

University of Groningen

## Electrochemically deposited antimicrobial hydroxyapatite coatings

Mokabber, Taraneh

DOI:  
[10.33612/diss.132596200](https://doi.org/10.33612/diss.132596200)

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2020

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*  
Mokabber, T. (2020). *Electrochemically deposited antimicrobial hydroxyapatite coatings*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.132596200>

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

*Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.*

---

# Samenvatting

---

Vandaag de dag, binnen de orthopedie, focussen vele onderzoeken op het verkrijgen van multifunctionele titanium implantaat oppervlaktes, welke in staat zijn om de bio-activiteit te verbeteren en tegelijkertijd bacteriële infecties tegen te gaan [1]. Verbeterde osseointegratie van titanium implantaten kan worden bereikt door het toepassen van bio-actieve, keramische coatings, zoals calciumfosfaat (Ca-P) samenstellingen [2]. Een andere kwestie die de lange termijn toepassing van titanium implantaten kan belemmeren is bacteriële besmetting. Om dit probleem tegen te gaan, is het gebruik van zilver zeer effectief, door het feit dat zilver zeer goede antimicrobiële eigenschappen heft [3,4]. Om multifunctionele coatings op metallische substraten aan te brengen krijgt elektrochemische depositie steeds meer aandacht, vanwege een aantal voordelige aspecten. Deze methode maakt het mogelijk om zeer onregelmatig gevormde objecten, zoals poreuze implantaten, uniform te coaten [5,6]. Hieruit volgt dat de elektrochemische depositie van zilver-bevattende calciumfosfaat (Ag/Ca-P) coatings op titanium een veelbelovende strategie is om de bio-compatibiliteit van de implantaten te verbeteren en tegelijkertijd de antimicrobiële eigenschappen te bereiken. Echter, op dit moment is er nog veel onbekend over de invloed van bedieningsparameters, coating ontwikkeling over tijd en de mechanische en biologische eigenschappen van de coatings.

Het hoofddoel van dit proefschrift is de ontwikkeling van bioactieve en antimicrobiële, zilver-bevattende calciumfosfaatcoatings via elektrochemische depositie. Het project focust op het samenspel tussen het effect van verschillende depositieparameters en de chemische en fysische eigenschappen van de coatings, gepaard gaand met fundamentele inzichten in het kristalgroeimechanisme van elektro-gedeponeerde calciumfosfaatcoatings en de invloed daarvan op de mechanische en biologische eigenschappen van de coatings. Hieraan toevoegend, worden de antimicrobiële mechanismen en bio-compatibiliteit van de zilver bevattende calciumfosfaatcoatings systematisch onderzocht. De voornaamste bevindingen verkregen uit de verschillende onderzoeken die hebben geleid tot de uiteindelijke coating, zijn dat de depositieparameters significante invloed hebben op de morfologie van de coatings, die op hun beurt effect hebben op cellulair gedrag en de mechanische eigenschappen van de coatings. Daarnaast, speelt de chemische

staat van het zilver in de zilver-bevattende calciumfosfaat coatings een opmerkelijke rol in de antimicrobiële activiteit en bio-compatibiliteit van de coatings.

In **hoofdstuk 3** is de invloed van depositieparameters (bijv. voltage en stroomsterkte,  $H_2O_2$  concentratie in de elektrolytoplossing, depositie temperatuur en tijd) op de compositie en de morfologie van de gedeponeerde Ca-P coatings onderzocht. Het bleek dat het voltage en de stroomsterkte een grote invloed uitoefenden op de structuur van de coatings. Ca-P coatings gedeponerd in puls modus zijn homogeen met excellente adhesie aan het substraat. Echter, het oppervlak van de coatings gedeponerd met een constant voltage is inhomogeen met delaminatie, wat het gevolg is van waterstofontwikkeling en de concentratie polarisatie. Desalniettemin, bij zowel puls als constante modus bestaan de gedeponeerde coatings uit hydroxyapatiet en octa-calciumfosfaat en de modus van het toegepaste voltage verandert de chemische compositie van de Ca-P coating. Echter, aangaande de kwaliteit en homogeniteit van de coating structuur, is de puls modus de geprefereerde optie voor het deponeren van Ca-P coatings. Bij een laag pulsd voltage (-1.1 V) en bij een lage concentratie  $H_2O_2$  (0.1 wt.%) bestaan de coatings uit brushite, octa-calciumfosfaat en hydroxyapatiet. Door het voltage en de concentratie  $H_2O_2$  te verhogen is brushite formatie beperkt en bestaan de coatings alleen uit hydroxyapatiet en octa-calciumfosfaat fasen. Het veranderen van het toegepaste voltage, bij een gefixeerde concentratie  $H_2O_2$ , resulteert niet in een verandering van de fase compositie van de coatings, maar bij hogere toegepaste voltages zijn de coatings niet uniform met aanwezige defecten als resultaat van waterstofontwikkeling; en dit effect is geëxacerbeerd bij hogere concentraties  $H_2O_2$ . Om deze reden zijn het toegepaste voltage en de concentratie  $H_2O_2$  van elkaar afhankelijke parameters. Aangaande de kwaliteit, morfologie en chemische compositie van de coatings, de beste condities voor Ca-P depositie zijn -1.4 V en 1.5 wt.%  $H_2O_2$ . De chemische compositie van de Ca-P coatings wordt door de depositietemperatuur noch de depositietijd beïnvloedt. Echter, bij hoge depositietemperaturen (75 en 85 °C), hebben de coatings een meer poreuze structuur met erg dunne 'naalden'. Voorts, door het verlengen van de depositietijd (van 1 tot 30 minuten), is de oppervlaktmorfologie van de Ca-P coatings significant beïnvloedt, gaande van glad en plaatachtig naar lintachtige structuren.

De nucleatie en groei mechanismen van elektro-gedeponeerde Ca-P coatings zijn het hoofddoel in **hoofdstuk 4**. Volgens onze bevindingen is de kristalgroei van de Ca-P coatings een tijdsafhankelijk proces. Tijdens het depositieproces veranderen de nucleatie en groei mechanismen van de Ca-P coatings, wat leidt tot een verschil in morfologie in verschillende fasen van de depositie. Tijdens de eerste fase van de depositie ( $t = 1$  min), is het elektrolyt zeer oververzadigd, wat leidt tot een hoge nucleatiesnelheid. Op dit punt is de morfologie van de gedeponeerde Ca-P kristallen

willekeurig georiënteerd en bestaat het uit sterk vertakte ‘nanoplaten’ en zijn de coatings polykristallijn hydroxyapatite. Tijdens de tweede fase van de depositie ( $t = 3$  min), groeien de gedeponeerde Ca-P kristallen langs de  $b$  en  $c$  assen van de microformaat platen. In de derde fase van de depositie ( $3 \text{ min} < t < 30 \text{ min}$ ), is de graad van oververzadiging verminderd, door een toename in afstand tussen de rand, of voorkant, van de gedeponeerde laag en het oppervlak van de kathode. Het gevolg hiervan is dat de gedeponeerde Ca-P kristallen langs de  $c$ -as propageren en een lintachtige structuur verkrijgen.

In **hoofdstuk 5** wordt de invloed van morfologische veranderingen op de mechanische en biologische eigenschappen van elektro-gedeponeerde Ca-P coatings gerapporteerd. Micro-kras testen onthulden dat de coating met gladde morfologie een sterke binding met het substraat hebben, en ook werking heeft als een vast smeermiddel. Een andere bevinding omschrijft dat de morfologie en dikte van de coatings geen invloed hebben op de adhesie van het Ca-P aan het Ti substraat, en dat de faal modus in alle coatings cohesie-falen is. Echter, de dikte van de coating vertraagd plastische deformatie van het onderliggende titanium substraat. Aangaande de cellulaire activiteiten, wordt het gedrag van osteosarcoma cellen sterk beïnvloedt door de verschillen in morfologie van de Ca-P coatings. De relatief gladde Ca-P oppervlaktes zijn bevorderlijk voor cellulaire activiteit en induceren een betere celadhesie, levensvatbaarheid, en proliferatie dan de lintachtige, stekelige, ruwe oppervlaktes. De verbeterde cel activiteit op gladde oppervlaktes kan worden toegeschreven aan het grotere contactoppervlak. Aan de andere kant, de aanwezigheid van scherpe naalden en linten op het ruwe oppervlak brengt fysieke schade aan, aan de cellen en beperkt volledige celadhesie, wat uiteindelijk leidt tot een inhibitie van cel proliferatie en levensvatbaarheid. Verschillen in oppervlaktemorfologie induceren geen opmerkelijke veranderingen in de mate van osteoblast-relevante genexpressie, namelijk Alkaline fosfatase, Type I collagen, en Osteopontin. Concluderend, osteosarcoma cellen zijn meer levensvatbaar op de gladde Ca-P coatings, en de betere cel/weefsel compatibiliteit, gepaard met gunstige mechanische eigenschappen, maakt deze coatings optimaal voor biomedische applicaties.

De antimicrobiële activiteit en cytotoxiciteit van de zilver-bevattende calciumfosfaatcoatings is onderzocht in **hoofdstuk 6**. Twee verschillende depositie strategieën zijn verkend. In de Ag/Ca-P(1) coating, deponeren zilver als microformaat zilverfosfaatdeeltjes, ingebed in de Ca-P matrix, met als gevolg dat ze in de ionisch-chemische staat verkeren. Daarentegen deponeren zilver in de Ag/Ca-P(2) coating zich als metallische nano-deeltjes op de Ca-P coating. Het antimicrobiële mechanisme van de Ag/Ca-P(1) coating is ‘leaching-killing’, door de hoge afgiftesnelheid van zilverionen, en de bacteriereductie is  $76.1 \pm 8.3\%$ . Echter, het

antimicrobiële mechanisme van de Ag/Ca-P(2) coating is voornamelijk 'contact-killing', en de bacteriereductie is  $83.7 \pm 4.5\%$ . Door PBS behandeling verbetert de bacteriereductie van de Ag/Ca-P(1) en Ag/Ca-P(2) coatings naar, respectievelijk,  $97.6 \pm 2.7\%$  en  $99.7 \pm 0.4\%$ . De verbetering in antimicrobiële activiteit na behandeling met PBS kan worden toegewezen aan de formatie van  $\text{AgCl}_x^{(x-1)-}$  componenten, welke zeer oplosbaar zijn. De formatie van  $\text{AgCl}_x^{(x-1)-}$  componenten op het zilverfosfaatdeeltjes en zilver nano-deeltjes resulteert in hogere zilverafgiftesnelheid en 'leaching-killing'. De bio-compatibiliteitsassay onthult dat de Ag/Ca-P(1) coating cytotoxiciteit vertoont jegens osteosarcoma. In contrast vertoont de Ag/Ca-P(2) coating excellente bio-compatibiliteit. Tenslotte kan er worden geconcludeerd dat de elektrochemisch gedeponeerde, zilver nano-deeltjes bevattende, Ag/Ca-P coatings excellente antimicrobiële activiteit vertonen, alsmede een goede bio-compatibiliteit, en deze zeer geschikt zijn om toe te passen op medische titaniumimplantaten.

## References

- [1] S. Spriano, S. Yamaguchi, F. Baino, S. Ferraris, A critical review of multifunctional titanium surfaces: New frontiers for improving osseointegration and host response, avoiding bacteria contamination, *Acta Biomater.* 79 (2018) 1–22.
- [2] Y. Zhou, C. Wu, J. Chang, Bioceramics to regulate stem cells and their microenvironment for tissue regeneration, *Mater. Today.* 24 (2018) 41–56.
- [3] C. Marambio-Jones, E.M.V. Hoek, A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment, *J. Nanoparticle Res.* 12 (2010) 1531–1551.
- [4] C. Shi, J. Gao, M. Wang, Y. Shao, L. Wang, D. Wang, Y. Zhu, Functional hydroxyapatite bioceramics with excellent osteoconductivity and stern-interface induced antibacterial ability, *Biomater Sci.* 4 (2016) 699–710.
- [5] M. Shirkhazadeh, Direct formation of nanophase hydroxyapatite on cathodically polarized electrodes, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 9 (1998) 67–72.
- [6] N. Eliaz, T.M. Sridhar, Electrocrystallization of hydroxyapatite and its dependence on solution conditions, *Cryst. Growth Des.* 8 (2008) 3965–3977.