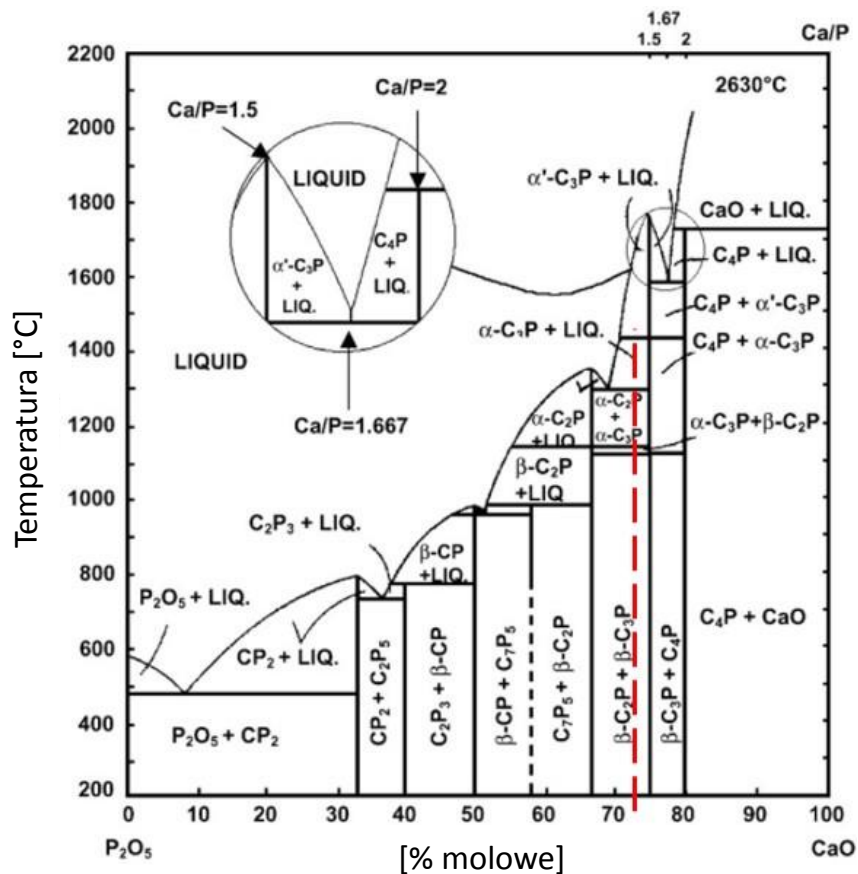
Badania termogravimetryczne (Rysunek 66) wykazały, że zastosowany proszek jest stabilny do temperatury ok. 1200 °C. W 1206 °C następuje endotermiczna przemiana polimorficzna  $\beta$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> w  $\alpha$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, natomiast w 1405 °C rozpoczyna się topienie  $\alpha$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> oraz przemiana polimorficzna  $\beta$ -TCP w  $\alpha$ -TCP, zgodnie z diagramem fazowym przedstawionym na Rysunku 67.



Rysunek 65. Zależność wymiarów liniowych proszku ceramiki whitlockitowej od zmian temperatury.



Rysunek 66. Krzywe DTA / TGA / EAG dla proszku ceramiki whitlockitowej.



Rysunek 67. Diagram fazowy  $P_2O_5$ -CaO (opracowano na podstawie [167]). Czerwona linia odpowiada składowi zastosowanego do osadzenia proszku ceramiki whitlockitowej.

### 5.2.2. Zastosowane warunki obróbki cieplnej powłok ceramiki whitlockitowej

Z uwagi na jakość uzyskanych powłok, do dalszych badań zostały wybrane powłoki osadzone przy napięciu 20 V w czasie 60 s. Próbki zostały poddane w piecu próżniowym ( $10^{-7}$  Pa) w zakresie temperatur od 700 do 1000 °C w czasie 120 minut. Parametry obróbki cieplnej oraz zmiany wymiarów liniowych próbek w zastosowanych temperaturach przedstawia poniższa tabela (Tabela 12).

Tabela 12. Parametry spiekania powłok  $\beta$ -TCP oraz zmiany rozszerzalności cieplnej proszku.

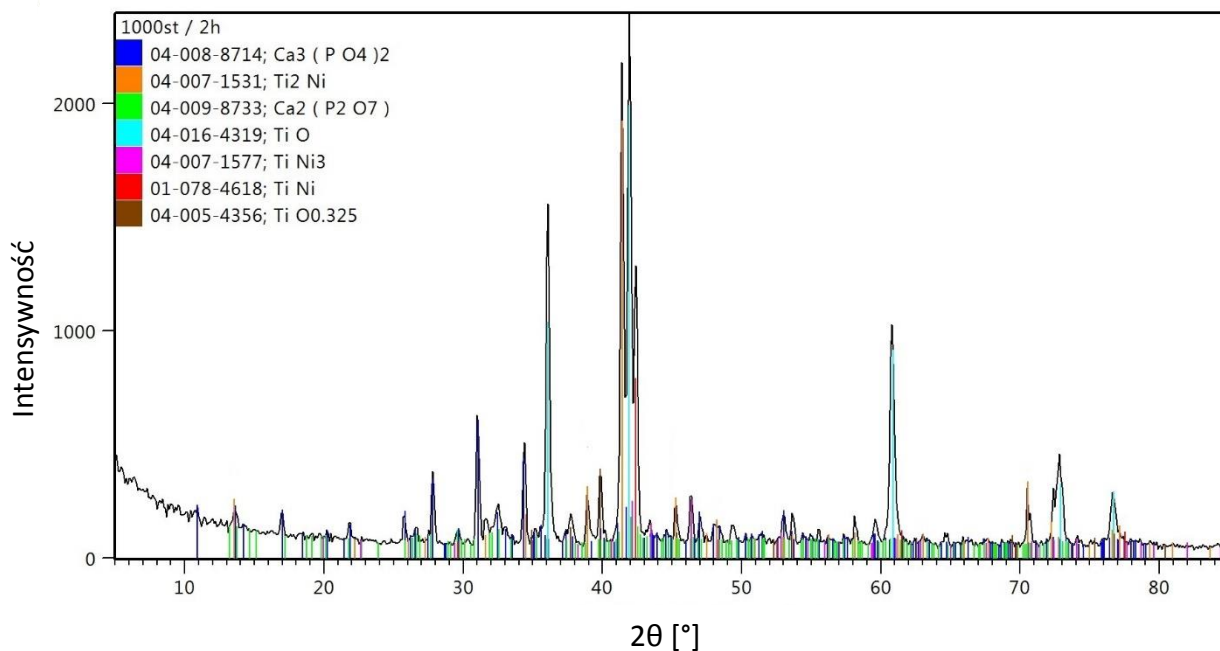
Temperatura [°C]	Czas [min.]	Rozszerzalność cieplna [%]
700	120	0,6
800	120	0,7
900	120	0,8
1000	120	0,7

### 5.2.3. Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na strukturę warstw ceramiki whitlockitowej oraz podłoża NiTi

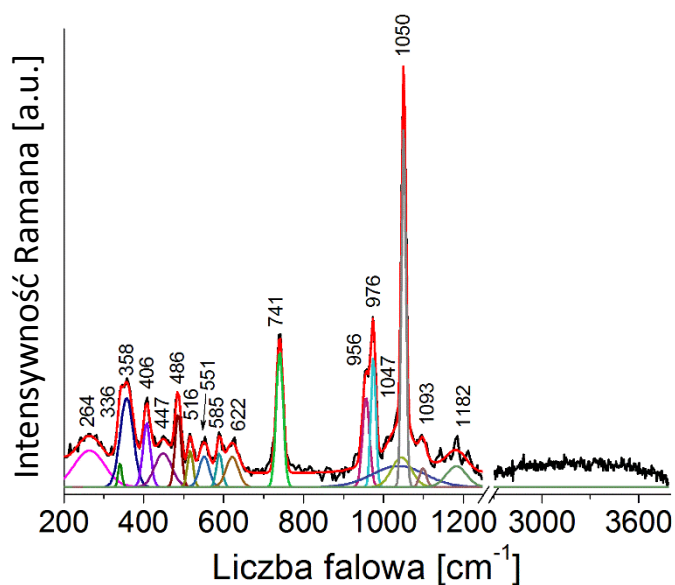
Badania rentgenowskie wykonane dla wszystkich próbek po spiekaniu potwierdziły obecność  $\beta$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (ICDD - PDF 04-008-8714) oraz śladowych ilości fazy  $\beta$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (ICDD - PDF 04-009-8733). Nawet w przypadku zastosowania najwyższej temperatury 1000 °C (Rysunek 68) na dyfraktogramach nie zidentyfikowano obecności linii dyfrakcyjnych pochodzących od produktów rozkładu cząstek ceramiki whitlockitowej. Zastosowana obróbka cieplna (1000 °C / 2h) skutkowała częściowym rozkładem podłoża NiTi (ICDD - PDF 01-078-4618) na fazy równowagowe: Ti<sub>2</sub>Ni (ICDD - PDF 04-007-1531) o strukturze regularnej (Fd-3m) i Ni<sub>3</sub>Ti (ICDD-PDF 04-007-1577) o strukturze heksagonalnej (P6<sub>3</sub>/mmc). Zaobserwowano ponadto pojawienie się linii dyfrakcyjnych pochodzących od nierównowagowego tlenku tytanu TiO<sub>0,325</sub> (ICDD - PDF 04-005-4356) o strukturze heksagonalnej (P6<sub>3</sub>/mmc). Zidentyfikowano również refleksy należące do TiO o strukturze Fm-3m (ICDD - PDF 04-016-4319). Jednakże ich położenie oraz intensywność odpowiadają również izostrukturnalnym z TiO, fazą TiC<sub>0,6</sub>O<sub>0,4</sub> (ICDD - PDF 04-002-5533) oraz TiC (ICDD - PDF 04-002-0789).

Widmo Ramana wykazało obecność pasm w regionie 1190 - 900 cm<sup>-1</sup> oraz 635 - 400 cm<sup>-1</sup> (Rysunek 69), które można przypisać drganiom głównych elementów strukturalnych, podobnie jak w przypadku powłok po osadzeniu (Rysunek 32), tj. drganiom  $\nu_3$  i  $\nu_1$  pomiędzy P-O oraz łamiącym  $\nu_4$  i  $\nu_2$  pomiędzy O-P-O [155-158]. Badania wykazały również krystalizację amorficznego tlenku tytanu wytworzonego w procesie autoklawizacji, co ujawniło się poprzez pojawienie się silnych pasm

w zakresie niskich wartości liczby falowej, w szczególności przy 614, 447, 333, 274  $\text{cm}^{-1}$ . Pasma te są związane z drganiami Ti-O w strukturach tlenków tytanu o strukturze uporządkowanej [169, 170]. Wyniki badań ramanowskich potwierdzają zatem obecność tlenków tytanu zidentyfikowanych metodą rentgenowską (Rysunek 68).



Rysunek 68. Dyfraktogram rentgenowski zmierzony przy stałym kącie padania wiązki pierwotnej ( $\alpha = 0,2^\circ$ ) dla warstwy spieczonej w  $1000^\circ\text{C} / 2\text{h}$ .

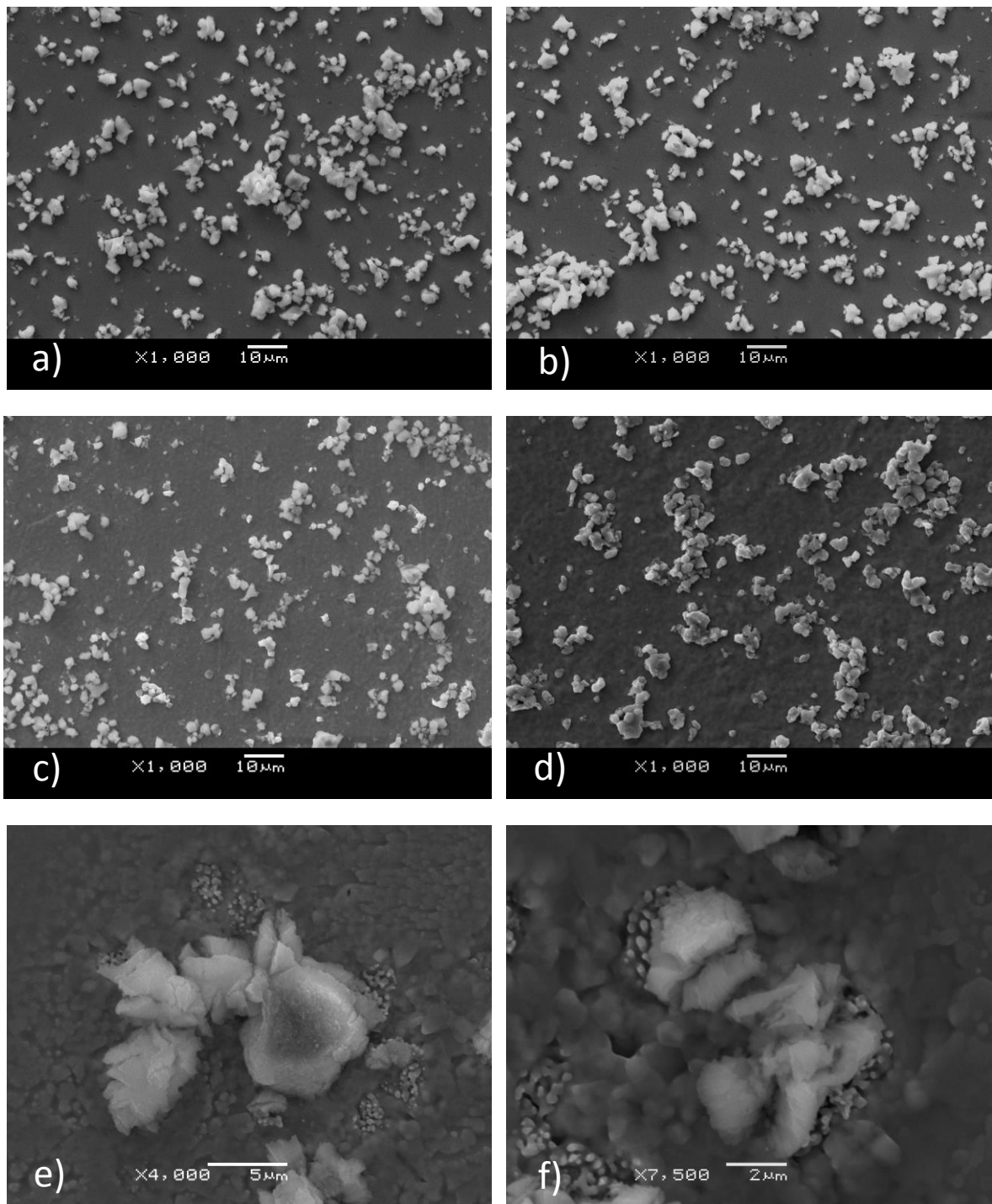


Rysunek 69. Widmo Ramana wykonane dla warstwy ceramiki whitlockitowej 20V / 60s  $1000^\circ\text{C} / 2\text{h}$ .



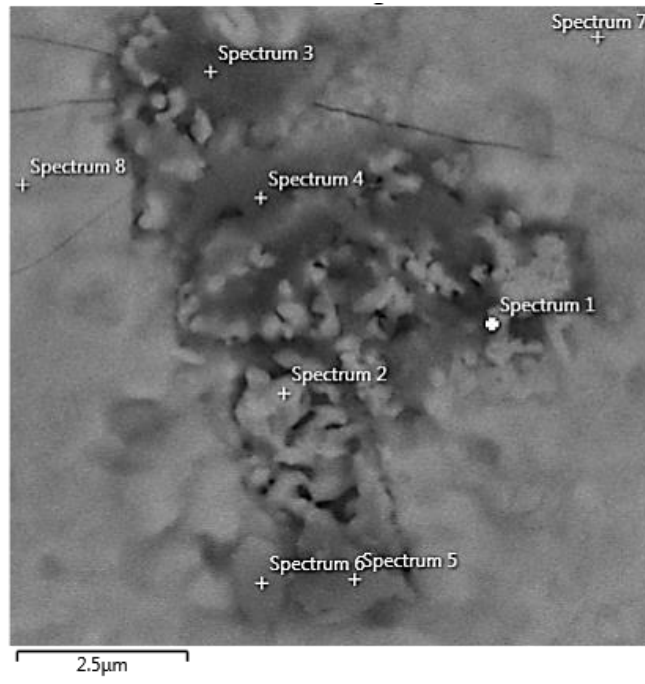
#### 5.2.4 Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na jakość warstw ceramiki whitlockitowej

Obserwacje mikroskopowe powierzchni po spiekaniu wykazały, że w żadnym z przypadków nie doszło do powstania pęknięć warstw w wyniku obróbki cieplnej. Badania ujawniły, że zastosowanie temperatur spiekania 700 °C i 800 °C nie wpływa znacząco na zmianę morfologii powierzchni (Rysunki 70 Rysunek 43 a, b). Warstwy te budową i charakterem przypominały powłoki po elektroforetycznym osadzeniu 20V / 60s (Rysunek 64 b). Podniesienie temperatury obróbki cieplnej do 900 °C i 1000 °C skutkowało widocznymi zmianami powierzchni (Rysunek 70 c, d). Obszary pomiędzy skupiskami dużych cząstek ceramiki whitlockitowej zwiększyły swoją chropowatość, co może być związane z intensyfikacją krystalizacji tlenków tytanu z amorficznej warstwy tlenkowej wytworzonej uprzednio podczas pasywacji w autoklawie. Zaobserwowano również obecność wykrywalnych skupisk drobnych cząstek w okolicach agregatów CaP (Rysunki 70 e-f oraz 71 a). Analiza składu chemicznego (Rysunek 71 b) wykazała, że utworzone cząstki składały się głównie z Ca, P oraz O - czyli pierwiastków budujących cząstki CaP. Obecność Ca, P oraz O zidentyfikowano również poza aglomeratami, co może świadczyć o wytworzeniu w tych miejscach cienkiego filmu fosforanów wapnia. Badania ujawniły też obecność C, Ti oraz Ni. Pomiary z wybranych punktów wykazały znaczne zróżnicowanie składu chemicznego analizowanego obszaru (Tabela 13). W punkcie 1 i 2 zidentyfikowano podwyższoną zawartość P w stosunku do zawartości Ca, natomiast punkty 3 - 6 wykazywały podwyższoną zawartość Ca w stosunku do P, znacznie odbiegające od stosunków tych pierwiastków dla  $Ca_3P$  oraz  $Ca_2P$ . Może to świadczyć o utworzeniu metastabilnych faz CaP w ilościach poniżej granic wykrywalności metod rentgenowskich. W punktach pomiarowych 7 i 8 nie odnotowano obecności Ca i P. Podwyższona zawartość Ti w stosunku do Ni oraz obecność O we wszystkich punktach pomiarowych mogą świadczyć o utworzeniu na powierzchni niestechiometrycznych tlenków tytanu, zidentyfikowanych w badaniach rentgenowskich (Rysunek 68) oraz ramanowskich (Rysunek 69). W punktach 1, 7 oraz 8 zaobserwowano podwyższoną zawartość C, który wraz z Ti może tworzyć TiC bądź niestechiometryczne związki izostrukuralne takie jak  $TiC_xO_{1-x}$ , jednakże brak pasm charakterystycznych dla tych związków w widmie Ramana (Rysunek 69) sugeruje, że węgiel osadzony jest powierzchniowo i niezwiązany strukturalnie z fosforanami wapnia i podłożem NiTi.

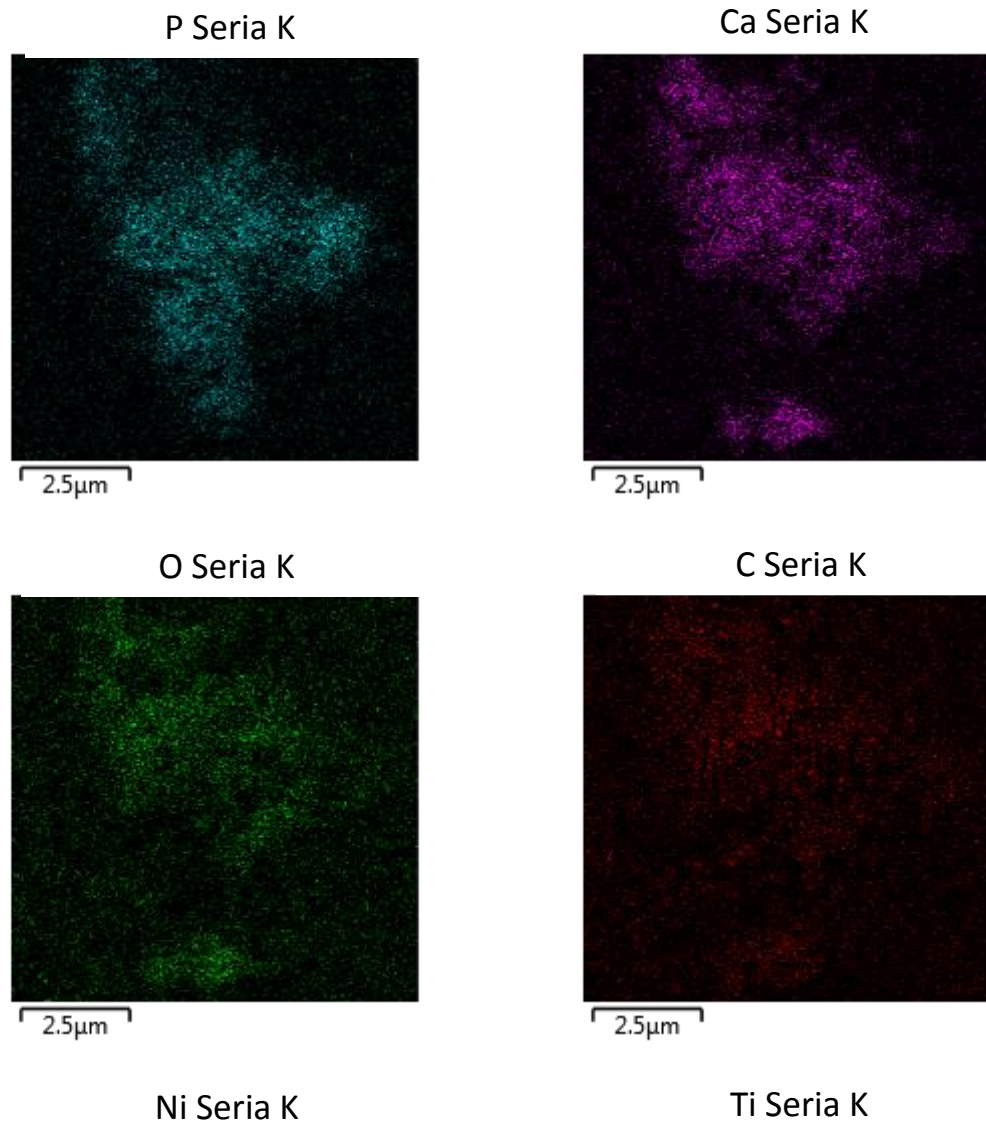


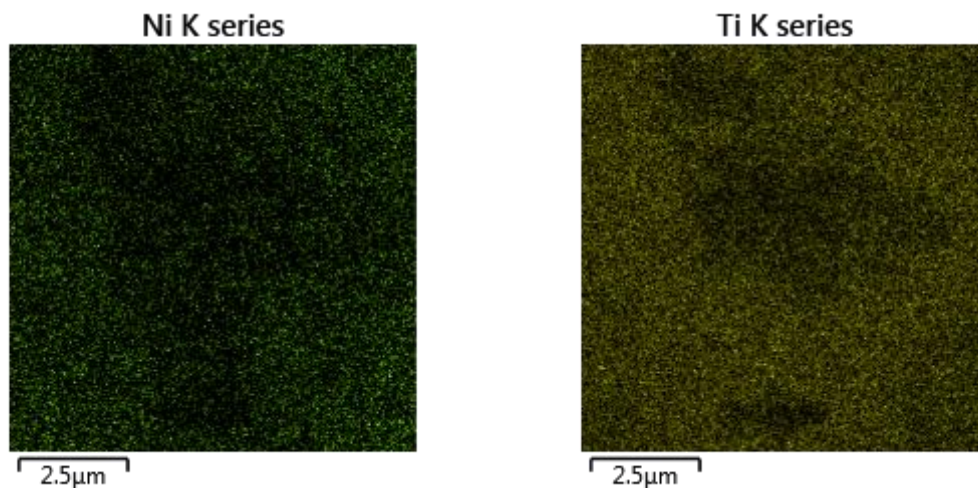
Rysunek 70. Obrazy mikroskopowe powierzchni warstw ceramiki whitlockitowej (20V / 30s) po spiekaniu w: 700 °C / 2h (a), 800 °C / 2h (b), 900 °C / 2h (c) oraz 1000 °C / 2h (d-f).

a)



b)





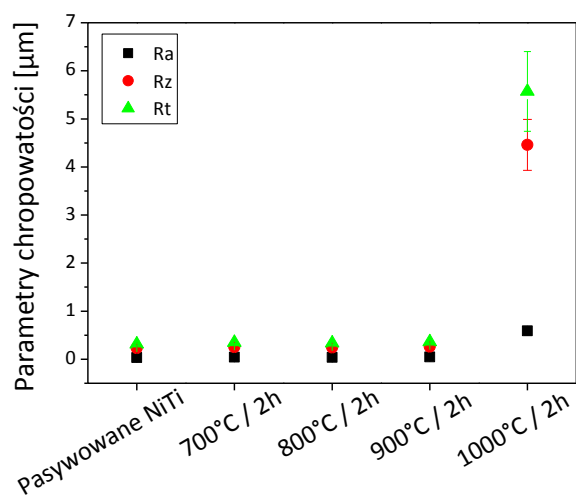
Rysunek 71. Obraz mikroskopowy z zaznaczonymi punktami analizy chemicznej (a) oraz mapy rozkładu pierwiastków (b).

Tabela 13. Wynik analizy składu chemicznego w % at. z wybranych punktów pomiarowych warstwy ceramiki whitlockitowej po spiekaniu w 1000 °C / 2h.

Pierwiastek	Punkt 1	δ	Punkt 2	δ	Punkt 3	δ	Punkt 4	Δ
C	50,9	0,8	44,1	0,9	38,3	0,7	38,5	0,8
O	19,4	0,6	9,8	0,7	33,3	0,7	32,9	0,7
P	6,8	0,2	12,2	0,2	2,1	0,2	3,1	0,2
Ca	2,2	0,2	1,2	0,2	5,9	0,3	5,3	0,3
Ti	13,2	0,5	26,3	0,8	14,9	0,6	15,0	0,6
Ni	7,5	0,7	6,4	0,7	5,5	0,7	5,2	0,6
Suma	100	-	100	-	100	-	100	-

Pierwiastek	Punkt 5	Δ	Punkt 6	δ	Punkt 7	δ	Punkt 8	Δ
C	31,6	0,7	31,2	0,7	52,7	0,8	53,4	0,7
O	34,4	0,8	37,2	0,8	10,4	0,6	7,2	0,6
P	3,0	0,2	0,5	0,1	-	-	-	-
Ca	5,5	0,3	4,0	0,2	-	-	-	-
Ti	18,6	0,7	18,3	0,6	22,1	0,6	24,8	0,7
Ni	6,9	0,7	8,8	0,7	14,8	0,8	14,6	0,8
Suma	100	-	100	-	100	-	100	-

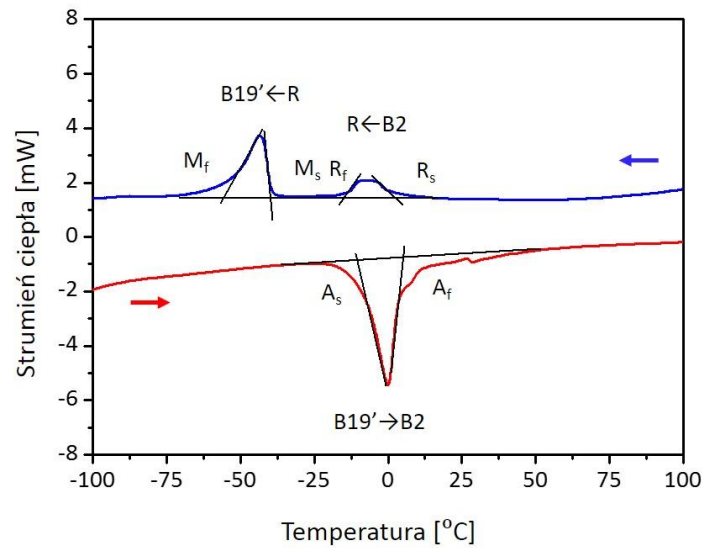
Badania chropowatości powierzchni przy użyciu profilometru wykazały, że wszystkie wytworzone warstwy  $\beta$ -TCP, poza spieczonymi w 1000 °C / 2h, wykazują bardzo słabą adhezję do podłoża, rezultatem czego było ich oderwanie się w trakcie wykonywania pomiarów. Skutkowało to uzyskaniem wartości parametrów chropowatości porównywalnych z tymi wyznaczonymi dla spasywowanego podłoża NiTi (Rysunek 72). Dla warstwy  $\beta$ -TCP poddanej obróbce cieplnej w 1000 °C / 2h parametry chropowatości Ra, Rz, Rt przyjęły następujące wartości:  $(0,59 \pm 0,09) \mu\text{m}$ ,  $(4,46 \pm 0,53) \mu\text{m}$  i  $(5,57 \pm 0,73) \mu\text{m}$ . Stąd, dalsze badania prowadzono jedynie dla warstw ceramiki whitlockitowej spiekanych w 1000 °C przez 2 godziny.



Rysunek 72. Parametry chropowatości warstw ceramiki whitlockitowej wyznaczone przy użyciu profilometru.

#### 5.2.5. Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na przebieg przemiany martenzytycznej w stopie NiTi

Zastosowane warunki spiekania (1000 °C / 2h) przyczyniły się do zmiany sekwencji odwracalnej przemiany martenzytycznej z jednostopniowej (B2 → B19') (Rysunek 15) na dwustopniową (B2 → R → B19') (Rysunek 73). Zmiana sekwencji przemiany może wynikać z lokalnej zmiany składu chemicznego stopu NiTi spowodowanej obróbką cieplną, w trakcie której doszło do powstania wydzielenia faz  $Ti_2Ni$  oraz  $Ni_3Ti$  (Rysunek 68). Lokalna zmiana składu chemicznego również rzutuje na rozmycie pików odwrotnej przemiany martenzytycznej (Rysunek 73). Temperatury charakterystyczne oraz entalpia poszczególnych przemian zostały przedstawione w Tabeli 14. Entalpia przemiany martenzytycznej po spiekaniu wykazywała niższe wartości w porównaniu ze stopem NiTi po przesycaeniu (Tabela 5), co jest spowodowane zmniejszeniem ilości fazy macierzystej stopu NiTi spowodowanej powstaniem faz równowagowych -  $Ti_2Ni$  oraz  $Ni_3Ti$ , niewykazujących efektu pamięci kształtu. Badania DSC wykazały, że wytworzona warstwa ceramiki whitlockitowej nie blokuje przemiany martenzytycznej związanej z efektem pamięci kształtu.



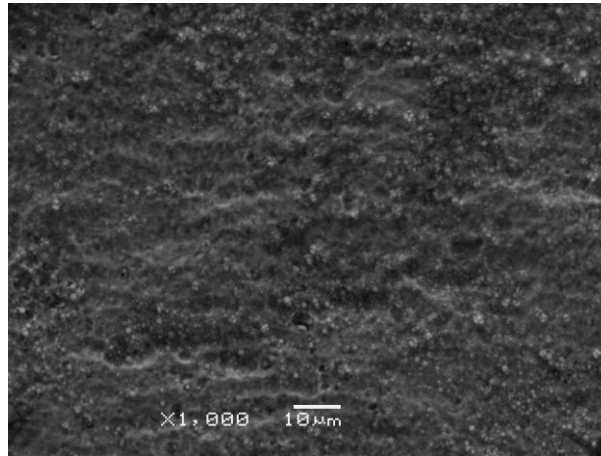
Rysunek 73. Termogram zmierzony dla próbki spieczonej w 1000 °C / 2h.

Tabela 14. Charakterystyczne parametry przemian fazowych w stopie NiTi z warstwą ceramiki whitlockitowej po spiekaniu w 1000 °C / 2h.

$A_s$ [°C]	$A_f$ [°C]	$\Delta H$ B19'→B2 [J/g]	$R_s$ [°C]	$R_f$ [°C]	$\Delta H$ B2→R [J/g]	$M_s$ [°C]	$M_f$ [°C]	$\Delta H$ R→B19' [J/g]
-8,9	4,1	-16,8	1,3	-14,0	2,7	-39,1	-43,1	7,3

#### 5.2.6. Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na adhezję warstw do podłoża

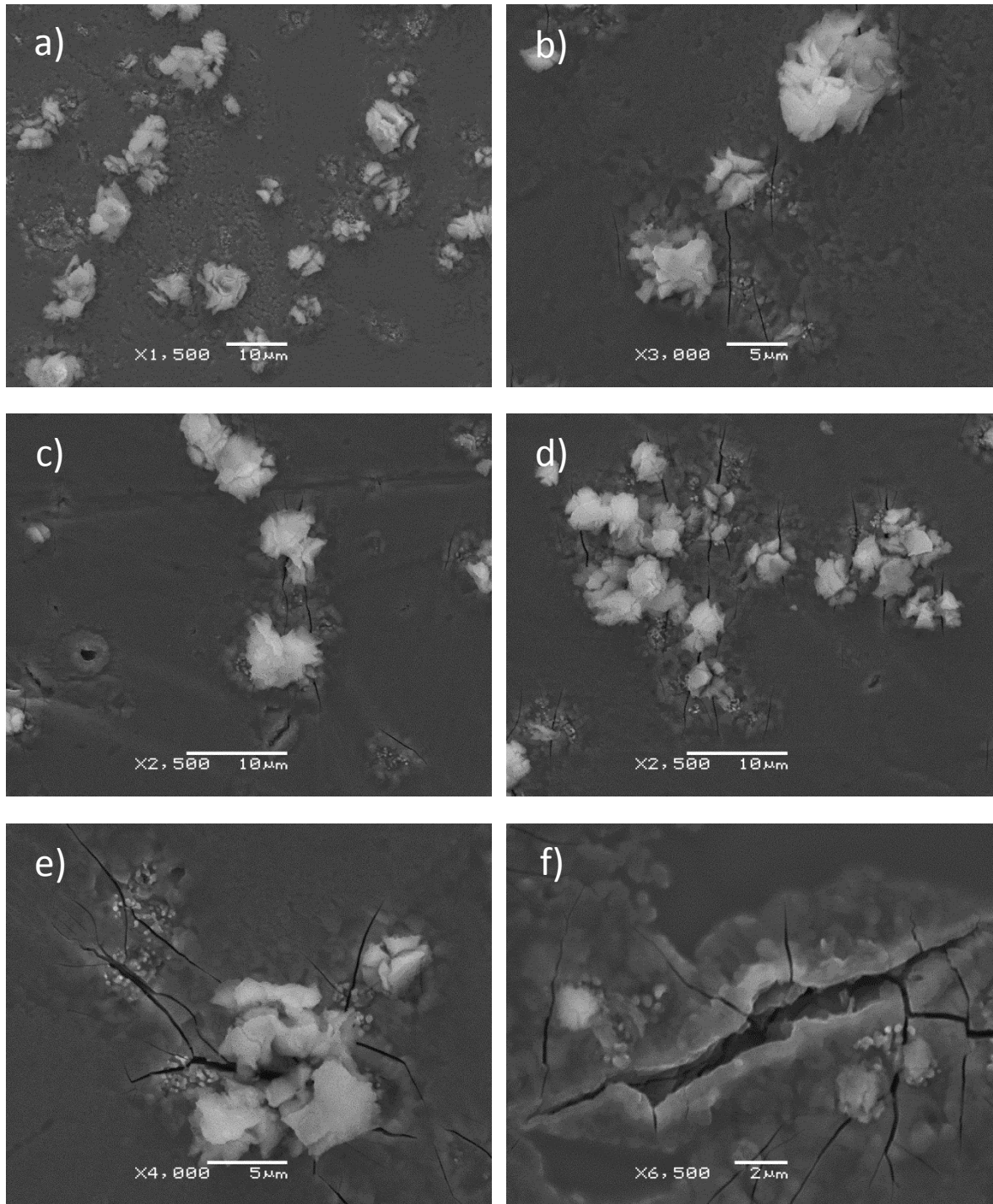
Próby wykonania pomiarów chropowatości przy użyciu profilometru (Rysunek 72) wykazały, że wszystkie warstwy ceramiki whitlockitowej, z wyjątkiem spieczonych w 1000°C / 2h, wykazują bardzo słabą przyczepność do podłoża NiTi. Z tego powodu pomiary adhezji zgodnie z normą ASTM F1044-05 zostały wykonane tylko dla próbek spieczonych w najwyższej temperaturze. Adhezja warstw ceramiki whitlockitowej do spasywowanego podłoża NiTi po spiekaniu w 1000°C / 2h wynosiła  $(12,9 \pm 0,9)$  MPa. Obserwacje mikroskopowe powierzchni po zrywaniu wykazały, że część warstwy nadal była przyczepiona do podłoża, a zerwaniu w tych miejscach uległ klej do łączenia próbek (Rysunek 74). Fakt ten wskazuje na lokalnie silniejszą adhezję warstwy.



Rysunek 74. Obraz mikroskopowy obserwowany dla powierzchni próbki spieczonej w 1000 °C/2h po pomiarach adhezji.

### 5.3. Odporność wytworzonych warstw ceramiki whitlockitowej na odkształcenie związane z indukowaniem efektu pamięci kształtu

W celu określenia odporności wytworzonych warstw  $\beta$ -TCP na odkształcenia związane z indukowaniem efektu pamięci kształtu w stopie NiTi, próbki zostały poddane odkształceniom do  $\epsilon = 3,32$  %. Do odkształcenia  $\epsilon = 1,79$  % (Rysunek 75 a) warstwy wykazywały odporność na pękanie. Pierwsze uszkodzenia zaczęły się pojawiać przy  $\epsilon = 1,79$  % (Rysunek 75 b). Zwiększenie odkształcenia do  $\epsilon = 2,14$  % (Rysunek c) nie przyczyniło się do zwiększenia liczby pęknięć, ani też do propagacji już istniejących. Dopiero odkształcenie  $\epsilon = 2,49$  % (Rysunek 75 d) skutkowało pojawieniem się dodatkowych szczelin. W przypadku odkształceń powyżej 3 % (Rysunek 75 e, f), wchodzących w zakres odkształcenia sprężystego martenzytu (Rysunek 51), nastąpiła widoczna propagacja pęknięć. Obserwacje mikroskopowe wykazały, że przerwanie ciągłości warstw miało miejsce tylko w okolicach osadzonych aglomeratów  $\beta$ -TCP. Pęknięciom uległa jedynie cienka warstwa pomiędzy aglomeratami, pozostawiając aglomeraty nienaruszone. Nawet w przypadku zastosowanego maksymalnego odkształcenia (Rysunek 75 e, f), nie zaobserwowano delaminacji warstwy oraz odrywania się aglomeratów ceramiki.

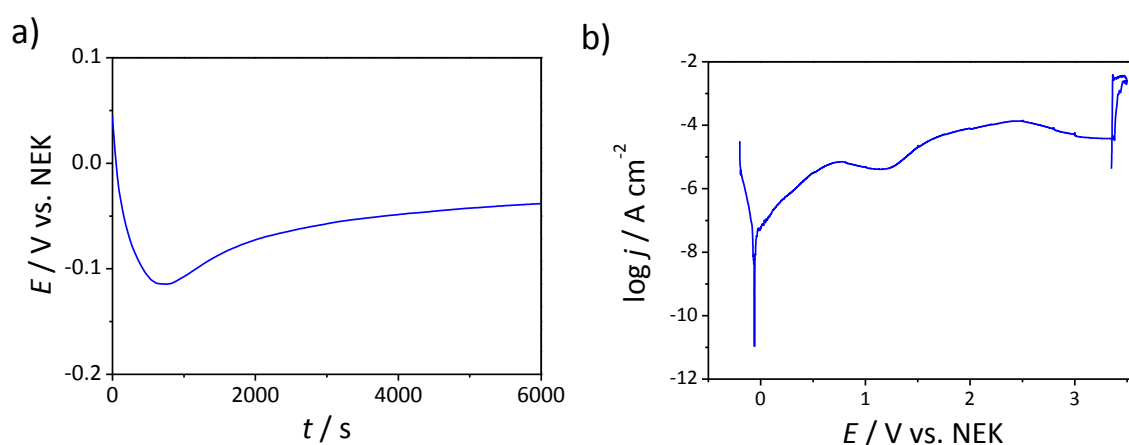


Rysunek 75. Obrazy mikroskopowe obserwowane dla powierzchni warstwy ceramiki whitlockitowej spieczonej w 1000°C / 2h po odkształceniu:  $\epsilon = 1,79\%$  (a),  $\epsilon = 1,96\%$  (b),  $\epsilon = 2,14\%$  (c),  $\epsilon = 2,49\%$  (d) i  $\epsilon = 3,32\%$  (e, f).



## 5.4. Odporność korozyjna wytworzonych warstw ceramiki whitlockitowej w środowisku symulowanych płynów ustrojowych

Pomiar potencjału obwodu otwartego wykonano jedynie dla warstwy o akceptowalnej adhezji, wytworzonej przy 20V / 60s i spieczonej w 1000 °C / 2h. Pomiar trwał 100 minut. Krzywą potencjału obwodu otwartego w funkcji czasu przedstawiono na Rysunku 76 a, natomiast krzywą polaryzacji anodowej na Rysunku 76 b. Równowaga jonowo - elektronowa na granicy próbka | elektrolit nastąpiła po około 50 minutach. Wyznaczone parametry charakteryzujące odporność korozyjną wytworzonych warstw ceramiki whitlockitowej zestawiono w Tabeli 15.



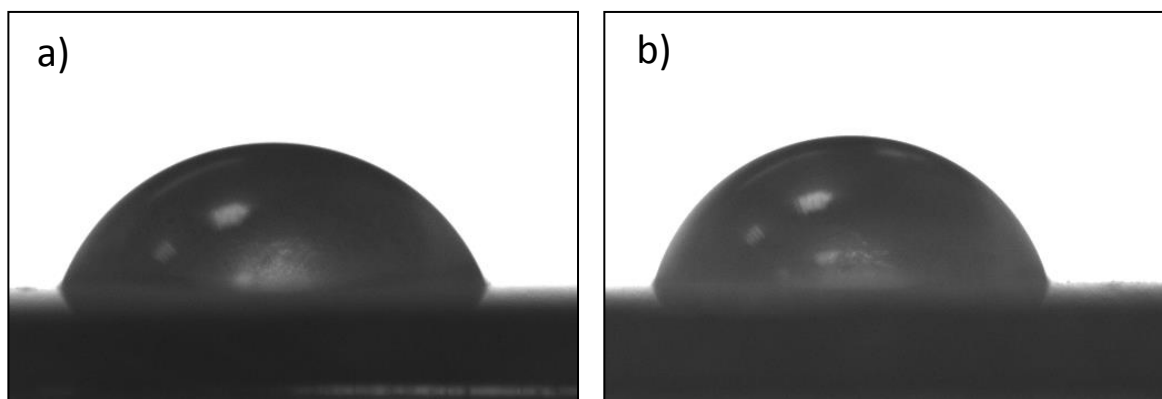
Rysunek 76. Potencjał obwodu otwartego w funkcji czasu (a) i krzywa polaryzacji anodowej (b) dla warstwy  $\beta$ -TCP 20V / 60s 1000 °C / 2h w roztworze Ringera w temperaturze 37 °C.

Tabela 15. Parametry odporności korozyjnej wyznaczone w badaniach potencjału obwodu otwartego i anodowych krzywych polaryzacji w roztworze Ringera w temp. 37 °C dla warstwy  $\beta$ -TCP 20V / 60s 1000 °C / 2h.

$E_{oc}$ [V]	$E_{kor}$ [V]	$J_{kor}$ [ $A\ cm^{-2}$ ]	$E_{pb}$ [V]	$J_{pb}$ [ $A\ cm^{-2}$ ]
-0,030	-0,055	$1,28 \cdot 10^{-8}$	3,35	3,37

## 5.5. Zwilżalność powierzchni wytworzonych warstw ceramiki whitlockitowej

Badania zwilżalności powierzchni wytworzonych warstw wykazały, że kąt przylegania ( $\Theta$ ) zmierzony dla powłoki ceramiki whitlockitowej po osadzeniu 20V / 60s (Rysunek 55 a) oraz dla warstwy  $\beta$ -TCP po spiekaniu w 1000 °C / 2h (Rysunek 55 b) przyjął następujące wartości:  $(67,5 \pm 0,4)^\circ$  i  $(73,8 \pm 0,2)^\circ$ . Wyniki te wskazują na charakter hydrofilowy wytworzonej powłoki.

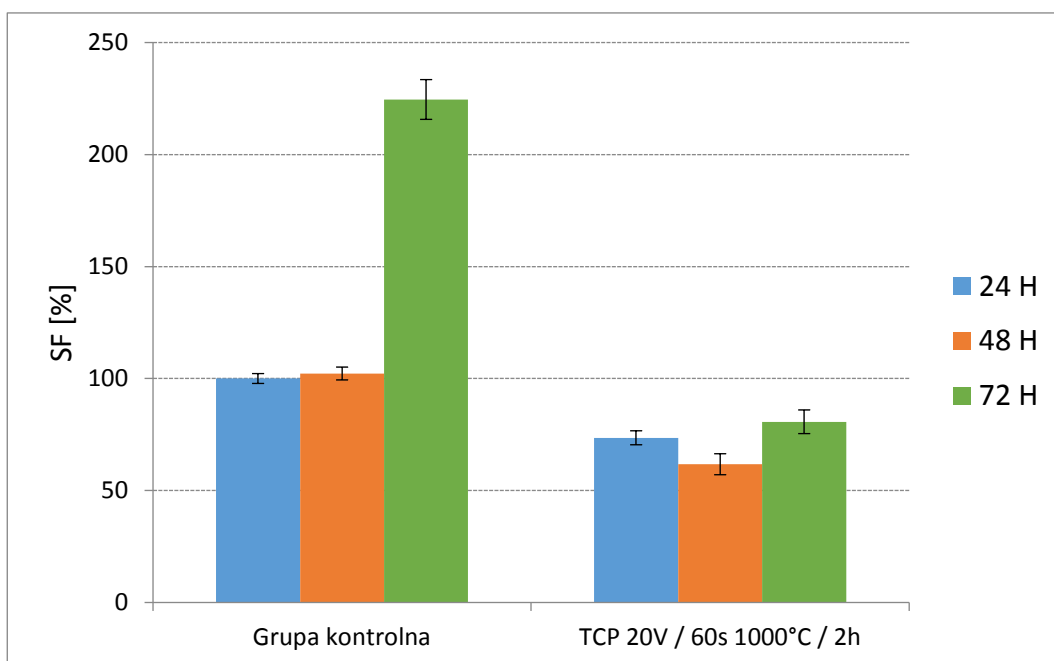


Rysunek 77. Obraz kropli wody na powierzchni powłoki  $\beta$ -TCP 20V / 60s (a) i warstwy  $\beta$ -TCP spieczonej w 1000 °C / 2h (b).

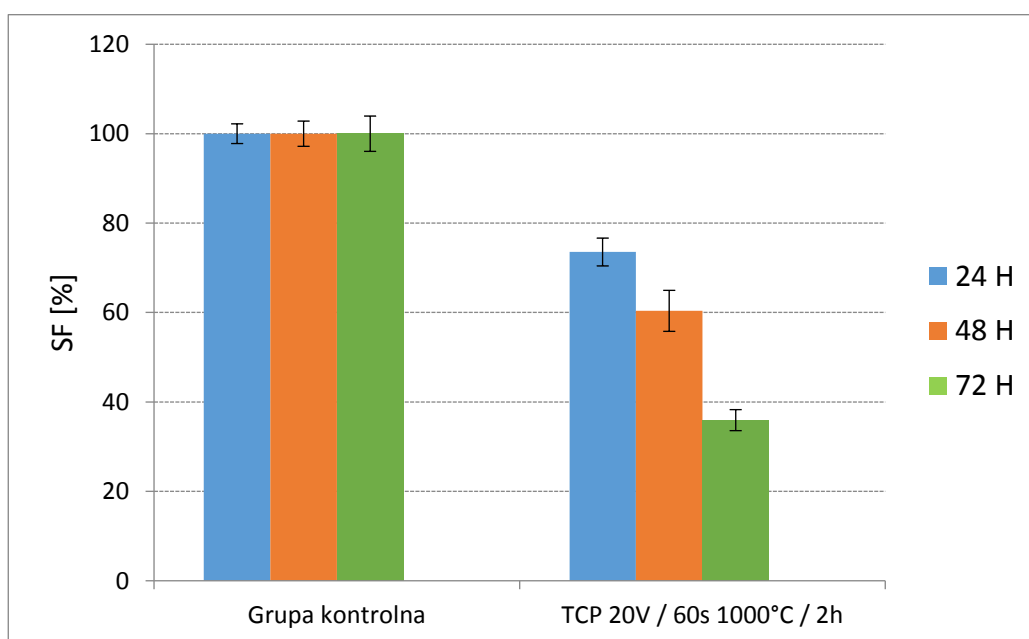
## 5.6. Biologiczna ocena biogodności wytworzonych warstw ceramiki whitlockitowej

Badania biogodności warstwy ceramiki whitlockitowej przeprowadzono podobnie jak dla warstw hydroksyapatytowych. W tym celu wysiano komórki NHDF na podłożu kontrolnym oraz na wytworzonej warstwie (20V / 60s 1000 °C / 2h). Komórki w grupie kontrolnej zaczęły się intensywnie dzielić dopiero w trzeciej dobie od wysiania, osiągając po 72 godzinach poziom ok. 225 % w stosunku do ilości po 24 godzinach przyjętych za 100 %. W przypadku warstw ceramiki whitlockitowej można zaobserwować spadek przyrostu ilości komórek po 48h hodowli, a następnie nieduży wzrost po 72 godzinach (Rysunek 78). Aktywność enzymatyczna komórek dla warstw została zahamowana zarówno po 48 jak i po 72 godzinach. W porównaniu z grupą kontrolną komórki na zmodyfikowanym podłożu dzieliły się mniej intensywnie (Rysunek 79).

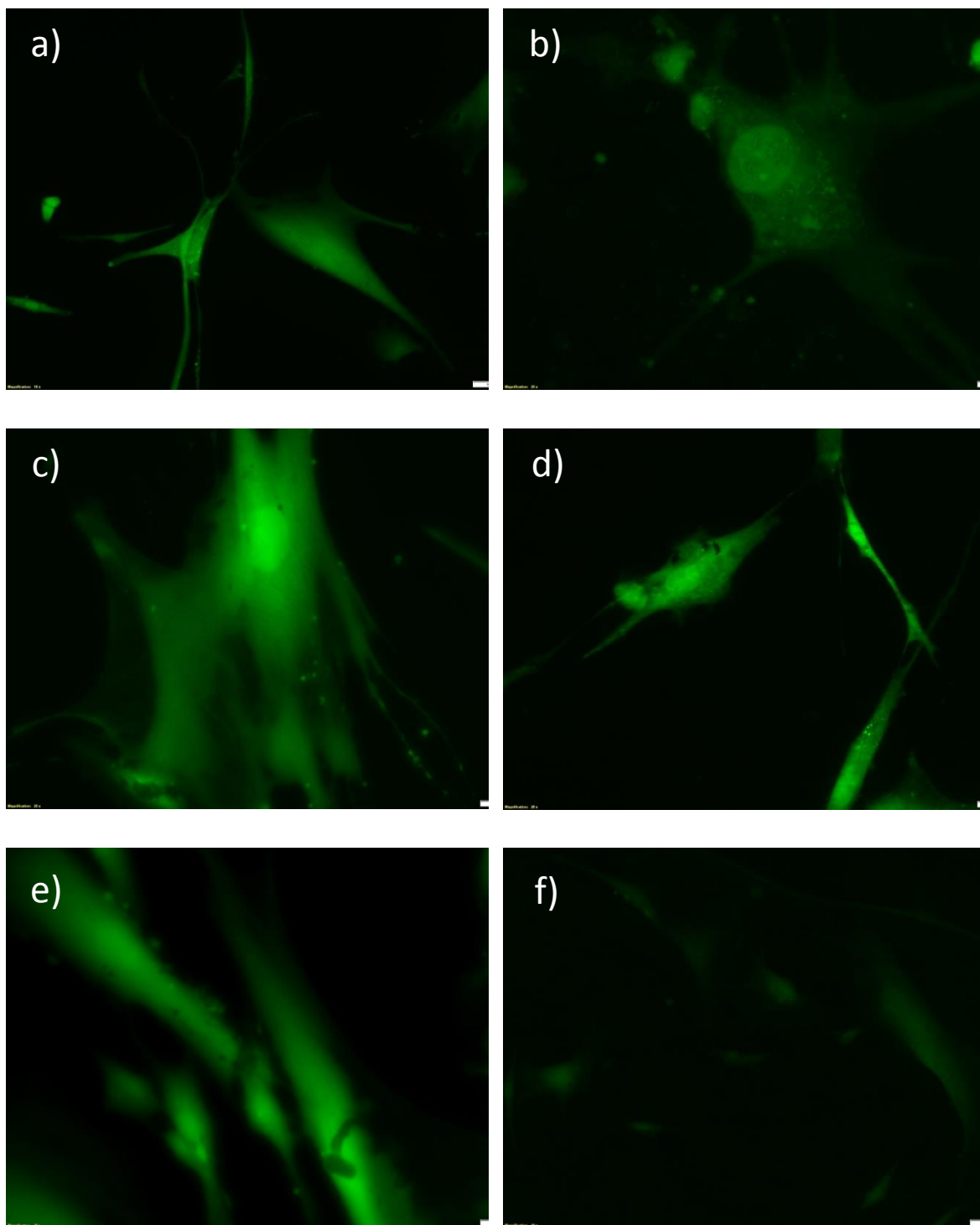
Obserwacje mikroskopowe wykazały, że komórki wykazywały prawidłową budowę (Rysunek 80). Jednakże wraz z wydłużeniem czasu inkubacji, komórki wysiane na podłożu  $\beta$ -TCP wykazywały mniej intensywny wzrost niż grupa kontrolna. Pomimo mniejszej aktywności metabolicznej komórek, wytworzone warstwy BCP były biokompatybilne.



Rysunek 78. Przeżywalność komórek na warstwie ceramiki whitlockitowej. Wartość grupy kontrolnej po 24 godzinach została przyjęta jako 100 %, natomiast pozostałe wyniki przedstawione są względem tej wartości.



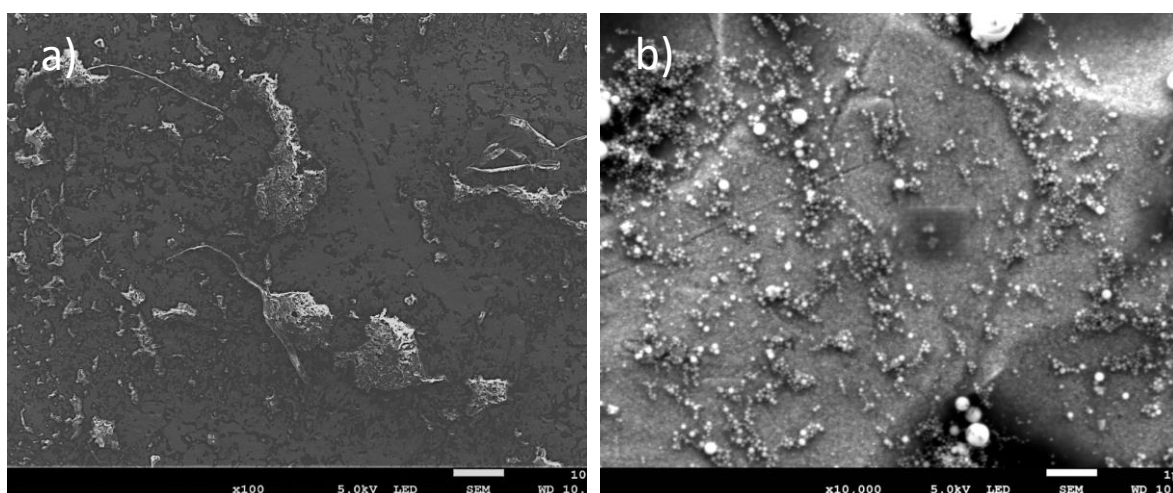
Rysunek 79. Przeżywalność komórek na warstwie ceramiki whitlockitowej. Próba kontrolna do każdego czasu została przyjęta jako 100 % i w stosunku do każdorazowej próby kontrolnej została wyliczona frakcja przeżywająca na danym podłożu.



Rysunek 80. Obrazy mikroskopowe fibroblastów linii NHDF po 24 h inkubacji: dla grupy kontrolnej (a), warstwy 6-TCP 20V / 60s 1000 °C / 2h (b); po 48 h inkubacji: dla grupy kontrolnej (c), warstwy 6-TCP 20V / 60s 1000 °C / 2h (d); po 96 h inkubacji: dla grupy kontrolnej (e), warstwy 6-TCP 20V / 60s 1000 °C / 2h (f). Obrazy mikroskopowe obserwowane przy powiększeniu 20 x.

## 5.7. Odporność wytworzonych warstw ceramiki whitlockitowej na rozwój drobnoustrojów

Badania odporności implantów na rozwój drobnoustrojów w warunkach *in vitro* wykazały, że po okresie 1 i 3 miesięcy powierzchnia próbek nie została skolonizowana przez bakterie. Jednak po upływie 6 miesięcy mikroorganizmy zasiedliły powierzchnię, wytwarzając biofilm (Rysunek 81 a). Głównymi bakteriami zidentyfikowanymi były ziarniaki Gram (+) dodatnie *Staphylococcus epidermidis* (Rysunek 81 b) będące najczęstszym patogenem wśród czynników etiologicznych bakteryjnych zakażeń człowieka.



Rysunek 81. Obrazy mikroskopowe obserwowane dla powierzchni warstwy ceramiki whitlockitowej z widocznym biofilmem bakteryjnym (a) oraz pojedyncze bakterie *Staphylococcus epidermidis* (b).

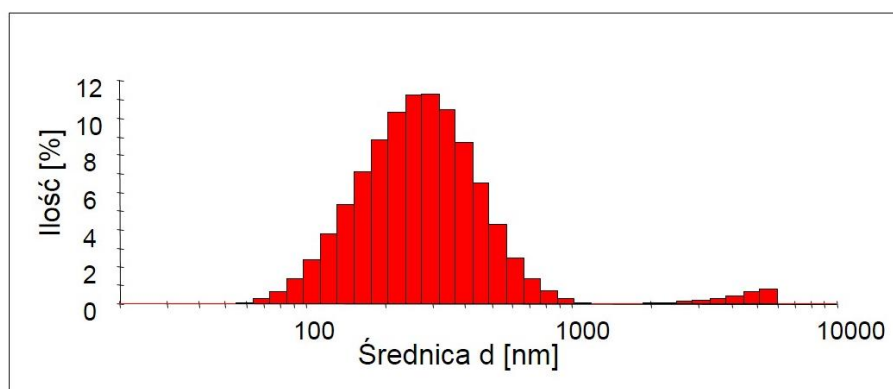
## 6. Modyfikacja powierzchni spasywowanego stopu NiTi ceramiką dwufazową opartą o fosforany wapnia (BCP)

Ceramiczne materiały dwufazowe oparte o fosforany wapnia - BCP (*biphasic calcium phosphates*) cieszą się coraz większym zainteresowaniem do zastosowań medycznych ze względu na większą aktywność osteogeniczną od materiałów monofazowych oraz szybsze i mocniejsze wiązanie implantu z kością. Materiały te zawierają w swoim składzie ceramikę hydroksyapatytową i whitlockitową.

### 6.1. Dobór optymalnych parametrów osadzania elektroforetycznego (EPD) powłok BCP

#### 6.1.1. Charakterystyka zawiesiny koloidalnej BCP użytej do EPD

Do nanoszenia powłok ceramiki dwufazowej opartej o fosforany wapnia (BCP) metodą elektroforezy został użyty roztwór koloidalny o stężeniu 0,1 % wag. proszku HAp (Sigma Aldrich) i  $\beta$ -CP (nGimat) w stosunku wagowym 1:1 w 99,8 % etanolu (Avantor Performance Materials) o pH = 6,3. Przygotowana zawiesina koloidalna została umieszczona w mieszadle magnetycznym na 15 minut, a następnie w kąpeli ultradźwiękowej przez 1 godzinę. Analiza wielkości cząstek wykazała, że w zawiesinie dominują cząstki o wielkości około 300 nm (Rysunek 82). Roztwór koloidalny wykazywał przewodnictwo  $(0,75 \pm 0,05) \mu\text{S} / \text{cm}$ . Elektroforetyczna mobilność cząstek ceramicznych wynosiła  $(0,87 \pm 0,03) \mu\text{m}\cdot\text{cm} / \text{Vs}$ . Potencjał Zeta wytworzonej zawiesiny był równy  $(40,0 \pm 1,3) \text{mV}$ , co umożliwiło przeprowadzenie osadzania kataforetycznego.



Rysunek 82. Rozkład wielkości cząstek dla zawiesiny koloidalnej BCP w etanolu.

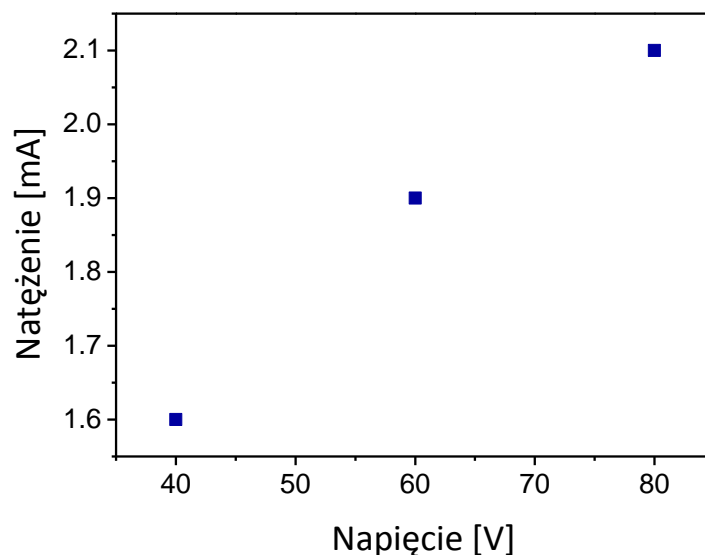
### 6.1.2. Parametry prądowo - czasowe osadzania elektroforetycznego powłok BCP

Powłoki BCP zostały naniesione na spasywowane podłoże NiTi metodą EPD w temperaturze pokojowej przy zróżnicowanych parametrach prądowo - czasowych (Tabela 16). Zostało zastosowane stałonapięciowe nanoszenie kataforetyczne nisko- i wysokonapięciowe, przy 40, 60 i 80 V w czasach 60 i 120 s. Zastosowana do osadzania przeciwelektroda była wykonana z platyny. Elektrody zostały umieszczone w roztworze równoległe do siebie w odległości ok. 15 mm. Osadzone powłoki były suszone w temperaturze pokojowej przez 24 godziny.

Został również określony wpływ przyłożonego napięcia na wartość zmierzonego natężenia prądu (Rysunek 83). Wraz ze wzrostem przyłożonego napięcia, liniowo wzrastało natężenie prądu. Przy zastosowaniu najniższego napięcia (20 V) natężenie prądu osiągnęło wartość 1,6 mA, natomiast przy najwyższym przyłożonym napięciu (80 V) wartość natężenia wzrosła do 2,1 mA.

Tabela 16. Parametry osadzania powłok BCP metodą EPD.

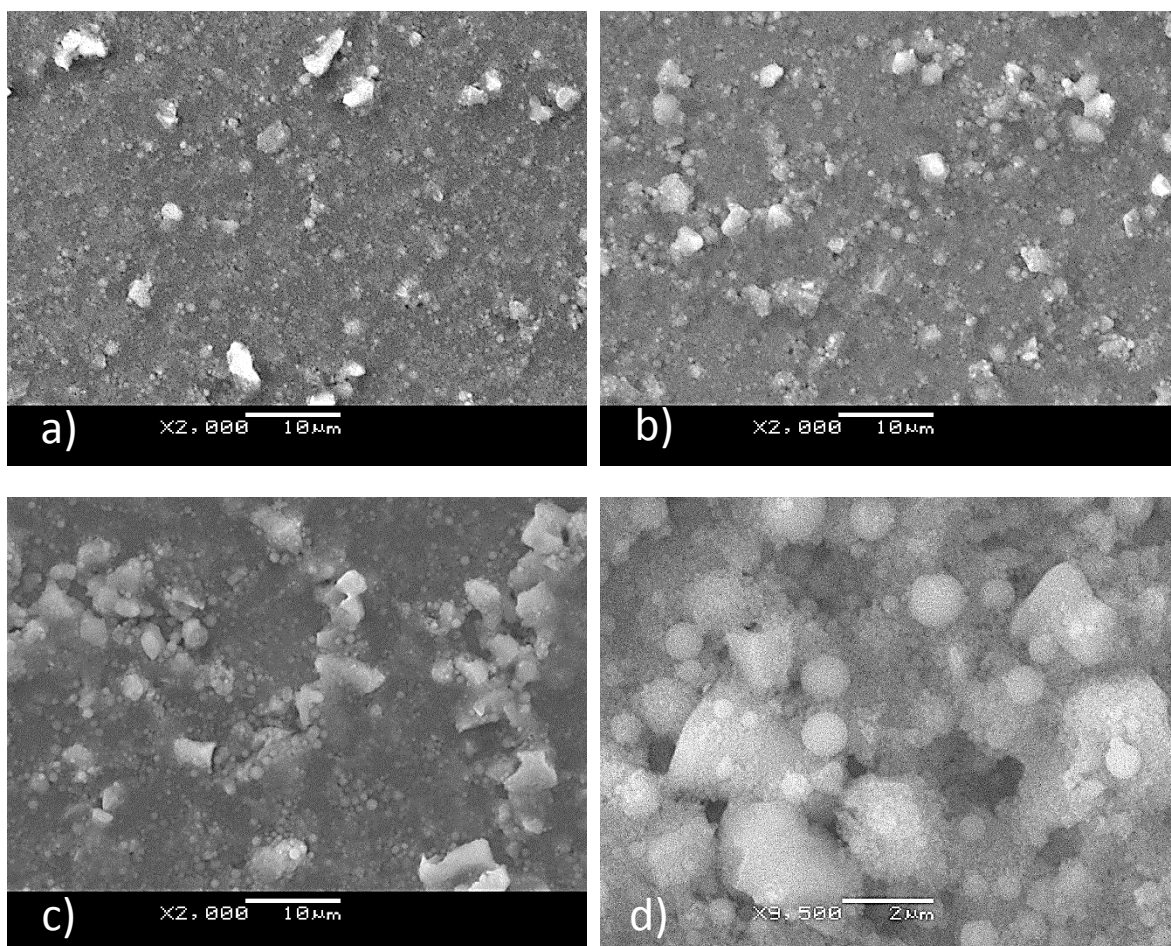
Napięcie [V]	Czas [s]
40	60
60	60
80	60



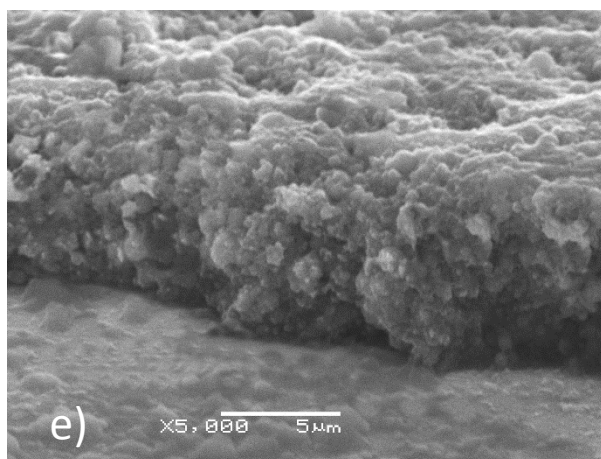
Rysunek 83. Charakterystyka prądowo-napięciowa wyznaczona podczas osadzania elektroforetycznego dla powłok BCP.

### 6.1.3. Wpływ zastosowanych parametrów osadzania na jakość wytworzonych powłok BCP

Badania mikroskopowe powierzchni powłok BCP wykazały istotne zmiany morfologii w zależności od zastosowanych warunków osadzania (Rysunek 84). Użyte do wytworzenia zawiesiny koloidalnej proszki  $\beta$ -TCP i HAp znacząco różniły się rozmiarami, co skutkowało wytworzeniem mikroporów. Rezultatem zastosowania wyższego napięcia było osadzenie większej ilości cząstek  $\beta$ -TCP mających tendencję do tworzenia aglomeratów. Cząstki te w każdym z przypadków wykazywały równomierne rozmieszczenie w powłoce. Drobne cząstki HAp były rozproszone pomiędzy dużymi aglomeratami ceramiki whitlockitowej (Rysunek 84 a-c) i częściowo osadzone na ich powierzchni (Rysunek 84 d). Nawet przy zastosowaniu najwyższego napięcia (80 V) nie zaobserwowano wystąpienia pęknięć wytworzonych powłok. Ich grubość wynosiła ok. 5  $\mu\text{m}$  (Rysunek 84 e).



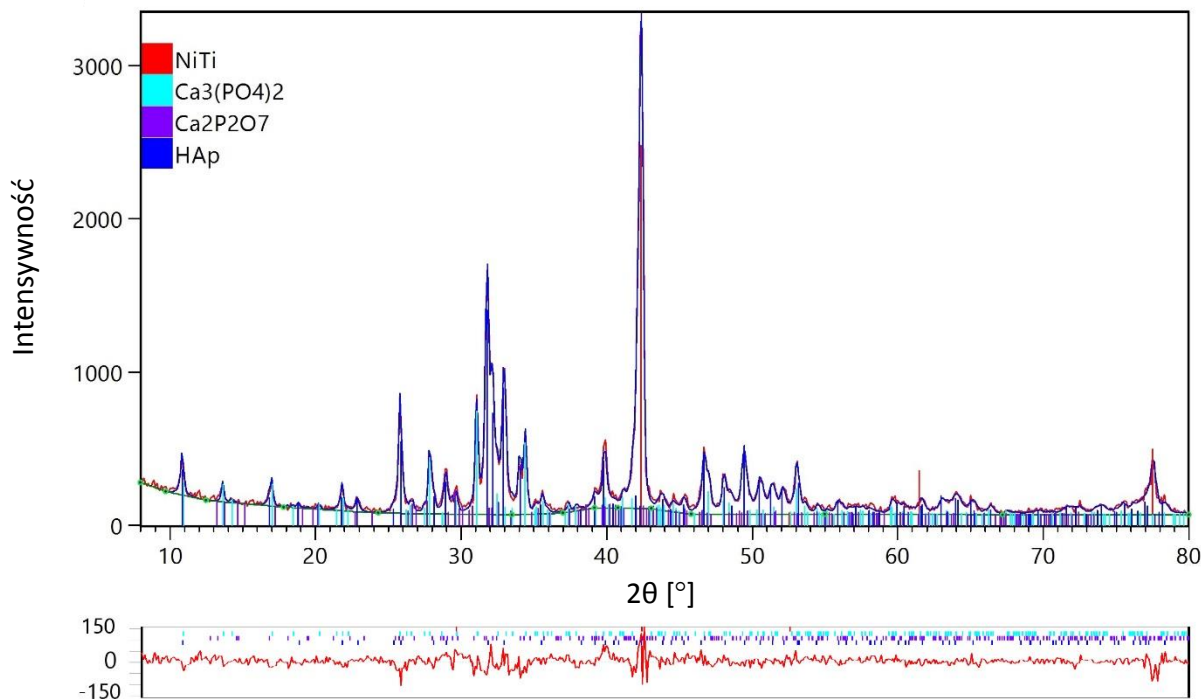




Rysunek 84. Obrazy mikroskopowe obserwowane dla powierzchni powłok BCP po osadzeniu przy następujących parametrach: 40V / 60s (a), 60V / 60s (b) i 80V / 60s (c, d) oraz przekrój poprzeczny powłoki 80V / 60s (e).

#### 6.1.4. Wpływ zastosowanych parametrów osadzania na strukturę powłok BCP

Badania rentgenowskie wykonane dla wszystkich próbek wykazały obecność hydroksyapatytu  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  (ICDD - PDF 04-016-2958),  $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (ICDD - PDF 04-008-8714), niewielkiej ilości  $\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  (ICDD - PDF 04-009-8733) oraz fazy  $\beta$  podłoża NiTi (ICDD - PDF 01-078-4618). Podobnie jak w przypadku warstw HAp i ceramiki whitlockitowej na dyfraktogramach nie zaobserwowano obecności linii dyfrakcyjnych pochodzących od innych faz, co świadczy o tym, że podczas procesu osadzania nie doszło do zmian strukturalnych materiałów wyjściowych. Przykładowy dyfraktogram rentgenowski zarejestrowany dla powłok osadzonych przy napięciu 80 V w czasie 60 s przedstawia Rysunek 85. Parametry komórek elementarnych wyznaczone metodą Rietvelda dla próbki 80V / 60s wynosiły odpowiednio: dla HAp  $a_0 = b_0 = 9,415(1) \text{ \AA}$  i  $c_0 = 6,892(5) \text{ \AA}$ , dla  $\beta\text{-C}_3\text{P}$   $a_0 = b_0 = 10,427(7) \text{ \AA}$  i  $c_0 = 37,359(8) \text{ \AA}$ , dla  $\beta\text{-C}_2\text{P}$   $a_0 = b_0 = 6,689(8) \text{ \AA}$  i  $c_0 = 24,159(8) \text{ \AA}$ , a dla NiTi  $a_0 = 3,014(7) \text{ \AA}$ . Współczynniki dopasowania osiągnęły następujące wartości:  $R_{wp} = 10,02\%$ ,  $R_{exp} = 6,87 \%$  i  $G_{of} = 1,46$ . Uzyskane wartości parametrów komórek elementarnych były porównywalne do parametrów wyliczonych dla materiałów w stanie wyjściowym.



Rysunek 85. Dyfraktogram rentgenowski zarejestrowany przy stałym kącie padania wiązki pierwotnej ( $\alpha = 0,5^\circ$ ) z dopasowaniem Rietvelda dla powłoki BCP osadzonej na stopie NiTi (80V / 60s), gdzie dyfraktogram eksperymentalny to (—), teoretyczny (—), a krzywa poniżej dyfraktogramu (—) to krzywa różnicowa.

## 6.2. Charakterystyka warstw BCP po obróbce cieplnej

### 6.2.1. Dobór warunków obróbki cieplnej powłok BCP

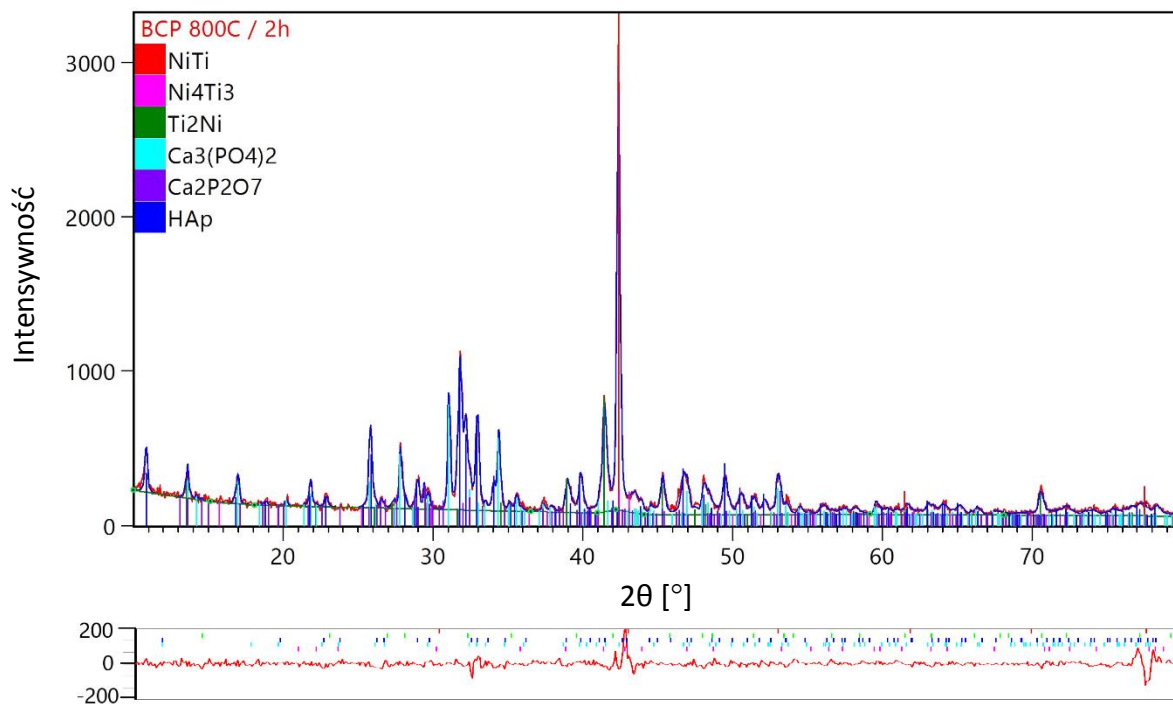
Dobór warunków obróbki cieplnej powłok fosforanowej ceramiki dwufazowej (BCP) opierał się na wynikach wcześniej wykonanych badań dla powłok hydroksyapatytowych i ceramiki whitlockitowej. Przy doborze temperatury spiekania została wzięta pod uwagę analiza wymiarów liniowych zastosowanych ceramicznych proszków wyjściowych, ich trwałość termiczna oraz wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na adhezję wytworzonych warstw HAp i ceramiki whitlockitowej do podłoża NiTi. Bazując na wynikach wcześniej opisywanych badań, próbki NiTi z naniesionymi powłokami BCP zostały poddane obróbce cieplnej w piecu próżniowym ( $10^{-7}$  Pa) w temperaturze 800 °C w czasie 2 godzin.

### 6.2.2. Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na strukturę warstw BCP oraz podłoża NiTi

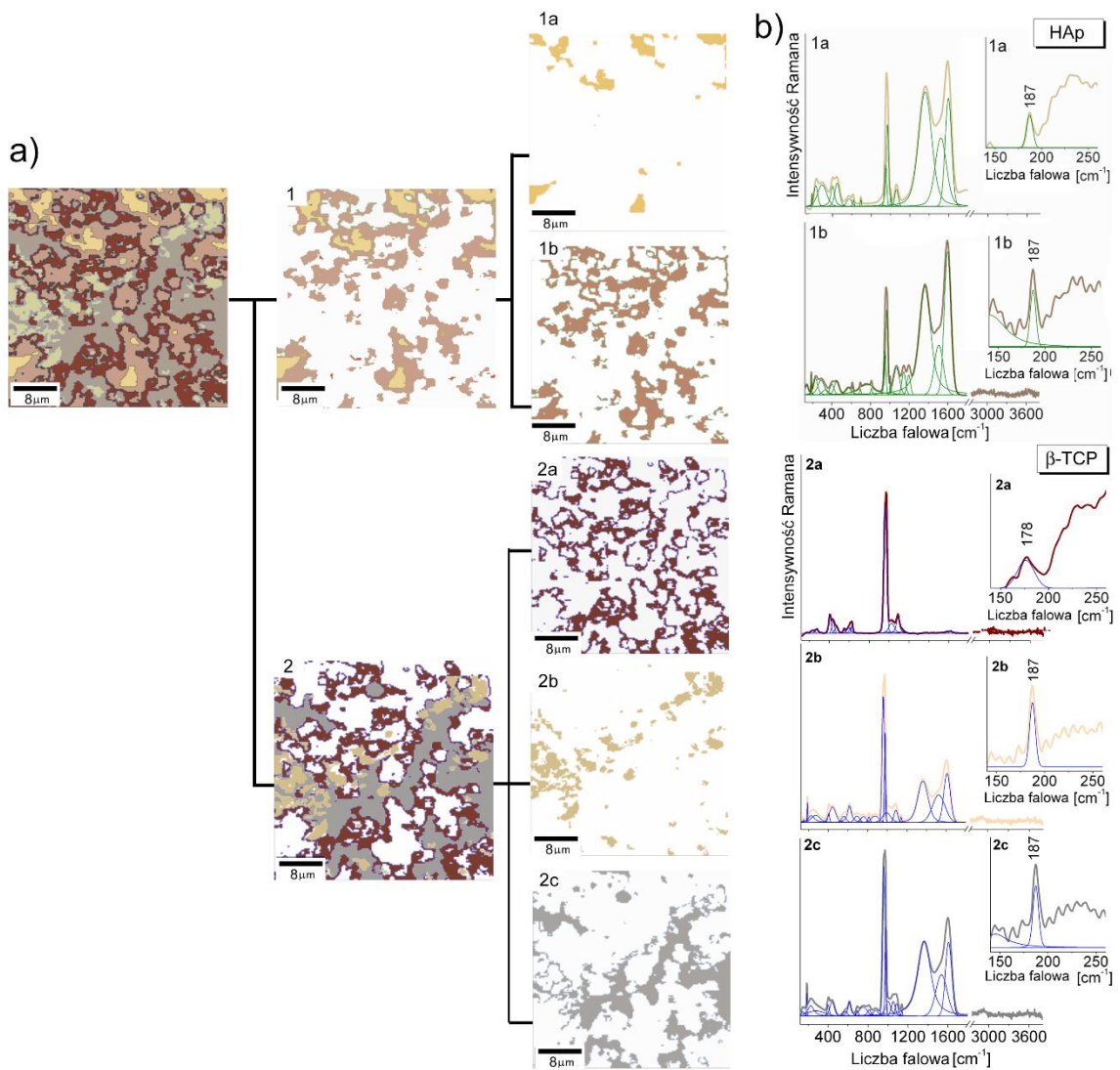
Badania rentgenowskie wykonane dla próbek po spiekaniu wykazały obecność w warstwie BCP hydroksyapatytu  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  (ICDD - PDF 04-016-2958),  $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (ICDD - PDF 04-008-8714), śladowych ilości  $\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  (ICDD - PDF 04-009-8733). Nie zidentyfikowano linii dyfrakcyjnych pochodzących od produktów rozkładu cząstek ceramiki CaP. Zastosowana obróbka cieplna, podobnie jak w przypadku warstw HAp i ceramiki whitlockitowej, skutkowała częściowym rozkładem podłoża NiTi (ICDD - PDF 01-078-4618) na fazy: równowagową  $\text{Ti}_2\text{Ni}$  (ICDD - PDF 04-007-1531) i nierównowagową  $\text{Ni}_4\text{Ti}_3$ . Przykładowy dyfraktogram próbki po obróbce cieplnej przedstawia Rysunek 86.

Parametry komórek elementarnych wyznaczone metodą Rietvela dla próbki 80V / 60s 800°C / 2h osiągnęły następujące wartości: dla HAp  $a_0 = b_0 = 9,412(2) \text{ \AA}$  i  $c_0 = 6,890(3) \text{ \AA}$ , dla  $\beta\text{-TCP}$   $a_0 = b_0 = 10,423(6) \text{ \AA}$  i  $c_0 = 37,364(4) \text{ \AA}$ , dla  $\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$   $a_0 = b_0 = 6,914(6) \text{ \AA}$  i  $c_0 = 24,254(2) \text{ \AA}$ , dla NiTi  $a_0 = 3,013(6) \text{ \AA}$ , dla  $\text{Ti}_2\text{Ni}$   $a_0 = 11,320(2) \text{ \AA}$  oraz dla  $\text{Ni}_4\text{Ti}_3$   $a_0 = b_0 = 11,239(7) \text{ \AA}$  i  $c_0 = 5,069(7) \text{ \AA}$ . Współczynniki dopasowania wynosiły odpowiednio:  $R_{\text{wp}} = 9,97 \%$ ,  $R_{\text{exp}} = 7,43 \%$  i  $G_{\text{OF}} = 1,34$ . Uzyskane wartości parametrów komórek elementarnych dla hydroksyapatytu,  $\beta\text{-TCP}$  i NiTi nie odbiegały od wartości wyznaczonych dla materiałów w stanie wyjściowym. W przypadku fazy  $\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  w wyniku spiekania doszło do zwiększenia parametrów  $a_0$  i  $b_0$ , a tym samym wydłużenia komórki elementarnej w kierunku osi x oraz y.

Analiza klastrowa warstw BCP po spiekaniu (Rysunek 87) wykazała obecność krystalicznego hydroksyapatytu oraz  $\beta\text{-TCP}$ . W wyniku obróbki cieplnej doszło do spieczenia cząstek dwóch faz, co uwidacznia się na widmach Ramana w postaci sygnału pochodzącego jednocześnie od HAp i  $\beta\text{-TCP}$ . Jest to szczególnie dobrze widoczne w centralnych częściach aglomeratów. Widma zawierają również pasma związane z obecnością grup  $\text{CO}_3^{2-}$ , charakterystyczne dla apatytów węglanowych (C-HAp). W widmach ramanowskich nie zaobserwowano obecności  $\beta\text{-C}_2\text{P}$ , co może sugerować niejednorodne rozmieszczenie cząstek tej fazy lub osadzenie ich w głębszych częściach warstw, nie możliwych do detekcji przy wykorzystaniu tej metody badawczej.



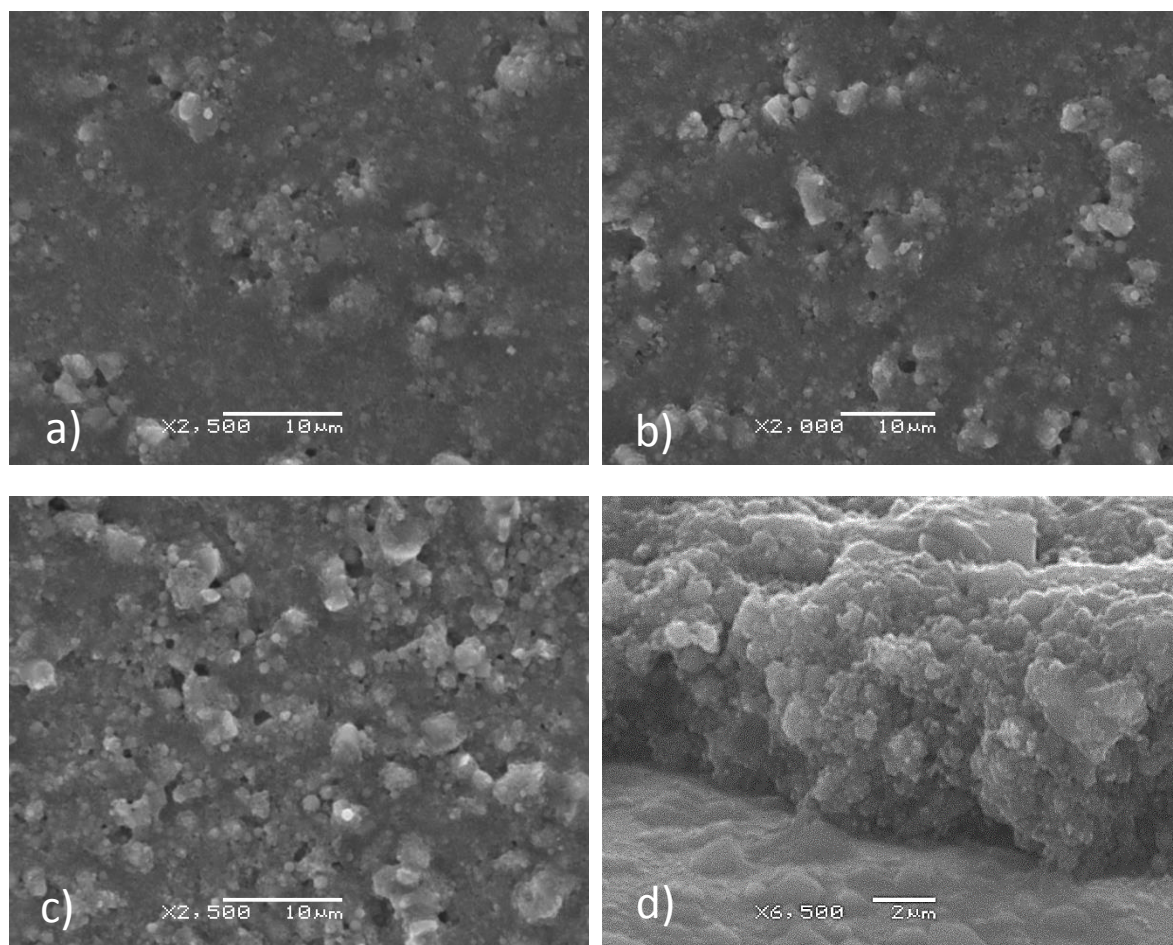
Rysunek 86. Dyfraktogram rentgenowski zarejestrowany przy stałym kącie padania wiązki pierwotnej ( $\alpha = 0,5^\circ$ ) z dopasowaniem Rietvelda dla powłoki BCP osadzonej na stopie NiTi (80V / 60s) po obróbce cieplnej (800°C / 2h), gdzie dyfraktogram eksperymentalny to (—), teoretyczny (—), a krzywa poniżej dyfraktogramu (—) to krzywa różnicowa.



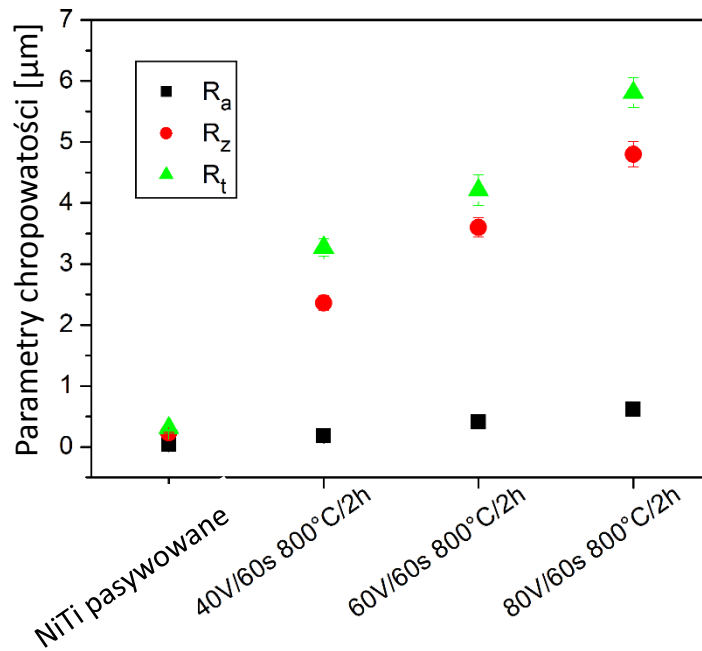
Rysunek 87. Analiza klastrowa warstw BCP po spiekaniu w 800°C / 2h (a). Drzewko klastrowe rdzeniowe (po lewej), dwa poklastry obejmujące rozkład hydroksyapatytu (1) i  $\beta$ -TCP (2) oraz podklastry w obrębie klastra HAp (1 a, b) i  $\beta$ -TCP (2 a-c). Widma HAp wyselekcjonowane z poklastrów (1a, b) oraz widma  $\beta$ -TCP pochodzące z poklastrów (2 a-c) (b).

### 6.2.3. Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na jakość warstw BCP

Obserwacje mikroskopowe powierzchni wykazały, że w wyniku spiekania doszło do zmian mikrostruktury warstw BCP w wyniku koalescencji cząstek, ponadto obserwacje powierzchni ujawniły obecność mikroporów. W żadnym z przypadków nie doszło do powstania pęknięć warstw (Rysunek 88). Warstwa po obróbce cieplnej miała grubość zbliżoną do powłoki po osadzeniu, wynoszącą około 5  $\mu\text{m}$  (Rysunek 88 f). Wraz ze wzrostem zastosowanego napięcia podczas osadzania, wytworzone warstwy wykazywały zwiększoną chropowatość w stosunku do spasywowanego podłoża NiTi (Rysunek 89).



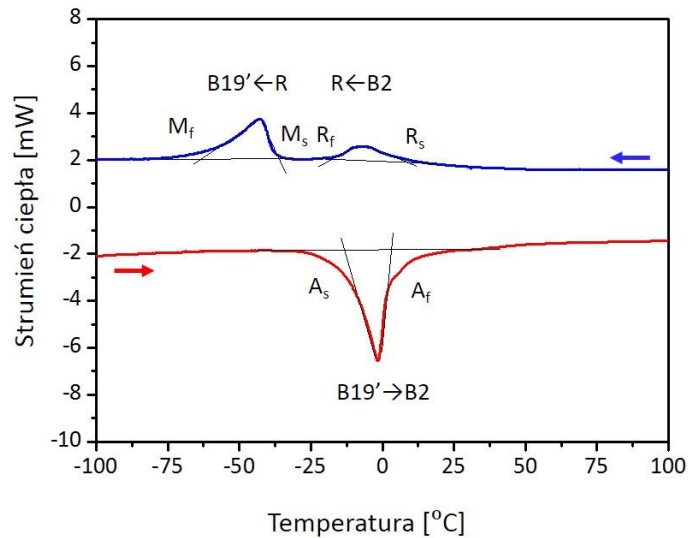
Rysunek 88. Obrazy mikroskopowe obserwowane dla powierzchni warstw BCP po obróbce cieplnej: 40V / 60s (a), 60V / 60s (b) i 80V / 60s (c) oraz dla przekroju poprzecznego warstwy BCP 80V / 60s po spiekaniu (d).



Rysunek 89. Parametry chropowatości warstw BCP wyznaczone przy użyciu profilometru.

#### 6.2.4. Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na przebieg przemiany martenzytycznej w stopie NiTi

Badania DSC wykonane dla warstw dwufazowej ceramiki opartej o fosforany wapnia (BCP) wykazały, że wytworzona warstwa nie wpływa niekorzystnie na obecność odwracalnej przemiany martenzytycznej. Zastosowane warunki spiekania (800 °C / 2h), podobnie jak w przypadku warstw HAp i ceramiki whitlockitowej, przyczyniły się do zmiany jej sekwencji z jednostopniowej (B2 → B19') na dwustopniową (B2 → R → B19') (Rysunek 15, Rysunek 90). Zaobserwowano również rozmycie piku odwrotnej przemiany martenzytycznej (B19' → B2). Zjawiska te mogą być spowodowane niejednorodnością składu chemicznego stopu NiTi związaną z powstaniem wydzieli fazy  $\text{Ti}_2\text{Ni}$  oraz  $\text{Ni}_4\text{Ti}_3$  (Rysunek 85) podczas obróbki cieplnej. Częściowy rozkład fazy macierzystej stopu NiTi skutkował również obniżeniem entalpii przemiany martenzytycznej po spiekaniu (Tabela 17), w porównaniu ze stopem NiTi po przesycaniu (Tabela 5). Efekt ten, tak jak opisano wcześniej, związany jest ze zmniejszeniem ilości fazy macierzystej stopu NiTi na rzecz powstających wydzieli.



Rysunek 90. Termogram zmierzony dla próbki spieczonej w 800 °C / 2h.

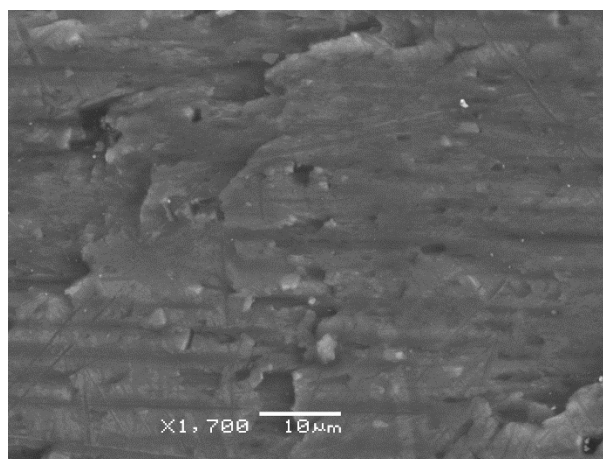
Tabela 17. Parametry charakterystyczne przemian fazowych wyznaczone dla stopu NiTi z warstwą BCP 80V / 60s po spiekaniu w 800 °C / 2h.

$A_s$ [°C]	$A_f$ [°C]	$\Delta H$ B19' → B2 [J/g]	$R_s$ [°C]	$R_f$ [°C]	$\Delta H$ B2 → R [J/g]	$M_s$ [°C]	$M_f$ [°C]	$\Delta H$ R → B19' [J/g]
-8,9	4,1	-16,8	1,3	-14,0	2,7	-39,1	-43,1	7,3

#### 6.2.5. Wpływ zastosowanych warunków obróbki cieplnej na adhezję warstw do podłoża

Adhezja warstw ceramiki BCP 80V / 60s do spasywowanego podłoża NiTi po obróbce cieplnej w 800 °C / 2h wynosiła ( $13,6 \pm 1,0$ ) MPa. Obserwacje mikroskopowe powierzchni po zrywaniu wykazały, że podobnie jak w przypadku warstw HAp i ceramiki whitlockitowej, część warstwy po badaniach nadal była przyczepiona do podłoża NiTi (Rysunek 91), co może świadczy o jej silniejszej lokalnej adhezji.

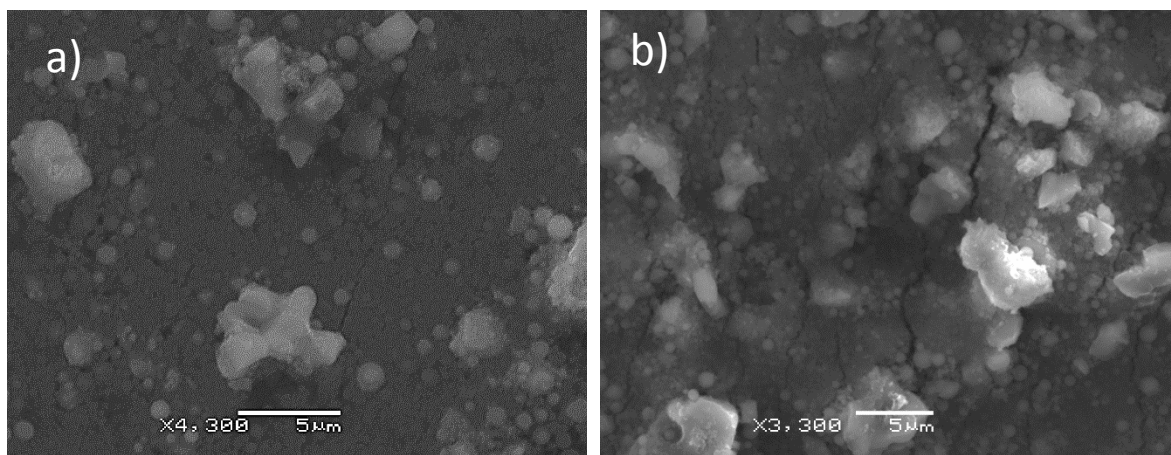


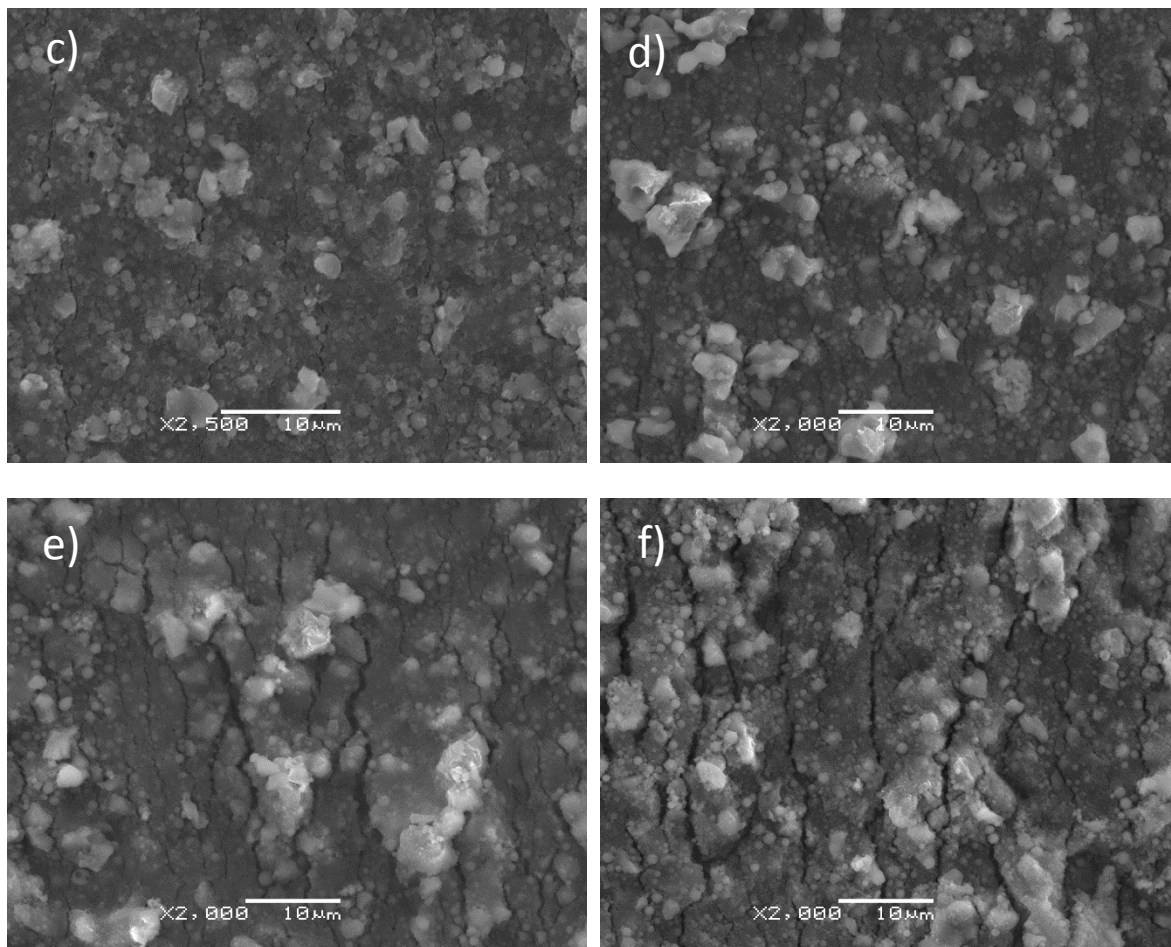


Rysunek 91. Obraz mikroskopowy powierzchni obserwowany dla próbki spieczonej w 800 °C / 2h po pomiarach adhezji.

### 6.3. Odporność wytworzonych warstw BCP na odkształcenie związane z indukowaniem efektu pamięci kształtu

W celu określenia odporności wytworzonych warstw BCP na odkształcenia związane z indukowaniem efektu pamięci kształtu w stopie NiTi, próbki zostały poddane odkształceniom do  $\epsilon = 3,35$  %. Pierwsze drobne pęknięcia warstw powstały przy odkształceniu do  $\epsilon = 1,89$  % (Rysunek 92 a). Zwiększenie odkształcenia do  $\epsilon = 2,32$  % (Rysunek 92 b), a następnie do  $\epsilon = 2,48$  % (Rysunek 92 c) spowodowało wzrost liczby niedużych pęknięć i propagacji już istniejących. Wraz ze zwiększeniem odkształcenia do  $\epsilon = 2,61$  % (Rysunek 92 d) nastąpił wzrost szerokości istniejących już pęknięć. W przypadku odkształceń powyżej 3 % (Rysunki 92 e-f), wchodzących w zakres odkształcenia sprężystego martenzytu (Rysunek 51), nastąpiła znacząca propagacja siatki pęknięć. Przy tych odkształceniach zaobserwowano odrywanie się warstwy od podłoża NiTi, szczególnie widoczne w pobliżu występowania aglomeratów cząstek ceramiki whitlockitowej.

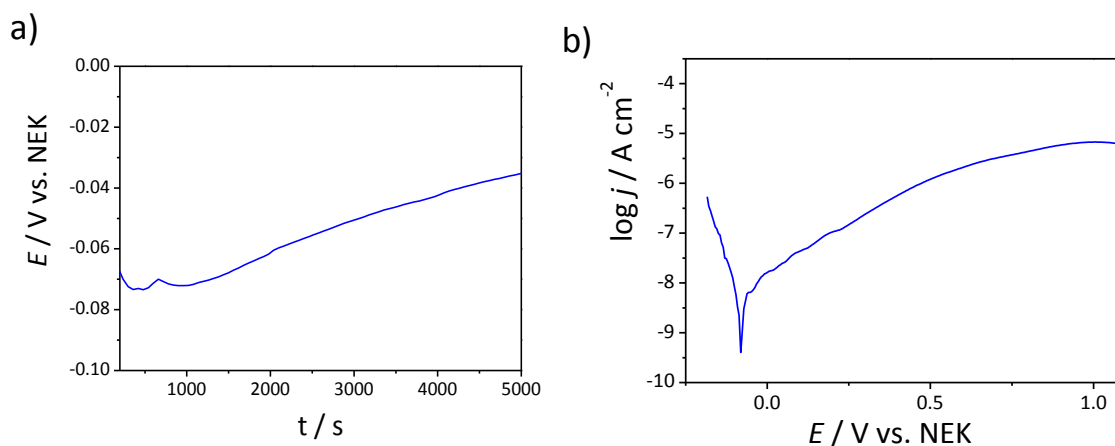




Rysunek 92. Obrazy mikroskopowe obserwowane dla powierzchni warstwy BCP 80 V / 60s spieczonej w 800 °C / 2h po odkształceniu:  $\epsilon = 1,89\%$  (a),  $\epsilon = 2,32\%$  (b),  $\epsilon = 2,48\%$  (c),  $\epsilon = 2,61\%$  (d),  $\epsilon = 3,23\%$  (e) i  $\epsilon = 3,35\%$  (f).

#### 6.4. Odporność korozyjna wytworzonych warstw BCP w środowisku symulowanych płynów ustrojowych

Skłonność warstw BCP do korozji wyznaczono metodą potencjału obwodu otwartego. Pomiar trwał 80 minut. Krzywą potencjału obwodu otwartego w funkcji czasu przedstawia Rysunek 93 a, natomiast krzywą polaryzacji anodowej Rysunek 93 b. Równowaga jonowo - elektronowa na granicy próbka | elektrolit nastąpiła po około 70 minutach. Wyznaczone parametry charakteryzujące odporność korozyjną wytworzonych warstw BCP zestawiono w Tabeli 18.



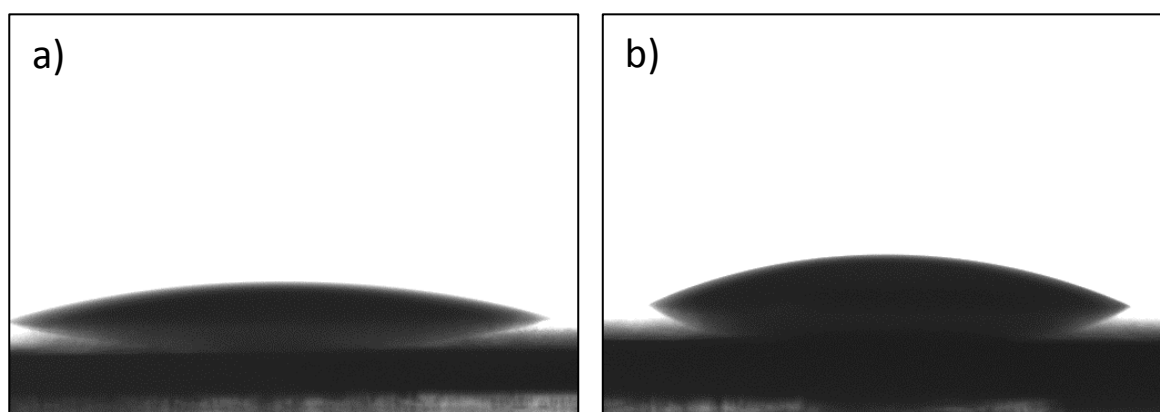
Rysunek 93. Potencjał obwodu otwartego w funkcji czasu (a) i krzywa polaryzacji anodowej (b) dla warstwy BCP 80V / 60s 800 °C / 2h w roztworze Ringera w temperaturze 37 °C.

Tabela 18. Parametry odporności korozyjnej wyznaczone w badaniach potencjału obwodu otwartego i anodowych krzywych polaryzacji w roztworze Ringera w temp. 37 °C dla warstwy BCP 80V / 60s 800 °C / 2h.

$E_{oc}$ [V]	$E_{kor}$ [V]	$J_{kor}$ [ $A\ cm^{-2}$ ]
-0,034	-0,079	$1,53 \cdot 10^{-8}$

## 6.5. Zwilżalność powierzchni wytworzonych warstw BCP

Badania zwilżalności powierzchni wytworzonych warstw BCP przed i po obróbce cieplnej wykazały, że powierzchnie wykazywały charakter hydrofilowy. Kąt przylegania ( $\theta$ ) zmierzony dla powłoki po osadzeniu 80V / 60s (Rysunek 94 a) oraz dla warstwy po spieczeniu w 800°C / 2h (Rysunek 94 b) przyjął następujące wartości:  $(20,1 \pm 0,4)^\circ$  i  $(24,7 \pm 0,3)^\circ$ .

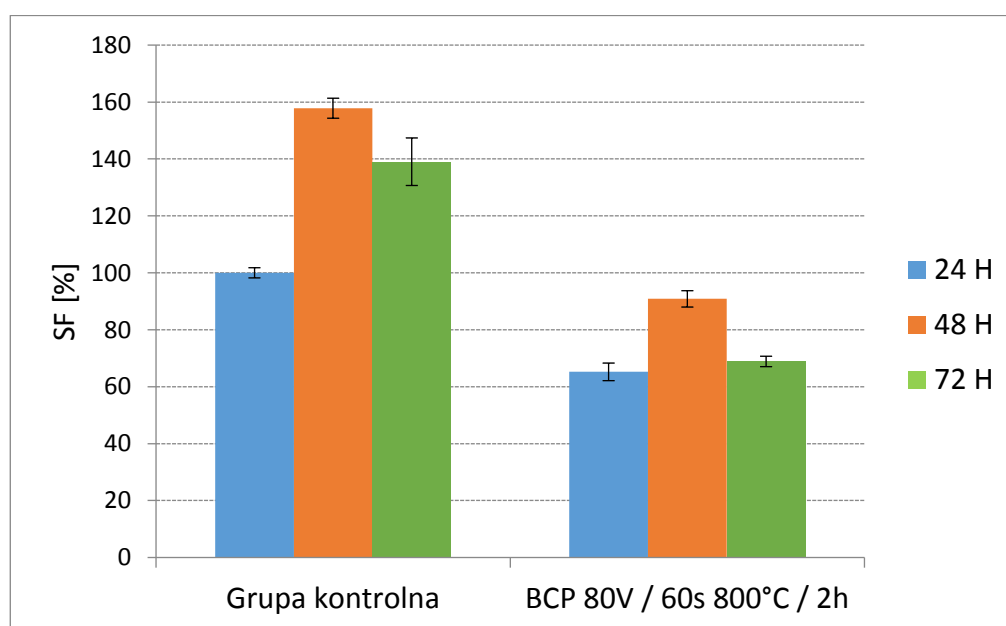


Rysunek 94. Obraz kropli wody na powierzchni powłoki BCP 80V / 60s (a) i warstwy BCP spieczonej w 800°C / 2h (b).

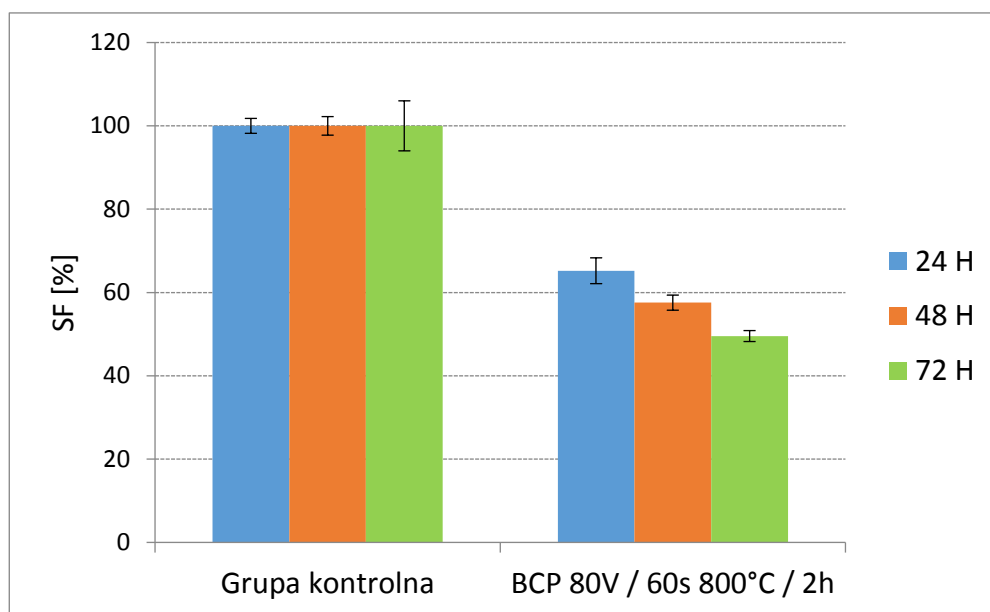
## 6.6. Biologiczna ocena biogodności wytworzonych warstw BCP

Podobnie jak dla warstw HAp i  $\beta$ -TCP biologiczną ocenę biogodności przeprowadzono na podstawie wyników uzyskanych w teście MTS. Komórki fibroblastów w grupie kontrolnej zaczęły się intensywnie dzielić w drugiej dobie od wysiania, osiągając po 48 godzinach poziom ok. 160 % w stosunku do ilości po 24 godzinach przyjętych za 100 %. W trzeciej dobie nastąpiło zahamowanie ich wzrostu w porównaniu z drugą dobą, a poziom wynosił ok. 140 % w stosunku do grupy kontrolnej. W przypadku warstw BCP 80V / 60s 800°C / 2h zaobserwowano przyrost ilości fibroblastów po 48 godzinach hodowli, a po 72 godzinach spadek do poziomu uzyskanego po 24 godzinach (Rysunek 95). Aktywność enzymatyczna komórek dla warstw BCP została częściowo zahamowana zarówno po 48 jak i po 72 godzinach. W porównaniu z grupą kontrolną komórki na podłożu BCP dzieliły się mniej intensywnie (Rysunek 96).

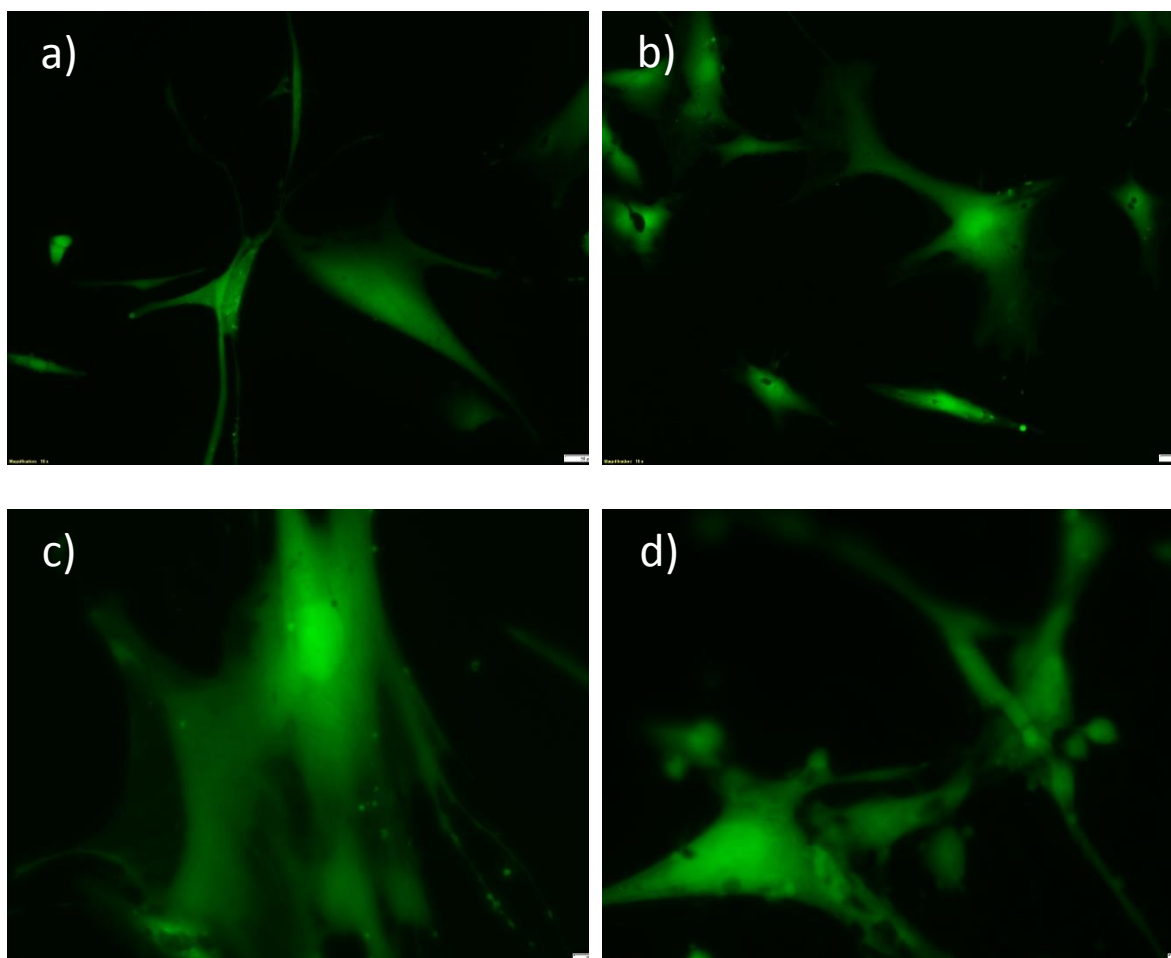
Obserwacje mikroskopowe dowiodły, że po każdym czasie inkubacji morfologia fibroblastów nie wykazywała odstępstw od normy (Rysunek 97). Komórki były prawidłowo rozpostarte i wykazywały dobrą adhezję do podłoża. Wytworzone warstwy BCP były biokompatybilne.

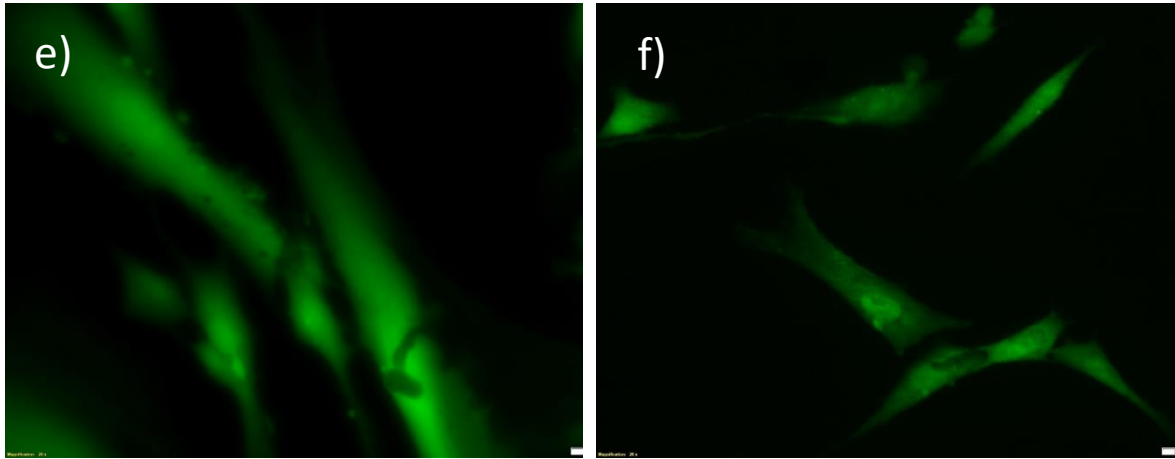


Rysunek 95. Przeżywalność komórek na warstwie BCP. Wartość grupy kontrolnej po 24 godzinach została przyjęta jako 100 %, natomiast pozostałe wyniki przedstawione są względem tej wartości.



Rysunek 96. Przeżywalność komórek na warstwie BCP. Próba kontrolna do każdego czasu została przyjęta jako 100 % i w stosunku do każdorazowej próby kontrolnej została wyliczona frakcja przeżywająca na danym podłożu.

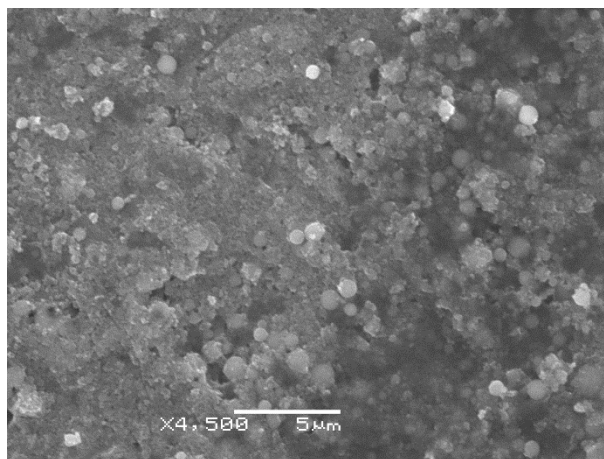




Rysunek 97. Obrazy mikroskopowe fibroblastów linii NHDF po 24 h inkubacji: dla grupy kontrolnej (a), warstwy BCP 80V /60s 800°C / 2h (b); po 48 h inkubacji: dla grupy kontrolnej (c), warstwy BCP 80V /60s 800°C / 2h (d); po 72 h inkubacji: dla grupy kontrolnej (e) i warstwy BCP 80V / 60s 800°C / 2h (f). Obrazy obserwowano przy powiększeniu 20 x.

## 6.7. Odporność wytworzonych warstw BCP na rozwój drobnoustrojów

Badania odporności wytworzonych warstw BCP na rozwój drobnoustrojów wykazały, że po okresie 1, 3 i 6 miesięcy powierzchnia próbek 48V / 60s 800 °C / 2h nie zostały skolonizowana przez bakterie. Nie zaobserwowano również wytworzenia biofilmu. Przykładowe zdjęcie powierzchni warstw po 6 miesiącach inkubacji w roztworze bakteryjnym przedstawiono na Rysunku 98.



Rysunek 98. Obraz mikroskopowy obserwowany dla warstwy BCP 80V / 60s 800 °C / 2h po 6 miesiącach inkubacji w roztworze bakteryjnym.

## 7. Porównanie właściwości wytworzonych warstw

Charakterystyka wytworzonych warstw hydroksyapatytu (HAp), ceramiki whitlockitowej ( $\beta$ -TCP) oraz dwufazowej ceramiki opartej o fosforany wapnia (BCP) oraz wpływ parametrów wytwarzania na podłoże NiTi zostały zestawione w poniższej tabeli (Tabela 19). Najlepsze właściwości mechaniczne związane z odkształcaniem się podłoża oraz adhezją spośród wytworzonych warstw CaP wykazywały warstwy hydroksyapatytowe. Warstwy ceramiki whitlockitowej nie wykazywały odporności na rozwój mikroorganizmów, natomiast warstwy BCP odpryskiwały podczas odkształcenia.

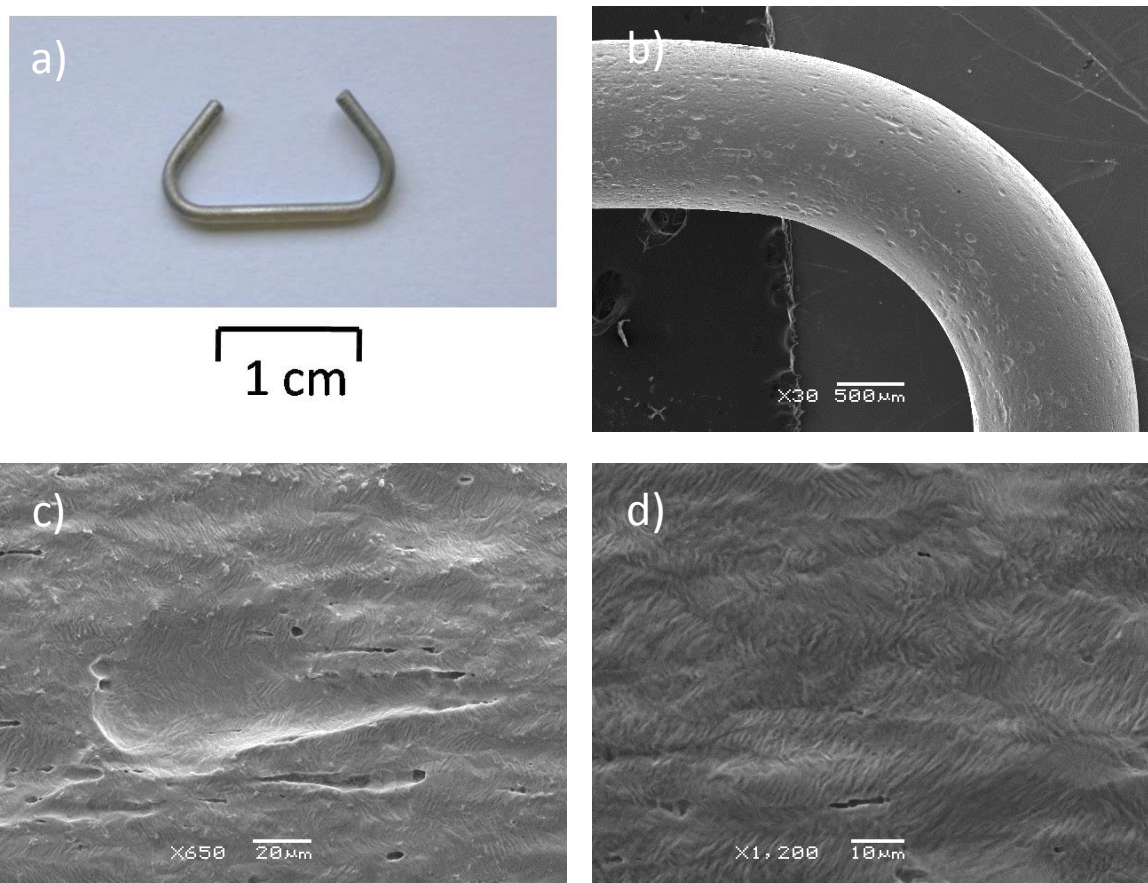
Tabela 19. Porównanie właściwości wytworzonych warstw.

Warstwa	HAp	HAp	$\beta$ -TCP	BCP
Optymalne parametry wytwarzania	40V/120s 700°C/2h	40V/120s 800°C/2h	20V/60s 1000°C/2h	80V/60s 800°C/2h
Odporność na odkształcenie	Pierwsze pęknięcia $\epsilon = 2,15\%$ . Przy maksymalnym odkształceniu $\epsilon = 3,53\%$ dobra adhezja do podłoża.	Pierwsze pęknięcia $\epsilon = 2,48\%$ . Przy maksymalnym odkształceniu $\epsilon = 3,53\%$ dobra adhezja do podłoża.	Pierwsze pęknięcia $\epsilon = 1,79\%$ . Przy maksymalnym odkształceniu $\epsilon = 3,32\%$ dobra adhezja do podłoża.	Pierwsze pęknięcia $\epsilon = 1,89\%$ . Przy maksymalnym odkształceniu $\epsilon = 3,35\%$ odrywanie warstwy od podłoża.
Adhezja [MPa]	$9,3 \pm 1,0$	$15,1 \pm 1,4$	$12,9 \pm 0,9$	$13,6 \pm 1,0$
Odporność korozyjna	$E_{oc} = -0,131\text{ V}$ $E_{kor} = -0,139\text{ V}$	$E_{oc} = -0,081\text{ V}$ $E_{kor} = -0,089\text{ V}$	$E_{oc} = -0,030\text{ V}$ $E_{kor} = -0,055\text{ V}$	$E_{oc} = -0,034\text{ V}$ $E_{kor} = -0,079\text{ V}$
Zwilżalność $\theta$ [°]	$59,4 \pm 0,3$	$66,5 \pm 0,6$	$73,8 \pm 0,2$	$24,7 \pm 0,3$
Ocena biozgodności	Biozgodne	Biozgodne	Biozgodne	Biozgodne
Ocena mikrobiologiczna	Odporne	Odporne	Po 6 miesiącach wytworzenie biofilmu i kolonizacja przez bakterie <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Odporne

Gdzie właściwości najlepsze oznaczono kolorem , a najgorsze .

## 8. Aplikacyjny aspekt zastosowania wielofunkcyjnych warstw na stopie NiTi

Praktycznym zastosowaniem uzyskanych wyników było wytworzenie warstw ochronnych na stosowanym w praktyce implancie wykonanym ze stopu NiTi o składzie chemicznym: 50,6 % at. Ni i 49,4 % at. Ti. Klamra została wykonana z drutu ze stopu NiTi o średnicy 1,2 mm (Rysunek 99 a). Implant w stanie wyjściowym posiadał widoczne defekty powierzchni powstałe w procesie produkcji (Rysunki 99 b-c). Przed elektroforetycznym osadzeniem powłok HAp powierzchnia klamry została oczyszczona w acetonie przy użyciu ultradźwięków i poddana pasywacji w autoklawie parowym w temperaturze 134 °C w czasie 30 minut.



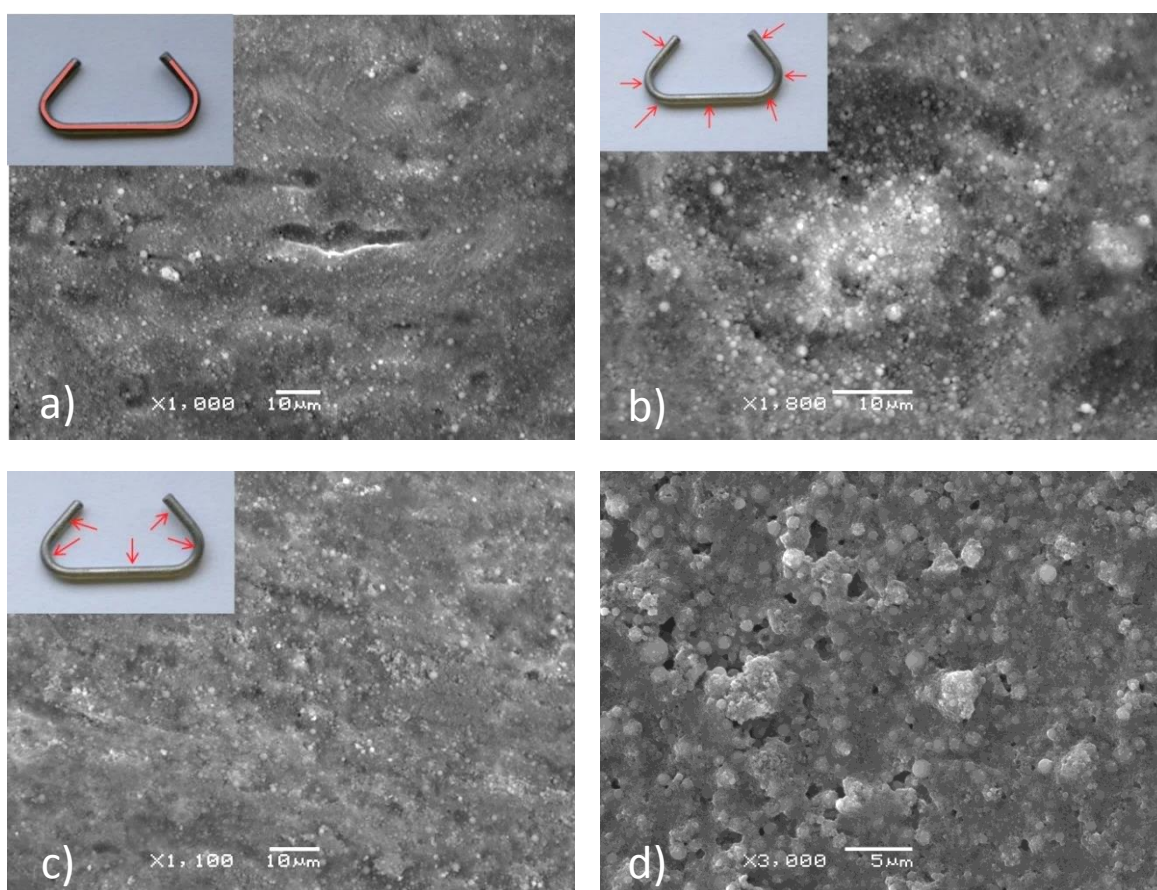
Rysunek 99. Klamra wykonana ze stopu NiTi (a) oraz obrazy mikroskopowe obserwowane dla powierzchni klamry (b-c).

Na tak przygotowaną powierzchnię zostały naniesione powłoki hydroksyapatytu metodą elektroforezy. Do EPD użyto zawiesiny koloidalnej HAp / etanol przygotowanej w taki sam sposób jak zawiesina do EPD na płytkach testowych NiTi. Osadzanie przeprowadzono przy napięciu 60 V w czasie 30 s w temperaturze pokojowej. Obserwacje mikroskopowe wykazały, że jednorodna

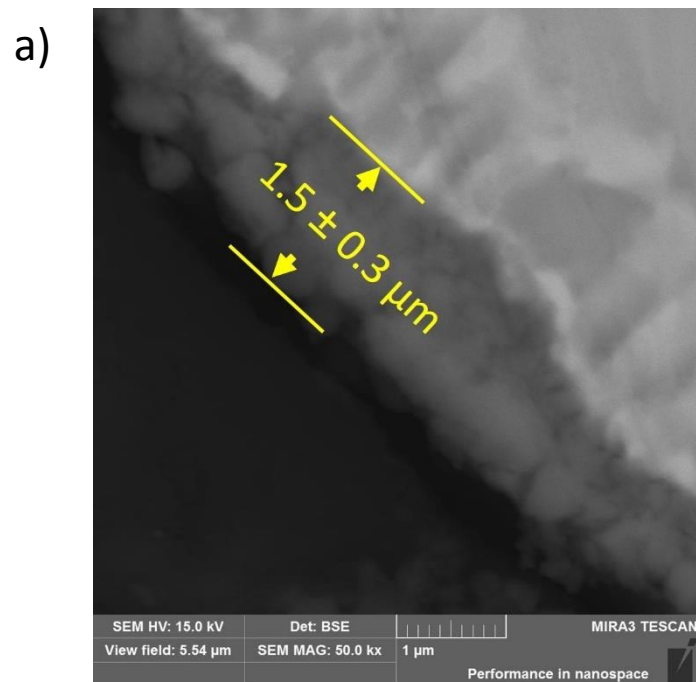


powłoka HAp została osadzona na całej powierzchni klamry (Rysunki 100 a-c). Wszystkie nierówności powierzchni zostały przykryte cząstkami hydroksyapatytu, jednak wciąż widoczne po osadzeniu defekty powierzchni implantu powstałe w procesie produkcji, świadczą o osadzeniu relatywnie cienkiej powłoki HAp.

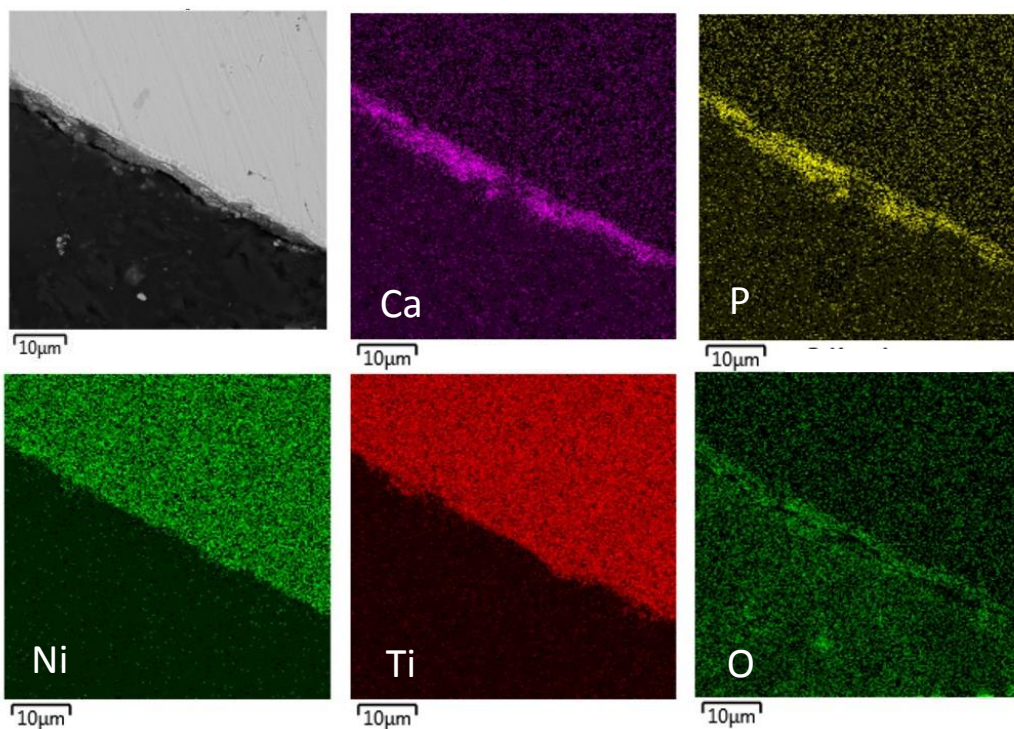
Kolejnym etapem było zastosowanie spiekania w celu zwiększenia adhezji osadzonej powłoki HAp do podłoża metalicznego implantu oraz konsolidacji cząstek ceramicznych. Na podstawie wcześniejszych doświadczeń próbki zostały poddane obróbce cieplnej w temperaturze 800 °C przez 2 godziny. Przykładowy obraz powierzchni klamry po spiekaniu przedstawiono na Rysunku 100 d. Wytworzone warstwy ściśle przylegały do powierzchni implantu, a ich grubość wynosiła około 1,6  $\mu\text{m}$  (Rysunek 101).



Rysunek 100. Obrazy mikroskopowe obserwowane dla badanej powierzchni klamry po osadzeniu powłoki HAp (a-c) oraz po obróbce cieplnej (d).



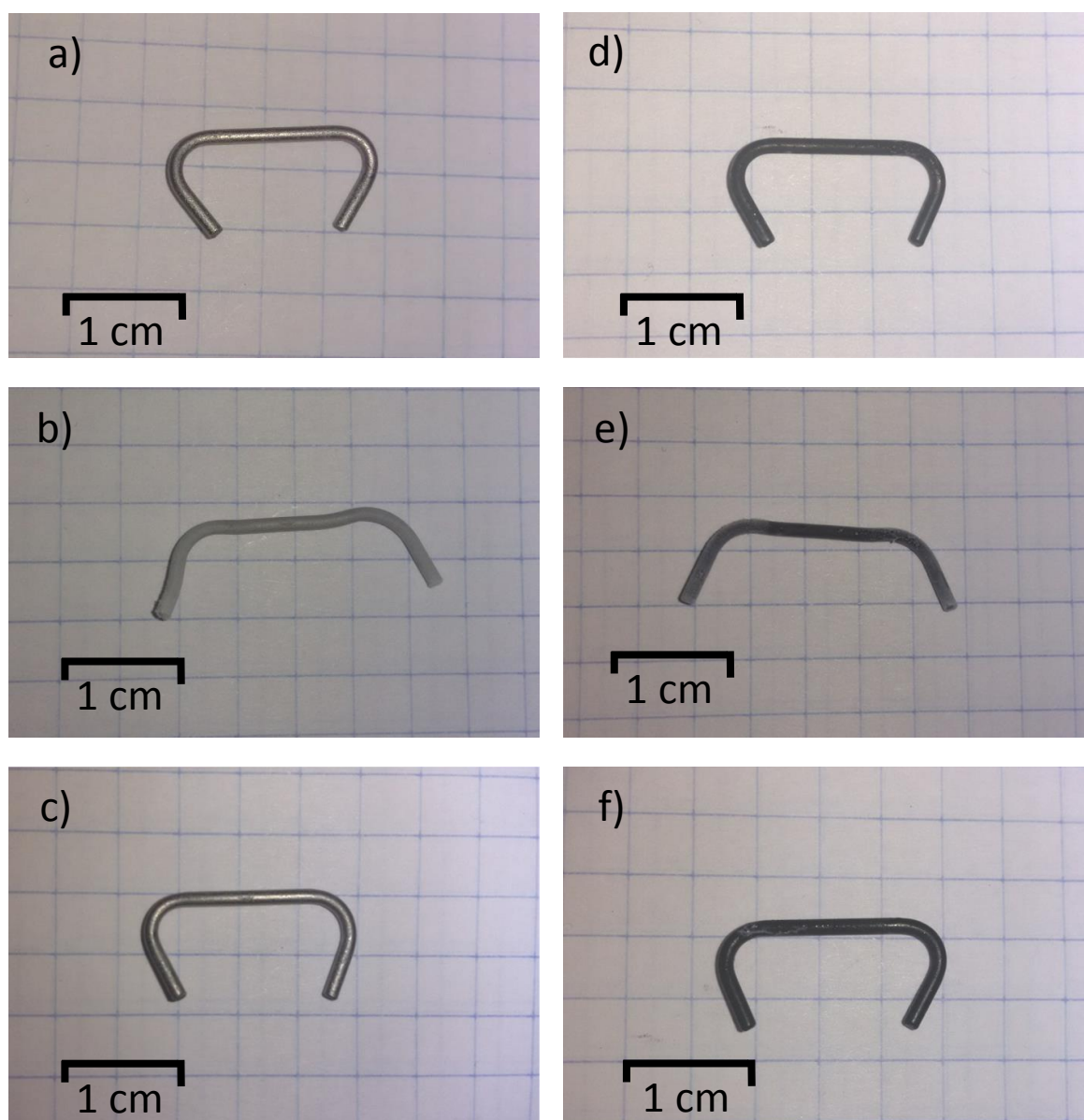
b)



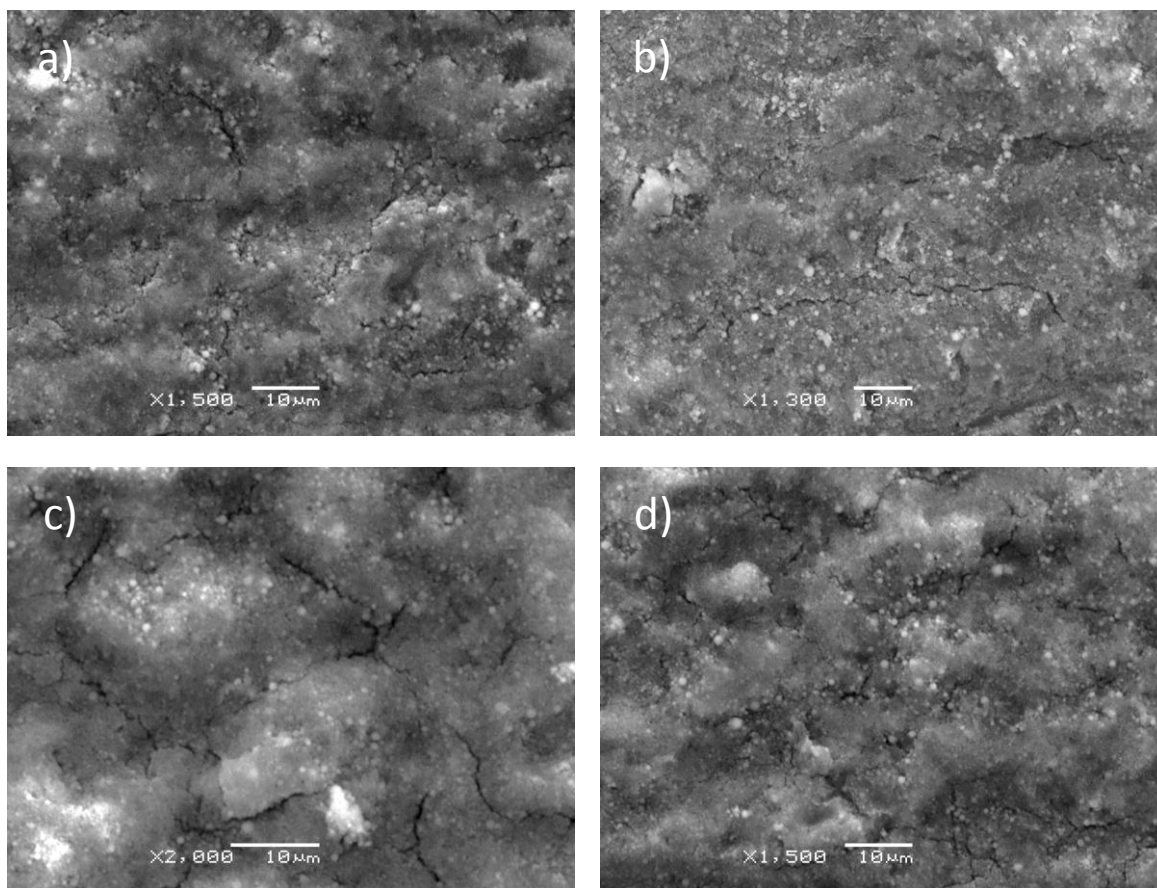
Rysunek 101. Obraz mikroskopowy obserwowany dla przekroju poprzecznego warstwy (a) oraz mapy rozkładu pierwiastków (b).

Zbadany został również wpływ zastosowanego spiekania na odzysk kształtu klamry (Rysunek 102). W tym celu klamry w stanie wyjściowym (Rysunek 102 a) i ze zmodyfikowaną powierzchnią (Rysunek 102 d) zostały zanurzone w ciekłym azocie, a następnie po zajęciu przemiany martenzytycznej odkształcone do postaci widocznej na Rysunkach 102 b i e. Po osiągnięciu

temperatury pokojowej, w wyniku wystąpienia odwracalnej przemiany martenzytycznej implanty powróciły do kształtu wyjściowego (Rysunki 102 c, f). W żadnym z przypadków nie nastąpiło odkształcenie plastyczne. Spiekanie nie wpłynęło na zmniejszenie efektu pamięci kształtu. Wytworzone warstwy zostały również scharakteryzowane pod kątem odporności na odkształcenie związane z indukowaniem efektu pamięci kształtu w implantach (Rysunek 103). Obserwacje mikroskopowe wykonane po jednym i dwóch cyklach odkształceń ujawniły, że zarówno w przypadku działania naprężeń rozciągających jak i ściskających nie doszło do delaminacji warstwy ani odrywania cząstek HAp od siebie.



Rysunek 102. Zdjęcia klamry przed (a-c) oraz po wytworzeniu powłoki HAp (d-f). Klamry przed odkształceniem (a, d), po odkształceniu (b, e) oraz po powrocie do pierwotnego kształtu (c, f).



Rysunek 103. Obrazy mikroskopowe obserwowane dla powierzchni klamry po I cyklu odkształcenia (a, b), po II cyklach (c, d). Powierzchnia poddana działaniu naprężeń rozciągających (a, c) i ściskających (b, d).

## 9. Dyskusja wyników

W celu poprawy biokompatybilności stopu NiTi wykazującego efekt pamięci kształtu powierzchnia materiału została zmodyfikowana poprzez wytworzenie biozgodnych wielofunkcyjnych warstw powierzchniowych. W pierwszej kolejności na powierzchni stopu NiTi występującego w fazie  $\beta$  w temperaturze pokojowej (Rysunki 15 i 16), została wytworzona amorficzna warstwa  $\text{TiO}_2$  poprzez pasywację w autoklawie parowym. Otrzymana tą metodą warstwa miała za zadanie podwyższenie odporności korozyjnej stopu i charakteryzowała się dużą jednorodnością na całej długości oraz grubością około 3,5 nm (Rysunek 24). Obecność ceramicznej międzywarstwy zbudowanej z tlenków tytanu na stopie tytanu może przyczynić się do poprawy przyczepności osadzanych w następnej kolejności ceramicznych warstw powierzchniowych opartych o fosforany wapnia [171].

Na spasywowanej powierzchni stopu NiTi zostały osadzone metodą elektroforezy (EPD, *electrophoretic deposition*) powłoki fosforanowe takie jak: hydroksyapatyt (HAp), ceramika whitlockitowa ( $\beta$ -TCP) oraz dwufazowa ceramika oparta o fosforany wapnia (BCP). Do nanoszenia powłok zostały sporządzone zawiesiny koloidalne krystalicznych proszków hydroksyapatytu (Rysunek 17) oraz  $\beta$ -TCP (Rysunek 20) w etanolu.

Metoda elektroforetycznego osadzania (EPD) stwarza możliwość kontrolowania grubości i jakości wytworzonych powłok poprzez: dobór odpowiedniego stężenia, wielkości i dyspersji cząstek ceramicznych w zawieszynie koloidalnej [13, 14, 94, 132, 140], dobór właściwości zawiesiny koloidalnej (takich jak potencjał Zeta [13, 14, 136, 137, 140] i przewodnictwo [13, 14, 136, 140, 141]), oraz poprzez sterowanie parametrami osadzania (przyłożone napięcie lub natężenie prądu oraz czas depozycji) [12-14, 132-144]. Właściwości zawiesiny zależą silnie od pH i decydują o tworzeniu stabilnego roztworu.

Użyte do przeprowadzania elektroforetycznego osadzania proszki hydroksyapatytu i ceramiki whitlockitowej znacząco różniły się wielkością oraz kształtem ziaren (Rysunki 19 i 22). Istotnym czynnikiem dla otrzymania cienkich i wolnych od pęknięć elektroforetycznie osadzonych powłok ma zastosowanie cząstek ceramicznych submikro i/lub nanometrycznych. Zgodnie z teorią DLVO (Deriaguin - Landau - Verwey - Overbeek), stabilność zawiesiny koloidalnej jest ściśle związana z potencjałem Zeta cząstek koloidalnych i wartością pH roztworu [13, 14, 136, 137, 140]. Cząstki rozmiarów nanometrycznych i submikrometrycznych mają szczególną tendencję do aglomeracji w roztworze, dlatego dla zawiesiny hydroksyapatytu zostały wykonane badania potencjału Zeta oraz wielkości cząstek w roztworach o różnym pH (Rysunki 26 i 27). Zgodnie z danymi literaturowymi, potencjał Zeta związany jest ze stabilnością zawiesiny oraz z mobilnością cząstek. Dostarcza również informacji o aglomeracji cząstek w zawieszynie, a wyższe wartości tego parametru oznaczają lepszą dyspersję [13, 14, 136, 137, 140]. Cząstki w zawieszynie powinny być rozproszone tak, aby mogły się

poruszać w kierunku elektrody niezależnie od siebie. Dzięki temu mogą oddzielnie się osadzać bez tworzenia aglomeratów, utrzymując możliwość przegrupowania pod działaniem pola elektrycznego [13, 14, 136-140]. Dlatego do elektroforetycznego osadzania powłok HAp została użyta stabilna zawiesina o  $\text{pH} \approx 5$ , w której potencjał Zeta osiągnął najwyższą wartość ( $44,0 \pm 2,2$  mV), a cząstki ceramiki posiadały najmniejszą wielkość (ok. 100 nm), a tym samym największą mobilność (Rysunki 26-29) [73]. Z kolei do kataforetycznego osadzania powłok ceramiki whitlockitowej została użyta zawiesina koloidalna o potencjale Zeta równym ( $33,5 \pm 1,4$ ) mV o dominującym rozmiarze cząstek ok. 550 nm (Rysunek 60). Zawiesina zastosowana do kataforezy powłok BCP miała pośrednie właściwości pomiędzy roztworem koloidalnym hydroksyapatytu, a TCP i charakteryzowała się potencjałem Zeta równym ( $40,0 \pm 1,3$ ) mV i dominującą wielkością cząstek ok. 300 nm (Rysunek 82). Rozmiar cząstek koloidalnych wpływa na stabilność zawiesiny oraz na ich mobilność. Elektroforetyczna mobilność cząstek HAp, TCP i BCP wynosiła odpowiednio: ( $0,97 \pm 0,01$ )  $\mu\text{m}\cdot\text{cm}/\text{V}\cdot\text{s}$ , ( $0,73 \pm 0,03$ )  $\mu\text{m}\cdot\text{cm} / \text{V}\cdot\text{s}$  i ( $0,87 \pm 0,03$ )  $\mu\text{m}\cdot\text{cm} / \text{V}\cdot\text{s}$ . Najniższą mobilność z zastosowanych cząstek w zawieszynie wykazywały cząstki TCP o największych rozmiarach. Niższe wartości tego parametru oznaczają także mniejszą szybkość osadzania cząstek [13, 14, 140], co jest związane z wolniejszym narastaniem grubości powłok. Niska mobilność może również sugerować zwiększenie szybkości aglomeracji cząstek w zawieszynie lub powstawanie większych aglomeratów [13, 14, 140], jednak badania przeprowadzone dla roztworu hydroksyapatytu potwierdziły jego dobrą dyspersję (Rysunek 29).

Na przewodnictwo zawiesiny koloidalnej wpływa rodzaj zastosowanego rozpuszczalnika, proszku ceramicznego oraz wartość przyłożonego napięcia i związana z tym gęstość prądu [13, 14, 136, 140, 141]. Zastosowanie 99,8 % etanolu jako rozpuszczalnika skutkowało otrzymaniem zawiesin o niskim przewodnictwie, wynoszącym dla roztworu HAp, ceramiki whitlockitowej i BCP odpowiednio: ( $7,93 \pm 0,14$ )  $\mu\text{S} / \text{cm}$ , ( $0,60 \pm 0,05$ )  $\mu\text{S} / \text{cm}$  i ( $0,75 \pm 0,05$ )  $\mu\text{S} / \text{cm}$ . Przewodnictwo zawiesiny wpływa na wydajność procesu - EPD jest bardziej wydajne w przypadku lepiej przewodzących zawiesin. Gdy przewodnictwo jest niskie, proces osadzania zachodzi wolno, co może skutkować otrzymaniem niejednorodnych powłok lub powłok o mniejszej grubości.

Kolejnym czynnikiem istotnie wpływającym na grubość i jakość otrzymanych powłok ceramicznych w procesie elektroforezy jest stężenie zawiesiny koloidalnej. W pracy zastosowano roztwory o niskim stężeniu wynoszącym 0,1 % wag. proszków. Gdy stężenie cząstek stałych w zawieszynie jest niskie, osadzają się one z szybkością proporcjonalną do ich indywidualnej elektroforetycznej mobilności i dają gładkie powierzchnie. Duża ilość frakcji stałej w roztworze natomiast powoduje, że cząstki nie osadzają się w równym tempie, a otrzymana powierzchnia jest chropowata. Gdy natomiast stężenie jest za niskie, obserwuje się powłoki o wysokiej chropowatości i znaczną aglomerację cząstek [13, 14, 94, 132, 140]. Zastosowanie wysokiego stężenia znacząco

wpływa na grubość otrzymanych powłok. Warstwy hydroksyapatytu, otrzymane przez autorów publikacji [66, 71] metodą EPD na powierzchni stopu NiTi z ok. 8 % wag. roztworu koloidalnego przy napięciu 60 V w czasie 120 s posiadały grubość ok. 120  $\mu\text{m}$ . Powłoki hydroksyapatytu otrzymane z 0,1 % roztworu przy wyższym napięciu 80 V w czasie 120 s były ok. 30 razy cieńsze niż w [66, 71] (Rysunek 36).

Również wraz z wydłużaniem czasu depozycji i wzrostem napięcia, zmianie ulega osadzona masa, a tym samym grubość powłok, stąd w pracy elektroforetyczne osadzanie przeprowadzono przy krótkich czasach depozycji od 20 s do 120 s i zróżnicowanych wartościach napięcia od 20 V do 500 V (Tabele 7, 11 i 16). Pomiary grubości osadzonych powłok HAp wykazały, że decydujący wpływ na ten parametr ma czas osadzania (Rysunek 36). Dwukrotnie wydłużenie czasu depozycji przy zastosowaniu takiego samego napięcia skutkowało większym wzrostem grubości niż w przypadku zastosowania takiego samego czasu depozycji i dla dwukrotnie wyższego napięcia. Tak np. powłoki HAp wytworzone przy napięciu 40V / 60s wykazywały grubość ok. 2,4  $\mu\text{m}$ , przy 80V / 60s ok. 2,6  $\mu\text{m}$ , natomiast powłoki osadzone przy 80V / 120s ok. 4,2  $\mu\text{m}$  [73]. Również w przypadku powłok ceramiki whitlockitowej zaobserwowano, że wydłużenie czasu depozycji przy niezmiennym napięciu miało większy wpływ na ilość osadzonych cząstek oraz uformowanych z nich aglomeratów niż zastosowanie wyższego napięcia przy stałym czasie osadzania (Rysunek 64) [68]. Badania potwierdziły również, że użycie większych cząstek w zawieszynie, tak jak to miało miejsce w przypadku ceramiki whitlockitowej, skutkowało powstawaniem niejednorodnych powłok, natomiast mniejsze cząstki (hydroksyapatyt) dały powłoki homogeniczne (Rysunki 33 i 34). Powłoki hydroksyapatytu osadzone przy wysokich napięciach (80 - 500 V) wykazywały także gęste upakowanie cząstek (Rysunki 33 d-f) [13, 14, 94, 132, 140]. Badania chropowatości powierzchni wytworzonych powłok (Rysunek 35) wykazały, że wraz ze wzrostem napięcia nastąpił wzrost parametrów chropowatości: Ra (średniej arytmetycznej rzędnych profilu) oraz Rz (największej wysokości profilu). Wyjątek stanowiła powłoka osadzona przy 500 V. Wykazano również, że zastosowanie takiego samego napięcia (80 V) i wydłużenie czasu depozycji z 60 s do 120 s skutkowało widocznym obniżeniem wartości ww. parametrów. W przypadku warstw BCP, cząstki ceramiki whitlockitowej wykazywały równomierne rozmieszczone w powłoce, a cząstki hydroksyapatytu były osadzone pomiędzy dużymi aglomeratami  $\beta$ -TCP oraz częściowo osadzone na ich powierzchni (Rysunek 84).

Wartość natężenia prądu wpływa na intensywność procesów wydzieleniowych zachodzących na elektrodach, które mogą mieć znaczący wpływ na jakość osadzonych powłok [13, 14, 136, 140, 141]. Podczas osadzania wraz ze wzrostem przyłożonego napięcia obserwowano liniowy wzrost rejestrowanego natężenia prądu. Natężenie prądu przy tym samym napięciu (80 V) osiągnęło najniższą wartość dla zawiesziny ceramiki whitlockitowej (89  $\mu\text{A}$ ) (Rysunek 61), następnie dla zawiesziny BCP (2,1 mA) (Rysunek 83), a najwyższą wartość dla hydroksyapatytu (2,5 mA)

(Rysunek 30). Wartości te są związane z przewodnictwem zastosowanych roztworów koloidalnych, które wynosiło najmniej dla zawiesiny  $\beta$ -TCP ( $0,60 \pm 0,05$ )  $\mu\text{S} / \text{cm}$ , dla BCP ( $0,75 \pm 0,05$ )  $\mu\text{S} / \text{cm}$ , a najwięcej dla HAp ( $7,93 \pm 0,14$ )  $\mu\text{S} / \text{cm}$ . Jedynie w przypadku powłok hydroksyapatytu otrzymanych przy napięciu 500 V zaobserwowano liczne pęknięcia (Rysunek 33f), które mogły być rezultatem zbyt intensywnych procesów wydzieleniowych zachodzących na katodzie związanych z zastosowaniem ekstremalnie wysokiego napięcia (500 V) i natężenia prądu (10 mA). Pęknięcia te mogły również powstać w wyniku generowania się naprężeń wewnętrznych podczas schnięcia grubych powłok.

Badania strukturalne, rentgenowskie i ramanowskie, wykazały, że proces elektroforezy w żadnym z przypadków nie doprowadził do zmian strukturalnych materiałów wyjściowych. Wytworzone powłoki składały się odpowiednio z hydroksyapatytu  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  oraz ceramiki whitlockitowej  $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  domieszkowanej śladowymi ilościami  $\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  (Rysunki 31, 62 i 85). Podłoże natomiast stanowiła faza  $\beta$  stopu NiTi. Nie stwierdzono obecności innych faz. Wyznaczone metodą Rietvelda wartości parametrów komórek elementarnych nie różniły się od materiałów wyjściowych (Tabela 20).

Tabela 20. Parametry komórek elementarnych wyznaczone metodą Rietvelda dla poszczególnych faz.

	NiTi	Hydroksyapatyt $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$	$\beta$ -TCP $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	$\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$
Materiały wyjściowe	$a_0 = 3,011(6) \text{ \AA}$	$a_0 = 9,416(5) \text{ \AA}$ $c_0 = 6,893(7) \text{ \AA}$	$a_0 = 10,422(2) \text{ \AA}$ $c_0 = 37,363(8) \text{ \AA}$	$a_0 = 6,687(3) \text{ \AA}$ $c_0 = 24,156(7) \text{ \AA}$
Powłoki HAp 40 V / 120 s	$a_0 = 3,014(9) \text{ \AA}$	$a_0 = 9,409(8) \text{ \AA}$ $c_0 = 6,890(1) \text{ \AA}$	-	-
Powłoki ceramiki whitlockitowej 20 V / 60 s	$a_0 = 3,013(4) \text{ \AA}$	-	$a_0 = 10,421(9) \text{ \AA}$ $c_0 = 37,366(2) \text{ \AA}$	$a_0 = 6,688(2) \text{ \AA}$ $c_0 = 24,152(9) \text{ \AA}$
Powłoki BCP 80 V / 60 s	$a_0 = 3,014(7) \text{ \AA}$	$a_0 = 9,415(1) \text{ \AA}$ $c_0 = 6,892(5) \text{ \AA}$	$a_0 = 10,427(7) \text{ \AA}$ $c_0 = 37,359(8) \text{ \AA}$	$a_0 = 6,689(8) \text{ \AA}$ $c_0 = 24,159(8) \text{ \AA}$

Nie zaobserwowano również różnic w położeniach oraz szerokościach półwkowych poszczególnych pasm ramanowskich charakterystycznych dla ceramiki hydroksyapatytowej oraz whitlockitowej (Rysunki 18, 21, 32 i 63).

W celu zwiększenia adhezji elektroforetycznie osadzonych powłok do metalicznego podłoża oraz w celu koalescencji cząstek ceramicznych niezbędne jest zastosowanie obróbki cieplnej [12-14, 136]. Zastosowanie zbyt wysokiej temperatury może skutkować pękaniem osadzonych powłok w wyniku skurczu i powstałych naprężeń. Osadzone powłoki hydroksyapatytu,  $\beta$ -TCP oraz BCP zostały poddane obróbce cieplnej w piecu próżniowym w zakresach temperatur od 400 °C do 1000°C w czasach 5 i 120 minut (Tabele 8 i 12). W przypadku warstw hydroksyapatytu zaobserwowano, że



zastosowanie temperatur spiekania powyżej 700 °C wpływa znacząco na zmianę morfologii wytworzonych warstw, podobnie jak wydłużenie czasu spiekania z 5 minut do 2 godzin (Rysunki 43 i 44), powodując koalescencję cząstek ceramicznych. Podobny efekt wystąpił dla warstw BCP spieczonych w 800 °C / 2 h (Rysunek 88). W tym przypadku badania ujawniły również obecność mikroporów. Dla warstw  $\beta$ -TCP widoczne zmiany morfologii powierzchni zostały zaobserwowane po obróbce cieplnej w 1000 °C / 2 h. Obszary pomiędzy aglomeratami ceramiki whitlockitowej zwiększyły chropowatość. Zaobserwowano również obecność wykrystalizowanych skupisk drobnych cząstek faz o zróżnicowanym składzie chemicznym (Rysunki 70 i 71). Podwyższenie temperatury obróbki cieplnej spowodowało liniowe zmiany wymiarów proszków ceramicznych oraz powstawanie naprężeń, jednak zarówno w przypadku proszku hydroksyapatytu jak i ceramiki whitlockitowej, skurcz w najwyższych zastosowanych temperaturach wynosił odpowiednio dla HAp w 800 °C - 0,06 % (Rysunek 38), a dla TCP w 1000 °C - 0,7 % (Rysunek 65). Korzystny wpływ zastosowanych warunków spiekania objawił się ciągłością powłok i brakiem pęknięć.

Chropowatość powierzchni odgrywa ważną rolę w zapewnieniu skutecznego kontaktu kości z implantem oraz proliferacji komórek. Nierówne i chropowate powierzchnie w porównaniu z gładkimi poprawiają adhezję komórek i tkanek, a tym samym przyczyniają się do szybszego gojenia [171-174]. Zastosowane warunki obróbki cieplnej skutkowały wzrostem chropowatości wytworzonych warstw w porównaniu z powłokami po osadzeniu i pasywowanym stopem (Rysunki 45, 46, 72 i 89). Spośród wytworzonych warstw najwyższymi wartościami parametrów chropowatości ( $R_a$ ,  $R_z$ ,  $R_t$ ) charakteryzowały się warstwy BCP 80 V / 60 s 800 °C / 2h, natomiast najniższymi warstwy hydroksyapatytowe 40 V / 120 s 800 °C / 2h.

Zastosowanie zbyt wysokiej temperatury obróbki cieplnej może doprowadzić do dekompozycji fosforanów budujących powłokę. W przypadku wszystkich wytworzonych warstw nie zaobserwowano obecności linii dyfrakcyjnych pochodzących od faz powstających w wyniku ich rozkładu (Rysunki 40, 68 i 86). Wyznaczone metodą Rietvela parametry komórek elementarnych dla HAp i TCP pozostały niezmiennie w porównaniu z materiałami wyjściowymi. W przypadku cząstek hydroksyapatytu w wyniku obróbki cieplnej doszło do częściowej dehydroksylacji spowodowanej utratą wody konstytucyjnej i przekształcenia części związku do oksyhydroksyapatytu (OHAp) lub/i oksyapatytu (OAp) z zachowaniem struktury HAp. Rezultatem dehydroksylacji było powstanie defektów strukturalnych [119-122], a następnie wbudowanie się grup węglanowych ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) w strukturę HAp, co skutkowało powstaniem śladowych ilości apatytów węglanowych (CHAp) (Rysunki 40, 42 i 87). Badania ramanowskie wykazały, że poza podstawieniami jonów  $\text{OH}^-$  przez anion ( $\text{CO}_3$ )<sup>2-</sup> (defekty typu A), nastąpiło również częściowe podstawienie grupy ( $\text{CO}_3$ )<sup>2-</sup> w miejsce jonu ( $\text{PO}_4$ )<sup>3-</sup> (defekty typu B) [160-162]. Reakcje chemiczne zachodzące w warstwach hydroksyapatytu oraz BCP podczas spiekania przedstawiają poniższe równania:

- 1)  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH} \rightarrow \text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}_{1-x}\text{O}_x\text{□}_x + x\text{H}_2\text{O}$ , gdzie □ oznacza wakanse [175, 176]
- 2)  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}\text{O}_x\text{□}_x + \text{C} \rightarrow \text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_{2-x-2y}\text{CO}_y$ , gdzie  $0 \leq y \leq 1$ ,  $0 \leq x \leq 2$  [120, 177]

Parametry komórki elementarnej wyznaczone metodą Rietvelda dla apatyty węglanowego (CHAp) różniły się od parametrów stechiometrycznego HAp (Tabela 9). Wzrost wartości parametru  $a_0$  oraz obniżenie  $c_0$  mogą sugerować powstanie większej ilości podstawień typu A w strukturze hydroksyapatytu od podstawień typu B [124, 177]. Wbudowanie jonów  $\text{CO}_3^{2-}$  w strukturę HAp powoduje obniżenie rozmiarów kryształitów oraz podwyższenie rozpuszczalności związku, czego efektem jest duża reaktywność apatytów mająca swe odzwierciedlenie w procesach resorpcji kości [120-122].

Badania rentgenowskie wykazały, że zastosowane warunki obróbki cieplnej spowodowały zmianę składu fazowego stopu NiTi. Dla niższych temperatur z przedziału 400 °C i 500 °C zaobserwowano w stopie NiTi w temperaturze pokojowej obecność fazy R (Rysunek 40). W przypadku wyższych temperatur do 800 °C, podłoże składało się głównie z fazy macierzystej o strukturze typu B2. Zastosowanie obróbki cieplnej, a przede wszystkim wolnego studzenia próbek, skutkowało częściowym jej rozkładem na fazę równowagową  $\text{Ti}_2\text{Ni}$ . W warstwie przypowierzchniowej podłoża zidentyfikowano również obecność fazy nierównowagowej  $\text{Ni}_4\text{Ti}_3$  (Rysunki 40, 41, 86). Zwiększenie temperatury obróbki cieplnej do 1000 °C oraz powolne chłodzenie próbek z warstwą ceramiki whitlockitowej doprowadziło do wydzielenia fazy równowagowej  $\text{Ni}_3\text{Ti}$  (Rysunek 68). Efektem próżniowego spiekania warstw TCP w wysokiej temperaturze było również powstanie tlenków tytanu tj.  $\text{TiO}$  oraz  $\text{TiO}_{0,325}$  (Rysunki 68 i 69).

Badania DSC potwierdziły, że dla wszystkich zmodyfikowanych podłoży występowała odwracalna przemiana martenzytyczna. Obróbka cieplna spowodowała zmianę sekwencji odwracalnej przemiany martenzytycznej z jednostopniowej ( $\text{B2} \rightarrow \text{B19}'$ ) (Rysunek 15) na dwustopniową ( $\text{B2} \rightarrow \text{R} \rightarrow \text{B19}'$ ) (Rysunki 48, 49, 73 i 90), co w przypadku zastosowań stopu na implanty medyczne jest korzystne z uwagi na zwiększony zakres temperaturowy przemiany oraz wydłużony czas powrotu implantu do zaprojektowanego kształtu. Zmiana sekwencji przemiany wynika z obecności wydzielen  $\text{Ni}_4\text{Ti}_3$  lub lokalnej niejednorodności składu chemicznego stopu NiTi spowodowanej obróbką cieplną, w trakcie której powstały wydzielenia fazy  $\text{Ti}_2\text{Ni}$  (Rysunki 40, 41, 68 i 86) oraz wcześniejszym wytworzeniem warstwy tlenków tytanu na powierzchni stopu. Z efektem tym również związane jest poszerzenie zakresu temperaturowego odwrotnej przemiany martenzytycznej [1-4, 17]. W stopach NiTi mających zastosowanie na implanty medyczne zjawisko pamięci kształtu powinny występować w temperaturach poniżej temperatury ciała pacjenta. Badania

wykazały, że po obróbce cieplnej przeprowadzonej w 400 i 500 °C, stop NiTi w temperaturze pokojowej występował w fazie R (Rysunek 48), co jest spójne z wynikami badań rentgenowskich (Rysunek 40). Dla temperatur poniżej 600 °C zakres przemiany ( $A_f - M_f$ ) oraz pętla histerezy ( $A_f - M_s$ ) miały dużo wyższe wartości. Dla temperatur powyżej 600 °C stop NiTi w temperaturze pokojowej występował w fazie B2 (Rysunki 49, 73 i 90). Wartości entalpii przemiany martenzytycznej były niższe w porównaniu ze stopem NiTi po przesycaniu (Tabele 5, 14 i 17), co było spowodowane obecnością faz nieulegającym przemianom martenzytycznej.

Warstwę wierzchnią stopów stosowanych na implanty medyczne powinna charakteryzować dobra adhezja do metalicznego podłoża. Dlatego powłoki ceramiczne osadzone metodą EPD na powierzchni metalicznych implantów są poddawane obróbce cieplnej w celu zwiększenia ich przyczepności, poprzez stworzenie wiązania chemicznego ceramika - metal [12-14, 132]. Wytworzenie poprzez pasywację w autoklawie parowym międzywarstwy zbudowanej z tlenków tytanu na stopie tytanu miało za zadanie poprawę adhezji osadzanych w następnej kolejności ceramicznych powłok opartych o fosforany wapnia [165, 179]. Badania ujawniły, że warstwy hydroksyapatytu spieczone w temperaturach poniżej 700 °C oraz w 700 °C i 800 °C w krótkim czasie (5 minut) wykazują bardzo słabą przyczepność do podłoża. W trakcie przeprowadzania pomiarów chropowatości przy użyciu profilometru wytworzone warstwy odrywały się od podłoża NiTi (Rysunek 46), co dyskwalifikuje je do zastosowań medycznych, ponieważ łatwo mogłyby ulec zniszczeniu już podczas samej procedury wszczepiania implantu. Podobne efekty uzyskano dla warstw ceramiki whitlockitowej spiekanych poniżej 1000 °C (Rysunek 72). Pomiar adhezji wykonane zgodnie z normą ASTM F1044-05 wykazały, że adhezja warstw HAp spieczonych w 700 °C / 2h do spasywowanego podłoża NiTi wynosiła  $(9,3 \pm 1,0)$  MPa, dla warstw HAp spieczonych w 800 °C / 2h  $(15,1 \pm 1,4)$  MPa, dla warstw TCP 1000 °C / 1h  $(12,9 \pm 0,9)$  MPa, a dla BCP  $(13,6 \pm 1,0)$  MPa. Najlepszą przyczepność wykazywały warstwy hydroksyapatytu poddane obróbce cieplnej w 800 °C / 2h. Warstwy HAp wytworzone przez autorów publikacji [63, 68] metodą elektroforezy na stopie NiTi i spieczone w 800°C / 2h wykazywały adhezję wynoszącą pomiędzy  $(7,6 \pm 4,3)$  a  $(18,1 \pm 3,2)$  MPa. Różnice wynikają z różnorodności porowatości i gęstości otrzymanych warstw oraz sposobu przygotowania powierzchni stopu NiTi. Biorąc pod uwagę warstwy o najlepszej adhezji ( $18,1 \pm 3,2$  MPa) i 18 % błąd pomiaru, można stwierdzić, że ich przyczepność była porównywalna do otrzymanych w niniejszej pracy warstw hydroksyapatytu spieczonych w 800°C / 2h. Adhezja tych warstw wynosząca  $(15,1 \pm 1,4)$  MPa stanowi 40 % wytrzymałości na ścinanie warstwy korowej kości wynoszącej 34 MPa i jest wystarczająca do zastosowań medycznych [180, 181].

Warstwy powierzchniowe wytworzone na stopach NiTi powinny również wykazywać zdolność do odkształceń w zakresie podążającym za zamianami kształtu podłoża wynikającymi z efektów pamięci kształtu. W przypadku grubych warstw istnieje większe ryzyko pęknięcia

i odpryskiwania w wyniku ich odkształcenia. Autorzy publikacji [63, 68] otrzymali warstwy hydroksyapatytu o grubości ok. 120  $\mu\text{m}$  i nie została zbadana ich odporność na odkształcenie. Warstwy HAp wytworzone w niniejszej pracy wykazywały grubość ok. 50 razy mniejszą niż w [63, 68] wynoszącą ok. 2,4  $\mu\text{m}$  (Rysunek 47) [73], a warstwy BCP ok. 5  $\mu\text{m}$  (Rysunek 64 f). Wytworzone warstwy HAp,  $\beta$ -TCP i BCP zostały poddane stopniowemu odkształceniu zbliżonemu do wartości odkształcenia sprężystego martenzytu równej ok. 3,2 % (Rysunek 51). Pierwsze pęknięcia warstwy HAp (700 °C / 2h) zaobserwowano przy odkształceniu 2,15 % (Rysunek 52), warstwy HAp (800 °C / 2h) przy 2,48 % (Rysunek 53), warstwy  $\beta$ -TCP (1000 °C / 2h) przy 1,79 % (Rysunek 75), a warstwy BCP (800 °C / 2h) przy 1,89 % (Rysunek 92). Wraz ze zwiększaniem odkształcenia następowała propagacja pęknięć, zwiększanie gęstości i wymiarów powstałych szczelin. W przypadku warstw ceramiki whitlockitowej pęknięciom uległa tylko cienka warstwa ceramiczna w okolicach aglomeratów, które pozostały nienaruszone (Rysunek 75). Nawet przy maksymalnym zastosowanym odkształceniu warstw HAp (dla 700 °C / 2h - 3,36 %, dla 800 °C / 2h - 3,53 %) i  $\beta$ -TCP (3,32 %) nie doszło do oderwania się warstwy od podłoża, łuszczenia, czy też odrywania się aglomeratów lub pojedynczych cząstek ceramicznych od siebie. Najniższe właściwości mechaniczne związane z odkształceniem charakteryzowały warstwę BCP. Przy maksymalnym odkształceniu wynoszącym 3,35 % zaobserwowano odrywanie się warstwy od podłoża szczególnie widoczne w okolicach cząstek ceramiki whitlockitowej (Rysunek 92).

Modyfikacja powierzchni implantów ma na celu ochronę materiału przed działaniem agresywnego środowiska płynów ustrojowych, zwiększenie odporności korozyjnej i ograniczenia związanego z korozją przenikania toksycznych jonów metali do tkanek okołowszczepowych. W tym celu w pierwszej kolejności na powierzchni stopu NiTi została wytworzona metodą autoklawizacji warstwa pasywowana podnosząca odporność korozyjną stopu [1, 7, 60, 182]. Następnie powierzchnia została zmodyfikowana warstwami CaP. Skłonność wytworzonych warstw do możliwych procesów korozyjnych została zbadana w roztworze Ringera w temperaturze 37 °C poprzez wyznaczenie wartości potencjału obwodu otwartego ( $E_{OC}$ ), a podstawowe wartości do oceny odporności korozyjnej uzyskano w wyniku badań metodą krzywych polaryzacji. Wartości gęstości prądu  $J_{kor}$  i potencjału korozyjnego  $E_{kor}$  pozwoliły na określenie stopnia odporności korozyjnej. Podobnie jak w przypadku pomiaru potencjału obwodu otwartego, wyższe wartości wskazują na lepszą odporność korozyjną. Wyniki otrzymane w obu badaniach były spójne i wykazały, że najlepszą odporność korozyjną wykazywała warstwa ceramiki whitlockitowej ( $E_{OC} = -0,030$  V,  $E_{kor} = -0,055$  V), następnie warstwa BCP ( $E_{OC} = -0,034$  V,  $E_{kor} = -0,079$  V), warstwa HAp 800 °C / 2h ( $E_{OC} = -0,081$  V,  $E_{kor} = -0,089$  V) i HAp 700 °C / 2h ( $E_{OC} = -0,131$  V,  $E_{kor} = -0,139$  V). Wykonane badania wykazały, że wszystkie wytworzone warstwy charakteryzują się wyższą odpornością korozyjną od niemodyfikowanego stopu NiTi ( $E_{OC} = -0,291$  V,  $E_{kor} = -0,288$  V [176]). Spośród warstw

hydroksyapatytu wytworzonych na stopie NiTi metodą EDP przez autorów publikacji [63, 68] najlepsze właściwości korozyjne wykazywały warstwy wytworzone przy 60V, jednak wyznaczony potencjał korozyjny wynoszący  $E_{kor} = -0,157 \text{ V}$  [68] osiągnął niższe wartości niż dla warstw otrzymanych w niniejszej pracy.

W kształtowaniu właściwości powierzchni implantów powinno się również uwzględnić zwilżalność, która jest istotna dla procesu osętoindukcji poprzedzającym osteointegrację i wpływa na absorpcję molekuł sprzyjających adhezji fibroblastów i/lub bakterii [183]. Powierzchnie hydrofilowe posiadają lepszą aktywność biologiczną w kontakcie z płynami ustrojowymi, a tym samym zapewniają lepszą osteointegrację [10, 105, 106]. Badania kąta zwilżania powierzchni poszczególnych warstw wykazały, że mają one charakter hydrofilowy zarówno po osadzeniu jak i po obróbce cieplnej (Rysunki 55, 77 i 94). Dla próbek po obróbce cieplnej zaobserwowano wzrost kąta przylegania ( $\Theta$ ), co świadczy o obniżeniu hydrofilowości. Najkorzystniejsze właściwości hydrofilowe wykazywały warstwy BCP 800 °C / 2h ( $\Theta = 24,7 \pm 0,3^\circ$ ), następnie HAp 700 °C / 2h ( $\Theta = 59,4 \pm 0,3^\circ$ ), HAp 800 °C / 2h ( $66,5 \pm 0,6^\circ$ ) i najmniejszą TCP ( $66,5 \pm 0,6^\circ$ ).

Uwzględniając kryterium przeżywalności komórek ludzkich fibroblastów linii NHDF, stwierdzono, że zmodyfikowane powierzchnie nie wykazywały efektu cytotoksycznego. Wyniki badań przeprowadzonych metodą MTS wykazały, że komórki w grupie kontrolnej zaczęły się intensywnie dzielić, osiągając po 72 godzinach poziom ok. 225 % w stosunku do ilości komórek po 24 godzinach od wysiania przyjętych za 100 %. Można zatem stwierdzić, że komórki wysiane w przedstawionych warunkach wykazywały prawidłową żywotność. Zaobserwowano, że na zmodyfikowanych warstwach podłożach aktywność enzymatyczna komórek została zahamowana wraz z upływem czasu hodowli i komórki nie dzieliły się tak intensywnie, jak w grupie kontrolnej. Spośród wytworzonych warstw najlepsze warunki dla wzrostu komórek wykazywała warstwa HAp 800 °C / 2h, a następnie 700 °C / 2h. W przypadku tych warstw aktywność enzymatyczna komórek została częściowo zahamowana po 48 godzinach (Rysunek 56). Zarówno na podłożu HAp spiekonym w 700 °C, jak i w 800 °C przez 2 godziny, do 48 godzin hodowli utrzymane było 100 % komórek w stosunku do grupy kontrolnej i dopiero po 72 godzinach zaobserwowano zahamowanie ich wzrostu odpowiednio do 60 i 80 % (Rysunek 57). Badania wykazały, że w przypadku warstw BCP przyrost ilości fibroblastów nastąpił dopiero po 48, a po 72 godzinach spadek do poziomu przybliżonego do uzyskanego po dobie inkubacji (Rysunek 95). Aktywność enzymatyczna komórek dla warstw BCP została częściowo zahamowana zarówno po 48 jak i po 72 godzinach (Rysunek 96). Podłoże zmodyfikowane warstwą ceramiki whitlockitowej wykazywało najgorsze warunki wzrostu dla komórek. W przypadku warstw  $\beta$ -TCP widoczny był spadek przyrostu ilości komórek po 48 godzinach hodowli, a następnie nieduży wzrost po 72 godzinach (Rysunek 78). Aktywność enzymatyczna komórek dla warstw  $\beta$ -TCP została zahamowana już po 48 godzinach (Rysunek 79).

Obserwacje mikroskopowe wysianych komórek, mające na celu znalezienie nieprawidłowych zmian w ich morfologii wykazały, że w przypadku wszystkich wytworzonych warstw komórki fibroblastów były w przeważającej większości prawidłowo rozpostarte, a ich morfologia nie wykazywała odstępstw od normy (Rysunki 58, 80 i 97). Wraz z wydłużeniem czasu inkubacji, komórki wykazywały wzrost, dobrą adhezję do podłoża oraz prawidłową morfologię, analogicznie jak w kontroli. Wszystkie wytworzone warstwy były biokompatybilne.

Podczas przeprowadzenia zabiegu operacyjnego związanego z wszczepianiem implantu do organizmu mogą zostać wprowadzone drobnoustroje powodujące miejscowe zakażenia o charakterze ropnym oraz zakażenia miejsca operowanego. Dlatego w kształtowaniu właściwości powierzchni implantów powinno się również uwzględnić ich odporność na rozwój drobnoustrojów. Długoterminowe badania mikrobiologiczne w warunkach *in vitro* wykazały, że wszystkie zmodyfikowane powierzchnie są odporne na zasiedlenie przez mikroorganizmy do 3 miesięcy inkubacji w roztworze bakteryjnym. Jednak wydłużenie okresu inkubacji do 6 miesięcy w przypadku warstw  $\beta$ -TCP skutkowało wytworzeniem na ich powierzchni biofilmu, a głównymi zidentyfikowanymi bakteriami były ziarniaki Gram (+) dodatnie *Staphylococcus epidermidis*, będące najczęstszą przyczyną zakażeń bakteryjnych człowieka. Warstwy HAp i BCP wykazywały odporność na kolonizację mikroorganizmów nawet po 6 miesiącach inkubacji (Rysunki 59, 81 i 98).

Reasumując uzyskane w pracy wyniki można stwierdzić, że najlepsze właściwości spośród wytworzonych warstw wykazywały warstwy hydroksyapatytowe, stąd też aplikacyjnym aspektem pracy było wytworzenie warstw hydroksyapatytowych na stosowanej w praktyce klamrze wykonanej ze stopu NiTi wykazującym efekt pamięci kształtu (Rysunek 99). Zastosowanie napięcia 60 V i czasu depozycji 30 s, a następnie przeprowadzenie obróbki cieplnej w temperaturze 800 °C w czasie 2 godzin skutkowało wytworzeniem na całej powierzchni klamry jednorodnej warstwy hydroksyapatytu o grubości około 1,6  $\mu$ m (Rysunki 100 i 101). Wytworzone warstwy wykazywały odporność na odkształcenie w zakresie odkształceń sprężystych implantu związanych z efektem pamięci kształtu, zarówno w przypadku miejsc, w których działały naprężenia rozciągające jak i ściskające (Rysunek 103).

## 10. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań zostały sformułowane następujące wnioski:

1. Wytworzone wielofunkcyjne warstwy złożone z tlenków tytanu i fosforanów wapnia poprawiają biokompatybilność stopu NiTi z jednoczesnym zachowaniem zjawiska pamięci kształtu.
2. Zastosowanie pasywacji w autoklawie parowym umożliwia wytworzenie na powierzchni stopu NiTi amorficznej warstwy tlenków tytanu o grubości ok. 3.5 nm.
3. Metoda elektroforetycznego osadzania (EPD) umożliwia wytworzenie biozgodnych, cienkich i homogenicznych pod względem morfologicznym i strukturalnym warstw fosforanowych na spasywowanym stopie NiTi.
4. Warstwy ceramiki whitlockitowej otrzymane na spasywowanym stopie NiTi metodą elektroforezy (EPD), a następnie poddane obróbce cieplnej w 1000 °C w czasie 2 godzin, wykazują najlepszą odporność korozyjną, jednakże nie są odporne na kolonizację mikroorganizmów.
5. Warstwy BCP otrzymane na spasywowanym stopie NiTi metodą elektroforezy (EPD), a następnie poddane obróbce cieplnej w 800 °C w czasie 2 godzin, wykazują najlepsze właściwości hydrofilowe, jednak ich słaba odporność na odkształcenie związane z indukowaniem efektów pamięci kształtu dyskwalifikuje je do zastosowań medycznych.
6. Warstwy HAp otrzymane na spasywowanym stopie NiTi metodą elektroforezy (EPD), a następnie poddane obróbce cieplnej w 800 °C w czasie 2 godzin, wykazują najlepszą adhezję, odporność na odkształcenie związane z indukowaniem efektu pamięci kształtu i najwyższą biozgodność czyniąc je potencjalnym materiałem do zastosowań w praktyce klinicznej.

## Literatura

- [1] H. Morawiec, Z. Lekston: *Implanty medyczne z pamięcią kształtu*. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice (2010).
- [2] Z. Bojarski, H. Morawiec: *Stopy z pamięcią kształtu*. PWN, Warszawa (1989).
- [3] T. Yoneyama, S. Miyazaki: *Shape Memory Alloys for Biomedical Applications*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge (2009).
- [4] H. Morawiec: *Stopy z pamięcią kształtu i ich zastosowanie. Podstawy termomechaniki materiałów z pamięcią kształtu. Współczesne trendy w mechanice materiałów. Tom 1*. PAN, Warszawa (1996).
- [5] M. Es-Souni, H. Fischer-Brandies, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381, (2005), 557-567.
- [6] S. Shabalovskaya, J. Anderegg, J. Van Humbeeck, *Acta Biomaterialia* 4, (2008), 447-467.
- [7] J. Lełątko, T. Goryczka: *Modyfikacja powierzchni stopów NiTi wykazujących pamięć kształtu*. Oficyna Wydawnicza WW, Katowice (2013).
- [8] S. V. Dorozhkin, *Materials* 2, (2009), 399-498.
- [9] S.V. Dorozhkin, *Progress in Biomaterials* (2012), 2-40.
- [10] J. Marciniak: *Biomateriały*. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice (2002).
- [11] A. Yu., B. I. Beletskii, *Inorg. Mater +*, 37 (2), (2001), 180-183.
- [12] A. R. Boccaccini, S. Keim, R. Ma, Y. Li, I. Zhitomirsky, *Journal of the Royal Society Interface* 7, (2010), S580-S613.
- [13] I. Zhitomirsky, *Advances in Colloid and Interface Science* 97, (2002), 279-317.
- [14] R. Boccaccinia, I. Zhitomirsky, *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* 6, (3), (2002), 251-260.
- [15] K. Momma, F. Izumi, *J. Appl. Crystallogr.*, 44,(2011), 1272-1276.
- [16] C.Y. Xie, L.C. Zhao, T.C. Lei, *Scr. Metall.* 23, (1989), 21-31.
- [17] D. Stróż: *Oddziaływanie zniekształceń sieciowych na przebieg przemiany martenzytycznej w stopach NiTi*, Wyd. Uniwersytetu Śląskiego, Katowice (2005).
- [18] M. Nishida, C.M. Wayman, T. Honma, *Metall. Trans.* 17A, (1986), 1505-1515.
- [19] <https://www.hindawi.com/journals/jm/2014/346328/fig2/>
- [20] J. Seo, Y. Ch. Kim, J. W. Hu, *Appl. Sci.* 5 (3), (1015), 187-208.
- [21] C. W. Müller, R. Pfeifer, K. Meier, S. Decker, J. Reifenrath, T. Gösling, V. Wesling, C. Krettek, C. Hurschler, M. Krämer, *Biomed Res Int.*, (2015), 652940.
- [22] R. Singh, N. B. Dahotre, *Journal of Material Science: Materials in Medicine* 18, (2007), 725-751.
- [23] L. Zhu, J. M. Fino, A. R. Pelton, *Proceeding of the International Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies, SMST* (2003).
- [24] S. A. Shabalovskaya, G. C. Rondelli, A. L. Undisz, J. W. Anderegg, T. D. Burleigh, M. E. Rettenmay, *Biomaterials* 30, (2009), 3662-3671.
- [25] M. Jurczyk, J. Jakubowicz: *Bionanomateriały*. Wydawnictwo Politechniki Poznańskiej. Poznań (2008).
- [26] C. L. Chu, R. M. Wang, T. Hu, L. H. Yin, C. Guo, C. Y. Chung, W. K. Yeung, Paul K. Ch, *Journal of Material Science: Materials in Medicine* 20, (2009), 223-228.
- [27] J. Krzak-Roś, D. Grygier, A. Baszczuk, R. Będziński, *Inżynieria Biomateriałów* 67-68, (2007), 35-37.
- [28] B. Thierry, Y. Merhi, C. Trepanier, L. Bilodcau, H. Yahia, M. Tabrizian, *Proceedings of the Int'l Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies SMST-(2000)*, 285-290.
- [29] S. A. Shabalovskaya, H. Tian, J. W. Anderegg, D. U. Schryvers, W. U. Carroll, J. V. Humbeeck, *Biomaterials* 30, (2009), 468-477.
- [30] Ch. Trepanier, R. Venugopalan, A. R. Pelton, *Shape Memory Implants* (2000), 35-45.
- [31] L. G. Machado, M. A. Savi, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 36, (2003), 683-691.
- [32] M. Brojan, D. Bombač, F. Kosel, T. Videnič, *RMZ - Materials and Geoenvironment*. 55 (2), (2008), 173-189.
- [33] A. Szold, *Surgical Endoscopy* 20, (2006), 1493-1496.
- [34] N. B. Morgan, *Materials Science and Engineering A* 378, (2004), 16-23.
- [35] Q. Li, Y. Zeng, X. Tang, *Australasian Physical and Engineering Science in Medicine* 33, (2010), 129-136.
- [36] Z. Lekston, T. Goryczka, H. Morawiec, *Inżynieria Biomateriałów* 109-111, (2011), 62-65.
- [37] Z. Lekston, M. Jędrusik - Pawłowska, J. Drugacz, T. Cieśliak, *Inżynieria Biomateriałów* 77-80, (2008), 54-57.



- [38] M. Jędrusik - Pawłowska, Z. Lekston, M. Kromka-Szydek, J. Drugacz, T. Cieślík, *Inżynieria Biomateriałów* 77-80, (2008), 70-72.
- [39] M. Jędrusik - Pawłowska, Z. Lekston, M. Kromka-Szydek, J. Drugacz, T. Cieślík, *Inżynieria Biomateriałów* 89-91, (2009), 79-82.
- [40] Z. Lekston, J. Drugacz, H. Morawiec, *Materials Science and Engineering A* 378, (2004), 537-541.
- [41] Z. Lekston, D. Stróż, H. Morawiec, *Inżynieria Biomateriałów* 67-68, (2007), 38-42.
- [42] H. Morawiec, Z. Lekston, P. Lampe, K. Kuśnierz, D. Zhavoronkov, *Inżynieria Biomateriałów* 77-80, (2008), 58-60.
- [43] T. Goryczka, J. Van Humbeeck, *Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering* 17, (2006), 1-2.
- [44] B. Lin, K. Gall, H. J. Maier, R. Waldron, *Acta Biomater.* 5(1), (2009), 257-67.
- [45] J. Wu, Q. Tianb, *Intermetallics*, 11 (8), (2003), 773-778.
- [46] E. Choi, T. Nam, Y. Chung, Y. Kim, S. Lee, *Nanoscale Res Lett.* 5, 7(1) (2013), 66.
- [47] X. M. He, L. J. Rong, *Scripta Materialia*, 51 (1), (2004), 7-11.
- [48] X. M. He, L. J. Rong, D. S. Yan, Y. Y. Li, *Intermetallics* 19, (2011), 217-220.
- [49] T. Duerig, A. Pelton, Ch. Trepanier, *SMST e-Elastic newsletter* (2011).
- [50] F. Sun, K. Sask, J. L. Brash, I. Zhitomirsky, *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 67, (2008), 132-139.
- [51] X. Liu, P. K. Chu, C. Din, *Mater. Sci. Eng.* 47, (2004), 49-121.
- [52] Liu J., Shi F., Yang D., *J. Mat. Sci. Technol.* 20 (5), (2004), 550-554.
- [53] V. Khalili, J. Khalil-Allafi, H. Maleki-Ghaleh, *International Journal of Engineering A: Basics* 26 (7), (2013), 707-712.
- [54] F. T Cheng, P. Shi, H. C. Man, *Surface and Coatings Technology*, 187 (1), (2004), 26-32.
- [55] F. T. Cheng, P. Shi, H. C. Man, *Scripta Materialia*, 51 (11), (2004), 1041-1045.
- [56] F. Tao, W. Xiao-Ming, W. Feng, L. Meng, D. Bing-Hui, J. Yuan, *Trans. Nonferrous Met. Soc. China* 22, (2012), 1661-1666.
- [57] W. Chrzanowski: *Engineering surface properties of nickel-titanium alloy for improved osteointegration*. Gliwice (2012), Monografia, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej
- [58] G. Wang, H. Zreiqat, *Materials* 3, (2010), 3994-4050.
- [59] J. Lełątko, Z. Lekston, T. Wierzchoń, T. Goryczka, *Materials Science Forum* 738-739, (2013), 344-347.
- [60] H. Morawiec, T. Goryczka, J. Lełątko, Z. Lekston, A. Winiarski, E. Rowiński, G. Stergioudis, *Mater. Sci. Forum* 636-637, (2010), 971-976.
- [61] J. Lełątko, M. Freitag, J. Rak, T. Wierzchoń, T. Goryczka, *Solid State Phenomena* 186, (2012), 259-262.
- [62] Y. Cheng, Y. F. Zheng, *Mater. Sci. Eng. A Struct. Mater.* 434, (2006), 99-104.
- [63] A. Kumar, D. Kaur, *Surface and Coatings Technology* 204 (6-7), (2009), 1132-1136.
- [64] A. L. Shao, Y. Cheng, Y. Zhou, M. Li, T. F. Xi, Y. F. Zheng, S. C. Wei, D. Y. Zhang, *Surface and Coatings Technology* 228, (2013), S257-S261.
- [65] C. C. Chang, S. K. Yen, *ICBME 2008, Proceedings* 23, (2009), 1459-1461.
- [66] H. C. Jiang, L. J. Rong, *Surface and Coatings Technology* 201 (3-4), (2006), 1017-1021.
- [67] H. Maleki-Ghaleh, J. Khalil-Allafi, V. Khalili, M. S. Shakeri, M. Javidi, *Materials and Corrosion* 65 (7), (2014), 725-732.
- [68] K. Dudek, B. Szaraniec, J. Lełątko, T. Goryczka, *Solid State Phenom.* 203-204, (2013), 90-93.
- [69] K. Dudek, M. Plawecki, M. Dulski, J. Kubacki, *Mater. Let.* 157, (2015), 295-298.
- [70] H. C. Man, *Surface and Coatings Technology* 173, (2003), 229-234.
- [71] J. Katic, M. Metikos-Hukovic, R. Babic, *J. Appl. Electrochem.* 44, (2014), 87-96.
- [72] H. Maleki-Ghaleh, V. Khalili, J. Khalil-Allafi, M. Javidi, *Surface and Coatings Technology* 208, (2012), 57-63.
- [73] K. Dudek, T. Goryczka, *Composites Theory and Practice* 15 (4), (2015), 192-195.
- [74] K. Dudek, T. Goryczka, *Ceramics International* 42, (2016), 19133-19141.
- [75] I. G. Grigorov, O. P. Shepatkovsky, V. L. Kozhevnikov N. A. Sabirzyanov, S. V. Borisov, E. A. Bogdanova, A. G. Shirokova,, *American Journal of Materials Science and Application* 3 (1), (2015), 1-5.
- [76] P. Kowalski, B. Łosiewicz, T. Goryczka, *Solid State Phenomena* 203-204, (2013), 236-239.
- [77] Y. J. Chun: *Thin film NiTi endovascular stent grafts for cerebral and aortic aneurysms*. ProQuest, Los Angeles (2009).
- [78] Y. Cheng, W. Cai, H. T. Li, Y. F. Zheng, *J Mater Sci* 41, (2006), 4961-4964.

- [79] S. Zein El Abedin, U. Welz-Biermann, F. Endres, *Electrochemistry Communications* 7 (9), (2005), 941-946.
- [80] Y. Zhou, M. Li, Y. Cheng, Y. F. Zheng, T. F. Xi, S. C. Wei, *Surface and Coatings Technology* 228 (1), (2013), S2-S6.
- [81] V. Branzoi, M. Iordoc, F. Branzoi, R. Vasilescu-Mirea, G. Sbarcea, *Surf. Interface Anal.* 42, (2010), 502-509.
- [82] D. Krause, B. Thomas, Ch. Leinenbach, D. Eifler, E. J. Minay, A. R. Boccaccini, *Surface and Coatings Technology* 200, (2006), 4835 - 4845.
- [83] T. Goryczka, B. Szaraniec, *Journal of Materials Engineering and Performance* 23, (2014), 2682-2686.
- [84] P. Kowalski, B. Łosiewicz, T. Goryczka, *Archives of Metallurgy and Materials.* 60 (1), 171-176.
- [85] A. R. Boccaccini, C. Peters, J. A. Roether, D. Eifler, S. K. Misra, E. J. Minay, *J. Mater. Sci.* 41, (2006), 8152-8159.
- [86] M. M. Mazumder, S. Trigwell, M. K. Mazumder, J.L. Mehta, *J Biomater Sci Polym Ed.* 14 (12), (2003), 1351-62.
- [87] L. A. Bravo, A. G. de Cabañes, J. M. Manero, E. Rúperez, F. J. Gil, *J Mater Sci Mater Med.* 25 (2), (2014), 555-60.
- [88] H. Maleki-Ghaleh, J. Khalil-Allafi, E. Aghaie, M. H. Siadati, *Surf. Interface Anal.* 47, (2015), 99-104.
- [89] V. Ääritalo, V. Meretoja, T. Tirri, S. Areva, T. Jämsä, J. Tuukkanen, A. Rosling, T. Närhi, *Materials Sciences and Applications* 1, (2010), 118-126.
- [90] S. Yang, W. Xing, H.C. Man, *Applied Surface Science* 255, (2009), 9889-9892.
- [91] K. Dudek, T. Goryczka, T. Wierzchoń, J. Lełątko, *Archives of Metallurgy and Materials* 60 (3), (2015), 1777-1782.
- [92] D. Qiu, L. Yang, Y. Yin, A. Wang, *Surface and Coatings Technology* 205, (2011), 3280-3284.
- [93] D. Qiu, A. Wang, Y. Yin, *Applied Surface Science*, 257 (5), (2010), 1774-1778.
- [94] M. Mirak, M. Alizadeh, E. Salahinejad, R. Amini, *Surface and Interface Analysis*, 47 (2), (2015), 176-183.
- [95] P. Dong, W. Hao, Y. Xia, G. Da, T. Wang, *J. Mater. Sci. Technol.* 26 (11), (2010), 1027-1031.
- [96] P. Li, X. Zhang, R. Xu, W. Wang, X. Liu, K. W.K. Yeung, P.K. Chu, *Surface and Coatings Technology* 232, (2013), 370-375.
- [97] Sun F., Sask K., Brash J. L., Zhitomirsky I., *Colloid Surface B* 67, (2008), 132-139.
- [98] F. Sun; X. Pang, I. Zhitomirsky, *Journal of Materials Processing Technology*, 209 (3), (2009), 1597-1606.
- [99] P. C. Banerjee, T. Sun, J. H.W. Wong, M. Wang, *Materials Science Forum*, 618-619, (2009), 319-323.
- [100] S. Zhang: *Hydroxyapatite coatings for biomedical applications*, Taylor and Francis Group (2013).
- [101] V. Khalili, J. Khalil-Allafi, H. Maleki-Ghaleh, A. Paulsen, J. Frenzel, G. Eggeler, *Journal of Materials Engineering and Performance* 25 (2), (2016), 390-400.
- [102] Khalili V., Khalil-Allafi J., Sengstock C., Motemani Y., Paulsen A., Frenzel J., Eggeler G., Köller M., *J Mech Behav Biomed Mater.* 59, (2016), 337-52.
- [103] V. Khalili, J. Khalil-Allafi, H. Maleki-Ghaleh, *Surface Engineering* 30 (3), (2014), 212-217.
- [104] R. Han, B. Tian, Y. H. Wang, F. Chen, Y. X. Tong, L. Li, Y. F. Zheng, *Materials Science Forum* 813, (2015), 243-249.
- [105] C. Yan, Y. F. Zheng, *IEEE Trans. Plasma Sci.* 34 (2006), 1105-1108.
- [106] R. A. Ahmed, S. A. Fadl-allah, N. El-Bagoury, S. M.F. Gad El-Rab, *Appl. Surf. Science* 292, (2014), 390-399.
- [107] Y. Zheng, D. Liu, X. Liu, L. Li, *Biomed. Mater.* 3 (4), (2008), 44-103.
- [108] C. L. Chu, F. D. Yu, P. H. Lin, L. H. Yin, Y. P. Pu, P. K. Chu, *Surface Engineering* 30 (11), (2014), 860-865.
- [109] J. Jakubowicz: *Elektrochemicznie modyfikowana powierzchnia bionanomateriałów tytanowych*. Wydawnictwo Politechniki Poznańskiej, Poznań (2012).
- [110] Z. Błażewicz, L. Stoch: *Biomateriały. Biocybernetyka i inżynieria biomedyczna. Tom 4. Akademicka Oficyna Wydawnicza Exit*, (2000).
- [111] S. V. Dorozhkin, *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 55, (2015), 272-326.
- [112] R. Z. LeGeros, *Chem. Rev.* 108, (2008), 4742-4753.
- [113] J.W. Vehof, P.H Spauwen, J.A. Jansen, *Biomaterials* 21 (2000) 2003-2009.
- [114] A. Sobczak-Kupiec, Z. Wzorek, *Czasopismo Techniczne Politechniki Krakowskiej 1-Ch*, (2010), 309-322.
- [115] L. Medvecký, R. Stulajterová, L. Parilák, J. Trpčevská, J. Durisin, S. M. Barinov, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects* 281, (2006), 221-229.

- [116] A. Yasukawa, M. Kidokoro, K. Kandori, T. Ishikawa, *Journal of Colloid and Interface Science* 191, (1997), 407-415.
- [117] A. H. Rajabi-Zamani, A. Behnamghader, A. Kazemzadeh, *Materials Science and Engineering C*, 28, (2008), 1326-1329.
- [118] C. Shu, W. Yanwei, L. Hong, P. Zheng, Y. Kangde, *Ceramics International* 31, (2005), 135-138.
- [119] E. Garskaite, K. A. Gross, S. W. Yang, T. Chung-Kuang Yang, J. Ch. Yang, A. Kareiva, *Cryst. Eng. Comm.* 16, (2014), 3950-3959.
- [120] R. P. Shellis, R. M. Wilson, *Journal of Colloid and Interface Science* 278, (2004), 325-332.
- [121] W. L. Suchanek, K. Byrappa, P. Shuk, R. E. Riman, V. F. Janas, K. S. Ten Huisen, *Biomaterials* 25, (2004), 4647-4657.
- [122] E. Landi, A. Tampieri, M. Mattioli-Belmonte, G. Celotti, M. Sandri, A. Gigante, P. Fava, G. Biagini, *Journal of the European Ceramic Society* 26, (2006), 2593-2601.
- [123] Ch. J. Liao, F. H. Lin, K. S. Chen, J. S. Sun, *Biomaterials* 20, (1999), 1807-1813.
- [124] M. A. Sofronia, R. Baies, E. M. Anghel, C. A. Marinescu, S. Tanasescu, *Materials Science and Engineering C* 43, (2014), 153-163.
- [125] B. Locardi, U. Pazzaglia, C. Gabbi, B. Profilo, *Biomaterials* 14, (1993), 437-441.
- [126] J. Cihlar, A. Buchal, M. Trunec, *Journal of Materials Science* 34, (1999), 6121- 6131.
- [127] B. Surowska: *Biomateriały metalowe oraz połączenia metal - ceramika w zastosowaniach stomatologicznych*. Wydawnictwo uczelniane Politechniki Lubelskiej, Lublin (2009).
- [128] R. A. Horowitz, Z. Mazor, Ch. Foitzik, H. Prasad, M. Rohrer, A. Palti, *Titanium*, (2009), 2-11.
- [129] A. Zima, Z. Paszkiewicz, A. Ślósarczyk, *Materiały ceramiczne / Ceramics Materials/* 62 (1), 2010, 51-55.
- [130] M. Lind, S. Overgaard, C. Bunge, K. Soballe, *Biomaterials* 20, (1999), 803—808.
- [131] A. Ogose, T. Hotta, H. Hatano, H. Kawashima, K. Tokunaga, N. Endo, H. Umezumi, *Wiley Period.*(2002),601-604.
- [132] S. E. Lobo, L. T. Arinze, *Materials*. 3(2), (2010), 815-26.
- [133] R. Z. Le Geros, S. Lin, R. Rohanzadeh, D. Mijares, J. P. Le Geros, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* (3), (2003), 201-209.
- [134] A. Ślósarczyk, J. Piekarczyk, *Ceramics International* 25, (1999), 561-565.
- [135] R. França, T. D. Samani, G. Bayade, L. Yahia, E. Sacher, *J. Colloid Interface Sci.* 420 (2014), 182-188.
- [136] L. Besra, M. Liu, *Progress in Materials Science* 52 (1), (2007), 1-61.
- [137] R. Ferrari, R. Moreno, *Journal of the European Ceramic Society* 30, (2010), 1069-1078.
- [138] E. Zhang, K. Yang, *Trans. Nonferrous Met. Soc.* 15 (5), (2005), 957-964.
- [139] J. Ma, C. H. Liang, L. B. Kong, C. Wang, *Journal of Material Science: Materials in Medicine* 14, (2003), 797-801.
- [140] B. Plesingerova, G. Sueik, M. Maryska, D. Horkavcova, *Ceramics – Silikáty* 51 (1), (2007), 15-23.
- [141] L. Stappers, L. Zhang, O. Van der Biest, J. Fransaer, *Journal of Colloid and Interface Science* 328, (2008), 436-446.
- [142] X. Meng, T. Kwon, Y. Yang, J. L. Ong, K. Kim, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* (2005), 373-377.
- [143] P. Mondragon-Cortez, G. Vargas-Gutierrez, *Materials Letters* 58, (2004), 1336-1339.
- [144] X. F. Xiao, R. F. Liu, *Materials Letters* 60, (2006), 2627-2632.
- [145] H. Mayr, M. Ordnung, G. Ziegler, *J. Mater. Sci.* 41, (2006), 8138-8143.
- [146] C. Wang, J. Ma, W. Cheng, R. Zhang, *J. Mater. Lett.* 57, (2002), 99- 105.
- [147] C. Wang, J. Ma, I. Zhitomirsky, I. Gal-Or, *J. Mater. Sci. - Mater. M.* 8, (1997), 213-219.
- [148] M. Wei, A.J. Ruys, B.K. Milthorpe, C.C. Sorrell, J.H. Evans, *J. Sol-Gel Sci. Techn.* 21, (2001), 39-48.
- [149] T. Goryczka, B. Szaraniec, K. Dudek, Ł. Zych, M. Freitag, J. Lełątko, *Inżynieria Biomateriałów* 106-108, (2011), 124-128.
- [150] T. Goryczka, K. Dudek, *Acta Physica Polonica A* 130 (4), (2016), 1053-1055.
- [151] T. Goryczka, K. Dudek, B. Szaraniec, J. Lełątko, *Inżynieria Materiałowa* 34 (4), (2013), 265-268.
- [152] S. Koutsopoulos, *J. Biomed. Mater. Res.* 62, (2002), 600-612.
- [153] V. A. Sinyayev, E. S. Shustikova, D. Griggs, and D. V. Dorofeev, *Glass Physics and Chemistry* 31 (5), (2005), 671-675.

- [154] R. L. Frost, A. López, R. Scholz, Y. Xi, C. Lana, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 128, (2014), 408-412.
- [155] G. R. Sauer, W. B. Zunic, J. R. Durig, R. E. Wuthier, *Calcif. Tissue Int.* 54 (5), (1994), 414-420.
- [156] J. C. Elliot: *Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates*. Amsterdam, Elsevier (1994).
- [157] P. N. de Aza, F. Guitian, C. Santos, S. de Aza, R. Cusco and L. Artus, *Chem. Mater.* 9, (1997), 916-922.
- [158] R. Cusco, F. Guitian, S. de Aza, L. Artus, *J. Eur. Ceram. Soc.* 18, (1998), 1301-1305.
- [159] R. Filmon, N. Retailleau-Gaborit, G. Brossard, F. Grizon-Pascaretti, M. F. Basle, D. Chappard, *Image Anal. Stereol.* 28, (2009), 103-112.
- [160] H. Baradari, Ch. Damia, M. Dutreih-Colas, E. Champion, D. Chulia, M. Viana, *Sci. Technol. Adv. Mater.* 12, (2011), 055008.
- [161] H. Dai, X. Wang, Y. Han, X. Jiang, S. Li, *J. Mater. Sci. Technol.*, 27 (5), (2011), 431-436.
- [162] P. N. de Aza, F. Guitian, C. Santos, S. de Aza, R. Cusco, L. Artus, *Chem. Mater.* 9, (1997), 912-915.
- [163] T. Goryczka, K. Dudek, *Powder Diffraction*, (2017), (in press, DOI: 10.1017/S0885715617000239).
- [164] L. Berzina-Cimdina, N. Borodajenko : *Research of Calcium Phosphates Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy in Infrared Spectroscopy - Materials Science, Engineering and Technology*. Eds. Theophile Theophanides, InTechOpen Access Publisher (2012).
- [165] J. C. Merry, I. R. Gibson, S. M. Best, W. Bonfield, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 9, (1998), 779-783.
- [166] M. E. Fleet, X. Liu, *J. Solid State Chem.* 177, (2004), 3174-3182.
- [167] I. S. Neira, Y. V. Kolen'ko, O. I. Lebedev, G. Van Tendeloo, H. S. Gupta, F. Guitián, M. Yoshimura, *Cryst. Growth Des.* 9, (2008), 466-474.
- [168] Dorozhkin S.V., *Biomatter* 1(2), (2011), 121-164.
- [169] C. L. Chu, C. Y. Chung, P. K. Chu, *Mater. Sci. Eng. A* 417, (2006), 104-109.
- [170] H. Rath, S. Anand, M. Mohapatra, P. Dash, P. V. Satyam, T. Som, U. P. Singh, N. C. Mishra, *Indian J. Phys.* 83 (4), (2009), 559-565.
- [171] O. Albayrak, O. El-Atwani, S. Altintas, *Surface & Coatings Technology* 202, (2008), 2482-2487.
- [172] A. B. Jr. Novaes, S. L. de Souza, R. R. de Barros, K. K. Pereira, G. Iezzi, A. Piattelli, *Brazilian Dental Journal* 21 (6), (2010), 471-481.
- [173] J. He, W. Zhou, X. Zhou, *J. Mater. Sci. - Mater. M.* 19 (11), (2008), 3465-3472.
- [174] R. Wang, Y.X. Hu, , *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 67A (1), (2003), 270.
- [175] P. E. Wang, T. K. Chaki, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 4, (1993), 150-158.
- [176] J. C. Trombe, G. Montel, *J. Inorg. Nucl. Chem.* 40, (1977), 15-21.
- [177] T. Leventouri, *Biomaterials* 27, (2006), 3339 - 3342.
- [178] T. Goryczka, H., Morawiec, *J. Phys. IV France* 112, (2003), 693-696.
- [179] P. C. Rath, L. Besra, B. P. Singh, S. Bhattacharjee, *Ceramics International* 38, (2012), 3209-3216.
- [180] H. An. Yuehuei, R. A. Draughn: *Mechanical Testing of Bone and the Bone-Implant Interface* (1999) CRC Press.
- [181] M. Wei, A. J. Ruys, M.V. Swain, S.H. Kim, B.K. Milthorpe, C.C. Sorrell, *J. Mater. Sci. - Mater. M.* 10, (1999), 401-409.
- [182] B. Łosiewicz, Z. Lekston, M. Freitag, T. Wierzchoń, J. Lełątko, *Biomateriałów* 109-111, (2011), 15-17.
- [183] T. Albrektsson, C. Johansson, *Eur. Spine. J.* 10, (2001), S96-S101.

## Spis rysunków

Rysunek 1. Komórka elementarna faz: B2 (a) oraz B19' (b) .....	10
Rysunek 2. Układ równowagowy Ni-Ti .....	11
Rysunek 3. Schemat przebiegu oraz zamiany struktury występujące podczas jednokierunkowego efektu pamięci kształtu .....	12
Rysunek 4. Schemat przebiegu dwukierunkowego efektu pamięci kształtu .....	12
Rysunek 5. Schemat przebiegu oraz zamiany struktury występujące podczas zjawiska nadsprężystości .....	13
Rysunek 6. Zależność temperatury $M_s$ od składu chemicznego stopu NiTi .....	13
Rysunek 7. Zależność $T_R$ od stężenia niklu .....	14
Rysunek 8. Krzywe umocnienia dla różnych materiałów .....	16
Rysunek 9. Komórka elementarna hydroksyapatytu. ....	21
Rysunek 10. Komórka elementarna $\beta$ -TCP. ....	24
Rysunek 11. Obraz HRTEM obserwowany na przekroju warstwy otrzymanej na podłożu NiTi po 30 minutach pasywacji w autoklawie parowym w temperaturze 134 °C .....	25
Rysunek 12. Schemat metody osadzania kateforetycznego. ....	26
Rysunek 13. Dyfraktogram rentgenowski stopu NiTi w stanie wyjściowym zarejestrowany w temperaturze pokojowej. ....	37
Rysunek 14. Termogram zarejestrowany dla stopu NiTi w stanie wyjściowym. ....	38
Rysunek 15. Termogram zarejestrowany dla stopu NiTi po przesycaaniu. ....	39
Rysunek 16. Dyfraktogram rentgenowski z dopasowaniem Rietvelda dla przesyconego stopu NiTi w temperaturze pokojowej .....	39
Rysunek 17. Dyfraktogram rentgenowski z dopasowaniem Rietvelda dla proszku hydroksyapatytu .....	41
Rysunek 18. Widmo ramanowskie proszku hydroksyapatytu .....	41
Rysunek 19. Obraz mikroskopowy obserwowany dla proszku hydroksyapatytu .....	42
Rysunek 20. Dyfraktogram rentgenowski z dopasowaniem Rietvelda .....	43
Rysunek 21. Widmo ramanowskie ceramiki whitlockitowej .....	44
Rysunek 22. Obraz mikroskopowy obserwowany dla proszku ceramiki whitlockitowej. ....	44
Rysunek 23. Krzywa uzyskana metodą reflektometrii dla warstwy tlenkowej na podłożu NiTi wytworzonej metodą autoklawizacji w temperaturze 134 °C w czasie 30 minut. ....	45
Rysunek 24. Obraz HRTEM obserwowany dla warstwy wytworzonej na powierzchni stopu NiTi metodą autoklawizacji w temperaturze 134 °C w czasie 30 minut. ....	46
Rysunek 25. Widmo Ramana dla warstwy wytworzonej na powierzchni stopu NiTi metodą autoklawizacji w temperaturze 134 °C w czasie 30 minut .....	46
Rysunek 26. Zależność potencjału Zeta zawiesiny HAp / etanol od pH .....	48
Rysunek 27. Zależność wielkości cząstek HAp od pH zawiesiny .....	48
Rysunek 28. Zależność mobilności cząstek HAp od pH zawiesiny .....	49
Rysunek 29. Rozkład wielkości cząstek dla zawiesiny HAp / etanol o pH $\approx$ 5 .....	49
Rysunek 30. Charakterystyka prądowo-napięciowa wyznaczona podczas osadzania elektroforetycznego dla powłok hydroksyapatytpowych .....	50
Rysunek 31. Dyfraktogramy rentgenowskie zarejestrowane dla powłoki HAp .....	52
Rysunek 32. Widmo ramanowskie warstwy HAp po osadzeniu na stopie NiTi (40V / 120s). ....	53
Rysunek 33. Obrazy mikroskopowe powierzchni powłok HAp .....	54
Rysunek 34. Obrazy 3D powierzchni 15 $\mu$ m x 15 $\mu$ m (AFM) powłok HAp .....	55
Rysunek 35. Parametry chropowatości osadzonych powłok HAp wyznaczone przy użyciu AFM .....	56
Rysunek 36. Grubość wytworzonych powłok w zależności od zastosowanych parametrów osadzania .....	56
Rysunek 37. Obraz mikroskopowy obserwowany dla przekroju poprzecznego powłoki HAp .....	57
Rysunek 38. Zależność wymiarów liniowych proszku HAp od zmian temperatury. ....	58
Rysunek 39. Krzywe DTA / TGA / EGA dla proszku HAp. ....	59
Rysunek 40. Dyfraktogramy rentgenowskie zarejestrowane dla warstw HAp po obróbce cieplnej .....	61

Rysunek 41. Obraz TEM obserwowany dla podłoża NiTi po obróbce cieplnej w 800°C przez 2h. ....	61
Rysunek 42. Widmo Ramana warstw HAp po spiekaniu w 800 °C / 2h. ....	62
Rysunek 43. Obrazy mikroskopowe powierzchni obserwowane dla warstw HAp (40V / 120s) po spiekaniu ...	64
Rysunek 44. Obrazy 3D powierzchni 15 μm x 15 μm (AFM) warstw HAp po spiekaniu .....	65
Rysunek 45. Parametry chropowatości warstw HAp wyznaczone przy użyciu AFM .....	65
Rysunek 46. Parametry chropowatości warstw HAp wyznaczone przy użyciu profilometru. ....	65
Rysunek 47. Obraz mikroskopowy obserwowany dla przekroju poprzecznego warstwy HAp 40V / 120s spieczonej w 800 °C / 2h (a) oraz mapy rozkładu pierwiastków (b) . ....	66
Rysunek 48. Zmiany temperatur charakterystycznych odwracalnej przemiany martenzytycznej w zależności od zastosowanej temperatury obróbki cieplnej. ....	68
Rysunek 49. Termogram zmierzony dla próbki spieczonej w 800 °C / 2h .....	69
Rysunek 50. Obraz mikroskopowy powierzchni próbek po pomiarach adhezji. ....	70
Rysunek 51. Zależność siły F od odkształcenia ε związanego z efektem pamięci kształtu . ....	70
Rysunek 52. Obrazy mikroskopowe powierzchni warstwy HAp 700 °C / 2h po odkształceniu. ....	72
Rysunek 53. Obrazy mikroskopowe powierzchni warstwy HAp 800 °C / 2h po odkształceniu. ....	72
Rysunek 54. Potencjał obwodu otwartego w funkcji czasu (a) i krzywa polaryzacji anodowej (b) dla warstwy HAp w roztworze Ringera w temperaturze 37 °C. ....	73
Rysunek 55. Obraz kropli wody na powierzchni warstwy HAp .....	74
Rysunek 56. Przeżywalność komórek na warstwach HAp. ....	75
Rysunek 57. Przeżywalność komórek na warstwach HAp. ....	76
Rysunek 58. Obrazy mikroskopowe fibroblastów linii NHDF po 24, 48 i 72 godzinach inkubacji dla grupy kontrolnej i warstwy HAp . ....	76
Rysunek 59. Obrazy mikroskopowe warstw HAp po inkubacji w roztworze bakteryjnym. ....	77
Rysunek 60. Rozkład wielkości cząstek dla zawiesiny β-TCP / etanol .....	78
Rysunek 61. Charakterystyka prądowo-napięciowa wyznaczona podczas osadzania elektroforetycznego dla powłok ceramiki whitlockitowej. ....	79
Rysunek 62. Dyfraktogramy rentgenowskie zarejestrowane dla powłoki ceramiki whitlockitowej .....	81
Rysunek 63. Mapy integracyjne oraz widmo Ramana wykonane dla warstwy ceramiki whitlockitowej. ....	82
Rysunek 64. Obrazy mikroskopowe powierzchni próbek po osadzeniu ceramiki whitlockitowej .....	83
Rysunek 65. Zależność wymiarów liniowych proszku ceramiki whitlockitowej od zmian temperatury. ....	84
Rysunek 66. Krzywe DTA / TGA / EAG dla proszku ceramiki whitlockitowej. ....	85
Rysunek 67. Diagram fazowy P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> - CaO . ....	85
Rysunek 68. Dyfraktogram rentgenowski dla warstwy ceramiki whitlockitowej po spiekaniu .....	87
Rysunek 69. Widmo Ramana wykonane dla warstwy ceramiki whitlockitowej po spiekaniu. ....	87
Rysunek 70. Obrazy mikroskopowe powierzchni warstw ceramiki whitlockitowej po spiekaniu. ....	89
Rysunek 71. Obraz mikroskopowy z zaznaczonymi punktami analizy chemicznej (a) oraz mapy rozkładu pierwiastków (b). ....	91
Rysunek 72. Parametry chropowatości warstw ceramiki whitlockitowej .....	92
Rysunek 73. Termogram zmierzony dla próbki spieczonej w 1000 °C / 2h. ....	93
Rysunek 74. Obraz mikroskopowy obserwowany dla powierzchni próbki spieczonej w 1000 °C / 2h po pomiarach adhezji. ....	94
Rysunek 75. Obrazy mikroskopowe obserwowane dla powierzchni warstwy ceramiki whitlockitowej spieczonej w 1000°C / 2h po odkształceniu. ....	95
Rysunek 76. Potencjał obwodu otwartego w funkcji czasu i krzywa polaryzacji anodowej dla warstwy β-TCP w roztworze Ringera w temperaturze 37 °C. ....	96
Rysunek 77. Obraz kropli wody na powierzchni powłoki β-TCP. ....	97
Rysunek 78. Przeżywalność komórek na warstwie ceramiki whitlockitowej. ....	98
Rysunek 79. Przeżywalność komórek na warstwie ceramiki whitlockitowej. ....	98
Rysunek 80. Obrazy mikroskopowe fibroblastów linii NHDF po 24, 48 i 72 godzinach inkubacji dla grupy kontrolnej i warstwy ceramiki whitlockitowej. ....	99

Rysunek 81. Obrazy mikroskopowe obserwowane dla powierzchni warstwy ceramiki whitlockitowej po inkubacji w roztworze bakteryjnym.....	100
Rysunek 82. Rozkład wielkości cząstek dla zawiesiny koloidalnej BCP w etanolu.....	101
Rysunek 83. Charakterystyka prądowo-napięciowa wyznaczona podczas osadzania elektroforetycznego dla powłok BCP. ....	102
Rysunek 84. Obrazy mikroskopowe obserwowane dla powierzchni powłok BCP po osadzeniu .....	104
Rysunek 85. Dyfraktogram rentgenowski zarejestrowany dla powłoki BCP osadzonej na stopie NiTi .....	105
Rysunek 86. Dyfraktogram rentgenowski zarejestrowany dla warstwy BCP po obróbce cieplnej .....	107
Rysunek 87. Analiza klastrowa i widma Ramana warstwy BCP po spiekaniu.....	108
Rysunek 88. Obrazy mikroskopowe obserwowane dla powierzchni warstw BCP po obróbce cieplnej.....	109
Rysunek 89. Parametry chropowatości warstw BCP wyznaczone przy użyciu profilometru. ....	110
Rysunek 90. Termogram zmierzony dla próbki spieczonej w 800 °C / 2h. ....	111
Rysunek 91. Obraz mikroskopowy powierzchni obserwowany dla próbki BCP po obróbce cieplnej .....	112
Rysunek 92. Obrazy mikroskopowe obserwowane dla powierzchni warstwy BCP po odkształceniu.....	113
Rysunek 93. Potencjał obwodu otwartego w funkcji czasu i krzywa polaryzacji anodowej dla warstwy BCP w roztworze Ringera w temperaturze 37 °C.....	114
Rysunek 94. Obraz kropli wody na powierzchni powłoki BCP .....	114
Rysunek 95. Przeżywalność komórek na warstwie BCP. ....	115
Rysunek 96. Przeżywalność komórek na warstwie BCP. ....	116
Rysunek 97. Obrazy mikroskopowe fibroblastów linii NHDF po 24, 48 i 72 h inkubacji dla grupy kontrolnej i warstwy BCP. ....	117
Rysunek 98. Obraz mikroskopowy obserwowany dla warstwy BCP po inkubacji w roztworze bakteryjnym .....	117
Rysunek 99. Klamra wykonana ze stopu NiTi oraz obrazy mikroskopowe obserwowane dla powierzchni klamry .....	119
Rysunek 100. Obrazy mikroskopowe obserwowane dla badanej powierzchni klamry po osadzeniu powłoki HAp oraz po obróbce cieplnej.....	120
Rysunek 101. Obraz mikroskopowy obserwowany dla przekroju poprzecznego warstwy (a) oraz mapy rozkładu pierwiastków (b). ....	121
Rysunek 102. Zdjęcia klamry przed odkształceniem, po odkształceniu oraz po powrocie do pierwotnego kształtu .....	122
Rysunek 103. Obrazy mikroskopowe obserwowane dla powierzchni klamry po I i II cyklach odkształcenia ..	123

## Spis tabel

Tabela 1. Związki układu CaO-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> o znaczeniu dla medycyny .....	20
Tabela 2. Związki układu CaO-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -H <sub>2</sub> O o znaczeniu dla medycyny .....	20
Tabela 3. Możliwości podstawień jonowych w strukturze hydroksyapatytu .....	22
Tabela 4. Parametry charakterystyczne przemian fazowych określone dla stopu NiTi w stanie wyjściowym. .	38
Tabela 5. Parametry charakterystyczne przemian fazowych określone dla stopu NiTi w stanie wyjściowym po przesycaaniu .....	39
Tabela 6. Parametry uzyskane na podstawie krzywej reflektometrycznej dla warstwy wytworzonej na powierzchni stopu NiTi metodą autoklawizacji w temperaturze 134 °C w czasie 30 minut. ....	45
Tabela 7. Parametry osadzania powłok hydroksyapatytowych metodą EPD.....	50
Tabela 8. Parametry obróbki cieplnej powłok HAp .....	59
Tabela 9. Parametry komórek elementarnych wyznaczone metodą Rietvelda dla poszczególnych faz próbki spieczonej w 800°C / 2h.....	61
Tabela 10. Parametry odporności korozyjnej wyznaczone w badaniach potencjału obwodu otwartego i anodowych krzywych polaryzacji w roztworze Ringera w temp. 37 °C dla warstw HAp .....	73
Tabela 11. Parametry osadzania powłok β-TCP metodą EPD.....	79
Tabela 12. Parametry spiekania powłok β-TCP oraz zmiany rozszerzalności cieplnej proszku. ....	86
Tabela 13. Wynik analizy składu chemicznego w % at. z wybranych punktów pomiarowych warstwy ceramiki whitlockitowej po spiekaniu w 1000 °C / 2h.....	91
Tabela 14. Charakterystyczne parametry przemian fazowych w stopie NiTi z warstwą ceramiki whitlockitowej po spiekaniu w 1000 °C / 2h. ....	93
Tabela 15. Parametry odporności korozyjnej wyznaczone w badaniach potencjału obwodu otwartego i anodowych krzywych polaryzacji w roztworze Ringera w temp. 37 °C dla warstwy β-TCP	96
Tabela 16. Parametry osadzania powłok BCP metodą EPD.....	102
Tabela 17. Parametry charakterystyczne przemian fazowych wyznaczone dla stopu NiTi z warstwą BCP 80V / 60s po spiekaniu w 800 °C / 2h.....	111
Tabela 18. Parametry odporności korozyjnej wyznaczone w badaniach potencjału obwodu otwartego i anodowych krzywych polaryzacji w roztworze Ringera w temp. 3 7°C dla warstwy BCP	114
Tabela 19. Porównanie właściwości wytworzonych warstw.....	118
Tabela 20. Parametry komórek elementarnych wyznaczone metodą Rietvelda dla poszczególnych faz. ....	127