

UNIVERZITET U BEOGRADU

TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Marija S. Đošić

**BIOKERAMIČKE PREVLAKE NA BAZI
KALCIJUM-FOSFATNIH JEDINJENJA
DOBIJENE NA TITANU
ELEKTROHEMIJSKIM METODAMA**

doktorska disertacija

Beograd, 2015.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Marija S. Đošić

**BIOCERAMICS CALCIUM PHOSPHATE
COATINGS ON TITANIUM PRODUCED
BY ELECTROCHEMICAL TECHNIQUES**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2015.

Mentor: _____

Dr Vesna Mišković-Stanković, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Članovi komisije:

Dr Đorđe Janačković, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Jelena Bajat, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Jovica Stojanović, naučni saradnik
Institut za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina,
Beograd

Datum odbrane doktorske disertacije: _____, Beograd

Ova doktorska disertacija je urađena na Katedri za fizičku hemiju i elektrohemiju Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Zahvaljujem se mentoru prof. dr Vesni Mišković-Stanković na velikoj pomoći, razumevanju, iscrpnim diskusijama i podršci tokom izrade ove disertacije. Prof. dr Đorđu Janačkoviću, prof. dr Jeleni Bajat i dr Jovici Stojanoviću dugujem iskrenu zahvalnost na korisnim sugestijama i stručnoj pomoći u mom naučnom usavršavanju.

Pojedina eksperimentalna merenja su izvršena u Institutu za nuklearne nauke „Vinča“ i Institutu za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina.

Hvala svim kolegama sa Katedre za fizičku hemiju i elektrohemiju Tehnološko-metalurškog fakulteta i iz Instituta za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina koji su na bilo koji način pomogli izradu moje doktorske disertacije.

Naročitu zahvalnost dugujem svom suprugu i svojoj deci koji su mi dali snagu da ovu disertaciju dovedem do kraja.

Juliji i Danilu

BIOKERAMIČKE PREVLAKE NA BAZI KALCIJUM-FOSFATNIH JEDINJENJA DOBIJENE NA TITANU ELEKTROHEMIJSKIM METODAMA

IZVOD

Cilj ove doktorske disertacije je dobijanje prahova i prevlaka kalcijum-fosfata na titanu primenom elektrohemijskih metoda, kao i ispitivanje uticaja parametara sinteze (gustina struje, napon, pH vrednost rastvora, vreme taloženja) na fazni sastav, veličinu kristalita i morfologiju dobijenih prahova i prevlaka.

Elektrohemijskom sintezom iz rastvora $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 i CaCl_2 sa odnosom koncentracija $\text{Ca}/\text{EDTA}/\text{PO}_4^{3-}$ od 0,25/0,25/0,15 M uspešno su dobijeni prahovi monetita i hidroksiapatita. Ispitan je uticaj pH vrednosti polaznog rastvora i gustine struje na vrstu sintetisanog kalcijum-fosfata, morfologiju i termičko ponašanje prahova različitim metodama kao što su rendgenska difrakcija na polikristalnom uzorku, skenirajuća elektronska mikroskopija, diferencijalno termijska i termogravimetrijska analiza i infracrvena spektroskopska analiza. Pri pH vrednosti od 5,0 i gustini struje od 137 mA cm^{-2} dobijen je nanodimenzioni prah monetita sa veličinom kristalita od 27,1 nm. Sintezom prahova pri pH vrednostima od 9,0 i 12,0 i pri gustinama struje od 137 mA cm^{-2} i 207 mA cm^{-2} dobijeni su prahovi hidroksiapatita sa veličinom kristalita u intervalu od 21,6 do 24,3 nm, čime je pokazano da pH vrednost i gustina struje ne utiču značajno na veličinu kristalita. Na morfologiju elektrohemijski sintetisanih prahova hidroksiapatita ne utiče promena gustine struje, ali utiče pH vrednost rastvora. Pri manjoj pH vrednosti od 9,0 se dobijaju prahovi sa sfernim aglomeratima, dok se pri većoj pH vrednosti od 12,0 dobijaju prahovi sa pločastim aglomeratima. Temperatura termičke dekompozicije nanočestičnog praha monetita na kalcijum-pirofosfat i vodu je niža ($1260 \text{ }^\circ\text{C}$) u odnosu na literaturni podatak ($1353 \text{ }^\circ\text{C}$), zbog velikog odnosa specifična površina/zapremina nanočestičnog praha. Uslovi elektrohemijske sinteze ne utiču značajno na termičko ponašanje prahova hidroksiapatita.

Prevlake monetita dobijene su elektroforetskim taloženjem iz etanolske suspenzije elektrohemijski sintetisanog praha monetita i ispitano je uticaj napona (10-50 V) i vremena taloženja (1-30 min) na masu i morfologiju prevlake. Masa prevlake, srednji prečnik pora, srednja površina pora i poroznost prevlaka zavise

od eksperimentalnih uslova, pa je prevlaka monetita najveće mase i najmanje poroznosti (7,32 %), dobijena pri optimizovanim parametrima taloženja od 30 V i 20 min. Prevlaka dobijena pri optimizovanim uslovima taloženja je, potapanjem u 10 % NaOH, konvertovana u prevlaku nanodimenzionog hidroksiapatita, sa odnosom Ca/P=1,67.

Elektrohemijsko taloženje prevlaka brušita na titanu izvedeno je pri galvanostatskim uslovima iz vodenog rastvora 0,042 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i 0,025 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ pri pH vrednosti od 4,0, za gustine struje u intervalu od 5,0 do 10 mA cm^{-2} i za različita vremena taloženja od 1 do 30 min, na sobnoj temperaturi. Masa i morfologija prevlaka kao i veličina kristalita i poroznost su funkcija primenjene gustine struje i vremena taloženja. Prevlake najveće mase dobijene su za najduže vreme taloženja, dok povećanje gustine struje iznad 7 mA cm^{-2} ne utiče značajno na masu prevlaka brušita. Prevlake dobijene na najvećoj gustini struje, izgrađene su od gusto pakovanih ploča, dok prevlake dobijene na nižim vrednostima gustine struje imaju rasute ploče. Prevlaka sa najmanjom veličinom kristalita od 15,6 nm i najvećom poroznosti dobijena je na gustini struje od 9,0 mA cm^{-2} za vreme taloženja od 30 min. Prevlake brušita manje poroznosti i sa kristalitima većih dimenzija dobijene su na gustinama struje u intervalu 5–7 mA cm^{-2} . Potapanjem u simuliranu telesnu tečnost, prevlake brušita su kompletno konvertovane u hidroksiapatit, što je potvrđeno skenirajućom elektronskom mikroskopijom i metodom rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku. Veličina kristalita konvertovanih prevlaka hidroksiapatita je kontrolisana gustinom struje na kojoj se formira prevlaka brušita pa se hidroksiapatit sa značajno manjom veličinom kristalita dobija na prevlaci brušita veće poroznosti, taloženoj na najvećoj gustini struje. Vreme konverzije ne utiče značajno na veličinu kristalita prevlaka hidroksiapatita i na srednji prečnik pora, ali utiče na povećanje mase, poroznosti i hrapavosti, kao i na smanjenje parametara jedinične ćelije i zapremine jedinične ćelije hidroksiapatita, usled povećanja gustine kristala. Povećanje poroznosti i hrapavosti prevlake hidroksiapatita povećava specifičnu površinu prevlake, što ovu prevlaku čini pogodnom za primenu u biomedicinske svrhe. Vrednosti za hrapavost od 0,57 μm ukazuju na to da dobijene prevlake hidroksiapatita mogu stimulisati funkcionisanje ćelija.

Prevlake hidroksiapatita su elektroforetski taložene iz etanolske suspenzije praha hidroksiapatita, dobijenog hidrotermalnom sintezom, na naponu od 30 V za vreme taloženja od 30 s. Površine prevlaka su modifikovane jonskim snopovima (implantacijom jona azota i argona). Povećanje doze implantiranih jona azota dovodi do povećanja parametara jedinične ćelije i zapremine jedinične ćelije, do smanjenja veličine kristalita i stepena kristaliniteta prevlake hidroksiapatita, ali ne utiče na morfologiju površine prevlake nakon implantacije. Implantacija jonima argona dovodi do smanjenja veličine kristalita. Za najmanju dozu implantiranih jona argona dolazi do smanjenja stepena kristaliniteta prevlake, dok se za veće doze javlja blagi porast. Parametri jedinične ćelije i zapremina jedinične ćelije hidroksiapatita rastu nakon implantacije jonima argona sa najmanjom dozom. Pri većim dozama jona argona, parametri jedinične ćelije i zapremina jedinične ćelije hidroksiapatita opadaju sa porastom doze. Implantacija jonima argona sa nižim dozama ne utiče značajno na morfologiju površine, dok implantacija sa najvećom dozom značajno utiče na morfologiju prevlake u vidu pojave koničnih formi, kao posledice efekta raspršivanja tokom interakcije jona sa prevlakom. Kod implantacije jonima azota dominantan efekat je gubitak energije u sudarima sa elektronskim omotačem, dok je kod implantacije jonima argona dominantan gubitak energije u sudarima jezgra.

Ključne reči: prevlake; monetit; brušit; hidroksiapatit; elektrohemijaska sinteza; elektrohemijasko taloženje; elektroforetsko taloženje; nanostruktura; implantacija jona.

Naučna oblast: Hemija i hemijska tehnologija

UDK broj: 624.138.5:666.3.052

BIOCERAMICS CALCIUM PHOSPHATE COATINGS ON TITANIUM PRODUCED BY ELECTROCHEMICAL TECHNIQUES

ABSTRACT

The aim of this PhD thesis was to prepare nanosized calcium-phosphate powders and coatings using electrochemical methods and to investigate the effect of experimental parameters (*e.g.* applied current density, solution pH value, applied voltage, deposition time) on the phase composition, crystallite domain size, morphology and thermal characteristics of obtained powders and coatings.

Electrochemical synthesis of nanosized monetite and hydroxyapatite powders were performed galvanostatically from homogeneous solution of $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 and CaCl_2 at a concentration relationship $\text{Ca}/\text{EDTA}/\text{PO}_4^{3-}$ of 0.25/0.25/0.15M. The influence of the solution pH and applied current density on the phase composition, morphology and thermal behavior was investigated by X-ray diffraction, infrared spectroscopy, size distribution measurements, thermogravimetric and differential thermal analysis, scanning electron microscopy and transmission electron microscopy.

At current density of 137 mA cm^{-2} and pH value of 5.0 monetite powder was synthesized. The crystallite domain size of powder was calculated to be 27.1 nm. At current densities of 137 and 207 mA cm^{-2} and pH values of 9.0 and 12.0 hydroxyapatite powders were synthesized with crystallite domain size in the range from 21.6 to 24.3 nm, meaning that pH values as well as applied current densities does not affect significantly the crystallite domain size. The morphology of synthesized hydroxyapatite powders were not influenced by current density, but on the other hand are influenced by solution pH. Powders synthesized at lower pH value consist of spherical agglomerates, while powders synthesized at higher pH value have the plate-like structure. The temperature of phase transformation from monetite to calcium pyrophosphate was lower ($1260 \text{ }^\circ\text{C}$) in comparison with literature data ($1353 \text{ }^\circ\text{C}$), due to high surface-to-volume ratio of nanosized powder. The parameters of electrochemical synthesis of hydroxyapatite powders do not affect significantly the thermal behavior.

Monetite coatings were electrophoretically deposited from ethanol suspension of electrochemically synthesized monetite powder, using constant

voltage method. The influence of applied voltage (10 – 50 V) and deposition time (1 – 30 min) on the mass and morphology of monetite coatings were investigated. It was shown that mass, mean pore area, mean pore diameter and porosity of coating are influenced by the experimental conditions. Monetite coating of highest thickness and the lowest porosity (7.32 %), deposited at 30 V and 20 min was converted to hydroxyapatite with Ca/P ratio of 1.67, by soaking in 10 % NaOH.

Electrochemical deposition of brushite coatings on titanium was performed galvanostatically from the aqueous solution of 0,042 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i 0,025 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ with the current densities between 5.0 and 10 mA cm^{-2} , for different deposition times from 1 to 30 min at room temperature. The mass, morphology, crystallite domain size and porosity of brushite coatings depends on experimental parameters. The brushite coating of the greatest mass was obtained for the longest deposition time, while the increase in current density over 7 mA cm^{-2} does not affect significantly the mass of coatings. The coatings have plate-like structure. The brushite coating with the smallest crystallite domain size of 15.6 nm and the greatest porosity was obtained at current density of 9.0 mA cm^{-2} . The less porous brushite coatings with bigger crystallite domain size were obtained at lower current densities (5–7 mA cm^{-2}). Brushite coatings were fully converted to hydroxyapatite in simulated body fluid which was confirmed by X-ray diffraction and scanning electron microscopy. The crystallite domain size of hydroxyapatite coatings is controlled by applied current density for brushite coatings deposition; crystallization of hydroxyapatite at more porous brushite coatings, deposited at higher current density, caused the formation of smaller crystallites of hydroxyapatite.

Increase in soaking time does not affect significantly the crystallite domain size of hydroxyapatite coatings, but decreases the unit-cell parameters and unit-cell volume, as a consequence of increased crystal density. Moreover, increase in soaking time increases the hydroxyapatite coating mass, roughness, pore number and porosity, while does not affect significantly the mean pore area. The hydroxyapatite grow in simulated body fluid based on dissolution-precipitation mechanism was confirmed. Since the soaking time does not affect significantly the crystallite domain size, it could be proposed that nucleation of hydroxyapatite

dominates over crystal growth. Increase in coating mass suggesting that precipitation dominates over dissolution and occurred through heterogeneous nucleation. On the basis of all experimental results it could be concluded that increase in hydroxyapatite coating porosity, as well as coating roughness, make this coating suitable for biomedical applications, because it is believed that porosity contributes to better protein adsorption as well as bone-like apatite formation. Additionally, the increase in hydroxyapatite coatings roughness points out that our hydroxyapatite coatings could stimulate cellular response.

Hydroxyapatite coatings were electrophoretically deposited from ethanol suspension of hydroxyapatite powder, obtained by hydrothermal synthesis, at applied voltage of 30 V for deposition time of 30 s. Surface modification of coatings were conducted by ion implantation, using nitrogen and argon ions. In the case of hydroxyapatite coatings implanted with nitrogen ions, the unit-cell parameters and unit-cell volume increase with increasing nitrogen ion fluences, the crystallite domain size as well as crystallinity decreases, while it does not influence the coating topography. After implantation with argon ions, crystallite domain size of hydroxyapatite coatings decreases. The unit-cell parameters and unit-cell volume increase after argon ions irradiation with lower fluence, while the crystallinity decreases. At higher fluences of argon ions, the unit-cell parameters and unit-cell volume decrease, while the slight increase in coatings crystallinity was observed. The implantation with the highest fluence of argon ion alters the topography of hydroxyapatite coatings and cone-like structure can be observed. These structural changes are consequence of different mechanism of energy transfer of nitrogen and argon ions to hydroxyapatite coatings. For nitrogen ion irradiation electron energy loss is predominant, while for argon ion irradiation nuclear energy transfer to hydroxyapatite film prevails.

Key words: coatings; monetite; brushite; hydroxyapatite; electrochemical synthesis, electrochemical deposition; electrophoretic deposition; nanostructure; ion implantation.

Scientific Field: Chemistry and Chemical Technology

UDC number: 624.138.5:666.3.052

SADRŽAJ

1. Uvod	1
2. Teorijski deo	2
2.1. Nanostrukturni materijali	2
2.2. Koštano tkivo	3
2.3. Biomaterijali	4
2.3.1. Biološki koštani supstituenti	4
2.3.2. Sintetički koštani supstituenti	4
2.3.2.1. Biokeramički materijali na bazi kalcijum-fosfata	6
2.4. Struktura, osobine i dobijanje biokeramičkih kalcijum-fosfatnih materijala	9
2.4.1. Stabilnost kalcijum-fosfatnih jedinjenja	9
2.4.2. Prevlake kalcijum-fosfata na metalnim supstratima	12
2.4.3. Monetit i brušit	14
2.4.4. Hidroksiapatit	20
2.4.5. Elektroforetsko taloženje kalcijum-fosfatnih prevlaka	27
2.4.6. Elektrohemijско taloženje kalcijum-fosfatnih prevlaka	31
2.4.7. Ponašanje kalcijum-fosfata u simuliranoj telesnoj tečnosti (in vitro ispitivanja)	39
3. Cilj istraživanja	44
4. Eksperimentalni deo	46
4.1. Elektrohemijски postupci dobijanja prahova	46
4.1.1. Elektrohemijaska sinteza praha monetita	46
4.1.1.1. Karakterizacija praha monetita	46
4.1.1.1.1. Rendgenska difrakciona analiza	46
4.1.1.1.2. Infracrvena spektroskopska analiza	47
4.1.1.1.3. Raspodela veličine čestica	47
4.1.1.1.4. Skenirajuća elektronska mikroskopija	47
4.1.1.1.5. Diferencijalna termijska i termogravimetrijska analiza	47
4.1.2. Elektrohemijaska sinteza praha hidroksiapatita	47
4.1.2.1. Karakterizacija praha hidroksiapatita	48

4.1.2.1.1	Rendgenska difrakciona analiza	48
4.1.2.1.2	Raspodela veličine čestica	49
4.1.2.1.3	Transmisiona elektronska mikroskopija	49
4.1.2.1.4	Skenirajuća elektronska mikroskopija	49
4.1.2.1.5	Diferencijalna termijska i termogravimetrijska analiza	49
4.2.	Elektrohemijski postupci dobijanja prevlaka	49
4.2.1.	Elektroforetsko taloženje prevlaka monetita na titanu iz etanolske suspenzije	49
4.2.1.1.	Konverzija prevlaka monetita u hidroksiapatit potapanjem u NaOH	51
4.2.1.2.	Karakterizacija prevlaka monetita i hidroksiapatita na titanu	51
4.2.1.2.1	Rendgenska difrakciona analiza	51
4.2.1.2.2	Skenirajuća elektronska mikroskopija	51
4.2.2.	Elektroforetsko taloženje prevlaka hidroksiapatita na titanu iz etanolske suspenzije	51
4.2.2.1.	Modifikacija površine elektroforetski taloženih prevlaka hidroksiapatita na titanu jonskim snopovima (implantacija jona N^{4+} i Ar^{6+})	52
4.2.2.2.	Karakterizacija neimplantiranih i implantiranih prevlaka hidroksiapatita na titanu	53
4.2.2.2.1	Rendgenska difrakciona analiza	53
4.2.2.2.2	Skenirajuća elektronska mikroskopija	54
4.2.3.	Elektrohemijsko taloženje prevlaka brušita na titanu	54
4.2.3.1.	Priprema simulirane telesne tečnosti	56
4.2.3.2.	Konverzija prevlaka brušita u hidroksiapatit potapanjem u simuliranu telesnu tečnost (in vitro ispitivanja)	56
4.2.3.3.	Karakterizacija prevlaka brušita i hidroksiapatita na titanu	57
4.2.3.3.1	Rendgenska difrakciona analiza	57
4.2.3.3.2	Skenirajuća elektronska mikroskopija	57
4.2.3.3.3	Mikroskopija atomskih sila	58
4.2.3.3.4	Atomska apsorpciona spektroskopija	58
4.2.3.3.5	UV-Vis spektroskopija	58

5. Rezultati i diskusija	59
5.1. Elektrohemijski postupci dobijanja prahova	59
5.1.1. Elektrohemijska sinteza praha monetita	59
5.1.1.1. Rendgenska difrakciona i infracrvena spektroskopska analiza	59
5.1.1.2. Raspodela veličine čestica	61
5.1.1.3. Skenirajuća elektronska mikroskopija	62
5.1.1.4. Diferencijalna termijska i termogravimetrijska analiza	63
5.1.2. Elektrohemijska sinteza praha hidroksiapatita	65
5.1.2.1. Rendgenska difrakciona analiza	65
5.1.2.2. Raspodela veličine čestica	67
5.1.2.3. Transmisiona elektronska mikroskopija	69
5.1.2.4. Skenirajuća elektronska mikroskopija	70
5.1.2.5. Diferencijalna termijska i termogravimetrijska analiza	72
5.2. Elektrohemijski postupci dobijanja prevlaka	74
5.2.1. Elektroforetsko taloženje prevlaka monetita na titanu iz etanolske suspenzije	74
5.2.1.1. Uticaj napona i vremena taloženja na masu prevlaka monetita	74
5.2.1.2. Rendgenska difrakciona analiza	77
5.2.1.3. Skenirajuća elektronska mikroskopija	78
5.2.2. Konverzija prevlake monetita u hidroksiapatit potapanjem u NaOH	79
5.2.2.1. Rendgenska difrakciona analiza	79
5.2.2.2. Skenirajuća elektronska mikroskopija	81
5.2.3. Elektroforetsko taloženje prevlaka hidroksiapatita na titanu iz etanolske suspenzije	81
5.2.3.1. Modifikacija površine prevlaka hidroksiapatita na titanu jonskim snopovima (implantacija jona N^{4+} i Ar^{6+})	81
5.2.3.1.1 Rendgenska difrakciona analiza i skenirajuća elektronska mikroskopija praha i neimplantirane prevlake hidroksiapatita	81

5.2.3.1.2	Rendgenska difrakciona analiza i skenirajuća elektronska mikroskopija implantiranih prevlaka hidroksiapatita jonima azota i argona	84
5.2.4.	Elektrohemijsko taloženje prevlaka brušita na titanu	92
5.2.4.1.	Katodna polarizaciona merenja	92
5.2.4.2.	Uticaj gustine struje i vremena taloženja na masu prevlaka brušita	95
5.2.4.3.	Rendgenska difrakciona analiza	98
5.2.4.4.	Skenirajuća elektronska mikroskopija	101
5.2.5.	Konverzija prevlaka brušita u hidroksiapatit potapanjem u simuliranu telesnu tečnost (in vitro ispitivanja)	102
5.2.5.1.	Rendgenska difrakciona analiza i skenirajuća elektronska mikroskopija	102
5.2.5.2.	Mikroskopija atomskih sila	113
5.2.5.3.	Atomska apsorpciona i UV-Vis spektroskopija	115
6.	Zaključci	118
7.	Literatura	122

1. Uvod

Živa bića imaju sposobnost da proizvedu različite visokofunkcionalne materijale [1]. Među takvim materijalima kalcijum-fosfati su od naročitog značaja jer su najznačajniji neorganski konstituenti čvrstih tkiva kod kičmenjaka [2]. U formi nestehiometrijskog, jonski supstituisanog i kalcijum-deficitarnog hidroksiapatita (CDHA), (najčešće se odnosi na biološki apatit), kalcijum-fosfati su prisutni u kostima, zubima i tetivama, dajući ovim organima stabilnost, tvrdoću i funkcionalnost [3-6].

Biološka mineralizacija (biomineralizacija) je proces formiranja neorganskih molekula *in vivo*. U procesu biomineralizacije, organski molekuli „kontrolišu“ nukleaciju, rast, morfologiju i uređenost neorganskih kristala. Biološki formiran kalcijum-fosfat (biološki apatit) uvek je nanodimenzionalan i nanokristalni, a formira se *in vivo* pri blagim uslovima [7].

Prema definiciji koja je usvojena ISO standardom 1942-1:1989/Amd.5:1993 (E/F) biokompatibilnost je kvalitet materijala da bude prihvaćen u specifičnom živom okruženju bez nepovoljnih ili neželjenih sporednih efekata [8]. Iz tog razloga biokompatibilni materijali za implantate moraju da budu netoksični, nekancerogeni, sa minimalnom reakcijom na strano telo ili njenim potpunim odsustvom, hemijski stabilni i otporni na koroziju [8-10].

Prema European Society for Biomaterials Consensus Conference iz 1986. godine, biomaterijal je definisan kao materijal koji nije sposoban za život, a koji se upotrebljava kao medicinsko sredstvo sa ciljem da uzajamno deluje sa biološkim sistemima, dok je biokeramika definisana kao keramika koja se primenjuje kao biomaterijal [11]. Biomaterijali imaju važnu ulogu u zameni ili poboljšanju funkcionisanja svih velikih sistema u organizmu: skeletnog i nervnog sistema kao i krvotoka. Primenjuju se različite vrste biomaterijala, kao što su metal, keramika i polimeri, prirodni ili kompozitni materijali [12]. Veliki broj hiruških intervencija koje zahtevaju rekonstrukciju unutrašnjeg tkiva ili plasiranje proteza, imaju zahtev da primenjena sredstva budu izrađena od keramike jer se keramika veoma dobro integriše sa živim tkivima i ima beznačajnu toksičnost [13].

2. Teorijski deo

2.1. Nanostrukturni materijali

U diskusiji o okvirima za definisanje nano-dimenzija, prezentovanim u European Commission, nanoskala je definisana u intervalu 100 nm ili manje [14]. Nanostrukturni materijal definiše se kao materijal koji sadrži strukturne elemente (npr. klastere, kristalite ili molekule) sa dimenzijama od 1 do 100 nm [15], dok su nanoprahovi ekstremno fini prahovi sa srednjom veličinom čestica u intervalu 1 do 100 nm [6].

Svi nanofazni materijali imaju jedinstvene karakteristike površine, kao što je povećan broj granica zrna i defekata na površini, veoma razvijenu površinu i izmenjenu elektronsku strukturu, u poređenju sa materijalima mikronske strukture, što izuzetno utiče na njihove hemijske i fizičke karakteristike [16,17]. Visok odnos površina/zapremina kod nanomaterijala obezbeđuje veliku pokretačku snagu za difuziju, posebno na povišenim temperaturama, što ima za posledicu bolju sinterabilnost [1,18,19]. Određene karakteristike površine nanodimenzionalnih kalcijum-fosfata (veći broj pora nanodimenzija, hrapavost, veliki zapreminski udeo granice zrna) utiču na vrstu i količinu adsorpcije selektivnih proteina koji mogu povećati specifičnu adheziju osteoblasta [10,20], povećavaju biokompatibilnost [21,22], proliferaciju i mineralizaciju, kao i osteointegraciju [23]. Nanostrukturni materijali imaju različita mehanička, električna, magnetna i optička svojstva u poređenju sa materijalima čija struktura ima krupniju veličinu kristalita, a hemijski sastav im je isti [24,25]. Mehaničke karakteristike (tvrdoća i žilavost) kalcijum-fosfatne biokeramike se poboljšavaju sa smanjenjem dimenzija čestica od submikronskih do nanometarskih [26]. Poznato je da su prirodni kalcijum-fosfati u kostima i zubima nanodimenzija. Iz tog razloga je osnovni cilj nanostrukturne kalcijum-fosfatne biokeramike da imitira građu kostiju i zuba [27].

Da bi redukovali površinsku energiju, svi nanodimenzionalni materijali teže da aglomerišu. Da bi se izbegla samoagregacija kalcijum-fosfatnih nanočestica [28] mora preduzeti posebna predostrožnost.

Nanodimenzionalne i nanokristalne forme kalcijum-fosfata mogu imitirati i sastav i dimenzije komponenata bioloških čvrstih tkiva, pa se oni primenjuju kao biomaterijali zbog odlične biokompatibilnosti [29,30]. Materijali sa česticama nanodimenzija imaju veću duktilnost, što je posledica specifičnosti faza na granici zrna, sintešu na nižoj temperaturi, čime se smanjuju problemi vezani za promenu hemijskog sastava supstrata [31], dok krta keramika sa zrnima nanodimenzija može podneti velike plastične deformacije [32]. Iz tog razloga, nanodimenzionalni i nanokristalni oblici biokeramike predstavljaju perspektivnu grupu ortopedskih i zubnih implantata sa poboljšanim biološkim i biomehaničkim karakteristikama u poređenju sa materijalima dobijenim konvencionalnim metodama [1,33,34].

2.2. Koštano tkivo

Biohemijski, kost se definiše kao specifična kombinacija organske osnove (35%) i neorganskih elemenata (65%). Neorganski deo kosti se najvećim delom sastoji od kalcijum-fosfata, značajne količine citratnih i karbonatnih jona i tragova fluorida, magnezijuma i natrijuma [2,7]. Kalcijum-fosfat koji se nalazi u kostima je veoma sličan, ali nije identičan mineralu hidroksiapatitu (HA). U kostima se nalazi tzv. karbonatni HA (CHA), koji predstavlja glavnu komponentu ljudske kosti, i može se opisati približnom formulom $(Ca,Mg,Na)_{10}(PO_4,CO_3)_6(OH)_2$. Kristaliti koštanog apatita su pločasti, sa veličinom čestica u nanooblasti, dužine i širine 50 x 20 nm i debljine 2 – 5 nm [35]. Organska komponenta kosti je najvećim delom kolagen. Kombinacija minerala HA i kolagenske osnove daje kostima čvrstoću i tvrdoću. Kost je dinamičko živo tkivo i sastoji se od živih ćelija koje izgrađuju kost (osteociti i osteoblasti) i ćelija koje vrše resorpciju stare kosti tokom oporavka kosti (osteoklasti). Zajedno sa osteoblastima i osteoklastima kost se stalno obnavlja i rekonstruiše u toku životnog veka jedinke [2,36], ali ova sposobnost slabi sa starenjem i ograničena je na male povrede kostiju.

Čvrsti zamenici kosti su transplantacioni ili implantacioni materijali, humanog, životinjskog ili sintetskog porekla i primenjuju se u slučajevima kada kost nije sposobna da se regeneriše, (uklanjanja tumora kosti, gubitak kosti u nesrećama, komplikovani lomovi kostiju) [37]. Zamenici kosti mogu reagovati na

kost domaćina putem tri različita mehanizma: osteokondukcija (formiranjem kosti prema implantatu sa i na kost domaćina), osteoindukcija (indukcija formiranja nove kosti od strane koštanog supstituenta) i osteogeneza (stvaranje kosti pomoću koštanog supstituenta i u odsustvu nediferenciranih mezenhimalnih ćelija i u okolini u kojoj nema kosti) [38].

2.3. Biomaterijali

2.3.1. Biološki koštani supstituenti

Prema poreklu, biološki koštani supstituenti se mogu podeliti na autograftove, alograftove i ksenograftove [8,36,39]. Autograftovi su transplantati uzeti iz tela istog pacijenta, tako da u ovom slučaju nema komplikacija vezanih za biokompatibilnost, niti za imunološki odgovor organizma pa je omogućena brza regeneracija kosti. Alograftovi predstavljaju demineralizovani koštani matriks (DBM) dobijen od donora (neke druge jedinke iste vrste). Ksenograftovi podrazumevaju transplantaciju koštanog tkiva sa jedne vrste na drugu (sinterovani apatit govečeta, kolagen iz svinja, toplotno tretirani korali i sl.).

2.3.2. Sintetički koštani supstituenti

Podele sintetičkih biomaterijala su raznovrsne i mogu se vršiti prema različitim kriterijumima. Prema mestu krajnje upotrebe, mogu biti: ortopedski, dentalni, kardiovaskularni, oftalmološki, dermatološki, pomoćni, itd [40]. Najčešća podela biomaterijala je po hemijskom sastavu na metalne, polimerne i keramičke [11]. Osnovna prednost keramike, kao potencijalnog implantata, nad drugim materijalima je njena biokompatibilnost, dok je nedostatak najvećeg broja biokeramika krtošć i niska vrednost za žilavost, što može da utiče na pouzdanost implantata. Jedan od osnovnih načina za povećanje žilavosti keramike je formiranje kompozita ili prevlaka na metalnim supstratima (kombinuje se jačina i trajnost metala i površinski aktivne karakteristike biokeramike).

Prema interakciji živog tkiva i implantata biomaterijali se dele na bioinertne, bioaktivne i bioresorptivne (tabela 2.1.) [11].

Tabela 2.1. Klasifikacija biokeramike [11]

Podgrupe biokeramike	Vrsta biokeramike	Kontakt sa tkivom
Bioinertna keramika	Al ₂ O ₃ , niskotemperaturni izotopski (LIT) ugljenik, staklasti ugljenik, Co-Cr-Mo legure, ZrO ₂	mehanički
Bioaktivna keramika	HA, bioaktivna stakla, bioaktivna staklo-keramika	veza na graničnoj površini
Bioresorptivna keramika	trikalcijum-fosfat, kalcijum-sulfat, trinatrijum-fosfat	zamena
Kompoziti	HA/autogena kost, površinski aktivna staklokeramika, poli(metil metakrilat) (PMMA), površinski aktivno staklo, metalna vlakna, se polilaktidna kiselina (<i>eng.</i> polylactic acid) (PLA)/ugljenična vlakna, PLA/HA, PLA/kalcijum/staklena vlakna na bazi fosfora	zavisno od materijala

Bioinertna keramika ne vrši nikakav uticaj na okolna tkiva, niti tkiva vrše bilo kakav uticaj na nju. Njihovim implantiranjem u telo započinje zaštitna faza koja dovodi do formiranja vlaknaste kapsule putem neprijanjajuće vlaknaste prevlake debljine oko 1 µm [11,35,41]. Primjenjuje se na mestima koja treba da izdrže velika mehanička opterećenja (glave kod proteze kuka, delovi proteze kolena) [13]. Sličan je odgovor kada se metal ili polimer implantiraju u organizam.

Bioaktivna keramika ima sposobnost da vrši određeni biološki uticaj na tkiva, kao i da trpi uticaj ovih tkiva. Reakcija jonske izmene koja se odigrava između bioaktivnog implantata i okolne telesne tečnosti, dovodi do formiranja sloja biološki aktivnog karbonatnog apatita na površini implantata. Biološki apatit formiran na ovaj način je hemijski i kristalografski ekvivalentan mineralnoj fazi kosti [12,13,35]. Bioaktivna keramika je, generalno, po hemijskom sastavu,

kalcijum-fosfati. Najčešće se primenjuje HA ili kompoziti HA [42-44], staklo-keramika [45,46] i biostaklo[®] [47,48].

Bioresorptivna keramika je materijal koji, odmah nakon apliciranja u organizam, počinje da se delimično ili potpuno resorbuje i na taj način delimično ili kompletno nestaje tokom vremena, bivajući zamenjeni novim tkivom [12,41]. Idealno, brzina resorpcije biomaterijala treba da odgovara brzini formiranja nove kosti. U ovu grupu materijala se ubrajaju trikalcijum-fosfat (TCP) i kopolimeri polilaktidna-poliglikolna kiselna (eng. polylactic-polyglycolic acid).

2.3.2.1. Biokeramički materijali na bazi kalcijum-fosfata

Kao osnovna neorganska komponenta kosti, kalcijum-fosfati se dugo primenjuju u medicini. Prva sinteza apatita urađena je sredinom 19 veka [49]. Pravi napredak primene kalcijum-fosfata u medicini dogodio se sedamdesetih godina prošlog veka, kada je otkriveno da su biostaklo (staklo koje sadrži kalcijum-fosfat) i HA keramika osteokonduktivni materijali. Nakon toga, kalcijum-fosfatni biomaterijali su postali najinteresantniji veštački koštani implantati [36].

Osnovni razlog za upotrebu kalcijum-fosfata kao materijala za koštane supstituente leži u njihovoj sličnosti sa mineralnom komponentom kostiju i zuba kod sisara [1,50-52]. Ovi materijali su netoksični, biokompatibilni, organizam ih ne prepoznaje kao strano telo i, najvažnije, istovremeno imaju bioaktivno ponašanje i integrisanje u živa tkiva na isti način kao i remodelovanje zdrave kosti. To dovodi do formiranja bliske fizičko-hemijske veze između implantata i kosti, odnosno do osteointegracije. Za kalcijum-fosfate je, takođe, poznato da podržavaju adheziju osteoblasta i proliferaciju [53,54].

Kalcijum-fosfatna keramika se proizvodi kao gusta ili porozna i to u formi gustih blokova, poroznih blokova, prahova ili čestica i u obliku prevlaka. Iako kalcijum-fosfatna keramika ima dobre karakteristike u smislu biomaterijala, kao što je već navedeno, najveće ograničenje za primenu kalcijum-fosfata kao nosećih delova su njihove mehaničke karakteristike: naime, oni su kruti i imaju malu otpornost na zamor [55]. Zato se kalcijum-fosfatna keramika primenjuje na

mestima koja ne trpe velika opterećenja. Loše mehaničke karakteristike su još više izražene kod visokoporozne keramike i skafolda jer imaju poroznost veću od 100 μm , što je, sa druge strane neophodno da bi se obezbedila odgovarajuća vaskularizacija i kolonizacija koštanim ćelijama [56]. Iz tog razloga se, u biomedicinskoj primeni, kalcijum-fosfati primarno koriste kao ispune [57] ili prevlake za stomatološke i ortopedske implantate [58,59], maksilofacijalnu hirurgiju [60,61], skafoldi za rast kostiju [62], materijali za kompletni zamenu u hirurgiji kuka i kolena [63], kao nosači lekova [64].

Jedanaest poznatih, nesupstituisanih kalcijum-fosfata sa molskim odnosom Ca / P između 0,5 i 2 prikazani su u tabeli 2.2. Zbog svoje velike rastvorljivosti, kiselosti, odnosno baznosti, materijali na bazi kalcijum-fosfata koji imaju molarni odnos Ca/P manji od 1 i veći od 2 nisu pogodni za implantaciju u organizam [65,66].

Tabela 2.2. Karakteristike biološki značajnih kalcijum-fosfata [67,68]

Molski odnos Ca / P	Jedinjenje	Formula
0,5	Monokalcijum-fosfat monohidrat (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
0,5	Anhidrovani monokalcijum-fosfat (MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$
1,0	Dikalcijum-fosfat dihidrat (DCPD), mineral brušit	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
1,0	Dikalcijum-fosfat anhidrovani (DCPA), mineral monetit	CaHPO_4
1,33	Oktakalcijum-fosfat (OCP)	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
1,5	α -trikalcijum-fosfat (α -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
1,5	β -trikalcijum fosfat (β -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
1,2 – 2,2	Amorfni kalcijum-fosfat (ACP)	$\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$, $n=3 - 4,5; 15 - 20 \% \text{H}_2\text{O}$
1,5 – 1,67	Kalcijum deficitaran hidroksiapatit (CDHA)	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ $0 < x < 1$
1,67	Hidroksiapatit (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
1,67	Fluoroapatit (FA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$
2,0	Tetrakalcijum-fosfat (TTCP),	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$

Karakteristike materijala u masi i na površini direktno utiču na interakciju implantata i tkiva domaćina od momenta *in vivo* plasiranja pa do kraja integracije implantata. Ove karakteristike materijala je neophodno ispitati i poznavati pre primene *in vivo*. Takođe, od presudnog značaja je poznavanje ponašanja materijala pod opterećenjem u fiziološkoj sredini, pri uslovima kojima će biti izložen implantat nakon plasiranja u organizam. Biološki odziv organizma prema biomaterijalu je kontrolisan strukturom površine, hemijom na površini, površinskom morfologijom, kvašljivosti, površinskim naelektrisanjem i površinskom energijom biomaterijala. Karakteristike površine biomaterijala koje utiču na njihovu interakciju sa proteinima su [54,59,69,70]:

Morfološke karakteristike - Poroznost i hrapavost površine utiču na adsorpciju proteina, pričvršćivanje, proliferaciju i deobu ćelija, kao i na brzinu i kvalitet novoformiranog tkiva na kontaktu dve površine. Razvijenija površina (postojanje pora i brazdi) obezbeđuje veću specifičnu površinu za interakciju sa biomaterijalima. Na površinama sa većom hrapavošću povećava se funkcija osteoblasta, dok porozne strukture poboljšavaju osteoindukciju, u poređenju sa glatkim površinama i neporoznim strukturama, redom [11,53,71-74]. Postoji nekoliko aspekata poroznosti: veličina pora, ukupna zapremina pora, odnos zapremine pora i ukupne zapremine uzorka, povezanost pora [75]. Kontrola svakog od njih pojedinačno je veoma važna. U poređenju sa kompaktnim, porozan materijal ima prednost zbog mogućnosti urastanja tkiva u pore, omogućavajući biološku fiksaciju implantata. U poroznom obliku, kalcijum-fosfatna keramika se može kolonizovati koštanim tkivom. Iz tog razloga se makroporoznost (veličina pora $>100 \mu\text{m}$) u čvrstim materijalima ciljno povećava dodavanjem porogena, koji su ili isparljive ili rastvorne supstance (naftalin, NaHCO_3 , želatin, saharoza). Drugi način dobijanja porozne trodimenzionalne biokeramike na bazi kalcijum-fosfata je sinterovanje čestica. Mikroporoznost (veličina pora $<10 \mu\text{m}$) nastaje u toku procesa sinterovanja, dok dimenzije pora zavise od temperature i vremena sinterovanja [67].

Hemijski sastav - hemijski sastav površine utiče na interakciju materijala sa proteinima [59]. Interakcija površine implantata i fiziološke sredine podrazumeva rastvaranje na površini implantata, povećanje koncentracije kalcijumovih i

fosfornih jona u okolini implantata što dovodi do formiranja biološkog apatita. Smatra se da je jačina vezivanja biomaterijala i kosti uslovljena nanokristalnim slojem biološkog apatita. U tom smislu, hemijski sastav površine implantata određuje brzinu rastvaranja površine. Prema literaturi, TCP ($\text{Ca/P} < 1,67$) rastvara se 12,3 puta brže od HA ($\text{Ca/P} = 1,67$) u kiseloj sredini i 22,3 puta brže od HA u alkalnoj sredini [75].

Heterogenost - nehomogenost površine obezbeđuje različite oblasti za interakciju sa proteinima. Metalni materijali se uglavnom sastoje od više faza. Ti-6Al-4V koji se najčešće upotrebljava kao implantat u ortopediji, sastoji se od dve faze: α - i β - faze. Metalni materijali koji sadrže zrna različitih faza na različit način mogu da interaguju sa proteinima. Dodatno, i granice zrna mogu da stupaju u kontakt sa proteinima na različite načine.

Potencijal: površinski potencijal utiče na strukturu i hemijski sastav neposrednog okruženja biomaterijala jer utiče na raspodelu jona u rastvoru pa na taj način i na interakciju površine sa proteinima. Kada biomaterijal sa velikom površinskom energijom dođe u kontakt sa biološkim okruženjem, odmah reaguje stvarajući nove veze i jedinjenja, što dovodi do smanjenja površinske energije. Iz tog razloga, površina biomaterijala sa različitom površinskom morfologijom, hemijom površine i kvašljivošću površine mogu izuzetno da utiču na interakciju ćelija i na taj način na integraciju implantata [69].

2.4. Struktura, osobine i dobijanje biokeramičkih kalcijum-fosfatnih materijala

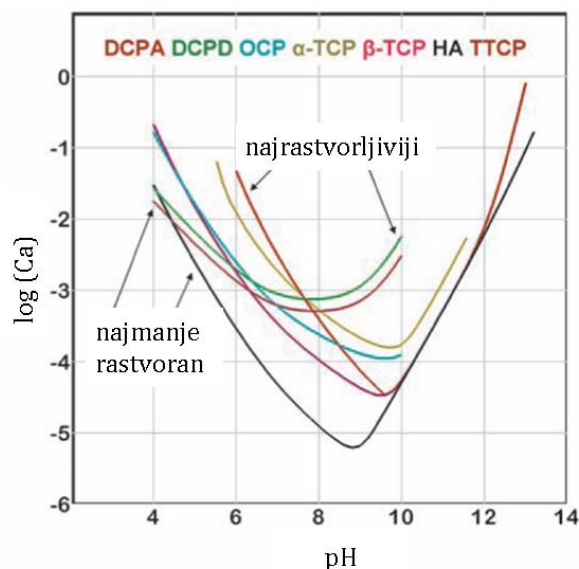
2.4.1. Stabilnost kalcijum-fosfatnih jedinjenja

Po definiciji, svi kalcijum-fosfati su izgrađeni od tri glavna elementa: kalcijuma (oksidaciono stanje +2), fosfora (oksidaciono stanje +5) i kiseonika (oksidaciono stanje -2). Dodatno, u hemijskom sastavu velikog broja fosfata nalazi se i vodonik, bilo kao kiseli fosfatni anjon (npr. HPO_4^{2-} ili H_2PO_4^-) i / ili kao strukturna voda i OH grupa. Različiti oblici oksida kalcijuma i fosfora (sa ili bez prisutne vode) mogu formirati veoma različite kalcijum-fosfate, koji se razlikuju

prema vrsti fosfatnog anjona: orto – (PO_4^{3-}), meta – (PO_3^-), piro – ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) i poli – (PO_3) $_n$). U slučaju višestruko naelektrisanih anjona (orto – i pirofosfata), kalcijum-fosfati se, takođe, razlikuju i prema broju vodoničnih jona vezanih za anjon. Primeri ovakvih jedinjenja su: mono – ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$), di – (CaHPO_4), tri – ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) i tetra – ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) kalcijum-ortofosfati. Apatiti su termodinamički najstabilnije faze među kalcijum-fosfatima zbog čega oni predstavljaju najčešći krajnji produkt mnogih reakcija [67,76]

Stabilnost pojedinih faza kalcijum-fosfata zavisi od temperature i pH vrednosti okruženja [77]. Najznačaniji parametri su Ca / P odnos, kiselost / alkalnost i rastvorljivost. Ovi parametri su usko povezani sa pH vrednosti rastvora. Što je niža vrednost Ca / P odnosa to je takav kalcijum-ortofosfat više kiseo i više rastvoran u vodi [67]. Na temperaturi tela od 37 °C, u kontaktu sa telesnim tečnostima, stabilne su samo dve faze: pri pH < 4,2 stabilna faza je DCPD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dok je pri pH > 4,2 stabilna faza HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ [78].

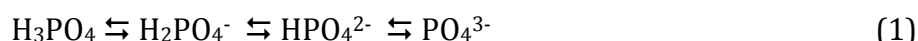
Generalno rastvorljivost kalcijum-fosfata u biološkoj sredini može se prikazati sledećim redom $\text{DCPA} > \text{DCPD} > \text{OCP} > \alpha\text{-TCP} > \beta\text{-TCP} > \text{HA} > \text{TTCP}$ [76,79], gde su DCPA i DCPD najrastvorljiviji, a HA i TTCP najstabilniji, kao što je prikazano na slici 2.1.



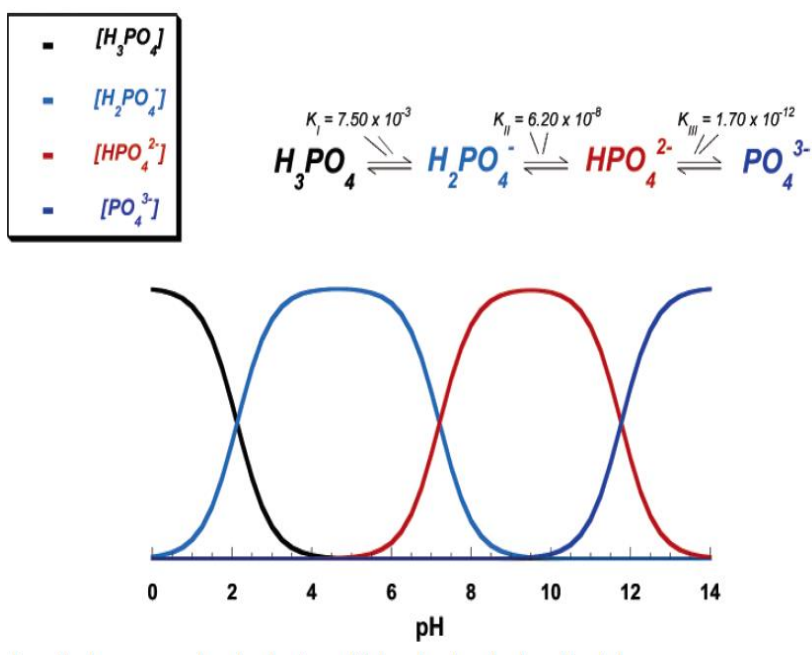
Slika 2.1. Fazni dijagram rastvorljivosti kalcijum-fosfata (DCPA-monetit, DCPD-brušit, OCP-oktakalcijum-fosfat, α -TCP - α -trikalcijum-fosfat, β -TCP - β -trikalcijum fosfat, HA-hidroksiapatit, TTCP – tetrakalcijum-fosfat) [79].

Nakon implantacije, u regiji oštećenog tkiva pH vrednost opada i nalazi se u opsegu 3,9 do 4,2, usled prisustva različitih enzima [80]. Nakon određenog vremena, pH vrednost se vraća na 7,4.

Uticao pH vrednosti na vrstu formiranog kalcijum-fosfata manifestuje se kroz uticaj pH vrednosti na vrstu fosfatnih jona prisutnih u rastvoru. Naime, varijacija u pH vrednosti rastvora utiče na pomeranje ravnoteže između četiri vrste jona u fosfornoj kiselini. U rastvorima koji sadrže fosfate, postoji ravnoteža fosfatnih jona, kao što je prikazano jednačinom (1):



Odgovarajuće vrednosti za konstante ravnoteža su $K_{\text{I}} = 7,50 \cdot 10^{-3}$, $K_{\text{II}} = 6,20 \cdot 10^{-8}$ i $K_{\text{III}} = 1,70 \cdot 10^{-12}$. S obzirom na ravnotežu koja postoji, promena pH dovodi do promene relativne koncentracije četiri jonske vrste, kao što je šematski prikazano na slici 2.2. [81].



Slika 2.2. Promena relativne koncentracije jonskih vrsta sa promenom pH u rastvoru fosforne kiseline [81].

2.4.2. Prevlake kalcijum-fosfata na metalnim supstratima

Prirodna kost je porozni materijal i zato postoji fiziološki razlog za primenu poroznih materijala kao zamene na mestima oštećenja jer porozne strukture omogućavaju napajanje međupovršine implantata krvlju i kiseonikom i olakšavaju srastanje kosti i učvršćivanje implantata [69]. Porozni HA ima malu mehaničku jačinu i ne može se koristiti kao noseći element. Iz tog razloga se primenjuju metali i metalne legure kao potpora bioaktivnom materijalu [35].

Dve vrste Ti supstrata koje se najviše komercijalno upotrebljavaju su čist Ti (ASTM F67) i Ti-6Al-4V legura (ASTM F136) [40]. Ove legure su izazvale veliko interesovanje u smislu nosećih implantata zbog svojih dobrih mehaničkih karakteristika (zatezna čvrstoća i zamor), hemijske stabilnosti (korozijska stabilnost) i biokompatibilnost pri *in vivo* uslovima [10,69].

Titan se uspešno primenjuje kod endoproteza (totalna zamena zgloba kuka) i u formi kočica kod veštačkih zuba. Iako u literaturi postoje podaci o maloj brzini korozijske implantata *in vitro*, pokazano je da je korozijska *in vivo* veća, zbog interakcije implantata sa telesnom tečnošću, proteinima i ćelijama, koja dovodi do otpuštanja jona (Al i V) iz legure titana i njegove akumulacije u susedno tkivo ili migracije u ostale delove tela [69,82], što može dovesti do pojave alergijskih reakcija [83].

Sam materijal, kao i biološki odziv materijala mogu se izmeniti promenom fizičko-hemijskih karakteristika materijala (površinska energija, površinsko naelektrisanje ili sastav površine) i promenom morfoloških karakteristika (formiranje tri-dimenzionih karakteristika u obliku pora, rešetke, kolona, tačaka, rupica i slučajne hrapavosti). Ove karakteristike materijala simuliraju matricu za ćelije, prirodno okruženje za ćelije koje ima složenu nano- i makro- arhitekturu (građu) [69]. Formiranje kalcijum-fosfatnih prevlaka na metalnoj osnovi ubrzava rast koštanog tkiva i eliminiše metalne jone koji mogu da se ponašaju kao inhibitori kalcifikacije. U cilju poboljšanja korozijske stabilnosti, biokompatibilnosti i bioaktivnosti materijala, primenjuju su različiti načini modifikacije površine materijala, i to direktnom modifikacijom samog metala (hrapavljenje jonskim snopom, hemijsko nagrivanje, plazma hrapavljenje, UV-zračenje, mehaničko hrapavljenje, implantacija jonima) ili prevlačenjem metala biokompatibilnim

prevlakama [69,84,85]. Implantacija jonima predstavlja bombardovanje površine materijala jonima velike energije. Ovakvi joni prodiru u materijal (površinu materijala) dovodeći do značajnih promena u hemijskom sastavu i strukturi u pri-površinskoj oblasti [86].

Prevlake kalcijum-fosfata se nanose sa ciljem da se jaki, ali neosteokonduktivni biomaterijali (metali/metalne legure) učine osteokonduktivnim, da se supstrat zaštiti od korozije kao i da se dobije biokompatibilni implantat [59,87]. Nanošenje prevlaka na supstrat omogućava iskorišćavanje pozitivnih osobina oba materijala, pa se biokeramičke prevlake koriste na metalnim supstratima kada je potrebno kombinovati otpornost metala na lom sa sposobnošću prevlaka da predstavljaju bioaktivnu površinu.

Najčešće se primenjuju prevlake na bazi kalcijum-fosfatnih jedinjenja. Prevlake HA koje se primenjuju kao implantati moraju ispuniti nekoliko zahteva: moraju imati odgovarajuću kristalnu fazu, debljinu, strukturu, morfologiju, poroznost, kvašljivost, dobru adheziju za supstrat, visoku čvrstoću, da nema promena supstrata nakon plasiranja u organizam. Poznato je da jedinjenja kalcijum-fosfata imaju sposobnost osteokondukcije i da na taj način poboljšavaju fiksiranje između kosti i implantata [11,59].

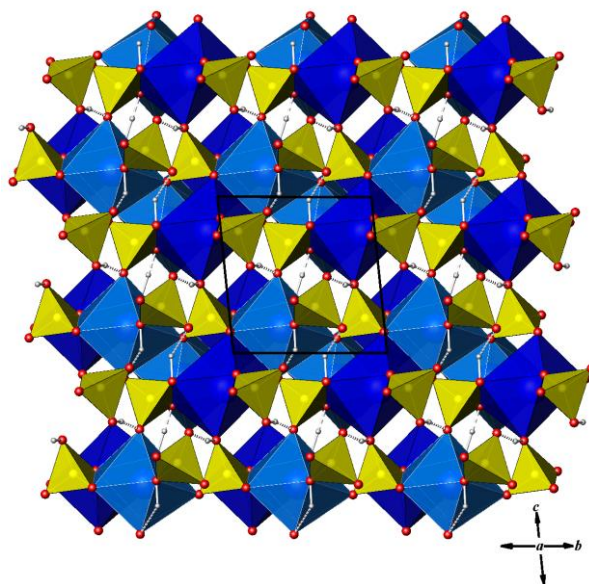
Trajnost kalcijum-fosfatne prevlake se zasniva na stabilnosti prevlake u fiziološkom okruženju. Najvažniji parametri koji utiču na ponašanje implantata prevučениh kalcijum-fosfatnim prevlakama tokom dugotrajne primene su jačina veze između prevlake i implantata kao i brzina rastvaranja prevlake. Optimalna debljina HA prevlaka trebalo bi da leži u intervalu od 30 do 100 μm . Pokazalo se da se bioresorpcija prevlaka odigrava veoma brzo ukoliko je njihova debljina manja od 30 μm , a da se kod prevlaka čija je debljina veća od 100 μm javlja sklonost ka lomu usled zamora materijala. Poroznost primenjenih HA prevlaka takođe utiče na mehaničke karakteristike prevlaka. Prevlake velike poroznosti imaju lošije mehaničke osobine jer se povećava brzina razgradnje, dovodeći do pogoršanja mehaničkih karakteristika na granici kost-prevlaka [87].

Sastav prevlaka može biti izmenjen tokom procesa formiranja prevlaka, što dovodi do formiranja krajnjeg proizvoda koji se hemijski ili strukturno može razlikovati od polaznog materijala. Sastav, čistoća, stepen kristaliniteta, debljina i

poroznost primenjenih prevlaka mogu i moraju biti kontrolisane tokom procesa primene.

2.4.3. Monetit i brušit

Hemijska formula dikalcijum-fosfata anhidrovanog (DCPA), odnosno minerala monetita je CaHPO_4 . DCPA kristališe triklično, prostorna grupa je $P\bar{1}$, sa parametrima jedinične ćelije $a=6,910(1)$, $b=6,627(2)$, $c=6,998(2)$ Å i $\alpha=96,34(2)^\circ$, $\beta=103,82(2)^\circ$ i $\gamma=88,33(2)^\circ$, i zapreminom jedinične ćelije $V=309,28$ Å³ [88]. Njegova kristalna struktura se sastoji od lanaca CaHPO_4 koji su međusobno povezani Ca-O vezama i tri tipa vodoničnih veza [89].



Slika 2.3. Poliedarski prikaz kristalne strukture monetita.

Monetit je jedinjenje kalcijum-fosfata, umereno kiselo i rastvorno u fiziološkim uslovima. Ne pojavljuje se ni u normalnoj ni u patološkoj kalcifikaciji. Primenuje se kao praškasta komponenta samoočvršćavajućih kalcijum-fosfatnih pasta za reparaciju koštanog tkiva [90] ili kao jednokomponentni sistem za reparaciju [91] jer je ovakav cement pokazao bolju bioresorptivnost tokom ispitivanja od cemenata na bazi apatita, kod zubnih cemenata [92-94], pri proizvodnji pasta za zube i u industriji hrane kao aditiv i regulator kiselosti [95,96].

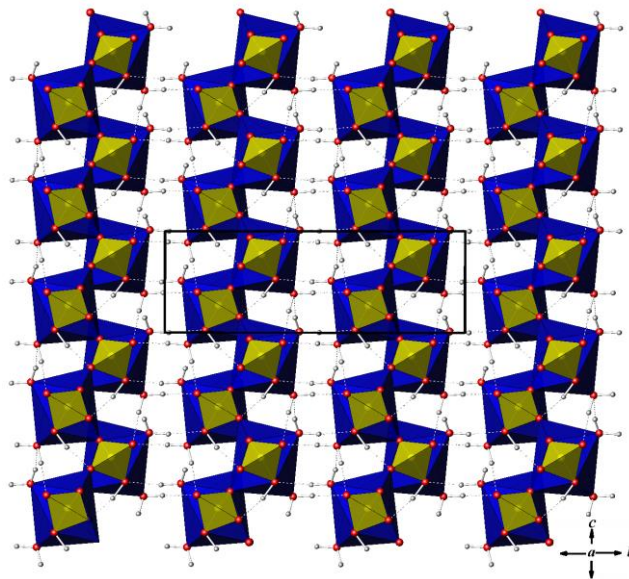
Sinteza monetita može se izvesti primenom različitih tehnika. Tas je sintetisao prah monetita submikronskih dimenzija, na sobnoj temperaturi, mešanjem male količine fosforne kiseline i praha kalcijum-karbonata u etanolnom rastvoru i pokazao da vreme mešanja i količina dodate kiseline utiče na vrstu sintetisanog kalcijum-fosfata [97]. Prah monetita, sa kontrolisanom nanoporoznosti tipa tunela („wormhole-like“), dobijen je hemijskim taloženjem u prisustvu cetil-tri-metil amonijum bromida, kao porogena [98]. Jokić i saradnici su sintetisali prah monetita hidrotermalnom metodom, primenjujući ureu kao taložni reagens i pokazali da promena koncentracije uree, odnosno pH vrednosti polaznog rastvora utiču na vrstu sintetisanog kalcijum-fosfatnog jedinjenja [99]. Mikrometarski prah monetita sintetisan je hidrotermalnom metodom, polazeći od suspenzije monokalcijum-fosfata monohidrata, na različitim temperaturama i pri različitim vrednostima pH i Ca/P odnosa polaznog rastvora i pokazano je da sa porastom Ca/P odnosa kristali monetita prelaze iz vlaknaste forme u pločastu [100]. Ma i saradnici dobili su prah monetita mikrotalasnom sintezom, polazeći od $\text{CaCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 i natrijum-dodecil sulfata u mešanom rastvaraču etilen glikol/voda i pokazali da smanjenja odnosa etilen glikol/voda, kao polaznih rastvarača, utiče na veličinu i morfologiju praha, pa se oblik čestica menja iz oblika cveta („flower-like“) u pločasti oblik [101]. Kong i saradnici su pokazali da morfologija praha monetita, dobijenog taloženjem iz mikroemulzije, zavisi od vrste mikroemulzije [102]. Sonohemijaska metoda je primenjena za dobijanje praha monetita i pokazano je da produžavanje vremena sonifikacije menja morfologiju praha od pločastih kristala na kombinaciju pločasti i kristala oblika cveta [103]. Elektrohemijskom sintezom je dobijen prah monetita nanometarskih dimenzija. Prednost ovog postupka u odnosu na prethodne leži u činjenici da je primenjen vodeni rastvor polaznih soli i da se sinteza odvija na sobnoj temperaturi, pa se izbegava upotreba organskih jedinjenja kao i povišenih temperatura za dobijanje praha [104].

Prevlake monetita na metalnim supstratima moguće je dobiti primenom različitih tehnika. Zavgorodniy i saradnici su dobili prevlake monetita na Ti supstratu hemijskim taloženjem u kiseljoj sredini, polazeći od kalcijum-karbonata, natrijum dihidrogen fosfata i fosforne kiseline, na temperaturi od 75 °C, tokom

24 h [105,106]. Da Silva i saradnici dobili su elektrohemijским taloženjem prevlake monetita na titanu, polazeći od rastvora koji je sadržao kalcijumove i fosfatne jone i mlečnu kiselinu, na temperaturi od 80 °C, tokom 50 min na naponu od 2 V [107]. Leeuwenburgh i saradnici su elektrostatičkim sprej taloženjem (*eng.* electrostatic spray deposition) dobili prevlake monetita [108]. Bez obzira na vrstu tehnike koja je primenjena za dobijanje prevlaka monetita na titanu, do sada nisu objavljeni rezultati ispitivanja uticaja parametara procesa na morfologiju i karakteristike same prevlake monetita. Primenom elektroforetskog taloženja dobijene su prevlake monetita na titanu, polazeći od etanolske suspenzije praha monetita. Masa i poroznost prevlaka je funkcija primenjenog napona taloženja i vremena taloženja, pa je prevlaka najveće debljine dobijena pri naponu taloženja od 30 V za vreme taloženja od 20 min [104].

Hemijska formula dikalcijum-fosfata dihidrata (DCPD), odnosno minerala brušita je $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Brušit lako kristališe iz vodenih rastvora. Primenjuje se u kalcijum-fosfatnim cementima i u procesu remineralizacije zuba [92,96,109], kao nosač lekova [110] i kao aditiv u proizvodnji hrane [111].

DCPD kristališe monoklinočno, prostorna grupa je *Cc*, sa parametrima jedinične ćelije $a=6,361(3)$, $b=15,191(4)$, $c=5,814(2)$ Å i $\beta=118,45(4)^\circ$ i zapreminom jedinične ćelije $V=493,96$ Å³ [112]. Na slici 2.4. dat je poliedarski prikaz kristalne strukture brušita orijentisanog u pravcu *a*-ose. Kristal brušita je izgrađen od kompaktnih slojeva koje sačinjavaju paralelni Ca-PO₄ lanci. Katjon Ca²⁺okružen je sa osam O²⁻jona od kojih šest pripada PO₄ grupama, a ostala dva pripadaju molekulima vode.



Slika 2.4. Poliedarski prikaz kristalne strukture brušita orijentisan u pravcu *a*-ose.

Brušit ima jedan od najvećih koeficijenata rastvorljivosti među kalcijum-fosfatima [76]. Rastvoran je u tečnostima koje po sastavu odgovaraju fiziološkim tečnostima, odnosno brzo se resorbuje jer je metastabilno jedinjenje u fiziološkim uslovima [109,113,114]. U poređenju sa drugim kalcijum-fosfatima, brušit ima veliku brzinu nukleacije, što je posledica njegove male površinske energije. Generalno, kristalizacija je značajno uslovljena temperaturom, pH vrednošću rastvora, koncentracijom polaznih reaktanata i prisustvom različitih komponenata.

Kuzmina i saradnici su sintetisali brušit spontanom kristalizacijom iz vodenih rastvora i pokazali da rastvorljivost brušita raste sa smanjenjem pH vrednosti sa 6,0 na 3,0, kao i da promena hemijskog sastava polaznog rastvora, u smislu prisutnih jona Na, K i Mg, ne utiče značajnije na stabilnost brušita, dok osobine polaznog rastvora (pH i sastav) značajno utiču na oblik kristalita (rombični ili prizmatični) [115]. Tehnikom reversne mikroemulzije, na sobnoj temperaturi, Maity i saradnici su sintetisali nanočestični brušit i pokazali da povećanje odnosa voda/surfaktant u polaznoj mikroemulziji dovodi do promene oblika kristalita brušita iz igličate forme do nepravilnih nanosfera [116]. Singh i saradnici su pokazali da promena temperature mikroemulzije utiče na oblik nanokristala brušita, pa se na povišenoj temperaturi formiraju nanokristali oblika

sfere, dok se na nižoj temperaturi dobijaju nanokristali oblika pahulje [117]. Jednostrukom i dvostrukom difuzionom tehnikom u agar-agar gelu, kao sredini za rast kristala, na sobnoj temperaturi, Suryawanshi i saradnici su sintetisali brušit sa kristalitima različitih oblika, kao posledice promene koncentracije polaznih reaktanata i agar-agar gela, i odredili optimalne uslove za dobijanje brušita ovom tehnikom [118]. Dvostrukom difuzionom tehnikom u gelu od skroba, Gashti i saradnici, sintetisali su brušit sa kristalitima u obliku iglica [119]. Yanovska i saradnici su pokazali da magnetno polje utiče svojim severnim i južnim polom različito na morfologiju i preferentnu orijentaciju dobijenih kristala brušita, istaloženih iz rastvora CaCl_2 i Na_2HPO_4 . Dodatno, pokazano je da tokom taloženja brušita prisustvo magnezijuma u količini od $0,01\text{-}0,03\text{ g l}^{-1}$ u polaznom rastvoru dovodi do smanjenja stepena kristaliniteta. Takođe, prisustvo magnezijuma utiče na stabilizaciju faze brušita na sobnoj temperaturi, pa je brušit stabilan i pri pH vrednostima od 7–7,5 [120]. Arifuzzaman i saradnici su istaložili brušit iz homogenog vodenog rastvora u serijskom reaktoru na sobnoj temperaturi, i pokazali su da promena koncentracije polaznih komponenti CaCl_2 i NaH_2PO_4 (pri Ca/P odnosima 0,5, 1 i 2) utiče na pH vrednost rastvora pri kojoj dolazi do nukleacije brušita, i to tako što povećanje koncentracije jona kalcijuma i fosfora dovodi do smanjenja pH vrednosti za nukleaciju brušita (u intervalu 6,5–4,7), dok raspodela veličine kristalita brušita ne zavisi od polaznih koncentracija [121]. U serijskom reaktoru, Oliveira i saradnici, dobili su brušit transformacijom hidroksiapatita [122]. Lim i saradnici su sintetisali brušit velike poroznosti HIPE (*eng.* high internal phase emulsions) tehnikom, iz emulzije ulje/voda, stabilisanom polioksietilenskim lancima različite dužine, kao surfaktantom. Pokazali su da dužina lanaca surfaktanta utiče na morfologiju kristala brušita, pa su tako primenom polioksietilenskih lanaca manje dužine dobijeni široki i pločasti kristali brušita, dok su primenom lanaca veće dužine dobijeni kristaliti oblika dendrita visoke poroznosti [123].

Prevlake brušita na metalnim supstratima mogu se dobiti primenom različitih tehnika. Tas i saradnici su pokazali da se na leguri Ti-6Al-4V, primenom „electroless“ taloženja iz visok koncentrovanih i transparentnih rastvora, sa koncentracijama jona Ca^{2+} i HPO_4^{2-} koje su 12,1, 22 i 48 puta veće nego u krvnoj

plazmi, dobijaju prevlake brušita sa kristalima orijentisanim od površine legure prema rastvoru. Dodatno, pokazano je da se deblje prevlake brušita dobijaju na leguri koja je prethodno nagrizana u KOH u poređenju sa prevlakama na leguri bez predtretmana [124]. Uticaj supstrata (Ta, Nb i Zr) na vrstu istaloženog kalcijum-fosfata ispitivali su Okawa i saradnici i pokazali da se anodnom oksidacijom Nb u elektrolitu HA-H₃PO₄, pri pH vrednosti od 3,0, dobija prevlaka koja sadrži hidroksiapatiti, brušit i monetit [125]. Prevlake brušita na magnezijumu, Shadanbaz i saradnici, dobili su tehnikom potapanja, polazeći od rastvora CaCl₂ i KH₂PO₄. Pokazali su da temperatura rastvora utiče na kvalitet prevlake, pa na temperaturama ispod 40 °C ne dolazi do taloženja značajne količine brušita, dok su na temperaturama iznad 65 °C dobijene manje homogene prevlake [126]. Prevlake brušita mogu se dobiti elektrohemijским taloženjem, što će biti detaljno opisano u poglavlju 2.4.6.

Brušit i monetit su poznati kao prekursori za formiranje hidroksiapatita. Transformacija ovih jedinjenja u HA može se izvesti alkalnim tretmanom ili potapanjem u simuliranu telesnu tečnost (*eng.* Simulated Body Fluid, SBF).

Ma i saradnici [101], Zavgorodiniy i saradnici [106] kao i da Silva i saradnici [107] su konvertovali monetit u HA potapanjem u rastvor NaOH na temperaturama od 60 °C, 75 °C i 60 °C, redom. Abdel-Aal i saradnici su konvertovali prevlake brušita u HA potapanjem u rastvor NaOH na temperaturi od 90 °C i pokazali da se debljina prevlake smanjuje sa produžavanjem vremena potapanja, što su potvrdili prisustvom P₂O₅ u rastvoru za konverziju [127]. Katić i saradnici su ispitivali uticaj rastvora za konverziju na osobine prevlake hidroksiapatita, dobijene konverzijom prevlaka brušita na titan-nikl leguri (Nitinol) i pokazali su da su nakon konverzije brušita, potapanjem u NaOH, osim HA prisutni i kalcijum-oksidi i kalcijum-hidroksidi, što utiče na smanjenje korozione stabilnosti prevlake. Konvertovana prevlaka, dobijena potapanjem brušita u SBF, nije sadržala ni jednu drugu fazu osim HA, pa su ove prevlake pokazale veću korozionu stabilnost, što je osnovna karakteristika koja određuje biokompatibilnost [128]. Hu i saradnici su prevlake brušita na leguri magnezijuma konvertovali u HA, potapanjem u SBF i pokazali da produžavanje vremena potapanja povećava korozionu stabilnost prevlake [129]. Popa i saradnici su

prevlake brušita konvertovali u HA potapanjem u Ringerov rastvor, tokom 48 h, pri pH vrednosti od 7,1. Ispitali su ponašanje prevlake u Ringerovom rastvoru i u HBSS (*eng.* Hank's Balanced Salt Solution), pri različitim pH vrednostima i pokazali da se pri svim ispitivanim uslovima dobija prevlaka HA koja utiče na smanjenje korozije, dok je analiza spektroskopije elektrohemijske impedanse (SEI) pokazala prisustvo sloja velike otpornosti, kao posledice zaštitne uloge prevlake. Dodatno, sa produžavanjem vremena potapanja, morfologija prevlake se menja, gustina prevlake se povećava, hrapavost se smanjuje, a prevlaka ima bolju adheziju [130].

Transformacija monetita/brušita se, u vodenim rastvorima, može odigrati iz dva potencijalna razloga: usled promene pH rastvora ili usled promene lokalne koncentracije jona kalcijuma i fosfora. Ukoliko se metastabilno jedinjenje (monetit) dovede u kontakt sa rastvorom koji ima visoku vrednost pH (rastvora NaOH), dolazi do delimičnog rastvaranja prevlake kao i do pomeranja ravnoteže fosfatnih jona (slika 2.2), pa jon PO_4^{3-} postaje najstabilniji. Na taj način se ostvaruju uslovi za taloženje HA.

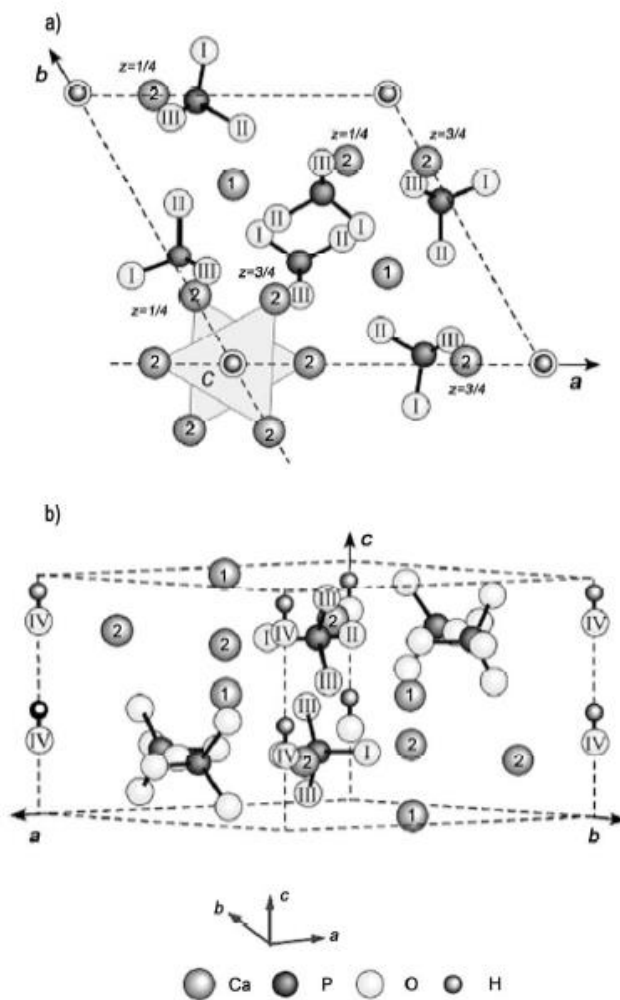
Kada brušit dođe u kontakt sa simuliranom telesnom tečnošću (pH=7,4), na temperaturama oko 37 °C, dolazi do delimičnog, površinskog, rastvaranja prevlake, jer je brušit stabilan u vodenim rastvorima do pH vrednosti manje od 4,2 [131]. Ovo dovodi do porasta koncentracije jona kalcijuma i fosfora na međupovršini prevlaka-SBF. Povećanje lokalne koncentracije jona kalcijuma i fosfora dovodi do taloženja HA jer SBF ima pH vrednost 7,4, i presićen rastvor u odnosu na taloženja HA, (molski odnos Ca/P=2,50) pa je HA jedina stabilna faza kalcijum-fosfata koja se može taložiti pri ovim uslovima.

2.4.4. Hidroksiapatit

Hidroksiapatit kristališe heksagonalno (prostorna grupa $P6_3/m$) sa parametrima jedinične ćelije $a=9,432 \text{ \AA}$ i $c=6,881 \text{ \AA}$ i zapreminom jedinične ćelije $V=612,15 \text{ \AA}^3$. Hidroksilni joni leže na uglovima projektovane osnove ravni i javljaju se na jednako udaljenim intervalima (na polovini c -parametra jedinične ćelije (3,44 \AA)) duž kolona normalnih na osnovnu ravan i paralelno c -osi. Šest od deset

Ca²⁺ jona su udruženi sa hidroksilnim jonima u ovim kolonama. Jedna grupa od tri Ca²⁺ jona čini trougao, okružujući OH⁻ grupu, i locirana je na z=0,25, a drugi set od tri atoma je lociran na z=0,75. Osnova od PO₄³⁻ jona čini skelet strukture koja apatitnoj strukturi daje stabilnost [11].

Na slici 2.5. prikazana je jedinična ćelija hidroksiapatita [132].



Slika 2.5. Jedinična ćelija hidroksiapatita [132].

HA je najzastupljeniji kalcijum-fosfat koji se koristi za koštane supstituente. Idealan Ca/P odnos kod HA je 10/6, a izračunata gustina je 3,219 g/cm³. Zamena Ca²⁺, PO₄³⁻ i OH⁻ grupa u strukturi HA dovodi do promene parametara ćelije kao i do promena nekih osobina kristala, kao što je rastvorljivost. Ako se OH⁻ grupa u HA zameni F⁻ jonima, anjoni se mogu više približiti susjednim Ca²⁺ jonima što dovodi do dodatne stabilizacije strukture i smanjenja rastvorljivosti, pa se pretpostavlja

da je to razlog što fluorisanje pomaže u smanjenju kvarenja zuba. Biološki apatit, koji je mineralna faza kostiju, gleđi i dentina, obično se predstavlja kao HA. U suštini, biološki apatit se razlikuju od čistog HA u stehiometriji, sastavu i stepenu kristaliniteta, kao i u drugim fizičkim i mehaničkim karakteristikama, kao što je prikazano u tabeli 2.3 [11].

Tabela 2.3. Sastav i kristalografske karakteristike humane gleđi, kostiju i HA keramike [11]

	gleđ	kost	HA
komponente (%)			
Ca ²⁺	36,0	24,5	39,6
P	17,7	11,5	18,5
Ca/P (molski odnos)	1,62	1,65	1,67
Na	0,5	0,7	tragovi
K	0,08	0,03	tragovi
Mg ²⁺	0,44	0,55	tragovi
CO ₃ ²⁻	3,2	5,8	-
F ⁻	0,01	0,02	-
Cl ⁻	0,30	0,10	-
ukupna neorganska faza	97,0	65,0	100
ukupna organska faza	1,0	25,0	-
apsorbovana voda	1,5	9,7	-
kristalografske karakteristike parametri ćelije (±0,03 nm)			
<i>a</i>	0,9441	0,9419	0,9422
<i>c</i>	0,6882	0,6880	0,6880
indeks kristaliniteta	70-75	33-37	100
veličina kristalita, nm	130×30	25×2,5-5,0	

Mehaničke karakteristike sintetičkih kalcijum-fosfata leže u širokim granicama, kao posledica različitog procesa proizvodnje. Fizičke karakteristike sintetičkog HA su prikazane u tabeli 2.4 [133].

Tabela 2.4. Fizičke karakteristike sintetičkog HA [133]

Karakteristika	Vrednost
modul elastičnosti (GPa)	40-117
otpornost na pritisak (MPa)	294
otpornost na savijanje (MPa)	147
tvrdoća (Vickers, GPa)	3,43
gustina (teorijska, g/cm ³)	3,16

Čist HA se nikada ne sreće u biološkim sistemima. Ipak, zbog svoje hemijske sličnosti sa mineralom koji se nalazi u zubima i kostima, HA se široko primenjuje u formi prevlake na ortopedskim implantatima (kukovi) i dentalnim implantatima. Zbog velike sličnosti sa biološkim apatitom, HA se koristi u tečnoj hromatografiji proteina i drugih bioloških jedinjenja [134] i kao nosač lekova [135].

S obzirom da prirodna čvrsta tkiva imaju strukturu nanodimenzionih apatita, sinteza i osobine nanostrukturnog HA su od velikog interesa. Osobine i biokompatibilnost HA nanometarskih dimenzija u velikoj meri zavise od uslova sinteze, pa pri sintezi nanomaterijala posebnu pažnju treba obratiti na eksperimentalne uslove jer je neophodno ostvariti reproduktivnost sinteze. Veoma male varijacije eksperimentalnih uslova (male razlike u pH vrednosti, temperaturi, Ca/P odnosu reaktanata) može dovesti do stvaranja proizvoda sa različitim stehiometrijom, stepenom kristaliniteta, morfologijom i sl. Ovo može dovesti do različitog *in vivo* / *in vitro* ponašanja. [2]. Dodatno, povećanje specifične površine materijala, precizna kontrola poroznosti, tj. veličine pora i načina povezivanja pora u biomaterijalima mogu značajno da ubrzaju kinetiku taloženja bioloških apatita i na taj način poboljšaju bioaktivnost veštačkog materijala [74].

Rodríguez-Lorenzo i saradnici su sintetisali prah HA kristalizacijom iz vodenih rastvora i pokazali su da se promenom eksperimentalnih uslova može

uticati na strukturu sintetisanog praha. Promena koncentracija polaznih reaktanata, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ i $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ne utiče na karakteristike sintetisanog praha. Sintezom na temperaturama u intervalu 25-37 °C dobili su apatit sa veličinom kristalita kao u kostima odraslog čoveka, dok su na temperaturi od 90 °C dobili apatit sa veličinom kristalita kao kod gleđi. Produžavanjem vremena reakcije dobili su apatite sa većim odnosom Ca/P. Produžavanje vremena starenja taloga može dovesti do ugradnje minimalne količine karbonata u strukturu apatita. Promenom atmosfere unutar reakcione posude (N_2 ili CO_2) utiče na inkorporaciju nečistoća u strukturu apatita [136]. Jokić i saradnici su sintetisali prah HA hidrotermalnom metodom, polazeći od $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 i uree i pokazali da promena koncentracije i pH vrednosti polaznog rastvora utiče na vrstu i oblik sintetisanog kalcijum-fosfata i to tako što povećanje količine uree u reakcionoj smeši utiče na povećanje krajnje vrednosti pH, pa se pri količini uree od 2 g dobija smeša HA i monetita, dok se pri količini uree od 3 g dobija HA štapičaste forme [99]. Modifikovanom hidrotermalnom metodom, polazeći od rastvora $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ i uree, Veljović i saradnici su sintetisali HA prah nanometrskih dimenzija [72]. Ferreira i saradnici su, polazeći od $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, NH_4OH i cetil-trimetil amonijum bromida, hidrotermalnom metodom sintetisali HA i supstituisani HA silicijumovim jonima ($\text{Ca}/(\text{P}+\text{Si})=1,67$) i pokazali su da Si utiče na povećanje parametara jedinične ćelije HA i samim tim negativno utiče na termičku stabilnost materijala. Sa druge strane, povećanje količine dopiranog Si utiče na povećanje količine nastalog HA tokom *in vitro* ispitivanja u SBF [137]. Tan je istaložio prah hidroksiapatita metodom hemijskog taloženja, polazeći od $\text{Ca}(\text{OH})_2$ i H_3PO_4 , pri različitim odnosima Ca/P i dobio je kalcijum-deficitarni HA ($\text{Ca}/\text{P}=1,57$), stehiometrijski HA ($\text{Ca}/\text{P}=1,67$) i HA sa većim sadržajem kalcijuma ($\text{Ca}/\text{P}=1,87$). Dodatno, pokazao je da nakon zagrevanja ovih prahova na 1350 °C, kod kalcijum-deficitarnog i stehiometrijskog HA ne dolazi do promena, dok se kod HA sa većim sadržajem kalcijuma pojavljuje i CaO. Bolje mehaničke karakteristike (Jangov modul, tvrdoća po Vickersu), kao i sinterabilnost, pokazao je stehiometrijski HA u odnosu na druga dva praha [138]. Chavan i saradnici su sintetisali HA hemijskim postupkom iz rastvora $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, i naknadno izvršili jonsku izmenu Ca jona, jonima Na i K i pokazali da,

pri izlaganju ovih prahova uticaju SBF, na čistom HA prahu se formira visoko porozni HA, dok ugradnja Na i K atoma usporava rast novog HA pri *in vitro* ispitivanjima [139]. Bouyer i saradnici su HA nanometarskih dimenzija dobili hemijskim taloženjem i pokazali da temperatura odigravanja reakcije taloženja i brzina dodavanja reaktanata utiču na osobine HA, pa su čist i monokristalni HA dobili na temperaturi nižoj od 60 °C, pri umerenoj brzini dodavanja kiseline, tako da je krajnja pH vrednost iznosila 10. Ovako dobijen prah pokazao je dobru disperzivnost i mogućnost atomizacije praha u HA suspenziji [140]. Zhu i saradnici su sintetisali prah hidrokisapatita nanometarskih dimenzija primenom sol-gel tehnike i pokazali da povećanje temperature starenja (25-100 °C) utiče na povećanje stepena kristaliniteta HA, dok vreme starenja (24-300 h) ne utiče na formu HA. Povećanje temperature zagrevanja HA u intervalu 300-900 °C blago povećava stepen kristaliniteta HA [141]. Tredwin i saradnici su, polazeći od $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i trietil-fosfita, kao prekursora, u rastvoru etanol/voda, sol-gel tehnikom sintetisali HA, fluor-hidroksiapatit (delimično supstituisani HA sa F jonima) i fluoroapatit i pokazali da povećanje stepena supstitucije jonima F u HA, dovodi do smanjenja rastvaranja u poređenju sa čistim HA ili HA sa manjim stepenom supstitucije, kao i da povećanje stepena supstitucije u strukturi HA povećava biokompatibilnost [142]. Mlevenjem na suvo u mlinu sa kuglama, Silva i saradnici su sintetisali prah HA nanodimenzija, polazeći od $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ i $\text{Ca}(\text{OH})_2$ i pokazali da sa produžavanjem vremena mlevenja (5-15 h) veličina HA čestica raste i dolazi do formiranja aglomerata [143]. Amer i saradnici su sintetisali HA prah nanodimenzija kontrolisane poroznosti, primenom pseudo sol-gel postupka i naknadnim izlaganjem mikrotalasima, polazeći od $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ i $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ i površinski aktivnih supstanci natrijum lauril etar sulfata (SLES) i linearnog alkilbensulfonata (LABS). Pokazano je da kalcinirani HA (na 500 °C) ima manju specifičnu površinu i zapreminu pora kada se primenjuje SLES kao površinski aktivna supstanca [144]. Polazeći od acetalacetona, N,N-dimetilformamida, dinatrijum-kreatin fosfata tertrahidrata i vode, Chen i saradnici su, primenom solvotermalnog postupka, sintetisali nanostrukturni HA [145]. Montero je sa saradnicima elektrohemijском sintezom dobio HA prah, nanometarskih dimenzija, polazeći od rastvora $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 . u molskom odnosu

Ca/EDTA/PO₄³⁻ od 0,25/0,25/0,15 M, pri gustini struje od 137 mA cm⁻² i pri pH vrednostima polaznog rastvora od 5,0, 7,0 i 9,0 i pokazao da se sa povećanjem pH vrednosti polaznog rastvora smanjuje veličina čestica praha HA [146]. Nanostrukturni HA uspešno je dobijen elektrohemijском sintezom, polazeći od istih rastvora kao i prethodni autori. Ispitivan je uticaj pH rastvora (9,0 i 12,0) i primenjene gustine struje (137 i 207 mA cm⁻²) na strukturu i morfologiju praha i pokazano je da se sferni aglomerati dobijaju na nižoj pH vrednosti, dok se na višoj pH vrednosti dobijaju pločasti aglomerati, dok gustina struje nema uticaja na morfologiju praha HA [147]. Hidrolizom oktakalcijum-fosfata u SBF, Horváthová i saradnici su dobili HA [148]. Takođe, hidrolizom monetita i brušita dobijen je HA, kao što je opisano u poglavlju 2.4.3.

Prevlake hidroksiapatita na metalnim supstratima mogu se dobiti primenom velikog broja metoda [84,149].

Komercijalno se najviše primenjuje termičko/plazma prskanje (*eng.* plasma/thermal spraying) [150,151] i to za formiranje ortopedskih i zubnih implantata. Ova tehnika podrazumeva raspršivanje materijala na površinu na kojoj se formira prevlaka (polazni materijal je 100% čist kristalni HA). Jedna od prednosti ove metode je da supstrat ostaje na relativno niskoj temperaturi (obično na <300°C; temperatura plazme može da pređe 10.000°C) pa se mehaničke osobine metala ne menjaju. Međutim, ova tehnika ima niz nedostataka. Ograničena je na formiranje prevlake na spoljašnjim površinama metalnih implantata jednostavnih oblika, adhezija prevlake i supstrata je loša, prevlake su krte, sa neuniformnom morfologijom, stepenom kristaliniteta, debljinom i biorazgradivosti. Prevlake većih debljina, dobijene ovom tehnikom imaju veliki nedostatak jer se može oštetiti usled zamora materijala tokom eksploatacije. Takođe, povećanje debljine prevlake može da ubrza stvaranje pukotina na međusloju supstrat/prevlaka [149].

Taloženje pulsirajućim laserom (*eng.* pulse laser deposition, PLD) je tehnika koja se primenjuje za dobijanje tankih HA prevlaka na metalnim supstratima [152,153]. Tokom PLD taloženja, supstrat se izlaže povišenim temperaturama, tako da se tanak sloj Ti-oksida može formirati na površini metala pre nanošenja prevlake, što potencijalno utiče na adheziju prevlake i supstrata. Formirana

prevlaka može sadržati i kristalnu i amorfnu fazu, kao i različite vrste kalcijum-fosfata [154].

Biomimetičko formiranje kalcijum-fosfatnih prevlaka (*eng.* biomimetic growth), zasniva se na potapanju materijala u simuliranu telesnu tečnost, koja se koristi za *in vitro* ispitivanja biokompatibilnosti, a apatitni sloj se formira iz vodenog rastvora na sobnoj temperaturi [155], putem heterogene nukleacije i rasta kristala. Primenom ove tehnike, moguće je dobiti uniformne, stabilne kalcijum-fosfatne prevlake na površini biomaterijala, bez obzira na oblik, strukturu i vrstu biomaterijala (mogu se dobijati prevlake i na metalima i polimerima). Zahvaljujući činjenici da se biomimetičke prevlake formiraju na sobnoj temperaturi (temperatura od 37 °C i pH vrednosti od 7,4), moguće je ugraditi i biološki faktor u kalcijum-fosfatnu prevlaku sa ciljem da se poboljša biološka aktivnost prevučenog materijala, odnosno biološka funkcionalizacija prevlaka (npr. ugradnja koštanog morfogenetskog proteina) [36,156,157]. Proces rasta kristala HA na površini Ti u simuliranoj telesnoj tečnosti može biti veoma spor pa se tek nakon nekoliko nedelja može detektovati prevlaka na metalnoj osnovi [158]. Pokazano je da ćelije osteoblasta, tokom ispitivanja čistog Ti u SBF ne pokazuju zadovoljavajuće ponašanje na površini titana [159]. Proces formiranja prevlaka iz simulirane telesne tečnosti se može ubrzati ukoliko se površina metala podvrge određenom pred-tretmanu, jer je na taj način moguće stvoriti uslove za bržu heterogenu nukleaciju i samim tim formiranje prevlake u kraćem vremenskom intervalu. Neki od načina pred-tretmana su elektroforetsko (kataforetsko) i elektrohemijsko taloženje bioaktivnih prevlaka, što će biti opisano u poglavljima 2.4.5 i 2.4.6, redom.

2.4.5. Elektroforetsko taloženje kalcijum-fosfatnih prevlaka

Elektroforetsko taloženje (EPD) je elektrohemijski postupak koji se primenjuje za dobijanje prevlaka na metalnim supstratima. Poslednjih nekoliko decenija EPD se primenjuje za dobijanje funkcionalne i kompozitne keramike, tankih filmova, prevlaka kompleksnijeg sastava (kompozitne prevlake, prevlake bioaktivnog stakla, polimer-keramika nanokompoziti, prevlake na karbonskim

nanotubama), biomaterijala kao i za taloženje nanočestica kod dobijanja naprednih nanostrukturnih materijala [86,160,161]. Od posebnog značaja je elektroforetsko taloženje biokeramičkih prevlaka na medicinskim implantatima, koje, po svom sastavu, mogu biti kalcijum-fosfatne prevlake (HA, monetit) ili kompozitne prevlake kalcijum-fosfata i drugih organskih/neorganskih jedinjenja. Prednosti EPD za dobijanje prevlaka na metalnim supstratima su mogućnost nanošenja prevlaka na supstrate kompleksnih oblika, niska cena opreme i samog procesa, dobijanje homogenih i izuzetno adherentnih prevlaka i jednostavna kontrola debljine i morfologije prevlake kontrolisanjem parametara taloženja (napona, vremena taloženja, temperature, koncentracije suspenzije) [69,161,162]. EPD bioloških komponenti, enzima, bakterija i ćelija su od velikog interesa, takođe [161,163,164]. Nedostatak EPD postupka je da korišćenje vodenog elektrolita, usled izdvajaju vodonika i kiseonika u vidu gasa pod uticajem napona, utiče na kvalitet formirane prevlake.

Elektroforetsko taloženje predstavlja kombinaciju dva procesa: elektroforeze i taloženja. Elektroforeza je kretanje naelektrisanih čestica u suspenziji pod uticajem električnog polja na elektrodi. Talozenje prevlake na elektrodi je proces koagulacije čestica u čvrstu masu [165].

Neophodni uslovi koje je potrebno obezbediti radi uspešnog odvijanja elektroforetskog taloženja su stabilan sol/suspenzija, u kojoj čestice imaju visoku vrednost zeta-potencijala, dok je jonsku provodljivost suspenzije potrebno odražavati na niskoj vrednosti. Dodatno, važan parametar za dobijanje homogene prevlake je i veličina čestica, kao i da čestice nemaju veliku tendenciju aglomerisanja u suspenziji. Stabilizacija suspenzije se može postići elektrostatički, sternim ili elektrosternim mehanizmom stabilizacije. Iz navedenog sledi da se elektroforetsko taloženje može primeniti na sistem koji je sastavljen od bilo koje čvrste faze ukoliko je tu fazu moguće dobiti u obliku finog praha sa dimenzijama čestica manjim od 30 μm ili na koloidne suspenzije, uključujući metale, polimere, keramiku i staklo [160,166]. Suspendovane čestice moraju biti naelektrisane da bi proces elektroforetskog taloženja mogao da se odvija.

Za taloženje bioaktivnih prevlaka na medicinske implantate koristi se kataforetsko taloženje, čime se izbegava nekontrolisana oksidacija. Debljina

prevlake, formirane elektroforetskim taloženjem, može biti u intervalu ispod 1 μm , pa do debljina većih od 100 μm [161].

Parametri taloženja prevlaka utiču na adheziju i poroznost bioaktivnih prevlaka, pa samim tim i na ponašanje u simuliranoj telesnoj tečnosti, kao i na proliferaciju ćelija u *in vitro* ispitivanjima.

Iz etanolske suspenzije nanodimenzionog praha monetita, primenom EPD, istaložene su prevlake monetita na različitim naponima (10-50 V) za različita vremena taloženja (1-30 min). Pokazano je da debljina i poroznost prevlaka zavisi od eksperimentalnih uslova i određeni su optimalni uslovi za dobijanje prevlaka monetita najveće mase i najmanje poroznosti (napon od 30 V, vreme taloženja od 20 min) [104]. Kollath i saradnici su taložili prevlake HA na titanu iz suspenzije čestica HA u butanolu, na različitim vrednostima konstantnog napona koji je generisan u polju jednosmerne (DC) i naizmjenične (AC) struje, sinterovali na 900 °C i pokazali da mase prevlaka, u oba slučaja, rastu sa porastom napona taloženja i produžavanjem vremena taloženja. Dodatno, pokazali su da su HA prevlake dobijene primenom AC-EPD gušće (imaju manju poroznost) i uniformnije od prevlaka dobijenih primenom DC-EPD [167]. Wang i saradnici su taložili HA prevlake velike debljine na ugljeničnim šipkama, na sobnoj temperaturi, primenom ponovljenih taloženja (omogućava dobijanje homogenih prevlaka HA velikih debljina), pri konstantnim vrednostima gustine struje i pokazali da se dobijaju prevlake lošeg kvaliteta ukoliko napon ima vrednost iznad 150 V, kao i da produžavanje vremena taloženja preko 90 s pogoršava kvalitet prevlake i da je optimalna koncentracije suspenzije 20 gl^{-1} (HA/etanol). Dodatno, pokazali su da na kvalitet prevlake osim primenjene gustine struje i odgovarajućeg napona, izuzetno veliki uticaj imaju provodljivost suspenzije i zeta-potencijal, u smislu stabilnosti suspenzije. Pri temperaturama sinterovanja u intervalu 1150 - 1300 °C nema primetne dekompozicije HA [168]. Farrokhi-Rad i saradnici su ispitivali uticaj različitih alkohola na stabilnost suspenzije HA i na kvalitet EPD taloženih HA prevlaka i pokazali su da se najstabilnija suspenzija, kao i prevlake sa najboljom adhezijom, bez mikroprskotina i sa najboljom korozionom stabilnošću, ispitivanoj u SBF, dobijaju za prevlake taložene iz butanolske suspenzije [169]. Jain i saradnici su taložili HA prevlake na Ti6Al4V, koji je prethodno termički tretiran sa ciljem

formiranja oksidnog sloja TiO_2 , iz etanolske suspenzije na naponima u intervalu 100 - 250 V za vreme taloženja od 10 s i pokazano je da veličina kristalita HA u prevlaci nije funkcija primenjenog napona. Prevlake su sinterovane na 1000 °C i pokazano je da poroznost prevlaka raste sa porastom napona taloženja [170]. Farrokhi-Rad i saradnici su taložili prevlake HA, kontrolisane poroznosti, iz suspenzije HA čestica u izopropanolu, u prisustvu porogena „*carbon black*“. Porast napona taloženja dovodi do porasta mase prevlake, pri ostalim nepromenjenim eksperimentalnim uslovima. Prevlake su sinterovane na 700 °C i pokazano je da pri konstantnoj koncentraciji HA u suspenziji, povećanje koncentracije porogena dovodi do povećanja poroznosti prevlaka [171]. Janković i saradnici su istaložili kompozitne prevlake Ag/HA na titanu iz etanolske suspenzije i pokazali da ove prevlake povećavaju korozionu stabilnost supstrata i indukuju rast HA u SBF [9]. Pri istim eksperimentalnim uslovima (napon taloženja od 60 V, vreme taloženja od 45 s) Eraković i saradnici su istaložili kompozitne prevlake sa ligninom, Ag/HA/Lig i pokazali da ove prevlake imaju homogeniju površinu, manju hrapavost i bolju kvašljivost, kao i da ostaju stabilne na temperaturi od 900 °C, u poređenju sa Ag/HA kompozitnim prevlakama [31]. Isti autori su pokazali da sa povećanjem napona i vremena taloženja, masa prevlaka HA i HA/Lig raste [172]. Li i saradnici su taložili kompozitne prevlake grafen/HA na Ti, prethodno tretiranom u kiselini, i pokazali da prisustvo grafena, tokom sinterovanja, redukuje pojavu pukotina u prevlaci kao i da sprečava delaminaciju prevlake. U poređenju sa prevlakom HA na Ti, kompozitna prevlaka grafen/HA ima značajno bolju adheziju, korozionu u stabilnost i poboljšava proliferaciju ćelija [173].

Mehanizam elektroforetskog taloženja je i dalje predmet proučavanja. Prema literaturi, postoje četiri predložena mehanizma elektroforetskog taloženja: flokulacija agregacijom čestica, mehanizam neutralisanja naelektrisanja čestica, elektrohemijska koagulacija i mehanizam razaranja i tanjenja električnog dvojnog sloja - Derjaguin–Landau–Verwey–Overbeek (DLVO) teorija [174].

Čestice monetita i HA u etanolu postaju pozitivno naelektrisane i time stvaraju provodnu sredinu. Kada se kroz ovakav sistem propusti električna struja, elektroforetsko taloženje se, prema predloženom mehanizmu baziranom na DLVO teoriji, odvija u nekoliko koraka [165,175,176]:

-naelektrisane čestice bivaju privučene ka elektrodi suprotnog naelektrisanja; pozitivno naelektrisane čestice migriraju prema katodi.

-brzina migracije naelektrisanih čestica, v , data je jednačinom:

$$v = \frac{\epsilon_r \xi E}{6\pi\eta L} \quad (2)$$

gde je E primenjena razlika potencijala između elektroda, ϵ_r je relativna permitivnost suspenzije, ξ je zeta potencijal suspenzije, η je viskoznost suspenzije i L je rastojanje između elektroda.

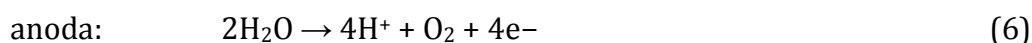
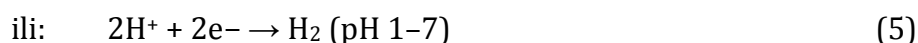
Takođe, brzina migracije naelektrisanih čestica može se predstaviti i sledećom jednačinom:

$$v = \frac{zeE}{6\pi\eta rL} \quad (3)$$

gde je e jedinično naelektrisanje, r je Stoksov poluprečnik i z je naelektrisanje jona. Iz obe jednačine se može videti da postoji linearna zavisnost između brzine migracije i primenjene razlike potencijala između elektroda.

-kada naelektrisane čestice dođu do katode, razelektrišu se. S obzirom da su čestice veoma blizu elektrode, privlačne sile čestica-elektroda postaju dominantne i dolazi do koagulacije/taloženja.

-istovremeno, odvijaju se dve elektrohemijske reakcije – izdvajanje vodonika na katodi i kiseonika na anodi:



-izdvojeni vodonik napušta katodu kroz prevlaku, formirajući pore u unutrašnjosti prevlaka kalcijum-fosfata, što dovodi do svaranja porozne strukture.

2.4.6. Elektrohemijsko taloženje kalcijum-fosfatnih prevlaka

Elektrohemijsko taloženje kalcijum-fosfatnih prevlaka na leguri titana opisano je u literaturi 1991. godine [177]. Elektrohemijsko taloženje kalcijum-fosfatne biokeramike je veoma atraktivna metoda jer omogućava dobijanje prevlaka na sobnoj temperaturi. Ova elektrohemijska tehnika daje mogućnost

dobre kontrole debljine i strukture prevlake, formiranje prevlaka na poroznim supstratima i supstratima nepravilnih oblika. Elektrohemijским taloženjem moguće je dobiti prevlaku HA u samo jednom koraku, direktnim taloženjem iz rastvora. Nekada se proces dobijanja HA prevlake sastoji iz dva stupnja – najpre se elektrohemijski taloži prekursor, a zatim se prekursor konveruje u HA. Najveći broj elektrolita za taloženje su kiseli rastvori kalcijum-fosfata, pri čemu se formira prevlaka brušita, koja se naknadno konveruje u HA. HA se može dobiti na elektrodi direktno bez formiranja prekursora, ukoliko se u ćeliji obezbede dovoljno alkalni uslovi. Takvi elektroliti su neutralni ili se upotrebljava rastvor SBF.

Elektrohemijско taloženje se može odvijati pri potenciostatskim ili galvanostatskim uslovima. Sastav, karakteristike i morfologija prevlaka (poroznost, veličina kristalita) dobijenih elektrohemijским taloženjem zavise od eksperimentalnih uslova i to od pH vrednosti i koncentracije elektrolita, temperature, jačine primenjene struje/napona i vremena taloženja.

Koncentracija rastvora i pH vrednost - Rastvor za elektrohemijско taloženje se najčešće priprema tako da je odnos koncentracija $Ca/P=1,67$. U suštini, povećanje koncentracije jona dihidrogen-fosfata ometa formiranje hidroksilnih jona što ima za posledicu ometanje porasta pH vrednosti u blizini elektrode [178]. Sa porastom gustine struje povećava se pH vrednosti u prielektrodnom sloju, što utiče na vrstu formiranog kalcijum-fosfata. Tokom elektrohemijskog taloženja, pH skokovito raste na početku, da bi nakon nekog vremena došlo do pada pH vrednosti u prielektrodnom sloju [179]. Sastav i vrednost pH polaznog elektrolita imaju veoma veliki uticaj na vrstu i karakteristike istaložene prevlake. Pokazano je da uticaj pH vrednosti polaznog elektrolita tokom taloženja kalcijum-fosfatnih prevlaka ima značajnu ulogu pri stvaranju određene morfologije i kristalne strukture kalcijum-fosfatnih prevlaka [180]. Npr., ispitivanje uticaja pH u intervalu 4,2 do 6,0 pokazalo je da se pri "kiselim" vrednostima pH (pH ~ 4,2) prevlake sastoje od relativno velikih pločastih kristala veličine 4-6 μm i značajno odstupaju od stehiometrijskog apatita. Ovakve prevlake imaju karakteristike apatita u kostima ili nestehiometrijskim apatitima.

Temperatura - Povećanje temperature rastvora za elektrohemijско taloženje se u osnovi primenjuje da bi se smanjila količina ugljen dioksida (CO_2) koja je

rastvorena u vodi, jer je ugljen dioksid u stanju da formira ugljenu kiselinu. U alkalnim rastvorima se formira bikarbonatni jon (HCO_3^-), a zatim se on transformiše u karbonatni (CO_3^{2-}). Bikarbonatni i karbonatni joni mogu da reaguju sa jonima kalcijuma stvarajući kalcijum-karbonat koji se taloži na elektrodi i smanjuje količinu kalcijumovih jona u rastvoru. Porast temperature dovodi do veće brzine taloženja kalcijum-fosfata [181,182].

Gustina struje - Brzina reakcije redukcije vode (izdvajanja vodonika) raste sa porastom gustine struje, povećavajući lokalnu vrednost pH u blizini elektrode. Zhang i saradnici su pokazali da pri vrednosti gustine struje od 5 mA cm^{-2} , pH dostiže nešto veću vrednost od 8 [179]. Za ovu vrednost pH, prema slici 2.2., prisustvo hidrogen fosfatnog jona je dominantno. Uticaj gustine struje tokom elektrohemijskog taloženja na vrstu kalcijum-fosfata koji se dobija u obliku prevlake je veoma veliki. Na elektrodi se može dobiti oktakalcijum-fosfat, brušit, kalcijum deficitarni hidroksiapatit ili smeše ovih jedinjenja [127,183]. Povećanje gustine struje za elektrohemijsko taloženje, povećava i brzinu reakcije redukcije vode, pa se formiraju veće količina mehurova vodonika na elektrodi i izdvaja se veća količina gasa. Veoma velika količina izdvojenog vodonika dovodi do ometanja procesa taloženja na katodi i dalje utiče na pogoršanje kvaliteta prevlake, smanjujući koheziju u samoj prevlaci [184,185].

Hu i saradnici su elektrohemijski taložili prevlake HA iz izuzetno razblaženih rastvora ($0,00042 \text{ M CaCl}_2$ i $0,00025 \text{ M NaH}_2\text{PO}_4$) i utvrdili da se u širokom opsegu ispitivanih primenjenih gustina struje ($0,25$ do $1,75 \text{ mA cm}^{-2}$) i temperatura (75 do $100 \text{ }^\circ\text{C}$) prevlaka sastoji samo od HA, tj. da gustina struje i vreme taloženja ne utiču na sastav prevlake, ali utiču na morfologiju [181]. Polazeći od $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, na povišenoj temperaturi (60°C), Dumelie i saradnici su na gustinama struje od 5 mA cm^{-2} istaložili prevlaku HA koja se je po sastavu bila Ca-deficitarni HA (igličaste forme) i amorfni Ca-deficitarni HA (oblik sfera), dok je prevlaka taložena 10 mA cm^{-2} po sastavu bila amorfni Ca-deficitarni HA (oblik sfera) [183]. Polazeći od istih soli za pripremu elektrolita, kao i prethodni autori, Montero-Ocampo je sa saradnicima, na temperaturi od $60 \text{ }^\circ\text{C}$, pri gustini struje od 3 mA cm^{-2} dobio smešu hidroksiapatita i trikalcijum-fosfata. Na gustini struje od 10 mA cm^{-2} dobili su hidroksiapatit sa sfernim aglomeratima i dodatno pokazali da se sa

povećanjem gustine struje dobija kompaktnija prevlaka [186]. Elektrohemijskim taloženjem, Kanamoto i saradnici su dobili prevlake HA na nerđajućem čeliku, iz rastvora koji je sadržao CaCl_2 , K_2PO_4 i H_2O_2 . Ispitivan je uticaj koncentracije polaznih komponenti, pH vrednosti rastvora i primenjenog napona na strukturu i morfologiju dobijenih prevlaka i pokazano je da se čiste prevlake HA na nerđajućem čeliku dobijaju pri pH vrednosti u intervalu 3,0-4,5, što je znatno niža vrednost nego kada se taloži HA prevlaka na titanu/leguri titana [187]. Vasilescu i saradnici su elektrohemijski taložili HA prevlaku na leguri Ti-6Al-4V-1Zr, polazeći od 0,61 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i 0,36 mM $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, pri pH vrednosti od 6,0. Taloženje je izvedeno na konstantnom katodnom potencijalu od -1,4 V (vs. ZKE) tokom 2 h. Elektrode prekrivene prevlakom HA potopljene su u rastvor seruma albumina (serum govečeta) u SBF, tokom 5 dana na temperaturi od 37 °C. Pokazano je da se sa vremenom, zaštitna uloga prevlake povećava i da površina prevlake nakon potapanje u serum/SBF ima malo veću hrapavost od HA prevlake, što pozitivno utiče na adheziju ćelija [188]. Yang i saradnici su poredili brzinu formiranja koštanog tkiva pri *in vivo* eksperimentima, analizirajući ponašanje implantata čija je površina modifikovana samo hrapavljenjem, implantata na kome je formirana prevlaka biomimetičkim postupkom i implantata sa prevlakom HA, dobijenom elektrohemijskim taloženjem i pokazano je da prevlaka HA dobijena elektrohemijskim taloženjem značajno povećava brzinu fiksiranja implantata [189]. Eliaz i saradnici su elektrohemijski taložili HA na titanu iz rastvora soli $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, pri pH vrednostima od 4,2 i 6,0, u temperaturnom intervalu od 60 do 95 °C, pri različitim jonskim jačinama rastvora (dodatak KCl i NaNO_2), za vreme taloženja 1-3 h, pri konstantnom potencijalu od -1,4 V. Pokazali su da se pri pH vrednosti od 6,0, u temperaturnom intervalu 70 do 95 °C, dobija dobro kristalisali HA, dok se pri pH vrednosti od 4,2 dobija slabije kristalisali HA i deblja i više porozna prevlaka koja sadrži tragove oktakalcijum-fosfata. Produžavanjem vremena taloženja dobijene su prevlake veće debljine. Dodatak KCl u elektrolit vodi formiranju debljih prevlaka HA, igličaste forme, sa povećanim sadržajem Ca jona, dok dodatak NaNO_2 , takođe utiče na povećanje debljine prevlake, ali prevlaka ima dendritnu formu na površini. Prevlake formirane pri pH vrednosti od 6,0 imaju

bolju korozionu stabilnost, jer prevlake formirane pri pH vrednosti od 4,2 imaju veću poroznost, a to nepovoljno utiče na korozionu stabilnost [190].

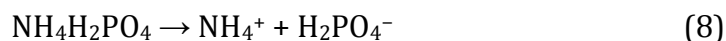
Elektrohemijsko taloženje se primenjuje za dobijanje prevlaka brušita. Redepenning i saradnici su dobili prevlake brušita elektrohemijskim taloženjem na nerđajućem čeliku 316 L, polazeći od vodenog rastvora $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_3$ pri pH vrednosti od 3,50, na gustinama struje od 1 i 10 mA cm^{-2} i pokazali da se sa povećanjem gustine struje smanjuje veličina kristala [191]. Polazeći od $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, elektrohemijsko taloženje brušita na titanu izvedeno je katodnom potenciodimaničkom polarizacijom, u opsegu potencijala od -500 mV do približno -2500 mV, tj. dok vrednost gustine struje nije dostigla vrednost od 10 mA cm^{-2} [130]. Prevlake brušita sa kristalitima nanometarskih dimenzija i oblika pahuljice, Bakhsheshi-Rad i saradnici dobili su elektrohemijskim taloženjem na leguri magnezijuma, pri gustini struje od 0,4 mA cm^{-2} , pH vrednosti rastvora od 5,0 i na temperaturi od 70 °C [192]. Huelin i saradnici su elektrohemijskim taloženjem na nerđajućem čeliku dobili prevlake kalcijum-fosfata iz kiselog rastvora brušita i pokazali da koncentracija polaznog rastvora brušita utiče na vrstu istaloženog kalcijum-fosfata i to tako što se iz razblaženog rastvora (koncentracija fosfatnih jona 0,03 mol dm^{-3}), pri gustini struje od 20 mA cm^{-2} , dobijaju prevlake hidroksiapatita, dok se iz polaznog rastvora veće koncentracije (koncentracija fosfatnih jona 0,3 mol dm^{-3}) pri istoj gustini struje, dobijaju prevlake brušita [178]. Abdel-Aal i saradnici su pokazali da se taloženjem iz elektrolita CaCl_2 i $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (molski odnos Ca/P=1,67), pri pH vrednosti od 4,6 na sobnoj temperaturi, na svim primenjenim gustinama struje u intervalu od 0,375 do 6,0 mA cm^{-2} , dobijaju prevlake brušita, različite morfologije, od pločastih do igličastih kristala, kao i da masa prevlake raste sa povećanjem gustine struje. Prevlake HA nisu dobijene ni za najveću vrednost primenjene gustine struje [127]. Sa druge strane, isti autor je pokazao da promena odnosa Ca/P u polaznom elektrolitu (0,335; 0,67; 1,0; 1,667) ne utiče na vrstu istaloženog kalcijum-fosfata kao ni na masu prevlake, pa se na gustini struje od 1,5 mA cm^{-2} , dobijaju prevlake brušita. Produžavanje vremena taloženja dovodi do povećanja mase prevlake [193]. Zhang i saradnici su pratili promenu pH vrednosti tokom taloženja (*in situ*) i pokazali su da je pri pH vrednosti od 4,5, na temperaturi od 60 °C, polazeći od $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, vrsta

elektrohemijski dobijenog kalcijum-fosfata funkcija primenjene gustine struje, pa se na 1 mA cm^{-2} dobija smeša brušita i oktakalcijum-fosfata, na 2 mA cm^{-2} trikalcijum-fosfat, a na gustinama struje od 3 i 5 mA cm^{-2} dobija hidroksiapatit [179]. Iz elektrolita koji pripremljen rastvaranjem $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, Kuo je sa saradnicima, na sobnoj temperaturi, pri pH vrednosti rastvora od 4,11 i gustini struje od 1 mA cm^{-2} dobio prevlaku koja je bila gotovo čist brušit, dok je ne gustini struje od 5 mA cm^{-2} dobijena prevlaka u kojoj dominira brušit uz značajnu količinu hidroksiapatita. Na gustini struje od 10 mA cm^{-2} dobijena je veoma adherentna prevlaka HA, sa visokom vrednošću sile kidanja od 20 N i stabilna pri zagrevanju na temperaturama ispod $700 \text{ }^\circ\text{C}$ [194]. Rakngarm i saradnici su taložili prevlake kalcijum-fosfata iz dva različita elektrolita, i to monokalcijum-fosfata monohidrata (MCPM) i presićenog rastvora kalcijum-fosfata (SCPS), pri gustini struje od 3 mA cm^{-2} , tokom 45 minuta. Dobijene su prevlake brušita sa određenim procentom oktakalcijum-fosfata. Nakon potapanja u r-SBF (*eng.* revised simulated body fluid), amorfni apatit, strukture kao u kostima, formiran je tokom 24 h na prevlakama koje su taložene iz MCPM elektrolita, dok je kod prevlaka taloženih iz SCPS elektrolita bilo potrebno 7 dana za taloženje apatita. Prevlake brušita su pokazale postojanost pri kritičnom opterećenju od 87,2 N, dok je kod prevlaka nakon potapanja kritično opterećenje bilo niže za 50 %, usled promene strukture prevlaka tokom potapanja u r-SBF [195].

Iako je dobijanje prevlaka brušita elektrohemijским taloženjem dobro opisano u literaturi, kao što je navedeno u prethodnom tekstu, nedovoljno je ispitivan uticaj parametara taloženja brušita na titanu na morfologiju i karakteristike same prevlake brušita. Iz tog razloga, ispitivan je uticaj gustine struje taloženja i vremena taloženja, na sobnoj temperaturi, na masu i morfologiju prevlaka brušita i pokazano je da se prevlaka sa najmanjom veličinom kristalita od 15,6 nm i najveće poroznosti, dobija pri gustini struje od 9 mA cm^{-2} za vreme taloženja od 30 min, kao i da se poroznost prevlake povećava sa porastom gustine struje [184].

Rastvor elektrolita za elektrohemijско taloženje brušita se priprema rastvaranjem kalcijumovih i fosfatnih soli u destilovanoj vodi [184,196]. Obično se primenjuju kalcijum-nitrat tetrahidrat, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, i amonijum dihidrogen

fosfat, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$. U vodenom rastvoru dolazi do disocijacije prema jednačinama [182]:



Primenom električnog polja, na granici elektroda/elektrolit dolazi do hemijske reakcije: na katodi se odvija redukcija, a na anodi oksidacija. Ove reakcije utiču na promenu pH vrednosti, što preko kiselo-baznih reakcija dovodi do taloženja kalcijum-fosfatnih prevlaka na katodi. Prema tome, mehanizam elektrohemijuskog taloženja moguće je opisati preko tri konsektivna stupnja: elektrohemijske reakcije, kiselo-bazne reakcije i taloženje [127,179,182-184,186, 194,197].

Elektrohemijske reakcije

Disocijacijom polaznih jedinjenja CaCl_2 i $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ u vodenom rastvoru, formiraju se joni Ca^{2+} , 2Cl^- , NH_4^+ i H_2PO_4^- . Pod uticajem električnog polja, dolazi do redukcije vodonikovih jona iz NH_4^+ (potiče od $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), prema jednačini [184]:



Reakcija (9) može da izazove promenu pH vrednosti na približno 9, tj. do vrednosti koja odgovara samopuferujućem sistemu ($\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$) [198]. U vodenim rastvorima, pod uticajem električnog polja, na elektrodama se odvijaju reakcije redukcije i oksidacije prema jednačinama (4)-(6). Reakcija redukcije vode dovodi do lokalnog porasta pH vrednosti na granici elektroda/elektrolit, ostvarujući uslove za odigravanje kiselo-baznih reakcija. Prema nekim autorima, postoje i druge elektrohemijske reakcije koje se mogu odigrati u ovom sistemu, kao npr. reakcije u kojima učestvuju molekuli kiseonika i joni nitrata i dihidrogen-fosfata [127,179,182,197]. Prema nekim autorima, količina kiseonika i jona nitrata i dihidrogen fosfata je ekstremno mala u poređenju sa količinom vode koja se nalazi u sistemu, tako da reakcija redukcije vode predstavlja dominantu katodnu reakciju [182].

Kiselo-bazne reakcije

Vrsta fosfatnih jona, koja će se naći u rasvoru, je funkcija pH rasvora [81,190], i prikazana je na slici 2.2. Promena pH vrednosti, izazvana reakcijama redukcije vode i NH_4^+ jona (potiče od polaznog $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), dovodi do disocijacije jona dihidrogen fosfata u vodenom rastvoru.

Elektrolit za elektrohemijsko taloženje, odmah nakon pripreme, ima pH vrednosti između 4 i 5. Prema slici 2.2. dominantna vrsta fosfatnih jona je dihidrogen-fosfat, H_2PO_4^- . Elektrohemijske reakcije, koje se odigravaju u ovom sistemu (jednačine (4) i (9)), dovode do lokalne promene pH vrednosti u blizini elektrode

Ukoliko se lokalna vrednost pH rastvora na katodi promeni na vrednosti između 7,2 i 11,8 [182], dominantan fosfatni jon postaje hidrogen-fosfat, HPO_4^{2-} , što se može predstaviti reakcijom:



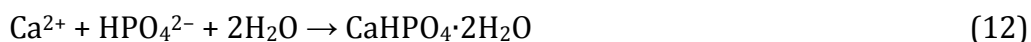
Za pH vrednosti rastvora preko 11,8, dominantan je fosfatni jon, PO_4^{3-} , što je moguće predstaviti reakcijom:



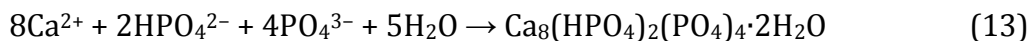
Taloženje prevlaka kalcijum-fosfata

Reakcije (10) i (11) dovode do lokalnog presićenja, što dovodi do taloženja kalcijum-fosfatne faze sa malim proizvodom rastvorljivosti i velikom termodinamičkom stabilnošću. Različiti oblici kalcijum fosfata se mogu taložiti na elektrodi, kao funkcija pH vrednosti na katodi [183,195]:

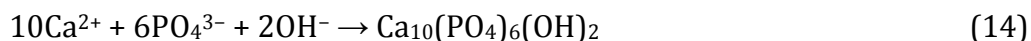
-Brušit (Ca/P=1,00)



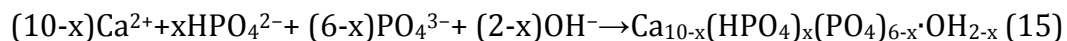
-Oktakalcijum fosfat (Ca/P=1,33)



-Hidroksiapatit (Ca/P=1,67)



-Kalcijum deficitarni apatit ($1,33 < \text{Ca}/\text{P} < 1,67$, $0 < x < 2$)



Tokom elektrohemijskog taloženja, formiranje prevlaka može se opisati elektrohemijskim kiselo-baznim i reakcijama taloženje. Tokom reakcije redukcije vode dolazi povećanje pH vrednosti što je posledica povećanja koncentracije jona OH^- u prielektrodnom sloju (jednačina (4)). Promenom lokalne vrednosti pH ostvaruju se uslovi za odigravanje kiselo-baznih reakcija (reakcije (10) i (11)), a koja od ove dve reakcije će se odigravati zavisi od vrednosti pH u okolini katode [127,182,190,198]. U zavisnosti od vrste fosfatnog jona koji je stabilan pri datim uslovima, doći će do povećanja koncentracije datog jona u prielektrodnom sloju. To dovodi do pojave presićenog rastvora u odnosu na određenu vrstu kalcijum-fosfata. Presićenje je neophodno da bi se prevazišla energija aktivacije u fazi nukleacije, jer se formiranje odvija se u dva stupnja, putem nukleacije (formiranje primarnih kristala) i rast kristala [180]. Kada se jednom prevaziđe kritični nivo presićenosti, formiranje kalcijum-fosfatne prevlake na elektrodi započinje, prema jednačinama (12)-(15). Pošto pH elektrolita raste samo na međusloju katoda/rastvor, neće doći do taloženja kalcijum-fosfata u dubini rastvora tokom procesa formiranja prevlake.

Sa porastom gustine struje, primenjene za elektrohemijsko taloženje, dolazi do porasta pH vrednosti u prielektrodnom sloju, što dodatno povećava stepen presićenja rastvora, čime se povećava brzina nukleacije i rasta kristala, a kao posledica se talože prevlake veće mase [127,179]. Povećanje gustine struje, sa druge strane, dovodi do povećanja brzine reakcije redukcije vode, što ima za posledicu izdvajanje veće količine vodonika na katodi, dovodeći do formiranja prevlaka veće poroznosti i slabije kohezije unutar same prevlake.

2.4.7. Ponašanje kalcijum-fosfata u simuliranoj telesnoj tečnosti (in vitro ispitivanja)

U organizmu, implantat ima ulogu da ostvari vezu sa okolnim koštanim tkivom [199], pa nakon plasiranja implantata u organizam, njegova površina postaje mesto hemijske interakcije sa okolnim sistemom. Telesne tečnosti sadrže anjone, katjone i rastvoreni kiseonik, što zajedno predstavlja veoma korozivnu sredinu. U eksperimentima *in vivo*, u tkivu koje okružuje Ti6Al4V implantat,

konstatovano je prisustvo titana, aluminijum i vanadijuma, što na okolno tkivo deluje citotoksično, smanjujući proliferaciju ćelija i povećavajući upalni odgovor tkiva [200,201].

Ispitivanjima *in vivo* prethode ispitivanja *in vitro*, tj. ispitivanje ponašanja potencijalnih biomaterijala u uslovima koji su veoma bliski uslovima u organizmu. Postoji veliki broj rastvora koji se upotrebljavaju za *in vitro* ispitivanja. Primena prirodnih tečnosti (krvni serum, pljuvačka, limfa) predstavlja najpribližniju sredinu koja odgovara uslovima u organizmu, ali je ovo kompleksno usled variranja hemijskog i biohemijskog sastava prirodnih tečnosti kao i zbog problema njihovog skladištenja. Henkov uravnoteženi rastvor soli (HBSS) je bio prvi sistem koji je uspešno simulirao prirodne uslove, i ovaj rastvor sadrži jone kalcijuma i fosfata zajedno sa drugim neorganskim jonima i glukozom. HBSS je komercijalno dostupan i još uvek se koristi u eksperimentima [202]. Drugi rastvori koji se primenjuju obuhvataju α -modifikovanu EAGLE-ovu sredinu (α -MEM) koji sadrži brojna organska (npr. alanin, asparinska kiselina, glicin, biotin, vitamin C, folna kiselina, riboflavin) i neorganska (npr. CaCl_2 , KCl, NaCl, NaH_2PO_4) jedinjenja i slani fosfatni pufer (PBS) koji sadrži samo soli neorganskih jedinjenja (CaCl_2 , MgCl_2 , KCl, KH_2PO_4 , NaCl, NaH_2PO_4) [203]. Ipak, najviše primenjivani rastvor za ispitivanje ponašanja i stabilnosti prevlaka je nećelijska bezproteinska simulirana telesna tečnost (SBF). Ovo je poznato kao Kokubo SBF [204]. To je metastabilni vodeni rastvor koji ima pH $\sim 7,40$, presićen u odnosu na taloženje HA, sadrži samo neorganske jone u koncentraciji približno jednakoj kao u ljudskoj krvnoj plazmi.

Pokazano je da se koroziona stabilnost metalnih implantata povećava ukoliko je metalna površina modifikovana prevlakom kalcijum-fosfata (HA, brušit, monetit, oktakalcijum-fosfat) [9,31,205]. Biološka aktivnost i koroziona stabilnost metalnih implantata su rezultat formiranja sloja HA na površini putem heterogene nukleacije i rasta kristala u rastvoru koji je presićen u odnosu na formiranje apatita (SBF).

Kada se kalcijum-fosfatna prevlaka potopi u SBF, dolazi do delimičnog rastvaranja površine prevlake, što dovodi po povećanja lokalne koncentracije jona kalcijuma i fosfora. Ovom lokalnom promenom koncentracije SBF stvaraju se uslovi za taloženje jedinjenja čiji je proizvod rastvorljivosti veći od proizvoda

rastvorljivosti jedinjenja koje je uneto u SBF. Rastvaranje površine prevlake je veoma brz proces, tako da nakon kratkog vremenskog perioda započinje taloženje stabilnijeg kalcijum-fosfata. Naime, pri ovakvim uslovima simultano se odigravaju reakcije rastvaranja i taloženja prevlake. Porast koncentracije jona u SBF nakon rastvaranja, dovodi do porasta broja mesta nukleacije na površini prevlake. Jednom stvoreni nukleusi apatita rastu spontano, upijajući jone kalcijuma i fosfora iz okolnog SBF.

Prema klasičnoj Osvaldovoj (Ostwald) teoriji nukleacije, slobodna energija nukleacije (ΔG) zavisi od presićenja rastvora (S), ukupne međupovršinske energije za nukleaciju (σ), temperature (T) i površine čestice (A) i data je jednačinom [206]:

$$\Delta G = -RT \ln S + \sigma A \quad (16)$$

Prema navedenoj definiciji heterogene nukleacije, povećanje stepena presićenja rastvora (S) i smanjenje ukupne međupovršinske energije za nukleaciju (σ) može indukovati heterogenu nukleaciju.

U praksi, uslovi za heterogenu kristalizaciju mogu se obezbediti na nekoliko načina:

- a) postojanjem nukleusa apatita bez potrebe nukleacije kristala apatita (hidroksiapatit se brzo prevlači novim slojem apatita u prisustvu SBF [207]);
- b) prisustvom površine sa malom površinskom energijom (formiranje apatita na površini β -TCP). Prisustvo površine sa malom površinskom energijom je razlog zbog kojeg se preporučuje upotreba plastičnih posuda za ispitivanja u rastvorima SBF, jer pri primeni staklenih posuda može doći do nukleacije apatita na staklenoj površini, na ivicama ili ogrebanim delovima posuda [204]);
- c) promenom lokalne vrednosti presićenja rastvora u odnosu na taloženje apatita (bio-staklo i drugi materijali na bazi kalcijum-fosfata, nakon potapanja u SBF veoma brzo se prevlače slojem apatita).

Naime, uslovi za heterogenu kristalizaciju apatita, kao posledice promene lokalne koncentracije, mogu se postići na nekoliko načina. Dodatak čvrste supstance u SBF utiče na promenu sastava rastvora. Promena koncentracija pojedinih jonskih vrsta dovodi do stvaranja presićenog rastvora u odnosu na određenu vrstu jedinjenja, što ima za posledicu taloženje tih jedinjenja. Ovim mehanizmom se objašnjava formiranje sloja apatita na bio-staklu [208,209].

Lokalnu promenu sastava SBF je moguće postići i upotrebom materijala koji su rastvorljivi u SBF i koji, prema tome, mogu osloboditi veliku količinu jona kalcijuma i fosfora. Na ovaj način se formira hidroksiapatit na brušitu, nakon potapanja u SBF [210].

Formiranje sloja apatita u SBF se može ispitivati pri dinamičkim (SBF ima određeni protok tokom ispitivanja), polu-dinamičkim (promena celokupne ili dela zapremine SBF iz posude) ili statičkim uslovima (SBF se ne menja u posudi tokom celog ispitivanog perioda) [211]. Formiranje apatita u SBF pri dinamičkim uslovima ispitivanja je sporije nego pri primeni statičkih uslova [209]. Ispitivanje formiranja apatita u SBF pri polu-dinamičkim uslovima ima za cilj održavanje koncentracije jona kalcijuma i fosfora na nivou vrednosti koje su u ljudskoj plazmi, jer koncentracija ova dva jona u SBF opada tokom vremena usled nukleacije i rasta apatita na površini uzorka.

Hemija i morfologija površine imaju ključnu ulogu u ovom procesu. Vrsta kalcijum-fosfata, njegova stabilnost/rastvorljivost u SBF, veličina čestica, hrapavost i poroznost prevlaka predstavljaju ključne parametre koji određuju ponašanje i konverziju prevlaka kalcijum-fosfata u *in vitro* ispitivanjima.

Ispitivanje rastvorljivosti/stabilnosti prevlaka u SBF je veoma važno, zbog potencijalne primene u organizmu, jer prevlake koje se veoma brzo rastvaraju, mogu ostati nedovoljno dugo na površini implantata da bi se obezbedila potpuna stabilizacija, dok prevlake koje se veoma sporo rastvaraju ne mogu obezbediti željeni odgovor okolnog tkiva u određenom vremenskom intervalu. Sun i saradnici su pokazali da pri potapanju prevlake HA u SBF najpre dolazi do rastvaranja prevlake, a zatim do taloženja i da se ova dva procesa smenjuju, što su potvrdili promenom mase uzoraka. Dodatno su pokazali da se rastvaranje prevlake preferentno odigrava na mestima veće poroznosti, kao i da je rastvaranje prevlake HA u SBF nehomogeno [212]. Zhang i saradnici su, takođe, pokazali da se prevlaka HA, potopljena u SBF najpre rastvara, a zatim dolazi do taloženja novog sloja HA. Tokom rastvaranja prevlake dolazi do formiranja velikog broja centara nukleacije, što omogućava taloženja novog sloja HA velikom brzinom i dovodi do naglog pada koncentracije kalcijumovih jona. Pokazali su da rastvorljivost prevlaka HA opada sa povećanjem veličine kristalita i stepena kristaliniteta prevlake, zbog smanjenja

specifične površine prevlake, tj. površine prevlake koja je u kontaktu sa SBF [213]. Kim i saradnici su pokazali da tokom prvih 24 h nakon potapanja prevlake HA u SBF poroznost drastično raste i da se pore sub-mikronskih dimenzija formiraju kroz prevlaku, kao i da raste hrapavost [153]. Različite kalcijum-fosfatne prevlake imaju različite brzine rastvaranja u zavisnosti od Ca/P odnosa, što utiče na brzinu formiranja HA, kao što su pokazali Juhasz i saradnici. Pri potapanju brušita u SBF, već nakon 24 h potapanja pojavljuju se OCP i HA, dok se pri potapanju trikalcijum-fosfata, HA formira nakon 7 dana [207]. Hu i saradnici su, poredeći ponašanje ćelija na kristalnom i amorfnom HA, pokazali da stepen kristaliniteta HA direktno utiče na bioaktivnost tako što kristalinski HA utiče povoljno na adsorpciju, proliferaciju i diferencijaciju ćelija pri *in vitro* ispitivanjima za razliku od amornog HA [214]. Poroznost i specifična površina prekursora određuju mogućnost i brzinu njegove konverzije u HA nakon potapanja u SBF, što zavisi od specifične površine uzorka prekursora i poroznosti [215].

3. Cilj istraživanja

Naučni cilj ove doktorske disertacije je da se primenom elektrohemijskih metoda dobiju prahovi i prevlake kalcijum-fosfata na titanu i ispita uticaj parametara sinteze na fazni sastav, veličinu kristalita i morfologiju dobijenih prahova i prevlaka.

Jedan od ciljeva istraživanja je dobijanje prahova hidroksiapatita (za direktnu primenu u skafoldima) i monetita (kao prekursora za dobijanje hidroksiapatita) elektrohemijskom sintezom iz rastvora, kao i optimizacija parametara elektrohemijske sinteze (gustina struje i pH vrednost) u cilju dobijanja prahova monetita i hidroksiapatita sa nanočesticama određenog oblika i dimenzija.

Drugi cilj istraživanja je primena elektrohemijskih postupaka (elektroforetsko i elektrohemijsko taloženje) za dobijanje prevlaka monetita i brušita na titanu kao i konverzija dobijenih prevlaka u prevlake hidroksiapatita. Ispitaće se optimalni parametri taloženja da bi se dobile prevlake sa određenom veličinom kristalita, morfologijom, poroznošću i hrapavosti.

Treći deo ispitivanja odnosi se na modifikaciju površine elektroforetski taložene prevlake hidroksiapatita na titanu, jonskim snopovima (implantacija jona) i ispitivanje uticaja vrste i koncentracije implantiranih jona na veličinu kristalita prevlake kao i na parametre jedinične ćelije hidroksiapatita.

Zbog toga će se fazni sastav i morfologija elektrohemijski sintetisanih prahova monetita i hidroksiapatita analizirati metodom rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku, skenirajućom elektronskom mikroskopijom, infracrvenom spektroskopijom i transmisionom elektronskom mikroskopijom, sa ciljem da se utvrdi uticaj parametara elektrohemijske sinteza (gustine struje i pH vrednosti polaznog rastvora) na vrstu sintetisanog kalcijum-fosfatnog jedinjenja, veličinu kristalita i morfologiju sintetisanih prahova. Cilj je da se odredi veličina čestica i raspodela veličine čestica u suspenzijama sintetisanih prahova. Diferencijalno termijskom i termogravimetrijskom analizom će se ispitati ponašanje nanodimenzionih prahova na povišenoj temperaturi.

U cilju dobijanja prevlaka monetita i brušita na titanu primeniće se metode elektroforetskog i elektrohemijskog taloženja, redom, i ispitaće se uticaj parametara taloženja (napona i vremena, odnosno gustine struje i vremena za prevlake monetita i brušita, redom) na masu prevlaka na titanu. Metoda rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku će se primeniti za ispitivanje prevlaka monetita i brušita na titanu da bi se odredio uticaj parametara taloženja na veličinu kristalita. Skenirajuća elektronska mikroskopija prevlaka će se primeniti za ispitivanje morfologije prevlaka, a mikrofotografije će biti analizirane u cilju određivanja poroznosti prevlaka i uticaja parametara taloženja na veličinu pora, srednji prečnik pora kao i na poroznost dobijenih prevlaka.

In vitro ispitivanja prevlaka monetita i brušita, kao prekursora za dobijanje hidroksiapatita, biće izvedena potapanjem u NaOH i u simuliranu telesnu tečnost, redom. Bioaktivnost prevlaka monetita biće ispitana nakon potapanja u NaOH skenirajućom elektronskom mikroskopijom i metodom rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku. Bioaktivnost prevlaka brušita biće ispitana nakon potapanja u simuliranu telesnu tečnost i promene u faznom sastavu i morfologiji prevlaka kao i dinamika rastvaranja/taloženja konvertovanih prevlaka hidroksiapatita biće ispitane skenirajućom elektronskom mikroskopijom, metodom rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku, mikroskopijom atomskih sila i atomskom apsorpcionom kao i UV-Vis spektroskopijom.

Prevlake hidroksiapatita, elektroforetski taložene na titanu, biće površinski modifikovane jonskim snopovima jona N^{4+} i Ar^{6+} , različitih doza. Metodom rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku biće analiziran uticaj vrste i doze jona na veličinu parametara jedinične ćelije hidroksiapatita. Skenirajućom elektronskom mikroskopijom će se pratiti promene u morfologiji prevlake u funkciji vrste i doze implantiranih jona.

4. Eksperimentalni deo

4.1. Elektrohemijski postupci dobijanja prahova

4.1.1. Elektrohemijska sinteza praha monetita

Homogeni vodeni rastvor za elektrohemijsku sintezu praha monetita dobijen je rastvaranjem $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 i CaCl_2 sa odnosom koncentracija $\text{Ca}/\text{EDTA}/\text{PO}_4^{3-}$ od 0,25/0,25/0,15 M. Sve hemikalije su bile p.a. kvaliteta. Nakon mešanja komponenata u određenom molskom odnosu, pH vrednost rastvora je bila 3,0. Dodavanjem 10 M NaOH, pH vrednost je promenjena na 5,0.

Ćeliju za elektrohemijsku sintezu praha monetita sačinjavale su dve platinske elektrode, dimenzija $8\text{ mm} \times 10\text{ mm}$.

Elektrohemijska sinteza je izvedena pri galvanostatskim uslovima, na gustini struje, j , od 137 mA cm^{-2} , na sobnoj temperaturi sa konstantnim mešanjem rastvora na magnetnoj mešalici u trajanju od 3 h, na uređaju Gamry Reference 600 Potentiostat/Galvanostat/ZRA. Nakon sinteze, dobijena suspenzija je držana na $40\text{ }^\circ\text{C}$ tokom 72 h, do pojave gustog taloga praha monetita. Talog je ispiran destilovanom vodom u centrifugi (10.000 o min^{-1}), do negativne reakcije na Cl-jone (proba sa AgNO_3). Prah monetita je dobijen sušenjem na $40\text{ }^\circ\text{C}$ tokom 48 h [104].

4.1.1.1. Karakterizacija praha monetita

4.1.1.1.1 Rendgenska difrakciona analiza

Kvalitativni fazni sastav praha monetita ispitivan je metodom rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku (*eng.* XRD). Uzorci su analizirani na rendgenskom difraktometru marke PHILIPS PW 1051. Intenziteti difraktovanog CuK_α rendgenskog zračenja ($\lambda = 1,5418\text{ \AA}$) mereni su na sobnoj temperaturi u intervalima $0,05^\circ$ i vremenu od 1 s, u opsegu od 10° do $70^\circ 2\theta$.

4.1.1.1.2 Infracrvena spektroskopska analiza

Infracrvena spektroskopska analiza, (IC), je izvedena na spektrometru Perkin-Elmer 782 u oblasti talasnih brojeva 350 do 4000 cm^{-1} . Priprema uzoraka je izvršena KBr metodom.

4.1.1.1.3 Raspodela veličine čestica

Raspodela veličine čestica praha monetita određena je pomoću uređaja Zeta-sizer Nano ZS sa 633 nm He-Ne laserom (Malvern, UK), koji radi na principu analize difraktovane svetlosti. He-Ne laser je izvor crvene svetlosti talasne dužine 633 nm. Kao rezultat dobija se spektar rasejane svetlosti tokom prolaska dispergovanih čestica u suspenziji kroz laserski snop tokom određenog vremena. Na ovom instrumentu moguće je izmeriti čestice čija je veličina u opsegu od 0,6 nm do 6 μm .

4.1.1.1.4 Skenirajuća elektronska mikroskopija

Morfologija i mikrostruktura praha monetita analizirana je metodom skenirajuće elektronske mikroskopije (*eng.* SEM), na uređaju JSM-35 (JEOL).

4.1.1.1.5 Diferencijalna termijska i termogravimetrijska analiza

Za diferencijalnu termijsku (*eng.* DTA) i termogravimetrijsku analizu (*eng.* TGA) korišćen je uređaj SETARAM TG/DTA STSYS evolution – 1750 system. Eksperimenti su urađeni u struji vazduha, sa brzinom zagrevanja od 10 $^{\circ}\text{Cmin}^{-1}$ u opsegu temperature od 30 $^{\circ}\text{C}$ do 1600 $^{\circ}\text{C}$.

4.1.2. Elektrohemijska sinteza praha hidroksiapatita

Homogeni vodeni rastvor za elektrohemijsku sintezu praha hidroksiapatita dobijen je rastvaranjem $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 i CaCl_2 sa odnosom koncentracija $\text{Ca}/\text{EDTA}/\text{PO}_4^{3-}$ od 0,25/0,25/0,15 M. Sve hemikalije su bile p.a.

kvaliteta. Nakon mešanja komponenata u određenom molskom odnosu, pH vrednost rastvora je bila 3,0. Dodavanjem 10 M NaOH, pH vrednost je promenjena na 9,0 odnosno 12,0.

Ćeliju za elektrohemijsku sintezu praha hidroksiapatita sačinjavale su dve platinske elektrode, dimenzija 8 mm × 10 mm.

Elektrohemijska sinteza je rađena pri galvanostatskim uslovima, na gustinama struje, j , od 137 mA cm⁻² i 207 mA cm⁻², za dve vrednosti pH od 9,0 i 12,0 na sobnoj temperaturi sa konstantnim mešanjem na magnetnoj mešalici u trajanju od 3 h, na uređaju Gamry Reference 600 Potentiostat/Galvanostat/ZRA. Nakon sinteze, dobijene suspenzije su držane na 40 °C tokom 72 h, do pojave gustog taloga praha hidroksiapatita. Talog je ispiran destilovanom vodom u centrifugi (10.000 o min⁻¹), do negativne reakcije na Cl⁻jone (proba sa AgNO₃). Prahovi hidroksiapatita su dobijeni sušenjem na 40 °C tokom 48 h [147].

4.1.2.1. Karakterizacija praha hidroksiapatita

4.1.2.1.1 Rendgenska difrakciona analiza

Kvalitativni fazni sastav praha hidroksiapatita određen je metodom rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku. Uzorci su analizirani na rendgenskom difraktometru Enraf Nonius FR 590. Intenziteti difraktovanog CuK_α rendgenskog zračenja ($\lambda = 1,5418\text{Å}$) mereni su na sobnoj temperaturi u intervalima 0,05° i vremenu od 3 s, u opsegu od 9° do 70° 2 θ . Veličina kristalita prahova hidroksiapatita računata je iz difrakcionih maksimuma koji odgovaraju ravni (002) korišćenjem programa WinFit [216]. Izračunavanja koja program vrši zasnovana su na primeni Šererove jednačine:

$$L_c = \frac{K\lambda}{\beta_{1/2} \cos \theta} \quad (17)$$

gde je L_c veličina kristalita, $\beta_{1/2}$ širina difrakcionog maksimuma na poluvisini, λ talasna dužina CuK_α zračenja (1,5418Å), θ ugao difrakcije i K je koeficijent oblika (vrednost između 0,9 i 1,0).

4.1.2.1.2 Raspodela veličine čestica

Raspodela veličine čestica praha hidroksiapatita određena je primenom uređaja Zeta-sizer Nano ZS sa 633 nm He-Ne laserom (Malvern, UK). Detaljan opis uređaja dat je u poglavlju 4.1.1.1.3.

4.1.2.1.3 Transmisiona elektronska mikroskopija

Mikrostruktura praha hidroksiapatita analizirana je metodom transmisione elektronske mikroskopije (*eng.* TEM) na uređaju Philips EM 400 (radni napon 120kV). Uzorci su pripremani tako što je kap razblažene vodene suspenzije praha hidroksiapatita nanosena na ugljenikom prevučenu bakarnu mrežicu. Nakon sušenja uzorka na mrežici, snimane su mikrofotografije.

4.1.2.1.4 Skenirajuća elektronska mikroskopija

Morfologija i mikrostruktura praha hidroksiapatita analizirana je metodom skenirajuće elektronske mikroskopije, na uređaju JSM-35 (JEOL).

4.1.2.1.5 Diferencijalna termijska i termogravimetrijska analiza

Za diferencijalnu termijsku i termogravimetrijsku analizu korišćen je uređaj SETARAM TG/DTA STSYS evolution – 1750 system. Eksperimenti su urađeni u struji vazduha, sa brzinom zagrevanja od $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ u opsegu temperature od $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $1400\text{ }^{\circ}\text{C}$.

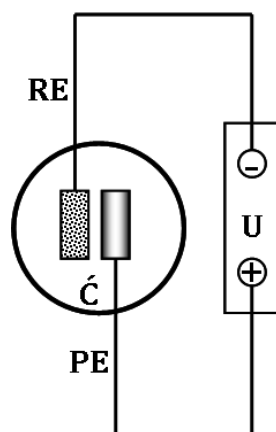
4.2. Elektrohemijski postupci dobijanja prevlaka

4.2.1. Elektroforetsko taloženje prevlaka monetita na titanu iz etanolske suspenzije

U cilju dobijanja prevlaka monetita na titanu, korišćen je elektrohemijski sintetisan nanočestični prah monetita, dobijen na gustini struje od 137 mA cm^{-2} i

pri pH vrednosti rastvora od 5,0, kao što je opisano (poglavlje 4.1.1). Etanolska suspenzija praha monetita pripravljena je dodavanjem 1,0 g praha monetita u 100 ml apsolutnog etanola. Suspenzija je bila tretirana u ultrazvučnom kupatilu tokom 30 min u cilju dobijanja homogene i stabilne suspenzije. pH vrednost suspenzije je podešena na 1,2 dodavanjem 10% HCl.

Ćeliju za elektroforetsko taloženje prevlaka monetita sačinjavale su dve elektrode. Radna elektroda, katoda, je bila titanska pločica, dimenzija 10 mm x 15 mm x 0,89 mm (ALFA AESAR, A Johnson Matthew Co., čistoće 99.7%), dok je pomoćna elektroda bila Pt pločica, postavljena paralelno sa radnom elektrodom na rastojanju od 1,5 cm (slika 4.1.). Kao izvor konstantnog napona korišćen je ELECTROPHORESIS POWER SUPPLY (ISKRA MA 8903).



Slika 4.1. Šema aparature za kataforetsko taloženje (*PE* – pomoćna elektroda, *RE* – radna elektroda, *Ć* – ćelija za elektroforetsko taloženje, *U* – izvor konstantnog napona).

Pre unošenja u rastvor za taloženje, titanske pločice su odmašćivane u acetonu, a zatim u etanolu u ultrazvučnom kupatilu u trajanju od 15 min. Nakon pripreme površine, pločice su držane u etanolu do početka eksperimenta.

Prevlake monetita su taložene na titanu iz etanolske suspenzije pri različitim vrednostima konstantnog napona od 10 do 50 V, za različita vremena taloženja od 1 min do 30 min, na sobnoj temperaturi [104].

Prevlake monetita su sušene na vazduhu tokom 1 h, a zatim je određivana masa prevlaka, kao razlika u masi titanske elektrode pre i nakon taloženja.

4.2.1.1. Konverzija prevlaka monetita u hidroksiapatit potapanjem u NaOH

Prevlake monetita, dobijene taloženjem na naponu od 30 V za vreme taloženja od 20 min, potapane su u rastvor 10 % NaOH tokom 2 h, na sobnoj temperaturi.

4.2.1.2. Karakterizacija prevlaka monetita i hidroksiapatita na titanu

4.2.1.2.1 Rendgenska difrakciona analiza

Kvalitativni fazni sastav prevlaka monetita i hidroksiapatita određen je metodom rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku pri istim eksperimentalnim uslovima koji su bili primenjeni za analizu praha monetita (poglavlje 4.1.1.1.1).

4.2.1.2.2 Skenirajuća elektronska mikroskopija

Morfologija i mikrostruktura prevlaka monetita na titanu ispitivana je metodom skenirajuće elektronske mikroskopije, na uređaju JSM T-20 (JEOL). Mikrografije su analizirane primenom programa ImageProPlus (verzija 4).

Morfologija i mikrostruktura prevlake hidroksiapatita, dobijene nakon konverzije prevlaka monetita u NaOH, ispitivana je skenirajućim elektronskim mikroskopom (model JSM 5800 (JEOL)). Hemijski sastav prevlaka određen je energetsom disperzionom spektroskopijom (*eng.* EDS) na uređaju (Oxford Instruments) koji je povezan sa SEM uređajem JSM 5800 (JEOL).

4.2.2. Elektroforetsko taloženje prevlaka hidroksiapatita na titanu iz etanolske suspenzije

Prah hidroksiapatita je sintetisan hidrotermalnom metodom. U 100 ml destilovane vode rastvoreno je 0,55 g CaCl₂, 0,74 g Na₂H₂EDTA·2H₂O, 0,6 g NaH₂PO₄ i 0,6 g uree (sve hemikalije su bile p.a. čistoće). Rastvor je bio grejan

na 160 °C tokom 3 h u zatopljenoj cevi. Sintetisani prah je, zatim, ispiran destilovanom vodom i sušen na 105 °C tokom 2 h [217].

Za pripremu alkoholne suspenzije praha hidroksiapatita, dobijenog opisanim hidrotermalnim postupkom, odmereno je 1,0 g praha hidroksiapatita i dodato je u 100 ml etanola. U cilju povećanja stabilnost suspenzije, dodato je 55 µl 10% HCl, tako da je pH vrednost suspenzije bila 2,0. Nakon toga, suspenzija je tretirana u ultrazvučnoj kadi tokom 30 min.

Elektroforetsko taloženje prevlaka hidroksiapatita je izvedeno u ćeliji sa radnom i pomoćnom elektrodom. Šema aparature je predstavljena na slici 4.1. Radna elektroda je bila titanska pločica (8 x 12 x 0,127 mm, Ti 99,7% ALDRICH). Pomoćna elektroda je bila Pt pločica, postavljena paralelno sa radnom elektrodom, na rastojanju od 1,5 cm. Titanske pločice su bile odmašćivane u acetonu i zatim u etanolu tokom 15 min u ultrazvučnom kupatilu. Prevlake hidroksiapatita na titanu dobijene su elektroforetskim taloženjem iz etanolske suspenzije na sobnoj temperaturi. Talozenje je izvedeno potenciostatski, na 30 V, za vreme taloženja od 30 s. Masa prevlake hidroksiapatita je iznosila 1,30 mg, a određena je iz razlike mase katode pre i nakon taloženja.

4.2.2.1. Modifikacija površine elektroforetski taloženih prevlaka hidroksiapatita na titanu jonskim snopovima (implantacija jona N^{4+} i Ar^{6+})

Površine elektroforetski taloženih prevlaka hidroksiapatita na titanu, dobijenih postupkom opisanim u poglavlju 4.2.2, modifikovane su implantacijom jona N^{4+} i Ar^{6+} .

Implantacija jona je urađena na L3A kanalu za modifikaciju materijala (Institut za nuklearne nauke „Vinča“) koji je direktno povezan sa izvorom jona (mVINIS). Vakuumska komora u koju se smešta meta (u ovom slučaju titanske pločice) imala je dimenzije 1 x 1 x 1 m³, sa držačem mete, pozicioniranim na sredini komore. Držač mete je disk, prečnika 300 mm, koji se hladi vodom. Ovaj disk omogućava izlaganje i rotaciju uzoraka u cilju izlaganja površine uzoraka jonskom

snopu iz mVINIS, jonima niske energije iz argonskog pištolja ili isparavanjem elektronskog snopa (e-pištolj).

Urađena su dva seta eksperimenata modifikacije površine jonskim snopovima i to implantacijom jona N^{4+} (set A) i jona Ar^{6+} (set B) u prevlake hidroksiapatita elektroforetski taloženih na titanu. Implantacija je urađena sa tri različite konstantne doze jona od 1×10^{15} , 1×10^{16} i 1×10^{17} jon cm^{-2} , sa energijama od 60 keV i 90 keV, za jone azota i argona, redom [86]. Sva ozračivanja uzoraka izvedena su na sobnoj temperaturi, a površina uzoraka za implantaciju jona bile su homogeno i potpuno pokrivene jonskim snopom. Gustina struje snopa je bila približno $0,05 \mu A cm^{-2}$ za jone Ar^{6+} i N^{4+} . Tokom svakog seta implantacije jona, jedan od uzoraka je bio izložen vakuumu, ali nije bio izložen jonskom snopu, tj. nije implantiran jonima, i korišćen je kao referentni uzorak pri karakterisanju prevlaka. Boja prevlaka hidroksiapatita se nije promenila tokom implantacije jonima.

4.2.2.2. Karakterizacija neimplantiranih i implantiranih prevlaka hidroksiapatita na titanu

4.2.2.2.1 Rendgenska difrakciona analiza

Kvalitativni fazni sastav praha hidroksiapatita, dobijenog hidrotermalnom sintezom, neimplantiranih i implantiranih prevlaka hidroksiapatita jonima N^{4+} i Ar^{6+} određeni su metodom rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku. Uzorci su analizirani na rendgenskom difraktometru marke BRUKER D8, Karlsruhe, Germany. Intenziteti difraktovanog CuK_{α} rendgenskog zračenja ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) mereni su na sobnoj temperaturi u intervalima $0,05^{\circ}$ i vremenu od 5 s, u opsegu od 8° do $80^{\circ} 2\theta$. U cilju određivanja uticaja implantacije jona na prevlaku hidroksiapatita, izračunata je veličina kristalita HA (iz difrakcionih maksimuma koji odgovaraju ravni (002)), zapremina jedinične ćelije kao i parametri jedinične ćelije hidroksiapatita pre i nakon implantacije jonima N^{4+} i Ar^{6+} . Sva izračunavanja su urađena primenom programa WinFit [216].

4.2.2.2 Skenirajuća elektronska mikroskopija

Morfologija i mikrostruktura praha hidroksiapatita analizirana je metodom skenirajuće elektronske mikroskopije, primenom uređaja JEOL T-20, koji radi na 19 kV. Mikrostruktura prevlaka hidroksiapatita ispitivana je SEM tehnikom, primenom uređaja JSM-35 (JEOL), koji radi na 25 kV. Mikrofotografije su snimane na 0°. Kontrast na slikama je posledica razlike u sekundarnom elektronskom prolasku (SE režim).

U cilju proučavanja uticaja implantacije jona kao i dubine prodiranja jona u prevlaku hidroksiapatita, određeni su projektovani domet jona i raspodela jona primenom SRIM programa (Stopping and Range of Ions in Matter) [218]. Za jone azota, N^{4+} , (energija 60 keV) i jone argona, Ar^{6+} , (energija 90 keV), određeni su projektovani domet, R_p , i odgovarajuća standardna devijacija, ΔR_p , kao i gubitak energije u sudarima sa elektronskim omotačem $(dE/dx)_e$ i gubitak energije u sudarima jezgra $(dE/dx)_n$. Energije jona za ozračivanje odabrane su prema srednjoj vrednosti projektovanog dometa unutar prevlake hidroksiapatita i istovremeno u blizini površine prevlake, prema simulaciji procesa prodiranja, dobijene primenom SRIM programa.

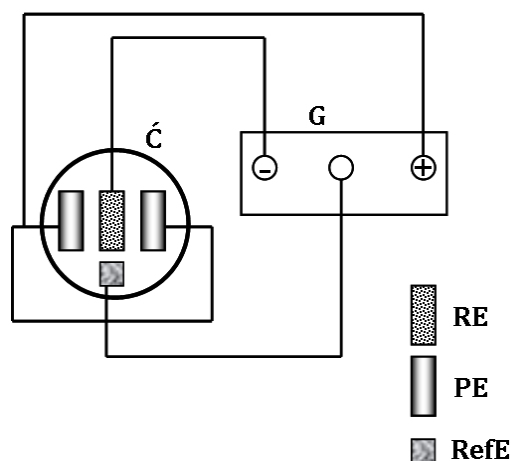
4.2.3. Elektrohemijsko taloženje prevlaka brušita na titanu

Vodeni rastvor, korišćen za elektrohemijsko taloženje prevlaka brušita na titanu, dobijen je rastvaranjem 0,042 M $Ca(NO_3)_2$ i 0,025 M $NH_4H_2PO_4$. pH vrednost rastvora je bila 4,0. Sve hemikalije su bile p.a. kvaliteta.

Katodna polarizaciona merenja su izvedena u kvazi-stacionarnim uslovima na uređaju Gamry Reference 600 Potentiostat/Galvanostat/ZRA, sa brzinom skenovanja potencijala od 1 mV s^{-1} , u ćeliji koja su sačinjavale radna elektroda, katoda (titanska pločica, dimenzija 15 mm x 15 mm x 0,127 mm, ALFA AESAR, A Johnson Matthew Co., čistoće 99.7%), pomoćne elektrode (Pt pločice, postavljene paralelno sa radnom elektrodom na rastojanju od 1,5 cm) i referentna elektroda (zasićena kalomelova elektroda, ZKE).

Ćeliju za elektrohemijsko taloženje brušita sačinjavale su radna elektroda, katoda, (Ti pločica, dimenzija 10 mm x 15 mm x 0,89 mm (ALFA AESAR, A Johnson

Matthew Co., čistoće 99.7%), dve pomoćne elektrode (Pt pločice) postavljene paralelno sa radnom elektrodom na rastojanju od 1,5 cm i referentna elektroda (ZKE). Taloženje je vršeno u staklenoj ćeliji uz konstantno mešanje rastvora magnetnom mešalicom (slika 4.2.). Kao izvor konstantne gustine struje korišćen je uređaj Gamry Reference 600 Potentiostat/Galvanostat/ZRA.



Slika 4.2. Šema aparature za elektrohemijsko taloženje (PE – pomoćna elektroda, RE – radna elektroda, RefE - referentna elektroda, Ć – ćelija za elektrohemijsko taloženje, G – potenciostat/galvanostat).

Priprema površine Ti elektrode za katodna polarizaciona merenje i elektrohemijsko taloženje izvedena je odmaščivanjem u acetonu, a zatim u etanolu u ultrazvučnom kupatilu u trajanju od 15 min. Nakon toga, Ti pločice su držane u etanolu do početka eksperimenta da bi se sprečila spontana oksidacija titana na vazduhu.

Elektrohemijsko taloženje prevlaka brušita na titanu iz vodenog rastvora na sobnoj temperaturi, uz konstantno mešanje, izvedeno je na različitim vrednostima konstantne gustine struje u intervalu od 5,0 do 10 mA cm⁻², za različita vremena taloženja između 1 i 30 min [184].

Nakon taloženja, uzorci su sušeni na sobnoj temperaturi tokom 24 h. Masa prevlaka je dobijena kao razlika mase katode pre i nakon taloženja. Masa je merena na analitičkoj vagi.

4.2.3.1. Priprema simulirane telesne tečnosti

Simulirana telesna tečnost dobijena je rastvaranjem reagenasa u 1 dm³ dejonizovane 4D vode. Redosled dodavanje i količine reagenasa prikazane su u tabeli 4.1. [204]. Sve hemikalije su prethodno sušene u sušnici na 50 °C u trajanju od 2 h. Hemikalije su merene na analitičkoj vagi sa tačnošću 10⁻⁴g. Vrednost pH od 7,40 podešena je sa 1 M HCl, na temperaturi od 37 °C. Ovako dobijen rastvor je čuvan u frižideru.

Tabela 4.1. Hemijski sastav simulirane telesne tečnosti

Reagens	Koncentracija, g dm ⁻³
NaCl	7,996
NaHCO ₃	0,350
KCl	0,224
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0,228
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0,305
CaCl ₂	0,278
Na ₂ SO ₄	0,071
(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	6,057
1 M HCl	40 ml

4.2.3.2. Konverzija prevlaka brušita u hidroksiapatit potapanjem u simuliranu telesnu tečnost (in vitro ispitivanja)

In vitro ispitivanja prevlaka brušita, dobijenih elektrohemijским taloženjem na gustinama struje od 5,0 i 10 mA cm⁻², za vreme taloženja od 15 min, izvedena su potapanjem prevlaka u rastvor simulirane telesne tečnosti tokom 2, 7 i 14 dana. Ispitivane prevlake u rastvoru simulirane telesne tečnosti držane su u plastičnim bočicama, na temperaturi od 37 °C. Ukupna zapremina rastvora SBF menjana je svakih 48 h.

4.2.3.3. Karakterizacija prevlaka brušita i hidroksiapatita na titanu

4.2.3.3.1 Rendgenska difrakciona analiza

Kvalitativni fazni sastav prevlaka brušita ispitivan je metodom rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku, na rendgenskom difraktometru marke PHILIPS PW 1710. Intenziteti difraktovanog CuK_α rendgenskog zračenja ($\lambda = 1,5418\text{\AA}$) mereni su na sobnoj temperaturi u intervalima $0,02^\circ$ i vremenu od $0,25\text{ s}$, u opsegu od 3° do $65^\circ 2\theta$.

Kvalitativni fazni sastav prevlaka hidroksiapatita, dobijenih nakon potapanja u simuliranu telesnu tečnost, ispitivan je metodom rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku. Uzorci su analizirani na rendgenskom difraktometru marke PHILIPS PW 1050. Intenziteti difraktovanog CuK_α rendgenskog zračenja ($\lambda = 1,5418\text{\AA}$) mereni su na sobnoj temperaturi u intervalima $0,05^\circ$ i vremenu od 6 s , u opsegu od 8° do $70^\circ 2\theta$.

Veličina kristalita prevlaka brušita i hidroksiapatita računata je iz difrakcionih maksimuma koji odgovaraju ravnima (020) i (002), redom, korišćenjem programa PowderCell i XFIT [219,220]. Oba programa vrše izračunavanja primenom Šererove jednačine (17).

4.2.3.3.2 Skenirajuća elektronska mikroskopija

Mikrostruktura i morfologija prevlaka brušita i hidroksiapatita, pre i nakon potapanja u simuliranu telesnu tečnost, analizirane su metodom skenirajuće elektronske mikroskopije na uređaju JSM-20 (JEOL).

Mikrofotografije odabranih prevlaka brušita (elektrohemijski taloženih na gustini struje od 10 mA cm^{-2} tokom 15 min) i hidroksiapatita (dobijenog nakon potapanja odabranih prevlaka brušita u SBF tokom 7 i 14 dana) analizirane su primenom programa Image-J [221] i određena je poroznost prevlaka [196].

4.2.3.3.3 Mikroskopija atomskih sila

Topografija površine prevlake brušita, elektrohemijski taložene na gustini struje od 10 mA cm^{-2} tokom 15 min, i prevlaka hidroksiapatita, dobijenih nakon potapanja prevlaka brušita u simuliranu telesnu tečnost tokom 7 i 14 dana, ispitivana je primenom mikroskopije atomskih sila (*eng.* AFM) na uređaju Quesant Universal SPM instrument koji radi u nekontaktnom modu.

4.2.3.3.4 Atomska apsorpciona spektroskopija

Vrednosti promene koncentracije jona kalcijuma u simuliranoj telesnoj tečnosti tokom konverzije prevlake brušita (dobijene taloženjem na gustini struje od 10 mA cm^{-2} tokom 15 min) u hidroksiapatit u trajanju od 14 dana, određene su atomskom apsorpcionom spektroskopijom (*eng.* AAS) primenom atomskog apsorpcionog spektrometra PERKIN ELMER 703.

4.2.3.3.5 UV-Vis spektroskopija

Vrednosti promene koncentracije jona fosfora u simuliranoj telesnoj tečnosti tokom konverzije prevlake brušita (dobijene taloženjem na gustini struje od 10 mA cm^{-2} tokom 15 min) u hidroksiapatit u trajanju od 14 dana, određene su UV-Vis spektroskopijom, primenom PHILIPS UV-Vis 8610 spektrofotometra.

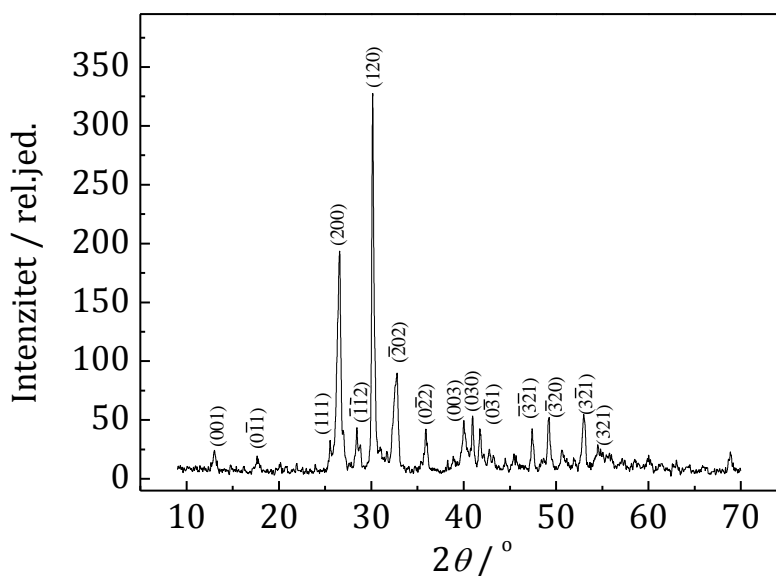
5. Rezultati i diskusija

5.1. Elektrohemijski postupci dobijanja prahova

5.1.1. Elektrohemijska sinteza praha monetita

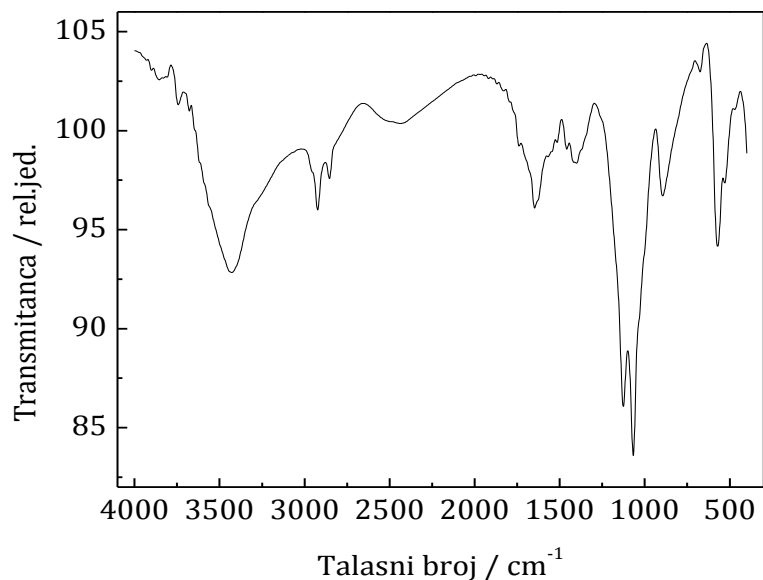
5.1.1.1. Rendgenska difrakciona i infracrvena spektroskopska analiza

Primenom metode rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku i infracrvene spektroskopske analize određen je fazni sastav i struktura elektrohemijski sintetisanog praha monetita. Na slici 5.1 prikazan je difraktogram praha monetita elektrohemijski sintetisanog na gustini struje od 137 mA cm^{-2} pri pH vrednosti od 5,0. Jedina detektovana kristalna faza je monetit, CaHPO_4 (JCPDS kartica br. 70-360; *eng.* Joint Committee on Powder Diffraction Standards, JCPDS). Na difraktogramu se uočavaju pikovi koji su relativno široki, što ukazuje na malu veličinu kristalita praha monetita. Primenom WinFit programa [216], izračunata je veličina kristalita na osnovu difrakcionog maksimuma koji odgovara ravni (001) i iznosila je 27,1 nm [104].



Slika 5.1. Difraktogram praha monetita.

Na slici 5.2. prikazan je IC spektar praha monetita. Talasne dužine, na kojima se javljaju trake, kao i tumačenje položaja traka, karakterističnih za monetit, dati su u tabeli 5.1.



Slika 5.2. IC spektar praha monetita.

Tabela 5.1. IC talasne dužine i značenje za monetit

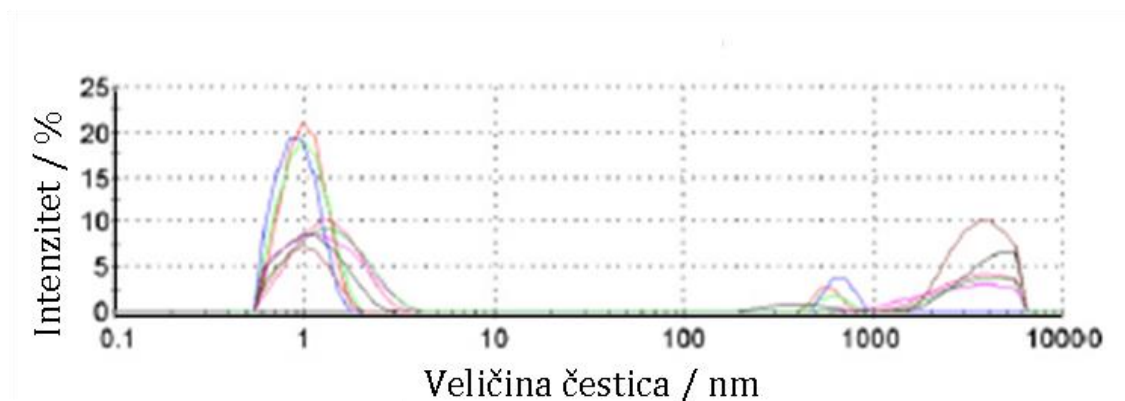
Talasni brojevi, cm^{-1}	Značenje
3431	O-H istezanje zaostale slobodne vode
2924	PO-H istezanje
2851	
1644	H-O-H savijanje i rotacija zaostale slobodne vode
1406	P-O-H savijanje (u ravni)
1120	P-O istezanje
1068	
891	P-O(H) istezanje
565	O-P-O(H) savijanje
525	

5.1.1.2. Raspodela veličine čestica

Raspodela veličine čestica praha monetita u suspenziji određena je analizom difraktovane svetlosti. Srednje vrednosti prečnika i raspodela veličine čestica praha monetita, dobijene kao srednja vrednost osam merenja, predstavljeni su u tabeli 5.2. Raspodela veličine čestica monetita u suspenziji u zavisnosti od intenziteta rasute svetlosti predstavljena je na slici 5.3.

Tabela 5.2. Srednje vrednosti prečnika i raspodela veličine čestica praha monetita u suspenziji

Merena veličina	Suspenzija praha monetita
Srednji prečnik, nm	203
Raspodela veličine čestica	
Pik 1: z, nm (Int., %)	1,42 (73,7)
Pik 2: z, nm (Int., %)	3600(26,3)



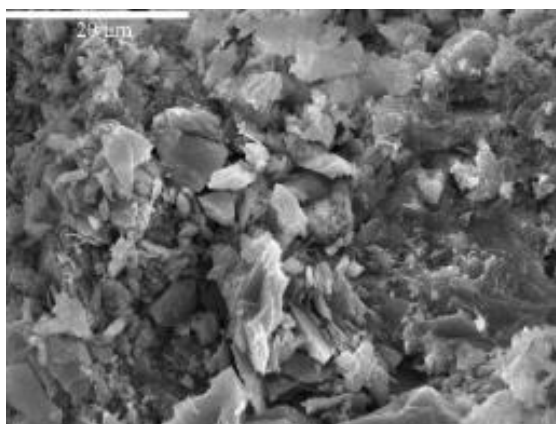
Slika 5.3. Raspodela veličine čestica u suspenziji monetita.

Prema rezultatima prikazanim u tabeli 5.2. i na slici 5.3., može se zaključiti da suspenzija elektrohemijski sintetisanog praha monetita ima visok stepen polidisperznosti. Srednja vrednost prečnika čestica praha monetita je 203 nm. Na osnovu intenziteta raspodele veličine čestica, preko 73% čestica monetita imaju srednju vrednost prečnika ~ 1,4 nm, dok oko 26% čestica monetita ima srednju

vrednost prečnika od 3600 nm. Pretpostavlja se da velike čestice predstavljaju aglomerate malih čestica.

5.1.1.3. Skenirajuća elektronska mikroskopija

SEM mikrofotografija praha monetita prikazana je na slici 5.4., gde se uočava da se prah monetita sastoji od velikih aglomerata, koji su sastavljeni od kristalita fine strukture. Veličina kristalita od 27,1 nm određena je iz difraktograma praha monetita (slika 5.1.). Sa druge strane, srednja veličina čestica praha monetita određena je iz suspenzije i iznosila je 203 nm (slika 5.3.). Ovi rezultati ukazuju na činjenicu da se aglomerati formiraju tokom procesa sušenja, što je potvrđeno SEM analizom (slika 5.4.). Osim toga, jedno zrno može da bude sastavljeno od više kristalita, što je najčešće slučaj. Ovakva pretpostavka je u dobroj saglasnosti sa literaturom, gde se ovakvo ponašanje sistema objašnjava mehanizmom nukleacija-agregacija-aglomeracija-rast kristala [222].

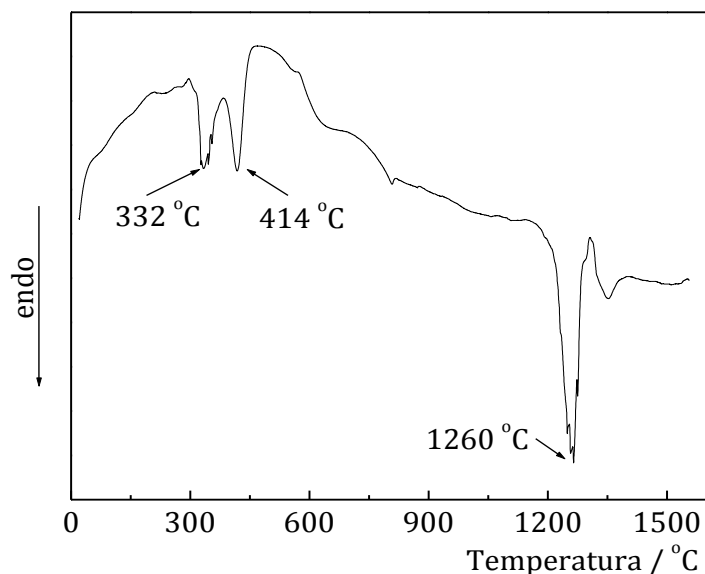


Slika 5.4. SEM mikrofotografija praha monetita.

Prema predloženom mehanizmu, formiranje čestica se odigrava prema sledećim stupnjevima: (a) nukleacija i rast u cilju formiranja kristalita nanometarskih dimenzija, (b) agregacija osnovnih nanokristala pod uticajem fizičkih sila i (c) dalji rast kristala radi formiranja stabilnih aglomerata.

5.1.1.4. Diferencijalna termijska i termogravimetrijska analiza

Na slici 5.5. prikazana je DTA kriva za prah monetita.

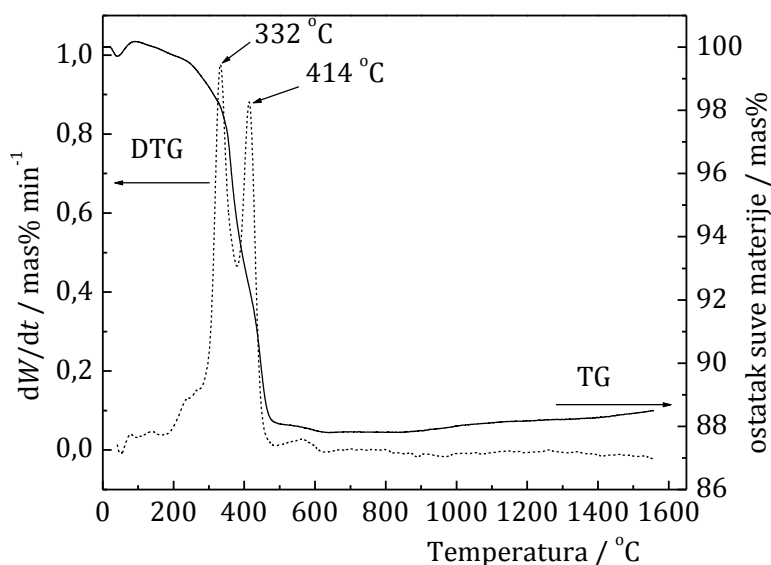


Slika 5.5. DTA kriva praha monetita.

Tri karakteristična endotermna pika se mogu uočiti na temperaturama od 332 °C, 414 °C i 1260 °C. Prva dva pika odgovaraju temperaturama početka i kraja fazne transformacije monetita do kalcijum-pirofosfata ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) i H_2O . Treći pik, na 1260 °C, odgovara temperaturi topljenja $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$. Niža temperatura topljenja kalcijum-pirofosfata, u odnosu na literaturne vrednosti od 1353 °C [223], je rezultat velike specifične površine nanodimenzionog praha monetita. Naime, karakteristike kristalnih materijala u masi tipično zavise od njihove strukture. Sa druge strane, kod materijala čije dimenzije čestica pripadaju nano oblasti, osim strukturom, karakteristike materijala uslovljene su veličinom čestica, tako da nano materijali često imaju drastično različite osobine od istih materijala čije čestice ne pripadaju nano dimenzijama. Najznačajnija karakteristika nano materijala je visoka vrednost odnosa specifične površine prema zapremini materijala, što definiše termodinamičke karakteristike materijala. Smanjenje veličine čestica ispod određene kritične vrednosti, što ima za posledicu povećanje odnosa specifične površine prema zapremini, dovodi do odstupanja u vrednosti temperature topljenja u odnosu na vrednosti kod konvencionalnih materijala, i

postaje zavisna od veličine čestica. Čestice manjih dimenzija formiraju veću površinu kontakta i povećavaju broj atoma na površini čestica.

Gubitak mase tokom zagrevanja, kao i temperature povezane sa faznim transformacijama, ispitivane su termogravimetrijskom analizom. Termogravimetrijska kriva i diferencijalna termogravimetrijska (*eng.* DTG) kriva praha monetita, u intervalu temperatura od 30 °C do 1600 °C, prikazane su na slici 5.6.



Slika 5.6. TG/DTG krive praha monetita.

Na TG krivoj praha monetita mogu se uočiti dva stupnja gubitka mase. Prvi stupanj je u intervalu temperatura od 30 °C do 200 °C i on odgovara desorpciji molekula vode odsorbovanih na površini kristala monetita. Drugi stupanj gubitka mase na TG krivoj je u temperaturnom intervalu od 200 °C do 500 °C, sa oštrim pikovima na DTG krivoj koji odgovaraju temperaturama od 332 °C i 414 °C. Gubitak mase u intervalu od 332 °C do 414 °C je iznosio 5,7 mas% i može se pripisati dekompoziciji monetita na kalcijum-pirofosfat, $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ i H_2O . Teorijska vrednost gubitka mase za ovu reakciju iznosi 6,5 mas%. Neslaganje između teorijske i eksperimentalne vrednosti može biti posledica prisustva neproreagovale polazne komponente CaCl_2 , prisutne u prahu monetita. Na temperaturama iznad 500 °C, ne uočava se značajniji gubitak mase tokom zagrevanja. Ukupan gubitak mase za ispitivani opseg temperatura između 30 °C i

1600 °C je približno 11,5% za prah monetita, što je moguće objasniti desorpcijom molekula vode adsorbovanih na površini kristala i dekompozicijom monetita u kalcijum-pirofosfat.

5.1.2. Elektrohemijska sinteza praha hidroksiapatita

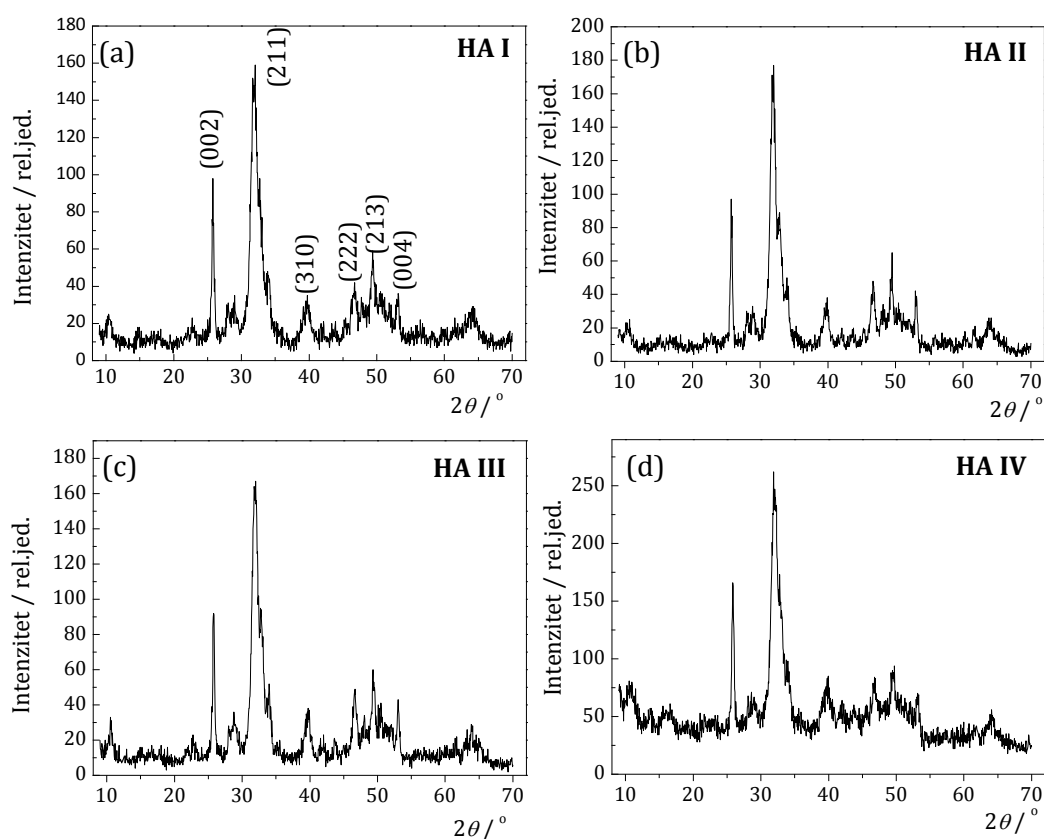
5.1.2.1. Rendgenska difrakciona analiza

Elektrohemijska sinteza praha hidroksiapatita rađena je na različitim vrednostima gustine struje i pri različitim pH vrednostima. U tabeli 5.3. prikazane su oznake uzoraka i uslovi dobijanja.

Tabela 5.3. Oznake uzoraka i uslovi elektrohemijske sinteze prahova

Oznaka uzorka	Uslovi dobijanja	
	Gustina struje, mA cm ⁻²	pH
HA I	137	9,0
HA II	137	12,0
HA III	207	9,0
HA IV	207	12,0

Na slici 5.7. prikazani su difraktogrami elektrohemijski sintetisanih prahova hidroksiapatita (HA I, HA II, HA III i HA IV), dobijenih sintezom na različitim gustinama struje i pri različitim vrednostima pH rastvora, u trajanju od 3 h. Jedina detektovana kristalna faza je hidroksiapatit, Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂.



Slika 5.7. Difraktogrami praha hidroksiapatita elektrohemijski sintetisanih na: (a) $\text{pH} = 9,0$ i $j = 137 \text{ mA cm}^{-2}$ (uzorak HA I), (b) $\text{pH} = 12,0$ i $j = 137 \text{ mA cm}^{-2}$ (uzorak HA II), (c) $\text{pH} = 9,0$ i $j = 207 \text{ mA cm}^{-2}$ (uzorak HA III), (d) $\text{pH} = 12,0$ i $j = 207 \text{ mA cm}^{-2}$ (uzorak HA IV).

Veličina kristalita je računata za ravan (002), koja odgovara difrakcionom maksimumu hidroksiapatita na uglu od $\sim 26^\circ 2\theta$, primenom jednačine (17). Za izračunavanje je primenjen program WinFit [216], a rezultati su prikazani u tabeli 5.4.

Tabela 5.4. Veličina kristalita praha hidroksiapatita sintetisanog na različitim vrednostima gustine struje i pH

Oznaka uzorka	Veličina kristalita, nm
HA I	21,6
HA II	23,4
HA III	24,3
HA IV	22,4

Na svim difraktogramima prahova hidroksiapatita (slika 5.7.) može se uočiti širenje difrakcionih maksimuma, što je posledica malih dimenzija kristalita. Ovo je u saglasnosti sa izračunatim vrednostima veličine kristalita, predstavljenim u tabeli 5.4. Može se uočiti (tabela 5.4.) da veličina kristalita ne zavisi, značajno, od pH vrednosti rastvora niti od gustine struje koja je primenjena za elektrohemijsku sintezu. Najmanja vrednost veličine kristalita dobijena je sintezom na manjoj gustini struje i nižoj pH vrednosti (uzorak HA I).

Mehanizam formiranja hidroksiapatita elektrohemijskom sintezom iz rastvora može se objasniti putem tri stupnja. Prvi stupanj je predstavljen oslobađanjem jona Ca^{2+} iz kompleksa EDTA [224]:



Drugi stupanj podrazumeva formiranje OH^- jona u reakciji redukcije vode, prema jednačini (4).

Treći stupanj predstavlja migraciju jona prema elektrodi na kojoj se odigrava sinteza hidroksiapatita, prema jednačini:



Sintetisani prah hidroksiapatita napušta elektrodu i odlazi u rastvor.

5.1.2.2. Raspodela veličine čestica

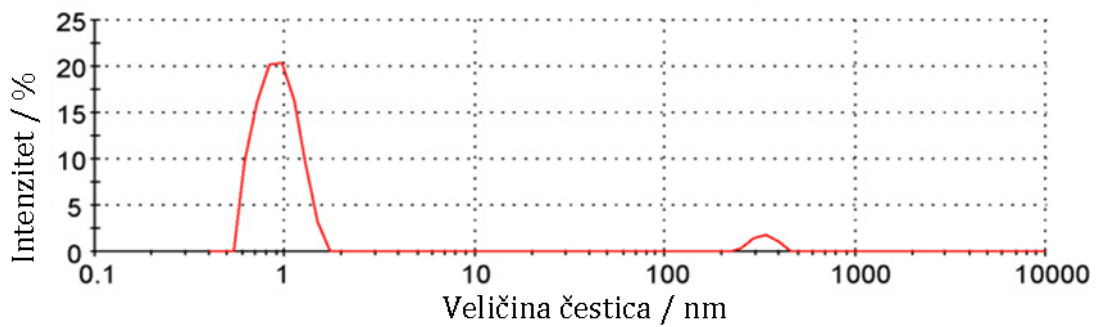
Raspodela veličine čestica praha hidroksiapatita određena je analizom difraktovane svetlosti, merenjem u suspenziji HA I i permeatu HA I. Srednje vrednosti prečnika i raspodela veličine čestica praha hidroksiaptita, dobijene kao srednje vrednost deset merenja, predstavljeni su u tabeli 5.5.

Tabela 5.5. Srednje vrednosti prečnika i raspodela veličine čestica praha hidroksiapatita u suspenziji HA I i permeatu HA I

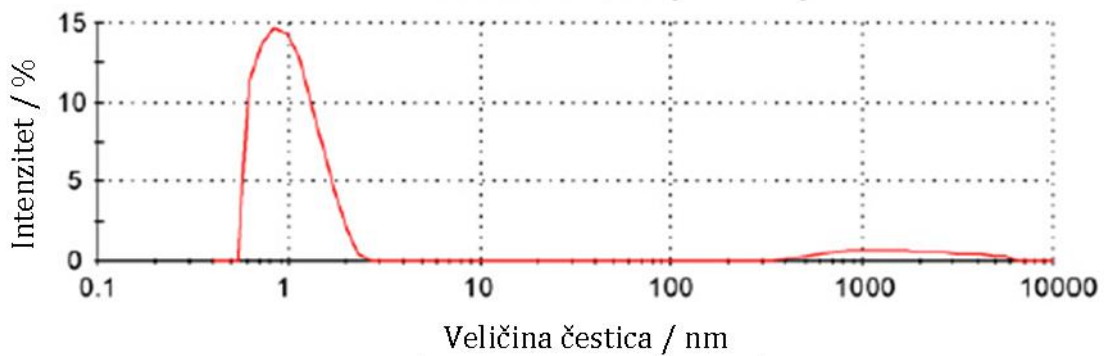
Merena veličina	Suspenzija HA I	Permeat HA I
Srednji prečnik, nm	583	6,07
Raspodela veličine čestica		
Pik 1: z, nm (Int., %)	0,938 (95,3)	1,03 (90,9)
Pik 2: z, nm (Int., %)	331 (4,7)	1900 (9,1)

Raspodela veličine čestica hidroksiapatita u suspenziji HA I u zavisnosti od intenziteta rasute svetlosti prikazana je na slici 5.8a. Prema rezultatima prikazanim u tabeli 5.5. (srednja vrednost 10 merenja) i na slici 5.8a, može se zaključiti da suspenzija elektrohemijski sintetisanog praha hidroksiapatita ima visok stepen polidisperznosti. Srednja vrednost prečnika čestica praha hidroksiapatita je iznosila 583 nm. Na osnovu intenziteta raspodele veličine čestica, više od 95% čestica hidroksiapatita imaju srednju vrednost prečnika ~ 1 nm.

U cilju razdvajanja čestica manjih dimenzija primenjena je ultrafiltracija suspenzije HA I i dobijen je permeat HA I. Ultrafiltracija je urađena na Amicon ćeliji, model 8200, kapaciteta 200 cm³ sa efektivnom površinom membrane od 28,7 cm². Ćeliji je bila dodata i plastična mešalica. Primenjena je Amicon Diaflo PM 10 polisulfonska membrana nominalne molekulske mase do 10.000 Da i prečnika pore od 3,8 nm. Određena je raspodela veličine čestica permeata HA I i rezultati su predstavljeni u tabeli 5.5. Srednja vrednost prečnika čestica hidroksiapatita u permeatu HA I iznosila je 6,07 nm, a odgovarajuća raspodela veličine čestica po intenzitetu za permeat HA I pokazala je da preko 90% čestica hidroksiapatita ima srednji prečnik od ~1 nm. Raspodela veličine čestica hidroksiapatita u permeatu HA I u zavisnosti od intenziteta rasute svetlosti prikazana je na slici 5.8b.



(a) - suspenzija

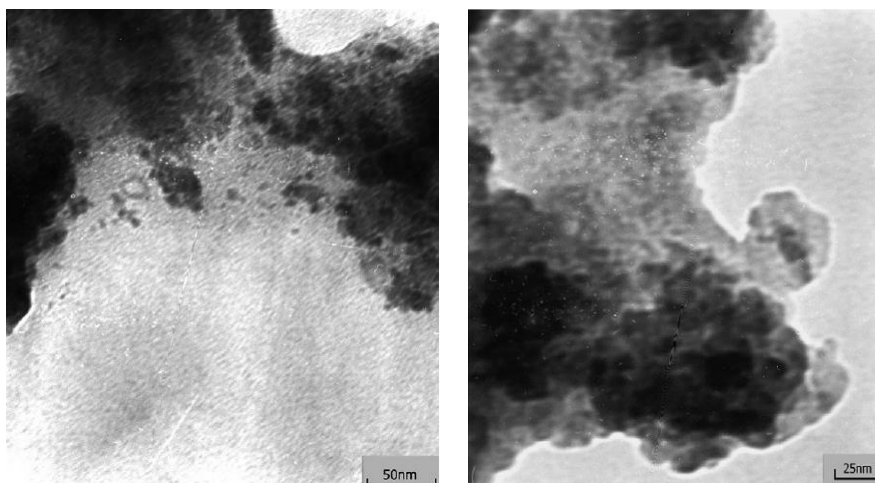


(b) - permeat

Slika 5.8. Raspodela veličine čestica hidroksiapatita u (a) suspenziji HA I i (b) permeatu HA I nakon dvostruke ultrafiltracije suspenzije HA I.

5.1.2.3. Transmisiona elektronska mikroskopija

Nanokristalna priroda dobijenih prahova hidroksiapatita potvrđena je transmisionom elektronskom mikroskopijom. Karakteristične TEM mikrofotografije, dobijene posmatranjem uzorka permeata HA I nakon dvostruke ultrafiltracije, prikazane su na slici 5.9.



(a)

(b)

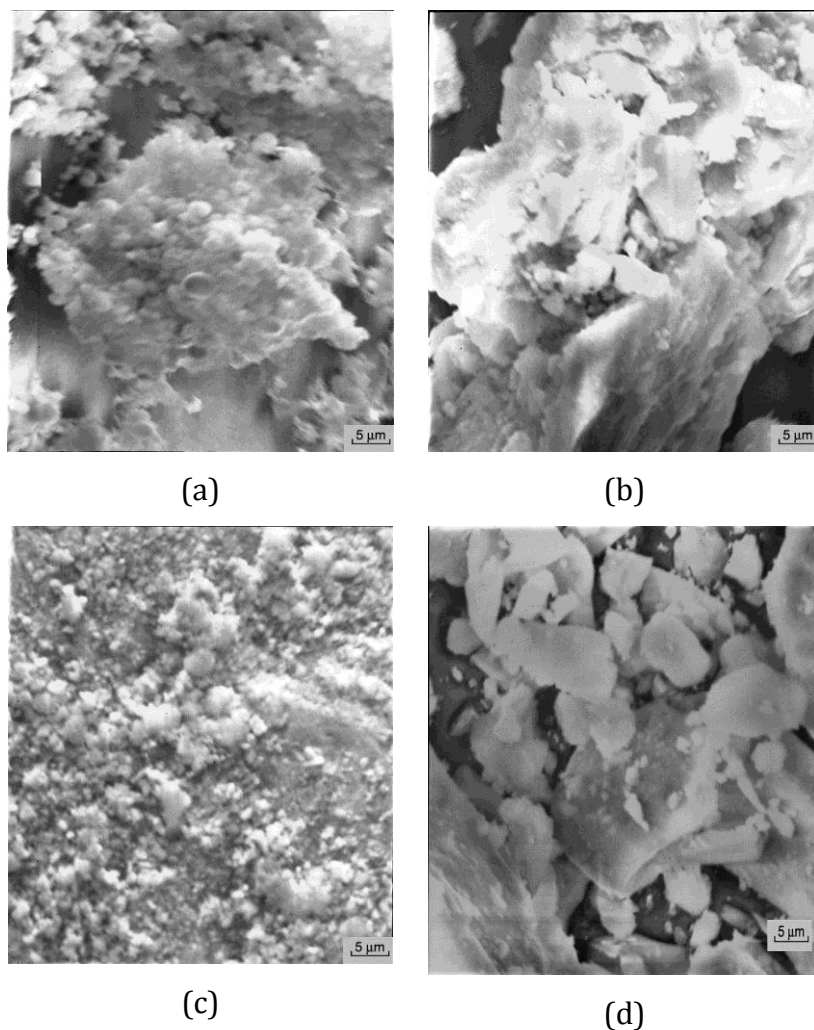
Slika 5.9. TEM mikrofotografije permeata HA I dobijenog nakon dvostruke ultrafiltracije suspenzije HA I.

Na mikrofotografijama se može uočiti da su primarne čestice nanometarskih dimenzija, oko 1 nm, i to na osnovu postojanja različitih kontrasta na mikrofotografijama. Ovaj rezultat je u saglasnosti sa rezultatima raspodele veličine čestica (tabela 5.5.) i veličinom kristalita dobijenom difrakcionom analizom (tabela 5.4.), što potvrđuje da su čestice nanometarskih dimenzija.

5.1.2.4. Skenirajuća elektronska mikroskopija

SEM mikrofotografije praha hidroksiapatita prikazane su na slici 5.10. Svi prahovi se sastoje od velikih aglomerata koji su sačinjeni od kristalita malih dimenzija. Sferni aglomerati se mogu videti na mikrofotografijama uzoraka HA I i HA III (slike 5.10a i c) dok se pločaste forme uočavaju na mikrofotografijama uzoraka HA II i HA IV (slike 5.10b i d). Prema ovim rezultatima može se zaključiti da morfologija aglomerata zavisi od pH vrednosti rastvora koji se koristi za elektrohemijsku sintezu praha. Naime, prahovi hidroksiapatita dobijeni elektrohemijskom sintezom na nižoj vrednosti pH (HA I i HA III, pH 9,0) izgrađeni su od sfernih aglomerata, dok prahovi hidroksiapatita dobijeni sintezom na većoj pH vrednosti (HA II i HA IV, pH 12,0) imaju pločastu formu. Dodatno, na osnovu

SEM analize može se zaključiti da primenjena gustina struje za elektrohemijsku sintezu, ne utiče na morfologiju praha hidroksiapatita.



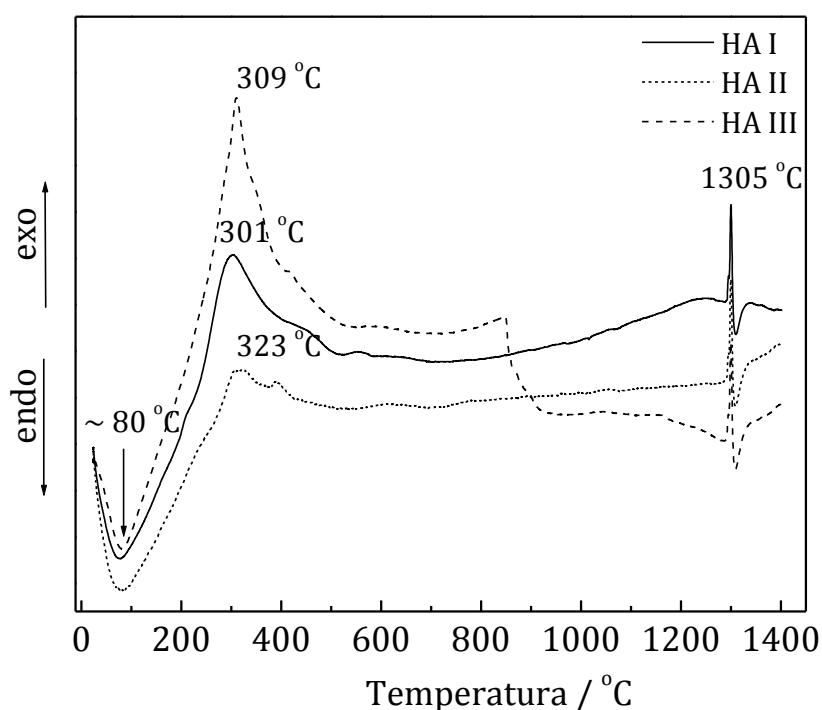
Slika 5.10. SEM mikrofotografije praha hidroksiapatita: (a) HA I, (b) HA II, (c) HA III, (d) HA IV.

Veličina kristalita od 21,6 nm za prah HA I, određena iz rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku praha HA I (tabela 5.4.), ukazuje na činjenicu da se aglomerati formiraju tokom procesa sušenja, što je potvrđeno SEM analizom (slika 5.10a). Ovakve tvrdnje su u saglasnosti sa podacima u literaturi gde je ovakvo ponašanje sistema opisano kao mehanizam nukleacija-agregacija-aglomeracija-rast kristala [222]. Prema predloženom mehanizmu, formiranje kristala se odigrava kroz nekoliko stupnjeva; (a) nukleacija i rast nukleusa do formiranja kristalita nanometarskih dimenzija, (b) agregacija primarnih nanokristala pod

uticajem fizičkog privlačenja, (c) dalji rast kristala i formiranje stabilnih aglomerata.

5.1.2.5. Diferencijalna termijska i termogravimetrijska analiza

DTA krive za prahove hidroksiapatita HA I, HA II i HA III prikazane su na slici 5.11.

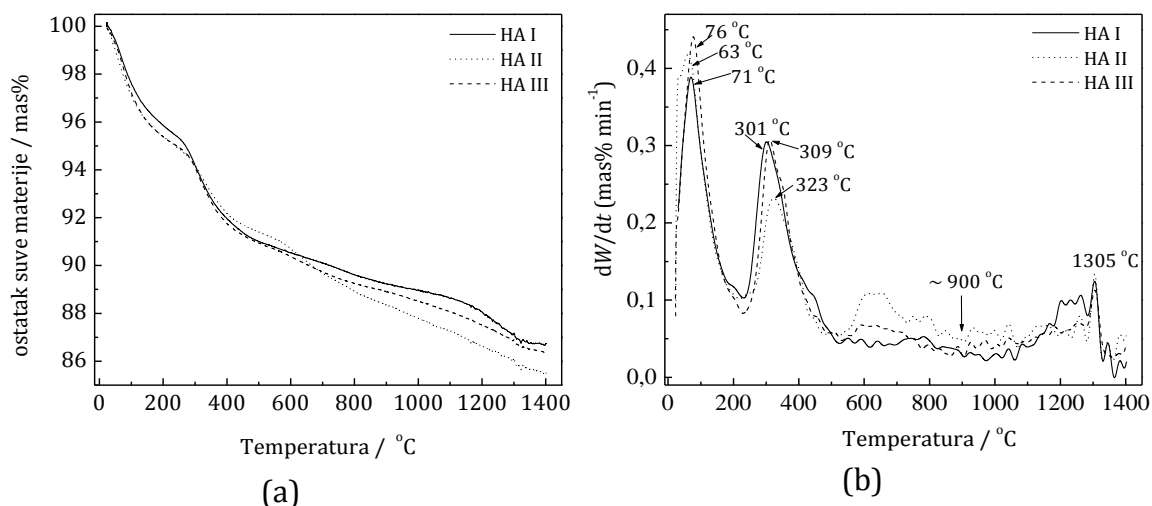


Slika 5.11. DTA krive za prahove hidroksiapatita HA I, HA II i HA III.

Prvi endotermni pik koji se uočava na DTA krivama nalazi se na oko 80 °C i može se pripisati desorpciji molekula vode adsorbovanih na površini kristalita. Na temperaturi oko 300 °C javlja se jak egzotermni pik koji odgovara sagorevanju organskog jedinjenja, što u ovom sistemu predstavlja sagorevanje zaostalog EDTA [225]. Sledeći egzotermni pik se javlja na temperaturi od 1305 °C, ukazujući na dekompoziciju hidroksiapatita u anhidrovani kalcijum-fosfat, kao što je trikalcijum-fosfat (TCP), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Naime, prema literaturi, na temperaturama u intervalu 1200 - 1400 °C dolazi do dekompozicije hidroksiapatita u trikalcijum-fosfat, pa su na temperaturi od 1280 °C zajedno prisutni dobro kristalisali

hidroksiapatit i β -TCP, dok se na temperaturama iznad 1350 °C, β -TCP reverzibilno transformiše u α -TCP [226].

Gubitak mase i temperature koje ukazuju na faznu transformaciju određene su termogravimetrijskom analizom. Na slici 5.12a prikazane su TG krive prahova hidroksiapatita u temperaturnom intervalu između 23 - 1400 °C, dok su na slici 5.12b prikazane diferencijalne termogravimetrijske krive.



Slika 5.12. TG krive (a) i diferencijalne TG (DTG) krive prahova hidroksiapatita HA I, HA II i HA III.

TG krive prahova hidroksiapatita imaju tri stupnja gubitka mase. Prvi stupanj se javlja u oblasti temperatura od 23 °C do ~80 °C (slika 5.12a), sa oštrim pikovima na DTG krivama koji odgovaraju temperaturama od 71, 63 i 76 °C za prahove hidroksiapatita HA I, HA II i HA III, redom (slika 5.12b). Ovaj stupanj odgovara desorpciji molekula vode koji su adsorbovani na površini kristalita. Drugi stupanj gubitka mase na TG krivama se uočava u temperaturnom intervalu između 80 i 530 °C (slika 5.12a), sa oštrim pikovima na DTG krivama na temperaturama od 301, 309 i 323 °C za uzorke prahova hidroksiapatita HA I, HA II i HA III, redom. Ovaj stupanj odgovara sagorevanju organske materije (EDTA). Treći stupanj gubitka mase se uočava na TG krivama u temperaturnom intervalu od 530 do 1400 °C (slika 5.12a), sa pikovima na DTG krivama na temperaturama od približno 930 °C i 1305 °C za sve ispitivane uzorke prahova hidroksiapatita. Endotermni pik na temperaturi od ~930 °C može se pripisati dehidroksilaciji hidroksiapatita i

formiranju oksihidroksiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}\text{O}_x$, gde \square predstavlja vakanciju i $x < 1$ [227]. Sledeći egzotermni pik, koji se javlja na 1305 °C ukazuje na dekompoziciju hidroksiapatita u anhidrovani kalcijum-fosfat kao što je trikalcijum-fosfat.

Ukupan gubitak mase u ispitivanom temperaturnom intervalu između 23 i 1400 °C je iznosio 13,3 mas%, 14,5 mas% i 13,7 mas% za uzorke HA I, HA II i HA III, redom, što se može pripisati desorpciji molekula vode adsorbovanih na površini kristalita, dehidroksilaciji hidroksiapatita do oksihidroksiapatita i dekompoziciji hidroksiapatita do trikalcijum-fosfata.

Na osnovu rezultata DTA/TG analize može se zaključiti da eksperimentalni uslovi elektrohemijske sinteze prahova hidroksiapatita (primenjena gustina struje i pH vrednost rastvora) ne utiču značajno na gubitak mase i na temperature koje odgovaraju faznim transformacijama tokom procesa zagrevanja.

5.2. Elektrohemijski postupci dobijanja prevlaka

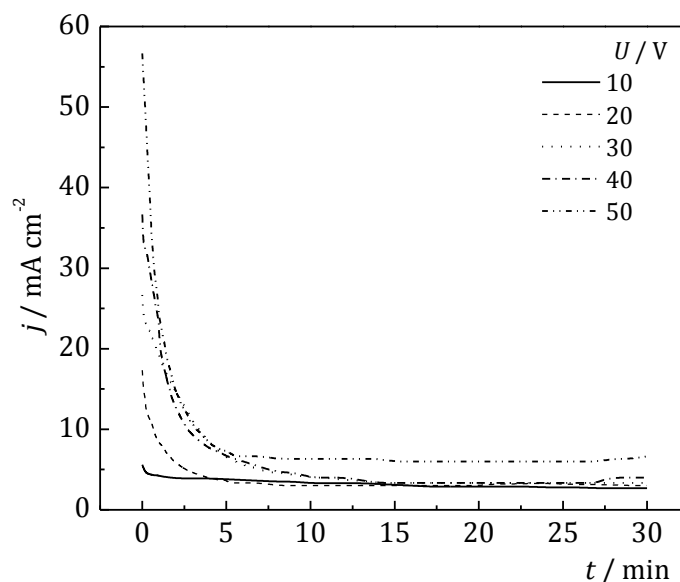
5.2.1. Elektroforetsko taloženje prevlaka monetita na titanu iz etanolske suspenzije

5.2.1.1. Uticaj napona i vremena taloženja na masu prevlaka monetita

Etanolska suspenzija praha monetita, dobijenog elektrohemijom sintezom pri gustini struje od 137 mA cm⁻² i pH vrednosti od 5,0, kao što je opisano u poglavlju 4.1.1, pripremljena je dodavanjem 1,0 g nanočestičnog praha monetita u 100 ml apsolutnog etanola. pH vrednost suspenzije je podešena na 1,2, kao što je opisano u poglavlju 4.2.1. Prevlake monetita na titanu dobijene su elektroforetskim taloženjem iz etanolske suspenzije.

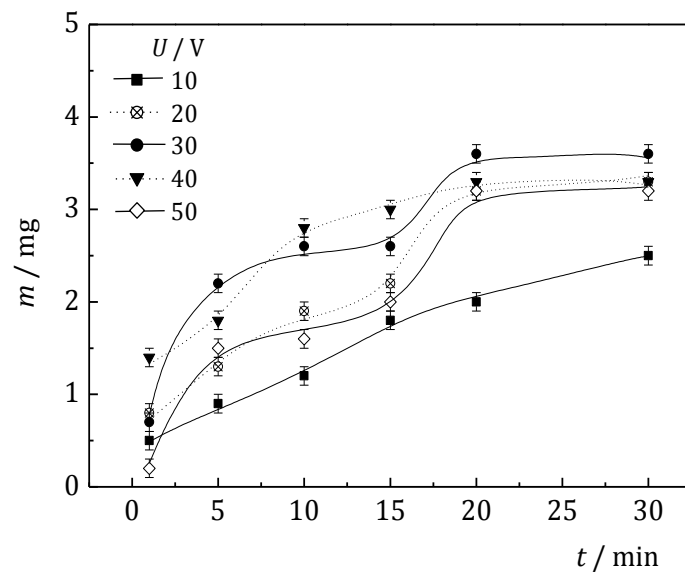
Uticaj parametara elektroforetskog taloženja na morfologiju i debljinu prevlaka je veoma veliki kod taloženja bioaktivnih materijala. Ispitivan je uticaj vremena i napona taloženja na masu i poroznost prevlaka monetita na titanu u intervalu napona od 10 do 50 V, za vremena taloženja od 1 do 30 min.

Zavisnost gustine struje od vremena taloženja prevlaka monetita, pri konstantnom naponu, U , prikazana je na slici 5.13. Tip krive odgovara taloženju poroznog filma. Vrednost gustine struje, tokom elektroforetskog taloženje, ne dostiže nultu vrednost, što ukazuje na činjenicu da su prevlake porozne i da se dalje taloženje čestica odvija mehanizmom taloženja kroz porozan film.



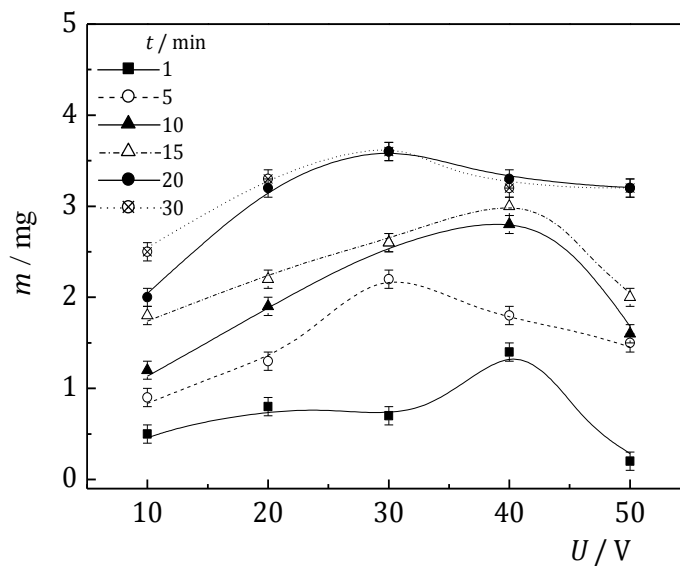
Slika 5.13. Zavisnost gustine struje od vremena taloženja za različite vrednosti napona.

Na slici 5.14. prikazan je uticaj vremena taloženja, t , na masu prevlaka monetita na titanu, m , za različite vrednosti primenjenog napona. Za sve primenjene napone taloženja, produžavanje vremena taloženja do 20 min povećava masu prevlaka monetita jer je broj čestica koje dospevaju na katodu sve veći. Sa druge strane, produžavanje vremena taloženja preko 20 min ne utiče značajno na masu prevlake monetita jer dolazi do izdvajanja velike količine vodonika koji se akumulira na katodi i formira veći broj pora u prevlaci. Na osnovu razmatranja eksperimentalnih rezultata može se zaključiti da je optimalno vreme taloženja prevlaka monetita na titanu 20 min.



Slika 5.14. Zavisnost mase prevlaka monetita na titanu od vremena taloženja za različite vrednosti napona.

Uticao napona, U , na masu prevlake monetita na titanu, m , za različita vremena taloženja, prikazan je na slici 5.15.



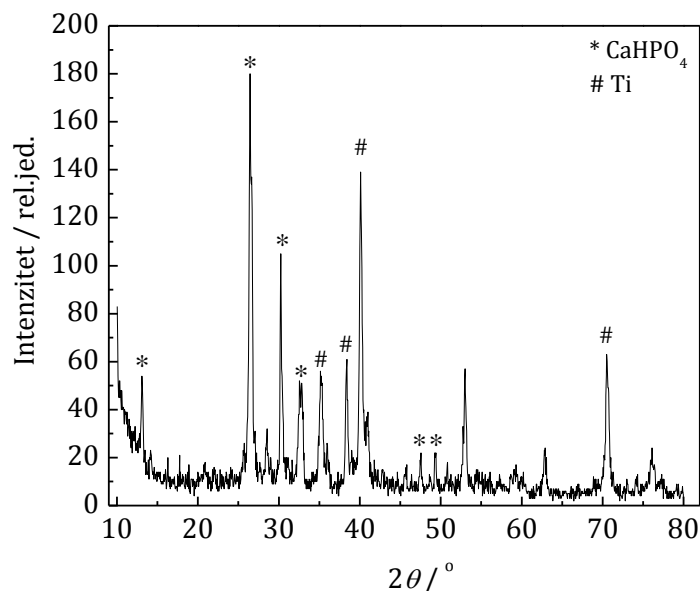
Slika 5.15. Zavisnost mase prevlaka monetita na titanu od napona taloženja za različita vremena taloženja.

Porast napona taloženja do 30 V, za sva vremena taloženja, dovodi do povećanja mase prevlake. Prema jednačinama (2) i (3), povećanje napona povećava brzinu migracije čestica i, kao posledicu, povećava masu prevlake monetita. Brzina reakcije izdvajanja vodonika se, kao nepoželjan proces, takođe povećava sa porastom napona, tako da je količina izdvojenog vodonika veća, što ima za posledicu povećanje poroznosti prevlake monetita. Iz tog razloga, masa prevlake monetita se smanjuje na naponima većim od 30 V za vremena taloženja od 20 i 30 min [104].

Na osnovu prethodnih rezultata, može se zaključiti da je prevlaka monetita najveće mase dobijena taloženjem na naponu od 30 V i za vreme taloženja od 20 min.

5.2.1.2. Rendgenska difrakciona analiza

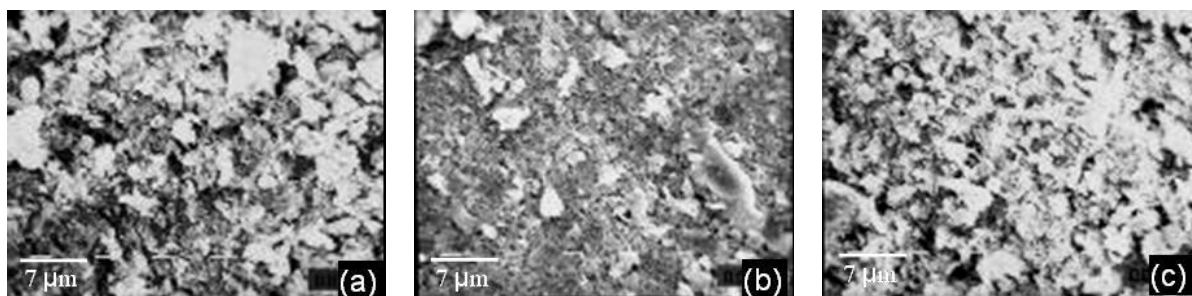
Na slici 5.16. prikazan je difraktogram prevlake monetita na titanu elektroforetski taložene na naponu od 30 V za vreme od 20 min. Difrakcioni maksimumi odgovaraju monetitu i titanu (potiče od supstrata). Difrakcioni maksimumi za monetit su relativno široki, što ukazuje na malu veličinu kristalita.



Slika 5.16. Difraktogram prevlake monetita na titanu elektroforetski taložene na naponu od 30 V za vreme taloženja od 20 min.

5.2.1.3. Skenirajuća elektronska mikroskopija

Na slici 5.17. prikazane su SEM mikrofotografije prevlaka monetita na titanu dobijene elektroforetskim taloženjem na naponima od 20, 30 i 50 V za vreme taloženja od 20 min.



Slika 5.17. SEM mikrofotografije prevlaka monetita na titanu elektroforetski taložene na (a) 20 V, (b) 30 V i (c) 50 V za vreme taloženja od 20 min.

SEM mikrofotografije prevlaka monetita na titanu analizirane su primenom metode analize slike (eng. Image analysis, ImageProPlus program, verzija 4). Primenom ovog programa određena je srednja vrednost površine pora, srednji prečnik pora kao i procenat površine prevlake monetita pokriven porama (poroznost). Rezultati su prikazani su tabeli 5.6.

Tabela 5.6. Vrednosti srednje površine pora, srednjeg prečnika pora i poroznosti za prevlake monetita elektroforetski taloženih na titanu na različitim naponima za vreme taloženja od 20 min

Uslovi taloženja	Srednja vrednost površine pora, μm^2	Srednja vrednost prečnika pora, μm	Poroznost, %
$U = 20 \text{ V}, t = 20 \text{ min}$	0,12	0,24	9,95
$U = 30 \text{ V}, t = 20 \text{ min}$	0,03	0,14	7,32
$U = 50 \text{ V}, t = 20 \text{ min}$	0,13	0,27	10,73

Prema rezultatima prikazanim u tabeli 5.6., uočava se da napon taloženja utiče na poroznost prevlake monetita. Minimalne vrednosti za srednju površinu pora, srednji prečnik pora i poroznost dobijene su za prevlaku taloženu na naponu

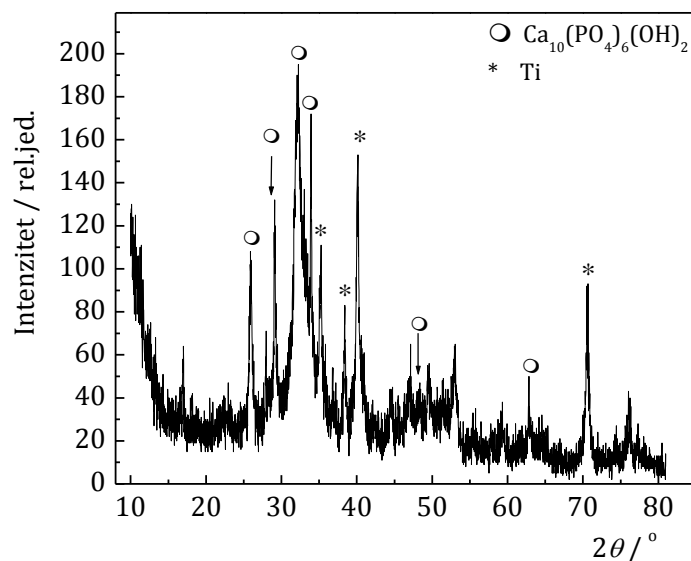
od 30 V za vreme taloženja od 20 min, odnosno za prevlaku koja ima najveću masu (slika 5.14.). Ovo se može objasniti činjenicom da je, na nižim naponima, količina izdvojenog vodonika manja, manja je akumulacija vodonika na katodi, pa je samim tim manja i količina vodonika koja napušta površinu elektrode prolazeći kroz prevlaku, ostavljajući unutar prevlake vakancije i stvarajući manje poroznu prevlaku. Količina izdvojenog vodonika na katodi, takođe utiče na vrednost prečnika pora. Naime, veća količina izdvojenog vodonika može da izazove nestabilno, neuniformno izdvajanja gasa, po principu ključanja. Ovo stanovište je u dobroj saglasnosti sa rezultatima zavisnosti mase prevlake monetita od primenjenog vremena taloženja i napona (slike 5.14. i 5.15., redom).

Na osnovu prethodnih rezultata, može se zaključiti da se prevlaka monetita najveće mase i najmanje poroznosti može dobiti taloženjem na naponu od 30 V i za vreme taloženja od 20 min. Iz tog razloga, prevlaka monetita elektroforetski taložena na naponu od 30 V za vreme taloženja od 20 min, odabrana je za dalja ispitivanja konverzije monetita u hidroksiapatit.

5.2.2. Konverzija prevlake monetita u hidroksiapatit potapanjem u NaOH

5.2.2.1. Rendgenska difrakciona analiza

Na slici 5.18. prikazan je difraktogram prevlake hidroksiapatita, dobijene nakon konverzije prevlake monetita, elektroforetski taložene na naponu od 30 V za vreme od 20 min, u 10 % rastvor NaOH tokom 2 h.



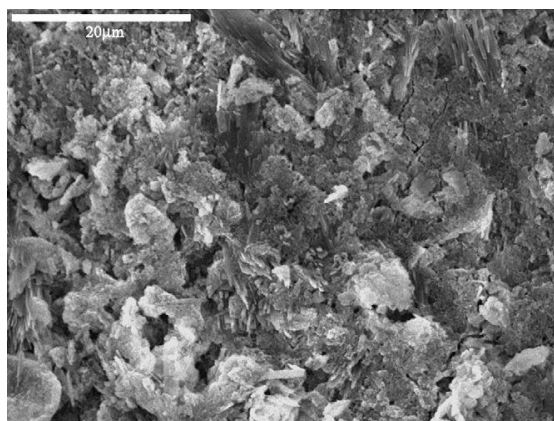
Slika 5.18. Difraktogram prevlake hidroksiapatita dobijene nakon potapanja prevlake monetita u 10% NaOH.

Identifikovani difrakcioni maksimumi odgovaraju titanu (potiče od supstrata) i hidroksiapatitu. Širenje difrakcionih maksimuma ukazuje na malu veličinu kristalita. Karakteristični difrakcioni maksimumi za monetit se ne pojavljuju, što ukazuje na činjenicu da je kompletna površina prevlake monetita konvertovana u hidroksiapatit.

Konverzija monetita u hidroksiapatit nakon tretiranja sa NaOH je posledica promene pH sistema. Na pH vrednostima preko 9,0 najstabilniji oblik kalcijum-fosfata je hidroksiapatit, dok je monetit stabilan u kiselim uslovima, na znatno nižim pH vrednostima [107,136,228]. Mehanizam konverzije monetita u hidroksiapatit podrazumeva rastvaranje monetita i naknadno taloženje hidroksiapatita. Naime, na međusloju monetit/rastvor dolazi do kontinualnog rastvaranja monetita, što dovodi do povećanja koncentracija jona Ca^{2+} i PO_4^{3-} i postiže se vrednost koja odgovara termodinamičkoj ravnoteži za hidroksiapatit. S obzirom da je pH vrednost preko 9,0, uslovi za taloženje hidroksiapatita su postignuti, pa dolazi do formiranja prevlake hidroksiapatita na površini monetita kao prekursora.

5.2.2.2. Skenirajuća elektronska mikroskopija

Na slici 5.19. je prikazana SEM mikrofotografija prevlake hidroksiapatita, dobijene nakon konverzije prevlake monetita u alkalnoj sredini. Na mikrofotografiji se vidi da je površina monetita prekrivena kristalima istaloženog hidroksiapatita nanodimenzija. Molski odnos jona kalcijuma i fosfora određen je EDS analizom i iznosio je $Ca/P=1,67$. Ovaj rezultat je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim rendgenskom difrakcijom na polikristalnom uzorku prevlake monetita nakon konverzije u alkalnoj sredini (slika 5.18.), ukazujući na činjenicu da je hidroksiapatit dobijen konverzijom monetita u alkalnoj sredini stehiometrijski.



Slika 5.19. SEM mikrofotografija prevlake hidroksiapatita dobijene konverzijom prevlake monetita u 10% NaOH.

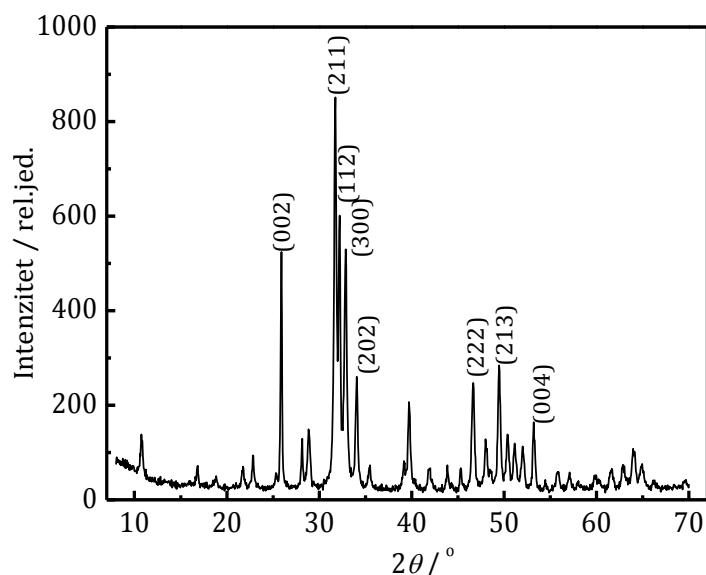
5.2.3. Elektroforetsko taloženje prevlaka hidroksiapatita na titanu iz etanolske suspenzije

5.2.3.1. Modifikacija površine prevlaka hidroksiapatita na titanu jonskim snopovima (implantacija jona N^{4+} i Ar^{6+})

5.2.3.1.1 Rendgenska difrakciona analiza i skenirajuća elektronska mikroskopija praha i neimplantirane prevlake hidroksiapatita

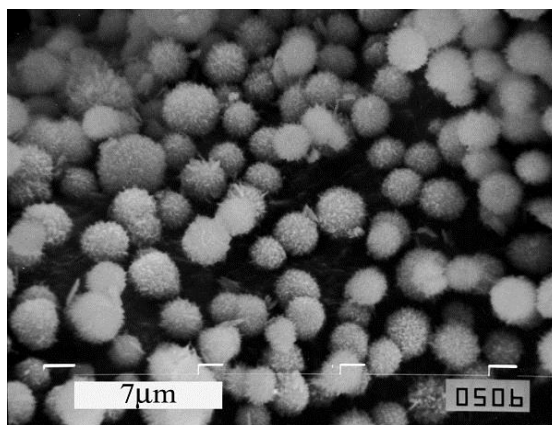
Prah hidroksiapatita, upotrebljen za elektroforetsko taloženje prevlake hidroksiapatita na titanu dobijen je hidrotermalnom sintezom, kao što je opisano u

poglavlju 4.2.2. Na slici 5.20. prikazan je difraktogram praha hidroksiapatita (JCPDS kartica br. 09-0432). Veličina kristalita, računata je za ravan (002), koja odgovara difrakcionom maksimumu hidroksiapatita na uglu od $\sim 26^\circ 2\theta$, je 43,4 nm, i određena je primenom računarskog programa WinFit [216], koji vrši izračunavanja na osnovu Šererove jednačine (jednačina (17)).



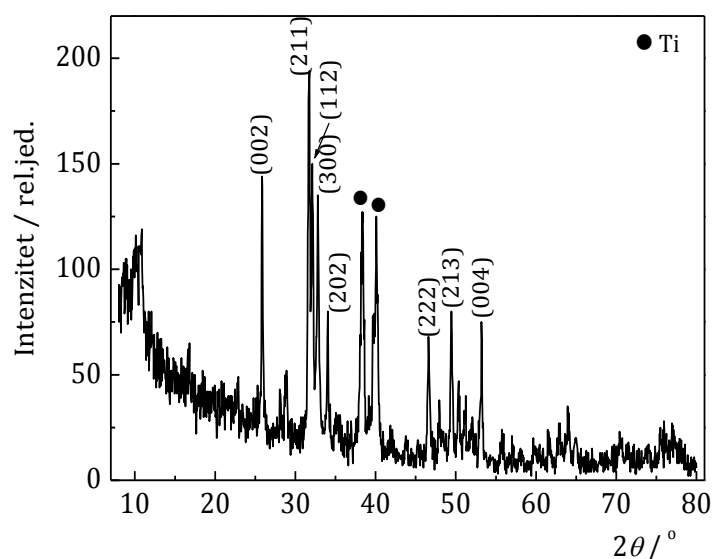
Slika 5.20. Difraktogram praha hidroksiapatita.

Na slici 5.21. prikazana je SEM mikrofotografija praha hidroksiapatita dobijenog hidrotermalnom metodom. Može se videti da su čestice hidroksiapatita sferne i da je svaka od njih sastavljena od velikog broja aglomerata nanometarskih dimenzija. Naime, veličina kristalita praha hidroksiapatita je 43,4 nm. Sa druge strane, na slici 5.21. se vide sferne čestice čija je veličina od $1\ \mu\text{m}$ do $3\ \mu\text{m}$. Ovo ukazuje na činjenicu da se aglomerati stvaraju tokom procesa sušenja. Ova tvrdnja je u dobroj saglasnosti sa literaturom, gde se ovakvo ponašanje sistema opisuje mehanizmom nukleacija-agregacija-aglomeracija-rast kristala [222].



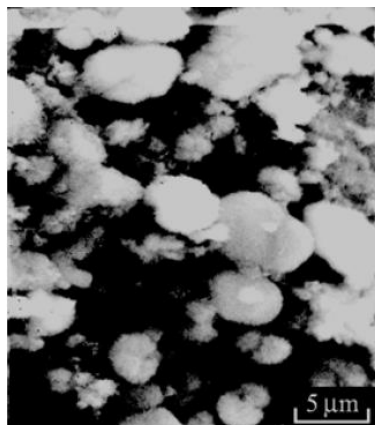
Slika 5.21. SEM mikrografija praha hidroksiapatita.

Etanolska suspenzija praha hidroksiapatita za elektroforetsko taloženje pripremljena je dodavanjem 1,0 g praha u 100 ml etanola. Stabilizacija suspenzije je postignuta dodavanjem 10% HCl, tako da je pH vrednost bila 2,0. Elektroforetsko taloženje je izvedeno na naponu od 30 V za vreme taloženja od 30 s. Na slici 5.22. prikazan je difraktogram neimplantirane prevlake hidroksiapatita elektroforetski taložene na titanu. Difrakcioni maksimumi odgovaraju hidroksiapatitu i titanu (potiče od supstrata). Poređenjem difraktograma za prah i prevlaku hidroksiapatita (slike 5.20. i 5.22., redom), može se zaključiti da tokom elektroforetskog taloženja ne dolazi do promene u sastavu hidroksiapatita.



Slika 5.22. Difraktogram neimplantirane prevlake hidroksiapatita na titanu.

SEM mikrofotografija neimplantirane prevlake hidroksiapatita (slika 5.23.) prikazuje površinu prevlake, homogenu i bez pukotina.



Slika 5.23. SEM mikrofotografija neimplantirane prevlake hidroksiapatita na titanu.

5.2.3.1.2 Rendgenska difrakciona analiza i skenirajuća elektronska mikroskopija implantiranih prevlaka hidroksiapatita jonima azota i argona

Prevlake hidroksiapatita su implantirane različitim dozama jona N^{4+} i Ar^{6+} , koje su iznosile 1×10^{15} , 1×10^{16} i 1×10^{17} jon cm^{-2} . Karakterizacija implantiranih prevlaka urađena je rendgenskom difrakcijom na polikristalnom uzorku i skenirajućom elektronskom mikroskopijom, dok je SRIM (*eng.* Stopping and Range of Ions in Matter) proračun primenjen u cilju određivanja dubine prodiranja jona tokom implantacije, u prevlaku hidroksiapatita. SRIM proračun je primenjen za jone azota i argona koji su implantirani u prevlaku hidroksiapatita, pri čemu su joni imali energiju od 60 keV i 90 keV, redom. Za proračun dubine prodiranja jona u prevlaku, uzeta je vrednost za gustinu prevlake od $3,06 \text{ g cm}^{-3}$. Izračunate vrednosti za projektovani domet, R_p , i odgovarajuća standardna devijacija, ΔR_p , kao i gubitak energije u sudarima sa elektronskim omotačem $(dE/dx)_e$ i gubitak energije u sudarima jezgra $(dE/dx)_n$, za jone azota i argona, prikazane su u tabeli 5.7.

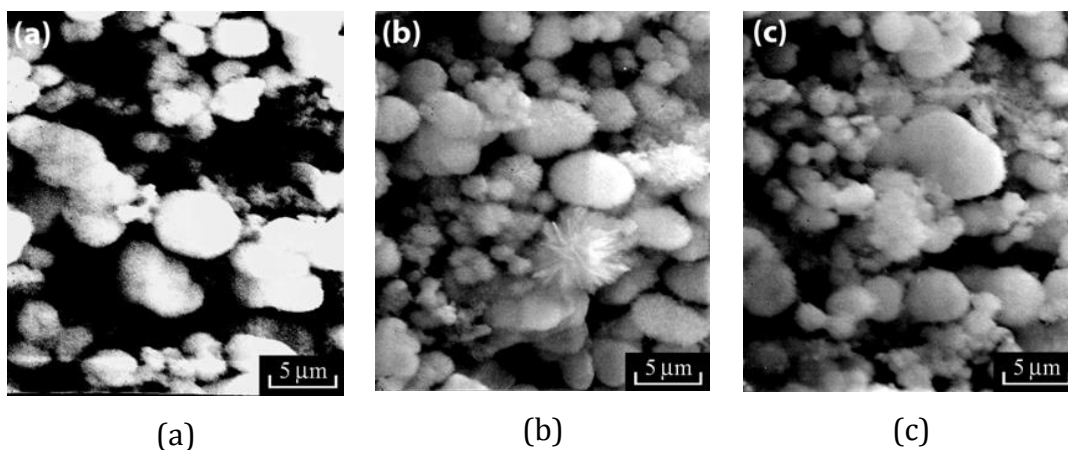
Tabela 5.7. Izračunate vrednosti za projektovani domet, R_p , standardnu devijaciju, ΔR_p , gubitak energije u sudarima sa elektronskim omotačem $(dE/dx)_e$ i gubitak energije u sudarima jezgra $(dE/dx)_n$, za jone azota i argona

Jon	N ⁴⁺	Ar ⁶⁺
Energija (keV)	60	90
R_p (nm)	134	78
ΔR_p (nm)	47	20
$(dE/dx)_e$ (eV/nm)	$2,6 \times 10^2$	$3,2 \times 10^2$
$(dE/dx)_n$ (eV/nm)	$1,1 \times 10^2$	$6,7 \times 10^2$

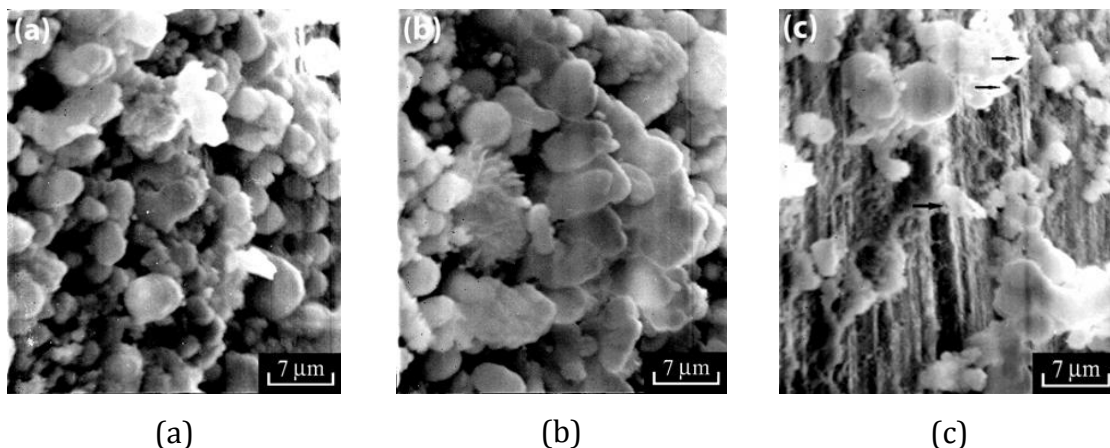
Prema rezultatima prikazanim u tabeli 5.7, može se zaključiti da će joni argona manje prodrati u prevlaku HA nego joni azota. S obzirom na činjenicu da je kod jona azota dominantan gubitak energije u sudarima sa elektronskim omotačem, a kod jona argona preovladava gubitak energije u sudarima sa jezgrima, može se reći da se joni argona usporavaju i da trpe mnogo veće sudare jezgra, ukazujući na to da teži joni (joni argona) izazivaju znatno veću gustinu energije od lakših jona (jona azota) [229]. Raspodela jona po pokretnoj meti tokom implantacije jonima argona je značajno šira u poređenju sa raspodelom za jone azota tokom implantacije u HA prevlaku. Kao posledica, površinska erozija HA prevlake usled gubitka energije u sudarima sa elektronskim omotačem (implantacija jona azota) nije prisutna i samo se pojavljuje erozija izazvana elastičnim sudarima između jona koji se implantiraju i površinskih atoma (raspršivanje usled sudara). Preciznije rečeno, koeficijent raspršivanja je značajno izraženiji kod implantacije jonima argona (2,3 at/ion) u poređenju sa koeficijentom raspršivanja pri implantaciji jonima azota (0,43 at/ion), kao što je izračunato primenom SRIM programa.

Dodatno, jonski snop može da utiče na morfologiju površine na koju je usmeren [230,231]. Skenirajuća elektronska mikroskopija je primenjena za analizu morfologije površine HA prevlake nakon implantacije jonima argona i azota. Slike 5.24a-c prikazuju SEM mikrofotografije površine prevlake HA nakon implantacije jonima azota, energije 60 keV, sa tri različite doze od 1×10^{15} , 1×10^{16} i 1×10^{17} jon cm^{-2} , redom. Na slikama se uočava da različite doze jona za implantaciju ne

utiču na morfologiju površine nakon implantacije jonima azota, u poređenju sa neimplantiranim prevlakama (slika 5.23.). Može se uočiti da je promena površine prevlake tokom implantacije jonima azota zanemarljiva. Sa druge strane, rezultati pokazuju da implantacija jona argona utiče na morfologiju površine prevlake HA. SEM mikrofotografije, prikazane na slici 5.25., prikazuju prevlake HA implantirane jonima argona energije 90 keV, sa tri različite doze od 1×10^{15} , 1×10^{16} i 1×10^{17} jon cm^{-2} . Morfologija prevlaka HA nije značajno promenjena nakon implantacije jonima argona sa nižim dozama (slika 5.25a i b), samo se može uočiti mali porast hrapavosti površine u poređenju sa neimplantiranim uzorcima (slika 5.23.). Sa druge strane, morfologija površine se značajno menja nakon implantacije jonima argona sa većom dozom (1×10^{17} jon cm^{-2}), kao što je prikazano na slici 5.25c. Značajno izraženija promena u morfologiji površine se uočava kao pojava koničnih formi. Uočene konične forme označene su strelicama na slici 5.25c. Ovakvi oblici su posledica efekta raspršivanja tokom interakcije jona argona sa HA prevlakom. Prema tome, modifikacija površine prevlake HA je posledica promena u strukturi koje izazivaju joni argona oštećenjima i površinskom erozijom [86].

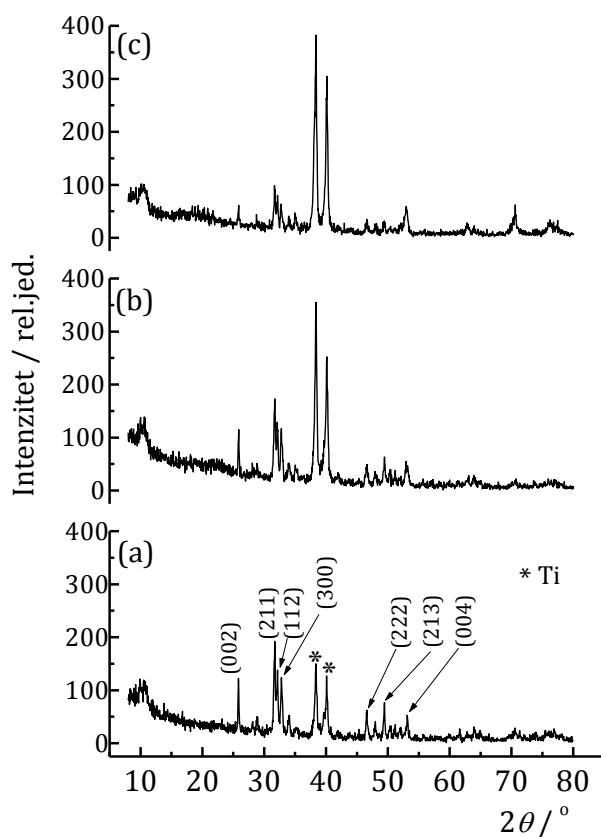


Slika 5.24. SEM mikrofotografije prevlaka HA implantiranih jonima azota sa dozama: (a) 1×10^{15} jon cm^{-2} , (b) 1×10^{16} jon cm^{-2} i (c) 1×10^{17} jon cm^{-2} .

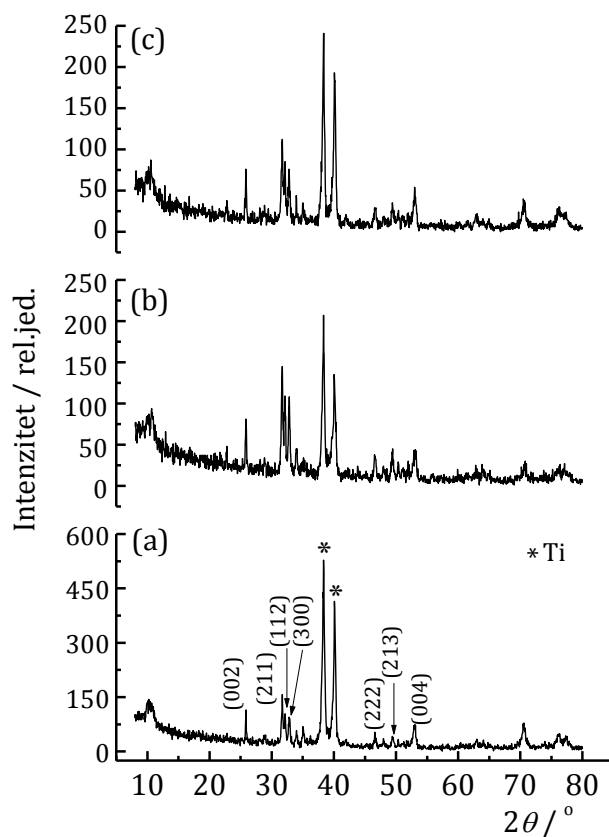


Slika 5.25. SEM mikrofotografije prevlaka HA implantiranih jonima argona sa dozama: (a) 1×10^{15} jon cm^{-2} , (b) 1×10^{16} jon cm^{-2} i (c) 1×10^{17} jon cm^{-2} .

Na slikama 5.26. i 5.27. prikazani su difraktogrami prevlaka HA elektroforetski taloženih na titanu, implantiranih različitim dozama jona azota i argona, redom.



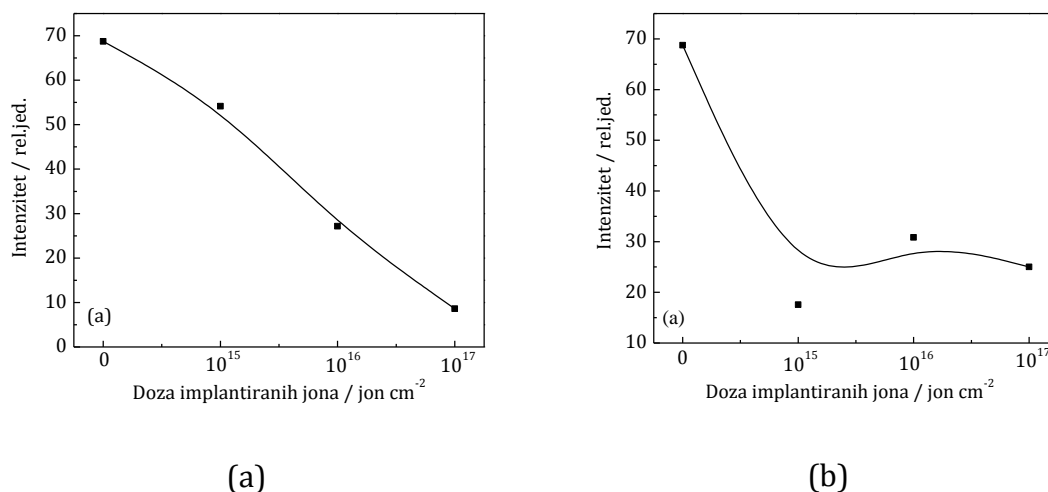
Slika 5.26. Difraktogrami prevlaka HA implantiranih jonima azota dozama: (a) 1×10^{15} jon cm^{-2} , (b) 1×10^{16} jon cm^{-2} i (c) 1×10^{17} jon cm^{-2} .



Slika 5.27. Difraktogrami prevlaka HA implantiranih jonima argona dozama:
 (a) 1×10^{15} jon cm^{-2} , (b) 1×10^{16} jon cm^{-2} i (c) 1×10^{17} jon cm^{-2} .

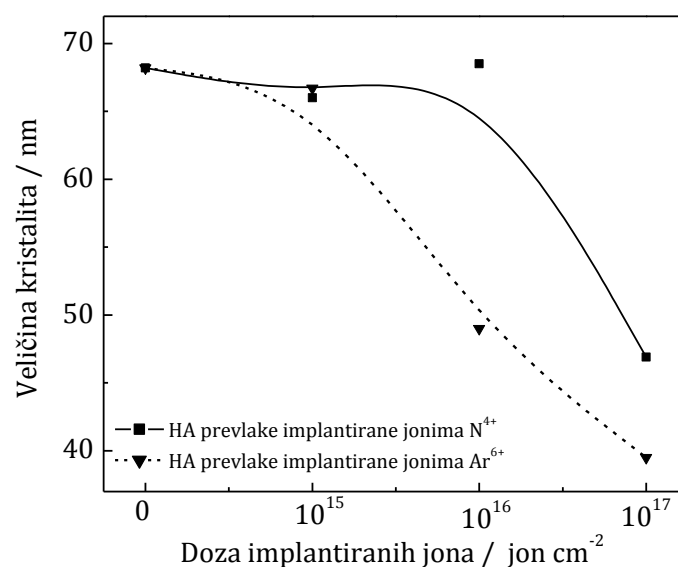
Difraktogrami prikazuju prisustvo hidroksiapatita i titana (potiče od supstrata) i u slučaju neimplantiranih prevlaka (slika 5.22.), kao i u slučaju implantiranih prevlaka jonima azota i argona (slike 5.26. i 5.27, redom). Polazni sastav prevlaka HA je očuvan i nakon implantacije.

Uticaj doze implantiranih jona na relativni intenzitet difrakcionih maksimuma na uglu $26^\circ 2\theta$, za HA prevlake implantirane jonima azota prikazan je na slici 5.28a, a za prevlake HA implantirane jonima argona na slici 5.28b.



Slika 5.28. Uticaj doze implantiranih jona na relativni intenzitet difrakcionih maksimuma na uglu $26^{\circ}2\theta$, za (a) HA prevlake implantirane jonima azota i (b) HA prevlake implantirane jonima argona.

Na slici 5.29. prikazana je zavisnost veličine kristalita prevlake HA, računata za ravan (002), koja odgovara difrakcionom maksimumu na uglu $26^{\circ}2\theta$, od doze implantiranih jona azota i argona. Veličina kristalita izračunata je primenom programa WinFit [216]. Povećanje doze implantiranih jona dovodi do smanjenja veličine kristalita, za obe vrste implantiranih jona.

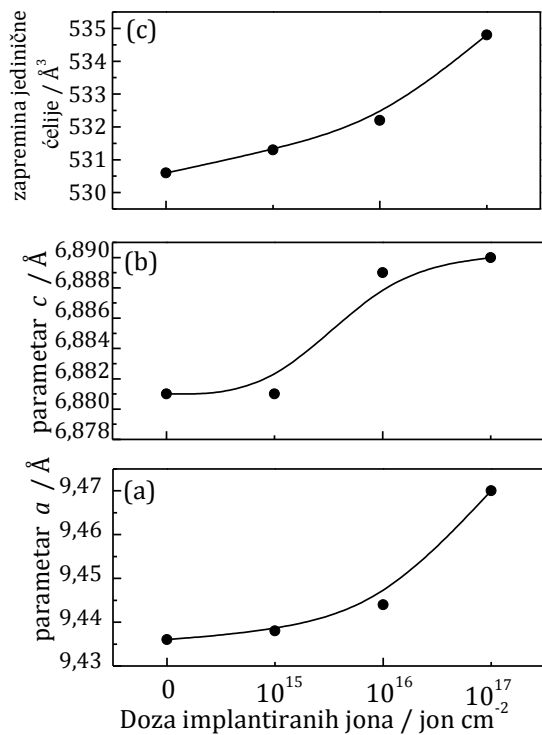


Slika 5.29. Zavisnost veličine kristalita prevlaka HA, računate za ravan (002), od doze implantiranih jona azota i argona.

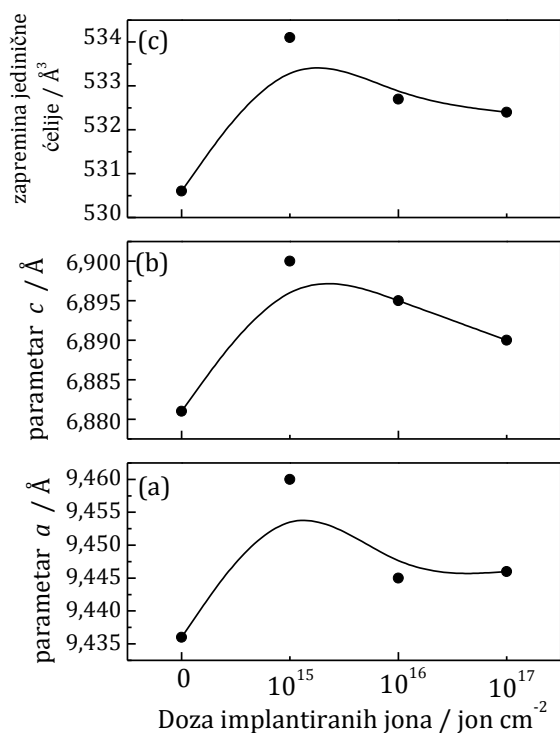
Sa slike 5.28a se može uočiti da relativni intenzitet refleksija na uglu $26^{\circ}2\theta$ opada sa porastom doze jona azota. Ovakvo ponašanje ukazuje da je smanjenje stepena kristaliniteta HA prevlake, kao i veličine kristalita (slika 5.29.) posledica gubitka energije u sudarima sa elektronskim omotačem. Ovo je u saglasnosti rezultatima prikazanim u literaturi [232,233] što potvrđuje da transfer energije dovodi do smanjenja stepena kristaliniteta. Sa slike 5.28b se uočava da relativni intenzitet refleksije na $26^{\circ}2\theta$ opada nakon implantacije jonima argona pri dozi od 1×10^{15} jon cm^{-2} . Pri većim dozama jona za implantaciju od 1×10^{16} i 1×10^{17} jon cm^{-2} , relativni intenziteti imaju neznatan porast. Ovakve promene u strukturi, tj. smanjenje stepena kristaliniteta HA prevlaka i nakon toga porast stepena kristaliniteta, sa jedne strane, kao i smanjenje veličine kristalita (slika 5.29.), mogu se pripisati činjenici da gubitak energije u sudarima sa jezgrima dominira kod implantacije jonima argona. Pri nižim dozama jona za implantaciju, smanjenje stepena kristaliniteta je više izraženo, dok je pri porastu doze jona za implantaciju, usled razmene toplote tokom implantacije, moguće izazvati rekristalizaciju hidroksiapatita.

Slike 5.30. i 5.31. prikazuju zavisnost parametara jedinične ćelije HA, a i c , kao i zapremine jedinične ćelije HA, od doze implantiranih jona azota i argona, redom. Vrednosti za parametre jedinične ćelije i zapreminu jedinične ćelije za neimplantirane uzorke HA prevlake (koje odgovaraju, na dijagramu, dozi 0), date su u cilju poređenja rezultata.

Na slici 5.30. se uočava da parametri jedinične ćelije a i c , kao i zapremina jedinične ćelije HA, rastu sa porastom doze jona azota. Slično, parametri jedinične ćelije a i c , kao i zapremina jedinične ćelije HA, rastu nakon implantacije jonima argona sa dozom 1×10^{15} jon cm^{-2} (slika 5.31.). Pri većim dozama jona argona, (1×10^{16} i 1×10^{17} jon cm^{-2}), parametri jedinične ćelije i zapremina jedinične ćelije HA opadaju sa porastom doze. Ove promene u strukturi su posledica različitih mehanizama transfera energije za jone azota i argona tokom implantacije u HA prevlaku. Kod implantacije jonima azota dominantan je gubitak energije usled sudara sa elektronskim omotačem, dok je kod implantacije jonima argona dominantan gubitak energije usled sudara sa jezgrima.



Slika 5.30. Zavisnost (a) parametra *a* jedinične ćelije, (b) parametra *b* jedinične ćelije i (c) zapremine jedinične ćelije prevlake HA od doze implantiranih jona azota.



Slika 5.31. Zavisnost (a) parametra *a* jedinične ćelije, (b) parametra *b* jedinične ćelije i (c) zapremine jedinične ćelije prevlake HA od doze implantiranih jona argona.

5.2.4. Elektrohemijsko taloženje prevlaka brušita na titanu

5.2.4.1. Katodna polarizaciona merenja

Mehanizam elektrohemijskog taloženja kalcijum-fosfatnih prevlaka može se predstaviti sledećim grupama reakcija [127,179,183,184,186,194,197]:

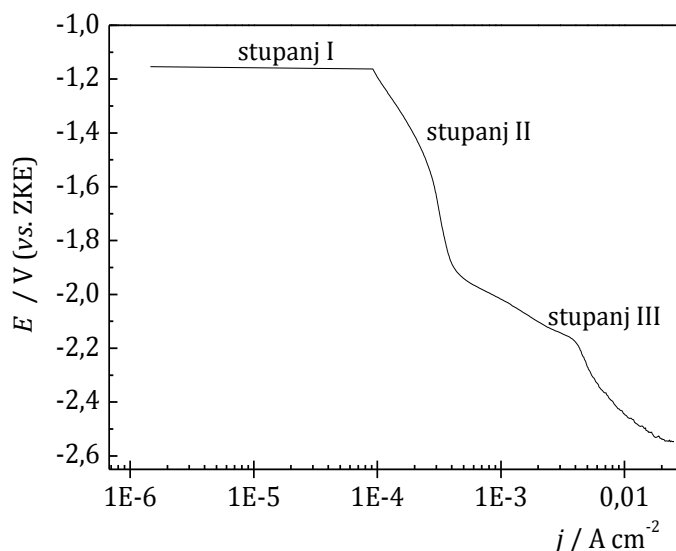
-elektrohemijske reakcije (reakcija izdvajanja vodonika iz različitih jona prisutnih u rastvoru i/ili iz molekula vode na visokim pH vrednostima, kao sporedna reakcija),

-kiselo-bazne reakcije (konsekutivni prelazi fosfatnih jona u funkciji pH),

-reakcije taloženja (taloženje kalcijum-fosfata).

U zavisnosti od pH vrednosti elektrolita u prielektrodnom sloju, tokom elektrohemijskog taloženja, mogu se dobiti prevlake kalcijum-fosfata različite strukture i sastava. Različite fosfatne grupe, H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} i PO_4^{3-} , su stabilne pri različitim pH vrednostima rastvora [125,190]. U slučaju elektrohemijskog taloženja, pH vrednost u prielektrodnom sloju je funkcija potencijala na kome se prevlaka formira, usled reakcije izdvajanja vodonika [234].

Katodna polarizaciona kriva za Ti u rastvoru koji je sadržao 0,042 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i 0,025 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ prikazana je na slici 5.32.



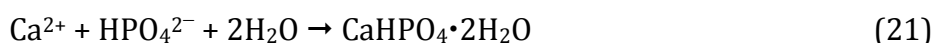
Slika 5.32. Katodna polarizaciona kriva za Ti u rastvoru koji je sadržao 0,042 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i 0,025 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$.

Na polarizacionoj krivoj moguće je uočiti tri različita stupnja. U prvom stupnju (na oko -1,15 V vs. ZKE), minimalna polarizacija elektrode izaziva porast gustine struje za dva reda veličine. Ovaj stupanj odgovara vremenu taloženja od oko 10 s, na približno konstantnom potencijalu. U drugom stupnju (odgovara znatno dužem vremenu taloženja od oko 12,5 min), značajna promena potencijala u intervalu od -1,2 V do -1,9 V (vs. ZKE) praćena je porastom gustine struje od samo pola reda veličine, sa prevojnomo tačkom oko -1,5 V. Treći stupanj (odgovara vremenu taloženja od približno 18,5 min) ukazuje na značajan porast gustine struje i pad potencijala od -1,9 V do -2,5 V [184].

Početni, prvi stupanj taloženja, koji odgovara oblasti potencijala od oko -1,15 V (slika 5.32., stupanj I), može se pripisati izdvajanju vodonika usled redukcije NH_4^+ jona, koji potiče iz polazne komponente $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, prema jednačini:



Reakcija (20) može izazvati lokalni porast pH, u prielektrodnom sloju, do vrednosti samopuferovanja amonijačnog rastvora ($\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$), na pH vrednost oko 9 [198]. Kao posledica lokalne promene pH vrednosti, jon H_2PO_4^- (potiče iz polaznog jedinjenja $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) prelazi u HPO_4^{2-} . Prisustvom jona Ca^{2+} , koji potiče iz polazne komponente $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i jona HPO_4^{2-} , uslovi za taloženje brušita su postignuti, tako da se na površini katode taloži prevlaka brušita, prema jednačini:



S obzirom da je značajan deo površine elektrode zauzet prevlakom, brzina reakcije (20) se smanjuje, što se registruje kao značajno sporiji porast katodne gustine struje u intervalu potencijala od -1,2 V do -1,9 V (slika 5.32., stupanj II). Treba istaći da se u ovoj oblasti potencijala, paralelno sa reakcijom taloženja prevlake, može odigravati reakcija izdvajanja vodonika iz HPO_4^{2-} [234]:



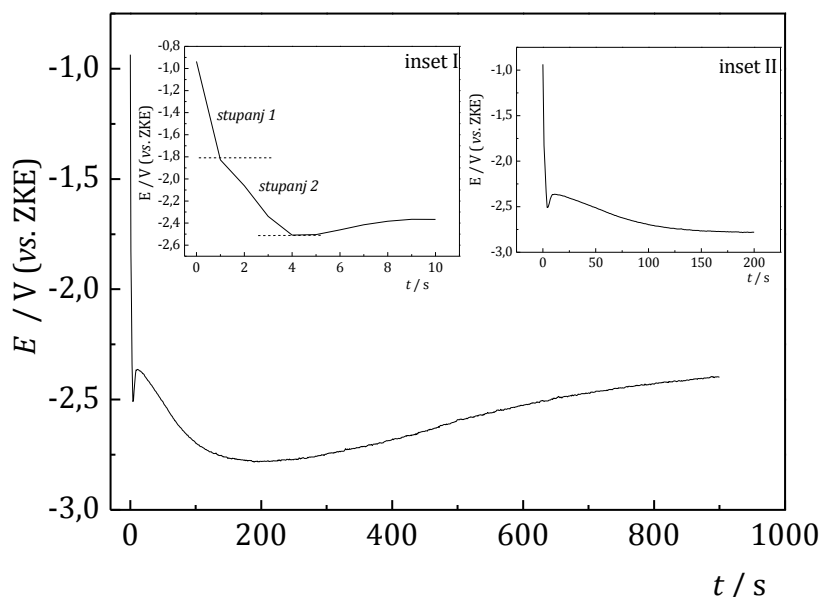
Pošto pH samopuferujućeg amonijačnog rastvora u prielektrodnom sloju ima vrednost oko 9, najstabilniji oblik fosfatnog jona je HPO_4^{2-} . Fosfatni jon u obliku PO_4^{3-} nije stabilan pri pH vrednosti približno 9 [190,234], tako da on ponovo

prelazi u fosfatni jon oblika HPO_4^{2-} . Iz tog razloga može se smatrati da je jedini oblik fosfatnog jona, prisutan u blizini elektrode HPO_4^{2-} jon.

Na potencijalima nižim od $-1,9\text{ V}$ (slika 5.32., stupanj III), odigrava se reakcija izdvajanja vodonika iz molekula vode prema jednačini (4).

Na osnovu predloženog mehanizma, može se zaključiti da je, zbog samopuferujućih osobina rastvora, jedini stabilan jon HPO_4^{2-} , i da se na katodi, u čitavom ispitivanom opsegu gustina struja i vremena, taloži samo brušit, što će kasnije biti potvrđeno i XRD analizom (poglavlje 5.2.4.3) [184].

Za prevlaku brušita, taloženu na gustini struje od 10 mA cm^{-2} i za vreme taloženja od 15 min, snimljena je hronopotenciometrijska kriva (slika 5.33) iz rastvora koji je sadržao $0,042\text{ M Ca(NO}_3)_2$ i $0,025\text{ M NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$.



Slika 5.33. Hronopotenciometrijska kriva za elektrohemijsko taloženje brušita na gustini struje od 10 mA cm^{-2} .

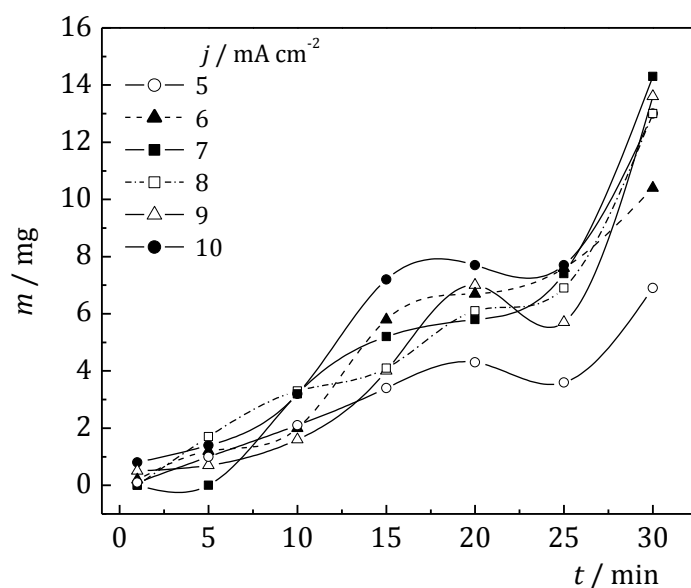
Za veoma kratka vremena taloženja, do 4 s, mogu se uočiti dva stupnja (slika 5.33, inset I): stupanj 1, tokom prve sekunde taloženja, sa odgovarajućim potencijalom od $-1,8\text{ V}$ i stupanj 2, tokom naredne 3 s, sa odgovarajućim potencijalom od oko $-2,5\text{ V}$. Nagibi ova dva stupnja se razlikuju, ukazujući da stupanj 1 odgovara bržoj elektrohemijskoj reakciji, dok stupanj 2 odgovara sporijoj

elektrohemijskoj reakciji. Ovo je u saglasnosti sa predloženim mehanizmom formiranja prevlake brušita na titanu [127,179,183,184,194,197].

Naime, na potencijalima do $-1,9\text{ V}$ odigravaju se dva procesa: izdvajanje vodonika iz jona NH_4^+ , (jednačina (20)), što dovodi do lokalnog povećanja pH vrednosti na približno 9 i do konverzije jona H_2PO_4^- u jon HPO_4^{2-} . U prisustvu Ca^{2+} jona dolazi do formiranja brušita na elektrodi prema jednačini (21). Paralelno reakciji taloženja brušita, odigrava se reakcija izdvajanja vodonika na katodi, što se manifestuje kao smanjenje nagiba na hronopotenciometrijskoj krivoj (slika 5.33, inset I, stupanj 2). Na potencijalima nižim od $-1,9\text{ V}$, odigrava se reakcija izdvajanja vodonika iz vode (jednačina (4)), što dovodi do formiranja velike količine H_2 molekula. Iz tog razloga se na potencijalima do $-2,5\text{ V}$ odigravaju dve paralelne reakcije: taloženje i rast brušita i, sa druge strane, elektrohemijska reakcija izdvajanja vodonika. Obe reakcije dovode do zaposedanja elektrode putem formiranja porozne prevlake brušita. Nakon prvog intervala od 4 s, elektrohemijsko taloženje brušita se odigrava uglavnom po mehanizmu taloženja kroz porozan film i ovaj stupanj je predstavljen maksimumom na hronopotenciometrijskoj krivoj što je praćeno daljim padom potencijala u toku narednih 200 s (slika 5.33, inset II). Za duža vremena taloženja potencijal raste, što se može objasniti činjenicom da izdvojeni vodonik napušta površinu elektrode. Kao posledica oslobađanja mesta na elektrodi, brušit se taloži na više slobodnih mesta, što, u krajnjem stadijumu, dovodi do povećanja mase prevlaka brušita. Predloženi mehanizam je u saglasnosti sa zavisnošću mase prevlake brušita od vremena za konstantne gustine struje taloženja, što će biti analizirano u poglavlju 5.2.4.2.

5.2.4.2. Uticaj gustine struje i vremena taloženja na masu prevlaka brušita

Uticaj vremena taloženja, t , na masu prevlaka brušita, m , elektrohemijski taloženih na različitim gustinama struje, prikazan je na slici 5.34.

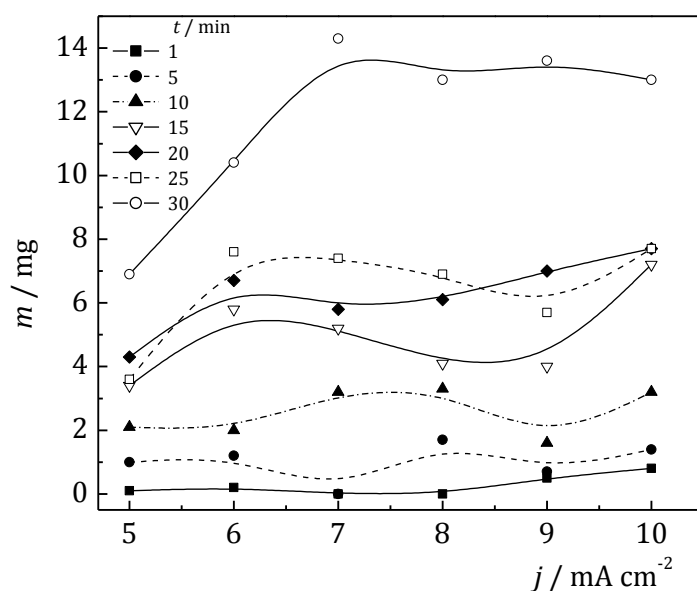


Slika 5.34. Zavisnost mase prevlake brušita na titanu od vremena taloženja za različite vrednosti gustine struje.

Za sve vrednosti gustine struje, produžavanjem vremena taloženja povećava se masa prevlake brušita, jer veća količina jona dospeva na katodu, dostižući maksimalnu vrednost između 17 i 20 min, u zavisnosti od primenjene gustine struje. Nakon toga, vrednosti za masu prevlake dostižu minimalnu vrednost za vreme taloženja od 25 min. Ovo je moguće objasniti na sledeći način: produžavanje vremena taloženja povećava količinu izdvojenog vodonika na katodi, prema jednačini (4), što znači da mehuri vodonika prekrivaju površinu elektrode u većoj meri, pa ostaje manje slobodnih mesta (manja slobodna površina) za taloženje prevlake brušita. Ovo smanjuje brzinu taloženja prevlake i na taj način dovodi do smanjenja mase prevlake, nakon postizanja maksimalne vrednosti (slika 5.34.). Ovo se može, takođe, dovesti u vezu sa ljušćenjem prevlake usled formiranja vodonika na elektrodi. Na ovaj način, stvaraju se slobodna mesta na elektrodi (koja su prethodno bila zauzeta prevlakom ili mehurima vodonika) na kojima dolazi do taloženja nove količine prevlake, što se manifestuje kao značajno povećanje mase prevlake nakon 25 min taloženja (slika 5.34.). Ovakvo tumačenje je zasnovano na činjenici da se maksimumi na krivama lagano pomeraju ka kraćim vremenima za veće vrednosti gustine struje (slika 5.34.). Reakcija izdvajanja vodonika ima veću brzinu na većim gustinama struje, pa se iz tog razloga oslobađanje novih mesta na

elektrodi za taloženje prevlake dešava nešto ranije. Ukratko, može se zaključiti sledeće: povećanje mase prevlake sa produžavanjem vremena taloženja je posledica dve kompetitivne reakcije – taloženja prevlaka brušita i rasta prevlake i, sa druge strane, elektrohemijske reakcije izdvajanja vodonika. Dalje produžavanje vremena taloženja, do 30 min, dovodi do porasta mase prevlake za sve gustine struje. Ovo je znatno izraženije na višim gustinama struje jer je brzina reakcije izdvajanja vodonika znatno veća, ali je, sa druge strane i brzina formiranja mehurova vodonika i njihova brzina napuštanja površine elektrode veća, što omogućava dalje taloženje prevlake. Iz tog razloga, najveća masa prevlake dobija se za najduže vreme taloženja.

Uticaj gustine struje taloženja, j , na masu prevlaka brušita, m , za različita vremena taloženja prikazana je na slici 5.35.



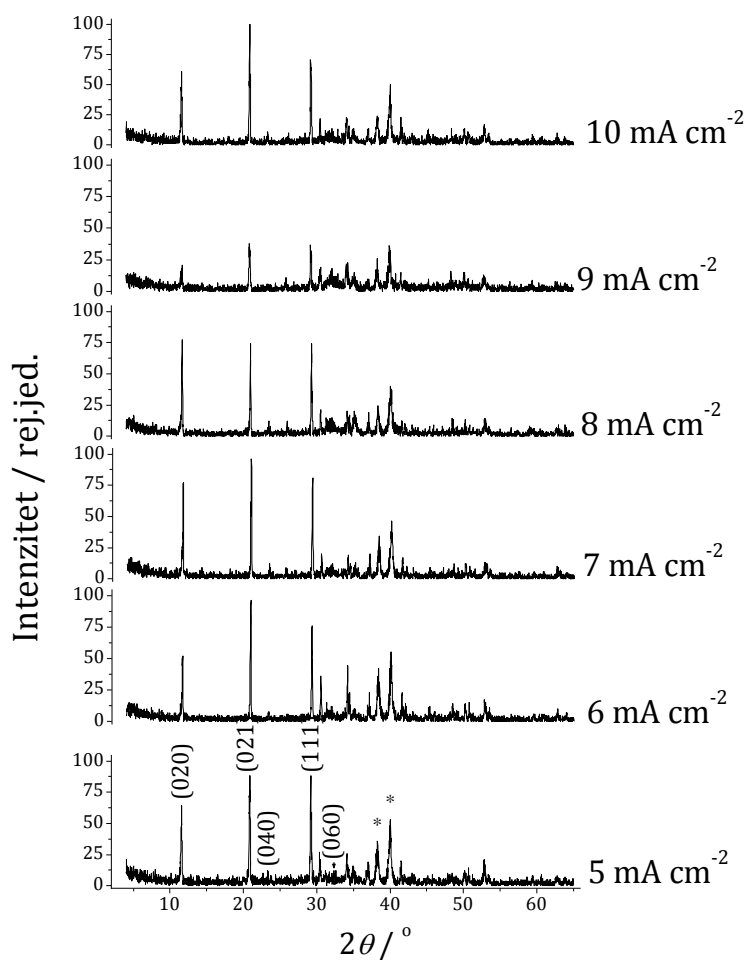
Slika 5.35. Zavisnost mase prevlake brušita na titanu od gustine struje taloženja za različita vremena taloženja.

Za vremena taloženja do 25 min, porast gustine struje ne utiče značajno na masu prevlake brušita. Za najduže vreme taloženja (30 min), porast gustine struje taloženja do 7 mA cm⁻² dovodi do porasta mase prevlake. Dalje povećanje gustine struje ne utiče na porast mase prevlake. Iz ovakve zavisnosti mase prevlake od gustine struje, moguće je zaključiti da se najveća masa prevlake dobija za najduže

vreme taloženja od 30 min, dok povećanje gustine struje iznad 7 mA cm^{-2} ne utiče na masu prevlake [184].

5.2.4.3. Rendgenska difrakciona analiza

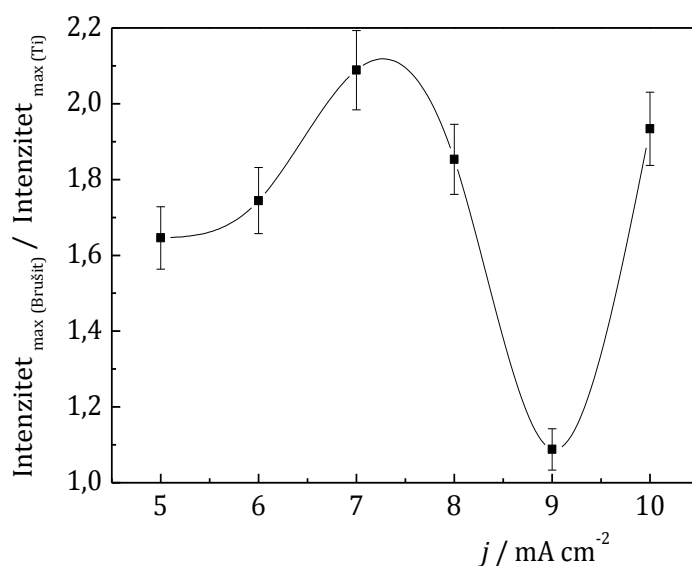
Na slici 5.36. prikazani su difraktogrami prevlaka brušita dobijenih na različitim gustinama struje u intervalu od $5,0$ do 10 mA cm^{-2} , za konstantno vreme taloženja od 30 min.



Slika 5.36. Difraktogrami prevlaka brušita elektrohemijski taloženih na titanu na različitim gustinama struje (vreme taloženja: 30 min); *: difrakcioni maksimumi koji odgovaraju titanu.

Identifikovani difrakcioni maksimumi odgovaraju brušitu $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (JCPDS kartica br. 72-0713) i titanu, koji potiče od supstrata (JCPDS kartica br. 89-

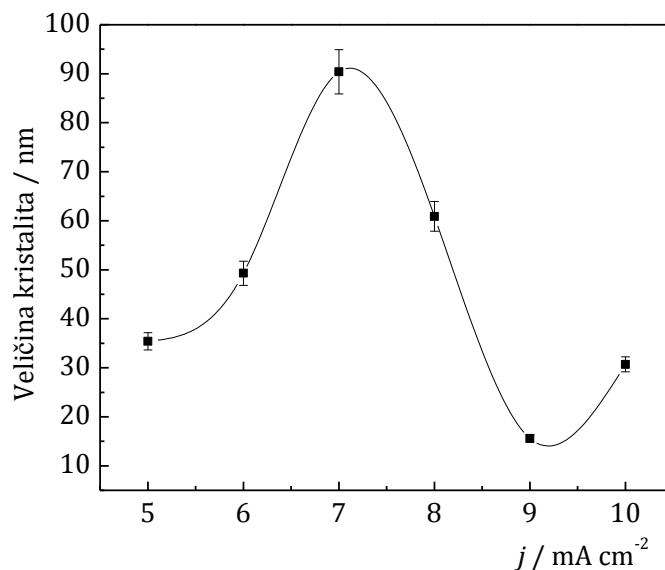
2762). Rezultati XRD analize potvrđuju predloženi mehanizam elektrohemijskog taloženje brušita na titanu, opisanog u poglavlju 5.2.4.1 (jednačine (20) do (22)). Prema literaturi [190], odnos intenziteta najjačeg difrakcionog maksimuma prevlake i najjačeg difrakcionog maksimuma supstrata, mogu ukazati na poroznost ili debljinu prevlake. Na slici 5.37. je prikazana zavisnost odnosa intenziteta najjačih difrakcionih maksimuma za brušit i titan od gustine struje, za konstantno vreme taloženja od 30 min.



Slika 5.37. Zavisnost odnosa intenziteta najjačeg difrakcionog maksimuma za brušit i titan od gustine struje (vreme taloženja: 30 min).

Veličina kristalita brušita računata je za ravan (020) koja odgovara difrakcionom maksimumu brušita na oko $11^\circ 2\theta$, primenom Šererove jednačine (17) i programa PowderCell [219].

Zavisnost veličine kristalita od gustine struje taloženja je prikazana na slici 5.38.



Slika 5.38. Zavisnost veličine kristalita prevlaka brušita od gustine struje taloženja (vreme taloženja: 30 min).

Ukoliko je odnos intenziteta difrakcionih maksimuma za brušit i titan veći (slika 5.37.), prevlaka je ili deblja ili manje porozna od prevlake koja ima manju vrednost odnosa intenziteta pikova. Na slici 5.37. se vidi da vrednost odnosa intenziteta raste sa porastom gustine struje do 7 mA cm^{-2} . Kako je već pokazano, povećanje gustine struje do 7 mA cm^{-2} dovodi do povećanja mase prevlake (slika 5.35.), pa se može pretpostaviti da je povećanje vrednosti odnosa intenziteta pikova za gustine struje do 7 mA cm^{-2} posledica povećanja mase prevlake tokom porasta gustine struje od 5 do 7 mA cm^{-2} . Takođe, veličina kristalita raste sa porastom gustine struje do 7 mA cm^{-2} (slika 5.38.).

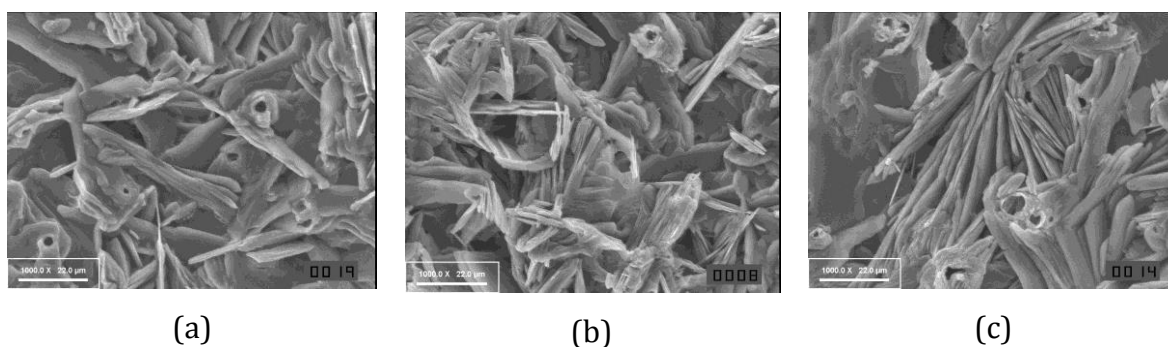
Iako dalje povećanje gustine struje ($7\text{-}9 \text{ mA cm}^{-2}$) ne utiče značajno na masu prevlake (slika 5.35.), izaziva značajan pad u vrednosti odnosa intenziteta pikova (slika 5.37.) i veličine kristalita (slika 5.38.). Ovakve zavisnosti ukazuju na postojanje još jednog fenomena koji utiče na morfologiju prevlake: povećanje poroznosti prevlaka pri porastu gustine struje usled ubrzanog formiranja mehurova vodonika. Povećanje gustine struje taloženja, povećava početnu brzinu nukleacije brušita (jednačina (21)), ali takođe dovodi i do povećanja brzine reakcije izdvajanja vodonika (jednačina (4)). Kao posledica ovih paralelnih reakcija, nukleacija je ubrzana, dok je, simultano, rast kristala ograničen zbog

velike količine mehurova vodonika. Ovo je sasvim suprotan efekat u odnosu na proces formiranja prevlake na nižim vrednostima gustine struje, gde rast kristala dominira u odnosu na reakciju izdvajanja vodonika. Ovo znači da će se u oblasti visokih vrednosti gustina struje ($7-9 \text{ mA cm}^{-2}$) formirati kristaliti manjih dimenzija (slika 5.38.), dok će prevlake biti poroznije (vidi se na slici 5.37. kao značajno smanjenje odnosa intenziteta pikova na gustini struje od 9 mA cm^{-2}). Kao posledica, minimalna vrednost odnosa intenziteta pikova na gustini struje od 9 mA cm^{-2} ukazuje da prevlaka dobijena na ovoj gustini struje ima najveću poroznost zbog najveće količine izdvojenog vodonika, jer na visokim vrednostima gustine struje reakcija izdvajanja vodonika dominira u odnosu na brzinu rasta kristala brušita.

Na najvećoj primenjenoj gustini struje od 10 mA cm^{-2} , odnos intenziteta difrakcionih maksimuma (slika 5.37.) i veličina kristalita (slika 5.38.) rastu, u poređenju sa vrednostima ovih veličina dobijenih za gustinu struje taloženja od 9 mA cm^{-2} . S obzirom da je masa prevlake na vrednostima gustina struje od 9 i 10 mA cm^{-2} slična (slika 5.35.), ovo znači da je prevlaka taložena na gustini struje od 10 mA cm^{-2} manje porozna. Ovo je posledica veoma brzog izdvajanja mehurova vodonika na gustini struje od 10 mA cm^{-2} , i istovremeno znatno bržeg odlaska mehurova vodonika sa površine elektrode, čime je omogućeno dalje taloženje manje poroznih prevlaka.

5.2.4.4. Skenirajuća elektronska mikroskopija

Mikrofotografije prevlaka brušita, dobijenih na gustinama struje od 7 , 9 i 10 mA cm^{-2} , predstavljene su na slici 5.39.



Slika 5.39. SEM mikrofotografije prevlaka brušita elektrohemijski taloženih na titanu na: (a) 7 mA cm^{-2} (b) 9 mA cm^{-2} i (c) 10 mA cm^{-2} (vreme taloženja: 30 min).

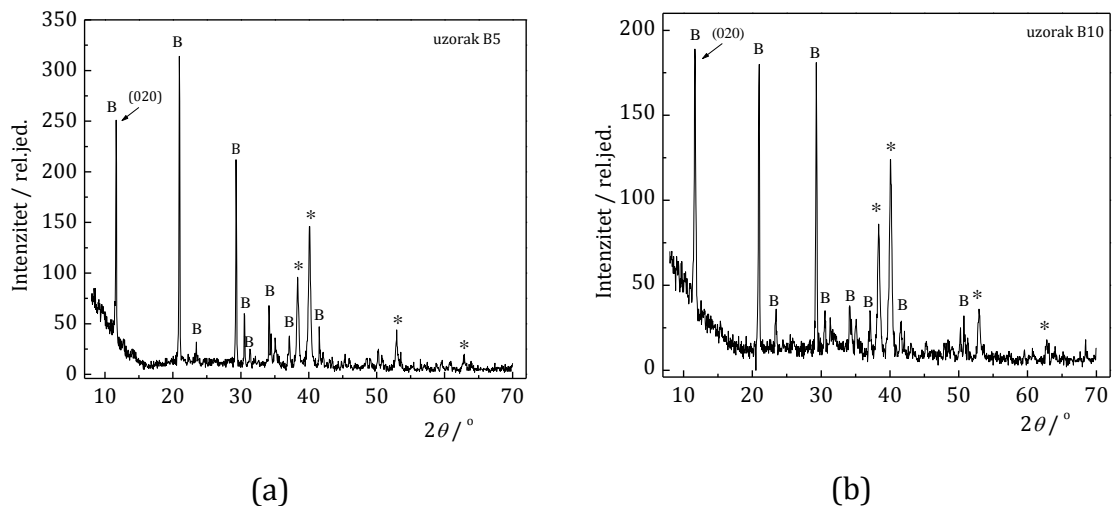
Na slici 5.39. se vidi da prevlake brušita imaju pločastu formu, sa "vulkanskim" mestima (pločasti kristali formiraju cevastu formu). Forma prevlake "vulkanskog" tipa je posledica slaganja pločastih kristala brušita oko formiranih mehurova vodonika na katodi [235,236]. Sa povećanjem gustine struje, dolazi do povećanja broja mesta sa formom "vulkana" na površini prevlake brušita zbog izdvajanja velike količine vodonika (slika 5.39a i b). Na najvećoj ispitivanoj gustini struje taloženja od 10 mA cm^{-2} , (slika 5.39c), forma "vulkana" je značajno izmenjena, što se može objasniti bržim odlaskom mehurova vodonika sa površine elektrode. Uniformni i prilično kompaktni delovi prevlake, dobijene taloženjem na najvećoj gustini struje, predstavljeni su uređenim, gusto pakovanim pločastim kristalitima brušita (slika 5.39c). Sa druge strane, prevlake brušita dobijene taloženjem na nižim gustinama struje (slike 5.39a i b) imaju rasute pločaste forme (slučajnu raspodelu).

Na osnovu svih eksperimentalnih rezultata, moguće je zaključiti da je prevlaka brušita sa najmanjom veličinom kristalita od 15,6 nm, najvećom masom i najvećom poroznošću dobijena elektrohemijским taloženjem na gustini struje od 9 mA cm^{-2} .

5.2.5. Konverzija prevlaka brušita u hidroksiapatit potapanjem u simuliranu telesnu tečnost (in vitro ispitivanja)

5.2.5.1. Rendgenska difrakciona analiza i skenirajuća elektronska mikroskopija

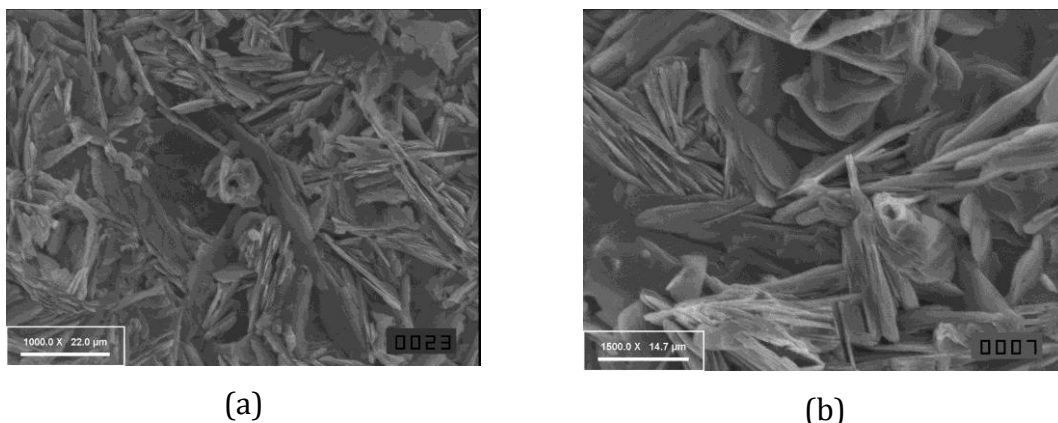
Na slici 5.40. prikazani su difraktogrami prevlaka brušita na titanu, dobijenih elektrohemijским taloženjem pri gustinama struje od 5 mA cm^{-2} (uzorak B5, slika 5.40a) i 10 mA cm^{-2} (uzorak B10, slika 5.40b) za vreme taloženja od 15 min.



Slika 5.40. Difraktogrami prevlaka brušita elektrohemijski taloženih na titanu na gustinama struje od (a) 5 mA cm^{-2} (uzorak B5) i (b) 10 mA cm^{-2} (uzorak B10) za vreme taloženja od 15 min; *: difrakcioni maksimumi koji odgovaraju titanu.

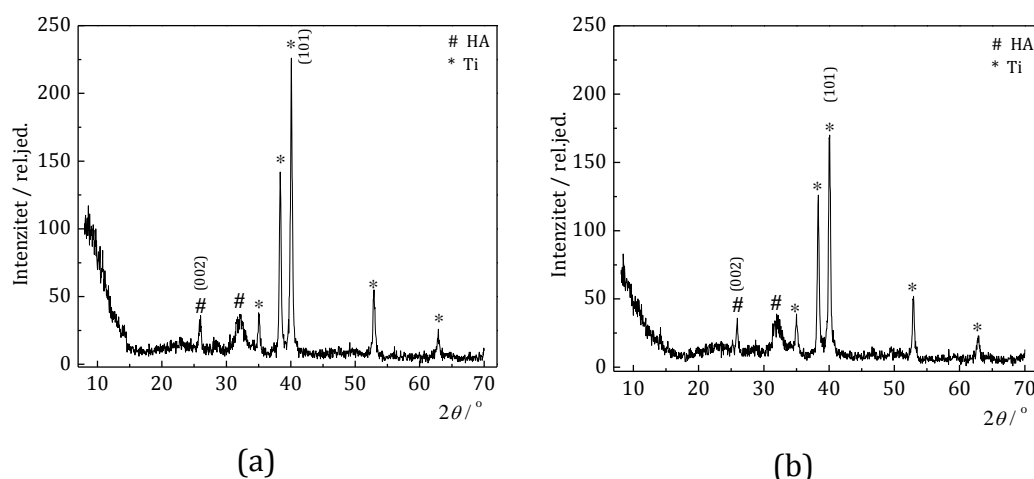
Difrakcioni maksimumi odgovaraju brušitu $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (JCPDS kartica br. 72-0713) i titanu, koji potiče od supstrata (JCPDS kartica br. 89-2762). Veličina kristalita, računata iz difrakcionog maksimuma koji odgovara ravni (020), za prevlake B5 i B10, je iznosila 72,5 nm, odnosno 71,8 nm, redom. Odnosi intenziteta najjačih difrakcionih maksimuma prevlaka brušita i titana (računato sa slike 5.40.), za prevlake B5 i B10 iznosili su 2,15 i 1,52, redom. Imajući u vidu da prevlaka brušita, taložena na gustini struje od 10 mA cm^{-2} ima veću masu od prevlake brušita taložene na 5 mA cm^{-2} (slika 5.35.), vrednost za odnose intenziteta difrakcionih maksimuma ukazuju na činjenicu da je prevlaka B5 manje porozna od prevlake B10.

Na slici 5.41. prikazane su SEM mikrofotografije prevlaka brušita dobijenih elektrohemijskim taloženjem na 5 mA cm^{-2} (uzorak B5, slika 5.41a) i 10 mA cm^{-2} (uzorak B10, slika 5.41b) za vreme taloženja od 15 min. Prevlake brušita imaju pločaste forme.



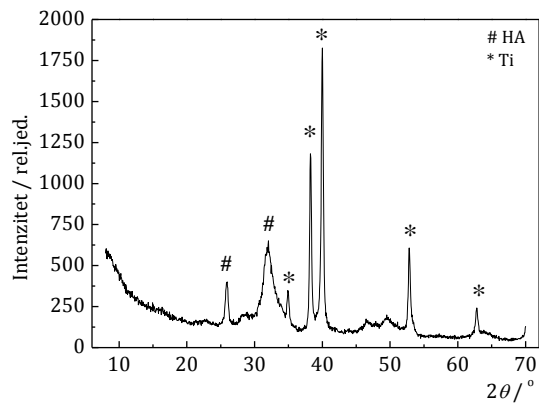
Slika 5.41. SEM mikrofotografije prevlaka brušita elektrohemijski taloženih na titanu na (a) 5 mA cm^{-2} i (b) 10 mA cm^{-2} tokom 15 min.

Na slici 5.42. prikazani su difraktogrami prevlaka hidroksiapatita, dobijenih nakon potapanja prevlaka brušita (uzorak B5) u simuliranu telesnu tečnost tokom 7 (uzorak B5-7, slika 5.42a) i 14 dana (uzorak B5-14, slika 5.42b).

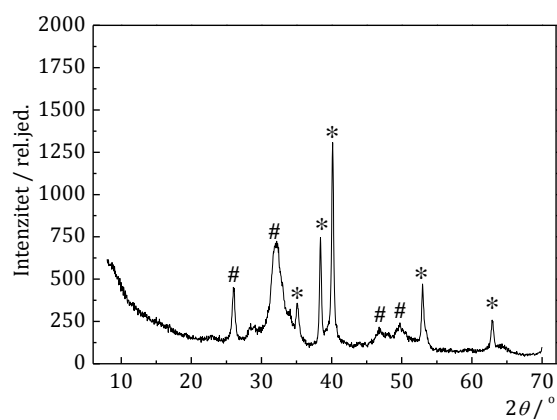


Slika 5.42. Difraktogrami prevlaka hidroksiapatita dobijenih nakon konverzije prevlaka brušita (uzorak B5) u simuliranoj telesnoj tečnosti tokom (a) 7 dana (uzorak B5-7) i (b) 14 dana (uzorak B5-14).

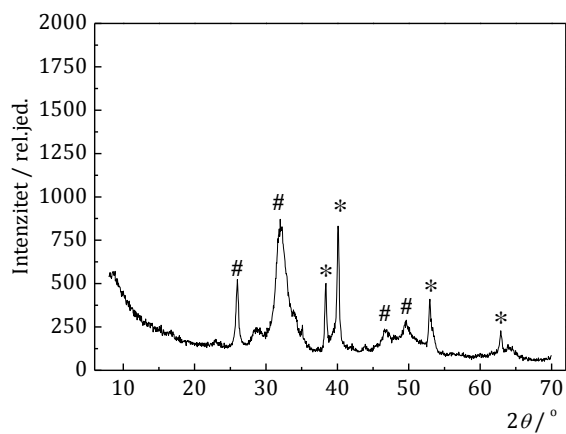
Na slici 5.43. prikazani su difraktogrami prevlaka hidroksiapatita, dobijenih nakon potapanja prevlaka brušita (uzorak B10) u simuliranu telesnu tečnost tokom 2 dana (uzorak B10-2, slika 5.43a), 7 dana (uzorak B10-7, slika 5.43b) i 14 dana (uzorak B10-14, slika 5.43c).



(a)



(b)



(c)

Slika 5.43. Difraktogrami prevlaka hidroksiapatita dobijenih nakon konverzije prevlaka brušita (uzorak B10) u simuliranoj telesnoj tečnosti tokom (a) 2 dana (uzorak B10-2), (b) 7 dana (uzorak B10-7) i (c) 14 dana (uzorak B10-14).

Fazni sastav konvertovanih prevlaka (slike 5.42 i 5.43) odgovara hidroksiapatitu, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (JCPDS kartica br. 9-0432) i α -Ti (potiče od supstrata). Odsustvo difrakcionih maksimuma koji odgovaraju brušitu ukazuje na činjenicu da je čitava površina prevlake, koja je bila po sastavu brušit, nakon potapanja konvertovana u hidroksiapatit. Veličina kristalita hidroksiapatita, nakon potapanja prevlaka brušita u simuliranu telesnu tečnost tokom ispitivanog vremena, računata je na osnovu difrakcionih maksimuma koji odgovaraju ravni (002), korišćenjem programa PowderCell i XFIT [219,220]. Vrednosti veličine kristalita prevlaka brušita i hidroksiapatita, dobijenog potapanjem prevlaka brušita u simuliranu telesnu tečnost tokom 2, 7 i 14 dana prikazani su u tabeli 5.8.

Tabela 5.8. Veličina kristalita za prevlake brušita i hidroksiapatita nakon 2, 7 i 14 dana potapanja u simuliranoj telesnoj tečnosti

Prevlaka brušita, uslovi taloženja	Veličina kristalita brušita, nm	Veličina kristalita hidroksiapatita, nm		
		Vreme potapanja, dani		
		2	7	14
$j = 5 \text{ mA cm}^{-2}$			45,2	48,5
$t = 15 \text{ min}$ (uzorak B5)	72,5	/	(uzorak B5-7)	(uzorak B5-14)
$j = 10 \text{ mA cm}^{-2}$		14,4	15	16,2
$t = 15 \text{ min}$ (uzorak B10)	71,8	(uzorak B10-2)	(uzorak B10-7)	(uzorak B10-14)

Rezultati predstavljeni u tabeli 5.8. pokazuju da produžavanje vremena potapanja od 7 do 14 dana, za obe prevlake brušita (uzorci B5-7 i B5-14, odnosno B10-7 i B10-14), neznatno utiče na veličinu kristalita konvertovanih prevlaka hidroksiapatita. Sa druge strane, primenjena gustina struje za taloženje prevlaka brušita ima veoma veliki uticaj na veličinu kristalita konvertovanih prevlaka. Ovi rezultati ukazuju na činjenicu da prevlaka hidroksiapatita dobijena nakon konverzije prevlake brušita taložene na većoj vrednosti gustine struje (uzorak B10) ima značajno manju veličinu kristalita, u odnosu na veličinu kristalita

prevlaka hidroksiapatita dobijenih nakon konverzije prevlake brušita taložene na nižoj vrednosti gustine struje (uzorak B5) i to 15 nm i 45,2 nm, redom, nakon potapanja od 7 dana, odnosno 16,2 nm i 48,5, nakon potapanja od 14 dana. Iako su veličine kristalita prevlaka brušita pre potapanja gotovo bez razlike (72,5 nm i 71,8 nm, za uzorke B5 i B10, redom), prethodni rezultati ukazuju na činjenicu da se kristalizacija hidroksiapatita na prevlaci brušita veće poroznosti (uzorak B10), odvija na većem broju mesta kristalizacije, dovodeći do formiranja velikog broja kristalita hidroksiapatita malih dimenzija (veličina kristalita 15, odnosno 16,2 nm). Sa druge strane, kristalizacija prevlaka hidroksiapatita na manje poroznim prevlakama brušita (uzorak B5) odvija se na manjem broju mesta kristalizacije, što ima za posledicu formiranje manjeg broja većih kristalita hidroksiapatita (veličina kristalita 45,2, odnosno 48,5 nm).

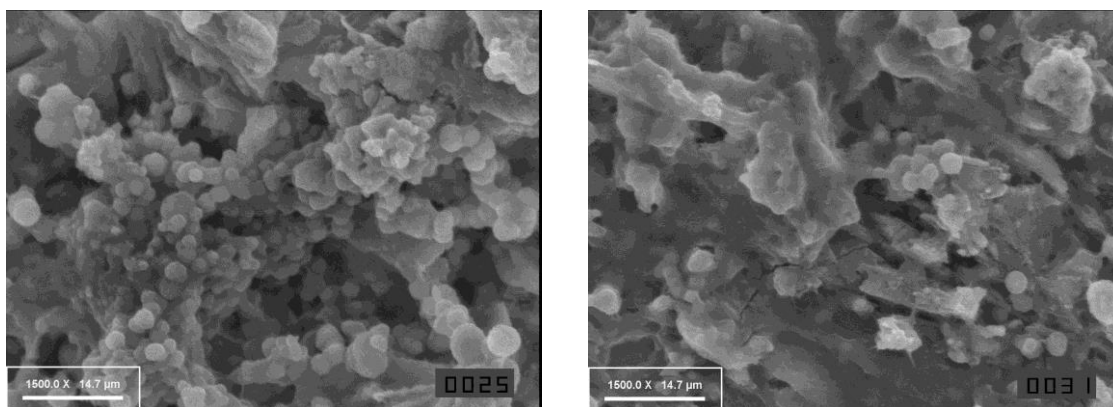
Promena veličine kristalita, računata za ravan (002), kao i parametara i zapremine jedinične ćelije hidroksiapatita, dobijenog nakon potapanja prevlaka brušita taložениh na gustini struje od 10 mA cm^{-2} u simuliranu telesnu tečnost tokom 2, 7 i 14 dana prikazani su u tabeli 5.9.

Tabela 5.9. Veličina kristalita, parametri jedinične ćelije a i c i zapremina jedinične ćelije, V , prevlaka hidroksiapatita, dobijenih nakon potapanja prevlake brušita (uzorak B10) u simuliranu telesnu tečnost tokom 2, 7 i 14 dana

	Vreme potapanja, dani	Veličina kristalita, nm	Parametri jedinične ćelije, Å		Zapremina jedinične ćelije, Å ³
			a	c	
HA prevlaka (uzorak B10-2)	2	14,4	9,5111	6,9585	545,14
HA prevlaka (uzorak B10-7)	7	15,0	9,5105	6,9487	544,30
HA prevlaka (uzorak B10-14)	14	16,2	9,4843	6,9265	539,58

Rezultati prikazani u tabeli 5.9. pokazuju da vreme potapanja prevlaka neznatno utiče na veličinu kristalita hidroksiapatita, dok se uočava smanjenje parametara jedinične ćelije i zapremine jedinične ćelije, što je posledica povećanja gustine kristala.

Na slici 5.44. prikazane su mikrofotografije prevlaka hidroksiapatita, dobijenih konverzijom prevlaka brušita (uzorak B5) u simuliranoj telesnoj tečnosti, tokom 7 i 14 dana, redom. Uočava se da je kompletna površina prevlaka (slike 5.44a i b) prekrivena sfernim aglomeratima hidroksiapatita.

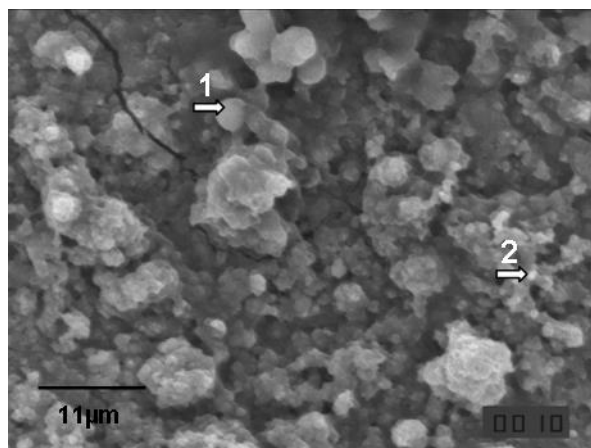


(a)

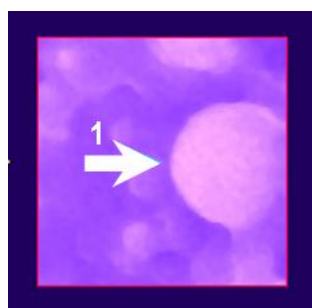
(b)

Slika 5.44. SEM mikrofotografije prevlaka hidroksiapatita dobijenih nakon konverzije prevlaka brušita (taloženih na 5 mA cm^{-2} tokom 15 min) u simuliranoj telesnoj tečnosti tokom (a) 7 dana i (b) 14 dana.

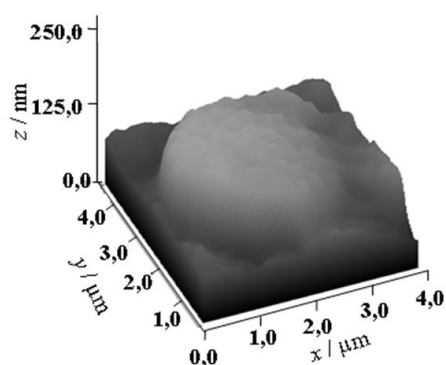
Na slikama 5.45a i 5.46a prikazane su SEM mikrofotografije prevlaka hidroksiapatita, dobijenog konverzijom prevlaka brušita (uzorak B10) u simuliranoj telesnoj tečnosti, tokom 7 i 14 dana, redom [196].



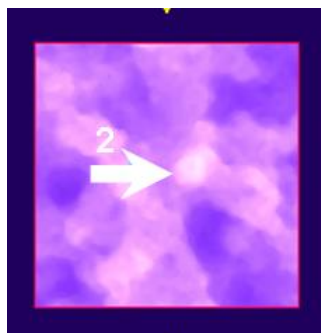
(a)



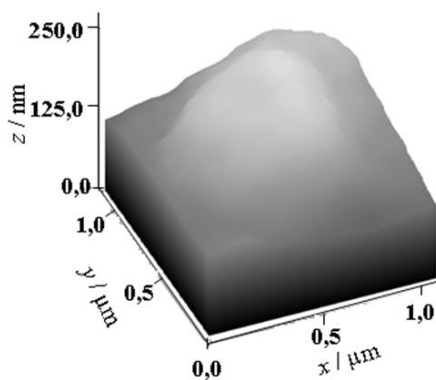
(b)



(c)

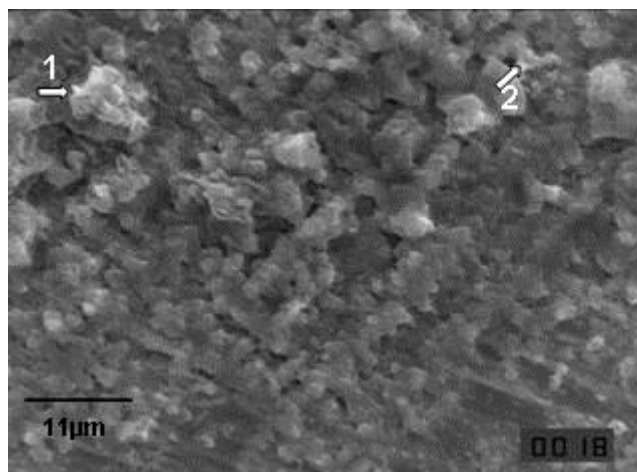


(d)



(e)

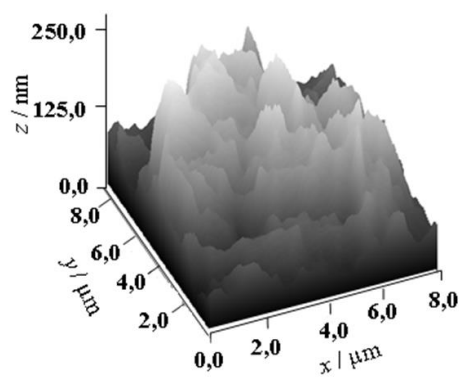
Slika 5.45. SEM mikrofotografije prevlake hidroksiapatita dobijenih nakon potapanja u simuliranu telesnu tečnost tokom 7 dana (a), detalji površine prevlake hidroksiapatita ((b)-strelica 1 i (d)-strelica 2) i odgovarajući profili površine (c i e).



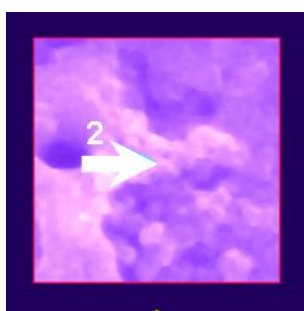
(a)



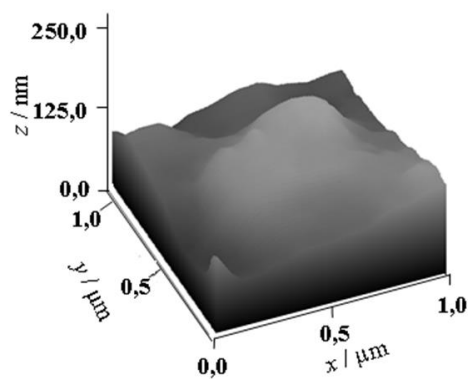
(b)



(c)



(d)

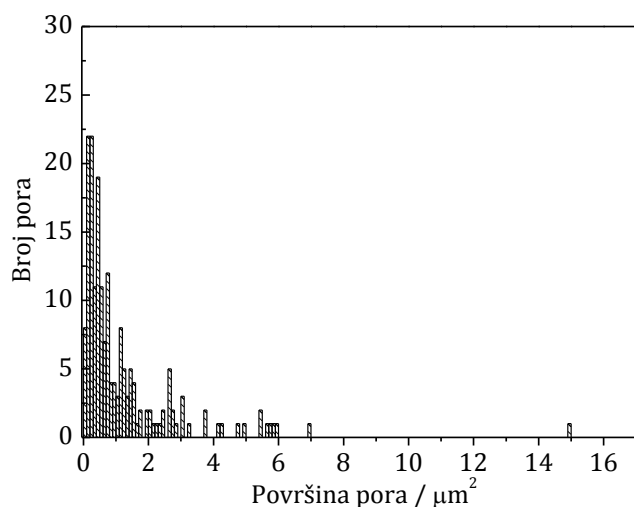


(e)

Slika 5.46. SEM mikrofotografije prevlake hidroksiapatita dobijene nakon potapanja u simuliranu telesnu tečnost tokom 14 dana (a), detalji površine prevlake hidroksiapatita ((b)-strelica 1 i (d)-strelica 2) i odgovarajući profili površine (c i e).

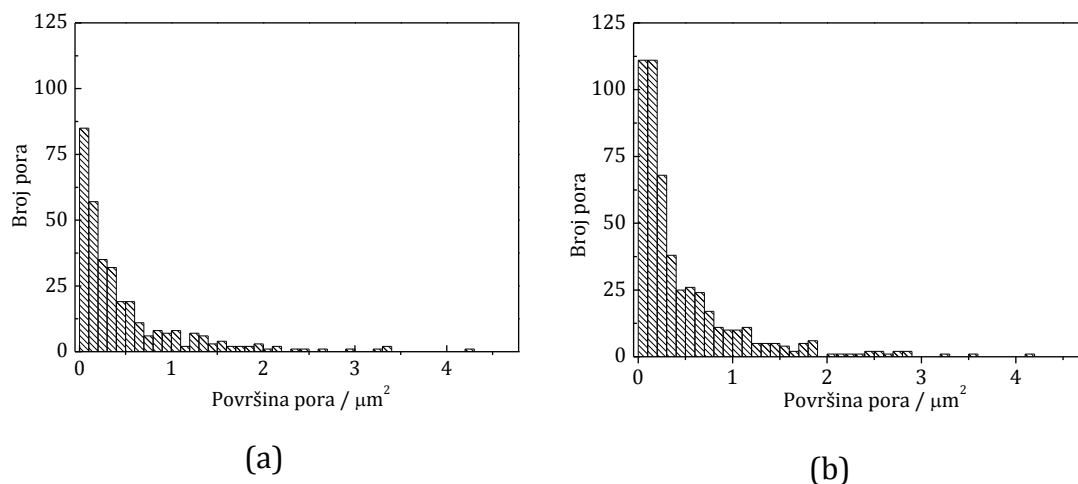
Na SEM mikrofotografiji prevlake hidroksiapatita, dobijene nakon 7 dana potapanja (slika 5.45a), uočava se da je kompletna površina prevlake prekrivena sfernim aglomeratima hidroksiapatita, što je potvrđeno i rendgenskom difrakcijom na polikristalnom uzorku (slika 5.43b). SEM mikrofotografije prevlaka hidroksiapatita su analizirane primenom programa „Image J“ [221]. 3D prikaz sfernih aglomerata hidroksiapatita, označenih strelicama 1 i 2 na slici 5.45a, sa prečnikom aglomerata u intervalu od $\sim 1,0 \mu\text{m}$ do $\sim 4,0 \mu\text{m}$, dat je na slikama 5.45c i e, redom. Sferni aglomerati se sastoje od kristalita malih dimenzija, što ukazuje na veliku brzinu nukleacije hidroksiapatita. Nakon 14 dana potapanja, (slika 5.46a), površina prevlake hidroksiapatita se menja i manje aglomerata se može uočiti. Slike 5.46b i c prikazuju aglomerate veličine približno $9 \mu\text{m}$ (označeno strelicom 1 na slici 5.46a). Istovremeno, nove sferne čestice se pojavljuju na površini već formiranog hidroksiapatita (slike 5.46d i e), sa veličinom aglomerata približno $1 \mu\text{m}$, što je posledica daljeg taloženja hidroksiapatita tokom produžavanja potapanja u simuliranoj telesnoj tečnosti.

Raspodela površine pora za prevlaku brušita (uzorak B10), prikazana na slici 5.47., dobijena je analizom SEM mikrofotografije prevlake brušita (slika 5.41b) primenom programa „Image-J“ [221]. Sa slike 5.47. se može uočiti da većina pora ima površinu manju od $3 \mu\text{m}^2$. Srednja vrednost površine pora kao i procenat površine prevlake prekriven porama (poroznost) iznosi $1,204 \mu\text{m}^2$ i $4,88 \%$, redom (tabela 5.10.) [196].



Slika 5.47. Raspodela površine pora za prevlaku brušita.

Raspodela površine pora za prevlake hidroksiapatita, dobijenih nakon potapanja prevlake brušita (uzorak B10) u simuliranoj telesnoj tečnosti, tokom 7 i 14 dana, određene su primenom programa „Image J“ i prikazane su na slikama 5.48a i b, redom.



Slika 5.48. Raspodela površine pora za prevlake hidroksiapatita nakon potapanja prevlake brušita (uzorak B10) u simuliranu telesnu tečnost tokom (a) 7 dana i (b) 14 dana.

U tabeli 5.10. prikazane su vrednosti broja pora, srednje vrednosti površine pora i poroznosti za prevlaku brušita (uzorak B10) i prevlake hidroksiapatita, nakon potapanja u simuliranoj telesnoj tečnosti tokom 7 i 14 dana.

Tabela 5.10. Broj pora, srednja vrednost površine pora i poroznost za prevlake brušita i hidroksiapatita

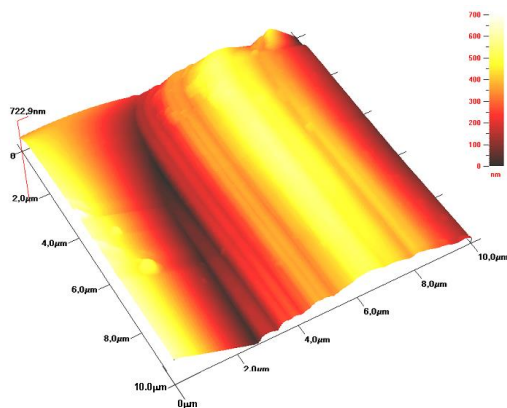
Uzorak	Broj pora	Srednja vrednost površine pora, μm^2	Poroznost, %
Prevlaka brušita (uzorak B10)	186	1,204	4,88
Prevlaka hidroksiapatita (uzorak B10-7)	329	0,492	6,30
Prevlaka hidroksiapatita (uzorak B10-14)	510	0,475	9,41

Prevlake brušita imaju relativno mali broj pora (tabela 5.10.), ali pore imaju veliku površinu. Potapanjem prevlaka brušita u simuliranu telesnu tečnost, tokom konverzije u hidroksiapatit, broj pora se značajno povećava, dok se srednja vrednost površine pora smanjuje. Iz raspodele površine pora prevlaka hidroksiapatita nakon potapanja u simuliranu telesnu tečnost tokom 7 i 14 dana (slike 5.48a i b, redom), uočava se da najveći deo pora ima malu površinu, do $1 \mu\text{m}^2$, dok veoma mali broj pora ima veće površine. Dodatno, produžavanje vremena potapanja od 7 do 14 dana povećava broj pora sa površinom do $1 \mu\text{m}^2$. Kao posledica povećanja broja pora, poroznost prevlaka se povećava sa produžavanjem vremena potapanja, što se može pripisati simultanom rastvaranju i taloženju hidroksiapatita pri fiziološkim uslovima. Srednja vrednost površine pora ne menja značajno sa produžavanjem vremena potapanja. Mikroporoznost biomaterijala je veoma važan parametar jer direktno utiče na adsorpciju proteina stvarajući veću specifičnu površinu prevlaka, kao i na formiranje apatita koji ima strukturu apatita u kostima, kroz reakcije rastvaranja i taloženja [74].

Na osnovu eksperimentalnih rezultata može se pretpostaviti da bi prevlaka hidroksiapatita, dobijena nakon 14 dana potapanja, mogla imati bolju sposobnost adsorpcije proteina zahvaljujući većoj poroznosti, u poređenju sa prevlakom hidroksiapatita dobijenom nakon potapanja od 7 dana u simuliranoj telesnoj tečnosti.

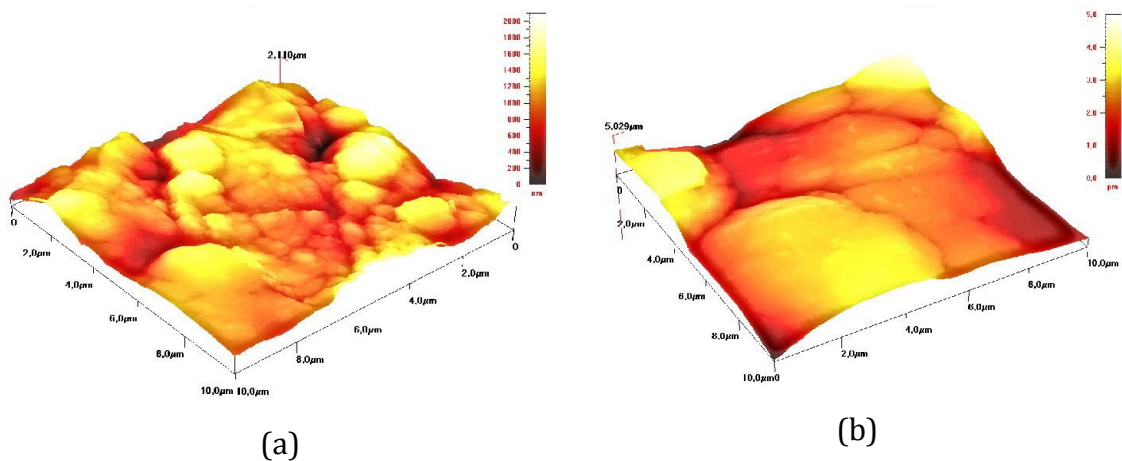
5.2.5.2. Mikroskopija atomskih sila

Primenom metode mikroskopije atomskih sila snimljena je površina prevlaka brušita (uzorak B10), elektrohemijski taložene na titanu na gustini struje od 10 mA cm^{-2} za vreme taloženja od 15 min i predstavljena je na slici 5.49. Uočava se pločasta forma brušita, sa vrednostima parametara za hrapavost, RMS i R_a , od 148,4 nm i 125,7 nm, redom (tabela 5.11.).



Slika 5.49. AFM snimak površine prevlake brušita.

AFM snimci površine prevlaka hidroksiapatita, dobijenih nakon potapanja prevlake brušita (uzorak B10) tokom 7 i 14 dana u simuliranoj telesnoj tečnosti, prikazani su na slikama 5.50a i b, redom.



Slika 5.50. AFM snimak površine prevlaka hidroksiapatita nakon potapanja u simuliranu telesnu tečnost tokom (a) 7 dana i (b) 14 dana.

Hrapavost površine prevlaka brušita i hidroksiapatita predstavljena je kao vrednosti R_a , srednje aritmetičko odstupanje i RMS, odstupanje srednjeg kvadratnog korena, a rezultati su prikazani u tabeli 5.11.

Tabela 5.11. Vrednosti za hrapavost za prevlake brušita (uzorak B10) i hidroksiapatita

uzorak	RMS, nm	R_a (aritmetička sredina), nm
Prevlaka brušita (uzorak B10)	148,4	125,7
Prevlaka hidroksiapatita (uzorak B10-7)	294,8	231,1
Prevlaka hidroksiapatita (uzorak B10-14)	726,4	567,0

Vrednosti za RMS i R_a za prevlaku brušita su manje od odgovarajućih vrednosti za prevlake hidroksiapatita. R_a vrednosti za prevlaku hidroksiapatita rastu sa produžavanjem vremena potapanja od 231,1 nm za 7 dana potapanja na 567,0 nm za 14 dana potapanja [196]. Prema literaturi, povećanje hrapavosti površine prevlake hidroksiapatita povećava adheziju ćelija osteoblasta i proliferaciju [237,238]. Sa druge strane, postoji problem ukoliko je hrapavost prevlake veoma velika jer je to negativno utiče na pokretljivost ćelija. U literaturi [53] je navedeno da se geneza osteoklasta može ostvariti ukoliko hrapavost površine, R_a , ima vrednost u intervalu od 0,04 μm do 0,58 μm . Ovo znači da su rezultati dobijeni u ovom eksperimentu uporedivi sa podacima iz literature, i da dobijene prevlake hidroksiapatita mogu stimulisati funkcionisanje ćelija.

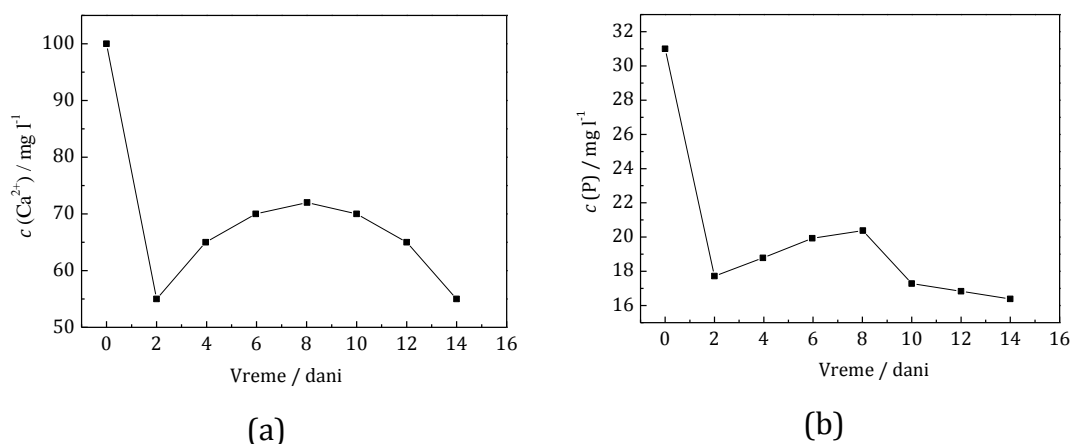
5.2.5.3. Atomska apsorpciona i UV-Vis spektroskopija

U cilju ispitivanja mehanizma konverzije brušita u hidroksiapatit, praćena je promena koncentracije jona Ca i P tokom 14 dana potapanja prevlake brušita (uzorak B10) u simuliranu telesnu tečnost. Koncentracije jona Ca i P određivane su primenom AAS i UV-Vis spektroskopije, redom. Zavisnost koncentracije jona Ca i P u simuliranoj telesnoj tečnosti, tokom potapanja, predstavljene su na slikama 5.51a i b, redom. Za kraća vremena potapanja, tokom prva dva dana, može se uočiti nagli pad koncentracije jona Ca i P. Naime, veoma velika brzina upijanja jona Ca i P iz okoline od strane prevlake brušita, ukazuje na veliku brzinu transformacije brušita

i nukleacije hidroksiapatita. Rezultati rendgenske difrakcije na polikristalnom uzorku za prevlaku dobijenu nakon potapanja od 2 dana (slika 5.43a), potvrđuju da je brušit kompletno transformisan u hidroksiapatit, ukazujući na sposobnost brušita da bude preveden u hidroksiapatit upijanjem jona Ca i P iz okolnog rastvora. Naime, kada se brušit potopi u simuliranu telesnu tečnost (pH=7,4), on se veoma brzo rastvara, jer je brušit stabilan u kiseloj sredini pri pH<4,2 [131]. Povećanje lokalne koncentracije jona Ca i P, koje nastaje usled rastvaranja površine prevlake brušita, dovodi do taloženja kalcijum-fosfata. Imajući u vidu da je pH vrednost rastvora simulirane telesne tečnosti 7,4 i da je ovaj rastvor presićen u odnosu na apatit (molski odnos Ca/P je 2,50), jedina stabilna faza koja može da se taloži je hidroksiapatit. Proces formiranja hidroksiapatita transformacijom brušita odvija se putem heterogene kristalizacije hidroksiapatita, što je posledica promene lokalne koncentracije jona Ca i P. Velika brzina formiranja sloja koji je bogat jonima Ca i P je od izuzetnog značaja, iz razloga što se uspešnost osteointegracije definiše interakcijom materijal-tkivo tokom kraćeg perioda nakon implantacije [210,239,240].

U ovakvom sistemu se, generalno, reakcije rastvaranja i taloženja odigravaju istovremeno, ali se kinetika ova dva procesa razlikuje. Procesom rastvaranja upravlja razmena jona, dok na proces taloženja utiče jonski proizvod rastvorljivosti i rastvorljivost čestica. Rastvaranje i taloženje kalcijum-fosfata u simuliranoj telesnoj tečnosti je reverzibilna reakcija.

Na slikama 5.51a i 5.51b uočava se porast koncentracija jona Ca i P, redom, između 2 i 8 dana potapanja, što ukazuje na činjenicu da se brzina taloženja smanjuje u izvesnoj meri, dok se brzina rastvaranja prevlake blago povećava. Tokom rastvaranja prevlake hidroksiapatita dolazi do formiranja velikog broja mesta za nukleaciju na površini prevlake. Nakon 8 dana potapanja, koncentracija jona Ca i P opada usled upijanja jona iz okolnog rastvora (slike 5.51a i 5.51b, redom), ukazujući da taloženje prevlake hidroksiapatita dominira nad rastvaranjem, što je potvrđeno i povećanjem mase prevlake hidroksiapatita sa produžavanjem vremena potapanja (6,6 mg; 13,8 mg; 19,0 mg nakon 2, 7 i 14 dana, redom).



Slika 5.51. Zavisnost koncentracije jona Ca (a) i P (b) u simuliranoj telesnoj tečnosti od vremena potapanja.

Rezultati prikazani na slici 5.51., gde smanjenje koncentracija Ca i P jona, nakon 8 dana potapanja, može biti objašnjeno daljim taloženjem hidroksiapatita, su u saglasnosti sa rezultatima dobijenim analizom SEM mikrofotografija (slike 5.45d i e). Na SEM mikrofotografijama se uočava formiranje novih aglomerata hidroksiapatita na površini prethodno već formirane prevlake hidroksiapatita. Naime, kada se prevlaka brušita potopi u rastvor simulirane telesne tečnosti, dolazi do formiranja sloja hidroksiapatita na površini prevlake i to mehanizmom rastvaranja, taloženja i rasta kristala. Formiranje hidroksiapatita pri potapanju u simuliranu telesnu tečnost je veoma važno zbog formiranja hemijske veze između tkiva i bioaktivnog materijala tokom integracije implantata u tkivo.

6. Zaključci

- Elektrohemijском sintezom iz rastvora $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 i CaCl_2 sa odnosom koncentracija $\text{Ca}/\text{EDTA}/\text{PO}_4^{3-}$ od 0,25/0,25/0,15 M, pri pH vrednosti od 5,0 i gustini struje od 137 mA cm^{-2} uspešno je dobijen nanodimenzioni prah monetita sa veličinom kristalita od 27,1 nm. Nakon sušenja praha, prisutni su aglomerati većih dimenzija, čime je potvrđeno formiranje praha prema mehanizmu: nukleacija i rast kristala nanometarskih dimenzija, agregacija u veće kristalite i rast kristala do stabilnih aglomerata.
- Elektrohemijском sintezom iz rastvora $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 i CaCl_2 sa odnosom koncentracija $\text{Ca}/\text{EDTA}/\text{PO}_4^{3-}$ od 0,25/0,25/0,15 M, pri pH vrednostima od 9,0 i 12,0 i pri gustinama struje od 137 mA cm^{-2} i 207 mA cm^{-2} uspešno su dobijeni prahovi hidroksiapatita. Veličina kristalita prahova hidroksiapatita je bila u intervalu od 21,6 do 24,3 nm, čime je pokazano da pH vrednost i gustina struje ne utiču značajno na veličinu kristalita. Najmanja vrednost veličine kristalita hidroksiapatita od 21,6 nm dobijena je sintezom na manjoj gustini struje (137 mA cm^{-2}) i nižoj pH vrednosti (9,0).
- Na morfologiju elektrohemijски sintetisanih prahova hidroksiapatita ne utiče gustine struje, ali utiče pH vrednost rastvora. Pri manjoj vrednosti pH od 9,0 dobijaju se prahovi sa sfernim aglomeratima, dok se pri većoj vrednosti pH od 12,0 dobijaju prahovi sa pločastim aglomeratima. Uslovi elektrohemijske sinteze ne utiču značajno na termičko ponašanje prahova hidroksiapatita.
- Prevlake monetita dobijene su elektroforetskim taloženjem iz etanolske suspenzije elektrohemijски sintetisanog praha monetita, na različitim naponima u intervalu od 10 do 50 V i za vremena taloženja od 1 do 30 min. Pokazano je da masa, srednji prečnik pora, srednja površina pora i poroznost prevlaka monetita zavise od primenjenog napona i vremena taloženja. Prevlaka monetita najveće mase i najmanje poroznosti (7,32 %), dobijena pri optimizovanim parametrima taloženja (30 V, 20 min), konvertovana je potapanjem u 10 % NaOH u prevlaku nanodimenzionog hidroksiapatita, sa odnosom $\text{Ca}/\text{P}=1,67$.

- Prevlake hidroksiapatita su elektroforetski taložene iz etanolske suspenzije praha hidroksiapatita, dobijenog hidrotermalnom sintezom, na naponu od 30 V za vreme taloženja od 30 s. Površine elektroforetski taloženih prevlaka hidroksiapatita su modifikovane su jonskim snopovima (implantacija jona azota i argona). Implantacija jona ne dovodi do fazne transformacije u prevlaci. Povećanje doze implantiranih jona azota dovodi do povećanja parametara jedinične ćelije i zapremine jedinične ćelije, do smanjenja veličine kristalita kao i stepena kristaliniteta prevlake hidroksiapatita u odnosu na neimplantiranu prevlaku.
- Implantacija jonima argona dovodi do smanjenja veličine kristalita hidroksiapatita. Za najmanju dozu implantiranih jona argona dolazi do smanjenja stepena kristaliniteta prevlake, dok se za veće doze javlja blagi porast, što ukazuje na rekristalizaciju prevlake hidroksiapatita. Parametri jedinične ćelije i zapremina jedinične ćelije hidroksiapatita rastu nakon implantacije jonima argona sa najmanjom dozom, dok pri većim dozama jona argona, parametri jedinične ćelije i zapremina jedinične ćelije hidroksiapatita opadaju sa porastom doze.
- Kod implantacije jonima azota dominantan efekat je gubitak energije u sudarima sa elektronskim omotačem, dok je kod implantacije jonima argona dominantan gubitak energije u sudarima sa jezgrima.
- Različite doze jona azota ne utiču na morfologiju površine nakon implantacije. Implantacija jonima argona sa nižim dozama ne utiče značajno na morfologiju površine, samo dovodi do malog povećanja hrapavosti površine, dok implantacija sa najvećom dozom (1×10^{17} jon cm^{-2}) značajno utiče na morfologiju prevlake u vidu pojave koničnih formi koje su posledica efekta raspršivanja tokom interakcije jona argona sa prevlakom hidroksiapatita. Modifikacija površine prevlake hidroksiapatita je posledica promena u strukturi koje izazivaju joni argona oštećenjima i površinskom erozijom.
- Elektrohemijsko taloženje prevlaka brušita na titanu uspešno je izvedeno pri galvanostatskim uslovima iz vodenog rastvora 0,042 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i 0,025 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ pri pH vrednosti od 4,0, za gustine struje u intervalu od 5,0 do 10 mA cm^{-2} i za različita vremena taloženja od 1 do 30 min, na sobnoj

temperaturi. Na osnovu polarizacione krive, pretpostavljen je mehanizam formiranja brušita: redukcija amonijum jona dovodi do lokalnog povećanja pH vrednosti u prielektrodnom sloju do vrednosti samopuferovanja amonijačnog pufera, što utiče na pomeranje kiselo-bazne ravnoteže fosfatnih jona u pravcu stabilnog HPO_4^{2-} jona, koji reaguje sa prisutnim Ca^{2+} jonom i dolazi do taloženja brušita na elektrodi.

- Masa i morfologija prevlaka kao i veličina kristalita i poroznost su funkcija primenjene gustine struje i vremena taloženja. Prevlake najveće mase dobijene su za najduže vreme taloženja, dok povećanje gustine struje iznad 7 mA cm^{-2} ne utiče značajno na masu prevlaka brušita. Prevlaka sa najmanjom veličinom kristalita od $15,6 \text{ nm}$ i najvećom poroznosti dobijena je na gustini struje od $9,0 \text{ mA cm}^{-2}$ za vreme taloženja od 30 min , jer je rast kristala suzbijen izdvajanjem velike količine vodonika. Prevlake brušita manje poroznosti i sa kristalitima većih dimenzija dobijene su na gustinama struje u intervalu $5\text{--}7 \text{ mA cm}^{-2}$, jer brzina rasta kristala dominira nad brzinom izdvajanja vodonika.
- Potapanjem u simuliranu telesnu tečnost, prevlake brušita su kompletno konvertovane u hidroksiapatit. Veličina kristalita konvertovanih prevlaka hidroksiapatita je kontrolisana gustinom struje na kojoj se formira prevlaka brušita, pa se prevlaka hidroksiapatita sa značajno manjom veličinom kristalita (15 nm) dobija na prevlaci brušita veće poroznosti, taloženoj na najvećoj gustini struje (10 mA cm^{-2}) usled postojanja većeg broja mesta kristalizacije tokom formiranja hidroksiapatita. Prevlaka hidroksiapatita sa većom veličinom kristalita ($45,2 \text{ nm}$), dobijena je na prevlaci brušita manje poroznosti, taložene na gustini struje od 5 mA cm^{-2} , zbog manjeg broja mesta kristalizacije i veće mogućnosti za rast kristala.
- Vreme konverzije ne utiče značajno na veličinu kristalita prevlaka hidroksiapatita i na srednji prečnik pora, ali utiče na povećanje mase, poroznosti i hrapavosti, kao i na smanjenje parametara jedinične ćelije i zapremine jedinične ćelije hidroksiapatita, usled povećanja gustine kristala.
- Masa, broj pora, poroznost i hrapavosti prevlake hidroksiapatita raste sa produžavanjem vremena konverzije, što je u saglasnosti sa predloženim mehanizmom rasta hidroksiapatita u simuliranoj telesnoj tečnosti, baziranom

na teoriji rastvaranje-taloženje. Promena veličine kristalita hidroksiapatita tokom potapanja u simuliranoj telesnoj tečnosti nije značajna, pa se može zaključiti da nukleacija hidroksiapatita dominira nad rastom kristala, što ima za posledicu porast hrapavosti prevlaka, ukazujući da se taloženje hidroksiapatita odigrava putem heterogene nukleacije. Porast mase prevlake sa produžavanjem vremena konverzije, potvrđuje da taloženje dominira u odnosu na rastvaranje. Promena vrednosti srednje površine pora je bez značaja.

- Povećanje poroznosti i hrapavosti prevlake hidroksiapatita povećava specifičnu površinu prevlake, što ovu prevlaku čini pogodnom za primenu u biomedicinske svrhe. Vrednosti za hrapavost od 0,57 μm ukazuju na to da dobijene prevlake mogu stimulisati funkcionisanje ćelija.

7. Literatura

- [1] S. V. Dorozhkin, *Materials* **2** (2009) 1975-2045.
- [2] M. Vallet-Regí, J. M. González-Calbet, *Progress in Solid State Chemistry* **32** (2004) 1-31.
- [3] <http://academic.pgcc.edu/~mhubble/a&p/205/notes/notes7.pdf>
- [4] M. A. Meyers, P. Y. Chen, A. Y. M. Lin, Y. Seki, *Progress in Materials Science* **53** (2008) 1-206.
- [5] N. Reznikov, R. Shahar, S. Weiner, *Bone* **59** (2014) 93-104.
- [6] T. J. Webster, E. S. Ahn, *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology* **103** (2006) 275-308.
- [7] S. Weiner, P. M. Dove, *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, **54** (2003) 1 - 30.
- [8] K. Obradović-Đuričić, D. Beloica, V. Leković, V. Ivanović, G. Pavlović, G. Popović, *Stomatološki materijali, Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd, 2003. str. 112.*
- [9] A. Janković, S. Eraković, A. Dindune, Dj. Veljović, T. Stevanović, Dj. Janačković, V. Mišković-Stanković, *Journal of Serbian Chemical Society* **77** (2012) 1-21.
- [10] M. Geetha, A. K. Singh, R. Asokamani, A. K. Gogia, *Progress in Materials Science* **54** (2009) 397-425.
- [11] C. B. Carter, M. G. Norton, *Ceramic Materials*, (2007), Springer New York, p. 635-651.
- [12] L. L. Hench, *Journal of American Ceramic Society* **81** (1998) 1705-1728.
- [13] A. Krajewski, A. Ravaglioli, *Bioceramics and Biological Glasses (2002) in Integrated Biomaterials Science*, edited by R. Barbucci, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2002, p. 208.
- [14] D. Williams, *Biomaterials* **29** (2008) 1737-1738.
- [15] P. Moriarty, *Reports on Progress in Physics* **64** (2001) 297-381.
- [16] S. C. Tjong, H. Chen, *Materials Science and Engineering R* **45** (2004) 1-88.
- [17] D. W. Grainger, D. G. Castner, *Advanced Materials* **20** (2008) 867-887.

-
- [18] V. V. Skorokhod, S. M. Solonin, V. A. Dubok, L. L. Kolomiets, V. P. Katashinskii, A. V. Shinkaruk, *Powder Metallurgy and Metal Ceramics* **47** (2008) 518-524.
- [19] S. Ramesh, C.Y. Tan, S.B. Bhaduri, W.D. Teng, I. Sopyan, *Journal of Materials Processing Technology* **206** (2008) 221–230.
- [20] M. Sato, A. Aslani, M. A. Sambito, N. M. Kalkhoran, E. B. Slamovich, T. J. Webster, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **84** (2008) 265–272.
- [21] M. H. Fathi, V. Mortazavi, S. I. R. Esfahani, *Dental Research Journal* **5** (2008) 81-87.
- [22] R. Murugan, S. Ramakrishna, *Journal of Crystal Growth* **274** (2005) 209–213.
- [23] K. Breeding, R. Jimbo, M. Hayashi, Y. Xue, K. Mustafa, M. Andersson, *International Journal of Dentistry*, Vol 2014, Article ID 171305, 9 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/171305>
- [24] H. Hahn, *Advanced Engineering Materials* **5** (2003) 227-284.
- [25] D. Aronov, A. Karlov, G. Rosenman, *Journal of the European Ceramic Society* **27** (2007) 4181–4186.
- [26] J. Wang, L. L. Shaw, *Biomaterials* **30** (2009) 6565–6572.
- [27] S. V. Dorozhkin, *Biomatter* **1,2** (2011) 121-164.
- [28] K. H. Müller, M. Motskin, A. J. Philpott, A. F. Routh, C. M. Shanahan, M. J. Duer, J. N. Skepper, *Biomaterials* **35** (2014) 1074-1088.
- [29] R. H. Doremus, *Journal of Materials Science* **27** (1992) 285-297.
- [30] X. H. Xie, X. W. Yu, S. X. Zeng, R. L. Du, Y. H. Hu, Z. Yuan, E. Y. Lu, K. R. Dai, T. T. Tang, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **21** (2010) 2165–2173.
- [31] S. Eraković, A. Janković, Dj. Veljović, E. Palcevskis, M. Mitrić, T. Stevanović, Dj. Janačković, V. Mišković-Stanković, *The Journal of Physical Chemistry B* **117** (2013) 1633–1643.
- [32] J. Karch, R. Birringer, H. Gleiter, *Nature* **330** (1987) 556-558.
- [33] H. Schliephake, A. Aref, D. Scharnweber, S. Rößler, A. Sewing, *Clinical Oral Implants Research* **20** (2009) 38–44.
- [34] F. Fontana, I. Rocchietta, A. Addis, P. Schupbach, G. Zanotti, M. Simion, *Clinical Oral Implants Research* **22** (2011) 760–766.

-
- [35] B. Ben-Nissan (2005). Biomimetics and Bioceramics in Learning from nature How to Design New Implantable Biomaterials, R. L. Reis and S. Weiner (Eds.), Kluwer Academic Publisher, p. 89-103.
- [36] H. Yuan, K. de Groot (2005). Calcium Phosphate Biomaterials: An Overview, in Learning from nature How to Design New Implantable Biomaterials, R. L. Reis and S. Weiner (Eds.), Kluwer Academic Publisher, p. 37-57.
- [37] L. L. Hench, *Biomaterials* **19** (1998) 1419-1423.
- [38] <http://www.stomatoloji.org/Clanak.aspx?c=oseointegracija>
- [39] C. T. Begley, M. J. Doherty, R. A. B. Mollan, D. J. Wilson, Comparative-Study of the Osteoinductive Properties of Bioceramic, Coral and Processed Bone-Graft Substitutes, *Biomaterials* **16** (1995) 1181-1185.
- [40] B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons, Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine, *Academic Press*, 1996. str. 46.
- [41] L. L. Hench, *Journal of the American Ceramic Society* **74** (1991) 1487-1510.
- [42] B. S. Kim, H. J. Kang, S. S. Yang, J. Lee, *Biomedical Materials* **9** (2014) 025004 (9pp), <http://dx.doi.org/10.1088/1748-6041/9/2/025004>.
- [43] N. Ignjatović, Z. Ajduković, V. Savić, S. Najman, D. Mihailović, P. Vasiljević, Z. Stojanović, V. Uskoković, D. Uskoković, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **24** (2013) 343–354.
- [44] A. Kumar, K. Biswas, B. Basu, *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **103A** (2015) 791-806.
- [45] Y. Liu, Qi. Xiang, Y. Tan, X. Sheng, *Journal of Non-Crystalline Solids* **354** (2008) 938–944.
- [46] H. Teramoto, A. Kawai, S. Sugihara, A. Yoshida, H. Inoue, *Acta Medica Okayama* **59** (2005) 201-207.
- [47] J. R. Jones, *Acta Biomaterialia* **9** (2013) 4457–4486.
- [48] N. Nezafati, F. Moztaarzadeh, S.Hesaraki, Z.Moztaarzadeh, M. Mozafari, *Ceramics International* **39** (2013) 289–297.
- [49] K. Byrappa, M. Yoshimura, HANDBOOK OF HYDROTHERMAL TECHNOLOGY A Technology for Crystal Growth and Materials Processing, (2001), Noyes Publications/William Andrew Publishing, LLC, New York, p. 289.

-
- [50] S. del Valle, N. Miño, F. Muñoz, A. González, J. A. Planell, M. P. Ginebra, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **18** (2007) 353–361.
- [51] W. Suchanek, M. Yoshimura, *Journal of Materials Research* **13** (1998) 94–117.
- [52] Z. Noor, *Journal of Osteoporosis*, vol 2013, Article ID 679025, 6 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/679025>
- [53] J. Costa-Rodrigues, A. Fernandes, M. A. Lopes, M. H. Fernandes, *Acta Biomaterialia* **8** (2012) 1137–1145.
- [54] K. Anselme, *Biomaterials* **21** (2000) 667–681.
- [55] A. J. Wagoner Johnson, B. A. Herschler, *Acta Biomaterialia* **7** (2011) 16–30.
- [56] K. A. Hing, S. M. Best, W. Bonfield, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **10** (1999) 135–145.
- [57] Z. Okulus, T. Buchwald, M. Szybowicz, A. Voelkel, *Materials Chemistry and Physics* **145** (2014) 304–312.
- [58] C. Ruther, C. Gabler, H. Ewald, M. Ellenrieder, M. Haenle, T. Lindner, W. Mittelmeier, R. Bader, D. Kluess, *Journal of Orthopaedic Research* **32** (2014) 606–612.
- [59] R. A. Surmenev, M. A. Surmeneva, A. A. Ivanova, *Acta Biomaterialia* **10** (2014) 557–579.
- [60] H. Yu, X. Wang, S. Zhang, L. Zhang, P. Xin, S. G. Shen, *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery* **42** (2013) 1409–1413.
- [61] A. A. Aldosari, S. Anil, M. Alasqah, K. A. Al Wazzan, S. A. Al Jetaily, J. A. Jansen, *Clinical Oral Implants Research* **25** (2014) 500–505.
- [62] X. Liu, K. Zhao, T. Gong, J. Song, C. Bao, E. Luo, J. Weng, S. Zhou, *Biomacromolecules* **15** (2014) 1019–1030.
- [63] R. B. Heimann, *Surface & Coatings Technology* **233** (2013) 27–38.
- [64] J. A. Lyndon, B. J. Boyd, N. Birbilis, *Journal of Controlled Release* **179** (2014) 63–75.
- [65] F. Chen, Y. Zhu, J. Wu, P. Huang, D. Cui, *Nano Biomedical Engineering* **4** (2012) 41–49.
- [66] S. V. Dorozhkin, *Materials Science and Engineering C* **33** (2013) 3085–3110.

-
- [67] S. V. Dorozhkin, *Journal of Materials Science* **42** (2007) 1061–1095.
- [68] E. Fernández, F. J. Gil, M. P. Ginebra, F. C. M. Driessens, J. A. Planell, S. M. Best, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **10** (1999) 169-176.
- [69] S. R. Paital, N. B. Dahotre, *Materials Science and Engineering R* **66** (2009) 1–70.
- [70] V. Olivier, N. Faucheux, P. Hardouin, *Drug Discovery Today* **9** (2004) 803-811.
- [71] S. T. AbdulQader, I. Ab Rahman, H. Ismail, T. P. Kannan, Z. Mahmood, *Ceramics International* **39** (2013) 2375–2381.
- [72] Dj. Veljović, R. Jančić-Hajneman, I. Balać, B. Jokić, S. Putić, R. Petrović, Dj. Janačković, *Ceramics International* **37** (2011) 471–479.
- [73] B. D. Hahn, D. S. Park, J. J. Choi, J. Ryu, W. H. Yoon, J. H. Choi, J. W. Kim, Y. L. Cho, C. Park, H. E. Kim, S. G. Kim, *Applied Surface Science* **257** (2011) 7792–7799.
- [74] K. A. Hing, *International Journal of Applied Ceramic Technology* **2** (2005) 184–199.
- [75] T. J. Blokhuis, M. F. Termaat, F. C. den Boer, P. Patka, F. C. Bakker, H. J. Th. M. Haarman, *The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care* **48** (2000) 179-186.
- [76] S. V. Dorozhkin, M. Epple, *Angewandte Chemie International Edition in English* **41** (2002) 3130–3146.
- [77] S. V. Dorozhkin, *Journal of Materials Science* **44** (2009) 2343–2387.
- [78] S. P. Victor, C. P. Sharma, *Biomaterials Science, Engineering and Technology : Integrated Biomaterials for Biomedical Technology*, M. Ramalingam, A. Tiwari, S. Ramakrishna H. Kobayashi, eds. NJ, USA: John Wiley & Sons, 2012. p. 124. <http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/9781118482513>
- [79] L. C. Chow, *Dental Materials Journal* **28** (2009) 1-10.
- [80] A. C. Tas, S. B. Bhaduri, *Journal of the American Ceramic Society* **87** (2004) 2195–2200.
- [81] A. K. Lynn, W. Bonfield, *Accounts of Chemical Research* **38** (2005) 202-207
- [82] I. D. Dimić, I. Lj. Cvijović-Alagić, M. B. Rakin, A. A. Perić-Grujić, M. P. Rakin, B. M. Bugarski, S. S. Putić, *Acta Periodica Technologica* **44** (2013) 207-215.

-
- [83] H. Egusa, N. Ko, T. Shimazu, H. Yatani, *The Journal of Prosthetic Dentistry* **100** (2008) 344-347.
- [84] R. Narayanan, S. K. Seshadri, T. Y. Kwon, K. H. Kim, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* **85B** (2008) 279–299.
- [85] S. Sobieszczyk, *Advances in Materials Science* **10** (2010) 29-42.
- [86] M. S. Djošić, N. Bibić, M. N. Mitrić, M. Šiljegović, J. N. Stojanović, B. Jokić, Dj. T. Janačković, V. B. Mišković-Stanković, *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials* **11** (2009) 1848-1854.
- [87] M. J. Kraay, V. M. Goldberg (2002), Hydroxyapatite; in *Surgical Techniques in Total Knee Arthroplasty*, G. R. Scuderi, A. J. Tria Jr., (eds), Springer New York, p. 277-286.
- [88] <http://www.handbookofmineralogy.com/pdfs/monetite.pdf>
- [89] L. Tortet, J. R. Gavarri, G. Nihoul, A. J. Dianoux, *Journal of Solid State Chemistry* **132** (1997) 6–16.
- [90] H. H. K. Xu, C. G. Simon, *Journal of Biomedical Materials Research A* **69** (2004) 267–278.
- [91] T. R. Desai, S. B. Bhaduri, A. C. Tas, in *Advances in Bioceramics and Biocomposites II, Ceramic Engineering and Science Proceedings, Volume 27, Issue 6* (eds M. Mizuno, A. Wereszczak and E. Lara-Curzio), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. doi: 10.1002/9780470291351.ch6.
- [92] F. Tamimi, Z. Sheikh, J. Barralet, *Acta Biomaterialia* **8** (2012) 474–487.
- [93] G. Cama, B. Gharibi, M. Saif Sait, J. C. Knowles, A. Lagazzo, S. Romeed, L. Di Silvio, S. Deb, *Journal of Materials Chemistry B* **1** (2013) 958-969.
- [94] H. Zhou, T. J. F. Luchini, A. K. Agarwal, V. K. Goel, S. B. Bhaduri, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Appl Biomater* (2014), article in press.
- [95] <http://www.mbm.net.au/health/500-585.htm>
- [96] S. V. Dorozhkin, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **24** (2013) 1335–1363.
- [97] A. C. Tas, *Journal of American Ceramic Society* **92** (2009) 2907–2912.
- [98] E. Salimi, J. Javadpour, *Journal of Nanomaterials*, vol 2012, Article ID 931492, 5 pages, doi:10.1155/2012/931492

-
- [99] B. Jokić, M. Mitrić, V. Radmilović, S. Drmanić, R. Petrović, Dj. Janačković, *Ceramics International* **37** (2011) 167–173.
- [100] S. Jinawath, D. Pongkao, W. Suchanek, M. Yoshimura, *International Journal of Inorganic Materials* **3** (2001) 997–1001
- [101] M. G. Ma, Y. J. Zhu, J. Chang, *Journal of Physical Chemistry B* **110** (2006) 14226-14230.
- [102] X. D. Kong, X. D. Sun, J. B. Lu, F. Z. Cui, *Current Applied Physics* **5** (2005) 519–521.
- [103] S. Baradaran, W. J. Basirun, M. R. Mahmoudian, M. Hamdi, Y. Alias, *Metallurgical and Materials Transactions A* **44** (2013) 2331-2338.
- [104] M. S. Djošić, V. B. Mišković-Stanković, Z. M. Kačarević-Popović, B. M. Jokić, N. Bibić, M. Mitrić, S. K. Milonjić, R. Jančić-Heinemann, J. Stojanović, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Engineering Aspects* **341** (2009) 110–117.
- [105] A. V. Zavgorodniy, R. S. Mason, R. Z. LeGeros, R. Rohanizadeh, *Surface & Coatings Technology* **206** (2012) 4433–4438.
- [106] A. V. Zavgorodniy, O. Borrero-López, M. Hoffman, R. Z. LeGeros, R. Rohanizadeh, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **22** (2011) 1–9.
- [107] M. H. Prado Da Silva, J. H. C. Lima, G. A. Soares, C. N. Elias, M. C. de Andrade, S. M. Best, I. R. Gibson, *Surface and Coatings Technology* **137** (2001) 270-276.
- [108] S. C. G. Leeuwenburgh, J. G. C. Wolke, J. Schoonman, J. A. Jansen, *Biomaterials* **25** (2004) 641–649.
- [109] D. L. Alge, W. S. Goebel, T. M. G. Chu, *Journal of Biomedical Materials Research B* **100B** (2012) 595–602.
- [110] M. P. Ginebra, C. Canal, M. Espanol, D. Pastorino, E. B. Montufar, *Advanced Drug Delivery Reviews* **64** (2012) 1090–1110.
- [111] <http://www.mbm.net.au/health/296-385.htm>
- [112] <http://www.handbookofmineralogy.com/pdfs/brushite.pdf>
- [113] M. Bohner, *International Journal of the Care of the Injured* **31** (2000) S-D37-47.

-
- [114] J. L. Giocondi, B. S. El-Dasher, G. H. Nancollas, C. A. Orme, *Philosophical Transactions of the Royal Society A* **368** (2010) 1937–1961.
- [115] M. A. Kuz'mina, S. V. Zhuravlev, O. V. Frank-Kamenetskaya, *Geology of Ore Deposits* **55** (2013) 692–697.
- [116] J. P. Maity, T. J. Lin, H. P. H. Cheng, C. Y. Chen, A. S. Reddy, S. B. Atla, Y. F. Chang, H. R. Chen, C. C. Chen, *International Journal of Molecular Sciences* **12** (2011) 3821–3830.
- [117] S. Singh, V. Singh, S. Aggarwal, U. K. Mandal, *Chemical Papers* **64** (2010) 491–498.
- [118] V. B. Suryawanshi, R. T. Chaudhari, *Indian Journal of Materials Science* (**2014**) Article ID 189839, 6 pages,
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/189839>.
- [119] M. P. Gashti, M. Stir, M. Bourquin, J. Hulliger, *Crystal Growth and Design* **13** (2013) 2166–2173.
- [120] A. Yanovska, V. Kuznetsov, A. Stanislavov, S. Danilchenko, L. Sukhodub, *Materials Science and Engineering C* **32** (2012) 1883–1887.
- [121] S. M. Arifuzzaman, S. Rohani, *Journal of Crystal Growth* **267** (2004) 624–634.
- [122] C. Oliveira, A. Ferreira, F. Rocha, *Trans IChemE, Part A, Chemical Engineering Research and Design* **85**(A12) (2007) 1655–1661.
- [123] H. N. Lim, A. Kassim, N. M. Huang, M. A. Yarmo, P. S. Khiew, W. S. Chiu, *Colloid Journal* **71** (2009) 793–802.
- [124] A. C. Tas, *International Journal of Materials Research* **97** (2006) 639–644.
- [125] S. Okawa, K. Homma, M. Kanatani, K. Watanabe, *Dental Materials Journal* **28** (2009) 513–518.
- [126] S. Shadanbaz, J. Walker, M. P. Staiger, G. J. Dias, A. Pietak, *Journal of Biomedical Materials Research, Part B: Applied Biomaterials* **101B** (2013) 162–172.
- [127] E. A. Abdel-Aal, D. Dietrich, S. Steinhäuser, B. Wielage, *Surface & Coatings Technology* **202** (2008) 5895–5900.

-
- [128] J. Katić, M. Metikoš-Huković, S. D. Škapin, M. Petravić, M. Varašanec, *Electrochimica Acta* **127** (2014) 173–179.
- [129] J. Hu, C. Wang, W. C. Ren, S. Zhang, F. Liu, *Materials Chemistry and Physics* **119** (2010) 294–298.
- [130] M. V. Popa, J. M. C. Moreno, M. Popa, E. Vasilescu, P. Drob, C. Vasilescu, S. I. Drob, *Surface & Coatings Technology* **205** (2011) 4776–4783.
- [131] M. C. Kuo, S. K. Yen, *Journal of Materials Science* **39** (2004) 2357–2363.
- [132] K. Matsunaga, A. Kuwabara, *Physical Review B* **75** (2007) 014102, DOI: 10.1103/PhysRevB.75.014102
- [133] J. B. Park, R. C. Lakes, *Biomaterials: An Introduction*, Springer New York, 2007.
- [134] K. Ohta, H. Monma, J. Tanaka, H. Eda, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **13** (2002) 633–637.
- [135] T. Cao, W. Tang, J. Zhao, L. Qin, C. Lan, *Journal of Bionic Engineering* **11** (2014) 125–133.
- [136] L. M. Rodríguez-Lorenzo, M. Vallet-Regí, *Chemistry of Materials* **12** (2000) 2460–2465.
- [137] J. Ferreira, K. El Mabrouk, *International Journal of Applied Ceramic Technology* **1–12** (2013); DOI:10.1111/ijac.12210
- [138] C. Y. Tan, R. Singh, Y. C. Teh, Y. M. Tan, B. K. Yap, *International Journal of Applied Ceramic Technology* **1–5** (2014); DOI:10.1111/ijac.12249
- [139] P. N. Chavan, M. M. Bahir, R. U. Mene, M. P. Mahabole, R. S. Khairnar, *Materials Science and Engineering B* **168** (2010) 224–230.
- [140] E. Bouyer, F. Gitzhofer, M. I. Boulos, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **11** (2000) 523–531.
- [141] X. Zhu, O. Eibl, C. Berthold, L. Scheideler, J. Geis-Gerstorf¹, *Nanotechnology* **17** (2006) 2711–2721.
- [142] C. J. Tredwin, A. M. Young, E. A. A. Neel, G. Georgiou, J. C. Knowles, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **25** (2014) 47–53.
- [143] C. C. Silva, M. P. F. Graça, M. A. Valente, A. S. B. Sombra, *Journal of Materials Science* **42** (2007) 3851–3855.

-
- [144] W. Amer, K. Abdelouahdi, H. R. Ramananarivo, M. Zahouily, A. Fihri, K. Djessas, K. Zahouily, R. S. Varmaf, A. Solhy, *Crystal Engineering and Communication* **16** (2014) 543-549.
- [145] F. Chen, Y. J. Zhu, X. Y. Zhao, B. Q. Lub, J. Wub, *Crystal Engineering and Communication* **15** (2013) 4527-4531.
- [146] M. L. Montero, A. Sáenz, J. G. Rodríguez, J. Arenas, V. M. Castaño, *Journal of Materials Science* **41** (2006) 2141–2144.
- [147] M. S. Djošić, V. B. Mišković-Stanković, S. Milonjić, Z. M. Kačarević-Popović, N. Bibić, J. Stojanović, *Materials Chemistry and Physics* **111** (2008) 137–142.
- [148] R. Horváthová, L. Müller, A. Helebrant, P. Greil, F. A. Müller, *Materials Science and Engineering C* **28** (2008) 1414–1419.
- [149] S. V Dorozhkin, *Progress in Biomaterials* **1** (2012) 1-40.
- [150] A. R. Nimkerdphol, Y. Otsuka, Y. Mutoh, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* **36** (2014) 98–108.
- [151] E. Mohseni, E. Zalnezhad ,A. R. Bushroa, *International Journal of Adhesion & Adhesives* **48** (2014) 238–257.
- [152] S. Eraković, A. Janković, C. Ristoscu, L. Duta, N. Serban, A. Visan, I.N. Mihailescu, G. E. Stan, M. Socol, O. Iordache, I. Dumitrescu, C. R. Luculescu, Dj. Janačković, V. Miškovic-Stanković, *Applied Surface Science* **293** (2014) 37– 45.
- [153] H. Kim, R. P. Camata, S. Chowdhury, Y. K. Vohra, *Acta Biomaterialia* **6** (2010) 3234–3241.
- [154] L. Clèries, E. Martínez, J. M. Fernández-Pradas, G. Sardin, J. Esteve, J. L. Morenza, *Biomaterials* **21** (2000) 967-971.
- [155] S. Bauer, P. Schmuki, K. von der Mark, J. Park, *Progress in Materials Science* **58** (2013) 261–326.
- [156] Y. Liu, G. Wu, K. de Groot, *Journal of the Royal Society Interface* **7** (2010) S631–S647.
- [157] G. Tan, L. Zhou, C. Ning, Y. Tan, G. Ni, J. Liao, P. Yu, X. Chen, *Applied Surface Science* **279** (2013) 293–299.

-
- [158] I. S. Park, U. J. Choi, H. K. Yi, B. K. Park, M. H. Lee, T. S. Bae, *Surface and Interface Analysis* **40** (2008) 37–42.
- [159] L. T. de Jonge, S. C. G. Leeuwenburgh, J. J. J. P van den Beucken, J. te Riet, W. F. Daamen, J. G. C. Wolke, D. Scharnweber, J. A. Jansen, *Biomaterials* **31** (2010) 2461–2469.
- [160] I. Corni, M. P. Ryan, A. R. Boccaccini, *Journal of the European Ceramic Society* **28** (2008) 1353–1367.
- [161] A. R. Boccaccini, S. Keim, R. Ma, Y. Li, I. Zhitomirsky, *Journal of the Royal Society Interface* **7** (2010) S581–S613.
- [162] L. Besra, M. Liu, *Progress in Materials Science* **52** (2007) 1–61.
- [163] R. Ma, R. F. Epanand, I. Zhitomirsky, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **77** (2010) 279–285.
- [164] B. Neirinck, L. Van Mellaert, J. Fransaer, O. Van der Biest, J. Anné, J. Vleugels, *Electrochemistry Communications* **11** (2009) 1842–1845.
- [165] P. Sarkar, P. S. Nicholson, *Journal of American Ceramic Society* **79** (1996) 1987–2002.
- [166] B. Ferrari, R. Moreno, *Journal of the European Ceramic Society* **30** (2010) 1069–1078.
- [167] V. O. Kollath, Q. Chen, R. Closset, J. Luyten, K. Traina, S. Mullens, A. R. Boccaccini, R. Cloots, *Journal of the European Ceramic Society* **33** (2013) 2715–2721.
- [168] C. Wang, J. Ma, W. Cheng, R. Zhang, *Materials Letters* **57** (2002) 99–105.
- [169] M. Farrokhi-Rad, T. Shahrabi, *Ceramics International* **40** (2014) 3031–3039.
- [170] P. Jain, T. Mandal, P. Prakash, A. Garg, K. Balani, *Journal of Coating and Technology Research* **10** (2013) 263–275.
- [171] M. Farrokhi-Rad, S. K. Loghmani, T. Shahrabi, S. Khanmohammadi, *Journal of the European Ceramic Society* **34** (2014) 97–106.
- [172] S. Erakovic, Dj. Veljovic, P. N. Diouf, T. Stevanovic, M. Mitric, S. Milonjic, V. B. Miskovic-Stankovic, *IJCRE* **7** (2009) Article A62.
- [173] M. Li, Q. Liu, Z. Jia, X. Xu, Y. Cheng, Y. Zheng, T. Xi, S. Wei, *Carbon* **67** (2014) 185–197.

-
- [174] M. Federica De Riccardis (2012). Ceramic Coatings Obtained by Electrophoretic Deposition: Fundamentals, Models, Post-Deposition Processes and Applications, Ceramic Coatings - Applications in Engineering, Prof. Feng Shi (Ed.), ISBN: 978-953-51-0083-6, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/ceramiccoatings-applications-in-engineering/ceramic-coatings-obtained-by-electrophoretic-deposition>
- [175] S. Voyutsky, Colloid Chemistry, Mir Publishers, Moscow, 1978, p. 220.
- [176] S. P. Porras, M. L. Riekkola, E. Kenndler, *Electrophoresis* **23** (2002) 367–374.
- [177] P. Royer, C. Rey, *Surface and Coatings Technology*, **45** (1991) 171-177.
- [178] S. D. Huelin, H. R. Baker, E. F. Merschrod S., K. M. Poduska, *Crystal Growth & Design* **6** (2006) 2634-2636.
- [179] J. M. Zhang, C. J. Lin, Z. D. Feng, Z. W. Tian, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **452** (1998) 235–240.
- [180] M. Shirkhazadeh, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **9** (1998) 67-72.
- [181] R. Hu, C. Lin, H. Shi, H. Wang, *Materials Chemistry and Physics* **115** (2009) 718–723.
- [182] R. Drevet, H. Benhayoune, Electrochemical Deposition of Calcium Phosphate Coatings on a Prosthetic Titanium Alloy Substrate, in Calcium Phosphate: Structure, Synthesis, properties and applications, (eds) Robert B. Heimann, Nova Science Publishers, 2012. p. 231-252.
- [183] N. Dumelie', H. Benhayoune, C. Rouse-Bertrand, S. Bouthors, A. Perchet, L. Wortham, J. Douglade, D. Laurent-Maquin, G. Balossier, *Thin Solid Films* **492** (2005) 131–139.
- [184] M. S. Djošić, V. Panić, J. Stojanović, M. Mitrić, V. B. Mišković-Stanković, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **400** (2012) 36– 43.
- [185] S. Rößler, A. Sewing, M. Stölzel, R. Born, D. Scharnweber, M. Dard, H. Worch, *Journal of Biomedical Materials Research A* **64** (2002) 655–663.
- [186] C. Montero-Ocampo, D. Villegas, L. Veleza, *Surface Engineering* **24** (2008) 18-22.

-
- [187] K. Kanamoto, K. Imamura, N. Kataoka, J. Oshitani, H. Imanaka, K. Nakanishi, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **350** (2009) 79–86.
- [188] C. Vasilescu, P. Drob, E. Vasilescu, I. Demetrescu, D. Ionita, M. Prodana, S. I. Drob, *Corrosion Science* **53** (2011) 992–999.
- [189] G. -l. Yang, F. -M. He, J. -A. Hu, X. -X. Wang, S. -F. Zhao, *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **68** (2010) 420-427.
- [190] N. Eliaz, T. M. Sridhar, *Crystal Growth & Design*, **8** (2008) 3965-3977.
- [191] J. Redepenning, J. P. Mclsaac, *Chemistry of Materials* **2** (1990) 625-627.
- [192] H. R. Bakhsheshi-Rad, E. Hamzah, M. Daroonparvar, R. Ebrahimi-Kahrizsangi, M. Medraj, *Ceramics International* **40** (2014) 7971–7982.
- [193] E. A. Abdel-Aal, *International Journal of Nano and Biomaterials* **3** (2010) 187-202.
- [194] M. C. Kuo, S. K. Yen, *Materials Science and Engineering C* **20** (2002) 153–160.
- [195] A. Rakngarm, Y. Mutoh, *Materials Science and Engineering C* **29** (2009) 275–283.
- [196] M. S. Djošić, M. Mitrić, V. B. Mišković-Stanković, *Journal of Serbian Chemical Society* **80** (2015) 237-251.
- [197] S. K. Yen, C. M. Lin, *Materials Chemistry and Physics* **77** (2002) 70–76.
- [198] A. W. Jeremiase, H. V. M. Hamelers, J. M. Kleijn, C. J. N. Buisman, *Environmental Science and Technology* **43** (2009) 6882–6887.
- [199] F. Barrère, T. A. Mahmood, K. de Groot, C. A. van Blitterswijk, *Materials Science and Engineering R* **59** (2008) 38–71.
- [200] S. Virtanen, I. Milošev, E. Gomez-Barrena, R. Trebše, J. Salo, Y. T. Konttinen, *Acta Biomaterialia* **4** (2008) 468–476.
- [201] G. Guibert, J. L. Irigaray, Ph. Moretto, T. Sauvage, J. L. Kemeny, A. Cazenave, E. Jallot, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* **251** (2006) 246–256.
- [202] M. H. Kim, S.-Y. Lee, M.-J. Kim, S.-K. Kim, S.-J. Heo, J.-Y. Koak, *Journal of Dental Research* **90** (2011) 711-716.
- [203] A. C. Tas, *Materials Science and Engineering C* **36** (2014) 84–94.

-
- [204] T. Kokubo, H. Takadama, *Biomaterials* **27** (2006) 2907–2915.
- [205] R. Singh, N. Dahotre, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **18** (2007) 725-751.
- [206] H. -M. Kim, Y. Kim, S. -J. Park, C. Rey, H. M. Lee, M. J. Glimcher, J. S. Ko, *Biomaterials* **21** (2000) 1129-1134.
- [207] J. A. Juhasz, S. M. Best, A. D. Auffret, W. Bonfield, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **19** (2008)1823–1829.
- [208] A. J. Salinas, M. Vallet-Regi, I. Izquierdo-Barba, *Journal of Sol-Gel Science and Technology* **21** (2001) 13–25.
- [209] A. Rámila, M. Vallet-Regí, *Biomaterials* **22** (2001) 2301-2306.
- [210] X. Lu, Y. Leng, *Biomaterials* **26** (2005) 1097–1108.
- [211] C. R. Champion, S. L. Ball, D. L. Clarke, K. A. Hing, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **24** (2013) 597–610.
- [212] R. Sun, K. Chen, Y. Lu, *Materials Research Bulletin* **44** (2009) 1939–1942.
- [213] Q. Zhang, J. Chen, J. Feng, Y. Cao, C. Deng, X. Zhang, *Biomaterials* **24** (2003) 4741–4748.
- [214] Q. Hu, Z. Tan, Y. Liu, J. Tao, Y. Cai, M. Zhang, H. Pan, X. Xu, R. Tang, *Journal of Materials Chemistry* **17** (2007) 4690–4698.
- [215] T. Uchino, K. Yamaguchi, I. Suzuki, M. Kamitakahara, M. Otsuka, C. Ohtsuki, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **21** (2010) 1921–1926.
- [216] S. Krumm, *Acta Universitatis Carolinae Geologica* **38** (1994) 253 (version: Beta Release 1.2.1., June 1997; <http://www.geol.uni-erlangen.de/>).
- [217] D. Stojanovic, B. Jokic, Dj. Veljovic, R. Petrovic, P. S. Uskokovic, Dj. Janackovic, *Journal of the European Ceramic Society* **27** (2007) 1595–1599.
- [218] J. F. Ziegler, J. P. Biersack, U. Littmark, *The Stopping and Range of Ions in Solids*, Pergamon Press, code SRIM 2004: (1985) <http://www.srim.org>.
- [219] W. Kraus, G. Nolze, Powder Cell for Windows, Version 2.4, 8.03.2002.
- [220] R. W. Cheary, A. Coelho, *Journal of Applied Crystallography* **25** (1992) 109-121.
- [221] ImageJ-Image processing and analysis in Java. Available via Web site: <http://rsb.info.nih.gov/ij>

-
- [222] N. Y. Mostafa, *Materials Chemistry and Physics* **94** (2005) 333–341
- [223] HSC Chemistry, Outokumpu Research Oy, Finland, 1993.
- [224] Y. Fujishiro, A. Fujimoto, T. Sato, A. Okuwaki, *Journal of Colloid and Interface Science* **173** (1995) 119–127.
- [225] I. Bogdanoviciene, A. Beganskiene, K. Tõnsuaadu, J. Glaser, H.-J. Meyer, A. Kareiva, *Materials Research Bulletin* **41** (2006) 1754–1762.
- [226] E. Tkalcec, M. Sauer, R. Nonninger, H. Schmidt, *Journal of Materials Science* **36** (2001) 5253–5263.
- [227] P. E. Wang, T. K. Chaki, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **4** (1993) 150–158.
- [228] H. Arce, M. L. Montero, A. Sáenz, V. M. Castaño, *Polyhedron* **23** (2004) 1897–1901.
- [229] J. S. Williams, *Reports on Progress in Physics* **49** (1986) 491–587.
- [230] M. Ohring, *The Materials Science of Thin Films*, Academic Press, London, (1991).
- [231] N. Bibić, I. H. Wilson, M. Milosavljević, D. Perusko, *Journal of Materials Science* **27** (1992) 4945–4948.
- [232] S. P. Parthiban, R. V. Suganthi, E. K. Girija, K. Elayaraja, P. K. Kulriya, Y. S. Katharria, F. Singh, I. Sulania, A. Tripathi, K. Asokan, D. Kanjilal, S. Yadav, T. P. Singh, Y. Yokogawa, S. N. Kalkura, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* **266** (2008) 911–917.
- [233] S. Miro, D. Grebille, D. Chateigner, D. Pelloquin, J.-P. Stoquert, J.-J. Grob, J.-M. Costantini, F. Studer, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* **227** (2005) 306–318.
- [234] B. H. Erné, F. Maroun, F. Ozanam, J.-N. Chazalviel, *Electrochemical and Solid-State Letters* **2** (1999) 231–232.
- [235] M. Kumar, J. Xie, K. Chittur, C. Riley, *Biomaterials* **20** (1999) 1389–1399.
- [236] M. Kumar, H. Dasarathy, C. Riley, *Journal of Biomedical Materials Research* **45** (1999) 302–310.
- [237] D. D. Deligianni, N. D. Katsala, P. G. Koutsoukos, Y. F. Missirlis, *Biomaterials* **22** (2001) 87–96.

-
- [238] S. Sandukas, A. Yamamoto, A. Rabiei, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*: **97A** (2011) 490–497.
- [239] M. L. R. Schwarz, M. Kowarsch, S. Rose, K. Becker, T. Lenz, L. Jani, *Journal of Biomedical Materials Research A* **89A** (2009) 667–678.
- [240] M. Bohner, J. Lemaitre, *Biomaterials* **30** (2009) 2175–2179.

Biografija autora

Mr Marija S. Đošić (rođena Lazić) je rođena 21.07.1974. godine, u Beogradu. Završila je V beogradsku gimnaziju. Na Tehnološko-metalurškom fakultetu je diplomirala 2000. godine na Katedri za fizičku hemiju i elektrohemiju sa ocenom 10 i prosečnom ocenom tokom studija 8,83. Poslediplomske studije upisala je 2000. godine na Katedri za fizičku hemiju i elektrohemiju Tehnološko-metalurškog fakulteta u Beogradu. Magistarski rad sa temom „Elektroforetsko taloženje prevlake bemitita iz vodenog sola na titanu“ odbranila je 2005. godine. Mr Marija Đošić je od 2000. godine zaposlena u Institutu za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina u Beogradu, gde radi i danas. U periodu od 2000-2010. godine bila je angažovana na pet projekata finansiranih od strane MNTR, odnosno MNZZŠ. Od 2010. godine i dalje, angažovana je na projektima „Sinteza, razvoj tehnologija dobijanja i primena nanostrukturnih multifunkcionalnih materijala definisanih svojstava“ (III 45019) i „Fenomeni i procesi sinteze novih staklastih i nanostrukturnih staklo-keramičkih materijala“ (ON172004). Govori tečno engleski jezik, a služi se ruskim jezikom.

Oblast naučno-istraživačkog rada mr Marije Đošić obuhvata elektrohemijsku sintezu nanočestičnih prahova monetita i hidroksiapatita, elektroforetsko taloženje i karakterizaciju biokeramičkih prevlaka monetita i hidroksiapatita na titanu, elektrohemijsko taloženje prevlaka brušita na titanu, kao i konverzija prevlaka monetita i brušita u hidroksiapatit.

U toku dosadašnjeg rada, bila je koautor 15 radova u naučnim časopisima, od čega je 10 radova objavljeno u časopisima međunarodnog značaja, jedan rad u međunarodnom časopisu van SCI liste i 5 radova u časopisima nacionalnog značaja, kao i 34 naučna saopštenja, od čega 14 saopštenja na međunarodnim skupovima i 20 saopštenja na nacionalnim.

Iz oblasti istraživanja iz koje je predložena tema doktorske disertacije do sada je objavljeno 5 radova u časopisima međunarodnog značaja, kao i 4 saopštenja na skupovima međunarodnog značaja i 3 saopštenja na skupu nacionalnog značaja.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Марија Ђошић
број индекса _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом
Биокерамичке превлаке на бази калцијум-фосфатних једињења добијене на
титану електрохемијским методама

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Београду,

2015. године

Потпис докторанда

Марија Ђошић

Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске
верзије докторског рада**

Име и презиме аутора _____ Марија Ђошић _____

Број индекса _____

Студијски програм _____

Наслов рада __ Биокерамичке превлаке на бази калцијум-фосфатних једињења
добијене на титану електрохемијским методама

Ментор Др Весна Мишковић-Станковић, редовни професор, Универзитет у
Београду, Технолошко-металуршки факултет

Потписани/а __ Марија Ђошић _____

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској
верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног
репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског
звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум
одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне
библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду,

2015. године



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Биокерамичке превлаке на бази калцијум-фосфатних једињења добијене на
титану електрохемијским методама

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

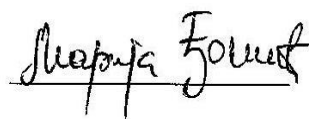
Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 2015. год.



1. Ауторство - Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавања, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.