

Probenvorbereitung Mikrowellenunterstützter Aufschluss von Titanlegie- rungen in der Orthopädie

Probenvorbereitung Bewertung der chemischen Zu- sammensetzung von Legierun- gen für die Orthopädie und ih- rem Einfluss auf die Material- eigenschaften

Legierungen, die für orthopädische Implantate eingesetzt werden, weisen eine hohe chemische und mechanische Beständigkeit auf. Diese Beständigkeit spielt im Hinblick auf die Lebensdauer der Implantate eine wichtige Rolle, kann jedoch bei der Probenvorbereitung zu Schwierigkeiten führen. Es wurde ein Analyseverfahren für den Aufschluss von Titanlegierungen auf Basis des mikrowellenunterstützten

Aufschlusses mit verdünnter Schwefelsäurelösung (d. H. 25 % v/v H_2SO_4) während eines 33-minütigen Aufschlussprogrammes bei einer Maximaltemperatur von 220 °C entwickelt. Die Aufschlüsse wurden in Wasser verdünnt und die Konzentrationen der wichtigsten Elemente (Ti, Al, V und Fe) sowie möglicher Verunreinigungen (Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, Sn und Zn) mithilfe ICP-OES ermittelt. Die festgestellten Konzentrationen stimmten mit der Sollzusammensetzung der Titanlegierungen sowie mit Werten überein, die durch eine wellenlängendisper-sive Röntgenfluoreszenz-analyse bestimmt wurden.

Autoren

Caio Moralez Figueiredo, Marco Aurelio Sperança, Lucimar Lopes Fialho, Joaquim Araújo Nóbrega, Edenír Rodrigues Pereira-Filho*
Group of Applied Instrumental Analysis (GAIA), Lehrstuhl für Chemie, Federal University of São Carlos, Postfach 676, São Carlos, SP, 13565-905, Brasilien

Einleitung

Es werden verschiedene Technologien im Bereich der orthopädischen Implantate entwickelt, um die Lebensqualität der Patienten zu verbessern ^[1]. Prothesen werden hauptsächlich eingesetzt, um verletzte Gliedmaßen oder hartes Gewebe wie Knochen zu ersetzen ^[2]. Die nationale Behörde für Gesundheitsüberwachung (ANVISA) in Brasilien definiert orthopädische Implantate als ein Medizinprodukt, das chirurgisch vollständig in den menschlichen Körper eingebracht wird ^[3]. Materialien für Implantate müssen verschiedene Eigenschaften aufweisen, wie etwa biomechanische Kompatibilität sowie Widerstandsfähigkeit gegenüber mechanischen Beanspruchungen und Korrosionsbeständigkeit, sodass sie im menschlichen Körper verbleiben können, ohne beschädigt zu werden oder schädliche Substanzen freizusetzen ^[4].

Viele verschiedene Materialien, z. B. Keramik, Polymere und Metalle, werden für Implantate eingesetzt. In diesem Anwendungsbericht geht es um ein metallisches Material, die Titanlegierung ASTM-AF-136 (Ti-6Al-4V), die gesondert untersucht wurde. Die Sollzusammensetzung beträgt 6 % Aluminium, 4 % Vanadium sowie Titan (Rest) ^[5]. Geetha et al. haben die Eigenschaften vieler metallbasierter orthopädischer Prothesen untersucht und sind zu dem Ergebnis gekommen, dass Legierungen auf Titanbasis in der Orthopädie anderen überlegen sind, da sie eine bessere Korrosionsbeständigkeit, mechanische Widerstandsfähigkeit sowie Biokompatibilität aufweisen ^[1].

Es ist entscheidend, dass ein genaues Analyseverfahren zur quantitativen Bestimmung der Elemente in Titanlegierungen angewandt wird. Falls sich die Konzentrationen nicht im richtigen Verhältnis befinden, können sich die chemischen und mechanischen Eigenschaften des Implantats verändern und es kann häufiger zu Defekten kommen. Viele Krankheiten sind mit einer hohen Konzentration von Metallionen, z. B. Al(III), V(III) und V(V), verbunden welche auch in den untersuchten Legierungen vorhanden sind ^[6]. Aus diesem Grund ist es wichtig, ein Verfahren zur Feststellung der chemischen Zusammensetzungen von Legierungen für die Orthopädie zu entwickeln. So können mechanische Probleme und Erkrankungen nach der Implantierung zu vermeiden ^[7].

Aufgrund der hohen chemischen und mechanischen Widerstandsfähigkeit der Legierungen, die in der Orthopädie eingesetzt werden, kann sich beispielsweise ein offener Aufschluss als schwierig gestalten. Der mikrowellenunterstützte Aufschluss von Proben ist eine attraktive Alternative. Diese Vorgehensweise wurde hier untersucht und die Aufschlüsse wurden mithilfe der optischen Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) analysiert.

Zu Vergleichszwecken wurde auch die wellenlängendispersive Röntgenfluoreszenzanalyse (WD-XRF) angewandt. Dies geschah mithilfe der integrierten Software Uniquant® zur Quantifizierung der Analyten direkt in den festen Proben.

Materialien und Methoden

Proben und Reagenzien

Neun Titanlegierungsproben (Ti-6Al-4V) unterschiedlicher Hersteller wurden durch das Center for Characterization and Development of Materials (CCDM, UFSCar) bereitgestellt. Diese Proben wurden zur WD-XRF-Analyse in runde Stücke mit einem Durchmesser von ca. 10 mm und einer Dicke von ca. 5 mm geschnitten. Für den mikrowellenunterstützten Aufschluss wurden kleine Fragmente gesammelt.

Die für ICP-OES-Messungen verwendeten analytischen Kalibrierlösungen wurden mit Reinstwasser aus einer MILLI-Q-Reinigungsanlage (Millipore Corp., Bedford, MA, USA) vorbereitet. Sie wurden durch die nachfolgende Verdünnung von 1000 mg L-1-Stammlösungen (Titrisol-Merck, Darmstadt, Deutschland) von Ti, Al und V (den drei Hauptbestandteilen) sowie Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb und Zn (möglichen Kontaminanten) hergestellt.

Für den mikrowellenunterstützten Aufschluss wurden H₂SO₄-Lösungen mit einem Anteil von 10 bis 75 % v/v getestet (Synth, Diadema, São Paulo, SP, Brasilien). Diese Säure wurde aufgrund von vorherigen Tests ausgewählt. Es ist jedoch bekannt, dass ihre hohe Viskosität zu Interferenzen bei ICP-OES-Messungen führen kann, weshalb die Säurekonzentration so gering wie möglich sein sollte, um einen vollständigen Aufschluss zu erreichen.

Mikrowellenunterstützter Aufschluss und ICP-OES-Analyse

Für den mikrowellenunterstützten Aufschluss wurden 50,0 mg der Splitter, die durch Abschneiden von einer Metallstange gewonnen wurden, mithilfe einer Präzisionswaage abgewogen (Modell AY 220, Shimadzu, Kyoto, Japan). Die Proben wurden mit 5,0 mL H₂SO₄-Lösung von 25 % v/v in einer Speedwave-Mikrowelle (Berghof, Deutschland) aufgeschlossen. Die Aufschlussgefäße bestehen aus TFM™-PTFE. Das Erwärmprogramm ist in Tabelle 1 dargestellt.

Mikrowellenaufschluss-Programm für Ti-Legierungen				
Schritt	T [°C]	p [bar]	T _a [min]	Zeit [min]
1	155	2	5	80
2	200	3	10	80
3	220	3	10	90

Tabelle 1

Die so entstandenen aufgeschlossenen Lösungen wurden in zwei Aliquoten aufgeteilt. Das erste wurde 5.000-fach verdünnt, um mögliche Verunreinigungen zu bestimmen, z. B. Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Sn und Zn. Das zweite Aliquot wurde zur Bestimmung wichtiger Bestandteile von in der Orthopädie verwendeten Legierungen, wie Ti, Al und V, 100.000-fach verdünnt.

Für jedes Element wurden mithilfe von zehn Multielement-Standardlösungen, die zwischen 0 und 30 mg L⁻¹ (0; 0,1; 0,25; 0,5; 1, 2,5; 5; 10; 20 und 30 mg L⁻¹) analytische Kalibrierkurven erstellt. Diese Lösungen wurden für 5.000-fach und 100.000-fach verdünnte Proben jeweils in 9 x 10⁻⁴ und 4,5 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ H₂SO₄ hergestellt.

Das verwendete ICP-OES-Gerät gehört zur Serie iCAP-6500 (Thermo Fisher Scientific, USA) und Messungen wurden mithilfe von Dreifachbestimmungen durchgeführt (n = 3). Die zwei intensivsten Emissionslinien jedes Analyts wurden ausgewählt, wobei auch spektrale Interferenzen in Betracht gezogen wurden. Tabelle 2 zeigt die Elemente und die ausgewählten Emissionslinien.

Emissionslinien für ICP-OES			
Analyt	Emissionslinie (nm)*	Analyt	Emissionslinie (nm)*
Ti	II 334.9	Fe	II 238.2
Ti	II 336.1	Fe	II 259.9
Al	I 396.1	Mn	II 257.6
V	II 292.4	Mn	II 260.5
V	II 310.2	Mo	II 202.0
Cd	II 226.7	Mo	II 204.5
Cd	I 228.8	Mo	II 281.6
Co	II 228.6	Ni	II 231.6
Co	II 230.7	Pb	II 182.2
Cr	I 283.5	Pb	II 220.3
Cr	I 357.8	Sn	I 242.9
Cu	II 224.7	Zn	II 206.2
Cu	I 324.7	Zn	I 334.5

Tabelle 2

* I - atomic lines and II - ionic lines

Messungen mit WD-XRF

Mit dem ARL Perform^X (Thermo Fisher Scientific, USA) und seiner integrierten Software für die quantitative Analyse (UniQuant[®]) wurden Röntgenfluoreszenzmessungen durchgeführt. Die Proben mussten nicht vorbehandelt, aber zugeschnitten werden.

Die Versuche wurden auf zwei Arten durchgeführt. Bei der ersten Methode ging es um die qualitative Analyse der drei Hauptbestandteile und Fe. Die Instrumentenparameter sind in Tabelle 3 dargestellt. Die angelegte Spannung und der angelegte Strom wurden jeweils auf 50 kV und 50 mA festgelegt.

Element	Kristall	Wellenlängenschritt (Å)
Ti	LiF200	0,1
Al	AX03	0,05
V	AX03	0,025
Fe	LiF200	0,1

Tabelle 2

Im zweiten Versuch lag der Schwerpunkt auf der Verwendung der integrierten Software UniQuant[®] für die quantitative Analyse. Diese Software scannt Proben automatisch auf alle Metalle und wählt Instrumentenparameter aus. Die verwendete Methode war UQ10 mm, die Spannung betrug bei allen Analysen 60 kV und die analysierten Kristalle waren LiF200, LiF220, Ge111 und AX03. Die Ergebnisse wurden zu Vergleichszwecken herangezogen.

Ergebnisse und Diskussion

Mikrowellenunterstützter Aufschluss und ICP-OES-Bestimmung

Titan und seine Legierungen werden häufig mithilfe einer Mischung aus Fluss- und Salpetersäure aufgeschlossen^[8]. Da die Handhabung von Flusssäure hohe Risiken birgt wurde der Aufschluss von Ti-Legierungen mit Schwefelsäure getestet. Wie bereits erwähnt, wurde zunächst geprüft, welche Minimalkonzentration für den vollständigen Aufschluss nötig ist, d. h. ausgehend von 75 % v/v Konzentrationen bis 10 % v/v. Durch Sichtprüfung wurde bestimmt, dass die H₂SO₄-Mindestkonzentration, die zu Lösungen ohne Feststoffrückstände führt, bei 25 % v/v liegt.

Kadmium, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, Sn und Zn zeigten die folgenden Nachweisgrenzen (µg/kg): 1 (228,8 nm), 1 (228,6 nm), 1 (283,5 nm), 0,2 (324,7 nm), 60 (204,5 nm), 1 (231,6 nm), 8 (182,2 nm), 40 (189,9 nm) und 30 (206,2 nm) in der genannten Reihenfolge. Die Konzentrationen lagen unterhalb dieser Nachweisgrenzen. Daraus kann gefolgert werden, dass diese Elemente in keiner Probe in schädlichen Konzentrationen vorhanden waren. Die Konzentrationen der Hauptbestandteile sind in Tabelle 4 dargestellt.

Die Nachweisgrenzen lagen für alle wichtigen Elemente unter 0,1 %. Sie wurden nach einer zehnmaligen Messung der Blindprobe festgelegt^[9]. Die Titankonzentrationen variierten zwischen 79 und 113 % (\bar{x} =95 %). Die Aluminium- und Vanadiumkonzentrationen lagen jeweils im Bereich zwischen 5 und 6 % (\bar{x} =5,5 %) bzw. zwischen 3 und 4 % (\bar{x} =4,2 %). Die Eisenkonzentrationen waren in allen Proben geringer als 0,3 %.

Die Sollzusammensetzung dieser Legierungen betrug 90 % Ti, 6 % Al und 4 % V. Die durch ICP-OES erzielten Ergebnisse, vor allem für Ti, weisen gewisse Schwankungen auf, was sich durch den hohen Verdünnungsfaktor der Lösungen erklären lässt. Der für wichtige Elemente verwendete Verdünnungsfaktor lag bei 100.000. Dies war nötig, um eine Sättigung des Detektors mit dem Ti-Emissionssignal zu vermeiden. Die Ergebnisse stimmten jedoch mit der Sollzusammensetzung der Legierungen überein. Eisen wurde in geringen Konzentrationen (von unter 0,3 %) festgestellt.

Gehalte von Ti, Al, V und Fe in Ti-Legierungen sowie ICP OES Nachweisgrenzen (Durchschnittsgehalt ± Standardabweichung, n = 3)				
Probe	Ti (%)	Al (%)	V (%)	Fe (%)
Probe 1	92 ± 1	5,2 ± 0,2	4,1 ± 0,2	0,22 ± 0,01
Probe 2	96 ± 11	5,5 ± 0,6	4,4 ± 0,5	0,207 ± 0,003
Probe 3	113 ± 8	6,5 ± 0,4	5,1 ± 0,4	0,21 ± 0,02
Probe 4	101 ± 8	5,7 ± 0,5	4,4 ± 0,6	0,107 ± 0,008
Probe 5	91 ± 1	5,2 ± 0,1	3,9 ± 0,1	0,21 ± 0,02
Probe 6	92 ± 5	5,2 ± 0,3	3,9 ± 0,3	0,11 ± 0,01
Probe 7	94 ± 1	5,3 ± 0,1	4,0 ± 0,2	0,185 ± 0,006
Probe 8	94 ± 9	5,3 ± 0,5	3,9 ± 0,3	0,106 ± 0,004
Probe 9	79 ± 14	5,3 ± 0,4	3,8 ± 0,2	0,102 ± 0,009
Durchschnitt	95 ± 24	5,5 ± 2	4,2 ± 1	0,160 ± 0,04
Nachweisgrenze (µg/kg) und Emissionslinie (nm)				
	8 (334,9)	4 (396,1)	4 (292,4)	9 (259,9)

Tabelle 3

Analyse von Ti-Legierungen durch WD-XRF

Für alle neun Proben ermittelte Spektren erbrachten den Nachweis über die ähnliche chemische Zusammensetzung dieser Materialien. Wie bereits zuvor bei ICP-OES-Bestimmungen festgestellt, wiesen nur Fe-Signale stärkere Unterschiede auf, d. h., 50 % der Proben hatten eine etwa zweimal höhere Signalintensität als die anderen Proben und die relative Standardabweichung lag bei 25 %.

Die mit der Uniquant®-Software bestimmten Konzentrationen sind in Tabelle 5 aufgeführt. Bei den Proben 4, 6, 8 und 9 war die Fe-Konzentration etwa halb so hoch wie bei den anderen Proben, was die Ergebnisse der qualitativen Analyse bestätigte.

Die Ti- und V-Konzentrationen entsprechen den Sollkonzentrationen (d. h. Ti 90 % und V 4 %), die Al-Konzentrationen sind jedoch im Allgemeinen 30 % geringer als erwartet, da die Legierung 6 % Al enthalten soll. Da die Software Interferenzen automatisch korrigiert, sind die negativen Auswirkungen auf die Al-Bestimmung nicht klar.

Gehalte (%) der WD-XRF Analyse (Durchschnittsgehalt ± Standardabweichung, n = 3)				
Probe	Ti (%)	Al (%)	V (%)	Fe (%)
Probe 1	89,3 ± 0,2	4,0 ± 0,1	4,4 ± 0,1	0,22 ± 0,02
Probe 2	89,8 ± 0,2	4,0 ± 0,1	4,5 ± 0,1	0,24 ± 0,02
Probe 3	89,8 ± 0,2	4,1 ± 0,1	4,3 ± 0,1	0,21 ± 0,02
Probe 4	89,9 ± 0,2	4,2 ± 0,1	4,3 ± 0,1	0,14 ± 0,02
Probe 5	89,7 ± 0,2	4,2 ± 0,1	4,3 ± 0,1	0,23 ± 0,02
Probe 6	90,0 ± 0,2	4,3 ± 0,1	4,2 ± 0,1	0,08 ± 0,01
Probe 7	90,0 ± 0,2	4,1 ± 0,1	4,3 ± 0,1	0,20 ± 0,02
Probe 8	89,9 ± 0,2	4,1 ± 0,1	4,2 ± 0,1	0,11 ± 0,02
Probe 9	89,7 ± 0,2	4,3 ± 0,1	4,2 ± 0,1	0,12 ± 0,02

Tabelle 4

Um die Unstimmigkeiten im Zusammenhang mit den Al-Konzentrationen (siehe Tabelle 5) zu vermeiden, wurden fünf Proben ausgewählt, um mithilfe der analytischen Signale aus der WD-XRF-Messung und den Referenzkonzentrationen aus der ICP-OES-Bestimmung (siehe Tabelle 4) eine Kalibrierkurve zu berechnen. Das so ermittelte lineare Modell wurde zur Berechnung der Konzentrationen von Ti, Al, V und Fe in den neun Proben verwendet. Tabelle 6 zeigt die Genauigkeit bei einem Vergleich der Referenz (ICP-OES) und der durch WD-XRF bestimmten Konzentrationen. Es kann eine gute Übereinstimmung mit diesen Daten beobachtet werden.

Grad der Übereinstimmung zwischen Werten erhalten durch Mikrowellenaufschluss und ICP-OES Analyse und WD-XRF				
Probe	Ti (%)	Al (%)	V (%)	Fe (%)
1	105	111	96	105
2	101	102	100	103
3	84	87	88	102
4	97	101	93	112
5	103	108	88	101
6	101	111	114	103
7	97	99	98	94
8	99	108	96	102
9	118	108	111	89

Tabelle 5

Schlussfolgerungen

Das entwickelte Analyseverfahren, bei dem der mikrowellenunterstützte Aufschluss von orthopädischen Proben mit ICP-OES-Messungen kombiniert wurde, erbrachte trotz einiger Schwankungen aufgrund von für manche Analyten hohen Verdün-

nungsfaktoren genaue Ergebnisse. Die untersuchten Ti-Legierungen sind zwar für ihre Korrosionsbeständigkeit bekannt, das entwickelte Verfahren durch mikrowellenunterstützten Aufschluss war jedoch bei einem Einsatz von H₂SO₄ mit nur 25 % v/v relativ unkompliziert.

Danksagungen

Die Autoren danken Analítica (Brasilien), Berghof (Deutschland) und Thermo Scientific (USA) für ihre Unterstützung. Außerdem danken die Autoren den brasilianischen Organisationen FAPESP, CNPq und CAPES.

Referenzen

1. Geetha M.; Singh A.K.; Asokamani R.; Gogia A.K.; Mater Sci. 2009, 54: 397-425.
2. Athanasiou K.A.; Niederauer G.G.; Agrawal C.C.; Biomaterials. 1996, 17:93-102.
3. BRASILIEN. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Cirurgias com implantes/próteses: Critérios Nacionais de Infecções relacionadas à Assistência à Saúde. Brasília, 2011. 27.
4. Long M.; Rack H.J.; Mater Sci Eng. 2005, 25: 382-388.
5. Performace Titanium Group® (PTG). ASTM – F136. <http://performacetitanium.com/astm-f136>, Version vom März 2016.
6. Kuroda D.; Niinomi M.; Morinaga M.; Kato Y.; Yashiro T. Mater Sci Eng A. 1998, 243: 244-249.
7. Rokosz K.; Hryniewicz T. Raaen S.; Int J Adv Manuf Technol. 2016, 85:2425-2437.
8. Yong C. Rare Metal Mat Eng, 2012, 10: 1871-1874.
9. Silva F.S.; Trevizan L.C.; Silva C.S.; Nogueira A.R.A.; Nóbrega J.A. Spectrochim Acta B. 2002, 57:1905-1913.

Ansprechpartner

Edenir Rodrigues Pereira-Filho | +55.16.3351-8092 | GAIA Federal University of São Carlos | erpf@ufscar.br

Raquel Rainone | T +55.11.2162-8080 | Nova Analítica Imp. Exp. Ltda, São Paulo, PP, Brazil | raquel.rainone@novanalitica.com.br

Alberto Iglesias-Vila | T +49.7121.894-202 | laboratorytechnology@berghof.com

Dr. Kerstin Dreblow | T +49.7121.894-202 | laboratorytechnology@berghof.com