

Studium struktury a mechanických vlastností nanostrukturních biokompatibilních povlaků na Ti a Ti slitinách

Ing. Zuzana Říhová

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Vladimír Starý, CSc.

Abstrakt

Práce se zabývá studiem stability biokompatibilních nanostrukturních povlaků a posouzením změn kontaktního úhlu, povrchové energie. V první etapě byla měřena změna kontaktních úhlů povlaků TiO_2 před a po sterilizaci. V další etapě byla sledována časová změna kontaktních úhlů povlaků TiO_2 různých prostředích.

Klíčová slova

TiO_2 , kontaktní úhel, povrchová energie, sterilizace

1. Úvod

1.1 Vlastnosti povlaků

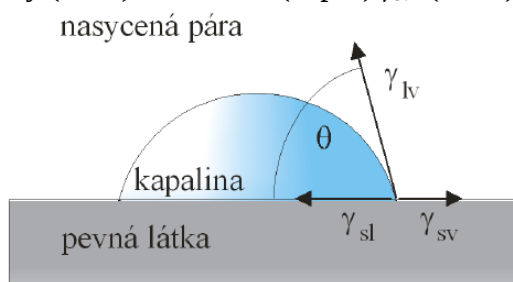
Jedním z velice využívaných biomateriálů v lékařství (ortopedie, stomatologie) je titan a jeho slitiny (např.: Ti6Al4V). Mají velkou korozní odolnost, dobrou biokompatibilitu a výhodné mechanické vlastnosti. Je známa důležitost fyzikálně-chemických a strukturálních vlastností povrchu materiálu implantátu, a proto vedle volby vhodného materiálu je nutné myslet na správnou strukturu povrchu, jeho mechanické zpevnění (zvýšení únavové pevnosti) a jeho povrchovou úpravu (anodická oxidace, magnetronové naprašování, plazmové sprayování, iontové nitridace, bioaktivní keramické nástríky apod.).

Slitina Ti6Al4V kombinuje výbornou biokompatibilitu s vynikajícími biomechanickými vlastnostmi. Má však také určité nevýhody, například uvolňování některých kovových iontů ze slitiny, které způsobují lokální podráždění tkáně obklopující implantát nebo nižší odolnost proti otěru [1]. Tyto nevýhody mohou být redukovány elektrochemickou metodou elektrolytické oxidace titanu tzv. anodizací.

2. Povrchová energie

2.1 Povrchová energie rozhraní

Každá látka je ohraničena určitým rozhraním - další látkou. Na tomto styku - rozhraní působí mezimolekulové síly obou prostředí. Například povrchové napětí kapaliny musíme chápat jako mezipovrchové napětí mezi kapalinou a vzduchem respektive párou. Když máme kapku kapaliny na pevné látce ve styku se vzduchem, tak na rozhraní pevné látky (solid) a kapaliny (liquid) máme povrchové napětí γ_{sl} a na rozhraní kapaliny (liquid) a vzduchu (vapor) je γ_{lv} a na rozhraní pevné látky (solid) a vzduchu (vapor) γ_{sv} , (obr.1).



Obr.1 Povrchové napětí – energie na rozhraních

Povrchové napětí je síla působící v povrchové vrstvě na jednotku délky kolmo k rozhraní podél styčné plochy. Pokud nedochází působením povrchových napětí ke změnám tvaru kapky, jsou síly v rovnováze a platí Youngova rovnice [2]:

$$\gamma_{lv} \cos \theta = \gamma_{sv} - \gamma_{sl} \quad (1)$$

Z toho dostáváme podmínku pro kontaktní úhel θ , který určuje tvar kapky:

$$\cos \theta = \frac{\gamma_{sv} - \gamma_{sl}}{\gamma_{lv}}. \quad (2)$$

V případě, kdy je kontaktní úhel θ roven 0° , kapka je úplně roztáhnuta po povrchu. Pokud je θ v intervalu $0^\circ < \theta < 90^\circ$ nazýváme povrch smáčivý, u vody hydrofilní. Pokud je v intervalu $90^\circ < \theta < 180^\circ$ nazýváme povrch nesmáčivý, u vody hydrofobní. Pokud $\theta = 180^\circ$, je povrch úplně nesmáčivý. Lze to vysvětlit jako vzájemnou konkurenci sil sbalujících kapku $\gamma_{lv} + \gamma_{sl}$ a sil roztahujících kapku γ_{sv} . Z energetického hlediska to můžeme chápat ne jenom jako součet sil působících na jednotku délky, ale jako součet energií v jednotce povrchu. Vychází se z obecného principu, že každá soustava se snaží dospět do stavu s co nejmenší energií.

Je-li $\gamma_{lv} \cos \theta < \gamma_{sv} - \gamma_{sl}$ nastává rozprostírání kapky a tedy snižování energie na jednotku povrchu. Obecně jsou povrchy s velkou povrchovou energií hydrofilní a povrchy s malou povrchovou energií hydrofobní.

2.2 Popis zařízení pro měření kontaktních úhlů

Zařízení na kterém byly měřeny kontaktní úhly se nazývá See systém (obr.3). Tento systém umožňuje nasnímat i časový vývoj kapky s volitelnou rychlostí (počet snímků/čas), což může být velmi užitečné v případě smáčivých povrchů. V těchto případech lze studovat nejenom povrchovou energii materiálu, ale rovněž charakterizovat jeho smáčivé vlastnosti.

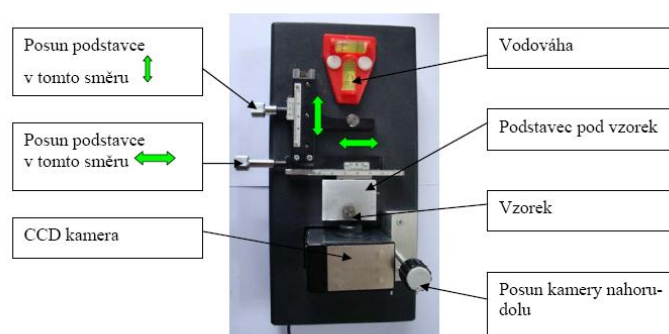
Pomocí See Softwaru lze různými způsoby nafitovat povrch nasnímané kapky např. metodou nejmenších čtverců a tak stanovit kontaktní úhel s podložkou. Je tak vyloučen subjektivní vliv pozorovatele na stanovení kontaktního úhlu.



Obr.2 Kompletní SEE systém

Systém umožňuje vyhodnotit povrchovou energii na základě měření s několika kapalinami. Pro každou kapalinu lze zvlášť určit chybu měření a lze zvolit libovolnou kombinaci kapalin pro zvolený model. Systém nabízí databázi povrchových energií a jednotlivých komponent povrchové energie kapalin, kterou lze samozřejmě kdykoliv doplnit novými údaji.

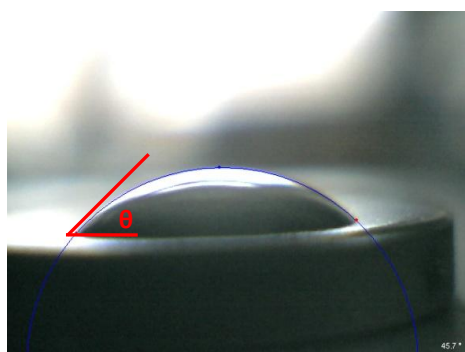
SEE systém se skládá ze CCD kamery (obr.2), umístěné na podstavci propojené přes USB port s počítačem, na kterém běží SEE software. Pomocí SEE softwaru se zpracovávají a vyhodnocují kamerou zaznamenané fotografie.



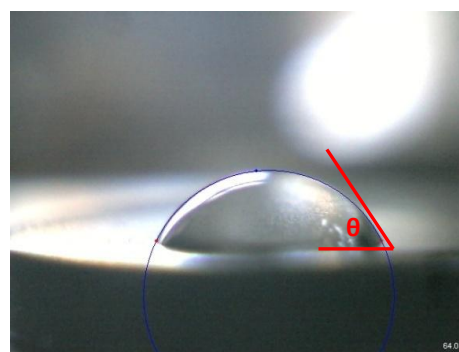
Obr.3 Složení SEE systému

2.3 Průběh měření

Jako kapaliny pro testování byly zvoleny voda a etylenglykol. Vzorek byl umístěn před kameru a na povrch kápnuta mikropipetou kapka testovací kapaliny o velikosti 2 μl . Obraz byl zaostřen posunem vzorku. Při měření na tomto zařízení se musí dodržovat stále stejná velikost kapky. V ideálním případě by měla mít kapka tvar části povrchu koule. Při pohledu ze strany potom tvar části kružnice, která je pomocí SEE softwaru fitována na nafocené fotografii. Kružnice je plně určena třemi body, z toho dva jsou body dotyku kapky s povrchem a třetí je libovolný bod rozhraní kapky a vzduchu na fotografii (obr.4). V případě, že fitovaná kružnice neodpovídá povrchu kapky, proložení se opakuje, dokud povrchu kapky neodpovídá (obr.4). Z fitované kružnice se pomocí derivace spočítá tečna v místě dotyku kapky s povrchem. Tečna pak svírá s povrchem vzorku kontaktní úhel. Na základě kontaktních úhlů se vypočítá povrchová energie podle různých modelů. V našem případě byl k výpočtu použit model Owens - Wendt. Vrstvy byly testovány nanášením 3 kapek z obou kapalin. Viskozita a povrchová napětí použitých kapalin a její složky viz. tabulka 1. Čištění vzorků vyjmutých z fyziologického roztoku probíhalo opláchnutím vzorků v destilované vodě a osušením na vzduchu. Tímto způsobem byly vždy po měřeních očištěny všechny vzorky.



Kapka etylenglykolu



Kapka vody

Obr.4 Kapka fitována kružnicí a kontaktní úhel mezi tečnou a povrchem

Tab.1 Povrchová napětí různých testovacích kapalin

Testovací tekutina	γ^{TOT} [mJ/m ²]	γ^{TOT} [mJ/m ²]	γ^{TOT} [mJ/m ²]	γ^{TOT} [mJ/m ²]	γ^{TOT} [mJ/m ²]	η [Pa.s]
Voda	72,8	21,8	51,0	25,5	25,5	0,010
Glycerol	64,0	34,0	30,0	3,92	57,4	14,90
Ethylen glykol	48,0	29,0	19,0	1,92	47,0	0,199
Chloroform	27,15	27,15	0	3,8	0	0,00473
α -Bromnaftalén	44,4	43,4	≈ 0	0	0	0,0489
Ethanol	22,4	18,8	$\approx 2,6$	$\approx 0,019$	≈ 68	0,01074
Methanol	22,5	18,2	4,3	$\approx 0,06$	≈ 77	0,00544
Toluen	28,5	28,5	0	0	2,3	0,00604
Hexan	18,4	18,4	0	0	0	0,00326

3. Povlakování TiO₂

3.1 Anodická oxidace

Průběh anodické oxidace (anodizace) můžeme popsat jako uměle napodobování přirozeného oxidačního procesu. Titan a jeho slitiny si spontánně vytváří na povrchu tenkou oxidační vrstvu. Tato tenká vrstva TiO₂ (přibližně 10 nm tlustá) se vytváří na povrchu při kontaktu se vzduchem nebo vodou a způsobuje odolnost vůči korozi.

Princip anodické oxidace je jednoduchý: Anodická oxidace probíhá ve vhodném elektrolytu přiložením elektrického napětí na systém anoda – katoda. Anoda je elektroda na kladném potenciálu, na níž se oxidová vrstva (kyslík). Vytvořený kyslík je velmi reaktivní a reaguje proto okamžitě s každou vhodnou kovovou anodou a vytváří oxid kovu. Takto vzniklý oxidový film je pevně spojený s povrchem titanové anody. Protože tento film vede proud omezeně, tok elektřiny se postupně zpomaluje a posléze ukončuje, když je dosaženo určité tloušťky vrstvy. Přitom platí: čím vyšší je vytvořené napětí, tím je tlustější vrstva. Aplikovatelný okruh napětí leží teoreticky mezi 3 a 180 V, přičemž se v průmyslu používá jen napětí do 30V.

V závislosti na parametrech lázně a řízením průběhu můžeme dosáhnout různých typů anodizace s unikátními materiálovými vlastnostmi a povrchovou strukturou. Jako příklad procesu uvedeme čtyři typy pasivačních (anodizovaných) vrstev na Ti, z nichž některé jsou využitelné pro bioaplikace:

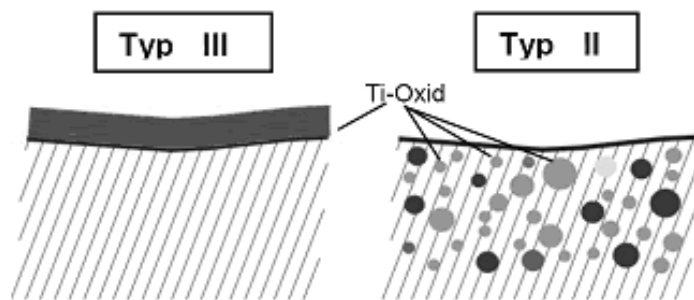
- TYP I – po vytvoření má dvě pasivační vrstvy, vrchní měkkou narůstající nad původní rozměr o 2,5 – 7,5 μm a druhou pevně zakotvenou v původním povrchu o tloušťce 0,25 – 0,75 μm
- TYP II – vznikne z typu I odstraněním horní měkké vrstvy; na povrchu zůstává pouze vysoce ořezavý šedý pasivní povrch o tloušťce 0,25 – 0,75 μm
- TYP III – pasivní povrch o tloušťce 60 – 2000nm; změnou tloušťky můžeme měnit barvu povrchu materiálu
- TYP IV – je kombinací typu II a použití speciálního přípravku s obsahem PTFE pro snížení tření a zvýšení životnosti při vyšší zátěži.

Anodizace TYP II a III

Anodizace typu III poskytuje zejména barevný efekt, který je pouze vlastností povrchu a nemá významný vliv na funkční vlastnosti implantátu. Povrch vytvořený pomocí tohoto typu je však citlivý k mechanickému poškození jako odštipnutí či odlupování.

V kontrastu s tímto anodizací typu II. neposkytuje žádné viditelné efekty. Úpravou parametrů elektrolytické lázně po přivedení napětí dojde k nárůstu teploty a částečnému roztavení povrchové vrstvy, čímž se anodický film stane intersticiální součástí materiálu (obr.5). V průběhu procesu se kyslík a oxidy stávají integrální částí materiálu a formují tzv.

konverzní vrstvu. Díky tomu se snižuje riziko odštípnutí či odlupování povrchové vrstvy implantátu [1].



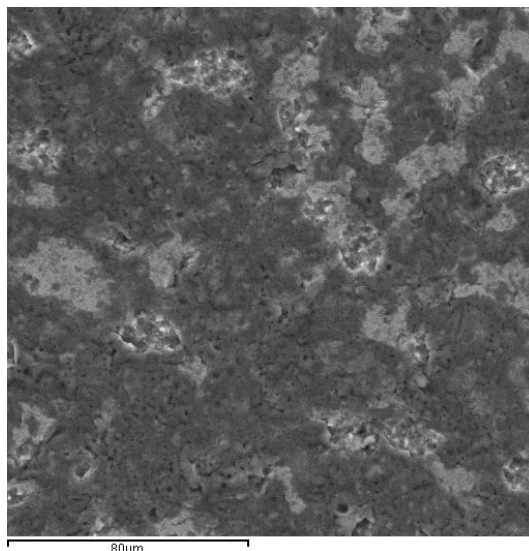
Obr.5 Porovnání anodizace typu II a III.

Dle práce [1] anodizace povrchu slitiny Ti6Al4V zlepšuje jak mechanické, tak biokompatibilní vlastnosti. Výsledky testů ukázaly, že odolnost vůči korozi je u povrchů anodizovaných typem II až o 44% vyšší než u neupravených materiálů. Pozitivní vliv má anodizace také na protiinfekční vlastnosti. Jedna ze sérií pokusů k určení efektu anodizace typu II na odolnost vůči únavě materiálu prokázala, že se mez únavy zvýšila dokonce o 15%. V kontrastu s tím se ukázalo, že anodizace typu III snížila odolnost materiálu v porovnání s neanodizovaným vzorkem o 15%.

4. Série vzorků H a I

Vzorky poskytla firma Medin, a.s., Nové Město na Moravě (ing. Jirka). V každé sérii jsou čtyři vzorky o průměru 10 mm a tloušťce 1,5 mm.

Obě série jsou z Ti6Al4V dle ISO 5832-3. Vzorky ze série H byly soustruženy a ze série I byly soustruženy a omílány. Omílání probíhalo ve vibračním bubnu naplněném abrazivy. Omíláním došlo k tvarové stabilizaci povrchu, zvýšení tvrdosti, odmaštění a vyčištění vzorků od nečistot. Povlak TiO_2 byl vyroben anodizací typu II. na zahraničním pracovišti.



Obr.6 Vzorek I, SEM JEOL 5410, 500x zvětšeno

5. Sterilizace

Některé vzorky byly před měřením závislosti kontaktního úhlu na čase sterilizovány. Sterilizace je souhrn opatření, při kterých se na předmětech usmrcují všechny mikroorganismy, včetně vysoce rezistentních spor, mikroskopických hub a pod. Nedílnou součástí sterilizace jsou předsterilizační příprava předmětu, kontrola sterilizačního procesu a sterilizovaného materiálu, monitorování a záznam nastavených parametrů ukazovacími a registračními přístroji zabudovanými ve sterilizátoru a kontrola účinnosti sterilizace nebiologickými a biologickými indikátory.

Jako sterilní lze tedy označit pouze takové předměty a látky, na kterých byly usmrceny všechny mikroorganismy a jejich spory a u nichž byla sterilita prokázána standardním testem.

Sterilizace vzorků byla provedena ve Fyziologickém ústavu Akademie věd ČR (Odd. růstu a diferenciace buněčných populací) u Dr. Lucie Bačákové, CSc.

Sterilizace v autoklávu TUTTNAUER 2540 ELC (obr.7) probíhala při 120°C ve vlhké páře a při tlaku 1 Atm. (101,325 kPa) po dobu 60 min. Doba vlastní sterilizace se počítá od okamžiku dosažení předepsaných teplot.



Obr.7 Autokláv TUTTNAUER 2540 ELC

Vzorky byly označeny a dány do destilované a ionizované vody a překryty hliníkovou folií (obr.8). Dále umístěny do autoklávu. Celý proces trval cca 2 hodiny, autokláv se mohl otevřít až po zchladnutí pod 60°C. Poté byly vzorky přeneseny na vlastní pracoviště a změřeny.



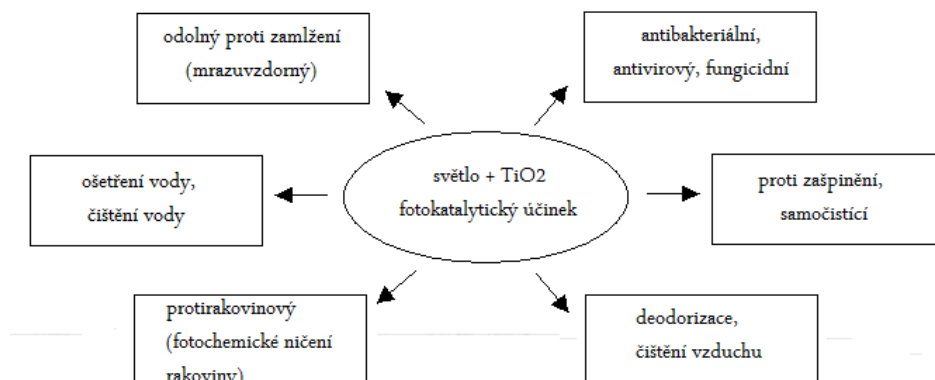
Obr.8 Příprava vzorků před sterilizací

6. TiO₂

Titan a titanové slitiny jsou stále více využívány jako materiály pro implantáty v důsledku velmi dobrých vlastností titanu (slitin Ti) a vynikající biokompatibility jeho oxidických povlaků. Mechanické vlastnosti kovů jsou výborně kombinovány s výhodnými

chemickými vlastnostmi povlaku. K vlastnostem TiO_2 povlakům patří: vysoká odolnost vůči všem mechanismům mechanického opotřebení s omezením týkajícím se únavy, chemická stabilita a odolnost, biokompatibilita, fotoaktivita.

TiO_2 je polovodič, je chemicky aktivován světelnou energií (fotoaktivita).



Obr.9 Hlavní oblasti aktivity TiO_2 fotokatalýzy [4]

Může se vyskytovat v modifikacích:

- rutilové – je stabilní při vysokých teplotách a je proto někdy nalézána ve vyvřelých horninách
- anatasová - je stabilní při nižších teplotách (obě mají tetragonální krystalickou strukturu)
- brooklitová – je obvykle přítomna pouze v minerálech a má ortorombickou krystalickou strukturu

Obě tetragonální struktury jsou běžnější, protože je lze snadno vyrobit. Oxid titaničitý, používaný v průmyslových výrobcích jako jsou barvy, je téměř vždy rutilového typu. Oxid titaničitý, který má strukturu anatasu vykazuje obvykle vyšší fotokativitu než ostatní typy oxidu titaničitého.

Tab.2 Srovnání základních fyzikálních vlastností rutilové a anatasové struktury oxidu titaničitého

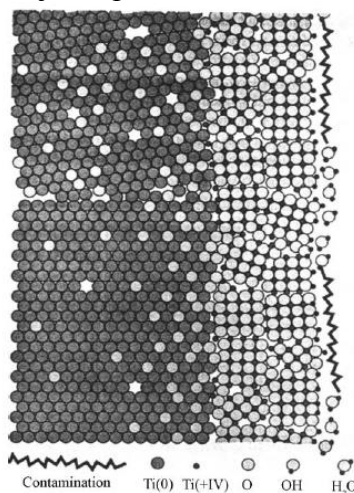
Vlastnosti	Rutil	Anatas
Krystalická struktura	tetragonální	Tetragonální
Mřížková konstanta a (Å)	4,58	3,78
Mřížková konstanta c (Å)	2,95	9,49
Hustota (g.cm^{-3})	4,2	3,9
Index lomu	2,71	2,52
Tvrдость	6,0 – 7,0	5,5 – 6,0
Permitivita	114	31
Bod tání ($^{\circ}\text{C}$)	1858	Při vysoké teplotě přechází

Jedna z příčin toho, že anatasová forma oxidu titaničitého je více fotoaktivní než rutilová forma, může spočívat v rozdílech jejich struktur energetických pásů. Energie zakázaného pásu pro polovodič určuje minimální energii světla požadovanou k tomu, aby učinila materiál elektricky vodivým nebo, jinými slovy, vybudila elektrony natolik, aby se daly do pohybu. Pro oxid titaničitý ve formě anatasu je tato energie 3,2 eV, což odpovídá UV světlu o vlnové délce 388nm, zatímco energie zakázaného pásu pro rutilovou formu je 3,0 eV, což odpovídá fialovému světlu o vlnové délce 413nm.

Úspěšnému využití efektu fotokatalýzy oxidu titaničitého (TiO_2) v praxi často brání i nalezení vhodné formy TiO_2 , která by dostatečně vyhovovala požadavkům příslušné aplikace. Protože fotoaktivní TiO_2 je připravován téměř výhradně ve formě mikro a nanočástic, je k dispozici převážně ve formách prachů, suspenzí a koloidních roztoků. Rozměrnější fotoaktivní plochy je možno připravit nanášením suspenzí TiO_2 na plošné substráty tvořené kovy, sklem, keramikou, papírem nebo textilem. Dalším způsobem je nanášení aktivních vrstev TiO_2 z koloidních roztoků pomocí sol-gel metod. Tyto zdánlivě rozsáhlé možnosti však neumožňují připravit účinné fotoaktivní samonosné prvky v různých profilech. Jednou z cest, jak tyto prvky připravit, je jejich plazmové nanášení, tedy vytváření pevných fotoaktivních vrstev plazmovým nástřikem na vhodných substrátech. Jinou možností je příprava TiO_2 anodickou oxidací ve vhodném elektrolytu [3].

6.1 Vlastnosti povlaku připraveného anodizací

- **Hustota:** Jelikož jde o pórovitou vrstvu, mění se hustota vrstvy s její tloušťkou podle složení materiálu a podle parametrů anodizace (při vyšších teplotách a delších dobách anodizace jsou vrstvy pórovitější).
- **Porozita:** Průměr pórů (0,01 až 0,02 μm) anodizovaného povlaku závisí na způsobu anodizace. Navíc k této primární porozitě, která je tím nižší, čím vyšší je napětí při anodizaci, přistupuje i sekundární porozita, která vzniká rozpouštěním části povlaku (závisí především na teplotě lázně).
- **Tloušťka vrstvy:** Tento parametr anodizovaného povlaku do značné míry ovlivňuje korozní odolnost. Tloušťka povlaku roste se vzrůstající proudovou hustotou, vzrůstajícím napětím, s klesající teplotou a s nižší koncentrací elektrolytu.



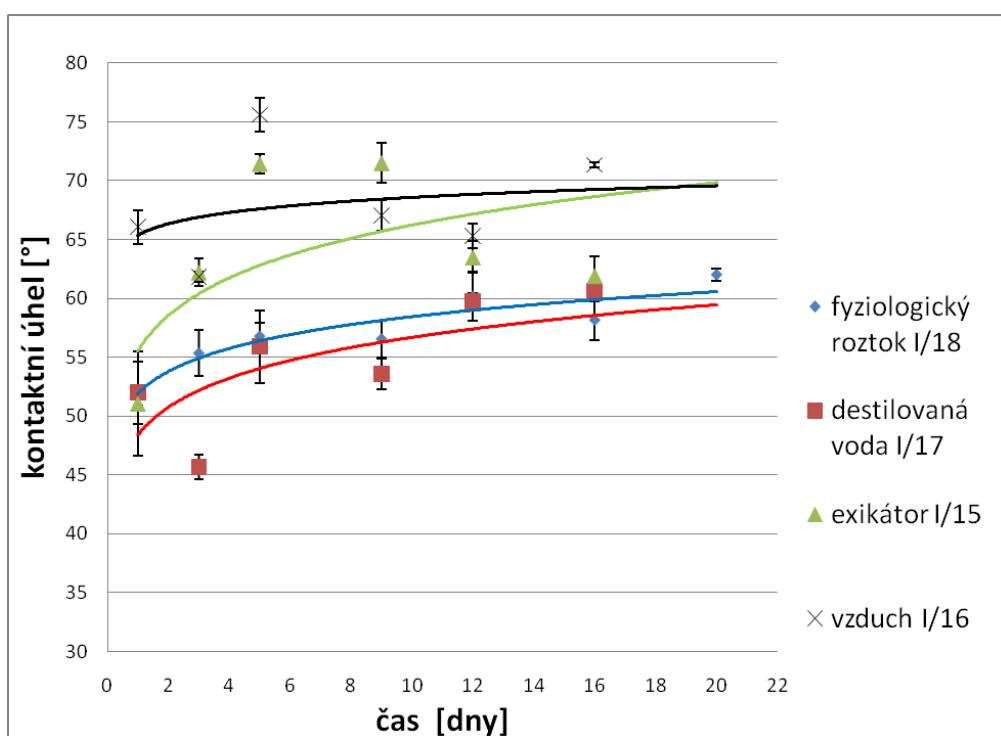
Obr.10 Charakteristika povlaku pěstovaného při pokojové teplotě na čistém titanu [5].

7. Prostředí pro vzorky

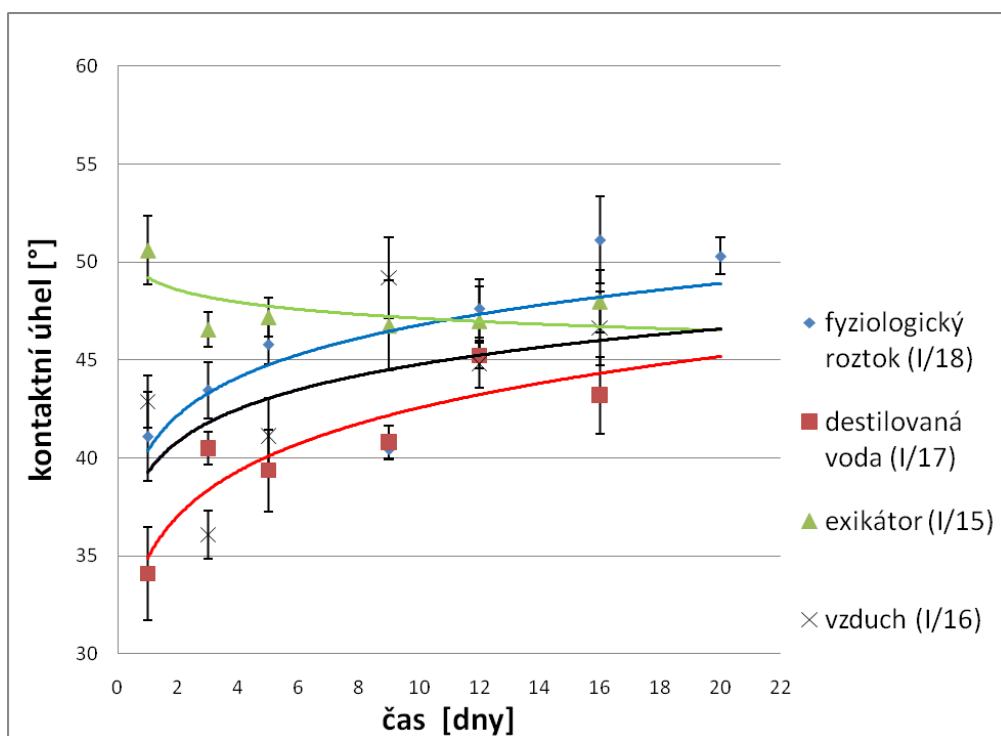
Vzorky byly umístěny od čtyř odlišných prostředí:

- 1) Fyziologický roztok – kádinka se 150 ml fyziologického roztoku (sodium chloride 0,9%) byla do 2/3 umístěna do termostatu, který byl naplněn destilovanou vodou a nastaven na 37°C.
- 2) Destilovaná voda – petriho miska naplněná destilovanou vodou, stálá teplota byla 22°C
- 3) Exikátor - naplněn 250 ml Silikagelu (normální -neznačený, který byl vysušen při 150°C/ 2 hod), vlhkost vzduchu byla 32%, teplota 22°C)
- 4) Vzduch- uzavřená Petriho miska, vlhkost se mění podle vlhkosti okolního prostředí

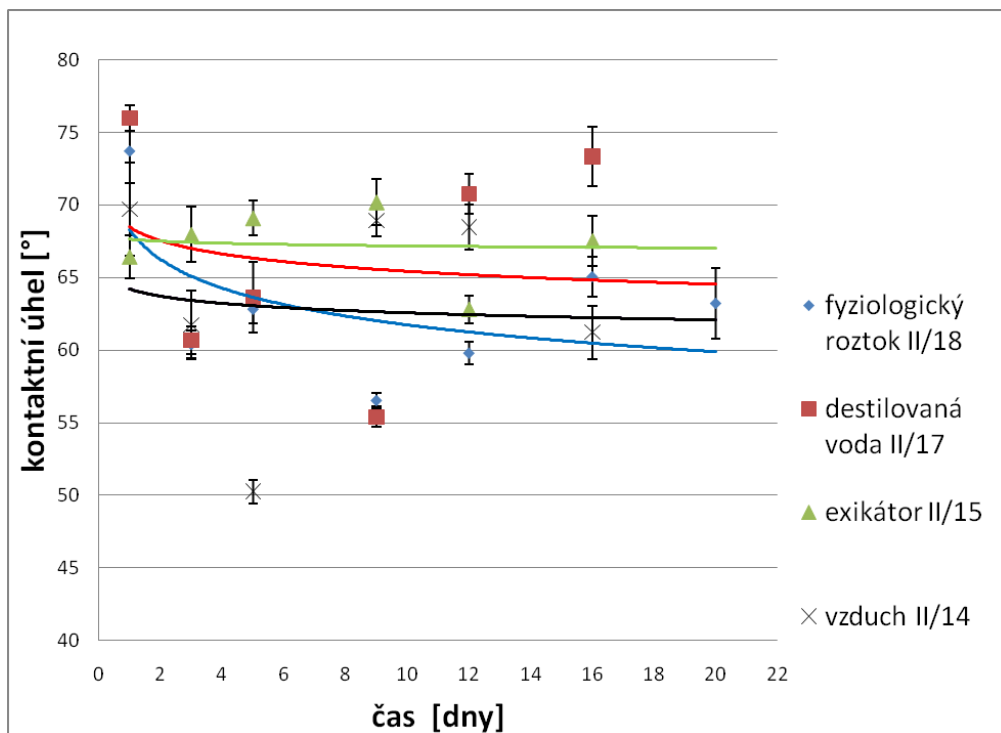
8. Výsledky měření



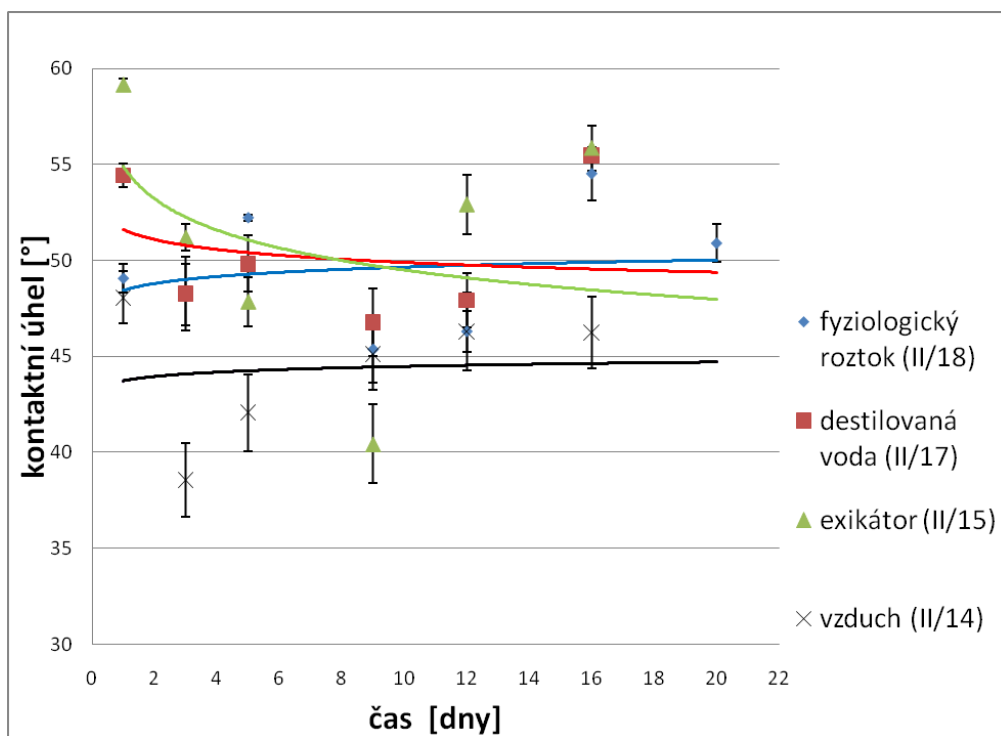
Obr.11 Časová závislost změny kontaktního úhlu destilované vody u vzorků série H v různých prostředích.



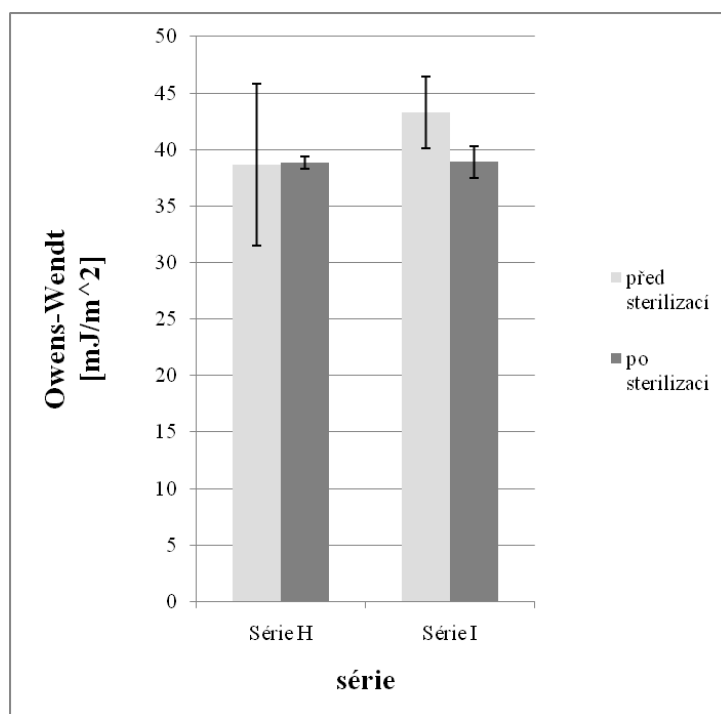
Obr.12 Časová závislost změny kontaktního úhlu ethylenglykolu u vzorků série H v různých prostředích.



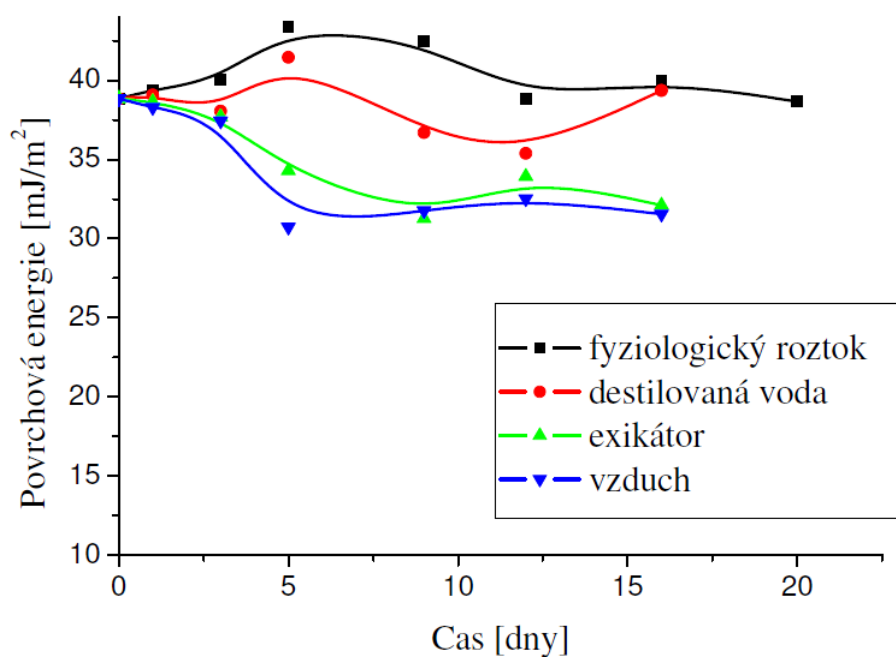
Obr.13 Časová závislost změny kontaktního úhlu destilované vody u vzorků série I v různých prostředích.



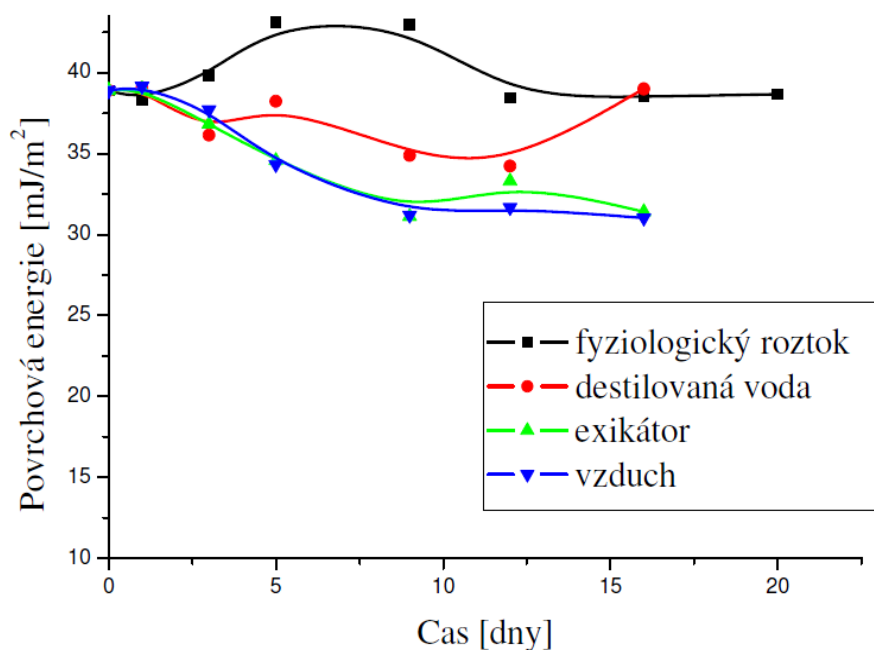
Obr.14 Časová závislost změny kontaktního úhlu ethylenglykolu u vzorků série I v různých prostředích.



Obr.15 Změna povrchové energie před a po sterilizaci.



Obr.16 Časová závislost změny povrchové energie u vzorků série H v různých prostředích.



Obr.17 Časová závislost změny povrchové energie u vzorků série I v různých prostředích.

9. Diskuse

Na vzorcích sérií H, I byla porovnávána měření před a po sterilizaci vzorků. Dále pak byla zkoumána stabilita povlaků v závislosti na čase a na prostředí.

Naměřené hodnoty byly v grafech proloženy mocninnou funkcí, z důvodu zjištění tendence změn kontaktních úhlů. Mocninná funkce dobře vystihuje časové změny. Bez proložení se v grafech ukazovaly na začátku měření „vlny“. Pro přesnější zjištění tohoto jevu by bylo potřeba měření opakovat častěji.

Při měření časové stability došlo ke kolísání kontaktních úhlů a povrchových energií. Pravděpodobně bylo měření ovlivněno fotoaktivitou a pórovitostí TiO_2 [6]. Již při nasvícení povlaků z důvodu nasnímání kapek kapalin mohlo dojít ke kumulativnímu osvětlení vzorků. Vzorky ve fyziologickém roztoku (v termostatu) byly ve tmě, ale oproti tomu ostatní vzorky byly umístěny na světle.

Pro porovnání kontaktních úhlů před a po sterilizaci byl použit statistický t-test.

10. Závěr

Změna kontaktních úhlů před a po sterilizaci byly prokázány pouze u kontaktních úhlů destilované vody série I (u ostatních sérií ke změnám nedošlo).

Z dalších výsledků testů vyplývá, že povlaky všech vzorků sérií H a I jsou časově nestabilní (nejstabilněji se chovaly vzorky série I na vzduchu a v exikátoru).

Seznam symbolů

θ - kontaktní úhel

γ_{lv} - povrchové napětí na rozhraní kapaliny (liquid) a vzduchu (vapor)

γ_{sv} - povrchové napětí na rozhraní pevné látky (solid) a vzduchu (vapor)

γ_{sl} - povrchové napětí na rozhraní pevné látky (solid) a vzduchu (liquid)

Použitá literatura

[1] Becker P., et al., Spark Anodization on Titanium Alloys, Proceedings of the 10th Conference on Titanium, Hamburg, Germany, 13-18 July 2003, p. 3339

[2] Buršíková V., Sťahel P., Navrátil Z., Buršík J., Janča J. Surface Energy Evaluation of Plasma Treated Materials by Contact Angle Measurement. Masaryk University, Brno 2004

[3] Fujishima J., Hashimoto K. Watanabe T., TiO₂ fotokatalýza, základy a aplikace, Silikátový svaz 2002

[4] Cherry, B.W.:Polymer Surfaces. University Press, Cambridge 1981

[5] Xuanyong L., Paul K. Chu, Chuanxian Ding. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications - Materials Science and Engineering R, 47 (2004), p. 49-121

[6] Rico V., Romero P., Hueso L.J., Espino's J.P., González-Elipe .R.: Wetting angles and photocatalytic activities of illuminated TiO₂ thin films. Catalysis Today 143 (2009) 347–354