

UNIVERZITET U BEOGRADU

TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Bojan R. Gligorijević

Hemijsko-strukturalna svojstva i  
biomineralizacija hidroksiapatitnih prevlaka  
dobijenih visokoenergetskim laminarnim  
plazma sprej postupkom

Doktorska disertacija

Beograd, 2016.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Bojan R. Gligorijević

Chemico-structural properties and  
biomineralization of hydroxyapatite coatings  
produced by high power laminar plasma spray  
process

Doctoral dissertation

Belgrade, 2016.



MENTOR:

dr Nenad Radović, vanredni profesor  
Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE:

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

dr Željko Kamberović, redovni profesor  
Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr Maja Šćepanović, naučni savetnik  
Institut za Fiziku, Univerzitet u Beogradu

dr Miroljub Vilotijević, naučni saradnik  
Institut za nuklearne nauke Vinča, Univerzitet u Beogradu

DOKTORANT:

Bojan R. Gligorijević, dipl. inž.

DATUM ODBRANE DOKTORSKE DISERTACIJE:

## ZAHVALNICA

Ova doktorska disertacija je urađena na Katedri za metalurško inženjerstvo Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, pod mentorstvom Prof dr Nenada Radovića, kome se ovom prilikom zahvaljujem na strpljenju, korisnim i kvalitetnim sugestijama, kao i na podršci i pomoći tokom eksperimentalnog rada i pisanja disertacije.

Prof. dr Đorđu Janačkoviću se zahvaljujem na korisnim sugestijama vezanim za formulaciju delova disertacije, podršci, korisnim savetima i vremenu koje je posvetio za razmatranje problematike vezane za ovaj rad.

Prof. dr Željku Kamberoviću se zahvaljujem na korisnim sugestijama vezanim za formulaciju delova ove disertacije.

Dr Miroljubu Vilotijeviću se zahvaljujem na izuzetnoj pomoći vezanoj za nanošenje hidroksiapatitnih prevlaka u ovom radu pomoću *PJ-100* plazma instalacije. Pored toga, zahvaljujem se na korisnim savetima i izdvojenom vremenu za diskusiju o mehanizmima formiranja hidroksiapatitnih prevlaka i interakcijama čestica prahova sa plazma mlazom i substratom, kao i na pomoći pruženoj tokom karakterizacije površinskih delova hidroksiapatitnih prevlaka pomoću XRPD metode.

Dr Maji Šćepanović se zahvaljujem na izuzetnoj pomoći, izdvojenom vremenu, strpljenju, posvećenosti, kao i veoma korisnim i kvalitetnim savetima vezanim za analizu rezultata merenja dobijenih pomoću mikro-Ramanove spektroskopije u ovom radu. Posebno se zahvaljujem na vremenu posvećenom tokom merenja, koja su izvršena u Centru za fiziku čvrstog stanja i nove materijale, Instituta za fiziku u Beogradu. Pored toga, zahvaljujem se na pomoći oko formulacija delova ove disertacije.

Prof Dr Dragoslavu Vidoviću (Nanyang Technological University - NTU, School of physical and mathematical sciences – SPMS, Division of chemistry and biological chemistry – CBC, Singapore) se zahvaljujem na izuzetnoj pomoći, podršci, savetima, strpljenju i angažovanosti oko realizacije projekta programa internacionalne razmene NTU, Singapore “*Dissolution / precipitation behavior of hydroxyapatite coatings obtained by high power laminar plasma jet in modified Kokubo solutions*”, koji je realizovan na NTU, Singapore i koji je finansiran sredstvima sa projekta N° M

4080534.110.601001 (SUG, DV). Rezultati pomenutog projekta su sastavni deo ove disertacije.

Ai Hua Seow (NTU-SPMS-CBC, Singapore) se zahvaljujem na izuzetnoj podršci i saradnji tokom izvođenja svih eksperimenata na NTU, Singapore.

Dr Nikoli Vukoviću (Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija) se zahvaljujem na posvećenom vremenu i izuzetnoj pomoći tokom samih merenja, kao i na diskusiji oko kvaliteta rezultata sa XRF i SEM-EDS.

Dr Đorđu Veljoviću (Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija) se zahvaljujem na posvećenom vremenu, strpljenju i pomoći oko SEM merenja, kao i za diskusije u vezi sinteze prahova hidroksiapatita.

Prof Dr Aleksandru Marinkoviću (Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija) se zahvaljujem na pomoći pruženoj tokom merenja na transmisionom FTIR, kao i na pomoći i savetima pruženim tokom pripreme uzoraka za ispitivanje.

Prof Dr Slavki Stanković (Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija) se zahvaljujem na strpljenju i posvećenom vremenu oko diskusija vezanih za jonske interakcije u simuliranim telesnim tečnostima.

Posebnu zahvalnost dugujem svojoj porodici, ocu, majci, bratu i njegovoj porodici, kumu i njegovoj porodici i svim svojim prijateljima koji su me podržavali tokom ovog perioda i bez čije podrške sve ovo ne bi bilo moguće.

Najlepše zahvaljujem svima od srca!

U Beogradu,

Bojan R. Gligorijević

## LISTA SKRAĆENICA I SIMBOLA

- fHAP** – finiji polazni HA prah srednje veličine čestica  $\sim 33 \mu\text{m}$
- kHAP** – krupniji polazni HA prah srednje veličine čestica  $\sim 90 \mu\text{m}$
- HAP-fp** – hidroksiapatitne prevlake od fHAP
- HAP-kp** – hidroksiapatitne prevlake od kHAP
- XRF** – energetsko-disperzivna fluorescencija rentgenskih zraka
- SEM** – skenirajuća elektronska mikroskopija
- EDS** – energetsko-disperzivna spektrometrija
- XRPD** – rentgenska difraktometrija praha
- MRS** – mikro-Ramanova spektroskopija
- ATR-FTIR** – prigušena unutrašnja reflektivna infracrvena spektrometrija sa Furijeovom transformacijom
- T-FTIR** – transmisiona infracrvena spektrometrija sa Furijeovom transformacijom
- ACP** – amorfni kalcijum fosfat
- HA** – hidroksiapatit
- TTCP** – tetrakalcijum fosfat
- TCP** – trikalcijum fosfat
- CaO** – kalcijum oksid
- OHA** – oksihidroksiapatit
- OA** – oksiapatit
- A<sub>1</sub>** – integralni intenzitet Ramanovog pika lociranog na  $949\text{-}951 \text{ cm}^{-1}$
- A<sub>2</sub>** – integralni intenzitet Ramanovog pika lociranog na  $961\text{-}963 \text{ cm}^{-1}$
- A<sub>3</sub>** – integralni intenzitet Ramanovog pika lociranog na  $966\text{-}969 \text{ cm}^{-1}$
- R<sub>1</sub>** – relativni intenzitet Ramanovog pika A<sub>1</sub>
- R<sub>2</sub>** – relativni intenzitet Ramanovog pika A<sub>2</sub>
- R<sub>3</sub>** – relativni intenzitet Ramanovog pika A<sub>3</sub>
- R<sub>A</sub>** – relativna amorfnost
- R<sub>K</sub>** – relativna kristaličnost
- i = 1,2,...,9** – lokacije merenja na površinama HA prevlaka
- h<sub>1</sub>** – referentna lokalna debljina HA prevlaka
- h<sub>i</sub>** – debljina HA prevlaka na lokaciji merenja *i*

$\Delta h_i = h_i - h_l$  – inkrement debljine HA prevlaka na lokaciji merenja  $i$

$R_{1,l}$  – referentni lokalni površinski relativni intenzitet Ramanovog pika  $A_1$

$R_{1,i}$  – lokalni površinski relativni intenzitet Ramanovog pika  $A_1$  na lokaciji merenja  $i$

$\Delta R_{1,i}$  – inkrement lokalnog površinskog relativnog intenziteta Ramanovog pika  $A_1$  na lokaciji merenja  $i$

$R_{2,l}$  – referentni lokalni površinski relativni intenzitet Ramanovog pika  $A_2$

$R_{2,i}$  – lokalni površinski relativni intenzitet Ramanovog pika  $A_2$  na lokaciji merenja  $i$

$\Delta R_{2,i}$  – inkrement lokalnog površinskog relativnog intenziteta Ramanovog pika  $A_2$  na lokaciji merenja  $i$

$R_{3,l}$  – referentni lokalni površinski relativni intenzitet Ramanovog pika  $A_3$

$R_{3,i}$  – lokalni površinski relativni intenzitet Ramanovog pika  $A_3$  na lokaciji merenja  $i$

$\Delta R_{3,i}$  – inkrement lokalnog površinskog relativnog intenziteta Ramanovog pika  $A_3$  na lokaciji merenja  $i$

**SOD** – rastojanje substrata od izlaza iz mlaznice

$T_S$  – inicijalna temperatura substrata (temperatura predgrevanja substrata)

**di-HAP** – delimično istopljene čestice polaznog HA praha

**P** - poroznost

**rHA** – rekristalisana hidroksiapatitna faza

# HEMIJSKO-STRUKTURNA SVOJSTVA I BIOMINERALIZACIJA HIDROKSIPATITNIH PREVLAKA DOBIJENIH VISOKOENERGETSKIM LAMINARNIM PLAZMA SPREJ POSTUPKOM

## REZIME

U ovom radu je izvršeno nanošenje hidroksiapatitnih (HA) prevlaka primenom visokoenergetskog laminarnog plazma sprej postupka. Glavni ciljevi rada su bili: (i) da se ispita uticaj nekoliko parametara procesa nanošenja na hemijska, strukturna i morfološka svojstva HA prevlaka i (ii) da se ispita uticaj ljudskih proteina albumin i gama globulin na početni stadijum procesa biomineralizacije koji se javlja na površini dobijenih HA prevlaka u modifikovanim Kokubo rastvorima (simulirane telesne tečnosti) u kojima je vrednost pH bila aktivno regulisana pomoću CO<sub>2</sub>.

HA prevlake su bile nanosene na substratima od nerđajućeg čelika kvaliteta za primenu u medicini. Ispitan je uticaj tri parametra procesa nanošenja: (i) veličine polaznog HA praha (~33 i ~90 μm), (ii) rastojanja substrata od mlaznice (eng. *stand-off distance* – *SOD* = 80, 100 i 150 mm) i (iii) inicijalne temperature substrata ( $T_S = 20, 100$  i 200 °C). Ispitana su hemijska, strukturna i morfološka svojstva: (i) polaznih HA prahova, (ii) površinskih delova HA prevlaka i (iii) HA prevlaka u pravcima debljine i interfejsa, kao i uniformnost debljine HA prevlaka. Nakon toga su napravljene simulirane telesne tečnosti, testirana je njihova pH stabilnost u prisustvu i odsustvu fiziološke smeše proteina albumina i gama globulina, u prisustvu i odsustvu kalcijumovog (Ca<sup>2+</sup>) jona i pri različitim polaznim teorijskim koncentracijama hidrogenkarbonatnih jona. Potom su izvršeni eksperimenti ispitivanja sklonosti formiranja karbonatnog apatita na površini HA prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima u uslovima bez i sa aktivnom regulacijom pH pomoću CO<sub>2</sub> i u prisustvu i odsustvu fiziološke smeše proteina ljudskog albumina i gama globulina.

Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM) je pokazala da su čestice finijeg polaznog HA praha (fHAP) bile nepravilnog sferičnog oblika, dok su čestice krupnijeg polaznog HA praha (kHAP) bile nepravilnog poliedarskog oblika. Energetsko-disperzivna fluorescencija rentgenskih zraka (eng. X-ray Fluorescence – XRF) i energetsko-disperzivna spektrometrija (EDS) su ukazale na visoku elementarnu čistoću

polaznih HA prahova. Takođe, XRF i EDS su ukazale na to da su srednji molarni Ca/P odnosi fHAP i kHAP iznosili 1.3-1.4 i 1.5-1.7, respektivno, što je ukazivalo na kalcijum-deficitarnost fHAP i blisku stehiometričnost kHAP. Rentgenska difraktometrija praha (*eng.* X-ray powder diffraction – XRPD), prigušena unutrašnja reflektivna spektrometrija (*eng.* Attenuated Total Reflection – ATR), infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (*eng.* Fourier Transform Infrared – FTIR spectroscopy) i mikro-Raman spektroskopija (MRS) su ukazale na visoku faznu čistoću fHAP, kao i na prisustvo tetrakalcijum fosfata (TTCP) u tragovima u kHAP.

XRPD, MRS, ATR-FTIR i transmisiona FTIR (T-FTIR) površinskih delova HA prevlaka su pokazale da su dobijene HA prevlake sadržale fazne nečistoće koje su verovatno nastale kao posledica (*i*) termičkog razlaganja fHAP i kHAP u plazma mlazu i (*ii*) kaljenja istopljenih ili delimično istopljenih čestica polaznog HA praha pri udaru u substrat ili prethodno formirani depozit. Zabeleženo je dominantno prisustvo amornog kalcijum fosfata (ACP) i hidroksiapatita (HA) u prevlakama od fHAP (HAP-fp), kao i dominantno prisustvo HA u prevlakama od kHAP (HAP-kp). Analize površinskih delova HA prevlaka nanesenih pri različitim  $SOD$  i  $T_S$  su pokazale da su se najveće promene u relativnom faznom sastavu dešavale u slučajevima relativnih sadržaja ACP i HA faza, dok su promene u relativnim sadržajima faznih nečistoća (trikalcijum fosfat – TCP, TTCP, kalcijum oksid – CaO i oksiapatit – OA), bile praktično zanemarljive. MRS analiza površina prevlaka i merenja njihovih debljina su ukazali na prisustvo izražene površinske fazne heterogenosti i neuniformnosti debljine HAP-fp. Povećanje  $SOD$  je dovelo do smanjenja površinske fazne heterogenosti i neuniformnosti debljine HAP-fp, ali na račun smanjenja srednje relativne kristaličnosti, dok povećanje  $T_S$  nije pokazalo značajan uticaj. S druge strane, HAP-kp su ispoljavale površinsku faznu homogenost i uniformnost debljine, dok  $SOD$  i  $T_S$  nisu imali značajnog uticaja na iste. U oba slučaja prevlaka, HAP-fp i HAP-kp, lokalna površinska relativna kristaličnost se naizgled menjala u skladu sa promenom lokalne debljine.

Analize poprečnih preseka HAP-fp pomoću MRS, XRPD i svetlosne mikroskopije (SM) su ukazale na porast relativne kristaličnosti sa povećanjem rastojanja od interfejsa prevlaka/substrat na debljim delovima ovih prevlaka, dok ova promena nije bila izražena na tanjim delovima istih prevlaka. Pored toga, ove analize su pokazale: (*i*) smanjenje poroznosti, (*ii*) smanjenje prisustva delimično istopljenih čestica fHAP, (*iii*)

povećanje prisustva ACP oblasti, (iv) smanjenje debljine lamela fHAP depozita i (v) pad relativne kristaličnosti u pravcu interfejsa prevlaka/substrat i smeru od debljih ka tanjim delovima HAP-fp. S druge strane, MRS analiza je na poprečnim presecima HAP-kp i ekvivalentnim lokacijama merenja pokazala slične tendencije promena relativne kristaličnosti sa povećanjem rastojanja od interfejsa kao u slučaju HAP-fp. Međutim, ove promene su bile znatno manje izražene. SM analiza nije ukazala na značajne razlike u morfološkim svojstvima po čitavom poprečnom preseku HAP-kp u pravcu interfejsa, što je bilo analogno rezultatima MRS. Ovi rezultati su ukazivali na to da su se različiti procesi rekristalizacije uspostavili na različitim delovima istih HA prevlaka tokom procesa nanošenja, što je najverovatnije dovelo do pojave izražene fazne heterogenosti površine HAP-fp i fazne homogenosti površine HAP-kp. Na osnovu prethodnog je izvršena dopuna aktuelnog *Sun-ovog* modela formiranja HA prevlaka.

Poprečni preseki HA prevlaka su, pored sečenja dijamantskom testerom, bili izrađeni i invazivnim sečenjem pomoću ručne testere sa ciljem unošenja mikro-prslina u HA prevlake. SEM-EDS rezultati su pokazali da su se mikro-prsline uglavnom koncentrisale u ACP oblastima ispitanih HA prevlaka. Uticaj povećanja  $SOD$  na morfološko-strukturalna svojstva HAP-fp je bio analogan uticaju koji je opisan za promene u pravcu koji je paralelan interfejsu prevlaka/substrat i smeru od debljih ka tanjim delovima HAP-fp. Međutim, MRS i SEM-EDS analize su pokazale da je povećanje  $SOD$  na pojedinim lokacijama merenja uzrokovalo diskontinualnu promenu relativne kristaličnosti i delaminacije na interfejsu HAP-fp. S druge strane, MRS, SM i SEM-EDS analize su pokazale da je povećanje  $T_S$  uticalo na: (i) smanjenje poroznosti, (ii) smanjenje debljine lamela HA depozita, (iii) smanjenje prisustva mikro-prslina nastalih usled sečenja ručnom testerom, (iv) uniformniju raspodelu ACP i rekristalisanih HA oblasti usled smanjenja debljine lamela HA depozita, (v) zanemarljivu promenu relativne kristaličnosti na većini lokacija merenja i (vi) pojavu diskontinualnih promena relativne kristaličnosti HAP-fp na pojedinim lokacijama merenja. U slučaju HAP-kp, MRS, SM i SEM-EDS analize su pokazale da je povećanje  $SOD$  uticalo na: (i) smanjenje relativne kristaličnosti u oblasti blizu interfejsa, (ii) pojavu delaminacije na interfejsu nakon sečenja ručnom testerom i (iii) smanjenje prisustva delimično istopljenih čestica kHAP, dok je povećanje  $T_S$  uticalo na: (i) povećanje relativne kristaličnosti u oblasti blizu interfejsa i (ii) smanjenje prisustva prslina i delaminacije na



interfesju. Pojava diskontinualnih promena svojstava, kao u slučaju HAP-fp, nije bila uočena u HAP-kp, što je pripisano odsustvu izražene lamelnosti čestica kHAP depozita. Za razliku od kHAP, pretpostavljeno je da su lamele fHAP depozita od istopljenih čestica fHAP pri udaru u podlogu postizale debljine, koje su, pored *SOD* i *T<sub>S</sub>*, takođe imale uticaj na brzinu hlađenja ovih lamela.

Ispitivanja pH stabilnosti simuliranih telesnih tečnosti su pokazala da je dodavanje ljudskih proteina albumin i gama globulin izazvalo najveći pad u promeni pH sa vremenom. Dodatak  $\text{Ca}^{2+}$  jona je uticao na blaže usporenje promene pH u odnosu na usporenje izazvano dodatkom proteina. Uticaj dodatka proteina i  $\text{Ca}^{2+}$  jona na promene pH sa vremenom je bio manje izražen u vodenim rastvorima sa većom polaznom teorijskom koncentracijom  $\text{HCO}_3^-$  jona. U eksperimentima bez aktivne regulacije pH pomoću  $\text{CO}_2$ , u odsustvu proteina, T-FTIR površina HA prevlaka je pokazala prisustvo B-tipa kaprbonatnog apatita. U prisustvu proteina, T-FTIR je ukazala na simultano prisustvo B-tipa karbonatnog apatita i adsorbovanih proteina. U eksperimentima sa aktivnom regulacijom pH pomoću  $\text{CO}_2$ , u odsustvu proteina, T-FTIR je ukazala na pojavu manjeg taloženja karbonatnog apatita na površinama HA prevlaka. U prisustvu proteina, T-FTIR je ukazala na to da su se taloženje karbonatnog apatita i adsorpcija proteinskih vrsta odvijali paralelno na površinama HA prevlaka.

#### **KLJUČNE REČI:**

Plazma sprej postupak; hidroksiapatitne prevlake; parametri procesa nanošenja; hemijska, strukturna i morfološka svojstva; mehanizam formiranja prevlaka; simulirane telesne tečnosti; ljudski proteini; pH stabilnost; taloženje karbonatnog apatita

#### **NAUČNA OBLAST:**

Tehničke nauke

#### **UŽA NAUČNA OBLAST:**

Metalurško inženjerstvo

**UDK:** 64.018.1/9:67.014:553.641:66.088

# CHEMICO-STRUCTURAL PROPERTIES AND BIOMINERALIZATION OF HYDROXYAPATITE COATINGS PRODUCED BY HIGH POWER LAMINAR PLASMA SPRAY PROCESS

## ABSTRACT

In the present work, hydroxyapatite coatings (HACs) were deposited by using the high power laminar plasma spray process. Major objectives were: (i) to estimate effects of several deposition parameters on chemical, structural, and morphological properties of HACs and (ii) to evaluate effects of human proteins albumin and gamma globulin on the early stage of the biomineralization process on the surface of HACs in modified Kokubo solutions (simulated body fluids) in which the pH value was actively regulated using CO<sub>2</sub>.

HACs were deposited onto biomedical grade stainless steel substrates. The influence of three deposition parameters was investigated: (i) the size of HA feedstock powder (~ 33 and ~ 90 μm), (ii) the distance of substrate from the anode nozzle exit (stand-off distance – SOD= 80, 100 and 150 mm) and (iii) the initial substrate temperature ( $T_s=20, 100$  and  $200$  °C). The chemical, structural and morphological properties of: (i) the feedstock HA powders, (ii) the surface and near-surface of HACs, (iii) in thickness and interface directions of HACs, were investigated, as well as the thickness uniformity of HACs. Afterwards, simulated body fluid were produced, their pH stability was tested in the presence and absence of physiological mixture of proteins human albumin and gamma globulin, in the presence and absence of calcium (Ca<sup>2+</sup> ions) and in cases with different initial theoretical hydrogencarbonate (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) ion concentrations. Subsequently, carbonated apatite forming ability experiments were performed on the surface of HACs in simulated body fluids in conditions without and with active pH regulation using CO<sub>2</sub> and in the presence and absence of physiological protein mixture of human albumin and gamma globulin.

Scanning electron microscopy (SEM) showed the particles of the finer feedstock HA powder (fHAP) of irregular spherical shape, whereas the particles of the coarser feedstock HA powder (kHAP) were of irregular polyhedral shape. The X-ray fluorescence (XRF) and energy dispersive spectrometry (EDS) showed that the

feedstock HA powders were of high elemental purity. Also, XRF and EDS showed that the molar Ca/P ratios of fHAP and kHAP were 1.3-1.4 i 1.5-1.7, respectively, which indicated the calcium deficiency of fHAP and near-stoichiometry of kHAP. X-ray powder diffractometry (XRPD), attenuated total reflectance (ATR) Fourier transformation infrared (FTIR) spectrometry, and micro-Raman spectroscopy (MRS) indicated high phase purity of fHAP, whereas the kHAP probably contained the traces of tetracalcium phosphate (TTCP).

XRPD, MRS, ATR-FTIR i transmission FTIR (T-FTIR) of surface and near-surface regions of HACs indicated that deposited HACs contained phase impurities which were probably formed as a result of: (i) thermal decomposition of fHAP and kHAP in plasma jet and (ii) quenching of fully or partially molten particles of feedstock HA powders upon impact onto substrate or preformed deposit. Amorphous calcium phosphate (ACP) and hydroxyapatite (HA) were dominantly present in HACs produced from fHAP (HAP-fp), whereas HA was dominantly present in HACs produced from kHAP (HAP-kp). The analyses of surface and near-surface regions of HACs deposited at different *SODs* and  $T_S$  showed that largest changes in relative phase contents occurred in cases of relative ACP and HA contents, whereas changes in relative contents of impurity phases (tricalcium phosphate – TCP, TTCP, calcium oxide – CaO i oxyapatite – OA) were practically negligible. MRS analysis and thickness measurements showed presence of enhanced surface phase heterogeneity and thickness non-uniformity of HAP-fp. The increase of *SOD* reduced the surface phase heterogeneity and thickness non-uniformity of HAP-fp, but on the expense of decreased average relative crystallinity, whereas the increase of  $T_S$  showed an insignificant effect. On the other hand, HAP-kp exhibited surface phase homogeneity and uniformity of thickness, which were unaffected by *SOD* and  $T_S$ . In the case of HAP-fp and HAP-kp, the local surface relative crystallinity apparently changed in accordance with the local thickness.

MRS, XRPD, and light microscopy (SM) analyses of cross-sections of HAP-fp showed an increase of relative crystallinity on the thicker regions of these HACs, whereas this change was not prominent in thinner regions of same HACs. In addition, these analyses showed: (i) decreased porosity, (ii) lower presence of partially molten fHAP particles, (iii) an increased presence of ACP areas, (iv) decreased thickness of fHAP splats, and (v) decreased relative crystallinity from thicker towards thinner

regions of HAP-fp in the coating/substrate interface direction. On the other hand, MRS analysis of cross sections of HAP-kp on equivalent measurement locations showed similar tendencies regarding changes of relative crystallinity with increase of distance from interface compared to HAP-fp. However, these changes were significantly less pronounced. SM analysis did not show significant differences in the morphological properties of cross-sections of HAP-kp in interface direction, which was analogous to the results of MRS. These results indicated that different recrystallization processes were established on different parts of the same HAC during the deposition process, which most probably led to the occurrence of the enhanced surface phase heterogeneity of HAP-fp and surface phase homogeneity of HAP-kp. Based on the previous, the extension of the current Sun's model for the formation mechanism of HA coatings.

Besides diamond-saw cutting, the cross-sections of HACs were produced by severe handsaw cutting with the purpose of introduction of micro-cracks within the HACs. SEM-EDS results showed that micro-cracks were mainly present inside the ACP areas of the investigated HACs. The effect of *SOD* increase on the morphological and structural properties of HAP-fp was analogous to the described effect on these properties in the coating/substrate interface direction going from thicker towards thinner regions of HAP-fp. However, MRS and SEM-EDS analyses showed that the increase of *SOD* caused a discontinued change in the relative crystallinity and delamination occurrence on the interface of HAP-fp on the particular measurement locations. On the other hand, MRS, SM, and SEM-EDS analyses showed that the increase of  $T_S$  caused: (i) decrease in porosity, (ii) decrease in thickness of fHAP splats, (iii) lower presence of micro-cracks produced by handsaw cutting, (iv) finer distribution of ACP and recrystallized HA areas due to a decrease in thickness of fHAP splats, (v) insignificant change in relative crystallinity on the majority of measurement locations, and (vi) occurrence of a discontinued change in relative crystallinity on particular measurement locations. In the case of HAP-kp, MRS, SM, and SEM-EDS analyses showed that increase of *SOD* caused: (i) decreased relative crystallinity in the near-interface region, (ii) delamination occurrence on the interface after handsaw cutting, and (iii) lower presence of partially molten kHAP particles, whereas the increase of  $T_S$  caused: (i) increased relative crystallinity in the near-interface region and (ii) lower presence of micro-cracks and delamination on the interface. The occurrence of discontinued change

in properties, such as those detected in HAP-fp, was not detected in HAP-kp, which was attributed to the absence of distinctive lamellar morphology of kHAP splats. Unlike kHAP, it was proposed that fHAP splats of fully molten fHAP particles achieved thicknesses, which, besides the  $SOD$  and  $T_S$ , also affected the cooling rate of these splats.

The investigation of pH stability in simulated body fluids showed that the addition of human proteins albumin and gamma globulin promoted largest drop in pH changes with time. The addition of  $Ca^{2+}$  ions caused a lower deceleration of pH changes compared to the addition of proteins. Effect of protein and  $Ca^{2+}$  addition on pH changes with time were less pronounced in water solutions with higher initial theoretical concentration of  $HCO_3^-$  ions. In the experiments without active regulation of pH using  $CO_2$ , in the absence of proteins, T-FTIR of surfaces of HACs showed the presence of B-type carbonated apatite. In the presence of proteins, T-FTIR showed the simultaneous presence of B-type carbonated apatite and adsorbed protein species. In the experiments with active regulation of pH using  $CO_2$ , in the absence of proteins, T-FTIR showed an occurrence of minor precipitation of carbonated apatite on the surfaces of HACs. In the presence of proteins, T-FTIR indicated that the precipitation of carbonated apatite and adsorption of proteins occurred simultaneously on the surfaces of HACs.

**KEYWORDS:**

Plasma spray procedure; hydroxyapatite coatings; parameters of the deposition process; chemical, structural, and morphological properties; the mechanism coatings formation; simulated body fluids; human proteins; pH stability; precipitation of carbonated apatite

**SCIENTIFIC FIELD:**

Technical sciences

**SPECIFIC SCIENTIFIC FIELD:**

Metallurgical engineering

**UDC:** 64.018.1/9:67.014:553.641:66.088

# Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. PRETHODNA ISTRAŽIVANJA</b> .....	4
<b>2.1. Atmosferski plazma sprej postupak</b> .....	4
2.1.1. Formiranje plazma mlaza (zona I).....	5
2.1.1.1. <i>Stabilnost električnog luka</i> .....	5
2.1.1.2. <i>Turbulentnost plazma mlaza</i> .....	7
2.1.1.3. <i>Plazma gasovi i hlađenje plazma pištolja</i> .....	8
2.1.1.4. <i>Brzina i temperatura plazma mlaza</i> .....	10
2.1.2. Plazma-prah interakcije (zona II).....	11
2.1.2.1. <i>Protok nosećeg gasa polaznog praha i brzina doziranja</i> .....	12
2.1.2.2. <i>Protok plazma gasa</i> .....	13
2.1.2.3. <i>Veličina i gustina polaznog praha</i> .....	13
2.1.2.4. <i>Zagrevanje čestice u plazma mlazu (Biot-ov broj)</i> .....	20
2.1.2.5. <i>Snaga plazma izvora</i> .....	21
2.1.3. Depozit-substrat interakcije (zona III).....	21
<b>2.2. Termički ciklus zagrevanja i hlađenja čestice HA praha</b> .....	27
2.2.1. Fazne transformacije pri ravnotežnom zagrevanju i hlađenju.....	30
2.2.2. Fazne transformacije pri kvazi-ravnotežnom zagrevanju i hlađenju.....	32
2.2.2.1. <i>Kvazi-ravnotežno (sporo) zagrevanje</i> .....	32
2.2.2.2. <i>Kvazi-ravnotežno (sporo) hlađenje</i> .....	37

2.2.3. Fazne transformacije pri neravnotežnom zagrevanju i hlađenju.....	38
2.2.4. Rekristalizacija iz ACP i tečne faze.....	41
<b>2.3. Hemijska, strukturna i morfološka heterogenost HA prevlaka.....</b>	<b>45</b>
2.3.1. Heterogenost po debljini HA prevlaka.....	45
2.3.1.1. Sun-ov model formiranja HA prevlaka.....	46
2.3.1.2. Fazna (i hemijska) heterogenost.....	48
2.3.1.3. Poroznost.....	54
2.3.1.4. Prsline.....	57
2.3.2. Heterogenost u površinskim delovima HA prevlaka.....	60
2.3.3. Metode za smanjenje heterogenosti HA prevlaka.....	63
<b>2.4. Uticaj parametara procesa nanošenja na svojstva HA prevlaka.....</b>	<b>66</b>
2.4.1. Uticaj svojstava polaznog HA praha.....	68
2.4.1.1. Uticaj morfologije HA praha.....	69
2.4.1.2. Uticaj polaznog sastava HA praha.....	73
2.4.1.3. Uticaj veličine HA praha.....	75
2.4.2. Uticaj snage plazma izvora.....	79
2.4.3. Uticaj rastojanja substrata od izlaza mlaznice ( <i>SOD</i> ).....	82
2.4.4. Uticaj predgrevanja substrata ( $T_S$ ).....	85
2.4.5. Uticaj drugih parametara procesa nanošenja.....	88
<b>2.5. Biomineralizacija HA prevlaka.....</b>	<b>90</b>
2.5.1. Razvoj simuliranih telesnih tečnosti.....	91
2.5.2. Biomaterijali; osteointegracija implantata; uloga HA prevlaka.....	93

2.5.3. Proučavanje biomineralizacije u simuliranim telesnim tečnostima.....	97
2.5.3.1. <i>Stabilnost pH simuliranih telesnih tečnosti</i> .....	100
2.5.3.1.1. <u>Uticaoj sastava simulirane telesne tečnosti</u> .....	100
2.5.3.1.2. <u>Uticaoj rastvaranja HA prevlaka</u> .....	101
2.5.3.1.3. <u>Uticaoj taloženja karbonatnog apatita</u> .....	103
2.5.3.2. <i>Uticaoj prisustva proteinskih vrsta</i> .....	106
2.5.3.2.1. <u>Uticaoj na stabilnost pH simuliranih telesnih tečnosti</u> .....	106
2.5.3.2.2. <u>Uticaoj na procese rastvaranja HA prevlaka i taloženja karbonatnog apatita</u> .....	107
<b>2.6. Metode ispitivanja</b> .....	109
2.6.1. Mikro-Ramanova spektroskopija (MRS).....	109
2.6.1.1. <i>Klasična teorija Ramanovog rasejanja</i> .....	110
2.6.1.2. <i>Kvantna teorija Ramanovog rasejanja</i> .....	112
2.6.1.3. <i>MRS analiza HA prevlaka</i> .....	116
2.6.1.3.1. <u>Raman spektri CaO, CaCO<sub>3</sub> i Ca(OH)<sub>2</sub></u> .....	116
2.6.1.3.2. <u>Raman spektri α-TCP, β-TCP i TTCP i HA</u> .....	117
2.6.1.3.3. <u>Raman spektri ACP i OA</u> .....	120
2.6.1.3.4. <u>Opseg frekvencija između 900 i 1020 cm<sup>-1</sup> u Raman spektrima HA</u> .....	121
2.6.1.3.5. <u>MRS analiza prisustva OH- grupa u HA prevlakama</u> .....	124
2.6.2. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR).....	126



2.6.2.1. FTIR vs. MRS.....	126
2.6.2.2. Osnove T-FTIR i ATR-FTIR metoda.....	127
<u>2.6.2.2.1. T-FTIR.....</u>	127
<u>2.6.2.2.2. ATR-FTIR.....</u>	128
2.6.2.3. FTIR analiza HA prevlaka.....	129
<u>2.6.2.3.1. . FTIR spektri CaO, CaCO<sub>3</sub> i Ca(OH)<sub>2</sub>.....</u>	129
<u>2.6.2.3.2. . FTIR spektri α-TCP, β-TCP, TTCP i HA.....</u>	130
<u>2.6.2.3.3. ACP i OA.....</u>	132
<u>2.6.2.3.4. OH i CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> hemijske funkcionalne</u> <u>grupe HA i prisustvo proteina.....</u>	133
2.6.3. Rentgenska difraktometrija praha (XRPD).....	138
2.6.3.1. Teorijske osnove XRPD analize.....	138
2.6.3.2. XRPD analiza HA prevlaka.....	141
2.6.3.3. Relativna kristaličnost HA prevlaka.....	144
2.6.4. Svetlosna mikroskopija (SM).....	146
2.6.5. Skenirajuća elektronska mikroskopija sa energetsko disperzivnom spektrometrijom (SEM-EDS).....	146
2.6.6. Energetsko-disperzivna fluorescencija rentgenskog zračenja (XRF).....	148
<b>3. CILJEVI RADA.....</b>	<b>149</b>
<b>4. EKSPERIMENTALNI DEO.....</b>	<b>151</b>
<b>4.1. Vrste, redosled i ciljevi eksperimenata i ispitivanja.....</b>	<b>151</b>

<b>4.2. Eksperimentalne procedure</b> .....	155
4.2.1. Eksperimenti nanošenja HA prevlaka.....	155
4.2.1.1. <i>Materijali</i> .....	155
4.2.1.2. <i>Procedura nanošenja HA prevlaka</i> .....	156
4.2.1.3. <i>Parametri procesa nanošenja</i> .....	159
4.2.2. Eksperimenti u simuliranim telesnim tečnostima.....	161
4.2.2.1. <i>Reagensi za simulirane telesne tečnosti</i> .....	161
4.2.2.2. <i>Pravljenje polaznih simuliranih telesnih tečnosti</i> .....	161
4.2.2.3. <i>Eksperimentalna postavka za testiranje pH stabilnosti</i> <i>i taloženja karbonatnog apatita</i> .....	163
4.2.2.4. <i>Ispitivanja pH stabilnosti simuliranih telesnih tečnosti</i> .....	164
4.2.2.5. <i>Ispitivanje sklonosti ka formiranju karbonatnog</i> <i>apatita na površini HA prevlaka u simuliranim</i> <i>telesnim tečnostima</i> .....	166
<b>4.3. Uslovi ispitivanja</b> .....	169
4.3.1. Energetsko-disperzivna fluorescencija rentgenskog zračenja (XRF).....	169
4.3.2. Rentgenska difraktometrija praha (XRPD).....	169
4.3.3. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR).....	172
4.3.3.1. <i>ATR-FTIR</i> .....	172
4.3.3.2. <i>T-FTIR</i> .....	173
4.3.4. Kalibrisani mikrometar.....	174
4.3.5. Mikro-Ramanova spektroskopija (MRS).....	175

4.3.5.1. MRS polaznih HA prahova i površina HA prevlaka.....	175
4.3.5.2. MRS merenja u pravcu debljine HA prevlaka.....	177
4.3.6. Svetlosna mikroskopija (SM).....	183
4.3.7. Skenirajuća elektronska mikroskopija sa energetsko-disperzivnom spektrometrijom (SEM-EDS).....	184
4.3.8. Mase reagenasa, pH, temperatura i zapremina simuliranih telesnih tečnosti.....	186
<b>5. REZULTATI.....</b>	<b>187</b>
<b>5.1. Svojstva polaznih HA prahova.....</b>	<b>187</b>
5.1.1. Morfološka svojstva (SEM).....	187
5.1.2. Hemijska svojstva (XRF i EDS).....	188
5.1.3. Identifikacija faza (XRPD).....	189
5.1.4. Identifikacija hemijskih funkcionalnih grupa (MRS).....	190
5.1.5. Identifikacija hemijskih funkcionalnih grupa (ATR-FTIR).....	193
<b>5.2. Analiza površinskih delova i debljine HA prevlaka.....</b>	<b>195</b>
5.2.1. Identifikacija faza i srednje fazne promene.....	195
5.2.1.1. Uticaj veličine polaznog HA praha.....	195
5.2.1.1.1. XRPD analiza.....	195
5.2.1.1.2. MRS analiza.....	197
5.2.1.1.3. FTIR analiza.....	199
5.2.1.2. Uticaj SOD i $T_s$ .....	202

5.2.1.2.1. <u>XRPD analiza</u> .....	202
5.2.1.2.2. <u>MRS analiza</u> .....	203
5.2.1.3. <i>Srednje relativne površinske kristaličnosti</i>	
<i>HA prevlaka (MRS vs. XRPD)</i> .....	204
5.2.2. Uniformnost debljine HA prevlaka.....	207
5.2.2.1. <i>Uticaj veličine polaznog HA praha</i> .....	207
5.2.2.2. <i>Uticaj SOD i <math>T_S</math></i> .....	208
5.2.3. Fazna heterogenost površine HA prevlaka.....	211
5.2.3.1. <i>Uticaj veličine polaznog HA praha</i> .....	211
5.2.3.2. <i>Uticaj SOD i <math>T_S</math></i> .....	214
5.2.4. Lokalni relativni intenziteti $R_1$ , $R_2$ i $R_3$ Raman pikova vs. lokalne debljine HA prevlaka.....	217
<b>5.3. Analiza u pravcu debljine HA prevlaka</b> .....	<b>218</b>
5.3.1. Analiza uzoraka sečenih dijamantskom testerom (lokacije 9 i 1).....	219
5.3.1.1. <i>Opšta analiza faznih promena</i> .....	219
5.3.1.1.1. <u>MRS analiza</u> .....	219
5.3.1.1.2. <u>XRPD i SM analize</u> .....	220
5.3.1.2. <i>Uticaj veličine polaznog HA praha</i> .....	225
5.3.1.2.1. <u>MRS analiza (promene relativnih</u> <u>intenziteta <math>R_1</math>, <math>R_2</math> i <math>R_3</math>)</u> .....	225
5.3.1.2.2. <u>SM analiza (poroznost i delimično</u> <u>istopljene čestice polaznih HA prahova)</u> .....	229

5.3.1.2.3. <u>SM analiza (raspodela amorfnih i rekristalisanih oblasti)</u> .....	232
5.3.1.3. <i>Uticaj SOD i <math>T_s</math></i> .....	235
5.3.1.3.1. <u>MRS analiza (promene relativnih intenziteta <math>R_1</math>, <math>R_2</math> i <math>R_3</math>)</u> .....	235
5.3.1.3.2. <u>SM analiza (poroznost i delimično istopljene čestice polaznih HA prahova)</u> .....	240
5.3.1.3.3. <u>SM analiza (raspodela amorfnih i rekristalisanih oblasti)</u> .....	241
5.3.2. Analiza HAP-fp sečenih ručnom testerom (lokacija 5).....	244
5.3.2.1. <i>Efekat sečenja ručnom testerom</i> .....	244
5.3.2.2. <i>Linijska EDS analiza</i> .....	245
5.3.2.3. <i>Uticaj SOD</i> .....	247
5.3.2.4. <i>Uticaj <math>T_s</math></i> .....	251
5.3.3. Analiza HAP-kp sečenih ručnom testerom (lokacija 5).....	254
5.3.3.1. <i>Uticaj SOD</i> .....	254
5.3.3.2. <i>Uticaj <math>T_s</math></i> .....	258
5.3.4. Promene intenziteta Ramanovih modova OH <sup>-</sup> grupa u pravcu debljine HA prevlaka.....	263
5.3.5. Procena zaostalih naprezanja u površinskim delovima HA prevlaka.....	265
<b>5.4. Biomineralizacija HA prevlaka</b> .....	<b>267</b>
5.4.1. Promene u ATR-FTIR spektrima i pH vrednosti tokom pripreme polaznih HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti.....	267

5.4.2. Procedura za postizanje polaznih pH vrednosti HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti.....	270
5.4.3. Stabilnost pH i karbonatnih vrsta u HHS i NS simuliranim telesnim tečnostima.....	273
5.4.4. Sklonost ka formiranju karbonatnog apatita na površini HA prevlaka u HHS simuliranoj telesnoj tečnosti.....	277
<b>6. DISKUSIJA.....</b>	<b>283</b>
<b>6.1. Hemijska, strukturna i morfološka svojstva HA prahova i prevlaka.....</b>	<b>283</b>
6.1.1. Uticaj svojstava polaznih HA prahova.....	283
6.1.2. Fazne promene u površinskim delovima HA prevlaka u odnosu na polazno stanje HA prahova i uticaj veličine HA praha.....	287
6.1.2.1. Prisustvo <i>TTCP</i> i <i>TCP</i> faza.....	287
6.1.2.2. Prisustvo <i>CaO</i> faze.....	289
6.1.2.3. Prisustvo <i>OA</i> faze.....	290
6.1.2.3. Prisustvo <i>ACP</i> i <i>HA</i> faza.....	291
6.1.3. Analogija između promena sume srednjih relativnih intenziteta $R_2+R_3$ (MRS) i srednje relativne kristaličnosti (XRPD) površinskih delova HA prevlaka.....	292
6.1.4. Veza između fazne heterogenosti površine HA prevlaka i procesa rekristalizacije tokom formiranja HA prevlaka.....	294
6.1.5. Analogija između uticaja SOD i promena	

morfoloških svojstava HA prevlaka u pravcu interfejsa prevlaka/substrat i uticaj SOD.....	298
6.1.6. Uticaj predgrevanja substrata ( $T_S$ ).....	303
6.1.7. Prslina, promena intenziteta Ramanovih modova OH <sup>-</sup> grupa u pravcu debljine HA prevlaka i zaostala makro-naprezanja.....	306
6.1.8. Dopuna <i>Sun-ovog</i> modela formiranja HA prevlaka.....	308
<b>6.2. Eksperimenti u simuliranim telesnim tečnostima i     biomineralizacija HA prevlaka.....</b>	<b>310</b>
6.2.1. Polazne simulirane telesne tečnosti.....	310
6.2.2. Stabilnost pH simuliranih telesnih tečnosti.....	311
6.2.3. Formiranje karbonatnog apatita na površini HA prevlaka.....	313
<b>7. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>315</b>
<b>8. LITERATURA.....</b>	<b>324</b>
<b>PRILOZI.....</b>	<b>346</b>
PRILOG A.....	347
PRILOG B.....	380
PRILOG C.....	392
PRILOG D.....	445
PRILOG E.....	464
PRILOG F.....	501

# 1. UVOD

Biomaterijali na bazi metala, poput nerđajućeg čelika, legura na bazi kobalta, titanijuma i njegovih legura, se često primenjuju kao ortopedski implantati. Nedostaci ovih vrsta implantata su korozija u biološkim sistemima, slaba fiksacija, infekcije vezane za prisustvo bakterija i dr. Kao posledica ovih nedostataka, često je slučaj da se pacijenti oporavljaju dugo nakon njihove ugradnje, a neretko implantati bivaju odbačeni od strane ljudskog organizma. Jedan od načina prevazilaženja nedostataka vezanih za implantate na bazi metala se sastoji u modifikaciji njihove površine nanošenjem kalcijum-hidroksiapatitnih prevlaka (u daljem tekstu: hidroksiapatitnih prevlaka). S obzirom da hidroksiapatitne prevlake imaju sastav koji je sličan sastavu neorganskog dela koštanog tkiva, njihova primena može značajno da unapredi biokompatibilnost metalnih implantata. Veliki nedostaci hidroksiapatitnih prevlaka su krtost i slaba otpornost na habanje, zbog čega je njihova primena ograničena na fiksacioni deo ortopedskih implantata. Hidroksiapatitne prevlake nanese atmosferekim plazma sprej postupkom trenutno predstavljaju najprimenjeniju vrstu prevlaka kod medicinskih implantata. Do danas, ova vrsta prevlaka je ujedno i najizučavanija grupa hidroksiapatitnih prevlaka.

Atmosferski plazma sprej postupak predstavlja jedan od najekonomičnijih i najefikasnijih metoda za nanošenje prevlaka. Ono što izdvaja atmosferekim plazma sprej postupak u poređenju sa ostalim postupcima nanošenja jeste zadovoljavajući opseg debljina HA prevlaka koji može da se postigne, zadovoljavajuća čvrstoća (adhezion + kohezion), visoka produktivnost procesa nanošenja i niska cena. Međutim, u konvencionalnim plazma instalacijama, plazma mlaz na izlazu iz mlaznice je najčešće turbulentan sa nehomogenom raspodelom temperature i brzine u radijalnom i aksijalnom pravcu, zbog čega je primena ovakvih plazma izvora nepovoljna. S jedne strane, turbulencije proizvode kompleksne trajektorije čestica kroz plazma mlaz i na taj način utiču na kontinualnost prelaza toplote sa visokotemperaturne plazme na čestice polaznog HA praha, dok, s druge strane, utiču na kontinualnost njihove brzine. Kao posledica prethodnog, HA prevlake dobijene turbulentnim plazma mlazom najčešće poseduju povećanu poroznost, slabiju kohezionu i adhezionu čvrstoću, mikroprrsline i dr. Pored toga, u poslednjih par dekada prisutna je tendencija primene konvencionalnih



atmosferskih plazma sprej postupaka koji koriste niskoenergetske plazma izvore (<30 kW). S jedne strane, ovakva primena rezultira prisustvom manje nečistoća u HA prevlakama, koje su posledica termičke razgradnje čestica polaznog HA praha u plazma mlazu, dok, s druge strane, HA prevlake najčešće poseduju veću poroznost i nisku adheziju i koheziju čvrstoću.

Veliki broj prethodnih istraživanja obuhvatao je ispitivanja početnih stadijuma procesa biomineralizacije HA prevlaka (rastvaranje HA i taloženje karbonatnog apatita) u simuliranim telesnim tečnostima čiji sastav ne odgovara sastavu ljudske krvne plazme. Neodgovarajući sastav se pre svega odnosi na primenu nefizioloških puferских sistema za održavanje stabilnosti pH simuliranih telesnih tečnosti, tj. na primenu puferских sistema koje ne sadrži ljudska krv. Pored toga, molarni odnos natrijuma i hlora, kao i sadržaj hidrogenkarbonata, značajno varira od studije do studije. Ono što je neophodno posebno istaći je da u raspoloživoj literaturi nije pronađena nijedna studija koja je razmatrala proces biomimetalizacije HA prevlaka, a koja je tretirala sastav simuliranih telesnih tečnosti u kontekstu kiselo-baznih poremećaja. Takođe, nisu pronađene studije koje uzimaju u obzir modernu analizu krvne plazme i krvi uopšte, koja se bazira na tradicionalnom i modernom pristupu Siggard-Andersen-a i Stewart-a, respektivno. Danas postoji sve veća težnja za ispitivanjem uticaja prisustva različitih proteinskih vrsta (pre svega ljudskog albumina) na procese rastvaranja HA i taloženja karbonatnog apatita u simuliranim telesnim tečnostima. S jedne strane, ispitivanja uticaja proteina se i dalje vrše u prisustvu nefizioloških pufera, iako postoje razvijeni sistemi za održavanje pH pomoću CO<sub>2</sub> u kojima je primena nefizioloških pufera apsurdna, dok, s druge strane, uticaj proteina u ovakvim sistemima nije dovoljno ispitan.

Glavni naučni ciljevi ove doktorske disertacije su bili da se ispituju: (i) hemijska, strukturna i morfološka svojstva HA prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim atmosferskim plazma sprej postupkom i (ii) proces početnog stadijuma procesa biomineralizacije na površinama dobijenih HA prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima u kojima se regulacija pH ostvaruje pomoću CO<sub>2</sub>.

HA prevlake su dobijene visokoenergetskim (~52 kW) atmosferskim plazma postupkom primenom PJ-100 instalacije (Plasma Jet, Beograd, Srbija). Plazma mlaz koji je generisan u ovoj instalaciji poseduje svojstva laminarnosti protoka, homogenosti temperature i brzine u poređenju sa konvencionalnim plazma instalacijama. Njegova

specifična svojstva su neobično dugačak mlaz (60-70 mm; što je gotovo dvostruka dužina konvencionalnog mlaza), velika homogenost temperature u radijalnom i aksijalnom pravcu, kao i laminarnost protoka plazme koja se prostire do  $\sim 2/3$  dužine mlaza. Brzine plazma mlaza koje su merene u zoni od 60-70 mm od izlaza iz mlaznice se kreću između 1500-1800 m/s. Za iste dužine plazma mlaza i snage plazma izvora u opsegu 11-24 kW, brzine konvencionalnog plazma mlaza su 200-400 m/s.

Proučavanje hemijsko-strukturne heterogenosti HA prevlaka je izvršeno primenom mikro-Ramanove spektroskopije kao glavne metode karakterizacije. Prednost ovog metoda je ta što daje informacije o hemijsko-strukturnim svojstvima u mikrometarskim razmerama, pa samim tim predstavlja odgovarajući metod za proučavanje mikro- i makro-strukturne heterogenosti HA prevlaka. Ovaj metod nije u dovoljnoj meri primenjen za ispitivanje HA prevlaka do danas. Međutim, njegova primena je vidno povećana u prethodnoj dekadi, a pojedini autori su naglasili da mikro-Ramanova spektroskopija može značajno da doprinese boljem razumevanju procesa nanošenja HA prevlaka atmosferskim plazma sprej postupkom. Pomoćne metode, kojima su potvrđeni rezultati dobijeni u ovom radu primenom mikro-Ramanove spektroskopije, bile su infracrvena spektroskopija sa Fourier-ovom transformacijom, rentgenska difraktometrija praha, skenirajuća elektronska mikroskopija sa energetske-disperzivnom spektrometrijom i svetlosna mikroskopija.

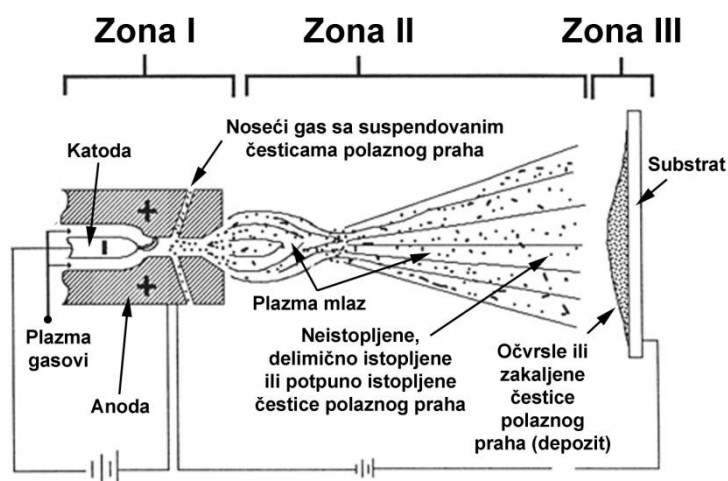
Pored karakterizacije HA prevlaka, u ovom radu je razvijen postupak pravljenja simuliranih telesnih tečnosti primenom fizioloških puferskih sistema. S obzirom da moderna analiza krvi uzima u obzir proteine albumin i globulin kod razmatranja kiselo-baznog statusa krvi, izvršeno je ispitivanje uticaja fiziološke smeše ljudskog albumina i gama-globulina na stabilnost pH napravljenih simuliranih telesnih tečnosti. Pored toga, u ovim simuliranim telesnim tečnostima izvršeno je ispitivanje formiranja karbonatnog apatita na površinama nanesenih HA prevlaka u prisustvu i odsustvu proteinskih vrsta. Taloženje karbonatnog apatita u simuliranoj telesnoj tečnosti je izazvano porastom pH usled difuzije  $\text{CO}_2$  iz rastvora u okolnu atmosferu, što je metod koji se primenjuje kod masovne proizvodnje biomimetičkih prevlaka karbonatnog apatita na površinama materijala za implantate. Takođe, ovi eksperimenti su rađeni na približno konstantnoj pH koja je aktivno regulisana dodavanjem  $\text{CO}_2$  u simuliranu telesnu tečnost.

## 2. PRETHODNA ISTRAŽIVANJA

### 2.1. Atmosferski plazma sprej postupak

Sl.1 shematski prikazuje poprečni presek konvencionalnog plazma pištolja koji koristi izvor jednosmerne struje (*eng.* Direct Current – DC) i funkcioniše u atmosferskim uslovima sredine [1]. Na slici su prikazane tri osnovne zone interakcije tokom procesa nanošenja prevlaka ovim postupkom [1,2]:

- Zona I – formiranje plazma mlaza
- Zona II – plazma-prah interakcije
- Zona III – prah-substrat interakcije



Sl.1. Shematski prikaz plazmatrona i zona interakcija tokom atmosferskog plazma procesa (adaptirano iz [2]).

Plazma gasovi, koji se uvode duž katode, bivaju zagrejani pomoću električnog luka, nakon čega napuštaju mlaznicu u formi plazma mlaza (zona I) [2]. Kada se plazma mlaz stabilizuje na izlazu iz mlaznice, tada se noseći gas, u kome je suspendovan polazni prah, ubrizgava u plazma mlaz, pri čemu dolazi do interakcije između čestica praha i plazma mlaza (zona II). Na kraju, ovakve čestice udaraju u substrat, a svaka od njih

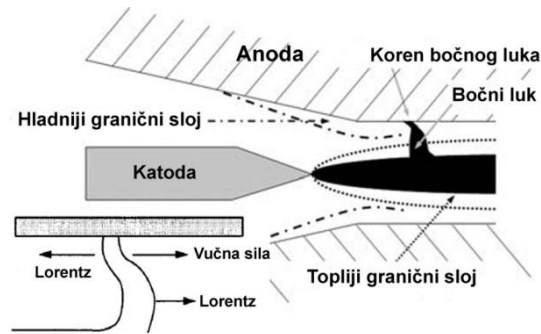
formira depozit u obliku diska (zona III). Tokom vremena, veliki broj čestica koji se nanese na substrat formira prevlaku određene gustine [2].

### **2.1.1. Formiranje plazma mlaza (zona I)**

Svojstva plazma mlaza, kao što su temperatura i brzina na izlazu iz mlaznice, kao i homogenost ovih svojstava, su uslovljeni stabilnošću korena električnog luka na anodi/mlaznici i turbulentnošću plazma mlaza na izlazu iz mlaznice.

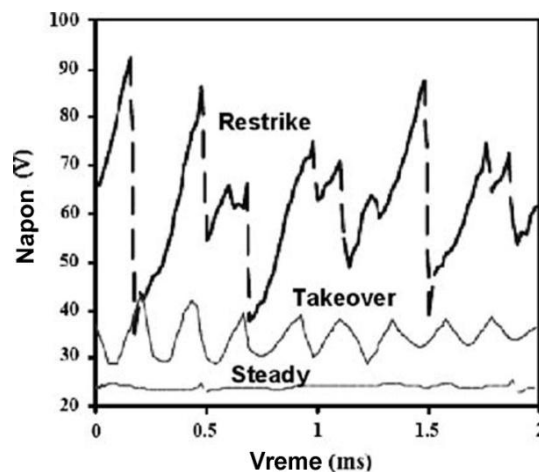
#### *2.1.1.1. Stabilnost električnog luka*

U plazma procesu koji koristi jednosmernu struju, električni luk se formira između katode i anode [3,4]. Stub električnog luka sa katode se prostire u pravcu koji je paralelan zidovima anode (mlaznice) kroz zapreminu u kojoj je električna provodljivost dovoljno visoka za provođenje struje (što odgovara temperaturi plazma gasova reda veličine 7000-8000 °C). Električni luk sa katode ne udara direktno u anodu, već preko bočnog luka kroz hladni granični sloj plazma gasa na mestima gde je gas dovoljno zagrejan (Sl.2). Na bočni luk dejstvuju dve sile: (i) dinamična vučna sila plazma gasova, koja deluje u smeru kretanja plazma gasa, i (ii) *Lorentz-ova* sila, koja deluje u suprotnom smeru (Sl.2, levi donji ugao) [3]. *Lorentz-ova* sila se javlja usled asimetrične interakcije struje električnog luka i njenog magnetnog polja i deluje u smeru od centra zakrivljenja luka, tj. u smeru suprotnom od smera kretanja plazma gasa [3]. Pod dejstvom dinamične vučne sile, bočni luk se izdužuje, a pod dejstvom *Lorentz-ove* sile se zakrivljuje, što ukupno izaziva postepeno povećanje napona na njemu [3,4]. Kada ovaj napon dostigne neku kritičnu vrednost, bočni luk se prekida i ponovo uspostavlja na drugoj lokaciji, što dovodi do promene napona na njemu. Opisane pojave su odgovorne za fluktuacije napona električnog luka, a time i snage plazma izvora. One utiču na zagrevanje plazma gasova, kao i na brzinu, dužinu, širinu i strujanje plazma mlaza na izlazu iz mlaznice.



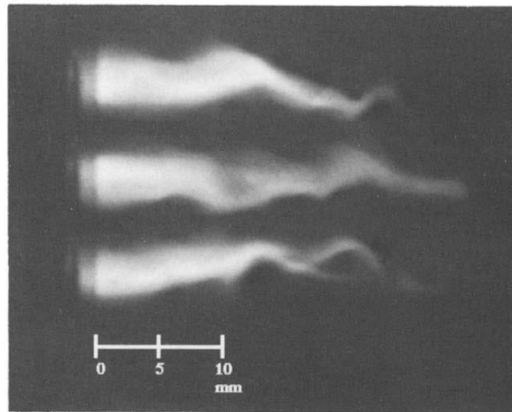
**Sl.2.** Formiranje bočnog električnog luka i sile koje deluju na koren električnog luka (donji levi ugao) u plazma pištolju (adaptirano iz [3,4]).

Sl.3 prikazuje tri principijelna tipa promene napona električnog luka koji mogu da se jave tokom atmosferskog plazma sprej procesa [3,4]. U slučaju ravnotežnog (*eng. steady*) tipa, životni vek anode je najkraći [4].



**Sl.3.** Tipovi promene napona električnog luka u slučaju konvencionalnog atmosferskog plazma sprej postupka (adaptirano iz [4]).

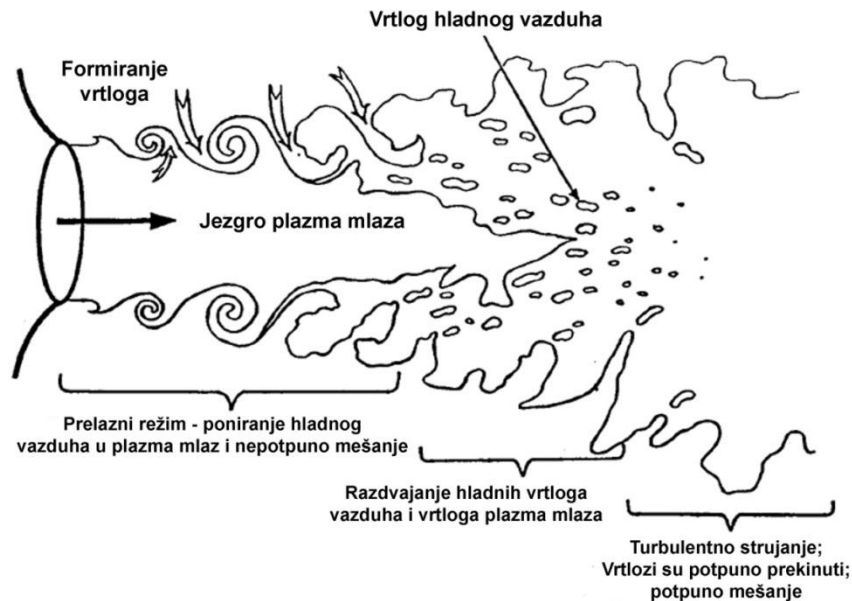
Sl.4 prikazuje evoluciju plazma mlaza u vremenskom intervalu od 100 ns gde se primećuje pojava „bičevanja“ i pojava pulsiranja (skraćenje/produženje) plazma mlaza na izlazu iz mlaznice, što su pojave koje se povezuju sa nestabilnošću električnog luka, tj. sa aksijalnim i radijalnim kretanjem bočnog luka [3].



**Sl.4.** Uticaj translatornog i kružnog kretanja nestabilnog električnog luka na oblik plazma mlaza na izlazu iz mlaznice (adaptirano iz [3]).

#### *2.1.1.2. Turbulentnost plazma mlaza*

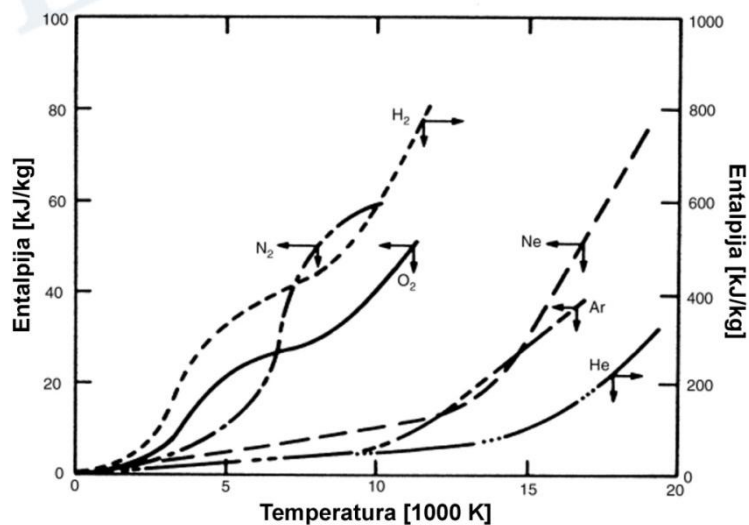
Na izlazu iz mlaznice (Sl.5), plazma mlaz nailazi na strmo laminarno smicanje po obodu mlaza koje je uzrokovano drastičnom razlikom u brzinama kretanja plazma mlaza i okolnog vazduha [3]. Ova razlika izaziva kolutanje smicajnog sloja i formiranje manjih vrtložnih struja, koje pod dejstvom dinamične vučne sile bivaju ponovljene i intenzivirane. Na ovaj način postepeno dolazi do koalescencije manjih vrtložnih struja i formiranja većih, koje postaju nestabilnije (prelazni režim strujanja), što na kraju dovodi do prekida vrtložne strukture i formiranja vrtloga velikih razmera i uspostavljanja turbulentnog režima strujanja. Ovakav proces formiranja nestabilnih susednih vrtloga koji zahvataju i poniru okolni vazduh se dešava i u procesu formiranja manjih vrtložnih struja na samom izlazu iz mlaznice, ali u značajno manjoj meri. Hladni delovi vrtloga velikih razmera (vazduh) imaju veće gustine i veću inerciju od svojih toplijih delova (plazma mlaz) i kreću se u aksijalnom smeru mnogo manjom brzinom, dok visokotemperaturna plazma suštinski ubrzava, ali pri nailasku na hladni vazduh stagnira. Svi vrtlozi velikih razmera se bočno prekidaju i svode na manje vrtloge koji nestaju procesom difuzije sve do vrha centralne ose plazma mlaza koja označava prekid laminarnog strujanja plazma mlaza. Bočni delovi plazma mlaza na samom izlasku iz mlaznice vrlo brzo prelaze iz laminarnog u prelazni turbulentni režim strujanja, koji na vrhu plazma mlaza prelazi u potpuno turbulentni režim. Jezgro ili centralni deo plazma mlaza struji laminarnim tokom [3].



**Sl.5.** Glavne oblasti prelaznog plazma mlaza (adaptirano iz [3]).

### 2.1.1.3. Plazma gasovi i hlađenje plazma pištolja

U atmosferskom plazma sprej postupku sa jednosmernom strujom zagrevanje gasova može da izazove temperature koje prelaze  $(1.5-2.0) \times 10^5$  °C u zavisnosti od svojstava i kombinacije primenjenih gasova [2,5]. Sl.6 prikazuje promenu entalpije plazma gasova sa temperaturom, pri čemu entalpija ukazuje na potencijal jonizacije (ili atomizacije i jonizacije u slučaju molekularnih gasova) gasa pri njegovom zagrevanju. Monoatomni gasovi argon (Ar), neon (Ne) i helijum (He) jonizuju i pri tom oslobađaju elektrone i energiju, dok molekularni gasovi, poput azota (N<sub>2</sub>), vodonika (H<sub>2</sub>) i kiseonika (O<sub>2</sub>), prvo disosuju na atomske vrste, a kasnije jonizuju, što su egzotermni procesi, zbog čega se vidi dvostepena promena entalpije sa povećanjem temperature i raniji porast entalpije sa temperaturom u poređenju sa monoatomnim gasovima [2,5].



**Sl.6.** Promena entalpije sa temperaturom monoatomnih i dvoatomnih plazma gasova (adaptirano iz [5]).

U atmosferskom plazma sprej procesu se najčešće, kao primarni plazma gas, koristi Ar [2]. Kao sekundarni plazma gas se najčešće koristi H<sub>2</sub>. Razlog korišćenja sekundarnog plazma gasa tokom nanošenja plazma postupkom je povećanje entalpije plazme u slučajevima kada je neophodno da se dostignu uslovi topljenja teško topljivih prahova, poput Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ZrO<sub>2</sub> i dr.

Plazma gasovi se uvode aksijalno ili sa vrtložnom komponentom [2,3]. Uvođenje gasova sa vrtložnom komponentom stabilise plazma mlaz u centru anodne kolone (šuplji cilindar) [3]. Pri uvođenju plazma gasova u plazmatron (plazma pištolj), zagrejani gasovi se šire aksijalno i radijalno i ubrzavaju ovu ekspanziju na izlazu iz mlaznice [5]. U zavisnosti od odnosa protivstrujnog toka oko električnog luka i strujnog toka na izlazu iz mlaznice, plazma gasovi mogu da se šire subsoničnom ili supersoničnom brzinom. Tako, u zavisnosti od primene, konstrukcija plazma pištolja može da podržava subsoničnu ili supersoničnu ekspanziju plazma gasova u slučajevima kada je neophodno da se poveća ili smanji vreme boravka čestica polaznog praha u plazma mlazu, respektivno.

Izbor gasova umnogome zavisi od reaktivnosti gasa prema katodnom i anodnom materijalu, vrsti praha koja se koristi, ali i od bezbednosnih aspekata procesa nanošenja, posebno u slučaju H<sub>2</sub>. Zbog toga, najčešće se primenjuju inertni gasovi, pre svega Ar



kao primarni plazma gas. Sekundarni plazma gas je često molekularni gas čiji je udeo u smeši plazma gasova obično značajno manji.

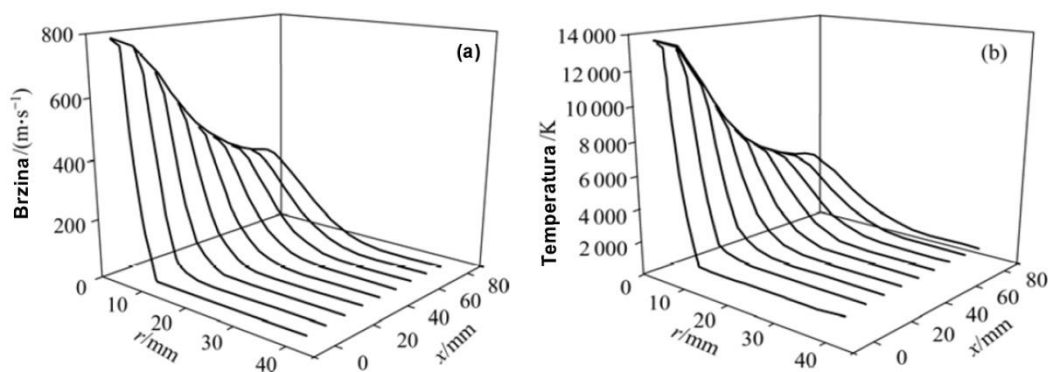
Hlađenje vodom plazma pištolja, tj. anode (mlaznice), podstiče efikasniju ekspanziju plazma gasova, dok istovremeno ograničava pomeranje korena električnog luka na anodi/mlaznici i na taj način vrši stabilizaciju električnog luka [5]. Pored toga, plazma pištolji se hlade vodom kako bi se sprečilo topljenje materijala anode, kao i erozija katodnog i anodnog materijala. Katoda koja je izložena visokotemperaturnoj plazmi se oslanja na visoku temperaturu topljenja volframa (W) ( $>3200\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), a hladi se konvektivnim prenosom toplote na okolni plazma gas koji se najčešće uvodi hladan kroz prostornu šupljinu oko katode u smeru ka izlazu iz mlaznice. Hlađenje vodom se obično vrši pri protocima između 11 i 45 l/min, dok se snaga plazma izvora za nanošenje prahova raznih vrsta kreće do 200 kW [5]. Takođe, postoje konstrukcije plazma pištolja koje omogućavaju hlađenje katode vodom.

#### *2.1.1.4. Brzina i temperatura plazma mlaza*

Brzina i temperatura plazme na izlazu iz mlaznice su najvažnija svojstva plazme i kao takva su najviše izučavana. Zbog nemogućnosti direktnih merenja unutar plazmatrona teško je uspostaviti direktnu vezu između primarnih faktora (dizajn mlaznice, snaga plazma izvora, vrsta i protok plazma gasova, aksijalno rastojanje od izlaza mlaznice, radijalno rastojanje od centra plazma mlaza i dr.) i sekundarnih faktora (brzina i temperatura) plazma mlaza [1]. Uticaj dizajna mlaznice se može objasniti na primeru konusne i cilindrične mlaznice, gde se primenom cilindrične mlaznice postižu značajno veće brzine i temperature plazma mlaza [6]. Takođe, slično se postiže povećanjem snage plazma izvora [6]. S obzirom da je protok primarnog gasa (npr. Ar) dominantan, on ima najveći uticaj na brzinu čestica plazma mlaza, dok sekundarni plazma gas, s obzirom na njegov uticaj na entalpiju plazma gasa, ima dominantan uticaj na temperaturu plazma gasa. Pomenuti primarni parametri imaju analogan uticaj na brzinu i temperaturu čestica polaznog praha [7].

Sl.7a prikazuje raspodelu aksijalne brzine u radijalnom pravcu plazma mlaza ( $r/\text{mm}$ ) na različitim rastojanjima od izlaza iz mlaznice u aksijalnom pravcu ( $x/\text{mm}$ ) [8]. Sl.7b prikazuje analogne raspodele temperature [8]. Najveće aksijalne brzine i

temperature plazma mlaza su skoncentrisane u centralnom delu plazme, dok pri većem radijalnom rastojanju,  $r$ , dolazi do drastičnog pada brzine i temperature na samo  $\pm 1$  cm od aksijalne ose plazma mlaza [8]. Međutim, sa povećanjem aksijalnog rastojanja od izlaza iz mlaznice,  $x$ , brzina i temperatura u centralnom delu plazma mlaza primetno opadaju, dok u radijalnom pravcu rastu na rastojanjima većim od  $\pm 1$  cm od aksijalne ose plazma mlaza. Ovo ukazuje na to da plazma mlaz usporava u centralnim delovima, a ekspanduje i ubrzava u svojim bočnim delovima sa povećanjem aksijalnog rastojanja od izlaza iz mlaznice. Drugim rečima, ovi rezultati pokazuju da se sa povećanjem aksijalnog rastojanja od izlaza iz mlaznice smanjuju brzinske i temperaturne razlike između bočnih i centralnih delova plazma mlaza. Rezultati drugih studija su pokazali slične aksijalne i radijalne raspodele brzine i temperature plazma mlaza na izlazu iz mlaznice [9-11].



**SI.7.** Raspodela brzine (a) i temperature (b) plazma mlaza na izlazu iz mlaznice;  $r$  – radijalno rastojanje od aksijalne ose plazma mlaza,  $x$  – aksijalno rastojanje od izlaza iz mlaznice; (adaptirano iz [8]).

### 2.1.2. Plazma-prah interakcije (zona II)

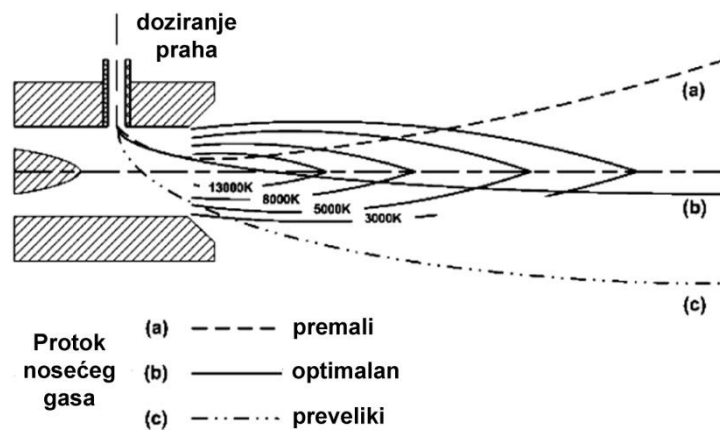
Jedno od najvažnijih svojstava, koje je proizvod interakcije čestica polaznog praha i plazma mlaza, je trajektorija čestica polaznog praha [1]. U zavisnosti od trajektorije koju zauzima tokom boravka u plazma mlazu, svaka čestica polaznog praha poseduje *specifičnu brzinu i temperaturu* na putu ka substratu. Samim tim, svaka čestica se ponaša različito pri udaru u substrat. Zbog ovoga je važno poznavanje osnovnih uticajnih faktora na trajektoriju čestica polaznog praha.

Na trajektoriju čestice polaznog praha u plazma mlazu mogu da imaju uticaja protok nosećeg gasa polaznog praha, brzina doziranja polaznog praha, protok plazma gasova, veličina i gustina polaznog praha, struja (snaga) plazma izvora [9,12-24].

#### *2.1.2.1. Protok nosećeg gasa polaznog praha i brzina doziranja*

Nakon stabilizacije plazma mlaza, proces nanošenja prevlaka započinje doziranjem polaznog praha u plazma mlaz. Doziranje se vrši pomoću nosećeg gasa u kome se nalaze suspendovane čestice polaznog praha. Istraživanja su pokazala da protok nosećeg gasa nema značajnog uticaja na raspodelu brzine i temperature plazma mlaza na lokaciji doziranja neposredno ispred izlaza iz mlaznice [9], što se objašnjava velikom razlikom u brzini (inerciji) plazma mlaza i nosećeg gasa. Ova razlika u inerciji utiče i na neefikasni transfer toplote sa plazma gasa na noseći gas (hlađenje plazma mlaza) zbog čega noseći gas ima mali uticaj na temperaturu plazma mlaza [9].

Sl.8 prikazuje uticaj protoka nosećeg gasa polaznog praha na trajektoriju čestica polaznog praha [17]. Preveliki protok nosećeg gasa izaziva potpunu penetraciju plazma mlaza česticama polaznog praha (trajektorija c), a premali protok ne omogućava penetraciju plazma mlaza česticama polaznog praha (trajektorija a), već naprotiv, rezultira odbacivanjem čestica od strane plazma mlaza. I u jednom i u drugom slučaju dolazi do gubitka odgovarajućih količina polaznog praha, a proces nanošenja prevlaka se ne odvija. U trećem slučaju je prikazana trajektorija kada je protok nosećeg gasa polaznog praha optimalan i kada se nanošenje prevlake postiže (trajektorija b). Treba napomenuti da Sl.8 prikazuje način doziranja praha odozgo, dok postoje konstrukcije plazma pištolja koje podržavaju doziranje praha odozdo [12,14], sa obe strane, odozgo i odozdo [17], ili čak sa više dozera na jednoj ili obe strane.



**Sl.8.** Uticaj protoka nosećeg gasa na prajektoriju čestica praha u plazma mlazu (adaptirano iz [17]).

Brzina doziranja polaznog praha može takođe da ima uticaja na trajektoriju čestica u plazma mlazu. Na primer, pokazano je da dvostruko smanjenje brzine doziranja polaznog praha sa 1000 g/h na 500 g/h (za slučaj kada se doziranje vrši odozdo) menja srednju trajektoriju čestica polaznog praha za ~3 mm u radijalnom pravcu [12].

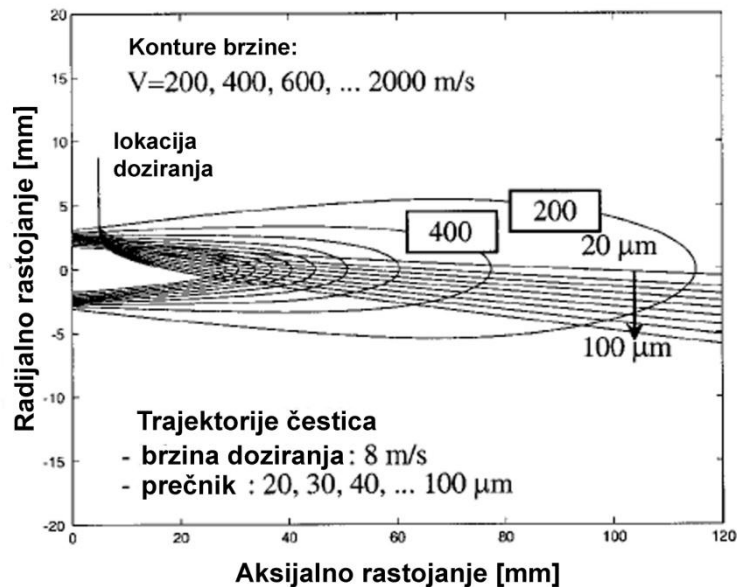
#### 2.1.2.2. Protok plazma gasa

Protok plazma gasa ima uticaja na trajektoriju čestica polaznog praha [21]. Naime, sa povećanjem protoka plazma gasa (Ar) penetracija čestica polaznog praha kroz plazma mlaz postaje otežana, što je efekat sličan premalom protoku nosećeg gasa (Sl.8, trajektorija a).

#### 2.1.2.3. Veličina i gustina polaznog praha

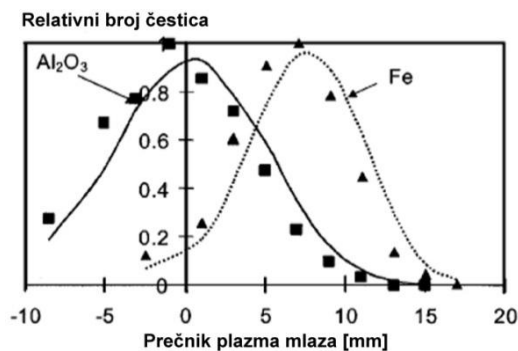
Srednja veličina čestica polaznog praha, kao i opseg i raspodela veličina čestica imaju značajan uticaj na srednju trajektoriju čestica u plazma mlazu. Sl.9 prikazuje opšti uticaj srednje veličine čestica na položaj njihove srednje trajektorije u aksijalnom pravcu plazma mlaza [15]. Najčešći slučaj je da čestice manjih dimenzija zauzimaju položaj u gornjem delu plazma mlaza, tj. sa strane dozera praha, dok čestice većih dimenzija zauzimaju položaj u donjem delu plazma mlaza, tj. naspram dozera praha.

Ove razlike se objašnjavaju razlikama u inerciji (masi) čestica polaznog praha. Naime, čestice većih dimenzija usled veće inercije poseduju dovoljno energije za penetraciju plazma mlaza, pa se samim tim koncentrišu na većoj udaljenosti od lokacije dozera, dok se manje čestice zbog manje inercije koncentrišu na manjoj udaljenosti.



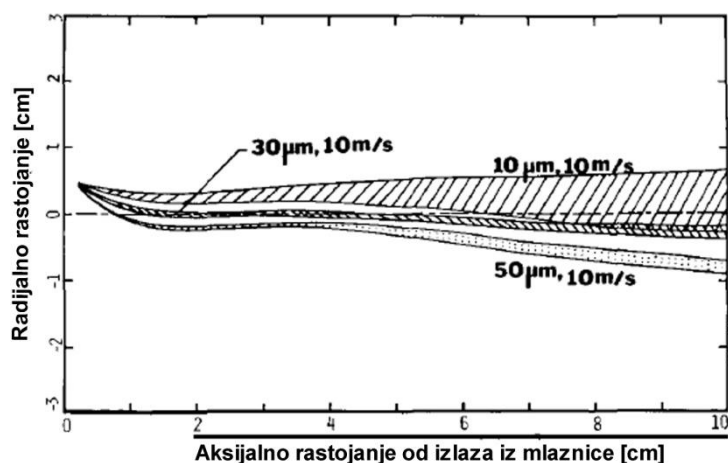
**Sl.9.** Izračunate konture brzine i trajektorije čestica polaznog  $\text{Al}_2\text{O}_3$  praha različitih srednjih veličina (adaptirano iz [15]).

Pored srednje veličine čestica, sličan efekat na srednju trajektoriju čestica polaznog praha pokazuje i gustina čestica [16]. Sl.10 prikazuje razliku u srednjoj trajektoriji čestica  $\text{Al}_2\text{O}_3$  i Fe prahova približno približno istih srednjih veličina  $33 \pm 22$  i  $33 \pm 11 \mu\text{m}$ , respektivno. Ovi prahovi su bili mehanički pomešani pre nanošenja plazma postupkom [16]. Kao posledica različitih trajektorija usled različitih gustina, Fe i  $\text{Al}_2\text{O}_3$  čestice nisu padale na iste lokacije substrata tokom formiranja prevlake, što je značajno uticalo na heterogenost i kvalitet kompozitne prevlake [16].



**Sl.10.** Uticaj gustine čestica na njihovu trajektoriju trajektoriju u plazma mlazu (adaptirano iz [16])

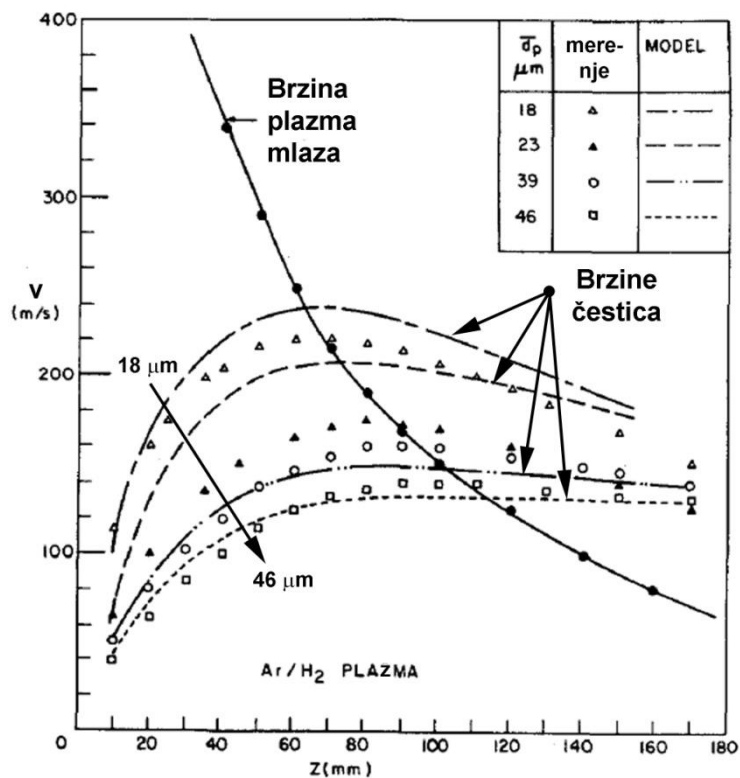
Prisustvo turbulencija i nehomogene raspodele brzine i temperature plazma mlaza mogu da utiču na trajektoriju čestica polaznog praha [2]. Rezultati pokazuju da turbulencije imaju najveći uticaj na trajektoriju manjih čestica u plazma mlazu, dok ovaj uticaj značajno opada sa povećanjem dimenzija čestica (Sl.11). U slučaju čestica  $\text{Al}_2\text{O}_3$  praha, gustine oko  $3.9 \text{ g/cm}^3$  i veličina  $<10 \mu\text{m}$ , turbulencije imaju značajan uticaj na trajektoriju ovih čestica, za razliku od čestica srednjih veličina  $\sim 50 \mu\text{m}$  [2].



**Sl.11.** Uticaj turbulencije na trajektoriju čestica polaznog  $\text{Al}_2\text{O}_3$  praha različitih srednjih veličina čestica (adaptirano iz [2]).

Kao što je već istaknuto, brzina i temperatura plazma mlaza značajno opadaju od izlaza iz mlaznice sa povećanjem aksijalnog rastojanja (vidi Sl.7, poglavlje 2.1.1.4). S druge strane, brzina i temperatura čestica polaznog praha se povećavaju od izlaza iz mlaznice i na nekom aksijalnom rastojanju dostižu brzinu i temperaturu plazma mlaza

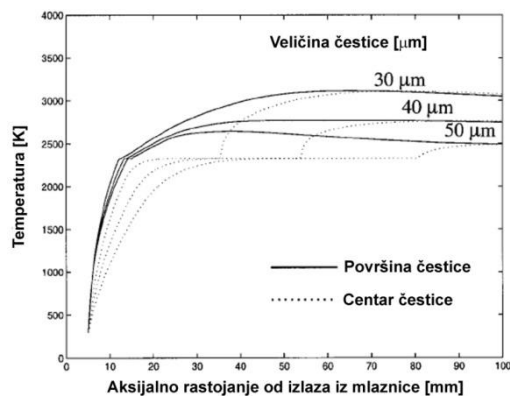
[3,10]. Izjednačenje brzine i temperature plazma mlaza i čestica polaznog praha se dostiže pri približno istim aksijalnim rastojanjima od izlaza iz mlaznice [10]. Aksijalna rastojanja između tačke izjednačavanja brzina čestica praha i plazma mlaza i početka pada brzine čestica praha se uzimaju kao optimalna za postavljanje substrata i nanošenje prevlaka jer čestice praha u toj oblasti aksijalnih rastojanja poseduju najveće brzine i temperature [10]. Sa daljim povećanjem aksijalnog rastojanja brzina i temperatura čestica stagniraju kratko, nakon čega počinju ravnomerno da opadaju, što je izraženije u slučaju polaznih prahova sa manjom srednjom veličina čestica [3]. Sl.12 prikazuje da čestice većih srednjih dimenzija dostižu brzinu plazma mlaza pri manjim vrednostima brzine i na većim aksijalnim rastojanjima u poređenju sa česticama manjih srednjih dimenzija [3]. Manje čestice polaznog praha postižu veća ubrzanja u plazma mlazu [3].



**Sl.12.** Poređenje aksijalne brzine plazma mlaza i brzine čestica polaznog  $\text{Al}_2\text{O}_3$  praha različitih srednjih veličina (18-46  $\mu\text{m}$ ) u aksijalnom pravcu (Z)  $\text{Ar}/\text{H}_2$  plazma mlaza (adaptirano iz [3]).

Sl.13 prikazuje uticaj veličine čestica polaznog  $\text{Al}_2\text{O}_3$  praha i aksijalnog rastojanja od izlaza iz mlaznice na njihov stepen topljenja [15]. Pune linije predstavljaju

temperaturu površine čestica dok isprekidane linije predstavljaju temperaturu unutrašnjosti čestica. Čestice veličine  $\sim 30 \mu\text{m}$  su skoro potpuno istopljene na 60-70 mm od izlaza iz mlaznice, dok su čestice veličine  $\sim 50 \mu\text{m}$  potpuno istopljene na većem aksijalnom rastojanju od izlaza iz mlaznice (80-90 mm).

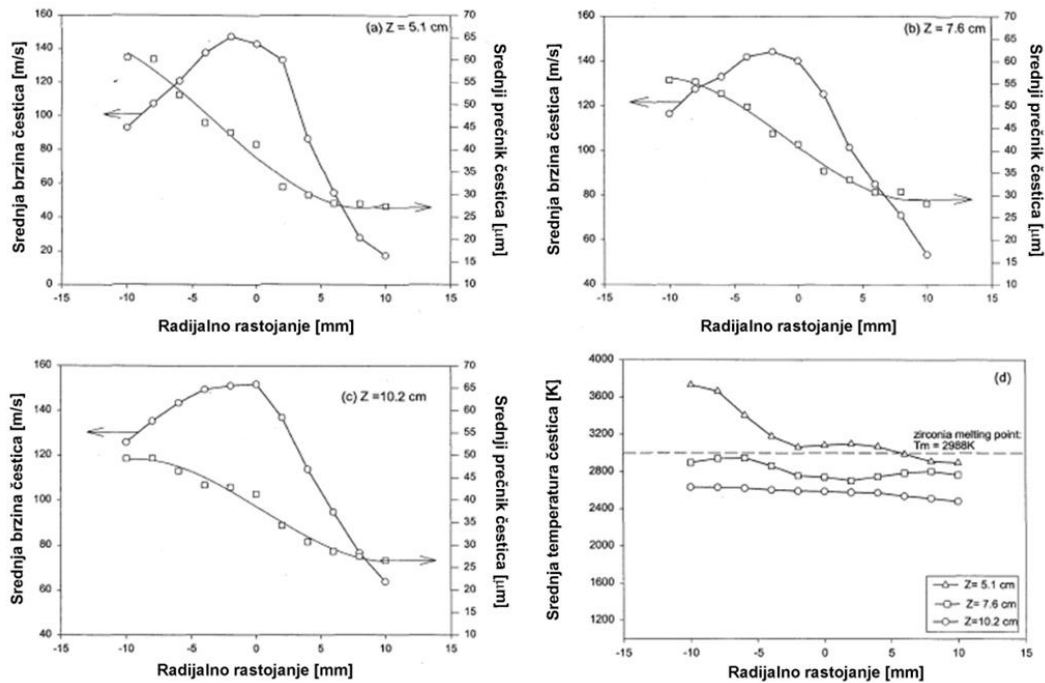


**Sl.13.** Uticaj aksijalnog rastojanja od izlaza iz mlaznice na izračunate temperature površine (pune linije) i centra (isprekidane linije) čestica  $\text{Al}_2\text{O}_3$  različitih srednjih veličina (adaptirano iz [15]).

Pored očiglednog uticaja veličine čestica na njihovu brzinu i temperaturu u aksijalnom pravcu, veličina čestica polaznog praha ima uticaj i na njihovu aksijalnu brzinu i temperaturu u radijalnom pravcu. Sl.14a, 14b i 14c redom prikazuju raspodele veličina i aksijalne brzine čestica polaznog praha YSZ (Itrijumom stabilisani  $\text{ZrO}_2$ ) u radijalnom pravcu pri aksijalnim rastojanjima od izlaza iz mlaznice  $Z=5.1$ ,  $7.6$  i  $10.2$  mm, dok je na Sl.14d prikazana odgovarajuća raspodela temperature na istim  $Z$  [13]. Slike pokazuju da su krupnije čestice probile jezgro plazma mlaza (negativni deo apcise) i da su se raspodelile u oblasti koja je udaljenija od dozera praha. S druge strane, manje čestice su se raspodelile u oblasti koja je bliža dozeru praha (pozitivni deo apcise). Ove razlike se objašnjavaju razlikom u inerciji manjih i većih čestica polaznog praha. Sa povećanjem aksijalnog rastojanja sa  $Z=5.1$  na  $7.6$  cm (Sl.14b) brzina čestica se praktično nije promenila, dok je srednja veličina krupnijih čestica opala, a sitnijih porasla. Sa daljim povećanjem aksijalnog rastojanja  $Z$  (Sl.14c), raspodela veličine čestica se ne menja, ali dolazi do primetnog povećanja brzine čestica u krajnjim bočnim delovima radijalnog pravca, i blagog povećanja brzine u centralnim delovima trajektorije čestica. Promene vezane za veličinu i brzinu čestica se povezuju sa



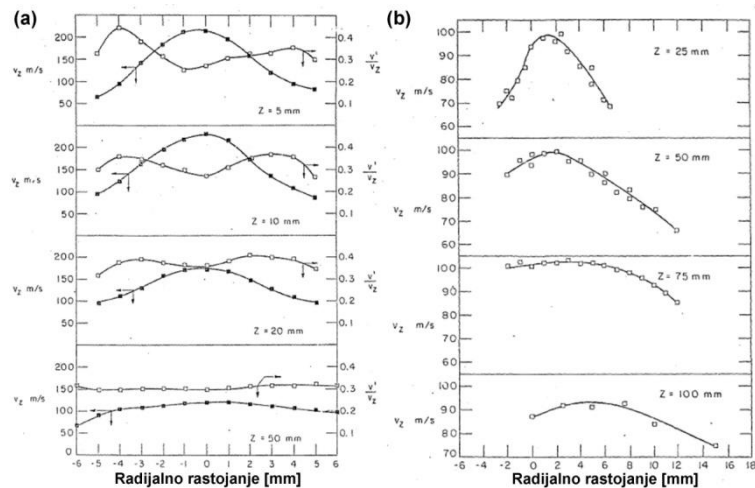
postojanjem turbulencija u plazma mlazu, dok povećanje brzine čestica na većem aksijalnom rastojanju nije diskutovano [13].



**Sl.14.** Radijalna raspodela srednje brzine čestica u aksijalnom pravcu i srednje veličine čestica polaznog  $ZrO_2$  praha u aksijalnom pravcu (a-c) i srednje temperature čestica (d) na različitim aksijalnim rastojanjima od izlaza iz mlaznice ( $Z$ ) (adaptirano iz [13]).

Na Sl.15a je prikazana promena aksijalne brzine plazma mlaza u radijalnom pravcu sa povećanjem aksijalnog rastojanja od izlaza iz mlaznice, dok je na Sl.15b prikazana raspodela brzine čestica  $Al_2O_3$  veličine  $\sim 53$   $\mu m$  sa povećanjem aksijalnog rastojanja [11]. Sl.15a pokazuje da povećanje aksijalnog rastojanja od izlaza iz mlaznice smanjuje brzinu plazma gasa u centralnom delu, a povećava brzinu u bočnim delovima, pri čemu ukupna brzina plazma mlaza opada i dostiže 30 m/s na aksijalnom rastojanju od 150 mm. Ukoliko se uporede Sl.15a i 15b, može se zaključiti da su promene brzine čestica u radijalnom pravcu analogne promenama brzine plazma mlaza, samo što su manjeg intenziteta i dešavaju se na udaljenijim aksijalnim rastojanjima od izlaza iz mlaznice, što se objašnjava kao posledica manje inertnosti čestica praha od plazma mlaza [11]. Studija koja je proučavala slične fenomene sa česticama  $Al_2O_3$  veličine 5-25  $\mu m$  je pokazala analogne rezultate [2]. Razlika je u tome što su promene intenzivnije, tj.

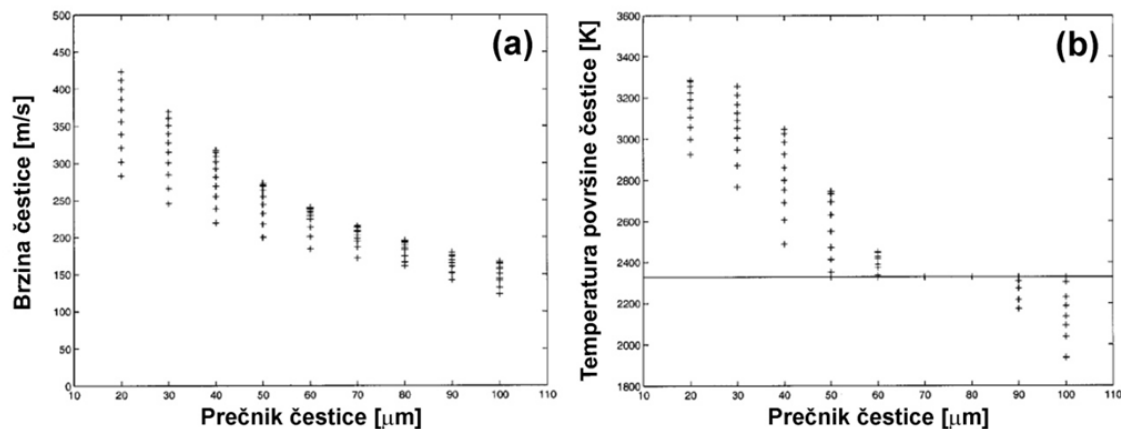
primećuje se pad brzine u centralnim delovima i veći porast brzine u bočnim delovima plazma mlaza [2].



**SI.15.** Radijalni profili brzine plazma mlaza ( $v_z$ ) i intenziteta turbulencije ( $v'/v_z$ ) (a) i brzine čestica  $\text{Al}_2\text{O}_3$  veličine  $\sim 53 \mu\text{m}$  (b) na različitim aksijalnim rastojanjima od izlaza iz mlaznice (Z) (adaptirano iz [11]).

Iako, prema opštem uticaju faktora veličine, manje čestice ispoljavaju veće aksijalne brzine u plazma mlazu (Sl.12), rezultati sa Sl.14 [13] i Sl.15 [2], kao i rezultati drugih studija [14,15,17,20,22], pokazuju da manje čestice mogu da poseduju i manje brzine u plazma mlazu u zavisnosti od toga koju srednju trajektoriju zauzimaju u plazma mlazu. U tom smislu, ova ispitivanja su ukazala na važnost raspodele veličina čestica polaznog praha, kao i na to kom opsegu veličina čestica ta raspodela pripada. Sl.16 prikazuje izmerene brzine (Sl.16a) i temperature (Sl.16b) za različite veličine čestica  $\text{Al}_2\text{O}_3$  na  $\sim 120 \text{ mm}$  od izlaza iz mlaznice [15]. Ukoliko se uporede isti opsezi manjih ( $20\text{-}50 \mu\text{m}$ ) i većih ( $70\text{-}100 \mu\text{m}$ ) čestica, brzine i temperature manjih čestica u plazma mlazu variraju 2-3 puta više nego brzine i temperature većih čestica. U slučaju brzine čestica polaznog praha (Sl.16a), ovaj rezultat je u skladu sa uticajem turbulentnosti plazma mlaza na trajektoriju čestica prahova različitih srednjih veličina (vidi Sl.11), kao i sa uticajem veličine čestica na aksijalnu brzinu na izlazu iz mlaznice (vidi Sl.12). Čestice manjih dimenzija imaju manju inerciju, a samim tim su pod većim uticajem kinetičke energije plazma mlaza. U slučaju temperature čestica polaznog praha

(Sl.16b), poznato je da se čestice istog praha manjih dimenzija brže zagrevaju od čestica većih dimenzija (vidi poglavlje 2.1.2.4).



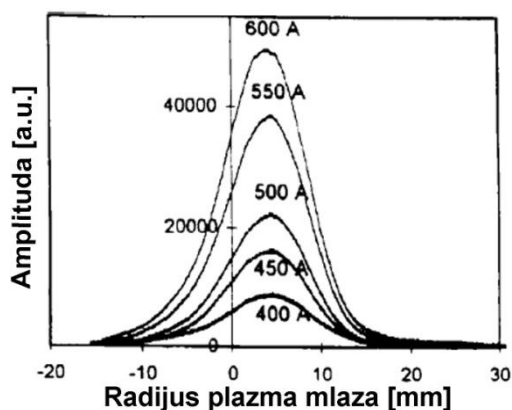
**Sl.16.** Uticaj veličine čestica  $Al_2O_3$  na njihovu brzinu (a) i temperaturu (b) na aksijalnom rastojanju od izlaza iz mlaznice  $Z=120$  mm (adaptirano iz [15]).

#### 2.1.2.4. Zagrevanje čestice u plazma mlazu (*Biot-ov broj*)

Pri razmatranju stabilnosti čestica praha u plazma mlazu treba uzeti u obzir Biot-ov broj [14]. Ovaj broj se definiše kao  $Bi=hL/k$ , gde su  $h$  i  $k$  redom koeficijenti termičkog prelaza i termičke provodljivosti čestice praha, a  $L$  predstavlja količnik površine i zapremine čestice, koji, za slučaj sferične čestice iznosi  $L=R/3$ , gde je  $R$  poluprečnik čestice. *Biot-ov* broj pokazuje sklonost čestice ka formiranju temperaturnog gradijenta u radijalnom pravcu [14]. Kada je *Biot-ov* broj mali, provođenje toplote kroz česticu je njutnovsko (provodljivost toplote zavisi samo od odnosa temperatura površine i centra unutrašnjosti čestice) [14]. Međutim, u slučaju velikog *Biot-ovog* broja, čestice ispoljavaju sklonost ka formiranju velikih temperaturnih gradijenata u površinskim slojevima [14]. Ako se pretpostavi sferični oblik i ista vrsta materijala, Biot-ov broj čestica srednjeg prečnika  $\sim 90$  μm je 3 puta veći od *Biot-ovog* broja čestica srednjeg prečnika  $\sim 30$  μm [14]. Drugim rečima, to znači da je unutrašnjost većih čestica 3 puta otpornija ka zagrevanju od unutrašnjosti manjih čestica. Ovo dalje znači da će se kod većih čestica formirati strmiji temperaturni gradijenti u poređenju sa manjim česticama pri istim uslovima zagrevanja površine [14].

### 2.1.2.5. Snaga plazma izvora

Ovaj parametar ima značajan uticaj na brzinu i temperaturu čestica polaznog praha. Sl.17 prikazuje da povećanje snage izvora (kroz povećanje struje izvora) povećava temperaturu plazma izvora, što je detektovano na osnovu povećanja amplitude termičke emisije čestica [12]. Takođe, sa slike se vidi da povećanje snage značajno povećava razliku između temperature čestica u srednjim i bočnim delovima plazma mlaza [12]. S druge strane, povećanje struje plazma izvora je u ovim merenjima pokazalo da nema uticaja na trajektoriju čestica jer sa povećanjem struje ne dolazi do promene radijalnog položaja maksimuma [12]. Druge studije su ukazale na mogućnost da srednja trajektorija čestica može da se značajno promeni pri manjim snagama plazma izvora (<20 kW) usled povećanja uticaja turbulencije i heterogenosti brzine, kao i temperature plazma mlaza [18].



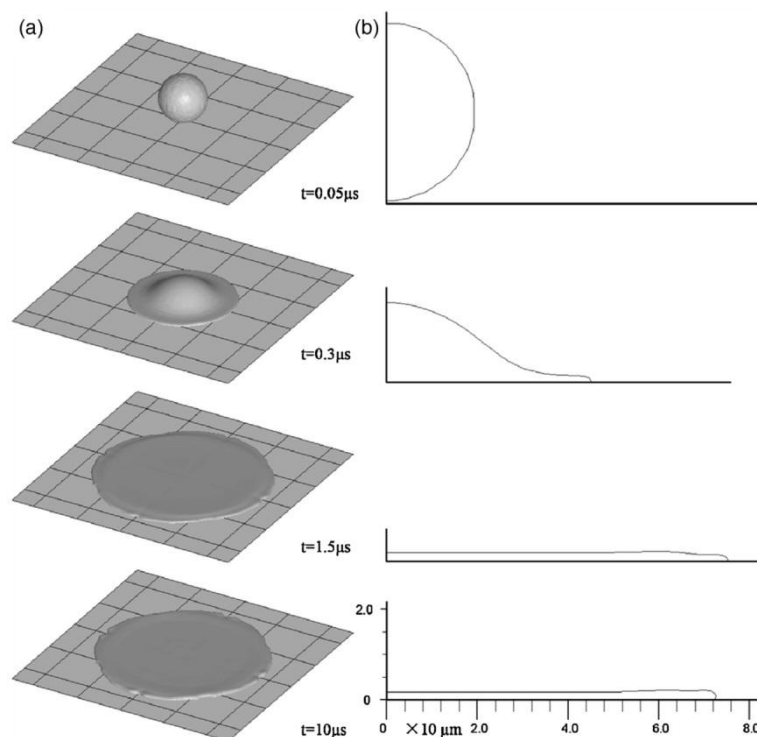
Sl.17. Uticaj snage plazma izvora na temperaturu i trajektoriju čestica polaznog praha (adaptirano iz [12]).

### 2.1.3. Depozit-substrat interakcije (zona III)

Čestica napušta plazma mlaz sa određenom brzinom, temperaturom i stepenom topljenja, koji zavise od faktora o kojima je bilo reči u prethodnom poglavlju 2.1.2. U zavisnosti od aksijalnog rastojanja od substrata, kao i od veličine i trajektorije čestica polaznog praha, brzina i temperatura čestice mogu da variraju između plazma mlaza i substrata. Krupnije čestice ispoljavaju balistička svojstva (veća inercija), tj. njihova

brzina (Sl.12 i 16a) i temperatura (Sl.16b) su manje podložne promenama. S druge strane, manje čestice pokazuju veću verovatnoću za promenu brzine i temperature na putu ka substratu (Sl.12 i 16).

Sl.18 prikazuje numerički model ponašanja čestice  $ZrO_2$  pri udaru u substrat od nerđajućeg čelika [25]. Ovaj numerički model pretpostavlja da je čestica sferična i potpuno istopljena, ne uzima prethodnu termalnu istoriju čestice u obzir, pretpostavlja konstantne laminarne uslove strujanja okolne atmosfere, bez uticaja spoljnog pritiska, konstantne uslove površinskog napona i kontaktnog otpora i da se prelaz toplote odvija konvekcijom i kondukcijom, dok se radijacija čestice zanemaruje. Prema modelu, čestica ima temperaturu  $\sim 3000$  °C, brzinu  $\sim 100$  m/s, nalazi se na udaljenosti od  $\sim 5$   $\mu m$  od površine substrata predgrejanog na  $\sim 150$  °C. Čestica prečnika  $\sim 40$   $\mu m$  se pri udaru transformiše u depozit u obliku diska debljine  $\sim 2$   $\mu m$ , prečnika  $\sim 144$   $\mu m$  u roku od  $\sim 10$   $\mu s$  [25].



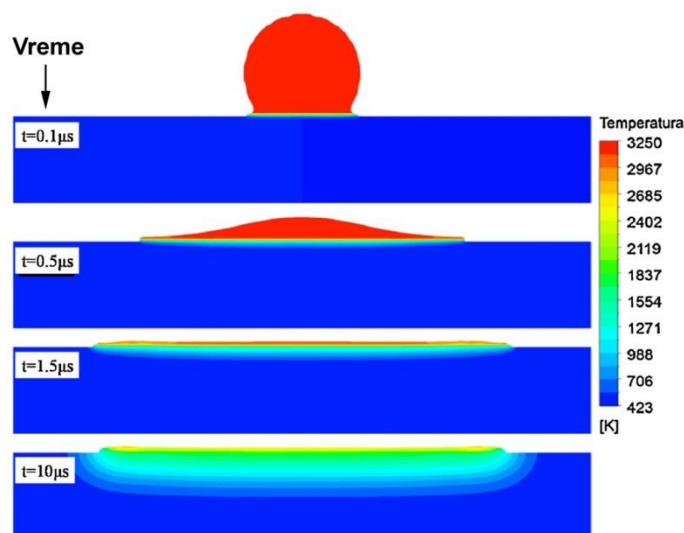
**Sl.18.** Simulacija promene oblika (a) i dimenzija (b) potpuno istopljene čestice polaznog  $ZrO_2$  praha pri udaru u substrat (adaptirano iz [25]).

Rezultati modelovanja su pokazali da čestica očvršćava u početnoj fazi širenja, a da se nakon toga dalje hladi, pri čemu emituje toplotu ka substratu [25]. Prema

rezultatuima ove studije, vreme očvršćavanja čestice je značajno kraće od ukupnog vremena interakcije čestice sa substratom. Očvršćavanje čestice se praktično završava u roku od  $\sim 1.5 \mu\text{s}$  nakon čega čestica  $\sim 8.5 \mu\text{s}$  emituje toplotu ka substratu (Sl.19) [25].

Sl.20 prikazuje uticaj povećanja brzine i smanjenja temperature čestica u plazma mlazu na morfološke karakteristike depozita [14], dok Sl.21 prikazuje uticaj snage plazma izvora [22]. Sl.20 odgovara depozitu praha YSZ (itrijumom stabilisani  $\text{ZrO}_2$ ) srednje veličine čestica  $11.9 \pm 0.2 \mu\text{m}$  nanesenom pri snazi plazma izvora od  $\sim 35 \text{ kW}$  [14], dok slike 21a i 21b prikazuju depozite praha hidroksiapatita (HA), srednje veličine  $\sim 120 \mu\text{m}$ , naneseone pri snagama plazma izvora od  $\sim 11$  i  $\sim 24 \text{ kW}$  [22].

Morfologija depozita dominantno zavisi od brzine čestica u plazma mlazu (Sl.20) [14]. Rezultati su pokazali da je ovo slučaj bez obzira na temperature čestica u plazma mlazu [14]. Osnovna razlika u uticaju temperature čestica u plazma mlazu pri malim brzinama čestica je da potpuno istopljene čestice ostvaruju ravnomernije širenje depozita na površini substrata za razliku od delimično istopljenih čestica. Međutim, čak i kada je čestica manje brzine potpuno istopljena i ostvaruje veću površinu kontakta sa substratom od delimično istopljenih čestica, može doći do kontrakcije ivica depozita i pojave pora ispod površine depozita (Sl.20a) [14]. Ovo ukazuje na to da prevlake u ovim slučajevima mogu da imaju povećanu poroznost.



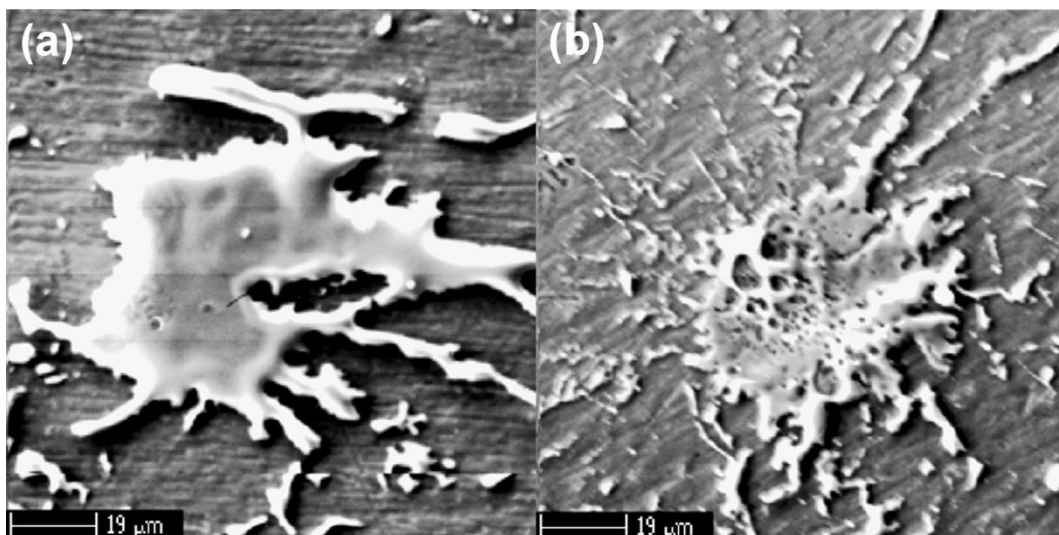
**Sl.19.** Konture temperature u čestici  $\text{ZrO}_2$  i substratu pri različitim vremenima (adaptirano iz [25]).



**Sl.20.** Uticaj brzine čestica polaznog YSZ praha na morfološka svojstva depozita nakon udara potpuno istopljene čestice ovog praha (adaptirano iz [14]).

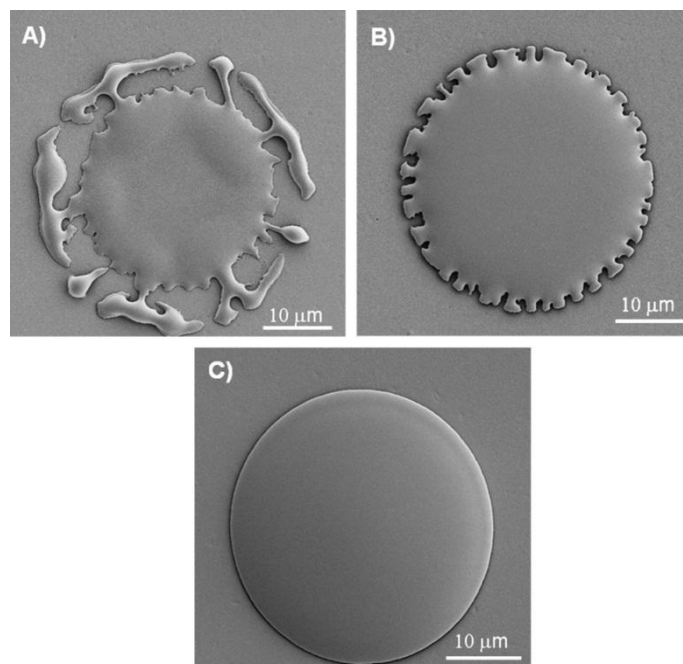
Kao što je već napomenuto, povećanje snage plazma izvora utiče na povećanje temperature čestica u plazma mlazu (Sl.17) [12]. Na Sl.21 [22] promena morfologije depozita usled povećanja snage plazma izvora podseća na efekat povećanja brzine čestica polaznog praha u plazma mlazu (Sl.20). Ova promena morfologije depozita je vezana za promenu stepena topljenja čestica usled veće snage plazma izvora.

Brzina i temperatura čestica u plazma mlazu su parametri koji presudno utiču na strukturalna i morfološka svojstva depozita od kojih pak zavise strukturalno-mehanička svojstva i performanse finalnih prevlaka. Zbog toga je poznavanje svih faktora koji utiču na ova svojstva čestica od velike važnosti.



**Sl.21.** Uticaj snage plazma izvora na morfološka svojstva čestica polaznog HA praha: (a) ~11 i (b) ~24 kW (adaptirano iz [22]).

Pored brzine i temperature čestica u plazma mlazu, na strukturno-morfološka svojstva depozita značajno utiče i temperatura substrata. Na Sl.22, koja prikazuje primer nanošenja čestica hidroksiapatita (HA) na substrat od titanijuma, pokazano je da povećanje temperature substrata značajno utiče na morfologiju depozita [26]. Povećanje temperature substrata na 100 (Sl.22b) i 300 °C (Sl.22c) utiče na efikasnije širenje depozita i ostvarivanje boljeg kontakta sa substratom.



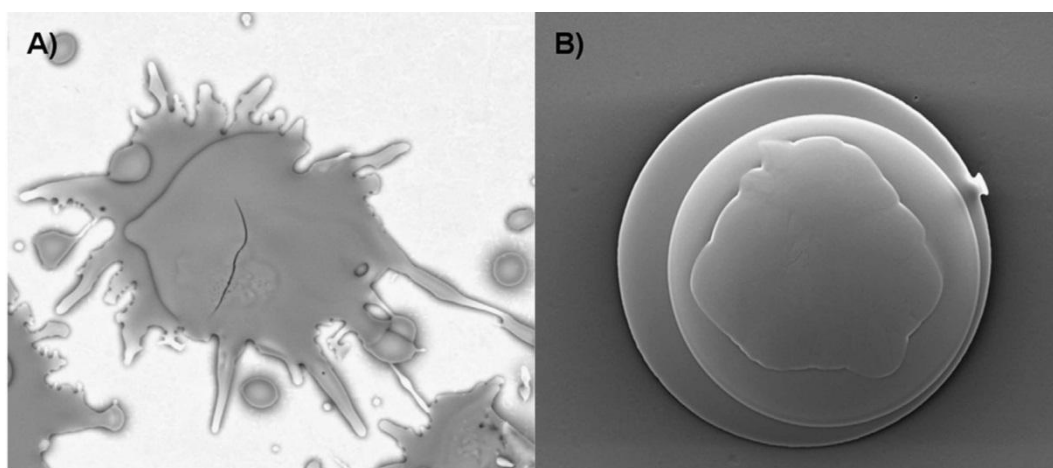
**Sl.22.** Tipična morfologija HA depozita pri inicijalnoj temperaturi substrata od 20 (a), 100 (b) i 300 °C (c) (adaptirano iz [26]).

Finalna prevlaka se formira od nebrojeno mnogo čestica depozita, koje, kako je već napomenuto, čine elementarne blokove finalne prevlake. Nakon formiranja prvog sloja depozita na površini substrata, na ovako formirani depozit padaju nove čestice, koje očvršćavaju i hlade se prenoseći toplotu na prethodno formirani depozit ispod njih (kao na Sl.23). Efikasnost takvog prenosa toplote će zavistiti od kvaliteta kontakta koji se ostvaruje između novoformiranog i prethodno formiranog depozita [26]. Na Sl.23a je pokazan slučaj kada je kontakt ostvaren između dve čestice depozita bez predgrevanja substrata [26], dok je na Sl.23b prikazan primer kada je kontakt ostvaren između čestica depozita sa predgrevanjem substrata [26]. Očigledno je da će se prenos toplote sa nadolazeće čestice iz plazma mlaza na prethodno formirani depozit odvijati efikasnije u



slučaju sa predgrevanjem substrata zbog kvalitetno ostvarenog međukontakta. S druge strane, ovde treba napomenuti da, pored prethodnog, efekat tanjenja istopljenih čestica usled predgrevanja substrata može da izazove njihovo brže hlađenje usled efikasnog prenosa toplote na prethodno formirani depozit.

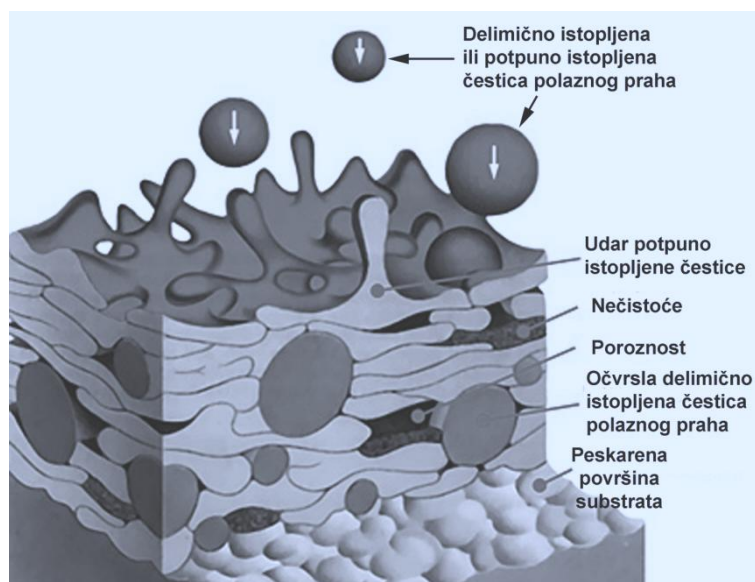
U tipičnim komercijalnim plazma sprej postupcima masa nanesenog praha se kreće u granicama između 1 i 2 kg/h, za plazma pištolj koji koristi snagu od 40 kW [2]. Nakon udara u substrat istopljene (ili delimično istopljene) čestice polaznog praha postaju ravne (spljoštene pod dejstvom udara) i zakaljuju se. Vreme kaljenja (hlađenja) za manje čestice ( $\sim 30 \mu\text{m}$ ) je reda veličine između  $10^{-7}$  i  $10^{-6}$  s. Za to vreme, oko 50-100 novih čestica po metru kvadratnom udari u substrat, zbog čega je kaljenje (hlađenje) svake čestice izolovani slučaj, tj. nije pod uticajem drugih čestica. Formiranje prevlake je proces gradnje po principu čestica-po-česticu, gde je skoro svaka čestica zamrznuta pre udara nove [2]. Ovde treba dodati i činjenicu da svaka nova čestica koja padne na prethodno zamrznutu česticu prenosi određenu količinu toplote koja može da dovede do faznih transformacija u prethodno zamrznutoj čestici. Takođe, brzina hlađenja nove, nadolazeće čestice može da se smanjuje sa povećanjem debljine prevlake usled efekta akumulacije toplote. Smanjenje brzine hlađenja nadolazećih čestica je posebno izraženo kod keramičkih prevlaka koje su slabi provodnici toplote.



**Sl.23.** Tipična morfologija višestrukog depozita bez (A) i sa (B) predgrevanjem substrata od titanijuma (Ti) (adaptirano iz [26]).

Na Sl.24 je shematski prikazan poprečni presek dela prevlake koji pokazuje principijelne morfološke mikro-strukturne konstituente koji mogu da budu prisutni u

prevlakama nanesenim atmosferskim plazma sprej postupkom: neistopljene čestice, delimično istopljene čestice, mikro- i makro-poroznost, mikro- i makro-prsline, delaminacija interfejsa i dominantno prisustvo depozita lamelarnog oblika koji formiraju potpuno istopljene čestice.



Sl.24. Principijelni morfološki mikro-strukturni konstituenti u prevlakama nanesenim atmosferskim plazma sprej postupkom.

## 2.2. Termički ciklus zagrevanja i hlađenja čestice HA praha

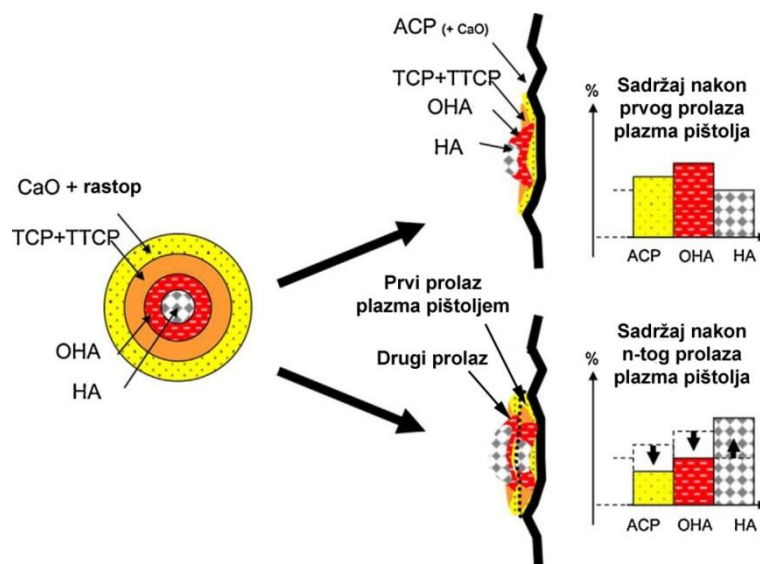
U prethodnom poglavlju su opisani uticaji najvažnijih faktora koji utiču na stabilnost i svojstva plazma mlaza (zona I), brzinu i temperaturu čestica prahova tokom njihove interakcije sa plazma mlazom (zona II), kao i promene prilikom interakcije istopljenih (ili delimično istopljenih) čestica prahova sa substratom (zona III). U slučaju HA prahova, plazma-prah (zona II) i depozit-substrat (zona III) interakcije su analogne opisanim slučajevima prahova ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZrO}_2$  i dr.), što je eksperimentalno i numerički potvrđeno [20,22,27,28]. Jedina razlika je što čestice HA prahova prolaze kroz specifične fazne transformacije tokom ciklusa zagrevanja i hlađenja. Ovde treba napomenuti da, za razliku od pomenutih čestica  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZrO}_2$  i dr., u literaturi nisu

pronađeni podaci koji pokazuju raspodele brzine i temperature čestica HA praha u radialnom pravcu plazma mlaza na različitim aksijalnim rastojanjima od izlaza iz mlaznice.

Levi deo Sl.25 shematski prikazuje delimično istopljenu HA česticu u plazma mlazu i postojanje zona unutar čestice koje sadrže različite faze, što je posledica *termičkog razlaganja* HA pod dejstvom plazma mlaza [29]. Svaka zona odgovara temperaturnom intervalu stabilnosti određene faze ili kombinacije faza, a postojanje ovih zona je posledica uspostavljanja temperaturnog gradijenta od površine ka centru čestice usled njenog zagrevanja pod dejstvom visokotemperaturnog plazma mlaza (vidi poglavlje 2.1.2.4). U površinskom delu, gde vladaju najveće temperature, najčešći je slučaj da struktura HA čestice sadrži rastop sa česticama kalcijum oksida (CaO). U susednoj zoni, ka centru čestice, gde je polazna struktura HA bila izložena manjim temperaturama od površinskih delova, dolazi do termičkog razlaganja HA u čvrstom stanju i formiranja smeše trikalcijum fosfata (TCP) i tetrakalcijum fosfata (TTCP). Dalje ka centru temperatura nastavlja da opada i polazna struktura HA se termički razlaže kroz gubitak hidroksilnih jona i na taj način prelazi u oksihidroksiapatitnu strukturu (OHA), dok centralni delovi suštinski ostaju nepromenjeni jer gube nevezanu i kristalnu vodu, što ne utiče značajno na kristalnu strukturu HA.

Centralni deo Sl.25 u svom prikazuje dva slučaja faznih transformacija u delimično istopljenoj HA čestici nakon udara u substrat, od kojih oba pripadaju procesu *rekristalizacije* (iz tečne ili amorfne faze). U gornjem srednjem delu Sl.25 strelica ukazuje na slučaj direktnog kontakta delimično istopljene HA čestice sa substratom, dok je u donjem srednjem delu Sl.25 prikazan kontakt ove čestice sa prethodno formiranim depozitom nakon *n*-tog prolaza plazma pištoljem. Na početku procesa nanošenja, usled velike brzine hlađenja, jedan veći deo istopljenog dela HA čestice nakon kontakta sa substratom prelazi u amorfnu kalcijum fosfatnu fazu (ACP, žuta boja), dok drugi manji deo istopljenog dela čestice koji je bliži centru čestice može da očvrstne u kristalni HA i/ili OHA. Relativni sadržaj ACP u odnosu na kristalne OHA i HA je prikazan na desnoj strani u gornjem delu Sl.25. Nakon *n*-tog prolaza plazma pištoljem, deponovanje HA čestice proizvodi приметно manji relativni sadržaj ACP i veći relativni sadržaj kristalnih HA i OHA (desna strana Sl.25, donji ugao), što je posledica: (i) sporije brzine hlađenja HA čestice usled manje termičke provodljivosti prethodno formiranog depozita u

odnosu na substrat i (ii) povećane temperature na površini prethodno formiranog depozita usled akumulirane toplote tokom procesa nanošenja [30].



**Sl.25.** Sukcesivne fazne promene tokom nanošenja delimično istopljene HA čestice na grubu površinu (adaptirano iz [29]).

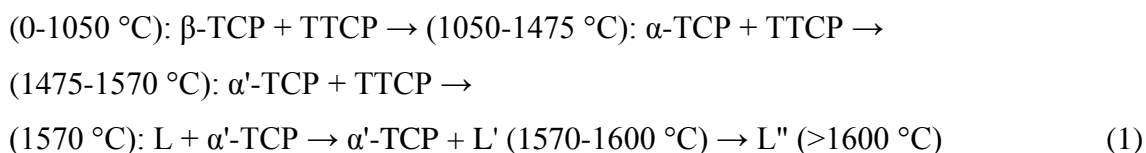
Na osnovu prethodnog, termički ciklus čestice polaznog HA praha suštinski uključuje tri tipa faznih transformacija:

1. Termičko razlaganje HA čestice
2. Očvršćavanje istopljenog dela HA čestice
3. Rekrystalizacija ACP faze

Zbog izuzetno kratkih vremena boravka HA čestica u plazma mlazu (milisekunde [12]) i još kraćih vremena očvršćavanja i rekrystalizacije ACP pri udaru u substrat (mikrosekunde [25]), kao i ekstremnih temperatura plazma mlaza, procese zagrevanja i hlađenja HA čestica je izuzetno teško pratiti u realnom vremenu. Zbog toga je izvršen veliki broj eksperimenata naknadne termičke obrade HA prahova i prevlaka sa ciljem boljeg razumevanja osnovnih tipova faznih transformacija koje se dešavaju tokom ciklusa zagrevanja i hlađenja čestica HA [31-48].

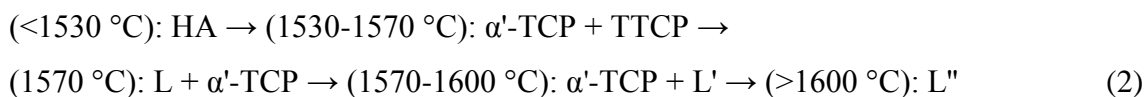
### 2.2.1. Fazne transformacije pri ravnotežnom zagrevanju i hlađenju

Fazni sastav HA prevlake zavisi od termičke istorije čestica HA praha koje prolaze kroz plazma mlaz [32]. CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ravnotežni dijagram stanja može da se primeni za grubu procenu faza koje mogu biti formirane tokom postupka plazma nanošenja. Za parcijalni pritisak vodene pare  $p(H_2O)=0$  mmHg i molarni odnos Ca/P=1.67, koji odgovara stehiometrijskom HA, tokom beskonačno sporog (ravnotežnog) zagrevanja, sledeće faze su stabilne unutar naznačenih temperaturnih intervala (Sl.26 [33] i Sl.27a [32]) :

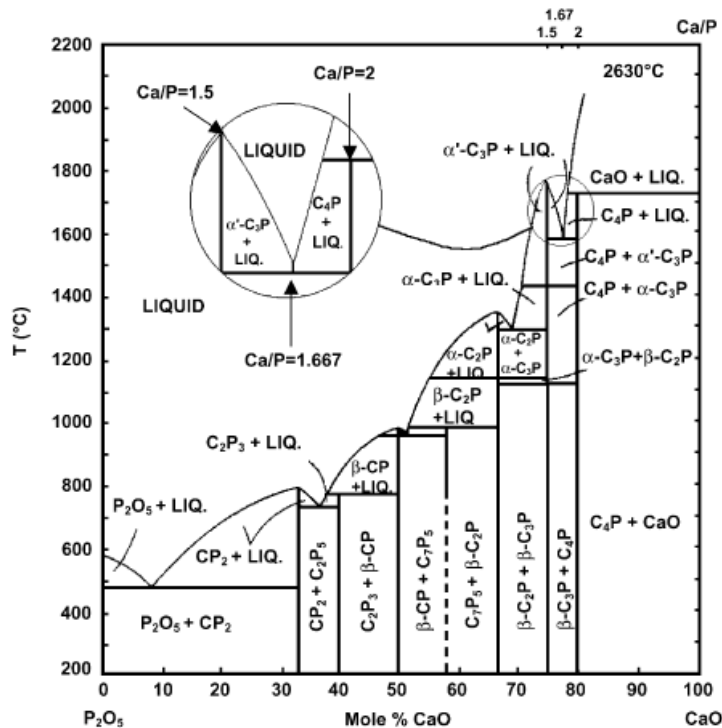


U nizu reakcija (1), jedine transformacije do ~1570 °C su polimorfne transformacije TCP faze. Na ~1570 °C,  $\alpha'$ -TCP i TTCP prelaze u tečnu fazu L eutektičkog sastava, pri čemu manji udeo  $\alpha'$ -TCP ostaje nerastvoren. Pri daljem zagrevanju, preostali  $\alpha'$ -TCP se rastvara u tečnu fazu L, koja pri tom menja svoj sastav (oznaka L' simbolizuje promenu sastava). Na temperaturi >1600 °C tečna faza postiže sastav L'' čiji molarni Ca/P odnos odgovara polaznom.

Za  $p(H_2O)=500$  mmHg i molarni Ca/P odnos ~1.67, tokom beskonačno sporog (ravnotežnog) zagrevanja, sledeće faze su stabilne u naznačenim temperaturnim intervalima (Sl.27b) [32]:



Pri  $p(H_2O)=500$  mmHg, ravnotežni dijagram stanja CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> sa Sl.26 [33] i Sl.27a [32] se transformiše u CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-H<sub>2</sub>O dijagram stanja na Sl.27b. Broj faznih oblasti je uvećan u odnosu na slučaj kada je  $p(H_2O)=0$  mmHg (Sl.27a). Razlog je stabilnost HA faze (Ca<sub>5</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>OH) u prisustvu vodene pare.

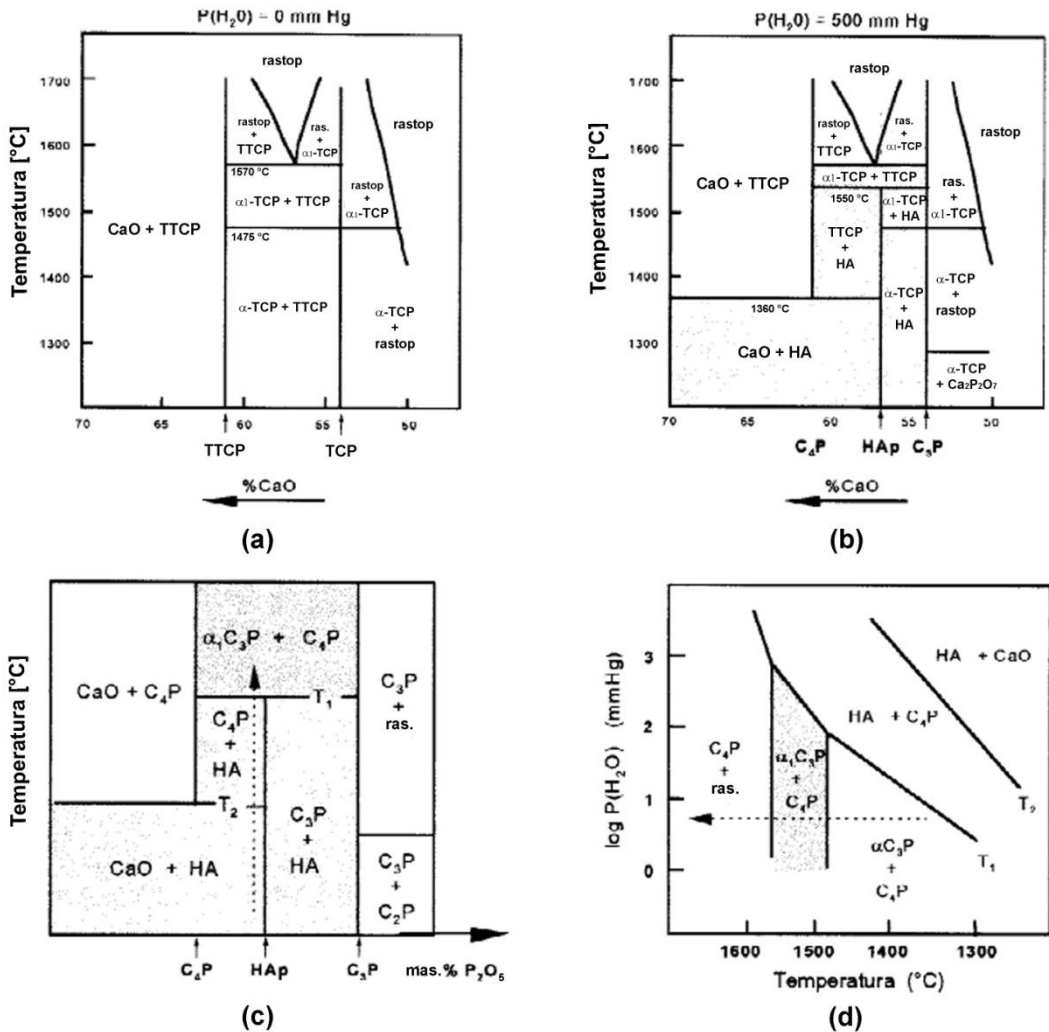


**Sl.26.** Ravnotežni CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> dijagram; C=CaO, P=P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; C<sub>3</sub>P=TCP; C<sub>4</sub>P=TTCP; LIQ.=LIQUID=Rastop (adaptirano iz [33]).

Na Sl.27c je prikazan uvećan detalj sa Sl.27b. Ukoliko se prati sastav naznačen strelicom primećuje se da se sa povećanjem temperature HA termički razlaže u čvrstom stanju na dve faze,  $\alpha'$ -TCP i TTCP. Na Sl.27d je prikazan uticaj  $p(H_2O)$  na termičku stabilnost faza, a horizontalna strelica na ovoj slici odgovara vertikalnoj strelici sa Sl.27c. Položaj strelice odgovara položaju kada je temperaturni interval stabilnosti  $\alpha'$ -TCP+TTCP oblasti najveći. Temperaturni interval stabilnosti ove oblasti se smanjuje za  $p(H_2O) > 100$  mmHg ( $\log(pH_2O) > 2$ ), a iščezava pri  $p(H_2O) > 900$  mmHg ( $\log(pH_2O) > 3$ ) (Sl.27d). Pri parcijalnom pritisku vodene pare od  $\sim 900$  mmHg, HA faza je teorijski stabilna od sobne do temperature topljenja.

Sl.27 uopšteno prikazuje značaj uticaja prisustva vodene pare na fazne transformacije koje se odvijaju pri ravnotežnom zagrevanju i hlađenju kalcijum fosfatnih jedinjenja.

Transformacije pri ravnotežnom hlađenju, bez i sa prisustvom vodene pare, odvijaju se u smeru suprotnom od onoga koji je definisan jednačinama (1) i (2).



**Sl.27.** (a) CaO- $\text{P}_2\text{O}_5$  fazni dijagram stanja ( $p(\text{H}_2\text{O}) = 0 \text{ mmHg}$ ); (b) CaO- $\text{P}_2\text{O}_5$ - $\text{H}_2\text{O}$  fazni dijagram stanja ( $p(\text{H}_2\text{O}) = 500 \text{ mmHg}$ ); (c) uvećani prikaz dela dijagrama (b); (d) uticaj parcijalnog pritiska vodene pare na termičku stabilnost kalcijum fosfatnih jedinjenja ( $\text{C}_3\text{P}=\text{TCP}$ ,  $\text{C}_4\text{P}=\text{TTCP}$ ) (adaptirano iz [32]).

## 2.2.2. Fazne transformacije pri kvazi-ravnotežnom zagrevanju i hlađenju

### 2.2.2.1. Kvazi-ravnotežno (sporo) zagrevanje

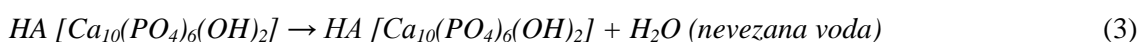
Istraživanja su pokazala da stabilnost HA do 1530 °C (vidi Sl.27b, poglavlje 2.2.1) u realnim sistemima nije održiva, već da razlaganje HA počinje na nižim temperaturama [34-39]. U slučaju stehiometrijske HA faze (molarni odnos Ca/P=1.67),

bez prisustva nečistoća, HA se termički razlaže postepeno, što je prikazano hemijskim jednačinama (3)-(11) [34]. Brzina zagrevanja pri kojoj su dobijene ove reakcije je 10 °C/min, a atmosfera je vazduh [34].

Treba naglasiti da svaki stadijum termičkog razlaganja koji je ovde opisan odgovara stepenu razlaganja HA čestice u odgovarajućoj zoni HA čestice (vidi Sl.25). Početni stadijum termičkog razlaganja, definisan jednačinom (3), odgovara centralnom delu HA čestice, gde je uticaj temperature najslabiji, dok poslednji (osmi) stadijum termičkog razlaganja, definisan jednačinama (11)-(13), odgovara samom obodu HA čestice (istopljeni deo), gde je uticaj temperature najintenzivniji.

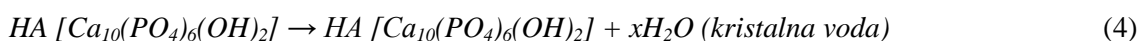
Prvi stadijum termičkog razlaganja se odigrava između ~25 i ~200 °C – jednačina (3). Ovaj stadijum se karakteriše gubitkom adsorbovane (nevezane) vode, pri čemu ne dolazi do značajnijih promena u kristalnoj strukturi HA [34,35].

1. (25-200 °C) – dehidratacija:



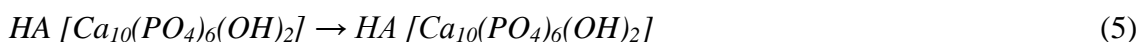
Drugi stadijum termičkog razlaganja se odigrava između ~200 i ~400 °C – jednačina (4) [34]. U ovom temperaturnom opsegu zagrevanje dovodi do gubitka kristalne vode, što se manifestuje smanjenjem dimenzije *a*-parametra heksagonalne kristalne rešetke HA.

2. (200-400 °C) – dehidratacija:



U toku trećeg stadijuma, zagrevanje između ~400 i ~800 °C ne proizvodi promene u strukturi HA u odnosu na prethodno stanje – jednačina (5) [34].

3. (400-800 °C)



Četvrti stadijum zagrevanja između ~800 i ~1360 °C se karakteriše postepenim gubitkom hidroksilanih grupa – jednačine (6) i (7) [34]. U ovom temperaturnom



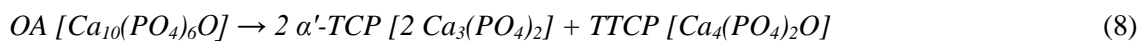
intervalu, HA prelazi u OHA (čvrsti rastvor HA i OA) – jednačina (6), koji se daljim gubitkom hidroksilnih jona postepeno transformiše u OA – jednačina (7):

4. (800-1360 °C) – dehidroksilacija



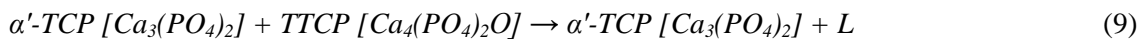
Peti stadijum zagrevanja između ~1360 i ~1570 °C se karakteriše termičkim razlaganjem OA faze u  $\alpha'$ -TCP i TTCP – jednačina (8) [34].

5. (1360-1500 °C) – transformacija u čvrstom stanju:



Šesti stadijum zagrevanja na  $T > 1570$  °C proizvodi rastop eutektičkog sastava L reakcijom  $\alpha'$ -TCP i TTCP – jednačina (9) [35]. Za molarni Ca/P odnos od ~1.67, mala količina  $\alpha'$ -TCP [ $Ca_3(PO_4)_2$ ] ostaje nerastvorena u rastopu na ~1570 °C (S1.27b).

6. (~1570 °C) – topljenje na temperaturi eutektičke reakcije:



Zaostali  $\alpha'$ -TCP se u toku sedmog stadijuma postepeno rastvara u rastop L do ~1600 °C, pri čemu rastop menja svoj sastav, što je simbolično prikazano oznakom L' – jednačina (10). Nakon potpunog rastvaranja  $\alpha'$ -TCP, rastop L' ima molarni Ca/P odnos od ~1.67:

7. (1570-1600 °C) – rastvaranje primarnih  $\alpha'$ -TCP kristala u rastopu:



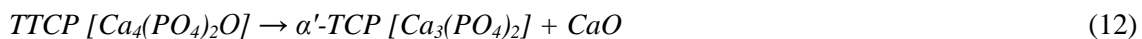
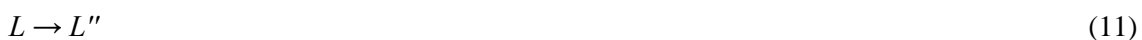
Osmi stadijum zagrevanja podrazumeva pregrevanje istopljenog dela zapremine HA čestice, tj. pregrevanje rastopa L' iz sedmog stadijuma (jednačina 10). Dosadašnja ispitivanja su pretpostavila da dolazi do isparavanja  $P_2O_5$  (defosforizacije) po obodu HA čestice [36] ukoliko je periferija HA čestice pregrejana do ekstremno visokih temperatura ( $T > 3200$  °C) pod dejstvom plazma mlaza. Defosforizacija izaziva lokalni

porast molarnog Ca/P odnosa usled gubitka fosfora, što, prema CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-H<sub>2</sub>O dijagramu stanja (Sl.27b), može da uzrokuje lokalnu pojavu novih faza (TTCP i/ili CaO) [32,36]. U zavisnosti od stepena defosforizacije, mogu da se razlikuju zone sa različitim molarnim Ca/P odnosima u okviru istopljenog dela HA čestice idući ka centru HA čestice.

U temperaturnom opsegu 1600-1700°C, različite fazne oblasti su stabilne pri različitim molarnim Ca/P odnosima prema dijagramu stanja sa Sl.27b [32]. L+α'-TCP oblast je stabilna za 1.5<Ca/P<1.67, L+TTCP za 1.67<Ca/P<2 i CaO+TTCP za Ca/P>2. Za temperature >1700 °C i Ca/P>1.67, stabilnost oblasti L+CaO je najveća (Sl.26) [33].

Na osnovu prethodnog, po obodu istopljenog dela HA čestice, koja je u tečnom delu zapremine najintenzivnije izložena plazma mlazu, defosforizacija će favorizovati porast molarnog Ca/P odnosa rastopa L (L'', jednačina 11), zbog čega će se struktura dominantno sastojati od L''+CaO, na osnovu dijagrama stanja (Sl.26 [33]). Ukoliko je TCP faza prisutna u ovom delu zapremine, njena stabilnost će biti upitna, tj. ona će se termički razložiti, što je prikazano jednačinama (12-13) [36]. S druge strane, u istopljenom delu HA čestice koji je najbliži centru čestice, gde su temperature niže (1600 °C<T<1700 °C), prisustvo TCP faze sa rastopom (L+α'-TCP) je verovatnije, jer je u tim delovima verovatnoća pojave defosforizacije najmanja. U središnjem delu istopljenog dela HA čestice, gde je uticaj defosforizacije verovatniji, na osnovu ravnotežnog dijagrama stanja (Sl.27b) moguće je prisustvo obe ili jedne od TTCP i CaO faza, što zavisi od lokalnog Ca/P odnosa.

8. ( $T > 3200$  °C) – defosforizacija – pregrevanje rastopa i isparavanje P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

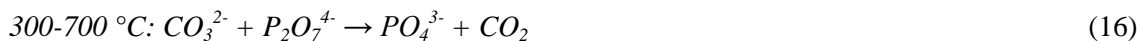
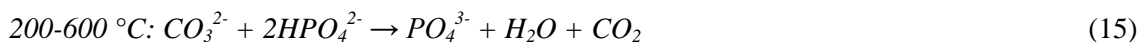


Podaci za temperaturne intervale u kojima dolazi do određenih reakcija termičkog razlaganja HA se dosta razlikuju u literaturi. Pored navedenih temperaturnih intervala prema [34], postoje podaci da termičko razlaganje OA faze (jednačina 8) može da otpočne pri nižim temperaturama (~1050 °C) [35,38]. Ove razlike mogu biti posledica korišćenja različite gasne atmosfere tokom eksperimenata (sa ili bez vodene

pare) i/ili različitih polaznih svojstava HA praha. Manji parcijalni pritisci vodene pare obično vode ka većoj nestabilnosti HA strukture i promenama na nižim temperaturama.

S obzirom da HA faza može da bude nestehiometrijska, da sadrži različit sadržaj absorbovane vode/hidroksilnih jona, kao i različite jonske primese, termička stabilnost HA može biti različita. Kada je molarni Ca/P odnos nestehiometrijskog HA manji ili veći od 1.67, termičko razlaganje HA pri  $T > 800$  °C može da dovede do formiranja TCP ili CaO, respektivno [35]. U takvom slučaju, usled postojanja TCP ili CaO, kao nečistoća, termičko razlaganje HA može da bude ubrzano. Prisustvo magnezijuma (Mg), odnosno silicijuma (Si), povećava stabilnost  $\beta$ -TCP, odnosno  $\alpha$ -TCP, što može da dovede do izdvajanja ovih faza na nižim temperaturama tokom termičkog razlaganja HA [39].

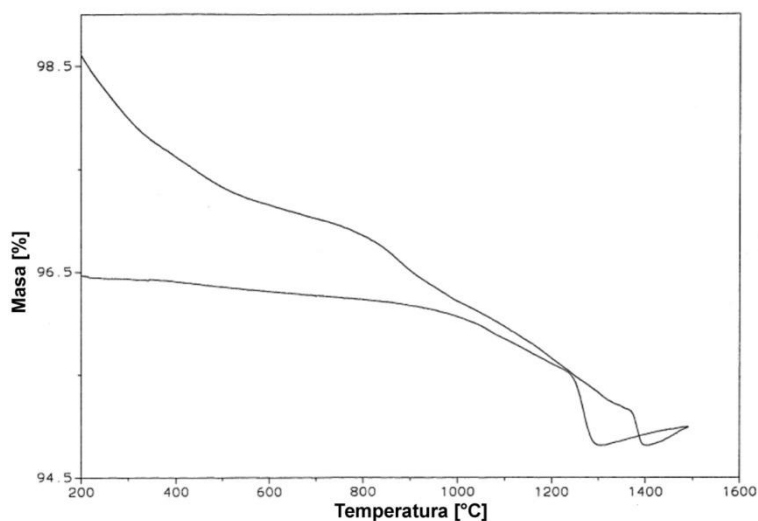
Često je slučaj da sintetički HA sadrži nestabilne primese poput  $\text{HPO}_4^{2-}$  i  $\text{CO}_3^{2-}$  [35]. Tokom sinteze HA u vodenim rastvorima  $\text{HPO}_4^{2-}$  je posledica njegove slabe konstate disocijacije, dok je  $\text{CO}_3^{2-}$  posledica kontaminacije vodenih rastvora sa  $\text{CO}_2$  iz okolnog vazduha. Ove primese se termički razlažu prema hemijskim jednačinama (14)-(17) unutar naznačenih temperaturnih intervala [35]:



$\text{HPO}_4^{2-}$  i  $\text{CO}_3^{2-}$  primese su često prisutne u malim količinama u polaznim HA prahovima za nanošenje HA prevlaka plazma sprej postupkom. U toku postupka nanošenja, čestice HA prahova trpe temperature koje su značajno iznad  $\sim 800$  °C. Prema jednačinama (14)-(17), na temperaturama  $> 800$  °C,  $\text{HPO}_4^{2-}$  prelazi u fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), a  $\text{CO}_3^{2-}$  u gasoviti  $\text{CO}_2$ , uz simultano isparavanje  $\text{H}_2\text{O}$ . Zbog malih količina, kao i transformacija na visokim temperaturama tokom procesa nanošenja, uticaj ovih primesa u HA prevlakama se često zanemaruje pri razmatranju njihove strukture u nanesenom stanju.

### 2.2.2.2. Kvazi-ravnotežno (sporo) hlađenje

Hlađenje pri brzini od  $\sim 10$  °C/min u atmosferi vazduha može da izazove fazne transformacije sa prisustvom histereziisa (kada se temperaturni intervali stabilnosti faza razlikuju pri hlađenju od onih pri zagrevanju) [34]. Na SI.28 je prikazana TGA kriva koja prikazuje fenomen histereziisa. Pri hlađenju sa 1500 °C,  $\alpha'$ -TCP i TTCP faze su prisutne do  $\sim 1100$  °C. Tokom hlađenja, početak transformacije  $\alpha'$ -TCP+TTCP u OA je detektovan na  $\sim 1350$  °C, a kraj na  $\sim 1300$  °C. Preostali deo  $\alpha'$ -TCP+TTCP počinje da transformiše u OHA na  $\sim 1290$  °C, a transformacija se završava na  $\sim 1100$  °C. Na osnovu ovoga može da se zaključi da postoji razlika u temperaturnoj stabilnosti  $\alpha'$ -TCP i TTCP faza pri zagrevanju i hlađenju sa istom brzinom zagrevanja/hlađenja (10 °C/min).  $\alpha'$ -TCP i TTCP faze su pri zagrevanju detektovane u temperaturnom intervalu između  $\sim 1360$  i  $\sim 1500$  °C, dok su pri hlađenju prisutne u temperaturnom intervalu između  $\sim 1500$  i  $\sim 1100$  °C.



**SI.28.** TGA kriva pokazuje pojavu faznog histereziisa (adaptirano iz [34]).

Pojava faznog histereziisa je važna za razumevanje faznih transformacija koje se dešavaju pri ekstremno velikim brzinama hlađenja tokom procesa nanošenja HA prevlaka plazma sprej postupkom, jer prisustvo pojedinih faza u zakaljenim strukturama HA depozita može da se objasni na osnovu ovog fenomena.

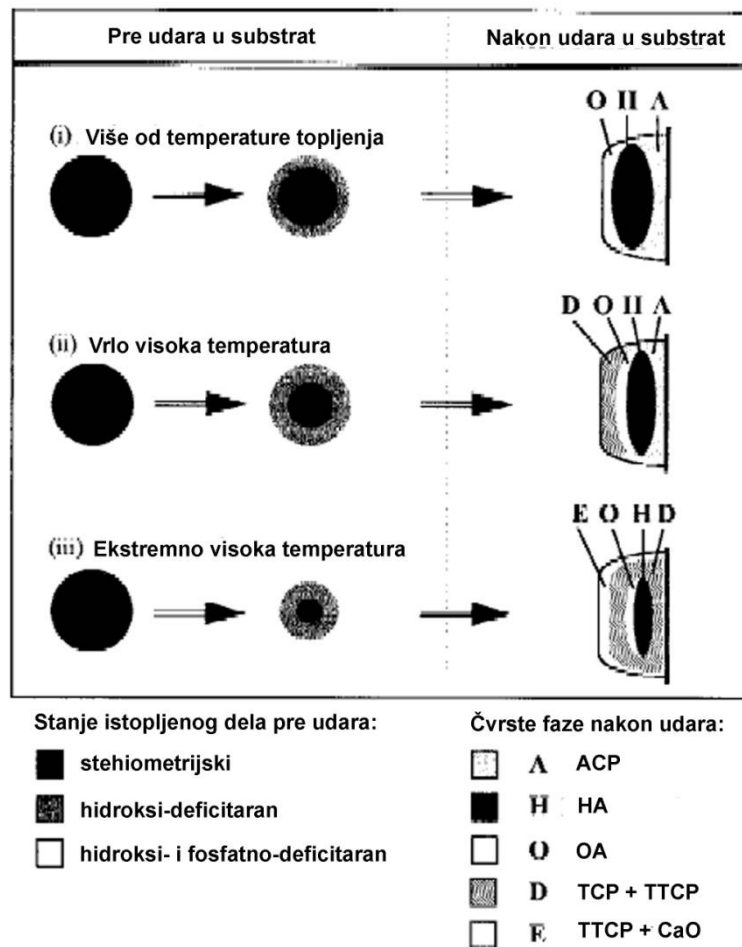
### 2.2.3. Fazne transformacije pri neravnotežnom zagrevanju i hlađenju

Kao što je već napomenuto (vidi poglavlje 2.1.3), vreme boravka čestica polaznog HA praha u plazma mlazu je reda veličine nekoliko milisekundi, dok površinska temperatura čestice dostiže temperature koje prevazilaze temperaturu topljenja HA ( $\sim 1570$  °C). U takvim uslovima, brzina zagrevanja je reda veličine  $10^6$ - $10^7$  °C/s. Pri razmatranju faznih transformacija tokom termičkog razlaganja HA u plazma mlazu neophodno je uzeti u obzir sposobnost topljenja HA čestice, koja zavisi od brzine i temperature HA čestice, kao i otpornosti HA čestice ka prelazu toplote sa plazma mlaza na unutrašnjost čestice, što zavisi od brzine i temperature plazma mlaza i Biot-ovog broja HA čestice. Uopšteno, pretpostavljajući sferični oblik HA čestice, svojstva plazma mlaza utiču na efikasnost konvekcije toplote sa plazma mlaza na površinu HA čestice, dok Biot-ov broj utiče na kondukciju toplote od površine ka centru HA čestice. Oba faktora utiču na formiranje temperaturnog gradijenta u radijalnom pravcu HA čestice. Uticaj Biot-ovog broja je objašnjen u poglavlju 2.1.2.4, pa će ovde biti reči samo o uticaju svojstava plazma mlaza.

Za istu veličinu i oblik HA čestice, različita snaga plazma izvora može da utiče na formiranje različitih temperaturnih gradijenata u radijalnom pravcu HA čestice. Sl.29 prikazuje kako povećanje temperature plazma mlaza (kroz povećanje snage plazma izvora) utiče na stepen topljenja HA čestice [32]. Manja snaga plazma izvora će izazvati nižu temperaturu plazma mlaza, a time i manje topljenje spoljnog dela HA čestice. U ovom slučaju je unutrašnjost čestice otpornija ka zagrevanju (kao u slučaju većih čestica polaznog praha kod razmatranja uticaja Biot-ovog broja, vidi poglavlje 2.1.2.4), temperaturni gradijent u površinskom sloju je strmiji, a HA čestica je manje podložna termičkom razlaganju. Sa povećanjem snage plazma izvora, raste i temperatura plazma mlaza, kao i stepen topljenja HA čestice. Unutrašnjost HA čestice je manje otporna na zagrevanje, temperaturni gradijent u površinskom sloju HA čestice je manji, pa je čestica podložnija termičkom razlaganju.

Već je napomenuto da se pri sporijem hlađenju javlja fazni histerezis na osnovu koga mogu da se objasne faze prisutne u depozitu HA prevlaka nakon hlađenja pri udaru u substrat (vidi Sl.28, poglavlje 2.2.2.2). U idealnom slučaju (pri beskonačno velikoj brzini hlađenja), sve kristalne faze koje su nastale termičkom dekompozicijom

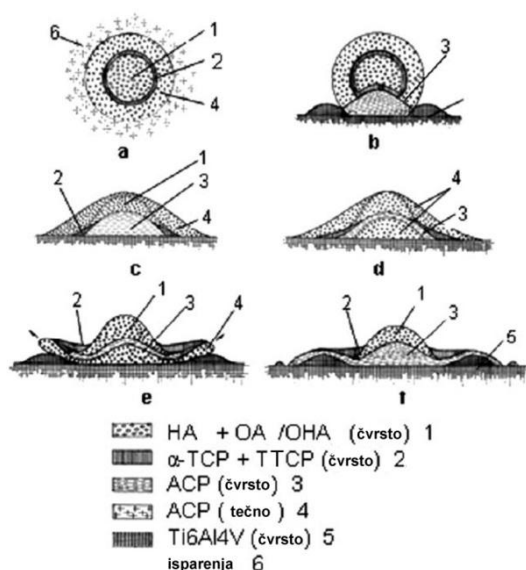
HA čestice u plazma mlazu ostaju prisutne u depozitu. S druge strane, tečna faza (istopljeni deo HA čestice) prelazi u amorfnu ACP fazu. Na desnoj strani Sl.29 su prikazane faze koje se javljaju u slučajevima različitog stepena topljenja (termičke razgradnje) HA čestice [32]. Sve veći stepen topljenja HA čestice u plazma mlazu unosi heterogeniju strukturu HA depozita. Pri manjem stepenu topljenja, manja termička razgradnja HA čestice utiče na formiranje ACP, HA i OHA faza, dok su pri većem stepenu topljenja HA čestica prisutne i TCP, TTCP i CaO faze.



**Sl.29.** Uticaj energije plazme (temperature čestica) na njihovu strukturu dobijenu nakon kaljenja čestica pri udaru u substrat. Model pretpostavlja istu polaznu veličinu i oblik čestica (adaptirano iz [32]).

Sl.30 prikazuje elementarne promene koje čestica HA prolazi tokom interakcije sa substratom [40]. Struktura čestice neposredno pre udara u substrat (Sl.30a) se sastoji iz HA+OHA/OA (1), koji je okružen ljuskom TCP+TTCP (2) oko koje se nalazi tečna

faza (4) i gasovi (isparenja) (6). Pri udaru (Sl.30b), tečna faza (4) prva dolazi u kontakt sa substratom, a ostatak je prekriva. Ova faza se naziva kontaktno-kompresiona faza (*eng. contact and compression phase*). Sledeća faza (Sl.30c) je faza kompresije i protoka (*eng. compression and flow phase*) u okviru koje se vrši preraspodela materijala u površinskim slojevima. Zatim sledi faza ponovnog stapanja (*eng. remelting phase*) (Sl.30d) i na kraju faza hlađenja (*eng. cooling phase*) (Sl.30f). Proces očvršćavanja otpočinje u toku faze hlađenja, a njegov ishod zavisi od brzine hlađenja i prisustva hidroksilnih jona.



**Sl.30.** Niz faza kroz koje prolazi delimično istopljena čestica HA praha pri udaru u substrat (adaptirano iz [40]).

U poglavlju 2.1.3 je napomenuto da hlađenje čestice polaznog praha nakon udara u substrat započinje očvršćavanjem tečnog dela, a zatim hlađenjem kompletnog depozita, pri čemu je proces hlađenja duži od procesa očvršćavanja. Tokom procesa hlađenja kompletnog depozita, čestica depozita emituje toplotu ka podlozi na kojoj se nalazi (substrat ili prethodno formiran depozit) (Sl.19). Na osnovu prethodnog, u slučaju HA depozita, proces rekristalizacije nakon udara u substrat će se odvijati u tri stadijuma:

1. Očvršćavanje istopljenog dela HA čestice, pri čemu može doći do formiranja dve faze, stehiometrijskog HA i amornog ACP

2. Rekrystalizacija ACP tokom hlađenja kompletnog HA depozita, koja zavisi od brzine hlađenja i prisustva hidroksilnih jona
3. Rekrystalizacija ACP u prethodno formiranom HA depozitu (ukoliko je prisutan ispod novoformiranog depozita), koja zavisi od temperature dostignute tokom emitovanja toplote iz novoformiranog HA depozita i vremenskog trajanja emisije toplote, kao i od prisustva hidroksilnih jona.

S obzirom da hlađenje potpuno ili delimično istopljene čestice polaznog HA praha pri udaru u substrat ili prethodno formirani depozit traje izuzetno kratko (reda veličine nekoliko mikrosekundi) i s obzirom na poteškoće praćenja faznih transformacija u tako kratkom vremenskom intervalu, eksperimenti termičke obrade ACP faze su imali i imaju važnu ulogu za razumevanje procesa rekrystalizacije ACP faze tokom formiranja HA depozita [37,41-48]. Rekrystalizacija ACP faze može da izazove pojavu različitih faza, kao što su HA, OHA/OA, TCP, TTCP i CaO, što zavisi od svojstava ACP faze (koja je oformljena tokom kaljenja istopljenog dela HA čestice pri udaru u substrat ili prethodno formirani depozit), temperature, prisustva hidroksilnih jona/vlage u ACP fazi i okolnoj atmosferi, kao i od količine oslobođene toplote nadolazećih HA čestica iz plazma mlaza pri udaru u prethodno formirani HA depozit.

#### **2.2.4. Rekrystalizacija iz ACP i tečne faze**

Ispitivanja rekrystalizacije ACP faze su vršena naknadnom termičkom obradom u različitim atmosferama (i temperaturnim intervalima): vakuum (400-800 °C) [41]; azot (25-1000 °C) [42,43]; helijum (25-1200 °C) [44]; argon (25-1200 °C) [44]; vazduh (500-800 °C) [37], (25-1200 °C) [44] i (500-700 °C) [45]; vodena para (300-460 °C, pri  $p(H_2O)=1$  i 10 kPa) [46], (125 °C;  $p(H_2O)=150$  kPa) [47]. Najveći broj ispitivanja je izvršen na HA prevlakama koje su nanese pomoću plazma spreja na način da se postigne što veći udeo ACP faze. U nekim slučajevima je postignuta potpuna amorfnost HA prevlaka [37,44], ali su u većini slučajeva u polaznim HA prevlakama bile prisutne i kristalne faze [41-43,45-47]. Pored ovih razlika, sve HA prevlake su bile nanese pri različitim parametrima plazma sprej procesa. Proces rekrystalizacije ACP je najčešće praćen diferencijalnom termijskom analizom (DTA/DSC), termogravimetrijskom

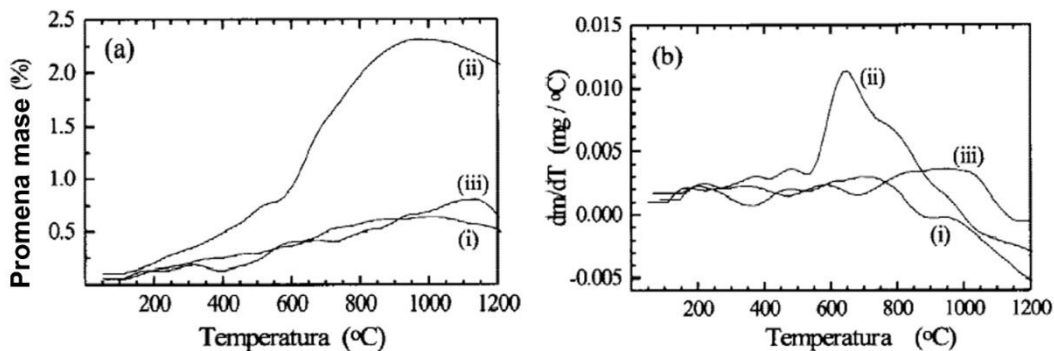


analizom (TGA), rentgenskom difraktometrijom praha (XRPD) i infracrvenom spektrometrijom sa Fourier-ovom transformacijom (FTIR).

Iako su korišćene različite atmosfere, istraživanja su pokazala da rekristalizacija ACP značajno zavisi od prisustva vodene pare u okolnoj atmosferi, ali i od prisustva hidroksilnih grupa u polaznim uzorcima amorfnih HA prevlaka. Rekristalizacija ACP se ne odvija u inertnoj atmosferi argona ili helijuma u slučaju potpuno amorfnih uzoraka HA prevlaka, dok se u uslovima ambijentalnog vazduha dešava [44]. U ovom slučaju, ambijentalni vazduh sadrži vlagu koju ACP uzorci absorbuju, što izaziva njihovu rekristalizaciju. S druge strane, rekristalizacija ACP je zapažena u inertnim uslovima vakuuma, ali u uzorcima koji sadrže određeni udeo HA faze (hidroksilne grupe).

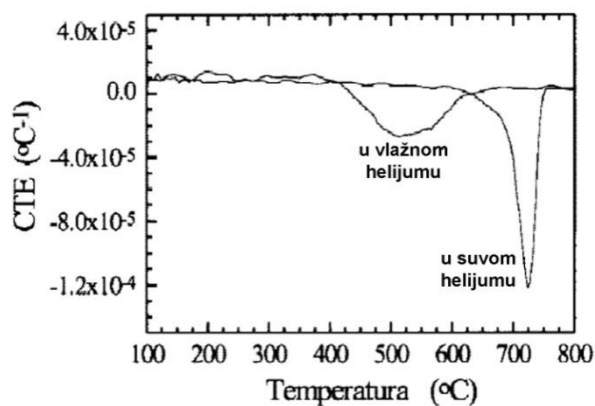
Eksperimenti u ambijentalnom vazduhu su pokazali da se rekristalizacija ACP najintenzivnije odvija u temperaturnom intervalu 500-700 °C, pri čemu se maksimalni efekat postiže na temperaturi od ~600 °C [37,44,45]. Slični rezultati su postignuti u atmosferi vakuuma [41] i azota [42]. Kada je korišćena vodena para, rekristalizacija ACP je detektovana između 300 i 460 °C pri  $p(H_2O)=1$  i 10 kPa [46], dok je pri većem parcijalnom pritisku vode  $p(H_2O)=150$  kPa rekristalizacija ACP uočena na 125 °C [47].

*Gross i saradnici* su izvršili eksperimente rekristalizacije ACP pri strogo kontrolisanim uslovima sredine [44]. Na osnovu ispitivanja u ambijentalnom statičkom vazduhu, argonu i helijumu, oni su utvrdili da ACP rekristališe prvo u HA, a nakon toga u OA. Na Sl.31a je prikazana TGA analiza uzorka ACP u različitim uslovima sredine (statički vazduh, argon i helijum), dok je na Sl.32b prikazana promena prvog izvoda mase po temperaturi ( $dm/dT$ ) sa temperaturom (T). U atmosferi argona i helijuma, nema značajne promene mase do ~800 °C. S druge strane, u atmosferi vazduha masa ACP uzorka se ne menja do ~500 °C. Porast mase je primećen između ~500 i ~900 °C ( $dm/dT>0$ , Sl.31b), dok je pad mase detektovan na temperaturama >900 °C ( $dm/dT<0$ ). Maksimalni porast mase ACP uzorka sa temperaturom ( $dm/dT=max$ ) je uočen na ~630 °C (Sl.31b). *Gross i saradnici* su tumačili porast mase kao sposobnost ACP faze da absorbuje hidroksilne jone (vlagu) iz okolne atmosfere [44]. ACP absorbuje hidroksilne jone u intervalu temperatura između ~500 i ~900 °C, a najintenzivnije na ~630 °C [44].



**SI.31.** (a) TGA analiza porasta mase kristalnog hidroksiapatitnog praha u statičkom vazduhu (i), amorfne faze u statičkom vazduhu (ii) i amorfne faze u helijumu (15 cm<sup>3</sup>/min); (b) prvi izvod promene mase sa (a) (adaptirano iz [44]).

*Gross i saradnici* su takođe izvršili dilatometrijska ispitivanja u vlažnom i suvom helijumu (SI.32) [44]. U vlažnom helijumu maksimalni efekat rekristalizacije ACP se dešava na nešto nižim temperaturama nego u vazduhu (~500 °C), dok u suvom helijumu ACP rekristališe na 720 °C.



**SI.32.** Dilatometrija ACP faze u vlažnom i suvom helijumu; CTE – koeficijent termičke ekspanzije (adaptirano iz [44]).

*Gross i saradnici* definišu dve vrste ACP [32,44]: (i) hidroksilovani ACP (bogat hidroksilnim jonima) i (ii) dehidroksilovani ACP (siromašan hidroksilnim jonima). Hidroksilovani ACP rekristališe u HA (eksperiment sa vlažnim helijumom, SI.32), dok dehidroksilovani ACP rekristališe u OA (eksperiment sa suvim helijumom, SI.32). Oni su pokazali da je aktivaciona entalpija rekristalizacije hidroksilovanog ACP u HA (230 kJ/mol) skoro dvostruko manja od aktivacione entalpije rekristalizacije

dehidroksilovanog ACP u OA (440 kJ/mol) [44]. Takođe, aktivacione entalpije difuzije hidroksilnih (OH<sup>-</sup>) jona kroz ACP (274 kJ/mol) i HA (251 kJ/mol) imaju vrednosti koje su bliske aktivacionoj entalpiji rekristalizacije hidroksilovanog ACP u HA (230 kJ/mol), što ukazuje na to da se difuzija OH<sup>-</sup> jona može konkurentno javiti u ACP i HA. Ukupan efekat ove difuzije je rast HA kristala na račun ACP faze.

Eksperimenti termičke obrade su pokazali da je produkt procesa rekristalizacije ACP češće TTCP nego TCP faza. Nekoliko studija je pokazalo da su, pored HA, produkti rekristalizacije ACP na temperaturama >600 °C, TTCP i CaO faze [41-43]. Međutim, na osnovu ovih istraživanja nije jasno da li je TTCP nastala kao produkt razlaganja HA faze ili je iskristalisala iz ACP. TCP faza se najčešće formira tokom procesa nanošenja u plazma spreju i sadržaj ove faze se tokom termičke obrade praktično ne menja, što pokazuje njenu izraženu stabilnost [48]. Najčešća fazna promena TCP faze tokom termičke obrade je njena polimorfna transformacija.

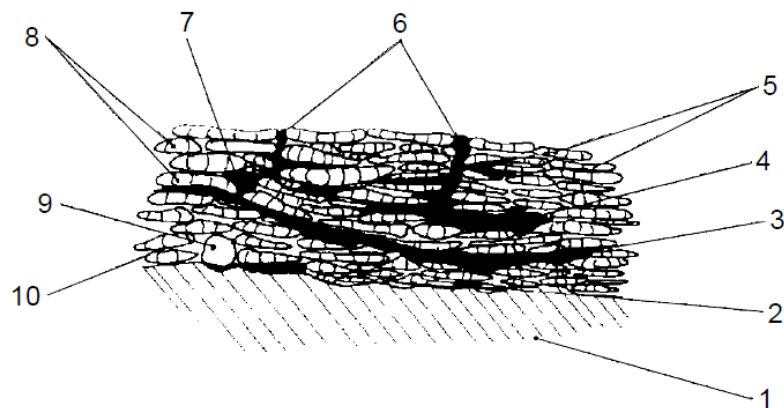
Pored rekristalizacije ACP, *Gross i saradnici* [32] i *Sun i saradnici* [30] su diskutovali verovatnoću očvršćavanja kristalnih faza iz istopljenog dela čestice polaznog HA praha. Oni su zaključili da je pojava HA iz rastopa najverovatnija. S druge strane, *Gross i saradnici* [32] su komentarisali da je pojava TTCP i/ili TCP iz rastopa manje energetski povoljan proces nego pojava OA, jer zahteva veću preraspodelu atoma tokom samog procesa.

Na osnovu prethodnog, verovatnoća rekristalizacije faza iz ACP faze i istopljenog dela čestica polaznog HA praha se smanjuje u sledećem nizu: HA, OHA/OA, TTCP, CaO, TCP.

## 2.3. Hemijska, strukturna i morfološka heterogenost HA prevlaka

### 2.3.1. Heterogenost po debljini HA prevlaka

Sl.33 shematski prikazuje najvažnije tipove defekata koji mogu da se jave u prevlakama dobijenim postupkom termalnog spreja [49].



**Sl.33.** Tipovi defekata koji se javljaju u prevlakama nanesenim postupkom termičkog spreja [49]; 1 – substrat, 2 - slab kontakt sa substratom (delaminacija), 3 – horizontalna makro-prslina, 4 – horizontalna mikro-prslina izazvana relaksacijom vertikalnih (zateznih) naprezanja, 5 – lamelarna čestica HA depozita usled udara istopljene čestice polaznog praha, 6 – vertikalne makro-prsline izazvane relaksacijom horizontalnih napona (brža kompresija substrata od prevlake tokom hlađenja nakon procesa nanošenja), 7 – pora ekvivalentnog prečnika većeg od 10 μm (makro-poroznost), 8 – deformisane lamele depozita usled udara delimično istopljenih čestica polaznog praha, 9 – depozit neistopljene/delimično istopljene čestice polaznog praha, 10 – pora ekvivalentnog prečnika od nekoliko mikrometara do sub-mikrometarskih razmera (mikro-poroznost) (adaptirano iz [49]).

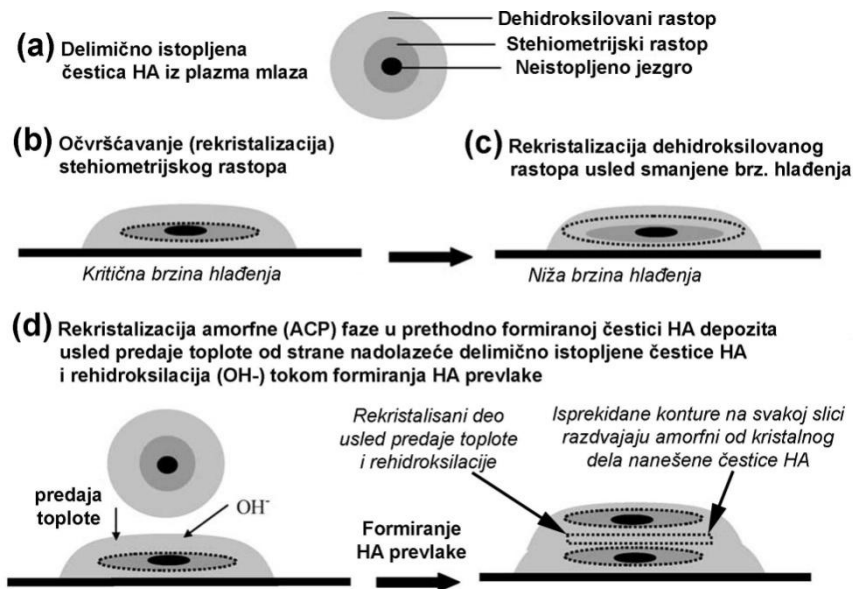
HA prevlake nanesene postupcima termalnog spreja principijelno mogu da sadrže tri tipa strukturnih heterogenosti:

1. Faznu heterogenost
2. Poroznost i
3. Prsline.

### 2.3.1.1. *Sun-ov model formiranja HA prevlaka*

Za razumevanje pojave makro-strukturnih heterogenosti, a posebno faznih, koje se javljaju u HA prevlakama, kao i za izbor optimalne metode za smanjenje njihovog prisustva, od izuzetne važnosti je poznavanje mehanizma formiranja ovih prevlaka. Trenutno, *Sun-ov* model formiranja HA prevlaka (Sl.34) predstavlja model koji najpotpunije objašnjava prisustvo fazne makro-heterogenosti HA prevlaka [30]. Ovaj model polazi od sledećih pretpostavki [30]:

- Formiranje faza nakon nanošenja delimično istopljene HA čestice iz plazma mlaza zavisi od (i) prisustva hidroksilnih jona u HA čestici i brzine hlađenja HA čestice, kao i od (ii) akumulacije hidroksilnih jona iz okolne atmosfere i akumulacije toplote tokom rasta HA prevlake
- Delimično istopljena HA čestica iz plazma mlaza je troslojna (Sl.34a). Sastoji se iz neistopljenog jezgra, koje je okruženo hidroksilovanim slojem rastopa stehiometrijskog sastava ( $Ca/P=1.67$ ), oko koga je oformljen dehidroksilovani sloj rastopa.
- Pri udaru troslojne HA čestice, drugi (stehiometrijski) sloj se hladi kritičnom brzinom hlađenja pri kojoj očvršćava u HA fazu (Sl.34b), dok dehidroksilovani sloj prelazi u ACP fazu.
- Prisustvo nečistoća TCP, TTCP i CaO se zanemaruje.



**Sl.34.** Shematski prikaz procesa rekristalizacije delimično istopljene HA čestice (a) tokom očvršćavanja njenog istopljenog dela (b i c) i tokom formiranja prevlake (d) (adaptirano iz [30]).

Prema *Sun*-ovom modelu [30], postoje dve mogućnosti za postizanje veće kristaličnosti HA prevlaka. Prva je smanjenje brzine hlađenja, koje može da izazove očvršćavanje dela dehidroksilovanog sloja i pojavu novih kristalnih faza (Sl.34c), a druga je rekristalizacija ACP u prethodno formiranom HA depozitu usled akumulacije hidroksilnih grupa i toplote tokom rasta prevlake (Sl.34c).

Prva mogućnost pretpostavlja da dodatno smanjenje brzine hlađenja može da izazove očvršćavanje dela dehidroksilovanog sloja u OA fazu i na taj način poveća ukupnu kristaličnost prevlake [30], što je u skladu sa ranijim istraživanjima *Gross-a i saradnika* [32,50], koji su zaključili da je pojava drugih faza, kao što su TCP i TTCP, manje energetski povoljna od formiranja OA faze. Naime, OA faza poseduje kristalnu strukturu sličnu HA i zbog toga zahteva manju atomsku preraspodelu za nukleaciju i rast na već prisutnim kristalima HA u poređenju sa TCP ili TTCP. *Sun i saradnici* su zaključili da temperatura substrata tokom procesa nanošenja može lokalno da dostigne vrednosti  $>1000$  °C usled prelaza toplote sa plazma mlaza i zagrejanih čestica iz plazma mlaza (akumulacija toplote), što može da smanji brzinu hlađenja nadolazećih HA čestica iz plazma mlaza i time izazove očvršćavanje dela dehidroksilovanog sloja HA čestica u kristalni OA [30].

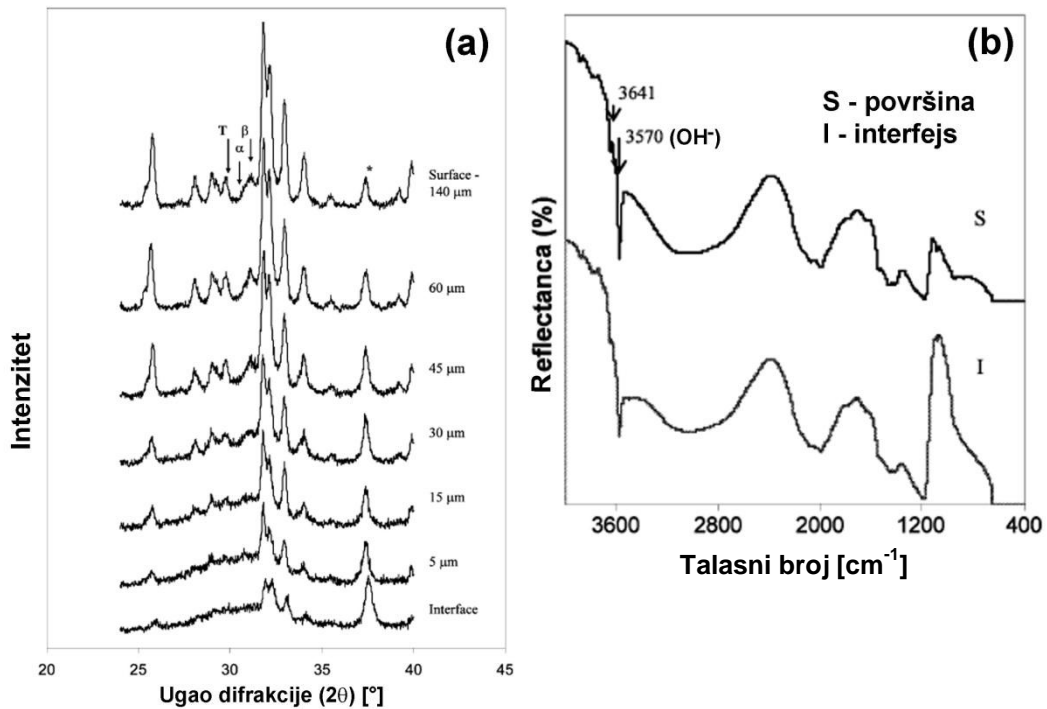
S obzirom da se rekristalizacija ACP dešava u temperaturnom intervalu 500-700 °C (vidi poglavlje 2.2.4) [30], druga mogućnost pretpostavlja da akumulacija toplote sa nadolazećih HA čestica i/ili plazma mlaza može da izazove rekristalizaciju ACP u prethodno formiranoj čestici HA depozita (Sl.34c). Imajući u vidu da je vremenski interval između udara HA čestica iz plazma mlaza u istu tačku substrata reda veličine 0.1 s, što je  $\sim 10^6$  puta duže od vremena trajanja procesa očvršćavanja i rekristalizacije HA depozita (Sl.19, poglavlje 2.1.3), dehidroksilovani ACP u prethodno formiranom HA depozitu može da ugradi hidroksilne jone iz okolne atmosfere, tj. može da bude rehidroksilovan u ovom vremenskom intervalu. Nakon toga, rehidroksilovani ACP rekristališe u HA ukoliko je toplota predata sa nadolazeće HA čestice iz plazma mlaza dovoljna da izazove porast lokalne temperature iznad temperature rekristalizacije ACP u HA [30]. Ranije je napomenuto da se rekristalizacija ACP u HA odvija na temperaturama između  $\sim 500$  i  $\sim 700$  °C, dok je na višim temperaturama ( $>700$  °C) verovatna i rekristalizacija dehidroksilovanog ACP u OHA ili OA (vidi poglavlje 2.2.4).

### 2.3.1.2. Fazna (i hemijska) heterogenost

Ukoliko se uvedu pretpostavke:

- da sve HA čestice iz plazma mlaza imaju ista svojstva (veličina, stepen topljenja, brzina, temperatura) pre udara u substrat,
- da je brzina hlađenja ista za svaku HA česticu pri udaru u substrat ili u prethodno nanoseni depozit tokom procesa nanošenja i
- da je u prethodno formiranom HA depozitu nivo rehidroksilacije ACP faze iz okolne atmosfere uvek isti,

tada bi HA prevlake po celoj zapremini pokazivale strukturnu heterogenost na mikro nivou, tj. na nivou čestica HA depozita. Drugim rečima, HA prevlake bi posedovale strukturnu homogenost na makro-nivou.

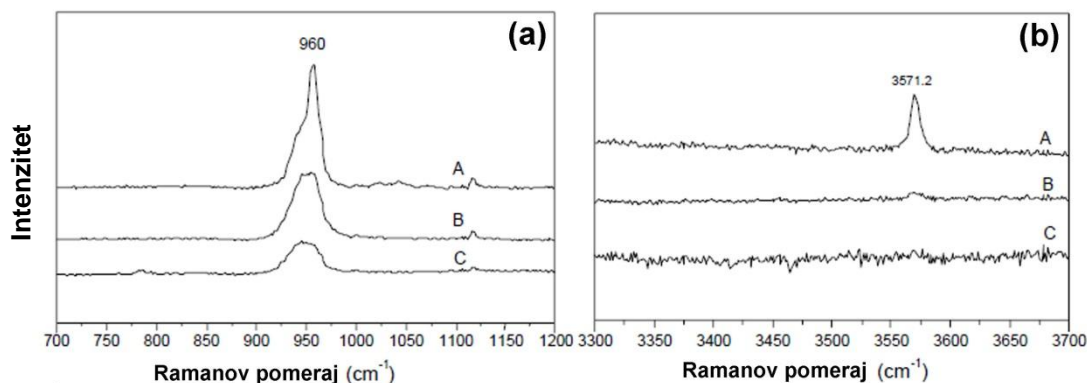


**SI.35.** Promena kristaličnosti (a) i sadržaja hidroksilnih jona (b) po debljini HA prevlaka nanesenih atmosferskim plazma sprej postupkom [30]; oznaka “T” odgovara najintenzivnijem piknu koji potiče od TTCP faze, dok “α”, “β” i “\*” ukazuju na α-TCP, β-TCP i CaO, respektivno (adaptirano iz [30]).

Nasuprot ovako idealizovanom modelu makro-strukturne homogenosti HA prevlaka, prethodne studije su pokazale da HA prevlake u nanesenom stanju mogu da pokazuju prisustvo makro-strukturne heterogenosti poznate kao *gradijent kristaličnosti*, koji se prostire od amornog interfejsa prevlaka/substrat do kristalnih površinskih delova ovih prevlaka [30,51-53]. U studiji *Sun i saradnika* [30], gradijent kristaličnosti je detektovan primenom XRPD metode. SI.35a prikazuje relativni porast integralnog intenziteta HA pikova u odnosu na relativno smanjenje integralnog intenziteta amorfne grbe između  $2\theta=25$  i  $37^\circ$ , koji ukazuje na porast kristaličnosti sa povećanjem rastojanja od interfejsa prevlaka/substrat u pravcu debljine HA prevlake [30]. Gradijent kristaličnosti po dubini HA prevlaka je pomoću XRPD detektovan i u drugim vrstama HA prevlaka [51-53]. Takođe, gradijent kristaličnosti je potvrđen primenom MRS metode (SI.36a) [54]. Na SI.36a je prikazano da sa povećanjem rastojanja od interfejsa prevlaka/substrat raste i integralni intenzitet Raman pika na frekvenciji  $\sim 960\text{ cm}^{-1}$ , koji potiče od HA, u odnosu na intenzitet pika (ramena) na frekvenciji  $\sim 950\text{ cm}^{-1}$ , koji



odgovara ACP. Postojanje gradijenta kristaličnosti se može objasniti na osnovu *Sun*-ovog modela formiranja HA prevlaka (vidi poglavlje 2.3.1.1) [30].



**SI.36.** Promena kristaličnosti (a) i sadržaja hidroksilnih jona (b) po debljini HA prevlaka detektovan MRS analizom. A je površina, B je sredina, a C interfejs prevlaka/substrat (adaptirano iz [54]).

Različite metode ispitivanja su pokazale da HA prevlake, pored gradijenta kristaličnosti, mogu da pokazuju i *gradijent sadržaja hidroksilnih jona* u pravcu debljine prevlake. FTIR merenja su pokazala da se sa povećanjem rastojanja od interfejsa prevlaka/substrat sadržaj hidroksilnih jona menja (SI.35b) u skladu sa promenom sadržaja HA faze, koja je detektovana pomoću XRPD (SI.35a). Pored FTIR metode, prisustvo gradijenta hidroksilnih jona u pravcu debljine HA prevlaka je detektovano i primenom MRS (SI.36b) [54-56]. SI.36 prikazuje da je promena integralnog intenziteta Raman pika na  $\sim 3571 \text{ cm}^{-1}$ , koji potiče od  $\text{OH}^-$  vibracija, sa povećanjem rastojanja od interfejsa (SI.36b) analogna promeni integralnog intenziteta HA pika na  $\sim 960 \text{ cm}^{-1}$  (SI.36a).

*Sun* i *saradnici* su vršili procenu efekta rekristalizacije tokom rasta HA prevlaka na kristaličnost površinskih delova HA prevlaka na osnovu razlike između kristaličnosti površinskih delova prevlaka i kristaličnosti delova blizu interfejsa prevlaka/substrat [30]. U slučaju iste HA prevlake, ovi autori su prepostavili da “čestice polaznog HA praha poseduju približno isti stepen topljenja i približno isti stepen dehidroksilacije pre udara u substrat, te da samo razlika u očvršćavanju istopljenog dela HA čestica i razlika u rekristalizaciji amorfno (ACP) dela HA depozita tokom rasta HA prevlake utiču na ishod procesa rekristalizacije na površini HA prevlake”, tj. na kristaličnost površinskih

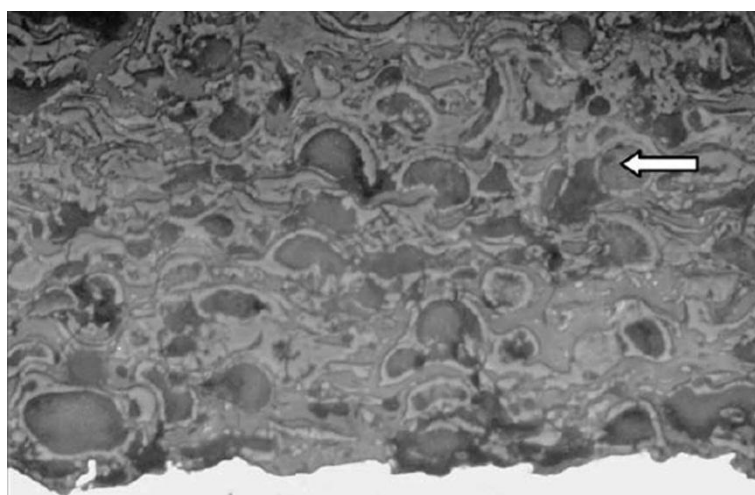
delova HA prevlaka [30]. Kristaličnost HA prevlake na površini, interfejsu ili na nekoj debljini principijelno zavisi od sadržaja HA faze koja je dominantno prisutna kristalna faza u ovim prevlakama. Problemi vezani za određivanje kristaličnosti HA prevlaka, tj. za procenu efekta rekristalizacije, pomoću tradicionalne XRPD metode su vezani za prisustvo kristalnih HA faza različitih vrsta i porekla, koje ovaj metod teško razlikuje. Sledeće HA faze mogu da budu prisutne u HA prevlakama [30]:

- Neizmenjena ili blago izmenjena (dehidratisana) HA faza prisutna u neistopljenim i/ili delimično istopljenim HA česticama,
- Hidroksi-deficitarna ili dehidroksilovana HA faza (OHA ili OA) prisutna u neistopljenim i/ili delimično istopljenim HA česticama,
- Rekristalisana HA faza nastala očvršćavanjem stehiometrijskog dela rastopa HA nakon udara čestice u substrat,
- Rekristalisana HA faza nastala rekristalizacijom ACP faze bogate sa hidroksilnim vrstama,
- Rekristalisana hidroksi-deficitarna ili dehidroksilovana HA faza (OHA ili OA) nastala očvršćavanjem stehiometrijskog dela hidroksi-deficitarnog ili dehidroksilovanog rastopa HA,
- Rekristalisana hidroksi-deficitarna ili dehidroksilovana HA faza (OHA ili OA) nastala rekristalizacijom hidroksi-deficitarne ili dehidroksilovane ACP faze.

Na osnovu ove podele je jasno da kristaličnost HA prevlaka zavisi jednim delom od udela neistopljenih i/ili delimično istopljenih čestica, koje sa sobom nose određeni sadržaj HA i OHA/OA faza, a drugim delom od količine rekristalisanih HA i OHA/OA struktura, koje su oformljene iz istopljenog dela HA čestica, očvrstnutog nakon udara u substrat ili prethodno formirani depozit, ili rekristalizacijom ACP faze nakon prenosa toplote sa istopljene ili delimično istopljene čestice HA na prethodno formirani depozit.

Sl.37 prikazuje morfologiju poprečnog preseka HA prevlake koja sadrži određeni udeo delimično istopljenih HA čestica (strelica) [30]. Ove čestice su prisutne u svim delovima HA prevlake, pa mogu da imaju značajan uticaj pri određivanju kristaličnosti na bilo kojoj debljini prevlake kada se kristaličnost određuje metodama poput XRPD. Sa povećanjem udela neistopljenih i/ili delimično istopljenih HA čestica

smanjuje se količina istopljenog dela HA čestica koji potencijalno rekristališe nakon udara HA čestice u substrat. Iz ovih razloga se smanjuje i razlika između kristaličnosti površine i interfejsa, što otežava procenu efekta rekristalizacije tokom rasta HA prevlaka. Pored procene efekta rekristalizacije, prisustvo delimično istopljenih HA čestica po celoj zapremini HA prevlake može da oteža utvrđivanje prisustva hidroksilnih jona u rekristalisanom delu prevlake metodama poput FTIR, koje, kao ni XRPD, ne prave razliku između hidroksilnih jona prisutnih u delimično istopljenim HA česticama i u istopljenom delu HA čestica, koji je očvrsnuo nakon udara u substrat ili prethodno formirani HA depozit. Uopšteno, sve metode koje analiziraju veliku površinu HA prevlake (poput XRPD) ili sprášeni materijal HA prevlake uzet sa veće površine prevlake (poput FTIR) sa ciljem procene efekta rekristalizacije ili prisustva hidroksilnih jona u rekristalisanom delu strukturi ne prave razliku između HA i hidroksilnih jona u delimično istopljenim i rekristalisanim HA česticama.



**Sl.37.** Morfologija poprečnog preseka HA prevlaka koja sadži delimično istopljene čestice polaznog HA praha, koje su naznačene strelicom (adaptirano iz [30]).

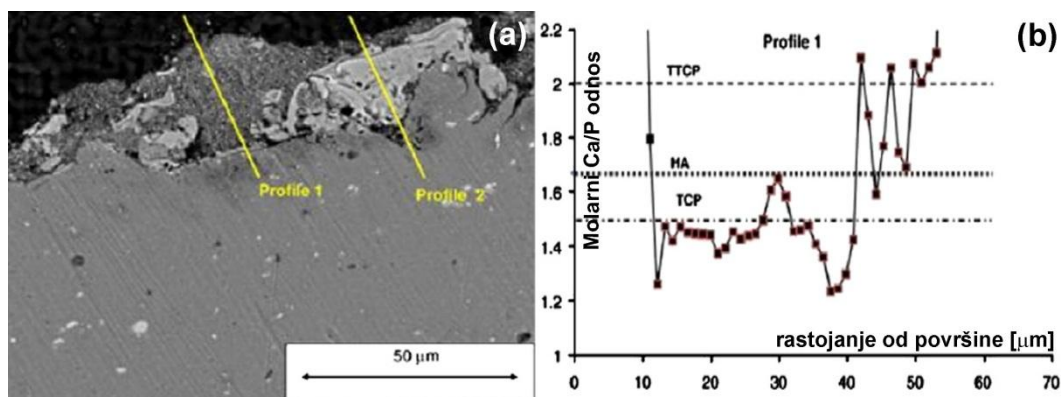
Ukoliko je, s druge strane, u strukturi HA prevlake dominantno prisutan istopljeni deo HA čestica, koji je očvrsnuo nakon udara u substrat ili prethodno formirani HA depozit, tada kristaličnost površinskih delova HA prevlake, prema *Sun-*ovom modelu formiranja prevlake (vidi poglavlje 2.3.1.1), pretežno zavisi od efekta rekristalizacije tokom rasta HA prevlake [30]. Proces rekristalizacije tokom rasta prevlake može biti usporen ili čak zaustavljen ukoliko je: (i) veliki stepen topljenja i

izražena dehidroksilacija čestica polaznog HA praha, (ii) velika brzina njihovog hlađenja nakon udara u substrat ili prethodno formirani HA depozit i (iii) neefikasan transfer toplote sa nadolazeće HA čestice na prethodno formirani HA depozit. Razlika između kristaličnosti površine i interfejsa HA prevlaka može biti mala ili izražena, što prevashodno zavisi od efekta koji je postignut izborom odgovarajućih parametara nanošenja plazma sprej postupkom.

U dosadašnjim ispitivanjima, većina istraživača je koristila parametre nanošenja HA prevlaka plazma sprej postupkom koji ne omogućavaju potpuno, već samo delimično topljenje čestica polaznog HA praha, što generalno otežava procenu efekta rekristalizacije iz već navedenih razloga. Pored toga, generalno je malo istraživanja posvećeno proceni efekta rekristalizacije tokom rasta HA prevlaka koji može imati značajan uticaj na kristaličnost površine HA prevlaka. Pored toga, istraživanja nisu uzimala u obzir različita svojstva koje HA čestice mogu da postignu usled razlika u brzini i temperaturi, a posebno razlike koje čestice mogu da poseduju u radijalnom pravcu plazma mlaza (vidi Sl.15, poglavlje 2.1.2.3).

Kao posledica fazne heterogenosti na mikro-nivou, tj. na nivou čestica HA depozita lamelnog oblika, pojedina ispitivanja su ustanovila postojanje hemijske heterogenosti koja se izražava molarnim Ca/P odnosom. S obzirom da većina nečistih faza koje se javljaju u HA prevlakama imaju međusobno različit molarni Ca/P odnos (vidi Tab.14, poglavlje 2.6.5), ispitivanja su pokazala da se fazna heterogenost HA prevlaka može proceniti na osnovu molarnog Ca/P odnosa određenog na poprečnom preseku HA prevlaka. Na Sl.38 je prikazan primer procene fazne heterogenosti na osnovu linijske EDS analize po poprečnom preseku HA prevlaka, na kome se vide lokacije koje pokazuju različit molarni Ca/P odnos koji ukazuje na prisustvo faza koje se smatraju nečistoćama, posebno na mestima gde je  $Ca/P > 2$ , gde može da se očekuje prisustvo TTCP i CaO faza [57]. Pored ovoga, Sl.38 pokazuje i porast molarnog Ca/P odnosa ka interfejsu prevlaka/substrat što ukazuje na moguće prisustvo gradijenta kristaličnosti u analiziranim HA prevlakama. Poznato je da istopljeni deo HA čestica koji je zakaljen pri udaru HA čestice u substrat može da sadrži kristalne TTCP i CaO, što je povezano sa pojavom isparavanja  $P_2O_5$  i povećanjem Ca/P odnosa u perifernim delovima HA čestice pod dejstvom visokih temperatura plazma mlaza (vidi poglavlje 2.2.2.1, jednačine 11-13). S obzirom da se najveća brzina hlađenja postiže u delovima

HA prevlake blizu interfejsa prevlaka/substrat, to može da objasni povećanje Ca/P odnosa u blizini interfejsa na Sl.38 [57].



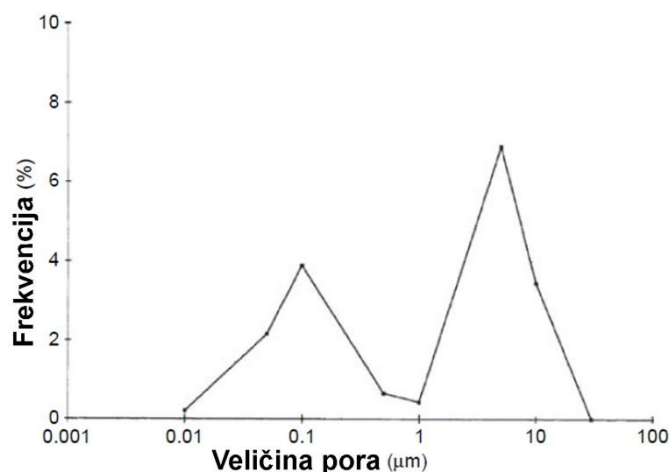
**Sl.38.** (a) Morfologija poprečnog preseka HA prevlake, gde žute linije označavaju lokacije linijske EDS analize, i (b) rezultati ove analize koja pokazuje promenu molarnog Ca/P odnosa sa rastojanjem od površine HA prevlake (adaptirano iz [57]).

Nedostaci vezani za postojanje gradijenta kristaličnosti se vezuju za kristaličnost površinskih delova HA prevlaka i amorfnost HA prevlake duž interfejsa prevlaka/substrat. Izražena površinska kristaličnost umanjuje rastvorljivost HA prevlaka u telesnim tečnostima, što može negativno da se odrazi na inicijalnu fiksaciju koštanog tkiva [58]. S druge strane, prisustvo krte ACP faze duž interfejsa prevlaka/substrat može da prouzrokuje pojavu delaminacije (odvajanja) HA prevlake od substrata [59] u toku perioda implantacije u momentu kada čvrstoća veze između kosti i površine HA prevlake prevaziđe adhezionu čvrstoću između HA prevlake i metalnog implanta, tj. substrata [60] (vidi poglavlje 2.3.1.4.).

### 2.3.1.3. Poroznost

Poroznost u HA [61,62] i drugim vrstama [49] prevlaka se najčešće javlja u vidu šupljina između lamela depozita (međulamelarna poroznost), a posledica je stepena ostvarenog kontakta između čestica depozita. Stepennostvarenog kontakta prevashodno zavisi od stepena topljenja (vidi Sl.13, poglavlje 2.1.2.3) i brzine čestica pri udaru u substrat i/ili prethodno formirani depozit (vidi Sl.20 i 21, poglavlje 2.1.3).

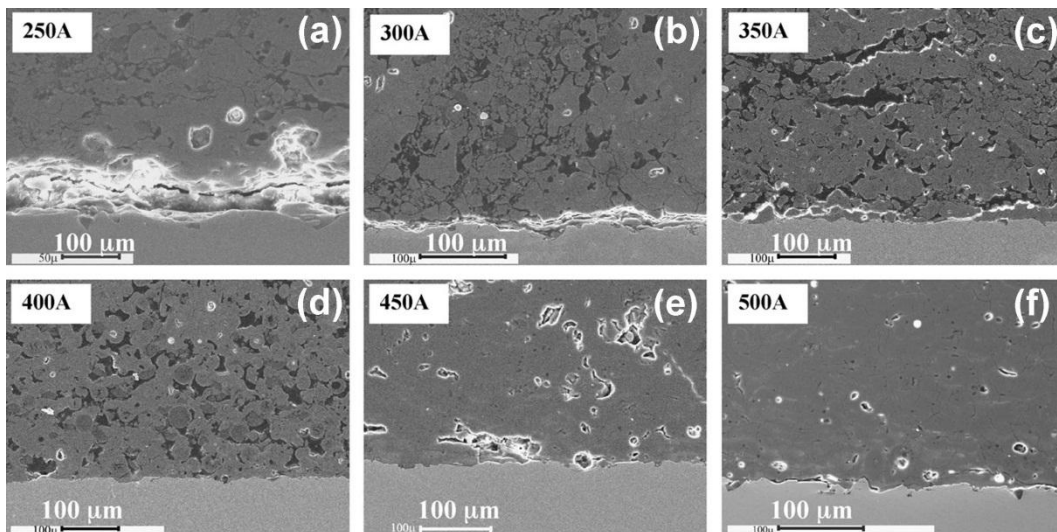
Uopšteno, poroznost prevlaka nanesenih postupcima termalnog spreja je bimodalna (Sl.39) [49], što važi i u slučaju HA prevlaka dobijenih postupkom plazma spreja [61,62]. Bimodalna distribucija pora odgovara slučaju HA prevlaka u kojima su, pored potpuno istopljenih čestica polaznog HA praha, prisutne i delimično istopljene HA čestice. Istopljene HA čestice formiraju tanke lamele depozita koje ostvaruju visok stepen međulamelnog kontakta i manju poroznost, dok delimično istopljene HA čestice formiraju deblje lamele (tipa elipsoida), ostvarujući na taj način niži nivo međulamelnog kontakta i veću poroznost. U slučaju potpuno istopljenih HA čestica, poroznost u međulamelnom prostoru se kreće ispod  $\sim 1 \mu\text{m}$ , dok u slučaju delimično istopljenih HA čestica, ova poroznost može da dostigne vrednosti koje su veće od  $\sim 10 \mu\text{m}$ , zbog čega se javlja bimodalna distribucija pora (Sl.39) [49].



**Sl.39.** Primer raspodele veličina pora u prevlakama  $\text{Al}_2\text{O}_3$  koje su nanese postupkom termičkog spreja [49].

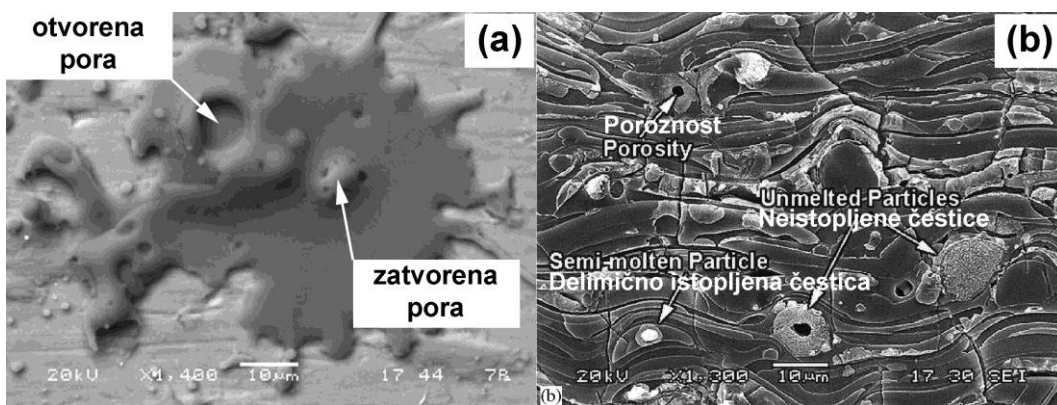
Na Sl.40 je prikazan slučaj zavisnosti poroznosti od povećanog stepena topljenja čestica polaznog HA praha, tj. od povećanja struje (snage) plazma izvora [30,59,63]. Na Sl.40a-d, u HA prevlakama su evidentno prisutne delimično istopljene HA čestice, a poroznost je izražena i bimodalna. Međutim, sa povećanjem struje plazma izvora povećava se i stepen topljenja čestica, što utiče na smanjenje poroznosti, koja dominantno postaje monomodalna sa najfrekventnijim prisustvom pora veličine manje od nekoliko mikrometara (Sl.30e i 30f). Uopšte važi da svi parametri postupka

nanošenja plazma sprejom koji podstiču topljenje HA čestica smanjuju poroznost HA prevlaka [30,49,64-67].



**Sl.40.** Uticaj struje plazma izvora na poroznost HA prevlaka (adaptirano iz [59]).

Pored pora međulamelnog tipa, ispitivanja su pokazala da se u HA prevlakama mogu formirati pore kao posledica zarobljivanja gasa unutar istopljenih HA čestica tokom procesa nanošenja plazma sprej postupkom (Sl.41a) [68,69], ali i kao posledica šupljina prisutnih u česticama polaznog HA praha (Sl.41b) [66].



**Sl.41.** (a) Poroznost usled zarobljavanja gasnog mehura (zatvorena pora) (adaptirano iz [68]); (b) pore prisutne unutar čestica polaznog HA praha (adaptirano iz [66]).

Dosadašnje studije ističu povoljne i nepovoljne strane prisustva poroznosti. U izuzetnim okolnostima, otvorena poroznost HA prevlaka može da omogući penetraciju

telesnih tečnosti do metalnog substrata koji je obložen prevlakom, što može da dovede do rastvaranja substrata i prelaz otrovnih metalnih jona u krvnu plazmu [70,71]. Pored toga, prisustvo poroznosti smanjuje kohezionu čvrstoću HA prevlaka [59,62,63], što je nepovoljno, jer u toku perioda implantacije čvrstoća koja se ostvaruje između novoformiranog koštanog tkiva i HA prevlake može da postane veća od kohezivne čvrstoće HA prevlake [60], što dalje može da dovede do pojave loma unutar HA prevlake i preranog gubitka njene funkcionalnosti. Prednost vezana za prisustvo poroznosti koja se neretko ističe je da poroznost podstiče efikasnije urastanje koštanog tkiva u površinski deo implanta i na taj način učvršćava ugrađenu protezu i sprečava njeno popuštanje u toku post-operativnog toka [62].

Pored toga, izražena poroznost na površini HA prevlaka može da ubrza proces rastvaranja HA prevlaka u telesnim tečnostima [72]. Takođe, poroznost može lokalno da utiče na smanjenje brzine hlađenja HA čestica pri njihovom udaru u prethodno formirani deposit, a time i na proces rekristalizacije tokom rasta HA prevlake [51], ali se ovaj efekat najčešće zanemaruje zbog malog udela poroznosti u HA prevlakama.

#### *2.3.1.4. Prsline*

Prsline koje se javljaju u HA prevlakama mogu nastati kao posledica:

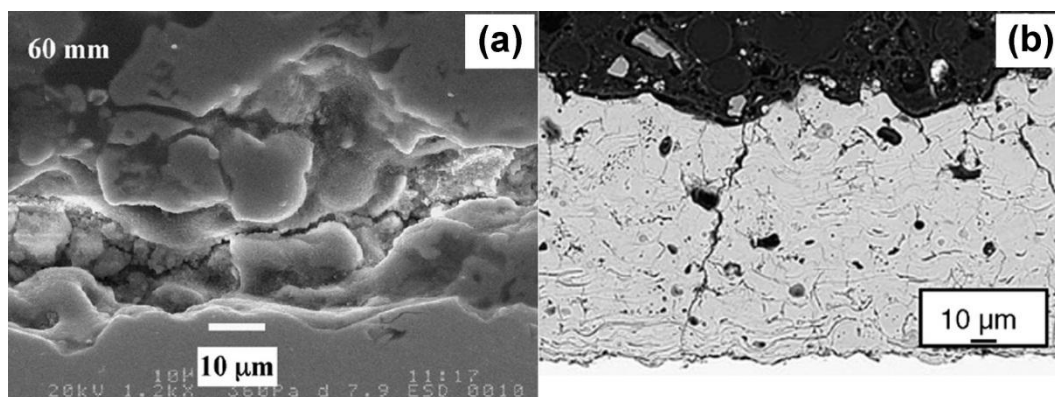
- skupljanja HA čestica tokom njihovog hlađenja pri udaru u substrat ili prethodno formirani HA depozit (unutarlamelarne mikro-prsline),
- napona zatezanja tokom hlađenja HA prevlake usled razlike u koeficijentima termalne ekspanzije HA prevlake i metalnog substrata (vertikalne mikro- i makro-prsline),
- napona kompresije tokom hlađenja HA prevlake usled razlike u koeficijentima termalne ekspanzije HA prevlake i metalnog substrata (horizontalne mikro- i makro-prsline),
- fazne transformacije zbog koje dolazi do lokalne promene u zapremini (lokalnog naprezanja) usled formiranja određene kristalne rešetke produkta fazne transformacije (mikro- i makro-prsline).



Tokom procesa nanošenja HA prevlaka, mikro-prsline mogu prvo da se iniciraju unutar i/ili između lamela HA depozita. Smatra se da su ove mikro-prsline posledica skupljanja HA čestica usled njihovog brzog hlađenja pri udaru u substrat ili prethodno formirani HA depozit [51,73]. Po završetku procesa nanošenja, HA prevlaka se hladi zajedno sa substratom, pa usled razlike u koeficijentima termalne ekspanzije prevlake i metalnog substrata može doći do pojave novih, kao i rasta već iniciranih prslina. Dalji rast prslina principijelno zavisi od naponskog stanja u samoj HA prevlaci. Postoji opšte mišljenje da horizontalne mikro- i makro-prsline rastu ukoliko je HA prevlaka pod dominantnim dejstvom kompresionih naprezanja, a da je rast vertikalnih mikro- i makro-prslina uslovljen postojanjem zateznih naprezanja u HA prevlaci tokom njenog hlađenja do sobne temperature [30,73,74]. Koje naponsko stanje u HA prevlaci će preovladati nakon procesa nanošenja (kompresija ili zatezanje) zavisi od razlike u koeficijentima termičke ekspanzije HA prevlake i substrata na koji se ona nanosi, kao i nivoa akumuliranog napona u HA prevlaci, koji se uvećava tokom njenog nanošenja sa porastom debljine prevlake [65]. Kompresiona naprezanja zatvaraju vrh vertikalnih prslina i na taj način sprečavaju njihov dalji rast [73].

Najnepovoljniji oblik prslina sa aspekta primene su horizontalne i vertikalne *makro-prsline*. Na Sl.42a je prikazan primer kada se u HA prevlaci dominantno javljaju horizontalne makro-prsline [59]. One su najčešće prisutne na interfejsu prevlaka/substrat i izazivaju pojavu delaminacije (odvajanja) HA prevlake od substrata. U ovom delu HA prevlake se javljaju najveće brzine hlađenja koje izazivaju najveće kontrakcije HA čestica tokom njihovog rapidnog hlađenja pri udaru u substrat, a time i najveću verovatnoću inicijacije unutarlamelarnih mikro-prslina. Pored toga, velike brzine hlađenja izazivaju pojavu krte ACP faze, kroz koju je rast iniciranih prslina olakšan [59]. U kontekstu prisustva ACP faze na interfejsu prevlaka/substrat može da se izvede zaključak o nepovoljnosti prisustva gradijenta kristaličnosti u pravcu debljine HA prevlaka (vidi Sl.35, poglavlje 2.3.1.2). Slično kao u slučaju smanjenja kohezivne čvrstoće usled prisustva poroznosti, prisustvo ACP faze i prslina na interfejsu prevlaka/substrat značajno može da umanjí adhezionu čvrstoću HA prevlake. U toku post-operativnog toka, čvrstoća između koštanog tkiva i HA prevlake može da prevaziđe adhezionu čvrstoću HA prevlake [60] i na taj način izazove odvajanje dela HA prevlake od substrata, prodor telesnih tečnosti do substrata, rastvaranje substrata i

prelaz toksičnih metalnih jona iz substrata u krvnu plazmu, dalje rastvaranje amorfno interfejsa i odvajanje preostalog dela HA prevlake itd.



**Sl.42.** Primer horizontalnih (a) i vertikalnih (b) makro-prslina (adaptirano iz [59,73]).

Sl.42b prikazuje prisustvo vertikalnih makro-prslina, čija se pojava vezuje za različite brzine hlađenja HA prevlake i substrata usled različitih koeficijenata termalne ekspanzije [73], kada naponsko stanje zatezanja u prevlaci dolazi do izražaja [30]. Kao što je već napomenuto, prisustvo prslina u HA prevlakama, poput poroznosti, ima značajan uticaj na čvrstoću HA prevlake, kako adhezionu [59,63], tako i kohezionu [62]. Slično kao i u slučaju otvorene poroznosti, izraženo prisustvo vertikalnih makro-prslina može da omogući penetraciju telesnih tečnosti do interfejsa i privremeni gubitak funkcionalnosti HA prevlaka [73].

Od izuzetne važnosti je da se napomene da horizontalne i vertikalne prsline mogu da budu unesene tokom pripreme poprečnih preseka uzoraka HA prevlaka [30]. Sporo sečenje uzoraka bez primene velikih opterećenja (dijamantskom testerom) unosi manje prslina, dok agresivno sečenje, kao i brušenje i poliranje može da unese veće koncentracije prslina u uzorcima. Ovde je od posebne važnosti pojava prslina na interfejsu prevlaka/substrat gde su HA prevlake najosetljivije na pojavu delaminacije, što zbog najveće verovatnoće formiranja mikro-prslina usled najvećih kontrakcija HA čestica zbog najvećih brzina hlađenja, što zbog najveće verovatnoće za formiranje krte ACP faze duž interfejsa iz istih razloga [59,63].

### 2.3.2. Heterogenost u površinskim delovima HA prevlaka

Istraživanja vezana za strukturnu heterogenost (fazna heterogenost, poroznost, prsline) su do sada najmanje vršena u površinskim delovima HA prevlaka.

Površinska kristaličnost HA prevlaka je uglavnom ispitivana tradicionalnom XRPD metodom, na osnovu čega su vršene procene uticaja pojedinih parametara procesa nanošenja na kristaličnost HA. Kristaličnost površinskih delova HA prevlaka je ispitivana pri drastičnoj primeni različitih parametara procesa nanošenja, ali je u većini slučajeva izostavljena informacija o debljini HA prevlaka, npr. u [61,64,67,75,76]. Već u prvoj dekadi 20. veka, u nekoliko različitih studija, bilo je potvrđeno da kristaličnost površinskih delova HA prevlaka može zavisi od procesa rekristalizacije tokom rasta prevlaka, tj. bilo je dokazano postojanje fenomena gradijenta kristaličnosti (vidi poglavlje 2.3.1.2). Ovaj fenomen je bio i ranije poznat [51], ali su podaci o debljini HA prevlaka bili retko navođeni [77,78]. Analiza radova objavljenih na samom kraju prošlog veka, tokom prve dekade ovog veka i kasnije, pokazuje da je sve veći broj istraživanja, koji se odnosi na istraživanje kristaličnosti površine u zavisnosti od određenih parametara procesa nanošenja plazma sprejom, sadržao informacije o debljini HA prevlaka [30,31,50,53,59,63,67,78,79,80]. Međutim, u nekim studijama, koje su pokazale kontradiktorne rezultate vezane za uticaj pojedinih parametara procesa nanošenja HA prevlaka plazma sprejom, nije naveden podatak o debljini HA prevlaka [67]. Tako su u studiji *Lu i saradnika* [67] korišćene male veličine čestica i velike snage plazma izvora, što značajno povećava udeo materijala koji rekristališe tokom rasta prevlake, čineći kristaličnost površine HA prevlaka izuzetno zavisnom od procesa rekristalizacije. Međutim, u studiji nisu navedeni podaci ni o debljini, ni o promeni kristaličnosti sa debljinom HA prevlake.

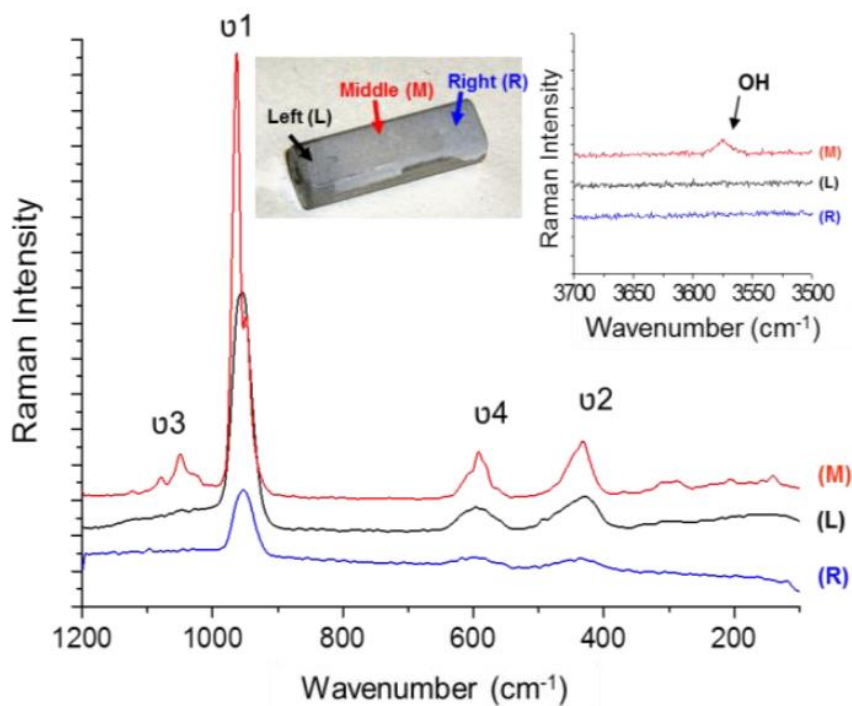
Promena kristaličnosti sa debljinom može da se odvija do neke određene debljine, nakon koje se kristaličnost dalje ne menja [30,53]. Pored toga, promena kristaličnosti sa debljinom može i da izostane u slučajevima kada postoji mali stepen topljenja polaznih čestica HA prahova [30], kada je dehidroksilacija HA čestica u plazma mlazu toliko velika da rekristalizacija ACP ne može da se postigne [52], ili kada je transfer toplote sa nadolazećih HA čestica iz plazma mlaza nedovoljan da izazove rekristalizaciju ACP u prethodno formiranim česticama HA depozita. Iz ovih razloga,

uticaj debljine može da bude relativan i nekada irelevantan, a samim tim i procena uticaja nekog parametra procesa nanošenja nepouzdana.

Studije koje su uzimale u obzir promenu kristaličnosti sa debljinom HA prevlaka [30,31,50,53,59,63,67,78,79] nisu, međutim, uzimale u obzir lokalne promene kristaličnosti sa porastom lokalne debljine HA prevlaka. Tako su *Sun i saradnici* [30] pretpostavili da za istu HA prevlaku sve HA čestice u plazma mlazu postižu sličan stepen dehidroksilacije i sličan stepen topljenja. U njihovoj studiji ova pretpostavka može da bude validna jer su koristili čestice polaznog HA praha velikih ekvivalentnih prečnika koje, zbog svoje velike inercije, zauzimaju slične trajektorije u plazma mlazu i na taj način postižu brzine i temperature koje se ne razlikuju u velikoj meri (vidi poglavlje 2.1.2.3). Međutim, trajektorije u slučaju HA čestica manjih dimenzija, koje su često u primeni, mogu značajno da variraju, što u prethodnim studijama nije uzeto u obzir. Naime, čestice polaznog praha mogu da poseduju različite brzine i temperature u zavisnosti od trajektorije koju zauzimaju u plazma mlazu. Tako, čestice polaznog praha koje su bliže centru trajektorije mogu da ispoljavaju veće aksijalne brzine od čestica u perifernim delovima plazma mlaza, posmatrano u radijalnom pravcu (vidi Sl.14 i 15, poglavlje 2.1.2.3). Manja brzina perifernih čestica polaznog HA praha, koje su obično manjih dimenzija, dovodi do toga da ove čestice mogu da provedu duže vreme na putu ka substratu, što može da uslovi njihov veći stepen dehidroksilacije (usled dužeg vremena boravka na povišenim temperaturama) u odnosu na čestice koje su bliže centralnim delovima plazma mlaza. Pored toga, periferne čestice usled sporijeg kretanja mogu da proizvode deblje lamele pri udaru u substrat ili prethodno formirani depozit i da se na taj način sporije hlade u odnosu na čestice koje su bliže centralnim delovima. Za razliku od HA čestica koje su bliže centru plazma mlaza, temperatura perifernih čestica usled njihove manje veličine može brže da opada, zbog čega se smanjuje sposobnost transfera toplote na prethodno formirani HA depozit i nastaje nemogućnost njegove rekristalizacije.

*Demnati i saradnici* su pokazali primenom MRS metoda da lokalna površinska kristaličnost može drastično da se menja u zavisnosti od lokacije površine na kojoj se merenje vrši [35]. Varijacije intenziteta i oštine Raman pikova na Raman spektrima HA prevlake, koje su prikazane na Sl.43, jasno pokazuju velike razlike u lokalnoj površinskoj kristaličnosti [35]. Pri tome, najintenzivniji i najoštiji pikovi u spektru

centralnog dela (eng. *middle* – M) HA prevlake ukazuju na najveću kristaličnost tog dela, za razliku od onih perifernih (eng. *left* – L i *right* – R). Međutim, autori nisu komentarisali moguće razloge za ovakve razlike u lokalnoj faznoj heterogenosti iste HA prevlake. U literaturi nisu pronađeni podaci ni o uticaju najosnovnijih parametara procesa nanošenja plazma sprej postupkom na lokalnu površinsku faznu heterogenost HA prevlaka. U studiji *Lu i saradnika* [80] je ispitana fazna površinska heterogenost HA prevlaka pomoću slike povratno rasutih elektrona (SEM), na osnovu čega je dobijena informacija o faznoj heterogenosti po debljini HA prevlake i konstatovano postojanje gradijenta kristaličnosti, ali nije izvršeno ispitivanje lokalnih razlika u faznoj površinskoj heterogenosti, kao u slučaju *Demnati i saradnika* [35].



**SI.43.** Raman spektri na različitim lokacijama površine HA prevlaka (eng. *wavenumber* – talasni broj, *intensity* – intenzitet) (adaptirano [35]).

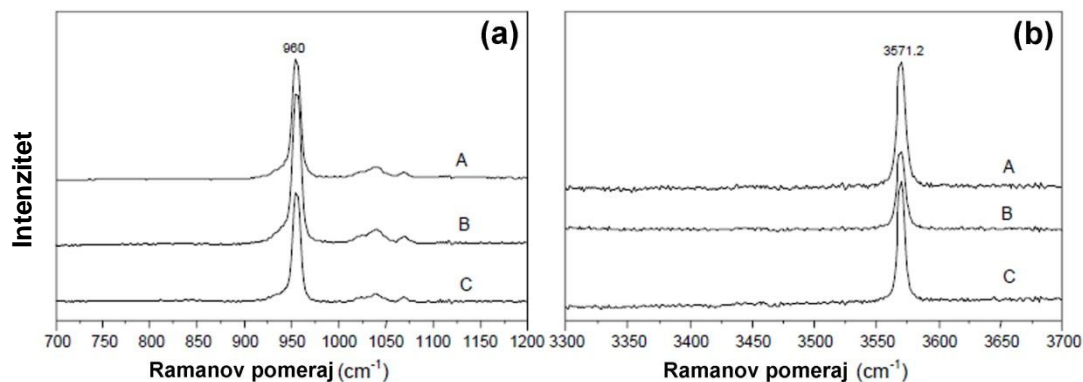
S obzirom da površina HA prevlaka nanosenih plazma sprej postupkom direktno dolazi u kontakt sa telesnim tečnostima nakon ugradnje implanta, poznavanje mehanizama koji utiču na postojanje (ili nepostojanje) lokalnih razlika u površinskim svojstvima HA prevlaka značajno može da unapredi proces proizvodnje ovih prevlaka,

poboljša i osigura bolji kvalitet HA prevlaka, spreči neželjeno ponašanje HA prevlaka tokom perioda post-operativnog toka pacijenta i poveća sigurnost njihove primene.

### 2.3.3. Metode za smanjenje heterogenosti HA prevlaka

Većina prethodnih ispitivanja je pokazala da postojanje gradijenta kristaličnosti po dubini HA prevlaka (vidi poglavlje 2.3.1.2) i izraženo prisustvo poroznosti (vidi poglavlje 2.3.1.3) i prslina (vidi poglavlje 2.3.1.4) mogu nepovoljno da utiče na svojstva HA prevlaka i njihovo ponašanje nakon ugradnje implanta.

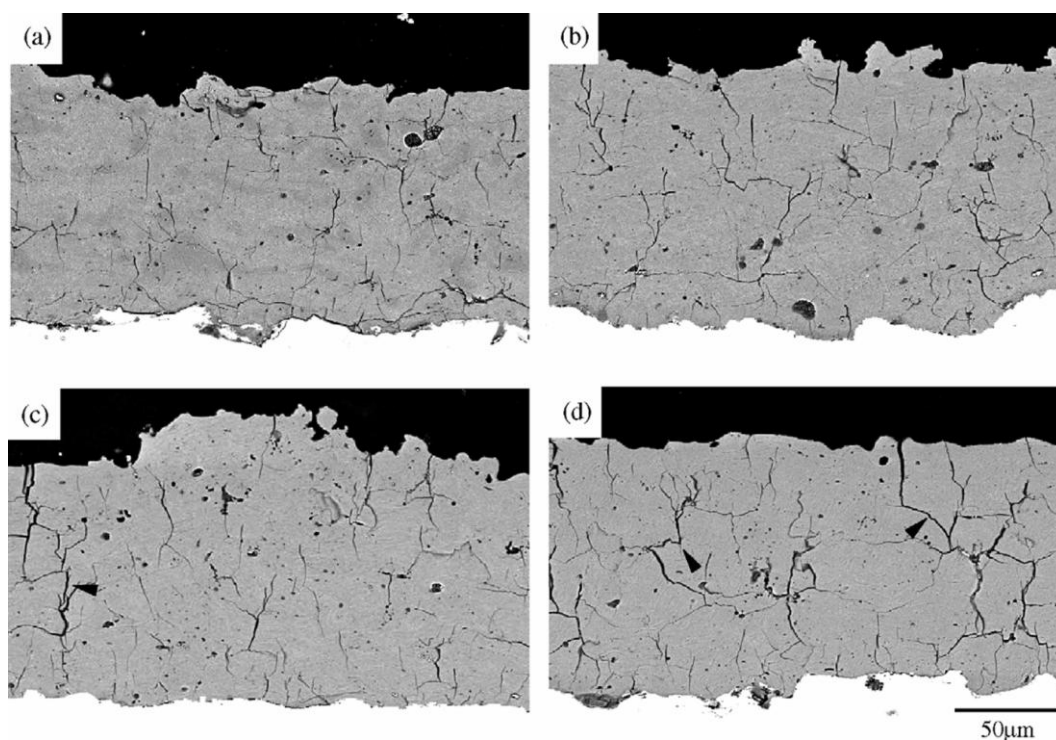
Jedna od najjednostavnijih metoda za uklanjanje prisustva gradijenta kristaličnosti i povećanje kristaličnosti prevlaka je naknadna termička obrada HA prevlaka u nanesenom stanju. Gradijent kristaličnosti (vidi Sl. 36 u poglavlju 2.3.1.2) nakon naknadne termičke obrade biva eliminisan, kao što potvrđuju Raman spektri prikazani na Sl.44 [54], na osnovu čijeg sličnog oblika se može zaključiti da kristaličnost interfejsa HA prevlake postaje praktično jednaka kristaličnosti površine. Ovaj eksperiment je bio jedan od dokaza da se gradijent kristaličnosti zaista javlja u HA prevlakama i da predstavlja makro-strukturnu heterogenost HA prevlaka [54].



**Sl.44.** Uklanjanje gradijenta kristaličnosti (a) i gradijenta hidroksilnih jona (b) po debljini HA prevlaka nakon naknadne termičke obrade (uporedi sa Sl.36). A je površina, B je sredina, a C interfejs prevlaka/substrat (adaptirano [54]).

Pored pozitivnog efekta uklanjanja gradijenta kristaličnosti, naknadna termička obrada može da unese i neželjene promene. Naime, ukoliko nije izvedena na optimalnoj temperaturi, naknadna termička obrada može da izazove pojavu novih prslina, čije se

formiranje vezuje za pojavu napezanja u HA prevlaci usled rekristalizacije ACP, TCP, TTCP i drugih faza u HA, koja je praćena promenom zapremine [41]. Sl.45 prikazuje očigledno povećanje prisustva prslina u poprečnom preseku HA prevlake sa povećanjem temperature naknadne termičke obrade,  $T$  [41]. Na temperaturama koje su  $<600\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Sl.45a-45c), prsline su umereno prisutne, dok se na  $T>700\text{ }^{\circ}\text{C}$ , prisustvo prslina vidno uočava (Sl.45d) [41]. Na temperaturi naknadne termičke obrade od  $\sim 600\text{ }^{\circ}\text{C}$  se postiže najveća adheziorna čvrstoća HA prevlaka koja se usko vezuje za proces rekristalizacije ACP u HA [41]. Naime, promena zapremine usled transformacije ACP u HA kompenzuje razlike tokom kontrakcije materijala pri hlađenju usled različitih termalnih ekspanzija HA prevlake i substrata, što utiče na povećanje čvrstoće HA prevlake (Sl.45) [41]. S druge strane, ispitivanja su pokazala da naknadna termička obrada ima mali uticaj na poroznost HA prevlaka [48,81].



**Sl.45.** Morfologija poprečnog preseka HA prevlaka u nanesenom stanju (a) i termički obrađenih u vakuumu na  $500\text{ }^{\circ}\text{C}$  (b),  $600\text{ }^{\circ}\text{C}$  (c) i  $800\text{ }^{\circ}\text{C}$  (d) (adaptirano iz [41]).

Pored naknadne termičke obrade, primena vodene pare u toku procesa nanošenja postupkom plazma spreja takođe može značajno da utiče na srednju kristaličnost HA prevlaka, ali i na gradijent kristaličnosti [79]. Naime, ispitivanja su pokazala da iznad

prvoj sloju depozita, HA prevlake nanese uz primenu vodene pare već u drugom sloju HA depozita poseduju istu kristaličnost kao i na površini prevlaka. Nepovoljnosti kod ovih HA prevlaka su pojava prslina u toku procesa rekristalizacije ACP i TCP u HA u prisustvu vodene pare, što su procesi praćeni promenom zapremine koji izazivaju lokalnu pojavu naprezanja i koji dovode do pojave mikro-prslina usled relaksacije strukture. Bez obzira na pojavu prslina, efekat vodene pare utiče na značajno povećanje adhezinone čvrstoće HA prevlaka (preko 100 %). Uticaj primene vodene pare u toku procesa nanošenja HA prevlaka na njihovu poroznost nije pronađen u literaturi.

Najveći nedostatak naknadne termičke obrade i primene vodene pare u toku procesa nanošenja plazma sprejom je visoka rezultujuća kristaličnost HA prevlaka, koja nepovoljno utiče na inicijalnu fiksaciju koštanog tkiva nakon ugradnje implanta, a za koju je od izuzetne važnosti da HA prevlaka poseduje svojstva biorazgradivosti [60]. S druge strane, najveća prednost ovih metoda je što visoka kristaličnost HA prevlaka garantuje dugotrajniju pouzdanost implanta nakon njegove ugradnje.

Pored ovih tretmana, najjednostavniji i najekonomičniji način da se utiče na gradijent kristaličnosti u pravcu debljine hidroksiapatitnih prevlaka je optimizacija primarnih parametara nanošenja atmosferskim plazma sprej postupkom (vidi poglavlje 2.4).



## 2.4. Uticaj parametara procesa nanošenja na svojstva HA prevlaka

Kvalitet HA prevlaka može biti kontrolisan preko varijacije velikog broja parametara procesa nanošenja plazma sprej postupkom [82,83], među kojima je moguće izdvojiti one koji imaju dominantan uticaj na strukturalna svojstva HA prevlaka. U literaturi postoje brojne vrste podela parametara procesa nanošenja. Često je slučaj da se podele parametara vrše prema lokacijama na kojima se dešavaju važni delovi procesa nanošenja plazma sprej postupkom [84]:

1. **Gorionik i mlaznica** (snaga napajanja plazma izvora, vrsta gasa za plazmu, maseni protok gasa za plazmu, maseni protok rashladnog fluida, geometrija mlaznice);
2. **Doziranje praha** (veličina i oblik čestica praha, termička svojstva praha, noseći gas praha, maseni protok nosećeg gasa, geometrija ubrizgavanja praha);
3. **Plazma mlaz** (brzina i temperatura mlaza plazme, brzina kretanja i temperatura čestica praha u plazma mlazu, trajektorija čestica praha u plazma mlazu);
4. **Udar čestica** (raspodela čestica pri udaru, brzina čestice pri udaru, ugao udara čestica, istopljenost čestice pre udara, tip substrata, inicijalna temperatura substrata, rastojanje substrata od izlaza mlaznice).

Jedna od ređih podela parametara procesa nanošenja je podela na primarne i sekundarne parametre procesa nanošenja [82]. Primarni parametri se definišu kao oni koji se mogu direktno kontrolisati od strane operatera, dok se sekundarni parametri ne mogu kontrolisati direktno, već preko primarnih parametara [82]. Simultana kontrola svih primarnih parametara često nije moguća, što zbog ekonomskih razloga (kao što su cene opreme i potrošnog materijala, duga vremena ispitivanja i slično), što zbog fizičkih ograničenja (kao što je međusobna zavisnost primarnih parametara procesa nanošenja) [82]. U Tab.1 je data podela primarnih i sekundarnih parametara procesa nanošenja atmosferskim plazma sprej postupkom [82].

**Tab.1.** Najuticajniji parametri atmosferskog plazma sprej postupka [82].

<b>Primarni parametri</b>	<b>Sekundarni parametri</b>
Morfologija čestica praha	Temperatura plazma mlaza
Sastav čestica praha	Brzina plazma mlaza
Ugao doziranja praha	Vreme boravka praha u plazma mlazu
Plazma gas	Brzina čestica praha
Protok plazma gasa	Topljenje čestica praha
Struja plazma izvora	Temperatura substrata
Snaga plazma izvora	Brzina kaljenja čestica praha
Noseći gas praha	Pojava zaostalih naprezanja
Protok nosećeg gasa praha	Debljina prevlake
Rastojanje substrata od mlaznice	
Materijal substrata	
Svojstva površine substrata	
Predgrevanje substrata	
Brzina pomeranja plazma pištolja	
Broj prolaza plazma pištoljem	

Pored pomenutih, postoje i hibridne podele parametara, kao što je podela na ekstenzivne i intenzivne parametre po zonama procesa nanošenja (Tab.2) [1] (takode vidi Sl.1, poglavlje 2.1). Ekstenzivni parametri imaju značenje primarnih parametara, dok intenzivni parametri imaju značenje sekundarnih parametara.

U ovom radu su ispitani uticaji tri primarna parametra procesa nanošenja na strukturalna svojstva HA prevlaka: (i) veličine polaznog HA praha, (ii) rastojanja substrata od mlaznice (*SOD*) i (iii) predgrevanja substrata, tj. inicijalne temperature substrata ( $T_S$ ). S obzirom da je nanošenje HA prevlaka izvršeno primenom visokoenergetskog (~52 kW) laminarnog plazma mlaza (što je redak slučaj u praksi, gde se teži nanošenju HA prevlaka primenom manjih snaga sa ciljem manjeg unošenja nečistoća koje nastaju tokom termičke dekompozicije HA praha [85]) i s obzirom da su postojale određene razlike u hemijsko-morfološkim svojstvima polaznih HA prahova, pored tri navedena primarna parametra, u daljem tekstu će detaljnije biti opisani uticaji hemijskog sastava i morfologije polaznog HA praha (vidi poglavlje 2.4.1), kao i snage plazma izvora (vidi poglavlje 2.4.2) na strukturalna svojstva HA prevlaka. Takođe, s obzirom da u ovom radu njihovi uticaji nisu razmatrani, biće dat samo kratak osvrt na uticaje nekih važnijih primarnih parametara procesa nanošenja (vidi poglavlje 2.4.5).

**Tab.2.** Podela na ekstenzivne i intenzivne parametre po zonama procesa nanošenja [1].

<b>Zona I</b>		<b>Zona II</b>		<b>Zona III</b>	
Formiranje plazma mlaza		Plazma-prah interakcije		Prah-substrat interakcije	
<i>Ekstenzivni</i>	<i>Intenzivni</i>	<i>Ekstenzivni</i>	<i>Intenzivni</i>	<i>Ekstenzivni</i>	<i>Intenzivni</i>
Struja	Entalpija	Veličina čestica	Bzina čestica	Ugao	Brzina udara
Napon	Gustina	Oblik čestica	Temperatura čestica	Geometrija	% tečne faze
Protok gasa	Kretanje luka	Sastav praha	Vreme boravka	Relativno kretanje	Kretanje fluida
Sastav gasa	Raspodela brzine	Uslovi doziranja		Temperatura	Toplotni fluks
Mlaznica	Raspodela temperature	Uslovi sredine			
Elektroda					
Hlađenje					
Stabilizacija					
Odnos pritisaka					

### 2.4.1. Uticaj svojstava polaznog HA praha

Svojstva polaznog HA praha zavise od postupka njihove sinteze i naknadnog procesiranja. Detaljan pregled literature pokazuje da postoji nekoliko principijelnih postupaka sinteze i naknadnog procesiranja HA prahova. Ne ulazeći u razloge, neophodno je naglasiti da u nekim studijama izostaju podaci o sintezi i naknadnom procesiranju HA prahova korišćenih za nanošenje HA prevlaka [32,50,53-55,56,59,62,65,67,80,85-90]. Pojedine studije, bez detaljnijeg opisivanja, samo navode podatke koji se odnose na: (i) pojedine faze sinteze/procesiranja HA prahova [36,51,76,91], (ii) veličinu čestica HA prahova [53-55,62,65,80,85,87,89,90], (iii) sintezu/procesiranje i veličinu čestica HA prahova [69,77,92,93], (iv) sintezu/procesiranje i morfologiju HA prahova [94], (v) veličinu i morfologiju HA prahova [59,63,67,86,88,93], dok samo mali broj studija daje potpunije informacije vezane za: (vi) sintezu/procesiranje, veličinu čestica i morfologiju HA prahova [30,31,61,66,75,78,79,95,96]. Na osnovu pregleda literature, evidentno je da podaci vezani za veličinu, morfologiju i naknadno procesiranje HA prahova u velikoj meri

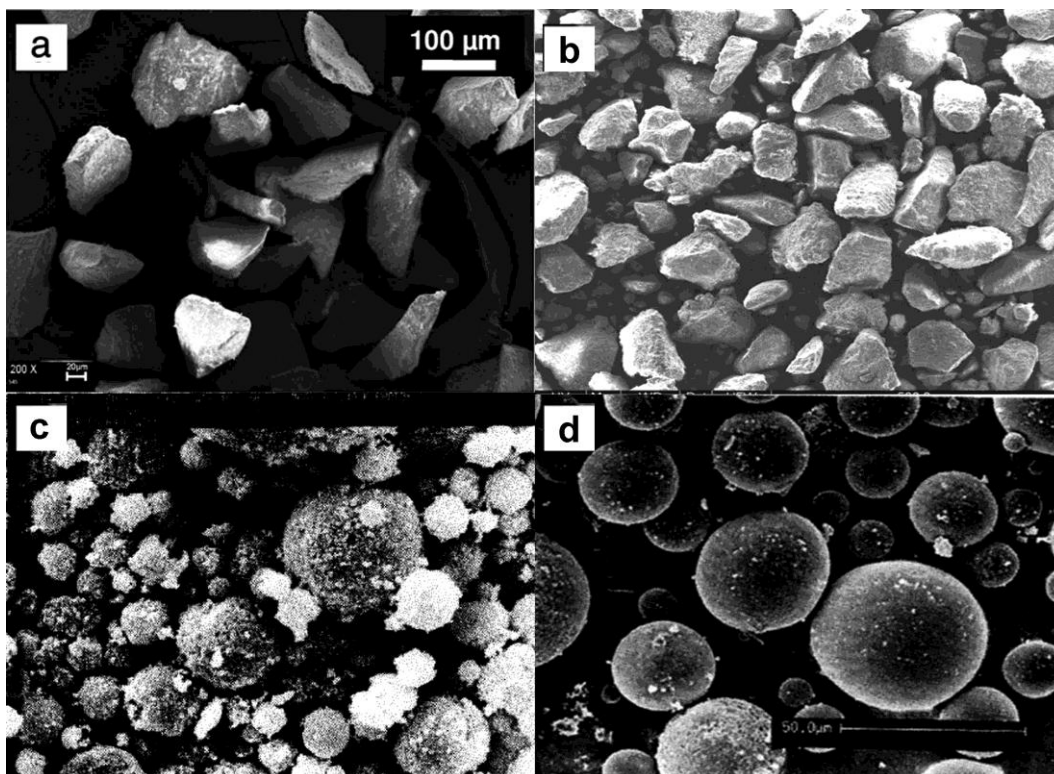
variraju, što značajno otežava poređenje rezultata pojedinih studija. Međutim, na osnovu postojećih podataka, bilo je moguće izvesti zaključke o tome koja svojstva HA prahova imaju dominantan uticaj na posmatrana svojstva HA prevlaka.

#### 2.4.1.1. Uticaj morfologije HA praha

U literaturi koja se bavi proučavanjem uticaja parametara nanošenja plazma sprej postupkom preovladavaju tri morfološka tipa polaznih HA prahova: (i) nepravilni poliedarski [31,61,75,86,88,94], (ii) sferoidni sa grubom površinom [30,61,67,79,95,96] i (iii) sferoidni sa glatkom površinom [59,61,63,64,66,78]. Sl.46 prikazuje ova tri morfološki različita tipa polaznih HA prahova. HA prahovi nepravilnog poliedarskog oblika mogu biti sa oštrim (Sl.46a) [31] i tupim (Sl.46b) [88] uglovima.

Morfologija polaznog HA praha se može povezati sa postupkom sinteze i naknadnog procesiranja čestica HA praha. Naime, nepravilne poliedarske čestice HA prahova (Sl.46a i 46b) su najčešće dobijene postupkom koji uključuje sledeće faze [61,97]: (i) sinteza finih HA čestica u vodenim rastvorima, (ii) sušenje ovih čestica, (iii) aglomeracija sušenih HA čestica određenim vezivom organskog porekla, (iv) termički tretman sa ciljem uklanjanja veziva, (v) lomljenje i usitnjavanje keramičkog tela nakon uklanjanja veziva, (vi) prosejavanje HA čestica do željene raspodele veličina, i na kraju (vii) sinterovanje (kalcinacija) sa ciljem konsolidacije, tj. povećanja gustine i kohezije čvrstoće, aglomerisanih čestica HA praha. U literaturi, temperatura sinterovanja se kreće između ~800 i ~1250 °C, a vreme sinterovanja između ~1 i ~15 h [30,31,61,66,75,78,79,95,96]. Sferoidni oblik sa grubim površinama (Sl.46c) se vezuje za HA čestice koje su u određenoj fazi sinteze i naknadnog procesiranja podvrgnute postupku sušenja u spreju (*eng.* spray drying). Fine HA čestice, dobijene iz vodenih rastvora, mogu da budu aglomerisane primenom organskog veziva, nakon čega se podvrgavaju sušenju u spreju [61]. Finalni HA prahovi, proizvedeni postupkom sušenja u spreju, mogu da budu naknadno sinterovani [30,79], dok se u nekim slučajevima sinterovanje ne vrši [61]. Sferoidni HA prahovi sa glatkim površinama su dobijeni prskanjem istopljenih HA čestica plamenim postupkom ili plazma sprejom direktno u vodu, u kojoj čestice HA, usled dejstva površinskog napona, teže da zauzmu sferni oblik. Polazni HA prahovi za dobijanje sferoidnih HA čestica sa glatkom površinom

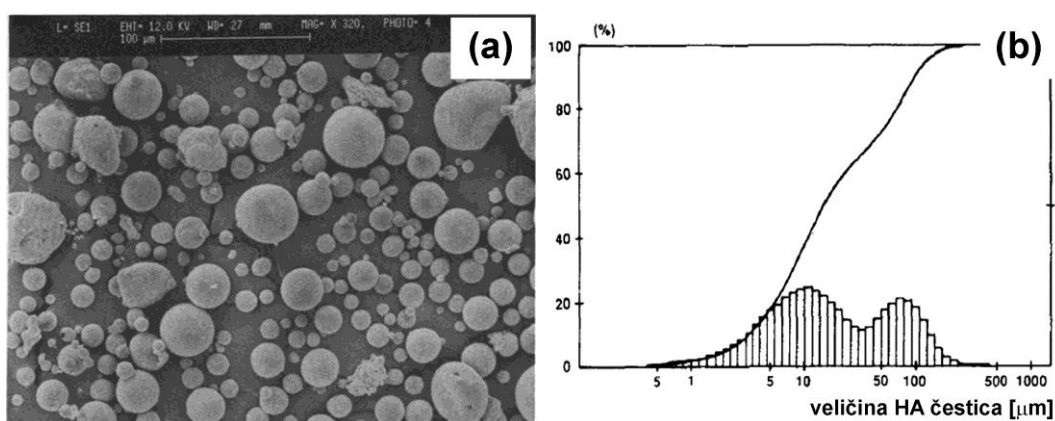
pomoću plamena ili plazme mogu biti dobijeni klasičnim postupkom, koji uključuje sintezu iz vodenih rastvora, sušenje, aglomeraciju i kalcinaciju [78], ili postupkom koji uključuje sušenje u spreju [66]. Ispitivanja su pokazala da sferoidizacija plamenom proizvodi prahove uniformnije raspodele veličine HA čestica u poređenju sa sferoidizacijom pomoću plazma spreja [61].



**Sl.46.** Polazni HA prah sa česticama nepravilnog poliedarskog oblika sa oštrim (a) (adaptirano iz [31]) i tupim (b) (adaptirano iz [88]) uglovima, sferoidnog oblika sa grubim (c) (adaptirano iz [61]) i glatkim (d) (adaptirano iz [78]) površinama.

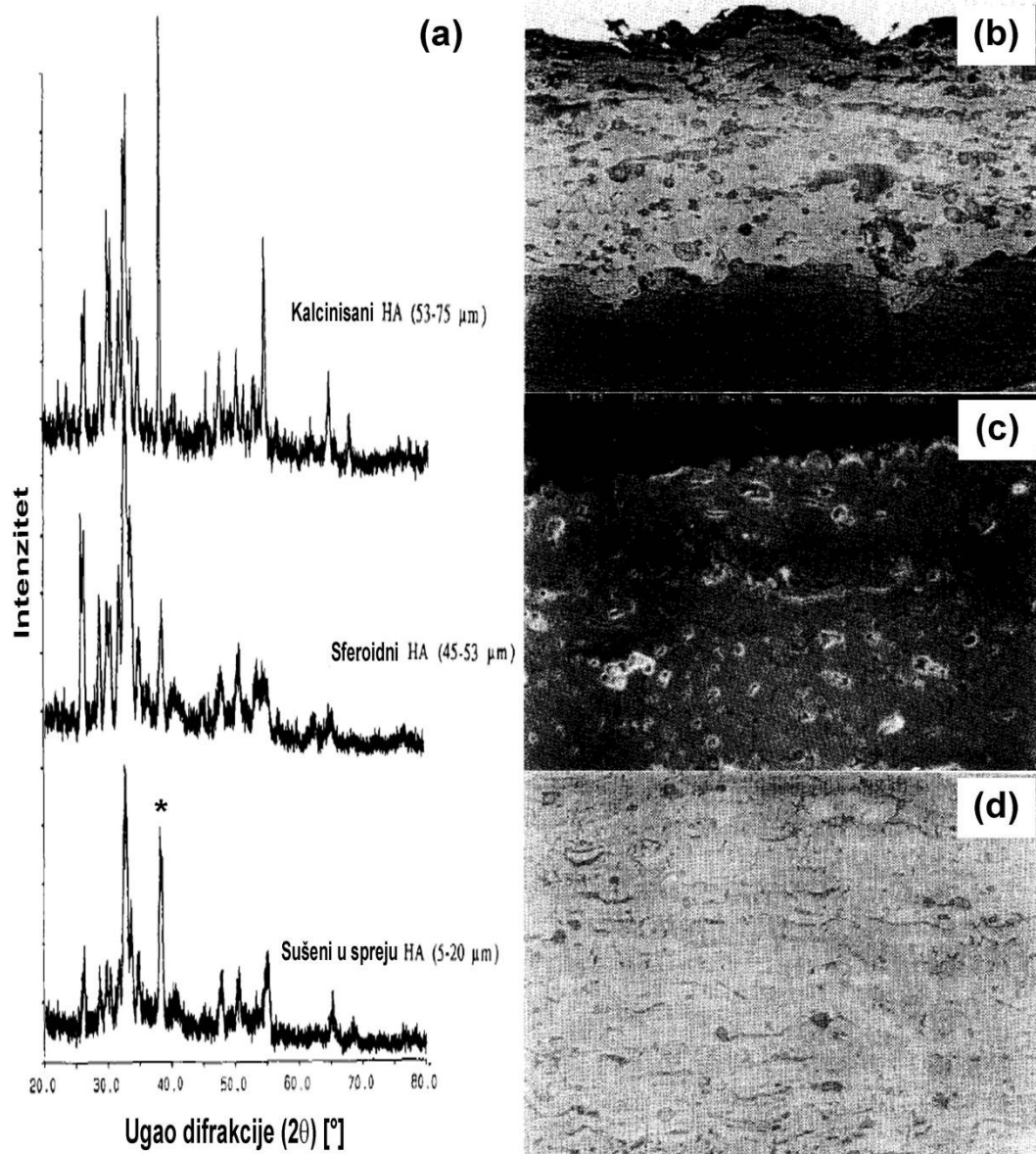
Polazne čestice HA praha koje su sintetizovane u vodenim rastvorima dostižu veličine do nekoliko mikrometara [61,64,97]. S obzirom da je veličina ovih čestica neadekvatna za nanošenje plazma sprejom (jer mogu da ispare pre dostizanja metalnog substrata), ove čestice se ukupnjavaju do aglomerata čija kohezija (čvrstoća veze između finih polaznih mikronskih čestica) zavisi od uslova sušenja i kalcinacije (sinterovanja) [64]. Ukoliko je ostvarena kohezija slaba, tokom procesa nanošenja plazma sprejom, može doći do lomljenja i usitnjavanja ovih čestica pod dejstvom turbulentnog plazma mlaza, a samim tim i do povećanja strukturne heterogenosti

rezultujućih HA prevlaka usled nejednakog topljenja čestica neizlomljenog polaznog praha i njihove izlomljene frakcije [61,64]. Ovakvo ponašanje je pokazano na sledećem primeru (Sl.47). Pre procesa direktnog prskanja u vodu plazma sprejom, polazni HA prah je posedovao monomodalnu raspodelu veličina HA čestica. (56-75  $\mu\text{m}$ ) [64]. Kao rezultat dejstva plazma mlaza, nakon direktnog prskanja u vodu, dobijen je sferoidni prah sa glatkom površinom (Sl.47a) i bimodalnom raspodelom veličine čestica (Sl.47b). Za HA čestice čija je veličina  $\sim 10 \mu\text{m}$  se smatra da su nastale topljenjem izlomljene frakcije polaznog HA praha pod dejstvom turbulentnog plazma mlaza [64].



**Sl.47.** Morfologija sferoidnih HA čestica dobijenih pomoću plazma sprej postupka i raspodela njihove veličine (adaptirano iz [64]).

Zbog prevelikih razlika u postupcima sinteze i naknadnog procesiranja HA prahova, teško je izvršiti procenu uticaja morfologije HA prahova na strukturna svojstva HA prevlaka. Jedna od retkih studija koja je proučavala vezu između različitih morfologija polaznog HA praha i strukturnih svojstava HA prevlaka pri istim uslovima procesa nanošenja je studija *Cheang i saradnika* [61]. Na Sl.48a su prikazani rentgenski difraktogrami HA prevlaka dobijenih iz HA polaznih prahova koji su kalcinirani, sferoidisani ili sušeni u spreju [61]. Na Sl.48b-48d su istim redom prikazane morfologije poprečnih preseka odgovarajućih HA prevlaka [61].



**SI.48.** (a) XRPD analiza i morfologija poprečnih preseka HA prevlaka dobijenih pomoću plazma sprej postupka iz (b) kalciniranih, (c) sferoidnih i (d) sušenih u spreju HA prahova; “\*” – najintenzivniji pik CaO faze (adaptirano iz [61]).

Korišćenje polaznih kalciniranih HA prahova nepravilnog poliedarskog oblika je rezultirala dobijanjem HA prevlaka lošijih karakteristika. Iako su posedovale najveću kristaličnost (SI.48a), ove HA prevlake su pokazale i najveće prisustvo nečistih faza poput TCP, TTCP i CaO. Sa SI.48a se jasno vidi da HA prevlake od kalciniranih HA prahova pokazuju najveći intenzitet pika koji pripada CaO fazi. Pored toga, ove HA prevlake se karakterišu prisustvom izražene makro- i mikro-poroznosti, prisustvom HA

čestica depozita nepravilnog oblika, kao i prisustvom delimično istopljenih HA čestica koje obezbeđuju loš međulamelarni kontakt između čestica HA depozita (Sl.48b). U slučaju HA prevlaka od sferoidnog HA Praha, čija je veličina približna veličini HA prevlaka od kalcinisanog HA praha, primećuje se veća fazna čistoća HA prevlaka (manji intenzitet CaO pika, Sl.48a). Takođe, prisutna je manja poroznost i bolji međulamelarni kontakt između čestica HA depozita, kao i manje prisustvo delimično istopljenih čestica HA praha (Sl.48c). Međutim, problem lomljenja HA čestica usled turbulentnog strujanja plazma mlaza nije prevaziđen ni u ovom slučaju. Naime, topljenje izlomljene frakcije polaznog HA praha je najverovatnije uzrokovalo pojavu CaO faze, čije je prisustvo evidentirano na rentgenskom difraktogramu HA prevlaka od sferoidnog praha (Sl.48a). HA prevlake dobijene od HA prahova sušenih u spreju pokazuju manju faznu čistoću od HA prevlaka dobijenih od sferoidnih HA prahova, jer sadrže приметно veći udeo ACP i CaO faza (Sl.48a), ali i odsustvo makro-poroznosti i dobar međulamelarni kontakt između čestica HA depozita (Sl.48d). Veće prisustvo ACP i CaO faze se pripisuje fenomenu lomljenja čestica u turbulentnom plazma mlazu. Međutim, veličina čestica HA praha sušenog u spreju je bila 3-7 puta manja od dimenzija HA prevlaka dobijenih iz sferoidnih i kalcinisanih HA prahova. Zbog toga je uticaj fenomena lomljenja čestica u turbulentnom plazma mlazu, kome se pripisuje veće prisustvo ACP i CaO faza, diskutabilan, jer je topljenje čestica HA prahova tako malih dimenzija efikasno i kao takvo može da dovede do pojave ovih faza [64]. U primeru sa Sl.48 se jasno vidi da ni veličina čestica HA praha ni uska raspodela veličine čestica HA praha *nisu garant* dobijanja strukture HA prevlake visoke čistoće (ovde se posebno misli na prisustvo najštetnije CaO faze). Čistoća HA prevlaka može da zavisi od kohezivne čvrstoće čestica HA praha, koja zavisi od uslova sinteze, sušenja i kalcinacije polaznog HA praha.

#### 2.4.1.2. Uticaj polaznog sastava HA praha

Polazni HA prahovi često sadrže različite atomske i jonske supstitucije, koje se najčešće uvode tokom procesa sinteze i naknadnog procesiranja, kao i nestehiometrijski Ca/P odnos (vidi jednačine 14-17, poglavlje 2.2.2.1). Posledice prisustva ovih supstitucija i nestehiometrijskog Ca/P odnosa se ogledaju u potencijalnom formiranju

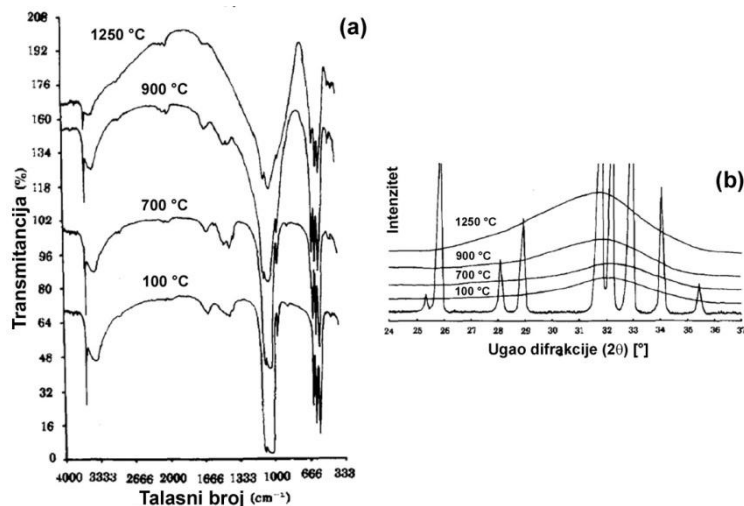


nečistoća tokom interakcije polaznih HA čestica i plazma mlaza, pri čemu neke od prisutnih nečistoća ne proizvode značajne efekte (vidi poglavlje 2.2.2.1).

Pored ovih nečistoća, od izuzetnog značaja je sadržaj  $\text{OH}^-$  jona u polaznim HA prahovima. Naime, ispitivanja su pokazala da HA prahovi koji su pre procesa nanošenja plazma sprejom dehidroksilovani proizvode veći sadržaj ACP faze u dobijenim HA prevlakama [52,76]. Na Sl.49a su prikazani transmisioni FTIR spektri polaznih HA prahova sinterovanih na raznim temperaturama, koji jasno pokazuju da na temperaturama sinterovanja koje su veće od  $\sim 900\text{ }^\circ\text{C}$  može doći do pada sadržaja  $\text{OH}^-$  jona u rešetki HA, što se vidi na osnovu pada intenziteta vibracionih modova  $\text{OH}^-$  hemijske funkcionalne grupe na  $\sim 630$  i  $\sim 3570\text{ cm}^{-1}$  [76]. Na Sl.49b su prikazane promene integralnog intenziteta amorfne grbe (između  $2\theta=24$  i  $37\text{ }^\circ$ ) u XRPD difraktogramima odgovarajućih HA prevlaka, sa kojih se jasno vidi da je povećanje temperature sinterovanja polaznog HA praha prouzrokovalo povećanje sadržaja ACP faze u HA prevlakama [76]. Drugim rečima, manji sadržaj hidroksilnih jona u polaznom HA prahu favorizuje formiranje i stabilnost ACP faze pri udaru HA čestice iz plazma mlaza u površinu substrata ili prethodno formirani HA depozit.

Kao što je napomenuto, u prethodnim studijama je sinterovanje aglomerata polaznih HA prahova sa ciljem njihove konsolidacije vršeno u širokom opsegu temperatura ( $800\text{-}1250\text{ }^\circ\text{C}$ ) i vremena ( $1\text{-}15\text{ h}$ ) (vidi poglavlje 2.4.1.1). Rezultati studije *Weng i saradnika* su jasno pokazali da sinterovanje na visokim temperaturama može da prouzrokuje gubitak  $\text{OH}^-$  jona i time izazove povećanu amorfnost HA prevlaka [76]. Pored toga što može da oteža tumačenje rezultata strukturnih ispitivanja HA prevlaka, ova činjenica značajno otežava poređenje rezultata različitih studija. Iako postoje standardi koji daju preporuke tretmana HA prahova pre procesa nanošenja [31], ove preporuke standarda su upitne, s obzirom na raznolikost postupaka inicijalne sinteze HA prahova u smislu razlika u nečistoćama koje mogu da sadrže. Druga važna posledica različitih uslova sinterovanja polaznih prahova pre procesa nanošenja HA prevlaka je vezana za određivanje relativne kristaličnosti HA prevlaka. Naime, pojedine studije uzimaju kristaličnost polaznih HA prahova kao referentnu ( $100\%$ ). Međutim, kao što se vidi iz priloženog, polazni HA prahovi mogu biti sinterovani pri značajno drugačijim uslovima, pri čemu se mogu postići različiti stepeni kristaličnosti i veličine kristalnih HA zrna. Pored toga, neophodno je napomenuti da sintetizovani HA prahovi, u

zavisnosti od uslova sinteze i naknadnog procesiranja, mogu da poseduju inicijalne razlike u stepenu kristalichnosti i veličini kristalnih HA čestica.



**SI.49.** Transmisioni FTIR spektri polaznih HA prahova sinterovanih na raznim temperaturama (a) i odgovarajući XRPD difraktogrami rezultujućih HA prevlaka (b) (adaptirano iz [76]).

Hemijski sastav polaznih HA prahova ima najveći uticaj na faznu heterogenost rezultujućih prevlaka i njihovu amorfnost, dok je njegov uticaj na strukturne diskontinuitete, kao što su poroznost i prsline, zanemarljiv. S druge strane, treba naglasiti da prisustvo ACP faze usled veće dehidroksilacije polaznih HA prahova može da oslabi adhezionu čvrstoću HA prevlaka na interfejsu prevlaka/substrat [59].

#### 2.4.1.3. Uticaj veličine HA praha

Tab.3 daje pregled uticaja veličine polaznog HA praha na različita svojstva HA prevlaka. Opseg veličina HA praha, izražen kroz raspodelu veličine HA praha, koji je korišćen u prethodnim studijama, se približno kretao u opsegu 0-25 i 100-140  $\mu\text{m}$  [52,53,61,64,66,77-79,85].

Treba najpre napomenuti da je manja veličina polaznog HA praha u plazma mlazu sklonija: (i) većem stepenu dehidroksilacije [52,64,85], (ii) većem stepenu defosforizacije [52,64,85] i (iii) većem stepenu topljenja [52,53,61,64,66,78,85]. S druge strane, bez obzira na postojeće razlike u vrednostima drugih parametara procesa

nanošenja, većina studija je ustanovila da manja veličina polaznog HA praha uzrokuje u rezultujućim HA prevlakama sledeća svojstva: (i) manju kristaličnost, tj veći sadržaj ACP faze [52,61,64,66,77,78,79,85], (ii) manji sadržaj HA faze [52,61,64,66,77,78,79,85], (iii) veći sadržaj nečistih faza (TCP, TTCP i CaO) [52,64,78,79,85], (iv) bolji kontakt između HA čestica i substrata ili međukontakt između samih čestica HA depozita [52,61,64,66,78,79,85], (v) veću adhezionu čvrstoću [52,61,66,78,85], (vi) veću kohezionu čvrstoću [61,78], (vii) manju poroznost [53,61,64,66,85], veću tvrdoću [66] i veće prisustvo prslina [66].

Razlike u odnosu na navedene rezultate se ispoljavaju u svega nekoliko slučajeva i to u pojedinim segmentima [53,61,79].

U studiji [61], nađen je veći sadržaj TCP, TTCP i CaO faza u HA pravlakama koje su proizvedene od krupnijih polaznih HA prahova, nego u onim koje su dobijene od finijih HA prahova, što je suprotno rezultatima većine studija [52,64,78,79,85]. Treba naglasiti da je u ovom slučaju sinterovanje aglomerata finih HA čestica dobijenih iz vodenih rastvora proizvelo finalne HA prahove sa česticama niske kohezione čvrstoće, koje su se najverovatnije lomile pod uticajem turbulentnog plazma mlaza, što je uslovalo pojavu nečistih faza usled intenzivnijeg topljenja izlomljene frakcije HA prahova u plazma mlazu [61]. Ovaj rezultat ukazuje na važnost polaznih svojstava HA prahova, kao i na to da veličina HA prahova ne mora uvek da garantuje visoku čistoću HA prevlaka. U studiji [53] ustanovljen je drugačiji uticaj snage plazma izvora na HA prevlake za razne veličine polaznog HA praha. Naime, u slučaju krupnijeg HA praha, nađeno je da povećanje snage plazma izvora utiče na smanjenje sadržaja HA faze, dok je u slučaju HA prevlaka od finijeg HA praha ustanovljeno suprotno (za dodatno objašnjenje vidi poglavlje 2.4.2). U studiji [79], na osnovu XRPD analize je uočeno da smanjenje veličine polaznog HA praha, pored povećanja sadržaja TCP i TTCP, utiče na smanjenje sadržaja CaO faze, što je suprotno rezultatima većine studija [52,64,78,85]. Ova razlika u ponašanju nije u potpunosti razjašnjena [79].

Na osnovu podataka iz Tab.3, primećuje se da su autori u većini studija razmatrali uticaj veličine polaznih HA prahova posmatrajući isključivo svojstva HA prevlaka, dok se, pritom, čak i na nivou diskusije, a posebno na eksperimentalnom nivou, manje pažnje posvećivalo vezi između ovih svojstava i svojstava koje HA čestice postižu u interakciji sa plazma mlazom. Pored toga, veoma malo (samo u studiji [53]) je

ispitivana promena sadržaja pojedinih faza sa debljinom HA prevlaka, tj. efekat rekristalizacije tokom rasta HA prevlaka na njihovu površinsku kristaličnost. Treba reći da je ovaj efekat neopravdano zanemaren, pa je uticaj veličine polaznog HA praha na kristaličnost HA prevlaka razmatran samo na osnovu površinske kristaličnosti HA prevlaka, čije se debljine značajno razlikuju u različitim studijama, dok se u mnogim studijama debljine ni ne navode (vidi poglavlje 2.3.2). Studija [53] je jasno pokazala da smanjenje veličine polaznog HA praha značajno utiče na razliku između kristaličnosti površine i interfejsa HA prevlaka. Zbog toga se postavlja pitanje da li je poređenje uticaja veličine polaznog HA praha na kristaličnost HA prevlaka merodavno vršiti samo na osnovu merenja površinske kristaličnosti HA prevlaka. Pored toga, postavlja se pitanje da li je neophodno uvođenje standardne debljine HA prevlaka, koja bi se koristila za poređenje efekta veličine polaznog HA praha, kao parametra procesa nanošenja plazma sprej postupkom.

Detaljan pregled prethodnih istraživanja je ukazao na nepostojanje podataka o uticaju veličine polaznog HA praha na lokalnu površinsku kristaličnost HA prevlaka, tj. na površinsku strukturnu heterogenost HA prevlaka (vidi takođe poglavlje 2.3.2).

Tab.3 pokazuje da samo jedna studija pominje uticaj veličine polaznog HA praha na prisustvo prslina u HA prevlakama [66], dok je uticaj ovog parametra na poroznost HA prevlaka frekventnije razmatran [61,64,66,79,85]. Procesi formiranja mikro- i makro-poroznosti su u najvećoj meri razjašnjeni (vidi poglavlje 2.3.1.3) i objašnjavaju se na osnovu stepena topljenja HA čestica u plazma mlazu i sposobnosti ovih čestica da kvase substrat ili prethodno formirani depozit (kontakt između HA čestica i substrata ili između HA čestica depozita, Tab.3). Čestice polaznih HA prahova manjih veličina se efikasnije tope i izazivaju manju poroznost. S druge strane, na procese formiranja prslina (vidi poglavlje 2.3.1.4) mogu da utiču: (i) procesi rekristalizacije, kada dolazi do lokalne promene zapremine pri formiranju kristalnih faza, (ii) prisustvo pora, koje predstavljaju lokacije inicijacije prslina, (iii) prisustvo amorfne faze, koja predstavlja medijum kroz koji se lakše odvija propagacija prslina [67], (iv) procesi zagrevanja i hlađenja substrata, kada mogu da se oforme rezultatni kompresioni ili zatezni zaostali naponi, koji utiču na pojavu horizontalnih ili vertikalnih prslina, respektivno, itd.

**Tab.3.** Literaturni pregled uticaja veličine HA praha.

Ref.	Srednja veličina HA praha, (ekvivalentni prečnik)	Pre udara u substrat		U HA prevlaci u nanesenom stanju						
		Brzina/ temperatura HA čestica	Dehidroksilacija/ defosforizacija/ stepen topljenja HA čestica	Kristaličnost/ Sadržaj ACP/ HA/ OA	Sadržaj TCP/ TTCP/ CaO	Razlika između kristaličnosti površine i interfejsa (efekat rekristalizacije)	Kontakt između HA čestica i substrata i/ili HA čestica depozita	Adhezija/ kohezija	Poroznost/ tvrdoća	Prsline/ žilavost
52	↓	?/ ↑	↑/ ↑/ ↑	↓/ ↑/ ↓/?	↑/ ↑/ ↑	?	↑	↑/?	?/?	?/?
64	↓	?/ ↑	↑/ ↑/ ↑	↓/ ↑/ ↓/?	↑/ ↑/ ↑	?	↑	?/?	↓/?	?/?
61	↓	?/ ↑	?/?/ ↑	↓/ ↑/ ↓/?	↓/ ↓/ ↓ (lom čestica HA praha)	?	↑	↑/ ↑	↓/?	?/?
77	↓	?/ ↑	?/?/?	↓/ ↑/ ↓/?	?/?/?	?	?	?/?	?/?	?/?
78	↓	?/ ↑	?/?/ ↑	↓/ ↑/ ↓/?	↑/ ↑/ ↑	?	↑	↑/ ↑	?/?	?/?
66	↓	?/ ↑	?/?/ ↑	↓/ ↑/ ↓/?	?/?/?	?	↑	↑/ ↓	↓/ ↑	?/ ↑
85	↓	?/ ↑	↑/ ↑/ ↑	↓/ ↑/ ↓/?	↑/ ↑/ ↑	?	↑	↑/?	↓/?	?/?
53	↓ (vidi takođe poglavlje 2.4.2)	?/ ↑	?/?/ ↑	↑/ ↓/ ?/?	?/?/?	↑	?	?/?	↓/?	?/?
79	↓	?/ ↑	?/?/?	↓/ ↑/ ↓/?	↑/ ↑/ ↓. (XRPD nije jasno prikazan)	?	?	?/?	?/?	?/?

? – podaci nisu navedeni, ispitivanje nije izvršeno, uticaj nejasan jer svojstvo zavisi od vise faktora, uticaj faktora ne postoji i/ili su podaci nejasno navedeni (konsultuj tekst)

## 2.4.2. Uticaj snage plazma izvora

Tab.4 daje pregled opšteg uticaja snage plazma izvora na različita svojstva HA prevlaka. Opseg snaga plazma izvora koji je razmatran u prethodnim studijama se približno kretao između ~10 i ~42 kW [30,32,53,59,67,75,86,96].

Bez obzira na postojeće razlike u vrednostima drugih parametara procesa nanošenja, u većini studija gde je to razmatrano ustanovljeno je da veća snaga plazma izvora uzrokuje sledeće promene u česticama polaznog HA praha: (i) veći stepen dehidroksilacije [30,32,53,75], (ii) veći stepen defosforizacije [30,32,53,75] i (iii) veći stepen topljenja [30,32,53,59,67,75,86,96]. S druge strane, veća snaga plazma izvora u rezultujućim HA prevlakama izaziva: (i) manju kristaličnost, tj veći sadržaj ACP faze [30,32,59,67,75,96], (ii) manji sadržaj HA faze [30,32,59,67,75,96], (iii) veći sadržaj nečistih faza (TCP, TTCP i CaO) [30,32,67,75,96], (iv) bolji kontakt između HA čestica i substrata ili HA čestica depozita [30,32,59,86], (v) veću adhezionu čvrstoću [86], (vi) veću kohezionu čvrstoću [59], (vii) manju poroznost [30,59,87,96], veću tvrdoću [59] i veće prisustvo prslina [30].

Razlike u odnosu na navedene rezultate se ispoljavaju u nekoliko studija [30,53,67].

U studiji *Lu i saradnika* [67] je pokazano da, za snage plazma izvora do ~30 kW, *SOD* parametar ne proizvodi značajan uticaj na kristaličnost dobijenih HA prevlaka i tek sa povećanjem snage na 40 kW, promena *SOD* ima uticaja. Rezultati studije *Sun i saradnika* [30] su u izvesnom konfliktu sa rezultatima *Lu i saradnika* [67], jer pokazuju da promena *SOD* parametra utiče na površinsku kristaličnost HA prevlaka i pri snagama plazma izvora od ~30 kW. Interesantno je pomenuti da su rezultati studije *Gross i saradnika* [32] u saglasnosti sa rezultatima *Lu i saradnika* [67]. Naime, XRPD analiza navedena u studiji [32] pokazuje nagli porast nečistih faza (TCP, TTCP, a posebno CaO) pri snagama plazma izvora većim od 30 kW. Treba napomenuti da su u studijama [67] i [32] korišćeni polazni prahovi sa relativno sličnim veličinama čestica (10-20  $\mu\text{m}$  [67], 5-40  $\mu\text{m}$  [32]), dok je u studiji [30] korišten polazni HA prah sa znatno većim česticama, veličine ~100  $\mu\text{m}$ .

U studiji *Hesse i saradnika* [53] je pokazano da je pri većoj snazi izvora sadržaj HA faze na površini HA prevlaka proizvedenih od najgrubljeg polaznog praha (100-140

$\mu\text{m}$ ) manji, nepromenljiv u slučaju HA prevlaka od polaznog HA praha srednjih veličina (45-160  $\mu\text{m}$ ) i veći u HA prevlakama od polaznog HA praha najmanjih veličina (0-90  $\mu\text{m}$ ), što je suprotno od rezultata dobijenih za prevlake od čestica najgrubljeg praha i rezultata većine prethodnih istraživanja [30,32,59,67,75,96]. Međutim, u navedenoj studiji nije uzeto u obzir da, kako postoje različiti tipovi HA faza u HA prevlakama (vidi poglavlje 2.3.1.2), HA faza na površini HA prevlaka može da bude rekristalisani tip HA faze. Zbog toga je poznavanje procesa rekristalizacije tokom rasta HA prevlaka od velikog značaja.

Samo je studija *Sun i saradnika* razmatrala uticaj snage plazma izvora na promenu udela pojedinih faza sa debljinom HA prevlaka, tj na promenu kristaličnosti tokom rasta HA prevlaka [30]. Ova ispitivanja su pokazala da povećanje snage plazma izvora utiče na povećanje udela rekristalisane HA faze u HA prevlakama i da sa povećanjem snage plazma izvora raste uticaj procesa rekristalizacije tokom rasta HA prevlaka na njihovu površinsku kristaličnost [30]. Naime, sa povećanjem snage plazma izvora, u plazma mlazu raste i udeo istopljenih HA čestica koje rekristališu pri udaru u substrat ili prethodno formirani depozit.

Kao i u slučaju razmatranja uticaja veličine polaznog HA praha (vidi poglavlje 2.4.1.3), većina studija se fokusirala na to kako snaga plazma izvora utiče na svojstva HA prevlaka, a manje na vezu između svojstava prevlaka i svojstava HA čestica u plazma mlazu. Pored toga, većina studija razmatra uticaj snage plazma izvora na kristaličnost HA prevlaka na osnovu površinske kristaličnosti HA prevlaka, gde se zanemaruje promena kristaličnosti sa debljinom HA prevlake, bez obzira na mogućnost postojanja razlike u kristaličnosti na određenom rastojanju od interfejsa prevlaka/substrat (vidi poglavlje 2.3.1.2). Detaljan pregled prethodnih istraživanja je ukazao na nepostojanje podataka o uticaju snage plazma izvora na lokalnu površinsku kristaličnost HA prevlaka, tj. na površinsku strukturnu heterogenost HA prevlaka (vidi poglavlje 2.3.2).

Tab.4 pokazuje da samo jedna studija pominje uticaj snage plazma izvora na prisustvo prslina u HA prevlakama [30], dok je uticaj ovog parametra na poroznost HA prevlaka češće razmatran [30,59,86,96].

**Tab.4.** Literaturni pregled uticaja snage plazma izvora.

Ref.	Snaga plazma izvora	Pre udara u substrat		U HA prevlaci u nanesenom stanju						
		Brzina/ temperatura HA čestica	Dehidroksilacija/ defosforizacija/ stepen topljenja HA čestica	Kristaličnost/ Sadržaj ACP/ HA/ OA	Sadržaj TCP/ TTCP/ CaO	Razlika između kristaličnosti površine i interfejsa (efekat rekristalizacije)	Medulamelarni kontakt između HA čestica i substrata i/ili HA čestica depozita	Adhezija/ kohezija	Poroznost/ tvrdoća	Prsline/ žilavost
75	↑	?/ ↑	↑/ ↑/ ↑	↓/ ↑/ ↓/ ?	↑/ ↑/ ↑	?	?	?/ ?	?/ ?	?/ ?
86	↑	?/ ↑	?/ ?/ ↑	?/ ?/ ?/ ?	?/ ?/ ?	?	↑	↑/ ?	↓/ ↑	?/ ?
67	↑	?/ ↑	?/ ?/ ↑	↓/ ↑/ ↓/ ?	↑/ ↑/ ↑	?	?	?/ ?	?/ ?	?/ ?
30	↑	↑/ ↑	↑/ ↑/ ↑	↓/ ↑/ ↓/ ?	↑/ ↑/ ↑	↑	↑	?/ ?	↓/ ↑	↑/ ?
53	↑	?/ ↑	↑/ ↑/ ↑	fini HA prahovi: ↑/ ↓/ ↑/ ? grubi HA prahovi: ↓/ ↑/ ↓/ ?	fini HA prahovi: ↑/ ↑/ ↑ grubi HA prahovi: (povećanje je manje no u finim HA)	?	?	?/ ?	?/ ?	?/ ?
59	↑	?/ ↑	?/ ?/ ↑	↓/ ?/ ↓/ ?	?/ ?/ ?	?	↑	?/ ↑	↓/ ↑	?/ ?
32	↑	?/ ↑	↑/ ↑/ ↑	↓/ ↑/ ↓/ ?	↑/ ↑/ ↑	?	↑	?/ ?	?/ ?	?/ ?
96	↑	↑/ ↑	?/ ?/ ↑	↓/ ↑/ ↓/ ?	↑/ ↑/ ↑	?	?	?/ ?	↓/ ?	?/ ?

? – podaci nisu navedeni, ispitivanje nije izvršeno, uticaj nejasan jer svojstvo zavisi od vise faktora, uticaj faktora ne postoji i/ili su podaci nejasno navedeni (konsultuj tekst)



### 2.4.3. Uticaj rastojanja substrata od izlaza mlaznice (*SOD*)

Tab.5 daje pregled uticaja *SOD* parametra na različita svojstva HA prevlaka. Opseg veličina *SOD* koji je korišćen u prethodnim studijama se grubo kretao između ~50 i ~1000 mm [30,52,59,66,67,69,75,85,86,94].

Bez obzira na postojeće razlike u vrednostima drugih parametara procesa nanošenja, većina studija je, tamo gde je to razmatrano, ustanovila da povećanje *SOD* parametra u HA česticama uzrokuje: (i) veći stepen dehidroksilacije [30,52,69,75], (ii) veći stepen defosforizacije [69] i (iii) veći stepen topljenja [30,69,75]. S druge strane, povećanje *SOD* parametra u rezultujućim HA prevlakama izaziva: (i) manju kristaličnost, tj veći sadržaj ACP faze [30,52,59,69,75,85,86], (ii) manji sadržaj HA faze [30,52,59,66,69,75,85], (iii) bolji kontakt između HA čestica i substrata ili HA čestica depozita [30,69], (iv) manju adhezionu čvrstoću [59,66,85,86], (v) manju kohezionu čvrstoću [66,86], (vi) veću poroznost [59,66], (vii) manju tvrdoću [30,59,66] i (viii) veće prisustvo prslina [30].

Razlike u odnosu na navedene rezultate se ispoljavaju u nekoliko studija [30,67,94] i to u nekoliko segmenata.

Rezultati studija *Lu i saradnika* [67] i *Weng i saradnika* [94] ukazuju na to da povećanje *SOD* može da izazove povećanje kristaličnosti, tj. smanjenje ACP sadržaja u HA prevlakama, kao i povećanje sadržaja HA faze, što je u suprotnosti sa rezultatima većine prethodnih studija [30,52,59,66,69,75,85,86]. Autori studija [67] i [94] objašnjavaju ovaj fenomen kao posledicu hlađenja i početka očvršćavanja HA čestica iz plazma mlaza pre udara u substrat ili prethodno formirani HA depozit. Ova hipoteza je potpuno drugačija od tradicionalnog tumačenja uticaja *SOD* parametra, prema kojem povećanje *SOD* produžava vreme topljenja i dehidroksilacije HA čestica iz plazma mlaza [30]. Međutim, treba napomenuti da hipoteza autora studija [67] i [94] ima utemeljenje, jer je opšte poznato da hlađenje čestica polaznog praha iz plazma mlaza može da nastupi pri određenom aksijalnom rastojanju od izlaza mlaznice, tj. pri određenom *SOD* [10,13]. S obzirom da je poznato je da su manje čestice polaznog praha sklonije promeni brzine i temperature od većih čestica (vidi poglavlje 2.1.2.3), rezultat studije [67] u kojoj su korišćene male veličine čestica (10-20  $\mu\text{m}$ ), a prema kome je povećanje kristaličnosti HA prevlaka dostignuto već pri povećanju *SOD* na 200 mm,

nije iznenađujući. S druge strane, u studiji [94], korišćene su slične veličine HA prahova, ali značajno veće vrednosti *SOD* parametra (1000 nm), što je na neki način povećalo pouzdanost rezultata, jer je promena kristaličnosti sa povećanjem *SOD* bila evidentnija.

Nekoliko studija se bavilo ispitivanjem uticaja *SOD* parametra na promenu udela faza sa debljinom HA prevlaka, tj na promenu kristaličnosti sa debljinom HA prevlaka [30,52]. Ova ispitivanja su pokazala da povećanje *SOD* utiče na smanjenje udela rekristalisane HA faze u HA prevlakama i da sa smanjenjem *SOD* raste uticaj procesa rekristalizacije tokom rasta HA prevlaka na njihovu površinsku kristaličnost, tj. dolazi do povećanja razlika između kristaličnosti površine i interfejsa.

Kao i u slučaju razmatranja uticaja veličine polaznog HA praha (vidi poglavlje 2.4.1.3), većina studija je ispitivala kako *SOD* parametar direktno utiče na svojstva HA prevlaka, a manje na vezu između ovih svojstava i svojstava HA čestica postignutih u plazma mlazu. Pored toga, u većini studija razmatran je uticaj *SOD* parametra na kristaličnost HA prevlaka na osnovu površinske kristaličnosti HA prevlaka, pri čemu nije uzeta u obzir promena kristaličnosti sa debljinom HA prevlake (vidi poglavlje 2.3.1.2). Takođe, nedovoljno je razjašnjen uticaj *SOD* na prisustvo nečistoća (TCP, TTCP i CaO). U jednom broju studija, poput [30], ustanovljeno je da povećanje *SOD* parametra produžava efekat topljenja HA čestica u plazma mlazu, što povećava prisustvo nečistoća, dok je u drugoj grupi studija, poput [67], ustanovljeno da povećanje *SOD* smanjuje efekat topljenja HA čestica, što smanjuje prisustvo nečistih faza.

Detaljan pregled prethodnih istraživanja je pokazao nepostojanje podataka o uticaju *SOD* parametra na lokalnu površinsku kristaličnost HA prevlaka, tj. na površinsku strukturnu heterogenost HA prevlaka (vidi poglavlje 2.3.2).

Tab.5 pokazuje da samo jedna studija pominje uticaj *SOD* parametra na prisustvo prslina u HA prevlakama [30], dok je uticaj ovog parametra na poroznost HA prevlaka češće razmatran [30,59,66]. *Sun i saradnici* su utvrdili da povećanje *SOD* doprinosi smanjenju poroznosti HA prevlaka i povećanju prisustva mikro-prslina [30], dok su *Morks i Kobayashi* [59], kao i *Kweh i saradnici* [66] utvrdili da povećanje *SOD* ima suprotan efekat.

**Tab.5.** Literaturni pregled uticaja *SOD*.

Ref.	SOD	Pre udara u substrat		U HA prevlaci u nanesenom stanju						
		Brzina/ temperatura HA čestica	Dehidroksilacija/ defosforizacija/ stepen topljenja HA čestica	Kristaličnost/ Sadržaj ACP/ HA/ OA	Sadržaj TCP/ TTCP/ CaO	Razlika između kristaličnosti površine i interfejsa (efekat rekristalizacije)	Medulamelarni kontakt između HA čestica i substrata i/ili HA čestica depozita	Adhezija/ kohezija	Poroznost/ tvrdoća	Prsline/ žilavost
52	↑	?/?	↑/?/?	↓/↑/↓/?	?/?/?	↓	↓	?/?	?/?	?/?
75	↑	?/?	↑/?/↑	↓/↑/↓/?	?/?/?	?	?	?/?	?/?	?/?
86	↑	?/?	?/?/?	?/?/?/?	?/?/?	?	?	↓/↓	?/?	?/?
66	↑	?/?	?/?/↓	↓/↑/↓/?	?/?/?	?	↓	↓/↓	↑/↓	?/?
67	↑	?/?	?/?/↓	↑/↓/↑/?	↓/↓/↓	?	?	?/?	?/?	?/?
30	↑	↓/?	↑/?/↑	↓/↑/↓/?	?/?/↑/	↓	↑	?/?	↓/↑	↑/?
85	↑	?/?	?/?/?	↓/↑/↓/?	↓/↓/?	?	↓	↓/?	?/?	?/?
59	↑	?/?	?/?/?	↓/↑/↓/?	?/?/?	?	?	↓/?	↑/↓	?/?
69	↑	?/?	↑/↑/↑	↓/↑/↓/?	↑/?/?	?	↑	?/?	?/?	?/?
94	↑	?/?	?/?/↓	↑/↓/↑/?	?/?/?	?	?	?/?	?/?	?/?

? – podaci nisu navedeni, ispitivanje nije izvršeno, uticaj nejasan jer svojstvo zavisi od vise faktora, uticaj faktora ne postoji i/ili su podaci nejasno navedeni (konsultuj tekst)

#### 2.4.4. Uticaj predgreivanja substrata ( $T_S$ )

Tab.6 daje pregled opšteg uticaja inicijalne temperature substrata ( $T_S$ ) na različita svojstva HA prevlaka. Opseg ovog parametra koji je korišćen u prethodnim studijama se grubo kretao između  $\sim 5$  i  $\sim 300$  °C [59,79,85,89,90,97].

Bez obzira na postojeće razlike u vrednostima drugih parametara procesa nanošenja, većina studija, tamo gde je to razmatrano, ustanovila je da povećanje  $T_S$  u rezultujućim HA prevlakama uzrokuje: (i) veću kristaličnost, tj. manji sadržaj ACP faze [59,79,89], (ii) veći sadržaj HA faze [59,79,89], (iii) bolji kontakt između HA čestica i substrata ili HA čestica depozita [59,79,85,89,90], (iv) veću adheziju čvrstoću [59,79,85,89,90], (v) veću tvrdoću [90] i (vi) manje prisustvo prslina [59,90].

Od svih parametara, uticaj  $T_S$  parametra na svojstva HA prevlaka je najmanje ispitivan do danas. Ovo pokazuju podaci iz Tab.6, gde, od ukupno šest pronađenih studija, samo četiri studije razmatraju uticaj  $T_S$  parametra na svojstva HA prevlaka, dok dve studije proučavaju ovaj uticaj na svojstva HA depozita. Pored toga, pregled literature pokazuje da ispitivanje uticaja  $T_S$  parametra na svojstva HA prevlaka prate brojne neusaglašenosti.

Prva neusaglašenost se susreće u rezultatima studije [97] gde je, za razliku od tradicionalnog tumačenja uticaja  $T_S$  parametra [59,79,85,89,90], konstatovano smanjenje adhezije/kohezije čvrstoće HA prevlaka sa povećanjem inicijalne temperature substrata ( $T_S$ ). Druga neusaglašenost se tiče uticaja  $T_S$  parametra na kristaličnost HA prevlaka. Poznato je da povećanje vrednosti  $T_S$  poboljšava širenje istopljenih HA čestica iz plazma mlaza pri udaru u substrat ili prethodno formirani HA depozit, tj. povećava površinu kontakta između HA čestice i odgovarajuće podloge, odnosno povećava kvašljivost odgovarajuće podloge. Autori studije [59] ukazuju da, pored opisanog efekta,  $T_S$  utiče i na povećanje kristaličnosti HA prevlake u blizini interfejsa prevlaka/substrat. Oni objašnjavaju fenomen povećanja kristaličnosti u blizini interfejsa odsustvom krte ACP faze i njoj pripadajućih prslina sa predgreivanjem substrata, odnosno sa povećanjem  $T_S$ , a ovaj rezultat su potvrdili merenjem adhezije čvrstoće prevlake, koja pokazuje evidentno veće vrednosti u slučaju predgreivanja substrata. Nedostatak ove studije je što nisu vršena merenja kristaličnosti u blizini interfejsa ni jednom od raspoloživih metoda (MRS, XRPD i sl.). S druge strane,

rezultati studija [79,89] su potvrdili da povećanje  $T_S$  povećava kvašljivost substrata kao podloge. Međutim, *Samadari i saradnici* su detektovali drugačije promene kristaličnosti sa predgrevanjem substrata kod različitih postupaka nanošenja [89]. Naime, u slučaju nanošenja čestica HA depozita plazma sprej postupkom, nije detektovano povećanje kristaličnosti HA depozita, dok je u slučaju nanošenja HA depozita plamenim postupkom detektovana pojava rekristalisane HA faze [89]. Pored toga, rezultati studije *Vilotijević i saradnika* su pokazali da površinska kristaličnost HA prevlaka može da se menja različito za različite veličine polaznog HA praha [85]. Ove razlike u ponašanju ukazuju na to da uticaj  $T_S$  parametra na kristaličnost HA prevlaka nije u potpunosti razjašnjen, kao i na to da ovaj uticaj može da bude različit. Postoji očigledna razlika u promeni kristaličnosti HA prevlaka na njihovom interfejsu i površini. Kao ni kod većine prethodnih istraživanja, koja su ispitivala uticaje drugih parametara procesa nanošenja plazma sprej postupkom, studije koje su se bavile uticajem  $T_S$  na promenu kristaličnosti po debljini HA prevlaka nisu pronađene u raspoloživoj literaturi.

U dostupnoj literaturi je pronađena samo jedna studija u kojoj su ispitivane promene udela nečistoća (TCP, TTCP i CaO) u pravcu debljine HA prevlaka [97]. U toj studiji je zaključeno da, iako sadržaj nečistih faza opada od interfejsa ka površini HA prevlaka, predgrevanje substrata nema veliki uticaj na raspodelu ovih faza po debljini HA prevlaka. Detaljan pregled prethodnih istraživanja je ukazao na nepostojanje podataka o uticaju  $T_S$  parametra na lokalnu površinsku kristaličnost HA prevlaka, tj. na površinsku strukturnu heterogenost HA prevlaka (vidi poglavlje 2.3.2).

Uticaj  $T_S$  parametra na prisustvo poroznosti je nedovoljno istražen, dok određeni podaci vezani za uticaj  $T_S$  na prisustvo prslina postoje [59,90]. S obzirom da je poznato da povećanje vrednosti  $T_S$  parametra povećava kvašljivost odgovarajuće podloge [79,89], može se pretpostaviti da zbog toga predgrevanje substrata može da utiče na smanjenje poroznosti HA prevlaka. S druge strane, smanjenje prisustva prslina se delimično vezuje za otklanjanje prisustva krte ACP faze duž interfejsa prevlaka/substrat [59].

**Tab.6.** Literaturni pregled uticaja  $T_s$ .

Ref.	Inicijalna temperatura substrata ( $T_s$ )	U HA prevlaci u nanesenom stanju						
		Kristalichnost/ Sadržaj ACP/ HA/ OA	Sadržaj TCP/ TTCP/ CaO	Razlika između kristalichnosti površine i interfejsa (efekat rekristalizacije)	Medulamelarni kontakt između HA čestica i substrata i/ili HA čestica depozita	Adhezija/ kohezija	Poroznost/ tvrdoća	Prsline/ žilavost
85	↑	Fini HA prahovi: ↑/ ↓/ ↑/? Grubi HA prahovi: ↓/ ↑/ ↓/?	Fini HA prahovi: ↑/?/ ↑/ Grubi HA prahovi: ↑/?/ ↓	?	↑	↑/?	?/?	?/?
97	↑	?/?/?/?	↓/ ↑/?	? (veći sadržaj TCP, TTCP, CaO na površini)	?	↓/ ↓	?/?	?/?
59	↑	↑/ ↓/ ↑/?	?/?/?	↓	↑	↑/?	?/?	↓/?
89	↑ (čestice HA depozita)	↑/ ↓/ ↑/?	?/?/?	?	↑	↑/?	?/?	?/?
79	↑	↑/ ↓/ ↑/?	?/?/?	?	↑	↑/?	?/?	?/?
90	↑ (čestice HA depozita)	?/?/?/?	?/?/?	?	↑	↑/ ↑	?/ ↑	↓/?

? – podaci nisu navedeni, ispitivanje nije izvršeno, uticaj nejasan jer svojstvo zavisi od vise faktora, uticaj faktora ne postoji i/ili su podaci nejasno navedeni (konsultuj tekst)

### 2.4.5. Uticaj drugih parametara procesa nanošenja

Pored razmatranih parametara, vršena su takođe ispitivanja nekih važnijih primarnih parametara procesa nanošenja:

- protok primarnog gasa [32,50,52,63,75],
- hlađenje substrata tokom procesa nanošenja [50,52,65],
- sastav plazma gasa [79,96],
- protok nosećeg gasa [96],
- ugao substrata [52],
- prisustvo termički nepropustljivih oksidnih međuslojeva (između substrata i HA prevlake) [93,97].

Pri nanošenju HA prevlaka plazma sprej postupkom, u najvećem broju studija je, kao primarni gas, korišćen argon (Ar), a neretko i azot (N<sub>2</sub>). Većina studija je pokazala da povećanje protoka primarnog gasa smanjuje kristaličnost HA prevlaka [32,50,52,75], dok postoje studije u kojima je izneseno suprotno mišljenje [63]. Većina studija tumači dobijene rezultate na način da povećanje protoka povećava brzinu HA čestica praha u plazma mlazu i prouzrokuje foirmiranje tanjih lamela HA depozita usled veće energije udara. S druge strane, u studiji [63] se konstatuje da je povećanje kristaličnosti HA prevlaka posledica povećanja snage plazma izvora i temperature HA čestica u plazma mlazu, koje su uzrokovane povećanjem protoka primarnog plazma gasa.

Hlađenje substrata tokom procesa nanošenja HA prevlaka je vršeno vazduhom [50,52] ili u kombinaciji vazduh/N<sub>2</sub> [65]. Malo hlađenje ili odsustvo hlađenja proizvodi HA prevlake sa većom kristaličnošću [50,52,65], dok u isto vreme proizvodi i najveći nivo zaostalih naprezanja, a ne utiče na poroznost HA prevlaka [65].

Ispitivanja sastava plazma gasa su pokazala značajan uticaj sastava plazma gasa na svojstva HA prevlaka [96]. Pored već razmatranih primarnih gasova, u većini studija sekundarni gas je vodonik (H<sub>2</sub>), zatim sledi helijum (He), a ponekad se koristi i azot (N<sub>2</sub>). Povećanje protoka sekundarnog gasa utiče na smanjenje prisustva kristalne vode u HA česticama u plazma mlazu, što utiče na smanjenje kristaličnosti rezultujućih HA

prevlaka [96]. Ovaj rezultat nije neočekivan, kada se zna da je svrha primene sekundarnih plazma gasova povećanje entalpije plazma mlaza sa ciljem efikasnijeg prelaza toplote sa plazma gasa na HA čestice u plazma mlazu. Prisustvo vodene pare u plazma mlazu tokom procesa nanošenja utiče na povećanje kristaličnosti HA prevlaka, pri čemu je porast kristaličnosti HA prevlaka od finijeg polaznog HA praha izraženiji u poređenju sa HA prevlakama od grubljeg polaznog HA praha [79]. Pored toga, prisustvo vodene pare efikasno utiče na povećanje adhezione/kohezione čvrstoće HA prevlaka [79].

Noseći gas čestica polaznog HA praha ima manji uticaj na svojstva HA prevlaka (posebno na fazni sastav), iako ima drugi po značaju uticaj u tretmanu polaznih HA čestica [96].

Ispitivanja su pokazala da sa promenom ugla substrata, od normalnog na plazma mlaz ka oštrijim uglovima, dolazi do smanjenja kristaličnosti HA prevlaka iz dva razloga [52]. Prvi je taj što se delimično istopljene HA čestice, koje nose određeni deo kristalnog HA, odbijaju o substrat, a drugi, važniji razlog, je taj što debljina lamela depozita postaje sve tanja, što utiče na povećanje brzine njihovog hlađenja, a samim tim i smanjenja kristaličnosti HA prevlaka.

Prethodna istraživanja su pokazala da prisustvo međusloja oksida niske termalne provodljivosti utiče na opšte povećanje adhezione/kohezione čvrstoće HA prevlaka [97], kao i na povećanje kristaličnosti HA prevlaka [93].



## 2.5. Biomineralizacija HA prevlaka

Postoje različite definicije biomineralizacije. Jedna od opšte prihvaćenih definicija je da je to „proces u kome živi organizmi utiču na taloženje minerala“ [98]. Međutim, postoje i opštije definicije procesa biomineralizacije poput one da je to „proces formiranja neorganskih kompleksnih struktura u biološkim sistemima“ [99].

Sa aspekta primene implantata na bazi metala sa HA prevlakama, osteointegracija (proces formiranja veze između koštanog tkiva i implanta) može da se posmatra kao direktan rezultat površinskih reakcija HA prevlake sa okolnom telesnom tečnošću [100]. Ove reakcije uključuju: (i) rastvaranje hidroksiapatitnih prevlaka, (ii) taloženje apatitnih soli, (iii) jonsku razmenu koja je praćena adsorpcijom i ugradnjom bioloških molekula, (iv) adsorpciju koštanih ćelija (razmnožavanje i deoba) i (v) formiranje vanćelijskog okruženja i mineralizaciju [100]. U ovom nizu procesa, rastvaranje HA prevlaka je ključni stadijum koji potpomaže taloženje biološkog (koštanog) apatita, što je uslov za proces osteointegracije [100]. Razumevanje mehanizma rastvaranja HA prevlaka i taloženja biološkog apatita je od najvećeg značaja, jer ovi stadijumi procesa osteointegracije imaju kritičan uticaj na inicijalnu fiksaciju implanta sa HA prevlakom u koštanom tkivu.

Rastvorljivost HA prevlaka i taloženje biološkog apatita se najčešće proučavaju u simuliranim telesnim tečnostima (*in-vitro*). Cilj *in-vitro* ispitivanja je da se postignu što približniji uslovi onima koji vladaju u živim organizmima (*in-vivo*), što bi omogućilo bolje predviđanje ponašanja materijala implanta nakon njegove ugradnje tokom post-operativnog perioda. Simulirane telesne tečnosti koje su korišćene u najvećem broju prethodnih istraživanja ne ispunjavaju zahteve vezane za njihov sastav i pH stabilnost (vidi poglavlje 2.5.1). Takođe, HA prevlake još uvek ne zadovoljavaju sve kriterijume primene kao materijal za fiksaciju implantata (vidi poglavlje 2.5.2). Iz ovih razloga, rastvaranje HA prevlaka i taloženje biološkog apatita na površini ovih prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima predstavljaju procese koji nisu u potpunosti razjašnjeni. Kao primer može da se navede da je tek u poslednjoj dekadi počela ozbiljno da se razmatra upotreba fizioloških puferskih sistema u simuliranim telesnim tečnostima. Ovo je, s jedne strane, unapredilo i postavilo simulirane telesne tečnosti u rang realnijih okruženja za ispitivanje biomineralizacije HA prevlaka, dok je, s druge

strane, indukovalo potrebu za redefinisanjem aktuelnih mehanizama procesa rastvaranja HA prevlaka i taloženja biološkog apatita.

### 2.5.1. Razvoj simuliranih telesnih tečnosti

Neorganski deo ljudske krvne plazme (vanćelijski prostor) zdravog ljudskog organizma sadrži molarni odnos jona  $\text{Cl}^-/\text{Na}^+$  između  $\sim 0.75$  i  $\sim 0.79$ , koncentraciju bikarbonatnih ( $\text{HCO}_3^-$ ) jona između  $\sim 24$  i  $\sim 27$  mmol/l i pH  $\sim 7.4$  [101].

Earl-ov (EBSS) i Hank-ov (HBSS) rastvor su primeri prvih pokušaja da se simulira sastav neorganskog dela ljudske krvne plazme [102]. Međutim, ovi rastvori su sadržali veći molarni odnos jona  $\text{Cl}^-/\text{Na}^+$  i nisku koncentraciju  $\text{HCO}_3^-$  jona. 1990. godine, *Kokubo i saradnici* su razvili takozvanu „konvencionalnu simuliranu telesnu tečnost“ (con-SBF) koja u stvari predstavlja puferovanu varijantu HBSS, gde je podešavanje pH izvršeno dodavanjem tris-hidroksimetil-aminometana i hlorovodonične (HCl) kiseline (Tris-HCl) [101,102]. 1991. godine, usled nepostojanja  $\text{SO}_4^{3-}$  jona u con-SBF, *Kokubo i saradnici* su zamenili ovaj rastvor „korigovanom simuliranom telesnom tečnošću“ (cor-SBF) [103]. 1999. godine, *Tas i saradnici* su prvi podigli nivo  $\text{HCO}_3^-$  jona na  $\sim 27$  mmol/l u simuliranim telesnim tečnostima puferovanim sa Tris-HCl [104,105], dok su *Bigi i saradnici* to prvi uradili u simuliranim telesnim tečnostima puferovanim sa 2-(4-(2-hidroksietil)-1-piperazinil)etan sulfonskom kiselinom i natrijum hidroksidom (Hepes-NaOH) [106]. 2003. godine, *Oyane i saradnici* su pripremili „revidiranu Kokubo simuliranu telesnu tečnost“ (r-SBF), kada je povišen sadržaj  $\text{HCO}_3^-$  jona na  $\sim 27$  mmol/l [107].

Bez obzira na tačnu vrednost koncentracije  $\text{HCO}_3^-$  jona, simulirane telesne tečnosti razvijene od strane *Tas i saradnika*, *Bigi i saradnika* i *Oyane i saradnika* su imale netačan molarni odnos jona  $\text{Cl}^-/\text{Na}^+$ . Kao posledica prethodnog, 2004. godine, *Tadakama i saradnici* predlažu „novu i poboljšanu simuliranu telesnu tečnost“ (n-SBF) sa tačnim molarnim odnosom jona  $\text{Cl}^-/\text{Na}^+$  i koncentracijom  $\text{HCO}_3^-$  jona [108].

Uprkos očiglednim naporima mnogih istraživačkih grupa da se dostigne tačan sastav simuliranih telesnih tečnosti, dva problema su ostala nerešena. Prvi problem je predstavljala primena nefizioloških pufera Tris i Hepes, a drugi nestabilnost pH simuliranih telesnih tečnosti.

Opšte je poznato da Tris i Hepes puferi mogu da formiraju rastvorljive komplekse sa  $\text{Ca}^{2+}$  jonima. Na primer, prisustvo Tris ili Hepes pufera može da utiče na kompleksaciju  $\text{Ca}^{2+}$  jona i albumina [109] i na taj način poremeti ishod *in-vitro* ispitivanja medicinskih HA implanata u simuliranim telesnim tečnostima koje sadrže proteine. Pored toga, Tris i Hepes puferi nisu prisutni u ljudskoj krvnoj plazmi [101,110]. S druge strane, zbog nepostojanja ravnoteže između parcijalnog pritiska  $\text{CO}_2$  u simuliranim telesnim tečnostima sa koncentracijom  $\text{HCO}_3^-$  jona između ~24 i ~27 mmol/l i parcijalnog pritiska  $\text{CO}_2$  u ambijentalnom vazduhu,  $\text{CO}_2$  difunduje iz simulirane telesne tečnosti u ambijentalni vazduh, što izaziva promenu ravnoteže između rastvorenih karbonskih vrsta ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , i  $\text{CO}_3^{2-}$ ) u simuliranoj telesnoj tečnosti, što dalje, kao krajnji ishod, izaziva porast pH vrednosti simulirane telesne tečnosti. U ovom kontekstu, *Dorozhkina i saradnici* su ukazali na veću nestabilnost pH u Hepes-NaOH nego u Tris-HCl simuliranim telesnim tečnostima [111]. Treba naglasiti i da je stabilnost pH u Tris-HCl simuliranim telesnim tečnostima sa koncentracijom  $\text{HCO}_3^-$  jona 24-27 mmol/l takođe upitna [112].

2003. godine, kao odgovor na primenu nefizioloških pufera i pH nestabilnost simuliranih telesnih tečnosti, *Marques i saradnici* su demonstrirali novi metod pripreme simuliranih telesnih tečnosti sa simultanom regulacijom pH vrednosti i koncentracije  $\text{HCO}_3^-$  jona u fiziološkim granicama bez primene nefizioloških pufera [113]. Ovi autori su dodavali odgovarajuću smešu  $\text{N}_2$  (95%) i  $\text{CO}_2$  (5%) pri konstantnom protoku u con-SBF rastvor koji je bio pripremljen bez Tris-HCl. Nakon toga, u narednoj studiji, *Marques i saradnici* su testirali ovaj sistem u prisustvu proteina albumin [114].

2013. godine, *Schinhammer i saradnici* su demonstrirali još jedan sistem za *in-vitro* ispitivanja implantata koji je koristio „aktivnu regulaciju pH simulirane telesne tečnosti pomoću  $\text{CO}_2$ ” [115]. Naime, *Schinhammer i saradnici* su vršili koroziona ispitivanja čistog železa (Fe) i legura magnezijuma (Mg) u simuliranim telesnim tečnostima čiji je sastav odgovarao sastavu simulirane telesne tečnosti razvijene od strane *Tadakame i saradnika* [115]. Umesto Tris i Hepes, *Schinhammer i saradnici* su vršili aktivnu regulaciju pH simulirane telesne tečnosti pomoću  $\text{CO}_2$  na sledeći način: „Kada pH ispitivanog medijuma pređe zadati prag pH od 7.45, prekidač otvara solenoidni ventil kroz koji  $\text{CO}_2$  gas prolazi i doprema se u ispitivani medijum. Ventil se zatvara kada se dostigne donji zadati prag pH od 7.40.“ [115]. *Schinhammer i saradnici*

su izvršili uporedno testiranje njihovog sistema sa aktivnom regulacijom pH i konvencionalnih načina održavanja pH (Tris i Hepes), pri čemu su jasno pokazali veći nivo pH stabilnosti sistema sa aktivnom regulacijom pH pomoću CO<sub>2</sub>. U ovom sistemu, pH je održavana između ~7.35 i ~7.45, što je ekvivalentno fluktuacijama pH u vanćelijskom prostoru ljudske krvne plazme zdravog ljudskog organizma. Jonski sastav neorganskog dela krvne plazme i nekih od pomenutih simuliranih telesnih tečnosti je dat u Tab.7 [102].

**Tab.7.** Jonske koncentracije ljudske krvne plazme i simuliranih telesnih tečnosti (mmol/l) (adaptirano iz [102]).

Jon	Krvna plazma	Ringer SBF	Earl SBF	Hank SBF	Kokubo C-SBF	Tas SBF	Bigi SBF	Kokubo r-SBF
Na <sup>+</sup>	142.0	130	143.5	142.1	142.0	142.0	141.5	142.0
K <sup>+</sup>	5.0	4.0	5.37	5.33	5.0	5.0	5.0	5.0
Ca <sup>2+</sup>	2.5	1.4	1.8	1.26	2.5	2.5	2.5	2.5
Mg <sup>2+</sup>	1.5	--	0.8	0.9	1.5	1.5	1.5	1.5
Cl <sup>-</sup>	103.0	--	123.5	146.8	147.8	125.0	124.5	103.0
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	27.0	--	26.2	4.2	4.2	27.0	27.0	27.0
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1.0	--	1.0	0.78	1.0	1.0	1.0	1.0
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.5	--	0.8	0.41	0.5	0.5	0.5	0.5
Ca/P	2.5	--	1.8	1.62	2.5	2.5	2.5	2.5
Pufer		--	--	--	Tris	Tris	Hepes	Hepes
pH	7.4	6.5	7.2-7.6	6.7-6.9	7.25-7.4	7.4	7.4	7.4

## 2.5.2. Biomaterijali; osteointegracija implantata; uloga HA prevlaka

**Biomaterijali** mogu biti podeljeni u tri kategorije prema njihovoj reaktivnosti sa živim tkivom na: (i) bioinertne, (ii) bioaktivne i (iii) biotolerantne materijale [116].

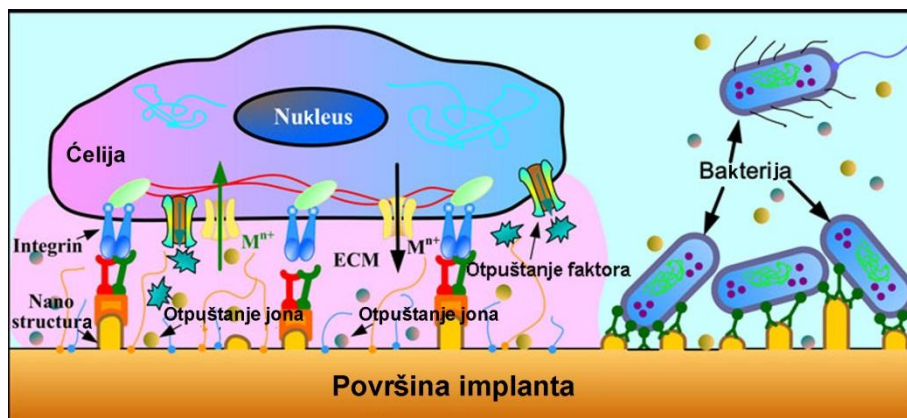
Bioinertni materijali, poput aluminijum trioksida (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), cirkonijum dioksida (ZrO<sub>2</sub>) i ugljenika (C), kao i neki metali, poput titanijuma (Ti) i tantala (Ta), reaguju sa živim tkivom preko mehanizma „kontaktne osteogeneze“, koja se karakteriše direktnim, mehaničkim kontaktom između implanta i koštanog tkiva [116]. Kod kontaktne

osteogeneze, novo koštano tkivo se stvara na površini implanta, a dalji rast koštanog tkiva se odvija kroz primitivno tkivo ka starom koštanom tkivu koje okružuje površinu implanta [116].

Bioaktivni materijali, poput kalcijum fosfata, biosilikata i biokeramike, ne interaguju samo sa okolnim tkivom u cilju stimulacije procesa osteointegracije, tj. inkorporacije implanta u koštano tkivo, već su često resorbovani i transformisani u kalcifikovano koštano tkivo. Ovaj mehanizam se naziva „vezivna osteogeneza“, a karakteriše se pravom hemijskom vezom između implanta i koštanog tkiva [116].

Biotolerantni materijali, poput poli-metil-metakrilatnog (PMMA) cementa, nerđajućeg čelika, legure kobalta (Co-Cr), pa čak i materijala od drveta, mogu da budu prihvaćeni od strane živog tkiva, pri čemu razvijaju interfejs implanta koji se karakteriše prisustvom sloja ispunjenog konektivnim tkivom (resorbovano primitivno tkivo), koje odvaja implant od koštanog tkiva i na taj način obezbeđuje tzv. „distantnu osteogenezu“ [116]. Kod distantne osteogeneze, novo koštano tkivo se stvara na površini starog koštanog tkiva koje okružuje implant, a dalji rast koštanog tkiva se odvija prema površini implanta kroz primitivno tkivo.

**Osteointegracija**, opisana od strane *Branemark-a* [117,118], se odnosi na direktnu strukturno-funkcionalnu vezu između koštanog tkiva i površine implanta [117]. Brzina osteointegracije i kvalitet ugrađenih implanata su povezani sa površinskim svojstvima implanta [117]. Na Sl.50, levo, prikazano je da otpuštanje jona, kvašljivost površine implanta, kao i nano-struktura površine mogu da igraju značajnu ulogu u interakciji između površine implanta i koštanih ćelija, kao i u osteointegraciji [117]. Međutim, kontaminacija površine implanta bakterijama (Sl.50, desno) može da izazove odumiranje koštanih ćelija tokom kompetitivnih procesa adhezije i loše osteointegracije, zbog čega je antibakterijska adhezija implanta važna za rapidnu osteointegraciju koštanog tkiva [117].



**Sl.50.** Uloga površine ortopedskog implanta kod adhezije koštanih ćelija i bakterija (adaptirano iz [117]).

Citotoksičnost biomaterijala na bazi metala nije u potpunosti razjašnjena i još uvek je predmet debata [58,119]. Joni i fragmenti metala koji se oslobode sa površine metalnih implantata mogu da izazovu nepovoljne imunološke efekte i upale, koje na kraju mogu da dovedu do gubitka funkcije implanta i njegovog odbacivanja od strane okolnog tkiva [58]. Iako se, na primer, legure Ti klasifikuju kao biokompatibilne, joni legirajućih elemenata ovih legura pokazuju određeni stepen citotoksičnosti [58,120]. Na primer, joni aluminijuma (Al) i vanadijuma (V) su povezani sa neurološkim poremećajima [58,121]. Pored toga, visok nivo koncentracije jona Cr, Co i nikla (Ni) povećavaju rizik za pojavu karcinoma [58,120].

**Uloga HA prevlaka** se prevashodno ogleda u modifikaciji površine implantata na bazi metala, što predstavlja jedan od načina za prevazilaženje nedostataka vezanih za citotoksičnost [58,117]. Naime, materijali na bazi HA poseduju strukturnu sličnost sa biološkim (koštanim) apatitom, pa ih ta činjenica čini idealnim materijalom za nanošenje na površinu implantata na bazi metala [117]. Ideja da se nanošenje HA prevlaka vrši pomoću plazma sprej postupka je bila prvo predložena u Japanu [117,122]. Zbog manjih kapitalnih troškova i velike efikasnosti nanošenja, plazma sprej postupak je metod koji je često korišćen za proizvodnju biokeramičkih prevlaka za poboljšanje biokompatibilnosti biomedicinskih implantata [117]. Biokeramičke prevlake na bazi HA se danas najfrekventnije nanose na implantate na bazi Ti primenom atmosferskog plazma sprej postupka [116]. Međutim, postoje i brojni primeri nanošenja

ovih prevlaka na substrate od nerđajućeg čelika kvaliteta za primenu u medicini [30,62,77,78,85,96].

U Tab.8 je dat pregled kriterijuma koje prevlake na bazi HA treba da zadovolje tokom njihove primene [58]. HA prevlake treba da budu dizajnirane na način da poseduju propisana svojstva za svaku specifičnu primenu [58]. HA prevlake treba da poseduju optimalnu: (i) debljinu [123], (ii) hemijsku i (iii) faznu čistoću [100,116,123], (iv) kristaličnost [100,116,123], poroznost [100,116,123] (v) žilavost [116], kohezionu [116] i adhezionu čvrstoću [100,116,123], površinsku hrapavost [100], kao i optimalne vrednosti zaostalih napreznja [116].

**Tab.8.** Kriterijumi za primenu materijala za ortopedске implante (adaptirano iz [58]).

<b>Kriterijum</b>	<b>Definicija/funkcija</b>
<i>Biokompatibilnost</i>	Sposobnost da obavlja funkciju uz odgovarajući odziv okolnog tkiva domaćina tokom specifične primene
<i>Bioaktivnost</i>	Sposobnost interakcije sa okolnim koštanim i mekim tkivom
<i>Osteokonduktivnost</i>	Sposobnost da obezbedi građu za formiranje novog koštanog tkiva
<i>Dominantna kristaličnost</i>	Sprečavanje prevremene kompletne resorpcije (rastvaranje) HA prevlake u telesnoj tečnosti – uslov dugotrajne primene
<i>Prisustvo amorfne faze</i>	Promovisanje rane osteointegracije
<i>Rastvorljivost u telesnoj tečnosti</i>	Programirana brzina rastvaranja u telesnim tečnostima koja prati proces <i>in-vivo</i> stvaranja koštanog tkiva
<i>Hemijski sastav</i>	Odgovara sastavu biološkog (koštanog) apatita
<i>Specifična morfologija površine</i>	Omogućava adheziju osteoblasta, njihovu deobu i razmnožavanje, kao i urastanje novog koštanog tkiva (fiksacija ili uglavljenje uz kost)
<i>Unutrašnja stabilnost i dobra adhezija uz implant</i>	Sprečava mehaničko oštećenje pod uslovima opterećenja

### 2.5.3. Proučavanje biomineralizacije u simuliranim telesnim tečnostima

Kiselo-bazni poremećaji u ljudskom organizmu su povezani sa brojnim medicinskim problemima, zbog čega je poznavanje fiziologije ovih poremećaja esencijalno za interpretaciju njihovog značaja u domenu intenzivne nege pacijenata [110]. Postoje brojni pristupi kada je u pitanju modelovanje hemije kiselo-baznih poremećaja u krvi i krvnoj plazmi, koji se uopšteno mogu podeliti na tradicionalne i moderne pristupe [110]. Tradicionalni pristup se pripisuje *Siggard-Andersen-u i saradnicima* [110,124-127] i deli se u dve grupe: (i) procena kiselo-baznog statusa na osnovu pH i sadržaja hidrogenkarbonata ( $\text{HCO}_3^-$ ) i (ii) procena na osnovu postojećih matematičkih formulacija i nomograma, koji opisuju kiselobazni status krvne plazme i krvi uopšte. Moderni pristup se pripisuje *Stewart-ovoj* teoriji kiselo-baznih poremećaja [110,128-130], u okviru koje se ovi poremećaji procenjuju na osnovu matematičkih formulacija. Iako daje slične rezultate krvne analize kao i tradicionalni pristup [110], moderni pristup se posmatra kao napredak u smislu njegove eksplicitne prezentacije i lakoće razumevanja jer, za razliku od tradicionalnog pristupa, uspostavlja jasniju vezu između elektrolita i fiziologije kiselo-baznih poremećaja. Drugim rečima, procese u krvi i krvnoj plazmi tretira kao fizičko-hemijske procese gde važe zakoni o dejstvu masa, održanju mase, kao i princip neutralnosti.

Za definisanje kiselo-baznog statusa krvi, a time i tipa kiselo-baznog poremećaja, kao što su npr. hiper- ili hipo-hloroemija, hiper- ili hipo-albuminaemija i slično, tradicionalni i moderni pristupi koriste različite parametre analize krvi. Jednačine pomoću kojih se određuju ovi parametri sadrže koncentracije pufera prisutnih u ljudskom organizmu [101,110]. Komponente puferskog sistema su: bikarbonatni puferi, tj. karbonske vrste ( $\text{CO}_{2(\text{aq})}/\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ ), i nebikarbonatni puferi, tj. albumin, globulin i fosfatne vrste ( $\text{PO}_4^{3-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ ) [101,110]. Pored važnosti komponenata puferskog sistema, od izuzetne važnosti su i koncentracije ovih komponenata, koje određuju kiselo-bazni status krvi i krvne plazme. Naravno, pri ovoj analizi se uzimaju u obzir i koncentracije ostalih mono- i više-atomskih jona prisutnih u krvi i krvnoj plazmi .

Na osnovu analize istorije razvoja simuliranih telesnih tečnosti (vidi poglavlje 2.5.1), jasan je hronološki kontekst progressa kvaliteta simuliranih telesnih tečnosti koje



danas poseduju sastave i pH stabilnost koji su vrlo bliski sastavu i pH stabilnosti neorganskog dela krvne plazme zdravog ljudskog organizma [113-115]. Međutim, čak i u najkvalitetnijim simuliranim telesnim tečnostima [113-115], koje su napravljene bez nefizioloških pufera, nisu zastupljene u potpunosti komponente puferskog sistema ljudskog organizma koje se danas koriste u modernoj analizi krvi (vidi prethodni pasus) [101,110], kao ni njihove koncentracije za slučaj zdravog ljudskog organizma (vidi prvi pasus poglavlja 2.5.1) [110]. Tako, u studiji *Marques i saradnika* [114], iako je prisustvo albumina uzeto u obzir, njegova koncentracija je bila desetostruko manja u odnosu na koncentraciju albumina u krvnoj plazmi zdravog ljudskog organizma, dok prisustvo proteina globulin nije uzeto u obzir. Postoje studije u kojima je korišćen fiziološki sadržaj proteina albumin, ali i nefiziološki sadržaj bikarbonata [131]. S druge strane, *Schinhammer i saradnici* nisu uopšte uzimali u obzir prisustvo proteina u simuliranim telesnim tečnostima [115].

U slučaju većine prethodnih istraživanja, sastav simuliranih telesnih tečnosti značajno varira od studije do studije [141,132-148]. Sa stanovišta termodinamike procesa, sve ove studije daju značajne rezultate i zaključke u smislu verovatnoće formiranja i tipa oformljenog karbonatnog apatita na površinama materijala za implantate. Međutim, sa stanovišta kinetike procesa, nijedna studija ne daje pouzdane rezultate, što zbog problema vezanih za pH stabilnost primenjenih simuliranih telesnih tečnosti, što zbog značajnijih odstupanja sastava simuliranih telesnih tečnosti od sastava ljudske krvne plazme (primena nefizioloških pufera, netačan sadržaj hidrogenkarbonata, netačan sadržaj hlora i sl.). Što je još značajnije, nijedna od pomenutih studija ne pominje značaj sastava simuliranih tečnosti u kontekstu kiselo-baznih poremećaja. Naime, ako se uzme u obzir ovaj kontekst, kao i odstupanja u sastavu primenjenih simuliranih tečnosti, većina studija je koristila simulirane tečnosti koje više odgovaraju stanjima određenih kiselo-baznih poremećaja.

U studijama koje su proučavale procese formiranja karbonatnog apatita u simuliranim telesnim tečnostima bez prisustva proteinskih vrsta u kojima je ostvarena stabilnost pH, utvrđeno je da se karbonatni apatit formira na biomineralizujućim površinama [134,137,141]. Vremena potrebna za formiranje karbonatnog apatita se razlikuju u ovim studijama, što je posledica primene različitih simuliranih telesnih tečnosti, kao i HA prevlaka različitih svojstava. Ovo je u skladu sa pomenutim

problemom vezanim za praćenje kinetike procesa taloženja karbonatnog apatita. Studija *Müller i saradnika* je pokazala da početna koncentracija  $\text{HCO}_3^-$  može da ima uticaja na tip oformljenog apatita [112]. Tako, pri koncentracijama koje su  $<20$  mmol/l, formira se B-tip karbonatnog apatita, dok se pri koncentracijama  $>20$  mmol/l, pored B-tipa, formira i A-tip karbonatnog apatita [112].

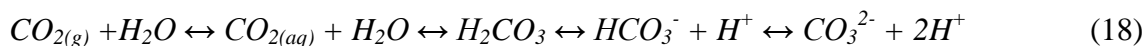
Studija *Müller i saradnika* [112], kao i neke druge studije [102,113,115,149,150], ističu nestabilnost pH simuliranih telesnih tečnosti, koja pokazuje tendenciju rasta usled difuzije  $\text{CO}_2$  iz simulirane telesne tečnosti u okolni ambijentalni vazduh zbog neravnoteže parcijalnih pritisaka  $\text{CO}_2$  u ova dva medijuma. Nekontrolisani porast pH može da izazove pojavu prevremenog taloženja karbonatnog apatita na površini materijala implanta, zbog čega su ispitivanja kinetike procesa taloženja pri visokim sadržajima  $\text{HCO}_3^-$  nepouzdana. S druge strane, *Barrere i saradnici* [150], kao i *Qu i saradnici* [149] su iskoristili nestabilnost pH simuliranih telesnih tečnosti za biomimetičku depoziciju prevlaka karbonatnog apatita na površinama metalnih materijala za implantate. Povećanjem koncentracija svih jona simuliranih tečnosti nekoliko puta, tj. presićenjem simuliranih telesnih tečnosti, *Barrere i saradnici* su demonstrirali metod za masovnu produkciju prevlaka karbonatnog apatita [150]. Biomimetička depozicija karbonatnog apatita predstavlja dobar osnov za testiranje stabilnosti pH simuliranih telesnih tečnosti kod kojih se pH održava isključivo primenom fizioloških pufera [113,115]. Takođe, biomimetička depozicija karbonatnog apatita predstavlja brz metod na osnovu koga može da se proceni da li na površinama bilo kog materijala za implantate dolazi do formiranja karbonatnog apatita ili ne.

S obzirom da su u ovom radu iskorišćene prednosti biomimetičke depozicije za testiranje pH stabilnosti simuliranih telesnih tečnosti i procenu skopnosti ka formiranju karbonatnog apatita na površinama HA prevlaka, neophodno je u kratkim crtama razmotriti faktore koji utiču na njih (vidi poglavlje 2.5.3.1), sa posebnim osvrtom na uticaj proteinskih vrsta (vidi poglavlje 2.5.3.2).

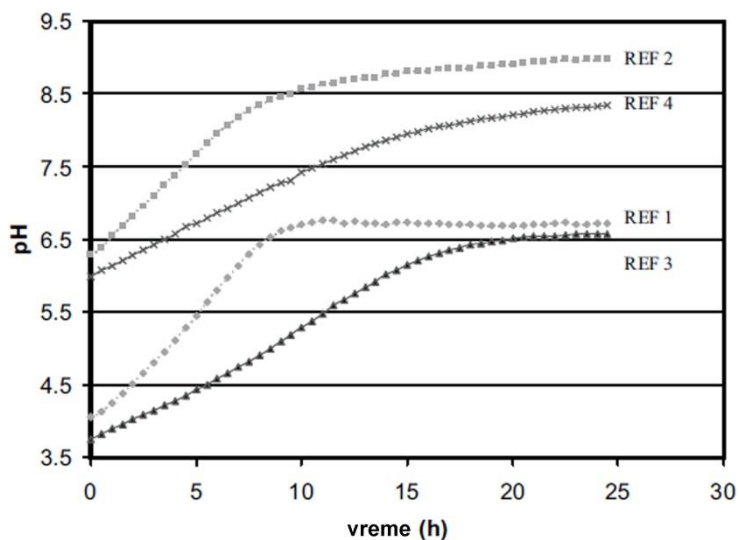
### 2.5.3.1. Stabilnost pH simuliranih telesnih tečnosti

#### 2.5.3.1.1. Uticaj sastava simulirane telesne tečnosti

Ako se čist  $\text{CO}_2$  rastvori u ultra-čistoj vodi, na osnovu hemijske ravnoteže (jednačina 18), doći će do smanjenja pH vode [150].



U studiji *Barrere i saradnika*, pH ultra-čiste vode je snižena do ~4.0 dodatkom čistog  $\text{CO}_2$  (kriva *REF 1*, Sl.51) [150]. Kada se prekine dovod  $\text{CO}_2$ , usled nejednakih parcijalnih pritiska  $\text{CO}_2$  u vodi i ambijentalnom vazduhu,  $\text{CO}_2$  napušta vodu, što uzrokuje porast pH (kriva *REF 1*, Sl.51). Nakon određenog vremena, pH vode se stabilise na ~6.7 (kriva *REF 1*, Sl.51), što je približno jednako početnoj vrednosti pH ultra-čiste vode.



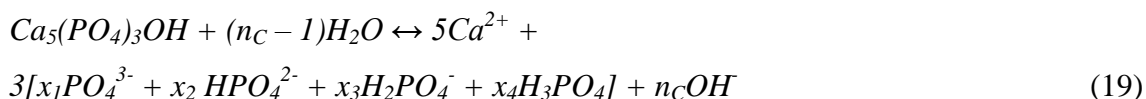
**Sl.51.** Uticaj vremena na promene pH usled difuzije  $\text{CO}_2$  iz rastvora u ambijentalni vazduh za različite referentne rastvore. Početni uslovi za: *REF 1* – ultra-čista voda, *REF 2* – 21.0 mmol  $\text{HCO}_3^-$  + ultra-čista voda, *REF 3* – 733.5 mmol/l NaCl + ultra-čista voda, *REF 4* – 733.5 mmol NaCl + 21.0 mmol/l  $\text{HCO}_3^-$  + ultra-čista voda. Vreme=0 h odgovara trenutku kada je dovod  $\text{CO}_2$  u rastvorima prekinut (adaptirano iz [150]).

Kada ultra-čista voda sadrži početnu koncentraciju  $\text{HCO}_3^-$  ~21.0 mmol/l, što je blisko vrednosti u neorganskoj krvnoj plazmi zdravog ljudskog organizma [101,110], dodatak čistog  $\text{CO}_2$  pri istim uslovima uzrokuje pad pH do ~6.3 (kriva *REF 2*, Sl.51), umesto do ~4.0 (kriva *REF 1*, Sl.51) [150]. Po prestanku dovoda  $\text{CO}_2$ , pH raste, prateći sličnu zavisnost kao i *REF 1*, i stabilise se pri vrednosti od ~9.0 (kriva *REF 2*, Sl.51), umesto na ~6.7. pH razlike između *REF 2* i *REF 1* su posledica puferskog kapaciteta  $\text{HCO}_3^-$ . Ravnotežna pH vrednost puferskih parova  $\text{H}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3^-$  i  $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$  je ~8.3 [150], zbog čega su i otežane promene pH ka nižim vrednostima.

Simulirane telesne tečnosti se obično dobijaju dodavanjem odgovarajuće kombinacije analitički čistih soli, kao što su NaCl, KCl,  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{KHCO}_3$ , u ultra-čistu vodu [103]. Nakon dodavanja, ove soli disosuju u vodi na sledeće jonske vrste:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  i  $\text{HCO}_3^-$  jone, što utiče na povećanje jonskog proizvoda vode [150]. Na Sl.51 su prikazane promene pH rastvora *REF 3* usled difuzije  $\text{CO}_2$  u ambijentalni vazduh [150]. Ovaj rastvor u poređenju sa *REF 1* sadrži rastvoren NaCl. Sa slike se primećuje drugačija promena pH. Ovaj efekat je objašnjen na način da povećanje jonskog proizvoda vode (rastvaranjem NaCl) povećava rastvorljivost  $\text{CO}_2$ , što otežava difuziju  $\text{CO}_2$ , a kao rezultat usporava promenu pH [150]. Sličan efekat je dobijen u slučaju promene pH rastvora *REF 2* i *REF 4* [150]. Ovde treba napomenuti da rastvaranje  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  i  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  u ultra-čistoj vodi proizvodi fosfatne vrste, koje su, poput karbonskih vrsta, takođe puferi. Anjoni ovih soli u reakciji sa molekulima vode proizvode  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  i  $\text{PO}_4^{3-}$  jone, što može u izvesnoj meri da utiče na promenu pH [150].

#### 2.5.3.1.2. Uticaj rastvaranja HA prevlaka

Na osnovu klasične teorije procesa rastvaranja, hemijska reakcija rastvaranja HA u vodi se predstavlja jednačinom (19) [151]:



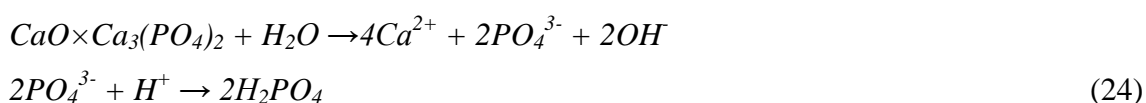
gde je  $n_C$  broj izreagovalih protona ( $H^+$ ) iz vode kada je rastvoren 1 ekvivalent (molekul) HA, dok  $x_1$ ,  $x_2$ ,  $x_3$  i  $x_4$  predstavljaju molarne udele različitih fosfatnih grupa prisutnih u vodi, pri čemu su  $n_C$  i  $x_1$ ,  $x_2$ ,  $x_3$  i  $x_4$  uvedeni zbog zahteva stehiometrije [151].

Razlog prisustva različitih fosfatnih grupa pri rastvaranju HA je što je  $PO_4^{3-}$ , koji egzistira u HA, sklon hidrolizi u prisustvu hidronijum jona ( $H^+$ ) [151]:



gde pK vrednosti predstavljaju pH vrednosti pri kojima su koncentracije odgovarajućih parova fosfatnih vrsta jednake.

Plazma sprej HA prevlake, osim HA faze, mogu da sadrže i druge kalcijum fosfatne faze, poput TCP i TTCP, kao i CaO (poglavljje 2.2). Prethodna istraživanja pokazuju određenu neusaglašenost po pitanju redosleda rastvorljivosti kalcijumovih jedinjenja koja se javljaju u plazma sprej HA prevlakama. Tako, pregledni rad *Surmenev-a* [58], navodi da se rastvorljivost kalcijum fosfata smanjuje u nizu CaO,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP, ACP, OHA/OA i HA, dok pregledni rad *LeGeros-eve* [152] navodi da se rastvorljivost povećava u nizu ACP, DCP (dikalcijum fosfat), TTCP, TCP i HA. Jasno je da neusaglašenost postoji u vezi rastvorljivosti ACP, TCP i TTCP. Rastvorljivost TCP i TTCP faza u vodi se odvija po jednačinama (23) i (24), respektivno [153].



Na osnovu reakcija (19)-(24), proces rastvaranja HA prevlaka utiče na porast pH vrednosti, jer je praćen procesom protonovanja  $\text{PO}_4^{3-}$  jona, tj. padom koncentracije slobodnih  $\text{H}^+$  jona u rastvoru.

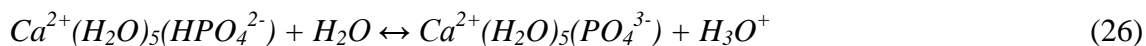
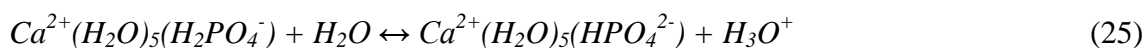
Proces rastvaranja HA je kompleksiji od opisanog i prevazilazi okvire ovog rada. Naime, do 2002. godine, značajan broj studija je proučavao proces rastvaranja HA. Međutim, nije postojao opšti model procesa rastvaranja HA. 2002. godine, *Dorozkhin* je, nakon analize osam do tada poznatih mehanizama rastvaranja predložio opšti mehanizam procesa rastvaranja HA, koji se odvija kroz pet osnovnih stadijuma [154]:

Stadijum-I	Difuzija hemijskih vrsta ( $\text{H}^+$ i $\text{A}^{n-}$ ) iz zapremine vodenog rastvora do interfejsa HA/vodeni rastvor
Stadijum-II	Adsorpcija hemijskih vrsta na površini HA
Stadijum-III	Hemijska transformacija na površini HA
Stadijum-IV	Desorpcija produkata (joni $\text{Ca}^{2+}$ i $\text{PO}_4^{3-}$ ) sa površine HA
Stadijum-V	Difuzija produkata u zapreminu vodenog rastvora

#### 2.5.3.1.3. Uticaj taloženja karbonatnog apatita

Napredovanje procesa rastvaranja HA utiče na porast koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  i  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  jona u vodenom rastvoru (jednačine 23-24). Taloženje karbonatnog apatita se odvija u nekoliko stupnjeva. U početku se odvijaju interakcije pomenutih jona i rastvorenih karbonskih vrsta ( $\text{CO}_{2(\text{aq})}/\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ ). Stvaraju se jonski agregati tipa  $\text{Ca-PO}_4$ ;  $\text{Ca-CO}_3$  i  $\text{Ca-PO}_4\text{-CO}_3$ , tj. dolazi do kompleksacije kalcijumovih sa fosfatnim i karbonskim vrstama [112,155-159]. Pritom, većina ovih reakcija podrazumeva oslobađanje  $\text{H}^+$  jona kao produkta reakcije, što utiče na smanjenje pH vrednosti simuliranih telesnih tečnosti [158].

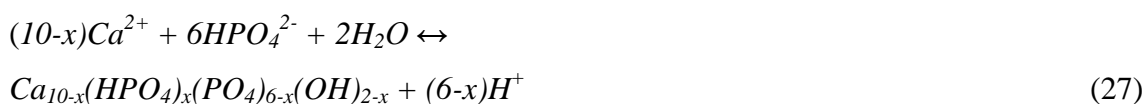
Na primer, kompleksacija tipa  $\text{Ca-PO}_4$ , odnosno tipa  $\text{Ca-PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ , kada se i molekuli vode uzmu u obzir, vodi ka formiranju dva najstabilnija jonska para  $\text{CaH}_2\text{PO}_4^+$  i  $\text{CaHPO}_4$ , odnosno  $\text{Ca}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{H}_2\text{PO}_4^-)$  i  $\text{Ca}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{HPO}_4^{2-})$ , ako se uzme u obzir da i molekuli vode ulaze u sastav jonskih kompleksa [158]. Daljim reakcijama ovih jonskih parova sa molekulima vode formira se kompleksni jon  $\text{Ca}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{PO}_4^{3-})$ .



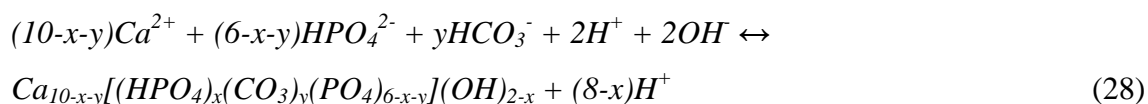
Kada se izvrši smena svih molekula vode fosfatnim vrstama u kompleksnom jonu  $Ca^{2+}(H_2O)_5(PO_4^{3-})$  i pritom svaki fosfatni jon koordinira sa tri  $Ca^{2+}$  jona dobija se kompleksni klaster  $Ca_9(PO_4)_6(H_2O)_{30}$ , koji predstavlja idealizovani klaster koji može da služi kao strukturna jedinica kondenzovane ACP faze [158]. U pojedinim slučajevima, molekuli vode mogu da se smene  $HPO_4^{2-}$  jonima ili  $CO_3^{2-}$  jonima umesto  $PO_4^{3-}$ , što je mehanizam koji može da vodi ka formiranju karbonatnog apatita. Fosfatni joni u jednom  $Ca_9(PO_4)_6(H_2O)_{30}$  klasteru mogu da se vežu sa perifernim  $Ca^{2+}$  jonima u nekom drugom  $Ca_9(PO_4)_6(H_2O)_{30}$  klasteru. Na ovaj način se formira trodimenzionalna mreža klastera, što vodi ka evoluciji i pojavi nove kondenzovane faze. Ovakav model umrežavanja klastera je predložen kao model formiranja ACP faze iz vodenih rastvora [160,161].

Nakon formiranja ACP, formira se kristalna HA faza. Međutim, ova tranzicija nije trenutna već se odvija nakon određenog perioda inkubacije [158]. Period inkubacije predstavlja period transformacije ACP u HA, kada ne dolazi do promene pH vrednosti [158]. Tek nakon formiranja kritične koncentracije HA iz ACP, dalje taloženje je praćeno drastičnim padom pH [158].

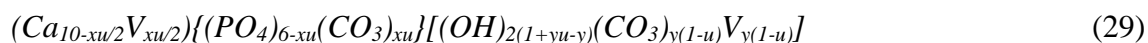
Masovnije formiranje HA je praćeno padom pH vrednosti, što pokazuje da dalji proces taloženja HA, koji zahteva prisustvo deprotonovanih fosfatnih jona ( $PO_4^{3-}$ ) ima dominantan uticaj na pH vrednost vodenog rastvora. Talozjenje HA iz vodenih rastvora se obično prikazuje sledećom rezultatnom hemijskom jednačinom (27) [150]:



S obzirom da simulirane telesne tečnosti sadrže karbonske vrste, umesto HA, u njima dolazi do taloženja (formiranja) tzv. karbonatnog apatita, pri čemu se produkt taloženja prikazuje složenijom jednačinom (28) [102]:



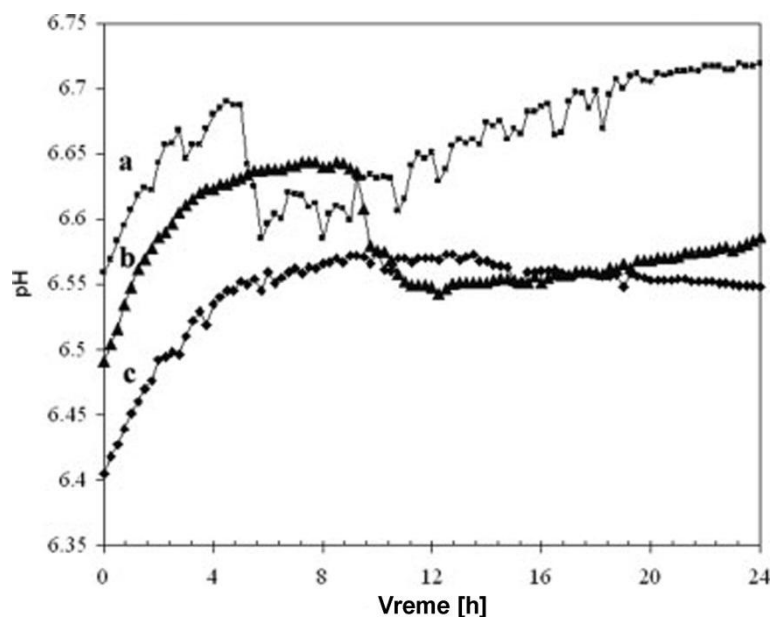
Istraživanja su pokazala da postoje dva tipa karbonatnog apatita koji mogu da se oforme u simuliranim telesnim tečnostima tokom procesa taloženja: A-tip i B-tip [112,162-164]. A-tip karbonatnog apatita pretpostavlja zamenu OH<sup>-</sup> grupa u rešetki HA karbonatnim jonima iz simulirane telesne tečnosti, dok B-tip podrazumeva ugradnju CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> jona umesto PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> grupa u HA rešetki. Jednačina (28) prikazuje proces taloženja B-tipa karbonatnog apatita, dok je primer opšte formule kojom se predstavlja mešoviti AB-tip karbonatnog apatita [164].



gde zagrade ( ) ukazuju na pozicije Ca<sup>2+</sup> jona u rešetki HA, { } ukazuju na pozicije B-tipa karbonatnog apatita, [ ] ukazuju na pozicije A-tipa karbonatnog apatita, a V označava praznine; x, u i y su molski udeli koji definišu stehiometriju karbonatnog apatita i princip elektroneutralnosti.

Proces formiranja Posnerovih klastera i proces taloženja karbonatnog apatita su procesi koji utiču na smanjenje pH vrednosti simulirane telesne tečnosti. Ono što je evidentno je da taloženje karbonatnog apatita ima daleko veći uticaj na promenu pH vrednosti simulirane telesne tečnosti. Na Sl.52 je, pored efekta povećanja pH usled difuzije CO<sub>2</sub>, prikazano da tokom biomimetičke depozicije karbonatnog apatita dolazi do povremenih padova pH vrednosti [149]. Ovi padovi su vezani za pojavu procesa taloženja [102,149,150]. Naime, već je pokazano da proces rastvaranja HA utiče na povećanje pH vrednosti (jednačine (19)-(24)), dok proces taloženja (jednačine (25)-(29)) ima suprotan efekat. Ono što ovde treba naglasiti je da pad pH usled procesa taloženja karbonatnog apatita može nekada i da izostane [150].



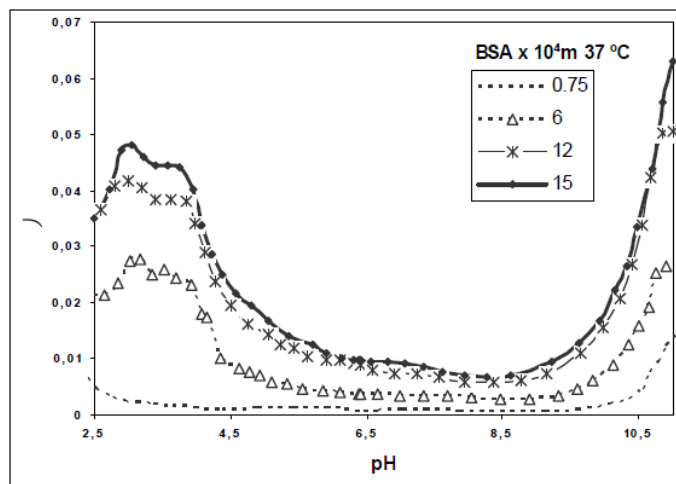


**SI.52.** Uticaj vremena imerzije metalnih implanata u Kokubo simuliranu telesnu tečnost na promene pH u slučajevima veće (a), srednje (b) i niže polazne vrednosti pH na 40 °C (adaptirano iz [149]).

### 2.5.3.2. Uticaj prisustva proteinskih vrsta

#### 2.5.3.2.1. Uticaj na stabilnost pH simuliranih telesnih tečnosti

Analiza prethodnih istraživanja je pokazala da i danas postoje nesuglasice oko uloge proteina vezane za svojstvo puferovanja, tj. oko njihovog uticaja na pH simuliranih telesnih tečnosti. S jedne strane, pojedine studije i dalje tretiraju albumin kao pufer [110], dok neke tvrde da on to nije [165]. Postoje studije koje su testirale ovo svojstvo albumina i rezultati su pokazali da protein albumin nema izražen puferški kapacitet u fiziološkim granicama pH (7.0-7.8) (SI.53) [166]. Međutim, na pH>8.5 albumin pokazuje značajno povećanje puferskog kapaciteta (SI.53) [166].



**Sl.53.** Uticaj pH na promenu puferskog kapaciteta BSA ( $J$ ) pri različitim molarnim koncentracijama BSA (adaptirano iz [166]). BSA – *eng.* bovine serum albumin, tj. goveđi rastvor albumina.

Iako albumin ne poseduje značajan puferski kapacitet u fiziološkim uslovima, istraživanja koja su izvršena još 1970-tih godina su pokazala da albumin može da utiče na difuzivnost  $\text{CO}_2$  u vodenim rastvorima [167]. Na ovaj način, prisustvo proteina može da ima indirektan uticaj na pH simuliranih telesnih tečnosti, uzimajući u obzir i potencijalni uticaj proteina globulin na opisane procese. Međutim, nisu pronađene studije koje se bave uticajem prisustva albumina i globulina na stabilnost pH simuliranih telesnih tečnosti u sistemima koji za regulaciju pH koriste fiziološke pufere [113-115].

#### 2.5.3.2.2. Uticaj na procese rastvaranja HA prevlaka i taloženja karbonatnog apatita

Najveći deo prethodnih istraživanja je bio posvećen albuminu, koji je služio kao model-protein za ispitivanje uticaja proteinskih vrsta na procese biomineralizacije u simuliranim telesnim tečnostima [114,142-146,148], dok je pronađena samo jedna studija koja je razmatrala i uticaj proteina globulin [147].

Prethodna istraživanja su utvrdila da je uticaj proteina na procese rastvaranja HA i taloženja karbonatnog apatita dvojak. U prvom slučaju se odnosi na interakciju proteina sa jonima u masi rastvora, a u drugom na proces adsorpcije proteina na površini materijala za implantate.

Proteini u masi rastvora pokazuju sposobnost kompleksacije sa jonima rastvora [109,168]. Ovo se pre svega odnosi na pravljenje kompleksa sa jonima  $\text{Ca}^{2+}$  [109]. Kompleksacija slobodnih  $\text{Ca}^{2+}$  jona vodi ka smanjenju njihove koncentracije u masi rastvora, što može da odloži proces taloženja karbonatnog apatita. Pored toga, prisustvo proteina povećava viskoznost simulirane telesne tečnosti i na ovaj način utiče na difuzivnost  $\text{Ca}^{2+}$ , fosfatnih i karbonskih jona, što takođe može da odloži proces taloženja karbonatnog apatita [148].

Pored fizičke adsorpcije, proteini mogu da se adsorbuju na površinu materijala za implante putem elektrostatičkih interakcija. U slučaju površine HA prevlake, uopšteno postoje dva načina elektrostatičke adsorpcije. Na primer,  $\text{COOH}^-$  grupe proteina mogu da se adsorbuju na pozitivno naelektrisanim delovima površine HA, tj. na delovima površine HA na kojima su  $\text{Ca}^{2+}$  joni u direktnom kontaktu sa simuliranom telesnom tečnošću [169]. Drugi način adsorpcije proteina može da bude putem elektrostatičke interakcije  $\text{NH}_4^+$  grupa proteina sa negativno naelektrisanim delovima površine HA, tj. na delovima površine na kojima  $\text{PO}_4^{3-}$  joni ostvaruju direktan kontakt sa simuliranom telesnom tečnošću [170]. Prethodna istraživanja su ukazala na to da adsorpcija proteinskih vrsta može da uspori rastvaranje HA prevlake, jer proteini mogu da ometaju razmenu  $\text{Ca}^{2+}$  i fosfatnih jona na granici između površine HA prevlake i simulirane telesne tečnosti i na taj način odlože proces taloženja karbonatnog apatita. Međutim, postoje i mišljenja da ispod adsobovanog proteina mogu lokalno da se stvore uslovi za prevremeno taloženje karbonatnog apatita [171].

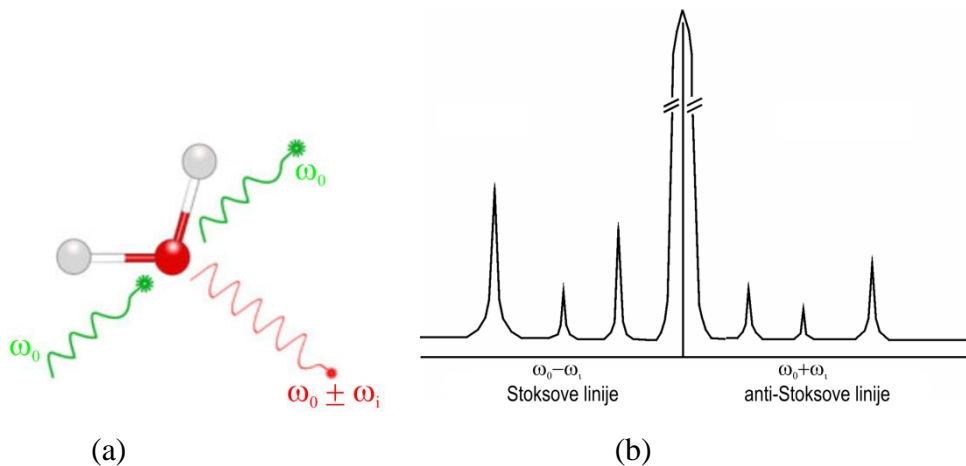
Ispitivanja *Mavropoulos i saradnika* su pokazala da taloženje karbonatnog apatita može da se odigrava i na površini proteina [142]. Takođe, *Marques i saradnici* su na analiziranim površinama materijala za implante utvrdili prisustvo proteina i karbonatnog apatita [114]. Na osnovu ovih rezultata se može pretpostaviti da su adsorpcija proteina i taloženje karbonatnog apatita paralelni i kompetitivni procesi.

## 2.6. Metode ispitivanja

### 2.6.1. Mikro-Ramanova spektroskopija (MRS)

Ramanov efekat pripada klasi fenomena molekularnog rasejanja i daje informacije o vibracijama molekula na osnovu kojih se mogu definisati struktura molekula i njegova prostorna orijentacija [172,173]. Ovaj efekat se može objasniti na osnovu fenomena rasejanja svetlosti.

Kada se snop monohromatskog elektromagnetnog zračenja, frekvencije  $\omega_0$  i intenziteta  $I_0$ , usmeri na uzorak, jedan deo zračenja, u slučaju transparentnog uzorka, može da bude propušten u pravcu prostiranja, dok se drugi deo reflektuje u pravcu upadnog zraka i difuzno rasejava u prostoru [172,173]. Najveći deo rasejane svetlosti, čiji je intenzitet  $10^{-3} \times I_0$ , ima istu frekvenciju kao i upadni snop,  $\omega_0$ , dok manji deo rasejane svetlosti, čiji se intenzitet kreće u intervalu  $(10^{-9}-10^{-12}) \times I_0$ , ima frekvenciju  $\omega_0 \pm \omega_i$ , gde  $\omega_i$  predstavlja frekvenciju optičkih fonona (Sl.54a).



**Sl.54.** Ilustracija fenomena rasejanja svetlosti: (a) Rejljevo i Ramanovo rasejanje na molekulu i (b) Stoksove i anti-Stoksove linije Ramanovog spektra (adaptirano iz [172]).

U spektru rasejane svetlosti pojavljuje se jak mod na frekvenciji  $\omega_0$ , kao posledica elastičnog ili Rejljevog (Rayleigh) rasejanja svetlosti (Sl.54b) [172]. Na spektru se takođe pojavljuje serija slabijih modova na frekvencijama  $\omega_0 + \omega_i$  i  $\omega_0 - \omega_i$

koji potiču od neelastičnog rasejanja fotona na fononima i čine *Ramanov spektar*. Ramanovi modovi na  $\omega_0 - \omega_i$  su poznati kao *Stoksove (Stokes) linije* i po intenzitetu su jači od Ramanovih modova na  $\omega_0 + \omega_i$ , tj. *anti-Stoksovih linija*. Kod Stoksovog i anti-Stoksovog rasejanja, jedan deo energije se troši na neku od mogućih ekscitacija kristala, pri čemu ekscitacije ne moraju odgovarati samo fononima, već i *magnonima* (elementarnim vibracijama magnetne rešetke), ekscitaciji kristalnog polja i sl. [172]. Detaljnije objašnjenje prirode ovog rasejanog zračenja daju *klasična* (po kojoj se zračenje tretira kao elektromagnetni talas) i *kvantna teorija rasejanja svetlosti* [172].

### 2.6.1.1. Klasična teorija Ramanovog rasejanja

Prema klasičnoj teoriji, rasejano zračenje potiče od oscilirajućeg električnog i magnetnog multipolnog momenta, indukovanih u molekulu pod dejstvom elektromagnetnog polja upadnog snopa svetlosti. Molekuli se tretiraju kao skup atoma koji vrše proste harmonijske vibracije [172,174]. Drugim rečima, u molekulu, koji se nalazi u spoljašnjem elektromagnetnom polju, dolazi do razdvajanja centara pozitivnog i negativnog naelektrisanja, tj. do njegove distorzije i indukovanja električnog dipolnog momenta ( $\mu_{ind}$ ). Stepem distorzije molekula pod ovakvim uslovima predstavlja karakteristiku samog molekula i naziva se polarizabilnost,  $\alpha$ .

U slučaju slabog spoljašnjeg polja, indukovani električni dipolni momenat  $\mu_{ind}$  je direktno proporcionalan jačini polja  $E$ :

$$\vec{\mu}_{ind} = \alpha \vec{E}. \quad (30)$$

Konstanta proporcionalnosti ( $\alpha$ ) je polarizabilnost molekula. Polje koje proizvodi taj promenljivi dipolni momenat se može prikazati kao:

$$\vec{E} = \vec{E}_0 \cos\left(\frac{2\omega_0 t}{\pi}\right), \quad (31)$$

gde je  $\vec{E}_0$  jačina polja u ravnotežnom položaju, a  $\omega_0$  ugaona frekvencija zračenja. Promenljivo električno polje stvara promenljivi dipolni moment koji osciluje sa istom frekvencijom,  $\omega_0$ . Ukupni dipolni moment molekula koji se nalazi u spoljašnjem električnom polju može se predstaviti sledećim izrazom:

$$\vec{p} = \vec{\mu} + \alpha \vec{E}, \quad (32)$$

gde  $\vec{\mu}$  predstavlja permanentni dipolni moment, dok je  $\alpha\vec{E}$  dipolni moment indukovano delovanjem električnog polja. Treba imati u vidu da se polarizabilnost najčešće predstavlja dvodimenzionalnim tenzorom,  $\alpha_{ij}$  čija struktura zavisi od simetrije molekula [172,175,176].

Ako se uzmu u obzir i unutrašnji oblici kretanja kod molekula, odnosno vibracije ili rotacije, i ako se ti oblici kretanja predstave kao proste harmonijske oscilacije, tada se normalne koordinate duž ose koja spaja atome  $q_v(t)$  menjaju na sledeći način [172]:

$$q_v(t) = q_{v0} \cos\left(\frac{2\omega_v t}{\pi}\right), \quad (33)$$

gde je  $q_{v0}$  amplituda, a  $\omega_v$  harmonijska učestanost  $v$ -tog normalnog moda [177].

Promena polarizabilnosti za male oscilacije može se predstaviti sledećom relacijom:

$$\alpha_{ij} = \alpha_{ij}(0) + \left(\frac{\partial\alpha_{ij}}{\partial q_v}\right)_0 q_v, \quad (34)$$

dok se ukupni dipolni moment, nakon razvoja u Tejlorov (Taylor) red, predstavlja kao:

$$\begin{aligned} \vec{p} = & \vec{\mu}_0 + \alpha_{ij}(0)\vec{E}_0 \cos\left(\frac{2\omega_0 t}{\pi}\right) + \sum_{n=1}^{\infty} \left(\frac{\partial\vec{\mu}}{\partial q_v}\right)_0 q_{v0} \cos\left(\frac{2\omega_0 t}{\pi}\right) + \\ & + \frac{1}{2} \vec{E}_0 \sum_{n=1}^{\infty} \left(\frac{\partial\alpha_{ij}}{\partial q_v}\right)_0 q_{v0} [\cos 2\pi(\omega_0 + \omega_v)t + \cos 2\pi(\omega_0 - \omega_v)t] \end{aligned}, \quad (35)$$

gde drugi član u jednačini opisuje *Rejljevo rasejanje*, treći član *infracrveni*, a četvrti *Ramanov proces*.

Prema tome, da bi vibracija bila *Raman aktivna*, neophodno je da se polarizabilnost menja tokom oscilovanja molekula [172,175,178-180], odnosno da je:

$$\left(\frac{\partial\alpha_{ij}}{\partial q_v}\right)_{q=0} \neq 0. \quad (36)$$

Klasična teorija daje dobre rezultate u pogledu predviđanja pojave i frekvencije pojedinih modova, što nije slučaj sa njihovim intenzitetima.

### 2.6.1.2. Kvantna teorija Ramanovog rasejanja

Kvantna teorija rasejanja svetlosti je složenija od klasične teorije rasejanja svetlosti [172,174,177,180] i podrazumeva da se dipolni moment indukovani u kristalu tretira kvantno-mehanički (koristeći standardni vremenski-zavisani perturbacioni metod), dok se svetlost emitovana od strane dipola (rasejana svetlost) opisuje klasično.

Prema korpuskularnoj teoriji svetlosti, Rejljevo rasejanje se predstavlja procesom elastičnog sudara između fotona i kristala, dok Ramanovo rasejanje odgovara neelastičnom sudaru u kojem foton gubi ili prima jedan ili više kvanta vibracijske energije, usled čega se u Ramanovom spektru javljaju Stoksove i anti-Stoksove linije, respektivno. Za razliku od rasejanja prvog reda, gde u ovom procesu učestvuje jedan fonon, kod rasejanja drugog reda učestvuju dva fonona [172,176,179,180].

Neka je parom  $(\omega_l, \vec{k}_l)$  označen upadni foton koji dolazi od lasera, gde je  $\omega_l$  učestanost,  $\vec{k}_l$  talasni vektor,  $(\omega_r, \vec{k}_r)$  rasejani foton, a  $(\omega_j, \vec{q})$  optički fonon koji učestvuje u procesu rasejanja. Budući da važi zakon održanja energije i momenta između početnog i krajnjeg stanja sistema, za Rejljevo rasejanje važi [172,176,180]:

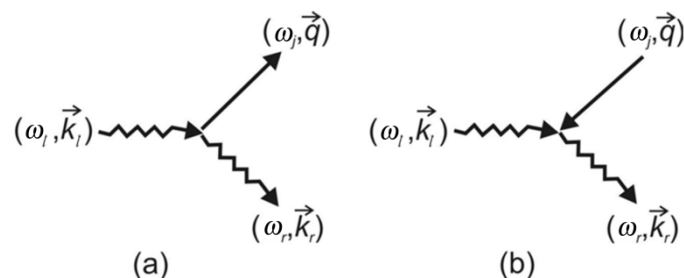
$$\omega_l = \omega_r \quad (37)$$

$$\vec{k}_l = \vec{k}_r, \quad (38)$$

dok je za Ramanovo rasejanje:

$$\omega_l = \omega_r \pm \omega_j(\vec{q}) \quad (39)$$

$$\vec{k}_l = \vec{k}_r \pm \vec{q}. \quad (40)$$



**Sl.55.** Ilustracija Stoksovog (a) i anti-Stoksovog procesa (b) (adaptirano iz [180]).

Stoksov proces, u kome nastaje fonon  $(\omega_j, \vec{q})$  i anti-Stoksov proces u kome fonon nestaje, su prikazani na Sl.55. Kako je  $\omega_l \gg \omega_j(\vec{q})$ , iz jednačine (39) sledi da je  $\omega_l \cong \omega_r$ . Treba imati u vidu da se eksperimenti izvode u oblasti transparentije kristala, odnosno na frekvencijama na kojima nema disperzije indeksa prelamanja  $n$ . Kako su  $\vec{k}_l$  i  $\vec{k}_r$  talasni vektori unutar kristala, tada je

$$k_l = \frac{2\pi}{\lambda_l}, \quad (41)$$

$$k_r = \frac{2\pi}{\lambda_r}, \quad (42)$$

gde su:

$$\lambda_l = \lambda_{vac}/n(\omega_l), \quad (43)$$

$$\lambda_r = \lambda_{vac}/n(\omega_r), \quad (44)$$

a  $n(\omega_l)$  i  $n(\omega_r)$  indeksi prelamanja koji redom odgovaraju upadnoj i rasejanoj svetlosti i  $\lambda_{vac}$  talasna dužina u vakuumu. Iz odnosa  $c = v\lambda_{vac}$ , dobija se

$$k_l = n(\omega_l) \frac{\omega_l}{c}, \quad (45)$$

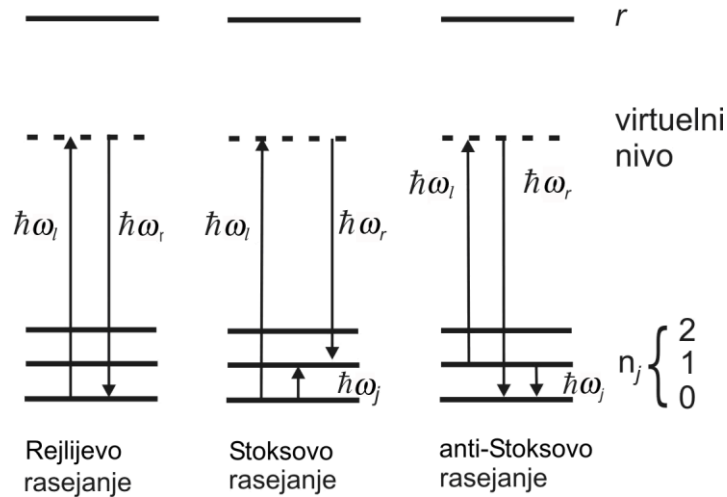
$$k_r = n(\omega_r) \frac{\omega_r}{c}, \quad (46)$$

Kako je  $\omega_l \cong \omega_r$ , sledi da je i  $k_l \cong k_r$ . Osim toga, vrednosti  $\lambda_l$  i  $\lambda_r$  su mnogo veće od parametra rešetke  $a_0$ , pa su talasni vektori  $k_l$  i  $k_r$  mnogo manji od amplitude talasnog vektora na granici *Briluenove* (Brillouin) zone,  $\pi/a_0$ . Zbog toga, u skladu sa jednačinom (40) sledi da je  $q \ll \pi/a_0$ , što znači da u Ramanovom rasejanju prvog reda mogu biti pobuđeni samo optički modovi za koje važi  $q \cong 0$  [172,180].

Na Sl.56 su prikazani prelazi kod Rejljevog, Stoksovog i anti-Stoksovog rasejanja prvog reda. Virtuelni nivo je uveden isključivo radi ilustracije procesa perturbacije elektronske talasne funkcije kristala usled ulaska fotona energije  $\hbar\omega_l$  i njihove interakcije sa elektronima u kristalu. Deluje kao da je kristal dobio nestacionarni energijski nivo više energije, pri čemu se smatra da perturbacija pripada samom kristalu. Budući da ovo stanje ne odgovara ni jednom postojećem stacionarnom energijskom stanju, govori se o virtuelnom nivou, čijim posredstvom kao da kristal



dospeva u neko od stacionarnih stanja kroz proces emitovanja fotona. Moglo bi se reći da virtuelni nivo odgovara prinudnim oscilacijama elektrona sa učestanošću upadne svetlosti  $\omega_l$  [172,180].



**Sl.56.** Ilustracija prelaza kod Rejljevog rasejanja, Stoksovog i anti-Stoksovog rasejanja prvog reda (adaptirano iz [180]).

Slično kao i u procesu rasejanja prvog reda, tako i u procesu rasejanja drugog reda upadni foton  $(\omega_l, \vec{k}_l)$  pobuđuje kristal iz početnog elektronskog i vibracijskog stanja u virtuelno stanje. Međutim, kristal tada emituje rasejani foton  $(\omega_r, \vec{k}_r)$  i prelazi iz virtuelnog stanja u konačno elektronsko i vibracijsko stanje koje se razlikuje od početnog stanja za *dva* vibracijska kvanta. Zakoni održanja energije i momenta između početnog i krajnjeg stanja mogu se predstaviti sledećim izrazima:

$$\omega_l = \omega_r \pm \omega_j(q') \pm \omega_{j''}(q''), \quad (47)$$

$$\vec{k}_l = \vec{k}_r \pm \vec{q}' \pm \vec{q}'' . \quad (48)$$

U ovakvom procesu rasejanja uključeni fononi mogu biti ili akustički ili optički, ili kombinacija optičkih i akustičkih. Kada su uključena dva optička moda reč je o *Ramanovom rasejanju drugog reda*. Na osnovu jednačine (48) može se reći da

Ramanovi spektri drugog reda uključuju doprinos parova fonona iz cele prve Brilluene zone [180].

Ako se učestanost upadnog zračenja približava učestanosti elektronskog prelaza (elektronski nivo  $r$  na Sl.56), intenzitet Ramanovih modova se jako pojačava. Ramanovi spektri dobijeni sa pobudnim učestanostima blizu zona apsorpcije, tj. apsorpcionih prelaza nazivaju se *rezonantni Ramanovi spektri*.

Kvantna teorija rasejanja svetlosti daje još jedno bitno objašnjenje vezano za jačinu Stoksove i anti-Stoksove komponente u Ramanovom spektru. Zapravo, zapaženo je da na visokim temperaturama anti-Stoksova i Stoksova komponenta spektra imaju uporedive intenzitete, dok na nižim temperaturama anti-Stoksova komponenta bitno gubi na intenzitetu. To znači da je na nižim temperaturama zaposednutost osnovnog vibracionog nivoa veća u odnosu na pobuđene nivoe, tako da je mala verovatnoća da će upadno zračenje zateći sistem u pobuđenom stanju. Imajući u vidu da anti-Stoksova i Stoksova komponenta Ramanovog spektra redom odgovaraju apsorpciji i emisiji optičkog fonona, odnos njihovih intenziteta definisan je odnosom populacija fonona u osnovnom i pobuđenom stanju, odnosno Boze-Ajnštajnovom (Bose-Einstein) statistikom [177,180,181] i proporcionalan je  $\exp(\hbar\omega_j/k_B T)$ :

$$\frac{I_{Stoks}}{I_{anti-Stoks}} = \left( \frac{\omega_l - \omega_s}{\omega_l + \omega_s} \right)^4 \exp(\hbar\omega_s/k_B T), \quad (49)$$

gde je  $\omega_l$  učestanost laserskog zračenja,  $\omega_s$  učestanost Stoksove komponente Ramanovog rasejanja,  $\hbar$  Plankova (Planck) konstanta,  $k_B$  Bolcmanova (Boltzmann) konstanta i  $T$  lokalna temperatura uzorka. Ovaj izraz se može upotrebiti za određivanje lokalne temperature uzorka.

### 2.6.1.3. MRS analiza HA prevlaka

Kao što je već istaknuto (vidi poglavlja 2.2-2.4), HA prevlake nanosene atmosferskim plazma sprej postupkom mogu, pored HA faze, da sadrže i nečistoće tipa ACP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP, TTCP, OA i CaO. Zbog toga je važno dati pregled rezultata MRS analize pomenutih jedinjenja.

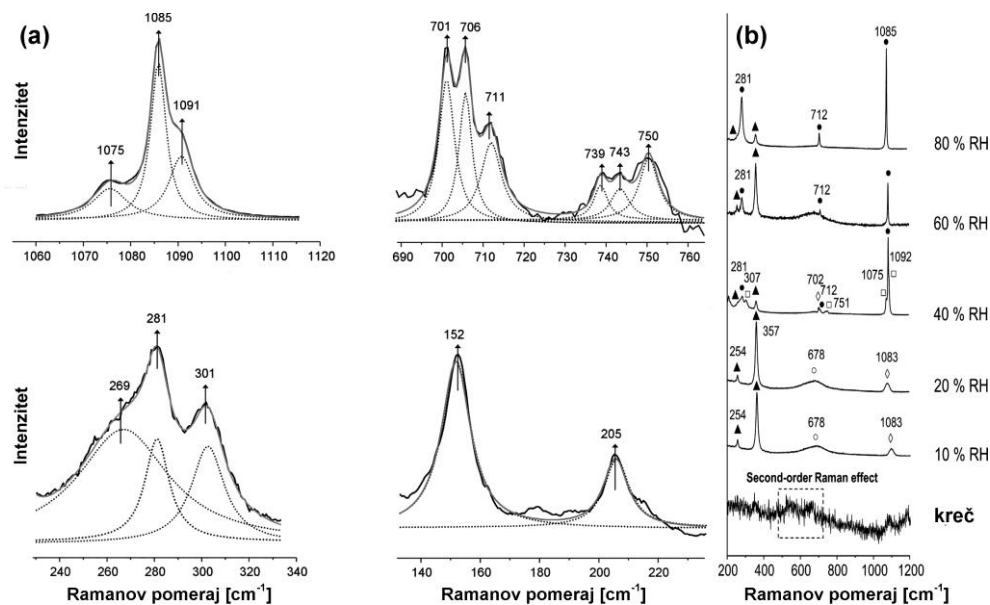
#### 2.6.1.3.1. Raman spektri CaO, CaCO<sub>3</sub> i Ca(OH)<sub>2</sub>

Faze koje se mogu javiti u HA prevlakama, a ne sadrže fosfatnu grupu, su CaO, Ca(OH)<sub>2</sub> i CaCO<sub>3</sub>. Tokom hlađenja HA prevlake, nakon procesa nanošenja, u normalnim uslovima, kada se dostignu temperature <100 °C, CaO faza u reakciji sa atmosferskom vlagom i atmosferskim CO<sub>2</sub> može da formira Ca(OH)<sub>2</sub> i CaCO<sub>3</sub>, respektivno.

Rezultati MRS ispitivanja CaO faze koji se mogu naći u literaturi pokazuju izvesnu neusaglašenost. Tako je studija *Galvan-Ruiz i saradnika* pokazala da CaO faza pokazuje relativno oštar Ramanov pik na ~356 cm<sup>-1</sup>, širok pik na ~653 cm<sup>-1</sup> i Ramanov pik slabijeg intenziteta na ~1073 cm<sup>-1</sup> [182]. Problem identifikacije „analitički čiste“ CaO faze je povezan sa njenom reaktivnošću sa vlagom i CO<sub>2</sub> iz atmosferskog vazduha, gde čak i najmanja izloženost ovim reagensima izaziva reakciju CaO sa njima, zbog čega su na spektrima CaO obično prisutni i Ramanovi pikovi Ca(OH)<sub>2</sub> i CaCO<sub>3</sub> [182].

Na Sl.57 su prikazani Raman spektri karakteristični za produkte reakcije CaO sa vodenom parom i CO<sub>2</sub>, Ca(OH)<sub>2</sub> i CaCO<sub>3</sub>, respektivno [182]. Sa Sl.57a se primećuju Ramanovi pikovi u oblasti frekvencija 130-330, 680-770 i 1050-1120 cm<sup>-1</sup>. Ramanovi pikovi ispod ~330 cm<sup>-1</sup>, koji su karakteristični za vibracije kristalne rešetke, na frekvencijama od ~152 i ~281 cm<sup>-1</sup> su pripisani kalcitu (polimorf CaCO<sub>3</sub>), na frekvenciji od ~205 cm<sup>-1</sup> su pripisani aragonitu (polimorf CaCO<sub>3</sub>), a na frekvencijama od ~261 i ~301 cm<sup>-1</sup> vateritu (polimorf CaCO<sub>3</sub>). Pikovi u oblasti frekvencija 680-770 cm<sup>-1</sup>, na frekvencijama 701-706, ~711 i ~739, ~743 i ~750 cm<sup>-1</sup>, su redom pripisani aragonitu, kalcitu i vateritu. U oblasti frekvencija 1000-1120 cm<sup>-1</sup> je uočeno preklapanje Ramanovih pikova i to na frekvencijama od ~1075, ~1085 i ~1091 cm<sup>-1</sup>. Dublet na ~1075 i ~1091 cm<sup>-1</sup> je pripisan vateritu, koji obično pokazuje triplet na ~1075, ~1081 i

$\sim 1092 \text{ cm}^{-1}$ . Ramanov pik na  $\sim 1081 \text{ cm}^{-1}$  se preklapa sa intenzivnijim pikom na  $\sim 1085 \text{ cm}^{-1}$ , koji je pripisan polimorfnim fazama aragonitu i kalcitu. Pik na  $\sim 357 \text{ cm}^{-1}$  je karakterističan za portlandit ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ).



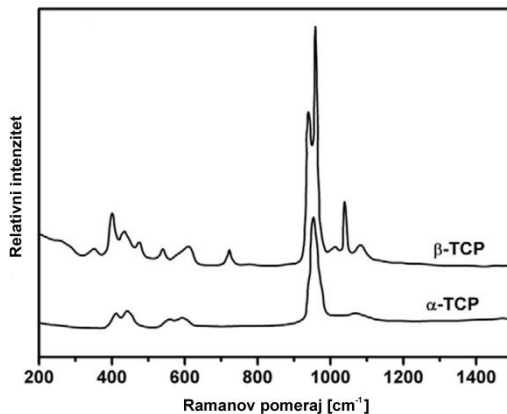
**SI.57.** Raman spektri negašenog kreča ( $\text{CaO}$ ) tretiranog na temperaturi od  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  u ambijentalnom vazduhu i 40 % relativne vlažnosti (RH) (a) i 10-80 % RH (b) (adaptirano iz [182]).

#### 2.6.1.3.2. Raman spektri $\alpha$ -TCP, $\beta$ -TCP i TTCP i HA

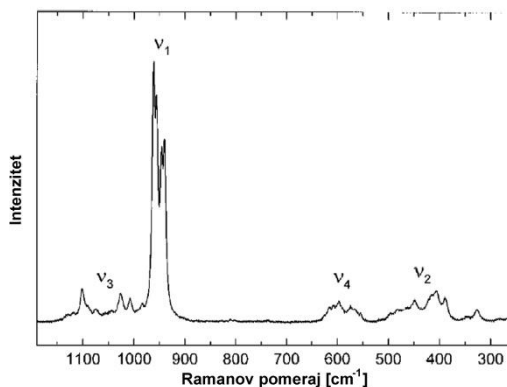
Tipični Raman spektri TCP ( $\alpha$  i  $\beta$ ) [183], TTCP [184,185] i HA [89] faza prikazani su na slikama 58, 59 i 60, respektivno. Na spektrima svih navedenih faza postoje pikovi koji se mogu pripisati Raman modovima vezanim za vibracije  $\text{PO}_4^{3-}$  ( $\nu_1$ ,  $\nu_2$ ,  $\nu_3$  i  $\nu_4$ ), čije frekvencije blago variraju od faze do faze (Tab.9).

Raman spektri prikazani na SI.58-60, kao i frekvencije karakterističnih Ramanovih pikova iz Tab.9, dobijene su primenom zelene laserske linije talasne dužine  $\sim 514.5 \text{ nm}$  [183-185,89]. SI.58-60, kao i Tab.9, ukazuju na to da su u velikom broju slučajeva frekvencije Ramanovih pikova koje odgovaraju  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i TTCP i HA fazama međusobno bliske ili se preklapaju, što se posebno primećuje u oblastima frekvencija  $\nu_2^-$ ,  $\nu_3^-$  i  $\nu_4$ - $\text{PO}_4$  vibracionih modova, gde su Ramanovi pikovi obično i relativno slabog intenziteta. Bliskost ili preklapanja Ramanovih pikova slabijeg intenziteta, koji potiču od različitih kalcijum fosfatnih faza, znatno otežavaju

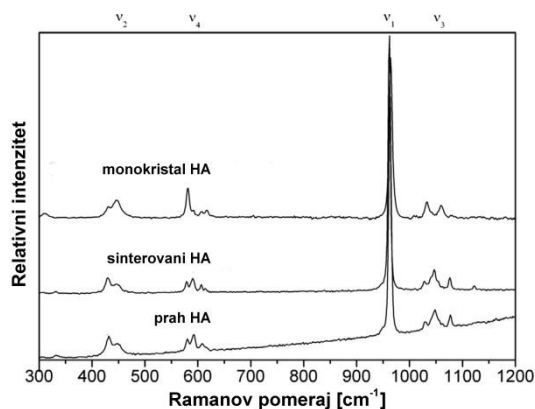
identifikaciju navedenih faza na osnovu Raman spektara HA prevlaka, u kojima te faze ko-egzistiraju na malim rastojanjima (od sub-mikrometarskih do nekoliko mikrometara).



**SI.58.** Tipični Raman spektri kristalnih  $\alpha$ -TCP i  $\beta$ -TCP faza u oblasti frekvencija između 200-1500  $\text{cm}^{-1}$ . (adaptirano iz [183]).



**SI.59.** Tipičan Raman spektar kristalnog TTCP u oblasti frekvencija između 200-1200  $\text{cm}^{-1}$  (adaptirano iz [185]).



**SI.60.** Tipični Raman spektri monokristala HA, sinterovanog HA i prašenog HA u oblasti frekvencija između 300-1200  $\text{cm}^{-1}$  (adaptirano iz [89]).

**Tab.9.** Vibracioni modovi, njihove karakteristične frekvencije [ $\text{cm}^{-1}$ ], intenziteti (*vi*, vrlo intenzivan; *i*, intenzivan, *si*, srednje intenzivan; *sli*, slabo intenzivan; *vsli*, vrlo slabo intenzivan) i oblik (*š*, širok; *r*, rame) na Raman spektrima  $\alpha$ -TCP [183],  $\beta$ -TCP [183], TTCP [184] i HA [31,89] faza.

Vibracioni mod	Faza	$\alpha$ -TCP	$\beta$ -TCP	TTCP	HA*
Frekvencija modova [ $\text{cm}^{-1}$ ]					
$\nu_1$ -PO <sub>4</sub> , simetrični istežući P-O mod		954 ( <i>sli, r</i> )		961 ( <i>vi</i> )	
		964 ( <i>i</i> )	948 ( <i>i</i> )	956 ( <i>vi</i> )	962 ( <i>vi</i> )
		976 ( <i>i</i> )	970 ( <i>i</i> )	946 ( <i>i</i> )	
				940 ( <i>i</i> )	
$\nu_2$ -PO <sub>4</sub> , simetrični savijajući dvostruko degenerisani P-O mod				495 ( <i>r</i> )	
				481 ( <i>r</i> )	
		421 ( <i>sli</i> )	406 ( <i>si</i> )	463 ( <i>r</i> )	430 ( <i>sli</i> )
		451 ( <i>sli</i> )	442 ( <i>si</i> )	449 ( <i>sli</i> )	452 ( <i>sli, r</i> )
			481 ( <i>si</i> )	414 ( <i>r</i> )	
				407 ( <i>sli</i> )	
$\nu_3$ -PO <sub>4</sub> , asimetrični istežući trostruko degenerisani P-O mod				1119 ( <i>vsli</i> )	
		998 ( <i>i</i> )		1101 ( <i>sli</i> )	
		1012 ( <i>sli</i> )		1091 ( <i>r</i> )	1027 ( <i>sli</i> )
		1027 ( <i>sli</i> )	1017 ( <i>sli, š</i> )	1076 ( <i>vsli</i> )	1048 ( <i>sli, š</i> )
		1058 ( <i>sli</i> )	1048 ( <i>vi</i> )	1045 ( <i>vsli</i> )	1075 ( <i>i</i> )
		1077 ( <i>sli</i> )		1026 ( <i>sli</i> )	
				1008 ( <i>sli</i> )	
				983 ( <i>vsli</i> )	
$\nu_4$ -PO <sub>4</sub> , asimetrični savijajući trostruko degenerisani P-O mod		563 ( <i>i</i> )	549 ( <i>sli</i> )	615 ( <i>vsli</i> )	580 ( <i>sli</i> )
		577 ( <i>i</i> )	573 ( <i>sli</i> )	608 ( <i>vsli</i> )	594 ( <i>sli</i> )
		593 ( <i>i</i> )	547 ( <i>sli</i> )	597 ( <i>sli</i> )	609 ( <i>sli</i> )
		610 ( <i>i</i> )	609 ( <i>sli</i> )	576 ( <i>vsli</i> )	620 ( <i>sli</i> )
		620 ( <i>i</i> )		566 ( <i>r</i> )	
				556 ( <i>vsli</i> )	

\* – Pored PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> modova, u Raman spektru HA faze javlja se OH<sup>-</sup> istežući mod na 3570-3575  $\text{cm}^{-1}$  [31].

S druge strane, u oblasti frekvencija koja je karakteristična za  $\nu_1$ -PO<sub>4</sub> vibracioni mod, može da se primeti prisustvo intenzivnih (*i*) i vrlo intenzivnih (*vi*) Ramanovih pikova  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i TTCP i HA faza (Sl.58-60, Tab.9). Veći broj autora je

proučavao strukturalna svojstva HA prevlaka pomoću MRS u ovoj oblasti frekvencija (900-1000  $\text{cm}^{-1}$ ) [31,35,89,90]. *Demnati i saradnici* su istakli da se najveće promene na Raman spektrima HA prevlaka u odnosu na polazne HA prahove beleže upravo u ovoj oblasti frekvencija [31,35].

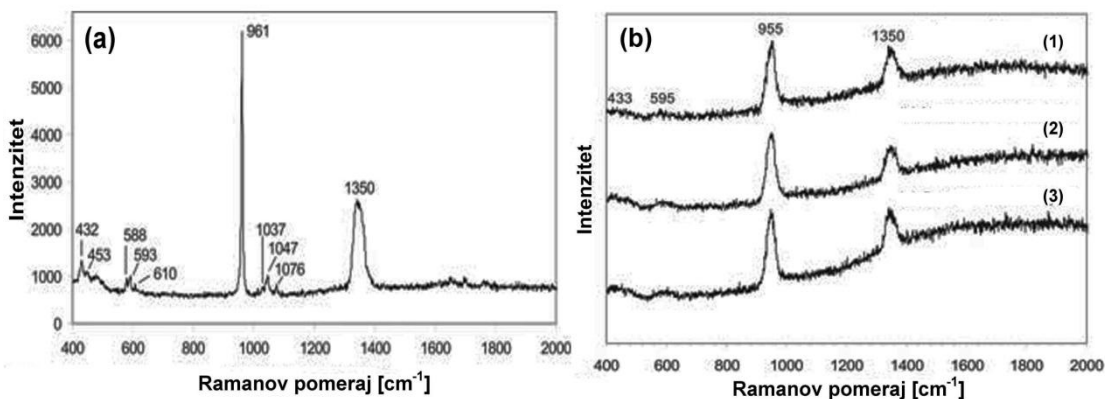
#### 2.6.1.3.3. Raman pikovi ACP i OA

Određivanje frekvencija na kojima dolazi do pojave Raman pikova ACP i OA faza je od izuzetnog značaja kada je u pitanju MRS karakterizacija HA prevlaka nanesenih atmosferskim plazma sprej procesom.

Prisustvo ACP faze generalno utiče na promenu oblika Raman pikova tako da oni postaju širi u korenu i slabijeg intenziteta [55,186], zbog čega u određenim slučajevima nije moguća identifikacija pojedinih pikova u okviru intervala frekvencija karakterističnih za odgovarajuće vibracione modove, kao što je to slučaj sa oblastima frekvencija koje su karakteristične za  $\nu_2$ -,  $\nu_3$ - i  $\nu_4$ - $\text{PO}_4$  vibracione modove, gde su Raman pikovi kalcijum fosfatnih jedinjenja slabo izraženi (Tab.9). *Li i saradnici* [95], kao i drugi autori [187] su istakli da je nemogućnost detekcije pojedinih pikova HA faze u oblasti frekvencija karakterističnih za  $\nu_3$ - $\text{PO}_4$  tipična posledica prisustva ACP faze u HA depozitu nanesenom atmosferskim plazma sprej postupkom. Na Sl.61 je prikazano na koji način prisustvo ACP faze, koja je neminovno prisutna u HA prevlakama zbog prirode procesa, utiče na intenzitet Ramanovih pikova polaznog HA praha [79]. Sl.61a prikazuje Raman spektar polaznog HA praha, u kome je bila moguća identifikacija pojedinih Ramanovih pikova koji pripadaju  $\nu_2$ -,  $\nu_3$ - i  $\nu_4$ - $\text{PO}_4$  vibracionim modovima HA. Međutim, nakon procesa nanošenja atmosferskim plazma sprej postupkom, identifikacija tih Ramanovih pikova više nije bila moguća (Sl.61b) [79]. Umesto njih, unutar istih intervala frekvencija, zapaženi su široki pikovi bez izraženog maksimuma (Sl.61b).

OA faza trenutno predstavlja najveći izazov u karakterizaciji HA prevlaka pomoću MRS [31,35]. Problem identifikacije i kvantifikacije ove faze nije još uvek rešen u potpunosti. Ovaj problem nije samo vezan za MRS, već i za druge metode ispitivanja, kao što su FTIR, XRPD, SEM-EDS, SM i dr. XRPD metod pokazuje potencijal da utvrdi prisustvo i relativnu količinu ove faze u HA prevlakama (vidi

poglavlje 2.6.3.2). Međutim, XRPD metod ne daje informaciju koja je lokalnog karaktera, poput MRS, koja ima mikrometarsku rezoluciju, već analizira značajno veću količinu materijala, npr. reda veličine  $18\text{ mm}\times 13\text{ mm}\times 50\text{ }\mu\text{m}$ , tako da pokazuje prosečni fazni sastav analiziranog dela prevlake. FTIR metod može potencijalno da identifikuje prisustvo OA faze (vidi poglavlje 2.6.2.3.3), ali, kao i XRPD, nije lokalnog karaktera, dok SM (vidi poglavlje 2.6.4) i SEM-EDS (vidi poglavlje 2.6.5) ne mogu da razlikuju ovu fazu od HA. Za razliku od pomenutih metoda, MRS omogućava identifikaciju faza na mikrometarskom nivou, kao i mogućnost faznog mapiranja celih površina uzoraka HA prevlaka [35], zbog čega je identifikacija i kvantifikacija OA faze pomoću ove metode ispitivanja od izuzetne važnosti.

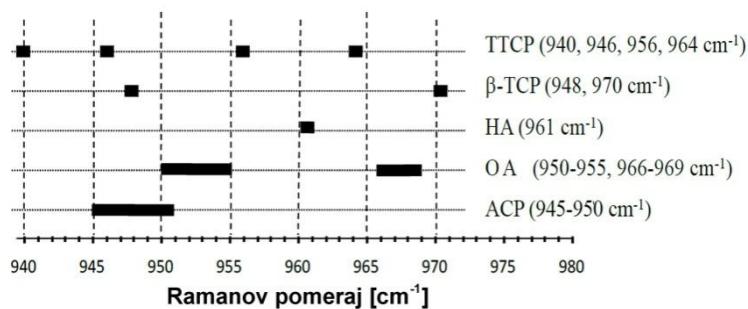


**SI.61.** (a) Raman spektar polaznog HA praha; (b) Raman spektri uzeti sa periferije (1) centra (3) i međuprostora (2) pljosnate očvrse delimično istopljene čestice HA praha nakon njenog udara u metalni substrat (adaptirano iz [AS85]).

#### 2.6.1.3.4. Opseg frekvencija između $900\text{ i }1020\text{ cm}^{-1}$ u Raman spektrima HA

Na SI.62 su grafički prikazane frekvencije karakterističnih Ramanovih pikova faza koje mogu da se jave u HA prevlakama [35], osim za  $\alpha$ -TCP fazu (za podatke vidi Tab.9 i 10). U Tab.10 su takođe prikazane frekvencije karakterističnih Ramanovih pikova ACP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i TTCP, OA i HA faza u opsegu frekvencija između  $900\text{ i }1020\text{ cm}^{-1}$  izvedene iz literaturnih podataka.

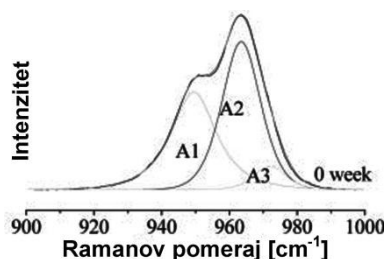




**Sl.62.** Frekvencije karakterističnih Ramanovih pikova u različitim kalcijum fosfatnim jedinjenjima u intervalu frekvencija između 940 i 970  $\text{cm}^{-1}$  (adaptirano iz [35]).

Raman spektri CaO, polimofnih faza  $\text{CaCO}_3$  (kalcit, aragonit i valterit) i  $\text{Ca(OH)}_2$  (portlandit) ne pokazuju prisustvo Ramanovih pikova u ovom intervalu frekvencija (vidi početak poglavlja 2.6.1.3, kao i [35,182]).

Na Sl.63 je prikazan tipičan Raman spektar snimljen na površini HA prevlaka nanosenih primenom atmosferskog plazma sprej postupka na kome je zabeleženo prisustvo tri Ramanova pika:  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  [93]. *Heimann i saradnici* su utvrdili da je  $A_1$  Ramanov pik lociran na  $\sim 950 \text{ cm}^{-1}$ ,  $A_2$  na  $\sim 962 \text{ cm}^{-1}$  i  $A_3$  na  $\sim 972 \text{ cm}^{-1}$  [93]. Pretpostavljeno je da je  $A_1$  Ramanov pik doprinos TTCP+ $\beta$ -TCP+ACP+OA faza, da je  $A_2$  doprinos HA faze i da je  $A_3$  doprinos  $\beta$ -TCP+ACP+OA faza. Ovaj rezultat je pokazao da se u MRS analizi teško mogu razlikovati doprinosi koje različite faze imaju na integralne intenzitete Ramanovih pikova dobijenih sa HA prevlaka, a posebno u slučajevima  $A_1$  i  $A_3$  Ramanovih pikova. Autori ove studije su vršili ispitivanja HA prevlake u simuliranim telesnim tečnostima 0, 1 i 12 nedelja, nakon čega je ustanovljeno da su postojali slični trendovi promena relativnih intenziteta  $A_1$  i  $A_2$  Ramanovih pikova i relativnih sadržaja ACP i HA utvrđenih na osnovu rentgenskih difraktograma, respektivno [93].



**Sl.63.** Raman spektar HA prevlake nanosene pomoću atmosferskog plazma sprej postupka. (adaptirano iz [93]).

S obzirom da doprinos integralnim intenzitetima Ramanovih pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  u spektrima HA prevlaka može da dolazi od više faza (Tab.9 i 10), istraživanja pomoću MRS analize su neretko uključivala i XRPD analizu, koja može da ustanovi prisustvo drugih faza, osim ACP i HA [31,79]. Tako je u studiji *Demnati i saradnika* XRPD analiza HA prevlaka pokazala odsustvo  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i TTCP faza [31], zbog čega su autori studije zanemarili uticaj ovih faza na integralne intenzitete Ramanovih pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  i pretpostavili da su ovi intenziteti pod uticajem ACP, HA i OA faza. Prema ovim autorima, prisustvo ACP faze se na Raman spektru manifestuje kao širok pik sa maksimumom na frekvenciji  $945-954\text{ cm}^{-1}$ . Pored ACP faze, integralnom intenzitetu Ramanovog pika  $A_1$  doprinosi i OA faza, za koju je vezana pojava Ramanovog pika na oko  $950-951\text{ cm}^{-1}$ , tako da se doprinos OA ispoljava u nižem frekventnom opsegu  $A_1$  pika. Ove dve faze takođe doprinose integralnom intenzitetu  $A_3$  Ramanovog pika, pri čemu je doprinos OA faze dominantniji. S druge strane, u integralnom intenzitetu najintenzivnijeg Ramanovog pika  $A_2$ , detektovanom u Raman spektrima HA prevlaka na frekvenciji  $961-963\text{ cm}^{-1}$ , dominantan je doprinos HA faze. Ovaj rezultat jasno ukazuje na opravdanost primene komplementarnih metoda ispitivanja, poput XRPD, koje mogu da ukažu na prisustvo različitih faza u HA prevlakama. Dobra usaglašenost rezultata MRS i XRPD metoda je takođe pokazana u studiji *Li i saradnika*, gde promena intenziteta  $A_2$  Ramanovog pika prati promenu intenziteta difrakcionih pikova koje dolazi od HA faze [79]. S druge strane, *Demnati i saradnici* su ukazali na problem određivanja relativnih udela ACP, HA i OA faza na osnovu Raman spektara dobijenih sa prevlaka različite debljine. Iako su fitovanjem Raman spektara pomoću Gauss-Lorentz-ove funkcije uspešno odredili relativne doprinose navedenih faza, ovi autori nisu zaključili da utvrđene promene ovih doprinosa odražavaju realnu promenu udela faza sa debljinom HA prevlaka [31]. U kasnijem preglednom radu, *Demnati i saradnici* su istakli problem određivanja udela OA faze [35]. Naime, ovu fazu je teško dobiti u „analitički čistom“ stanju zbog njene izražene osetljivosti na prisustvo vlage, što umnogome stvara poteškoće pri proizvodnji uzoraka koji bi se koristili kao referentni pri analizi faznog sastava HA prevlaka. *Demnati i saradnici* su uzeli u obzir problem izražene fazne heterogenosti u prisustvu delimično istopljenih polaznih čestica HA praha (vidi poglavlje 2.3.2). Kao što je već napomenuto, ovaj problem može da bude prisutan kada se razmatra uticaj procesa rekristalizacije HA prevlaka zbog postojanja

HA i OA faza koje su rekristalilisale i onih koje se nalaze u delimično istopljenim česticama polaznog HA praha, a koje su nastale kao posledica termičkog razlaganja polaznih čestica HA u plazma mlazu.

#### 2.6.1.3.5. MRS analiza prisustva OH<sup>-</sup> grupa u HA prevlakama

U studiji *Yan i saradnika* [54], MRS analiza je pokazala prisustvo OH<sup>-</sup> hemijskog gradijenta u pravcu debljine HA prevlaka (vidi Sl.36b, poglavlje 2.3.1.2). Porast intenziteta Ramanovog pika koji odgovara istežućem OH<sup>-</sup> vibracionom modu, lociranom na 3570-3575 cm<sup>-1</sup>, sa porastom debljine HA prevlaka je bio analogan porastu intenziteta A<sub>2</sub> Ramanovog pika lociranog na ~960 cm<sup>-1</sup>, koji potiče od HA faze. *Yan i saradnici* su komentarisali da odsustvo Ramanovog pika istežućeg OH<sup>-</sup> vibracionog moda u oblastima blizu interfejsa prevlaka/substrat, gde je koncentracija ACP faze najveća, ne znači da OH<sup>-</sup> joni nisu prisutni, već da ih najverovatnije nije moguće detektovati zbog strukturne neuređenosti ACP faze [54]. Pored navedenih autora, *Saber-Samandari i saradnici* su proučavali efekat hidroksilacije, ispitivanjem HA depozita u obliku kapljica koji su nanosili različitim postupcima (plazma, oksiacetilen, plamen), posmatrajući promene u Ramanovom piku istežućeg OH<sup>-</sup> vibracionog moda HA na ~3573 cm<sup>-1</sup> [89]. Oni su zapazili da je termička obrada HA depozita izazvala pomeranje frekvencije istežućeg OH<sup>-</sup> vibracionog moda za oko ~60 cm<sup>-1</sup>, što je ukazivalo na povećanje strukturne uređenosti, odnosno na postojanje OH<sup>-</sup> jona koji su pre naknadne termičke obrade bili inkorporirani u ACP fazu.

**Tab.10.** Frekvencije Raman pikova pripisanih vibracionom modu  $\nu_1$ -PO<sub>4</sub> u osegu 900-1020 cm<sup>-1</sup> Raman spektara faza koje se javljaju u HA prevlakama. Za podatke takođe videti Tab.9. Intenzitet odgovarajućih Ramanovih pikova je izražen skraćenicama u zagradama: *vi*, vrlo intenzivan; *i*, intenzivan, *si*, srednje intenzivan; *sli*, slabo intenzivan, a njihov oblik sa: *š*, širok; *r*, rame.

	Referenca											
	72	188	55	54	189	31	56	95*	93	89	90	35
Faza	Frekvencije Raman pikova pripisanih vibracionom modu $\nu_1$ -PO <sub>4</sub> [cm <sup>-1</sup> ]											
ACP	--	950 (š)	950-952 (š)	950 (š)	--	945-954	--	950 (si, š)	--	949-951	950	945-950
HA	--	--	964	960 (i)	962	961-963 (vi)	960	960 (vi)	962 (vi)	960-964	960	961
OA	--	--	--	--	--	950-951 (si, š); 966-969 (i)	--	--	--	--	--	950-955 (si, š); 966-969 (i)
$\alpha$ -TCP	--	--	--	--	--	--	--	951 (sli, r); 963 (i); 972 (i); 982 (sli, r)	--	--	--	--
$\beta$ -TCP	946 (r); 949 (i); 959 (sli, š); 962 (r); 970 (i)	--	--	950 (i); 970 (vi)	--	--	--	934 (sli, r); 946 (r); 949 (i); 962 (sli, r); 969 (i)	947 (i); 970 (i)	--	--	948 (i); 970 (i)
TTCP	--	--	--	--	--	--	--	--	942 (i); 947 (i); 957 (vi); 963 (vi)	--	--	940 (i); 946 (i); 956 (vi); 964 (vi)

\* - Korišćena laserska linija talasne dužine 632.8 nm

## 2.6.2. Infracrvena spektroskopija sa Fourier-ovom transformacijom (FTIR)

### 2.6.2.1. FTIR vs. MRS

FTIR je vrsta vibracione spektroskopije koja koristi absorbovanu, propuštenu ili odbijenu infracrvenu svetlost pri karakterizaciji materijala [190]. Uzorak intenzivno apsorbuje svetlost na specifičnim frekvencijama, koje odgovaraju vibracionim frekvencijama hemijskih veza u uzorku [190].

FTIR i MRS se razlikuju u nekim ključnim aspektima [190]. FTIR spektri predstavljaju zavisnost apsorpcije (transmisije ili refleksije) uzorka od apsolutne frekvencije zračenja, odnosno talasnog broja izraženog u  $\text{cm}^{-1}$ , dok Raman spektri detektuju relativnu promenu frekvencije usled rasejanja zračenja na uzorku, koja se najčešće označava kao Ramanov pomeraj, takođe u  $\text{cm}^{-1}$  [190]. FTIR spektri zavise od promene dipolnog momenta molekula, dok Raman spektri zavise od promene polarizabilnosti molekula, kao što je već napomenuto (vidi poglavlje 2.6.1.1). Ključna prednost FTIR u odnosu na MRS je razlika ova dva metoda u pogledu interferencije zračenja [190]. Naime, fluorescencija može značajno da utiče na Raman spektre, dok to nije slučaj sa FTIR [190]. Ključni nedostatak FTIR u odnosu na MRS je vezan za pripremu uzoraka, gde su značajni debljina, uniformnost i koncentracija ispitivanog uzorka, dok MRS često ne zahteva posebnu pripremu uzoraka za ispitivanje [190].

FTIR je osetljiviji na vibracije hetero-nuklearnih funkcionalnih grupa, polarnih veza tipa C-O, N-O, a posebno na vibracije istežućeg OH<sup>-</sup> moda u molekulu H<sub>2</sub>O, dok je MRS osetljiviji na vibracije homo-nuklearnih funkcionalnih grupa, poput C-C, C=C itd [190]. U molekulima sa centrom simetrije, vibracije koje su Raman aktivne su infracrveno neaktivne i obrnuto [191]. Ovaj princip se naziva *princip međusobne isključivosti* (eng. mutual exclusion principle) [191,192]. U molekulima sa različitim centrima simetrije, određene vibracije mogu biti infracrveno ili Raman aktivne, infracrveno i Raman aktivne, ili infracrveno i Raman neaktivne [191]. Za kompleksne molekule koji nemaju centar simetrije, svi normalni modovi su i infracrveno i Raman aktivni. Ovo naravno ne znači da svi modovi čija je pojava teorijski moguća mogu biti i detektovani [191]. Uopšteno, intenzivni trake na FTIR spektru odgovaraju slabim

pikovima na Raman spektru i obrnuto. Ovakva komplementarna priroda FTIR i MRS nastaje zbog električnih svojstava vibracija. Naime, ako je hemijska veza jako polarisana, vibracija ovakve hemijske veze proizvodi manji efekat na njenu dužinu, a time i manji efekat na polarizabilnost [191]. Zbog toga vibracije koje uključuju polarne hemijske veze, poput C-O, N-O i O-H, proizvode slab Raman efekat. S druge strane, polarne hemijske veze tokom vibracija pokazuju velike promene u dipolnom momentu (osim ako su neutralisane faktorima simetrije molekula), zbog čega se trake koje odgovaraju ovim hemijskim vezama javljaju kao intenzivni na absorpcionim FTIR spektrima. Relativno neutralne hemijske veze, poput C-C, C-H, C=C i druge, su podložne velikim promenama u polarizabilnosti tokom vibriranja, dok varijacija dipolnog momenta nije izražena u velikoj meri. Iz ovih razloga, vibracije koje dominantno uključuju ovaj tip hemijske veze jako utiču na Ramanov efekat i proizvode intenzivne pikove u Raman spektrima, za razliku od onih u FTIR spektrima [191]. Treba još napomenuti da je u ovom radu radi jednostavnosti i za *Ramanov pomeraj* u Raman spektrima i za *talasni broj* u FTIR spektrima najčešće korišćen naziv *frekvencija*, dok je za FTIR *trake* (eng. – *bands*) često korišćen naziv *pikovi* (kao kod Raman spektara). Detalji vezani za teorijske i praktične osnove FTIR spektroskopije su dati u knjizi „Infrared and Raman Spectroscopy“, koja je revidirana od strane *B. Schrader* [192]. U daljem tekstu su prikazani osnovni principi transmisione (T-FTIR) i prigušene unutrašnje reflektivne (ATR-FTIR) FTIR metode, primenjenih u ovom radu.

#### 2.6.2.2. Osnove T-FTIR i ATR-FTIR metoda

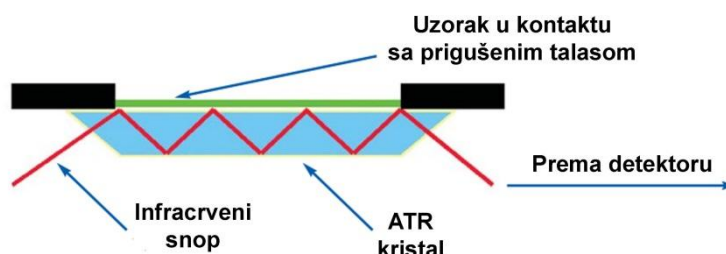
##### 2.6.2.2.1. T-FTIR

Osnovni princip T-FTIR metode (ili popularno KBr metode) se zasniva na tome što fotoni infracrvenog zračenja određene energije mogu da pobude molekule u uzorku u viša rotaciona i vibraciona stanja [193]. Molekularna struktura uzorka određuje frekvencije svetlosti koja se apsorbira ili prolazi kroz uzorak, pri čemu energije fotona absorbovane svetlost utiču na hemijske veze da pređu u pobuđena vibraciona stanja, čija frekvencija može da se identifikuje na FTIR spektrima. T-FTIR koristi matematički algoritam (Fourier-ove transformacije) koji konvertuje podatke o frekvencijama u FTIR

spektar. Pikovi na FTIR spektrima mogu biti dodeljeni unutrašnjim vibracijama pojedinih hemijskih funkcionalnih grupa (molekularnih grupa), poput  $\text{PO}_4$ ,  $\text{CO}_3$  i  $\text{H}_2\text{O}$ . U slučaju T-FTIR metode, uzorci koji se analiziraju su u praškastom stanju i obično se mehanički mešaju sa KBr prahom (najčešće u proporciji 1 mg uzorka/100 mg KBr) [194]. KBr se koristi kao nosač uzorka za analizu jer je transparentan u infracrvenom delu spektra, odnosno nema značajne trake u tom opsegu frekvencija [193]. Nedostatak primene KBr je osetljivost na prisustvo vlage u ambijentalnom vazduhu, što otežava pripremu uzoraka i identifikaciju i kvantifikaciju hidroksilnih grupa u HA. Zbog toga se KBr pre pripreme uzoraka termički tretira na temperaturama većim od  $\sim 100\text{ }^\circ\text{C}$  kako bi se uklonila adsorbovana vlaga.

#### 2.6.2.2.2. ATR-FTIR

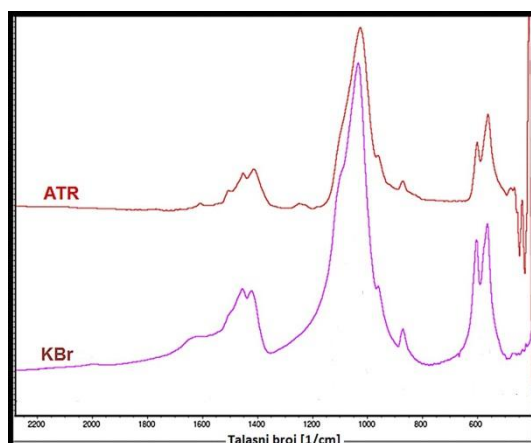
Ovaj metod je koristan kao inicijalni korak karakterizacije minerala jer zahteva minimalnu pripremu uzoraka za ispitivanje [193]. Varijacije u FTIR spektrima su minimalne u slučaju ATR-FTIR, jer je umnogome izbegnut uticaj pripreme uzoraka usled mehaničkog sprasivanja KBr praha i razlike u veličinama praha [195].



**Sl.64.** Princip rada ATR-FTIR (adaptirano iz [196]).

ATR-FTIR analiza se zasniva na fenomenu prigušene unutrašnje refleksije (Sl.64) [196]. Naime, ATR-FTIR detektuje promene u totalno reflektovanom infracrvenom snopu kada on stupi u kontakt sa uzorkom (Sl.64). Infracrveni snop je usmeren u optički gust ATR kristal (npr. cink selenid, germanijum ili dijamant) koji poseduje visok indeks refrakcije pri određenom uglu. Ovakva unutrašnja reflektansa stvara prigušeni talas koji se prostire nekoliko mikrometara ( $0.5\text{-}5\text{ }\mu\text{m}$ ) izvan površine ATR kristala u analizirani uzorak, zbog čega je mehanički kontakt uzorka i ATR

kristala od značaja. Prigušeni talas biva promenjen u kontaktu sa ispitivanim uzorkom u oblastima infracrvenog spektra u kojima uzorak absorbuje energiju, a ova promena se prenosi nazad na totalno reflektovani infracrveni snop koji se na kraju detektuje [196]. Zbog male dubine prodiranja prigušenog infracrvenog talasa u uzorak ( $\sim 1 \mu\text{m}$ ), intenziteti pikova na ATR-FTIR spektrima su slabiji u poređenju sa T-FTIR (Sl.65) [193]. Bez obzira na razliku u intenzitetima, sa slike se jasno vidi da su karakteristični pikovi u spektrima dobijenim pomoću obe metode na istim frekvencijama.



**Sl.65.** Poređenje ATR-FTIR i T-FTIR (KBr) spektara biološkog apatita (adaptirano iz [193]).

### 2.6.2.3. FTIR analiza HA prevlaka

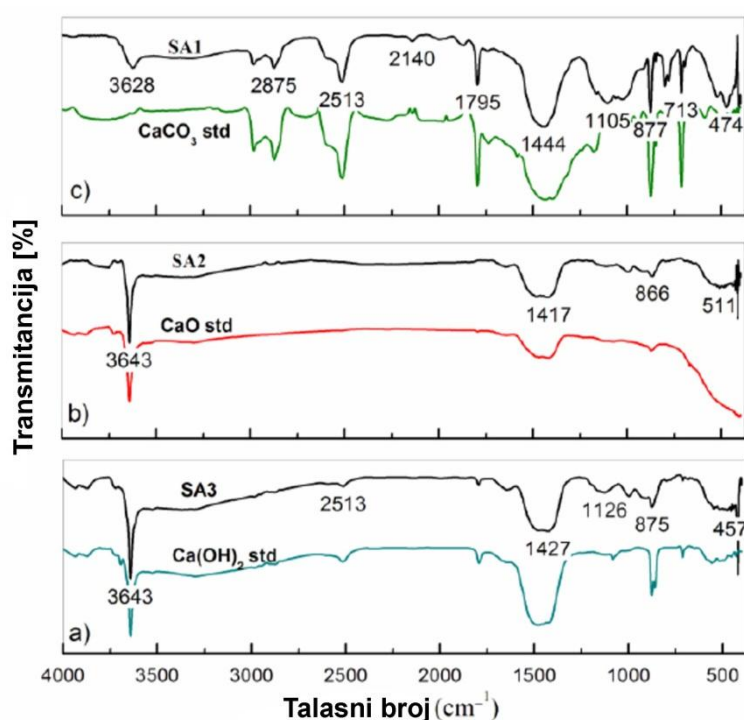
FTIR analiza je veoma zastupljena u karakterizaciji HA [30-32, 44,45,53,62,75,76,79,88,89,93,96,132,134,135,137,141,150,162,163,197-211], slično XRPD analizi (vidi poglavlje 2.6.3.2), a mnogo više od MRS (vidi poglavlje 2.6.1.3). Pritom, T-FTIR metod je znatno zastupljeniji od ATR-FTIR metoda. Kao i u slučaju MRS analize, ovde je dat pregled FTIR analize ACP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP, TTCP, OA, CaO,  $\text{CaCO}_3$  i  $\text{Ca(OH)}_2$  faza, s obzirom da se one mogu sadržati u HA prevlakama.

#### 2.6.2.3.1. FTIR spektri CaO, $\text{CaCO}_3$ i $\text{Ca(OH)}_2$

Za razliku od  $\text{CaCO}_3$ , analiza frekvencija karakterističnih FTIR pikova sa Sl.66 pokazuje da CaO i  $\text{Ca(OH)}_2$  faze nemaju intenzivne pikove na FTIR spektrima u oblasti



frekvencija koje su karakteristične za  $\nu_1$ - $\text{PO}_4$  vibracioni mod ( $900\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ ) [212].  $\text{CaO}$ ,  $\text{CaCO}_3$  i  $\text{Ca(OH)}_2$  faze mogu da se razlikuju na FTIR spektrima ukoliko su prisutne u značajnim količinama u HA prevlakama. Na primer,  $\text{CaCO}_3$  faza se karakteriše prisustvom izraženog pika na  $\sim 1795\text{ cm}^{-1}$ , koji se ne preklapa sa FTIR pikovima kalcijum fosfatnih jedinjenja. S druge strane,  $\text{CaO}$  i  $\text{Ca(OH)}_2$  pokazuju izražen pik na  $\sim 3643\text{ cm}^{-1}$  [212]. Ovaj pik potiče od  $\text{OH}^-$  hemijske funkcionalne grupe u  $\text{Ca(OH)}_2$  i razlikuje se od pika karakterističnog za HA koji se javlja na frekvenciji  $\sim 3570\text{ cm}^{-1}$ , a pripisuje se modu istežućih vibracija  $\text{OH}^-$  [212].



**Sl.66.** FTIR spektri sintetizovanih (tamnija linija) i referentnih (linije u boji, oznaka „std.“)  $\text{CaO}$ ,  $\text{CaCO}_3$  i  $\text{Ca(OH)}_2$  jedinjenja (adaptirano iz [212]).

#### 2.6.2.3.2. FTIR spektri $\alpha$ -TCP, $\beta$ -TCP, TTCP i HA

U Tab.11 je dat pregled frekvencija pikova koji su karakteristični za odgovarajuće vibracione modove  $\text{PO}_4^{3-}$  hemijske funkcionalne grupe  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i TTCP i HA faza, koje se javljaju u HA prevlakama.

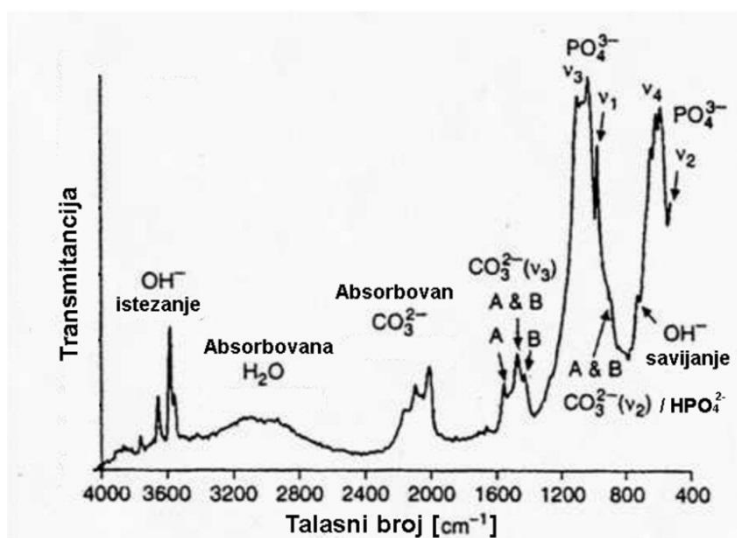
**Tab.11.** Vibracioni modovi, njihove karakteristične frekvencije [ $\text{cm}^{-1}$ ] i intenziteti (*vi*, vrlo intenzivan; *i*, intenzivan, *si*, srednje intenzivan; *sli*, slabo intenzivan; *vsli*, vrlo slabo intenzivan; *š*, širok; *r*, rame) na FTIR spektrima  $\alpha$ -TCP [183],  $\beta$ -TCP [183], TTCP [184,185] i HA [30].

Vibracioni mod	Faza	Frekvencije modova [ $\text{cm}^{-1}$ ]			
		$\alpha$ -TCP	$\beta$ -TCP	TTCP	HA
$v_1$ -PO <sub>4</sub> , simetrični istežući P-O mod		954	972 (i); 945 (i)	962 (sli); 956 (sli); 946 (sli); 941 (sli)	961
		415 (sli); 430 (sli); 454 (sli); 463 (sli); 471 (sli)	419 (vsli); 438 (vsli); 458 (vsli); 497 (vsli)	501 (sli); 471 (si); 450 (sli); 429 (sli); 399 (si)	434; 471
$v_3$ -PO <sub>4</sub> , asimetrični istežući trostruko degenerisani P-O mod		984 (i); 997 (i); 1013 (i); 1025 (i); 1039 (i); 1055 (i)	1025 (i); 1044 (i); 1066 (sli, r); 1083 (sli, r)	1105 (sli); 1093 (sli); 1073 (sli); 1062 (i); 1046 (i); 1033 (si); 1010 (i); 989 (i)	1040; 1096
		551 (i); 563 (i); 585 (i); 597 (i); 613 (i);	544 sli, r); 555 (i); 594 (i, r); 609 (i)	620 (sli); 594 (sli); 571 (i)	563; 609

Ako se uporede frekvencije iz Tab.11 i 12, očigledno je da su frekvencije FTIR modova  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i TTCP faza bliske frekvencijama FTIR modova sintetizovanih HA prahova, što, kao i u slučaju MRS analize (vidi poglavlje 2.6.1.3.2) značajno otežava identifikaciju ovih faza. Eksperimenti sporog zagrevanja kristalnih (stehiometrijskih, Ca/P=1.67) HA prahova u ambijentalnom vazduhu su pokazali da se pojava  $\alpha$ -TCP i TTCP faza na  $T > 1360$  °C manifestovala širenjem FTIR pikova u oblasti frekvencija  $950\text{-}1200$   $\text{cm}^{-1}$  na FTIR spektrima HA [34]. S druge strane, sporo

zagrevanje kalcijum-deficitarnih (nestehimetrijskih,  $\text{Ca/P} < 1.67$ ) HA prahova je rezultovalo pojavom pikova koji potiču od  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$  na  $\sim 714 \text{ cm}^{-1}$ , kao i pojavom pikova  $\beta$ -TCP faze na  $\sim 947$ ,  $\sim 986$  i  $\sim 1122 \text{ cm}^{-1}$  [213], za temperature niže od  $\sim 900 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Tipične hemijske funkcionalne grupe koje se mogu identifikovati na FTIR spektrima sintetizovanog HA (polazni HA prahovi) ili karbonatnog (biološkog) apatita su  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  i  $\text{HPO}_4^{2-}$  [214]. Na Sl.67 je dat prikaz absorpcionog FTIR spektra koji pokazuje karakteristične pikove ovih hemijskih funkcionalnih grupa HA [214], dok je u Tab.12 dat literaturni pregled frekvencija ovih pikova.



**Sl.67.** FTIR spektar prikazuje hemijske funkcionalne grupe koje se često nalaze u HA (adaptirano iz [214]).

#### 2.6.2.3.3. ACP i OA

Ni u jednoj od prethodnih studija nije objavljena vrednost frekvencije FTIR moda koji bi mogao da se poveže sa prisustvom ACP faze. *Sun i saradnika* [30] su istakli da se efekat koji prisustvo ACP faze proizvodi na FTIR spektrima manifestuje kroz širenje FTIR pikova, što je efekat sličan onom koji prouzrokuje prisustvo  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i TTCP faza [34]. S druge strane, već je napomenuto u brojnim istraživanjima da se prisustvo ACP faze može proceniti na osnovu Ramanovog pika lociranog na frekvenciji od  $\sim 950 \text{ cm}^{-1}$  (vidi Sl.63, Tab.10, poglavlje 2.6.1.3.4). Zbog toga je praćenje promena u sadržaju ACP faze u HA prevlakama, tj. kristaličnosti HA prevlaka, nepouzdanu primenom FTIR analize za razliku od MRS analize. Pored toga, varijacije

intenziteta T-FTIR i ATR-FTIR spektara usled pripreme uzoraka sa KBr (T-FTIR) i mehaničkog kontakta uzorka i ATR kristala (ATR-FTIR), dodatno unose nepouzdanost vezanu za praćenje sadržaja ACP, ali i ostalih faza.

U prethodno pomenutoj studiji termičkog razlaganja HA, *Liao i saradnici* [34] su nestajanje OH<sup>-</sup> pikova na ~630 i ~3570 cm<sup>-1</sup>, kao i pojavu pikova na ~945 i ~1025 cm<sup>-1</sup> u FTIR spektrima, povezali sa pojavom OHA, tj. OA faze. Odsustvo pomenutih OH<sup>-</sup> pikova u HA prevlakama u odnosu na polazne HA prahove je bilo povezano sa prisustvom OHA faze i od strane *Sun i saradnika* [30]. Međutim, eksperimenti termičkog razlaganja kalcijum-deficitarnog HA su pokazali da pojava TCP faze takođe može da izazove pojavu novih pikova i širenje HA pika u frekventnom opsegu 900-1250 cm<sup>-1</sup> FTIR spektara, ali i iščezavanje pomenutih OH<sup>-</sup> pikova [213]. Odsustvo OH<sup>-</sup> pikova može da bude naznaka prisustva OHA/OA faze, ali takođe i drugih kalcijum fosfatnih faza. S obzirom da FTIR analiza nije u stanju da jasno razlikuje različite kalcijum fosfate, neophodno je izvršiti analizu HA prevlaka metodama koje, poput XRPD, to mogu (vidi poglavlje 2.6.3).

#### 2.6.2.3.4. OH<sup>-</sup> i CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> hemijske funkcionalne grupe HA i prisustvo proteina

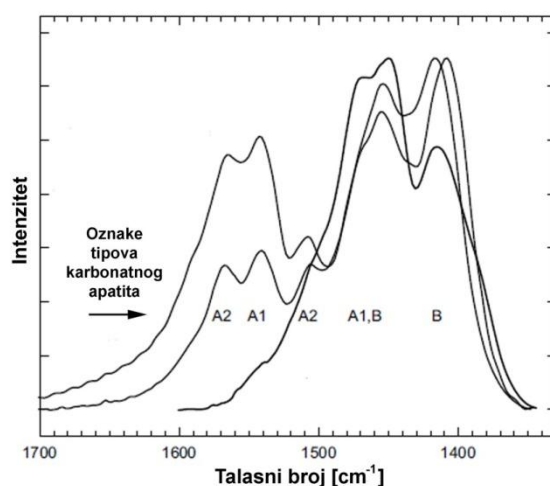
Zbog polarosti hemijske veze (vidi poglavlje 2.6.2.1), FTIR metod poseduje veću osetljivost na vibracije OH<sup>-</sup> hemijskih funkcionalnih grupa HA u poređenju sa MRS metodom, tako da je pomoću MRS metoda obično moguća identifikacija samo jednog OH<sup>-</sup> moda HA (istežući P-OH vibracioni mod na ~3570 cm<sup>-1</sup>), dok FTIR metod može da identifikuje dva OH<sup>-</sup> vibraciona moda HA (savijajući i istežući P-OH mod na ~630 i ~3570 cm<sup>-1</sup>). Ipak, oba metoda su našla primenu kod ispitivanja OH<sup>-</sup> sadržaja u HA prevlakama (vidi poglavlje 2.3.1.2, Sl.35b i 36b) [30,54]. Međutim, već je napomenuto da prisustvo ACP faze može da uzrokuje nepouzdana određivanje prisustva hidroksilnih jona u slučaju obe metode, što zbog prisustva različitih HA vrsta (rekristalisani HA, neistopljene HA čestice) [30], što zbog potencijalnog prisustva zaostalih hidroksida u ACP strukturi [89]. Zbog toga se određivanje prisustva ovih jona još uvek praktično svodi na kvalitativnu procenu.

**Tab.12.** Frekvencije absorpcionih pikova sintetizovanih HA prahova.

Hemijska grupa	Referenca										
	30	62	31	44	197	88	53	37	89	79	213
Frekvencije absorpcionih pikova [cm <sup>-1</sup> ]											
$\nu_2\text{-PO}_4^{3-}$	434; 471	--	434; 471	--	--	--	--	430-475	471	--	471
$\nu_4\text{-PO}_4^3$	563; 609	569; 600	560-600	610	572; 602	570; 600	570; 603	572; 602	563; 602	562; 600	564; 603
$\nu_1\text{-PO}_4^3$	961	962	--	--	963	960	962	962	961	961	962
$\nu_3\text{-PO}_4^3$	1040; 1096	1046; 1092	1000-1100	--	1052; 1090	1044; 1088	1032; 1087	1046; 1090	1029; 1092	1032; 1078	1034; 1094
Savijajući OH <sup>-</sup>	633	632	633	630	632	632	630	632	630	629	633
Istežući OH <sup>-</sup>	3570	3570	3570	--	3571	3568	3570	3571	3570	3570	3569
$\text{CO}_3^{2-}$	--	--	--	--	1400-1500	--	870; 1445; 1535; 1560	--	--	--	1402; 1455
$\text{HPO}_4^{2-}$	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	875
Adsorbovana H <sub>2</sub> O	--	1423; 3446	--	--	--	--	--	--	1658; 2500-3600	--	1641; 3400
Adsorbovan CO <sub>2</sub>	--	2362; 2923	--	2000-2500	--	2360	--	--	--	--	--

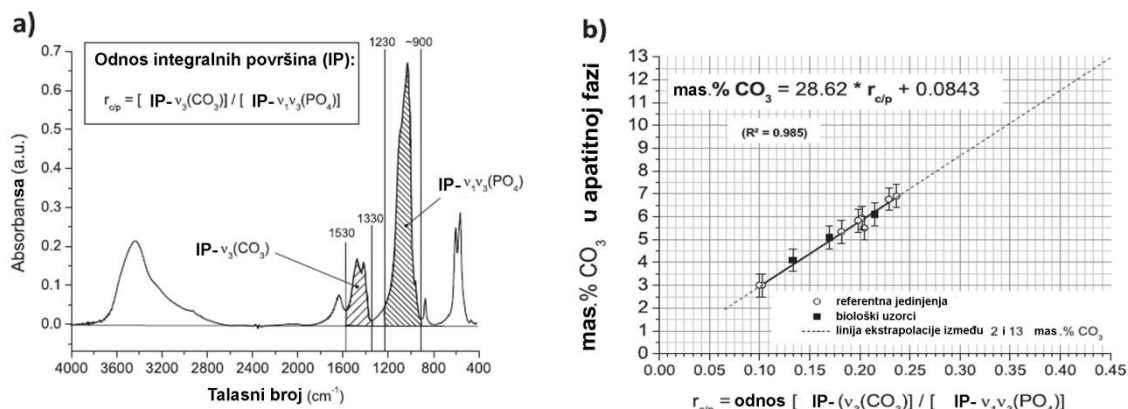
Pored određivanja prisustva OH<sup>-</sup> hemijskih funkcionalnih grupa, FTIR metod je najveću primenu našao kod analize karbonatnih jonskih supstitucija u kristalnoj rešetki HA [132,134,135,137,141,150,162,163,197-211], što predstavlja veoma bitnu informaciju pri proučavanju biomineralizacije HA prevlaka. Naime, prethodna istraživanja su pokazala da je pomoću FTIR metoda moguće utvrditi da li se na HA prevlaci ili na površini materijala za medicinske implantate formira karbonatni (biološki) apatit [132,134,135,137,141,150,162,163,197-211]. Takođe, ispitivanja su pokazala da FTIR metod ima potencijal za utvrđivanje tipa oformljenog karbonatnog apatita (A, B i/ili AB), kao i potencijal za utvrđivanje procentualnog udela odgovarajućeg tipa karbonata [162,163]. Pored toga, istraživanja su pokazala potencijal FTIR metode za utvrđivanje ukupnog udela karbonata u strukturi HA [215]. Ove činjenice svrstavaju FTIR u grupu metoda pomoću koje je moguće, pored kvalitativnog, i kvantitativno praćenje procesa biomineralizacije HA prevlaka u telesnim tečnostima.

Na Sl.68 je prikazan deo FTIR spektra u frekventnom opsegu 1300-1700 cm<sup>-1</sup>, unutar koga dolazi do pojave pikova karakterističnih za: (i) A-tip jonske supstitucije (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> joni supstituišu OH<sup>-</sup> jone u kristalnoj rešetki HA (Ca<sub>5</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>OH)), (ii) B-tip karbonatne supstitucije (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> joni supstituišu PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> jone u kristalnoj rešetki HA (Ca<sub>5</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>OH)) i (iii) mešoviti AB-tip jonske supstitucije. Na slici su naznačene frekvencije FTIR pikova koji potiču od pomenutih tipova karbonatnog apatita [163]. FTIR pikovi različitih tipova karbonatnog apatita su naznačeni i na Sl.67 [214].



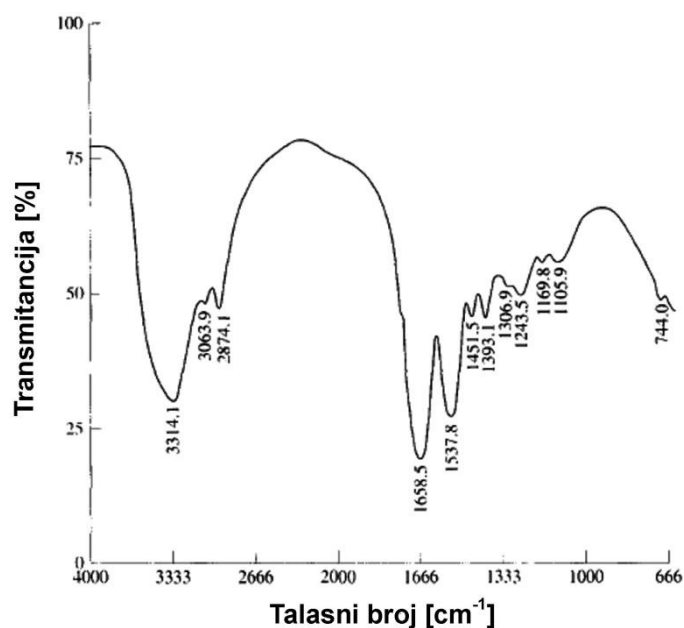
**Sl.68.** Tipovi karbonatnog apatita (adaptirano iz [163]).

Na Sl.69 je dat primer koji pokazuje metod za određivanje ukupnog udela karbonata u kristalnoj rešetki HA [215]. Ovaj metod daje za rezultat udeo karbonata u apatitnoj fazi u mas.%. Poznavanjem odnosa integralnih površina  $\nu_3\text{-CO}_3$  i  $\nu_1\nu_3\text{-PO}_4$  (Sl.69a), moguće je odrediti udeo karbonatnih jona na osnovu izraza sa Sl.69b [215].



**Sl.69.** Metod za određivanje masenog udela karbonatnih jona u karbonatnom apatitu (adaptirano iz [215]).

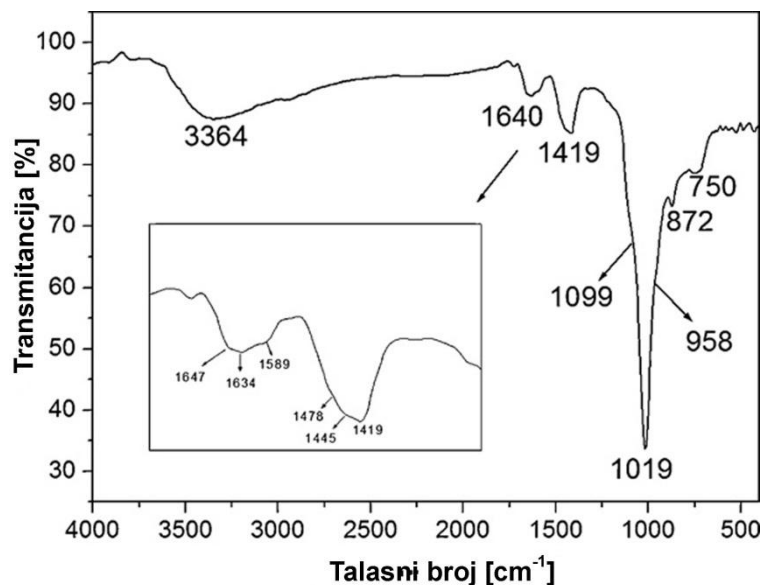
Određivanje udela karbonatnih jona metodom ilustrovanom na Sl.69 može biti nepouzdan u slučaju kada se eksperimenti biomineralizacije vrše u prisustvu proteinskih vrsta, poput albumina. Naime, prisustvo albumina usled vibracija amidnih veza uzrokuje pojavu pikova u delu FTIR spektra koji je karakterističan za pojavu  $\nu_3\text{-CO}_3$  pikova ( $1400\text{-}1600 \text{ cm}^{-1}$ ) [114]. Protein albumin, koji je najčešće korišćen kao model-protein za ispitivanje opšteg uticaja proteina na proces biomineralizacije površine metalnih implanata i HA prevlaka [114,148,142-146,216], dovodi do pojave intenzivnih pikova u FTIR spektrima na sledećim frekvencijama (Sl.70) [217]: (i)  $\sim 1650$  (amidna I veza – dominantan uticaj C=O vibracija), (ii)  $\sim 1540 \text{ cm}^{-1}$  (amidna II veza – uticaj N-H savijajućih vibracija/C-N istežućih vibracija) i (iii)  $\sim 1250 \text{ cm}^{-1}$  (amidna III veza – usled C-N istežućih vibracija/N-H savijajućih vibracija). Takođe, pikovi locirani na  $\sim 1395$  i  $\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$  potiču od proteinskih bočnih grana COO- i N-H savijajućih vibracija, respektivno. FTIR analiza kompleksne strukture proteina albumin je detaljno objašnjena u navedenoj literaturi [217-221].



**SI.70.** FTIR spektar govedeg albumina (adaptirano iz [217]).

Zahvaljujući tome što FTIR spektar albumina ne pokazuje izražene pikove u oblasti frekvencija  $1400\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$  (SI.70), pojedine studije navode da je moguća kvalitativna procena formiranja karbonatnog apatita u prisustvu proteinskih vrsta u simuliranim telesnim tečnostima [142]. SI.71 pokazuje jasno izražene pikove karbonatnog apatita na  $\sim 1420\text{ cm}^{-1}$ , pored pikova amidnih I i II veza na  $\sim 1540$  i  $\sim 1650\text{ cm}^{-1}$  [142]. Međutim, znatno je otežano utvrđivanje tipa oformljenog karbonatnog apatita, posebno u slučaju njegovog A-tipa, koji ima pikove na frekvencijama većim od  $\sim 1500\text{ cm}^{-1}$  (SI.68), na kojima su izraženi pikovi usled vibracija amidnih II veza ( $\sim 1540\text{ cm}^{-1}$ ) (SI.70). Prisustvo pikova amidnih veza u FTIR spektrima dobijenih sa površine HA ukazuje na proces adsorpcije proteina na površini HA, dok prisustvo pikova karbonatnog apatita ukazuje na proces njegovog formiranja na površini HA. *Mavropoulos i saradnici* su pokazali da je takođe moguć proces formiranja karbonatnog apatita na površini proteina [142].





**Sl.71.** ATR-FTIR spektar površine HA nakon 7 dana umerzije HA u simuliranoj telesnoj tečnosti koja sadrži goveđi albumin (adaptirano iz [142]).

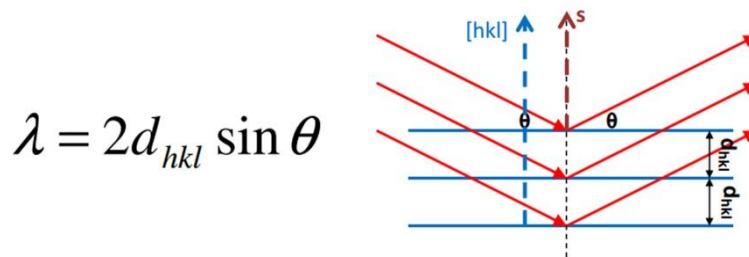
### 2.6.3. Rentgenska difraktometrija praha (XRPD)

#### 2.6.3.1. Teorijske osnove XRPD analize

XRPD analiza se zasniva na fenomenu difrakcije rentgenskih zraka. Uopšteno, fenomen difrakcije se javlja pri elastičnom rasejanju svetlosti na periodičnom nizu atoma, odnosno strukturama koje poseduju uređenost dugog dometa [222]. Pritom je intenzitet kojim atomi rasejavaju svetlost proporcionalan broju elektrona oko atoma. Kao izvor zračenja koje se difrakuje o atomske ravni se koristi monohromatsko rentgensko zračenje, čija je talasna dužina reda veličine rastojanja između atoma, pri čemu rasejanje rentgenskih zraka na atomima proizvodi difraktogram koji sadrži informaciju o periodičnoj uređenosti atoma unutar kristala. Amorfni materijali koji ne poseduju periodičnost strukture dugog dometa ne proizvode difraktograme [222].

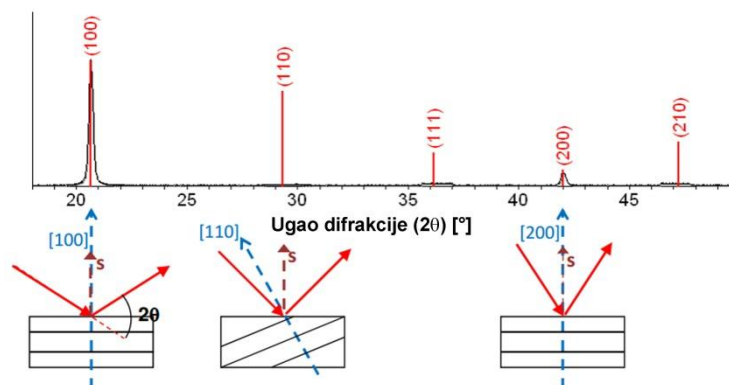
*Bragg-ov* zakon predstavlja jednostavan model na osnovu koga mogu da se opišu uslovi neophodni za pojavu difrakcije (Sl.72) [222]. Za paralelne ravni atoma sa međurastojanjem  $d_{hkl}$ , konstruktivna interferencija se javlja samo u slučajevima kada je zadovoljen *Bragg-ov* zakon (Sl.72, jednačina levo). U slučaju monokristala i konstantne talasne dužine  $\lambda$  upadnog snopa rentgenskog zračenja, familija ravni Milerovih indeksa

( $hkl$ ) proizvodi difrakcioni pik na specifičnom uglu difrakcije ( $2\theta$ ). Pritom, vektor normalnog pravca [ $hkl$ ] na ravan ( $hkl$ ) mora da bude paralelan vektoru difrakcije ( $s$ ) koji se nalazi na pravcu između upadnog i difraktovanog snopa rentgenskog zračenja (SI.72) [222].



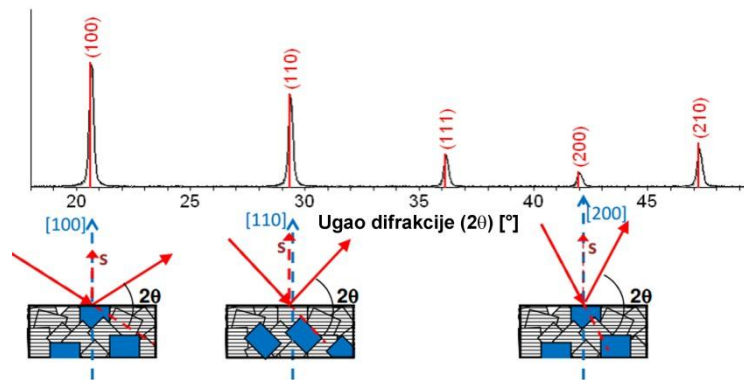
**SI.72.** Shematski prikaz fenomena difrakcije rentgenskih zraka o paralelne atomske ravni;  $d_{hkl}$  – rastojanje između paralelnih atomskih ravni,  $\lambda$  i  $\theta$  – talasna dužina i ugao upadnog snopa monohromatskog rentgenskog zračenja (adaptirano iz [222]).

SI.73 prikazuje difraktogram monokristala koji je dobijen pomoću difraktometra sa Bragg-Brentano geometrijom ( $\theta$ - $2\theta$  instrument) u čijem slučaju je tokom analize izvor rentgenskog zračenja fiksiran, dok uzorak rotira pri brzini od  $\theta$  °/min, a detektor pri brzini od  $2\theta$  °/min [222]. U slučaju ovakvog merenja, vektor difrakcije ( $s$ ) će uvek biti normalan na površinu uzorka, zbog čega se u slučaju monokristala koji se ispituju pomoću ovakve geometrije uređaja javlja difrakcioni pik sa samo jedne familije ravni, dok su pikovi sa drugih familija ravni praktično odsutni zbog nedostizanja uslova o paralelnosti vektora [ $hkl$ ] i ( $s$ ) [222].



**SI.73.** Difraktogram monokristala koji je ispitan pomoću difraktometra sa Bragg-Brentano  $\theta$ - $2\theta$  geometrijskom konfiguracijom (adaptirano iz [222]).

S druge strane, u slučaju polikristalnih materijala, odnosno prahova, koji se ispituju pomoću difraktometara sa Bragg-Brentano geometrijom ( $\theta$ - $2\theta$  instrument), polikristalna zrna, odnosno čestice praha, poseduju stohastičku orijentaciju u prostoru, zbog čega pri izlaganju ovih materijala rentgenskom zračenju na difraktogramu dolazi do simultane pojave više različitih difrakcionih pikova koji potiču sa različitih familija ravni (Sl.74) [222]. Razlika u odnosu na monokristal je ta što za svaku vrednost ugla upadnog snopa rentgenskog zračenja postoji određeni udeo polikristalnih zrna ili čestica praha koje zauzimaju orijentaciju pri kojoj je ispunjen uslov za pojavu difrakcije, tj. kada je vektor  $[hkl]$  paralelan vektoru difrakcije ( $s$ ) [222].



**Sl.74.** Difraktogram polikristalnog materijala koji je ispitan pomoću difraktometra sa Bragg-Brentano  $\theta$ - $2\theta$  geometrijskom konfiguracijom (adaptirano iz [222]).

Pored ovih osnovnih principa rentgenske difraktometrije praha, neophodno je pomenuti da su, na osnovu *Bragg-ove* jednačine, pozicije ( $2\theta$ ) difrakcionih pikova na difraktogramima određene rastojanjem između paralelnih atomskih ravni ( $d_{hkl}$ ). S druge strane, intenziteti difrakcionih pikova su određeni raspodelom atoma unutar celog kristala. Amplituda elastično rasejanog zračenja će zavistiti od položaja i vrste atoma na atomskim ravnima. S obzirom da različiti materijali poseduju različite tipove kristalnih rešetki, za svaku vrstu materijala će postojati jedinstvena kombinacija difrakcionih pikova na kojima će biti ispunjen uslov konstruktivne interferencije, tj. uslov definisan *Bragg-ovim* zakonom. Kombinacije kod kojih će biti ispunjen uslov za pojavu difrakcije se definišu pomoću *strukturnog faktora*  $F_{hkl}$  [222]. Detalji vezani za rentgensku difrakciju praha, matematičke formulacije fenomena difrakcije, kristalografske sisteme,

performanse difraktometara različitih geometrija, uticaja eksperimentalnih parametara merenja, analize različitih vrsta materijala itd. se mogu naći u navedenoj literaturi [223-225].

#### 2.6.3.2. XRPD analiza HA prevlaka

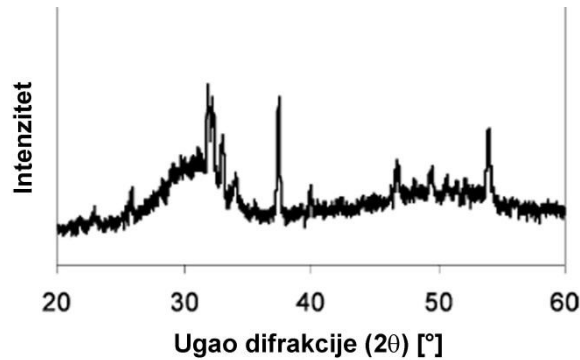
XRPD analiza je, pored FTIR analize, jedan od najprimenjenijih metoda karakterizacije HA prevlaka nanesenih atmosferskim plazma sprej postupkom [30,31,50-53,59,61,63,64,66,75-79]. S obzirom na pouzdanost ove metode ispitivanja, XRPD analiza je našla najveću primenu u identifikaciji faza prisutnih u HA prevlakama, kao i u određivanju kristalčnosti HA prevlaka.

Identifikacija prisutnih faza u HA prevlakama se vrši poređenjem rentgenskih difrakrograma sa standardnim ICSD (*eng.* Inorganic Crystal Structure Database) karticama za odgovarajuće faze i/ili standardnim JCPDS/ICDD (Joint Committee on Powder Diffraction Standards/International Center for Diffraction Data) karticama. Ovde treba napomenuti da danas JCPDS/ICDD baza podataka sadrži skoro sve podatke iz ICSD baze podataka. Pored toga, identifikacija faza se može potvrditi i na osnovu literaturnih podataka. Opšte je poznato da HA prevlake dominantno sadrže ACP i HA faze. Pored ovih faza, u HA prevlakama su prisutne i nečistoće tipa  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP, TTCP, OA i CaO. Moguće prisustvo svake od ovih faza se često potvrđuje na osnovu najintenzivnijih pikova difraktovanog zračenja za svaku od pomenutih faza, tj. na osnovu glavnih pikova sa difraktograma (Tab.13). S obzirom da su nečistoće generalno prisutne u niskim koncentracijama u odnosu na ACP i HA, obično su jedino glavni pikovi ovih faza vidljivi na rentgenskim difraktogramima HA prevlaka. U Tab.13 su dati podaci na osnovu kojih je moguća identifikacija faza prisutnih u HA prevlakama.

Na Sl.75 je prikazan primer rentgenskog difraktograma HA prevlake koja sadrži veći udeo ACP faze, što je evidentno na osnovu prisustva izražene amorfne grbe između  $20$  i  $40^\circ 2\theta$  na svim difraktogramima [30]. Glavni pikovi koji dolaze od  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i TTCP faza se preklapaju sa položajem amorfne grbe u intervalu  $29$ - $32^\circ 2\theta$  (Tab.13), što umnogome otežava njihovu identifikaciju, a posebno kvantitativno određivanje udela ovih faza [30].

**Tab.13.** Brojevi standardnih ICSD i JCPDS kartica za HA, ACP, TTCP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP, CaO i OA faze koje se javljaju u HA prevlakama, kao i uglovi difrakcije ( $2\theta$ ) glavnih pikova ovih faza i njihovi Milerovi indeksi ( $hkl$ ).

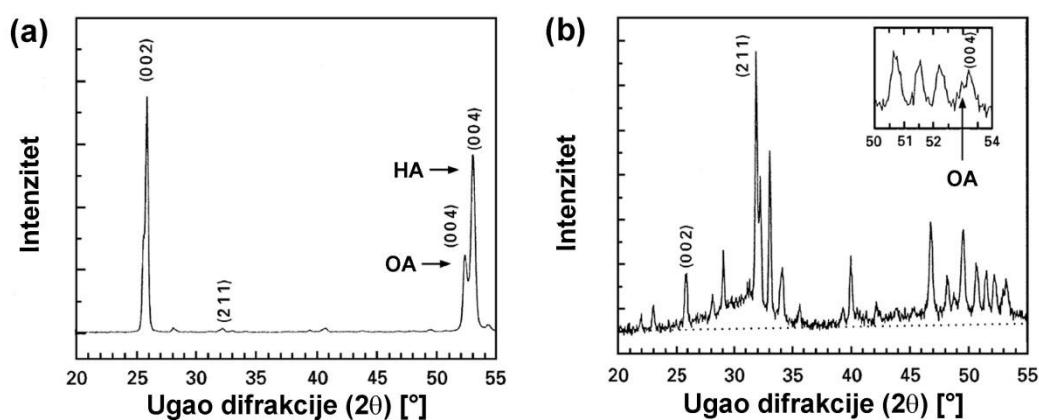
Faza	Formula	ICSD	JCPDS	$2\theta / (hkl)$
HA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	169498	9-432	$\sim 31.8^\circ / (211)$
ACP	$\text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y$	--	--	$20^\circ\text{-}40^\circ$ (amorfnja grba) / --
TTCP	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	160461	25-1137	$\sim 29.8^\circ / (040)$
$\alpha$ -TCP	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	923 i 200202	9-348	$\sim 30.8^\circ / (170)$
$\beta$ -TCP	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	97500	9-169	$\sim 31.1^\circ / (0210)$
CaO	CaO	61550	37-1497	$\sim 37.3^\circ / (200)$
OA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$	--	89-6495	$\sim 31.7^\circ / (211)$



**Sl.75.** Rentgenski difraktogram HA prevlake sa većim udelom ACP faze (adaptirano iz [30]).

Drugi problem koji je vezan za identifikaciju faza i određivanje njihovog udela pomoću XRPD metode je identifikacija i određivanje udela OA faze u HA prevlakama. Naime, poznato je da se pikovi koji potiču od difraktovanog zračenja koje je karakteristično za OA fazu preklapaju sa pikovima za HA fazu, što može da se primeti na osnovu položaja glavnih pikova za HA i OA iz Tab.13. Međutim, u studiji *Gross i saradnika* je istaknuto da se veća dužina c-ose heksagonalne kristalne rešetke OA faze u poređenju sa c-osom heksagonalne kristalne rešetke HA faze manifestuje na difraktogramima HA prevlaka kao pomeraj ( $00l$ ) pika ka nižim vrednostima  $2\theta$ , što potencijalno omogućava određivanje udela OA i HA faza u HA prevlakama [50]. Naime, HA faza ima dva pika kod kojih dolazi do pojave razdvajanja ili distorzije sa

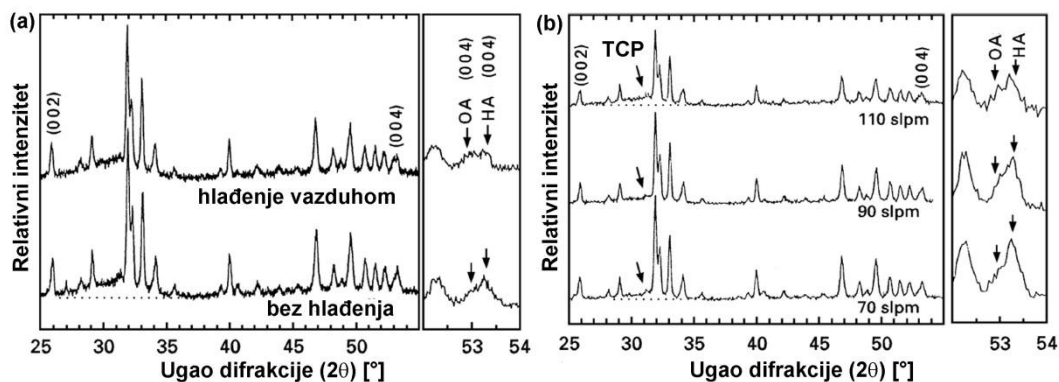
strane nižih vrednosti  $2\theta$  usled prisustva OA. Ovi HA pikovi imaju Milerove indekse ravni (002) i (004). Na Sl.76 je prikazana pojava razdvajanja HA pikova usled prisustva OA faze [50]. Pojava distorzije HA i OA pikova se jasno uočava u HA prevlakama koje su nanosene plamenim postupkom i čiji je rast usmeren u (00 $l$ ) pravcu. U ovom slučaju, razdvajanje (002) HA pika je bilo slabije izraženo na  $\sim 26.1^\circ 2\theta$  nego razdvajanje (004) HA pika na  $\sim 53.1^\circ 2\theta$  (Sl.76a). S druge strane, u slučaju HA prevlaka koje su nanosene atmosferskim plazma sprej postupkom u kojima je izražena stohastička orijentacija zrna HA faze, razdvajanje (002) HA pika nije bilo moguće detektovati, dok je distorzija (004) HA pika na  $\sim 53.1^\circ 2\theta$  bila primetna (Sl.76b). Zbog ovog se u HA prevlakama, koje su nanosene atmosferskim plazma sprej postupkom, prisustvo OA faze posmatra u odnosu na pojavu distorzije (razdvajanja, dubleta) (004) HA pika lociranog na  $\sim 53.1^\circ 2\theta$ . Fitovanjem (004) pikova OA i HA Lorentz-ovom funkcijom je moguće odrediti relativan udeo OA faze u odnosu na HA fazu, a nakon toga je moguće odrediti i udeo prisutne OA faze na nivou celog uzorka, pod uslovom da su poznati udeli svih faza prisutnih u HA prevlaci.



**Sl.76.** Rentgenski difraktogram (a) HA prevlake koja je nanosena plamenim postupkom i čiji je rast usmeren u (00 $l$ ) pravcu i (b) HA prevlake koja je nanosena atmosferskim plazma sprej postupkom sa stohastičkom orijentacijom HA kristala (adaptirano iz [50]).

Na Sl.77 su prikazane promene na rentgenskim difraktogramima HA prevlaka nanosenih atmosferskim plazma sprej postupkom pri različitim uslovima hlađenja substrata (Sl.77a) i pri različitim protocima primarnog plazma gasa (Sl.77b) na kojima se vide i promene udela OA i HA faza [50]. Primećuje se da se udeli OA i HA faza

povećavaju u odsustvu hlađenja substrata i pri manjim protocima primarnog plazma gasa, ali i da su promene udela HA faze intenzivnije u poređenju sa OA. Ovaj rezultat je pokazao da je rekristalizacija HA proces koji zahteva manju aktivacionu entalpiju u poređenju sa rekristalizacijom OA, što je u skladu sa rezultatima prethodnih istraživanja Gross i saradnika [44,52].



**SI.77.** Rentgenski difraktogram (a) HA prevlake koja je nanesena atmosferskim plazma postupkom pri različitim uslovima hlađenja substrata i (b) HA prevlake koja je nanesena atmosferskim plazma sprej postupkom sa različitim protocima primarnog plazma gasa; *slpm* – standardnih litara po minuti (adaptirano iz [50]).

### 2.6.3.3. Relativna kristaličnost HA prevlaka

U prethodnim istraživanjima su primenjeni različiti pristupi pri određivanju relativne kristaličnosti HA prevlaka XRPD analizom. Primenjene su tri standardne metode određivanja relativne kristaličnosti HA prevlaka [226]:

- *Metoda direktnog poređenja* – Relativno poređenje integralnog intenziteta kristalnih pikova iznad amorfne grbe sa integralnim intenzitetom celog difraktograma HA prevlaka (uključujući i amorfnu grbu) između  $\sim 25$  i  $\sim 37^\circ$ ,  $\sim 20$  i  $\sim 40^\circ$  ili  $\sim 25$  i  $\sim 60^\circ$   $2\theta$  [30,53,54,88,227,228].
- *Metoda spoljašnjeg standarda* – Relativno poređenje integralnog intenziteta ili visine odabranog HA pika sa difraktograma HA prevlaka sa integralnim

intenzitetom ili visinom istog HA pika na referentnom difraktogramu polaznog HA praha [31,51,65,66,73,78,85].

- *Metoda unutrašnjeg standarda* – Poređenje integralnih intenziteta pikova faza u sprašenom materijalu HA prevlake sa integralnim intenzitetom pikova sprašenog standardnog materijala, poput  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ili Si, pri čemu je mehanička smeša ovih prahova uvek u istom odnosu [96,229].

Pretraga dostupne literature je pokazala da su najčešće primenjene metode određivanja relativne kristaličnosti HA prevlaka metode direktnog poređenja i spoljašnjeg standarda, dok je najmanje ispitivanja vršeno primenom metode unutrašnjeg standarda. U literaturi postoje suprotstavljena mišljenja kada se radi o primeni metode direktnog poređenja. Naime, *Prevéy* je istakao da se ova metoda, iako ne zahteva primenu referentnog materijala, može primeniti u slučajevima potpuno kristalnih sistema ili u sistemima gde je unapred poznat udeo amorfne faze [226]. Međutim, s druge strane, *Singh i saradnici* su komentarisali da je Rutlandov metod, pored postojanja različitih metoda za određivanje relativne kristaličnosti HA prevlaka, pouzdan metod direktnog poređenja [88]. S druge strane, nedostatak primene metoda spoljašnjeg standarda je taj što su polazni HA prahovi u različitim studijama često proizvedeni različitim metodama. Kao takvi, oni mogu da poseduju različita polazna hemijsko-strukturno-morfološka svojstva, a time i različitu polaznu kristaličnost, što u značajnoj meri onemogućava poređenje rezultata relativnih kristaličnosti HA prevlaka određenih ovom metodom u različitim studijama ili u okviru iste studije, ukoliko su HA prevlake dobijene od polaznih HA prahova različitih proizvođača (vidi poglavlja 2.4.1.1 i 2.4.1.2). *Vilotijević i saradnici* su poredili relativne kristaličnosti HA prevlaka dobijenih primenom metoda direktnog poređenja i spoljašnjeg standarda (ASTM F2024-00), a rezultati su pokazali da su razlike u vrednostima relativnih kristaličnosti manje od ~8 %, dok su promene relativne kristaličnosti sa promenama ispitivanih parametara procesa nanošenja odstupale do ~5% [85]. Ovaj rezultat je jedan od primera koji pokazuje da je metoda direktnog poređenja pouzdana metoda za određivanje relativne kristaličnosti HA prevlaka, što je u skladu sa nivoom njene primene [30,53,54,88,227,228].



#### **2.6.4. Svetlosna mikroskopija (SM)**

SM analiza je našla najveću primenu pri posmatranju raspodele amorfne (ACP) i kristalne (HA) oblasti na poprečnim presecima HA prevlaka nanosenih atmosferskim plazma sprej postupkom [44,52,85]. Za razlikovanje ovih oblasti su iskorišćena dva specifična fenomena: (i) krtoća ACP faze [44,52,59,85] i (ii) postojanje velike razlike u rastvorljivosti ACP i HA faza [58,152]. Prvi fenomen je omogućio *Gross-u i saradnicima* da primete kako fino poliranje poprečnih preseka HA prevlaka uzrokuje brže uklanjanje materijala na pojedinim lokacijama. Naime, ACP oblasti su bile nekoliko desetina nanometara ispod nivoa kristalnih oblasti, što je davalo dobar kontrast za razlikovanje ACP oblasti primenom metode interferencije po Nomarskom [44]. Ove ACP oblasti su potvrđene primenom MRS analize [55,92] i metodom katodne luminescencije [92]. *Vilotijević i saradnici* su pokazali da kratkotrajno hemijsko nagrizanje poprečnih preseka vodenim rastvorom azotne kiseline ( $\text{HNO}_3$ ) daje dobar kontrast za ispitivanje pomoću SM u svetlom polju i otkriva raspodelu ACP i HA oblasti na poprečnom preseku HA prevlaka [85]. Ovakav metod je značajno brži i ekonomičniji, a daje slične rezultate kao i u slučaju metoda *Gross-a i saradnika* [44,52]. Pored raspodele ACP i HA oblasti, SM analiza može da se koristi i za posmatranje i određivanje udela poroznosti, prslina i delimično istopljenih čestica HA praha na poprečnim presecima HA prevlaka.

#### **2.6.5. Skenirajuća elektronska mikroskopija sa energetsko-disperzivnom spektrometrijom (SEM-EDS)**

SEM analiza, poput SM, može da se koristi za posmatranje raspodele ACP i HA oblasti na poprečnim presecima HA prevlaka [55,92]. Za ostvarivanje kontrasta se koriste sekundarni elektroni pomoću kojih može da se dobije informacija o topografiji površine poprečnog preseka na mikrometarskom ili, čak, u izuzetnim slučajevima, sub-mikrometarskom nivou. Takođe, SEM analiza se u prethodnim istraživanjima koristila za posmatranje defekata tipa pore, prslina i delimično istopljene čestice polaznog HA praha. U poglavlju 2.3 su dati primeri, kao i literaturni navodi, prethodnih istraživanja koji prikazuju poprečne preseke HA prevlaka i morfologije očvrstelih kapljica HA

depozita ispitivanih pomoću SEM analize (Sl.37, 38, 40, 41, 42 i 45). Još jedna od primena SEM analize se sastoji u korišćenju povratno rasutih elektrona koji mogu da daju različit kontrast između ACP i HA oblasti na osnovu razlike u hemijskom sastavu i gustini ovih faza, što je pokazano u studiji *Lu i saradnika* [80].

Specifičnost primene SEM se ogleda i u mogućnosti određivanja hemijskog sastava u mikrometerskim razmerama primenom EDS analize. Na osnovu merenja lokalnog hemijskog sastava moguće je odrediti lokalni molarni Ca/P odnos. Na osnovu ove vrednosti može da se dobije uvid u raspodelu faza prisutnih u HA prevlakama, koje u većini slučajeva pokazuju različit molarni Ca/P odnos (vidi Tab.14, poglavlje 2.6.5) [230]. Ovde treba napomenuti da je molarni Ca/P odnos faza CaO, CaCO<sub>3</sub> i Ca(OH)<sub>2</sub>, koje takođe mogu biti prisutne u HA prevlakama, beskonačan.

Procena prisustva različitih faza u HA prevlakama na osnovu molarnog Ca/P odnosa dobijenog EDS analizom je u određenom stepenu nepouzdana. S jedne strane, razlog za to je što pojedine kalcijum fosfatne faze poseduju blisku ili jednaku vrednost molarnog Ca/P odnosa, dok je, s druge strane, razlog greška određivanja ovog odnosa EDS analizom, koja može da se kreće i do ~0.5. Međutim, i pored toga, pojedine faze, poput ACP, TTCP, CaO, CaCO<sub>3</sub> i Ca(OH)<sub>2</sub>, imaju značajno veće vrednosti molarnog Ca/P odnosa u poređenju sa drugim kalcijum fosfatima (vidi Tab.14, poglavlje 2.6.5). Bez obzira na to što EDS analiza ne može nedvosmisleno da razlikuje pomenute faze, veće vrednosti molarnog Ca/P odnosa ukazuju na prisustvo ovih faza u određenom delu HA prevlake. Takva informacija je relevantna imajući u obzir da faze sa većim molarnim Ca/P odnosom (ACP, TTCP, CaO, CaCO<sub>3</sub> i Ca(OH)<sub>2</sub>) nastaju kao rezultat najintenzivnijeg termičkog razlaganja čestica polaznog HA praha u plazma mlazu (vidi poglavlja 2.2.1-2.2.3). Tako, ACP faza nastaje kaljenjem istopljenog dela čestica polaznog HA praha, CaO faza nastaje defosforizacijom istopljenog dela čestica polaznog HA praha koji je najbliži plazma mlazu, dok se CaCO<sub>3</sub> i Ca(OH)<sub>2</sub> faze potencijalno formiraju pri hlađenju HA prevlaka kroz reakciju CaO sa CO<sub>2</sub> i H<sub>2</sub>O iz ambijentalnog vazduha, respektivno. Na Sl.38 (vidi poglavlje 2.3.1.2) je prikazan primer linijske EDS analize poprečnog preseka HA prevlake na kome je pokazana primena ove analize za određivanje prisustva faza na osnovu molarnog Ca/P odnosa.

**Tab.14.** Molarni Ca/P odnos različnih vrsta apatita (adaptirano iz [230]).

Tip apatita	Hemijska formula	Ca/P
Monokalcijum fosfat monohidrat (MPCD)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \times \text{H}_2\text{O}$	0.5
Anhidrovani monokalcijum fosfat (MCPA)	$\text{Ca}(\text{HPO}_4)_2$	0.5
Dikalcijum fosfat dihidrat (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	1.0
Anhidrovani dikalcijum fosfat (DCPA)	$\text{CaHPO}_4$	1.0
Oktakalcijum fosfat (OCP)	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	1.33
$\alpha$ -trikalcijum fosfat ( $\alpha$ -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5
$\beta$ -trikalcijum fosfat ( $\beta$ -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5
Amorfni kalcijum fosfat (ACP)	$\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \times n\text{H}_2\text{O};$ $n=3-4.5; 15-20\% \text{ H}_2\text{O}$	1.2-2.2
Kalcijum-deficitarni hidroksiapatit (CDHA)	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x};$ $0 < x < 1$	1.5-1.67
Hidroksiapatit (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1.67
Oksiapatit/oksihidroksiapatit(OA/OHA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O} / \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}\text{O}_x\text{□}_x;$ □ – protonska praznina	1.67
Tetrakalcijum fosfat (TTCP)	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2

### 2.6.6. Energetsko-disperzivna fluorescenecija rentgenskih zraka (XRF)

XRF analiza je često primenjivana za ispitivanje hemijskog sastava sintetizovanih HA prahova kod kojih je neophodno kvantitativno određivanje molarnog Ca/P odnosa i prisustvo elementarnih nečistoća [231,232]. Prethodna istraživanja su pokazala dobro prosečno slaganje između XRF i EDS analize [231].

### 3. CILJEVI RADA

Na osnovu pregleda prethodnih istraživanja je ustanovljeno da postoje dobra slaganja kada se radi o razumevanju uticaja veličine polaznog HA praha na svojstva rezultujućih HA prevlaka dobijenih pomoću atmosferskog plazma sprej postupka. Međutim, s druge strane postoje i brojne kontradiktornosti vezane za uticaj *SOD* i  $T_S$ , kao i nedostatak dokumentovanih istraživanja o uticaju ovih parametara (posebno  $T_S$ ) na svojstva HA prevlaka. Takođe, jedan od najvećih nedostataka prethodnih istraživanja se odnosi na studije koje se bave uticajem pomenutih eksperimentalnih parametara postupaka nanošenja na svojstva HA prevlaka, koje su dobijene pomoću atmosferskih plazma sprej postupaka koji koriste visokoenergetske plazma izvore. Pored pomenutog, prethodna istraživanja su takođe pokazala da se procesi biomineralizacije proučavaju u simuliranim telesnim tečnostima u kojima se pH održava primenom nefizioloških pufera, poput Tris i HEPES pufera. Takođe, utvrđeno je da postoji nedostatak dokumentovanih istraživanja procesa biomineralizacije na površinama HA prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima u kojima se vrši aktivna regulacija pH pomoću fiziološkog pufera  $\text{CO}_2$ .

Na osnovu prethodnog, glavni naučni ciljevi ove doktorske disertacije su bili: (i) da se ispituju hemijska, strukturna i morfološka svojstva HA prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim atmosferskim plazma sprej postupkom, kao i (ii) proces početnog stadijuma procesa biomineralizacije na površinama dobijenih HA prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima u kojima se regulacija pH ostvaruje pomoću  $\text{CO}_2$ .

Specifični naučni ciljevi ove doktorske disertacije su bili:

- da se ispita uticaj veličine polaznog praha na hemijska, strukturna i morfološka svojstva HA prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim atmosferskim plazma sprej postupkom,
- da se ispita uticaj *SOD* na hemijska, strukturna i morfološka svojstva HA prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim atmosferskim plazma sprej postupkom,

- da se ispita uticaj  $T_S$  na hemijska, strukturna i morfološka svojstva HA prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim atmosferskim plazma sprej postupkom,
- da se predloži mehanizam formiranja dobijenih HA prevlaka pomoću visokoenergetskog laminarnog atmosferskog plazma sprej postupka i da se ovaj mehanizam uporedi sa trenutno aktuelnim Sun-ovim modelom formiranja HA prevlaka,
- da se napravi procedura za modifikaciju Kokubo rastvora u kojima je moguće vršiti aktivnu regulacija pH pomoću fiziološkog pufera  $\text{CO}_2$ ,
- da se ispita uticaj prisustva fiziološke smeše ljudskih proteina albumin i gama globulin na pH stabilnost simuliranih telesnih tečnosti sa aktivnom regulacijom pH pomoću  $\text{CO}_2$ ,
- da se ispita uticaj prisustva fiziološke smeše ljudskih proteina albumin i gama globulin na formiranje karbonatnog apatita na površini dobijenih HA prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima, bez i sa aktivnom regulacijom pH pomoću  $\text{CO}_2$ ,
- da se na osnovu rezultata istraživanja dobijenih u ovom radu predlože smernice za dalja istraživanja.

## 4. EKSPERIMENTALNI DEO

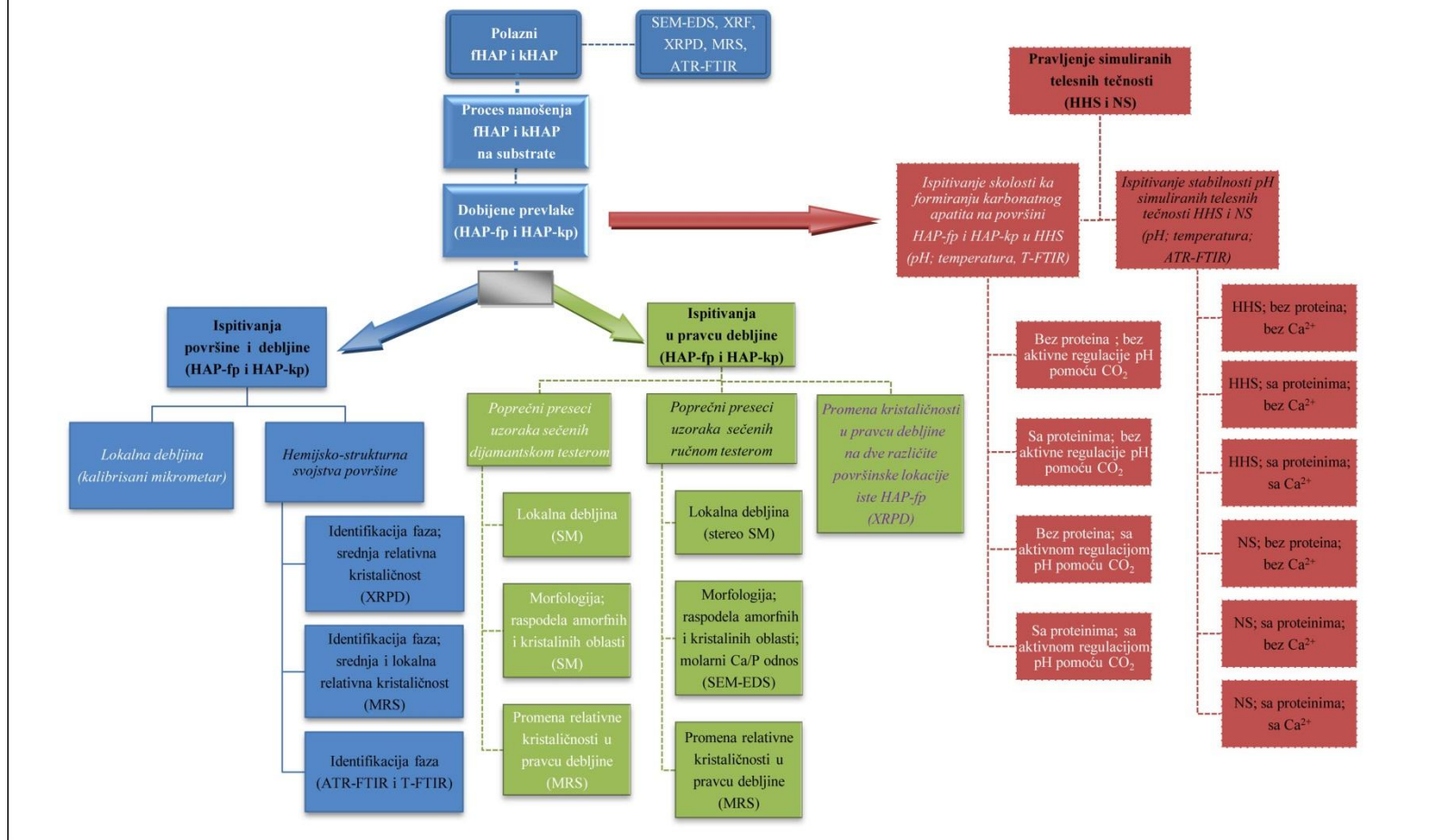
### 4.1. Vrste, redosled i ciljevi eksperimenata i ispitivanja

Sl.78 shematski prikazuje tok ispitivanja i eksperimenata u ovom radu na kojoj plavi i zeleni elementi ukazuju na ispitivanja fHAP i kHAP, eksperimente nanošenja i ispitivanje HA prevlaka, dok se crveni elementi odnose na eksperimente u simuliranim telesnim tečnostima.

Veličina i morfologija fHAP i kHAP su procenjeni pomoću skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM) (vidi poglavlje 4.3.7). Kvantitativna merenja srednje veličine polaznih HA prahova i njihove raspodele nisu vršena jer su bila garantovana od strane proizvođača (vidi poglavlje 4.2.1.1). Nakon SEM analize, izvršeno je ispitivanje hemijskog sastava fHAP i kHAP pomoću energetske-disperzivne spektrometrije (EDS) (vidi poglavlje 4.3.7) i energetske-disperzivne fluorescencije rentgenskih zraka (XRF) (vidi poglavlje 4.3.1). Potom je izvršena analiza faznog sastava fHAP i kHAP pomoću rentgenske difraktometrije praha (XRPD) (vidi poglavlje 4.3.2), mikro-Ramanove spektroskopije (MRS) (vidi poglavlje 4.3.5.1) i prigušene unutrašnje reflektivne infracrvene spektroskopije sa Fourier-ovom transformacijom (ATR-FTIR) (vidi poglavlje 4.3.3.1). Zatim je izvršeno nanošenje fHAP i kHAP na substrate od nerđajućeg čelika postupkom visokoenergetskog laminarnog atmosferskog plazma sprej postupka (vidi poglavlja 4.2.1.2 i 4.2.1.3). HA prevlake koje su nanosene pomoću fHAP će u daljem tekstu biti označavane kao *HAP-fp* (hidoksiapatitne prevlake od finijeg praha), a HA prevlake od kHAP kao *HAP-kp* (hidoksiapatitne prevlake od krupnijeg praha).

## Hemijsko-strukturalna svojstva polaznih HA prahova i HA prevlaka u nanešenom stanju

## Stabilnost pH i taloženje karbonatnog apatita



Sl.78. Shematski prikaz vrsta i redosleda eksperimenata i ispitivanja u ovom radu.

Nakon nanošenja fHAP i kHAP na substrate, izvršena su: (i) ispitivanja hemijsko-strukturnih svojstava površine HAP-fp i HAP-kp (vidi poglavlja 4.3.2, 4.3.3, 4.3.5.1), kao i merenja njihove debljine (plavi elementi, Sl.78) (vidi poglavlje 4.3.4), (ii) ispitivanja hemijsko-strukturnih svojstava u pravcu debljine HAP-fp i HAP-kp (zeleni elementi, Sl.78) (vidi poglavlja 4.3.2, 4.3.5.2, 4.3.6 i 4.3.7), kao i (iii) ispitivanja pH stabilnosti simuliranih telesnih tečnosti i formiranja karbonatnog apatita na površinama odabranih HAP-fp i HAP-kp u simuliranim telesnim tečnostima (crveni elementi, Sl.78) (vidi poglavlja 4.3.8, 4.3.3.1 i 4.3.3.2).

Vizuelnim pregledom uzoraka je ustanovljeno da su HA prevlake imale neuniformnu debljinu (posebno u slučaju HAP-fp) zbog čega su izvršena merenja debljine svih HA prevlaka kalibrisanim mikrometrom (plavi elementi sa svetlim tekstom, Sl.78) na prethodno utvrđenim lokacijama merenja (vidi poglavlje 4.3.4). Potom su izvršene XRPD, ATR-FTIR i T-FTIR (transmisiona infracrvena spektrometrija sa Fourier-ovom transformacijom) analize površinskih delova HA prevlaka (plavi elementi sa tamnim tekstom, Sl.78) na osnovu kojih je izvršena procena: (i) prisustva faza na površinama HA prevlaka, (ii) srednje relativne kristaličnosti površinskih delova HA prevlaka, kao i (iii) razlika koje je izazvao atmosferski plazma sprej proces u odnosu na polazno stanje HA prahova (plavi elementi sa tamnim tekstom, Sl.78). Pored toga, površine HAP-fp i HAP-kp su analizirane pomoću MRS (vidi poglavlje 4.3.5) na istim lokacijama merenja na kojima su izvršena merenja lokalne debljine HA prevlaka (vidi poglavlje 4.3.4).

Nakon površinskih analiza, izvršena su ispitivanja hemijsko-strukturnih svojstava u pravcu debljine HA prevlaka (zeleni elementi, Sl.78). U prvom slučaju (zeleni elementi sa svetlim tekstom, Sl.78), uzorci su sečeni dijamantskom testerom u pravcu najvećih razlika u lokalnoj debljini i lokalnoj strukturi HA prevlaka (pravac 1-5-9, vidi poglavlja 4.3.4 i 4.3.5.2). Pravac sečenja 1-5-9 je bio ustanovljen na osnovu prethodnih površinskih hemijsko-strukturnih merenja, kao i merenja lokalne debljine HA prevlaka. Nakon sečenja, izvršena su MRS merenja na poliranim poprečnim presecima u pravcu debljine HA prevlaka na dve udaljene lokacije merenja (posmatrano u pravcu paralelnom interfejsu prevlaka/substrat) 9 i 1 (vidi poglavlje 4.3.5.2), nakon čega su izmerene debljine poprečnih preseka duž 1-5-9 pravca pomoću SM (vidi poglavlje 4.3.6). Potom su polirani poprečni preseki nagriženi vodenim rastvorom



HNO<sub>3</sub> i analizirani pomoću svetlosne mikroskopije (SM) u svetlom polju. U drugom slučaju (zeleni elementi sa tamnim tekstom, Sl.78), uzorci su sečeni ručnom testerom pri čemu je sečenje u većem broju slučajeva vršeno u pravcu 2-5-8, ali i u pravcima 1-4-7, 3-6-9 i 1-5-9 (vidi Sl.89, poglavlje 4.3.5.2). Nakon sečenja, izvršena su merenja debljine pomoću stereo SM u pomenutim pravcima, a potom i MRS i SEM-EDS merenja na poliranim poprečnim presecima u pravcu debljine HA prevlaka oko lokacije merenja 5. Takođe, pojedini uzorci su bili analizirani pomoću SEM-EDS u pravcu 1-5-9. U trećem slučaju (zeleni elementi sa ljubičastim tekstom, Sl.78), izvršena je kontrolna XRPD analiza u pravcu debljine HAP-fp na udaljenim lokacijama (vidi poglavlje 4.3.2) sa ciljem provere zapažanja formiranim na osnovu rezultata MRS i SM merenja.

Razlog zbog koga je vršeno sečenje ručnom testerom HA prevlaka je bio da se unesu velika naprezanja i na taj način veštački izazove pojava prslina na interfejsu prevlaka/substrat i/ili unutar prevlaka. Na osnovu ovog je izvršena analiza slabijih mesta u HA prevlakama, koja je upoređena sa MRS merenjima relativne kristaličnosti i SEM-EDS merenjima molarnog Ca/P odnosa. S druge strane, sečenje dijamantskom testerom je uzrokovalo značajno manja naprezanja u odnosu na sečenje ručnom testerom i u tom smislu je posmatrano kao referentno stanje. Generalni ciljevi XRPD, MRS, SM i SEM-EDS analiza su bili da se utvrdi raspodela amorfnih i kristalnih oblasti u pravcu debljine HA prevlaka.

U drugom delu ovog rada, napravljene su dve vrste simuliranih telesnih tečnosti primenom fizioloških pufera: HHS i NS (crveni elementi sa tamnim tekstom, Sl.78) (vidi poglavlja 4.2.2.1 i 4.2.2.2). Osnovna razlika između ovih rastvora je što jedan simulira hiperhloroemično metaboličko stanje (HHS), a drugi normalno stanje (NS), tj. zdravo stanje, ljudskog organizma. Sastavi ovih simuliranih telesnih tečnosti su izabrani na osnovu rezultata analiza ljudske krvi iz prethodnih istraživanja [101]. Nakon pravljenja polaznih simuliranih telesnih tečnosti, izvršeno je testiranje njihove pH stabilnosti sa i bez prisustva proteinskih vrsta, kao i sa i bez prisustva Ca<sup>2+</sup> jona (vidi poglavlja 4.2.2.3 i 4.2.2.4). Ciljevi ovih ispitivanja su bili da se proceni sposobnost puferovanja fiziološke smeše HGG i HSA proteina u oblasti fiziološke pH, kao i da se proceni uticaj procesa taloženja (prisustva Ca<sup>2+</sup> jona) na stabilnost pH. Eksperimenti su vršeni primenom principa nanošenja biomimetičkih prevlaka karbonatnog apatita u kojima se taloženje karbonatnog apatita postiže neregulisanim porastom pH usled

difuzije CO<sub>2</sub> iz rastvora u okolni ambijentalni vazduh [150] (vidi Sl.51, poglavlje 2.5.3.1.1). Nakon ovih eksperimenata, u HHS simulirane telesne tečnosti su porinute odabrane HA prevlake u nanesenom stanju (crveni elementi sa svetlim tekstom, Sl.78), a potom je posmatran proces taloženja karbonatnog apatita na njihovim površinama u uslovima neregulisanog porasta pH [150] (u prisustvu i odsustvu proteinskih vrsta) i u uslovima aktivne regulacije pH (7.2-7.4) pomoću CO<sub>2</sub> [115] (u prisustvu i odsustvu proteinskih vrsta) (vidi poglavlje 4.2.2.5). Ciljevi ovih eksperimenata su bili da se proceni uticaj fiziološke smeše HGG i HSA proteina na proces taloženja karbonatnog apatita na površinama HA prevlaka.

## 4.2. Eksperimentalne procedure

### 4.2.1. Eksperimenti nanošenja HA prevlaka

#### 4.2.1.1. Materijali

##### Polazni HA prahovi

Za nanošenje HA prevlaka visokoenergetskim laminarnim atmosferskim plazma sprej postupkom su korišćeni sledeći komercijalno dostupni HA prahovi [85,233,234]:

1. *XPT-D-703* (proizvođač: Sulzer Metco, USA); srednja veličina čestica 33±12 μm (u daljem tekstu: *fHAP*) (vidi Sl.A1-1, **Prilog A1**).
2. *Captal 90* (proizvođač: Plasma Biotal, UK) srednja veličina čestica 90±15 μm (u daljem tekstu: *kHAP*) (vidi Tab.A1-1, Sl.A1-2, **Prilog A1**).

##### Substrat

Materijal substrata na kome je izvršeno nanošenje HA prahova je bio napravljen od nerđajućeg čelika AISI 316 LVM [85,233,234] (kvalitet za primenu u medicini), čiji je hemijski sastav dat u Tab.15 [235,236]. Ovaj nerđajući čelik poseduje poboljšanu otpornost na koroziju u odnosu na AISI 316L [236] (vidi **prilog A2**).

**Tab.15.** Srednji hemijski sastav nerđajućeg čelika AISI 316 LVM.

Ref.	Hemijski element [mas.%]*								
	C	Si	Mn	P	S	Cr	Mo	Ni	N
235	0.019	0.36	1.86	0.017	0.001	17.29	2.77	14.34	0.086
236	≤ 0.030	≤ 1.00	≤ 2.0	≤ 0.025	≤ 0.010	17.0-19.0	2.5-3.2	13.0-15.5	≤ 0.10

\*Ostatak do ~100 mas.% čini Fe.

#### 4.2.1.2. Procedura nanošenja HA prevlaka

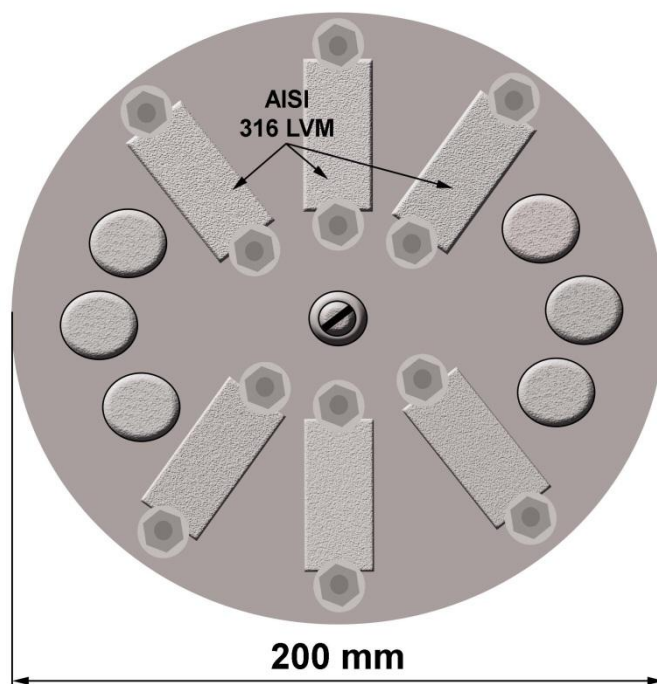
U ovom radu su HA prevlake dobijene pomoću *PJ-100* plazma instalacije [85,233,234]. Proces nanošenja je izveden u Laboratoriji za materijale Instituta za nuklearne nauke Vinča, Beograd, Srbija. *PJ-100* plazma instalacija je napravljena i patentirana od strane Dr Miroljuba Vilotijevića (Plasma Jet, Beograd, Srbija) i poseduje niz svojstava koji je bitno izdvajaju od postojećih konvencionalnih plazma instalacija [85,237-239]. Najvažnije razlike u odnosu na konvencionalne sisteme su laminarnost toka i homogenost brzine i temperature plazma mlaza pri visokim energijama plazma izvora (za detalje vidi **prilog A3**).

#### Priprema substrata

Pre nanošenja polaznih fHAP i kHAP, substrati od nerđajućeg čelika *AISI 316 LVM* su dobijeni sečenjem lima ovog materijala na dimenzije ~50 mm × ~25 mm × ~3 mm [85,233,234]. Nakon toga je izvršena standardna procedura peskarenja površine substrata česticama korunduma (heksagonalni Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) srednje veličine ~2 mm. Zatim su substrati očišćeni u etanolu primenom ultrazvučnog kupatila. Hrapavost površine nakon postupka peskarenja je iznosila 5.00±0.28 μm, što je utvrđeno pomoću analizatora površinske hrapavosti *Perthen Perthometer* [85,233,234].

Nakon sečenja, peskarenja i čišćenja, substrati su bili fiksirani na nosač za uzorke u obliku diska prečnika ~200 mm, kako je prikazano na Sl.80 [85,233,234]. Ova slika takođe prikazuje mogućnost montiranja različitih vrsta substrata na nosač za uzorke. Tako su, zbog maksimalnog iskorišćenja, pored naznačenih *AISI 316 LVM*

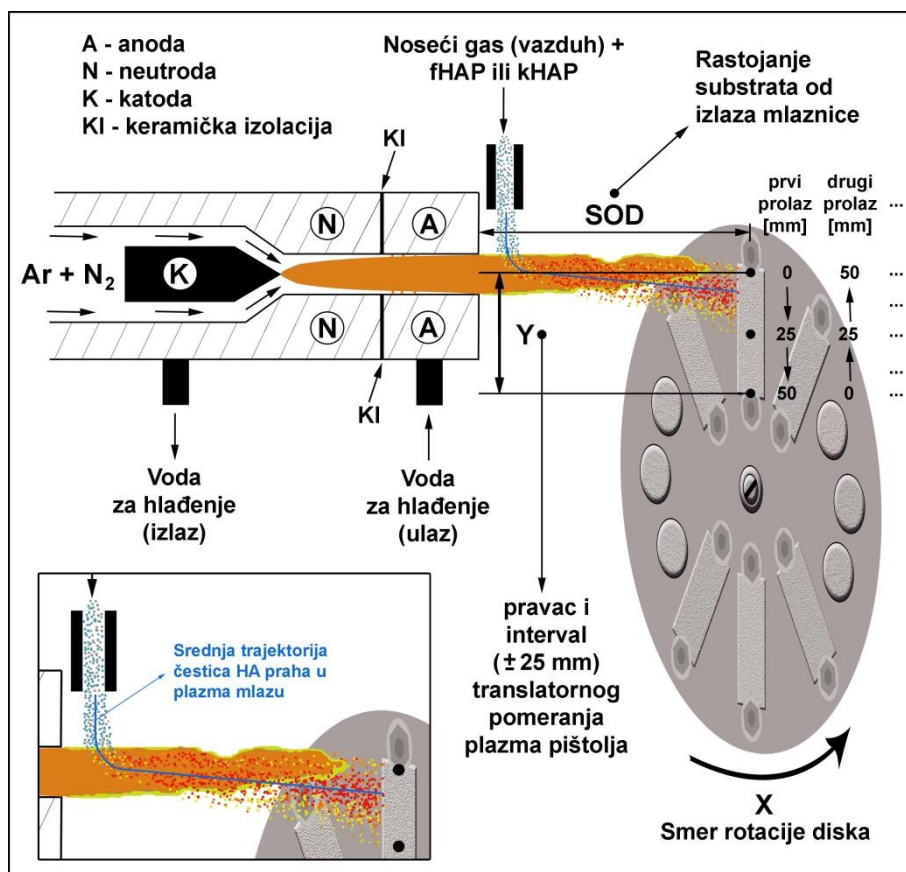
substrata, koji su korišćeni u ovom radu [233,234], na nosač za uzorke postavljani i substrati različitih oblika (Sl.80) [85].



**Sl.80.** Ilustracija nosača za uzorke u obliku diska.

### Postupak nanošenja

Nakon podešavanja svih parametara plazma sprej procesa (vidi Tab.16 i 17, poglavlje 2.1.2.3) izvršeno je paljenje električnog luka i formiranje plazma mlaza (Sl.81) (za detalje vidi **prilog A3**). Zatim je otpočeta rotacija nosača za uzorke u obliku diska u smeru  $X$  i doziranje polaznog HA praha (fHAP ili kHAP) normalno na aksijalni pravac plazma mlaza (Sl.81, donji levi ugao). Brzina revolucije substrata od nerđajućeg čelika tokom procesa nanošenja je bila konstantna i iznosila je  $\sim 3.7$  rev/s. Detalji vezani za funkcionalnost PJ-100 plazma instalacije (funkcija neutralne elektrode, tj. neutrode ( $N$ ), uvođenje plazma gasova, oštećenje sistema, mere zaštite i dr.) su dati u **prilogu A3**.



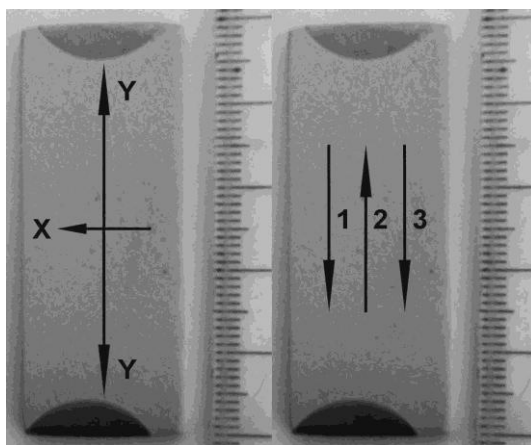
Sl.81. Ilustracija postupka nanošenja HA prevlaka pomoću PJ-100 plazma pištolja.

Sl.81 prikazuje početni položaj plazma pištolja (0 mm, prvi prolaz) [85,233,234]. U momentu početka doziranja polaznog HA praha, plazma pištolj je otpočeo translatorno da se kreće u Y-pravcu, što je naznačeno na Sl.81. Po dostizanju suprotnog kraja pločice (50 mm, prvi prolaz), drugi prolaz je vršen u suprotnom smeru. Treći prolaz je bio isti kao i prvi itd. Translatorsno pomeranje plazma pištolja je regulisano manuelno, dok je vreme trajanja svakog prolaza iznosilo 7-10 s. Nakon svakog prolaza su pravljene pauze od nekoliko minuta kako bi se sprečilo prekomerno zagrevanje substrata. Merenja temperature su pokazala da je proces nanošenja uticao na povećanje inicijalne temperature substrata za maksimalno  $\sim 50$  °C. Ovde treba napomenuti da je u odsustvu translatorsnog pomeranja plazma pištolja i rotacije nosača za uzorke utvrđeno da je površina substrata koja je bila prekrivena česticama istopljenog i zakaljenog polaznog HA praha iznosila oko  $1300-2000 \text{ mm}^2$  ( $\sim 20-25$  mm u prečniku).

Kada je vršeno nanošenje HA prevlaka sa predgrevanjem substrata, inicijalna temperatura substrata je postignuta termostatisanjem (zagrevanjem) nosača za uzorke sa

montiranim substratima u peći za sušenje do temperature koja je bila viša od inicijalne temperature substrata kako bi se nadomestio pad temperature od trenutka vađenja nosača za uzorke iz peći za sušenje do trenutka početka procesa nanošenja. Kao posledica ovog pada temperature, greške inicijalne temperature substrata su bile unutar intervala od  $\pm 10$  °C.

Na Sl.82 je prikazan tipičan izgled HA prevlaka dobijenih nakon procesa nanošenja visokoenergetskim laminarnim plazma sprej postupkom (vidi takođe Sl.A3-5, **prilog A3**). Na slici levo je naznačen pravac translatornog pomeranja plazma pištolja (*Y*) i smer rotacije nosača za uzorke u obliku diska (*X*), dok je na slici desno prikazan smer translatornog pomeranja plazma pištolja u slučaju višeprolaznog (1-3) procesa nanošenja HA prevlaka, što je takođe naznačeno na Sl.81. Uzorci HA prevlaka sa Sl.82 su u većini slučajeva sečeni na pola, pri čemu je jedna polovina korišćena za ispitivanja hemijskih, strukturnih i morfoloških svojstava HA prevlaka u nanosenom stanju (vidi Sl.A3-6, **prilog A3**), a druga za pravljenje uzoraka za eksperimente biomineralizacije HA prevlaka (vidi **prilog A5**).



**Sl.82.** Tipičan izgled HA prevlaka u nanosenom stanju; *Y* – pravac translacije plazma pištolja; *X* – smer rotacije nosača za uzorke u obliku diska; 1-3 – broj prolaza plazma pištolja u slučaju višeprolaznog nanošenja HA prevlaka.

#### 4.2.1.3. Parametri procesa nanošenja

U Tab.16 su dati parametri procesa nanošenja koji su tokom svih eksperimenata u ovom radu održavani u naznačenim granicama [85,233,234].

**Tab.16.** Parametri procesa nanošenja HA prevlaka *PJ-100* plazma instalacijom.

Parametar [jedinica]	Vrednost
Snaga [kW]	52.0±1.5
Napon [V]	120±2
Jačina struje [A]	430±5
Protok Ar (primarni plazma gas) [dm <sup>3</sup> /min]	38.5±1.2
Protok N <sub>2</sub> (sekundarni plazma gas) [dm <sup>3</sup> /min]	28.2±1.0
Protok vazduha (noseći gas) [dm <sup>3</sup> /min]	8.0
Potrošnja (doziranje) praha [g/s]	2.0±0.1

U ovom radu je ispitan je uticaj tri parametra procesa nanošenja plazma sprej postupkom: 1) srednje veličine čestica polaznog HA praha izražene preko srednjeg prečnika čestica ( $d_{HA}$ ), rastojanja mlaznice od substrata (*eng.* stand-off distance – *SOD*) i predgrevanja substrata, tj. inicijalne temperature substrata ( $T_S$ ). U Tab.17 su date sve kombinacije parametara procesa nanošenja HA prevlaka primenjene u ovom radu. U svakom eksperimentu, tj. za svaku kombinaciju parametara nanošenja, su proizvedene po tri HA prevlake.

**Tab.17.** Primenjene kombinacije parametara nanošenja plazma sprej postupkom.

Red. br.	$d_{HA}$ [μm]	$T_S$ [°C]	<i>SOD</i> [mm]
<b>1</b>	33	20	80
<b>2</b>	33	20	100
<b>3</b>	33	20	150
<b>4</b>	33	100	100
<b>5</b>	33	200	80
<b>6</b>	33	200	100
<b>7</b>	33	200	150
<b>8</b>	90	20	80
<b>9</b>	90	20	100
<b>10</b>	90	100	80
<b>11</b>	90	200	80
<b>12</b>	90	200	100
<b>13</b>	90	200	150

## 4.2.2. Eksperimenti u simuliranim telesnim tečnostima

### 4.2.2.1. Reagensi za simulirane telesne tečnosti

Sledeći reagensi su korišćeni za pravljenje simuliranih telesnih tečnosti:

1. Voda ultra-visoke čistoće (dobijena prečišćavanjem u Milli-Q System, Millipore, Billerica, MA, USA,  $\sim 18.2 \text{ M}\Omega \times \text{cm}$ ),
2. Natrijum hlorid (NaCl),
3. Kalijum hlorid (KCl),
4. Magnezijum hlorid heksahidrat ( $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ),
5. Kalijum sulfat ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ),
6. Dinatrijum hidrogenfosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ),
7. Natrijum hidrogenkarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ),
8. Kalijum hidrogenkarbonat ( $\text{KHCO}_3$ ),
9. Vodeni rastvot natrijum hidroksida (NaOH, 3.75 mol/l),
10. Ugljen dioksid ( $\text{CO}_{2(\text{g})}$ , čistoća 99.98 %),
11. Ljudski serum gama-globulin (HGG – *eng.* human gamma globulin, hladno sušeni prah, proizvođač: Golden West Biologicals, Inc, Temecula, CA, USA, vidi **prilog A4**),
12. Ljudski serum albumin (HSA – *eng.* human serum albumin, hladno sušeni prah, proizvođač: Golden West Biologicals, Inc, Temecula, CA, USA (vidi **prilog A4**) i
13. Kalcijum hlorid dihidrat ( $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ).

### 4.2.2.2. Pravljenje polaznih simuliranih telesnih tečnosti

Početne količine reagenasa koje su korišćene u radu su određene tako da simuliraju sastav krvne plazme ljudskog organizma u stanju hiperhloraeamične acidoze (u daljem tekstu: HHS – hiperhloraeamično stanje) [101] i sastav krvne plazme zdravog ljudskog organizma (u daljem tekstu: NS – normalno stanje) [101]. U Tab.18 su dati redosledi dodavanja reagenasa, vrste reagenasa, količine reagenasa, kao i teorijske



jonske koncentracije polaznih HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti. Tipičan molarni odnos  $\text{Cl}^-/\text{Na}^+$ , molarna koncentracija hidrogenkarbonatnih jona i pH krvne plazme zdravog ljudskog organizma (NS) su 0.75-0.79, 24-27 mmol/l i ~7.4, respektivno, dok su u slučaju hiperhloremične acidoze (HHS) >0.79, <24 mmol/l i <7.4, respektivno.

**Tab.18.** Redosled dodavanja reagenasa, vrste reagenasa, količine reagenasa rastvorenih u 100 ml ultra-čiste vode i teorijske jonske koncentracije polaznih HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti.

Redosled dodavanja reagenasa	Vrsta reagenasa	Količina reagenasa		Vrsta jona	Teorijska jonska koncentracija [mmol/l]	
		HHS	NS		HHS	NS
1	NaCl	0.64112 g	0.57099 g	$\text{Na}^+$	141.0	141.0
2	KCl	0.00820 g	0.02311 g	$\text{K}^+$	4.1	4.1
3	$\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0.01626 g	0.01626 g	$\text{Mg}^{2+}$	0.8	0.8
4	$\text{K}_2\text{SO}_4$	0.00871 g	0.00871 g	$\text{Ca}^{2+}$ (*)	--	--
5	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	0.01420 g	0.01420 g	$\text{SO}_4^{2-}$	0.5	0.5
6	$\text{NaHCO}_3$	0.12937 g	0.20162 g	$\text{Cl}^-$ (*)	112.4	102
7	$\text{KHCO}_3$	0.02002 g	--	$\text{HCO}_3^-$ (**)	17.4	24.0
8	3.75 mol/l-NaOH	0.371 ml	0.461 ml	$\text{HPO}_4^{2-}$	1.0	1.0

(\*) – polazne simulirane telesne tečnosti ne sadrže  $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ .

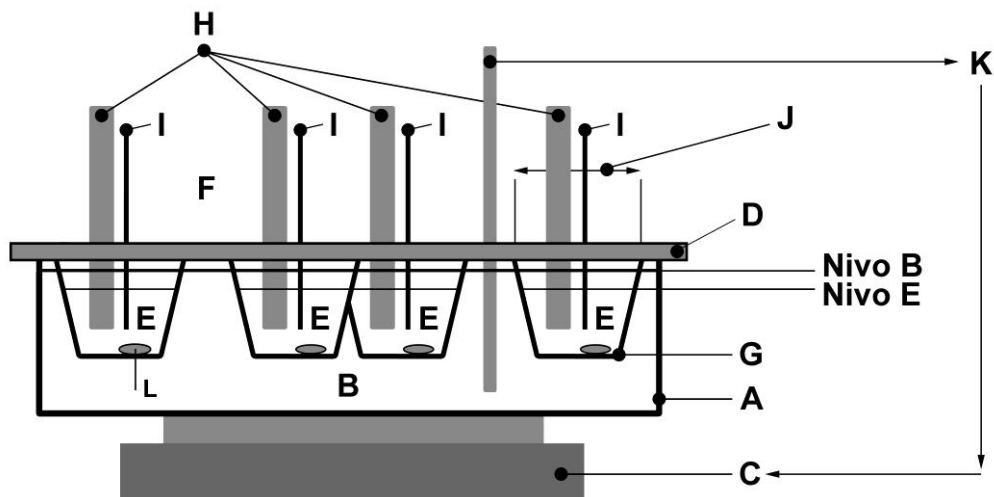
(\*\*) – iako su prisutni, postojanje  $\text{CO}_3^{2-}$  jona kao produkta reakcije  $\text{NaOH} + \text{HCO}_3^-$  je zanemareno.

HHS i NS simulirane telesne tečnosti su napravljene na sledeći način. 100 ml ultra-čiste vode je dodato u staklenu čašu zapremine ~200 ml, koja je nakon toga porinuta u staklenu čašu sa ravnim dnom prethodno ispunjenu tehničkom vodom. Tehnička voda je bila prethodno zagrejana na 36.5-37.0 °C pomoću grejača magnetne mešalice. Kada je ultra-čista voda dostigla 36.5-37.0 °C, u njoj su istovremeno rastvoreni reagensi 1-4 (Tab.18), nakon čega je izvršeno sukcesivno dodavanje reagenasa 5, 6-7 i 8 (Tab.18). Mase reagenasa su bile izmerene pomoću analitičke vage (vidi poglavlje 4.3.8). Pauze su pravljene pre svakog dodavanja reagenasa ili grupe reagenasa kako bi se omogućilo njihovo potpuno rastvaranje, stabilizacija temperature i pH. Magnetno mešanje je vršeno pri konstantnoj brzini od ~250 rpm. Tokom pravljenja polaznih simuliranih telesnih tečnosti, promene u rastvorima su praćene pomoću ATR-FTIR (vidi poglavlje 4.3.3.1), kao i merenjem pH i temperature (vidi poglavlje 4.3.8).

#### 4.2.2.3. Eksperimentalna postavka za testiranje pH stabilnosti i taloženja karbonatnog apatita

Sl.83 daje prikaz eksperimentalne postavke za testiranje pH stabilnosti simuliranih telesnih tečnosti i sklonosti ka formiranju karbonatnog apatita u simuliranim telesnim tečnostima. Staklena čaša sa ravnim dnom zapremine ~3000 ml (*A*) je bila ispunjena tehničkom vodom (*B*) i postavljena na magnetnu mešalicu sa grejačem (*C*). Plastični poklopac (*D*) je bio napravljen tako da: (*i*) omogući neometan kontakt između simuliranih telesnih tečnosti (*E*) i vazduha iz atmosfere (*F*), (*ii*) omogući neometan kontakt između plastičnih čaša (*G*) i vode tehničke čistoće iz staklene čaše sa ravnim dnom (*B*), (*iii*) obezbedi dovoljno prostora za pH elektrode (*H*), analogne termometre (*I*) i dodatak reagenasa u odgovarajuću simuliranu telesnu tečnost i (*iv*) umanjí efekat isparavanje tehničke vode (*B*) iz staklene čaše sa ravnim dnom (*A*). Plastični poklopac (*D*) je imao 4 otvora (*J*). Na svakom otvoru je sa jedne strane zalepljena plastična čaša zapremine ~40 ml (*G*) pomoću epoksi lepka. Spoj ostvaren epoksi lepkom je termički tretiran u peći u ambijentalnom vazduhu na ~45 °C u trajanju od ~24 h. Nakon termičkog tretmana, plastični poklopac (*D*) je postavljen preko staklene čaše sa ravnim dnom (*A*), kako je prikazano na Sl.83.

Pre izvođenja eksperimenata, sav plastični i stakleni pribor koji je dolazio u direktan kontakt sa simuliranim telesnim tečnostima je redom očišćen u acetonu, hlorovodoničnoj kiselini i ultra-čistoj vodi, a nakon toga je osušen u peći u ambijentalnom vazduhu na ~120 °C u trajanju od ~24 h (sterilizacija). Tokom svih eksperimenata, automatska regulacija temperature između ~36.5 i ~37 °C je ostvarivana preko termopara (*K*) koji je bio direktno povezan na magnetnu mešalicu, dok su svi eksperimenti testiranja pH stabilnosti simuliranih telesnih tečnosti i sklonosti ka formiranju karbonatnog apatita na površini HA prevlaka izvršeni pri brzini magnetnog mešanja od ~250 rpm pomoću plastificiranog magnetnog mešača (*L*). Ovde treba napomenuti da, tokom eksperimenata, pH elektrode i analogni termometri nisu konstantno bili porinuti u HHS i NS simulirane tečnosti, već su uvođeni u trenutcima kada su vršena merenja.



**Sl.83.** Eksperimentalna postavka za testiranje pH stabilnosti i taloženje karbonatnog apatita u simuliranim telesnim tečnostima; *A* – staklena čaša sa ravnim dnom, *B* – tehnička voda, *C* – magnetni mešalica sa grejačem, *D* – plastični poklopac, *E* – HHS ili NS simulirana telesna tečnost, *F* – ambijentalni vazduh, *G* – plastična čaša, *H* – pH elektrode, *I* – analogni termometri, *J* – otvor na plastičnom poklopcu, *K* – termopar u sprezi sa grejačem magnetne mešalice za regulaciju temperature; *L* – plastificirani magnetni mešač.

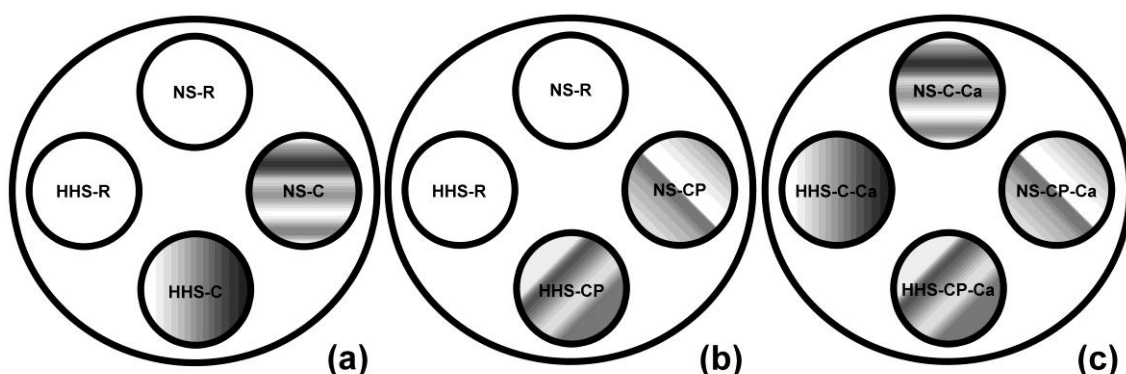
#### 4.2.2.4. Ispitivanja pH stabilnosti simuliranih telesnih tečnosti

Sl.84 prikazuje kombinacije eksperimenata koje su izvršene pri razmatranju uticaja prisustva CO<sub>2</sub>, proteina i Ca<sup>2+</sup> jona na stabilnost pH simuliranih telesnih tečnosti. Veći krugovi na slici predstavljaju plastične poklopce (*D*) sa Sl.83, dok manji krugovi predstavljaju plastične čaše (*G*) sa Sl.83 gledane odozgo.

U prvom setu eksperimenata (Sl.84a), u kojima je praćen uticaj dodavanja CO<sub>2</sub> na promene pH simuliranih telesnih tečnosti HHS i NS, u dve plastične čaše je dodato po ~25 ml polaznog HHS rastvora (vidi Tab.18, poglavlje 4.2.2.2), koje su prethodno filtrirane kroz staklene filtre (Milipore), dok je u preostale dve čaše dodato po ~25 ml filtriranog polaznog NS rastvora (vidi Tab.18, poglavlje 4.2.2.2). Nakon toga, u jednoj plastičnoj čaši sa polaznim HHS rastvorom je izvršeno dodavanje CO<sub>2</sub> iz boce dok pH vrednost rastvora nije dostigla ~8.3, kada je izvršen prekid dodavanja CO<sub>2</sub> (HSS-R, Sl.84a). U drugoj plastičnoj čaši sa polaznim HHS rastvorom je izvršeno dodavanje i

prekid dodavanja CO<sub>2</sub> na vrednosti pH rastvora od ~7.2 (HHS-C, Sl.84a). U trećoj i četvrtoj čaši sa polaznim NS rastvorima je izvršeno dodavanje i prekid dodavanja CO<sub>2</sub> na vrednosti pH rastvora od ~8.3 (NS-R, Sl.84a) i ~7.4 (NS-C, Sl.84a), respektivno.

- (1) HHS-R & NS-R - dodavanje CO<sub>2</sub> do pH=8.3 + prekid dodavanja CO<sub>2</sub> - referentne pH promene  
 (2) HHS-C & NS-C - dodavanje CO<sub>2</sub> do pH=7.4 ili 7.2 + prekid dodavanja CO<sub>2</sub> - uticaj CO<sub>2</sub>  
 (3) HHS-CP - dodavanje CO<sub>2</sub> do pH=8.3 + prekid dodavanja CO<sub>2</sub> + dodavanje (HGG + HSA) + dodavanje CO<sub>2</sub> do pH=7.2 - uticaj proteina  
 (4) NS-CP - dodavanje CO<sub>2</sub> do pH=8.3 + prekid dodavanja CO<sub>2</sub> + dodavanje (HGG + HSA) do pH=7.4 - uticaj proteina  
 (5) HHS-C-Ca, HHS-CP-Ca, NS-C-Ca, NS-CP-Ca - dodavanje CaCl<sub>2</sub>x2H<sub>2</sub>O in (2), (3), (4) po dostizanju pH vrednosti - uticaj prisustva kalcijuma



**Sl.84.** Kombinacije eksperimenata pri razmatranju uticaja CO<sub>2</sub>, proteina i prisustva Ca<sup>2+</sup> jona na promene pH simuliranih telesnih tečnosti sa vremenom. Slike prikazuju pogled odozgo na eksperimentalnu postavku sa Sl.83.

U drugom setu eksperimenata (Sl.84b), u kojima je praćen uticaj prisustva proteina na promene pH simuliranih telesnih tečnosti HHS i NS sa vremenom, u dve plastične čaše, koje su sadržale polazne HHS i NS rastvore, je izvršeno dodavanje i prekid dodavanja CO<sub>2</sub> na vrednosti pH od ~8.3 (HHS-R i NS-R, Sl.84b). U preostale dve čaše, koje su sadržale polazne HHS i NS rastvore, je izvršeno dodavanje i prekid dodavanja CO<sub>2</sub> na vrednosti pH od ~8.3, nakon čega je dodato 3.0 g/l HGG, a potom 4.5 g/l HSA. Dodatak proteina u HHS nije prouzrokovao pad pH vrednosti do ~7.2, već na 7.4-7.5, zbog čega je izvršeno naknadno dodavanje i prekid dodavanja CO<sub>2</sub> do postizanja pH vrednosti od ~7.2 (HHS-CP, Sl.84b). U slučaju NS rastvora, dodatak proteina je prouzrokovao pad vrednosti pH do ~7.4 (NS-CP, Sl.84b).

U trećem setu eksperimenata (Sl.84c), u kojima je praćen uticaj prisustva Ca<sup>2+</sup> jona na promene pH simuliranih telesnih tečnosti HHS i NS sa vremenom, izvršeno je pravljenje HHS-C, NS-C, HHS-CP i NS-CP rastvora (Sl.84a i 84b) na isti način kako je objašnjeno u slučajevima prvog i drugog seta eksperimenata. Razlika je bila u tome što

je u trenutku dostizanja odgovarajućih pH vrednosti vršeno dodavanje  $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$  (HHS-C-Ca i NS-C-Ca, HHS-CP-Ca i NS-CP-Ca, Sl.84c).

Po dostizanju pH vrednosti od  $\sim 8.3$  (HHS-R i NS-R),  $\sim 7.2$  (HHS-C, HHS-CP, HHS-C-Ca i HHS-CP-Ca) ili  $\sim 7.4$  (NS-C, NS-CP, NS-C-Ca i NS-CP-Ca), otpočeta su merenja vremena (digitalni hronometar) i pH vrednosti, pri čemu je vreme trajanja svakog eksperimenta iznosilo 4-4.5 h. U svim eksperimentima, bez izuzetaka, pre dodavanja polaznih HHS i NS rastvora (Tab.18), uvek je vršena filtracija ovih rastvora kroz staklene filtre (Milipore). Dodavanje  $\text{CO}_2$  u polaznu simuliranu telesnu tečnost (HHS ili NS) je vršeno u malim koracima, a regulisano je posmatranjem pH promena. U opisanim eksperimentima (Sl.84), vrednost pH polaznih HHS ili NS je smanjivana dodavanjem  $\text{CO}_2$  u koracima od  $\sim 0.5$  pH. Dodavanje  $\text{CO}_2$  je prekidano nakon svakog koraka kako bi se omogućila privremena stabilizacija pH. Dodatak proteina u odgovarajuću simuliranu telesnu tečnost je vršen uz pomoć mehaničkog mešanja da bi se ubrzao proces njihovog rastvaranja. Finalna koncentracija HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti je postignuta dodavanjem  $\sim 2.3$  mmol  $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ . Ova koncentracija je uvek dodavana u poslednjem koraku kako bi se izbeglo prevremeno taloženje apatitnih soli. Ukupna količina  $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  ( $\sim 2.3$  mmol) je dodata iz više delova koji su bili prethodno rastvoreni u ultra-čistoj vodi, a dodavanje je vršeno pomoću mikropipete u okolini magnetnog mešača na dnu plastičnih čaša zapremine 40 ml da bi se postigla brža raspodela  $\text{Ca}^{2+}$  jona u masi rastvora. Ovde treba napomenuti da su vršeni i eksperimenti dodavanja  $4\times$  veće koncentracije  $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  u HHS-C i NS-C kako bi se izazvalo taloženje apatitnih soli i zabeležila promena pH pri dominantnom uticaju ovog procesa. Svi opisani eksperimenti su bili ponovljeni jednom.

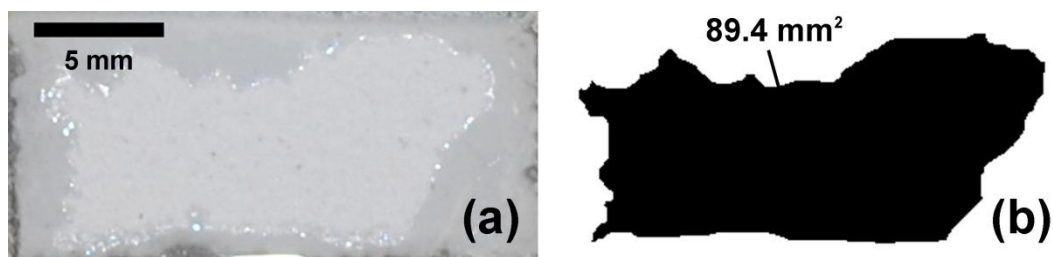
#### *4.2.2.5. Ispitivanja sklonosti ka formiranju karbonatnog apatita na površini HA prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima*

Eksperimenti taloženja karbonatnog apatita na površinama HA prevlaka su vršeni u HHS rastvorima. Preciznije, taloženje karbonatnog apatita je posmatrano na površinama HAP-fp i HAP-kp nanesenih pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=20$  °C u HHS simuliranim telesnim tečnostima bez (HHS-C-Ca, Sl.84c) i sa (HHS-CP-Ca, Sl.84c) prisustvom fiziološke proteinske smeše HGG i HSA. Talozenje karbonatnog apatita je

proučavano: (i) u uslovima bez aktivne regulacije pH, kao u slučaju taloženja biomimetičkih prevlaka karbonatnog apatita u studiji *Barrere i saradnika* [150] (vidi Sl.51, poglavlje 2.5.3.1.1), odnosno kao u slučaju eksperimenata ispitivanja pH stabilnosti HHS rastvora (vidi poglavlje 4.2.2.4), i (ii) u uslovima sa aktivnom regulacijom pH pomoću CO<sub>2</sub> između ~7.2 i ~7.6, kao u slučaju studije *Schinhammer i saradnika* [115].

Imajući u vidu dve različite vrste rastvora (HHS-C-Ca i HHS-CP-Ca), dve različite HA prevlake (HAP-fp i HAP-kp), kao i uslove bez i sa aktivnom regulacijom pH, izvršeno je ukupno 8 kombinacija eksperimenata u kojima je posmatrana pojava taloženja karbonatnog apatita na površinama HA prevlaka. Svaki eksperiment je trajao ~20 h i svi eksperimenti su ponovljeni jednom.

Tačne zapremine polaznih simuliranih telesnih tečnosti (HHS-C-Ca i HHS-CP-Ca) za ove eksperimente su određene na osnovu vrednosti prividnih površina HA prevlaka koje su bile u direktnom kontaktu sa simuliranim telesnim tečnostima tokom eksperimenata. U svim eksperimentima ispitivanja sklonosti ka taloženju karbonatnog apatita, odnos prividne površine HA prevlaka i zapremine HHS rastvora (HHS-C-Ca ili HHS-CP-Ca) je iznosio ~4 mm<sup>2</sup>/ml. U studiji Kokuba i Takadame [103] je preporučeno odnosa od ~10 mm<sup>2</sup>/ml, što približno odgovara odnosu koji je primenjen u ovom radu. Uzorci HA prevlaka koji su bili porinuti u HHS rastvore su isečeni na dimenzije ~20 mm × ~10 mm × ~3 mm. Substrat je bio zaštićen epoksi smolom kako bi se izbegao direktan kontakt između metalnog dela i simulirane telesne tečnosti tokom eksperimenata. Prividna površina uzoraka, od čije je vrednosti zavisila vrednost zapremine rastvora HHS koja će se koristiti, je predstavljala deo površine HA prevlaka koji nije bio zaštićen epoksi smolom (Sl.85a). Ova površina je određena sa makrofotografija uzoraka pomoću programskog paketa *ImageJ* [236] (Sl.85b). U **prilogu A5** su date slike tipičnih uzoraka HAP-fp i HAP-kp koje su ispitane u HHS simuliranim telesnim tečnostima sa utvrđenim vrednostima prividnih površina koje su bile u direktnom kontaktu sa HHS (**Sl.A5-1** i **A5-2**). Zapremine HHS rastvora su se kretale između ~20 i ~30 ml, što je slično kao u slučaju eksperimenata ispitivanja stabilnosti pH simuliranih telesnih tečnosti (~25 ml) (vidi poglavlje 4.2.2.4).



**SI.85.** (a) Tipičan izgled HA prevlake zatopljene u epoksi smolu pre uvođenja u rastvor HHS i (b) primer određivanja prividne površine HA prevlake u programskom paketu *ImageJ* [236] koja je bila u direktnom kontaktu sa HHS rastvorom u toku eksperimenata ispitivanja sklonosti taloženja karbonatnog apatita.

Na kraju svakog eksperimenta (nakon ~20 h) uzorci HA prevlaka su izvađeni iz HHS simuliranih telesnih tečnosti, a potom su osušeni u ambijentalnom vazduhu na sobnoj temperaturi. Tokom eksperimenata, 2-3 ml vode ultra-visoke čistoće je dodavano u simulirane telesne tečnosti na svakih 5-6 h da bi se nadoknadio gubitak isparene vode u okolni ambijentalni vazduh.

## 4.3. Uslovi ispitivanja

### 4.3.1. Energetsko-disperzivna fluorescencija rentgenskog zračenja (XRF)

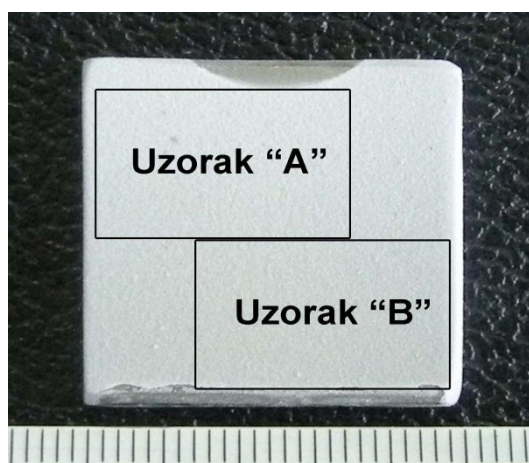
Hemijska analiza fHAP i kHAP je izvršena metodom energetsko-disperzivne fluorescencije rentgenskih zraka (XRF) pomoću analizatora *ARL Perform'X* (Thermo Fisher Scientific) (vidi Sl.A6-1-1, **prilog A6-1**) (Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija). Polazni fHAP i kHAP su bili pomešani sa bornom kiselinom ( $H_3BO_3$ ) i voskom u odnosu prah/ $H_3BO_3$ /vosak=4/4/1 sa ciljem pravljenja fHAP i kHAP tableta za analizu. Mase tableta su iznosile ~1.3 g, dok su prečnik i debljina tableta bili ~25 mm i ~1.6 mm, respektivno. Izvor rentgenskog zračenja je bila Rodijumova (Rh) cev koja je tokom analize bila pod naponom od ~60 kV. Analizirana površina tableta je iznosila ~500 mm<sup>2</sup>. Delovi XRF spektra su detektovani pomoću tri monokristala: LiF (220), LiF (200) i Ge (111), gde Milerovi indeksi ravni (*xyz*) označavaju kristalografsku orijentaciju monokristala litijum fluorida (LiF) i germanijuma (Ge), korišćenih za detekciju rentgenskog zračenja u odgovarajućim oblastima talasnih dužina. XRF spektri su dobijeni pomoću *OXSAS*<sup>®</sup> programskog paketa (vidi Sl.B1-1 i B1-2, **prilog B1**), dok je analiza XRF spektara pomoću programa *UniQuant*<sup>®</sup> dala rezultate u mas.% (Tab.B1-1 i B1-2, **prilog B1**), koji su nakon toga konvertovani u at.% (vidi Tab.B1-3, **prilog B1**).

### 4.3.2. Rentgenska difraktometrija praha (XRPD)

Polazni fHAP i kHAP, kao i površinski delovi HAP-fp i HAP-kp, su ispitani metodom rentgenske difraktometrije praha (eng. X-ray powder diffraction – XRPD) pomoću *SIEMENS Kristaloflex D500* difraktometra (vidi Sl.A6-2-1, **prilog A6-2**) (Laboratorija za materijale, Institut za nuklearne nauke Vinča, Univerzitet u Beogradu, Srbija), koji funkcioniše u reflektivnom modu sa Bragg-Brentano geometrijskom konfiguracijom ( $\theta$ - $2\theta$ ) pri čemu su površinski delovi HAP-fp i HAP-kp uzoraka dimenzija ~25 mm × ~25 mm × ~3 mm (Sl.86) uvek bili analizirani u centralnim



delovima. Ispitani su površinski delovi HAP-fp koje su bile nanese pri  $SOD=80, 100$  i  $150$  mm bez ( $T_S=20$  °C) i sa ( $T_S=200$  °C) predgrevanjem substrata, kao i površinski delovi HAP-fp nanesenih pri  $SOD=100$  mm na inicijalnim temperaturama substrata  $T_S=20, 100$  i  $200$  °C (vidi **prilog C1-1**). Takođe, ispitani su površinski delovi HAP-kp koje su bile nanese pri  $SOD=80, 100, 150$  mm sa predgrevanjem substrata na  $T_S=200$  °C, kao i HAP-kp nanesenih pri  $SOD=80$  mm na inicijalnim temperaturama substrata  $T_S=20, 100$  i  $200$  °C (vidi **prilog C1-1**). U toku merenja, upadni snop rentgenskog zračenja je emitovan iz cevi sa bakarnim izvorom zračenja ( $CuK\alpha_1, \lambda = 1.5406$  Å) pri radnom naponu od  $\sim 40$  kV i struji od  $\sim 40$  mA. Detekcija difraktovanog snopa rentgenskog zračenja je izvršena u opsegu uglova difrakcije ( $2\theta$ ) od  $\sim 20^\circ$  do  $\sim 60^\circ$ , sa korakom  $\sim 0.02^\circ$  i vremenskom ekspozicijom od  $\sim 1$  s u ambijentalnom vazduhu na sobnoj temperaturi. Identifikacija faza prisutnih u fHAP i kHAP, kao i u površinskim delovima HAP-fp i HAP-kp (vidi **prilog C1-1**), je izvršena na osnovu poređenja dobijenih difraktograma sa standardnim JCPDS i ICSD karticama faza, čije prisustvo može da se očekuje u HA prevlakama (za brojeve standardnih kartica pojedinih faza vidi Tab.13, poglavlje 2.6.3.2) u programskom paketu *EVA*<sup>®</sup>. Pored toga, sa difraktograma je izvršeno određivanje relativne kristaličnosti površinskih delova HAP-fp i HAP-kp primenom programskog paketa *Origin*<sup>®</sup> (vidi **prilog C1-2**).



**Sl.86.** Makro-fotografija tipičnog HAC-fp uzorka nanesenog pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=20$  °C koja prikazuje linije po kojima je vršeno sečenje uzorka „A“ i „B“ za XRPD analizu u pravcu debljine.

XRPD analiza je takođe izvršena na različitim površinskim delovima HAP-fp uzoraka nanosenih pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=20$  °C u pravcu debljine (Sl.86). Na Sl.86 su prikazane linije po kojima je vršeno sečenje uzoraka kojim su dobijena dva uzorka za analizu, pri čemu je jedan uzorak bio označen sa "A", a drugi sa "B". Uzorak "A" je odgovarao lokaciji merenja 9, a uzorak "B" lokaciji merenja 1, koje su ispitivane pomoću MRS (vidi Sl.89, poglavlje 4.3.5.2) i SM (vidi poglavlje 4.3.6). XRPD analiza uzoraka "A" i "B" je izvršena pomoću *Ital Structure APD 2000* difraktometra (vidi Sl.A6-2-2, **prilog A6-2**) (Bragg-Brentano geometrija,  $CuK\alpha_1$ , ~40 kV, ~30 mA, Ni filter) (Katedra za opštu i neorgansku hemiju, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija). Difraktogrami su dobijeni pri brzini skeniranja od  $0.02^\circ/s$  unutar  $2\theta$  intervala  $20-60^\circ$ .

Tokom prvog merenja, XRPD analiza je izvršena na površinskim delovima uzoraka "A" i "B" bez ikakve modifikacije površine. Kako bi se dobila informacija o faznim promenama, kao i promenama relativne kristaličnosti u pravcu debljine, uzorci "A" i "B" su tanjeni pomoću vodootpornih SiC papira za brušenje (P-2000). Pre svake XRPD analize, merena je njihova lokalna debljina kalibrisanim mikrometrom kako bi se dobila informacija o uniformnosti debljine. Takođe, merenja lokalne debljine uzoraka su vršena u toku procedure tanjenja sa ciljem pouzdanog dostizanja predviđenih rastojanja od interfejsa prevlaka/substrat. U slučaju uzorka "A", XRPD merenja su izvršena na sledećim rastojanjima od interfejsa: 30-60, 150-200 i 400-450  $\mu m$ . U slučaju uzorka "B", XRPD merenja su izvršena na sledećim rastojanjima od interfejsa: 20-70 i 150-250  $\mu m$ . Identifikacija faza prisutnih u uzorcima "A" i "B" je izvršena na osnovu poređenja dobijenih difraktograma sa standardnim JCPDS i ICSD karticama faza čije prisustvo može da se očekuje u HA prevlakama (za brojeve standardnih kartica pojedinih faza vidi Tab.13, poglavlje 2.6.3.2) u programskom paketu *PowderCell*<sup>®</sup> 2.4 [240]. Relativna kristaličnost je kvalitativno procenjena na osnovu razlika u integralnim intenzitetima amorfne grbe između  $20-40^\circ$   $2\theta$  i kristalnih pikova iznad amorfne grbe [30,53,54,88,227,228].

### 4.3.3. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR)

#### 4.3.3.1. ATR-FTIR

Polazni fHAP i kHAP, kao i površinski delovi HAP-fp i HAP-kp, koji su bili nanoseni pri  $SOD=100$  mm bez predgrevanja substrata ( $T_S=20$  °C), su ispitani metodom prigušene unutrašnje reflektivne (ATR) infracrvene spektroskopije sa Furijeovom transformacijom (FTIR) (*eng.* attenuated total reflectance – ATR; Fourier infrared – FTIR). Ispitivanja su izvršena pomoću *PerkinElmer Spectrum 100* spektrometra sa univerzalnom ATR opremom (vidi Sl.A6-3-1, **prilog A6-3**) (Division of Chemistry and Biological Chemistry, School of Physical and Mathematical Sciences, Nanyang Technological University – CBC-SPMS-NTU, Singapore). Pored pomenutih HA prahova i prevlaka, ispitani su i reagensi za simulirane telesne tečnosti (vidi poglavlje 4.2.2.1). Svaki spektar je dobijen kao rezultat 16 skeniranja sa spektralnom rezolucijom od  $\sim 4$   $\text{cm}^{-1}$ . Sva merenja su izvršena u opsegu frekvencija između  $\sim 500$  i  $\sim 4000$   $\text{cm}^{-1}$ , u ambijentalnom vazduhu na sobnoj temperaturi. Neposredno pre merenja je snimljen referentni ATR-FTIR spektar okolnog vazduha. Nakon toga, optimalna količina praha za analizu je postavljena na prethodno očišćenu cink-selenidnu (ZnSe) pločicu prečnika oko  $\sim 5$  mm. Prah je zatim pritisnut pomoću mehaničke ruke (vidi Sl.A6-3-1, **prilog A6-3**) kako bi se omogućio dobar optički kontakt između praha i dijamantske pločice. Polazni fHAP i kHAP nisu tretirani ni na koji način pre ATR-FTIR analize. S druge strane, materijal za analizu površinskih delova HAP-fp i HAP-kp je pažljivo skinut sa površine uzoraka krutim metalnim nožem, zatim mehanički usitnjen, a nakon toga postavljen na ZnSe pločicu i analiziran. Ovde treba napomenuti da je ATR-FTIR analiza površinskih delova pomenutih HA prevlaka takođe izvršena uzorkovanjem materijala sa udaljenih lokacija površine (vidi **prilog C3**).

ATR-FTIR spektroskopija je, pored ispitivanja polaznih HA prahova i HA prevlaka u nanosenom stanju, primenjena i za posmatranje promena u vibracionim modovima molekula vode i karbonskih jonskih vrsta ( $\text{HCO}_3^-$  i  $\text{CO}_3^{2-}$ ) u simuliranim telesnim tečnostima tokom njihovog pravljenja i tokom testiranja njihove pH stabilnosti. Svi parametri ATR-FTIR merenja su bili isti kao i pri merenjima praškastih uzoraka, s

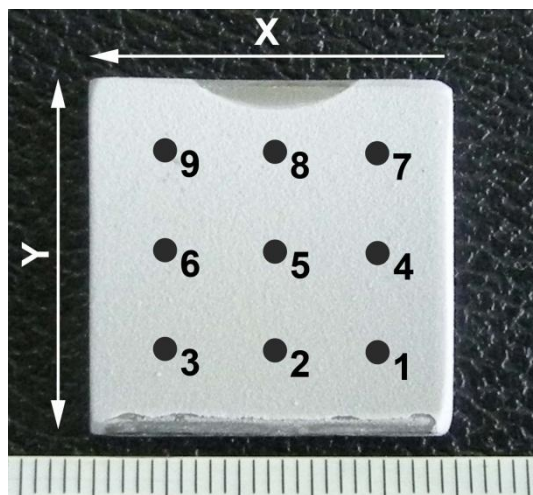
tim da je umesto praha vršeno ispitivanje kapljica. Naime, pre svake serije ispitivanja kapljica simulirane telesne tečnosti, vršeno je snimanje referentnog ATR-FTIR spektra kapljice ultra-čiste vode. Kapljica je bila postavljena na ZnSe pločicu, nakon čega je ona mehanički minimalno pritisnuta, kako bi se omogućilo njeno potpuno razlivanje po površini ZnSe pločice. Pored ovih, izvršena su i ATR-FTIR merenja na kapljicama presičenih vodenih rastvora reagenasa za simulirane telesne tečnosti.

#### 4.3.3.2. T-FTIR

Transmisiona infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (T-FTIR) je izvršena pomoću FTIR *BOMEM Hartman Braun (MB series)* spektrometra (vidi Sl.A6-3-2, **prilog A6-3**) (Katedra za organsku hemiju, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija). Ispitane su površine HA prevlaka nanesenih pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=20$  °C, pre i nakon eksperimenata u simuliranim telesnim tečnostima. Svaki T-FTIR spektar je dobijen kao rezultat 10 skeniranja sa spektralnom rezolucijom od  $\sim 4$   $\text{cm}^{-1}$ . Sva merenja su izvršena u opsegu frekvencija između  $\sim 400$  i  $\sim 4000$   $\text{cm}^{-1}$ , u ambijentalnom vazduhu na sobnoj temperaturi. Neposredno pre merenja je snimljen referentni T-FTIR spektar okolnog vazduha. Uzorci za ispitivanje su napravljeni na sledeći način. Oko 2 mg materijala je pažljivo skinuto sa površine prevlaka pomoću krutog metalnog noža. Nakon toga, ovaj praškasti materijal je mehanički homogenizovan sa  $\sim 200$  mg kalijum bromida (KBr), koji je prethodno sušen u peći na temperaturi od  $\sim 100$  °C u ambijentalnom vazduhu tokom  $\sim 24$  h. Homogenizovana mehanička smeša materijala je zatim hladno presovana u tablete pomoću hidraulične prese ( $\sim 15$  t) (vidi Sl.A6-3-3, **prilog A6-3**). KBr tablete su bile transparentne, debljine  $\sim 1$  mm i prečnika  $\sim 1$  cm. Zbog sklonosti KBr ka adsorpciji vlage iz ambijentalnog vazduha, koja može da utiče na T-FTIR spektre, KBr prah i KBr tablete su skladištene u eksikatorima.

#### 4.3.4. Kalibrisani mikrometar

Debljine HA prevlaka su merene pomoću kalibrisanog mikrometra (*Mitutoyo*, Japan) sa konusnim čeljustima (vidi Sl.A6-4-1, **prilog A6-4**) (Laboratorija za plastičnu preradu, Katedra za metalurško inženjerstvo, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu). Izmerene su debljine HAP-fp koje su bile nanosene pri  $SOD=80, 100$  i  $150$  mm bez predgrevanja substrata ( $T_S=20$  °C) i pri  $SOD=100$  mm na inicijalnim temperaturama substrata  $T_S=20, 100$  i  $200$  °C. Takođe, izmerene su debljine HAP-kp koje su bile nanosene pri  $SOD=80, 100, 150$  mm sa predgrevanjem substrata na  $T_S=200$  °C, pri  $SOD=80$  mm na inicijalnim temperaturama substrata  $T_S=20, 100$  i  $200$  °C, kao i pri  $SOD=100$  bez predgrevanja substrata ( $T_S=20$  °C) (vidi **prilog D**). Opseg merenja mikrometra se kretao između  $\sim 0$  i  $\sim 25$  mm, dok je preciznost merenja iznosila  $\sim 10$   $\mu\text{m}$ . Debljine HA prevlaka su izmerene na predviđenim lokacijama merenja (1-9) na površini HA prevlaka (Sl.87). Lokalna debljina HA prevlaka (u slučaju svake lokacije merenja) je bila rezultat od najmanje 11 merenja (vidi **prilog D**), a bila je određena kao razlika između izmerene debljine kalibrisanim mikrometrom i debljine substrata. Ovde treba napomenuti da su u pojedinim slučajevima HAP-kp vršena merenja lokalne debljine na manjem broju lokacija merenja (vidi **prilog D**), što nije uticalo na zaključke vezane za uniformnost debljine ovih prevlaka.

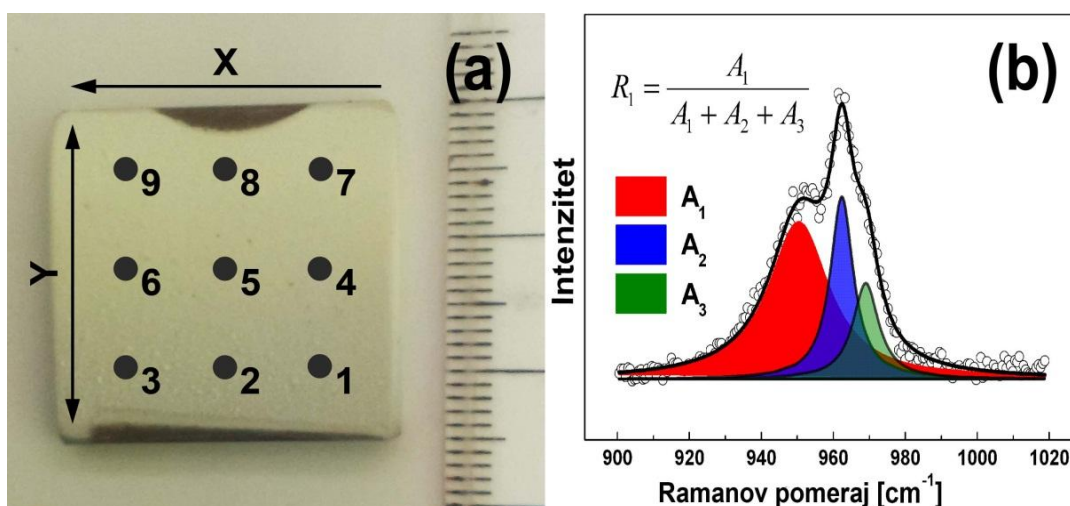


Sl.87. Lokacije merenja debljine HA prevlaka (1-9); X – smer rotacije diska tokom procesa nanošenja, Y – pravac translacije plazma pištolja tokom procesa nanošenja.

### 4.3.5. Mikro-Ramanova spektroskopija (MRS)

#### 4.3.5.1. MRS polaznih HA prahova i površina HA prevlaka

Polazni fHAP i kHAP su pre ispitivanja bili presovani na hladno, nakon čega su merenja vršena na uzorcima u obliku tableta. Iako su se uzorci nakon hladnog presovanja lako raspadali, postojale su lokacije veće gustine na kojima su merenja izvršena (vidi Sl.B2-1a, B2-1b, B2-1d i B2-1e, **prilog B2**). S druge strane, površine HAP-fp i HAP-kp u nanesenom stanju nisu bile tretirane ni na koji način pre merenja. Sl.88a prikazuje lokacije merenja 1-9 koje su analizirane pomoću MRS, koje su odgovarale lokacijama merenja lokalne debljine HAP-fp i HAP-kp (uporedi Sl.88a i Sl.87 i **priloge C2-2 i D**).



Sl.88. (a) Makro-fotografija prikazuje primer lokacija MRS merenja na površini HA prevlaka, X – smer rotacije diska tokom procesa nanošenja, Y – pravac translacije plazma pištolja tokom procesa nanošenja; (b) ilustracija procedure fitovanja tipičnog Raman spektra u oblasti frekvencija 900-1020 cm<sup>-1</sup> i primer određivanja relativnog intenziteta (R) Ramanovih pikova.

Površinska MRS merenja su izvršena na HAP-fp koje su nanese pri  $SOD=80$ , 100 i 150 mm bez predgrevanja substrata ( $T_S=20$  °C) i pri  $SOD=100$  mm na inicijalnim temperaturama substrata  $T_S=20$ , 100 i 200 °C. Takođe, izvršena su merenja na površinama HAP-kp koje su bile nanese pri  $SOD=80$ , 100, 150 mm sa predgrevanjem

substrata na  $T_S=200$  °C, pri  $SOD=80$  mm na inicijalnim temperaturama substrata  $T_S=20$ , 100 i 200 °C i pri  $SOD=100$  bez predgrevanja substrata ( $T_S=20$  °C) (vidi **prilog C2-2**).

MRS merenja polaznih HA prahova i površina HA prevlaka su izvršena pomoću *Jobin Yvon T64000* spektrometra sa trostrukim monohromatorom koji sadrži tri optičke rešetke sa 1800 zarez/mm u konfiguraciji koja se označava kao geometrija unazad (eng. – *backscattering geometry*) (Laboratorija za Ramanovo rasejanje i fotoluminiscenciju, Centar za fiziku čvrstog stanja i nove materijale, Institut za Fiziku, Univerzitet u Beogradu, Zemun, Srbija.) (vidi Sl.A6-5-1, **prilog A6-5**). Spektrometar je opremljen mikroskopom za fokusiranje upadnog laserskog snopa, nosačem za uzorke sa opcijom pomeranja u tri međusobno normalna pravca (x-, y-, i z-pravci), kao i CCD detektorom koji je hlađen tečnim azotom. Spektralna rezolucija ovog mikro-Raman sistema je  $\sim 2$   $\text{cm}^{-1}$ . Raman spektri su dobijeni primenom zelene linije  $\text{Ar}^+$ - $\text{Kr}^+$  kombinovanog gasnog lasera talasne dužine  $\sim 514.5$  nm i izlazne snage  $\sim 50$  mW, u ambijentalnom vazduhu na sobnoj temperaturi. Detaljniji pregled performansi *Jobin Yvon T 64000* je dat u **prilogu A6-5**. Kalibracija Ramanovog pomeraja (frekvencije) u svim Raman spektrima je izvršena na osnovu pomeraja maksimuma najintenzivnijeg Raman pika silicijuma (na  $\sim 520.6$   $\text{cm}^{-1}$ ). Na samom početku ispitivanja, MRS merenja su vršena u frekventnom opsegu između  $\sim 200$  i  $\sim 1200$   $\text{cm}^{-1}$ . Međutim, s obzirom da između  $\sim 200$  i  $\sim 800$   $\text{cm}^{-1}$  nisu detektovane značajnije promene na površinskim Raman spektrima HA prevlaka, većina MRS merenja je izvršena u oblasti frekvencija između  $\sim 800$  i  $\sim 1500$   $\text{cm}^{-1}$ . U slučaju fHAP i kHAP tableta, primenjena su različita uvećanja objektiva i vremena ekspozicije (vidi Sl.B3-1 i B3-2, **prilog B3**). U slučaju MRS merenja izvršenim na površinama HAP-fp i HAP-kp (vidi originalne spektre u **prilogu C2-2**), zbog problema sa fokusiranjem laserskog snopa pri većim uvećanjima objektiva usled izražene mikrometarske hrapavosti površina HAP-fp i HAP-kp, primenjeno je manje uvećanje objektiva ( $10\times$ ), dok je vreme ekspozicije iznosilo  $\sim 400$  s.

Tablete polaznih fHAP i kHAP su takođe analizirane pomoću *Tri Vista TR557* spektrometra (Laboratorija za Ramanovo rasejanje i fotoluminiscenciju, Centar za fiziku čvrstog stanja i nove materijale, Institut za Fiziku, Univerzitet u Beogradu, Zemun, Srbija.) (vidi Sl.A6-6-1, **prilog A6-6**). Raman spektri su dobijeni primenom trostrukog monohromatora, CCD detektora hlađenog tečnim azotom i mikroskopa, čija konfiguracija odgovara tzv. geometriji unazad. Korišćena je zelena linija  $\text{Ar}^+$ - $\text{Kr}^+$

kombinovanog gasnog lasera talasne dužine ~514.5 nm i izlazne snage ~50 mW. Detaljniji pregled performansi *Tri Vista TR557* je dat u **prilogu A6-6**. Kalibracija Ramanovog pomeraja (frekvencije) u svim Raman spektrima je izvršena na osnovu pomeraja maksimuma najintenzivnijeg Raman pika silicijuma (na ~520.6 cm<sup>-1</sup>). MRS merenja su vršena u frekventnom opsegu ~200-4000 cm<sup>-1</sup>. Tokom merenja, primenjeno je uvećanje objektiva za fokusiranje upadnog laserskog snopa od 20× i vreme ekspozicije laserskog snopa od ~200 s (vidi originalne spektre na Sl.B3-3, **prilog B3**).

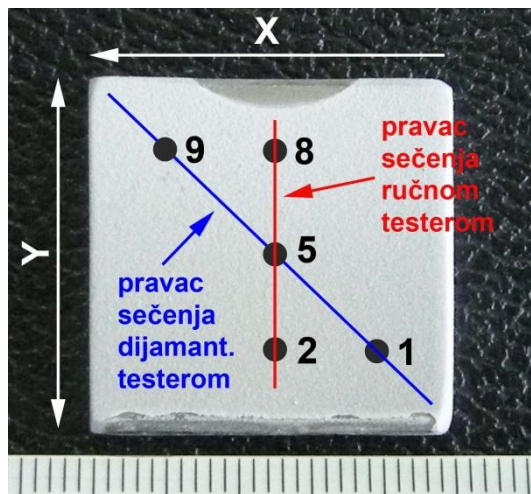
Određivanje Ramanovog pomeraja (frekvencija) Ramanovih pikova i analiza apsolutnog i relativnog intenziteta pojedinih pikova, na osnovu kojih je procenjeno prisustvo faza u polaznim fHAP i kHAP, kao i na površinama analiziranih HAP-fp i HAP-kp, su izvršene u frekventnom opsegu 200-1200 cm<sup>-1</sup>, u slučaju *Jobin Yvon T64000* spektroskopa, i u opsegu 200-4000 cm<sup>-1</sup>, u slučaju *Tri Vista TR557* spektrometra. Centralne frekvencije pikova su određene fitovanjem svakog pika pomoću lorencijana (eng. – *Lorentzian function*) u modulu *Peak Analyzer* programskog paketa *Origin*<sup>®</sup>. S obzirom da su najveće promene na Raman spektrima detektovane u opsegu frekvencija 900-1020 cm<sup>-1</sup>, unutar ovog opsega je izvršena detaljna analiza površinskih Raman spektara (Sl.88b) (vidi **prilog C2-2**). Naime, svaki Raman spektar snimljen na površini HA prevlaka je fitovan u frekventnom opsegu 900-1020 cm<sup>-1</sup> pomoću sume tri lorencijana u modulu *Peak Analyzer* programskog paketa *Origin*<sup>®</sup>, nakon čega su određeni relativni intenziteti Ramanovih pikova ( $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ ), pri čemu je svaki relativni intenzit predstavljao odnos površine lorencijana ( $A_1$ ,  $A_2$  ili  $A_3$ ) koji odgovara datom Ramanovom piku i sume površina svih lorencijana ( $A_1+A_2+A_3$ ) (Sl.88b). Greške fitovanja Raman spektra u frekventnom opsegu 900-1020 cm<sup>-1</sup> su iznosile ~10 %, u slučaju  $R_1$  i  $R_2$ , i ~20 %, u slučaju  $R_3$ . Detaljan opis procedure fitovanja, kao i analiza greške merenja su opisane u **prilogu C2-1**. Ovde treba napomenuti da je procedura fitovanja Ramanovih pikova lorencijanima u ostalim delovima Raman spektara vršena na isti način kako je objašnjeno u **prilogu C2-1**.

#### 4.3.5.2. MRS merenja u pravcu debljine HA prevlaka

Ispitivanja u pravcu debljine su izvršena na dva tipa poprečnih preseka HA prevlaka. Prvi tip je dobijen sečenjem dijamanskom testerom u pravcu 1-5-9, dok je

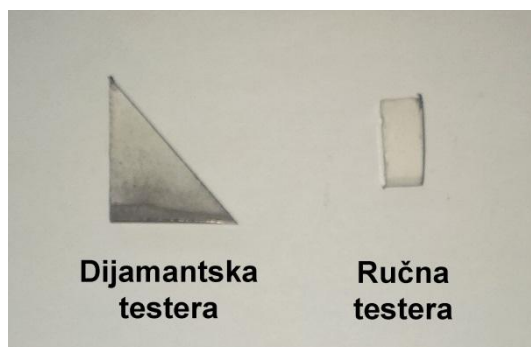


drugi tip u najvećem broju slučajeva dobijen sečenjem ručnom testerom u pravcu 2-5-8 (Sl.89), ali i u drugim pravcima (1-4-7, 3-6-9 i dr.).



**Sl.89.** Prikaz pravaca sečenja dijamantskom (1-5-9) i ručnom (2-5-8) testerom za ispitivanje poprečnih preseka HA prevlaka; X – smer rotacije diska tokom procesa nanošenja, Y – pravac translacije plazma pištolja tokom procesa nanošenja.

Na Sl.90 su prikazani primeri uzoraka HA prevlaka sa Sl.89 nakon sečenja dijamantskom (Sl.90, levo) i ručnom testerom (Sl.90, desno).



**Sl.90.** Tipičan izgled HA prevlaka sečenja dijamantskom testerom (levo) i ručnom testerom (desno).

Uzorci isečeni dijamantskom testerom su nakon sečenja bili hladno zatopljeni u akrilatnu masu (*VariDur*<sup>®</sup> 10, Buehler, USA) (Sl.91, levo). Poprečni preseki uzoraka su zatim brušeni voodootpornim SiC papirima za brušenje (P-800, P1200 i P-2000) sa konstantnim dodavanjem vode na uređaju za brušenje (vidi Sl.A6-7-1, **prilog A6-7**)

(Katedra za metalurško inženjerstvo, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija), nakon čega su polirani  $\text{Al}_2\text{O}_3$  g pastama do  $\sim 1 \mu\text{m}$  uz povremeno dodavanje vode na odgovarajućim podlogama za poliranje (vidi Sl.A6-7-2, **prilog A6-7**) (Katedra za metalurško inženjerstvo. Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija), a potom su osušeni u struji toplog vazduha.

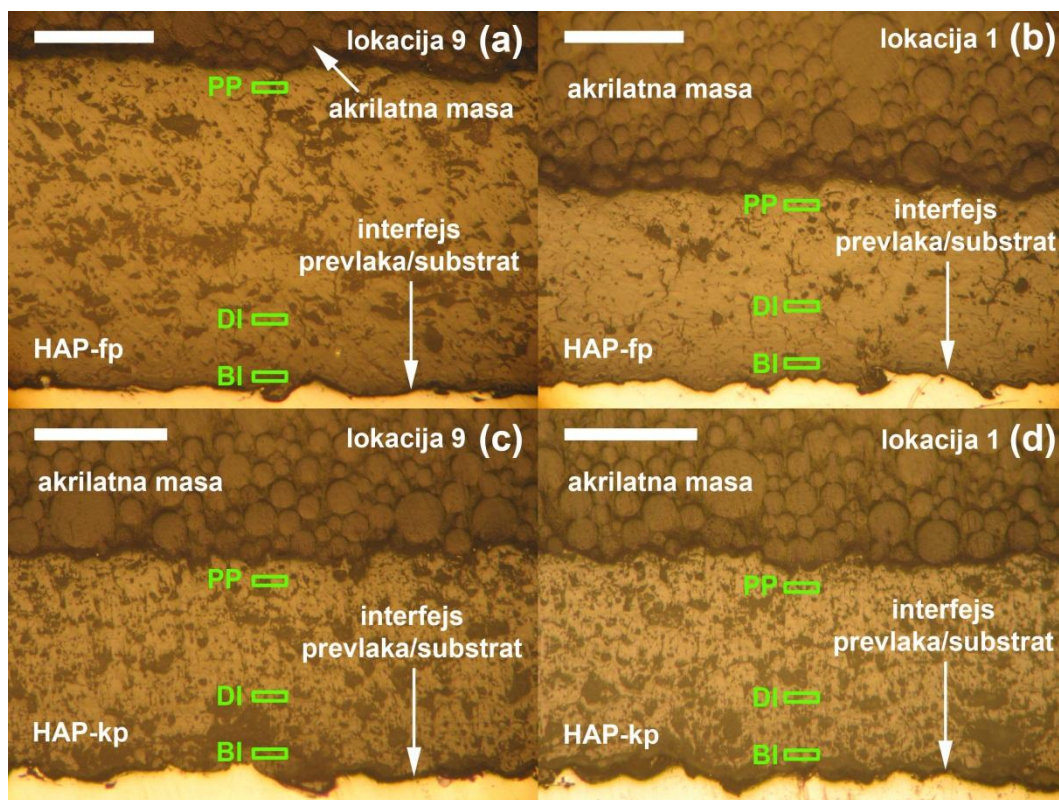
Uzorci sečeni ručnom testerom su prvo bili toplo zatopljeni u masu bakelita sa grafitnim punjenjem (Institut Goša, Smederevska palanka, Srbija), pri sledećim uslovima:  $5.0 \pm 0.5 \text{ bar}$ ,  $100 \pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $20 \pm 5 \text{ min}$  (Sl.91, desno). Toplo zatapanje uzoraka nije proizvelo značajne morfološke promene na interfejsu substrat/prevlaka, što je bilo utvrđeno posmatranjem uzoraka pre i posle zatapanja pomoću SM. Nakon toplog zatapanja, poprečni preseki uzoraka su brušeni voodotpornim SiC papirima za brušenje (P-80, P-100, P-220, P-400, P-600, P-800, P-1000, P1200, P1500 i P-2000), a potom polirani vodenim  $\text{Al}_2\text{O}_3$  suspenzijama sa srednjim veličinama čestica  $\sim 3$  i  $\sim 1 \mu\text{m}$  i osušeni u struji toplog vazduha.



**Sl.91.** Makro-fotografije prikazuju tipičan izgled poliranih poprečnih preseka hladno (levo) i toplo (desno) zatopljenih uzoraka HA prevlaka.

Brušenje poprečnih preseka sečenih uzoraka je kontrolisano u uslovima minimalnog pritiska na uzorke, primenom različitih vremena brušenja za različite veličine voodotpornih SiC papira za brušenje, kao i praćenjem promena na poprečnom preseku uzoraka tokom brušenja. Uopšteno, vreme brušenja je bilo najkraće za P-80 voodotporne SiC papire za brušenje, dok je za P-2000 bilo najduže. Tokom brušenja i poliranja strana prevlake se nalazila na strani koja je bila suprotna smeru rotacije diska

za brušenje. Ovo je osiguravalo stanje kompresionih napona na interfejsu prevlaka/substrata. Svetlosna mikroskopija je pokazala skoro uniformnu brzinu uklanjanja HA prevlake i čeličnog substrata tokom brušenja i poliranja. Morfološke promene koje su bile unete tokom brušenja i poliranja nisu mogle da budu sprečene kod uzoraka kod kojih je došlo do delaminacije HA prevlake na interfejsu prevlaka/substrat tokom sečenja ručnom testerom. MRS merenja su izvršena na površinama poprečnih preseka hladno (sečenih dijamantskom testerom) i toplo (sečenih ručnom testerom) zatopljenih uzoraka HA prevlaka u poliranom stanju (vidi Sl.A6-7-3 i A6-7-4, **prilog A6-7**).

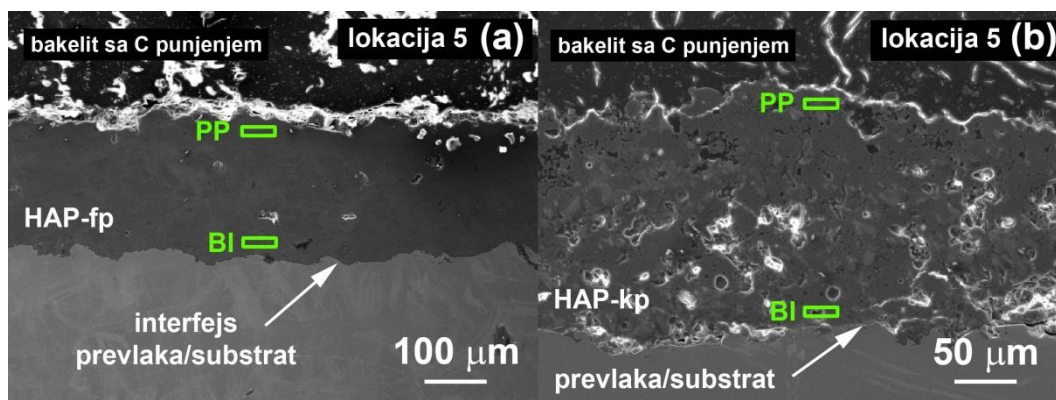


**Sl.92.** Tipičan izgled površina na kojima su vršena MRS merenja na poprečnim presecima uzoraka HAP-fp na lokacijama merenja 9 (a) i 1 (b) i HAP-kp na lokacijama merenja 9 (c) i 1 (d), u zonama koje se nalaze bliže interfejsu (BI), dalje od interfejsa (DI) i u potpovršinskim (PP) delovima (za detalje vidi **prilog E1**). Slike su dobijene uz primenu SM u svetlom polju; dužina svih mernih skala u gornjem levom uglu slika je 200  $\mu$ m; uzorci dobijeni sečenjem dijamantskom testerom.

Uzorci HAP-fp, koji su sečeni dijamantskom testerom i koji su ispitani pomoću MRS, su bili nanoseni pri  $SOD=80, 100$  i  $150$  mm bez ( $T_S=20$  °C) i sa ( $T_S=200$  °C) predgrevanjem substrata i pri  $SOD=100$  mm sa predgrevanjem substrata na  $T_S=100$  °C. Uzorci HAP-kp, koji su sečeni dijamantskom testerom i koji su ispitani pomoću MRS, su bili nanoseni pri  $SOD=100$  mm bez ( $T_S=20$  °C) i sa ( $T_S=200$  °C) predgrevanjem substrata i pri  $SOD=150$  mm sa predgrevanjem substrata na  $T_S=200$  °C. U slučaju poprečnog preseka svakog uzorka HA prevlaka, MRS merenja su izvršena na lokacijama merenja 9 i 1 u pravcu debljine. Sl.92a i 92b prikazuju izgled površina na kojim su vršena MRS merenja na poprečnim presecima HAP-fp uzoraka na lokacijama 9 i 1, respektivno, dok Sl.92c i 92d prikazuju isto to u slučaju HAP-kp. Pravougaone zelene zone na Sl.92, koje se nalaze na odgovarajućim rastojanjima od interfejsa, predstavljaju oblasti unutar kojih su vršena MRS merenja (1-5 merenja; broj merenja je zavisio od strukturne homogenosti zone merenja; homogenija zona – manji broj merenja). U slučaju svih uzoraka, na obe lokacije merenja, 9 i 1, MRS merenja su vršena u zonama koje su se nalazile na  $\sim 20$  (BI) i  $\sim 100$   $\mu\text{m}$  (DI) od interfejsa (vidi **prilog E1**). Pored ovih merenja, na datim lokacijama su vršena MRS merenja i na  $\sim 20$   $\mu\text{m}$  od površine (potpovršinska merenja), osim u slučaju uzoraka HAP-fp nanosenih pri  $SOD=80, 100, 150$  mm sa predgrevanjem substrata na  $T_S=200$  °C (vidi **prilog E1**). Takođe, potpovršinska (PP) merenja su upoređena sa površinskim (P) MRS merenjima na lokacijama 9 i 1 (vidi **prilog E1**).

Uzorci HAP-fp, koji su sečeni ručnom testerom i koji su ispitani pomoću MRS, su bili nanoseni pri  $SOD=80, 100$  i  $150$  mm bez predgrevanjem substrata ( $T_S=20$  °C) i pri  $SOD=100$  mm na inicijalnim temperaturama substrata  $T_S=20, 100$  i  $200$  °C. Uzorci HAP-kp, koji su sečeni ručnom testerom i koji su ispitani pomoću MRS, su bili nanoseni pri  $SOD=80$  i  $100$  mm bez predgrevanja substrata ( $T_S=20$  °C), pri  $SOD=80, 100$  i  $150$  mm sa predgrevanjem substrata na  $T_S=200$  °C i pri  $SOD=80$  mm na inicijalnim temperaturama substrata  $T_S=20, 100$  i  $200$  °C. U slučaju poprečnog preseka svakog uzorka HA prevlaka, MRS merenja su izvršena na lokaciji merenja 5 u pravcu debljine. Sl.93a prikazuju primere MRS merenja na poprečnim presecima HAP-fp uzoraka na lokaciji merenja 5, dok Sl.93b prikazuje isto to u slučaju HAP-kp.





**Sl.93.** Tipičan izgled površina na kojima su vršena MRS merenja na poprečnim presecima uzoraka HAP-fp (a) i HAP-kp (b) na lokaciji merenja 5, u zonama koje se nalaze bliže interfejsu (BI) i u potpovršinskim (PP) delovima (za detalje vidi **prilog E2**); SEM slike sekundarnih elektrona; Uzorci dobijeni sečenjem ručnom testerom.

Pravougaone zelene zone na Sl.93 imaju isto značenje kao i na Sl.92. Broj MRS merenja po zoni se kretao između 1 i 6 (vidi **prilog E2**). U slučaju većine uzoraka, MRS merenja su vršena u zonama koje su se nalazile na  $\sim 20 \mu\text{m}$  od interfejsa prevlaka/substrat (BI) i na  $\sim 20 \mu\text{m}$  od površine (PP) (vidi **prilog E2**). Pored ovih merenja, na uzorcima HAP-kp koji su nanoseni pri  $SOD=80$  i inicijalnim temperaturama substrata  $T_S=20, 100, \text{ i } 200 \text{ }^\circ\text{C}$  su izvršena MRS merenja na  $\sim 20, \sim 50, \text{ i } \sim 100 \mu\text{m}$  od interfejsa prevlaka/substrat, kao i u potpovršinskim (PP) delovima istih uzoraka (vidi **prilog E2**).

Eksperimentalni uslovi MRS merenja u pravcu debljina HA prevlaka su bili slični uslovima površinskih MRS merenja (vidi poglavlje 4.3.5.1), s tim da je u slučaju uzoraka sečenih dijamantskom testerom (Sl.92) (vidi **prilog E1**) primenjeno veće uvećanje objektiva ( $\times 50$ ), što je izvršeno sa ciljem povećanja prostorne rezolucije merenja na  $\sim 1 \mu\text{m}$ , dok je vreme ekspozicije laserskog snopa bilo duže ( $\sim 600 \text{ s}$ ). U slučaju uzoraka koji su sečeni ručnom testerom (Sl.93) (vidi **prilog E2**), primenjeno je uvećanje objektiva od  $\times 50$  i vreme ekspozicije laserskog snopa od  $\sim 400 \text{ s}$ . U slučaju obe vrste uzoraka HA prevlaka (sečenih dijamantskom i ručnom testerom), sva do sada opisana MRS merenja u ovom potpoglavlju su izvršena u opsegu frekvencija između  $\sim 800$  i  $\sim 1500 \text{ cm}^{-1}$  pomoću *Jobin Yvon T64000* spektrometra, dok je analiza svih dobijenih Raman spektara izvršena u opsegu frekvencija između  $\sim 900$  i  $\sim 1020 \text{ cm}^{-1}$  na način kako je opisano u poglavlju 4.3.5.1 (Sl.88b) i **prilogu C2-1**.

Pre merenja pomoću *Jobin Yvon T64000* spektrometra, manji broj merenja je izvršen pomoću *Tri Vista TR557* spektrometra na poprečnim presecima HAP-fp nanesenih pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=20, 100$  i  $200$  °C i HAP-kp nanesenih pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=100$  i  $200$  °C, koje su sečene ručnom testerom, na lokaciji merenja 5 u pravcu debljine (vidi **prilog E2**). U slučaju svih pomenutih HAP-fp, kao i HAP-kp nanesenih pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=100$  °C, MRS merenja su izvršena na  $\sim 20$   $\mu\text{m}$  od interfejsa (BI) i na  $\sim 20$   $\mu\text{m}$  od površine (PP), dok su u slučaju HAP-kp nanesenih pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=200$  °C vršena merenja i na sredini poprečnog preseka korišćenjem istih eksperimentalnih parametara kao i u slučaju analize fHAP i kHAP pomoću ovog spektrometra (vidi poglavlje 4.4.5.1), s tim da je primenjeno uvećanje objektiva od  $\times 50$  i duže vreme ekspozicije laserskog snopa od  $\sim 400$  s. Sva merenja pomoću *Tri Vista TR557* spektrometra su izvršena u frekventnom opsegu između  $\sim 200$  i  $\sim 4000$   $\text{cm}^{-1}$ . Cilj ovih merenja je bio da se ispita promena inteziteta istežućeg vibracionog moda OH<sup>-</sup> hemijske funkcionalne grupe locirane na frekvenciji  $3570\text{-}3575$   $\text{cm}^{-1}$  u pravcu debljine HA prevlaka.

#### 4.3.6. Svetlosna mikroskopija (SM)

Merenja debljine pomoću kalibrisanog mikrometra (vidi poglavlje 4.3.4) su potvrđena pomoću stereo svetlosnog mikroskopa (SM) *Karl Zeiss* (Nemačka) (vidi Sl.A6-8-1, **prilog A6-8**) (Katedra za metalurško inženjerstvo, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija) i pomoću SM *Reichert Jung MEF3* (Austrija) u svetlom polju (vidi Sl.A6-8-2, **prilog A6-8**) (Katedra za metalurško inženjerstvo, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu), dok su morfološko-strukturalna svojstva HA prevlaka posmatrana pomoću SM *Reichert Jung MEF3* u svetlom polju.

Ispitivanja pomoću stereo SM su vršena na poliranim poprečnim presecima uzoraka sečenih pomoću ručne testere (vidi poglavlje 4.4.5.2), a uzorci HAP-fp i HAP-kp koji su ispitani odgovaraju uzorcima čije su lokalne debljine merene pomoću kalibrisanog mikrometra (vidi poglavlje 4.3.4, kao i **prilog D**). Ovde treba napomenuti da su pojedini uzorci, čija je debljina merena pomoću stereo SM, bili sečeni, pored 2-5-8, i u drugim pravcima (npr. 1-4-7 i dr., **vidi prilog D**). Iako su merenja debljine pomoću stereo SM potvrđivala merenja pomoću kalibrisanog mikrometra, preciznost

ovih merenja nije bila zadovoljavajuća, jer je greška merenja u određenim slučajevima mogla da bude veća od ~50 µm. Zbog toga su izvršena preciznija merenja debljine pomoću SM *Reichert Jung MEF3* u svetlom polju. Ispitivanja pomoću ovog SM su vršena na poliranim poprečnim presecima uzoraka koji su sečeni dijamantskom testerom (vidi poglavlje 4.3.5.2), a uzorci HAP-fp i HAP-kp koji su ispitani odgovaraju uzorcima koji su ispitani pomoću MRS u pravcu debljine HA prevlaka (vidi poglavlje 4.3.5.2). Nakon svakog snimanja delova poliranog poprečnog preseka u pravcu 1-5-9 uzorka HAP-fp ili HAP-kp (vidi **prilog D**), izvršeno je snimanje standardne končanice *Reichert* (Austria) (vidi Sl.A6-8-3, **prilog A6-8**), koja je korišćena za kalibraciju merne skale mikro-fotografija poprečnih preseka HA prevlaka, pa time i za preciznije utvrđivanje debljine HA prevlaka i precizniju potvrdu merenja pomoću kalibrisanog mikrometra. Rastojanje između najmanjih podeoka na končanici je iznosilo ~10 µm, a između najvećih ~100 µm (vidi **prilog D**). Nakon kalibracije mernih skala pomoću standardne končanice, srednje debljine HA prevlaka su određene na lokacijama 9, 5 i 1 (vidi **prilog D**) pomoću *ImageJ* programskog paketa [241].

Pored merenja debljine, SM analiza pomoću SM *Reichert Jung MEF3* u svetlom polju je iskorišćena za posmatranje morfološko-strukturnih svojstava poprečnih preseka HA prevlaka (vidi **prilog E1**). Naime, analiza poliranih poprečnih preseka je dala informaciju o poroznosti, prisustvu prslina i prisustvu delimično istopljenih čestica polaznog HA praha (vidi **prilog D**). Nakon ove analize, izvršeno je nagrivanje poliranih poprečnih preseka HA prevlaka pomoću vodenog rastvora HNO<sub>3</sub> molarne koncentracije ~0.058 mol/l sa ciljem otkrivanja raspodele amorfnih (ACP) i kristalnih (HA) oblasti na osnovu velike razlike u njihovoj rastvorljivosti [58,152]. Vreme nagrivanja je iznosilo 4-5 s. Nakon hemijskog nagrivanja, izvršena je detaljna analiza morfoloških svojstava poprečnih preseka uzoraka HA prevlaka (vidi **prilog E1**).

#### **4.3.7. Skenirajuća elektronska mikroskopija sa energetsko-disperzivnom spektrometrijom (SEM-EDS)**

Skenirajuća elektronska mikroskopija sa energijskom-disperzivnom spektrometrijom (eng. scanning electron microscopy with energy dispersive system – SEM-EDS) je izvršena na *JEOL JSM-6610 LV* SEM-u sa instaliranim *Oxford*

*Instruments X-Max SDD* EDS-om (vidi Sl.A6-9-1, **prilog A6-9**) (Departman za mineralogiju, Rudarsko-geološki fakultet, Univerzitet u Beogradu). Ispitani su polazni fHAP i kHAP (vidi **prilog B2**), kao i poprečni preseki HAP-fp i HAP-kp koji su dobijeni sečenjem ručnom testerom, a koji su prethodno bili analizirani pomoću MRS (vidi poglavlje 4.3.5.2). S obzirom da je sečenje dijamantskom testerom unelo manji nivo naprezanja u odnosu na sečenje ručnom testerom, mikro-fotografije poliranih poprečnih preseka uzoraka HA prevlaka sečenih pomoću dijamantske testere su posmatrane kao referentne za procenu efekta sečenja ručnom testerom pomoću SEM-EDS. Morfološka svojstva poprečnih preseka HA prevlaka su ispitana pomoću slika sekundarnih elektrona, dok su hemijska svojstva ispitana pomoću slika povratno-rasutih elektrona i linijske EDS analize.

Pre ispitivanja, fHAP i kHAP su bili postavljeni na lepljivu ugljenikovu traku, koja je bila fiksirana na nosaču za praškaste uzorke (vidi Sl.A6-9-2, **prilog A6-9**). Nakon toga, površine nalepljenih čestica fHAP i kHAP su naparene tankim slojem (~20 nm) ugljenikovih čestica u vakuumskom neparivaču za uzorke (vidi Sl.A6-9-3, **prilog A6-9**). Pre ispitivanja poprečnih preseka HAP-fp i HAP-kp je vršeno njihovo kratkotrajno (1-2 min) čišćenje u čistom etanolu u ultrazvučnoj kadi, a nakon toga neparivanje ugljenikovim česticama, kao u slučaju fHAP i kHAP. Sva SEM-EDS merenja su izvršena pri naponu ubrzanja elektrona od ~20 kV, a kao izvor elektrona je korišćeno volframovo (W) vlakno. Na osnovu EDS merenja su procenjeni hemijska čistoća i molarni Ca/P odnos ispitivanih uzoraka. U slučaju HAP-fp nanesenih pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=20, 100$  i  $200$  °C, kao i HAP-kp nanesenih pri  $SOD=80$  mm i istim  $T_S$ , izvršena je linijska EDS analiza u pravcu debljine. Većina SEM-EDS analiza je izvršena oko lokacije merenja 5, poput MRS analize (vidi poglavlje 4.3.5.2). U **prilogu A6-9**, Sl.A6-9-4 prikazuje primarnu kolonu SEM sa detektorima i jonskom pumpom, dok je na Sl.A6-9-5 sumirana glavna i prateća oprema SEM modela *JEOL JSM-6610 LV*, koji je korišćen u ovom radu.



#### 4.3.8. Mase reagenasa, pH, temperatura i zapremina simuliranih telesnih tečnosti

Mase reagenasa za simulirane telesne tečnosti (vidi poglavlje 4.2.2.2) su izmerene na analitičkim vagama preciznosti merenja ~10 µg (Sartorius) (SPMS-CBC-NTU, Singapore). Merenja zapremina simuliranih telesnih tečnosti su vršena pomoću mikropipeta (CBC-SPMS-NTU, Singapore).

Merenja pH su izvršena pomoću *Docu-pH meter (Sartorius)* (vidi Sl.A6-10-1, **prilog A6-10**) (CBC- SPMS-NTU, Singapore). Pre svake serije merenja, pH elektrode su kalibrisane u tri tačke (pH=4, 7, 10) u standardnim rastvorima. Temperaturni opseg merenja pH elektroda je bio između -5 i 105 °C, dok je preciznost merenja iznosila ~0.01 pH. Merenja pH promena su izvršena na temperaturi simuliranih telesnih tečnosti od 36.5-37.0 °C, dok je regulacija pH vršena povremenim dodavanjem CO<sub>2</sub> gasa iz boce u simuliranu telesnu tečnost.

Merenja temperature simuliranih telesnih tečnosti su vršena pomoću analognog živinog termometra preciznosti očitavanja temperature od ~1 °C. Pored toga, merenje i regulacija temperature su vršeni automatski uz pomoć termopara koji je bio direktno povezan sa grejačem magnetne mešalice (vidi Sl.83, poglavlje 4.2.2.3).

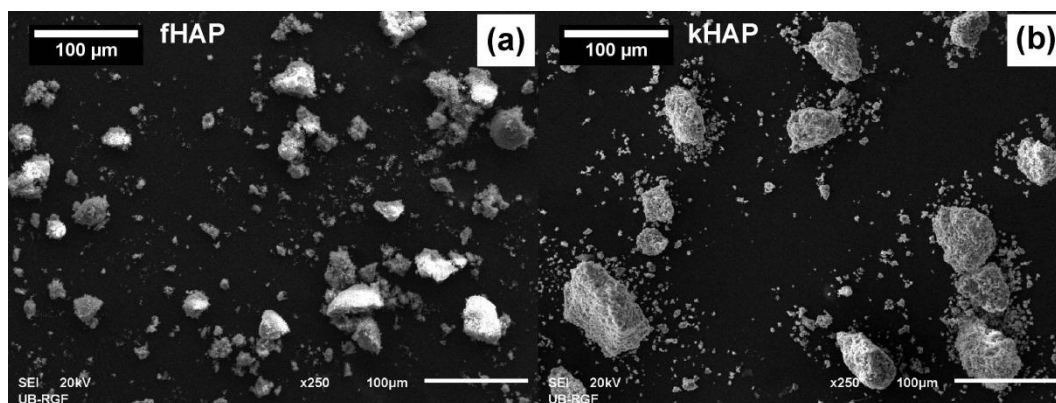
## 5. REZULTATI

### 5.1. Svojstva polaznih HA prahova

#### 5.1.1. Morfološka svojstva (SEM)

Sl.94 prikazuje morfologiju polaznih HA prahova korišćenih za nanošenje HA prevlaka u ovom radu. U **prilogu A1** su prikazana morfološka svojstva ovih prahova iz drugih literaturnih izvora.

Srednja veličina čestica finijeg hidroksiapatitnog praha (fHAP), komercijalne oznake XPT-D-703<sup>®</sup> (Sulzer Metco, USA), je iznosila  $33\pm 12\ \mu\text{m}$  (Sl.94a, vidi takođe Sl.A1-1, **prilog A1** i Sl.B2-1c, **prilog B2**), dok je srednja veličina čestica krupnijeg hidroksiapatitnog praha (kHAP), komercijalne oznake Captal 90<sup>®</sup> (Plasma Biotall Ltd, Velika Britanija), iznosila  $90\pm 15\ \mu\text{m}$  (Sl.94b, vidi takođe Sl.A1-2a i Tab.A1-1, **prilog A1**). U ovom radu nije vršeno kvantitativno određivanje srednjih veličina čestica fHAP i kHAP jer su one bile garantovane od strane proizvođača ovih prahova.

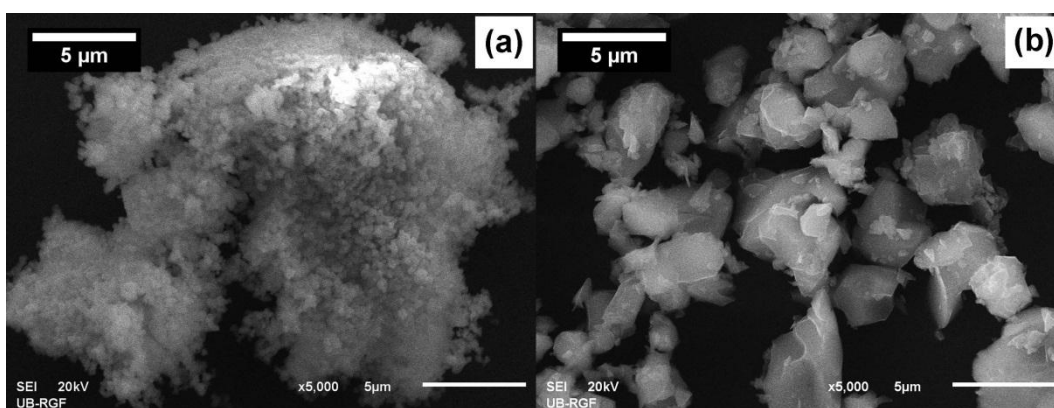


**Sl.94.** SEM mikrofotografije polaznih hidroksiapatitnih prahova: fHAP (a) i kHAP (b). Slike sekundarnih elektrona (Secondary electron images – SEI).

Na Sl.94a i 94b se primećuje prisustvo čestica fHAP i kHAP značajno manjih dimenzija. Ove čestice su mogle da nastanu lomom originalnih čestica tokom transporta, tokom presipanja iz originalnih pakovanja i/ili tokom njihovog mehaničkog pritiskanja uz lepljivu ugljenikovu traku na nosaču za praškaste uzorke pre SEM-EDS

analize (vidi Sl.A6-9-1, **prilog A6-9**). Čestice obe vrste prahova (fHAP i kHAP) su bile nepravilnog oblika, s tim da su čestice fHAP težile sferičnom (Sl.94a, vidi takođe Sl.B2-1c, **prilog B2**), a čestice kHAP poliedarskom obliku (Sl.94b).

Osim pomenutih razlika u obliku, čestice fHAP i kHAP su takođe ispoljavale razlike u morfologiji površine. Naime, površine čestica fHAP (odnosno *XPT-D-703*) su se karakterisale prisustvom reljefa sub-mikrometarskih razmera (Sl.95a, vidi takođe Sl.B2-1c, **prilog B2**), dok je reljefnost površine čestica kHAP (odnosno *Captal 90*<sup>®</sup>) bila značajno grublja (mikrometarskih razmera) (uporedi Sl.94b i Sl.A1-2a, **prilog A1**). Detaljnija ispitivanja finijih čestica praha koje su „otpale” sa čestica kHAP (vidi Sl.94b) su pokazala da je morfologija površine ovih čestica (Sl.95b) slična morfologiji površine čestica *Captal*<sup>®</sup> prahova sličnih dimenzija (vidi Sl.A1-2b, **prilog A1**) od kojih nijedna ne pokazuje prisustvo reljefa sub-mikrometarskih razmera.



**Sl.95.** Tipične morfologije površina čestica (a) XPT-D-703<sup>®</sup> i (b) Captal S prahova.

### 5.1.2. Hemijska svojstva (XRF i EDS)

Merenja srednjeg hemijskog sastava i srednjeg molarnog Ca/P odnosa fHAP i kHAP su pokazala dobro slaganje između rezultata XRF i EDS analiza (Tab.19). U **prilogu B2** su dati tipični rezultati određivanja srednjeg hemijskog sastava pomoću XRF, dok su u **prilogu B3** dati rezultati EDS merenja na hladno presovanim tabletama fHAP i kHAP.

XRF i EDS ispitivanja su pokazala da ukupna koncentracija nečistoća, tj. svih elemenata osim kalcijuma (Ca), fosfora (P) i kiseonika (O), nije prelazila ~0.3 at.%, u slučaju fHAP, odnosno ~0.5 at.%, u slučaju kHAP. Drugim rečima, hemijske čistoće

fHAP i kHAP, izražene preko molarnog udela, su iznosile ~99.7 at.% i ~99.5 at.%, respektivno. S druge strane, srednji molarni Ca/P odnos fHAP je iznosio ~1.35 (XRF), odnosno ~1.36 (EDS), dok je u slučaju kHAP iznosio ~1.69 (XRF), odnosno ~1.59 (EDS) (Tab.19).

**Tab.19.** Srednji hemijski sastav i srednji molarni Ca/P odnos fHAP i kHAP.

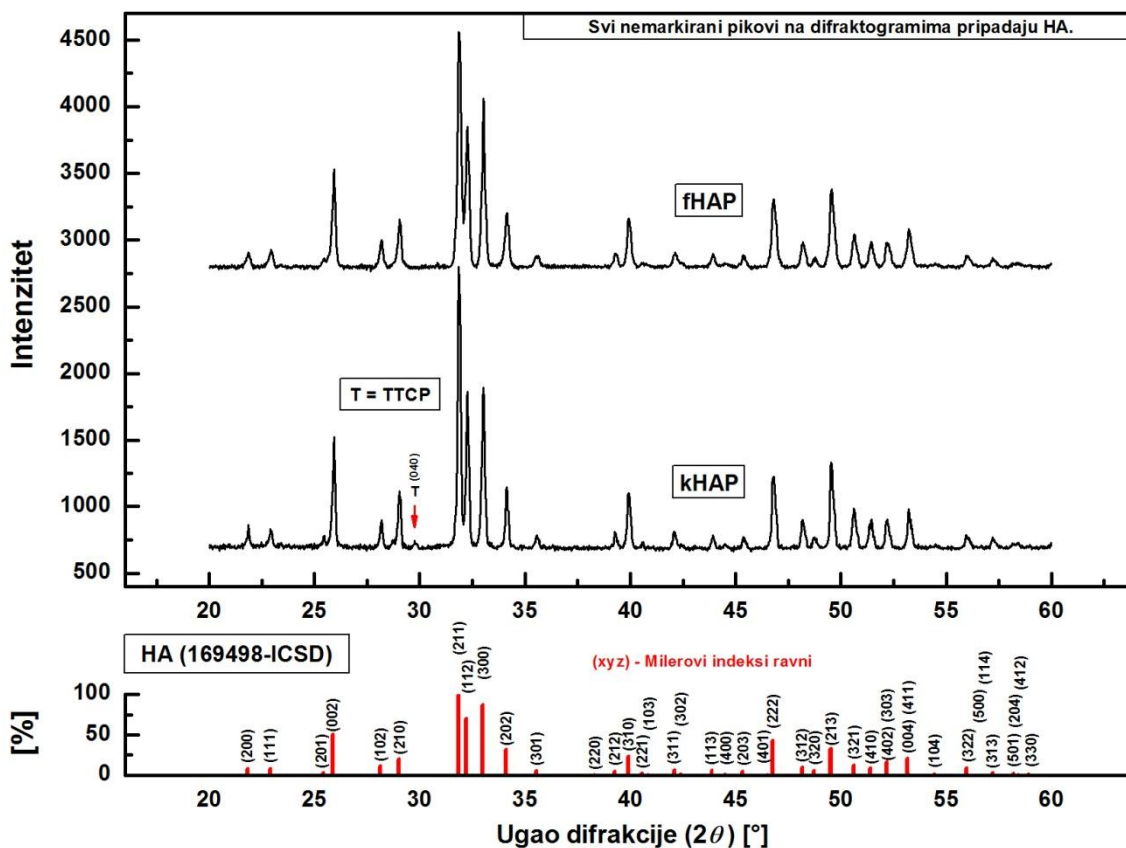
HA prah	Metod	Elementi [at.%]							Molarni Ca/P odnos
		Ca	P	Mg	Si	Al	Cl	O	
fHAP	XRF	21.64±0.18	16.03±0.11	<0.01	0.07±0.01	0.07±0.01	0.05±0.01	Balans	1.35±0.01
	EDS	21.77±0.99	16.06±0.56	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10		1.36±0.11
kHAP	XRF	24.31±0.18	14.33±0.11	0.23±0.01	0.17±0.01	0.04±0.01	<0.01	Balans	1.69±0.01
	EDS	23.63±1.12	14.92±0.64	0.17±0.10	<0.10	<0.10	<0.10		1.59±0.15

### 5.1.3. Identifikacija faza (XRPD)

Identifikacija faza prisutnih u polaznim HA prahovima je izvršena metodom rentgenske difraktometrije praha (XRPD). Na Sl.96 su prikazani rentgenski difraktogrami dobijeni sa fHAP i kHAP, respektivno. Na donjem delu iste slike su prikazani uglovi difrakcije ( $2\theta$ ), relativni intenziteti difraktovanog rentgenskog zračenja (apciska osa) i Milerovi indeksi ravni ( $xyz$ ) na kojima dolazi do pojave difrakcije u slučaju HA faze, a koji su utvrđeni ICSD standardom za identifikaciju ove faze (broj kartice 169498-ICSD, vidi Tab.13, poglavlje 2.6.3.2).

U slučaju fHAP (Sl.96), svi difrakcioni maksimumi, kao i uglovi difrakcije ( $2\theta$ ) pri kojima se oni javljaju, odgovaraju onima sa ICSD kartice za HA fazu. Ovaj rezultat je ukazivao da fHAP ne sadrži druge faze osim HA. U slučaju kHAP (Sl.96), svi nemarkirani difrakcioni maksimumi su odgovarali onima sa standardnih kartica za HA fazu. Međutim, primećeno je prisustvo difrakcionog maksimuma na  $2\theta=29.8^\circ$  čiji je položaj ( $2\theta$ ) odgovarao položaju najintenzivnijeg pika za TTCP fazu (vidi Tab.13, poglavlje 2.6.3.2). Primetno slabiji intenzitet ovog pika u odnosu na najintenzivniji (211) HA pik ukazuje na to da su manje količine TTCP faze najverovatnije bile prisutne u kHAP.

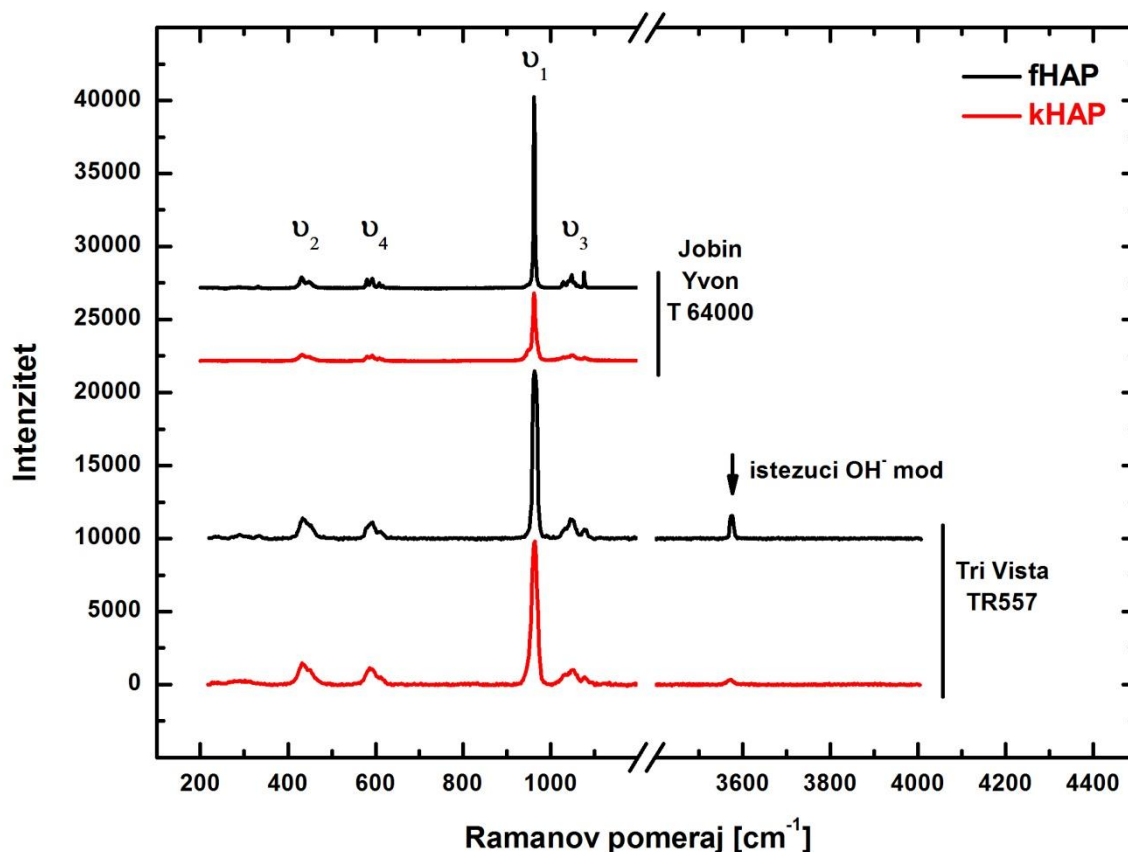
Difraktogrami dobijeni skeniranjem obe vrste polaznih HA prahova (fHAP i kHAP) su generalno ispoljavali intenzivne i relativno uske pikove, što je ukazivalo na visok stepen njihove kristaličnosti. Međutim, primećeno je da su pikovi sa fHAP difraktograma bili nešto slabijeg intenziteta i širi u odnosu na pikove sa kHAP difraktograma (Sl.96).



Sl.96. Difraktogrami dobijeni skeniranjem polaznih fHAP i kHAP.

#### 5.1.4. Identifikacija hemijskih funkcionalnih grupa (MRS)

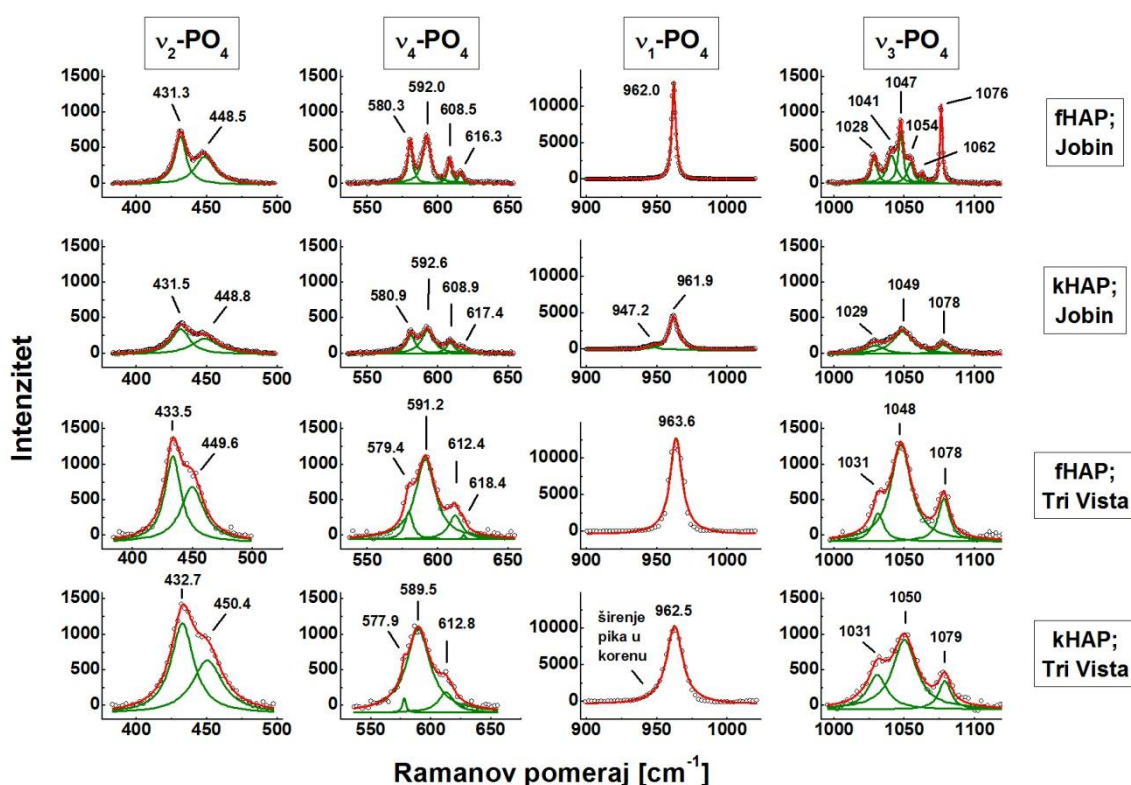
Sl.97 prikazuje tipične Raman spektre dobijene sa hladno presovanih tableta fHAP i kHAP pomoću *Jobin Yvon T64000* (frekventni opseg: 200-1200  $\text{cm}^{-1}$ ) i *Tri Vista TR557* (frekventni opseg: 200-4000  $\text{cm}^{-1}$ ) spektrometra. U slučaju obe vrste prahova (fHAP i kHAP), detektovana su četiri vibraciona moda  $\text{PO}_4^{3-}$  tetraedra ( $\nu_2$ ,  $\nu_4$ ,  $\nu_1$ , i  $\nu_3$ ), kao i vibracioni mod  $\text{OH}^-$  hemijske funkcionalne grupe (P-OH), koji su karakteristični za HA fazu ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ ) (vidi Tab.9, poglavlje 2.6.1.3.2).



**Sl.97.** Raman spektri dobijeni sa fHAP i kHAP pomoću *Jobin Yvon T64000* i *Tri Vista TR557* spektrometra.

Sl.98 prikazuje analizu pikova za svaki vibracioni mod  $\text{PO}_4^{3-}$  tetraedra koji je detektovan u slučajevima obe vrste HA prahova i oba tipa spektrometra. Svaki pik je fitovan lorencijanom sa ciljem utvrđivanja njegove centralne frekvencije, tj. Ramanovog pomeraja (principijelni postupak fitovanja Raman pikova je detaljnije opisan u **prilogu C2-1**). U oblasti frekvencija koje su karakteristične za savijajući O-P-O mod ( $\nu_2\text{-PO}_4$ ,  $380\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ ), detektovana su dva pika na frekvencijama  $\sim 432$  i  $\sim 449\text{ cm}^{-1}$  u slučajevima obe vrste praha i oba tipa spektrometra. U intervalu frekvencija karakterističnih za asimetrični savijajući O-P-O mod ( $\nu_4\text{-PO}_4$ ,  $530\text{-}650\text{ cm}^{-1}$ ), detektovana su četiri pika na sledećim frekvencijama:  $\sim 579$ ,  $\sim 591$ ,  $\sim 610$  i  $\sim 617\text{ cm}^{-1}$ . U oblasti frekvencija koje su karakteristične za simetrični istežuci P-O mod ( $\nu_1\text{-PO}_4$ ,  $900\text{-}1020\text{ cm}^{-1}$ ), detektovano je prisustvo jednog pika na frekvenciji od  $\sim 962\text{ cm}^{-1}$  (najintenzivniji pik) u slučaju fHAP, primenom oba tipa spektrometra. S druge strane, u slučaju kHAP, u navedenoj frekventnoj oblasti detektovana su dva pika na frekvencijama  $\sim 947\text{ cm}^{-1}$  (široki pik slabog intenziteta) i  $\sim 962\text{ cm}^{-1}$  (najintenzivniji pik)

pomoću *Jobin Ivon T64000* spektrometra, dok su najintenzivniji pik na frekvenciji od  $\sim 963 \text{ cm}^{-1}$  i primetna pojava širenja u korenu ovog pika detektovani pomoću *Tri Vista TR557* spektrometra. U intervalu frekvencija karakterističnih za asimetrični istežući P-O mod ( $\nu_3\text{-PO}_4$ ,  $1000\text{-}1120 \text{ cm}^{-1}$ ), u slučaju obe vrste prahova i oba tipa spektrometra, identifikovano je prisustvo tri pika na sledećim frekvencijama:  $\sim 1029$ ,  $\sim 1048$ ,  $\sim 1077 \text{ cm}^{-1}$ . Pored toga, u ovoj oblasti frekvencija je u slučaju fHAP primećeno prisustvo dodatna tri pika pomoću *Jobin Yvon T64000* spektrometra na sledećim frekvencijama:  $\sim 1041$ ,  $\sim 1054$  i  $\sim 1062 \text{ cm}^{-1}$ .



**SI.98.** Položaji pikova u oblastima frekvencija četiri vibraciona moda  $\text{PO}_4^{3-}$  ( $\nu_2$ ,  $\nu_4$ ,  $\nu_1$ , i  $\nu_3$ ) HA za slučajeve obe vrste polaznih prahova i oba tipa mikro-Raman spektrometara: Jobin (*Jobin Ivon T64000*) i Tri Vista (*Tri Vista TR557*).

Sa SI.98 je evidentno da su pikovi na Raman spektrima koji su dobijeni pomoću *Jobin Ivon T64000* spektrometra bili jasnije izraženi nego u slučaju *Tri Vista TR557* spektrometra. U određenim delovima spektra, npr.  $\nu_4\text{-PO}_4$ ,  $530\text{-}650 \text{ cm}^{-1}$  (SI.98), nije bilo moguće identifikovati pojedine pikove pomoću *Tri Vista TR557* spektrometra.

U **prilogu B3** su dati primeri originalnih Raman spektara dobijenih sa fHAP (Sl.B3-1) i kHAP (Sl.B3-2) pomoću *Jobin Ivon T64000* spektrometra. Ovi Raman spektri su specifični po tome što su merenja na fHAP i kHAP vršena različitim dana primenom različitih (a nekad i istih) vremena ekspozicije i uvećanja objektiva, dok su ostali parametri merenja bili približno isti (vidi poglavlje 4.3.5.1). Takođe, u **prilogu B3** su dati i Raman spektri fHAP i kHAP koji su dobijeni pomoću *Tri Vista TR557* spektrometra (Sl.B3-3). Analiza ovih spektara, koja je pokazana na primeru najintenzivnijeg HA pika lociranog na  $\sim 962 \text{ cm}^{-1}$  (vidi Tab.B3-1, **prilog B3**), je ukazala na to da se frekventni položaj HA pika kretao u granicama od  $\sim 2 \text{ cm}^{-1}$ , kao i to da je širina ovih pikova u slučaju fHAP uvek bila manja u poređenju sa kHAP. Ovi rezultati nisu zavisili od dana kada su vršena merenja, kao ni od modela spektrometra koji je bio primenjen (*Jobin* ili *Tri Vista*). S druge strane, analiza je pokazala izvesnu nekonzistentnost vezanu za vrednosti integralnih površina i relativnih intenziteta HA pikova na Raman spektrima fHAP i kHAP, (vidi Tab.B3-1, **prilog B3**). Drugim rečima, ove vrednosti su zavisile od specifičnih uslova merenja (izbora kombinacije optičkih rešetki na *Tri Vista* spektrometru, objektiva, laserske linije, podešenosti instrumenata, ambijentalnih uslova i sl.).

### 5.1.5. Identifikacija hemijskih funkcionalnih grupa (ATR-FTIR)

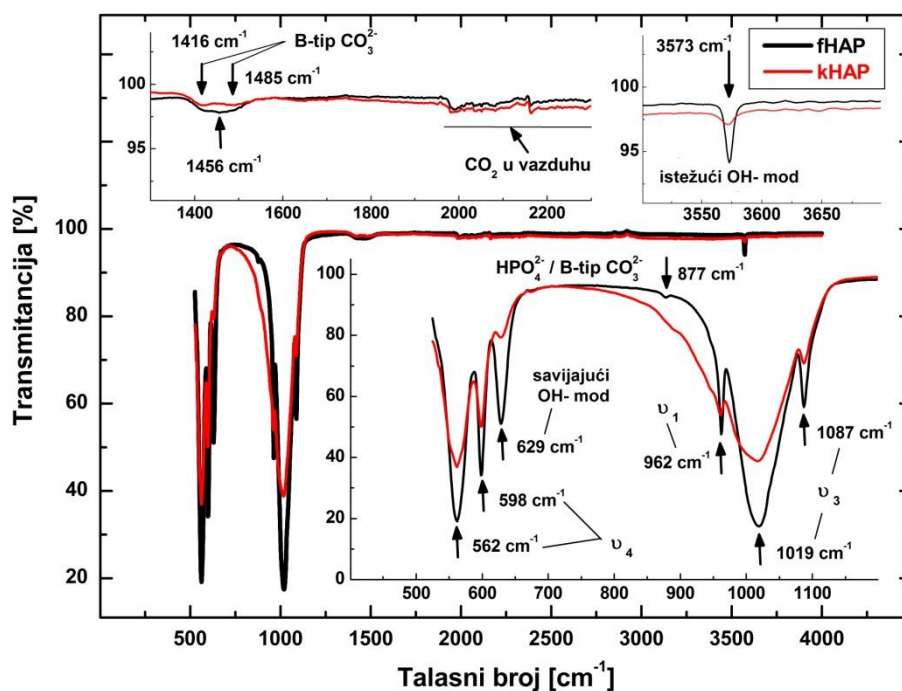
Na Sl.99 su prikazani tipični ATR-FTIR spektri dobijeni na polaznim HA prahovima pomoću *PerkinElmer Spectrum 100* spektrometra u oblasti talasnih brojeva (frekvencija) između  $\sim 530$  i  $\sim 4000 \text{ cm}^{-1}$ . Na istoj slici su, zbog preglednosti, prikazane uvećane karakteristične oblasti frekvencija na svim spektrima. U **prilogu B5** su dati primeri originalnih ATR-FTIR spektara fHAP i kHAP dobijeni u ponovljenim merenjima u oblasti frekvencija između  $\sim 500$  i  $\sim 4000 \text{ cm}^{-1}$ .

Pikovi koji pripadaju vibracionim modovima  $\text{PO}_4^{3-}$  tetraedra HA (vidi Tab.11 i 12, poglavlje 2.6.2.3) su locirani na sledećim frekvencijama (Sl.99): (i)  $\sim 562$  i  $\sim 598 \text{ cm}^{-1}$  (asimetrični savijajući O-P-O mod,  $\nu_4\text{-PO}_4$ ), (ii)  $\sim 962 \text{ cm}^{-1}$  (simetrični istežući P-O mod,  $\nu_1\text{-PO}_4$ ) i (iii)  $\sim 1019$  i  $\sim 1087 \text{ cm}^{-1}$  (asimetrični istežući P-O mod,  $\nu_3\text{-PO}_4$ ). Ovde treba napomenuti da pikovi koji pripadaju savijajućem O-P-O modu,  $\nu_2\text{-PO}_4$ , a koji se javljaju na frekvencijama nižim od  $\sim 530 \text{ cm}^{-1}$  (vidi Tab.11 i 12, poglavlje 2.6.2.3), nisu



identifikovani pomoću ATR-FTIR spektrometra zbog postojanja velikog odnosa šum/signal u tom frekventnom opsegu (vidi **prilog B5**).

Pikovi koji pripadaju vibracionim modovima OH<sup>-</sup> hemijske funkcionalne grupe HA (vidi Tab.12, poglavlje 2.6.2.3) su locirani na sledećim frekvencijama (Sl.99): (i) ~629 cm<sup>-1</sup> (savijajući OH<sup>-</sup> mod) i (ii) ~3573 cm<sup>-1</sup> (istežući OH<sup>-</sup> mod).



**Sl.99.** Originalni ATR-FTIR spektri dobijeni sa fHAP i kHAP.

U slučaju fHAP, jasno je uočen pik na ~877 cm<sup>-1</sup>, kao i postojanje širokog pika slabog intenziteta između ~1400 i ~1500 cm<sup>-1</sup>, sa centrom u ~1456 cm<sup>-1</sup> (Sl.99). S druge strane, u slučaju kHAP, uočena je slaba distorzija ATR-FTIR spektra između ~865 i ~885 cm<sup>-1</sup>, kao i postojanje širokog pika slabog intenziteta između ~1400 i ~1500 cm<sup>-1</sup>, sa dva lokalna maksimuma na ~1416 i ~1485 cm<sup>-1</sup> (Sl.99). Pikovi locirani između ~865 i ~885 cm<sup>-1</sup>, kao i između ~1400 i ~1500 cm<sup>-1</sup>, mogu da pripadaju vibracionim modovima CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> hemijske funkcionalne grupe: (i) savijajućem C-O modu (865-895 cm<sup>-1</sup>) i (ii) asimetričnom istežućem C-O modu (1400-1500 cm<sup>-1</sup>) (vidi Tab.12, poglavlje 2.6.2.3). Međutim, ovde je važno da se napomene da pikovi detektovani na frekvencijama 865-895 cm<sup>-1</sup> istovremeno mogu da ukazuju i na prisustvo HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> hemijske funkcionalne grupe (vidi Tab.12, poglavlje 2.6.2.3), što je posebno izraženo na

ATR-FTIR spektrima fHAP (jasno prisutan pik na  $\sim 877 \text{ cm}^{-1}$ ), za razliku od kHAP (slaba distorzija ATR-FTIR spektra između  $\sim 865$  i  $\sim 895 \text{ cm}^{-1}$ ).

Još jedna razlika u ATR-FTIR spektrima fHAP i kHAP se ogledala u tome što su pikovi sa fHAP intenzivniji, a u nekim oblastima frekvencija (npr.  $800\text{-}1200 \text{ cm}^{-1}$ ) i primetno uži u poređenju sa pikovima koji dolaze sa kHAP (Sl.99).

## 5.2. Analiza površinskih delova i debljine HA prevlaka

### 5.2.1. Identifikacija faza i srednje fazne promene

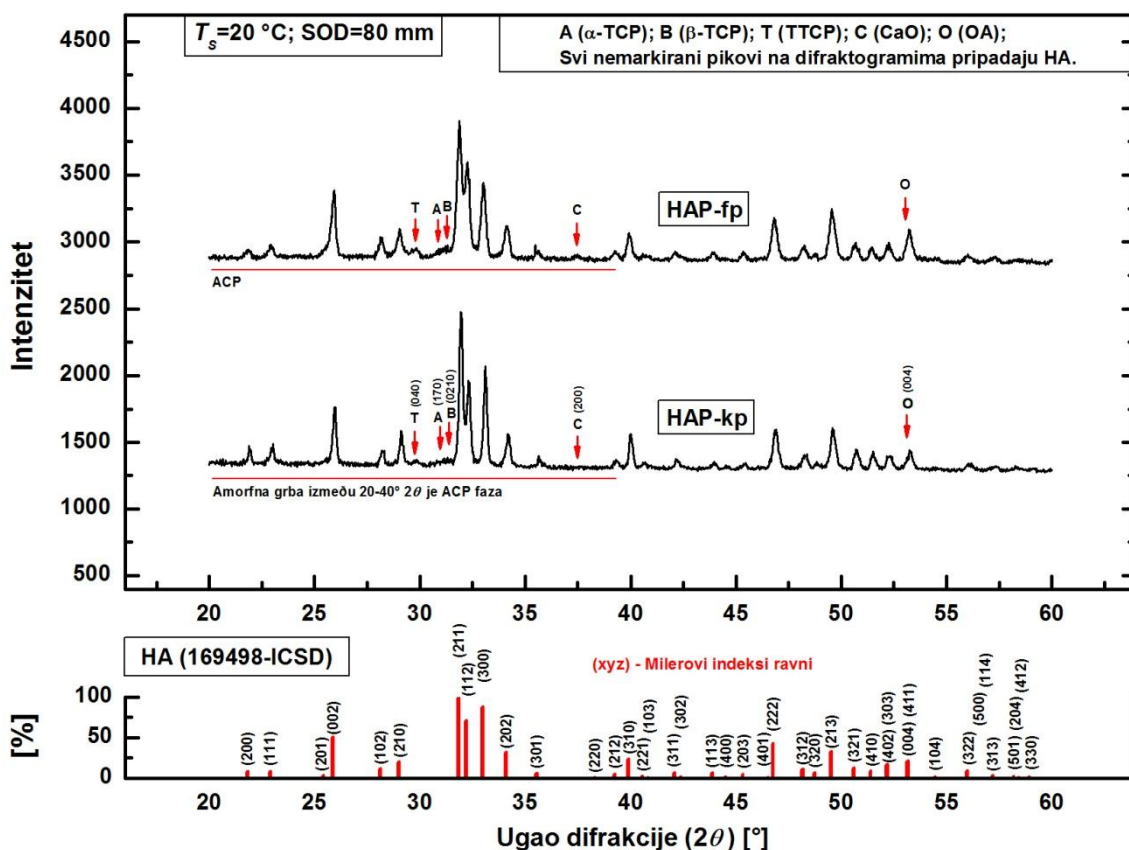
#### 5.2.1.1. Uticaj veličine polaznog HA praha

##### 5.2.1.1.1. XRPD analiza

Na Sl.100 su prikazani rentgenski difraktogrami dobijeni sa površinskih delova HAP-fp i HAP-kp nanesenih pri  $SOD=80 \text{ nm}$  i  $T_S=20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Na istoj slici, ispod ovih difraktograma, su prikazani uglovi difrakcije ( $2\theta$ ), normalizovani intenziteti difraktovanog rentgenskog zračenja i Milerovi indeksi ravni ( $xyz$ ) na kojima dolazi do pojave difrakcije u slučaju HA faze, koji odgovaraju standardnoj ICSD kartici za ovu fazu (169498-ICSD). Pored toga, crvenim strelicama, odnosno horizontalnim linijama, su na difraktogramima naznačeni uglovi difrakcije, odnosno intervali uglova difrakcije, za fazne nečistoće, koje se, pored HA faze, mogu sadržati u HA prevlakama koje su nanese plazma sprej postupkom (vidi Sl.25, poglavlje 2.2). U **prilogu C1-1**, na Sl.C1-1-1 do C1-1-5 su upoređeni tipični rentgenski difraktometri dobijeni sa površina HAP-fp i HAP-kp u  $2\theta$  opsegu  $20\text{-}60^\circ$ , a takođe su na kraju ovog priloga prikazani i delovi difraktograma u uskim intervalima  $2\theta$  koji daju detaljniji prikaz glavnih pikova faznih nečistoća (vidi Sl.C1-1-6 do C1-1-8, a za položaje glavnih pikova ovih faza vidi Tab.13, poglavlje 2.6.3.2).

Poređenjem rentgenskih difraktograma sa standardnom ICSD karticom za HA fazu je utvrđeno da svi na Sl.100 nenaznačeni difrakcioni maksimumi (pikovi) pripadaju HA fazi (vidi takođe Sl.C1-1-1 do C1-1-5, **prilog C1-1**). U slučaju HAP-fp, pored intenzivnih pikova koji dolaze od HA faze, utvrđeno je i prisustvo pikova slabog

intenziteta koji najverovatnije potiču od TTCP faze ( $2\theta=29.8^\circ$ ),  $\alpha$ -TCP i  $\beta$ -TCP faza (interval  $2\theta$  između  $30.7$  i  $31.4^\circ$ ), kao i od CaO faze ( $2\theta=37.5^\circ$ ) (vidi Sl.C1-1-6 i C1-1-7, **prilog C1-1** i Tab.13, poglavlje 2.6.3.2). Nekoliko difraktograma dobijenih sa HAP-fp su pokazali postojanje blage distorzije (004) HA pika na  $2\theta=53.1^\circ$ , što je ukazivalo na to da je OA faza verovatno prisutna u ovim prevlakama (vidi Sl.C1-1-8, **prilog C1-1** i poglavlje 2.6.3.2). U obe vrste prevlaka, HAP-fp i HAP-kp, je utvrđeno prisustvo TTCP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i OA faza (vidi Sl.C1-1-6 i C1-1-8, **prilog C1-1**), dok je u HAP-kp sadržaj  $\alpha$ -TCP faze bio manji nego u HAP-fp, a CaO faza praktično nije bila detektovana (vidi Sl.C1-1-7, **prilog C1-1**).



**Sl.100.** Rentgenski difraktogrami dobijeni sa površinskih delova HAP-fp i HAP-kp nanesenih pri istim uslovima plazma sprej procesa.

Pored kristalnih nečistoća (TTCP, TCP, CaO i OA), difraktogrami sa površinskih delova HAP-fp i HAP-kp su ukazali na prisustvo ACP faze. Na rentgenskim difraktogramima ova faza proizvodi tzv. amorfnu grbu čije je prisustvo primetno u opsegu  $2\theta$  između  $\sim 20$  i  $\sim 40^\circ$  (Sl.100, vidi takođe Sl.C1-1-1 do C1-1-5,

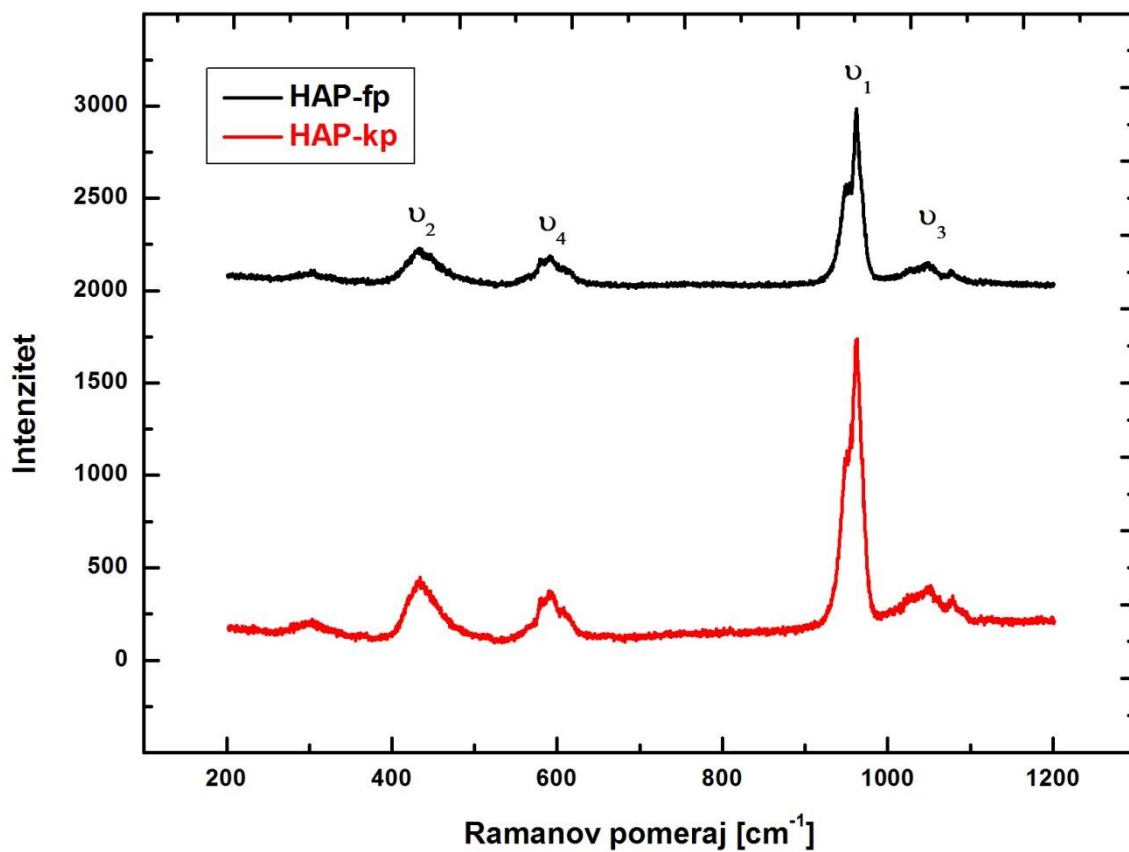
**prilog C1-1**). Razlog zbog koga je amorfna grba slabo uočljiva na Sl.100 je izraženija kristaličnost površinskih delova HAP-fp i HAP-kp nanesenih pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=20$  °C.

Poređenjem integralnih intenziteta pikova detektovanih faza sa rentgenskih difraktograma prikazanih na Sl.100 i u **prilogu C1-1** (Sl.C1-1-1 do C1-1-8) utvrđeno je dominantno prisustvo ACP i HA faza u HAP-fp i HAP-kp, pri čemu je sadržaj ACP značajnije izražen u HAP-fp nego u HAP-kp. Bez obzira na slab intenzitet difraktovanog zračenja koje dolazi od TTCP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i CaO faza, može se zaključiti da su HAP-fp sadržale veće količine ovih faznih nečistoća u odnosu na HAP-kp (vidi Sl.C1-1-6 i C1-1-7, **prilog C1-1**), dok je prisustvo OA faze bilo nešto veće u HAP-kp nego u HAP-fp, na šta upućuje evidentnija distorzije (004) pika HA na difraktogramu HAP-kp (vidi Sl.C1-1-8, **prilog C1-1**).

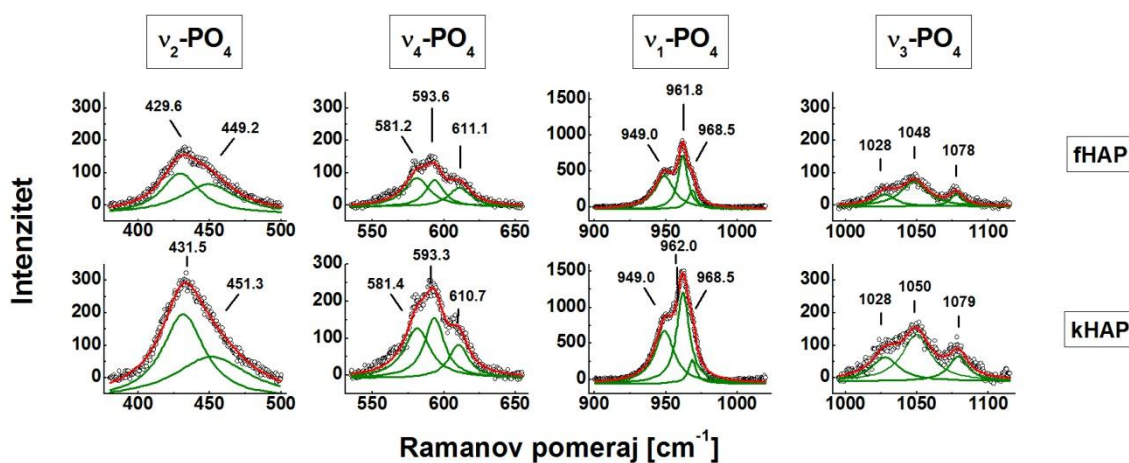
#### 5.2.1.1.2. MRS analiza

Sl.101 prikazuje Raman spektre koji su snimljeni na analognim lokacijama na površinama HAP-fp i HAP-kp, koje su nanesene pri istim uslovima plazma sprej procesa. Ovi spektri su dobijeni pomoću *Jobin Yvon T64000* spektrometra pri istim uslovima merenja (vidi poglavlje 4.3.5.1). Četiri vibraciona moda  $PO_4^{3-}$  tetraedra ( $\nu_2$ ,  $\nu_4$ ,  $\nu_1$ , i  $\nu_3$ ) koji pripadaju HA ( $Ca_5(PO_4)_3OH$ ) su detektovana u Raman spektrima obe vrste prevlaka (HAP-fp i HAP-kp) (Sl.101), kao u slučaju fHAP i kHAP (vidi Sl.97, poglavlje 5.1.4).

Sl.102 prikazuje analizu pikova za svaki vibracioni mod  $PO_4^{3-}$  tetraedra koji je detektovan u slučajevima obe vrste prevlaka. Svaki pik je fitovan lorencijanom u cilju utvrđivanja njegove centralne frekvencije (postupak fitovanja je detaljnije opisan u **prilogu C2-1**). U oblasti frekvencija  $380-500\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_2-PO_4$ ), detektovana su dva pika na frekvencijama  $\sim 430$  i  $\sim 449\text{ cm}^{-1}$ . U intervalu frekvencija  $530-650\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_4-PO_4$ ), detektovana su tri pika na sledećim frekvencijama:  $\sim 581$ ,  $\sim 594$  i  $\sim 611\text{ cm}^{-1}$ . Unutar frekventnog opsega  $900-1020\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_1-PO_4$ ), detektovano je prisustvo tri pika na frekvencijama od  $\sim 949$ ,  $\sim 962$  i  $\sim 969\text{ cm}^{-1}$ . U intervalu frekvencija  $1000-1120\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_3-PO_4$ ), detektovano je prisustvo tri pika na sledećim frekventnim položajima:  $\sim 1029$ ,  $\sim 1048$ ,  $\sim 1077\text{ cm}^{-1}$ .



SI.101. Površinski Raman spektri HAP-fp i HAP-kp nanosenih pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=20^\circ\text{C}$ .



SI.102. Položaji Raman pikova u oblastima frekvencija četiri vibraciona moda  $\text{PO}_4^{3-}$  tetraedra ( $\nu_2$ ,  $\nu_4$ ,  $\nu_1$ , i  $\nu_3$ ) HA u slučaju HAP-fp i HAP-kp nanosenih pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=20^\circ\text{C}$ .

U oblastima frekvencija koje su karakteristične za vibracione modove  $\nu_2\text{-PO}_4$ ,  $\nu_4\text{-PO}_4$ , i  $\nu_3\text{-PO}_4$  (Sl.102), frekvencije pikova, koji su detektovani na Raman spektrima snimljenim na površinama HAP-fp i HAP-kp, su praktično identične frekvencijama pikova detektovanih na spektrima fHAP i kHAP (vidi Sl.98, poglavlje 5.1.4), s tim da četvrti pik u  $\nu_4\text{-PO}_4$  intervalu frekvencija nije detektovan ni u jednoj vrsti prevlaka, kao ni pikovi na frekvencijama  $\sim 1041$ ,  $\sim 1054$  i  $\sim 1062\text{ cm}^{-1}$  u oblasti frekvencija  $\nu_3\text{-PO}_4$  moda u slučaju HAP-fp. S druge strane, u  $\nu_1\text{-PO}_4$  intervalu frekvencija je zabeležena pojava dva pika na frekvencijama  $\sim 949$  i  $\sim 969\text{ cm}^{-1}$ , što je značajna spektralna promena u odnosu na spektre polaznog stanja (fHAP ili kHAP, vidi Sl.98, poglavlje 5.1.4). Pored pomenutih sličnosti i razlika, primećeno je da su intenziteti svih pikova na spektrima dobijenim na površinama HAP-fp primetno manji u odnosu na intenzitete pikova dobijenih sa površina HAP-kp za iste uslove ispitivanja.

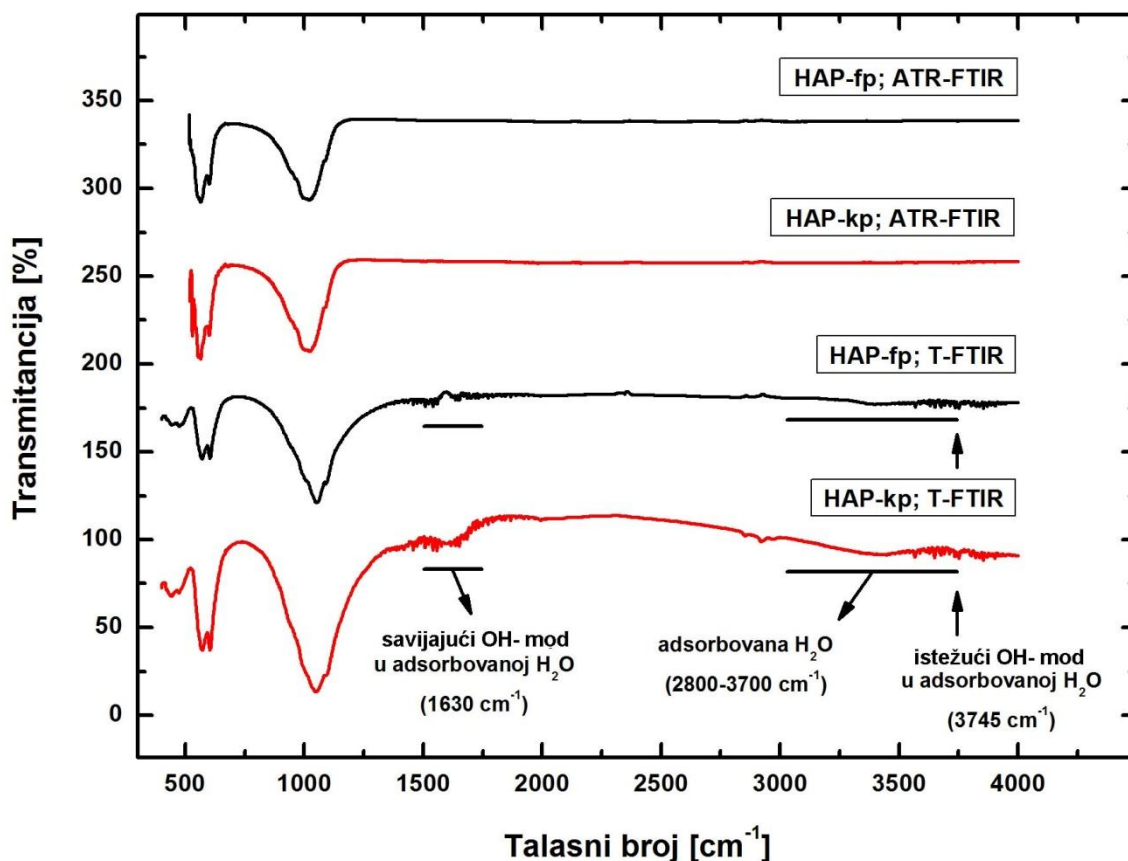
S obzirom da su MRS merenja pokazala da se najveće spektralne promene dešavaju u  $\nu_1\text{-PO}_4$  intervalu frekvencija ( $900\text{-}1020\text{ cm}^{-1}$ ), dalja analiza Raman spektara je vršena u ovom frekventnom opsegu. Analize brojnih Raman spektara (vidi **priloge C2-2, E1 i E2**) su pokazale da se tri Raman pika, koja su detektovana u ovom opsegu frekvencija, pojavljuju unutar sledećih uskih frekventnih oblasti:  $949\text{-}951$ ,  $960\text{-}963$  i  $966\text{-}969\text{ cm}^{-1}$ . Prvom pikom je dodeljena oznaka  $A_1$ , drugom  $A_2$ , a trećem  $A_3$  (vidi **prilog C2-1** i Sl.88b, poglavlje 4.3.5.1). Intenzitetima ovih pikova mogu da doprinose različite faze koje mogu da budu prisutne u prevlakama, a čiji se pikovi međusobno preklapaju u frekventnom opsegu između  $\sim 900$  i  $\sim 1020\text{ cm}^{-1}$  (vidi Sl.62 i 63, Tab.10 i objašnjenja u poglavlju 2.6.1.3.5). Imajući u obzir prethodno, za dalju analizu Raman spektara u frekventnom opsegu  $900\text{-}1020\text{ cm}^{-1}$  od posebnog značaja su bile identifikacija prisutnih faza (vidi **prilog C1-1**) u HA prevlakama, kao i analiza promena udela faza u ovim prevlakama u zavisnosti od primenjenih parametara procesa nanošenja pomoću XRPD metode (vidi **prilog C1-2**).

#### 5.2.1.1.3. FTIR analiza

Sl.103 prikazuje ATR-FTIR (frekventni opseg:  $530\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ ) i T-FTIR (frekventni opseg:  $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ ) spektre HAP-fp i HAP-kp nanesenih pri istim uslovima plazma sprej procesa, dok su na Sl.104 prikazani uvećani delovi spektara sa

Sl.103 na kojim se lakše uočavaju promene u spektrima u odnosu na polazne prahove (vidi Sl.99, poglavlje 5.1.5).

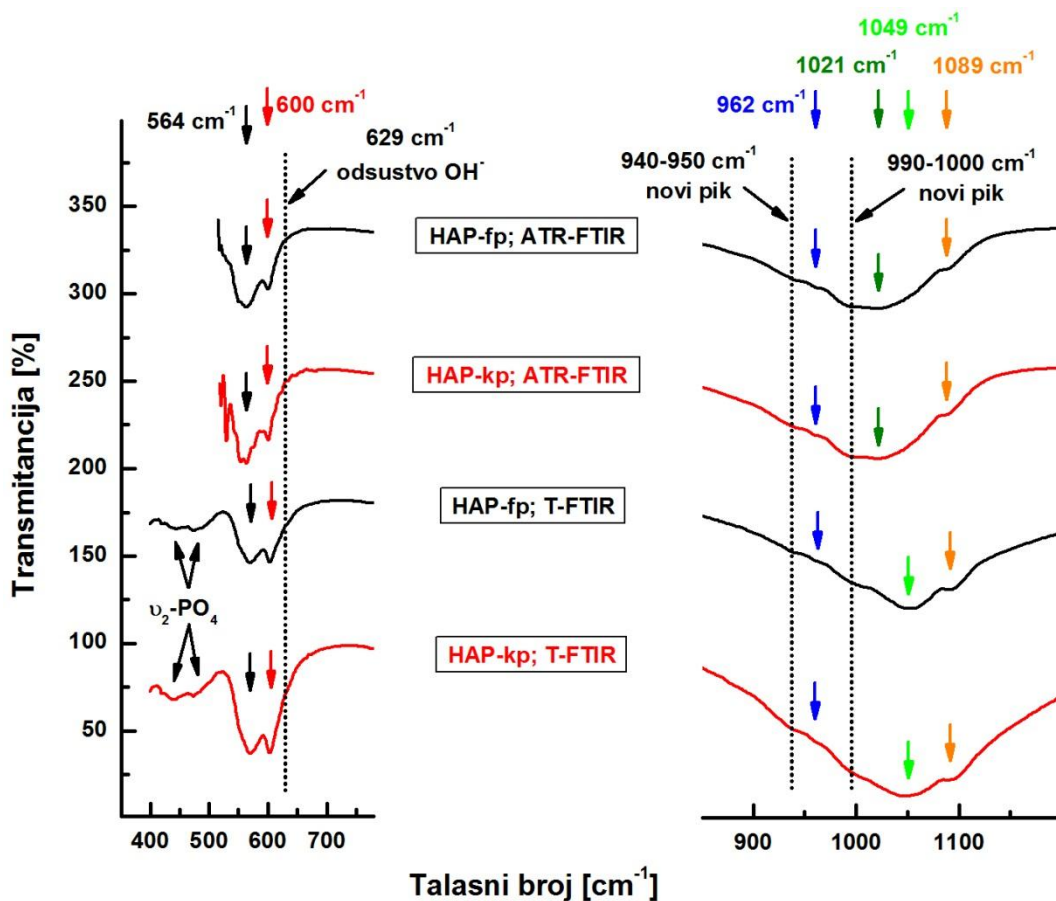
U odnosu na polazno stanje, FTIR spektri površinskih delova HAP-fp i HAP-kp su pokazali odsustvo vibracionih modova u oblastima frekvencija  $865-895\text{ cm}^{-1}$  i  $1400-1500\text{ cm}^{-1}$ , gde se javljaju modovi karakteristični za  $\text{CO}_3^{2-}/\text{HPO}_4^{2-}$  hemijske funkcionalne grupe (Sl.103). Za razliku od ATR-FTIR spektara, T-FTIR spektri su pokazali prisustvo vibracionih modova karakterističnih za adsorbovane molekule  $\text{H}_2\text{O}$  (Sl.103). Takođe, na spektrima na Sl.103 se uočava odsustvo vibracionih modova  $\text{OH}^-$  hemijske funkcionalne grupe HA ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ ) na frekvencijama  $\sim 629\text{ cm}^{-1}$  (savijajući  $\text{OH}^-$  mod) i  $\sim 3573\text{ cm}^{-1}$  (istežući  $\text{OH}^-$  mod), za razliku od spektara polaznih prahova (vidi Sl.99, poglavlje 5.1.5), gde su ovi modovi jasno izraženi.



Sl.103. ATR-FTIR i T-FTIR spektri dobijeni sa površinskih delova HAP-fp i HAP-kp nanosenih pri  $SOD=100\text{ mm}$  i  $T_S=20\text{ }^\circ\text{C}$ .



Sl.104 pokazuje da FTIR spektri HAP-fp i HAP-kp pokazuju prisustvo pikova na frekvencijama  $\sim 564$  i  $\sim 600$   $\text{cm}^{-1}$ , koji pripadaju vibracionom modu  $\nu_4$ - $\text{PO}_4$  HA, pika na frekvenciji  $\sim 962$   $\text{cm}^{-1}$ , koji pripada vibracionom modu  $\nu_1$ - $\text{PO}_4$  HA, kao i pikova na frekvencijama  $\sim 1021$  i  $\sim 1089$   $\text{cm}^{-1}$  (ATR-FTIR spektri), odnosno  $\sim 1049$  i  $\sim 1089$   $\text{cm}^{-1}$  (T-FTIR spektri), koji pripadaju vibracionom modu  $\nu_3$ - $\text{PO}_4$  HA. Svi ovi pikovi su detektovani i na spektrima polaznih prahova fHAP i kHAP (Sl.99, poglavlje 5.1.5). S druge strane, u okolini pika na frekvenciji  $\sim 962$   $\text{cm}^{-1}$ , detektovani su pikovi na frekvencijama  $940$ - $950$   $\text{cm}^{-1}$  i  $990$ - $1000$   $\text{cm}^{-1}$  (Sl.104), čije prisustvo nije zabeleženo na ATR-FTIR spektrima fHAP i kHAP (Sl.99, poglavlje 5.1.5). T-FTIR spektri su pokazali prisustvo pikova koji pripadaju vibracionom modu  $\nu_2$ - $\text{PO}_4$  HA na frekvencijama nižim od  $\sim 530$   $\text{cm}^{-1}$ , što pomoću ATR-FTIR nije detektovano (Sl.104).



**Sl.104.** Prikaz frekventnih opsega ATR-FTIR T-FTIR spektara sa Sl.103 u kojima je detektovana pojava, odnosno odsustvo pojedinih pikova u odnosu na polazno stanje (fHAP i kHAP, vidi Sl.99, poglavlje 4.1.5).



Odsustvo modova  $\text{OH}^-$  funkcionalnih grupa HA na frekvencijama  $\sim 629 \text{ cm}^{-1}$  (savijajući  $\text{OH}^-$  mod) i  $\sim 3573 \text{ cm}^{-1}$  (istežući  $\text{OH}^-$  mod), kao i pojava novih pikova na frekvencijama  $940\text{-}950 \text{ cm}^{-1}$  i  $990\text{-}1000 \text{ cm}^{-1}$  su ukazivali na prisustvo OHA faze u HAP-fp i HAP-kp, tj. na prisustvo čvrstog rastvora OA u HA (vidi poglavlje 2.6.2.3). Pored toga, intenziteti svih pikova na FTIR spektrima HAP-fp i HAP-kp (Sl.103) bili su znatno slabiji u poređenju sa intenzitetima pikova na ATR-FTIR spektrima fHAP i kHAP (vidi Sl.99, poglavlje 5.1.5).

Poređenjem ATR-FTIR spektara HAP-fp i HAP-kp, koji su uzeti sa različitih delova površina HAP-fp i HAP-kp nanesenih pri  $SOD=100 \text{ mm}$  i  $T_S=20 \text{ }^\circ\text{C}$ , utvrđeno je da su se oni međusobno malo razlikovali (vidi Sl.C3-1, **prilog C3**). Drugim rečima, nisu utvrđene značajne razlike u intenzitetima na ovim spektrima ni u jednoj oblasti frekvencija, nalik razlikama koje su se ispoljile na površinskim Raman spektrima istih HAP-fp i HAP-kp u frekventnom opsegu  $900\text{-}1020 \text{ cm}^{-1}$  (vidi **prilog C2-2**).

#### 5.2.1.2. Uticaj $SOD$ i $T_S$

##### 5.2.1.2.1. XRPD analiza

Promene  $SOD$  i  $T_S$  nisu uticale na pojavu novih Bragg-ovih refleksija na difraktogramima HAP-fp i HAP-kp koje bi ukazivale na pojavu novih faza (vidi **prilog C1-1**). U slučaju HAP-fp, promena  $SOD$  je izazvala приметnu promenu integralnih intenziteta svih Bragg-ovih refleksija koje dolaze sa HA faze, kao i integralnog intenziteta amorfnе grbe koja se vezuje za prisustvo ACP faze (vidi **prilog C1-1**, kao i Sl.C1-2-14 i Tab.C1-2-2 u **prilogu C1-2** i Sl.105a).

Iako je delovalo da je promena  $T_S$  izazvala приметne promene integralnih intenziteta ACP i HA faza (vidi **prilog C1-1**, Tab.C1-2-2 u **prilogu C1-2** i Sl.105b), pogotovu u slučaju uzorka HAP-fp nanesenog pri  $SOD=100 \text{ mm}$  i  $T_S=200 \text{ }^\circ\text{C}$  (Sl.105b), ovde treba naglasiti da je ovaj uzorak imao приметno manju srednju debljinu od ostalih uzoraka (vidi Tab.C1-2-2, **prilog C1-2**), zbog čega je i primećen veliki pad u relativnoj kristalichnosti (Sl.105b). U slučaju HAP-kp, promene  $SOD$  i  $T_S$  nisu značajno uticale na promene integralnih intenziteta ACP i HA faza u površinskim delovima uzoraka (vidi **prilog C1-1**, Tab.C1-2-2 u **prilogu C2-2**, kao i Sl.105c za  $SOD$  i Sl.105d za  $T_S$ ).

Rentgenski difraktogrami, koji su prikazani u **prilogu C1-1**, su ukazivali na to da promene  $SOD$  i  $T_S$  nisu izazvale značajnije promene integralnih intenziteta  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP, TTCP, CaO i OA faza u površinskim delovima ni jedne od dve vrste prevlaka (HAP-fp i HAP-kp) (Sl.C1-1-6 do Sl.C1-1-8).

#### 5.2.1.2.2. MRS analiza

Već je napomenuto da je na integralne intenzitete Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ , koji su redom bili locirani na frekvencijama 949-951, 960-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , moglo da utiče prisustvo ACP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP, TTCP, HA i OA (vidi Sl.63 i Tab.10 i objašnjenje u poglavlju 2.6.1.3.5). XRPD analiza je pokazala da su sve ove faze najverovatnije bile prisutne u HAP-fp i HAP-kp, što je ukazivalo na to da su sve one najverovatnije i doprinele integralnim intenzitetima Ramanovih pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ . S druge strane, na osnovu razlika u integralnim površinama difrakcionih pikova vezanih za pojedine faze, XRPD analiza je pokazala da su ACP i HA faza bile dominantno prisutne u HAP-fp i HAP-kp u odnosu na druge detektovane faze, što je dalje ukazivalo da su ACP i HA faza najverovatnije imale dominantan uticaj i na integralne intenzitete Raman pikova u oblasti frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$ .

I pored razlika između Raman spektara uzetih sa površine istih HAP-fp (vidi **prilog C2-2**), kvalitativnim poređenjem ovih spektara je utvrđeno da se sa povećanjem  $SOD$  integralni intenzitet  $A_1$  Raman pika povećavao, dok se istovremeno integralni intenzitet  $A_2$  Raman pika smanjivao. Dalja analiza je pokazala da su ove promene na Raman spektrima analogne promenama na rentgenskim difraktogramima dobijenim na istim HAP-fp (vidi **prilog C1-1**). Drugim rečima, promena integralnog intenziteta  $A_1$  Raman pika je pratila promenu integralnog intenziteta amorfne grbe, tj. ACP faze, dok je promena integralnog intenziteta  $A_2$  Raman pika pratila promenu integralnog intenziteta Bragg-ovih refleksija karakterističnih za HA fazu.

Jedna od često korišćenih metoda za određivanje relativne amorfnosti HA prevlaka na osnovu rentgenskih difraktograma definiše relativnu amorfnost kao količnik integralnog intenziteta amorfne grbe i sume integralnih intenziteta amorfne grbe i svih pikova kristalnih faza iznad amorfne grbe u intervalu  $2\theta = 20-40^\circ$  (vidi poglavlje 2.6.3.3). Imajući u vidu ovu definiciju relativne amorfnosti HA prevlaka i zapaženu

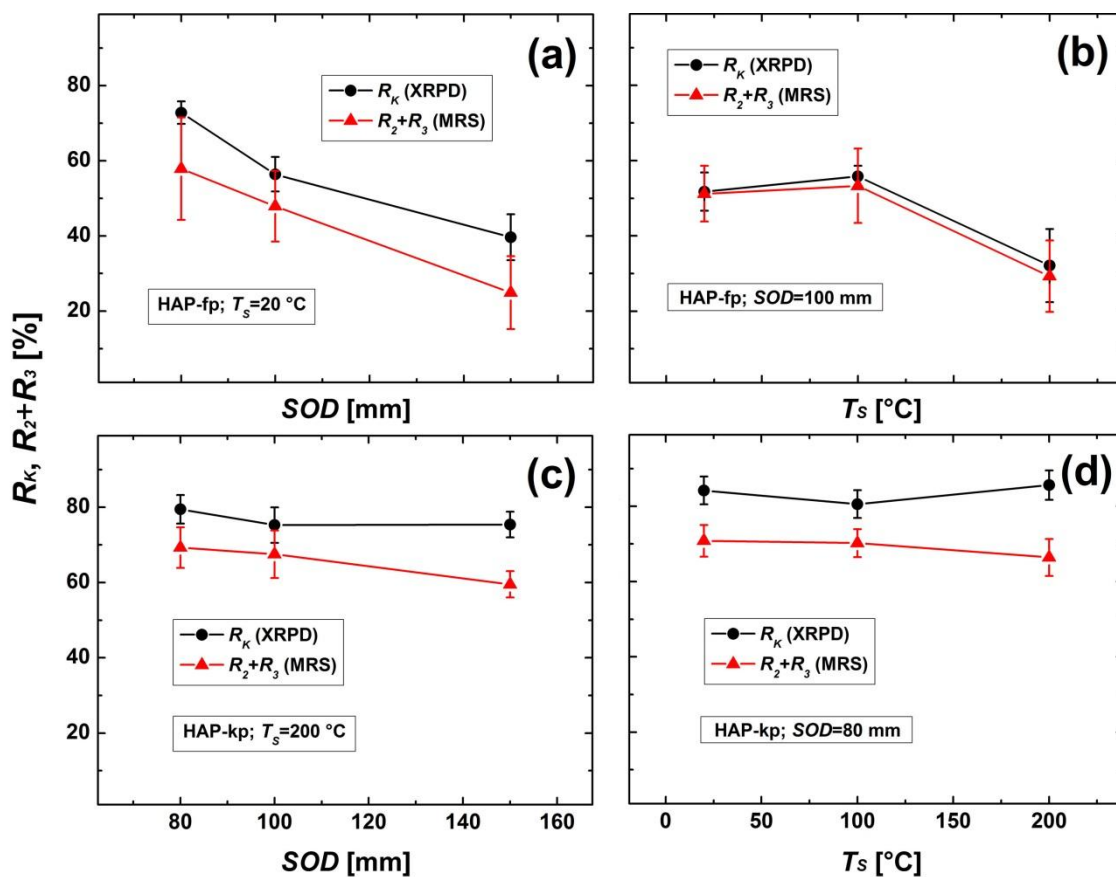
analogiju u promenama na Raman spektrima i rentgenskim difraktogramima, relativna amorfnost HA prevlaka bi mogla da se definiše i kao količnik integralnog intenziteta  $A_1$  Raman pika i sume integralnih intenziteta Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  u oblasti frekvencija između 900 i 1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi Sl.88b, prilog 4.3.5). U ovom radu, taj količnik je predstavljao relativni intenzitet  $A_1$  Raman pika, koji je označen kao  $R_1=A_1/(A_1+A_2+A_3)$ , gde  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  označavaju integralne intenzitete odgovarajućih Raman pikova. Na sličan način su definisani i relativni intenziteti ( $R_2$  i  $R_3$ ) Raman pikova  $A_2$  i  $A_3$ . Na osnovu prethodnog, relativni intenzitet  $R_1$  je odgovarao relativnoj amorfnosti HA prevlaka, tj. relativnom sadržaju ACP faze ( $R_A$ , vidi **prilog C2-2**), dok je suma relativnih intenziteta  $R_2$  i  $R_3$  ( $R_2+R_3$ ) bila analogna relativnoj kristalichnosti HA prevlaka ( $R_K$ , vidi **prilog C2-2**).

### 5.2.1.3. Srednje relativne površinske kristalichnosti HA prevlaka (MRS vs. XRPD)

Sa svakog rentgenskog difraktograma dobijenog sa površinskih delova uzoraka HAP-fp i HAP-kp nanesenih pri različitim  $SOD$  i  $T_S$  su određene srednje relativne kristalichnosti ( $R_K$ ). Postupak određivanja srednjih relativnih kristalichnosti je detaljno objašnjen u **prilogu C1-2**. U ovom prilogu, u Tab.C1-2-2 su pregledno prikazani rezultati srednjih relativnih kristalichnosti ( $R_K$ ) površinskih delova ispitanih prevlaka.

Svaki Raman spektar snimljen na površini uzoraka HAP-fp i HAP-kp je fitovan prema postupku koji je detaljno objašnjen u **prilogu C2-1** sa ciljem određivanja relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  Ramanovih pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ , respektivno. Rezultati ovih fitovanja su prikazani u **prilogu C2-2**. U ovom prilogu su za svaki uzorak HAP-fp i HAP-kp prikazani originalni i fitovani površinski Raman spektri (koji su normalizovani u odnosu na najintenzivniji  $A_2$  Raman pik), lokacije MRS merenja na površini uzoraka i njihove oznake, tabelarni prikaz određenih relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ , kao i njihove raspodele u trodimenzionalnom (3D) Dekartovom koordinantom sistemu. U slučaju svake lokacije merenja (1-9) na površini uzorka, izvršeno je sabiranje relativnih intenziteta  $R_2$  i  $R_3$ , s obzirom da zbir ( $R_2+R_3$ ) odgovara relativnoj kristalichnosti ( $R_K$ ), kako je već napomenuto, a nakon toga su sume ( $R_2+R_3$ ) sa svih lokacija merenja (1-9) sabrane i podeljene sa brojem mernih lokacija (9), čime je dobijena srednja vrednost ( $R_2+R_3$ ) za površinu jednog uzorka.

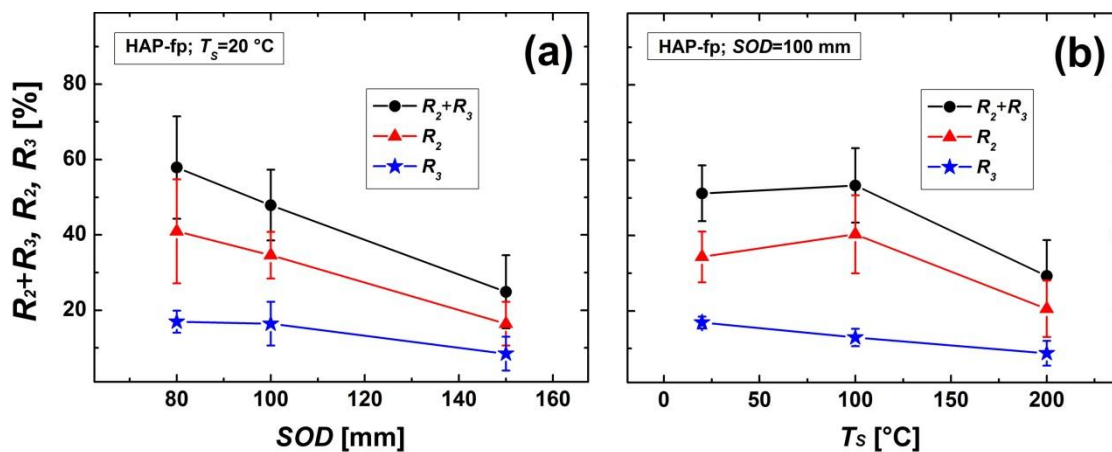
Sl.105 poredi vrednosti  $R_K$ , određenih primenom XRPD, i  $R_2+R_3$ , određenih primenom MRS, koji su dobijeni sa površinskih delova uzoraka HAP-fp i HAP-kp nanesenih pri različitim  $SOD$  i  $T_S$ . Vrednosti  $R_K$  i  $R_2+R_3$  su se razlikovale za oko 15 %, dok su promene  $R_2+R_3$  pratile promene  $R_K$  sa porastom  $SOD$  i  $T_S$  sa odstupanjima manjim od 5 %, za obe vrste prevlaka (HAP-fp i HAP-kp). S obzirom da je  $R_I=100-(R_2+R_3)$ , promena relativnog intenziteta ( $R_I$ ) Raman pika  $A_1$  je odražavala promenu relativne amorfности, tj. relativnog sadržaja ACP faze. Međutim, ostalo je nerazjašnjeno koliko su promene relativnih intenziteta ( $R_2$  i  $R_3$ ) Raman pikova  $A_2$  i  $A_3$  pojedinačno doprinosile promeni  $R_2+R_3$  sa promenom  $SOD$  i  $T_S$ , kao i kojim fazama su odgovarale promene ova dva relativna intenziteta.



Sl.105. Promene srednje relativne kristalichnosti  $R_K$  i srednje vrednosti sume relativnih intenziteta  $R_2+R_3$  površinskih delova HAP-fp (a i b) i HAP-kp (c i d) nanesenih pri različitim  $SOD$  (a i c) i  $T_S$  (b i d).

Na Sl.106 su prikazane promene srednjih relativnih intenziteta  $R_2$ ,  $R_3$ , i  $R_2+R_3$  sa  $SOD$  i  $T_S$  u slučaju HAP-fp. Ovi rezultati su pokazali da je promena srednjeg relativnog intenziteta  $R_2$  dominantno uticala na promenu srednje vrednosti  $R_2+R_3$ . S druge strane, srednji relativni intenzitet  $R_3$  je naizgled blago rastao sa smanjenjem  $SOD$  i  $T_S$ . Međutim, ispravnost ovakvog zaključka se može dovesti u sumnju, zbog male promene relativnog intenziteta  $R_3$  koja je bila unutar greške merenja od ~20 % (vidi Sl.C2-1-16, **prilog C2-1**).

Na grešku pri određivanju relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su najviše uticali lokacija merenja na uzorcima prevlaka i postupak fitovanja originalnih Raman spektara. Kvantitavna analiza greške pri određivanju vrednosti relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  (vidi Sl.C2-1-14 do Sl.C2-1-16, **prilog C2-1**) je pokazala da su lokacije merenja na uzorcima imale veći uticaj na vrednosti relativnih intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  nego postupak fitovanja, dok su lokacija merenja i postupak fitovanja uticali na vrednost relativnog intenziteta  $R_3$  praktično na isti način, zbog čega su promene ovog relativnog intenziteta tumačene kao posledica mikro-strukturne heterogenosti HA prevlaka samo u slučajevima kada su bile potkrepljene rezultatima drugih analiza i/ili metoda ispitivanja.



**Sl.106.** Doprinos srednjih relativnih intenziteta  $A_2$  i  $A_3$  Raman pikova ( $R_2$  i  $R_3$ ) promeni srednje vrednosti zbira ovih relativnih intenziteta sa  $SOD$  (a) i  $T_S$  (b) u slučaju HAP-fp.

U ovom radu je pretpostavljeno da promene relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  odražavaju promene relativnih sadržaja ACP, HA i OA faze u HA prevlakama, respektivno. Na osnovu ovde prikazanih rezultata, nivo promena relativnih intenziteta

$R_1$ , tj.  $100-(R_2+R_3)$ , i  $R_2$  koji je detektovan pomoću MRS analize, u poređenju sa promenama koje su detektovane pomoću XRPD, jasno je ukazivao na razlog zbog čega su promene ovih relativnih intenziteta pripisane promenama relativnih sadržaja ACP i HA, respektivno. S druge strane, promene relativnog intenziteta  $R_3$  nisu bile toliko intenzivne i očigledne, dok su greške fitovanja pri njegovom određivanju bile relativno velike .

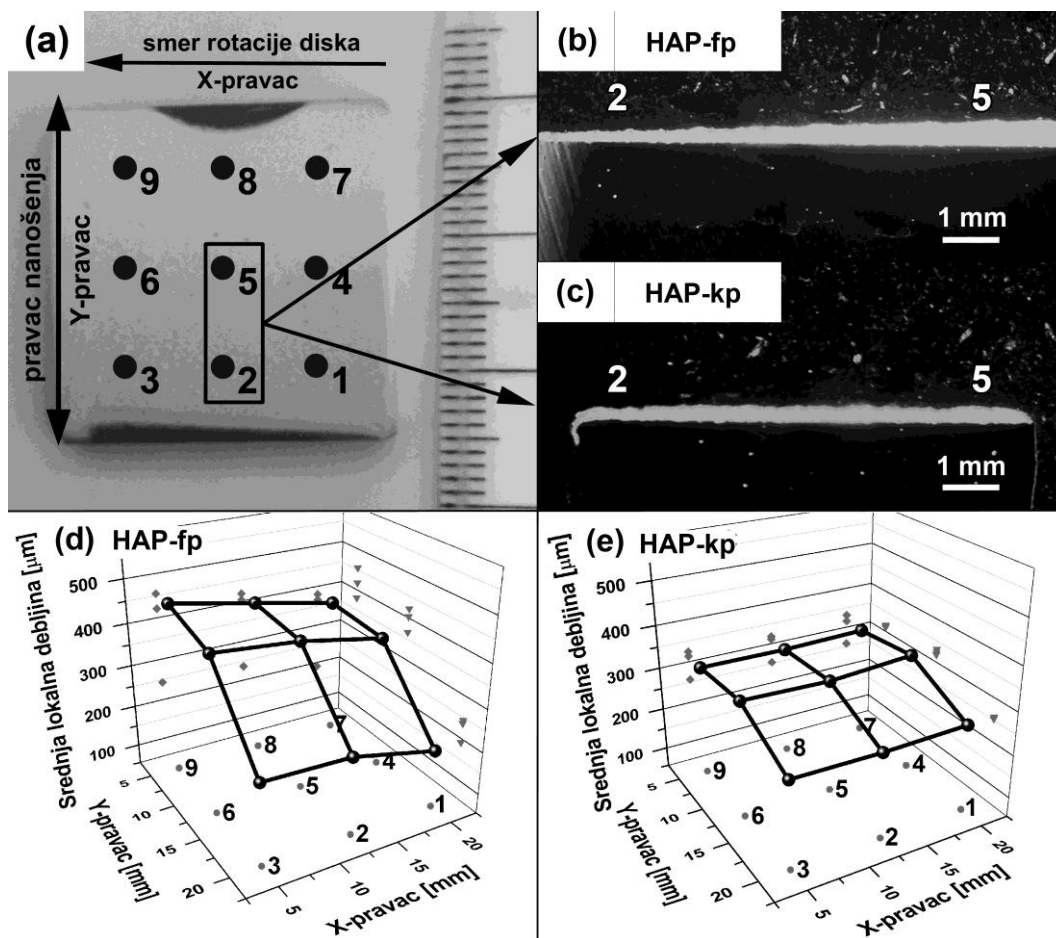
## 5.2.2. Uniformnost debljine HA prevlaka

### 5.2.2.1. Uticaj veličine polaznog HA praha

Svi rezultati merenja debljine HAP-fp i HAP-kp su dati u **prilogu D**, gde su rezultati dobijeni pomoću kalibrisanog mikrometra prikazani tabelarno i u formi trodimenzionalne (3D) raspodele lokalne debljine prevlaka nanesenih pri različitim  $SOD$  i  $T_S$ . Pored toga, u ovom prilogu su dati i rezultati merenja debljine pomoću stereo mikroskopa i SM, koja su izvršena sa ciljem potvrde merenja lokalne debljine kalibrisanim mikrometrom.

Sl.107a prikazuje lokacije merenja 1-9 na kojima su izmerene debljine HA prevlaka.  $X$ -osa označava smer rotacije nosača uzoraka u obliku diska, dok  $Y$ -osa označava pravac translatornog pomeranja plazma pištolja u toku procesa nanošenja. Na Sl.107b i 107c su redom prikazani poprečni preseki HAP-fp i HAP-kp, koje su dobijene pri istim uslovima procesa nanošenja ( $SOD=80$  mm i  $T_S=20$  °C), dok su na Sl.107d i 107e redom prikazane 3D raspodele lokalne debljine HAP-fp i HAP-kp.

Obe vrste HA prevlaka su pokazale prisustvo neuniformne debljine koja je bila vidno izraženija kod HAP-fp gde su razlike u lokalnoj debljini iznosile i do  $\sim 300$   $\mu\text{m}$ , dok su kod HAP-kp ove razlike bila znatno manje izražene ( $\sim 100$   $\mu\text{m}$ ). U ovom radu, najveće promene u lokalnoj debljini su se pokazale u pravcu translatornog pomeranja plazma pištolja ( $Y$ -pravac, Sl.107a) i to u slučaju HAP-fp koje su deponovane pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=20$  °C (Sl.107b, Sl.107d) (vidi takođe **prilog D**).



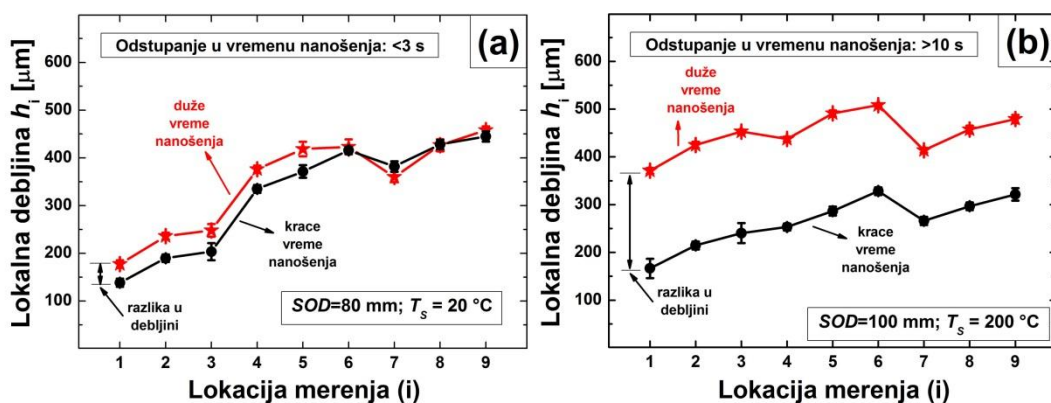
SL.107. (a) Makrofotografija tipične HA prevlake prikazuje lokacije merenja 1-9 na kojima su izvršena merenja lokalne debljine HA prevlaka; (b i c) stereo makrofotografije poprečnih preseka HAP-fp i HAP-kp, respektivno, koje prikazuju raspodelu debljine ovih prevlaka u pravcu translatorsnog kretanja plazma pištolja (2-5 pravac, Y-pravac); (d i e) trodimenzionalne (3D) raspodele lokalne debljine HAP-fp i HAP-kp.

#### 5.2.2.2. Uticaj SOD i $T_s$

Ispitivanja su pokazala da su sve HAP-fp imale minimalnu lokalnu debljinu na lokaciji merenja 1 (vidi **prilog D**). Takođe, većina HAP-kp je pokazivala minimalnu debljinu na istoj lokaciji. Međutim, ova minimalna lokalna debljina HA prevlaka, a time i njihova prosečna debljina, nije uvek bila ista. Razlikovala se: (i) za različite parametre procesa nanošenja i približno isto vreme nanošenja, (ii) za različito vreme nanošenja i iste parametre procesa nanošenja i (iii) zbog rotacije nosača uzoraka u obliku diska.

Minimalna debljina HA prevlaka (na lokaciji merenja 1) nije bila ista za različite parametre i približno isto vreme procesa nanošenja. Na primer, za približno isto vreme procesa nanošenja, minimalna debljina HAP-fp je pri  $SOD=80$  mm iznosila 150-200  $\mu\text{m}$ , dok je pri  $SOD=150$  mm bila 100-150  $\mu\text{m}$  (vidi **prilog D**).

Odstupanja vremena nanošenja jednog sloja HA prevlake su bila prisutna i iznosila su 7-10 s. Samim tim, nanošenje 2-3 sloja HA prevlake je rezultiralo određenom razlikom u minimalnoj debljini HAP-fp i HAP-kp za iste  $SOD$  i  $T_s$ . Na Sl.108 su prikazani primeri raspodele lokalnih debljina HA prevlaka u slučajevima sa manjom ( $<3$  s) (Sl.108a) i većom ( $>10$ s) (Sl.108b) razlikom u vremenu trajanja procesa nanošenja. Drugi primeri su dati na kraju **priloga D** (Sl.D-1). Rezultati su pokazali da vreme trajanja procesa nanošenja nije uticalo na raspodelu lokalne debljine HA prevlaka, uprkos evidentnom uticaju na njihovu prosečnu debljinu.



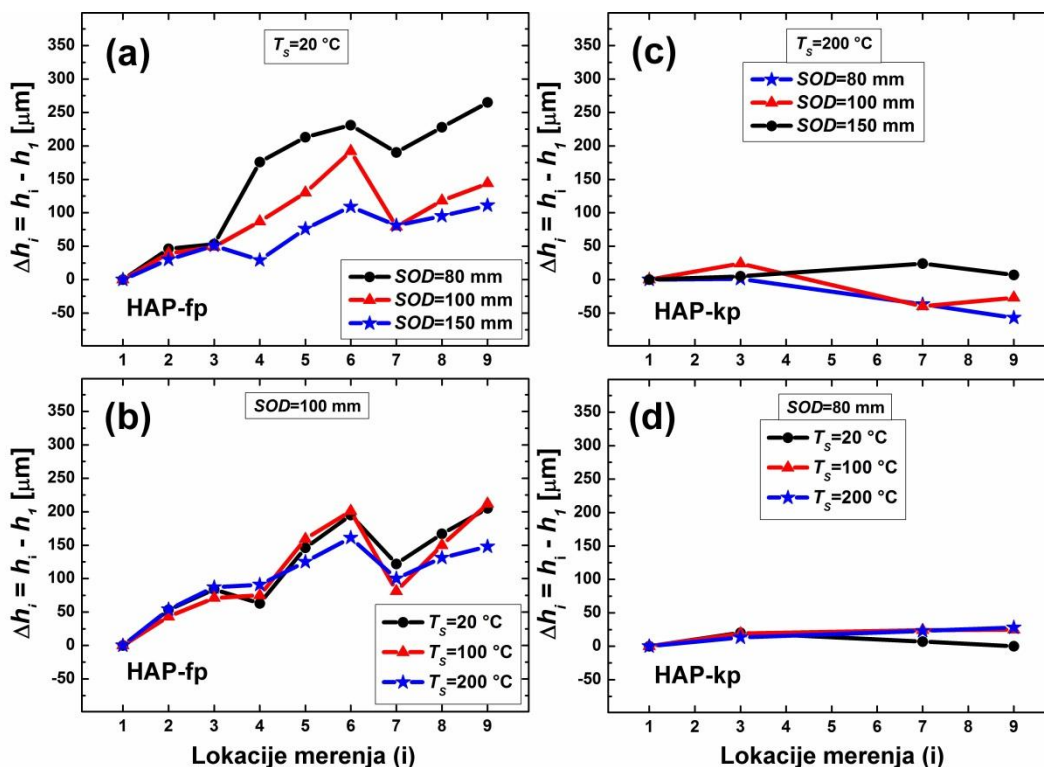
**Sl.108.** Efekat vremena procesa nanošenja na raspodelu lokalne debljine HAP-fp u slučajevima manjih (a) i većih (b) vremenskih razlika u trajanju procesa nanošenja.

Proces nanošenja je otpočinjao i završavao se na krajevima substrata. Međutim, usled rotacije nosača substrata u obliku diska, položaj substrata nije uvek bio isti u momentu početka ili završetka procesa nanošenja. Nekada je proces mogao da otpočne ili da se završi u momentu kada substrat nije ispod plazma pištolja. Međutim, merenja su jasno pokazala da ovaj faktor nije presudno uticao na raspodelu lokalne debljine HA prevlaka.

Rezultati merenja debljine, koji su prikazani na Sl.108 i na Sl.D-1 u (**prilog D**), su omogućili direktno poređenje raspodela lokalnih debljina HA prevlaka pri različitim uslovima procesa nanošenja. Naime, s obzirom da vreme trajanja procesa nanošenja nije



uticalo na raspodelu lokalne debljine HA prevlaka, minimalna lokalna debljina (na mernoj lokaciji 1) je posmatrana kao referentna debljina ( $h_1$ ). Oduzimanjem ove debljine ( $h_1$ ) od lokalnih debljina na ostalim mernim lokacijama ( $h_i$ ), gde je  $i=1,2,\dots,9$  – oznaka merne lokacije, dobijeni su inkrementi lokalnih debljina ( $\Delta h_i = h_i - h_1$ ) na mernim lokacijama HA prevlaka nanosenih pri specifičnim veličinama polaznog HA praha i vrednostima parametara nanošenja  $SOD$  i  $T_s$ .



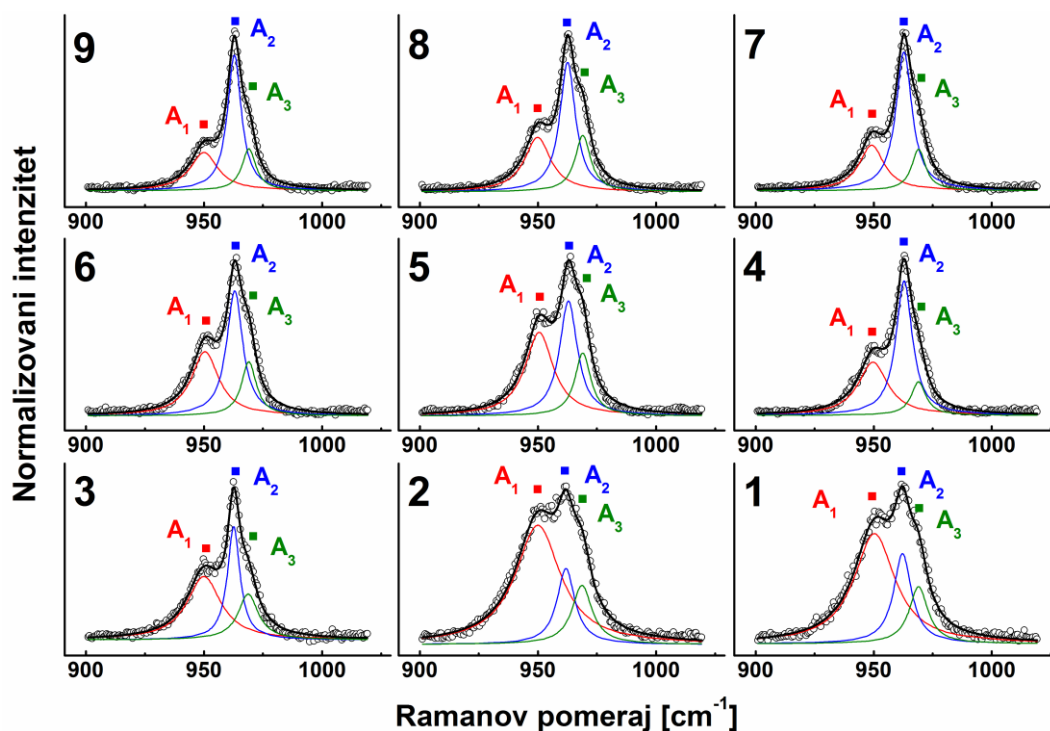
**Sl.109.** Efekti  $SOD$  (a i c) i  $T_s$  (b i d) na raspodelu inkrementa debljine ( $\Delta h_i$ ) HAP-fp (a i b) i HAP-kp (c i d);  $i=1,2,\dots,9$  označava lokaciju merenja.

Raspodele inkremenata lokalnih debljina ( $\Delta h_i$ ) za različite veličine polaznih HA prahova,  $SOD$  i  $T_s$  su prikazane na Sl.109. U slučaju HAP-fp, rezultati su pokazali da povećanje  $SOD$  utiče značajno na smanjenje inkrementa lokalne debljine (Sl.109a), tj. na povećanje uniformnosti debljine ovih HA prevlaka, dok je povećanje  $T_s$  uzrokovalo blago smanjenje inkrementa lokalne debljine (Sl.109b), tj. blago povećanje uniformnosti debljine HAP-fp. U slučaju HAP-kp, promene  $SOD$  (Sl.109c) i  $T_s$  (Sl.109d) nisu proizvele značajan efekat na uniformnost debljine ovih prevlaka.

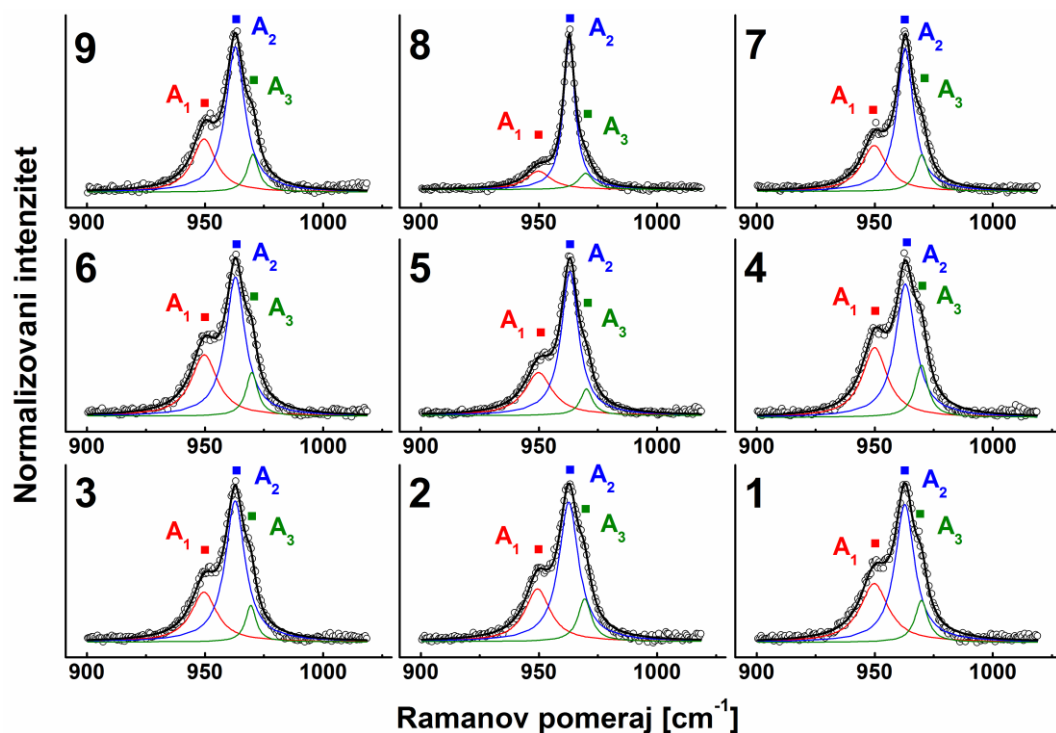
### 5.2.3. Fazna heterogenost površine HA prevlaka

#### 5.2.3.1. Uticaj veličine polaznog HA praha

Na Sl.110 i 111 su prikazani tipični Raman spektri uzeti sa lokacija merenja 1-9 na površinama HAP-fp i HAP-kp, respektivno, koje su nanese pri istim  $SOD$  i  $T_S$ . Ove lokacije merenja su odgovarale lokacijama na kojima su vršena merenja lokalne debljine ovih HA prevlaka (uporedi Sl.87 u poglavlju 4.3.4 i Sl.88a u poglavlju 4.3.5.1). Sl.112a-112c prikazuju raspodele relativnih intenziteta  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  Raman pikova ( $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ ), respektivno, u trodimenzionalnom Dekartovom koordinatnom sistemu, koje su dobijene fitovanjem Raman spektara sa Sl.110, dok Sl.112d-112f prikazuju isto to, ali u slučaju Raman spektara sa Sl.111.

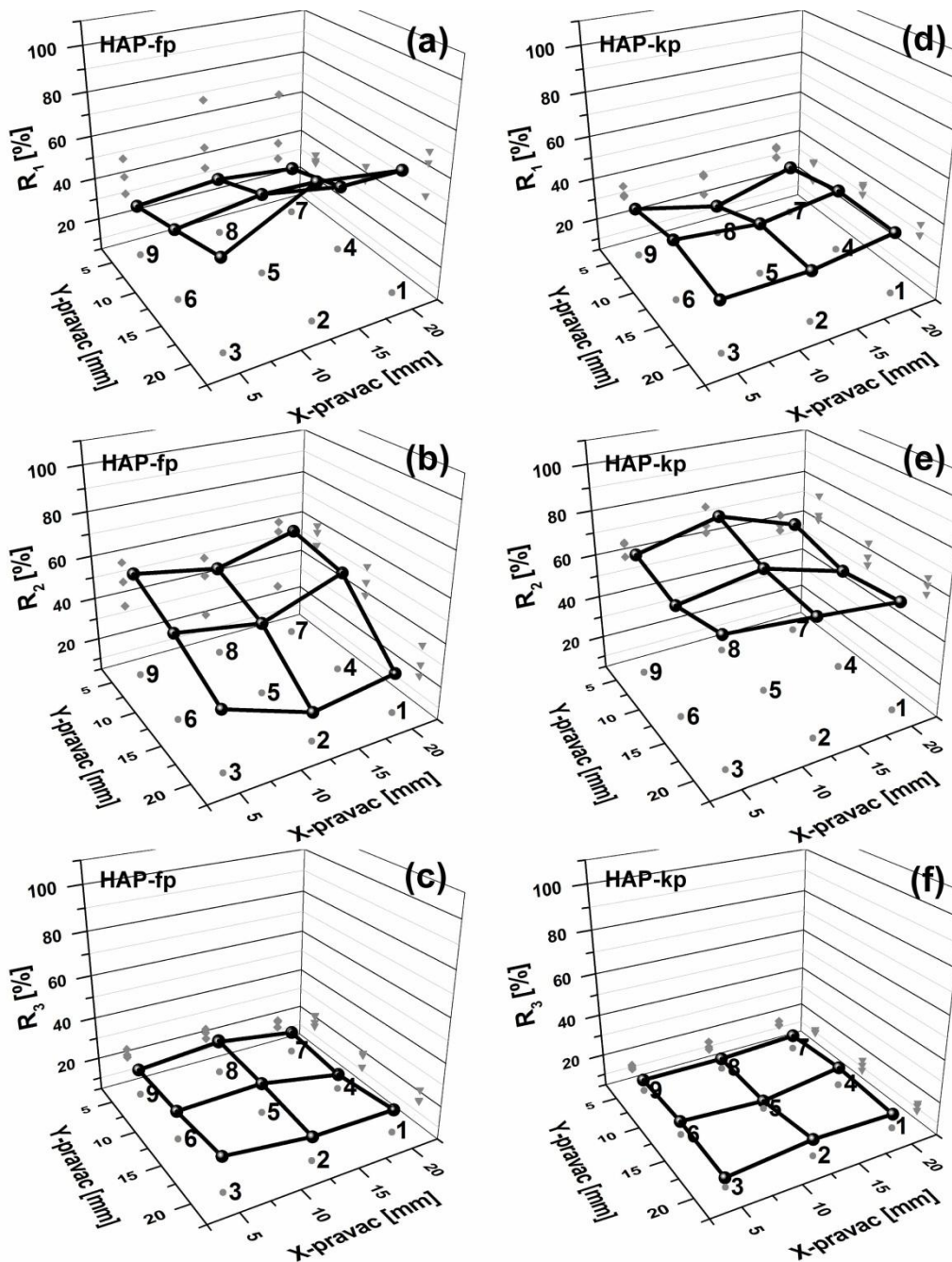


Sl.110. Raman spektri snimljeni na lokacijama 1-9 površine HAP-fp nanese pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=20$  °C.



**SI.111.** Raman spektri snimljeni na lokacijama 1-9 površine HAP-kp nanese pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=20$  °C.

Raman spektri sa SI.110, kao i rezultati fitovanja ovih spektara sa SI.112a-112c, su ukazali na prisustvo strukturne heterogenosti na površini HAP-fp. Na primer, relativni intenziteti ( $R_I$ ) Raman pika  $A_1$  u spektrima sa lokacija merenja 1 i 2 su приметно veći od  $R_I$  u spektrima sa lokacija 8 i 9. Ovo je ukazivalo da je relativna amorfnost na lokacijama 1 i 2 bila veća od relativne amorfnosti na lokacijama 8 i 9. S druge strane, sličan izgled Raman spektara koji su izmereni na lokacijama merenja 1-9 na površini HAP-kp (SI.111), kao i rezultati fitovanja ovih spektara sa SI.112d-112f, su ukazivali na relativno homogenu raspodelu faza na površini HAP-kp. U slučaju HAP-fp, relativni intenziteti  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su redom varirali ~40, ~40 i ~10 %, dok su u slučaju HAP-kp varijacije sva tri relativna intenziteta bile manje od ~20%.

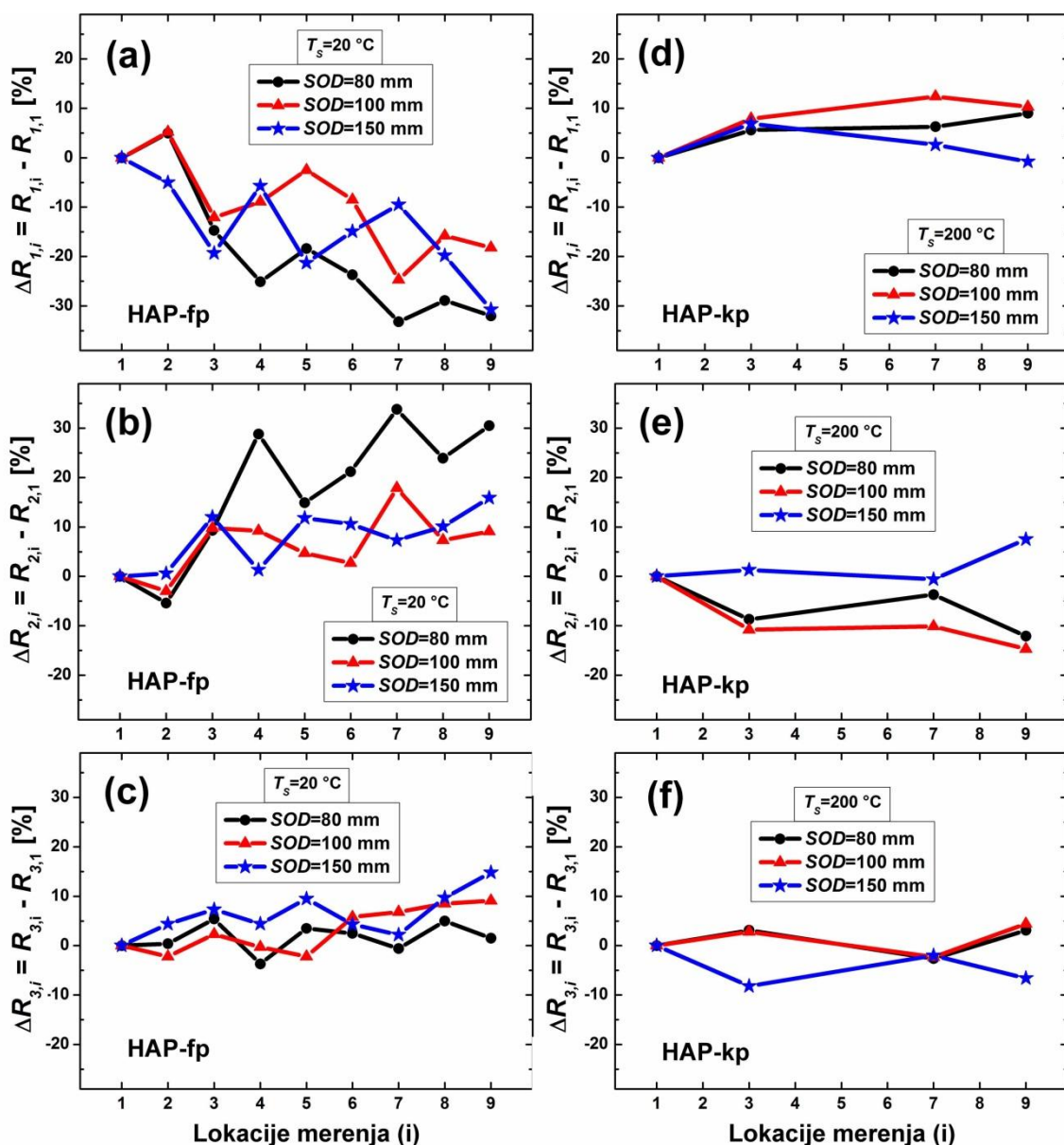


**SI.112.** Raspodele relativnih intenziteta  $R_1$  (a i d),  $R_2$  (b i e) i  $R_3$  (c i f) određenih fitovanjem površinskih Raman spektara HAP-fp (a-c) i HAP-kp (d-f) koje su nanesene pri istim  $SOD=80$  mm i  $T_S=20$  °C. Slike (a-c) odgovaraju Raman spektrima sa SI.110, dok slike (d-f) odgovaraju spektrima sa SI.111.

### 5.2.3.2. Uticaj $SOD$ i $T_S$

Promene u raspodeli lokalnih površinskih relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  pri različitim parametrima procesa nanošenja ( $SOD$  i  $T_S$ ) su praćene na sličan način kao i promene u raspodeli lokalne debljine HA prevlaka. Inkrementi lokalnih relativnih intenziteta ( $\Delta R_{1,i}$ ,  $\Delta R_{2,i}$  i  $\Delta R_{3,i}$ , gde je  $i=1,2,\dots,9$  – oznaka lokacije merenja na površini HA prevlaka) su bili određeni kao razlika relativnih intenziteta ( $R_{1,i}$ ,  $R_{2,i}$  i  $R_{3,i}$ ) na mernim lokacijama ( $i$ ) i odgovarajućih relativnih intenziteta ( $R_{1,1}$ ,  $R_{2,1}$  i  $R_{3,1}$ ) na lokaciji merenja 1 ili, uopšteno, inkrementi svih relativnih intenziteta ( $R_n$ ) su bili određeni kao  $\Delta R_{ni}=R_{ni}-R_{n1}$ , gde je  $n=1,2,3$  predstavlja oznaku Raman pika. Raspodele inkremenata  $\Delta R_{1,i}$ ,  $\Delta R_{2,i}$  i  $\Delta R_{3,i}$  u slučaju HAP-fp i HAP-kp, koje su nanosene na različitim  $SOD$ , su prikazane na Sl.113a-113c i Sl.113d-113f, respektivno, dok su iste raspodele u slučaju HAP-fp i HAP-kp, koje su nanosene na različitim  $T_S$ , prikazane na Sl.114a-114c i Sl.114d-114f, respektivno. Inkrementi relativnih intenziteta ( $R_n$ ) na različitim lokacijama merenja ( $i$ ) ( $\Delta R_{ni}$ ) za različito  $SOD$  i  $T_S$  su dobijeni iz odgovarajućih Raman spektara, koji su prikazani u **prilogu C2-2**.

U slučaju HAP-fp, promene u raspodeli inkremenata  $\Delta R_{1,i}$  (Sl.113a) i  $\Delta R_{2,i}$  (Sl.113b) su ukazale da povećanje  $SOD$  utiče na smanjenje varijacije relativnih intenziteta ( $R_1$  i  $R_2$ ) Raman pikova  $A_1$  i  $A_2$ , pri čemu su se varijacije  $\Delta R_{1,i}$  smanjile sa ~40 % na ~30 %, a varijacije  $\Delta R_{2,i}$  sa ~40 % na ~20 %. Uticaj  $SOD$  na raspodelu inkrementa  $\Delta R_{3,i}$  relativnog intenziteta  $R_3$  (Sl.113c) nije utvrđen, jer je ovaj inkrement varirao u granicama greške merenja (~20 %) (vidi takođe Sl.C2-1-16, **prilog C2-1**). S druge strane, u slučaju HAP-kp, uticaj  $SOD$  na varijacije inkremenata  $\Delta R_{1,i}$  (Sl.113d)  $\Delta R_{2,i}$  (Sl.113e) i  $\Delta R_{3,i}$  (Sl.113f) nije mogao da bude utvrđen precizno. Varijacije ovih inkremenata su bile manje od ~20 % u okviru kojih nisu postojale jasne tendencije njihovog povećanja ili smanjenja sa promenom  $SOD$ .

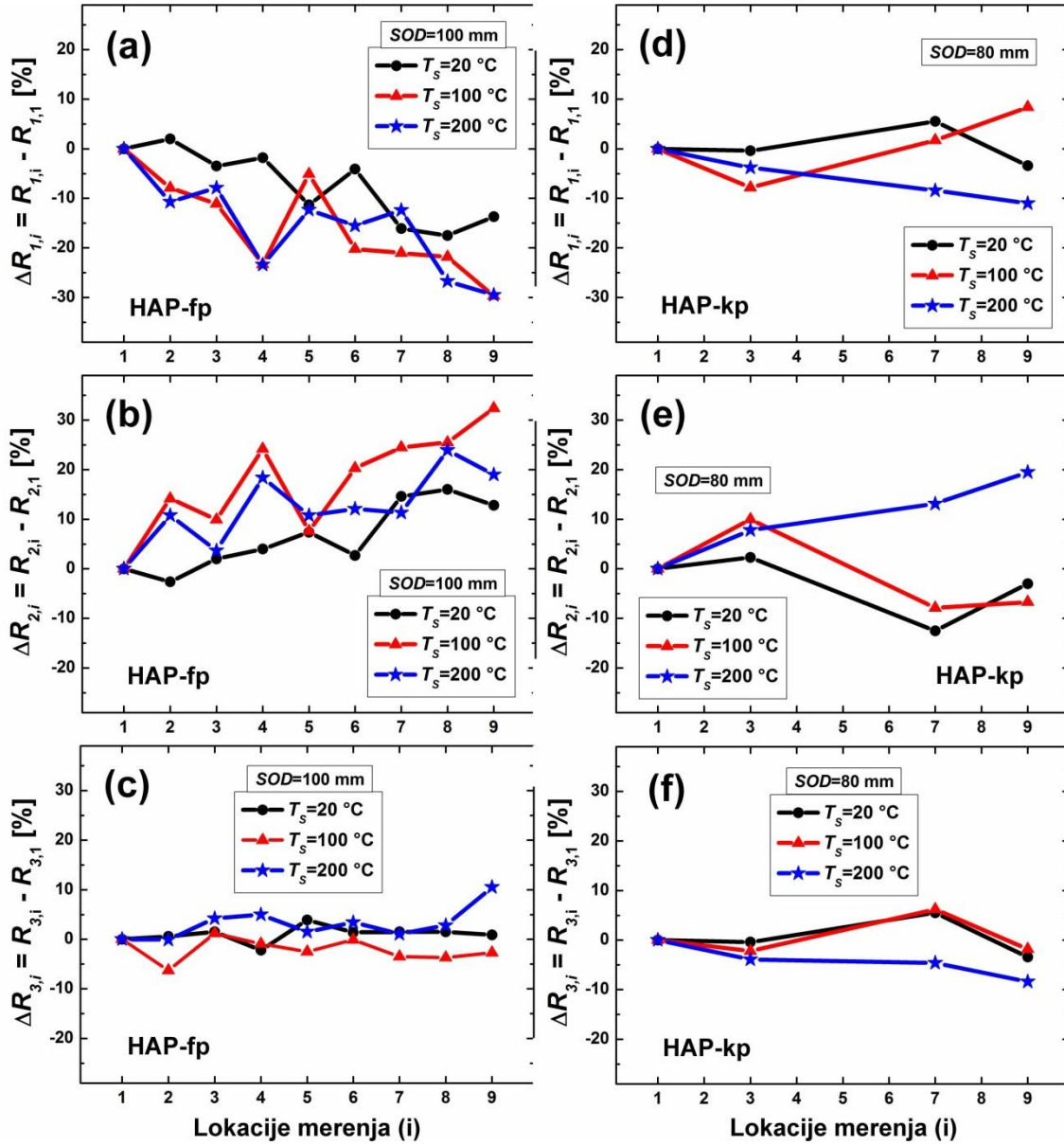


Sl.113. Raspodele inkremenata  $\Delta R_{1,i}$  (a)  $\Delta R_{2,i}$  (b) i  $\Delta R_{3,i}$  (c) u slučaju HAP-fp nanesenih pri različitim  $SOD$  i  $T_s=20$  °C i raspodele ovih inkremenata (d-f) u slučaju HAP-kp nanesenih pri različitim  $SOD$  i  $T_s=200$  °C.

U slučaju HAP-fp, uticaj  $T_s$  na povećanje ili smanjenje varijacija inkremenata relativnih intenziteta  $\Delta R_{1,i}$  (Sl.114a) i  $\Delta R_{2,i}$  (Sl.114b) nije mogao da bude precizno utvrđen. Naime, ovi inkrementi su varirali u granicama od ~20 do ~30 % zbog čega je procena uticaja  $T_s$  bila otežana. Takođe, varijacija inkrementa relativnog intenziteta  $\Delta R_{3,i}$  sa promenom  $T_s$  (Sl.114c) se kretala u granicama greške merenja za ovaj relativni intenzitet (~20 %) (vidi **prilog C2-1**). U slučaju HAP-kp, varijacije inkremenata



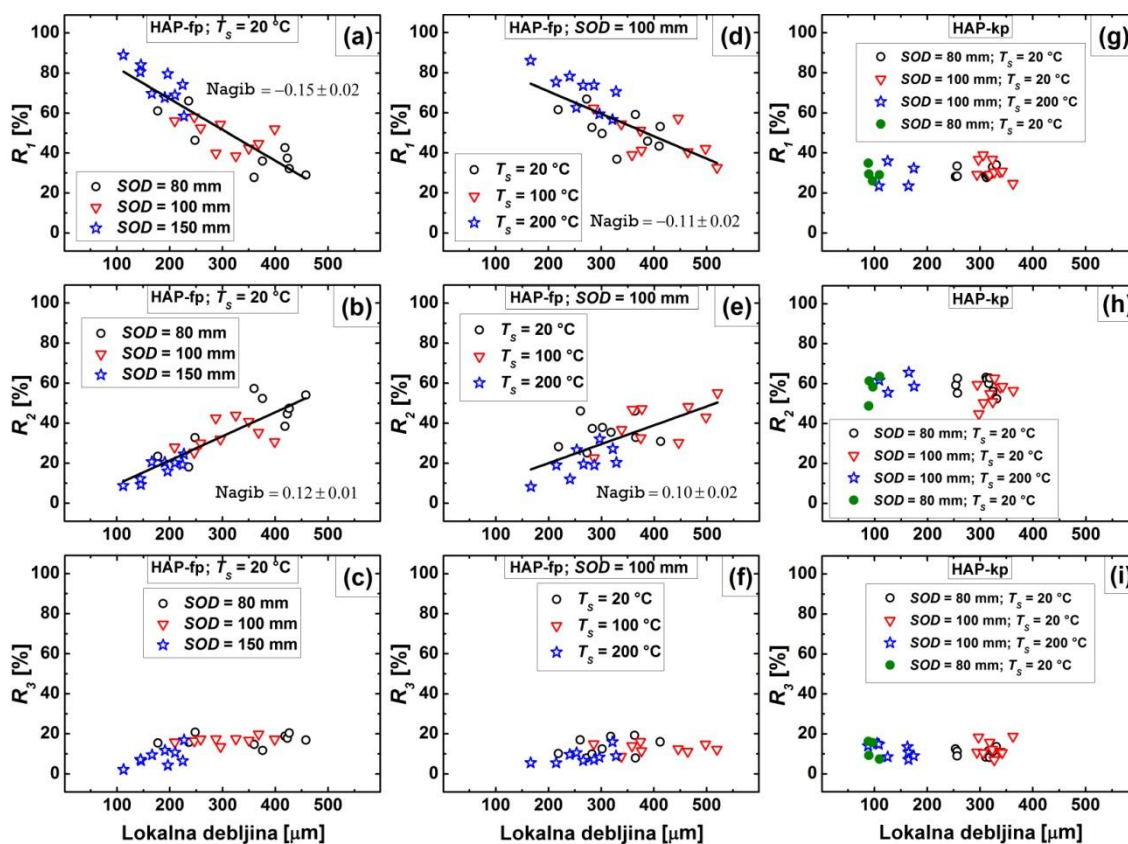
relativnih intenziteta  $\Delta R_{1,i}$  (Sl.114d),  $\Delta R_{2,i}$  (Sl.114e) i  $\Delta R_{3,i}$  (Sl.114f) sa promenom  $T_s$  su bile manje od ~20 %, kao i kod razmatranja uticaja  $SOD$  (Sl.113d-f).



Sl.114. Raspodele inkremenata  $\Delta R_{1,i}$  (a)  $\Delta R_{2,i}$  (b) i  $\Delta R_{3,i}$  (c) u slučaju HAP-fp nanesenih pri različitim  $T_s$  i  $SOD=100$  mm, i raspodele ovih inkremenata (d-f) u slučaju HAP-kp nanesenih pri različitim  $T_s$  i  $SOD=80$  mm.

## 5.2.4. Lokalni relativni intenziteti $R_1$ , $R_2$ i $R_3$ Raman pikova vs. lokalne debljine HA prevlaka

Sličan trend u raspodeli inkremenata  $\Delta R_{ni}$  (vidi poglavlje 5.2.3.2) i  $\Delta h_i$  (vidi poglavlje 5.2.2.2), tj. sličan uticaj ispitivanih parametara procesa nanošenja ( $SOD$  i  $T_S$ ) na ove raspodele, ukazivao je na postojanje potencijalne veze između lokalne strukture i lokalne debljine HA prevlaka. Kako bi se dobio detaljniji uvid u eventualno postojanje ove veze, lokalni površinski relativni intenziteti  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ , koji su dobijeni sa različitim mernih lokacija 1-9 (za vrednosti lokalnih  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  vidi **prilog C2-2**), su upoređeni sa odgovarajućim lokalnim debljinama HA prevlaka (za vrednosti lokalnih debljina vidi **prilog D**). Zavisnosti površinskih relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  od lokalne debljine u slučaju HAP-fp, koje su nanese pri različitim  $SOD$ , su redom prikazane na Sl.115a-115c, dok su za različite  $T_S$  prikazane na Sl.115d-115f. U slučaju HAP-kp, pomenute zavisnosti za različite  $SOD$  i  $T_S$  su prikazane na Sl.115g-115i.



Sl.115. Zavisnost lokalnih površinskih relativnih intenziteta Ramanovih pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  ( $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ ) od lokalne debljine HAP-fp i HAP-kp nanesenih pri različitim  $SOD$  i  $T_S$ .



Iz ovih zavisnosti je jasno da u slučaju HAP-fp lokalni površinski relativni intenziteti  $R_1$  i  $R_2$  pokazuju linearnu tendenciju promene sa lokalnom debljinom, nezavisno od  $SOD$  i  $T_S$ . Sa povećanjem lokalne debljine zabeležena je: (i) tendencija smanjenja relativnog intenziteta  $R_1$ , što je odražavalo tendenciju smanjenja lokalne površinske amorfности, (ii) tendencija povećanja relativnog intenziteta  $R_2$ , što je odražavalo tendenciju povećanja lokalnog površinskog sadržaja HA faze i (iii) promena relativnog intenziteta  $R_3$  u okvirima greške merenja od ~20 % (vidi **prilog C2-1**), koja je ukazivala na odsustvo bitnije promene lokalnog površinskog sadržaja OA faze.

S druge strane, u slučaju HAP-kp, koje su nanosene pri različitim  $SOD$  i  $T_S$  (Sl.115g-115i), promena lokalnih površinskih relativnih intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  sa lokalnom debljinom ovih prevlaka nije pratila istu zavisnost kao kod HAP-fp. Dalja ispitivanja su vršena kako bi se utvrdio mogući uzrok detektovane razlike u površinskoj faznoj heterogenosti HAP-fp i HAP-kp.

### 5.3. Analiza u pravcu debljine HA prevlaka

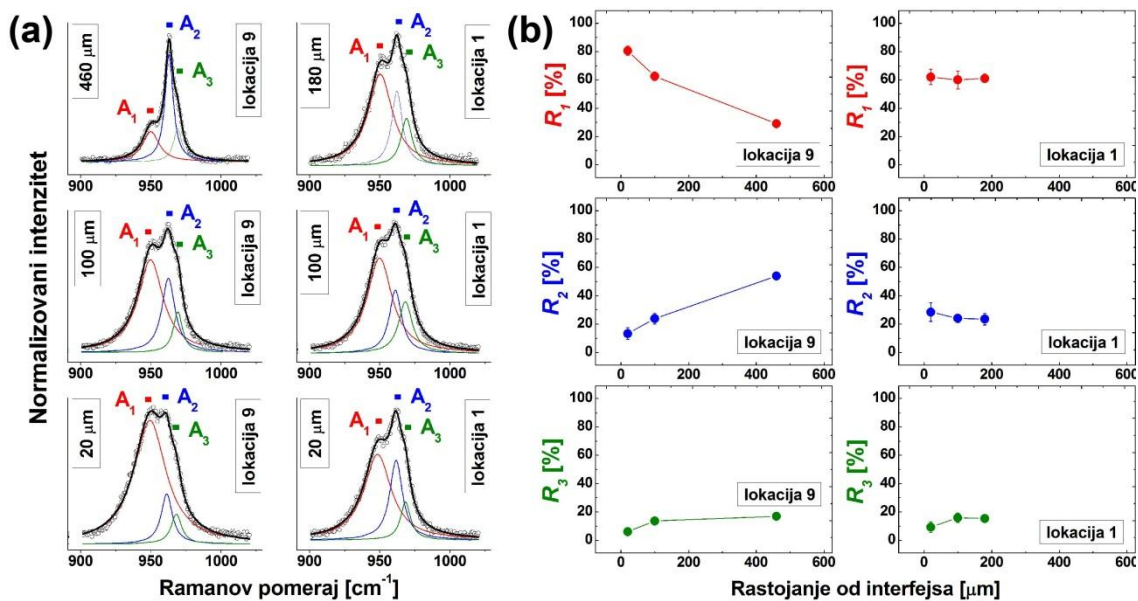
Kako bi se izvršila dalja ispitivanja potencijalne veze između lokalne površinske strukture i lokalne debljine HA prevlaka, kao i uzroka zbog kojih njihova međusobna zavisnost nije ista u slučaju HAP-fp i HAP-kp, izvršeno je sečenje svih uzoraka u 1-5-9 pravcu (vidi Sl.89, poglavlje 4.3.5.2). U nekim slučajevima HAP-kp, uzorci su bili sečeni u pravcima koji su ekvivalentni 1-5-9 pravcu, ali su oni bili obeležavani drugačije, kao npr. uzorak nanosen pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=200$  °C (vidi **prilog E1**). Ispitivanja su uključivala detaljnu karakterizaciju hemijsko-morfološko-strukturnih svojstava poprečnih preseka HAP-fp i HAP-kp u pravcu debljine na lokacijama merenja 9 i 1 (vidi poglavlje 5.3.1). Poprečni preseki ovih uzoraka su dobijeni sečenjem dijamantskom testerom. Njihovom analizom je takođe bilo moguće sagledati razlike u hemijsko-morfološko-strukturnim svojstvima HA prevlaka u pravcu interfejsa prevlaka/substrat. Pored toga, izvršena je i analiza poprečnih preseka HAP-fp (vidi poglavlje 5.3.2) i HAP-kp (vidi poglavlje 5.3.3) u pravcu debljine na lokaciji merenja 5. Ovi poprečni preseki su dobijeni sečenjem ručnom testerom i bili su upoređeni sa uzorcima sečenim dijamantskom testerom na istoj lokaciji merenja.

### 5.3.1. Analiza uzoraka sečenih dijamantskom testerom (lokacije 9 i 1)

#### 5.3.1.1. Opšta analiza faznih promena

##### 5.3.1.1.1. MRS analiza

Sl.116a poredi tipične Raman spektre koji su izmereni na poprečnom preseku HAP-fp na lokacijama merenja 9 i 1 u pravcu debljine (vidi **prilog E1**). Intenziteti Raman spektara su bili normalizovani u odnosu na najintenzivniji  $A_2$  Raman pik. Na Sl.116b su prikazane promene srednjih relativnih intenziteta ( $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ ) Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  sa rastojanjem od interfejsa prevlaka/substrat na lokacijama merenja 9 i 1, koje odgovaraju Raman spektrima sa Sl.116a. U slučaju svakog uzorka, relativni intenziteti ( $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ ) su određeni kao srednja vrednost više merenja na određenom rastojanju od interfejsa prevlaka/substrat (vidi **prilog E1**).



**Sl.116.** (a) Tipični Raman spektri sa poprečnog preseka HAP-fp koji su uzeti na različitim rastojanjima od interfejsa prevlaka/substrat (u  $\mu\text{m}$ ) na lokacijama merenja 9 i 1; (b) promene srednjih relativnih intenziteta ( $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ ) Ramanovih pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  sa rastojanjem od interfejsa na lokacijama merenja 9 i 1, koje odgovaraju Raman spektrima sa slike (a). HAP-fp je nanosena pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=20$   $^{\circ}\text{C}$ .

Rezultati su pokazali da su promene relativnih intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  bile intenzivnije sa porastom rastojanja od interfejsa prevlaka/substrat na lokaciji merenja 9 u poređenju sa promenama  $R_1$  i  $R_2$  na lokaciji 1 (Sl.116b). Promene  $R_1$  (~50 %) i  $R_2$  (~40 %) sa rastojanjem od interfejsa na lokaciji merenja 9 su bile veće od greške merenja za ove relativne intenzitete (~10 %, vidi **prilog C2-1**). S druge strane, promene  $R_1$  (~10 %) i  $R_2$  (~10 %) sa rastojanjem od interfejsa na lokaciji merenja 1 su bile u okvirima greške merenja za ove relativne intenzitete. Promene  $R_3$  sa rastojanjem od interfejsa su pokazale trend blagog porasta ovog relativnog intenziteta. Međutim, ovaj porast je bio unutar greške merenja za  $R_3$  (~20 %, vidi **prilog C2-1**). Zapažanja koja su proistekla iz MRS analize (Sl.116) su poređena sa drugim metodama ispitivanja.

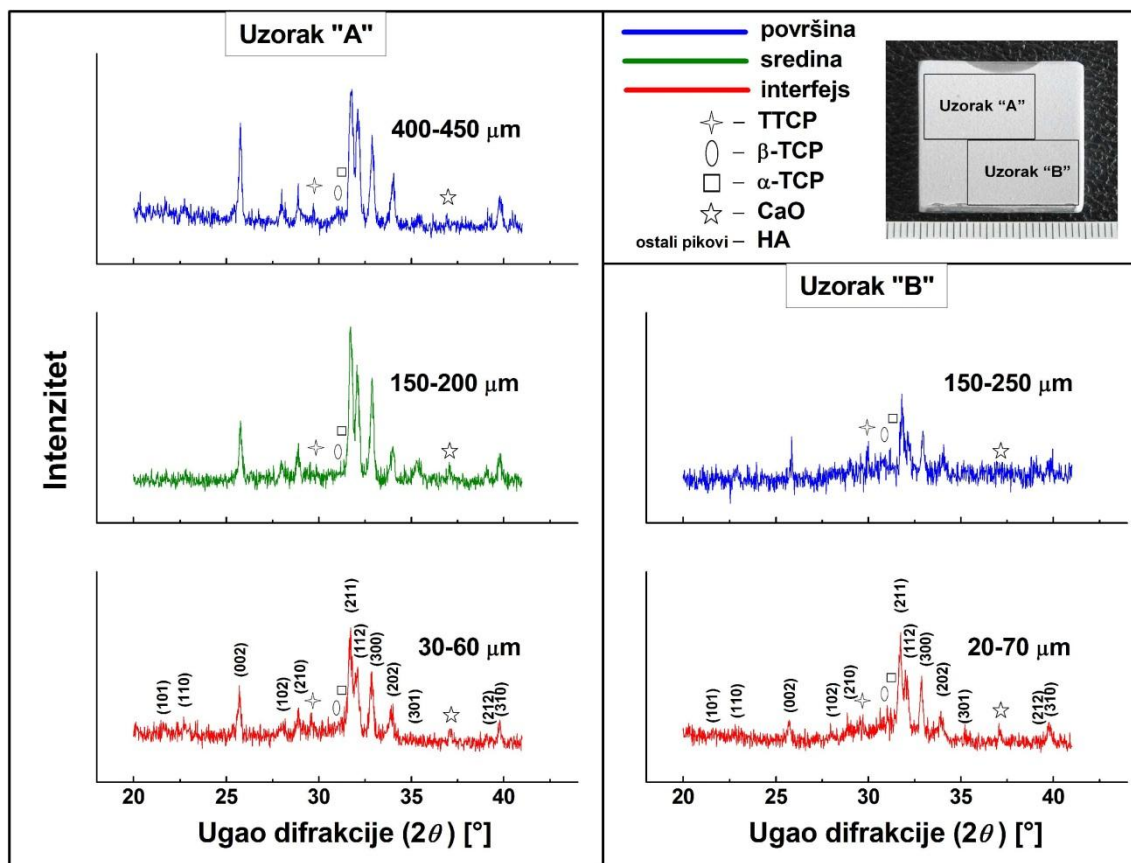
#### 5.3.1.1.2. XRPD i SM

XRPD analiza na različitim rastojanjima od interfejsa prevlaka/substrat i na različitim delovima iste HA prevlake (Sl.117) je izvršena da bi se procenila promena relativnih sadržaja nečistih kristalnih faza, poput TTCP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i CaO, kao i da bi se uporedile promene relativne kristaličnosti HA prevlaka sa promenama relativnih intenziteta ( $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ ) Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  sa Sl.116. Na Sl.117 su prikazani rezultati XRPD analize. Rentgenski difraktogrami za  $2\theta$  između ~40 i ~60° su izostavljeni jer nisu sadržali dodatne informacije o faznim promenama. Svi Millerovi indeksi ravni ( $xyz$ ) koji odgovaraju HA fazi su obeleženi na donjim crvenim difraktogramima. Uglovi difrakcije ( $2\theta$ ) koji odgovaraju najintenzivnijim pikovima nečistoća (vidi Tab.13, poglavlje 2.6.3.2) su prikazani simbolima na samim difraktogramima, dok je značenje svakog simbola dato u gornjem desnom uglu Sl.117. Svi difraktogrami su bili upoređeni sa standardnim ICSD karticama (vidi poglavlja 4.3.2 i 2.6.2.3).

Ako se uporede Sl.86 (vidi poglavlje 4.3.2) i 89 (vidi poglavlje 4.3.5.2) jasno je da je uzorak "A", koji je ispitan pomoću XRPD (Sl.117, levo), odgovarao lokaciji merenja 9, koja je ispitana pomoću MRS (Sl.116), dok je uzorak "B" (XRPD) (Sl.117, desno) odgovarao lokaciji merenja 1 (MRS) (Sl.116). Rentgenski difraktogram uzet blizu interfejsa uzorka "A" (crveni difraktogram) ukazao je na manje prisustvo ACP faze (amorfna grba između 20 i 40°  $2\theta$ ) i dominantno prisustvo HA faze. Rentgenski

difraktogram uzet na sredini ovog uzorka (zeleni difraktogram) pokazao je odsustvo amorfnе grbe (ACP faze) i vidno intenzivnije pikove HA faze u poređenju sa difraktogramom koji je uzet blizu interfejsa (crveni difraktogram). S druge strane, poređenjem rentgenskih difraktograma uzorka “B” uzetih blizu interfejsa (crveni difraktogram) i na površini (plavi difraktogram), primećuje se da je intenzitet HA pikova na približno istom rastojanju od interfejsa prevlaka/substrat koje je analizirano u slučaju uzorka “A” blago opao u odnosu na intenzitet ovog pika na interfejsu. S obzirom da je uzorak “A” bio analogan lokaciji merenja 9, a uzorak “B” lokaciji 1, rezultati XRPD analiza su pokazali dobro slaganje sa rezultatima MRS analize. Naime, promene relativnih sadržaja ACP i HA u uzorku “A” sa rastojanjem od interfejsa (Sl.117) su bile analogne promenama relativnih intenziteta ( $R_1$  i  $R_2$ ) Raman pikova  $A_1$  i  $A_2$  na lokaciji merenja 9 (Sl.116b), respektivno. Takođe, u uzorku “B” su promene relativnih sadržaja ACP i HA sa rastojanjem od interfejsa bile praktično odsutne (Sl.117), što odgovara gotovo zanemarljivim promenama  $R_1$  i  $R_2$  sa rastojanjem od interfejsa zabeleženim pomoću MRS na lokaciji merenja 1 (Sl.116b).

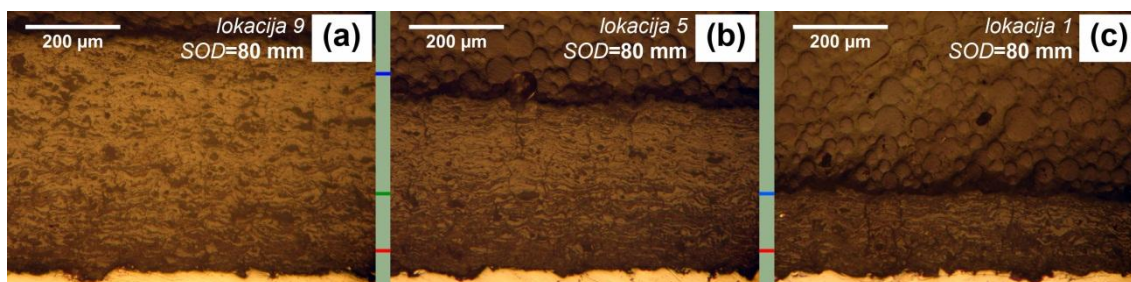
XRPD analiza sa Sl.117 je pokazala moguće prisustvo kristalnih nečistoća TTCP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i CaO. Međutim, analiza rentgenskih difraktograma pomoću programskog paketa *PowderCell 2.4* [240] nije uspela da utvrdi udeo ovih faza zbog njihovih niskih koncentracija. XRPD analiza je pokazala da se relativni sadržaj CaO faze smanjuje sa povećanjem rastojanja od interfejsa prevlaka substrat u uzorcima “A” i “B”, što nije moglo da se utvrdi u slučaju TTCP,  $\alpha$ -TCP i  $\beta$ -TCP, jer su se pikovi ovih faza preklapali sa amorfnom grbom u  $2\theta$  intervalu 20-40°. XRPD analiza je pokazala da su promene relativnih sadržaja ACP i HA faza sa rastojanjem od interfejsa prevlaka/substrat bile dominantne u odnosu na promene relativnih sadržaja nečistoća, zbog čega se smatralo da su promene u relativnim intenzitetima ( $R_1$  i  $R_2$ ) Raman pikova  $A_1$  i  $A_2$  bile pod manjim uticajem nečistoća (TTCP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i CaO), što je u skladu sa rezultatima ispitivanjima površinskih delova HA prevlaka nanesenih pri različitim  $SOD$  i  $T_S$  pomoću XRPD (vidi poglavlje 4.3.1.2 i **prilog C1-1**).



**Sl.117.** Rentgenski difraktogrami uzoraka “A” (levo) i “B” (desno) na različitim rastojanjima od interfejsa prevlaka/substrat, koja su data u  $\mu\text{m}$ . Uzorci “A” i “B” su uzorkovani iz HAP-fp koja je nanosena pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=20$  °C (gornji desni ugao).

Kako bi se ispitalo moguće prisustvo delimično istopljenih čestica polaznih HA prahova, koje, poput nečistoća TTCP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i CaO, mogu da utiču na vrednosti relativnih kristalichnosti određenih pomoću XRPD, kao i na vrednosti relativnih intenziteta ( $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ ) Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ , određenih pomoću MRS analize, poprečni preseki HAP-fp, su nakon sečenja dijamantskom testerom u pravcu 1-5-9 i poliranja bili nagriženi vodenim rastvorom azotne kiseline ( $\text{HNO}_3$ ), a potom analizirani pomoću invertnog SM u svetlom polju (Sl.118). Zbog velike razlike u rastvorljivosti ACP i HA faza [58,152], kratkovremeno nagrižanje u trajanju od 4-5 s je bilo optimalno da otkrije raspodelu ACP i HA faze na poprečnim presecima HAP-fp nanosenih pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=20$  °C (Sl.118). Eksperimenti nagrižanja su pokazali da prekomerno vreme nagrižanja ( $>10$  s) može da izazove pojavu pregrizanja kada više nije moguće razlikovati nagrižene od nenagriženih delova mikro-strukture poprečnih preseka

HAP-fp. Ovde treba naglasiti da mikro-struktura poprečnog preseka HAP-fp, koja je prikazana na Sl.118, odgovara rezultatima MRS analize prikazanim na Sl.116, kao i rezultatima XRPD analize prikazanim na Sl.117, jer se radi o analizima uzoraka HAP-fp nanesenih pri istim uslovima atmosferskog plazma sprej procesa ( $SOD=80$  mm i  $T_S=20$  °C).



**Sl.118.** Mikro-fotografije SM u svetlom polju koje prikazuju morfologiju poliranog i hemijski nagriženog poprečnog preseka HAP-fp sečenog dijamantskom testerom na lokacijama merenja 9 (a), 5 (b) i 1 (c). HAP-fp je nanesena pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=20$  °C.

Sl.118a prikazuje dve oblasti na lokaciji merenja 9. Prva, tamnija oblast je locirana iznad interfejsa prevlaka/substrat i zauzima manji deo površine poprečnog preseka, dok se druga, svetlija oblast nalazi iznad tamnije oblasti i zauzima najveći deo poprečnog preseka HAP-fp. Tamnija oblast, koja je nagrižena pomoću vodenog rastvora  $HNO_3$ , odgovara lakše rastvorljivoj ACP fazi, dok svetlija oblast, koja praktično nije nagrižena pomoću vodenog rastvora  $HNO_3$ , odgovara teže rastvorljivoj HA fazi. S obzirom na to da mikro-struktura poprečnih preseka praktično prikazuje dominantno prisustvo očvrsljih potpuno istopljenih čestica polaznog fHAP, kao i na to da je XRPD analiza pokazala prisustvo nečistoća (TTCP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i CaO) u značajno manjim koncentracijama od dominantno prisutnih ACP i HA faza (vidi **prilog C1-1**), svetlije oblasti na poprečnim presecima HAP-fp prikazanih na Sl.118 su najverovatnije odražavale prisustvo rekristalisane HA faze. Prema tome, promene relativnog sadržaja HA u HAP-fp, koje su detektovane pomoću XRPD (Sl.117), kao i promene relativnog intenziteta ( $R_2$ ) Raman pika  $A_2$  (Sl.116), koje su detektovane pomoću MRS, su odražavale promene relativnog sadržaja rekristalisane HA faze.

Boje markera između Sl.118a i 118b i između Sl.118b i 118c označavaju specifična rastojanja od interfejsa prevlaka/substrat koja odgovaraju rastojanjima na

kojima je izvršena XRPD analiza uzoraka "A" i "B" (Sl.117), respektivno. Takođe, boje markera sa Sl.118 odgovaraju bojama rentgenskih difraktograma sa Sl.117. Ovakvo označavanje je uvedeno zbog jednostavnijeg poređenja strukture poprečnog preseka HAP-fp i rezultata XRPD analize. Ako se uporedi morfologija poprečnog preseka u ravni zelenog markera u pravcu paralelnom interfejsu prevlaka/substrat na rastojanju od interfejsa od 150-200  $\mu\text{m}$  (Sl.118a), jasno je da je između lokacija 9 i 5 dominantno prisustvo rekristalisane HA faze (svetlija oblast) na tom rastojanju od interfejsa. Bolji uvid u prethodnu observaciju može da se dobije pregledom među-struktura između lokacija merenja 9 i 5 na rastojanju od interfejsa od 150-200  $\mu\text{m}$ , koje su date za ovaj uzorak u **prilogu E1**. S druge strane, ako se uporedi morfologija poprečnog preseka u nivou plavog markera između Sl.118b i 118c, koji se nalazi na približno istom rastojanju od interfejsa kao i zeleni marker ( $\sim 200 \mu\text{m}$ ), jasno je da je između lokacija merenja 5 i 1 dominantno prisustvo ACP faze (tamnija oblast) na tom rastojanju od interfejsa (vidi **prilog E1**). Ovi rezultati pokazuju da se na približno istom rastojanju od interfejsa mikro-struktura HAP-fp menja od amorfne (lokacija merenja 1) ka kristaličnoj (lokacija merenja 9). Ovaj rezultat je u skladu sa rezultatima XRPD analize uzoraka "A" i "B" (Sl.117) prema kojima plavi difraktogram uzorka "B", koji je uzet na rastojanju od 150-250  $\mu\text{m}$  od interfejsa, pokazuje izraženiju amorfnost i primetno manji intenzitet HA pikova od zelenog difraktograma uzorka "A", koji je uzet na približno istom rastojanju od interfejsa.

Mikro-struktura na lokaciji merenja 1 pokazuje prisustvo nenagriženih, svetlijih oblasti u tragovima, dok tamnija struktura dominira u čitavom poprečnom preseku (Sl.118c). Ovaj rezultat je analogan rezultatima MRS analize na ovoj lokaciji merenja (Sl.116), koja ne pokazuje značajne promene u relativnim intenzitetima ( $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ ) Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  sa povećanjem rastojanja od interfejsa prevlaka/substrat. Promene svakog relativnog intenziteta su bile u okvirima greške merenja za taj relativni intenzitet (vidi **prilog C2-1**). S druge strane, izgled mikro-strukture na lokaciji merenja 9 (Sl.118a) u potpunosti odgovara rezultatima MRS merenja (Sl.116), prema kojima su promene u relativnim intenzitetima ( $R_1$  i  $R_2$ ) Raman pikova  $A_1$  i  $A_2$  značajno prevazilazile vrednosti grešaka merenja za ove relativne intenzitete (vidi **prilog C2-1**). Vrednost relativnog intenziteta  $R_1$  je značajno veća blizu interfejsa nego u površinskim delovima (Sl.116b), što je ukazivalo na značajniju amorfnost oblasti blizu interfejsa.

Već na  $\sim 100 \mu\text{m}$  od interfejsa se beleži pad relativnog intenziteta  $R_1$ , što ukazuje na povećanje relativne kristaličnosti. Na Sl.118a je prikazano da je tamnija ACP oblast prisutna u uskoj zoni blizu interfejsa, zbog čega ne iznenađuje pad relativnog intenziteta  $R_1$  koji je registrovan već na  $\sim 100 \mu\text{m}$  od interfejsa.

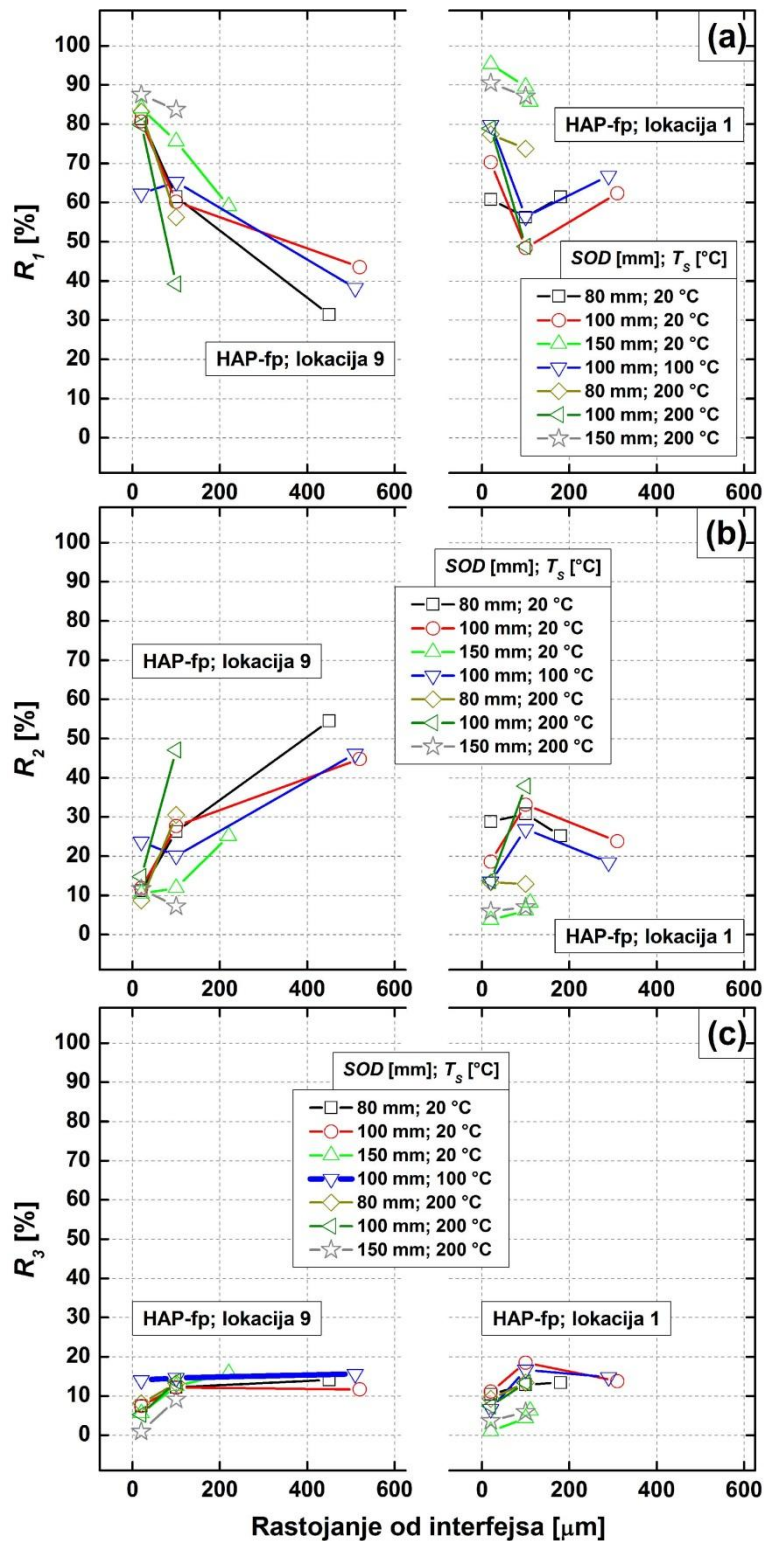
Rezultati koji su prikazani u ovom potpoglavlju ukazuju na dobru saglasnost MRS, XRPD i SM analiza. Utvrđene su analogije u promenama relativnog intenziteta  $R_1$  (MRS analiza), relativnog sadržaja ACP faze (XRPD analiza) i raspodele tamnijih (nagriženih) oblasti na poprečnim preseccima (SM analiza) u pravcu debljine HAP-fp uzoraka nanesenih pri  $SOD=80\text{mm}$  i  $T_5=20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Takođe, postoji analogija u promenama relativnog intenziteta  $R_2$  (MRS analiza), relativnog sadržaja rekristalisane HA faze (XRPD analiza) i raspodele svetlijih (nenagriženih) oblasti na poprečnim preseccima (SM analiza) u pravcu debljine HAP-fp uzoraka nanesenih pri pomenutim uslovima atmosferskog plazma sprej procesa.

#### 5.3.1.2. Uticaj veličine polaznog HA praha

##### 5.3.1.2.1. MRS analiza (promene relativnih intenziteta $R_1$ , $R_2$ i $R_3$ )

Sl.119. prikazuje promene srednjih relativnih intenziteta  $R_1$  (Sl.119a),  $R_2$  (Sl.119b) i  $R_3$  (Sl.119c) u pravcu debljine HAP-fp na lokacijama merenja 9 i 1. HAP-fp su bile nanesene pri različitim  $SOD$  i  $T_5$ . Srednji relativni intenziteti ( $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ ) su dobijeni fitovanjem Raman spektara snimljenim na poliranim poprečnim preseccima HAP-fp na različitim rastojanjima od interfejsa prevlaka/substrat (vidi **prilog E1**). Na Sl.119 nisu prikazane greške određivanja relativnih intenziteta zbog preglednosti rezultata. Greške su date u **prilogu E1**.

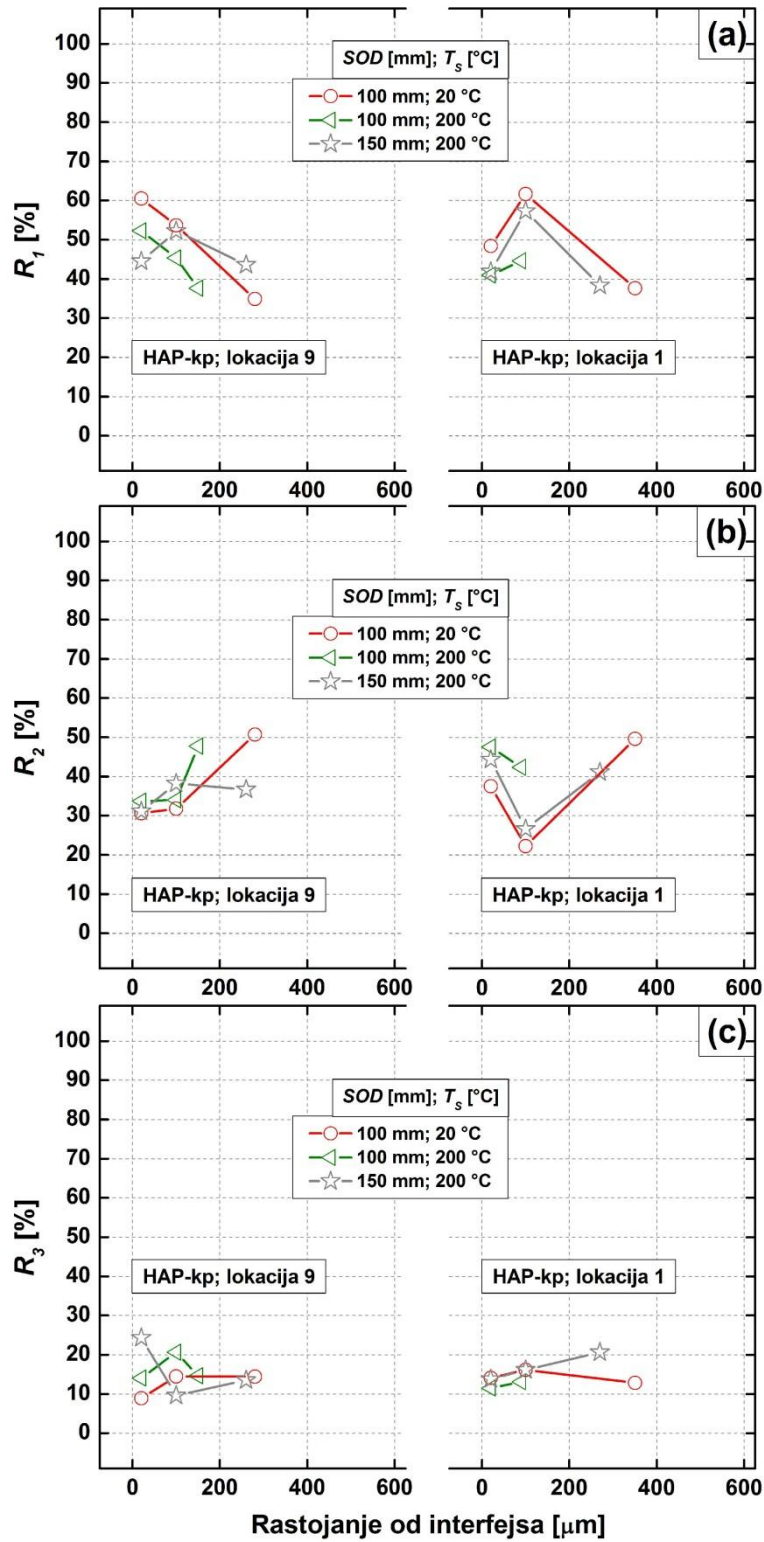




**Sl.119.** Promene srednjih relativnih intenziteta  $R_1$ , (a)  $R_2$  (b) i  $R_3$  (c) sa rastojanjem od interfejsa na lokacijama merenja 9 i 1 u slučaju HAP-fp koje su nanese pri različitim  $SOD$  i  $T_s$  (vidi prilog E1).

Rezultati kod većine HAP-fp nanesenih pri različitim  $SOD$  i  $T_S$  su pokazali slične trendove promena srednjih relativnih intenziteta sa rastojanjem od interfejsa na obe lokacije merenja (9 i 1) kao u slučaju HAP-fp sa Sl.116. Drugim rečima, promene  $R_1$  i  $R_2$  sa rastojanjem od interfejsa su intenzivnije na lokaciji merenja 9 u poređenju sa odgovarajućim promenama  $R_1$  i  $R_2$  na lokaciji merenja 1. Na lokaciji merenja 9, u većini slučajeva,  $R_1$  je rastao, a  $R_2$  opadao sa povećanjem rastojanja od interfejsa, i ta promena je prevazilazila grešku za ove relativne intenzitete (~10 %, vidi **prilog C2-1**), dok su promene  $R_3$  bile u okvirima greške za ovaj relativni intenzitet (~20 %, vidi **prilog C2-1**). S druge strane, na lokaciji merenja 1, promene  $R_1$  i  $R_2$  sa povećanjem rastojanja od interfejsa su bile praktično zanemarljive kod HAP-fp koje su nanese pri  $SOD=80$  i 150 mm, dok su promene  $R_1$  i  $R_2$  pri  $SOD=100$  mm bile na nivou koji je bio nešto veći od greške za ove relativne intenzitete, ali je trend ovih promena bio promenljiv. Promene  $R_3$  na lokaciji merenja 1 su bile u okvirima greške za ovaj relativni intenzitet.

Na Sl.120 su prikazane promene relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  sa rastojanjem od interfejsa na lokacijama merenja 9 i 1 uzoraka HAP-kp koji su nanese pri različitim  $SOD$  i  $T_S$ . Originalni i fitovani Raman spektri koji odgovaraju promenama ovih relativnih intenziteta su prikazani u **prilogu E1**. U slučaju HAP-kp je zabeležen značajno manji nivo promena relativnih intenziteta sa rastojanjem od interfejsa u odnosu na HAP-fp, kao i značajnije manje razlike između lokacija merenja 9 i 1. Na obe lokacije merenja (9 i 1), promene relativnih intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  sa rastojanjem od interfejsa su bile nešto veće od greške za ove relativne intenzitete (~10 %, vidi **prilog C2-1**), dok su promene  $R_3$  bile u okvirima greške za ovaj relativni intenzitet (~20 %, vidi **prilog C2-1**). Međutim, ovde treba naglasiti da je u većini slučajeva  $R_1$  opadao, a  $R_2$  rastao sa povećanjem rastojanja od interfejsa na lokaciji merenja 9, dok su promene  $R_1$  i  $R_2$  bile promenljive na lokaciji merenja 1. Ovaj rezultat je analogan rezultatima dobijenim u slučaju HAP-fp (Sl.119). Međutim, nizak nivo promena relativnih intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  koji je detektovan u uzorcima HAP-kp je zahtevao dodatne analize. Bilo je neophodno da se utvrdi da li su promene ovih relativnih intenziteta sa rastojanjem od interfejsa zaista bile posledica prisutne mikro-strukturne heterogenosti HAP-kp (vidi poglavlje 5.3.3).



**Sl.120.** Promene srednjih relativnih intenziteta  $R_1$ , (a)  $R_2$  (b) i  $R_3$  (c) sa rastojanjem od interfejsa na lokacijama merenja 9 i 1 u slučaju HAP-kp koje su nanesene pri različitim  $SOD$  i  $T_s$  (vidi prilog E1).

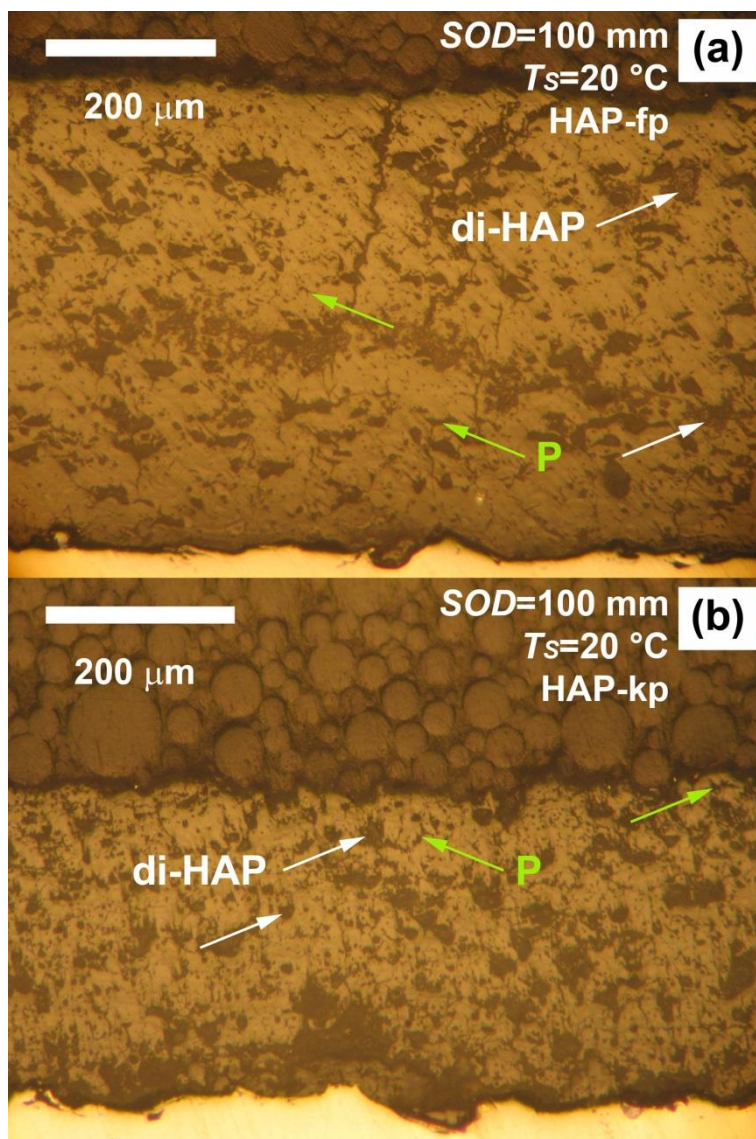
#### 5.3.1.2.2. SM analiza (poroznost i delimično istopljene čestice polaznih HA prahova)

Sl.121 prikazuje morfologiju poprečnih preseka HAP-fp (Sl.121a) i HAP-kp (Sl.121b) u poliranom stanju. Ovi uzorci su nanoseni pri istim uslovima atmosferskog plazma sprej postupka ( $SOD=100$  mm,  $T_S=20$  °C).

U slučaju obe vrste HA prevlaka, na lokaciji merenja 9 (Sl.121), primećeno je prisustvo većih, tamnijih objekata poligonalnog oblika, koji su pripisani delimično istopljenim česticama polaznog HA praha (di-HAP). Manji tamniji objekti sferičnog oblika su takođe predstavljali di-HAP. Primeri ovih strukturnih mikro-konstituenata su označeni belim strelicama. S druge strane, tamniji objekti pljosnatog oblika veličine oko desetak mikrometara, kao i tamniji objekti nekonveksnog oblika veličine do nekoliko mikrometara su pripisani porama međulamelnog tipa (P). Primeri ovih strukturnih mikro-konstituenata su označeni zelenim strelicama.

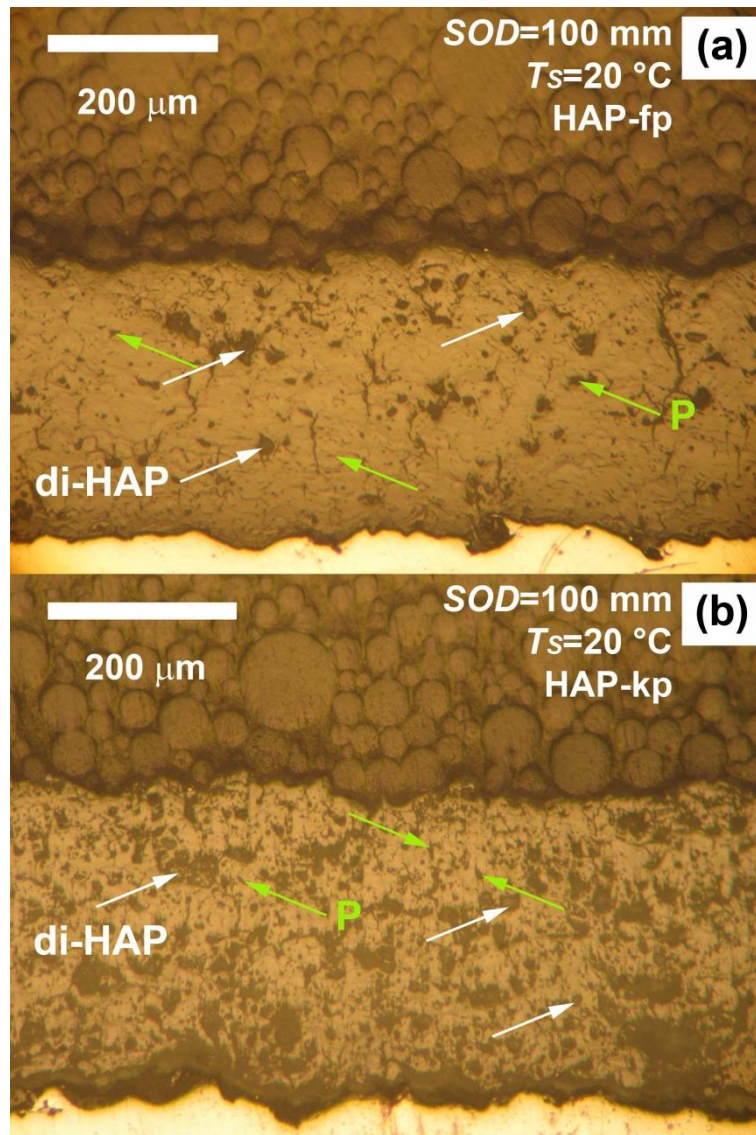
Kvalitativna analiza slika pomoću programskog paketa *ImageJ* [241] je ukazala na izvesne morfološke razlike između HAP-fp i HAP-kp na lokaciji merenja 9 (Sl.121). Naime, u slučaju HAP-fp (Sl.121a), udeo čestica di-HAP na poprečnom preseku je iznosio ~10 %, dok je udeo P bio manji od ~10 %. Preostala površina poprečnog preseka (svetla površina, >80 %) je predstavljala rekristalisanu (očvrslu) masu potpuno istopljenih čestica polaznog fHAP. S druge strane, u slučaju HAP-kp (Sl.121b), udeo di-HAP je iznosio 25-30 %, a udeo P je bio manji od ~10 %, dok je preostala površina rekristalisane (očvrсле) mase bila nešto veća od ~65 %.

Na lokaciji merenja 1 (Sl.122), u slučaju HAP-fp (Sl.122a), primećeno je značajnije manje prisustvo di-HAP i P veličine oko desetak mikrometara, u poređenju sa lokacijom merenja 9 (Sl.121a), dok je zabeleženo prisustvo P nekonveksog oblika veličine do nekoliko mikrometara. S druge strane, u slučaju HAP-kp (Sl.122b), na lokaciji merenja 1 nisu primećene značajnije razlike u odnosu na lokaciju merenja 9 (Sl.121b).



**Sl.121.** Mikro-fotografije poliranih poprečnih preseka na lokaciji merenja 9 HAP-fp (a) i HAP-kp (b) dobijenih pri istim uslovima procesa nanošenja plazma sprej postupkom; slike SM su napravljene u svetlom polju; **P** i zelene strelice ukazuju na pore, dok **di-HAP** i bele strelice ukazuju na delimično istopljene čestice polaznog HA praha.





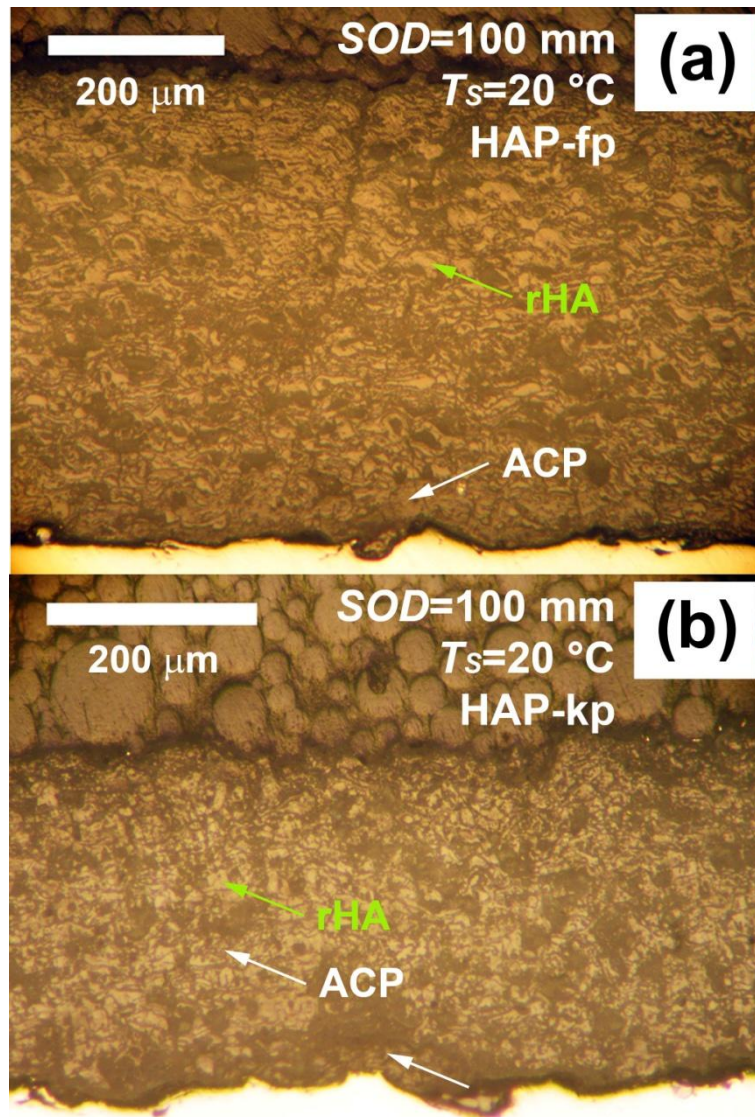
**Sl.122.** Mikro-fotografije poliranih poprečnih preseka na lokaciji merenja 1 HAP-fp (a) i HAP-kp (b) dobijenih pri istim uslovima procesa nanošenja plazma sprej postupkom; slike SM su napravljene u svetlom polju; **P** i zelene strelice ukazuju na pore, dok **di-HAP** i bele strelice ukazuju na delimično istopljene čestice polaznog HA praha.

### 5.3.1.2.3. SM analiza (raspodela amorfnih i rekristalisanih oblasti)

Hemijskim nagrizanjem poliranih poprečnih preseka (Sl.121 i 122) bila je moguća procena raspodele oblasti bogatih sa ACP fazom i oblasti bogatih sa rekristalisanom HA fazom (rHA) u pravcu debljine HA prevlaka na lokacijama merenja 9 (Sl.123) i 1 (Sl.124).

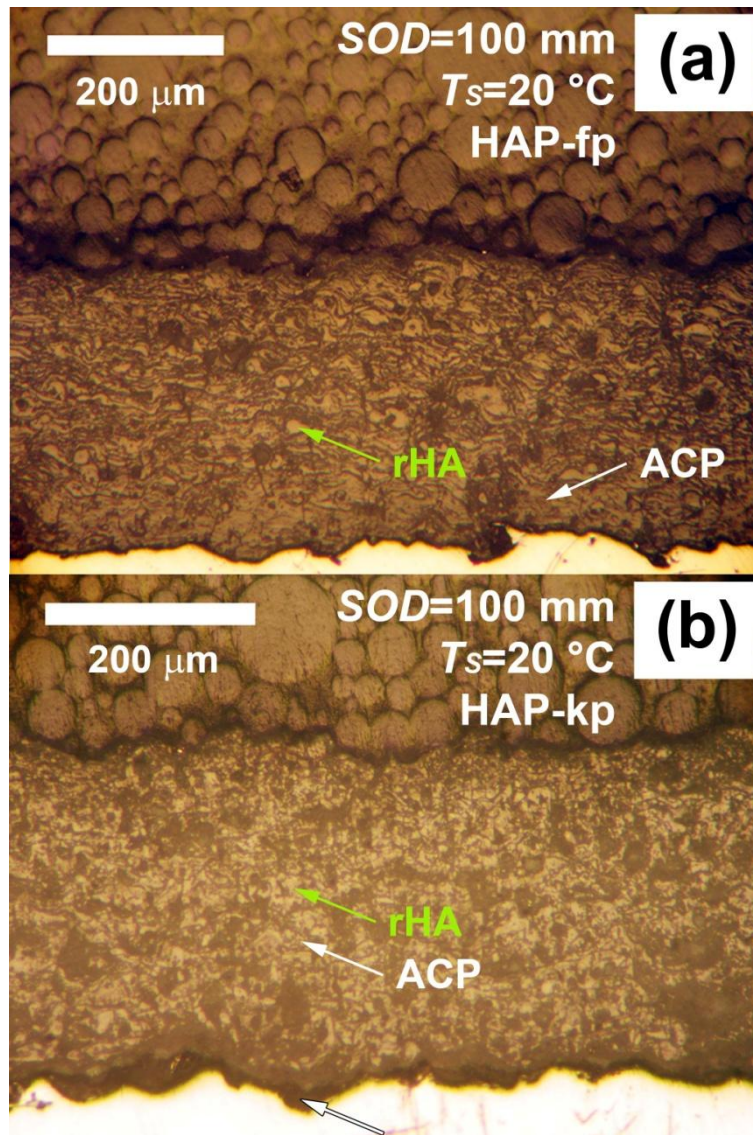
Na lokaciji merenja 9 (Sl.123), u slučaju HAP-fp (Sl.123a), primećeno je da je hemijsko nagrizanje bilo izraženije u donjoj u poređenju sa gornjom polovinom poprečnog preseka. Na Sl.123a se primećuje da su svetle rHA lamele razdvojene tamnijim ACP oblastima. Ova razdvojenost, odnosno rastojanje između rHA lamela se smanjivalo od interfejsa ka površini poprečnog preseka, što ukazuje na povećanje kristaličnosti sa povećanjem rastojanja od interfejsa u pravcu debljine HAP-fp. S druge strane, u slučaju HAP-kp (Sl.123b), nije identifikovana izražena lamelarnost morfologije poprečnog preseka, kao što je to utvrđeno u slučaju HAP-fp (Sl.123a). Naime, ACP je bila dominantno prisutna u uskom delu HAP-fp uz interfejs prevlaka/substrat, dok je rHA faza bila dominantno prisutna u preostalom delu poprečnog preseka. Zbog uniformnijeg izgleda morfologije hemijski nagriženih poprečnih preseka HAP-kp uzoraka i odsustva izraženije lamelarnosti nije bilo moguće preciznije utvrditi raspodelu ACP i rHA oblasti na poprečnim presecima ovih prevlaka. Primeri tamnijeg i svetlijeg obojenja površine poprečnog preseka, koji najverovatnije predstavljaju ACP i rHA oblasti, su prikazani belim i zelenim strelicama na Sl.123b, respektivno.

Na lokaciji merenja 1 (Sl.124), u slučaju HAP-fp (Sl.124a), primećeno je da je nagrizanje površine poprečnog preseka bilo značajnije izraženo u poređenju sa lokacijom merenja 9 (Sl.123a). Naime, tamnija, nagrižena površina (ACP oblast) je bila dominantno prisutna na površini poprečnog preseka na lokaciji merenja 1, dok su rastojanja između rHA lamela bila veća nego na lokaciji merenja 9. Pored toga, važno je napomenuti da su rHA lamele na lokaciji merenja 1, bile primetno tanje u poređenju sa rHA lamelama na lokaciji merenja 9. S druge strane, u slučaju HAP-kp (Sl.124b), na lokaciji merenja 1 nisu primećene značajnije razlike u odnosu na lokaciju merenja 9 (Sl.123b).



**Sl.123.** Mikro-fotografije poliranih i hemijski nagriženih poprečnih preseka na lokaciji merenja 9 HAP-fp (a) i HAP-kp (b) dobijenih pri istim uslovima procesa nanošenja plazma sprej postupkom; slike SM su napravljene u svetlom polju; **rHA** i zelene strelice ukazuju na hemijski nenagriženu rekristalisanu HA fazu, dok **ACP** i bele strelice ukazuju na hemijski nagriženu ACP fazu; hemijsko nagrivanje poprečnih preseka je izvršeno pomoću vodenog rastvora  $\text{HNO}_3$  ( $\sim 0.058$  mol/l) u trajanju od 4-5 s.





**Sl.124.** Mikro-fotografije poliranih i hemijski nagriženih poprečnih preseka na lokaciji merenja 1 HAP-fp (a) i HAP-kp (b) dobijenih pri istim uslovima procesa nanošenja plazma sprej postupkom; slike SM su napravljene u svetlom polju; **rHA** i zelene strelice ukazuju na hemijski nenagriženu rekristalisanu HA fazu, dok **ACP** i bele strelice ukazuju na hemijski nagriženu ACP fazu; hemijsko nagrivanje poprečnih preseka je izvršeno pomoću vodenog rastvora  $\text{HNO}_3$  ( $\sim 0.058$  mol/l) u trajanju od 4-5 s.

Morfološke razlike i sličnosti koje su utvrđene analizom hemijski nenagriženih i nagriženih poprečnih preseka HAP-fp i HAP-kp (Sl.121-124) su bile analogne razlikama i sličnostima koje su utvrđene MRS analizom (Sl.119 i 120). Naime, izražene morfološke razlike između lokacija merenja 9 i 1 u slučaju HAP-fp su bile analogne

izraženim razlikama u promenama relativnih intenziteta Ramanovih pikova sa porastom rastojanja od interfejsa na ove dve lokacije, dok su morfološke sličnosti između lokacija merenja 9 i 1 u slučaju HAP-kp bile analogne manje izraženim razlikama koje su detektovane u promenama relativnih intenziteta Ramanovih pikova sa porastom rastojanja od interfejsa na ove dve lokacije merenja.

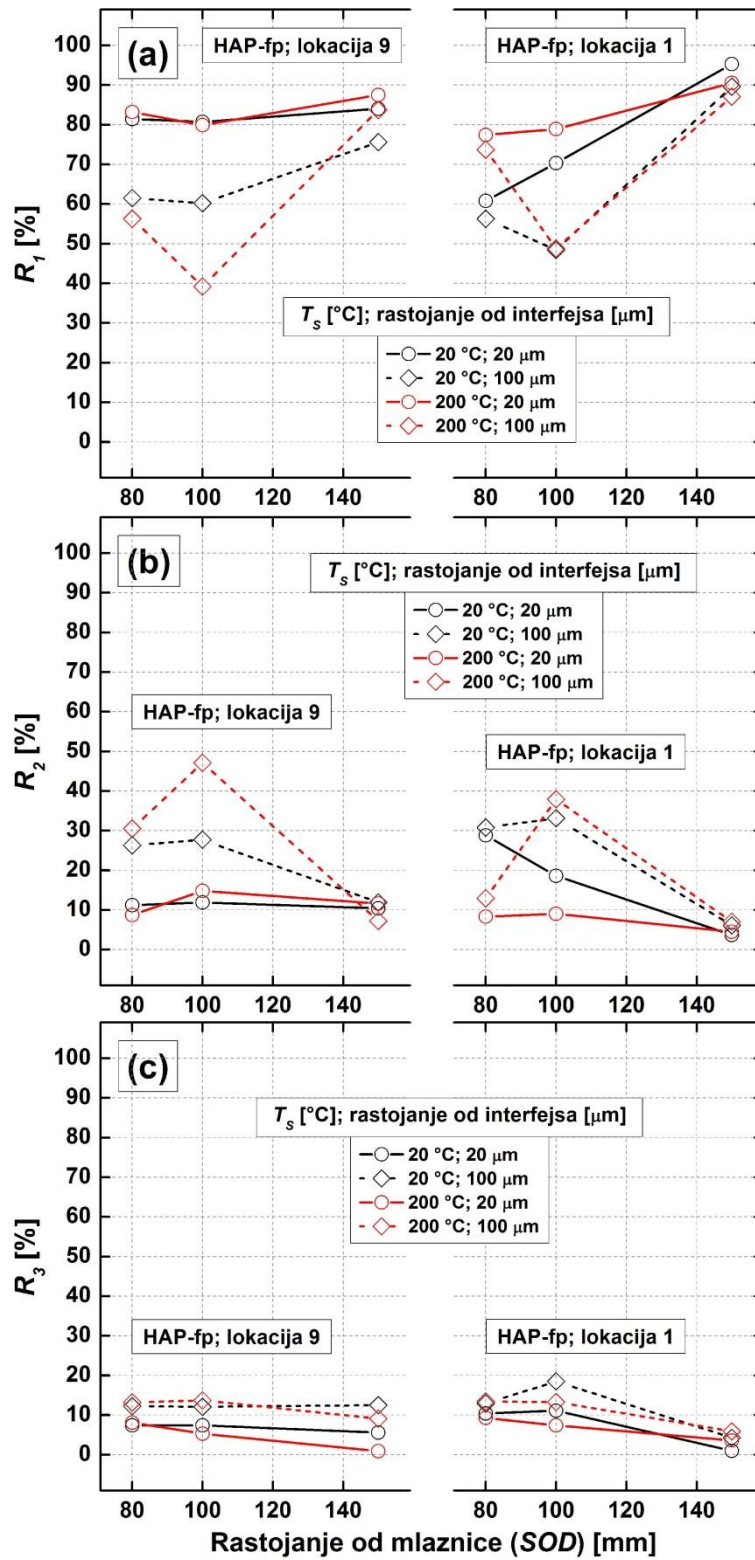
### 5.3.1.3. Uticaj $SOD$ i $T_S$

#### 5.3.1.3.1. MRS analiza (promene relativnih intenziteta $R_1$ , $R_2$ i $R_3$ )

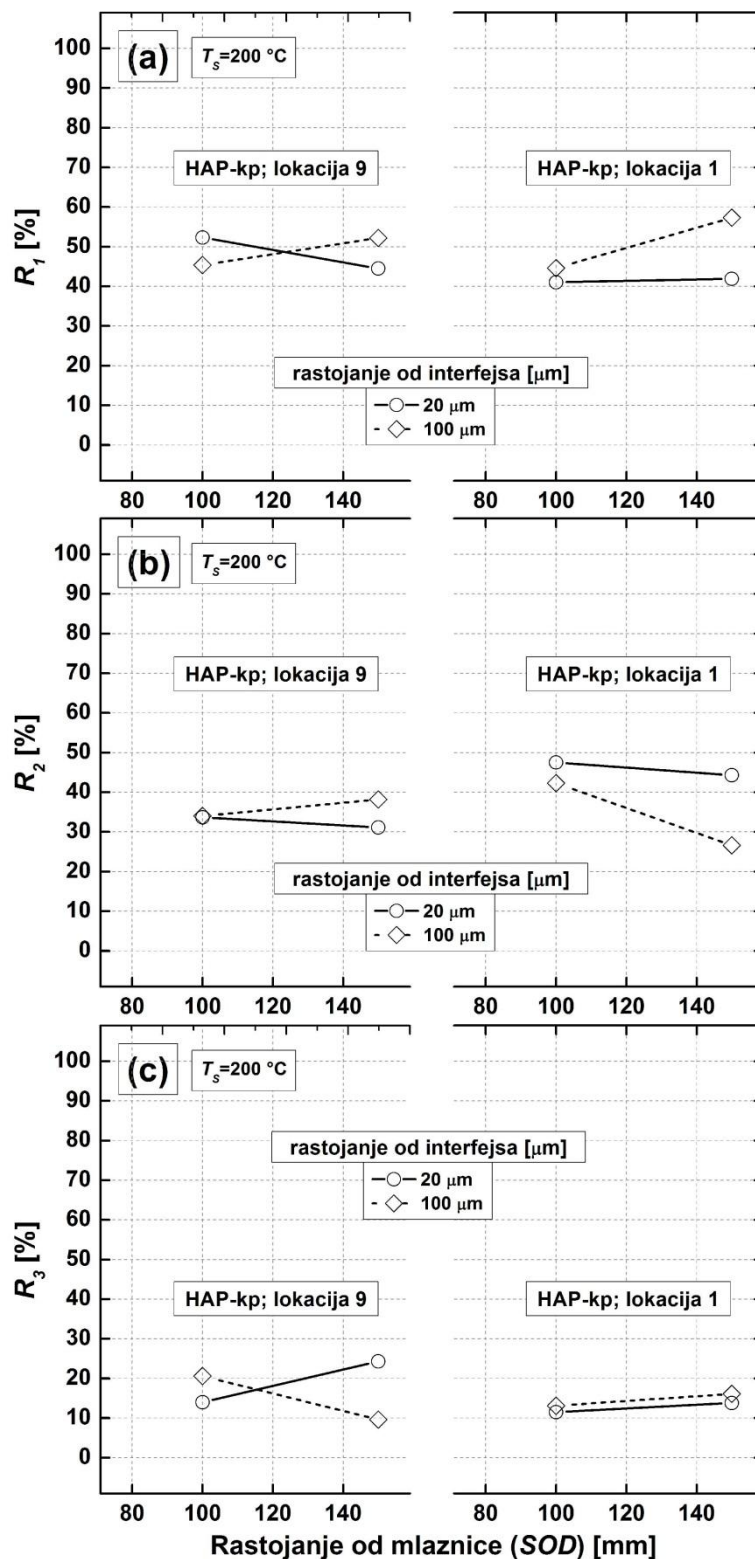
Sa Sl.119 i 120 nije bilo moguće jasno utvrditi na koji način  $SOD$  i  $T_S$  parametri utiču na promene relativnih intenziteta Ramanovih pikova, a samim tim i na promene relativne kristaličnosti HA prevlaka. Zbog toga su uticaji ovih parametara posebno analizirani, što je prikazano na Sl.125-128. U slučaju HAP-fp (Sl.125) i HAP-kp (Sl.126), povećanje  $SOD$  je u većem broju slučajeva uzrokovalo povećanje  $R_1$  i smanjenje  $R_2$ , dok je promena  $R_3$  bila zanemarljiva. Drugim rečima, povećanje  $SOD$  je u većem broju slučajeva uticalo na smanjenje relativne kristaličnosti HA prevlaka. Međutim, ovde treba izdvojiti nekoliko specifičnih slučajeva. Prvo, povećanje  $SOD$  kod HAP-fp nije uzrokovalo promene u oblasti blizu interfejsa lokacije merenja 9 za razliku od lokacije merenja 1. Drugo, povećanje  $SOD$  sa 80 na 100 mm u slučaju HAP-fp je prouzrokovalo suprotan efekat na rastojanju od  $\sim 100$   $\mu\text{m}$  od interfejsa, tj. dovelo je do smanjenja  $R_1$  i povećanja  $R_2$ , tj. povećanja relativne kristaličnosti HA prevlaka. Treće, povećanje  $SOD$  sa 80 na 100 mm u slučaju HAP-kp je izazvalo sličan efekat prethodno opisanom s tim da je smanjenje  $R_1$  bilo praćeno povećanjem  $R_3$  umesto  $R_2$ .

U slučaju HAP-fp (Sl.127), povećanje  $T_S$  je u većem broju slučajeva izazvalo povećanje ili stagnaciju  $R_1$ , smanjenje ili stagnaciju  $R_2$  i zanemarljivu promenu  $R_3$ . Drugim rečima, povećanje  $T_S$  je u većem broju slučajeva uticalo na smanjenje ili održanje relativne kristaličnosti HAP-fp. Međutim, na lokaciji merenja 9 pri  $SOD=100$  mm je takođe primećeno smanjenje  $R_1$  i povećanje  $R_2$ , tj. povećanje relativne kristaličnosti HAP-fp. U slučaju HAP-kp (Sl.128), povećanje  $T_S$  je izazvalo smanjenje  $R_1$ , povećanje ili stagnaciju  $R_2$  i povećanje ili stagnaciju  $R_3$  (Sl.128). Drugim rečima,

predgrevanje substrata je uzrokovalo povećanje ili održanje relativne kristaličnosti HAP-kp.

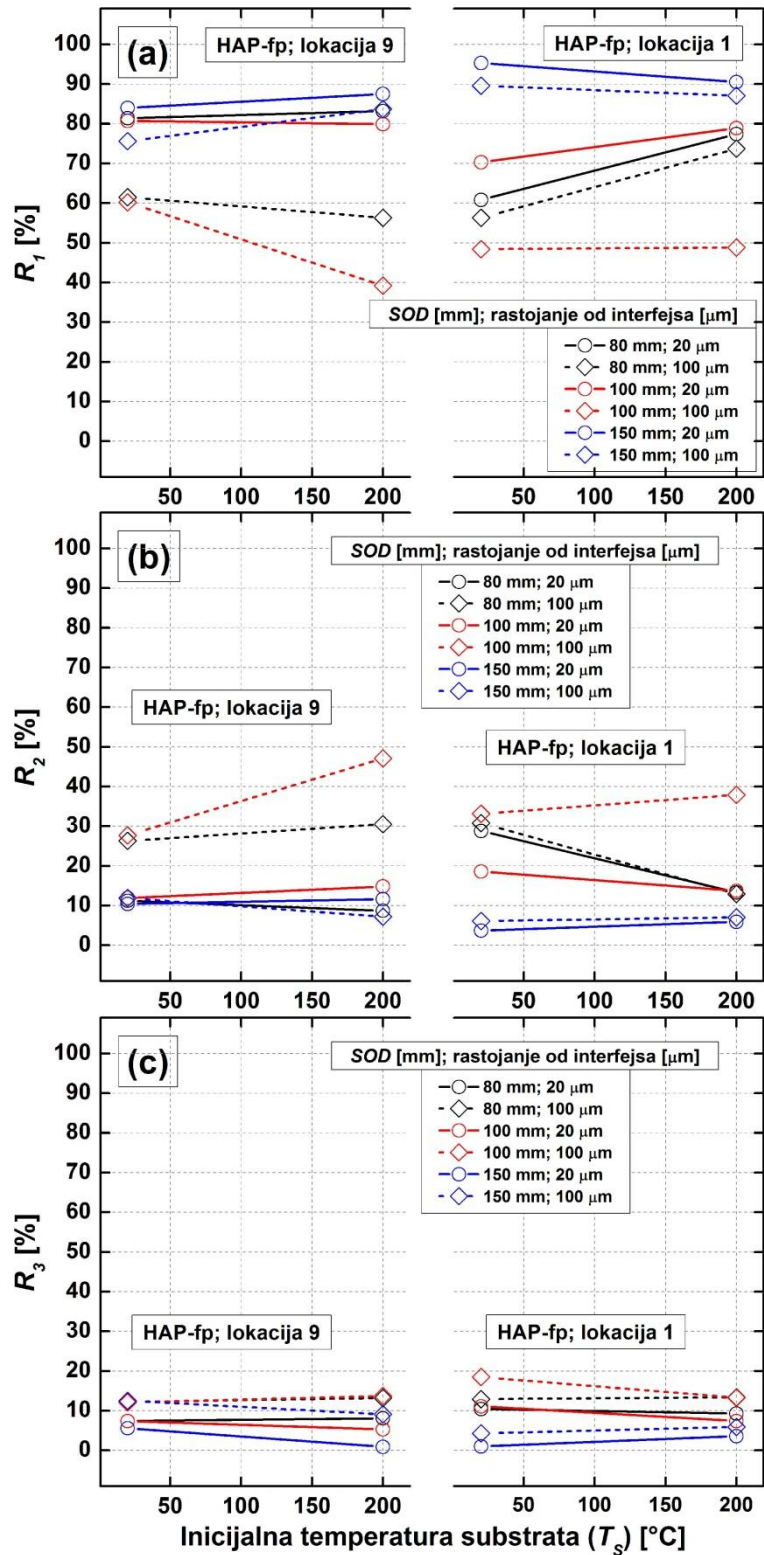


SI.125. Uticaj SOD na promene srednjih relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  dobijenih fitovanjem Raman spektara koji su prikazani u prilogu E1 u slučaju HAP-fp.

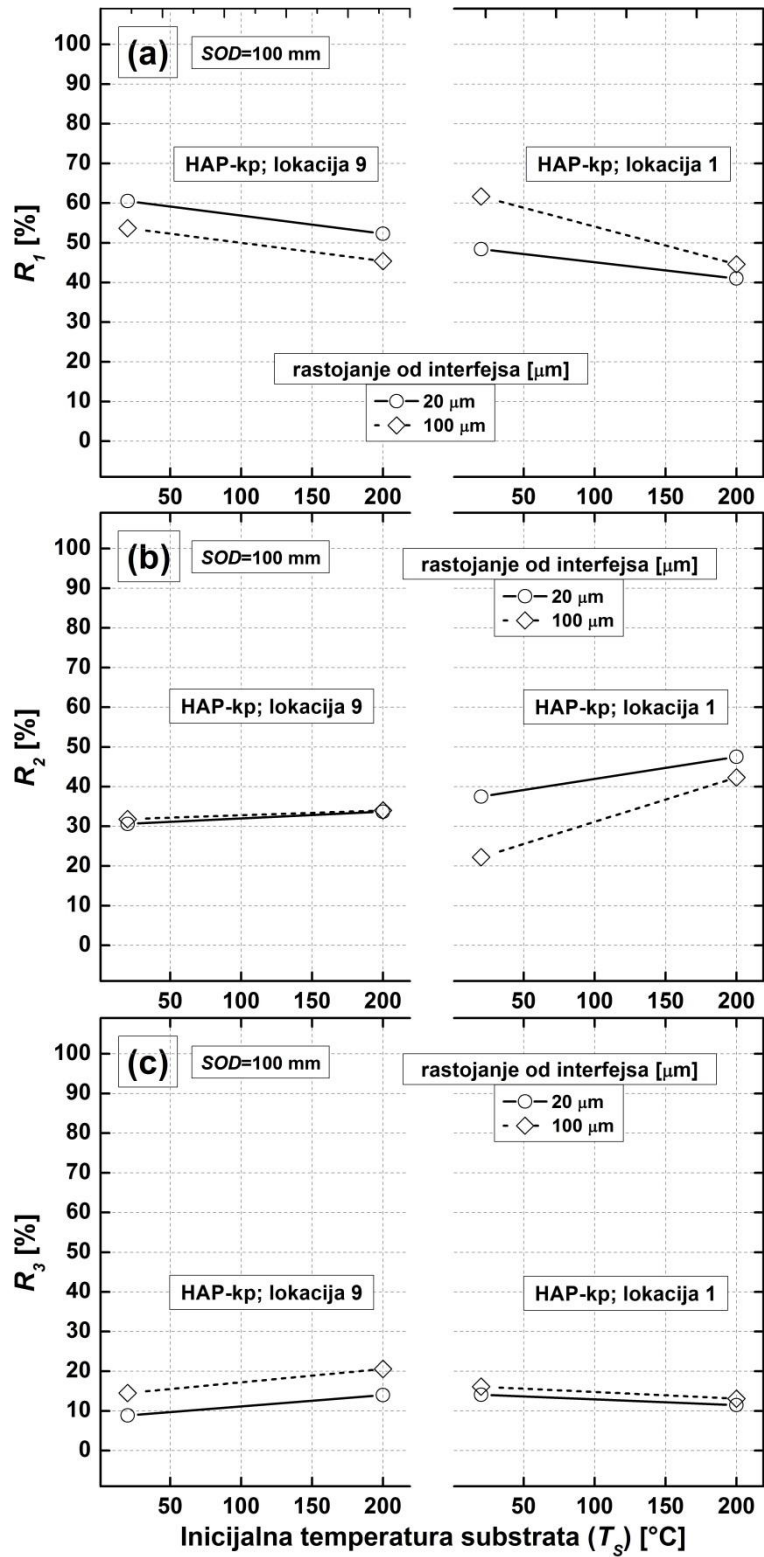


**Sl.126.** Uticaj  $SOD$  na promene srednjih relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  dobijenih fitovanjem Raman spektara koji su prikazani u **prilogu E1** u slučaju HAP-kp.





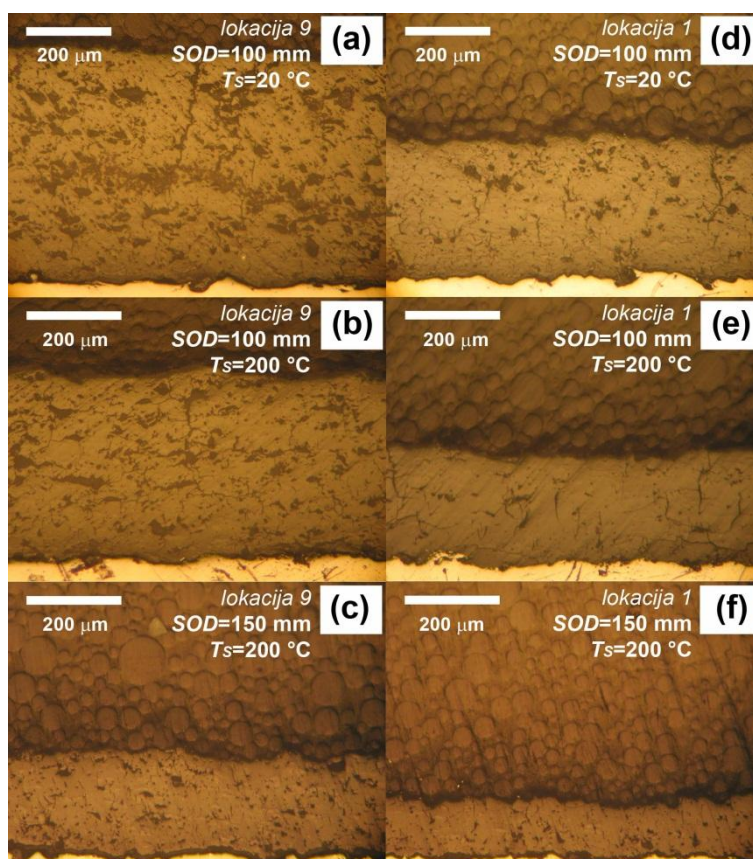
**Sl.127.** Uticaj  $T_s$  na promene srednjih relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  dobijenih fitovanjem Raman spektara koji su prikazani u **prilogu E1** u slučaju HAP-fp.



SI.128. Uticaj  $T_s$  na promene srednjih relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  dobijenih fitovanjem Raman spektara koji su prikazani u **prilogu E1** u slucaju HAP-kp.

### 5.3.1.3.2. SM analiza (poroznost i delimično istopljene čestice polaznih HA prahova)

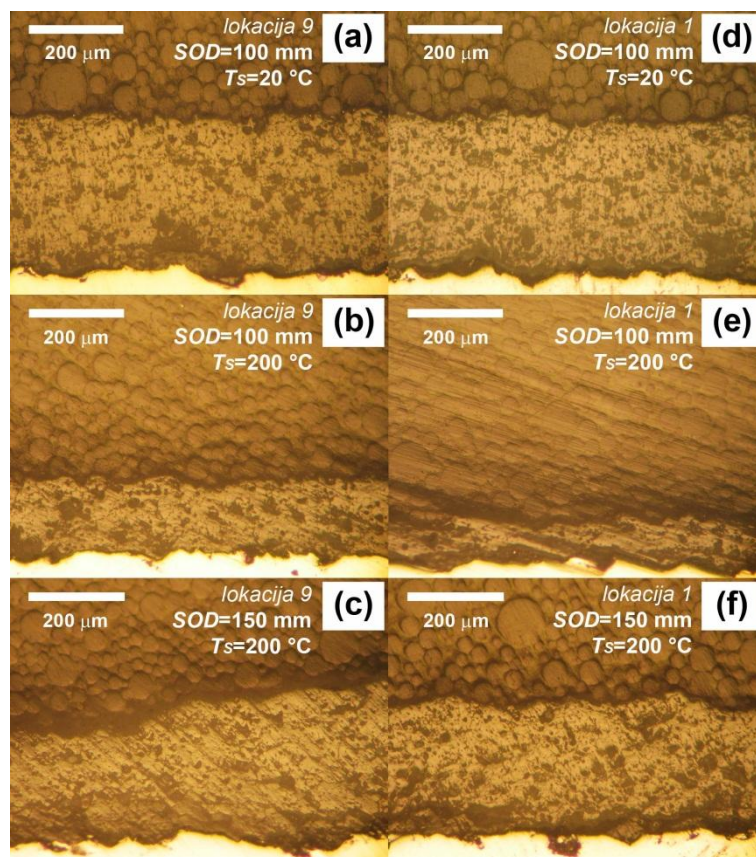
Sl.129 i 130 porede polirane poprečne preseke HAP-fp (Sl.129) i HAP-kp (Sl.130) sa kojih se može dobiti uvid u opšte uticaje lokacije merenja,  $SOD$  i  $T_S$  na prisustvo poroznosti (P) i delimično istopljenih čestica polaznih HA prahova (di-HAP) u HAP-fp i HAP-kp. Morfologija P i di-HAP na poprečnim presecima HAP-fp i HAP-kp je detaljnije objašnjena na Sl.121 i 122 (vidi poglavlje 5.3.1.2.2).



**Sl.129.** Uticaj lokacije merenja,  $SOD$  i  $T_S$  na prisustvo poroznosti i delimično istopljenih čestica polaznog fHAP na poliranim poprečnim presecima HAP-fp analiziranih pomoću SM u svetlom polju.

U slučaju HAP-fp (Sl.129), prisustvo P i di-HAP je bilo veće na lokaciji merenja 9 (Sl.129a-129c) u poređenju sa lokacijom merenja 1 (Sl.129d-129f). Povećanje  $T_S$  je uzrokovalo smanjenje prisustva P bez obzira na lokaciju merenja (uporedi Sl.129a i 129b, kao i Sl.129d i 129e), dok je povećanje  $SOD$  uzrokovalo smanjenje prisustva P i di-HAP, što se može zaključiti poređenjem Sl.129b i 129c, kao i Sl.129e i 129f.





**Sl.130.** Uticaj lokacije merenja,  $SOD$  i  $T_S$  na prisustvo poroznosti i delimično istopljenih čestica polaznog kHAP na poliranim poprečnim presecima HAP-kp analiziranih pomoću SM u svetlom polju.

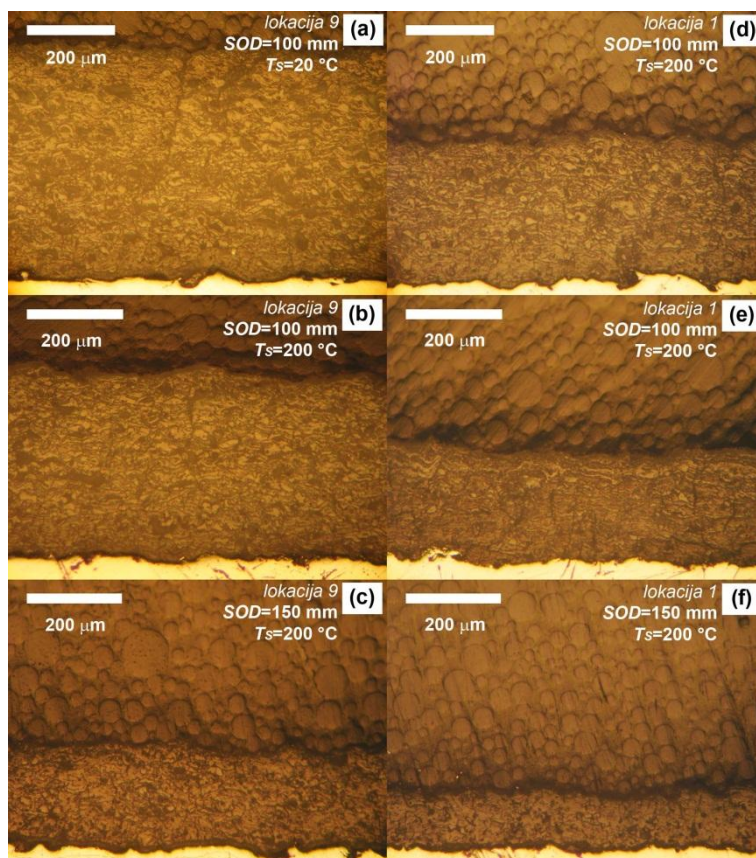
U slučaju HAP-kp (Sl.130), prisustvo P i di-HAP se praktično nije razlikovalo na različitim lokacijama merenja pri određenim  $SOD$  i  $T_S$  (uporedi Sl.130a-130c za lokaciju 9 sa Sl.130d-130f za lokaciju 1). Povećanje  $T_S$  nije značajno uticalo na promenu prisustva P (uporedi Sl.130a i 130b, kao i Sl.130d i 130e), dok je povećanje  $SOD$  izazvalo primetno smanjenje prisustva P i di-HAP (uporedi Sl.130b i 130c).

#### 5.3.1.3.3. SM analiza (raspodela amorfnih i rekristalisanih oblasti)

U slučaju HAP-fp, koje su nanese pri određenim  $SOD$  i  $T_S$  (Sl.131), raspodele amorfnih (ACP) i rekristalisanih (rHA) oblasti, razlike u rastojanjima između rHA lamela, kao i debljine rHA lamela na lokacijama merenja 9 (Sl.131a-131c) i 1 (Sl.131d-131f) su slične kao u primerima koji su prikazani i objašnjeni na Sl.123a i 124a.



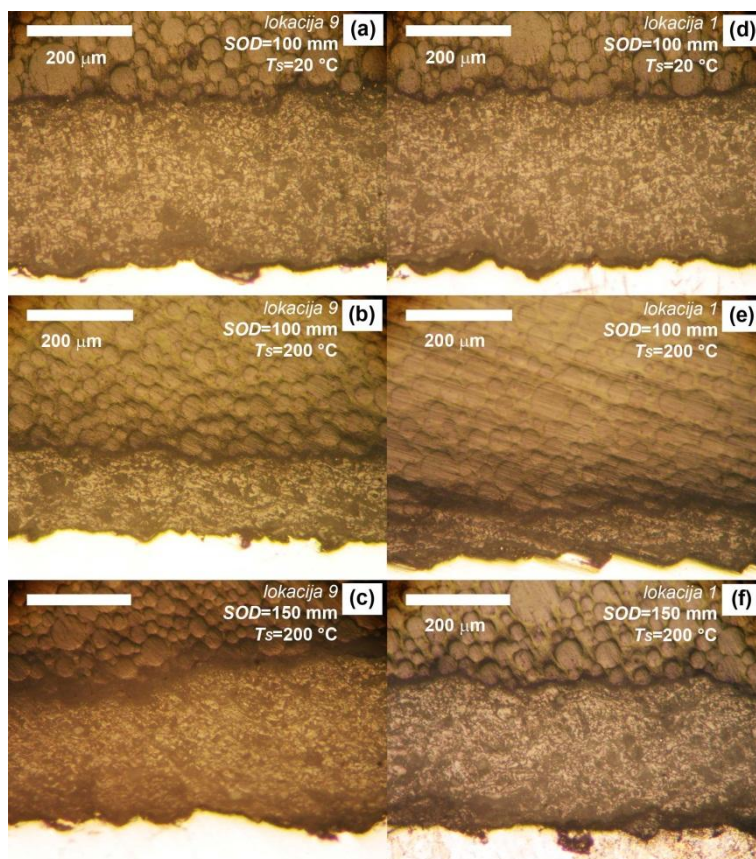
Ukratko, rekristalisana HA faza (rHA) je bila manje prisutna, rastojanja između rHA lamela su bila veća i debljina rHA lamella je bila manja na lokaciji merenja 1 u odnosu na lokaciju merenja 9. S druge strane, poređenjem Sl.131a i 131b (lokacija 9), kao i Sl.131d i 131e (lokacija 1), primećeno je da je povećanje  $T_S$  uticalo na smanjenje debljine rHA lamela, dok je zapaženo i veće prisustvo tamnijih, nagriženih površina, što je posebno bilo izraženo na lokaciji merenja 1 (Sl.131e). Poređenjem Sl.131b i 131c (lokacija 9), kao i Sl.131e i 131f (lokacija 1), utvrđeno je da je povećanje  $SOD$  uticalo na značajno smanjenje prisustva i debljine rHA lamela i dominantno prisustvo tamnije, hemijski nagrižene ACP faze.



**Sl.131.** Uticaj lokacije merenja,  $SOD$  i  $T_S$  na raspodelu amorfnih (ACP) i rekristalisanih (rHA) oblasti na poliranim i hemijski nagriženim poprečnim presecima HAP-fp analiziranih pomoću SM u svetlom polju.

U slučaju HAP-kp, koje su nanosene pri određenim  $SOD$  i  $T_S$  (Sl.132), razlike između lokacija merenja 9 i 1 nisu primećene (uporedi takođe Sl.123b i 124b). Poređenjem Sl.132a i 132b (lokacija 9), kao i Sl.132d i 132e (lokacija 1), primećeno je

da povećanje  $T_s$  nije uticalo na vidnije, tj. izraženije, prisustvo lamelarne morfologije,. Poređenjem Sl.132b i 131c (lokacija 9), kao i Sl.131e i 131f (lokacija 1), utvrđeno je da su hemijski nagriženi poprečni preseći HAP-fp pri većim  $SOD$  pokazivali finiju raspodelu čestica manjih dimenzija, bez obzira na lokaciju merenja.



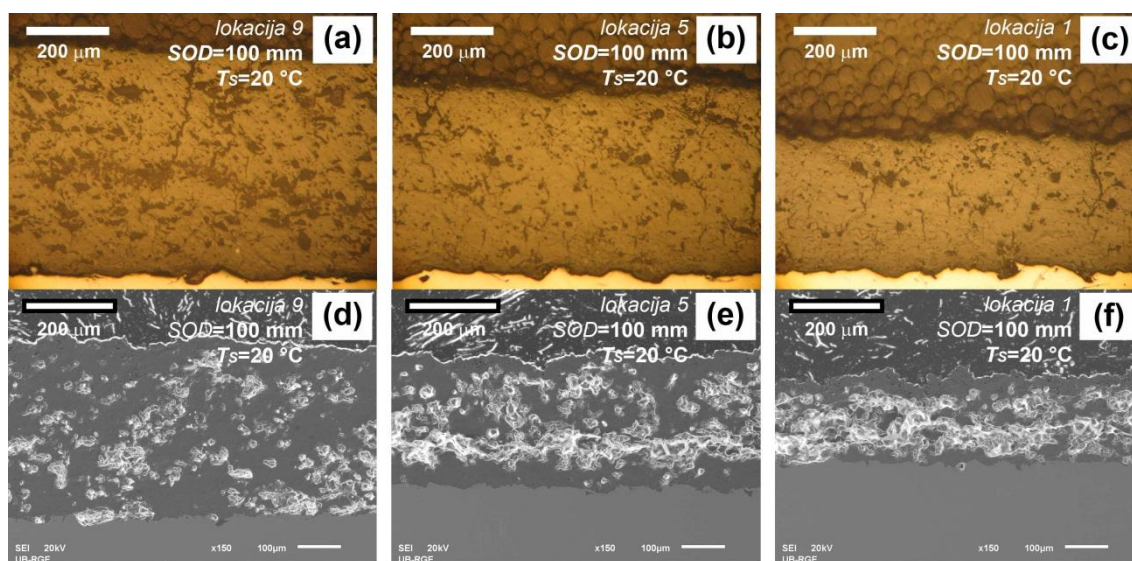
**Sl.132.** Uticaj lokacije merenja,  $SOD$  i  $T_s$  na raspodelu amorfnih (ACP) i rekristalisanih (rHA) oblasti na poliranim i hemijski nagriženim poprečnim presećima HAP-kp analiziranih pomoću SM u svetlom polju.

Ovde treba napomenuti da su u **prilogu D** prikazani polirani poprečni preseći HAP-fp i HAP-kp uzeti između lokacija 9 i 1, čijim poređenjem može da se dobije detaljniji uvid u promene koje su vezane za prisustvo P i di-HAP u pravcu paralelnom interfejsu prevlaka/substrat, dok su u **prilogu E1** prikazani hemijski nagriženi poprečni preseći HAP-fp i HAP-kp uzeti između lokacija merenja 9 i 1, čijim poređenjem može da se dobije detaljniji uvid u raspodelu ACP i rHA oblasti u pravcu paralelnom interfejsu.

### 5.3.2. Analiza HAP-fp sečenih ručnom testerom (lokacija 5)

#### 5.3.2.1. Efekat sečenja ručnom testerom

Sl.133 prikazuje razlike u efektu sečenja dijamantskom (Sl.133a-133c) i ručnom (Sl.133d-133f) testerom uzoraka HAP-fp nanesenih pri istim uslovima atmosferskog plazma sprej procesa ( $SOD=100$  mm,  $T_s=20$  °C). Sečenje dijamantskom testerom (i kasnije brušenje i poliranje poprečnih preseka HAP-fp) (Sl.133a-133c) je uopšteno unosilo mikro-prsline čiji je pravac prostiranja bio približno ortogonalan pravcu prostiranja interfejsa prevlaka/substrat, pri čemu se, pored već opisanih razlika u prisustvu P i di-HAP na različitim lokacijama merenja (vidi Sl.121a, 122a i 130), nisu primećivale druge morfološke razlike u rekristalisanj (očvrstloj) masi HAP-fp (svetlije površine na Sl.133a-133c) na različitim lokacijama merenja.



**Sl.133.** Poređenje morfologije poliranih poprečnih preseka uzoraka HAP-fp koji su sečeni dijamantskom (a-c) i ručnom (d-f) testerom na lokacijama merenja 9 (a,d), 5 (b,e) i 1 (c,f); slike (a-c) su napravljene pomoću SM u svetlom polju, dok su slike (d-f) dobijene pomoću SEM korišćenjem sekundarnih elektrona.

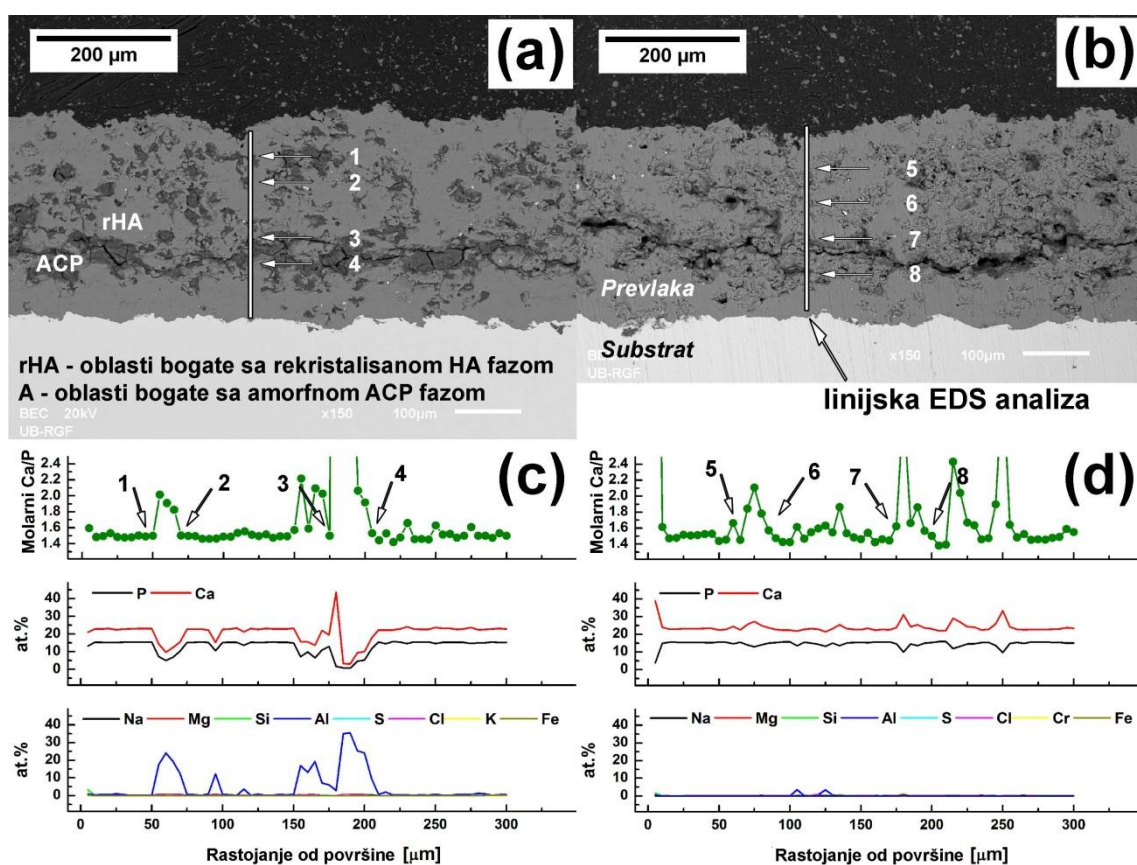
S druge strane, sečenje ručnom testerom (i kasnije brušenje i poliranje poprečnih preseka HAP-fp) (Sl.133d-133f) je uopšteno unosilo mikro-prsline čiji je pravac prostiranja bio približno paralelan pravcu prostiranja interfejsa prevlaka/substrat. Pored



toga, sečenje ručnom testerom je unelo prisustvo svetlijih/reljefnih površina, čije se prisustvo povećavalo od lokacije merenja 9 ka lokaciji merenja 1 (Sl.133d-133f), što nije primećeno u slučaju sečenja dijamantskom testerom (Sl.133a-133c).

### 5.3.2.2. Linijska EDS analiza

Sl.134a odgovara Sl.133e sa razlikom što je dobijena pomoću SEM korišćenjem povratno rasutih elektrona, umesto sekundarnih elektrona.



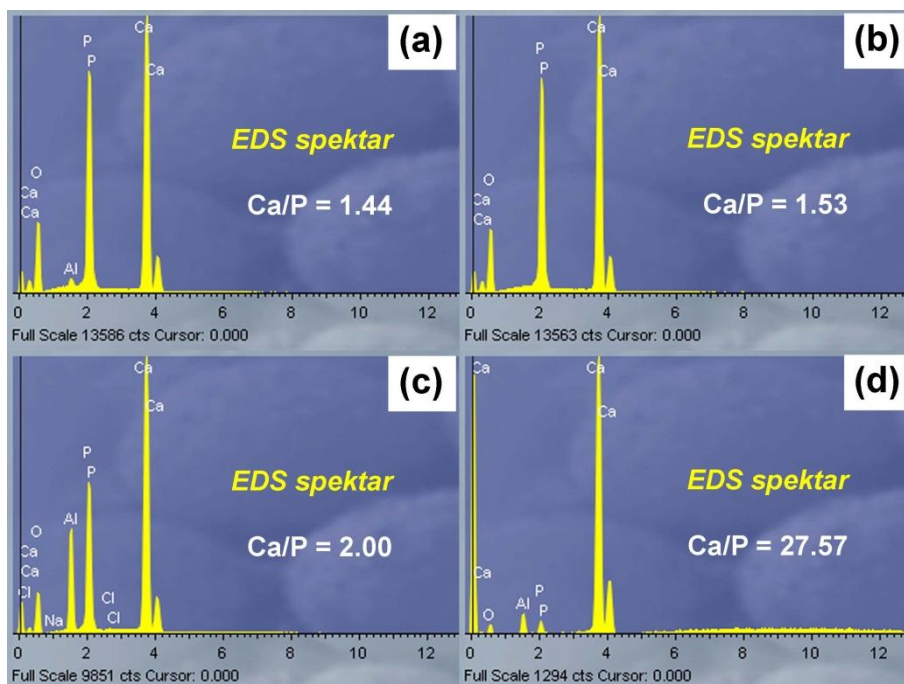
**Sl.134.** (a) Morfologija i (c) linijska EDS analiza poliranog poprečnog preseka HAP-fp; na lokaciji merenja 5 i (b) morfologija i linijska EDS analiza (d) prebrušenog poprečnog preseka HAP-fp sa slike (a); slika (a) odgovara Sl.133e, a napravljena je pomoću SEM korišćenjem povratno rasutih elektrona, kao i slika (d). HAP-fp je nanosena pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=20$  °C.

Na Sl.134a su se razlikovale dve oblasti (označene kao ACP i rHA). Prva oblast (ACP), sa reljefnom površinom, sadržala je mikro-prsline koje su bile međusobno

povezane i koje su se generalno prostirale u pravcu koji je paralelan interfejsu prevlaka/substrat, dok druga oblast (rHA), sa ravnom površinom, nije sadržala mikro-prslina. Linijska EDS analiza u pravcu debljine HAP-fp (vertikalna bela linija na Sl.134a) je pokazala malo prisustvo natrijuma (Na), magnezijuma (Mg), silicijuma (Si), sumpora (S), hlora (Cl), kalijuma (K) i železa (Fe) (<0.2 at.%) (Sl.134c). S druge strane, povećano prisustvo aluminijuma (Al) je bilo detektovano u reljefnim ACP oblastima (Sl.134c). Povećano prisustvo Al je pripisano  $Al_2O_3$  česticama za poliranje, koje su najverovatnije tokom poliranja poprečnih preseka upale u ulegnuća reljefne ACP oblasti. Na Sl.134c je primećeno da su raspodele molarnog Ca/P odnosa, sadržaja Ca i P pratile raspodelu Al. Kako bi se utvrdilo da li je prisustvo  $Al_2O_3$  čestica imalo uticaja na ove raspodele, polirani poprečni presek HAP-fp sa Sl.134a je prebrusšen vodootpornim SiC abrazivnim papirom (P-1200) u trajanju od nekoliko sekundi, nakon čega je izvršena linijska EDS analiza na približno istoj lokaciji merenja (Sl.134b). Na osnovu rezultata sa Sl.134d, utvrđeno je da je prisustvo  $Al_2O_3$  čestica uticalo na raspodele Ca i P, dok je ovaj uticaj na raspodelu molarnog Ca/P odnosa bio zanemarljiv, što se može utvrditi na osnovu poređenja promene molarnog Ca/P odnosa između ekvivalentnih lokacija 1 i 2 na Sl.134a i 5 i 6 na Sl.134b, kao i između 3 i 4 na Sl.134a i 7 i 8 na Sl.134b.

Unutar rHA oblasti, molarni Ca/P odnos je bio između ~1.4 i ~1.7, dok je ovaj odnos u ACP oblastima bio  $\gg 1.8$  (Sl.134c). Vrednosti molarnog Ca/P odnosa u rHA oblastima su bile reda veličine molarnog Ca/P odnosa koji je detektovan u polaznim fHAP (vidi Tab.19, poglavlje 4.1.2 i Tab.B1-3, **prilog B1-3**), zbog čega su ove oblasti pripisane dominantnom prisustvu rekristalisane HA faze (rHA). S druge strane, procentualna zastupljenost reljefnih ACP oblasti na Sl.133e i Sl.134a je bila značajno veća od procentualne zastupljenosti delimično istopljenih čestica polaznog fHAP (di-HAP) (Sl.133a-133c). Takođe, u reljefnim ACP oblastima se beležio značajno veći molarni Ca/P odnos (do ~30) (vidi EDS merenja između lokacija 3 i 4 na Sl.134a i 7 i 8 na Sl.134b), dok se molarni Ca/P odnos, koji je mogao da odgovara česticama di-HAP, kretao oko ~2.0 (vidi EDS merenja između lokacija 1 i 2 na Sl.134a i 5 i 6 na Sl.134b). Tipični EDS spektri za molarne Ca/P odnose koji su detektovani u ACP i rHA oblastima su prikazani na Sl.135. Zbog ovako značajnih razlika u procentualnoj zastupljenosti na površini poprečnog preseka i molarnom Ca/P odnosu, reljefne ACP

oblasti na površini poprečnog preseka HAP-fp (Sl.133e i Sl.134a) su pripisane dominantnom prisustvu ACP faze. Povrh toga, poznato je da hidroksi-deficitarna ACP faza može da sadrži CaO kristale (vidi Sl.25, poglavlje 2.2), što je posledica procesa defosforizacije u plazma mlazu (vidi jednačine 11-13, poglavlje 2.2.2.1), zbog čijeg prisustva je najverovatnije detektovan visok molarni Ca/P odnos ( $\gg 1.8$ ) (vidi EDS merenja između lokacija 3 i 4 na Sl.134a i 7 i 8 na Sl.134b).



**Sl.135.** Primeri EDS spektara za molarne Ca/P odnose koji su detektovani u ACP i rHA oblastima HAP-fp nanosenih pri  $SOD=100$  mm i različitim  $T_S$  (vidi Sl.134).

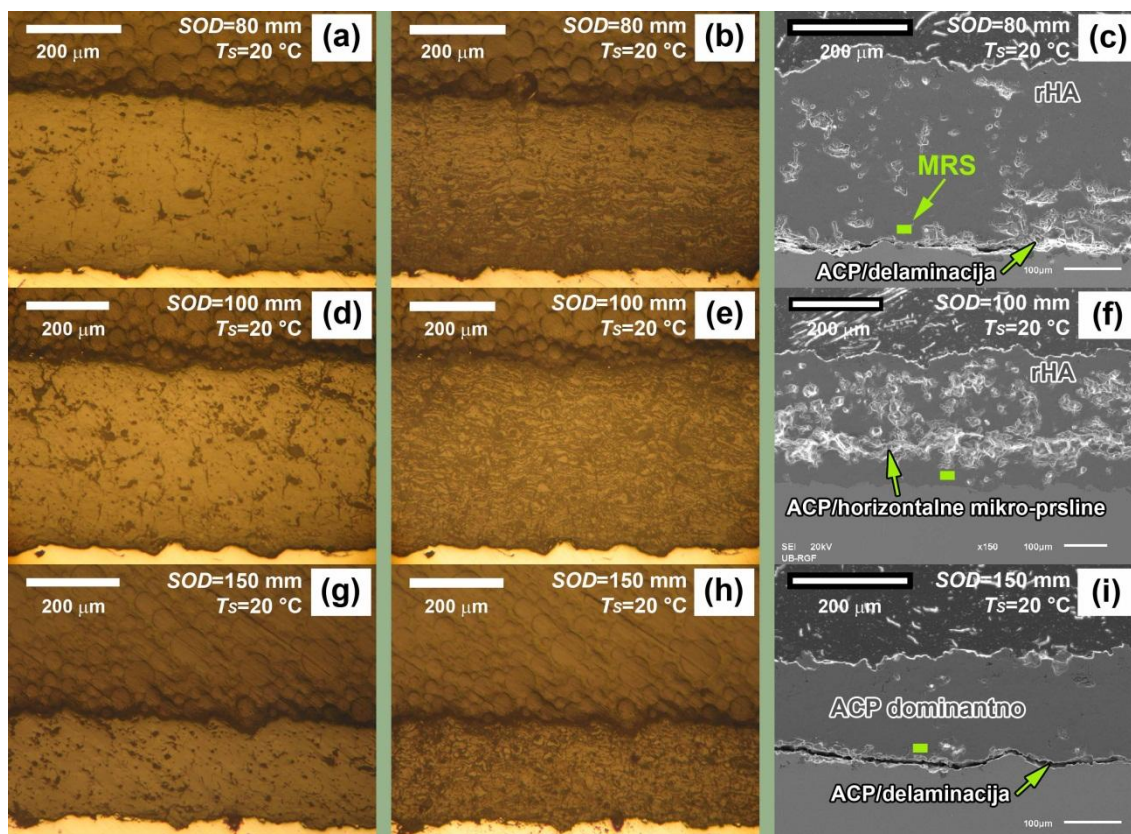
### 5.3.2.3. Uticaj SOD

Sl.136 poredi morfologije poliranih i hemijski nagriženih poprečnih preseka HAP-fp nanosenih pri  $SOD=80$  (Sl.136a-136c), 100 (Sl.136d-136f) i 150 mm (Sl.136g-136i) bez predgrevanja substrata ( $T_S=20$  °C) na lokaciji merenja 5 (vidi Sl.89, poglavlje 4.3.5.2).

Na poliranim poprečnim presecima uzoraka HAP-fp sečenih ručnom testerom (Sl.136c, 136f i 136i), primećeno je prisustvo delaminacije HAP-fp (fizičko odvajanje prevlake od substrata) kod prevlaka nanosenih pri  $SOD=80$  (Sl.136c) i 150 mm (Sl.136i), kao i prisustvo horizontalnih mikro-prslina na sredini poprečnog preseka

HAP-fp koje su nanosene pri  $SOD=100$  mm (Sl.136f). S druge strane, na poliranim poprečnim presecima uzoraka nanosenih pri istim uslovima koji su sečeni dijamantskom testerom nije primećena pojava pomenutih mikro-strukturnih defekata (Sl.136a, 136d, 136g). Pojava delaminacije pri  $SOD=80$  i 150 mm, kao i horizontalnih mikro-prslina pri  $SOD=100$  mm, je bila skoncentrisana unutar ACP oblasti i u većem broju slučajeva je bila vezana za prisustvo ACP faze. SM analiza hemijski nagriženih poprečnih preseka uzoraka HAP-fp nanosenih pri  $SOD=80$  (Sl.136b) i 150 mm (Sl.136h) je potvrdila prisustvo ACP faze (tamnije, nagrižene površine) blizu interfejsa prevlaka/substrat kod ovih uzoraka, dok je linijska EDS analiza potvrdila isto to kod poliranih poprečnih preseka uzoraka HAP-fp nanosenih pri  $SOD=100$  mm (molarni Ca/P odnos  $\gg 1.8$ ) (Sl.134c). Ovde treba takođe napomenuti da kod uzorka HAP-fp nanosenog pri  $SOD=100$  mm nije primećena pojava delaminacije na interfejsu (Sl.136f), pri čemu je vrednost molarnog Ca/P odnosa (1.4-1.7) odgovarala rHA oblasti (Sl.134c).

Rezultati MRS analize (Sl.137) spektara snimljenih blizu interfejsa prevlaka/substrat (lokacije merenja su prikazane zelenim pravougaonicima na Sl.135c, 135f i 135i), su pokazali analogiju sa rezultatima SM i linijske EDS analize (Sl.136). Drugim rečima, MRS analiza je pokazala da je struktura blizu interfejsa uzoraka HAP-fp nanosenih pri  $SOD=80$  i 150 mm, kod kojih je uočena pojava delaminacije, bila amorfnije (veći  $R_1$ , manji  $R_2$ ) u poređenju sa strukturom blizu interfejsa uzoraka HAP-fp nanosenih pri  $SOD=100$  mm, kod kojih je utvrđena dobra adhezija prevlaka. Tipični Raman spektri dobijeni na lokacijama merenja 5 blizu interfejsa HAP-fp nanosenih pri različitim  $SOD$  su prikazani na Sl.137a-137c, dok su odgovarajuće promene relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  prikazane na Sl.137d. Ovde treba napomenuti da su originalni Raman spektri ovih merenja dati u **prilogu E2** (vidi Sl.E2-1). Sa povećanjem  $SOD$ , na lokaciji merenja 5, je utvrđena diskontinualna promena relativnih intenziteta  $R_1$  i  $R_2$ , dok je promena  $R_3$  bila zanemarljiva (Sl.137d). Sa povećanjem  $SOD$  od 80 do 100 mm, zabeleženo je smanjenje  $R_1$  i porast  $R_2$ , dok je dalje povećanje  $SOD$  na 150 mm uzrokovalo suprotan efekat, tj. povećanje  $R_1$  i smanjenje  $R_2$ . Slične diskontinualne promene relativne kristaličnosti sa povećanjem  $SOD$  su detektovane na mernim lokacijama 9 i 1 (vidi Sl.125, poglavlje 5.3.1.3.1)

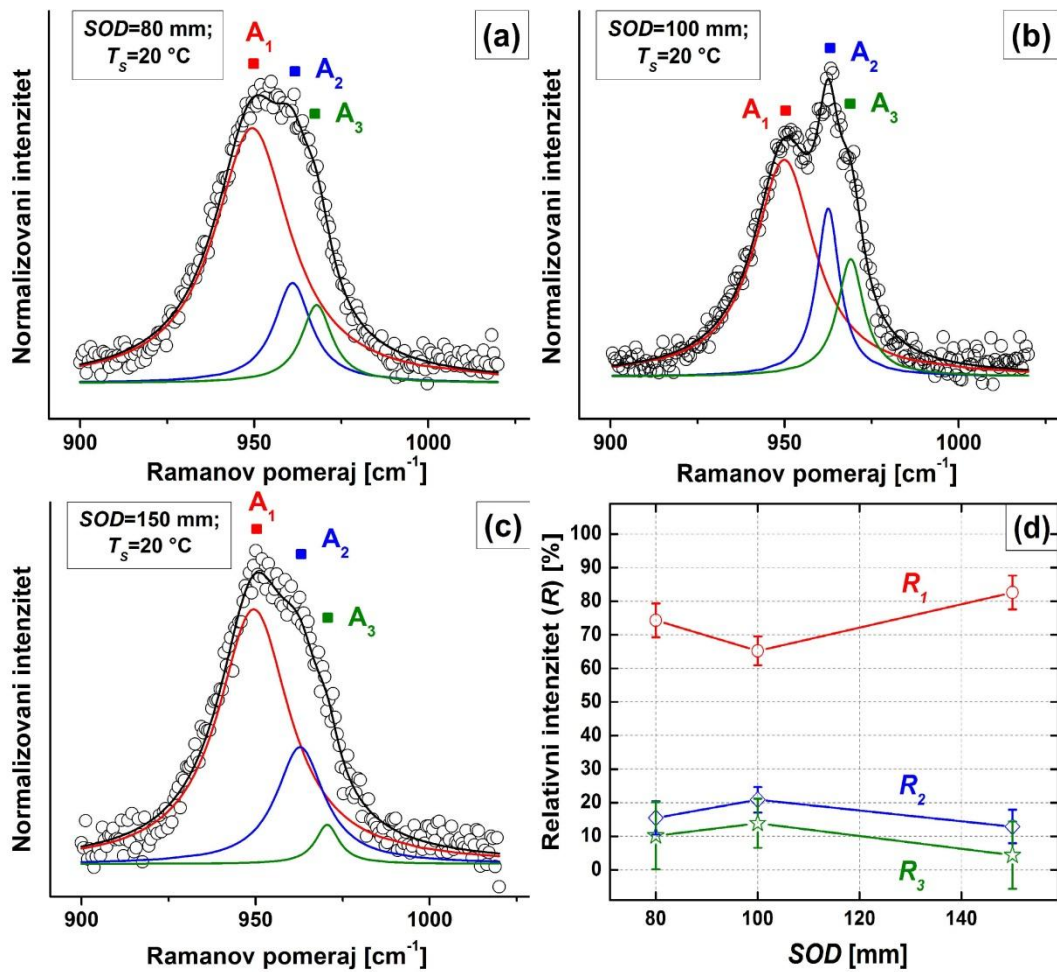


**Sl.136.** Uticaj *SOD* na morfologiju poprečnih preseka HAP-fp u poliranom (a,d,g) i hemijski nagriženom stanju (b,e,h) koje su sečene dijamantskom testerom i na morfologiju poliranih poprečnih preseka HAP-fp koje su sečene ručnom testerom (c,f,i); slike a, d, g, b, e i h su dobijene pomoću SM u svetlom polju, dok su slike c, f i i dobijene pomoću SEM korišćenjem sekundarnih elektrona. Hemijsko nagrižanje poprečnih preseka na slikama b, e i h je izvršeno pomoću vodenog rastvora HNO<sub>3</sub>, dok sve slike odgovaraju lokaciji merenja 5.

Bez obzira na to što su rezultati prikazani na Sl.136 i 137 ukazali na to da su delaminacija i horizontalne mikro-prsline bile vezane za prisustvo ACP faze, to nije uvek bio dovoljan uslov za njihovo prisustvo. Naime, ovde treba primetiti da u homogenijim delovima poprečnih preseka pojedinih HAP-fp praktično nije dolazilo do pojave mikro-prslina, koja je bila uzrokovana sečenjem ručnom testerom. Na primer, u gornjoj polovini poprečnog preseka HAP-fp nanesenih pri *SOD*=80 mm, gde je očigledno dominantno prisustvo rHA faze (svetla, hemijski nenagrižena površina na Sl.136b), nije primećena drastična pojava mikro-prslina (Sl.136c). Na poprečnom preseku HAP-fp nanesenih pri *SOD*=150 mm, gde je utvrđeno dominantno prisustvo



ACP faze (tamna, hemijski nagrižena površina na Sl.136h), takođe nije primećena pojava mikro-prslina (Sl.136i). S druge strane, na poprečnim presecima HAP-fp nanosenih pri  $SOD=100$  mm je zabeležena najneuniformnija raspodela ACP i rHA oblasti, ACP faza je prisutna u svim delovima poprečnog preseka između rHA lamela, gde su zabeležena najveća rastojanja između rHA lamela (Sl.136e). Ovakva struktura je bila vrlo slična strukturi donje polovine poprečnog preseka HAP-fp nanosenih pri  $SOD=80$  mm (Sl.136b).



**SI.137.** Tipični Raman spektri snimljeni blizu interfejsa uzoraka HAP-fp nanosenih pri  $SOD=80$  (a), 100 (b) i 150 mm (c) bez predgrevanja substrata ( $T_s=20$  °C) na lokaciji merenja 5 i promene relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  sa povećanjem  $SOD$  (d) koje odgovaraju Raman spektrima sa slika (a-c).

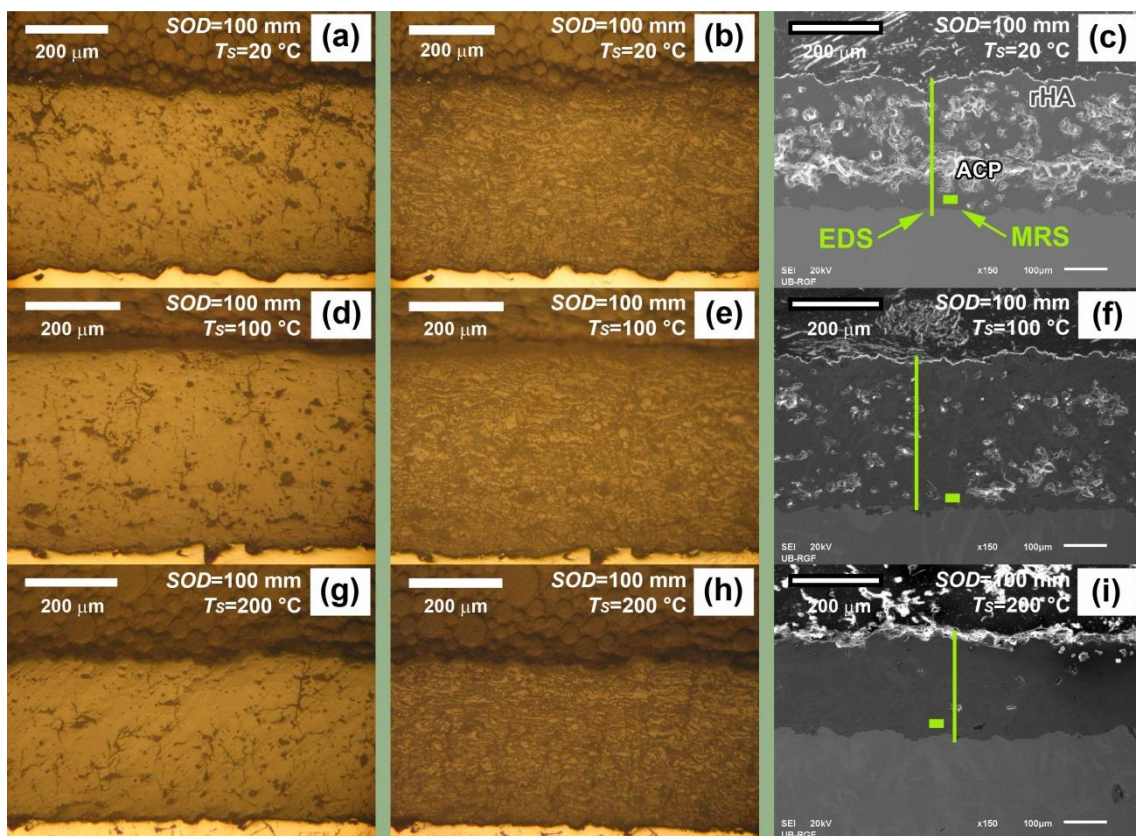
#### 5.3.2.4. Uticaj $T_S$

Sl.138 poredi morfologije poliranih i hemijski nagriženih poprečnih preseka HAP-fp nanesenih pri  $T_S=20$  (Sl.138a-138c), 100 (Sl.138d-138f) i 200 °C (Sl.138g-138i) za  $SOD=100$  mm na lokaciji merenja 5 (vidi Sl.89, poglavlje 4.3.5.2).

Na poliranim poprečnim presecima HAP-fp koje su sečene ručnom testerom (Sl.138c, 138f i 138i) je primećeno da je povećanje  $T_S$  uzrokovalo smanjeno prisustvo mikro-prslina. S druge strane, na poliranim poprečnim presecima HAP-fp koje su sečene dijamantskom testerom (Sl.138a, 138d i 138g), povećanje  $T_S$  nije uslovalo značajnije promene vezane za prisustvo mikro-prslina. Pored prethodnih rezultata, povećanje  $T_S$  je uzrokovalo dva značajna efekta. Prvi efekat je bio smanjenje debljine rHA lamela, što može da se uoči poređenjem Sl.138b, 138e i 138h, dok je drugi efekat bio najverovatnije posledica prvog efekta. Naime, sa povećanjem  $T_S$  je primećena ravnomernija raspodela rHA lamela na poprečnom preseku uzoraka (Sl.138b, 138e i 138h).

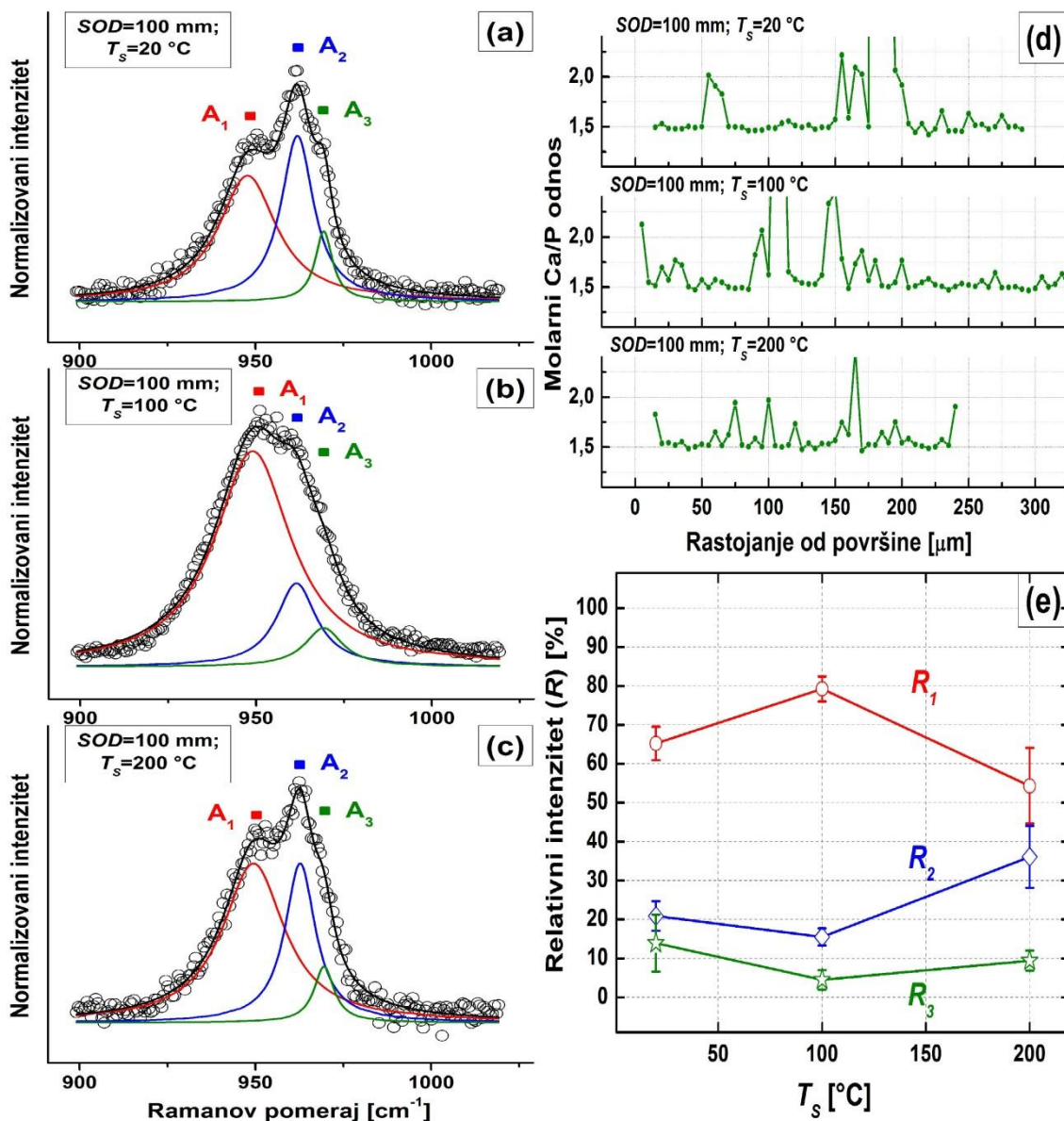
Na Sl.138c, 138f i 138i su prikazane lokacije na kojima je izvršena linijska EDS analiza (zelene vertikalne linije), kao i lokacije MRS merenja blizu interfejsa HAP-fp (zeleni pravougaonici). Na Sl.139 su prikazani tipični Raman spektri dobijeni za različito  $T_S$  blizu interfejsa HAP-fp (Sl.139a-139c), rezultati linijske EDS analize (Sl.139d), kao i promene relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  (Sl.139e), koje odgovaraju Raman spektrima prikazanim na Sl.139a-139c. Ovde treba napomenuti da su originalni Raman spektri dati u **prilogu E2** (vidi Sl.E2-1 i E2-2).

Promene molarnog Ca/P odnosa su pokazale da povećanje  $T_S$  nije značajno uticalo na ovaj odnos u smislu smanjenja prisutnih nečistoća čiji je molarni Ca/P odnos  $>1.8$ , kao što su nečistoće tipa TTCP i CaO (Sl.139d). Međutim, primećeno je da su fluktuacije molarnog Ca/P odnosa bile nešto frekventnije sa povećanjem  $T_S$ , što je ukazivalo na ravnomerniju preraspodelu nečistoća u pravcu debljine HAP-fp.



**SI.138.** Uticaj  $T_S$  na morfologiju poprečnih preseka HAP-fp, u poliranom (a,d,g) i hemijski nagriženom stanju (b,e,h), koje su sečene dijamantskom testerom i na morfologiju poliranih poprečnih preseka HAP-fp koje su sečene ručnom testerom (c,f,i); slike a, d, g, b, e i h su dobijene pomoću SM u svetlom polju, dok su slike c, f i i dobijene pomoću SEM korišćenjem sekundarnih elektrona. Hemijsko nagrizanje poprečnih preseka na slikama b, e i h je izvršeno pomoću vodenog rastvora  $\text{HNO}_3$ , dok sve slike odgovaraju lokaciji merenja 5.

Rezultati MRS analize su pokazali da su promene relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  bile diskontinualne sa povećanjem  $T_S$  (SI.139e). Uzimajući u obzir greške određivanja odgovarajućih relativnih intenziteta (vidi **prilog C2-1**), može se reći da je povećanje  $T_S$  značajno uticalo na promene  $R_1$  i  $R_2$ , dok su promene  $R_3$  bile zanemarljive. Povećanje  $T_S$  sa 20 na 100 °C je uticalo na povećanje  $R_1$  i smanjenje  $R_2$ . Dalje povećanje  $T_S$  na 200 °C je uzrokovalo suprotan efekat, tj. smanjenje  $R_1$  i povećanje  $R_2$ . Trend povećanja  $R_1$  i smanjenja  $R_2$ , tj. smanjenja relativne kristaličnosti, sa povećanjem  $T_S$  je prethodno detektovan na lokacijama merenja 9 i 1 uzoraka HAP-fp nanesenih pri SOD=80 i 100 mm (vidi SI.127, poglavlje 5.3.1.3.1).

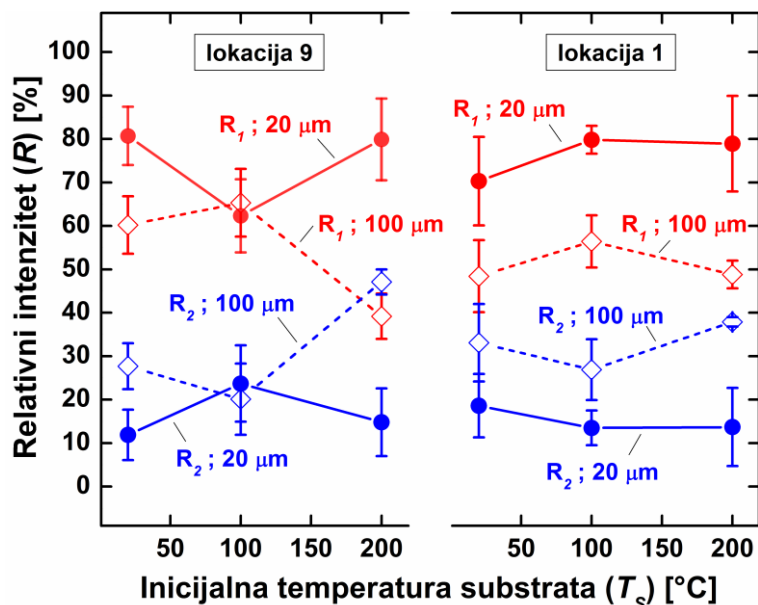


SI.139. Tipični Raman spektri snimljeni blizu interfejsa uzoraka HAP-fp nanosenih pri  $T_s = 20$  (a),  $100$  (b) i  $200\text{ °C}$  (c), za  $SOD = 100\text{ mm}$  na lokaciji merenja 5, promene molarnog Ca/P odnosa u pravcu debljine HAP-fp nanosenih pri istim uslovima (d) i promene relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  sa povećanjem  $T_s$  (e) koje odgovaraju Raman spektrima sa slika (a-c).

Kako bi se utvrdilo da li su ove promene relativnih intenziteta zaista posledica predgrevanja substrata (povećanja  $T_s$ ), izvršena je detaljnija analiza na lokacijama merenja 9 i 1 i na rastojanjima od interfejsa od  $\sim 20$  i  $\sim 100\text{ }\mu\text{m}$  (SI.140). Promene relativnih intenziteta  $R_3$  nisu bile značajne (vidi **prilog E1**), pa zbog preglednosti nisu



prikazane na ovoj slici. Rezultati sa Sl.140 su pokazali bez izuzetaka da su kristalniji delovi HAP-fp pri povećanju  $T_S$  sa 20 na 100 °C težili ka smanjenju relativne kristalichnosti (zabeležen je rast  $R_1$  i pad  $R_2$ ), dok je dalje povećanje  $T_S$  na 200 °C uticalo na povećanje ili stagnaciju relativne kristalichnosti.

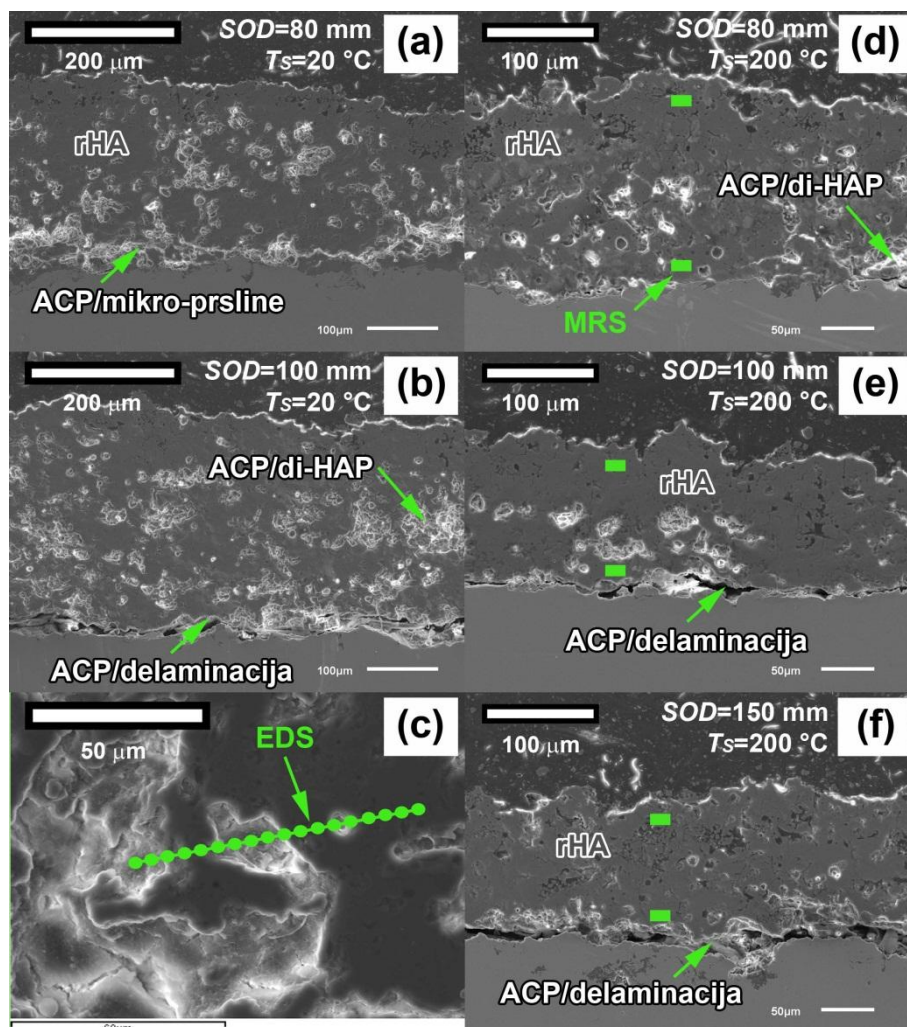


**Sl.140.** Uticaj povećanja  $T_S$  na promene relativnih intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  na lokacijama merenja 9 i 1 HAP-fp nanosenih pri  $SOD=100$  mm. Originalni, kao i normalizovani i fitovani Raman spektri koji odgovaraju ovim relativnim intenzitetima su prikazani u prilogu E1.

### 5.3.3. Analiza HAP-kp sečenih ručnom testerom (lokacija 5)

#### 5.3.3.1. Uticaj SOD

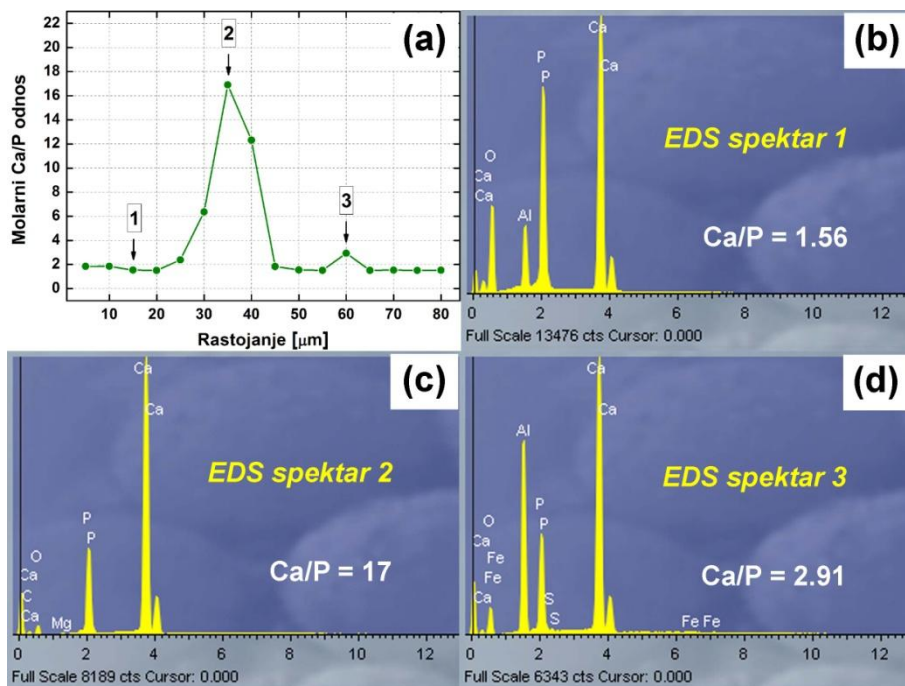
Na poliranim poprečnim preseccima uzoraka HAP-kp uočeno je prisustvo tamnijih/ravnih i svetlijih/reljefnih oblasti (Sl.141). EDS merenja su pokazala da je molarni Ca/P odnos koji je izmeren na tamnijim/ravnim oblastima iznosio 1.4-1.7 (Sl.141c, 142a i 142b), što je približno odgovaralo vrednostima za kHAP (vidi Tab.B2-1, **prilog B2**), zbog čega su ove oblasti pripisane dominantnom prisustvu rekristalisane HA faze (rHA oblasti).



**Sl.141.** Uticaj *SOD* na morfologiju poliranih poprečnih preseka HAP-fp koje su sečene ručnom testerom i koje su nanese bez (a,b) i sa (d-f) predgrevanjem substrata; slike (a-f) su dobijene pomoću SEM korišćenjem sekundarnih elektrona; (c) lokacija EDS merenja na uočenim morfološkim oblastima poprečnih preseka uzoraka.

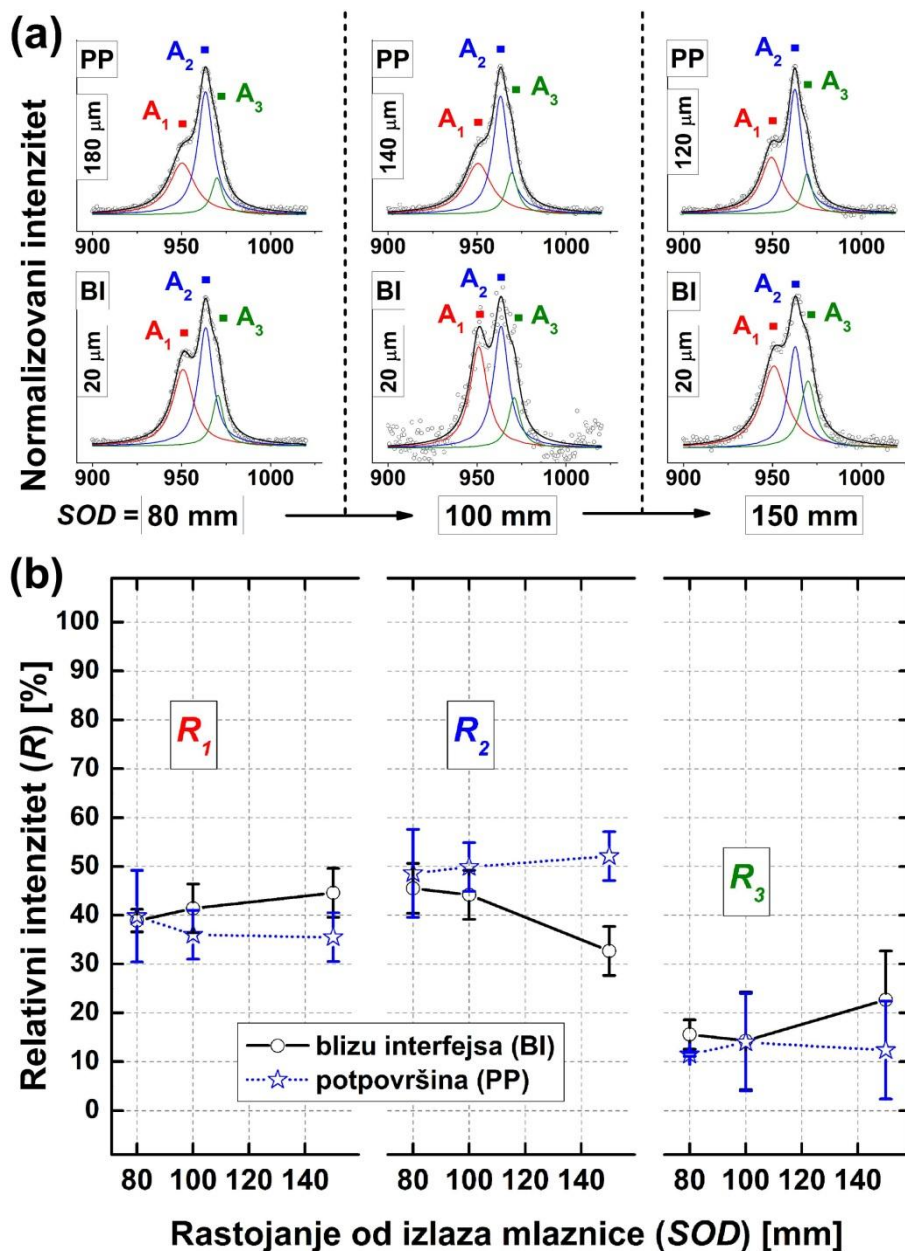
S druge strane, svetle/reljefne oblasti su bile dominantno prisutne u donjoj polovini poliranih poprečnih preseka ispitivanih uzoraka HAP-kp (Sl.141a, 141b, 141d-141f). Ovakva morfologija je detektovana duž interfejsa uzoraka HAP-kp, kod kojih je primećena pojava mikro-prslina (Sl.141a) i delaminacije (Sl.141b, 141e i 141f), a ovakva morfologija je primećena i na određenim rastojanjima od interfejsa. Svetle/reljefne oblasti blizu interfejsa su pripisane dominantnom prisustvu ACP faze (ACP oblasti), koje su najverovatnije nastale brzim hlađenjem istopljenog dela čestica polaznog kHAP, dok su se svetlije/reljefne oblasti na nešto većim rastojanjima od

interfejsa najverovatnije sastojale iz delimično istopljenih čestica polaznog kHAP (di-HAP) i ACP. Naime, ove oblasti nisu ekskluzivno predstavljale čestice di-HAP, jer su njihove dimenzije u velikom broju slučajeva prevazilazile dimenzije čestica polaznog kHAP. Takođe, EDS merenja unutar ovih oblasti su pokazala molarne Ca/P odnose koji su  $\gg 1.8$  (vidi Sl.142c), što je ukazivalo na prisustvo CaO faze, koja koegzistira sa hidroksi-deficitarnom ACP fazom (vidi Sl.25, poglavlje 2.2).



**Sl.142.** Promena molarnog Ca/P odnosa na tamnijim/ravnim i svetlim/reljefnim površinama poliranog poprečnog preseka HAP-kp sa Sl.140c (a) i tipični izgledi EDS spektara pri molarim Ca/P odnostima od 1.56 (b), 17 (c) i 2.91 (d).

Poređenjem Sl.141a i 141b, kao i Sl.141d-141f, utvrđeno je da su uzorci HAP-kp koji su nanoseni pri  $SOD=100$  i  $150$  mm pokazivali prisustvo delaminacije na interfejsu prevlaka/substrat, koja je bila izazvana sečenjem ručnom testerom, dok jasna pojava delaminacije nije unočena na uzorcima koji su nanoseni pri  $SOD=80$  mm, već prisustvo mikro-prslina, koje su se prostirale paralelno interfejsu prevlaka/substrat. S druge strane, u gornjoj polovini poliranih poprečnih preseka HAP-kp (Sl.141a, 141b i Sl.141d-141f), osim nešto manjeg prisustva ACP/diHAP oblasti, nisu primećene značajnije morfološke promene sa povećanjem  $SOD$ .



**Sl.143.** (a) Tipični normalizovani i fitovani Raman spektri detektovani blizu interfejsa (BI) i u potpovršinskim (PP) delovima poliranih poprečnih preseka uzoraka HAP-kp nanosenih pri različitim SOD sa predgrevanjem substrata na  $T_S=200$  °C i (b) promene relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  koje odgovaraju Raman spektrima sa (a). Na Raman spektrima su u μm data rastojanja od interfejsa prevlaka/substrat.

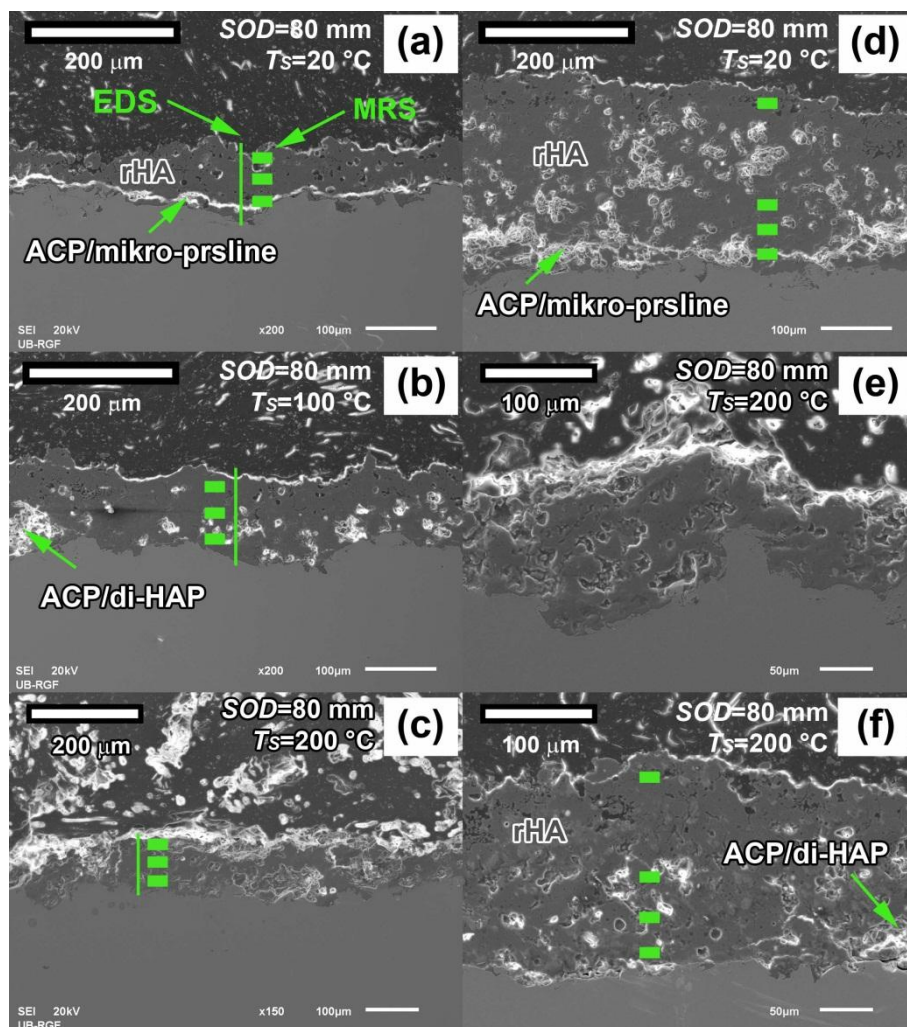
Na Sl.143a su dati Raman spektri snimljeni blizu interfejsa (BI) i potpovršine (PP) poliranih poprečnih preseka uzoraka HAP-kp prikazanih na Sl.141d-141f, dok su na Sl.143b prikazane odgovarajuće promene relativnih intenziteta ( $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ )



Ramanovih pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ . Ovde treba napomenuti da su originalni Raman spektri ovih merenja dati u **prilogu E2** (vidi Sl.E2-5 i E2-6). Za razliku od zanemarljivih promena relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  u potpovršinskim delovima uzoraka (Sl.143b), promene ovih relativnih intenziteta su bile značajnije u oblasti blizu interfejsa, gde su sa povećanjem  $SOD$  detektovani blagi porast  $R_1$ , nešto intenzivniji pad  $R_2$  i blagi porast  $R_3$ . Ovi rezultati su ukazivali na to da povećanje  $SOD$  utiče na smanjenje relativne kristaličnosti u blizini interfejsa HAP-kp, što je analogno rezultatima SEM analize, koja je pokazala da povećanje  $SOD$  utiče na pojavu delaminacije na interfejsu prevlaka/substrat. Pojava delaminacije je bila vidno izraženija pri  $SOD=150$  mm (Sl.141f) nego pri  $SOD=100$  mm (Sl.141e). Ovde treba napomenuti da su MRS rezultati na lokaciji merenja 5 (Sl.143) u skladu sa rezultatima dobijenim pomoću MRS analize na lokacijama merenja 9 i 1 (vidi Sl.126, poglavlje 5.3.1.3.1), koji su takođe u većini slučajeva pokazali da povećanje  $SOD$  utiče na povećanje  $R_1$  i smanjenje  $R_2$ , tj. smanjenje relativne kristaličnosti.

### 5.3.3.2. Uticaj $T_S$

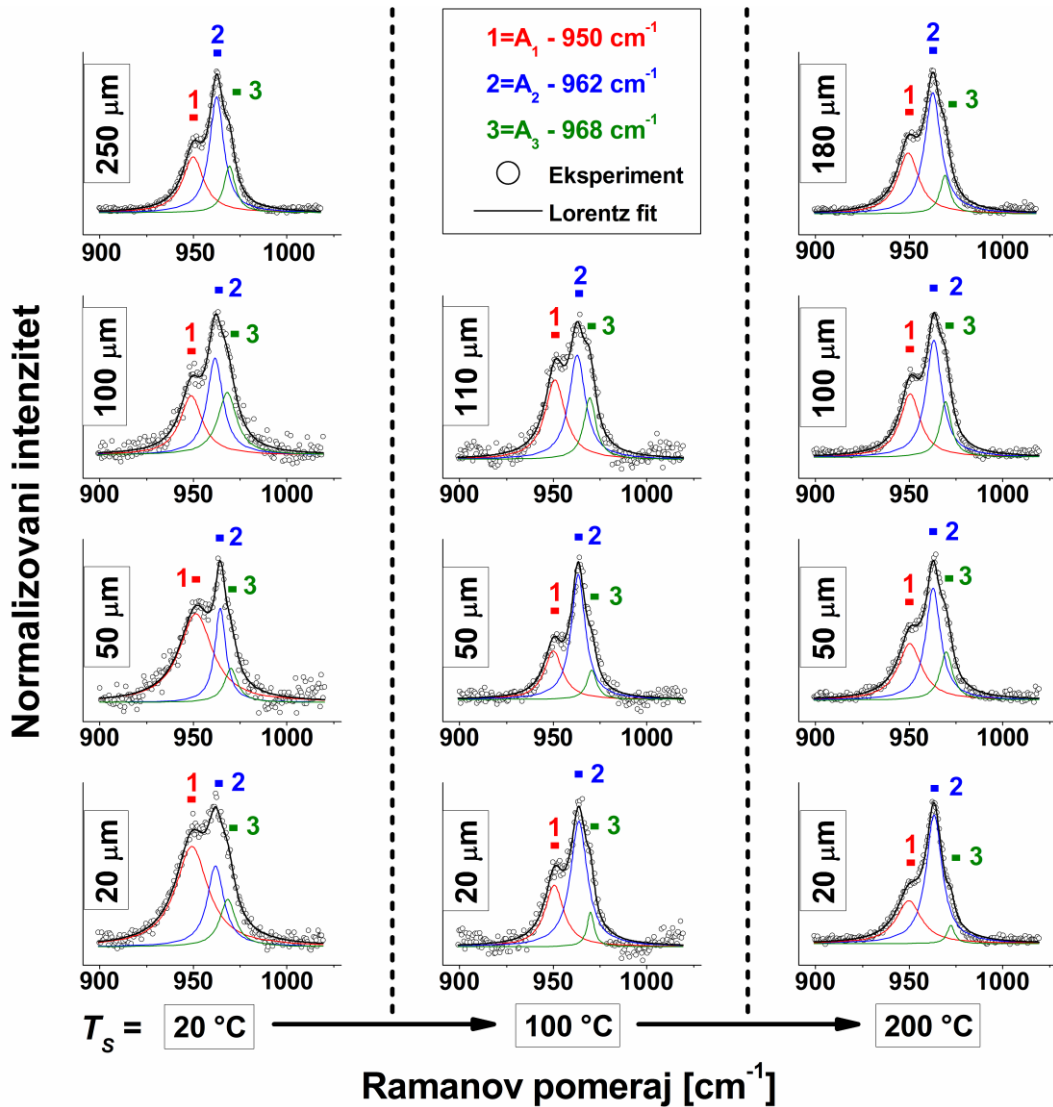
Rezultati sa Sl.141 su takođe pokazali da predgrevanje substrata na  $T_S=200$  °C kod uzoraka koji su bili nanoseni pri  $SOD=100$  (Sl.141e) i 150 mm (Sl.141f) nije uklonilo efekat delaminacije na interfejsu prevlaka/substrat. Međutim, s druge strane, kod uzoraka nanosenih pri  $SOD=80$  mm, mikro-prsline koje su bile prisutne blizu interfejsa (Sl.144a i 144d) nisu detektovane nakon predgrevanja substrata na  $T_S=100$  °C (Sl.144b), kao ni u uzorcima čiji su substrati predgrejani na  $T_S=200$  °C (Sl.144c, 144e i 144f). Ovi rezultati su pokazali pozitivan efekat predgrevanja substrata na adhezioni svojstva HAP-kp koje su nanosene pri  $SOD=80$  mm.



**Sl.144.** Uticaj  $T_S$  na morfologiju poliranih poprečnih preseka HAP-fp koje su sečene ručnom testerom i koje su nanese bez (a,b) i sa (d-f) predgrevanjem substrata; slike (a-f) su dobijene pomoću SEM korišćenjem sekundarnih elektrona.

Sl.145 prikazuje tipične fitovane i normalizovane Raman spektre uzete sa poliranih poprečnih preseka HAP-kp koji su prikazani na Sl.144, dok je na Sl.146a-146c prikazan uticaj povećanja  $T_S$  na promene relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  na rastojanjima od  $\sim 20$ ,  $\sim 50$  i  $\sim 100$   $\mu\text{m}$  od interfejsa prevlaka/substrat. Ovde treba napomenuti da su originalni Raman spektri ovih merenja dati u **prilogu E2** (vidi Sl.E2-3, E2-4 i E2-5). Na Sl.145d su prikazane promene relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  sa rastojanjem od interfejsa za slučaj HAP-kp debljine  $\sim 200$   $\mu\text{m}$ , koje su nanese pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=200$   $^\circ\text{C}$ . Kao što je već napomenuto, promena relativnog intenziteta  $R_1$  je odgovarala promeni relativne amorfности, promena  $R_2+R_3=100-R_1$  promeni

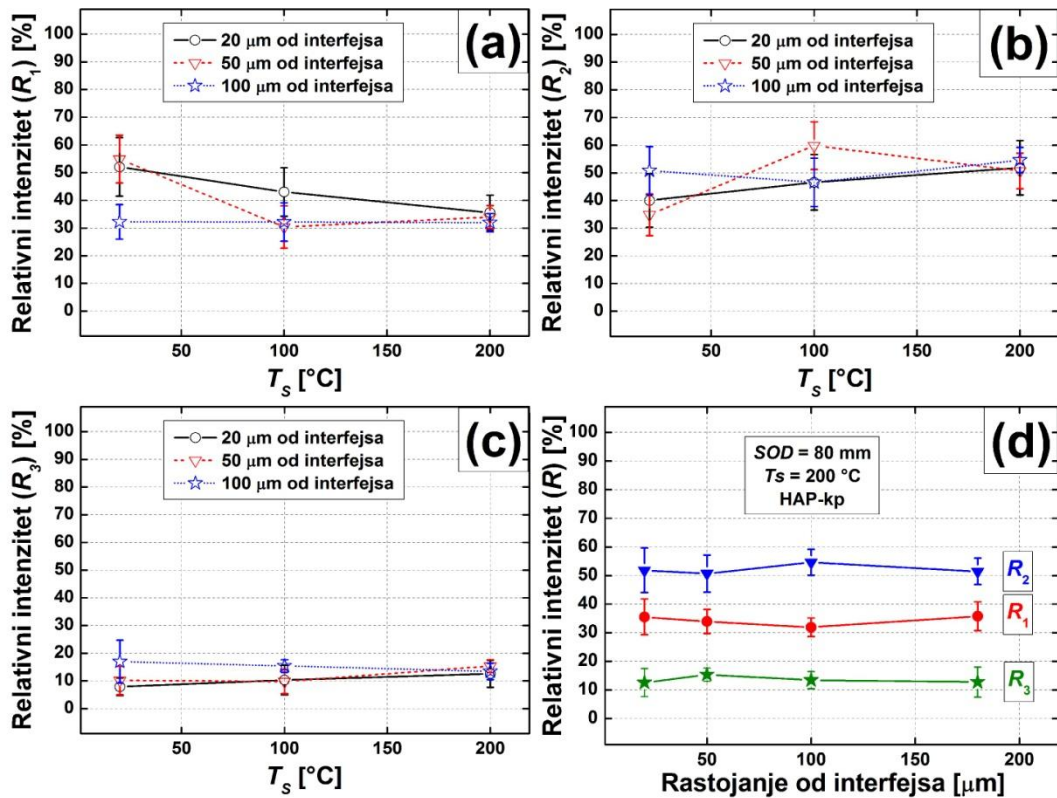
relativne kristaličnosti, dok su promene  $R_2$  i  $R_3$  odgovarale promeni relativnih sadržaja HA i OA, respektivno.



SI.145. Tipični normalizovani i fitovani Raman spektri snimljeni na različitim rastojanjima od interfejsa prevlaka/substrat (dato u  $\mu\text{m}$ ) na poliranim poprečnim preseccima HAP-kp nanosenih pri  $SOD=80$  mm i različitim inicijalnim temperaturama substrata ( $T_s$ ). Lokacije MRS merenja odgovaraju lokacijama koje su prikazane zelenim pravougaonicima na Sl.144.

Sl.146a pokazuje da je relativni intenzitet  $R_1$  imao minimalnu vrednost na  $\sim 100$   $\mu\text{m}$  od interfejsa prevlaka/substrat u slučaju HAP-kp nanosenih pri  $SOD=80$  mm i  $T_s=20$  °C, dok su relativni intenziteti  $R_2$  (Sl.146b) i  $R_3$  (Sl.146c) imali maksimalne

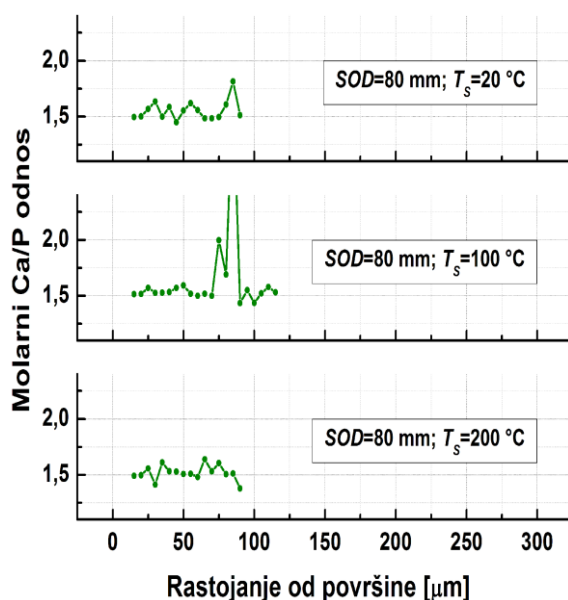
vrednosti. Pored toga, vrednosti ovih relativnih intenziteta se nisu menjale ni sa predgrevanjem substrata, niti na rastojanjima od interfejsa koja su  $>100 \mu\text{m}$ . Ovi rezultati su ukazali na to da su vrednosti relativnih intenziteta na  $\sim 100 \mu\text{m}$  od interfejsa odgovarale maksimalnoj relativnoj kristalichnosti HAP-kp. S druge strane, na  $\sim 20 \mu\text{m}$  od interfejsa, relativni intenzitet  $R_1$  je imao značajnije veću vrednost u poređenju sa vrednošću na  $\sim 100 \mu\text{m}$  od interfejsa u slučaju HAP-kp koje su nanese pri  $SOD=80 \text{ mm}$  i  $T_S=20 \text{ }^\circ\text{C}$ , dok su vrednosti  $R_2$  i  $R_3$  bile značajno niže. Ovaj rezultat je ukazivao na nižu relativnu kristalichnost oblasti blizu interfejsa u odnosu na relativnu kristalichnost koja je detektovana na  $\sim 100 \mu\text{m}$  od interfejsa, što je ukazuje na postojanje gradijenta kristalichnosti u zoni do  $\sim 100 \mu\text{m}$  od interfejsa.



**SI.146.** Uticaj  $T_S$  na promene relativnih intenziteta  $R_1$  (a),  $R_2$  (b) i  $R_3$  (c) na različitim rastojanjima od interfejsa prevlaka/substrat ( $\sim 20$ ,  $\sim 50$  i  $\sim 100 \mu\text{m}$ ) i promene relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  u pravcu debljine HAP-kp nanese pri  $SOD=80 \text{ mm}$  i  $T_S=200 \text{ }^\circ\text{C}$  (d).

Na  $\sim 50 \mu\text{m}$  od interfejsa, predgrevanje substrata na  $T_S=100 \text{ }^\circ\text{C}$  je smanjilo vrednost  $R_1$  na minimalnu vrednost (SI.146a), dok je istovremeno uticalo na maksimalni

porast  $R_2$  (Sl.146b) i zanemarljivi porast  $R_3$  (Sl.146c). Na  $\sim 20 \mu\text{m}$  od interfejsa, ovo predgrevanje je uticalo na intermedijatni pad  $R_1$  i intermedijatni porast  $R_2$  i  $R_3$ . Ovaj rezultat je ukazivao na to da je predgrevanje substrata sa  $T_s=20$  na  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  smanjilo debljinu zone prevlake uz interfejs u kojoj je detektovana pojava gradijenta kristalichnosti sa  $\sim 100$  na  $\sim 50 \mu\text{m}$ . Dalje predgrevanje substrata na  $T_s=200 \text{ }^\circ\text{C}$  je uzrokovalo da svi relativni intenziteti na  $\sim 20 \mu\text{m}$  od interfejsa dostignu vrednosti koje su bile detektovane na  $\sim 100 \mu\text{m}$  od interfejsa. Ovaj rezultat je ukazivao na to da je predgrevanje na  $T_s=200 \text{ }^\circ\text{C}$  eliminisalo prisustvo gradijenta kristalichnosti u HAP-kp koje su nanese pri  $SOD=80 \text{ mm}$ . Manje varijacije relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  sa povecanjem rastojanja od interfejsa prevlaka substrat su ukazivale na visoku strukturnu homogenost HAP-kp koje su bile nanese pri  $SOD=80 \text{ mm}$  i  $T_s=200 \text{ }^\circ\text{C}$  (Sl.146d).



**Sl.147.** Promena molarnog Ca/P odnosa u pravcu debljine HAP-kp nanesenih pri  $SOD=80 \text{ mm}$  i razlicitim inicijalnim temperaturama substrata ( $T_s$ ). Ovi rezultati odgovaraju linijskim EDS analizama (zelene vertikalne linije) sa Sl.144.

Sl.147 prikazuje uticaj povecanja  $T_s$  na fluktuacije molarnog Ca/P odnosa u pravcu debljine HAP-kp nanesenih pri  $SOD=80 \text{ mm}$ . Ove analize, kao što je prikazano, nisu pokazale značajne promene u fluktuacijama molarnog Ca/P odnosa sa povecanjem  $T_s$ , kao u slučaju HAP-fp (vidi Sl.139d, poglavlje 5.3.2.4), gde su uočene frekventnije promene ovog odnosa sa povecanjem  $T_s$ .

Sporadična povećanja molarnog Ca/P odnosa su ukazivala na lokalno prisustvo oblasti koje su bogate na hidroksi-deficitarnom ACP i česticama di-HAP. Ono što ovde treba napomenuti je to da su ove oblasti uglavnom bile prisutne u donjim polovinama poliranih poprečnih preseka HAP-kp nanesenih sa predgrejanim substratom (vidi Sl.141e, 141f, kao i 144b, 144c i 144f).

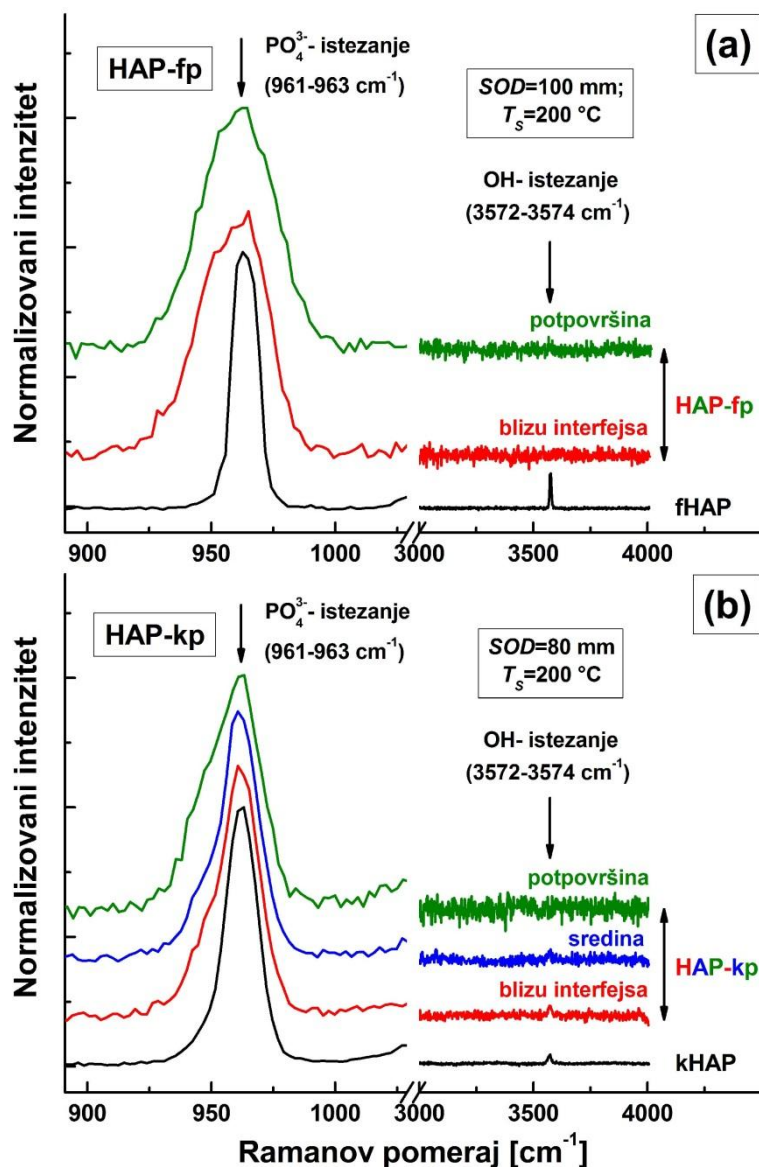
#### **5.3.4. Promene intenziteta Ramanovih modova OH<sup>-</sup> grupa u pravcu debljine HA prevlaka**

Izvršena su ispitivanja promene intenziteta istežućeg OH<sup>-</sup> vibracionog moda HA (lociranog između ~3570 i ~3575 cm<sup>-1</sup>) u pravcu debljine HA prevlaka pomoću *Tri Vista TR557* mikro-Ramanovog spektrometra (Sl.148), a ovi spektri su upoređeni sa Raman spektrima polaznih fHAP i kHAP.

Na Sl.148a su prikazani delovi normalizovanih Raman spektara HAP-fp i fHAP u opsegu frekvencija 3000-4000 cm<sup>-1</sup>, unutar koga se očekuje pojava OH<sup>-</sup> pika, dok su takođe prikazani i delovi Raman spektra u oblasti frekvencija 900-1020 cm<sup>-1</sup> u kojima se očekuje pojava pikova koji odgovaraju  $\nu_1$ -PO<sub>4</sub> vibracionom modu HA. Na Sl.148b su prikazani isti delovi Raman spektara u slučaju HAP-kp i kHAP. Ovi Raman spektri su bili normalizovani u odnosu na najintenzivniji Ramanov pik, koji je bio lociran na 961-963 cm<sup>-1</sup>.

Na Raman spektrima HAP-fp koje su nanese pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=200$  °C nije detektovano prisustvo OH<sup>-</sup> hemijske funkcionalne grupe HA blizu interfejsa i u površinskim delovima HAP-kp (Sl.148a), što je takođe utvrđeno i na poprečnim presecima uzoraka HAP-fp koji su nanese pri drugačijim uslovima procesa nanošenja (vidi Sl.E2-7, **prilog E2**). Pri istim uslovima ispitivanja, u fHAP je detektovano prisustvo OH<sup>-</sup> hemijske funkcionalne grupe (Sl.148a). Rezultati su takođe pokazali da su  $\nu_1$ -PO<sub>4</sub> pikovi HAP-fp između ~900 i ~1020 cm<sup>-1</sup> bili приметно širi s niskofrekventne strane u odnosu na  $\nu_1$ -PO<sub>4</sub> pik polaznog fHAP, što je ukazivalo na povećano prisustvo ACP faze u uzorcima HAP-fp.





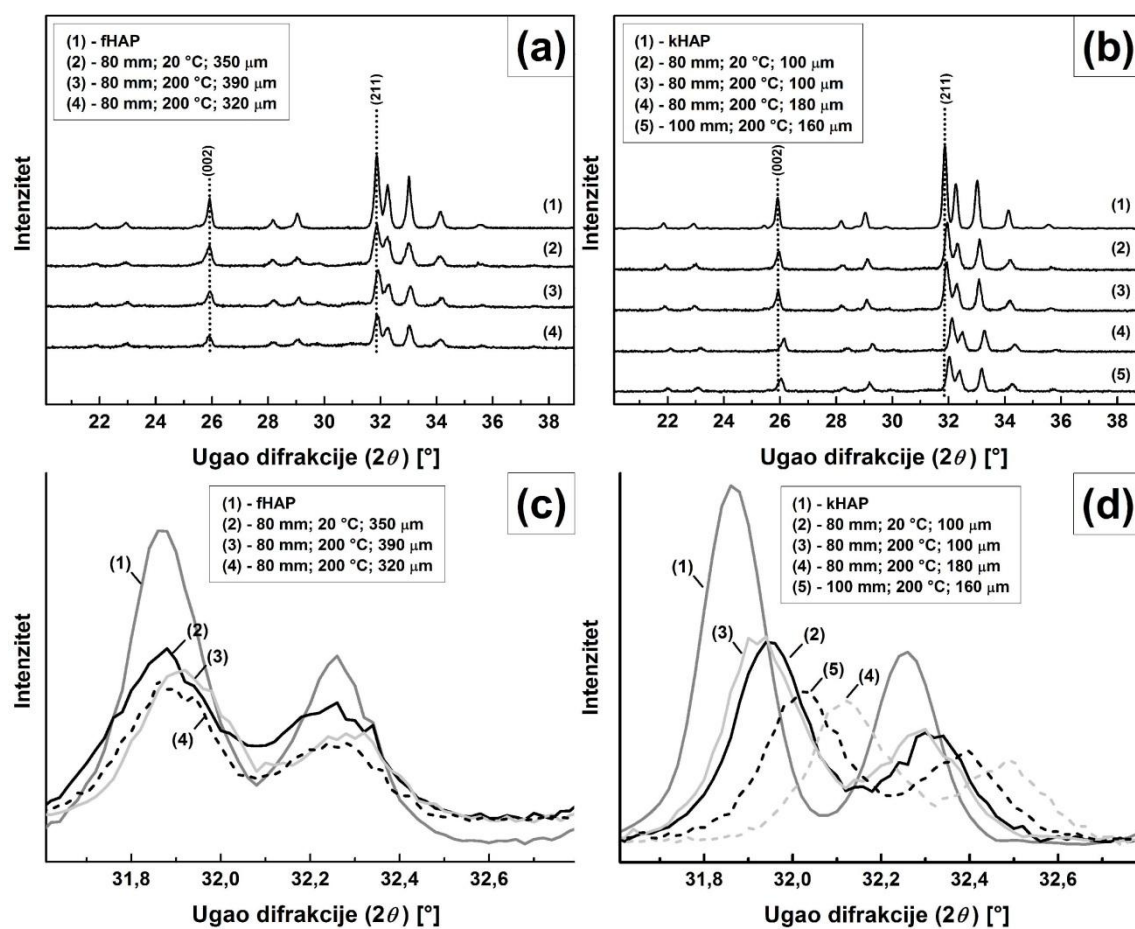
**Sl.148.** Raman spektri dobijeni pomoći *Tri Vista TR557* koji pokazuju promene intenziteta Raman modova  $\text{PO}_4^{3-}$  i  $\text{OH}^-$  hemijskih grupa HA u pravcu debljine HAP-fp (a) i HAP-kp (b). Raman spektri su snimljeni na HAP-fp debljine  $\sim 250 \mu\text{m}$  i HAP-kp debljine  $\sim 100 \mu\text{m}$ .

U slučaju HAP-kp koje su nanosene pri  $SOD=80 \text{ mm}$  i  $T_s=200 \text{ }^\circ\text{C}$  (Sl.148b), na Raman spektrima je detektovano prisustvo  $\text{OH}^-$  hemijske funkcionalne grupe HA blizu interfejsa prevlaka/substrat. Intenzitet ovih  $\text{OH}^-$  pikova je opadao sa povećanjem rastojanja od interfejsa (Sl.148b). Pri istim uslovima ispitivanja, u kHAP je detektovano prisustvo  $\text{OH}^-$  hemijske funkcionalne grupe (Sl.148b). S druge strane, u uzorcima HAP-kp koji su nanoseni pri  $SOD=80 \text{ mm}$  i  $T_s=100 \text{ }^\circ\text{C}$  (vidi Sl.E2-8, **prilog E2**), nije

detektovano prisustvo OH<sup>-</sup> hemijske funkcionalne grupe HA. Rezultati su takođe pokazali da su  $\nu_1$ -PO<sub>4</sub> pikovi HAP-kp između ~900 i ~1020 cm<sup>-1</sup> bili primetno širi sa niskofrekventne strane u odnosu na  $\nu_1$ -PO<sub>4</sub> pik polaznog kHAP (Sl.148b). Međutim, širina ovih pikova je bila manja nego u slučaju HAP-fp (Sl.148a), što je ukazivalo na to da su HAP-kp uzorci posedovali manji sadržaj ACP u poređenju sa HAP-fp.

### 5.3.5. Procena zaostalih naprezanja u površinskim delovima HA prevlaka

Na Sl.149a su upoređeni difraktogrami fHAP i HAP-fp koje su nanese pri različitim *SOD* i *T<sub>S</sub>*, dok je na Sl.149b dato slično poređenje u slučaju kHAP i HAP-kp. Na Sl.149c i 149d su dati difraktogrami sa Sl.149a i 149b, respektivno, u uskom opsegu



Sl.149. Difraktogrami fHAP i HAP-fp (a i c) i kHAP i HAP-kp (b i d); HAP-fp i HAP-kp su nanese pri različitim *SOD* i *T<sub>S</sub>*, dok su njihove srednje debljine date u μm.

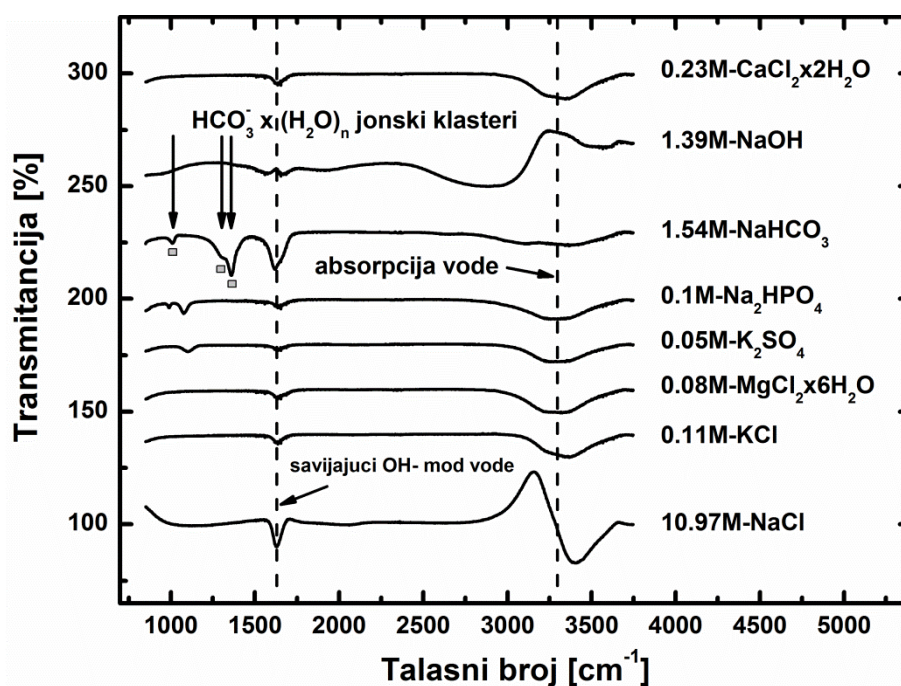


uglova difrakcije ( $2\theta$ ). U slučaju HAP-kp, rezultati su uopšteno pokazali da su položaji svih pikova prevlaka debljina  $>100 \mu\text{m}$  i nanesenih pri  $SOD > 100 \text{ mm}$  (slučaj za  $SOD=150 \text{ mm}$  nije prikazan) bili primetno pomereni udesno u poređenju sa položajima pikova koji su dobijeni sa polaznog kHAP (Sl.149b i 149d). U slučaju HAP-fp, ovaj efekat nije detektovan (Sl.149a i 149c). Ovi rezultati su ukazivali na to da su površinski delovi HA prevlaka kod kojih je uočeno pomeranje pikova u odnosu na pikove polaznog HA praha bili pod dejstvom zaostalih makro-naprezanja.

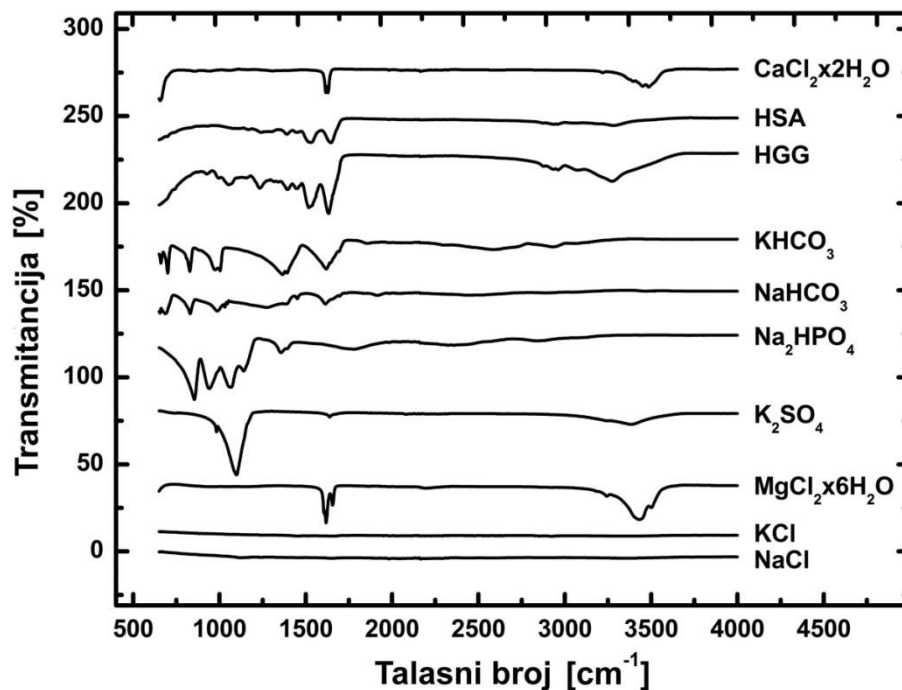
## 5.4. Biomineralizacija HA prevlaka

### 5.4.1. Promene u ATR-FTIR spektrima i pH vrednosti tokom pripreme polaznih HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti

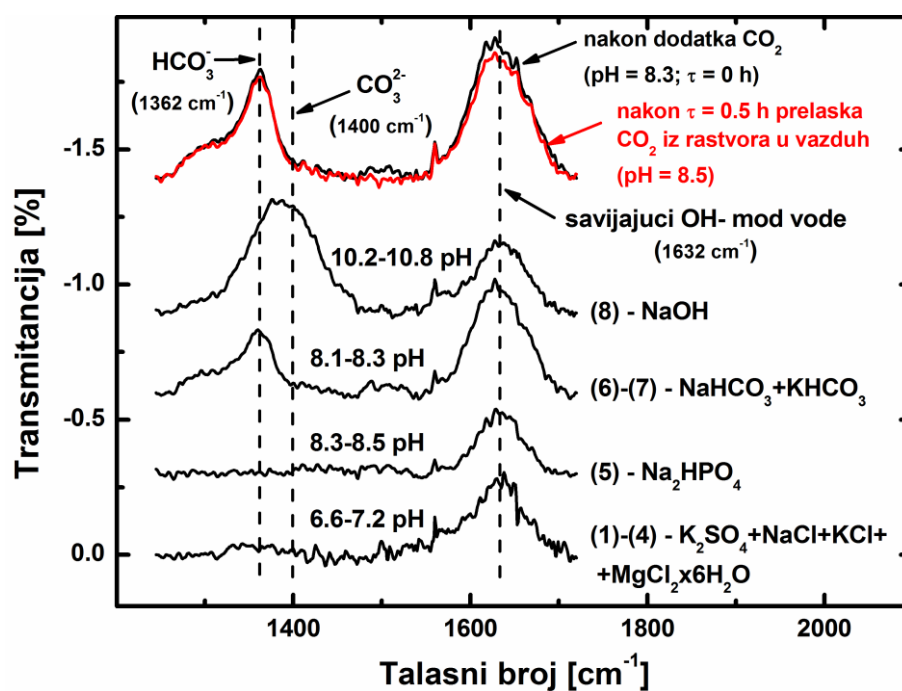
Na Sl.150 su prikazani ATR-FTIR spektri visoko koncentrovanih rastvora soli korišćenih za pripremu HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti, dok su na Sl.151 prikazani ATR-spektri korišćenih soli u čvrstom agregatnom stanju. Svi spektri na Sl.150 su pokazivali prisustvo savijajućeg ( $\sim 1632\text{ cm}^{-1}$ ) i ostalih (između  $\sim 2800$  i  $\sim 3700\text{ cm}^{-1}$ ) vibracionih modova molekula vode. Od svih spektara, samo su  $\text{NaHCO}_3$  (i  $\text{KHCO}_3$ ) spektri pokazivali intenzivne pikove između  $\sim 1100$  i  $\sim 1500\text{ cm}^{-1}$ . Na ATR-FTIR spektru vodenog rastvora  $\text{NaHCO}_3$ , intenzivni pik na  $\sim 1362\text{ cm}^{-1}$ , niskofrekventno rame na  $\sim 1305\text{ cm}^{-1}$  i slabiji pik na  $\sim 1010\text{ cm}^{-1}$  su pripisani prisustvu hidratizanih hidrogenkarbonatnih anjonskih klastera tipa  $(\text{HCO}_3^- \times (\text{H}_2\text{O})_n)$  [249].



Sl.150. ATR-FTIR spektri visoko koncentrovanih soli za pripremu HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti u ultra-čistoj vodi.



SI.151. ATR-FTIR spektri analitički čistih soli za pripremu HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti u ultra-čistoj vodi.



SI.152. Uticaj dodavanja reagenasa u ultra-čistu vodu na ATR-FTIR spektre rezultujućih vodenih rastvora tokom pripreme polazne HHS simulirane telesne tečnosti.

Na Sl.152 je prikazan primer promena na ATR-FTIR spektrima ultra-čiste vode i promena pH koji su detektovani sa dodatkom odgovarajućih reagenasa ili kombinacije reagenasa tokom postupka pripreme polazne HHS simulirane telesne tečnosti. Promene na ATR-FTIR spektrima i pH tokom pripreme polaznih NS simuliranih telesnih tečnosti su bile analogne.

Rastvaranje prvog seta reagenasa u ultra-čistu vodu (1-4, Tab.18, poglavlje 4.2.2.2) je proizvelo rastvor elektrolita sa pH vrednošću 6.6-7.2 (HSS, Sl.152), odnosno 7.0-7.4 (NS). Rastvaranje ovih reagenasa nije izazvalo pojavu pikova na ATR-FTIR spektru u oblasti frekvencija između  $\sim 1100$  i  $\sim 1500$   $\text{cm}^{-1}$ , što je u saglasnosti sa ATR-FTIR spektrima visoko koncentrovanih rastvora ovih reagenasa (1-4), koji ne pokazuju vibracione modove u ovoj oblasti frekvencija (Sl.150). Dodatak  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (5, Tab.18, poglavlje 4.2.2.2) je izazvao povećanje pH rastvora elektrolita na 8.4-8.5 (HHS, Sl.152), odnosno 8.3-8.5 (NS). Osim manjeg pada intenziteta pika koji odgovara savijajućem vibracionom modu molekula vode na  $\sim 1632$   $\text{cm}^{-1}$ , druge promene na ATR-FTIR spektru nisu uočene. Dodatak  $\text{NaHCO}_3$  i  $\text{KHCO}_3$  (HHS) (6-7, Tab.18, poglavlje 4.2.2.2), odnosno  $\text{NaHCO}_3$  (NS) (6, Tab.18, poglavlje 4.2.2.2) je uticao na blagi pad alkaliteta rastvora elektrolita na 8.1-8.3 (HHS, Sl.152), odnosno na 8.2-8.3 (NS). Pojava pika na  $\sim 1362$   $\text{cm}^{-1}$  je primećena na ATR-FTIR spektru (Sl.152). Takođe je primećeno povećanje intenziteta savijajućeg vibracionog moda molekula vode na  $\sim 1632$   $\text{cm}^{-1}$ . Nakon toga, dodatak  $\text{NaOH}$  je izazvao primetno povećanje alkaliteta oba rastvora, HHS i NS, na 10.2-10.8, što je izazvalo promenu ravnoteže između hidratisanih karbonskih vrsta ( $\text{CO}_{2(\text{aq})}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  (aq) and  $\text{CO}_3^{2-}$  (aq)). Promena ravnoteže se manifestovala pojavom novog pika na ATR-FTIR spektru na  $\sim 1400$   $\text{cm}^{-1}$ , koja je pripisana pojavi  $\text{CO}_3^{2-}$  (aq) jona usled reakcije  $\text{NaOH}$  i već prisutnih  $\text{HCO}_3^-$  jona. Takođe, dodavanje  $\text{NaOH}$  je izazvalo značajan pad intenziteta savijajućeg vibracionog moda molekula vode na  $\sim 1632$   $\text{cm}^{-1}$ .  $\text{NaOH}$  je bio poslednji reagens koji je iskorišćen za pravljenje polaznih HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti u kojima pojava taloženja nije primećena najmanje  $\sim 12$  h nakon dodavanja  $\text{NaOH}$ .

#### 5.4.2. Procedura za postizanje polaznih pH vrednosti HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti

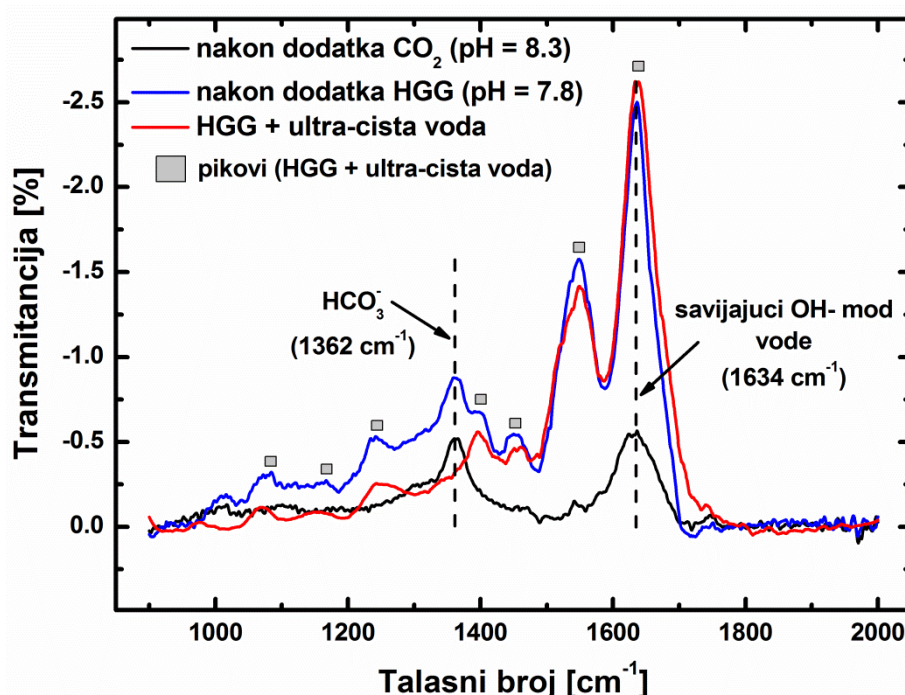
Iako su polazne simulirane telesne sadržale reagense u količinama koje odgovaraju sastavu neorganskog dela krvne plazme u slučajevima hiperhloraeamičnog (HHS) i normalnog stanja (NS) ljudskog organizma, ovi rastvori su sadržali visoke nivoe  $\text{CO}_3^{2-}$  jona i pH, koji su bili značajno veći od fizioloških uslova za HHS i NS stanja. Iz ovih razloga je izvršeno smanjenje sadržaja  $\text{CO}_3^{2-}$  jona i pH na vrednosti koje su karakteristične za pomenuta stanja na dva načina.

Prvi način je podrazumevao dodavanje  $\text{CO}_2$  u polazne HHS i NS simulirane telesne tečnosti sa ciljem smanjenja pH sa 10.2-10.8 do ~7.2, u slučaju HHS, i ~7.4, u slučaju NS. S obzirom da je posmatran uticaj proteina na stabilnost pH i karbonskih vrsta u simuliranim telesnim tečnostima, drugi način je podrazumevao dodavanje kombinacije  $\text{CO}_2$  i proteina.

Dodavanje  $\text{CO}_2$  je predstavljalo elegantan način dostizanja polazne pH vrednosti HHS (~7.2) i NS (~7.4) simuliranih tečnosti i izveden je bez većih poteškoća. Međutim, kod dodavanja proteina to nije bio slučaj. Ovde je neophodno napomenuti da kada su proteini bili dodavani direktno u polazne simulirane telesne tečnostim sa visokom pH vrednošću (10.2-10.8), takav tretman nije izazvao primetno smanjenje visokih pH vrednosti, dok je u nekim slučajevima doveo do pojave bele materije nalik „kuvanom jajetu“, što je ukazivalo na to da je visoka pH uticala na neželjenu promenu originalne strukture proteina. Eksperimenti su pokazali da dodavanje fizioloških koncentracija proteinskih vrsta u polazne simulirane telesne tečnosti nije menjalo njihovu originalnu strukturu i uspešno je smanjivalo pH ovih rastvora na fiziološke vrednosti (~7.2 odnosno ~7.4) kada je, pre dodatka proteina, pH polaznih HHS i NS rastvora elektrolita smanjena sa 10.2-10.8 na ~8.3 pomoću  $\text{CO}_2$ . Iz ovog razloga je, pre dodavanja proteina, visoka vrednost pH polaznih HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti bila prvo smanjena na ~8.3 dodatkom  $\text{CO}_2$ .

Na Sl.152 je prikazano da je dodatak  $\text{CO}_2$ , koji je izazvao promenu pH sa 10.2-10.8 na ~8.3, uticao na potpuni nestanak pika na  $\sim 1400\text{ cm}^{-1}$  sa ATR-FTIR spektra, koji je poticao od prisustva  $\text{CO}_3^{2-}$  jona, a istovremeno je uticao na pojavu intenzivnog pika na  $\sim 1362\text{ cm}^{-1}$ , koji je ukazivao na prisustvo  $\text{HCO}_3^-$  jona. Pritom, važno je napomenuti

da je integralni intenzitet pika savijajućeg vibracionog moda molekula vode na  $\sim 1632$   $\text{cm}^{-1}$  bio neznatno promenjen (za 10-15 %) u odnosu na stanje pre dodavanja NaOH, dok je istovremeno integralni intenzitet trake  $\text{HCO}_3^-$  jona na  $\sim 1362$   $\text{cm}^{-1}$  bio značano veći (za 50-60 %), što je značajna promena u odnosu na stanje pre dodavanja NaOH. Ovde treba napomenuti i to da je dodavanje  $\text{CO}_2$  sa ciljem smanjenja visokih pH vrednosti polaznih HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti sa 10.2-10.8 na  $\sim 7.2$  (HHS), odnosno  $\sim 7.4$  (NS), unelo praktično istu promenu koncentracije  $\text{HCO}_3^-$  jona kao i dodavanje  $\text{CO}_2$  sa ciljem smanjenja pH sa 10.2-10.8 na 8.3.



**Sl.153.** Uticaj rastvaranja fiziološke koncentracije HGG proteina ( $\sim 3.0$  g/dl) u HHS rastvor sa pH vrednošću od  $\sim 8.3$  na promene ATR-FTIR spektra ovog rastvora.

Nakon smanjenja pH polaznih simuliranih telesnih tečnosti sa 10.2-10.8 na  $\sim 8.3$  dodatkom  $\text{CO}_2$ , stabilnost pH i ravnoteža udela karbonskih vrsta su bile privremene. Na Sl.152 je prikazana promena pH sa vremenom po dostizanju pH od  $\sim 8.3$ . Sa slike se jasno vidi da je pH rasla sa vremenom. Nakon samo  $\sim 0.5$  h, pH je promenjena sa  $\sim 8.3$  na vrednost  $\sim 8.5$ . Na ovoj slici je takođe prikazana promena ATR-FTIR spektra koja je detektovana nakon  $\sim 0.5$  h od trenutka kada je postignuta vrednost pH od  $\sim 8.3$ . Nešto manji integralni intenzitet trake savijajućeg vibracionog molekula vode na  $\sim 1632$   $\text{cm}^{-1}$

je ukazivao na blago povećanje alkaliniteta simulirane telesne tečnosti nakon ~0.5 h, što je u skladu sa pH porastom od ~8.3 do ~8.5, koji je detektovan nakon ovog kratkog vremenskog intervala, dok je nešto manji integralni intenzitet trake  $\text{HCO}_3^-$  jona na ~1362  $\text{cm}^{-1}$  ukazivao na pad relativnog sadržaja ovih jona u rastvoru elektrolita. Ovi rezultati su jasno ukazali na nestabilnost HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti u pogledu pH i udela karbonskih vrsta, zbog čega je dodavanje fizioloških koncentracija proteina HGG (3.0 g/dl) i HSA (4.5 g/dl) vršeno odmah po dostizanju pH od ~8.3.

Dodavanje ~3.0 g/dl HGG je smanjilo alkalinitet rastvora elektrolita sa ~8.3 na ~7.7 (HSS), odnosno 7.8 (NS), dok je dodavanje 4.5 g/dl HSA uslovalo dalje povećanje kiselosti rastvora na ~7.3 (HHS), odnosno 7.4 (NS). Na Sl.153 su upoređeni ATR-FTIR spektri: (i) rastvora fiziološke koncentracije HGG u ultra-čistoj vodi, (ii) rastvora neposredno pre dodavanja HGG (pH~8.3) (vidi Sl.152) i (iii) rastvora nakon dodavanja HGG (pH~7.7). Sl.153 jasno pokazuje da ATR-FTIR spektar nakon dodavanja HGG (pH~7.7) predstavlja rezultat superponiranja spektara rastvora HGG u ultra-čistoj vodi i rastvora neposredno pre dodavanja HGG (pH~8.3). Jasno superponiranje ATR-FTIR spektara je ukazivalo na to da dodatak proteina nije uticao na pojavu novih pikova na spektrima pored onih koji su već bili detektovani. Drugim rečima, ATR-FTIR analiza nije utvrdila postojanje drugih vidova jonskih interakcija u HSS i NS simuliranim telesnim tečnostima, osim onih koji su već bili prisutni:  $\text{H}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{O}$  i protein/ $\text{H}_2\text{O}$ .

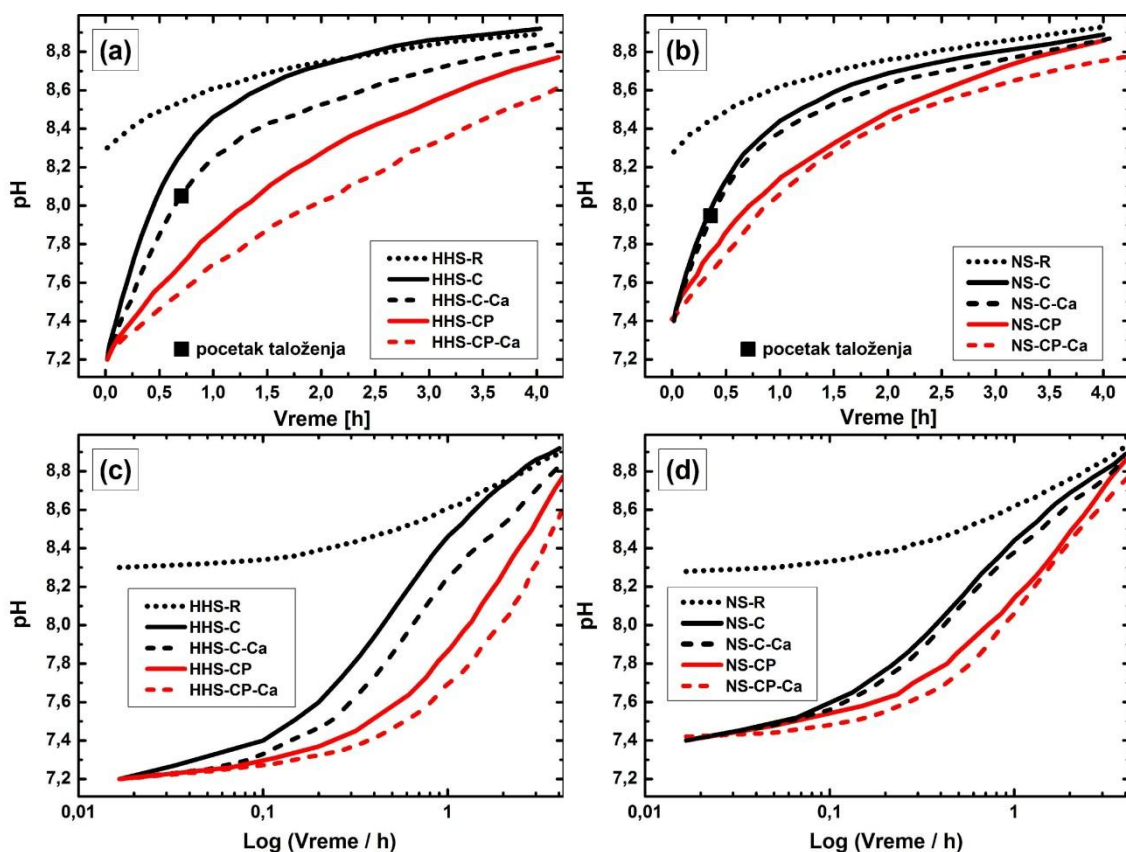
Nakon dodatka fizioloških koncentracija proteinskih vrsta u HHS simuliranu telesnu tečnost, vrednost pH je iznosila ~7.3. S obzirom da je pH hiperhloraeičnog stanja (HHS) ~7.2, ova vrednost je dostignuta naknadnim kratkotrajnim dodavanjem  $\text{CO}_2$ . U slučaju NS simulirane telesne tečnosti, dodatak fizioloških koncentracija HGG i HSA proteina je uticao da vrednost pH dostigne vrednost od ~7.4, što je vrednost koja odgovara normalnom stanju (NS), pa zbog toga naknadno dodavanje  $\text{CO}_2$  nije bilo neophodno. U trenutku njihovog dostizanja, vrednosti pH ~7.2 (HHS), odnosno ~7.4 (NS), su tretirane kao polazne pH vrednosti pri daljem ispitivanju pH stabilnosti HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti. Ove pH vrednosti su bile privremeno stabilne u trenutku njihovog dostizanja.

### 5.4.3. Stabilnost pH i karbonatnih vrsta u HHS i NS simuliranim telesnim tečnostima

Na Sl.154a i 154b su prikazane promene pH sa vremenom u HHS i NS simuliranim telesnim tečnostima, respektivno, od trenutka dostizanja polazne vrednosti pH. Na svakoj slici su prikazane krive pH-vreme u sledećim slučajevima: (i) bez prisustva proteina i  $\text{Ca}^{2+}$  jona ( $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ) (HHS-R, HHS-C, NS-R i NS-C), (ii) sa prisustvom proteina i bez prisustva  $\text{Ca}^{2+}$  jona ( $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ) (HHS-CP i NS-CP), kao i (iii) sa prisustvom  $\text{Ca}^{2+}$  jona ( $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ) u odsustvu (HHS-C-Ca i NS-C-Ca) i prisustvu (HHS-CP-Ca i NS-CP-Ca) proteina. Na Sl.154c i 154d su date zavisnosti sa Sl.154a i 154b, respektivno, sa logaritamskom vremenskom osom. Ovde treba napomenuti da je u slučajevima HHS-R i NS-R dodavanje  $\text{CO}_2$  vršeno do vrednosti pH od  $\sim 8.3$ , dok su u ostalim slučajevima vrednosti polazne pH ( $\sim 7.2$ , u slučaju HHS, i  $\sim 7.4$ , u slučaju NS) postignute dodavanjem  $\text{CO}_2$  ili kombinacije  $\text{CO}_2$  i proteina (vidi Sl.84, poglavlje 4.2.2.4). U Tab.20 su za sve slučajeve osim HHS-R i NS-R date vrednosti promene pH sa vremenom u [pH jedinica/h], koje su izračunate linearnim fitovanjem krivih sa Sl.154 u opsegu pH između  $\sim 7.4$  i  $\sim 8.0$ .

Rezultati sa krivih pH-vreme (Sl.154), kao i iz Tab.20, pokazuju da se promene pH sa vremenom praktično nisu razlikovale u odsustvu proteinskih vrsta i  $\text{Ca}^{2+}$  jona (HHS-C i NS-C, vidi takođe Sl.155). Prisustvo proteina je usporilo promenu pH sa vremenom u obe vrste simuliranih telesnih tečnosti. Ovo usporenje je bilo nešto izraženije u slučaju HHS-CP ( $\sim 65$  % sporije posmatrano u odnosu na HHS-C, vidi Tab.20), no u slučaju NS-CP ( $\sim 50$  % sporije posmatrano u odnosu na NS-C, vidi Tab.20). S druge strane, dodatak  $\sim 2.3$  mmol/l  $\text{Ca}^{2+}$  jona u HHS-C (HHS-C-Ca) ili u HHS-CP (HHS-CP-Ca) je praktično imao isti uticaj na promenu krive pH-vreme u oba slučaja HHS rastvora, nezavisno od prisustva proteina. Isto je utvrđeno u slučaju NS rastvora dodavanjem  $\sim 2.3$  mmol/l  $\text{Ca}^{2+}$  jona u NS-C (NS-C-Ca) ili u NS-CP (NS-CP-Ca). Međutim, dodatak  $\text{Ca}^{2+}$  jona je izazvao intenzivniji efekat na promenu pH sa vremenom u HHS rastvorima u poređenju sa NS (Tab.20). Taj dodatak je uticao da se promena pH sa vremenom u HHS uspori za  $\sim 30$  %, dok je u slučaju NS ovo usporenje na srednjem nivou iznosilo  $\sim 15$  %.





**Sl.154.** Promena pH sa vremenom u HHS (a,c) i NS (b,d) simuliranim telesnim tečnostima.

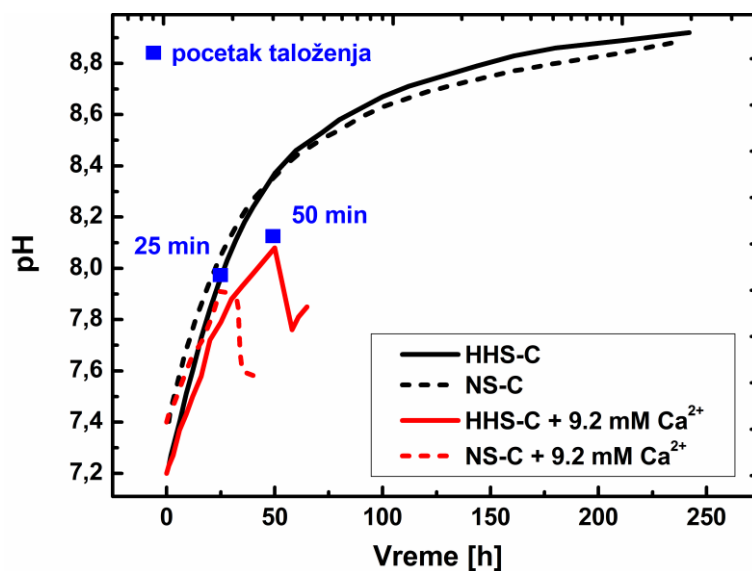
**Tab.20.** Vrednosti prvog izvoda promene pH sa vremenom ( $dpH/dvreme$ ) [pH jedinica/h] u opsegu pH 7.4-8.0 u slučajevima ispitivanih HHS i NS simuliranih telesnih tečnosti. Vrednosti  $dpH/dvreme$  odgovaraju Sl.154a i 154b.

Simulirana telesna tečnost	$dpH/dvreme$	Simulirana telesna tečnost	$dpH/dvreme$
HHS-C	1.67	HHS-C-Ca	1.21
NS-C	1.64	NS-C-Ca	1.48
HHS-CP	0.59	HHS-CP-Ca	0.41
NS-CP	0.82	NS-CP-Ca	0.68

Na Sl.155 je prikazana promena pH sa vremenom u HHS i NS rastvorima koji sadrže 4 puta veću koncentraciju  $Ca^{2+}$  jona (9.6 mmol/l). Rezultati su pokazali da je došlo do kasnijeg pada pH vrednosti u HHS (nakon ~50 min) u poređenju sa NS simuliranom telesnom tečnošću (nakon ~25 min). U trenutku pada pH vrednosti zapaženo je zamagljenje po celoj zapremini rastvora, što je ukazivalo na početak

procesa homogenog taloženja apatitnih soli. U slučajevima kada je korišćena fiziološka koncentracija  $\text{Ca}^{2+}$  jona od  $\sim 2.3$  mmol/l (Sl.154a i 154b), blago zamagljenje cele zapremine rastvora je primećeno u HHS nakon 0.6-0.7 h, a u NS nakon  $\sim 0.3-0.4$  h, što je na Sl.154a i 154b prikazano tamnijim simbolima kvadratnog oblika koji ukazuju na početak procesa taloženja apatita. Ovi rezultati su u skladu sa eksperimentima u kojima je primenjen 4 puta veći sadržaj  $\text{Ca}^{2+}$  jona (Sl.155). U slučajevima prisustva proteinskih vrsta, promena boje simuliranih telesnih tečnosti nije bila zapažena zbog zamućenosti rastvora usled prisustva proteina.

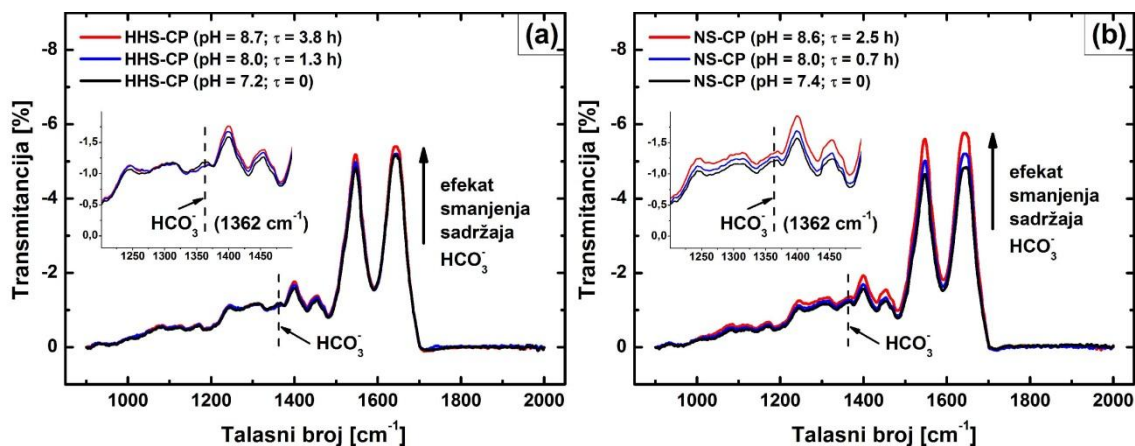
Svi rezultati su pokazali sporiju promenu pH sa vremenom u HSS simuliranim telesnim tečnostima u prisustvu proteina i  $\text{Ca}^{2+}$  jona u odnosu na NS simulirane telesne tečnosti. Jedina suštinska razlika u HHS i NS se ogledala u početnoj teorijskoj koncentraciji  $\text{HCO}_3^-$  jona, koja je u slučaju HHS iznosila  $\sim 17$  mM, dok je u slučaju NS iznosila  $\sim 24$  mM (vidi Tab.18, poglavlje 4.2.2.2). S druge strane, prisustvo proteina je evidentno povećalo stabilnost pH simuliranih telesnih tečnosti, jer je ublažilo promene pH sa vremenom za  $\sim 65\%$ , u slučaju HHS simulirane telesne tečnosti, i  $\sim 50\%$ , u slučaju NS simulirane telesne tečnosti.



**Sl.155.** Promena pH sa vremenom u HHS i NS simuliranim telesnim tečnostima koje sadrže  $4\times$  veću koncentraciju  $\text{Ca}^{2+}$  jona u odnosu na njegovu fiziološku koncentraciju.

Na Sl.156a i 156b su redom prikazane promene ATR-FTIR spektara, koje su zabeležene tokom eksperimenata ispitivanje stabilnosti pH u HHS i NS simuliranim

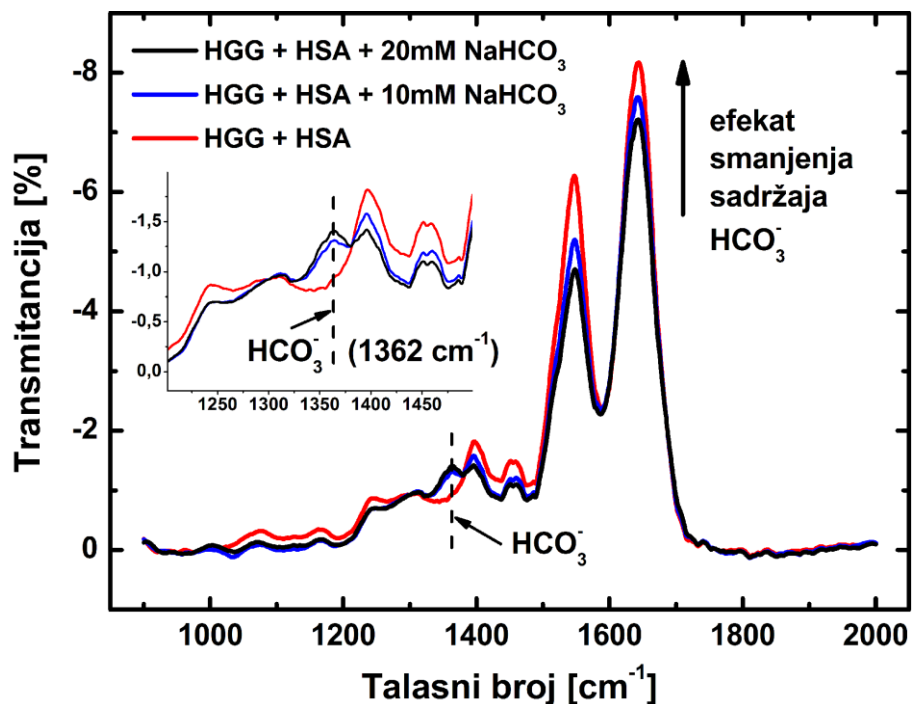
telesnim tečnostima koje sadrže proteinske vrste. Ove promene su posmatrane u uzorcima HHS i NS koji su tokom eksperimenata uzorkovani mikro pipetom iz mase rastvora pri približno istim vrednostima pH koje su naznačene na Sl.156a i 156b.



**Sl.156.** Uticaj promene pH sa vremenom na ATR-FTIR spektre HHS-CP (a) i NS-CP (b) simulirane telesne tečnosti.

S druge strane, na Sl.157 je prikazano kako sadržaj  $\text{HCO}_3^-$  jona utiče na intenzitete pikova ATR-FTIR spektara rastvora fiziološke smeše HGG i HSA u ultra-čistoj vodi. Smanjenje koncentracije  $\text{HCO}_3^-$  jona je uticalo na smanjenje intenziteta pika lociranog na  $\sim 1362 \text{ cm}^{-1}$ , koji ukazuje na prisustvo ovog jona, dok je istovremeno uticalo na povećanje intenziteta svih ostalih pikova koji potiču od proteina i molekula vode.

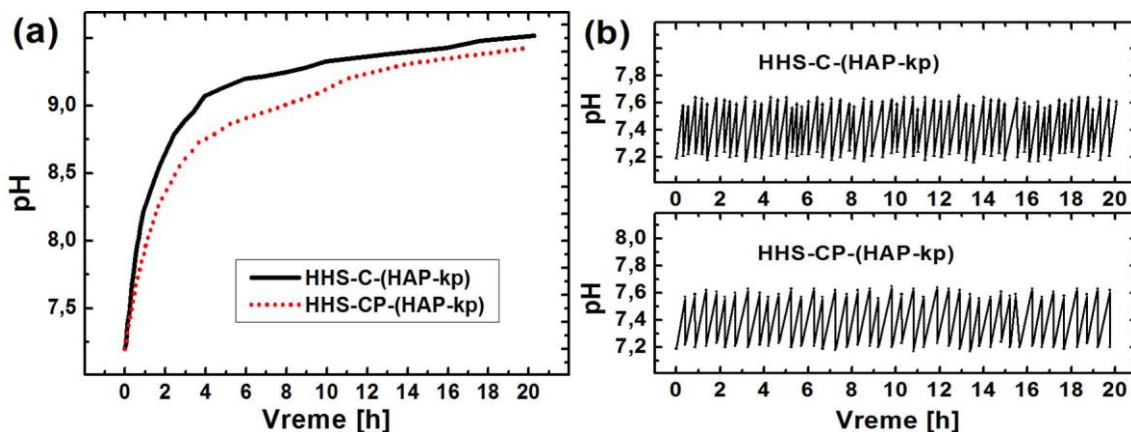
Ukoliko se rezultat sa Sl.157 primeni na rezultate prikazane na Sl.156a i 156b, jasno je da je povećanje pH uticalo na blago smanjenje koncentracije  $\text{HCO}_3^-$  jona u obe vrste rastvora, HHS-CP i NS-CP. Ovi rezultati su takođe pokazali sporiju promenu u intenzitetima ATR-FTIR pikova u uzorcima HHS-CP rastvora u poređenju sa uzorcima NS-CP rastvora, za približno isti opseg pH vrednosti. Poslednji rezultat je u skladu sa rezultatima prikazanim na Sl.154 i datim u Tab.20, gde je zabeležena sporija promena pH sa vremenom u HHS-CP simuliranoj telesnoj tečnosti sa manjom početnom teorijskom koncentracijom  $\text{HCO}_3^-$  jona ( $\sim 17 \text{ mmol/l}$ , Tab.18, poglavlje 4.2.2.2), u poređenju sa NS-CP simuliranom telesnom tečnošću sa većom početnom teorijskom koncentracijom  $\text{HCO}_3^-$  jona ( $\sim 24 \text{ mmol/l}$ , Tab.18, poglavlje 4.2.2.2).



**Sl.157.** Efekat smanjenja koncentracije  $\text{HCO}_3^-$  jona na ATR-FTIR spektar rastvora fiziološke smeše HGG i HSA proteina u ultra-čistoj vodi.

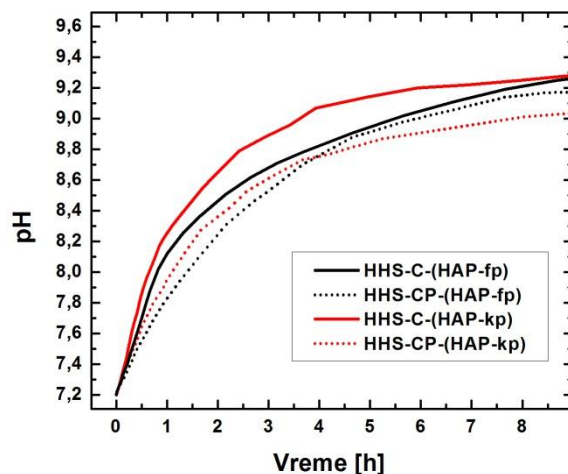
#### 5.4.4. Sklonost ka formiranju karbonatnog apatita na površini HA prevlaka u HHS simuliranoj telesnoj tečnosti

Na Sl.158 su prikazani tipični uslovi pri kojima je ispitivana sklonost ka formiranju karbonatnog apatita na površini HAP-kp. Izvršena su ispitivanja uticaja fiziološke smeše proteina HGG i HSA koji su bili rastvoreni u HHS simuliranoj telesnoj tečnosti. Ovi uticaji su ispitani u uslovima bez aktivne regulacije pH simulirane telesne tečnosti (Sl.158a) i u uslovima sa aktivnom regulacijom pH simulirane telesne tečnosti pomoću  $\text{CO}_2$  (Sl.158b). HHS simulirane telesne tečnosti su sadržale fiziološke koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  jona ( $\sim 2.3 \text{ mmol/l CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ , vidi Tab.18, poglavlje 4.2.2.2). Eksperimenti su otpočeli nakon dostizanja pH vrednosti od  $\sim 7.2$ , rastvaranja  $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$  i uvođenja HAP-kp u HHS rastvor. Metalni deo HAP-kp, kao i HAP-fp, je bio zaštićen epoksi slojem (vidi Sl.A5-1 i A5-2, **prilog A5**).



**SI.158.** Promena pH sa vremenom u eksperimentima ispitivanja skolonosti formiranja karbonatnog apatita na površinama HAP-kp bez (a) i sa (b) aktivnom regulacijom pH.

U uslovima bez aktivne regulacije pH (SI.158a), promena pH sa vremenom, koja je određena linearnim fitovanjem krivih pH-vreme u opsegu pH između  $\sim 7.2$  i  $\sim 8.0$ , je bila 50-70 % sporija u HHS sa proteinima u poređenju sa HHS bez proteina. Početak procesa taloženja vizuelno nije utvrđen u HHS sa proteinima zbog zamućenosti rastvora usled prisustva proteina, dok je proces taloženja vizuelno uočen u masi rastvora HHS bez proteina nakon 0.6-1.0 h. Ovi rezultati su bili u skladu sa rezultatima prikazanim na SI.154, SI.155 i Tab.20 (vidi poglavlje 5.4.3). U uslovima sa aktivnom regulacijom pH pomoću  $\text{CO}_2$  (SI.158b), pH vrednost HHS simulirane telesne tečnosti je održavana između  $\sim 7.2$  i  $\sim 7.6$  cikličnim dodavanjem  $\text{CO}_2$  svaki put kada je pH dostigla vrednost od  $\sim 7.6$ . Odgovarajuća količina  $\text{CO}_2$  je dodavana na svakih  $30 \pm 6$  min u HHS sa proteinima i na svakih  $20 \pm 6$  min u HHS bez proteina. Ovaj rezultat pokazuje  $\sim 50$  % manju učestanost dodavanja  $\text{CO}_2$  u HHS u prisustvu proteina, što pokazuje očigledan uticaj prisustva proteina na stabilnost pH, što je u skladu sa rezultatima prethodnih ispitivanja promene pH sa vremenom (vidi SI.154, SI.155 i Tab.20, poglavlje 5.4.3). Nezavisno od prisustva proteinskih vrsta, proces taloženja apatitnih soli nije vizuelno potvrđen u eksperimentima sa aktivnom regulacijom pH pomoću  $\text{CO}_2$  (SI.158b).



**Sl.159.** Uticaj vrste prevlake (HAP-fp ili HAP-kp) na promene pH sa vremenom u HHS simuliranim telesnim tečnostima u odsustvu i prisustvu proteina.

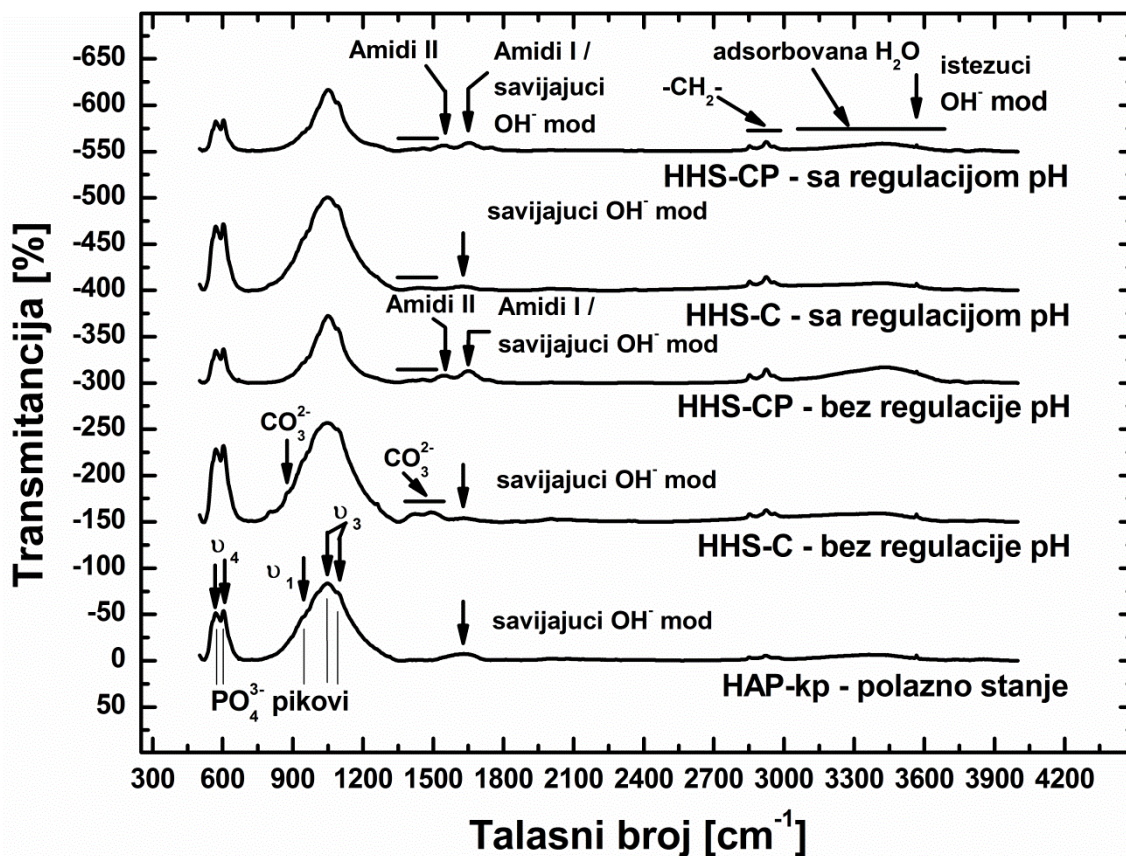
Na Sl.159 je izvršeno poređenje uticaja vrste prevlake na promene pH sa vremenom u HHS simuliranim telesnim tečnostima. Upoređene su promene pH sa vremenom za slučajeve HAP-fp i HAP-kp koje su nanese pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=20$  °C, dok su eksperimenti vršeni u odsustvu (HHS-C) i prisustvu (HHS-CP) fiziološke smeše HGG i HSA proteina. U lineranom delu krivih pH-vreme (pH opseg 7.2-8.0), primećeno je da je uticaj proteina na pH promene sa vremenom bio praktično isti u slučaju HAP-fp i HAP-kp. Takođe je primećeno da su pH promene sa vremenom u slučaju HAP-fp prevlaka bile sporije u poređenju sa HAP-kp. Ovaj efekat je bio analogan efektu dodatka  $Ca^{2+}$  jona u HHS i NS simulirane telesne tečnosti (vidi Sl.154a i 154c, poglavlje 5.4.3).

Na Sl.160 su prikazani tipični T-FTIR spektri uzoraka uzetih sa površina HAP-kp pre i nakon njihovog uranjanja u HHS simulirane telesne tečnosti pod uslovima datim na Sl.158. T-FTIR spektri su dobijeni sa površina HAP-kp nanesenih pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=20$  °C.

Nakon eksperimenata bez aktivne regulacije pH (Sl.160), T-FTIR spektri dobijeni sa površinskih delova uzoraka HAP-kp, koji su bili uronjeni u HHS bez proteina (HHS-C), su pokazali jasnu pojavu vibracionih modova  $CO_3^{2-}$  funkcionalne grupe na  $\sim 876$   $cm^{-1}$  (savijajući vibracioni mod),  $\sim 1420$  i  $\sim 1495$   $cm^{-1}$  (asimetrični istežući vibracioni mod), u poređenju sa spektrima uzoraka koji su bili uzeti sa površine HA prevlaka u polaznom stanju. Ovaj rezultat je pokazao da je neregulisana promena pH izazvala taloženje karbonatnog apatita na površini HA prevlaka. S druge strane, T-



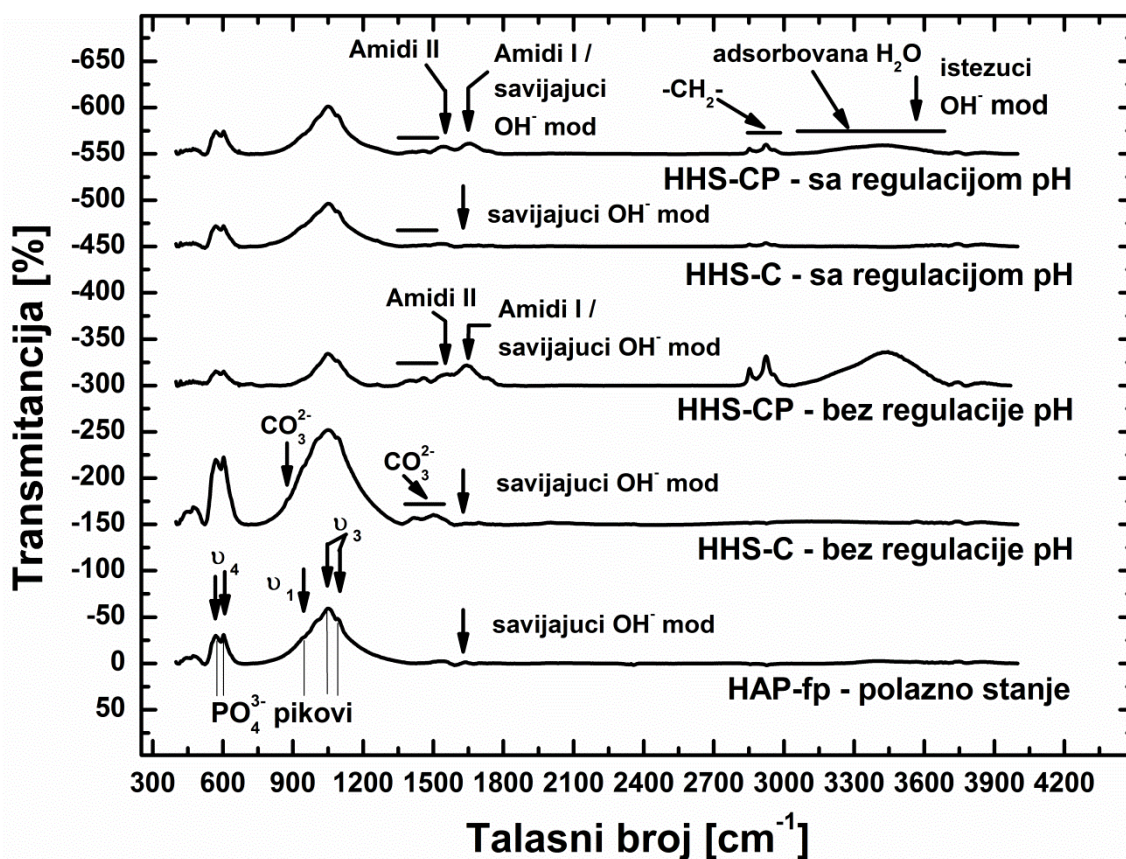
FTIR spektri dobijeni sa površinskih delova uzoraka HA prevlaka koji su bili uronjeni u HHS sa proteinima (HHS-CP) su pokazali pojavu amidnog I pika na  $\sim 1652\text{ cm}^{-1}$  i amidnog II pika na  $\sim 1548\text{ cm}^{-1}$  (Sl.160), što je ukazivalo na to da su proteini bili adsorbovani na površini HA prevlaka. Pored ovih amidnih pikova, istovremeno je uočeno i prisustvo pikova slabog intenziteta (u odnosu na slučaj HHS-C) između  $\sim 1410$  i  $\sim 1460\text{ cm}^{-1}$ , što je ukazivalo na moguće prisustvo karbonatnog apatita u manjim količinama (Sl.160). Treba navesti da bi pik na  $\sim 1652\text{ cm}^{-1}$ , osim od amidne I grupe, mogao delom da potiče i od savijajućeg vibracionog moda  $\text{OH}^-$  funkcionalne grupe molekula vode (Sl.160).



**Sl.160.** T-FTIR spektri koji prikazuju uticaj uslova regulacije pH HHS simulirane telesne tečnosti na formiranje karbonatnog apatita i adsorpciju proteina na površinama HAP-kp koje su nanese pri  $SOD=100\text{ mm}$  i  $T_S=20\text{ }^\circ\text{C}$ .

Nakon eksperimenata sa aktivnom regulacijom pH pomoću  $\text{CO}_2$  (Sl.160), T-FTIR spektri dobijeni sa površinskih delova uzoraka HA prevlaka koji su bili uronjeni u HHS bez proteina (HHS-C) su pokazali prisustvo traka slabijeg intenziteta oko  $\sim 1450$

$\text{cm}^{-1}$ , što je ukazivalo na potencijalno prisustvo karbonatnog apatita u manjim količinama. S druge strane, T-FTIR spektri dobijeni sa površinskih delova uzoraka HA prevlaka koji su bili uronjeni u HHS sa proteinima (HHS-CP) su pokazali prisustvo amidnih I i II traka na na  $\sim 1652 \text{ cm}^{-1}$  i  $\sim 1548 \text{ cm}^{-1}$ , respektivno, što je ukazivalo na površinsku adsorpciju proteinskih vrsta, kao i prisustvo traka slabijeg intenziteta između  $\sim 1410$  i  $\sim 1460 \text{ cm}^{-1}$ , što je ukazivalo na moguće simultano prisustvo karbonatnog apatita u manjim količinama (Sl.160).



**Sl.161.** T-FTIR spektri koji prikazuju uticaj uslova regulacije pH HHS simulirane telesne tečnosti na formiranje karbonatnog apatita i adsorpciju proteina na površinama HAP-fp koje su nanesene pri  $SOD=100 \text{ mm}$  i  $T_S=20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Na Sl.161 su prikazani tipični T-FTIR spektri uzoraka uzetih sa površina HAP-fp pre i nakon njihovog uranjanja u HHS simulirane telesne tečnosti pod uslovima datim na Sl.158. T-FTIR spektri su dobijeni sa površina HAP-fp nanesenih pri  $SOD=100 \text{ mm}$  i  $T_S=20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Rezultati analize T-FTIR spektara dobijenih sa površina HAP-fp (Sl.161) su slični onima u slučaju HAP-kp (Sl.160). Međutim, razlika koja je evidentno prisutna je



da su pikovi karbonatnog apatita (između  $\sim 1400$  i  $\sim 1500$   $\text{cm}^{-1}$ ) i adsorbovanih proteina (amidni I i II pikovi) jasno mogli da se identifikuju na spektrima sa površine HAP-fp koje su bile uronjene u HHS rastvor sa proteinima (HHS-CP) u slučaju bez aktivne regulacije pH ovog rastvora (Sl.161). Takođe, simultano prisustvo pikova karbonatnog apatita i adsorbovanih proteina se jasnije uočava na spektrima sa površine HAP-fp uronjenih u HHS rastvor sa proteinima (HHS-CP), u kojima je vršena aktivna regulacija pH, u poređenju sa spektrima HAP-kp ispitivanih pod istim uslovima (Sl.160).

## 6. DISKUSIJA

### 6.1. Hemijska, strukturna i morfološka svojstva HA prahova i prevlaka

#### 6.1.1. Uticaj svojstava polaznih HA prahova

**Morfološka svojstva.** SEM analiza je pokazala razliku u morfologijama čestica finijeg (fHAP) i krupnijeg (kHAP) HA praha korišćenih za nanošenje HA prevlaka u ovom radu. Čestice fHAP sub-mikrometarske reljefnosti površine su težile sferičnom, a čestice kHAP mikrometarske reljefnosti površine poliedarskom obliku. Ove morfološke razlike su bile posledica različitih postupaka sinteze ovih HA prahova. XPT-D-703<sup>®</sup> prahovi (Sulter Metco, USA) (ili fHAP) se proizvode postupkom sušenja u spreju (*eng.* spray drying) za koji su karakteristične opisane morfološke razlike [243]. S druge strane, Captal 90<sup>®</sup> prahovi (Plasma Biotol, UK) (ili kHAP) se proizvode taloženjem mikro-kristala HA u vodenim rastvorima, nakon čega se ovi mikro-kristali aglomerišu, a zatim sinteruju na visokim temperaturama sa ciljem postizanja odgovarajuće kohezione čvrstoće aglomerata [244,245].

Prethodna istraživanja su pokazala da čestice polaznih HA prahova nepravilnog poliedarskog oblika mogu da se lome i usitnjavaju pod uticajem turbulentnog plazma mlaza, što je pripisano njihovoj niskoj kohezionoj čvrstoći [61,64] (vidi poglavlje 2.4.1.1). Naime, utvrđeno je da nejednako topljenje originalnih i polomljenih (sitnijih) frakcija polaznog HA praha u plazma mlazu može da uzrokuje veću heterogenost strukture rezultujućih HA prevlaka i pojavu neželjenih faznih nečistoća (posebno CaO). Takođe je pokazano da se opisani efekti ublažavaju sa povećanjem pravilnosti oblika čestica polaznog HA praha ka sferičnom. *Cheang i Khor* su detektovali jedan od neželjenih rezultata pomenutog efekta loma originalnih čestica nepravilnog poliedarskog oblika u plazma mlazu [61]. Naime, ovi autori su zabeležili najveće prisustvo CaO faze u polaznim HA prahovima nepravilnog poliedarskog oblika čija je srednja veličina bila najveća u pomenutoj studiji, dok je u HA prahovima sferičnog oblika proizvedenih postupkom sušenja u spreju i 5× manjih dimenzija zapaženo manje

prisustvo CaO faze. Morfologija čestica i postupak siteze HA prahova koji su bili upoređeni u studiji *Cheang i Khor* [61] su praktično bili isti kao i u ovom radu sa razlikom da je srednja veličina čestica kHAP poliedarskog oblika bila oko tri puta veća od srednje veličine čestica fHAP sferičnog oblika. Za razliku od studije *Cheang i Khor*, u ovom radu su dobijeni suprotni rezultati, tj. detektovan je manji sadržaj CaO faze u HA prevlakama od kHAP poliedarskog oblika u odnosu na HA prevlake od fHAP sferičnog oblika. Ovaj rezultat je mogao da bude posledica bolje kohezivne čvrstoće čestica polaznih HA prahova, kao i laminarnosti strujanja *PJ-100* plazma mlaza. Naime, bolja kohezivna čvrstoća čestica HA praha i manje prisustvo turbulentnosti plazma mlaza u manjoj meri izazivaju efekat lomljenja i usitnjavanja polaznih čestica HA praha u plazma mlazu. Takođe, u ovom radu je primećen i manji sadržaj CaO faze u nanesenim HA prevlakama u poređenju sa studijom *Cheang i Khor*, pri čemu treba napomenuti da je snaga plazma izvora koja je korišćena u ovom radu (~52 kW) [233,234] bila skoro dvostruko veća od one koju su koristili pomenuti autori (~26.8 kW) [61]. Ovaj fenomen je detaljnije diskutovan u poglavlju 6.1.2.2, koje se bavi prisustvom CaO faze u HA prevlakama, a najverovatnije je posledica razlike u brzinama čestica HA praha koje se postižu u *PJ-100* plazma mlazu i u plazma instalaciji korišćenoj u studiji *Cheang i Khor*.

**Prisustvo nečistoća.** XRF i EDS analize su ukazale na moguće prisustvo elementarnih nečistoća u polaznim fHAP i kHAP (vidi Tab.19, poglavlje 5.1.2), ATR-FTIR (vidi Sl.99, poglavlje 5.1.5) i MRS (vidi Sl.97 i 98, poglavlje 5.1.4) na moguće prisustvo jonskih substitucija i faznih nečistoća, dok je XRPD analiza (vidi Sl.96, poglavlje 5.1.3) ukazala na prisustvo faznih nečistoća.

fHAP i kHAP su ispoljavali visoke elementarne čistoće, koje su, izražene preko molarnih udela, iznosile ~99.7 i ~99.5 at.%. Ovaj rezultat je pokazao da fHAP i kHAP nisu u znatnijoj meri sadržali elemente koji su mogli značajno da utiču na ishod faznih transformacija tokom atmosferskog plazma sprej postupka, poput magnezijuma (Mg) i silicijuma (Si), pri čemu je taj sadržaj bio nešto veći u kHAP nego u fHAP (vidi Tab.19, poglavlje 5.1.2). Ovde treba napomenuti da su Mg i Si elementi koji pospešuju izdvajanje TCP faze, pri čemu je Mg stabilizator  $\beta$ -TCP faze, dok je Si stabilizator  $\alpha$ -TCP faze [39].

ATR-FTIR analiza polaznih HA prahova je ukazala na moguće prisustvo  $\text{CO}_3^{2-}$  jonske substitucije  $\text{PO}_4^{3-}$  tetraedra u kristalnoj rešetki HA (B-tip substitucije), što je utvrđeno na osnovu prisustva pikova u intervalu frekvencija  $1400\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ , dok je pik lociran između  $865\text{-}885\text{ cm}^{-1}$ , koji je posebno bio izražen u slučaju fHAP ( $\sim 877\text{ cm}^{-1}$ ), mogao da, pored prisustva  $\text{CO}_3^{2-}$ , ukazuje i na prisustvo  $\text{HPO}_4^{2-}$  jonske supstitucije  $\text{PO}_4^{3-}$  tetraedra (vidi Tab.12, poglavlje 2.6.2.3.2) [197,213]. Ove jonske substitucije su najverovatnije bile posledica postupka sinteze fHAP i kHAP (vidi poglavlje 2.2.2.1) [35]. Analiza ATR-FTIR i T-FTIR spektara HA prevlaka od fHAP (HAP-fp) i kHAP (HAP-kp) je pokazala odsustvo pikova koji odgovaraju pomenutim jonskim substitucijama (vidi Sl.103, poglavlje 5.2.1.1.3). Ovaj rezultat je ukazivao na to da su jonske substitucije bile uklonjene ( $\text{CO}_3^{2-}$  u  $\text{CO}_{2(g)}$ ) i/ili transformisane ( $\text{HPO}_4^{2-}$  u  $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}/\text{PO}_4^{3-}$ ) pod dejstvom visokotemperaturnog plazma mlaza (vidi jednačine 14-17, poglavlje 2.2.2.1) [35]. Ovde treba napomenuti da ATR-FTIR pikovi koji odgovaraju CaO,  $\text{CaCO}_3$  i  $\text{Ca(OH)}_2$  fazama (vidi Sl.99, poglavlje 5.1.5), kao ni Raman pikovi vezani za pomenute faze (vidi Sl.98, poglavlje 5.1.4), nisu detektovani u polaznim fHAP i kHAP (vidi poglavlje 2.6.2.3.1 za FTIR pikove ovih faza i poglavlje 2.6.1.3.1 za MRS pikove ovih faza).

XRPD i MRS analize fHAP su pokazale da ovaj prah ne sadrži fazne nečistoće. Naime, svi pikovi registrovani na difraktogramu fHAP odgovarali su HA fazi. Takođe, svi Raman pikovi u spektru fHAP su poticali od HA faze, osim onih uočenih na  $\sim 1041$ ,  $\sim 1054$  i  $\sim 1062\text{ cm}^{-1}$ . Poreklo ovih pikova nije moglo da bude nedvosmisleno utvrđeno na osnovu podataka u dostupnoj literaturi. Naime, pojedini od ovih pikova bi mogli da dolaze od TCP i TTCP faza (vidi Tab.9, poglavlje 2.6.1.3.2), ali XRPD analiza nije utvrdila prisustvo tih faza u fHAP (vidi Sl.96, poglavlje 5.1.3). S druge strane, XRPD analiza je ukazala na mogućnost prisustva male količine TTCP faze u kHAP prahovima (vidi Sl.96, poglavlje 5.1.3). Takođe, u Raman spektrima kHAP je uočena pojava pika slabog intenziteta na  $\sim 947\text{ cm}^{-1}$  (vidi Sl.98, poglavlje 5.1.4), koja je ukazivala na moguće prisustvo TTCP faze, jer se prema literaturnim podacima [93,184] ovoj fazi može pripisati pik na bliskoj frekvenciji (vidi Tab.9, poglavlje 2.6.1.3.2 i Tab.10, poglavlje 2.6.1.3.4).

**Molarni Ca/P odnos.** Molarni Ca/P odnos određen na osnovu XRF i EDS analiza je u slučaju fHAP grubo iznosio 1.3-1.4, dok je u slučaju kHAP bio 1.5-1.7 (vidi

Tab.19, poglavlje 5.1.2). Prethodna istraživanja su pokazala da XPT<sup>®</sup> prahovi (Sulzer Metco, USA), odnosno fHAP u ovom radu, mogu da poseduju nestehiometrijski molarni Ca/P odnos koji je manji od stehiometrijskog odnosa za HA (~1.667) [243]. S druge strane, Captal<sup>®</sup> prahovi (Plasma Biotol, UK), odnosno kHAP u ovom radu, imaju molarni Ca/P odnos blizak stehiometrijskom HA [245]. Bez obzira na dobro slaganje rezultata XRF i EDS analiza, treba napomenuti da su, zbog načina određivanja molarnog Ca/P odnosa za polazne HA prahove, njihove vrednosti dobijene u ovom radu mogle da se razlikuju u određenom procentu. Međutim, ono što može da se zaključi na osnovu dobijenih rezultata je da je razlika u molarnim Ca/P odnosima između fHAP i kHAP bila evidentna i da je fHAP najverovatnije posedovao kalcijum-deficitarnu strukturu HA sa molarnim Ca/P odnosom <1.667, dok je kHAP posedovao blisko-stehiometrijsku strukturu HA sa molarnim Ca/P odnosom ~1.667. Rezultat koji je na određeni način dodatno ukazivao na kalcijum-deficitarnost fHAP je izraženije prisustvo pika lociranog na ~877 cm<sup>-1</sup> na ATR-FTIR spektrima ovog praha (vidi Sl.99, poglavlje 5.1.5). Ovaj pik ukazuje na moguće prisustvo HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> jonske substitucije u kristalnoj rešetki HA, koja je karakteristična za kalcijum-deficitarni HA [213]. S druge strane, pojava ovog pika nije bila registrovana u slučaju kHAP (vidi Sl.99, poglavlje 5.1.5), što je na određeni način dodatno ukazivalo na to da ovaj HA prah nije bio kalcijum-deficitaran. Postojanje kalcijum-deficitarnosti HA prahova, tj. molarnog Ca/P odnosa koji je <1.667, može da utiče na formiranje TCP faze tokom termičkog razlaganja čestica HA praha u visokotemperaturnom plazma mlazu. Ova mogućnost je pomenuta u poglavlju 2.2.2.1. Naime, sa dijagrama stanja CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-H<sub>2</sub>O prikaznog na Sl.27c se lako uočava da se za molarni Ca/P odnos <1.667 termičko razlaganje ovakvih prahova odvija u dvofaznoj oblasti HA+TCP.

Hemijsko-strukturna analiza polaznih HA prahova je ustanovila visok stepen čistoće fHAP i kHAP. Na osnovu ovih rezultata je pretpostavljeno da sve fazne promene, koje su uočene u HA prevlakama u ovom radu, nisu bile pod uticajem detektovanih nečistoća zbog njihovog zanemarljivog prisustva, već pod dominantnim uticajem procesa termičkog zagrevanja i hlađenja (vidi poglavlje 2.2). S druge strane, jedino je u slučaju fHAP hemijski sastav mogao da ima značajniji uticaj na fazne promene tokom procesa nanošenja HA prevlaka usled značajnijeg odstupanja molarnog Ca/P odnosa ovog praha od stehiometrijske vrednosti za HA.

## 6.1.2. Fazne promene u površinskim delovima HA prevlaka u odnosu na polazno stanje HA prahova i uticaj veličine HA praha

XRPD analiza je pokazala da je postupak nanošenja polaznih fHAP i kHAP uzrokovao pojavu faznih nečistoća u nanesenim prevlakama. Na osnovu ove analize je utvrđeno da su prevlake od fHAP (HAP-fp) uopšteno sadržale veći udeo faznih nečistoća u poređenju sa HA prevlakama od kHAP (HAP-kp). Ovaj rezultat je bio u skladu sa rezultatima prethodnih studija koje su vršile ispitivanje uticaja veličine HA praha na sadržaj ovih nečistoća pomoću XRPD analize (vidi Tab.3, poglavlje 2.4.1.3) [52,53,64,66,77-79,85]. Takođe, ovaj rezultat je ukazao da je, usled velikih razlika u srednjoj veličini fHAP i kHAP, uticaj veličine HA praha bio dominantniji u odnosu na hemijske, morfološke i strukturne razlike koje su postojale u polaznim prahovima (vidi poglavlje 6.1.1).

Veći udeo faznih nečistoća koji je detektovan u HAP-fp je ukazivao na to da su čestice polaznog fHAP pretrpele veći stepen termičkog razlaganja u *PJ-100* plazma mlazu u poređenju sa česticama polaznog kHAP, što je rezultat koji je u skladu sa razmatranjima vezanim za *Biot-ov* broj (vidi poglavlje 2.1.2.4) [14]. Takođe, istopljene i delimično istopljene čestica fHAP su se brže hladile pri udaru u substrat u poređenju sa česticama kHAP, što je bilo evidentno na osnovu većeg sadržaja ACP faze detektovanog u HAP-fp.

### 6.1.2.1. Prisustvo TTCP i TCP faza

XRPD analiza je pokazala da su HAP-fp sadržale veći udeo TTCP i TCP faza u poređenju sa HAP-kp (vidi Sl.100, poglavlje 5.2.1.1.1 i Sl.C1-1-6, **prilog C1-1**).

S obzirom da TTCP faza nije detektovana u polaznim fHAP (vidi Sl.96, poglavlje 5.1.3), pretpostavljeno je da je ona bila formirana termičkim razlaganjem polaznog HAP-fp u *PJ-100* plazma mlazu. S druge strane, u slučaju HAP-kp, TTCP faza je mogla da nastane kao posledica njenog prisustva u polaznim kHAP (vidi Sl.96, poglavlje 5.1.3). Drugim rečima, TTCP faza u polaznom kHAP je mogla da služi kao nukleus za njeno formiranje u HAP-kp.

Poređenjem pikova za TCP fazu na difraktogramima HAP-fp sa pikovima ove faze u slučaju HAP-kp primećeno je da je glavni pik  $\alpha$ -TCP faze bio intenzivniji u slučaju HAP-fp, dok je njegovo prisustvo bilo upitno u većini analiziranih HAP-kp (vidi Sl.C1-1-6, **prilog C1-1**). S druge strane, prisustvo  $\beta$ -TCP modifikacije je detektovano u svim analiziranim HA prevlakama. Sa dijagrama stanja CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> prikazanog na Sl.26 (vidi poglavlje 2.2.1), za molarni Ca/P odnos  $\sim 1.667$ , primećuje se da je  $\beta$ -TCP faza stabilna od sobne temperature do  $\sim 1150$  °C, a da su  $\alpha$ - i  $\alpha'$ -TCP modifikacije stabilne na  $T > 1150$  °C. S obzirom da u polaznim HA prahovima nije detektovano prisustvo elemenata koji stabilišu  $\alpha$ -TCP i  $\beta$ -TCP strukture (vidi poglavlje 6.1.1), prisustvo  $\alpha$ -TCP u HAP-fp u nanesenom stanju može da se objasni time da su istopljene i delimično istopljene čestice polaznog fHAP u plazma mlazu bile izložene ekstremno velikim brzinama hlađenja pri udaru u substrat, što je uticalo da se struktura  $\alpha$ -TCP zadrži do sobne temperature. Ovo je demonstrirano u studiji *Lin i saradnika* [43]. Naime, ovi autori su izvršili termičko razlaganje HA praha na TTCP i TCP, nako čega je ovakav produkt bio zakaljen u vodi. Rezultat kaljenja je pokazao da zakaljena struktura sadrži samo TTCP i  $\alpha$ -TCP, što je bio dokaz da ekstremno brzo hlađenje može da poveća stabilnost  $\alpha$ -TCP faze do sobne temperature. S druge strane, *Carrodegua i De Aza* su ukazali na činjenicu da je  $\alpha$ -TCP $\leftrightarrow$  $\beta$ -TCP polimorfna transformacija rekonstruktivne prirode, tj. “da uključuje masovnu reorganizaciju kristalne strukture TCP tokom koje mnoge atomske veze moraju da budu pokidane i formirane nove”, što je proces koji zahteva značajnu količinu energije [183]. Drugim rečima, za transformaciju  $\alpha$ -TCP $\rightarrow$  $\beta$ -TCP je neophodno izrazito sporo hlađenje ili duže vreme boravka na određenoj temperaturi kako bi se ona odigrala [183]. Iz ovog razloga je poreklo  $\beta$ -TCP faze, koja je bila evidentno prisutna u HA prevlakama, bilo teško odrediti sa dovoljnom pouzdanošću u ovom radu. Međutim, *Lin i saradnici* su pokazali da se tokom ponovnog zagrevanja zakaljene smeše TTCP i  $\alpha$ -TCP, struktura  $\alpha$ -TCP transformiše i potpuno prelazi u  $\beta$ -TCP na  $T > 900$  °C, pri čemu je na  $T > 1100$  °C u strukturi prisutna samo HA faza [43]. Ovi rezultati su pokazali da naknadno dovođenje toplote može da izazove  $\alpha$ -TCP $\rightarrow$  $\beta$ -TCP polimorfnu transformaciju. Na osnovu mehanizma formiranja HA prevlaka predloženog od strane *Sun i saradnika* (vidi poglavlje 2.3.1.1) [30], istopljene ili delimično istopljene čestice HA predaju određenu količinu toplote pri njihovom udaru u prethodno formirani HA depozit, koji može da pored drugih faza sadrži i

$\alpha$ -TCP. Zbog tog je u ovom radu pretpostavljeno da je  $\beta$ -TCP faza nastala transformacijom jednog dela  $\alpha$ -TCP u prethodno formiranom i zakaljenom HA depozitu prilikom opisanog prelaska toplote.

#### 6.1.2.2. Prisustvo CaO faze

XRPD analiza je pokazala da je sadržaj CaO faze u ispitanim HA prevlakama bio veći u slučaju HAP-fp nego HAP-kp (vidi Sl.100, poglavlje 5.2.1.1.1 i za detalje Sl.C1-1-7, **prilog C1-1**). Ovaj rezultat je u skladu sa prethodnim istraživanjima koja su ispitivala uticaj veličine HA praha na sadržaj CaO faze (vidi Tab.3, poglavlje 2.4.1.3) [52,53,64,66,77,78,85]. Međutim, sadržaj CaO faze u HAP-fp i HAP-kp ustanovljen u ovom radu je bio značajno niži u poređenju sa rezultatima prethodnih studija, što može da se ustanovi poređenjem odnosa integralnog intenziteta glavnog (200) difrakcionog pika za CaO fazu i glavnog (211) pika za HA fazu u ovom radu (vidi Sl.C1-1-1 do C1-1-5) sa ovim odnosom u prethodnim istraživanjima [53,64,66,77,78,85]. Iako su u većini studija bile primenjene snage plazma izvora između ~12 i ~40 kW [53,64,66,78,85], sve studije su, bez izuzetaka, ukazale na veći sadržaj CaO u poređenju sa ovim radom u kome je snaga *PJ-100* plazma izvora bila značajno veća (~52 kW). Ovaj rezultat je bio u direktnoj suprotnosti sa ranijim zapažanjima da veće snage plazma izvora uzrokuju veći sadržaj CaO u HA prevlakama (vidi Tab.4, poglavlje 2.4.2) [30,32,53,59,67,75,86,96].

CaO faza se formira kao rezultat pregrevanja spoljne ljuske čestica HA praha na  $T > 3200$  °C (vidi poglavlje 2.2.2.1) [36]. Pritom, u ovom delu zapremine čestice HA, dolazi do isparavanja  $P_2O_{5(g)}$  i lokalnog povećanja molarnog Ca/P odnosa [32,36]. Ova promena lokalne stehiometrije usled procesa defosforizacije na visokim temperaturama (vidi jednačinu 13, poglavlje 2.2.2.1) pomera ravnotežu ka dvofaznoj oblasti stabilnosti rastop+CaO na CaO- $P_2O_5$  dijagramu stanja (vidi Sl.26, poglavlje 2.2.1). Pomeranje ravnoteže može da izazove proces očvršćavanja i pojavu kristala CaO u masi rastopa. S obzirom da je poznato da je proces očvršćavanja iz rastopa difuzioni proces, nukleacija CaO iz rastopa i rast ovih kristala zahtevaju vreme za njihovo odvijanje. Veća brzina *PJ-100* plazma mlaza u poređenju sa konvencionalnim atmosferskim plazma sprej postupcima [6,85] može da bude razlog zbog čega su u HAP-fp i HAP-kp detektovani



niži sadržaji CaO u poređenju sa prethodnim studijama [53,64,66,78,85]. Naime, velike brzine *PJ-100* plazma mlaza su uzrokovale velike brzine čestica HA prahova na njihovom putu do površine substrata. Kratko vreme boravka čestica fHAP i kHAP u *PJ-100* plazma mlazu u odnosu na konvencionalne postupke je verovatno limitiralo odigravanje procesa defosforizacije i formiranja CaO, što je mogući uzrok prisustva manjih količina CaO faze u rezultujućim HAP-fp i HAP-kp.

### 6.1.2.3. Prisustvo OA faze

XRPD analiza je u ovom radu ukazala na moguće prisustvo OA faze na osnovu prisustva slabije distorzije (004) difrakcionog pika HA lociranog na  $2\theta=53.1^\circ$  (vidi Sl.C1-1-8, **prilog C1-1**). Prisustvo ovakve distorzije (004) pika HA je takođe bilo ustanovljeno od strane *Gross i saradnika* (vidi Sl.76 i 77, poglavlje 2.6.3.2) [50]. Na osnovu analize difraktograma sa Sl.C1-1-8 (vidi **prilog C1-1**), prisustvo distorzije (004) pika HA je bilo izraženije u slučaju HAP-kp u odnosu na HAP-fp, što je ukazivalo na to da je OA faza bila prisutna u većem sadržaju u HAP-kp. Međutim, iako je zabeleženo prisustvo distorzije (004) pikova HA, ovi pikovi su ispoljavali visok stepen simetrije u najvećem broju uzoraka HAP-kp i HAP-fp, što je ukazivalo na to da je OA faza prisutna u ovim uzorcima u niskom procentu u odnosu na sadržaj HA faze, a posebno u odnosu na prisustvo svih faza u HA prevlakama.

U odnosu na polazno stanje fHAP i kHAP (Sl.99, poglavlje 5.1.5), ATR-FTIR i T-FTIR spektri, snimljeni na površinskim delovima HAP-fp i HAP-kp, su pokazali pojavu dva nova pika locirana na 940-950 i 990-1000  $\text{cm}^{-1}$ , kao i odsustvo pikova savijajućeg  $\text{OH}^-$  moda na  $\sim 629 \text{ cm}^{-1}$  i istežućeg  $\text{OH}^-$  moda na  $\sim 3573 \text{ cm}^{-1}$  (vidi Sl.104, poglavlje 5.2.1.1.3). *Liao i saradnici* su ovaj efekat pripisali pojavi OHA faze u eksperimentima termičke dekompozicije HA [34], dok su *Sun i saradnici* odsustvo pika istežućeg  $\text{OH}^-$  moda na  $\sim 3573 \text{ cm}^{-1}$  u HA prevlakama u nanesenom stanju takođe vezali za pojavu OHA faze [30]. *Sun i saradnici* su zaključili da je odsustvo  $\text{OH}^-$  pikova u spektrima HA prevlaka snažno ukazivalo na to da se struktura HA prevlaka sastoji iz OHA faze, umesto HA. Ovde treba napomenuti da pikovi koji su detektovani na 940-950 i 990-1000  $\text{cm}^{-1}$  mogu takođe da potiču od TTCP i TCP faza (vidi Tab.11, poglavlje 2.6.2.3.2). Međutim, odsustvo  $\text{OH}^-$  pikova, kako je već napomenuto, kao i prisustvo

distorzije (004) pika HA, su u ovom radu bili dovoljno pouzdani pokazatelji da se pretpostavi prisustvo OHA čvrstog rastvora u HAP-fp i HAP-kp.

Prema najnovijim istraživanjima, OHA se posmatra kao čvrsti rastvor koji se sastoji od HA i OA [30,35,50]. Drugim rečima, HA i OA su specijalni i krajnji slučajevi OHA. Idealno dehidroksilovan OHA je OA (vidi jednačinu 7, poglavlje 2.2.2.1), dok je idealno hidroksilovan OHA zapravo HA (vidi jednačine 3-5, poglavlje 2.2.2.1). Međutim, veliki broj studija i dalje tretira HA i OA kao posebne faze [31,44,50,233,234]. Razlog je što OA pokazuje strukturnu razliku u odnosu na HA koja kvalifikuje ovu fazu kao poseban entitet, tj. kao posebnu fazu. Naime, OA faza poseduje heksagonalnu kristalnu rešetku, kao i HA [50], ali ova faza poseduje dužu *c*-osu heksagonalne kristalne rešetke u poređenju sa HA i proizvodi difrakcione maksimume pri nižim uglovima difrakcije, što omogućava njenu kvantifikaciju u odnosu na sadržaj HA faze. Iz ovog razloga, ali i zbog jednostavnosti analize, u ovom radu su HA i OA posmatrane kao posebne faze. Iako ovi rezultati nisu prikazani, ovde treba napomenuti da je vršeno fitovanje (004) pika HA *Lorenzt-ovom* funkcijom u *Origin*<sup>®</sup> programskom paketu. Međutim, rezultati fitovanja su konstantno divergirali, zbog čega nije bilo moguće odrediti relativni udeo OA u HAP-fp i HAP-kp. Najverovatniji razlozi divergencije rezultata fitovanja su bili nizak sadržaj OA faze u HAP-fp i HAP-kp i nedovoljna osetljivost primenjene XRPD metode da preciznije detektuje distorziju (004) pika HA, koja ukazuje na prisustvo OA u HA prevlakama.

### 6.1.2.3. Prisustvo ACP i HA faza

XRPD analiza je u slučaju HAP-fp zabeležila dominantno prisustvo ACP i HA faza, dok su ostale fazne nečistoće bile prisutne u značajno manjem procentu, što je evidentno na osnovu poređenja integralnih intenziteta glavnih pikova ovih faza sa integralnim intenzitetima amorfne (ACP) grbe i glavnog pika HA faze sa difraktograma prikazanih na Sl.C1-1-1 do C-1-3 (vidi **prilog C1-1**). S druge strane, difraktogrami HAP-kp su pokazali dominantno prisustvo HA faze, manje prisustvo ACP faze, dok su ostale fazne nečistoće bile prisutne u tragovima (vidi Sl.C1-1-4 i C1-1-5, **prilog C1-1**).

Značajno veće prisustvo HA faze u HAP-kp i manje prisustvo ACP faze u poređenju sa HAP-fp su ukazivali na to da su čestice kHAP u *PJ-100* plazma mlazu

pretrpele manji stepen dehidroksilacije i topljenja u poređenju sa česticama fHAP. Ovaj rezultat je u saglasnosti sa većinom studija koje su proučavale uticaj veličine HA praha na sadržaj ACP i HA faza u rezultujućim HA prevlakama u nanesenom stanju (Tab.3, vidi poglavlje 2.4.1.3) [52,61,64,66,77-79,85].

### **6.1.3. Analogija promena između sume srednjih relativnih intenziteta $R_2+R_3$ (MRS) i srednje relativne kristaličnosti (XRPD) površinskih delova HA prevlaka**

Promene u Raman spektrima HAP-fp i HAP-kp (vidi Sl.102, poglavlje 5.2.1.1.2) u odnosu na spektre polaznih prahova (vidi Sl.98, poglavlje 5.1.4) u većem delu frekventnog opsega nisu bile od praktičnog značaja za dalju analizu. Međutim, u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$ , Raman spektre HAP-fp i HAP-kp je karakterisalo prisustvo tri Ramanova pika (vidi Sl.102, poglavlje 5.2.1.1.2 i Sl.88b, poglavlje 4.3.5.1):  $A_1$ , lociranog na 949-951  $\text{cm}^{-1}$ ,  $A_2$ , lociranog na 961-963  $\text{cm}^{-1}$ , i  $A_3$ , lociranog na 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , od kojih  $A_1$  i  $A_3$  nisu bili detektovani na Raman spektrima fHAP i kHAP (vidi Sl.98, poglavlje 5.1.4). S obzirom da su integralni intenziteti ovih Ramanovih pikova mogli da budu pod uticajem različitih faza (vidi poglavlje 2.6.1.3.4), koje su evidentno bile prisutne u HA prevlakama (vidi poglavlje 6.1.2), ovde je od ključne važnosti da se istaknu razlozi zbog kojih su relativne promene integralnih intenziteta pojedinih Ramanovih pikova povezane sa prisustvom određenih faza.

Upoređivanjem difraktograma dobijenih sa površinskih delova HA prevlaka (vidi Sl.C-1-1 do C1-1-5, **prilog C1-1**) primećeno je da su promene integralnih intenziteta glavnih pikova faznih nečistoća TTCP, TCP, CaO i OA praktično zanemarljive u slučaju obe vrste HA prevlaka i da ne zavise od  $SOD$  i  $T_S$ . Pored prethodnog zapažanja, sadržaji pomenutih faznih nečistoća su bili znatno manji u odnosu na sadržaje ACP i HA u HAP-fp i HA u HAP-kp, što je praktično ukazivalo na to da ove nečistoće nisu imale značajnog uticaja na promene relativne kristaličnosti HA prevlaka.

Rezultati dalje analize (vidi Sl.105, poglavlje 5.2.1.3) su pokazali da je sa povećanjem  $SOD$  i  $T_S$  promena sume ( $R_2+R_3$ ) srednjih relativnih intenziteta  $R_2$  i  $R_3$  Raman pikova  $A_1$  i  $A_2$ , dobijena na osnovu površinske MRS analize (vidi **prilog C2-2**),

pratila promenu relativne kristaličnosti  $R_K$ , dobijene na osnovu XRPD analize površinskih delova istih prevlaka (vidi Tab.C1-2-2, **prilog C1-2**). Ovi rezultati su praktično pokazali da promena relativnog intenziteta  $A_1$  Ramanovog pika,  $R_I=100-(R_2+R_3)$ , reflektuje promenu relativnog sadržaja ACP, tj. relativne amorfности,  $R_A=100-R_K$ .

Upoređivanjem promena  $R_2$ ,  $R_3$  i  $R_2+R_3$  sa povećanjem  $SOD$  i  $T_S$  (vidi Sl.106, poglavlje 5.2.1.3), utvrđeno je da je promena  $R_2+R_3$  bila pod dominantnim uticajem promene  $R_2$ , dok je promena  $R_3$  bila zanemarljiva. Kvalitativnim poređenjem ovih rezultata sa promenama integralnog intenziteta (004) difrakcionog pika HA (vidi Sl.C1-1-8, **prilog C1-1**) u slučaju istih uzoraka, primećeno je da se sa smanjenjem  $SOD$  povećava integralni intenzitet i simetričnost (004) pika HA, što je bilo analogno povećanju relativnog intenziteta  $R_2$  na Sl.106a (vidi poglavlje 5.2.1.3). Povećanje simetrije i praktično odsustvo distorzije ovog difrakcionog pika za  $SOD=80$  nm su ukazivali na to da je promena sadržaja HA u prevlakama sa smanjenjem  $SOD$  pri njihovom nanošenju bila dominantna u odnosu na promenu sadržaja OA, što je dalje ukazivalo na to da je promena relativnog sadržaja OA bila analogna promeni srednjeg relativnog intenziteta  $R_3$  na Sl.106a (vidi poglavlje 5.2.1.3). Ovi rezultati su praktično pokazali da promena relativnog intenziteta  $A_2$  Ramanovog pika ( $R_2$ ) reflektuje promenu relativnog sadržaja HA.

Sadržaj OA faze u HA prevlakama je bio uporediv sa sadržajem TCP i TTCP faza. Već je istaknuto da ove faze, pored OA, mogu takođe da utiču na vrednost relativnog intenziteta  $R_3$ . Razlog zbog koga je promena relativnog intenziteta  $R_3$  pripisana promeni relativnog sadržaja OA faze leži u činjenici da je rekristalizacija ove faze iz hidroksi-deficitarnog rastopa ili hidroksi-deficitarne ACP faze verovatnija nego rekristalizacija TTCP i TCP faza. Naime, prema prethodnim istraživanjima, verovatnoća rekristalizacije se smanjuje u sledećem nizu: HA, OA, TTCP, CaO i TCP, što je detaljno objašnjeno u poglavlju 2.2.4. S obzirom da je rekristalizacija OA proces koji je najverovatniji posle rekristalizacije HA, pretpostavljeno je da je promena relativnog intenziteta  $R_3$  bila pod dominantnim uticajem promene relativnog sadržaja OA faze.

Ovde treba napomenuti da je promena relativnog intenziteta  $R_3$  u skoro svim slučajevima HAP-fp i HAP-kp u ovom radu bila u okvirima greške merenja (vidi Sl.C2-116, **prilog C2-1**, kao i priloge **C2-2** i **E1**). S druge strane, promene relativnih

intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  su bile značajne i kao takve su korišćene u daljoj diskusiji vezanoj za promene relativne kristaličnosti u HAP-fp i HAP-kp.

#### **6.1.4. Veza između fazne heterogenosti površine HA prevlaka i procesa rekristalizacije tokom formiranja HA prevlaka**

MRS analiza lokalne površinske strukture HA prevlaka (vidi Sl.110-112, poglavlje 5.2.3.1 i **prilog C2-2**) i analiza njihove lokalne debljine (vidi Sl.107, poglavlje 5.2.2.1 i **prilog D**) su pokazale izraženu površinsku faznu heterogenost i neuniformnost debljine HAP-fp, kao i površinsku faznu homogenost i uniformnost debljine HAP-kp. Naime, tanji delovi HAP-fp (lokacija merenja 1) su pokazivali veće vrednosti za  $R_1$  i manje za  $R_2$ , tj. manju relativnu kristaličnost, a deblji delovi HAP-fp (lokacija merenja 9) suprotno, tj. veću relativnu kristaličnost. S druge strane, u slučaju HAP-kp, varijacije lokalnih  $R_1$  i  $R_2$ , kao i lokalne debljine su bile u okvirima greške merenja. U skorašnjoj studiji *Demnati i saradnika* su takođe detektovani različiti Raman spektri na različitim lokacijama površine iste HA prevlake, što je ukazivalo na postojanje značajnih razlika u lokalnoj površinskoj strukturi (vidi Sl.43, poglavlje 2.3.2) [35]. Međutim, ovi autori nisu diskutovali moguće uzroke ovako izražene površinske fazne heterogenosti HA prevlaka [35].

Rezultati daljih ispitivanja sprovedenih u ovom radu su pokazali da je povećanje  $SOD$  dovelo do smanjenja varijacija u lokalnoj faznoj heterogenosti površine HAP-fp (vidi Sl.113a-113c, poglavlje 5.2.3.2), na račun smanjenja srednje relativne kristaličnosti površine, a istovremeno prouzrokovalo smanjenje varijacija u lokalnoj debljini HAP-fp, tj. povećanje uniformnosti debljine HAP-fp (vidi Sl.109a, poglavlje 5.2.2.2). Povećanje  $T_S$  nije imalo značajan uticaj na faznu heterogenost površine HAP-fp (vidi Sl.114a-114c, poglavlje 5.2.3.2), dok je uticalo na blago povećanje uniformnosti debljine HAP-fp (vidi Sl.109b, poglavlje 5.2.2.2). S druge strane, povećanje  $SOD$  i  $T_S$  nije imalo značajniji efekat na površinsku faznu homogenost (vidi Sl.113d-113f i Sl.114d-114f, poglavlje 5.2.3.2) i uniformnost debljine HAP-kp (vidi Sl.109c i 109d, prilog 5.2.2.2). Detaljan pregled prethodnih istraživanja je pokazao nedostatak studija koje se bave problemom površinske fazne heterogenosti HA prevlaka. Kada je reč o primeni medicinskih implantata sa HA prevlakama, jedna od

najvažnijih posledica površinske strukture, kakva je detektovana u slučaju HAP-fp, može da bude velika razlika u rastvorljivosti različitih delova iste prevlake u telesnim tečnostima. Prevremeno rastvaranje jednog dela HA prevlake usled veće lokalne amorfности može da ugrozi integritet i vek HA prevlake, a time i njenu funkcionalnost, dok mogu da se pojave i posledice po ljudsko zdravlje.

Analogne promene površinske fazne heterogenosti i uniformnosti debljine ispitanih HA prevlaka su ukazivale na mogućnost postojanja njihove međusobne korelacije, tim pre što je u prethodnim istraživanjima bilo utvrđeno postojanje korelacije između kristaličnosti i debljine HA prevlaka poznate kao *gradijent kristaličnosti*. (vidi Sl.35 i 36, poglavlje 2.3.1.2) [30,51-54]. Postojanje ovog makro-strukturnog fenomena može da se objasni na osnovu *Sun-ovog* modela formiranja HA prevlaka (vidi poglavlje 2.3.1.1) [30]. Međutim, daljom analizom u ovom radu je utvrđeno da su promene lokalnih površinskih relativnih intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  sa lokalnom debljinom HAP-fp pratile linearnu zavisnost, nezavisno od  $SOD$  i  $T_S$ , dok ovakva zavisnost nije uočena u slučaju HAP-kp (vidi Sl.115, poglavlje 5.2.4). Na osnovu prethodnog je bilo utvrđeno da nije postojala jasna korelacija između lokalne površinske strukture i lokalne debljine HA prevlaka.

Dalja ispitivanja su vršena sa ciljem eventualnog utvrđivanja uzroka izražene površinske fazne heterogenosti HAP-fp za razliku od HAP-kp (vidi poglavlje 5.3.1). Studija *Sun i saradnika* je jedna od retkih studija koja je razmatrala uticaj procesa rekristalizacije tokom formiranja prevlake na površinsku kristaličnost HA prevlaka [30]. Autori te studije su ispitivali razlike između kristaličnosti površinskih delova HA prevlaka i blizu interfejsa i ustanovili da proces rekristalizacije tokom formiranja HA prevlaka može da ima uticaja na njihovu površinsku kristaličnost [30]. Međutim, ovi autori su ta ispitivanja vršili pomoću XRPD metode na osnovu koje se dobija informacija o srednjoj kristaličnosti velikog dela površine prevlaka i koja ne uzima u obzir potencijalne razlike u lokalnoj površinskoj strukturi, kao što to čini MRS analiza. Za razliku od studije *Sun i saradnika*, u ovom radu je primenjena MRS analiza za ispitivanja u pravcu debljine HA prevlaka na tanjim (lokacija merenja 1) i debljim (lokacija merenja 9) delovima HAP-fp (vidi Sl.119, poglavlje 5.3.1.2.1 i **prilog E1**) i na ekvivalentnim lokacijama HAP-kp (vidi Sl.120, poglavlje 5.3.1.2.1 i **prilog E1**). Rezultati su pokazali da je promena relativnih intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  sa rastojanjem od

interfejsa prevlaka/substrat bila vidno izražena na debljim delovima HAP-fp, dok je na tanjim delovima HAP-fp bila znatno manje izražena. Registrovane promene  $R_1$  i  $R_2$  su pokazale da se relativna kristaličnost menjala u značajnoj meri sa rastojanjem od interfejsa na debljim delovima HAP-fp, dok je ova promena praktično bila odsutna na tanjim delovima HAP-fp. Iste tendencije su bile ustanovljene u svim HAP-fp, bez obzira na uslove nanošenja plazma sprej postupkom. Promene koje su bile detektovane pomoću MRS su takođe bile potvrđene XRPD i SM analizama (vidi poglavlja 5.3.1.1.1 i 5.3.1.1.2) [234]. Ovi rezultati nisu bili u korelaciji sa rezultatima studije *Sun i saradnika* [30]. Različite promene relativne kristaličnosti na različitim delovima istih HA prevlaka (vidi Sl.119, poglavlje 5.3.1.2.1) su ukazivale da su se različiti procesi rekristalizacije javili na različitim delovima iste HA prevlake, dok *Sun-ov* model ne predviđa takvu mogućnost, već proces formiranja kompletne HA prevlake objašnjava kroz jedan mehanizam [30]. Ovde treba pomenuti da je u ovom radu u slučaju HAP-kp detektovana slična tendencija promena  $R_1$  i  $R_2$  na lokacijama merenja 9 i 1 (vidi Sl.120, poglavlje 5.3.1.2.1) kao u slučaju HAP-fp (vidi Sl.119, poglavlje 5.3.1.2.1), ali su ove promene bile slabo izražene i teško uočljive, čak i pomoću MRS analize. Interesantno je pomenuti da je veličina čestica kHAP koji je korišćen u ovom radu ( $90 \pm 15 \mu\text{m}$ ) uporediva sa veličinom čestica HA praha koji je korišćen u studiji *Sun i saradnika* ( $\sim 100 \mu\text{m}$ ) [30], a da je snaga plazma izvora ( $\sim 52 \text{ kW}$ ) bila nešto veća od one koju su koristili *Sun i saradnici* ( $\sim 42 \text{ kW}$ ) [30]. S obzirom da su u ovom radu u slučaju HAP-kp detektovane značajno manje razlike između lokacija merenja 9 i 1 pomoću MRS, ovo je ukazivalo na značajno veću faznu homogenost ovih prevlaka u pravcu interfejsa (vidi Sl.120, poglavlje 5.3.1.2.1) u poređenju sa HAP-fp (vidi Sl.119, poglavlje 5.3.1.2.1). Imajući to u vidu, može da se pretpostavi da *Sun i saradnici* najverovatnije nisu bili u mogućnosti da detektuju razlike u faznoj heterogenosti u pravcu interfejsa HA, jer su te razlike veoma slabo izražene u HA prevlakama koje su dobijene korišćenjem HA prahova većih srednjih veličina čestica. S obzirom da su oni vršili ispitivanja pomoću XRPD metode, koja analizira velike zapremine materijala, prethodna konstatacija o nemogućnosti detekcije fazne heterogenosti je još verovatnija.

Detaljnije SM analize poprečnih preseka HAP-fp (vidi Sl.121a i 122a, poglavlje 5.3.1.2.2 i Sl.123a i 124a, poglavlje 5.3.1.2.3) i HAP-kp (vidi Sl.121b i 122b, poglavlje 5.3.1.2.2 i Sl.123b i 124b, poglavlje 5.3.1.2.3) su ukazale na veliku procentualnu

zastupljenost struktura poprečnog preseka koje su bile oformljene od potpuno istopljenih čestica polaznih HA prahova. Naime, rezultati su pokazali da su HAP-fp dominantno bile oformljene od čestica polaznog fHAP koje su bile potpuno istopljene u *PJ-100* plazma mlazu (>80 %). U malom procentu su sadržale delimično istopljene čestice polaznog fHAP (di-HAP) i poroznost (P). S druge strane, HAP-kp prevlake su u poređenju sa HAP-fp bile oformljene od evidentno manjeg udela strukture koja je nastala potpunim topljenjem čestica polaznog kHAP, dok su sadržale veći udeo čestica di-HAP. Međutim, iako je bio manji u poređenju sa HAP-fp, udeo strukture HAP-kp koji je nastao potpunim topljenjem čestica polaznog kHAP je preovladavao (>65 %). Rezultati koji su pokazali da je struktura HAP-fp i HAP-kp dominantno oformljena od strukture koja je nastala potpunim topljenjem polaznih HA prahova su bili od velikog praktičnog značaja u ovom radu. Naime, sve promene relativnog sadržaja HA faze, koje su bile detektovane u ovom radu, bez obzira na metodu ispitivanja, su se prevashodno odnosile na promene relativnog sadržaja *rekristalisane HA faze*. Ovo je dalje impliciralo da su razlike u promeni relativnih intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  u slučaju HAP-fp (vidi Sl.119, poglavlje 5.3.1.2.1), koje su detektovane na tanjim i debljim delovima HAP-fp, kao i potvrde ovih merenja pomoću XRPD i SM analize (vidi Sl.117 i 118, poglavlje 5.3.1.1.2), najverovatnije bile rezultat različitih procesa rekristalizacije koji su se uspostavili na različitim delovima iste HAP-fp tokom procesa nanošenja. Ovde treba pomenuti da je HA faza mogla da egzistira u različitim formama (vidi poglavlje 2.3.1.2), što je takođe uzeto u obzir i od strane *Sun i saradnika* [30]. Naime, sve forme HA faze mogu da utiču na relativnu kristaličnost HA prevlaka. Međutim, s obzirom da je u ovom radu utvrđeno dominantno prisustvo *rekristalisane HA faze*, ova forma HA je imala dominantan uticaj na relativnu kristaličnost HA prevlaka.

Na osnovu svega prethodnog je ustanovljeno da su površinska fazna heterogenost HAP-fp i i površinska fazna homogenost HAP-kp najverovantije bile posledica procesa rekristalizacije, a da je korelacija između varijacija lokalnih relativnih intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  i lokalne debljine HA prevlaka bila samo prividna. U slučaju HAP-fp, izražena fazna heterogenost površine je najverovatnije bila rezultat različitih procesa rekristalizacije koji su se istovremeno uspostavili na debljim (lokacija merenja 9) i tanjim (lokacija merenja 1) delovima ovih HA prevlaka tokom procesa nanošenja atmosferskim plazma sprej postupkom.



### 6.1.5. Analogija između uticaja *SOD* i promena morfoloških svojstava HA prevlaka u pravcu interfejsa prevlaka/substrat i uticaj *SOD*

Upoređivanjem rezultata SM analize na poliranim poprečnim presecima debljih (lokacija merenja 9) (vidi Sl.121a, poglavlje 5.3.1.2.2) i tanjih (lokacija merenja 1) (vidi Sl.122a, poglavlje 5.3.1.2.2) delova HAP-fp je utvrđeno da deblji delovi HAP-fp sadrže veći udeo poroznosti (P) i delimično istopljenih čestica polaznog fHAP (di-HAP) u odnosu na tanje delove HAP-fp. Drugim rečima, prisustvo P i di-HAP se smanjivalo u pravcu interfejsa i smeru od lokacije merenja 9 ka 1 (za detalje vidi polirane poprečne preseke HAP-fp u **prilogu D**). Takođe, upoređivanjem hemijski nagriženih poliranih poprečnih preseka HAP-fp na debljim (vidi Sl.123a, poglavlje 5.3.1.2.3) i tanjim (vidi Sl.124a, poglavlje 5.3.1.2.3) delovima ovih prevlaka je ustanovljeno da je udeo tamnijih i nagriženih površina bio manji na debljim u odnosu na tanje delove HAP-fp, kao i to da je debljina lamela rekristalisane HA faze (rHA) bila veća na debljim u odnosu na tanje delove HAP-fp (gde u pojedinim slučajevima lamele nisu mogle da se detektuju). Drugim rečima, udeo hemijski nagriženih ACP oblasti je rastao, dok su debljina i prisustvo rHA lamela opadali, ili su one bile teže uočljivije, u pravcu interfejsa i smeru od lokacije merenja 9 ka 1 (za detalje vidi hemijski nagrižene poprečne preseke HAP-fp u **prilogu E1**).

S druge strane, upoređivanjem rezultata SM analize poliranih poprečnih preseka HAP-fp za  $SOD=100$  mm (vidi Sl.129b, poglavlje 5.3.1.3.2) sa onima za  $SOD=150$  mm (vidi Sl.129c, poglavlje 5.3.1.3.2) ili rezultata za različito  $SOD$  i isto  $T_S$  u slučaju HAP-fp (vidi prilog D) je utvrđeno da povećanje  $SOD$  dovodi do smanjenja udela P i di-HAP u ovim prevlakama bez obzira na lokaciju merenja. Takođe, upoređivanjem rezultata SM analize hemijski nagriženih poprečnih preseka HAP-fp za  $SOD=100$  mm (vidi Sl.131b, poglavlje 5.3.1.3.2) sa onima za  $SOD=150$  mm (vidi Sl.131c, poglavlje 5.3.1.3.3) ili rezultata za različito  $SOD$  i isto  $T_S$  u slučaju HAP-fp je utvrđeno da povećanje  $SOD$  povećava prisustvo tamnijih i nagriženih površina, dok smanjuje prisustvo i debljinu rHA lamela. Drugim rečima, povećanje  $SOD$  je uticalo na povećanje udela hemijski nagriženih ACP oblasti i smanjenje prisustva i debljine rHA lamela (za detalje uporedi hemijski nagrižene poprečne preseke HAP-fp u **prilogu E1** koje su nanese pri različitim  $SOD$  i istim  $T_S$ ).

Ako se uporede pregledi rezultata iz prvog i drugog paragrafa ovog poglavlja, može se zaključiti da su promene morfoloških svojstava HAP-fp u pravcu interfejsa i smeru od lokacije merenja 9 ka 1 bile analogne uticaju povećanja *SOD* na ova svojstva.

Prethodna istraživanja su pokazala kontradiktorne rezultate vezane za uticaj *SOD* na stepen topljenja čestica HA u plazma mlazu (vidi Tab.5, poglavlje 2.4.3) [30,66,67,69,75,94]. S jedne strane, neke grupe autora su primetile da povećanje *SOD* utiče na povećanje stepena topljenja čestica HA praha [30,69,75], dok su druge grupe autora utvrdile suprotne efekte [66,67,94]. U studijama koje su proučavale uticaj *SOD* na poroznost [30,59,66] su takođe izneta suprotna mišljenja, odnosno da povećanje *SOD* smanjuje poroznost [30], ali i da je povećava [59,66]. U ovom radu je utvrđeno da povećanje *SOD* povećava stepen topljenja čestica fHAP u *PJ-100* plazma mlazu (na osnovu detekcije manjeg prisustva di-HAP), kao i to da smanjuje poroznost HAP-fp. Ovi rezultati su bili u saglasnosti sa rezultatima studija [30,69,75]. Ovde je posebno interesantno poređenje rezultata studija *Sun i saradnika* [30] i *Kweh i saradnika* [66]. Naime, ovi autori su za uporedive opsege  $SOD=80-160$  mm (*Sun i saradnici*) i  $SOD=100-140$  mm (*Kweh i saradnici*) dobili potpuno suprotne rezultate vezane za uticaj *SOD* na poroznost i stepen topljenja HA čestica u plazma mlazu. *Sun i saradnici* su objasnili da povećanje *SOD* produžava vreme boravka čestica HA pod uticajem plazma mlaza, što uzrokuje dugotrajnije topljenje ovih čestica [30], dok su *Kweh i saradnici* izneli da je povećanje *SOD*, u njihovom slučaju, uticalo na pad gustine termičke energije i smanjenje efikasnosti nanošenja, tj. da je povećanje *SOD* favorizovalo hlađenje čestica HA praha [66]. Pri razmatranju uticaja *SOD* na stepen topljenja HA čestica u plazma mlazu od izuzetne važnosti je poznavanje raspodele brzine (vidi Sl.12, poglavlje 2.1.2.3) i temperature (vidi Sl.14d, poglavlje 2.1.2.3) ovih čestica u aksijalnom pravcu plazma mlaza. Naime, postoji neko kritično rastojanje od izlaza iz mlaznice (kritična vrednost *SOD*) pri kome temperatura čestica HA po izlasku iz plazma plaza postaje jednaka temperaturi topljenja ovih čestica, dok pri većim rastojanjima od kritičnog temperatura postaje manja od temperature topljenja (vidi Sl.14d, poglavlje 2.1.2.3) i otpočinju procesi očvršćavanja u istopljenom delu čestice HA. S druge strane, za čestice HA istih veličina i morfoloških svojstava, vrednost kritičnog *SOD* će zavisiti od postignutih brzina čestica HA na izlazu iz plazma mlaza. Ako su brzine čestica HA velike, kritična vrednost *SOD* će biti veća, pa će i efekti

topljenja čestica biti prisutni na većim rastojanjima od izlaza iz mlaznice, dok će u suprotnom efekti topljenja biti izraženi na manjim rastojanjima od izlaza iz mlaznice. Slična tumačenja uticaja *SOD* su data i u studiji *Lu i saradnika* [67]. Na osnovu prethodnog, može da se zaključi da uticaj *SOD* na stepen topljenja i poroznost HA prevlaka umnogome zavisi od konstrukcije plazmatrona i primenjenih eksperimentalnih parametara procesa nanošenja, na osnovu čega mogu da se objasne razlike u tumačenju uticaja *SOD* u studijama *Sun i saradnika* [30] i *Kweh i saradnika* [66]. U ovom radu je već nekoliko puta pomenuto da *PJ-100* plazmatron poseduje superiorna svojstva u odnosu na konvencionalne plazma sprej instalacije i da se u njemu postižu brzine plazma mlaza koje su nekoliko puta veće od prosečnih [85]. Zbog velikih brzina čestica polaznog fHAP, koje se dostižu u *PJ-100* plazma mlazu, najverovatnije je i kritična vrednost *SOD* bila velika, zbog čega je povećanje *SOD* uzrokovalo intenzivnije topljenje čestica fHAP.

Ako se ponovo napravi osvrt na analogiju između uticaja povećanja *SOD* na morfološka svojstva HAP-fp i promene ovih svojstava u pravcu interfejsa prevlaka/substrat u smeru od lokacije merenja 9 ka 1, može se pretpostaviti da su istopljene čestice fHAP u *PJ-100* plazma mlazu, koje su u većini slučajeva udarale u oblast substrata na tanjem delu HAP-fp (lokacija merenja 1), boravile duže vremena na temperaturama koje su veće od temperature topljenja HA u poređenju sa česticama HA, koje su u većini slučajeva udarale u oblast substrata na debljem delu HAP-fp (lokacija merenja 9). Ovakvo tumačenje detektovanih razlika u morfološkim svostavima u pravcu interfejsa prevlaka/substrat HAP-fp se bazira na činjenici da čestice HA praha manjih dimenzija mogu da ispoljavaju različite brzine u radijalnom pravcu plazma mlaza. Naime, još 1980-tih godina prošlog veka, *Lesinski i saradnici* [11] (vidi Sl.15b, poglavlje 2.1.2.3), a kasnije i *Pfender* [2], su pokazali da brzina čestica prahova u plazma mlazu opada od centra ka bočnim delovima plazma mlaza, posmatrano u odnosu na radijalni pravac plazma mlaza. Takođe je bilo ustanovljeno da su razlike u brzini čestica u centralnim i bočnim delovima plazma mlaza izraženije u slučaju prahova manjih dimenzija (vidi Sl.11, poglavlje 2.1.2.3) [2]. Ovo je objašnjeno time što čestice prahova manjih dimenzija poseduju manju inerciju u odnosu na čestice prahova većih dimenzija i da su zbog toga njihove brzine podložnije promenama u plazma mlazu, što je prikazano na Sl.12 i 16a (vidi poglavlje 2.1.2.3) [3,15]. Na osnovu prethodnog,

pretpostavljeno je da su čestice fHAP, koje su udarale u oblast substrata na tanjem delu HAP-fp (lokacija merenja 1) posedovale manje brzine u plazma mlazu od čestica fHAP koje su udarale u oblast substrata na debljem delu HAP-fp (lokacija merenja 9) (vidi ilustraciju na Sl.162a, poglavlje 6.1.8). Drugim rečima, čestice fHAP na lokaciji merenja 1 su dominantno pripadale sporijim česticama iz bočnih delova *PJ-100* plazma mlaza, dok su čestice na lokaciji merenja 9 dominantno pripadale bržim česticama iz centralnog (aksijalnog) dela plazma mlaza. Manje brzine i duže vreme boravka radijalno udaljenih čestica fHAP u plazma mlazu mogu da objasne manje prisustvo poroznosti i di-HAP, veću amorfnost i tanje rHA lamele na tanjim delovima HAP-fp.

Na poprečnim preseccima HAP-kp su primećene slične promene u morfološkim svojstvima sa povećanjem *SOD* kao u slučaju HAP-fp (uporedi Sl.130b i 130c, poglavlje 5.3.1.3.2, kao i Sl.132b i 132c, poglavlje 5.3.1.3.3), s tom razlikom da su prisustvo i dimenzije di-HAP bile veće i da je lamelnost čestica kHAP depozita bila značajno manje izražena. S druge strane, razlike u morfološkim svojstvima između lokacija merenja 9 i 1 nisu primećene u ovim prevlakama (uporedi Sl.121b i 122b, poglavlje 5.3.1.2.2, kao i Sl.123b i 124b, poglavlje 5.3.1.2.3). Razlog za nepostojanje razlika u morfološkim svojstvima HAP-kp između lokacija merenja 9 i 1, tj. u pravcu interfejsa prevlaka/substrat, može da se objasni na osnovu veće inercije čestica kHAP u plazma mlazu i njihovoj manjoj podložnosti ka promenama brzina u plazma mlazu, što je najverovatnije uticalo na uniformniju raspodelu brzina ovih čestica u radijalnom pravcu plazma mlaza i uniformnije topljenje čestica kHAP, a time i homogeniju strukturnu raspodelu u pravcu interfejsa prevlaka/substrat (vidi ilustraciju na Sl.162b, poglavlje 6.1.8).

U ovom radu je takođe ispitan uticaj *SOD* na relativnu kristaličnost HA prevlaka. Za HAP-kp je, na osnovu MRS analize, u najvećem broju slučajeva utvrđeno da je povećanje *SOD* uzrokovalo tendenciju smanjenja relativne kristaličnosti HAP-kp (povećanje relativnog intenziteta  $R_1$  i smanjenje  $R_2$ ) (vidi Sl.126, poglavlje 5.3.1.3.1 i Sl.143, poglavlje 5.3.3.1). Ovaj rezultat je u saglasnosti sa većinom prethodnih studija koje su se bavile uticajem *SOD* na relativnu kristaličnost HA prevlaka (vidi Tab.5, poglavlje ) [30,52,59,66,69,75,85,86], osim u slučaju dve studije [67,94]. Većina studija smanjenje relativne kristaličnosti pripisuje efektima “produžene dehidroksilacije i topljenja čestica HA u plazma mlazu” [30,52,69,75], što je posledica dužeg boravka

čestica HA u plazma mlazu sa povećanjem aksijalnog rastojanja od izlaza iz mlaznice, tj. sa povećanjem *SOD*. Nedostatak hidroksilnih grupa u čestici HA praha retardira proces rekristalizacije HA iz istopljenog dela čestice ili iz ACP faze (vidi poglavlje 2.2.4). U ovom slučaju, s obzirom da je pojava rekristalisane forme HA onemogućena usled nedostatka hidroksilnih grupa, aktivaciona energija za rekristalizaciju sledeće najverovatnije faze (OA) je gotovo dvostruko veća u odnosu na onu za HA [44], dok je još veća za TCP i TTCP faze, za čije rekristalizacije su neophodne značajnije preraspodele atoma u poređenju sa OA [32,50]. Iz ovih razloga, istopljeni deo hidroksidicitarnih čestica HA većim delom prelazi u ACP fazu po udaru u substrat, a ovaj udeo ACP se povećava sa povećanjem *SOD* usled povećanog efekta dehidroksilacije. Rezultati MRS analize, koja je izvedena na poliranim poprečnim presecima HAP-kp sa lokacije merenja 5, su pokazali da je povećanje *SOD* uticalo na povećanje relativnog intenziteta  $R_1$  i primetno smanjenje  $R_2$  u oblasti blizu interfejsa, što je ukazivalo na smanjenu relativnu kristaličnost HAP-kp, odnosno na povećanje udela ACP faze u ovoj oblasti (vidi Sl.143, poglavlje 5.3.3.1). Povećanje udela ACP u oblasti blizu interfejsa je takođe potvrđeno i na poprečnim presecima HAP-fp na kojima je primećeno da je na uzorcima nanesenim pri većim *SOD* prisutna izražena pojava delaminacije HAP-kp, čiji se efekat povećavao sa povećanjem *SOD* (vidi Sl.141, poglavlje 5.3.3.1). *Morks i Kobayashi* su prisustvo delaminacije HAP-fp povezali sa prisustvom krte ACP faze u formi kontinualnog sloja uz interfejs prevlaka/substrat [59], što je primećeno i u ovom radu. Ovde je takođe neophodno istaći da su promene *SOD* u mnogo većoj meri uticale na strukturne promene u donjoj nego u gornjoj polovini prevlake posmatrano u pravcu debljine HAP-kp. Ovaj rezultat je moguće povezati sa efektima akumulacije toplote i rehidroksilacije iz okolne atmosfere, koji pospešuju efekat rekristalizacije tokom formiranja prevlake, što je detaljno objašnjeno u poglavlju 2.3.1.1, koje se bavi *Sun-ovim* modelom formiranja HA prevlaka [30].

U slučaju HAP-fp, SM analiza je ukazivala na to da povećanje *SOD* uopšteno izaziva smanjenje relativne kristaličnosti HAP-fp, što je primećeno na osnovu povećanja udela tamnijih i nagriženih ACP oblasti na poprečnim presecima HAP-fp (vidi Sl.131b 131c, poglavlje 5.3.1.3.3, kao i **prilog E1**). Ovi rezultati su se slagali sa rezultatima MRS analize, na osnovu koje je na najvećem broju lokacija merenja utvrđena tendencija povećanja ili stagnacije relativnog intenziteta  $R_1$  i smanjenja ili

stagnacije  $R_2$ , što je ukazivalo na povećanje ili održanje relativne kristaličnosti HAP-fp sa povećanjem  $SOD$  (vidi Sl.125, poglavlje 5.3.1.3.1). Međutim, MRS merenja su na određenim lokacijama merenja pokazala i diskontinualnu promenu relativnih intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  sa povećanjem  $SOD$  (vidi Sl.125, poglavlje 5.3.1.3.1 i Sl.137d, poglavlje 5.3.2.3), što je ukazivalo na diskontinualnu promenu relativne kristaličnosti. Analogne diskontinualne promene efekta delaminacije HAP-fp su takođe detektovane na interfejsu prevlaka/substrat (vidi Sl.136, poglavlje 5.3.2.3). Za ovakve promene relativne kristaličnosti je pretpostavljeno da su verovatnije posledica interakcije istopljenih ili delimično istopljenih čestica fHAP sa substratom ili prethodno formiranim HA depozitom nego posledica uticaja  $SOD$ , što je detaljnije diskutovano u narednom poglavlju 6.1.6.

### **6.1.6. Uticaj predgreivanja substrata ( $T_S$ )**

U ovom radu je za HAP-kp ustanovljeno da povećanje  $T_S$  povećava relativnu kristaličnost u svim slučajevima ovih prevlaka, bez obzira na  $SOD$  pri kome je izvršen proces nanošenja (vidi Sl.128, poglavlje 5.3.1.3.1 i Sl.145 i 146, poglavlje 5.3.3.2). U HAP-kp, nanesenim pri  $SOD=80$  mm, povećanje  $T_S$  na 200 °C je uzrokovalo eliminaciju prisutnog gradijenta kristaličnosti, a rezultujuće prevlake su dostigle najveću relativnu kristaličnost i homogenost strukturne raspodele od svih prevlaka ispitivanih u ovom radu (vidi Sl.146d, poglavlje 5.3.3.2). Povećanje  $T_S$  je takođe uticalo na eliminaciju prisustva prslina na interfejsu prevlaka/substrat (vidi Sl.144, poglavlje 5.3.3.2). Ovi rezultati su bili potpuno analogni rezultatima studije *Morks i Kobayashi* [59]. Međutim, iako je povećanje  $T_S$  u svim uzorcima izazvalo povećanje relativne kristaličnosti, u uzorcima HAP-kp koji su bili nanesenim pri  $SOD>80$  mm, predgreivanje substrata na  $T_S=200$  °C nije u potpunosti uklonilo prisustvo ACP faze i delaminaciju ovih prevlaka, koja je bila izazvana sečenjem ručnom testerom (vidi Sl.141, poglavlje 5.3.3.1). Ovaj rezultat pri većim  $SOD$  je pripisan dominantnom uticaju smanjenog sadržaja hidroksilnih grupa, koje su neophodne za rekristalizaciju HA iz istopljenog dela čestica HA ili ACP faze u prethodno formiranom depozitu.

U slučaju HAP-fp, na osnovu MRS analize je utvrđeno da povećanje  $T_S$  može da uzrokuje povećanje, stagnaciju ili smanjenje relativne kristaličnosti prevlaka na

određenim lokacijama merenja (vidi Sl.127, poglavlje 5.3.1.3.1 i Sl.139e i 140, poglavlje 5.3.2.4). Posebna pažnja je bila posvećena slučaju diskontinualne promene relativnih intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  sa povećanjem  $T_S$ , koje su ukazivale na diskontinualnu promenu relativne kristaličnosti (vidi Sl.139e i 140, poglavlje 5.3.2.4). U prethodnim istraživanjima *Saber-Samandari i saradnika* je jasno pokazano da predgrevanje substrata ima značajan uticaj na smanjenje debljine čestica HA depozita i povećanje površine kontakta između ovih čestica i substrata na interfejsu (vidi Sl.22, poglavlje 2.1.3), kao i međulamelnog kontakta između čestica depozita u materijalu HA prevlake (vidi Sl.23, poglavlje 2.1.3) [26]. U ovom radu je pretpostavljeno da je ovakav uticaj  $T_S$  bio posledica dva konkurentna procesa, koji proizvode suprotne efekte na brzinu hlađenja istopljenih ili delimično istopljenih čestica HA pri njihovom udaru u substrat ili prethodno formirani depozit. U prvom slučaju, predgrevanje substrata uzrokuje smanjenje brzine hlađenja pri udaru čestica HA, dok u drugom slučaju povećanje  $T_S$  smanjuje debljinu čestica HA i povećava površinu kontakta ove čestice sa podlogom [26], što za posledicu ima efikasniji prenos toplote sa čestice HA na podlogu i povećanje brzine hlađenja ove čestice. Iako povećanje  $T_S$  uopšteno smanjuje brzinu hlađenja, može i da izazove prekomerno smanjenje debljine čestica HA i na taj način smanji vremenski period njihovog hlađenja i izazove suprotan efekat, tj. povećanje brzine hlađenja, što uzrokuje lokalni pad relativne kristaličnosti. Ovaj efekat je najverovatnije uzrokovao povećanje relativnog intenziteta  $R_1$  i smanjenje  $R_2$  sa povećanjem  $T_S$  na 100 °C (vidi Sl.140, poglavlje 5.3.2.4). Međutim, dalje povećanje  $T_S$  na 200 °C je najverovatnije kompenzovalo i nadjačalo efekat povećanja brzine hlađenja usled prekomernog smanjenja debljine čestica HA depozita i izazvalo smanjenje brzine hlađenja, što je uticalo na blago smanjenje relativnog intenziteta  $R_1$  i povećanje  $R_2$ , tj. na blago povećanje relativne kristaličnosti HAP-fp na posmatranim lokacijama merenja. Ovakav scenario je moguć u slučaju HAP-fp prevlaka, jer je SM analiza hemijski nagriženih poprečnih preseka ovih prevlaka pokazala izraženu lamelnost istopljenih čestica depozita fHAP, kao i evidentno smanjenje debljine ovih čestica sa povećanjem  $T_S$  (uporedi Sl.138b, 138e i 138h, poglavlje 5.3.2.4, a za detaljno poređenje morfologije poprečnih preseka vidi **prilog E1**). S druge strane, u slučaju HAP-kp nije primećena izražena lamelnost morfologije hemijski nagriženih poprečnih preseka ovih prevlaka, niti značajna promena debljine lamela istopljenih čestica kHAP (uporedi Sl.132a i 132b,

poglavlje 5.3.1.3.3, a za detaljnije poređenje vidi **prilog E1**). Ovo je ukazivalo na to da je efekat povećanja  $T_S$  na smanjenje brzine hlađenja ovih čestica bio dominantniji u odnosu na efekat smanjenja debljine čestica kHAP depozita, koji uzrokuje povećanje brzine hlađenja ovih čestica, što može da objasni zašto je u svim delovima HAP-kp primećeno povećanje relativne kristaličnosti sa povećanjem  $T_S$  (vidi Sl.128, poglavlje 5.3.1.3.1 i Sl.146, poglavlje 5.3.3.2). Ovde je važno da se istakne da diskontinualna promena relativne kristaličnosti u slučaju HAP-fp nije detektovana na svim lokacijama merenja HAP-fp i za sve  $SOD$ . Ako se uporede MRS rezultati za različite  $SOD$  (vidi Sl.127, poglavlje 5.3.1.3.1), lako se uočava da pri  $SOD=80$  i  $150$  mm uticaj  $T_S$  nije toliko izražen kao pri  $SOD=100$  mm. Iako je evidentno bio prisutan, statistički posmatrano, uticaj  $T_S$  na promene relativne kristaličnosti u HAP-fp je bio slabo izražen. Naime, pri  $SOD=80$  mm (vidi Sl.127, poglavlje 5.3.1.3.1), efekat dehidroksilacije čestica fHAP u plazma mlazu je bio najmanji, ali uticaj  $T_S$  nije bio toliko izražen. Ovo se može objasniti dominantnim uticajem brzine hlađenja pri  $SOD=80$  mm, jer istopljene čestice fHAP imaju najveće temperature pri najmanjim  $SOD$  pa se i najbrže hlade pri udaru u substrat, zbog čega su najverovatnije bile neophodne veće temperature predgrevanja kako bi se izazvalo smanjenje brzine hlađenja, što je opet, s druge strane, moglo da izazove suprotne efekte na drugim delovima HAP-fp usled njihove izražene fazne heterogenosti. Pri  $SOD=150$  mm, uticaj  $T_S$  nije bio izražen najverovatnije zbog prekomerne dehidroksilacije čestica fHAP usled dugotrajnijeg boravka ovih čestica u plazma mlazu. Međutim, pri  $SOD=100$  mm, opisani efekti brzine hlađenja i dehidroksilacije su najverovatnije bili konkurentni procesi, zbog čega je i primećeno veliko prisustvo diskontinualnih promena u lokalnoj relativnoj kristaličnosti HAP-fp sa povećanjem  $T_S$  (vidi Sl.127, poglavlje 5.3.1.3.1).



### 6.1.7. Prsline, promena intenziteta Ramanovih modova OH<sup>-</sup> grupa u pravcu debljine HA prevlaka i zaostala makro-naprezanja

**Prsline.** U ovom radu je izvršena procena pojava prslina u uzorcima HA prevlaka koje su sečene ručnom testerom pod dejstvom velikih naprezanja. Cilj ovih ispitivanja je bio da se identifikuju lokacije pojave mikro-prslina i delaminacije HA prevlaka, što bi ukazalo na to koji delovi prevlaka pokazuju manju otpornost ka pojavi loma. Drugim rečima, invazivno sečenje ručnom testerom je ukazalo na “slaba mesta”, koja su se javila na spoju prevlaka/substrat i/ili u zapremini HA prevlaka. U slučaju obe vrste ispitivanih prevlaka, HAP-fp (vidi Sl.133, poglavlje 5.3.2.1, Sl.134, poglavlje 5.3.2.2 i Sl.136c, 136f i 136i, poglavlje 5.3.2.3 i Sl.138c, 138f i 138i) i HAP-fp (vidi Sl.141, poglavlje 5.3.3.1 i Sl.144, poglavlje 5.3.3.2), utvrđeno je da su mikro-prsline i delaminacija HA prevlaka dominantno bile locirane u ACP oblastima posmatranih poprečnih preseka, dok prisustvo ovih mikro-strukturnih defekata nije uočeno u oblastima koje su bile bogatije sadržajem rekristalisane HA faze (rHA oblasti na slikama). Ovakvi rezultati su bili u potpunom skladu sa zapažanjima u studiji *Morks i Kobayashi* [59]. Ovi autori su prisustvo prslina i propagaciju prslina kroz ACP fazu povezali sa krtom prirodom ove faze [59]. Međutim, rezultati ispitivanja u ovom radu su takođe pokazali da nije uvek slučaj da se prisustvo ACP faze može vezati za prisustvo mikro-prslina. Naime, na poprečnim presecima HAP-fp, koji su bili nanoseni pri  $SOD=150$  nm, ako se izuzme pojava delaminacije na interfejsu, na poprečnom preseku, koji je bio skoro potpuno amorfan (ACP oblast), nije utvrđeno prisustvo mikro-prslina (vidi Sl.136i, poglavlje 5.3.2.3). Najveća pojava mikro-prslina je utvrđena na poprečnim presecima uzoraka HAP-fp nanosenih pri  $SOD=100$  nm bez predgrevanja substrata ( $T_S=20$  °C) (vidi Sl.136f, poglavlje 5.3.2.3). U ovim uzorcima je takođe bila utvrđena najheterogenija raspodela ACP i rHA oblasti po površini čitavog poprečnog preseka (vidi Sl.136e, poglavlje 5.3.2.3). Eksperimenti predgrevanja substrata ovih prevlaka su pokazali da je povećanje  $T_S$  uzrokovalo smanjenje debljine lamela čestica fHAP depozita i ravnomerniju raspodelu ACP i rHA oblasti na poprečnim presecima uzoraka (vidi Sl.138b, 138e i 138h, poglavlje 5.3.2.4), kao i istovremeno drastično smanjenje prisustva mikro-prslina u centralnim delovima poprečnih preseka (vidi Sl.138c, 138f i 138i, poglavlje 5.3.2.4). Ovi rezultati su pokazali da uniformnija raspodela ACP i rHA

oblasti može značajno da umanja mogućnost pojave mikro-prslina i na taj način da poveća kohezionu/adhezionu čvrstoću HA prevlaka. Naime, ukoliko je u strukturi HA prevlaka na određenim lokacijama prisutna kontinualna i veća ACP oblast, mogućnost za inicijaciju mikro-prslina na ivicama pora i njihovu propagaciju kroz ACP oblast je realno prisutna. Ravnomerna raspodela rHA faze po zapremini HA prevlaka može da predstavlja dodatni otpor propagaciji prslina. Statistički posmatrano, rezultati ovog rada su pokazali da prisustvo rekristalisane HA faze u zapremini prevlaka i/ili u oblasti blizu interfejsa u velikoj meri doprinosi boljoj kohezionoj i/ili adhezionoj čvrstoći HA prevlaka, respektivno.

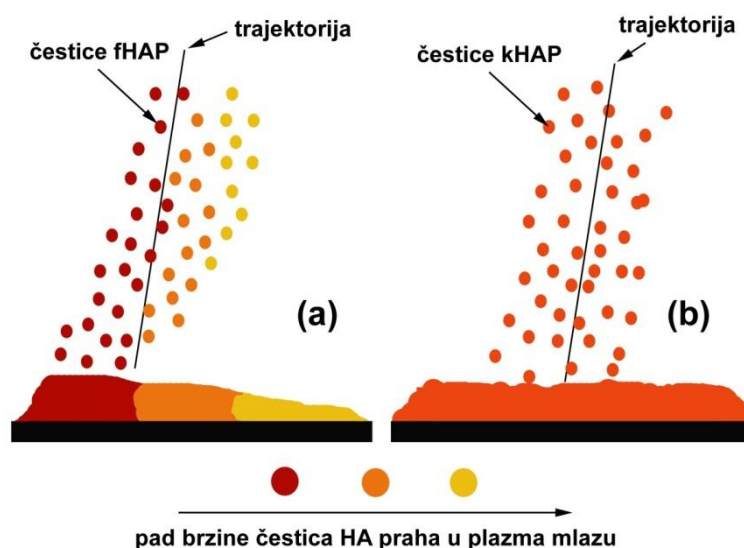
**Promena promena intenziteta Ramanovih modova OH<sup>-</sup> grupa u pravcu debljine HA prevlaka.** U ovom radu su vršena kvalitativna ispitivanja vezana za promene sadržaja hidroksilnih grupa u pravcu debljine HA prevlaka (vidi Sl.148, poglavlje 5.3.4). Naime, MRS ispitivanja HAP-fp nisu utvrdila prisustvo OH<sup>-</sup> u strukturi ovih prevlaka bez obzira na uslove procesa nanošenja (vidi Sl.148a, poglavlje 5.3.4), dok su u slučaju HAP-kp, koje su bile nanosene pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=200$  °C, MRS ispitivanja ustanovila prisustvo OH<sup>-</sup> pri istim eksperimentalnim uslovima merenja (vidi Sl.148b, poglavlje 5.3.4). Ovi rezultati su potvrdili uticaj veličine polaznog HA praha, prema kome dehidroksilacija postaje intenzivnija u plazma mlazu sa smanjenjem srednje veličine čestica polaznog HA praha. U ovim merenjima je interesantno pomenuti da su promene intenziteta pikova karakterističnih za istežući OH<sup>-</sup> mod opadale sa povećanjem rastojanja od interfejsa u slučaju HAP-kp (vidi Sl.148b, poglavlje 5.3.4). Naime, prethodna istraživanja su ustanovila suprotan efekat (vidi Sl.36b, poglavlje 2.3.1.2). S obzirom da u ovom radu nisu vršena detaljna merenja i ispitivanja hidroksilnih grupa u HA prevlakama, nije bilo moguće navesti preciznije razloge za detektovani fenomen.

**Zaostala makro-naprezanja.** XRPD analiza površinskih delova HAP-fp (vidi Sl.149a i 149c, poglavlje 5.3.5) i HAP-kp (Sl.149b i 149d, poglavlje 5.3.5) je pokazala zanemarljivo pomeranje položaja pikova u difraktogramima HAP-fp u odnosu na njihov položaj u difraktogramima fHAP, dok je u slučaju HAP-kp zabeleženo značajno uniformno pomeranje pikova ka višim vrednostima uglova difrakcije u odnosu na kHAP. Prethodna istraživanja su pokazala da je pomeranje svih *Bragg-ovih* pikova posledica zaostalih uniformnih makro-naprezanja usled razlike u koeficijentu termičkog

širenja HA prevlake i metalnog substrata tokom hlađenja sistema nakon procesa nanošenja [58,225]. Rezultati prikazani u ovom radu su pokazali da površinski delovi HAP-fp najverovatnije nisu bili izloženi zaostalim makro-napreznjima, dok su površinski delovi HAP-kp najverovatnije bili pod ovim uticajem. Pomeranje pikova ka višim uglovima može da ukazuje na to da su površinski delovi HAP-kp bili izloženi zaostalim kompresivnim makro-napreznjima [225]. Ovde treba napomenuti da je pomeranje difrakcionih pikova bilo najmanje izraženo kod površinskih delova HAP-kp debljina  $\sim 100 \mu\text{m}$ , koje su bile nanese pri  $SOD=80 \text{ mm}$  i  $T_S=200 \text{ }^\circ\text{C}$  (vidi Sl.149d, poglavlje 5.3.5). Sa stanovišta primene HA prevlaka, poznato je da prisustvo zaostalih napreznja može da ima uticaja na procese rastvaranja HA prevlaka u telesnim tečnostima. Prethodna istraživanja su pokazala da prisustvo zaostalih kompresivnih makro-napreznja ima inhibitorski efekat na procese rastvaranja HA prevlaka, što se smatra povoljnim u kontekstu mehaničkog integriteta i veka trajanja HA prevlaka [112].

### 6.1.8. Dopuna *Sun-ovog* modela formiranja HA prevlaka

Na Sl.162 je prikazana ilustracija uprošćenih modela formiranja HAP-fp (Sl.162a) i HAP-kp (Sl.162b) predloženih u ovom radu.



**Sl.162.** Uprošćeni model raspodela brzina istopljenih i delimično istopljenih čestica fHAP (a) i kHAP (b) u radijalnom pravcu *PJ-100* plazma mlaza.

Na Sl.162a su prikazane čestice fHAP koje nisu posedovale iste brzine u pravcu normalnom na srednju trajektoriju čestica. S obzirom da je opseg veličina čestica fHAP iznosio grubo 20-45  $\mu\text{m}$ , a pretpostavka je da je u određenom procentu bilo čestica čije su veličine izlazile iz ovog opsega, jedan deo čestica fHAP većih dimenzija je najverovatnije posedovao dovoljnu inerciju da izvrši veću penetraciju plazma mlaza pri doziranju fHAP praha (crvene čestice na Sl.162a), dok je drugi deo čestica fHAP imao inerciju dovoljnu da izvrši samo manju penetraciju plazma mlaza (žute čestice na Sl.162a). Prema prethodnim istraživanjima (vidi Sl.9-11, 14a-14c i 15, poglavlje 2.1.2.3), čestice fHAP koje su izvršile potpuniju penetraciju plazma mlaza su posedovale veće brzine i temperaturu od čestica fHAP koje su izvršile manju penetraciju plazma mlaza (vidi detaljnije objašnjenje za Sl.14a-14c, poglavlje 2.1.2.3). Na Sl.162a je simbolično prikazano da čestice manjih brzina sporije dosežu površinu podloge, zbog čega su na slici prikazane na većim rastojanjima. Zbog razlike u brzini, žute čestice fHAP su bile duže izložene visokim temperaturama plazma mlaza u poređenju sa crvenim česticama fHAP. Na osnovu diskusije o kritičnom *SOD* (vidi četvrti paragraf poglavlja 6.1.5), temperature žutih čestica fHAP su najverovatnije bile veće od temperature topljenja HA. Zbog dužeg izlaganja ovim temperaturama, ove čestice su bile potpunije istopljene, i potpunije dehidroksilovane u poređenju sa crvenim česticama fHAP. Drugim rečima, stepeni topljenja i stepeni dehidroksilacije čestica fHAP nisu bili isti posmatrano u odnosu na radijalni pravac plazma mlaza, što je uticalo na pojavu različitih procesa rekristalizacije na različitim delovima iste HAP-fp (vidi Sl.162a).

S druge strane, opseg veličina čestica kHAP je iznosio 75-105  $\mu\text{m}$ . Razlike između najmanjih i najvećih čestica iz ovog opsega je praktično bila ista kao u slučaju fHAP. Međutim, značajno veća srednja veličina čestica kHAP je najverovatnije uticala presudno na ponašanje ovih čestica u poređenju sa fHAP. Naime, na Sl.16 (vidi poglavlje 2.1.2.3) su upoređeno ponašanje čestica, čija je raspodela veličina odgovarala opsezima iste širine ali bitno različite srednje veličine čestica (20-50  $\mu\text{m}$  i 70-100  $\mu\text{m}$ ). Sl.16 prikazuje manje varijacije brzine i temperature čestica u slučaju kada se njihove veličine bile u opsegu 70-100  $\mu\text{m}$ . Na osnovu prethodnog, može da se pretpostavi da je većina čestica kHAP, usled velike inercije, vršila ravnomerniju penetraciju *PJ-100* plazma mlaza, zbog čega su ove čestice posedovale ravnomerniju raspodelu brzina u

radijalnom pravcu plazma mlaza u poređenju sa česticama fHAP (Sl.162b). Kao direktna posledica prethodnog, HAP-kp prevlake su ispoljavale homogeniju strukturu u pravcu paralelnom sa interfejsom prevlaka/substrat u poređenju sa HAP-fp.

S obzirom da Sun-ov model (vidi poglavlje 2.3.1.1) [30] ne predviđa mogućnost da čestice HA praha mogu da imaju različite brzine u radijalnom pravcu plazma mlaza, uprošćeni model formiranja HAP-fp na Sl.162a može da se smatra dopunom Sun-ovog modela formiranja HA prevlaka. Svi rezultati hemijskih, strukturnih i morfoloških ispitivanja u velikoj meri potvrđuju model šematski predstavljen na Sl.162a.

## **6.2. Eksperimenti u simuliranim telesnim tečnostima i biomineralizacija HA prevlaka**

### **6.2.1. Polazne simulirane telesne tečnosti**

U ovom radu su definisane i testirane procedure pravljenja simuliranih telesnih tečnosti po uzoru na Kokubo rastvore [103,108]. Bilo je neohodno da se modifikuje procedura za pripremu rastvora iz studije *Kokubo i Takadama* [103], kako bi bilo moguće da se primeni sistem za aktivnu regulaciju pH simuliranih telesnih tečnosti pomoću CO<sub>2</sub> [115]. Polazne simulirane telesne tečnosti su imale visoku vrednost pH (10.2-10.8) i nisu sadržale CaCl<sub>2</sub>×2H<sub>2</sub>O. Iako nisu vršena dugotrajnija ispitivanja stabilnosti ovakvih formi rastvora, treba napomenuti da vizuelno nisu bile primećene tendencije taloženja u masi ovih rastvora, kao ni na zidovima kontejnera u kojima su skladištene, u odsustvu CaCl<sub>2</sub>×2H<sub>2</sub>O.

Osnovna razlika između polaznih rastvora HHS i NS je bila razlika u polaznom sadržaju HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> jona. HHS rastvori su sadržali ~17.4 mmol/l HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, dok su NS rastvori sadržali ~24 mmol/l HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (vidi Tab.18, poglavlje 4.2.2.2). Iako su ovi rastvori imali različit molarni Cl<sup>-</sup>/Na<sup>+</sup> odnos, nije postojala značajna razlika u jonskim proizvodima ovih rastvora.

Polazno stanovište za pravljenje simuliranih telesnih tečnosti sa različitim molarnim Cl<sup>-</sup>/Na<sup>+</sup> odnosima i početnim koncentracijama HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> je bilo da se simuliraju jonski neorganski sastav krvnih plazmi ljudskog organizma u stanju hiperhloroemične

metaboličke acidoze (HHS rastvor) i normalnom stanju (NS rastvori) [101]. Takođe, poznato je da u ljudskom organizmu postoje dva glavna regulatora nivoa  $\text{HCO}_3^-$  jona [250]. Prvi regulator su bubrezi, koji su zaduženi za održavanje kiselo-bazne ravnoteže i nivoa  $\text{HCO}_3^-$  jona na dnevnoj bazi (metabolička komponenta regulacije), dok su drugi regulator pluća, koja održavaju kiselo-baznu ravnotežu i nivo  $\text{HCO}_3^-$  jona na nivou minuta [250] (respiratorna komponenta regulacije). Na osnovu ovih principa, početni sadržaji  $\text{HCO}_3^-$  jona uvedeni u HHS i NS rastvore su mogli grubo da se smatraju analognim regulaciji pH ravnoteže i nivoa  $\text{HCO}_3^-$  jona pomoću metaboličke komponente (bubrezi), dok je dovođenje  $\text{CO}_2$  iz boce u HHS rastvore bilo analogno regulaciji pomoću respiratorne komponente (pluća).

Praćenje promena u ATR-FTIR spektrima i pH tokom procedure pravljenja polaznih HHS i NS rastvora je pokazalo da promene na spektrima prate realne promene pH. Naime, svako povećanje pH je bilo praćeno smanjenjem integralnog intenziteta savijajućeg vibracionog moda molekula vode lociranog na  $\sim 1632 \text{ cm}^{-1}$ , i obrnuto (vidi Sl.152, poglavlje 5.4.1). S druge strane, na ATR-FTIR spektrima je uočeno da su promene u jonskim koncentracijama  $\text{HCO}_3^-$  i  $\text{CO}_3^{2-}$  jona izazvale merljive promene integralnih intenziteta modova ovih jonskih vrsta na ATR-FTIR spektrima, koje su takođe pratile promenu integralnog intenziteta savijajućeg moda molekula vode lociranog na  $\sim 1632 \text{ cm}^{-1}$  (vidi Sl.152, poglavlje 5.4.1). Ovi rezultati su ukazali na potencijal ATR-FTIR metode za simultano praćenje promena koncentracija hidronijum i karbonskih jona, čija je korelacija definisana *Henderson-Hasselbalch-ovom* jednačinom [113].

### 6.2.2. Stabilnost pH simuliranih telesnih tečnosti

Uvođenjem  $\text{CO}_2$  u polazne HHS i NS rastvore bez prisustva proteina i  $\text{Ca}^{2+}$  jona (HHS-C i NS-C rastvori, vidi Sl.154 i 155, poglavlje 5.4.3) uzrokovalo je približno istu promenu pH sa vremenom (vidi Tab.20, poglavlje 5.4.3). S obzirom da su HHS-C i NS-C rastvori imali približno iste jonske proizvode, otpor difuziji  $\text{CO}_2$  iz rastvora u okolnu atmosferu je bio približno isti u oba rastvora, što je izazvalo slične promene pH sa vremenom. Ovi rezultati su bili u skladu sa rezultatima *Barrere i saradnika* vezanim za uticaj jonskog proizvoda vode na promene pH sa vremenom [150].

U prethodnim istraživanjima je pokazano da prisustvo  $\text{Ca}^{2+}$  jona u rastvorima koji sadrže karbonske i fosfatne vrste vodi ka stvaranju jonskih parova i kompleksa tipa  $\text{Ca-CO}_3$ ,  $\text{Ca-PO}_4$  i  $\text{Ca-CO}_3\text{-PO}_4$  (vidi poglavlje 2.5.3.1.3) [112,155-159]. Ovi procesi dalje vode ka stvaranju *Posnerovih* klastera, što je praćeno padom pH vrednosti (vidi jednačine 25 i 26, poglavlje 2.5.3.1.3) [158]. Rezultati u ovom radu su pokazali da je uvođenje fiziološke koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$  jona u HHS-C i NS-C rastvore (HHS-C-Ca i NS-C-Ca rastvori, vidi Sl.154, poglavlje 2.5.3.1.3) uzrokovalo blago usporenje promene pH sa vremenom. Ovo usporenje je pripisano procesu formiranja *Posnerovih* klastera koji uzrokuje povećanje koncentracije hidronijum jona u rastvorima, tj. smanjenje pH, i na taj način se suprotstavlja povećanju pH usled difuzije  $\text{CO}_2$  iz rastvora u okolnu atmosferu. Ovde je neophodno naglasiti da je promena pH sa vremenom bila sporija u HHS-C-Ca rastvoru u poređenju sa NS-C-Ca (vidi Tab.20, poglavlje 5.4.3).

Uvođenje fiziološke smeše proteina HGG i HSA u HHS i NS rastvore (HHS-CP i NS-CP rastvori, vidi Sl.154, poglavlje 2.5.3.1.3) je uzrokovalo značajan pad u promeni pH sa vremenom u oba rastvora. Sporije promene pH u prisustvu proteina su najverovatnije bile uslovljene uticajem proteina na difuziju  $\text{CO}_2$  iz rastvora u okolnu atmosferu. Naime, *Gros i Moll* su još 1970-tih godina izvršili detaljna ispitivanja interakcije  $\text{CO}_2$  sa albuminom u vodenim rastvorima ovog proteina [167]. Ukratko, ovi autori su zaključili da difuzija  $\text{CO}_2$  kroz vodeni rastvor albumina zavisi od difuzije albumina i ovaj mehanizam difuzije  $\text{CO}_2$  je danas poznat kao “*olakšana difuzija  $\text{CO}_2$* ” (eng. “*facilitated diffusion of  $\text{CO}_2$* ”) [167]. Ovde je neophodno naglasiti da je promena pH sa vremenom bila sporija u HHS-CP rastvoru u poređenju sa NS-CP (vidi Tab.20, poglavlje 5.4.3).

Pored navedenog, prethodna dva paragrafa su pokazala da su promene pH sa vremenom u prisustvu  $\text{Ca}^{2+}$  jona (prvi paragraf) i proteina (drugi paragraf) bile sporije u HHS rastvorima u poređenju sa NS. *Barrere i saradnici* su jasno pokazali da povećanje koncentracije  $\text{HCO}_3^-$  jona utiče na povećanje puferskog kapaciteta rastvora [150]. S obzirom da su HHS rastvori sadržali manju početnu koncentraciju  $\text{HCO}_3^-$  jona u poređenju sa NS rastvorima, to znači da su ispoljavali slabiji puferski kapacitet od NS rastvora, koji su efikasnije kompenzovali uticaj  $\text{Ca}^{2+}$  i proteina na pH promene sa vremenom.

Rezultati ispitivanja pH stabilnosti simuliranih telesnih tečnosti su jasno pokazali da  $\text{CO}_{2(\text{aq})}/\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$  sistem ima izraženija puferska svojstva od ispitivane fiziološke smeše proteina u oblasti fiziološke pH (7.0-7.8). S druge strane, ako se uporede promene pH sa vremenom u prisustvu proteina dobijene u ovom radu (vidi Tab.20, poglavlje 5.4.3) sa rezultatima prethodnih studija (vidi Sl.51, poglavlje 2.5.3.1.1 i Sl.52, poglavlje 2.5.3.1.2) [149,150], može da se zaključi da je stabilnost pH u prisustvu proteina u ovom radu bila istog reda veličine kao u pomenutim studijama u rastvorima bez proteina, ili čak i manja. Ovaj rezultat je pokazao da fiziološka smeša proteina HGG i HSA ima slabu puferski kapacitet u oblasti fiziološke pH, što je u saglasnosti sa studijom *Curvale*, koja je pokazala da puferski kapacitet proteina albumin dolazi do izražaja na  $\text{pH} < 6.5$  i  $\text{pH} > 8.5$  (vidi Sl.53, poglavlje 2.5.3.2.1) [166].

### 6.2.3. Formiranje karbonatnog apatita na površini HA prevlaka

U eksperimentima bez aktivne regulacije pH pomoću  $\text{CO}_2$  (vidi Sl.158a, poglavlje 5.4.4), promene pH sa vremenom su bile sporije kada su u HHS-C-Ca i HHS-CP-Ca rastvore bile uronjene HAP-fp u poređenju sa HAP-kp (vidi Sl.159, poglavlje 5.4.4). Ovde je neophodno pomenuti da je srednja površinska kristaličnost ispitanih HAP-kp koje su nanosene pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=20$  °C bila veća od srednje površinske kristaličnosti ispitanih HAP-fp nanosenih pri istim uslovima atmosferskog plazma sprej postupka (upoređi površinske spektre ovih HA prevlaka u **prilogu C2-2**). Zbog razlike u površinskoj kristaličnosti, rastvorljivost HAP-fp je bila veća od rastvorljivosti HAP-kp. S obzirom da proces rastvaranja podrazumeva emisiju  $\text{Ca}^{2+}$  jona u masu rastvora, akumulacija ovih jona u rastvoru je najverovatnije bila veća u slučaju HAP-fp u poređenju sa HAP-kp. Upoređivanjem razlike u promeni pH sa vremenom na Sl.159 između HAP-kp i HAPfp, sa razlikama u ovim promenama u prisustvu i odsustvu  $\text{Ca}^{2+}$  jona na Sl.154 (vidi poglavlje 5.4.3), utvrđeno je postojanje analogije između ovih razlika. Ovi rezultati su pokazali da brže rastvaranje HAP-fp u poređenju sa HAP-kp akumulira veće količine  $\text{Ca}^{2+}$  jona u masi rastvora, što je moglo da dovede do intenzivnijeg taloženja karbonatnog apatita na površinama HAP-fp u poređenju sa HAP-kp. Ovakva pretpostavka je moguća, s obzirom da je u eksperimentima sa  $4\times$  većom koncentracijom  $\text{Ca}^{2+}$  jona od fiziološke vrednosti za ovaj jon bilo izazvano



prevremeno taloženje apatitnih soli u HHS i NS rastvorima (vidi Sl.155, poglavlje 5.4.3).

Upoređivanjem T-FTIR spektara sa površina HAP-kp (vidi Sl.160, poglavlje 5.4.4) i HAP-fp (vidi Sl.161, poglavlje 5.4.4) nakon eksperimenata u HHS-C simuliranim telesnim tečnostima bez aktivne regulacije pH pomoću CO<sub>2</sub>, može da se primeti da su CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> pikovi, koji ukazuju na prisustvo karbonatnog apatita između 1400-1500 cm<sup>-1</sup> bili nešto intenzivniji u slučaju HAP-fp u poređenju sa HAP-kp. U prisustvu proteina (HHS-CP), intenzitet ovih pikova je opao u slučaju obe vrste prevlaka, ali je i dalje bio izraženiji u slučaju HAP-fp. S druge strane, amidni pikovi na na ~1550 i ~1650 cm<sup>-1</sup>, koji ukazuju na prisustvo proteina, su takođe detektovani na površini obe vrste prevlaka. Ovi rezultati su pokazali da proces intenzivnijeg rastvaranja HA prevlaka utiče na kinetiku procesa taloženja karbonatnog apatita bez obzira na prisustvo proteinskih vrsta, koje su evidentno imale inhibitorski efekat na kinetiku procesa formiranja karbonatnog apatita. Takođe, evidentno prisustvo karbonskih i amidnih pikova na površini HAP-kp i HAP-fp je pokazalo da su procesi taloženja karbonatnog apatita i adsorpcije proteina na površini HA prevlaka simultani procesi. Ovi rezultati su bili u skladu sa rezultatima studija koje su pokazale mogućnost da su adsorpcija proteina i taloženje karbonatnog apatita paralelni procesi [114,142].

S druge strane, aktivna regulacija pH pomoću CO<sub>2</sub> (HHS-C i HHS-CP) je uticala na primetno smanjenje intenziteta karbonskih i amidnih pikova u slučaju obe vrste prevlaka, ali su oni i dalje bili prisutni.

## 7. ZAKLJUČAK

U prvom delu ovog rada je ispitan uticaj veličine polaznog HA praha, rastojanja substrata od izlaza mlaznice (*SOD*) i inicijalne temperature substrata ( $T_S$ ) na hemijska, strukturna i morfološka svojstva HA prevlaka nanesenih pomoću visokoenergetskog laminarnog atmosferskog plazma sprej postupka. U drugom delu rada je razvijena procedura pravljenja modifikovanih Kokubo rastvora u kojima je moguća aktivna regulacija pH pomoću  $\text{CO}_2$ , ispitana je pH stabilnost ovih simuliranih telesnih tečnosti, formiranje karbonatnog apatita na površinama dobijenih HA prevlaka u ovim rastvorima, kao i uticaj prisustva fiziološke smeše ljudskih proteina albumin i globulin na pH stabilnost i proces formiranja karbonatnog apatita. Rezultati su pokazali sledeće:

- Pored razlika u srednjim veličinama čestica finijih ( $33 \pm 12 \mu\text{m}$ ) (fHAP) i krupnijih ( $90 \pm 15 \mu\text{m}$ ) (kHAP) HA prahova, ustanovljene su razlike u morfološkim, hemijskim i faznim svojstvima ovih prahova, koje su pripisane razlikama u postupku sinteze. SEM analiza je pokazala da su fHAP bili nepravilnog sferičnog oblika, a kHAP nepravilnog poliedarskog oblika. XRF i EDS analize su ukazale na visoke elementarne čistoće fHAP i kHAP, ali i na postojanje razlike u molarnom Ca/P odnosu, pri čemu su fHAP ispoljavali svojstvo kalcijum-deficitarnosti (molarni  $\text{Ca/P} < 1.667$ ), dok su kHAP bili približno stehiometrijski (molarni  $\text{Ca/P} \approx 1.667$ ). XRPD i MRS analize su ukazale na visoku faznu čistoću fHAP, ali i na moguće prisustvo u tragovima TTCP faze u kHAP. ATR-FTIR analiza je ukazala na prisustvo  $\text{CO}_3^{2-}$  jonske supstitucije  $\text{PO}_4^{3-}$  tetraedra u obe vrste prahova (B-tip supstitucije) i na moguće prisustvo  $\text{HPO}_4^{2-}$  jonske supstitucije  $\text{PO}_4^{3-}$  u fHAP, koja je ukazivala na kalcijum-deficitarnost ovog polaznog praha.
- XRPD analiza površinskih delova prevlaka od fHAP (HAP-fp) i kHAP (HAP-kp) je ukazala na prisustvo faznih nečistoća u ovim prevlakama. U HAP-fp je detektovano veće prisustvo faznih nečistoća (ACP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP, TTCP i CaO) i manje prisustvo OA, dok je u HAP-kp detektovano manje prisustvo faznih nečistoća (ACP,  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP i TTCP) i nešto veće prisustvo OA, dok CaO

faza nije bila detektovana. ATR-FTIR i T-FTIR analize su ukazale na prisustvo OA faze u HA prevlakama. Ovi rezultati su pokazali da je uticaj veličine polaznih HA prahova bio dominantan u odnosu na postojeće razlike u morfološkim, hemijskim i faznim svojstvima ovih prahova, a pripisan je većem termičkom razlaganju fHAP u odnosu na kHAP, kao i bržem hlađenju istopljenih i delimično istopljenih čestica fHAP u odnosu na čestice kHAP. Pored pomenutog, XRPD analiza je ustanovila da su ACP i HA faze bile dominantno prisutne faze u HAP-fp, dok je HA faza bila dominantno zastupljena u HAP-kp.

- XRPD analiza površinskih delova HAP-fp i HAP-kp je pokazala da se integralni intenziteti glavnih difrakcionih pikova TCP, TTCP, CaO i OA faza ne menjaju značajno sa promenom  $SOD$  i  $T_S$ . Ovaj rezultat je ukazivao na to da su ove faze bile dominantno oformljene termičkim razlaganjem polaznih HA prahova u plazma mlazu, a odsustvo njihovih promena u površinskim delovima HA prevlaka sa  $SOD$  i  $T_S$  je pripisano većoj aktivacionoj entalpiji koja je neophodna za njihovu rekristalizaciju tokom formiranja ovih prevlaka. Za razliku od pomenutih faza, u HAP-fp koje su nanese na različitim  $SOD$  i  $T_S$  je zabeležena značajna promena relativnih sadržaja ACP i HA faze, dok u slučaju HAP-kp ta promena nije bila izražena. Ove promene relativnih sadržaja ACP i HA faza u HAP-fp, kao i dominantno prisustvo HA faze u HAP-kp, su pripisani značajno manjoj vrednosti aktivacione entalpije neophodne za rekristalizaciju HA faze iz: (i) istopljenog dela potpuno ili delimično istopljenih čestica HA praha pri njihovom udaru u substrat i (ii) ACP faze locirane u prethodno formiranom depozitu pri prelazu toplote sa nadolazećih istopljenih ili delimično istopljenih čestica polaznog HA praha.
- Svi površinski Raman spektri HAP-fp i HAP-kp su pokazali najznačajnije promene u intervalu frekvencija  $900-1020\text{ cm}^{-1}$  unutar koga je zabeležena pojava tri Ramanova pika:  $A_1$ , lociranog na  $949-951\text{ cm}^{-1}$ ,  $A_2$ , na  $961-963\text{ cm}^{-1}$  i  $A_3$ , na  $966-969\text{ cm}^{-1}$ . MRS analiza površina HA prevlaka je pokazala da promena sume ( $R_2+R_3$ ) relativnih intenziteta Ramanovih pikova  $A_2$  i  $A_3$  prati promenu relativne

kristaličnosti površinskih delova istih prevlaka određenih pomoću XRPD analize sa tačnošću od ~5%. Iako su integralni intenziteti  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  Ramanovih pikova bili pod uticajem faznih nečistoća TCP i TTCP, koje su evidentno bile prisutne, promene relativnih intenziteta ( $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ ) Ramanovih pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su mogle da budu pripisane promenama relativnih sadržaja ACP, HA i OA faza, na osnovu dobrog slaganja rezultata MRS i XRPD analiza, kao i na osnovu verovatnoće rekristalizacije pojedinih faza, od kojih HA zahteva najmanju aktivacionu entalpiju za proces rekristalizacije.

- MRS analiza površina HAP-fp i HAP-kp i merenja debljine ovih prevlaka kalibrisanim mikrometrom su pokazala prisustvo izražene fazne heterogenosti i neuniformnosti debljine HAP-fp i prisustvo veće fazne homogenosti i uniformnije debljine HAP-kp. Analiza lokalne površinske strukture i merenja lokalne debljine HA prevlaka su ustanovila postojanje moguće veze između ovih veličina. Međutim, MRS, XRPD i SM analize u pravcu debljine HA prevlaka na različitim delovima ovih prevlaka su ukazale na to da je lokalna površinska struktura HA prevlaka posledica procesa rekristalizacije tokom formiranja ovih prevlaka. Potvrda ovog rezultata je dobijena nakon SM analize morfologije poprečnih preseka HAP-fp i HAP-kp. Ustanovljeno je da je struktura HA prevlaka bila pretežno oformljena od potpuno istopljenih čestica polaznih HA prahova koje su pri udaru u substrat rekristalisale. Na osnovu prethodnog, sve promene relativnog sadržaja HA faze, koje su bile praćene pomoću XRPD, MRS i SM analiza, su mogle da budu dominantno pripisane rekristalisanjoj formi HA faze, na osnovu čega je moglo da se zaključi da je detektovana fazna heterogenost površine HAP-fp, kao i fazna homogenost HAP-kp, bila uzrokovana procesima rekristalizacije tokom formiranja ovih prevlaka, dok je veza između lokalne površinske strukture i lokalne debljine HA prevlaka bila samo prividna.
- Bez obzira na lokaciju merenja, SM analiza morfologije poprečnih preseka HA prevlaka je ustanovila da je povećanje *SOD* uticalo na: (i) smanjenje prisustva delimično istopljenih čestica polaznih HA prahova, (ii) smanjenje poroznosti,

(iii) povećanje prisustva ACP faze, (iv) smanjenje prisustva rekristalisane HA faze, i (v) smanjenje debljine lamela HA depozita. Ovi rezultati su dominantno pripisani većem stepenu topljenja i većem stepenu dehidroksilacije čestica polaznih HA prahova sa povećanjem *SOD*. Zbog velikih brzina čestica polaznih HA prahova, koje se najverovatnije postižu u *PJ-100* plazma mlazu, pretpostavljeno je da su temperature ovih čestica na rastojanjima substrata od izlaza iz mlaznice  $SOD < 150$  mm bile dominantno iznad temperature topljenja HA faze.

- SM ispitivanja su pokazala da je promena morfoloških svojstava poprečnih preseka HAP-fp, u pravcu koji je bio paralelan interfejsu prevlaka/substrat i smeru od debljih ka tanjim delovima ovih prevlaka, bila analogna opisanom uticaju *SOD* na promene morfoloških svojstava poprečnih preseka HAP-fp, dok je u slučaju HAP-kp promena morfoloških svojstava u pravcu koji je paralelan interfejsu prevlaka/substrat bila praktično zanemarljiva. Ovi rezultati su bili u skladu sa rezultatima XRPD i MRS analize. S obzirom da povećanje *SOD* produžava vreme boravka čestica HA prahova pod uticajem visokih temperatura, tj. smanjuje brzinu čestica u plazma mlazu, pretpostavljeno je da su promene morfoloških svojstava u pravcu koji je paralelan interfejsu HAP-fp bile posledica različitih brzina istopljenih čestica fHAP u radijalnom pravcu *PJ-100* plazma mlaza. Ova pretpostavka je uvedena na osnovu prethodnih istraživanja, koja su pokazala da čestice prahova manjih dimenzija imaju manju inerciju zbog čega su podložnije promenama brzine pod uticajem plazma mlaza, za razliku od čestica krupnijih prahova koje imaju veću inerciju i manje su podložne promenama brzina u plazma mlazu. Ovo je najverovatniji uzrok veće strukturne homogenosti HAP-kp u pravcu koji je paralelan interfejsu prevlaka/substrat. Kao posledica ovih rezultata, u ovom radu je predložena dopuna trenutno aktuelnog *Sun-ovog* modela formiranja HA prevlaka, koja za razliku od tog modela uzima u obzir mogućnost da čestice HA praha mogu da poseduju različite brzine u radijalnom pravcu plazma mlaza.

- SM analiza morfologije poprečnih preseka HAP-fp je ustanovila da je povećanje  $T_S$  uzrokovalo: (i) smanjenje poroznosti, (ii) smanjenje debljina lamela čestica HA depozita i (iii) uniformniju raspodelu ACP i rHA oblasti, kao posledicu smanjenja debljine lamela čestica HA depozita. S druge strane, uticaj povećanja  $T_S$  u slučaju HAP-kp nije bio evidentan, jer ove prevlake nisu pokazale izraženu laminarnost morfologije poprečnih preseka.
- Iako je u najvećem broju slučajeva za HAP-fp utvrđeno da povećanje  $SOD$  sa 80 na 150 nm za posledicu ima trend smanjenja relativne kristaličnosti, MRS analiza poprečnih preseka je na pojedinim lokacijama merenja ustanovila da povećanje  $SOD$  dovodi do diskontinualne promene relativne kristaličnosti (blagi porast pa blagi pad relativne kristaličnosti). Takođe, MRS analiza je utvrdila da povećanje  $T_S$  u intervalu temperatura između 20 i 200 °C, statistički posmatrano, praktično ne utiče na promenu relativne kristaličnosti. Međutim, na pojedinim lokacijama merenja je evidentno utvrđena diskontinualna promena relativne kristaličnosti (blagi pad sa povećanjem  $T_S$  na 100 °C i blagi rast sa povećanjem  $T_S$  na 200 °C). Ovi efekti su pripisani procesima koji imaju suprotan efekat na brzinu hlađenja čestica pri udaru u substrat. Naime, iako povećanje  $T_S$  principijelno utiče na smanjenje brzine hlađenja istopljene ili delimično istopljene čestice HA pri udaru u substrat, ono takođe utiče i na smanjenje debljine ove čestice, što za posledicu ima povećanje površine kontakta ove čestice sa podlogom i povećanje brzine hlađenja. Za blagu diskontinualnu promenu relativne kristaličnosti HA prevlaka, koja je uočena sa povećanjem  $SOD$ , se pretpostavlja da je bila prvenstveno posledica uticaja opisane interakcije istopljenih ili delimično istopljenih čestica HA sa podlogom. S druge strane, u najvećem broju slučajeva HAP-kp, MRS analiza je utvrdila da povećanje  $SOD$  utiče na smanjenje relativne kristaličnosti, a da povećanje  $T_S$  utiče na povećanje relativne kristaličnosti. Pojava diskontinualnih promena relativnih kristaličnosti nije primećena, što je pripisano većoj debljini lamela HA depozita, tj. slabo izraženoj lamelarnosti morfologije poprečnih preseka HAP-kp. Naime, u ovom slučaju, kada je u pitanju npr. uticaj povećanja  $T_S$ , predgrevanje substrata je imalo dominantan uticaj na brzinu hlađenja čestica HA

praha iz plazma mlaza, dok je slabo izražena promena u debljini lamela HA depozita, pri povećanju  $T_S$ , imala zanemarljiv efekat na brzinu hlađenja čestica HA praha iz plazma mlaza.

- Na osnovu poređenja poliranih poprečnih preseka uzoraka HA prevlaka sečenih dijamantskom i ručnom testerom, utvrđeno je, na osnovu rezultata SM i SEM analiza, da je sečenje ručnom testerom unelo značajnu pojavu mikro-prslina i delaminacije u HA prevlakama. U slučaju HAP-kp, na centralnim delovima ovih prevlaka (lokacija merenja 5), SEM-EDS i MRS analize su pokazale da su smanjenje  $SOD$  na 80 mm i povećanje  $T_S$  na 200 °C eliminisale prisustvo delaminacije na interfejsu HAP-kp, koja je bila izazvana sečenjem ručnom testerom, i postojanje gradijenta kristaličnosti. U slučaju HAP-fp, na centralnim delovima ovih prevlaka (lokacija merenja 5), na interfejsu prevlaka/substrat, SEM-EDS i MRS analiza su pokazale prisustvo diskontinualnih promena u pojavi delaminacije sa povećanjem  $SOD$ , kao i diskontinualnu promenu relativne kristaličnosti. Sa povećanjem  $T_S$  je utvrđeno smanjenje prisustva prslina na poprečnim presecima HA prevlaka, što je pripisano ravnomernijoj raspodeli ACP i rHA faza usled smanjenja debljine lamela HA depozita. Takođe, povećanje  $T_S$  je na interfejsu uticalo na pojavu diskontinualne promene relativne kristaličnosti. Uočene diskontinualne promene relativne kristaličnosti sa povećanjem  $SOD$  i  $T_S$  su bile blago izražene.
- XRPD analiza površinskih delova HAP-fp nije utvrdila prisustvo zaostalih makro-naprezanja u ovim prevlakama, dok su ova naprezanja bila zapažena u površinskim delovima HAP-kp, čije su debljine bile  $>100 \mu\text{m}$  i koje su bile nanošene pri  $SOD > 80 \text{ mm}$ . Prisustvo zaostalih makro-naprezanja u HAP-kp je pripisano sporijoj brzini hlađenja ovih prevlaka, kada je najverovatnije došla do izražaja razlika u koeficijentima termičkog širenja HAP-kp i substrata od nerđajućeg čelika.
- U ovom radu je izvršena uspešna modifikacija Kokubo rastvora koja omogućuje jednostavnu aktivnu regulaciju pH pomoću fiziološkog pufera  $\text{CO}_2$ . Napravljeni

su rastvori koji simuliraju sastav krvne plazme u stanju hiperhloroemične metaboličke acidoze (HHS rastvori) i rastvori koji simuliraju sastav krvne plazme zdravog ljudskog organizma (NS rastvori).

- Eksperimenti u simuliranim telesnim tečnostima su pokazali efekte dodatka proteina,  $\text{Ca}^{2+}$  jona i uticaj polazne teorijske molarne koncentracije  $\text{HCO}_3^-$  jona na pH stabilnost modifikovanih Kokubo rastvora. Promene pH sa vremenom su bile izazvane dodavanjem  $\text{CO}_2$  do postizanja odgovarajuće vrednosti za HHS (~7.2) i NS (~7.4) rastvore i prekidom dodavanja  $\text{CO}_2$  po dostizanju ovih vrednosti, nakon čega je rast pH sa vremenom bio uslovljen difuzivnošću  $\text{CO}_2$  iz rastvora u okolnu atmosferu. Dodavanje fiziološke proteinske smeše ljudskih proteina albumin i globulin je izazvalo najveći pad u promeni pH sa vremenom, što je pripisano limitiranju procesa difuzije  $\text{CO}_2$  difuzivnošću proteinskih vrsta. Dodatak  $\text{Ca}^{2+}$  jona je uticao na blaže usporenje promene pH u odnosu na dodatak proteina, što je pripisano procesima formiranja apatitnih Posnerovih klastera, koji pospešuju pad pH vrednosti. U slučaju NS rastvora, uticaj dodatka proteina i  $\text{Ca}^{2+}$  jona na promene pH sa vremenom je bio manje izražen u poređenju sa HHS rastvorima, što je pripisano većem puferskom kapacitetu NS rastvora zbog veće polazne koncentracije  $\text{HCO}_3^-$  jona u odnosu na HHS.
- U eksperimentima bez aktivne regulacije pH pomoću  $\text{CO}_2$ , taloženje karbonatnog apatita na površinama HA prevlaka je bilo izazvano nereguliranim porastom pH usled difuzije  $\text{CO}_2$  iz rastvora u okolnu atmosferu. U odsustvu proteina, na T-FTIR spektrima snimljenim na površinama obe vrste prevlaka (HAP-fp i HAP-kp) je uočeno prisustvo pikova između 1400-1500  $\text{cm}^{-1}$ , koji su ukazivali na prisustvo karbonatnog apatita (B-tip). U prisustvu proteina, na T-FTIR spektrima je identifikovano prisustvo  $\text{CO}_3^{2-}$  pikova između 1400-1500  $\text{cm}^{-1}$  i amidnih pikova, koji su redom ukazivali na simultano prisustvo karbonatnog apatita (B-tip) i adsorbovanih proteina na površini obe vrste prevlaka. U eksperimentima sa aktivnom regulacijom pH pomoću  $\text{CO}_2$ , u slučaju bez proteina, na T-FTIR spektrima je primećeno prisustvo slabih pikova koji su ukazivali da je došlo do manjeg taloženja karbonatnog apatita na površini obe



vrste prevlaka. U prisustvu proteina, na T-FTIR spektrima je utvrđeno prisustvo pikova koji su ukazivali na to da su taloženje karbonatnog apatita i adsorpcija proteinskih vrsta na površini HA prevlaka procesi koji se odvijaju paralelno. Pikovi na T-FTIR spektrima dobijenim sa površina HAP-fp koji su ukazivali na prisustvo karbonatnog apatita su bili nešto intenzivniji od pikova dobijenih sa površina HAP-kp, nezavisno od prisustva proteina, što je bilo pripisano većoj rastvorljivosti ovih prevlaka u HHS simuliranim telesnim tečnostima.

Karakterizacija hemijskih, strukturnih i morfoloških svojstava HA prevlaka u ovom radu je pokazala nekoliko principijelnih razlika koje izdvajaju proces nanošenja ovih prevlaka pomoću *PJ-100* instalacije od postupaka koji su primenjeni u prethodnim istraživanjima. Prvo, proces nanošenja HA prevlaka pomoću *PJ-100* plazma pištolja primenom snage plazma izvora od ~52 kW unosi značajno manji sadržaj CaO faze u poređenju sa konvencionalnim plazma instalacijama, iako su kod njih primenjivane značajno niže snage plazma izvora. Drugo, proces nanošenja pomoću *PJ-100* plazma pištolja je uzrokovao pojavu fenomena blagih diskontinualnih promena relativne kristaličnosti u HAP-fp sa povećanjem  $SOD$  i  $T_S$  u relativno uskim intervalima ovih parametara procesa nanošenja, što nije detektovano u prethodnim istraživanjima. Treće, proces nanošenja pomoću *PJ-100* plazma pištolja je ukazao da je moguće bez primene naknadne termičke obrade dobiti HA prevlake visoke strukturne homogenosti u svim delovima njihove zapremine, koja se odlikuje odsustvom delaminacije na interfejsu prevlaka/substrat i odsustvom zaostaih makro-naprezanja. Ovakve prevlake su dobijene nanošenjem HA prahova čija je srednja veličina čestica oko 90 $\mu$ m na substrate od nerđajućeg čelika, pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=200$  °C i debljine ~100  $\mu$ m, uz primenu parametara procesa nanošenja koji su dati u Tab.16.

Rezultati eksperimenata u simuliranim telesnim tečnostima su ukazali na tri važne posledice. Prvo, pokazali su da se proces formiranja karbonatnog apatita na površinama HA prevlaka zaista odvija u simuliranim telesnim tečnostima koje su bile razvijene u ovom radu. Drugo, prisustvo  $CO_3^{2-}$  i amidnih pikova na površinama HA prevlaka u eksperimentima sa aktivnom regulacijom pH pomoću  $CO_2$  su pokazali uspešnu primenu ovog načina regulacije pH simuliranih telesnih tečnosti. I treće, na površinama HA prevlaka nanesenih u ovom radu je ustanovljeno da se početni stadijum

procesa biomineralizacije zaista dešava, što je ukazalo na to da ove prevlake pokazuju potencijal da budu primenjene kao materijali za implantate.

## 8. LITERATURA

- [1] R.W. Smith, *Plasma spray deposition: A need for the direct process control*, (<http://lib.dr.iastate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=2373&context=qnde>), Drexel University, Philadelphia, PA, USA.
- [2] E. Pfernder, *Fundamental studies associated with the plasma spray process*, Surf. and Coat. Technol. 34 (1988) 1-14.
- [3] E. Pfernder, *Plasma jet behavior and modeling associated with the plasma spray process*, Thin Solid Films, 238 (1994) 228-241.
- [4] E. Noguès, P. Fauchais, M. Vardelle, and P. Granger, *Relation Between the Arc-Root Fluctuations, the Cold Boundary Layer Thickness and the Particle Thermal Treatment*, J. Therm. Spray Technol. 16 (5-6) (2007) 919-926.
- [5] J.R. Davis and Associates, *Handbook of thermal spray technology*, ASM International (2004) 65.
- [6] M. Vilotijević, B. Dačić, D. Božić, *Velocity and texture of a plasma jet created in a plasma torch with fixed minimal arc length*, Plasma Sources Sci. Technol. 18 (2009) 015016 1-8.
- [7] J.C. Fang, H.P. Zeng, W.J. Xu, Z.Y. Zhao, L. Wang, *Prediction of in-flight particle behaviors in plasma spraying*, Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering, 18 (1-2) (2006) 283-286.
- [8] Q.-. Fan, L. Wang, F.-c. Wang, *Numerical simulation of temperature and velocity fields in plasma spray*, J. Cent. South Univ. Technol. (2007)04-0496-04 496-499.
- [9] K. Remesh, S.C.M. Yu, H.W. Ng, and C.C. Berndt, *Computational study and experimental comparison of the in-flight particle behavior for an external injection plasma spray process*, ASM International, J. Therm. Spray Technol. 12 (4) (2003) 508-522.
- [10] P. Wei, Z. Wei, G. Zhao, J. Du, Y. Bai, *The analysis of melting and refining process for in-flight particles in supersonic plasma spraying*, Comput. Mater. Sci. 103 (2015) 8-19.

- [11] J. Lesinski, B. Mizera-Lesinska, J. Jurewicz, M.I. Boulos, *Particle and gas velocity measurements*, 88th AICHE National meeting, Philadelphia, Pennsylvania, 8-12 June, 1980.
- [12] M. Vardelle, A. Vardelle, P. Fauchais, K.-I. Li, B. Dussoubs, and N. J. Themelis, *Controlling particle injection in plasma spraying*, J. Therm. Spray Technol. 10 (2) (2001) 267-284.
- [13] B.M. Cetegen and W. Yu, *In-Situ particle temperature, velocity, and size measurements in DC arc plasma thermal sprays*, J. Therm. Spray Technol. 8 (1) (1999) 57-67.
- [14] Y.J. Su, T.F. Bernecki, K.T. Faber, *In-situ characterization of small-particle plasma sprayed powders*, J. Therm. Spray Technol. 11 (1) (2002) 52-61.
- [15] M.P. Planche, R. Bolot, C. Coddet, *In-flight characteristics of plasma sprayed alumina particles: measurements, modeling, and comparison*, J. Therm. Spray Technol. 12 (1) (2003) 101-111.
- [16] B. Dussoubs, A. Vardelle, G. Mariaux, N.J. Themelis, P. Fauchais, *Modeling of plasma spraying of two powders*, J. Therm. Spray Technol. 10 (1) (2001) 105-110.
- [17] P. Wang, S.C.M. Yu, H.W. Ng, *Particle velocities, sizes and flux distribution in plasma spray with two powder injection ports*, Mater. Sci. Eng. A 383 (2004) 122-136.
- [18] T. Zhang, B. Liu, Y. Bao, D. T. Gawne, *Statistical analysis of the motion and heating of particles in a plasma jet*, Plasma Chem. Plasma Process. 25 (4) (2005) 403-425.
- [19] M. I. Boulos, *Thermal plasmas in advanced materials processing*, Trans. Mat. Res. Soc. Jpn., 14A (1994) 647-651.
- [20] S. Dyshlovenko, L. Pawlowski, B. Pateyron, I. Smurov, J.H. Harding, *Modelling of plasma particle interactions and coating growth for plasma spraying of hydroxyapatite*, Surf. Coat. Technol. 200 (2006) 3757 – 3769.
- [21] V. Srinivasan, M. Friis, A. Vaidya, T. Streibl, S. Sampath, *Particle injection in direct current air plasma spray: salient observations and optimization strategies*, Plasma Chem. Plasma Process. 27 (2005) 609-623.

- [22] S. Dyshlovenko, L. Pawlowski, P. Roussel, D. Murano, A. Le Maguer, *Relationship between plasma spray operational parameters and microstructure of hydroxyapatite coatings and powder particles sprayed into water*, Surf. Coat. Technol. 200 (2006) 3845 – 3855.
- [23] Z. Wei, *Integration of process diagnostics and three dimensional simulations in thermal spraying*, PhD dissertation, Stony Brook University, 2008.
- [24] H. Hamatani, W.S. Crawford, M.A. Cappelli, *Optical measurements of plasma velocity and temperature in a low-rate, low-power LPPS system*, Surf. Coat. Technol. 162 (2002) 79-92.
- [25] Y.Z. Zheng, Q. Li, Z.H. Zheng, J.F. Zhu, P.L. Cao, *Modeling the impact, flattening and solidification of a molten droplet on a solid substrate during plasma spraying*, Appl. Surf. Sci. 317 (2014) 526–533.
- [26] S. Saber-Samandari, K. Alamara, S. Saber-Samandari, *Calcium phosphate coatings: Morphology, micro-structure and mechanical properties*, Ceram. Int. 40 (2014) 563–572.
- [27] J. Cizek, K.A. Khor, Z. Prochazka, *Influence of spraying conditions on thermal and velocity properties of plasma sprayed hydroxyapatite*, Mater. Sci. and Eng. C 27 (2007) 340–344.
- [28] S. Yugeswaran, C.P. Yoganand, A. Kobayashi, K.M. Paraskevopoulos, B. Subramanian, *Mechanical properties, electrochemical corrosion and in-vitro bioactivity of yttria stabilized zirconia reinforced hydroxyapatite coatings prepared by gas tunnel type plasma spraying*, J. Mech. Behav. Biomed. Mater. 9 (2012) 105–111.
- [29] B.J. McEntire, B.S. Bal, M.N. Rahaman, J. Chevalier, G. Pezzotti, *Ceramics and ceramic coatings in orthopaedics*, J. Eur. Ceram. Soc. 35 (2015) 4327–4369.
- [30] L. Sun, C.C. Berndt, C.P. Grey, *Phase, structural and microstructural investigations of plasma sprayed hydroxyapatite coatings*, Mater. Sci. Eng. A360 (2003) 70-84.
- [31] I. Demnati, M. Parco, D. Grossin, I. Fagoaga, C. Drouet, G. Barykin, C. Combes, I. Braceras, S. Goncalves, C. Rey, *Hydroxyapatite coating on titanium by a low energy plasma spraying mini-gun*, Surf. Coat. Technol. 206 (2012) 2346 – 2353.

- [32] K.A. Gross, C.C. Berndt, *Thermal processing of hydroxyapatite for coating production*, J. Biomed. Mater. Res. 39 (1998) 580–587.
- [33] M.T. Carayon and J.L. Lacout, *Study of the Ca/P atomic ratio of the amorphous phase in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings*, J. Solid State Chem. 172 (2003) 339–350.
- [34] C.-J. Liao, F.-H. Lin, K.-S. Chen, J.-S. Sun, *Thermal decomposition and reconstitution of hydroxyapatite in air atmosphere*, Biomaterials 20 (1999) 1807-1813.
- [35] I. Demnati, D. Grossin, C. Combes, C. Rey, *Plasma-sprayed apatite coatings: review of physical-chemical characteristics and their biological consequences*, J. Med. Biol. Eng. 34 (1) (2014) 1–7.
- [36] S. Dyshlovenko, B. Pateyron, L. Pawlowski, D. Murano, *Numerical simulation of hydroxyapatite powder behaviour in plasma jet*, Surf. Coat. Technol. 179 (2004) 110-117.
- [37] H.-L. Kim, S.-W. Lee, Y.-S. Kim, D.-J. Kim and W.-J. Lee, *Influence of substrate temperature on the growth rate and the composition of calcium phosphate films prepared by using pulsed laser deposition*, J. Korean Phys. Soc. 49 (6) (2006) 2418-2422.
- [38] K. Tõnsuaadu, K.A. Gross, L. Plūduma, M. Veiderma, *A review on the thermal stability of calcium apatites*, J. Therm. Anal. Calorim. 110 (2012) 647–659.
- [39] Đ. Veljović, *Ispitivanje uticaja parametara procesiranja na svojstva biokeramičkih materijala na bazi kalcijum-hidroksiapatita i kalcijum-fosfata dobijenih različitim tehnikama sinterovanja*, Doktorska disertacija, Tehnološko-metalurški fakultet, Univezitet u Beogradu, 2010.
- [40] R.B. Heimann, *Thermal spraying of biomaterials*, Surf. Coat. Technol. 201 (2006) 2012-2019.
- [41] C.-W. Yang, T.-M. Lee, T.-S. Lui, E. Chang, *Effect of post vacuum heating on the microstructural feature and bonding strength of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings*, Mater. Sci. and Eng. C 26 (2006) 1395 – 1400.
- [42] C.F. Feng, K.A. Khor, E.J. Liu and P. Cheang, *Phase transformations in plasma sprayed hydroxyapatite coatings*, Scripta mater. 42 (2000) 103–109.

- [43] F.-H. Lin, L. Chun-Jen, C. Ko-Shao, S. Jui-Sheng, *Thermal reconstruction behavior of the quenched hydroxyapatite powder during reheating in air*, Mater. Sci. Eng. C13 (2000) 97–104.
- [44] K.A. Gross, V. Gross, C.C. Berndt, *Thermal Analysis of Amorphous Phases in Hydroxyapatite Coatings*, J. Am. Ceram. Soc. 81 (1) (1998) 106–12.
- [45] C.-C. Chen and S.-J. Ding, *Effect of Heat Treatment on Characteristics of Plasma Sprayed Hydroxyapatite Coatings*, Mater. Trans. 47 (3) (2006) 935-940.
- [46] W. Tong, J. Chen, Y. Cao, L. Lu, J. Feng, X. Zhang, *Effect of water vapor pressure and temperature on the amorphous-to-crystalline HA conversion during heat treatment of HA coatings*, J. Biomed. Mater. Res., Vol. 36, 242–245 (1997).
- [47] Y. Cao, J. Weng, J. Chen, J. Feng, Z. Yang, X. Zhang, *Water vapour-treated hydroxyapatite coatings after plasma spraying and their characteristics*, Biomaterials 17 (1996) 419-424.
- [48] H. Lia, K.A. Khor, P. Cheang, *Properties of heat-treated calcium phosphate coatings deposited by high-velocity oxy-fuel (HVOF) spray*, Biomaterials 23 (2002) 2105-2112.
- [49] L. Pawlowski, *The science and engineering of thermal spray coatings*, Second Edition, John Wiley & Sons, Ltd., 2008.
- [50] K.A. Gross, CC. Berndt, P. Stephens, R. Dinnebier, *Oxyapatite in hydroxyapatite coatings*, J. Mater. Sci. 33 (1998) 3985-3991.
- [51] W. Tong, J. Chen, X. Zhang, *Amorphization and recrystallization during plasma spraying of hydroxyapatite*, Biomaterials 16 (1995) 829-632.
- [52] K.A. Gross, C.C. Berndt, H. Herman, *Amorphous phase formation in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings*, J. Biomed. Mater. Res. 39 (1998) 407–414.
- [53] C. Hesse, M. Hengst, R. Kleeberg, J. Gotze, *Influence of experimental parameters on spatial phase distribution in as-sprayed and incubated hydroxyapatite coatings*, J. Mater. Sci: Mater. Med. (2008) 19: 3235–3241.
- [54] L. Yan, Y. Leng, L.-T. Weng, *Characterization of chemical inhomogeneity in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings*, Biomaterials 24 (2003) 2585–2592.
- [55] J. Wen, Y. Leng, J. Chen, C. Zhang, *Chemical gradient in plasma-sprayed HA coatings*, Biomaterials 21 (2000) 1339-1343.

- [56] G.L. Darimont, B. Gilbert, R. Cloots, *Non-destructive evaluation of crystallinity and chemical composition by Raman spectroscopy in hydroxyapatite-coated implants*, Mater. Lett. 58 (2003) 71–73.
- [57] S. Kozerski, L. Pawlowski, R. Jaworski, F. Roudet, F. Petit, *Two zones microstructure of suspension plasma sprayed hydroxyapatite coatings*, Surf. Coat. Technol. 204 (9-10) (2010) 1380-1387.
- [58] R.A. Surmenev, *A review of plasma-assisted methods for calcium phosphate-based coatings fabrication*, Surf. Coat. Technol. 206 (2012) 2035-2056.
- [59] M.F. Morks, A. Kobayashi, *Influence of spray parameters on the microstructure and mechanical properties of gas-tunnel plasma sprayed hydroxyapatite coatings*, Mater. Sci. Eng. B 139 (2007) 209–215.
- [60] W. Xue, S. Tao, X. Liu, X.-B. Zheng, C. Ding, *In vivo evaluation of plasma sprayed hydroxyapatite coatings having different crystallinity*, Biomaterials 25 (2004) 415–421.
- [61] P. Cheang, K.A. Khor, *Addressing processing problems associated with plasma spraying hydroxyapatite coatings*, Biomaterials 17 (1996) 537-544.
- [62] A. Dey, A.K. Mukhopadhyay, S. Gangadharan, M.K. Sinha, D. Basu, *Characterization of microplasma sprayed hydroxyapatite coating*, J. Therm. Spray Technol. 18 (4) (2009) 578-592.
- [63] M.F. Morks, A. Kobayashi, *Influence of gas flow rate on the microstructure and mechanical properties of hydroxyapatite coatings fabricated by gas tunnel type plasma spraying*, Surf. Coat. Technol. 201 (2006) 2560-2566.
- [64] K.A. Khor and P. Cheang, *Characterization of thermal sprayed hydroxyapatite powders and coatings*, J. Therm. Spray Technol. 3 (1) (1994) 45-50.
- [65] Y.-C. Yang, E. Chang, *Measurements of residual stresses in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings on titanium alloy*, Surf. Coat. Technol. 190 (2005) 122–131.
- [66] S.W.K. Kweh, K.A. Khor, P. Cheang, *Plasma-sprayed hydroxyapatite (HA) coatings with flame-spheroidized feedstock: microstructure and mechanical properties*, Biomaterials 21 (2000) 1223–1234.



- [67] Y.P. Lu, S.T. Li, R.F. Zhu, M.S. Li, *Further studies on the effect of stand-off distance on characteristics of plasma sprayed hydroxyapatite coating*, Surf. Coat. Technol. 157 (2002) 221–225.
- [68] H. Li, K.A. Khora, P. Cheang, *Thermal sprayed hydroxyapatite splats: nanostructures, pore formation mechanisms and TEM characterization*, Biomaterials 25 (2004) 3463–3471.
- [69] J.-L. Sui, W. Bo, Z. Hai, N. Cao, M.-S. Li, *Effects of stand-off distance on structure and mechanical properties of hydroxyapatite coatings plasma-sprayed onto carbon/carbon composites*, Surf. Rev. Lett. 14 (3) (2007) 371–376.
- [70] J. Ballarre, D.A. López, N.C. Rosero, A. Duran, M. Aparicio, S.M. Cere, *Electrochemical evaluation of multilayer silica–metacrylate hybrid sol–gel coatings containing bioactive particles on surgical grade stainless steel*, Surf. Coat. Technol. 203 (2008) 80–86.
- [71] S.-j. Ding, T.-h. Huang, C.-t. Kao, *Immersion behavior of plasma-sprayed modified hydroxyapatite coatings after heat treatment*, Surf. Coat. Technol. 165 (2003) 248–257.
- [72] W. Tong, J. Chen, X. Li, Y. Cao, Z. Yang, J. Feng, X. Zhang, *Effect of particle size on molten states of starting powder and degradation of the relevant plasma-sprayed hydroxyapatite coatings*, Biomaterials 17 (1996) 1507–1513.
- [73] M. Topić, T. Ntsoane, R.B. Heimann, *Microstructural characterisation and stress determination in as-plasma sprayed and incubated bioconductive hydroxyapatite coatings*, Surf. Coat. Technol. 201 (2006) 3633–3641.
- [74] Y.C. Tsui, C. Doyle, T.W. Clyne, *Plasma sprayed hydroxyapatite coatings on titanium substrates Part 1: Mechanical properties and residual stress levels*, Biomaterials 19 (1998) 2015–2029.
- [75] ZHAO Guo-liang, WEN Guang-wu, WU Kun, *Influence of processing parameters and heat treatment on phase composition and microstructure of plasma sprayed hydroxyapatite coatings*, Trans. Nonferrous Met. Soc. China 19 (2009) 463–469.
- [76] J. Weng, X.-G. Liu, X.-D. Li, X.-D. Zhang, *Intrinsic factors of apatite influencing its amorphization during plasma-spray coating*, Biomaterials 16 (1995) 39–44.

- [77] J. Chen, J.G.C. Wolke, K. de Groat, *Microstructure and crystallinity in hydroxyapatite coatings*, *Biomaterials* 15 (5) (1994) 396-399.
- [78] K.A.Khor and P. Cheang, *Plasma sprayed hydroxyapatite (HA) coatings produced with flame spheroidised powders*, *J. Mater. Process. Technol.* 63 (1997) 271-276.
- [79] H. Li, K.A. Khor, and P. Cheang, *Effect of Steam Treatment During Plasma Spraying on the Microstructure of Hydroxyapatite Splats and Coatings*, *J. Therm. Spray Technol.* 15 (4) (2009) 610-616.
- [80] Y.-P. Lu, G.-Y. Xiao, S.-T. Li, R.-X. Sun, M.-S. Li, *Microstructural inhomogeneity in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings and effect of post-heat treatment*, *Appl. Surf. Sci.* 252 (2006) 2412–2421.
- [81] Ziya Engin Erkmén, *The effect of heat treatment on the morphology of D-gun sprayed hydroxyapatite coatings*, *J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.)* 48 (1999) 861–868.
- [82] T. J. Levingstone, *Optimisation of Plasma Sprayed Hydroxyapatite Coatings, PhD dissertation*, School of Mechanical and Manufacturing Engineering, Dublin City University, Ireland, 2008.
- [83] T. J. Steeper, Varacalle, D. J. JR., G. C. Wilson, W. L. Riggs, A. J. Rotolico and J. E. Nerz, *Optimizing plasma spraying alumina-titania coatings using statistical methods*, in *Thermal Spray Coatings: Research, Design and Applications*, C.C. Berndt, T.F. Bernecki, ed., 5th National Thermal Spray Conference, Anaheim, California, 7 – 11th June, 1993.
- [84] S.R. Paital, N.B. Dahotre, *Calcium phosphate coatings for bio-implant applications: Materials, performance factors, and methodologies*, *Mater. Sci. and Eng. R* 66 (2009) 1-70.
- [85] M. Vilotijević, P. Marković, S. Zec, S. Marinković, V. Jokanović, *Hydroxyapatite coatings prepared by a high power laminar plasma jet*, *J. Mater. Process. Tech.* 211 (2011) 996–1004.
- [86] R. Gadow, A. Killinger, N. Stiegler, *Hydroxyapatite coatings for biomedical applications deposited by different thermal spray techniques*, *Surf. Coat. Technol.* 205 (2010) 1157–1164.

- [87] Y.-C. Yang, Influence of residual stress on bonding strength of the plasma-sprayed hydroxyapatite coating after the vacuum heat treatment, *Surf. Coat. Technol.* 201 (2007) 7187–7193.
- [88] G. Singh, S. Singh, S. Prakash, *Surface characterization of plasma sprayed pure and reinforced hydroxyapatite coating on Ti6Al4V alloy*, *Surf. Coat. Technol.* 205 (2011) 4814–4820.
- [89] S. Saber-Samandari, K. Alamara, S. Saber-Samandari, K. A. Gross, *Micro-Raman spectroscopy shows how the coating process affects the characteristics of hydroxyapatite*, *Acta Biomater.* 9 (2013) 9538–9546.
- [90] S. Saber-Samandari, K. Alamara, S. Saber-Samandari, *Calcium phosphate coatings: morphology, micro-structure and mechanical properties*, *Ceram. Int.* 40 (2014) 563–572.
- [91] W. Tong, Z. Yang, X. Zhang, A. Yang, J. Feng, Y. Cao, J. Chen, *Studies on diffusion maximum in x-ray diffraction patterns of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings*, *J. Biomed. Mater. Res.*, 40 (1998) 407–413.
- [92] K.A. Gross, M.R. Phillips, *Identification and mapping of the amorphous phase in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings using scanning cathodoluminescence microscopy*, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 9 (1998) 797-802.
- [93] R.B. Heimann, H.V. Tran, P. Hartmann, *Laser-Raman and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) studies on plasma-sprayed hydroxyapatite coatings: Influence of bioinert bond coats on phase composition and resorption kinetics in simulated body fluid*, *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.* 2003, 34, No. 12., 1163-1169.
- [94] J. Weng, M. Wang, J. Chen, *Plasma-sprayed calcium phosphate particles with high bioactivity and their use in bioactive scaffolds*, *Biomaterials* 23 (2002) 2623-2629.
- [95] H. Li, B.S. Ng, K.A. Khor, P. Cheang, T.W. Clyne, *Raman spectroscopy determination of phases within thermal sprayed hydroxyapatite splats and subsequent in vitro dissolution examination*, *Acta Mater.* 52 (2004) 445–453.
- [96] S. Dyshlovenko, L. Pawlowski, P. Roussel, D. Murano, A. Le Maguer, *Relationship between plasma spray operational parameters and microstructure of hydroxyapatite coatings and powder particles sprayed into water*, *Surf. Coat. Technol.* 200 (2006) 3845 – 3855.

- [97] B.-Y. Chou and E. Chang, *Influence of deposition temperature on mechanical properties of plasma-sprayed hydroxyapatite coating on titanium alloy with  $ZrO_2$  intermediate layer*, J. Therm. Spray Technol. 12 (2) (2009) 199-207.
- [98] H. C. W. Skinner, A. H. Jahren, chapter: *Biomineralization*, in: *Treatise on Geochemistry*, Volume 8; (ISBN: 0-08-044343-5), Elsevier, Ltd, 2003, 117–184.
- [99] K.D. Demadis, *Biomineralization: The role of inorganic materials in life*, www.chemistry.uoc.gr/demadis.
- [100] R. Narayanan, S. K. Seshadri, T. Y. Kwon, K. H. Kim, *Calcium Phosphate-Based Coatings on Titanium and Its Alloys*, J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater. 85B (2008) 279-299.
- [101] A. Durward, I. Murdoch, *Understanding acid--base balance*, Curr. Pediatr. 13 (2003), 513-519.
- [102] S. Jalota, S.B. Bhaduri, A.C. Tas, *Effect of carbonate content and buffer type on calcium phosphate formation in SBF solutions*, J. Mater. Sci. Mater. Med. 17 (2006) 697–707.
- [103] T. Kokubo, H. Takadama, *How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity*, Biomaterials 27 (2006) 2907–2915.
- [104] D. Bayraktar, A.C. Tas, *Chemical preparation of carbonated calcium hydroxyapatite powders at 37° C in urea-containing synthetic body fluids*, J. Eur. Ceram. Soc. 19 (1999) 2573-2579.
- [105] A.C. Tas, *Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 37°C in synthetic body fluids*, Biomaterials 21 (2000) 1429-1438.
- [106] A. Bigi, E. Boanini, S. Panzavolta and N. Roveri, *Biomimetic growth of hydroxyapatite on gelatin films doped with sodium polyacrylate*, Biomacromolecules 1 (2000) 752-756.
- [107] A. Oyane, H.M. Kim, T. Furuya, T. Kokubo, T. Miyazaki, T. Nakamura, *Preparation and assessment of revised simulated body fluids*, J. Biomed. Mater. Res. 65A (2003) 188–195.
- [108] H. Takadama, M. Hashimoto, M. Mizuno, T. Kokubo, *Round-robin test of SBF for in vitro measurement of apatite-forming ability of synthetic materials*, Phos. Res. Bull. 17 (2004) 119–125.

- [109] U. Kragh-Hansen, H. Vorum, *Quantitative Analyses of the Interaction between Calcium Ions and Human Serum Albumin*, Clin. Chem. 39 (2) (1993) 202-208.
- [110] S. Matousek, J. Handy, S.E. Rees, *Acid-base chemistry of plasma: Consolidation of traditional and modern approaches from a mathematical and clinical perspective*, J. Clin. Monit. Comp. 25 (2011) 57–70.
- [111] E.I. Dorozhkina, S.V. Dorozhkin, *Surface mineralisation of hydroxyapatite in modified simulated body fluid (mSBF) with higher amounts of hydrogencarbonate ions*, Coll. Surface. A 210 (2002) 41-48.
- [112] L. Muller, F.A. Muller, *Preparation of SBF with different  $\text{HCO}_3^-$  content and its influence on the composition of biomimetic apatites*, Acta Biomater. 2 (2006) 181–189.
- [113] P.A.A.P. Marques, M.C.F. Magalh, R.N. Correia, *Inorganic plasma with physiological  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$  buffer*, Biomaterials 24 (2003) 1541–1548.
- [114] P.A.A.P. Marques, S.C.P. Cachinho, M.C.F. Magalhaes, R.N. Correia, M.H.V. Fernandes, *Mineralisation of bioceramics in simulated plasma with physiological  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$  buffer and albumin*, J. Mater. Chem. 14 (2004) 1861–1866.
- [115] M. Schinhammer, J. Hofstetter, C. Wegmann, F. Moszner, J.F. Löffler, P.J. Uggowitzer, *On the immersion testing of degradable implant materials in simulated body fluid: Active pH regulation using  $\text{CO}_2$* , Adv. Eng. Mater. 15 (2013) 434–441.
- [116] R.B. Heimann, *Recent trends towards improved plasma-sprayed advanced bioceramic coatings on Ti6Al4V implant*, Mat.-wiss. u. Werkstofftech., 30, 775-782 (1999).
- [117] H. Cao and X. Liu, *Plasma-sprayed ceramic coatings for osseointegration*, Int. J. Appl. Ceram. Technol. (2012) 1–10.
- [118] P.I. Braemark, *Osseointegration and its experimental background*, J. Prosthet. Dent., 50 [3] 399–410 (1983).
- [119] A. Sargeant, T. Goswami, *Hip implants – Paper VI – Ion concentrations*, Mater. Des. 28 (2007) 155–171.
- [120] Y. Li, C. Wong, J. Xiong, P. Hodgson, C. Wen, J. Dent. Res. 89 (2010) 493.

- [121] T.A.G. Donato, L.H. de Almeida, R.A. Nogueira, T.C. Niemeyer, C.R. Grandini, R.Caram, S.G. Schneider, A.R. Santos, *Cytotoxicity study of some Ti alloys used as biomaterial*, Mater. Sci. Eng. C 29 (2009) 1365.
- [122] Sumitomo Chemical Company Limited (Osaka Japan), *Implants for bones, joints and tooth roots*, U.S. Patent, 4146936 (1976).
- [123] S.M. Best, A.E. Porter, E.S. Thian, J. Huang, *Bioceramics: Past, present and for the future*, J. Eur. Ceram. Soc. 28 (2008) 1319–1327.
- [124] Siggaard-Andersen O. *The acid–base status of the blood*. Copenhagen: Munksgaard; 1974: 25–51.
- [125] Siggaard-Andersen O. *The Van Slyke equation*. Scand J Clin Lab Invest 1977; 37(S146): 15–20.
- [126] Siggaard-Andersen O, Wimberly PD, Fogh-Andersen N, Gøthgen I. *Measured and derived quantities with modern pH and blood gas equipment: calculation algorithms with 54 equations*. Scand J Clin Lab Invest 1988; 48(S189): 7–15.
- [127] Schwartz WB, Relman AS. *A critique of the parameters used in the evaluation of acid-base disorders “whole-blood buffer base” and “standard bicarbonate” compared with blood pH and plasma bicarbonate concentration*. N Engl J Med 1963; 268: 1382–1388.
- [128] Stewart PA. *Modern quantitative acid-base chemistry*. Can J Physiol Pharmacol 1983; 61: 1444–1461.
- [129] Figge J, Mydosh T, Fencl V. *Serum proteins and acid-base equilibria: a follow-up*. J Lab Clin Med 1992; 120: 713–719.
- [130] Constable PD. *A simplified strong ion model for acid-base equilibria: application to horse plasma*. J Appl Physiol 1997; 83: 297–311.
- [131] Y. Wang, S. Zhang, X. Zeng, K. Cheng, M. Qian, W. Weng, *In vitro behavior of fluoridated hydroxyapatite coatings in organic-containing simulated body fluid*, Mater. Sci. Eng. C 27 (2007) 244–250.
- [132] J.D. Haman, L.C. Lucas, D. Crawmer, *Characterization of high velocity oxy-fuel combustion sprayed hydroxyapatite*, Biomaterials 16 (1995) 229–237.
- [133] J.H. Chern Lin, H.J. Lin, S.J. Ding, C.P. Ju, *Characterization of immersed hydroxyapatite-bioactive glass coatings in Hank’s solution*, Mater. Chem. Phys. 64 (2000) 229–240.

- [134] S. E. Etok, K. D. Roger, *Dissolution behaviour of plasma sprayed apatite Coatings*, J. Mater. Sci. 40 (2005) 5627–563.
- [135] S.-j. Ding, T.-h. Huang, C.-t. Kao, *Immersion behavior of plasma-sprayed modified hydroxyapatite coatings after heat treatment*, Surf. Coat. Technol. 165 (2003) 248–257.
- [136] L. Sun, C.C. Berndt, K.A. Khor, H.N. Cheang, K.A. Gross, *Surface characteristics and dissolution behavior of plasma-sprayed hydroxyapatite coating*, J. Biomed. Mater. Res. 62: 228–236, 2002.
- [137] Q. Zhang, J. Chen, J. Feng, Y. Cao, Chunlin Deng, X. Zhang, *Dissolution and mineralization behaviors of HA coatings*, Biomaterials 24 (2003) 4741–4748.
- [138] D. Gopi, V. Collins Arun Prakash, L. Kavitha, *Evaluation of hydroxyapatite coatings on borate passivated 316L SS in Ringer's solution*, Mater. Sci. Eng. C 29 (2009) 955–958.
- [139] H.C. Gledhill, I.G. Turner, C. Doyle, *In vitro dissolution behaviour of two morphologically different thermally sprayed hydroxyapatite coatings*, Biomaterials 22 (2001) 695-700.
- [140] S. Amrah-Bouali, C. Rey, A. Lebugle, D. Bernache, *Surface modifications of hydroxyapatite ceramics in aqueous media*, Biomaterials 15 (4) (1994) 269-272.
- [141] Y.-P. Lee, C.-K. Wang, T.-H. Huang, C.-C. Chen, C.-T. Kao, S.-J. Ding, *In vitro characterization of postheat-treated plasma-sprayed hydroxyapatite coatings*, Surf. Coat. Technol. 197 (2005) 367– 374.
- [142] E. Mavropoulosa, A.M. Costa, L.T. Costa, C.A. Achete, A. Mello, J.M. Granjeiro, A.M. Rossi, *Adsorption and bioactivity studies of albumin onto hydroxyapatite surface*, Colloids and Surf. B: Biointerfaces 83 (2011) 1–9.
- [143] Y. Wang, S. Zhang, X. Zeng, K. Cheng, M. Qian, W. Weng, *In vitro behavior of fluoridated hydroxyapatite coatings in organic-containing simulated body fluid*, Mater. Sci. Eng. C 27 (2007) 244–250.
- [144] C. Xu, D. He, L. Zeng, S. Luo, *A study of adsorption behavior of human serum albumin and ovalbumin on hydroxyapatite/chitosan composite*, Colloids and Surf. B: Biointerfaces 73 (2009) 360–364.
- [145] R. Rohanizadeh, M. Padrines, J. M. Bouler, D. Couchourel, Y. Fortun, G. Daculsi, *Apatite precipitation after incubation of biphasic calcium-phosphate*

- ceramic in various solutions: Influence of seed species and proteins*, J. Biomed. Mater. Res., 42, 530–539, 1998.
- [146] P.A.A.P. Marques, A.P. Serro, B.J. Saramago, A.C. Fernandes, M.C.F. Magalhães, R.N. Correia, *Mineralisation of two phosphate ceramics in HBSS: role of albumin*, Biomaterials 24 (2003) 451-460.
- [147] Pylypchuk E. V., Mishchenko Valentin N., Gromovoy Taras Yu., *Interaction of albumin and immunoglobulin G with synthetic hydroxyapatite*, Chem. J. Mold. 2012, 7 (2), 143-146.
- [148] K. Wang, Y. Leng, X. Lu, F. Ren, X. Ge, and Y. Ding, *Theoretical analysis of protein effects on calcium phosphate precipitation in simulated body fluid*, CrystEngComm 14 (2012) 5870–5878.
- [149] H. Qu, M. Wei, *The Effect of temperature and initial pH on biomimetic apatite coating*, J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater. 87B (2008) 204–212.
- [150] F. Barrere, C.A van Blitterswijk, K. de Groot, P. Layrolle, *Influence of ionic strength and carbonate on the Ca-P coating formation from SBF×5 solution*, Biomaterials 23 (2002) 1921–1930.
- [151] S. Mafe, J.A. Manzanares, H. Reiss, J.M. Thomann, P. Gramaid, *Model for the Dissolution of Calcium Hydroxyapatite Powder*, J. Phys. Chem. 96 (2) (1992) 861-866.
- [152] R.Z. LeGeros, *Biodegradation and Bioresorption of Calcium Phosphate Ceramics*, Clin. Mater. 14 (1993) 65-88
- [153] Christel P.A.T. Klein, J.M.A. de Blicck-Hogervorst, J.G.C. Wolke, K. de Groat, *Studies of the solubility of different calcium phosphate ceramic particles in vitro*, Biomaterials (11) (1990) 509-512.
- [154] S.V. Dorozhkin, *A Review on the Dissolution Models of Calcium Apatites*, Prog. Crys. Growth Ch. 44 (2002) 45-61.
- [155] H. Pa, and B.W. Darvell, *Effect of Carbonate on Hydroxyapatite Solubility*, Cryst. Growth Des. 10 (2) (2010) 845-850.
- [156] X. Lu, Y. Leng, *Theoretical analysis of calcium phosphate precipitation in simulated body fluid*, Biomaterials 26 (2005) 1097-1108.
- [157] N. Kanzaki, G. Treboux, K. Onuma, S. Tsutsumi, A. Ito, *Calcium phosphate clusters*, Biomaterials 22 (2001) 2921-2929.



- [158] L.-W. Du, S. Bian, B.-D. Gou, Y. Jiang, Jian Huang, Y.-X. Gao, Y.-D. Zhao, W. Wen, T.-L. Zhang, K. Wang, *Structure of clusters and formation of amorphous calcium phosphate and hydroxyapatite: from the perspective of coordination chemistry*, Cryst. Growth Des. 13 (2013) 3103–3109.
- [159] D. Gebauer, H. Cölfen, *Pre-nucleation clusters and nonclassical nucleation*, Nano Today; 6 (2011), 6. - S. 564-584.
- [160] Dey, A.; Bomans, P. H. H.; Müller, F. A.; Will, J.; Frederik, P. M.; de With, G.; Sommerdijk, N. A. J. M. Nat. Mater. 2010, 9, 1010–1014.
- [161] Dorozhkin, S. V. Int. J. Mater. Chem. 2012, 2 (1), 19–46.
- [162] M.E. Fleet, X. Liu, *Coupled substitution of type A and B carbonate in sodium-bearing apatite*, Biomaterials 28 (2007) 916-926.
- [163] M.E. Fleet, *Infrared spectra of carbonate apatites: n2-Region bands*, Biomaterials 30 (2009) 1473–1481.
- [164] E.S. Kovaleva, M.P. Shabanov, V.I. Putlyaev, Y.D. Tretyakov, V.K. Ivanov, N.I. Silkin, *Bioresorbable carbonated hydroxyapatite  $Ca_{10-x}Na_x(PO_4)_6-x(CO_3)_x(OH)_2$  powders for bioactive materials preparation*, Cent. Eur. J. Chem. 7(2) (2009), 168–174.
- [165] R. Gatz, P. Elbers, *Albumin is not a buffer in plasma*, Letter to the Editor, Blood Transfus, DOI: 10.2450/2010.0015-10.
- [166] R.A. Curvale, *Buffer capacity of bovine serum albumin*, J. Argent. Chem. Soc. 97 (1) (2009) 174-180.
- [167] G. Gross, W. Moll, *Facilitated Diffusion of  $CO_2$  across Albumin Solutions*, J. Gen. Physiol. 64 (1974) 356-371.
- [168] N. Fogh-Andersen, P.J. Bjerrum, O. Siggaard-Andersen, *Ionic binding, net charge, and Donnan effect of human serum albumin as a function of pH*, Clin. Chem. 39 (1993) 48-52.
- [169] L.N. Luong, S.I. Hong, R.J. Patel, M.E. Outslay, D.H. Kohn., *Spatial control of protein within biomimetically nucleated mineral*, Biomaterials 27 (2006) 1175–1186.
- [170] D.T. Hughes Wassell, R.C. Hall, G. Embery, *Adsorption of bovine serum albumin onto hydroxyapatite*, Biomaterials 16 (1995) 697-702.

- [171] J.A. Juhasz, S.M. Best, A.D. Auffret, W. Bonfield, *Biological control of apatite growth in simulated body fluid and human blood serum*, J. Mater. Sci.: Mater. Med. (2008) 19:1823–1829.
- [172] K.M. Vojisavljević, *Modifikacija strukture i svojstava cink-oksida indukovana mehaničkom aktivacijom*, Doktorska disertacija, Institut za multidisciplinarna istraživanja, Univerzitet u Beogradu, 2009.
- [173] M.J. Šćepanović, *Kontrolisana izmjena koncentracije primjesa i sastava živa-kadmijum-telurida pod dejstvom laserskog zračenja*, Doktorska disertacija, Elektrotehnički fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, 2000.
- [174] D.J. Gardiner, P.R. Graves (Editors) (1989): *Practical Raman Spectroscopy*, Springer-Verlag, Berlin.
- [175] A. Singha, P. Dhar, A. Roy, *A non-destructive analytic tool for nanostructured materials: Raman and photoluminescence spectroscopy*, American Journal of Physics (2005) 73(3), 224 (1-32).
- [176] G. Herzberg (1945): *Molecular Spectra and Molecular Structure, II. Infrared and Raman Spectra of Polyatomic Molecule*, Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- [177] R. L. McCreery (2000): *Raman spectroscopy for chemical analysis*, John Wiley & Sons, Ltd, New York.
- [178] J. R. Ferraro, K. Nakamoto and C. W. Brown (2003): *Introductory Raman spectroscopy*, Academic Press, Amsterdam, Second Edition.
- [179] M. Grujić-Brojčin (2007): *Optička spektroskopija oksidnih nanomaterijala*, Doktorska disertacija, Elektrotehnički fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd.
- [180] P. Brüesch (1986): *Phonons: Theory and Experiments II*, Springer-Verlag, Berlin.
- [181] D. A. Long (2002): *The Raman Effect: A Unified Treatment of the Theory of Raman Scattering by Molecules*, John Wiley & Sons, Ltd, New York.
- [182] E. Dubina, L. Korat, L. Black, J. Strupi-Šuput, J. Plank, *Influence of water vapour and carbon dioxide on free lime during storage at 80 °C, studied by Raman spectroscopy*, Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. 111 (2013) 299–303.

- [183] R.G. Carrodeguas, S. De Aza,  *$\alpha$ -Tricalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications*, Acta Biomater. 7 (2011) 3536–3546.
- [184] C. Moseke, U. Gbureck, Tetracalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications, Acta Biomater. 6 (2010) 3815–3823.
- [185] U. Posset, E. Löcklin, R. Thull, W. Kiefer, *Vibrational spectroscopic study of tetracalcium phosphate in pure polycrystalline form and as a constituent of a self-setting bone cement*, J. Biomed. Mater. Res. 40 (1998) 640–645.
- [186] De Mul FF, Hottenjuis MH, Bouter P, Greve J, Arends J, Bosch JJT. J Dent Res 1986;3:437-40.
- [187] Wen J, Leng Y, Chen J, Zhang C. Biomaterials 2000;21:1339.
- [188] S. Saber-Samandari b, K.A. Gross, *Amorphous calcium phosphate offers improved crack resistance: A design feature from nature?*, Acta Biomater. 7 (2011) 4235–4241.
- [189] R. Cuscó, F. Guitián, S. de Aza, L. Artús, *Differentiation between Hydroxyapatite and  $\beta$ -Tricalcium Phosphate by Means of  $\mu$ -Raman Spectroscopy*, J. Eur. Ceram. Soc. 18 (1998) 1301-1305.
- [190] D. Exline, *Comparison of Raman and FTIR Spectroscopy: Advantages and Limitations*, <http://www.gatewayanalytical.com/blog/comparison-of-raman-and-ftir-spectroscopy-advantages-and-limitations/>, 2013.
- [191] M. Peeran, <http://www.chemvista.org/ramanIR4.html>.
- [192] *Infrared and raman spectroscopy : methods and applications* / ed. by Bernhard Schrader. Contributors: D. Bougeard ...~Weinheim; Basel; Cambridge; New York, NY; Tokyo: VCH, 1995, NE: Schrader, Bernhard [Hrsg.]; Bougeard, Daniel, © VCH Verlagsgesellschaft mbH, D-69451 Weinheim (Federal Republic of Germany), 1995.
- [193] M.M. Beasley, E.J. Bartelink, L. Taylo, R.M. Miller, *Comparison of transmission FTIR, ATR, and DRIFT spectra: implications for assessment of bone bioapatite diagenesis*, J. Archaeol. Sci. 46 (2014) 16-22.
- [194] Ferraro, J., Krishnan, K. (Eds.), 1990. *Practical Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Industrial and Laboratory Chemical Analysis*. Academic Press, San Diego.

- [195] Thompson, T.J.U., Gauthier, M., Islam, M., 2009. *The application of a new method of Fourier transform infrared spectroscopy to the analysis of burned bone*, J. Archaeol. Sci. 36, 910-914.
- [196] [http://www.uts.utoronto.ca/~traceslab/ATR\\_FTIR.pdf](http://www.uts.utoronto.ca/~traceslab/ATR_FTIR.pdf)
- [197] H. Zeng, W.R. Lacefield, *XPS, EDX and FTIR analysis of pulsed laser deposited calcium phosphate bioceramic coatings: the effects of various process parameters*, Biomaterials 21 (2000) 23-30.
- [198] E.V. Pechevaa, L.D. Pramatarovaa, M.F. Maitzb, M.T. Phamb, A.V. Kondyuirin, *Kinetics of hydroxyapatite deposition on solid substrates modified by sequential implantation of Ca and P ions Part I. FTIR and Raman spectroscopy study*, Appl. Surf. Sci. 235 (2004) 176–181.
- [199] F. García, J. L. Arias, B. Mayor, J. Pou, I. Rehman, J. Knowles, S. Best, B. León, M. Pérez–Amor, W. Bonfield, *Effect of Heat Treatment on Pulsed Laser Deposited Amorphous Calcium Phosphate Coatings*, J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.) 43: 69–76, 1998.
- [200] Y. Yang, K.-H. Kim, C.M. Agrawal, J.L. Ong, *Effect of post-deposition heating temperature and the presence of water vapor during heat treatment on crystallinity of calcium phosphate coatings*, Biomaterials 24 (2003) 5131-5137.
- [201] M. Khalid, M.Mujahid, S.Amin, R.S.Rawat, A.Nusair, G.R.Deen, *Effect of surfactant and heat treatment on morphology, surface area and crystallinity in hydroxyapatite nanocrystals*, Ceram. Int. 39 (1) (2013) 39-50.
- [202] S.-J. Ding, C.-P. Ju, J.-H. Chern Lin, *Immersion behavior of RF magnetron-assisted sputtered hydroxyapatite/titanium coatings in simulated body fluid*, J. Biomed. Mater. Res. 47 (1999) 551–563.
- [203] C.C. Chen, T.H. Huang, C.T. Kao, S.J. Ding, *Electrochemical study of the in vitro degradation of plasma-sprayed hydroxyapatite/bioactive glass composite coatings after heat treatment*, Electrochim. Acta 50 (2004) 1023–1029.
- [204] J. Weng, Q. Liu, J.G.C. Wolke, D. Zhang, K. De Groot, *The role of amorphous phase in nucleating bone-like apatite on plasmasprayed hydroxyapatite coatings in simulated body fluid*, J. Mater. Sci. Lett. 16 (1997) 335–337.

- [205] F.-H. Lina, Y.-S. Hsub, S.-H. Linb, J.-S. Sun, *The effect of Ca/P concentration and temperature of simulated body fluid on the growth of hydroxyapatite coating on alkali-treated 316L stainless steel*, *Biomaterials* 23 (2002) 4029-4038.
- [206] S.W.K. Kweh, K.A. Khor, P. Cheang, *An in vitro investigation of plasma sprayed hydroxyapatite (HA) coatings produced with flame-spheroidized feedstock*, *Biomaterials* 23 (2002) 775-785.
- [207] N.S. Resende, M. Nele, V.M.M. Salim, *Effects of anion substitution on the acid properties of hydroxyapatite*, *Thermochim. Acta* 451 (2006) 16–21.
- [208] A. Slólsarczyk, Z. Paszkiewicz, C. Paluszkiwicz, *FTIR and XRD evaluation of carbonated hydroxyapatite powders synthesized by wet methods*, *J. Mol. Struct.* 744–747 (2005) 657–661.
- [209] F. Bel Hadj Yahia, M. Jemal, *Synthesis, structural analysis and thermochemistry of B-type carbonate apatites*, *Thermochim. Acta* 505 (2010) 22–32.
- [210] J.A. Juhasz, S.M. Best, A.D. Auffret, W. Bonfield, *Biological control of apatite growth in simulated body fluid and human blood serum*, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* (2008) 19:1823–1829.
- [211] K.A. Khor, H. Li, P. Cheang, *Characterization of the bone-like apatite precipitated on high velocity oxy-fuel (HVOF) sprayed calcium phosphate deposits*, *Biomaterials* 24 (2003) 769-775.
- [212] M. Galván-Ruiz, J. Hernández, L. Baños, J. Noriega-Montes, M.E. Rodríguez-García, *Characterization of calcium carbonate, calcium oxide and calcium hydroxide as starting point to the improvement of lime for their use in construction*, [http://dx.doi.org/10.1061/\(ASCE\)0899-1561\(2009\)21:11\(694\)](http://dx.doi.org/10.1061/(ASCE)0899-1561(2009)21:11(694)).
- [213] A. Siddharthan, S. K. Seshadri, T. S. Sampaht Kumar, *Microwave accelerated synthesis of nanosized calcium deficient hydroxyapatite*, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 15 (2004) 1279–1284.
- [214] L. Berzina-Cimdina and N. Borodajenko (2012). *Research of Calcium Phosphates Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, *Infrared Spectroscopy - Materials Science, Engineering and Technology*, Prof. Theophanides Theophile (Ed.), ISBN: 978-953-51-0537-4, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/infrared-spectroscopy-materials->

[science-engineering-andtechnology/](#) research-of-calcium-phosphates-using-fourier-transformation-infrared-spectroscopy.

- [215] A. Grunenwald, C. Keyser, A.M. Sautereau, E. Crubézy, B. Ludes, C. Drouet, *Revisiting carbonate quantification in apatite (bio)minerals: a validated FTIR methodology*, J. Archaeol. Sci. 49 (2014) 134-141.
- [216] S. Vahabzadeh, M. Roy, A. Bandyopadhyay, S. Bose, *Phase stability and biological property evaluation of plasma sprayed hydroxyapatite coatings for orthopedic and dental applications*, Acta Biomater. 17 (2015) 47-55.
- [217] H. Qing, H. Yanlin, S. Fenlin, T. Zuyi, *Effects of pH and metal ions on the conformation of bovine serum albumin in aqueous solution An Attenuated Total Reflection (ATR) FTIR spectroscopic*, Spectrochim. Acta Part A 52 (1996) 1795-1800.
- [218] J. Chakraborty, S. Chatterjee, M. K. Sinha, D. Basu, *Effect of albumin on the growth characteristics of hydroxyapatite coatings on alumina substrates*, J. Am. Ceram. Soc., 90 [10] 3360-3363 (2007).
- [219] L.N. Luonga, S.I. Hongb, R.J. Patelc, M.E. Outslaya, D.H. Kohn, *Spatial control of protein within biomimetically nucleated mineral*, Biomaterials 27 (2006) 1175-1186.
- [220] J. Xie, C. Riley, M. Kumar, K. Chittur, *FTIR/ATR study of protein adsorption and brushite transformation to hydroxyapatite*, Biomaterials 23 (2002) 3609-3616.
- [221] L.R.S. Barbosa, M.G. Ortore, F. Spinozzi, P. Mariani, S. Bernstorff, R. Itri, *The importance of protein-protein interactions on the pH-induced conformational changes of bovine serum albumin: A small-angle X-Ray scattering study*, Biophys. J. 98 (2010) 147-157.
- [222] S.A. Speakman, *Basics of X-Ray powder diffraction*, <http://prism.mit.edu/xray>.
- [223] L. H. Schwartz, J. B. Cohen, *Diffraction from materials*, Academic press, Inc., New York, 1977.
- [224] W.L. Davidson, ch: *X-Ray Diffraction Methods Applied to Powders and Metals*, in: *Physical methods in modern chemical analysis*, vol. 2, Academic press, Inc., ISBN-0-12-430802-3, 1980.

- [225] B.D. Cullity, *Elements of X-ray diffraction*, Addison Wesley publishing company, Inc., Massachusetts, 1956.
- [226] P.S. Prevéy, *X-Ray diffraction characterization of crystallinity and phase composition in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings*, J. Therm. Spray Technol. 9 (3) (2000) 369-376.
- [227] M.F. Morks, A. Kobayashi, *Effect of gun current on the microstructure and crystallinity of plasma sprayed hydroxyapatite coatings*, Appl. Surf. Sci. 253 (17) (2007) 7136-7142.
- [228] Y.C. Tsui, C. Doyle, T.W. Clyne, *Plasma sprayed hydroxyapatite coatings on titanium substrates Part 1: Mechanical properties and residual stress levels*, Biomaterials 19 (1998) 2015.
- [229] R. Snyder and D. Bish: in *Modern Powder Diffraction*, Reviews in Mineralogy, D.L. Bish and J.E. Post, eds., The Mineralogical Society of American, Washington, DC, 1989, vol. 20, pp. 101-22.
- [230] K. Fox, P. A. Tran, and N. Tran, *Recent advances in research applications of nanophase hydroxyapatite*, ChemPhysChem 2012, 13, 2495 – 2506.
- [231] M. E. Bahrololooma, M. Javidia, S. Javadpoura, J. Ma, *Characterisation of natural hydroxyapatite extracted from bovine cortical bone ash*, J. Ceram. Process. Res. 10 (2) (2009) 129~138.
- [232] H. Gheisari, E. Karamian, *Preparation and characterization of hydroxyapatite reinforced with hardystonite as a novel bio-nanocomposite for tissue engineering*, Nanomed. J. 2 (1) (2015) 141-152.
- [233] B.R. Gligorijević, M. Vilotijević, M. Šćepanović, N.S. Vuković, N.A. Radović, *Substrate preheating and structural properties of power plasma sprayed hydroxyapatite coatings*, Ceram. Int. 42 (2016) 411–420.
- [234] (a) B.R. Gligorijević, M. Vilotijević, M. Šćepanović, D. Vidović, N.A. Radović, *Surface structural heterogeneity of high power plasma-sprayed hydroxyapatite coatings*, J. Alloys Compd. 687 (2016) 421-430; (b) B.R. Gligorijević, M.N. Vilotijević, M.J. Šćepanović, R.V. Radovanović, N.A. Radović, *Cracking caused by cutting of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings and its relation to the structural features of coatings deposited at different initial substrate temperatures*, Hem. Ind., On-line first 34-34 (2016), DOI:10.2298/HEMIND160513034G.
- [235] M.D. Pereda, K.W. Kang, R. Bonetto, C. Llorente, P. Bilmes, C. Gervasi, *Impact of surface treatment on the corrosion resistance of ASTM F138-F139 stainless steel for biomedical applications*, Proc. Mater. Sci. 1 (2012) 446–453.
- [236] <http://hempel-metals.com/en/Alloy-316LVM-Dental.htm>.

- [237] J. Ružić, M. Vilotijević, D. Božić, K. Raić, *Understanding plasma spray process and characteristics of DC plasma gun (PJ-100)*, Metall. Mater. Eng. Vol 18 (4) 2012 p. 273-282.
- [238] <http://www.plasmajet.info/index.php?page=aps>.
- [239] M. Vilotijević, Doktorska disertacija, *Izučavanje osobina novog tipa plazmatrona sa uzlaznom voltamperskom karakteristikom i njegova svojstva u procesu deponovanja funkcionalnih prevlaka*, Univerzitet u Beogradu, 2009.
- [240] W. Kraus, G. Nolze, *PowderCell for Windows*, Federal Institute for Materials Research and Testing, Berlin, Germany, 2000.
- [241] C.A. Schneider, W.S. Rasband, K.W. Eliceiri, *NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis*, Nat. Methods 9 (2012) 671-675.
- [242] I. Iordanova, V. Antonov, C.M. Sprecher, H.K. Skulev, B. Gueorguiev (2012), *Plasma Sprayed Bioceramic Coatings on Ti-Based Substrates: Methods for Investigation of Their Crystallographic Structures and Mechanical Properties*, Advanced Plasma Spray Applications, Dr. Hamid Jazi (Ed.), ISBN: 978-953-51-0349-3, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/advanced-plasmaspray-applications/plasma-sprayed-bioceramic-coatings-on-ti-based-substrates-methods-for-investigation-of-their-crystal>.
- [243] K.A. Gross, *Analysis of Powder and Coatings for the Qualification of Coatings from XPT -D-703*, Molten Splat (Coating and Biomaterials Consulting), Report 2003-005, 1-9.
- [244] [http://www.plasma-biototal.com/sheet\\_doc/MIB1607\\_10\\_Biototal\\_120105.pdf](http://www.plasma-biototal.com/sheet_doc/MIB1607_10_Biototal_120105.pdf).
- [245] <http://www.plasma-biototal.com/products.html>.
- [246] <http://www.solid.ipb.ac.rs/>
- [247] <http://www.rgf.bg.ac.rs/semlab>.
- [248] <https://www.sartorius.us/us/product/product-detail/docu-ph-p10/>
- [249] E. Garand, T. Wende, D.J. Goebbert, R. Bergmann, G. Meijer, D.M. Neumark, K.R. Asmis, *Infrared Spectroscopy of Hydrated Bicarbonate Anion Clusters:  $\text{HCO}_3^-(\text{H}_2\text{O})_{1-10}$* , J. Am. Chem. Soc. 2010, 132, 849–856 9 849.
- [250] F.J. Gennari, H.J. Androgué, J.H. Galla, N.E. Madias, *Acid-base disorders and their treatment*, Taylor and Francis Group, LLC, 2005.



# **PRILOZI**

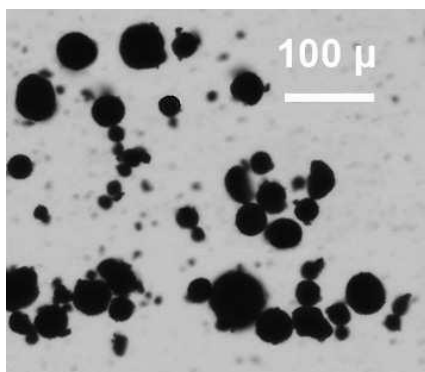
# **PRILOG A**

**– Materijali, *PJ-100* plazmatron i merni uređaji –**

## PRILOG A1

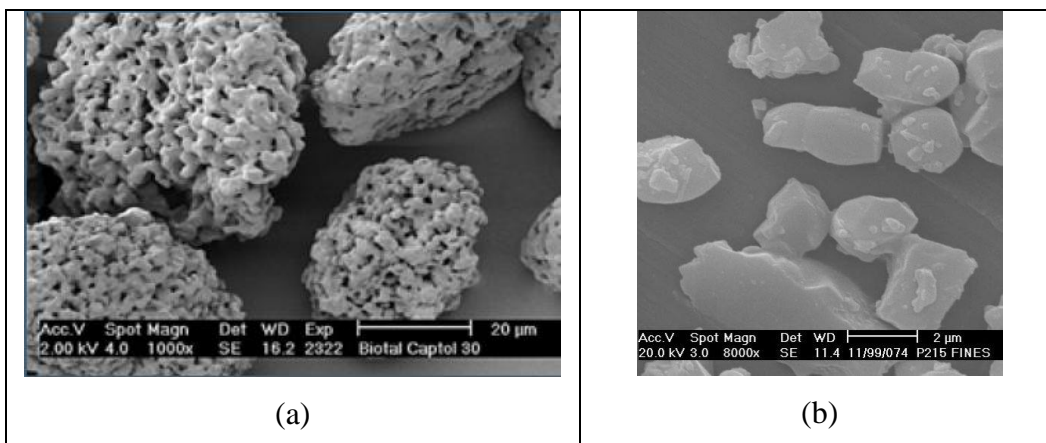
### – Morfologija polaznih HA prahova –

#### XPT-D-703<sup>®</sup>



**Sl.A1-1.** Tipična morfologija HA praha XPT-D-703<sup>®</sup>. Izmerena veličina čestica praha sa slike je  $39.7 \pm 11.3 \mu\text{m}$  (adaptirano iz [242]). Vidi takođe ref. [243].

#### Captal<sup>®</sup> (tip S)



**Sl.A1-2.** Morfologija čestica HA praha proizvođača Plasma Biotol Ltd. **Tip “S”** označava da su čestice hidroksiapatitnog praha (levo) zapravo aglomerati dobijeni sinterovanjem manjih čestica istaloženih iz vodenih rastvora. Slika desno pokazuje najfinije čestice hidroksiapatitnog praha Captal<sup>®</sup> koje su komercijalno dostupne (adaptirano iz [244,245]).

Product	D <sub>10</sub>	D <sub>50</sub>	D <sub>90</sub>
CAPTAL <sup>®</sup> 20	12 ± 2	20 ± 5	25 ± 5
CAPTAL <sup>®</sup> 30	15 ± 5	30 ± 5	50 ± 5
CAPTAL <sup>®</sup> 60	35 ± 10	60 ± 10	100 ± 15
CAPTAL <sup>®</sup> 60-1	20 ± 5	45 ± 5	80 ± 10
CAPTAL <sup>®</sup> 90	50 ± 15	90 ± 15	120 ± 20
CAPTAL <sup>®</sup> R	Various Sintering grades available		

**Tab.A1-1.** Pregled komercijalno dostupnih veličina Captal<sup>®</sup> (tip S) HA prahova (adaptirano iz [245]).

# PRILOG A2

## – Hemijski sastav AISI 316 LVM –

Specifikacije nerđajućeg čelika AISI 316 LVM. tj. 1.4441, proizvođača Hempel Special Metals Ltd, Wokingham, Berkshire, UK [236]:

### Medical

#### Applications of 1.4441

Osteosyntheses; bone screws, bone plates, marrow- nails. Also suitable for watch industry.

#### Explanations of 1.4441

Implant steel with improved corrosion resistance compared to AISI 316L.

#### Chemical composition of 1.4441

C	≤ 0,030	Cr	17,0 - 19,0
Si	≤ 1,00	Mo	2,5 - 3,2
Mn	≤ 2,0	Ni	13,0 - 15,5
P	≤ 0,025	N	≤ 0,10
S	≤ 0,010	Fe	rest

#### Mechanical properties of 1.4441

annealed	specification values (bars)
tensile strength Rm	490 - 690 MPa
elongation A	≥ 40%
cold worked,	specification values (bars)
tensile strength Rm	860 - 1100 MPa (higher values upon demand)
elongation A	≥ 12%

#### Sheets of 1.4441

dimensions	kg/ m2	tolerances
3,2	0,226	+0 / - 0.1 mm
4,5	1,013	+0 / - 0.1 mm

Further bars and profiles in different executions available upon request.

#### Bars of 1.4441

dimensions	kg/ m	tolerances
6,0	0,22	h8
8,0	0,40	h8
12,7	1,01	h8

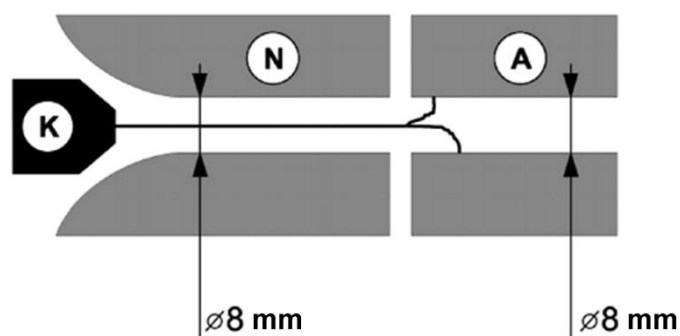
Further bars and profiles in different executions available upon request.

#### Services provided by our internal service center for 1.4441

## PRILOG A3

### – PJ-100 plazma instalacija –

Sl.A3-1 shematski prikazuje poprečni presek PJ-100 plazma pištolja sa cilindričnom mlaznicom kod koga se plazma mlaz uspostavlja propuštanjem jednosmerne struje između katode (K) i anode (A), što izaziva električni impuls koji uzrokuje proboj (jonizaciju) plazma gasova [237-239], koji se uvode sa vrtložnom komponentom u prostor između katode i neutrode (N), tj. neutralne elektrode.



Sl.A3-1. Ilustracija PJ-100 plazma pištolja sa cilindričnom mlaznicom (adaptirano iz [237]).

U odnosu na konvencionalne konstrukcije plazma pištolja (vidi Sl.1, poglavlje 2.1), PJ-100 plazma pištolj poseduje fiksiranu minimalnu dužinu električnog luka (Sl.A3-1) [237,239]. Fiksacija minimalne dužine električnog luka je ostvarena uvođenjem neutrode (N) između anode (A) i katode (K). Izolacioni keramički prsten odvaja anodu od neutrode. Rastojanje između vrha katode i ulaza u anodnu šupljinu je ~32 mm, dok je dužina anodnog otvora ~30 mm. U slučaju PJ-100 plazma pištolja, sve tri elektrode (A, K i N) su hladene vodom [237].

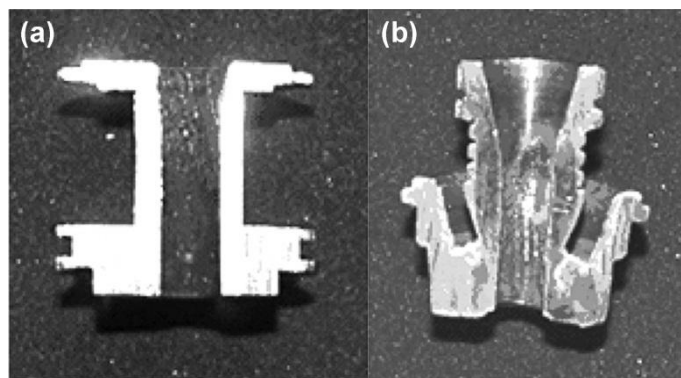
Električno napajanje PJ-100 plazma izvora je vršeno izvorom konstantnog napona (transformator) umesto izvorom napajanja sa opadajućom karakteristikom, koji se često primenjuju kod konvencionalnih aparata za zavarivanje [237]. Korišćen je transformator sa diskretnom promenom napona otvorenog kola između ~140 i ~200 V, dok je kontrola struje plazme vršena promenom ukupnog protoka plazma gasova i koncentracije sekundarnog plazma gasa [237].

Paljenje PJ-100 plazma mlaza je vršeno primenom takozvanog “mekog starta” (eng. soft start) [237]. Primena sistema “mekog starta” značajno produžava radni vek katode i

anode. "Meki start" *PJ-100* plazma mlaza je postignut paljenjem električnog luka sa dodatnim otporom (*eng.* ballast resistance) ugrađenim u strujno kolo, koji ostvaruje kontinualnu regulaciju otpornosti od  $\sim 150 \text{ m}\Omega$ , u momentu paljenja električnog luka, do  $\sim 0$ , na kraju procedure paljenja, koja traje  $\sim 5 \text{ s}$  [237]. U ovom vremenskom okviru se uvodi sekundarni plazma gas koji održava struju plazme ispod predviđene (konstantne) vrednosti. Proces održavanja struje plazme se reguliše programabilnom logičkom kontrolnom jedinicom (*eng.* programmable logical control unit – PLC unit). Kada je postignut stabilan radni režim, moguće je postići fino podešavanje struje plazma izvora regulacijom protoka sekundarnog plazma gasa. Ovde treba napomenuti da je regulacija struje plazma izvora izuzetno osetljiva na procenat sekundarnog plazma gasa u smeši plazma gasova, što omogućava lako i stabilno generisanje plazme pomoću preciznog ventila za regulaciju protoka sekundarnog gasa [237].

Svi mehanizmi stabilizacije električnog luka, poput uvođenja plazma gasova sa vrtložnom komponentom, samostabilizacije električnog luka, usled sopstvenog magnetnog polja i dr., imaju zajednički uticaj na pozicioniranje električnog luka duž ose anodne kolone [237]. U *PJ-100* plazma pištolju, aksijalni katodni mlaz je pod uticajem vrtloga plazma gasova, kao i zidova cilindričnog otvora anode (mlaznice). Ovi efekti održavaju plazma mlaz u osi anodnog kanala. Pored toga, ovi efekti utiču na plazma mlaz u zoni umetnute neutrode, gde značajno umanjuju toplotne gubitke.

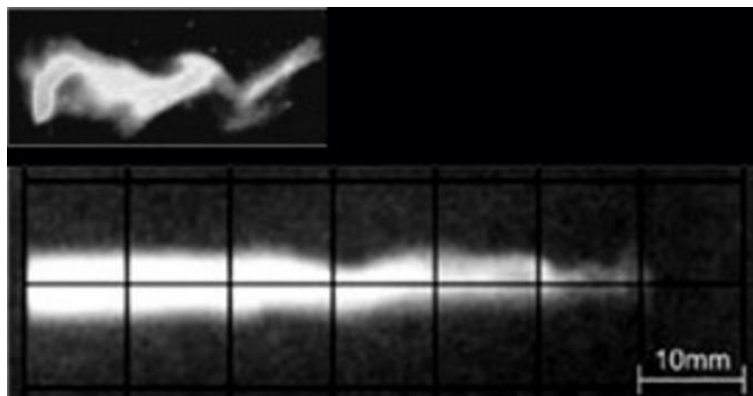
Najveći toplotni gubici se javljaju u anodnom delu *PJ-100* plazma pištolja, tj. na lokaciji gde se koren električnog luka završava na anodnom zidu. U anodnom delu, samostabilizirajući efekat je značajno manji kao i vrtložni efekat plazma gasova. Zagrevanje plazma mlaza koje se dešava duž anodnog kanala značajno doprinosi homogenoj raspodeli temperature u radijalnom pravcu, a time i većoj brzini plazme. Ovi efekti utiču i na širinu hladnog graničnog sloja uz anodni zid (vidi poglavlje 2.1.1.1), što omogućava značajno lakše pomeranje korena električnog luka niz anodnu kolonu. Potvrda ovog efekta su linije erozije anodnog zida koje su registrovane na prvoj trećini njegove dužine (Sl.A3-2a).



**Sl.A3-2.** Erozija zida anodnog kanala u slučaju (a) *PJ-100* (80-100 kW) i (b) konvencionalnog *Metco 7 MB* (25-35 kW) plazma pištolja (adaptirano iz [237]).

U slučaju konvencionalnih plazma pištolja, osnovni cilj uvođenja plazma gasova sa vrtložnom komponentom nije pozicioniranje električnog luka u osi anodnog kanala, već rotacija anodnog mesta, tj. promena pozicije korena električnog luka [237], što navodno umanjuje efekat erozije anode/mlaznice. Zbog konstrukcije konvencionalnog plazma pištolja, kod kojih katoda delimično prodire u anodni prostor, pravac električnog luka je praktično normalan na aksijalni pravac anodne kolone. U ovom slučaju samostabilizirajući efekat u blizini katode ne utiče na gubitke toplote. Ovakav asimetrični električni luk u konvencionalnim plazma pištoljima je glavni uzrok neuniformnog zagrevanja plazma mlaza. Kao direktna posledica ovog efekta, plazma mlaz u konvencionalnom plazma pištolju ima značajno veći konvektivni prenos toplote na anodni zid koji je lokalizovan u uskoj zoni anodnog kanala u blizini vrha katode. Jedna od potvrda ovog efekta je lokalizovana erozija anodnog zida konvencionalnog plazma pištolja u formi kratera na samo nekoliko milimetara od vrha elektrode (Sl.A3-2b), pri čemu je ovaj plazma pištolj funkcionisao pri tri puta manjoj snazi od *PJ-100* plazma pištolja [237].

Kao posledica opisanih razlika između konstrukcija *PJ-100* i konvencionalnih plazma pištolja, *PJ-100* plazmatron proizvodi homogeniju raspodelu temperature i brzinu plazma mlaza u poređenju sa konvencionalnim plazma pištoljima (Sl.A3-3). *PJ-100* plazma mlaz poseduje ovakva svojstva na neobično velikim rastojanjima od izlaza iz mlaznice ( $SOD=60-70$  mm).



**SL.A3-3.** Poređenje oblika plazma mlaza na izlazu iz mlaznice konvencionalnog plazma pištolja *F4 Metco* (gornji deo slike) i *PJ-100* plazma pištolja (donji deo slike) (adaptirano iz [237,238]).

Tokom procesa plazma nanošenja, od izuzetne važnosti su mere zaštite operatera koji upravlja procesom, kao i mere zaštite oštećenja samog plazma pištolja. Operater treba da bude u potpunosti pripremljen i obučen za izvođenje samog procesa nanošenja, a takođe mora da bude opremljen zaštitnom odećom koja podrazumeva zaštitu od strujnog udara, zaštitu vida i zaštitu od buke. Pre startovanja samog procesa nanošenja prevlaka, vrši se puštanje vode za hlađenje kroz sistem, koja struji tokom celog procesa nanošenja, ali i određeno vreme nakon završetka procesa nanošenja. Nakon puštanja vode za hlađenje, neophodno je proveriti da li u sistemu postoji nekontrolisano curenje vode (spojnice na ulazu i izlazu vode iz plazma pištolja, oko i ispod plazma pištolja, creva za vodu i sl.). Imajući u vidu moguće oštećenja anode, neutrode, a posebno katode u kontaktu sa kiseonikom iz ambijentalnog vazduha, pre paljenja plazma mlaza, neophodno je izvršiti prodivavanje prostora unutar plazma pištolja određeno vreme pomoću plazma gasa kako bi se uklonilo prisustvo ambijentalnog vazduha. Ukoliko je za proces nanošenja primenjen sekundarni plazma gas vodonik, neophodno je izvršiti prodivavanje prostora unutar plazma mlaza primarnim plazma gasom (argon ili azot) po završetku plazma procesa kako bi se osiguralo da je sav vodonik izbačen iz sistema. Osnovne prednosti i razlike *PJ-100* plazma instalacije u odnosu na konvencionalne se mogu rezimirati na sledeći način [238]:

1. Radna kriva napon-struja poseduje rastuće karakteristike
2. Pogodniji radni odnos struje i napona (veći napon, manja struja)



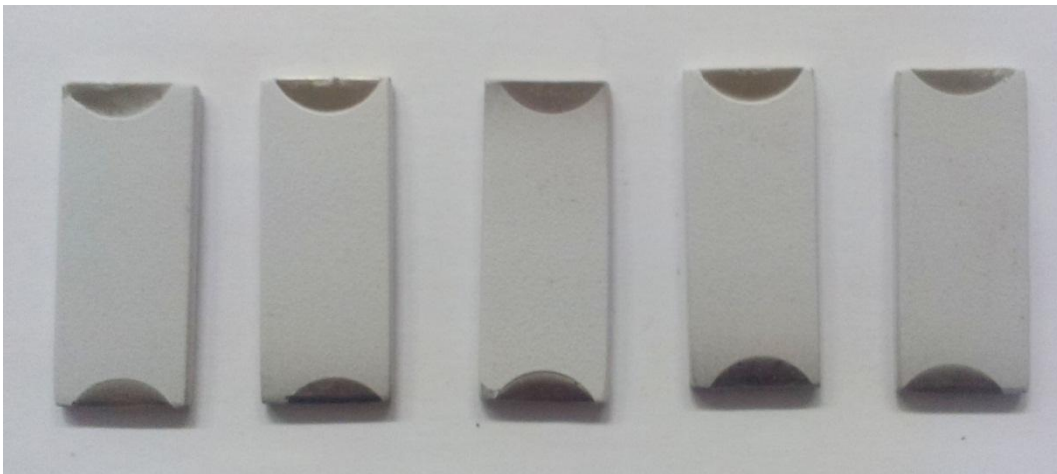
3. Veća termička efikasnost (70-74 %)
4. Plazma mlaz na izlazu iz mlaznice je bez turbulencija i vrtloga
5. Homogenija raspodela temperature i brzine plazma mlaza na izlazu iz mlaznice
6. Veća brzina plazma mlaza na 60-70 mm od izlaza iz mlaznice (1.6-1.8 km/s)

*PJ-100* plazma instalacija podrazumeva potpuno automatizovani i PLC regulisani proces nanošenja prevlaka različitih vrsta materijala [238]. *PJ-100* je praktično jedini komercijalno dostupni mobilni plazma sprej sistem tih snaga plazma izvora [238] (Sl.A3-4). Plazma mlaz takve gustine i snage omogućava efikasno topljenje i ubrzavanje većih količina materijala u poređenju sa prethodno razvijenim kovencionalnim sistemima, što značajno skraćuje vreme procesa nanošenja, a dovodi do proizvodnje prevlaka sa dobrom adhezijom na površini substrata. Svojstva *PJ-100* plazma mlaza omogućavaju nanošenje prevlaka od različitih vrsta materijala, kao što su metali, legure metala, karbidi, nitridi, boridi, oksidna i neoksidna keramika, kermeti i dr [238]. Debljine prevlaka koje je moguće naneti se kreću između ~50  $\mu\text{m}$  i ~6.5 mm [238]. Termička degradacija substrata je retko problematična, jer je proces nanošenja u tom kontekstu “hladan” proces koji maksimalno može da izazove zagrevanje substrata do ~150 °C [238]. Takođe, prevlake mogu da se nanose na substrate složenog geometrijskog oblika [238].

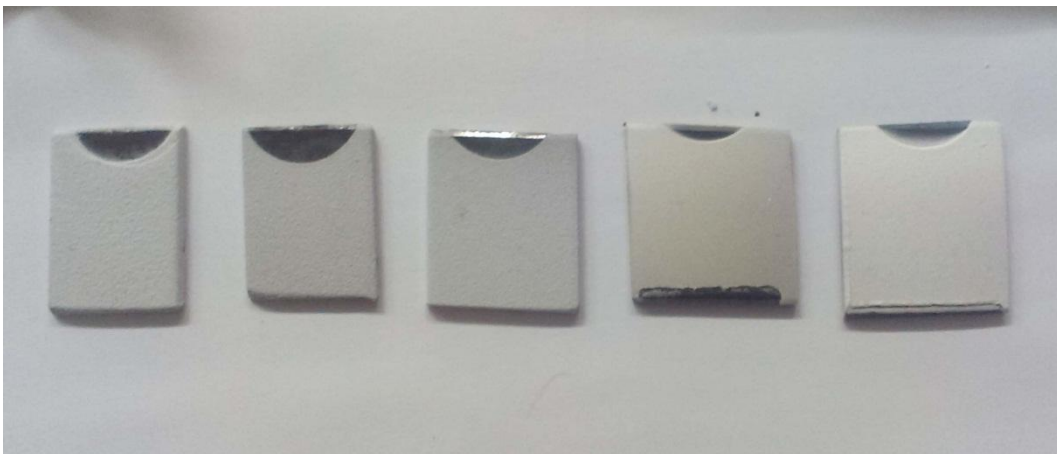


Sl.A3-4. *PJ-100* na Međunarodnom sajmu tehnike u Beogradu (adaptirano iz [238]).

Na Sl.A3-5 je prikazan tipičan izgled HA prevlaka dobijenih u ovom radu pomoću *PJ-100* plazmatrona. Proces nanošenja je objašnjen u poglavlju 4.2.1.2. Ovi uzorci (Sl.A3-5) su sečeni na pola (Sl.A3-6), pri čemu je jedna polovina korišćena za karakterizaciju hemijskih, strukturnih i morfoloških svojstava HA prevlaka, dok je druga polovina bila namenjena eksperimentima biomineralizacije u simuliranim telesnim tečnostima.



**Sl.A3-5.** Tipičan izgled HA prevlaka nanesenih primenom *PJ-100* plazma instalacije.



**Sl.A3-6.** Tipičan izgled uzoraka za ispitivanje hemijskih, strukturnih i morfoloških svojstava HA prevlaka u nanesenom stanju.

# PRILOG A4

## – Specifikacije ljudskih proteina gama globulin (HGG) i albumin (HSA) –



Golden West Biologicals, Inc. • 27625 Commerce Center Drive • Temecula, CA 92590  
(951) 699-0957 • FAX (951) 699-1087 • www.goldenwestbio.com

### PRODUCT SPECIFICATION

PRODUCT:	HUMAN GAMMA GLOBULIN
CATALOG#:	HGG1000
LOT#:	G011510027
SOURCE:	Human Plasma
APPEARANCE:	Off White powder
PURITY:	99.0%
TOTAL PROTEIN:	4.8 g/dl
pH:	6.5
OPTICAL DENSITY:	<0.2 @710nm
MOISTURE:	1.1%
SODIUM:	<20 mEq/L
CHLORIDE:	27 mEq/L
POTASSIUM:	<0.2 mEq/L
CALCIUM:	<2.0 mg/dL
STORAGE:	2-8°C
MICROBIAL:	<1 cfu/ml

**TESTING:** This material has been tested for HIV-1/2, HBsAg, HCV, HIV/HCV by NAT and Syphilis by an FDA approved method and found to be NON-REACTIVE.

**CAUTION:** NOT FOR USE IN HUMANS OR CLINICAL DIAGNOSIS. This product is intended for research or manufacturing of NON-INJECTABLE products only.

\_\_\_\_\_  
Authorized Signature

\_\_\_\_\_  
Date



Golden West Biologicals, Inc. • 27625 Commerce Center Drive • Temecula, CA 92590  
(951) 699-0957 • FAX (951) 699-1087 • www.goldenwestbio.com

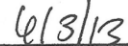
**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

PRODUCT: HUMAN SERUM ALBUMIN  
CATALOG: HA1000  
LOT #: G011504032  
PURITY: >98%  
APPEARANCE: Off white powder  
TOTAL PROTEIN: 4.9 g/dl  
SODIUM: <20 mEq/L  
CHLORIDE: <10 mEq/L  
POTASSIUM: <0.2 mEq/L  
CALCIUM: <2 mg/dl  
MOISTURE: <2%  
STORAGE: 2°-8° C Sealed Containers  
EXPIRATION: APRIL 2016

TESTING: Each unit of plasma used in the preparation of this material was tested and found negative for HIV 1/2, HBsAg, HCV, HIV-1 (NAT), HCV (NAT) and RPR by FDA approved methods.

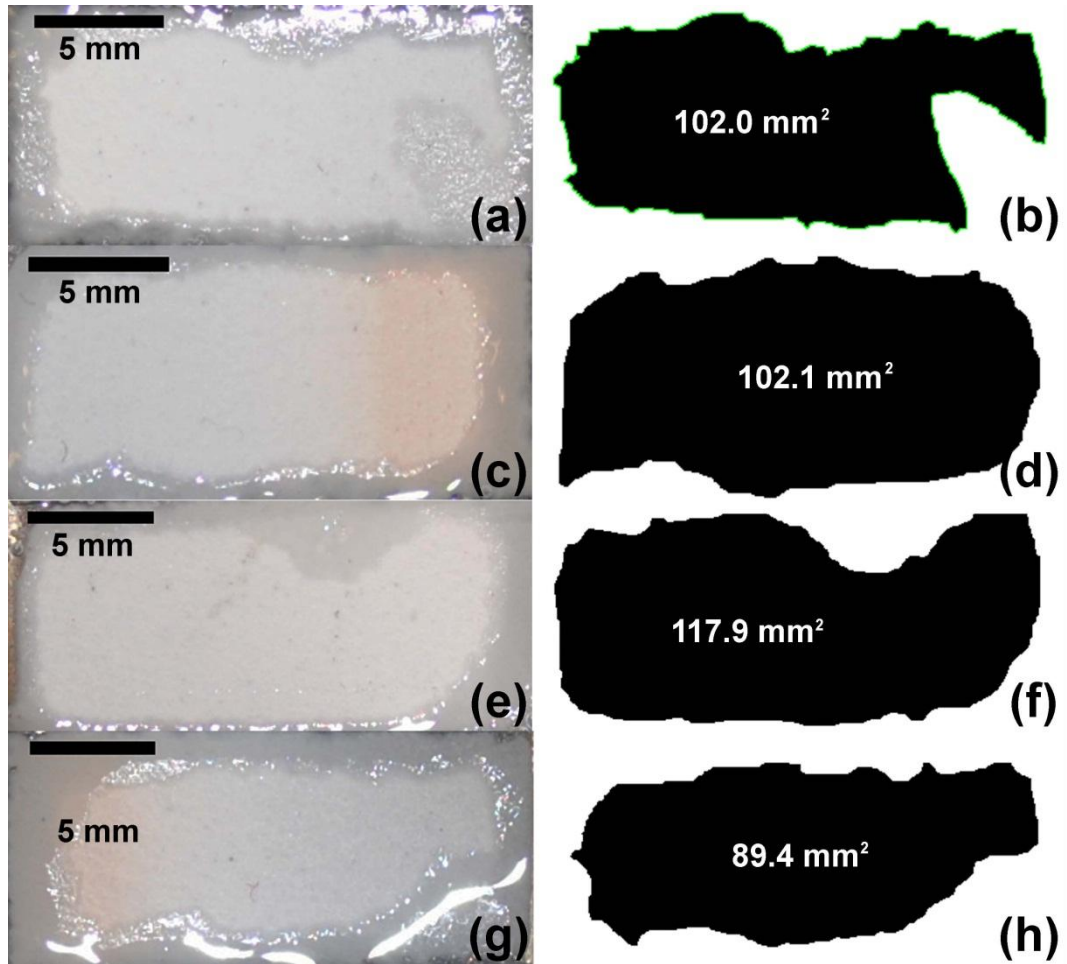
CAUTION: NOT FOR USE IN HUMANS OR CLINICAL DIAGNOSIS. These products are intended for research or manufacturing use only.

  
\_\_\_\_\_  
Authorized Signature

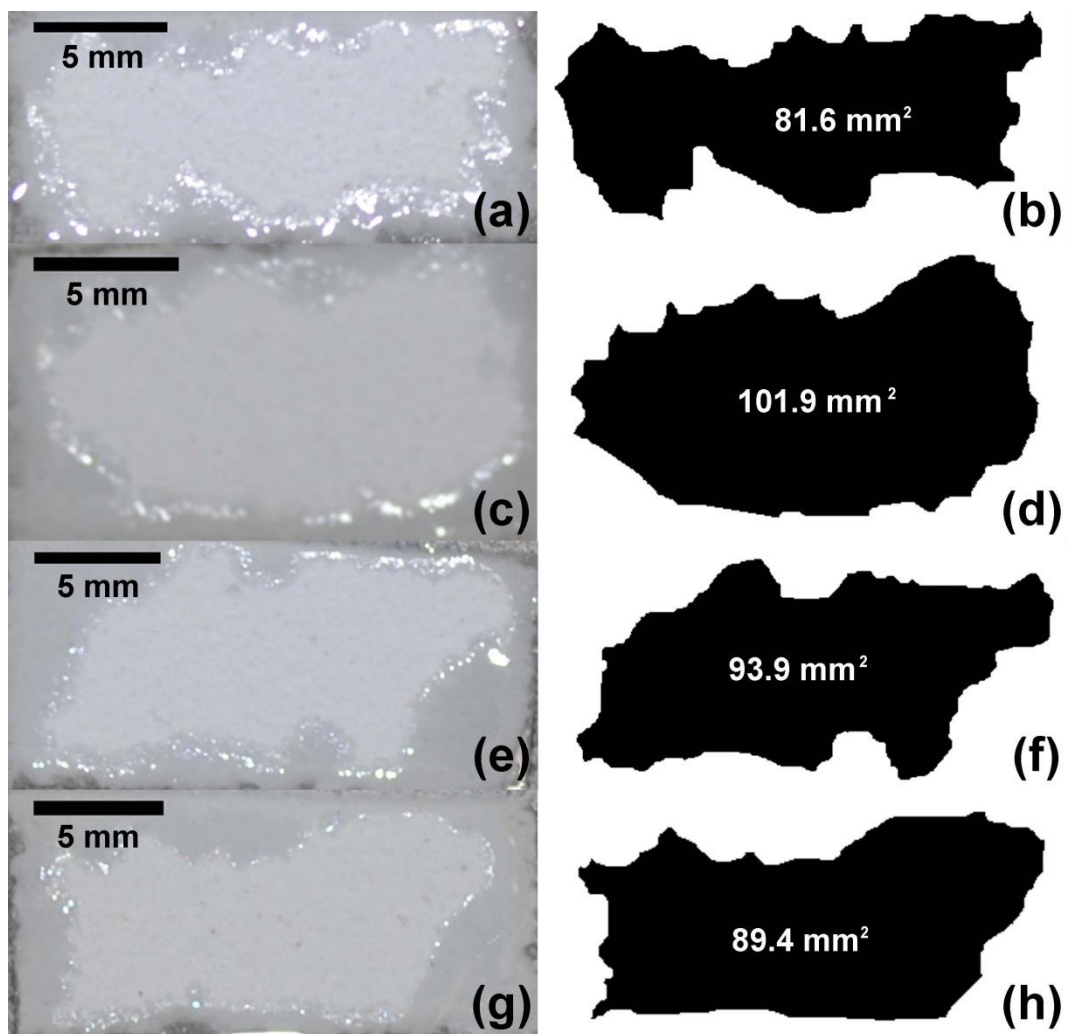
  
\_\_\_\_\_  
Date

## PRILOG A5

– Prividne površine HAP-fp i HAP-kp pre njihove imerzije u HHS rastvore –



**Sl.A5-1.** Izgled površina HAP-fp nanesenih pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=20$  °C nakon njihovog zatapanja u epoksi smolu (a,c,e,g) i vrednosti prividnih površina ovih uzoraka koje su bile u direktnom kontaktu sa HHS simuliranim telesnim tečnostima (b,d,f,h).



**SLA5-2.** Izgled površina HAP-kp nanesenih pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=20$  °C nakon njihovog zatapanja u epoksi smolu (a,c,e,g) i vrednosti prividnih površina ovih uzoraka koje su bile u direktnom kontaktu sa HHS simuliranim telesnim tečnostima (b,d,f,h).

## **PRILOG A6**

**– Merni uredaji i primeri uzoraka HA prevlaka za ispitivanje –**

**PRILOG A6-1**  
**– XRF ARL PERFORM'X–**



**Sl.A6-1-1.** Model ARL PERFORM'X za energetska-disperzivnu fluorescenciju rentgenskih zraka proizvođača (Thermo Fisher Scientific) kakav poseduje Hemijski fakultetu, Univerzitet u Beogradu, Srbija.



## PRILOG A6-2

– Difraktometri–



SI.A6-2-1. Difraktometar *SIEMENS Kristaloflex D500* se nalazi u Laboratoriji za materijale, Institut za nuklearne nauke Vinča, Univerzitet u Beogradu, Srbija.



Sl.A6-2-2. Difraktometar *Ital Structure APD 2000* se nalazi na Katedri za opštu i neorgansku hemiju Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerzitet u Beogradu, Srbija.

## PRILOG A6-3

– FTIR–



Sl.A6-3-1. ATR-FTIR *PerkinElmer Spectrum 100* se nalazi na CBC-SPMS-NTU, Singapore.



Sl.A6-3-2. T-FTIR *BOMEM Hartman Braun (MB series)* se nalazi na Katedri za organsku hemiju, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija.



**Sl.A6-3-3.** Hidraulična presa (15 t) za pravljenje tableta u hladno presovanom stanju od praškastih materijala se nalazi na Katedri za organsku hemiju, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija.

## PRILOG A6-4

### – Kalibrisani mikrometar –



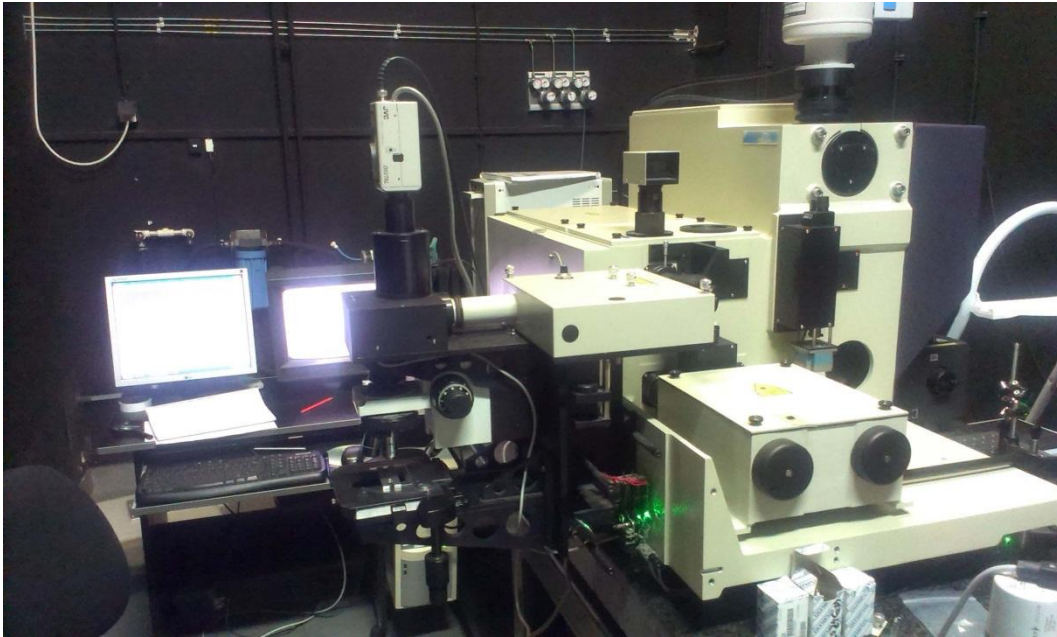
**SI.A6-4-1.** Kalibrisani mikrometar *Mitutoyo* (Japan) sa konusnim čeljustima se nalazi u Laboratoriji za plastičnu preradu, Katedra za metalurško inženjerstvo, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija.



## PRILOG A6-5

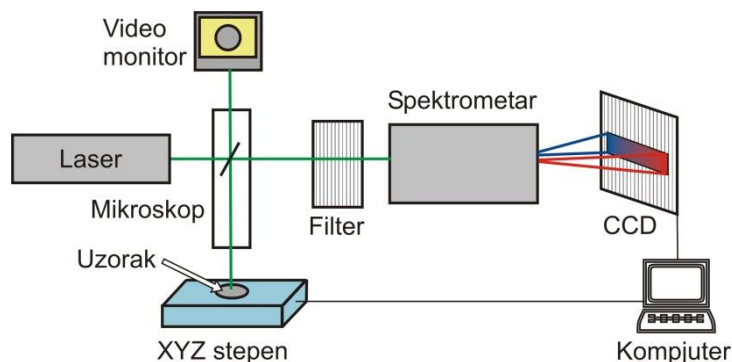
– Jobin Yvon T 64000 –

Na Sl.A6-5-1 je prikazan mikro-Ramanov spektrometar *Jobin Yvon T64000*. U daljem tekstu ovog priloga su izložene osnovne performanse ovog sistema.



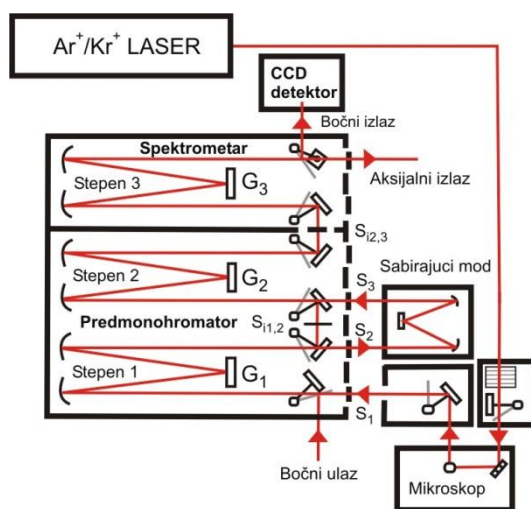
**Sl.A6-5-1.** Mikro-Ramanov spektroskop *Jobin Yvon T64000* se nalazi u Laboratoriji za Ramanovo rasejanje i fotoluminiscenciju, Centar za fiziku čvrstog stanja i nove materijale, Institut za Fiziku, Univerzitet u Beogradu, Zemun, Srbija.

Mikro-Ramanova spektroskopija je metoda direktne nedestruktivne analize u kojoj se pomoću optičkog mikroskopa laserski snop fokusira na uzorak, ali i prikuplja rasejana svetlost, koja se potom usmerava na ulaz monohromatora, kako je prikazano na Sl.A6-5-2 [172].



**Slika A6-5-2.** Shematski prikaz uređaja za mikro-Ramanovu spektroskopiju (adaptirano iz [172]).

Snimanje većine Raman spektara prikazanih u ovoj disertaciji (vidi **priloge C2-2, E1 i E2**) je izvršeno na *Jobin Yvon T64000* trostrukom spektrometarskom sistemu, koji je shematski prikazan na SI.A6-5-3 [172,246]. Kao izvor svetlosti je korišćen mešani  $\text{Ar}^+/\text{Kr}^+$  jonski kontinualni laser na talasnoj dužini od 514,5 nm .



**SI.A6-5-3.** Shematski prikaz *Jobin Yvon T64000* spektrometarskog sistema (adaptirano iz [172,246]).

Laserski snop se u *T64000* sistemu, kroz odgovarajuću kombinaciju neutralnih filtera, sistemom ogledala dovodi do mikroskopa koji ga fokusira na površinu uzorka [172,246]. *T64000* je opremljen konfokalnim mikroskopom koji omogućava eksperimente na uzorcima malih dimenzija sa poboljšanom lateralnom i dubinskom rezolucijom. Svetlost rasejana od površine uzorka vraća se u mikroskop i ogledalima usmerava u trostruki monohromator [172,246].

Monohromatorski sistem *T64000* sastoji se od predmonohromatora (stepeni 1 i 2 na Sl.A6-5-3) i spektrometra (stepen 3 na Sl.A6-5-3) [172,246]. Predmonohromator je dvostruki monohromator, koji deluje kao podesivi filter u spektralnom opsegu definisanom skanirajućim mehanizmom i rešetkama monohromatora, dok spektrometar ima ulogu disperzionog elementa. Sve tri holografski zapisane rešetke u *T64000* sistemu imaju po 1800 zarez/mm, što omogućava spektralni opseg sistema od ~0 do ~950 nm. Iz monohromatora se spektralno razložena svetlost usmerava na multikanalni CCD (Charge Coupled Device) detektor, koji se hladi tečnim azotom do temperature od oko -133 °C [172,246]. Korišćen je *Symphony 1024 x 256 Cryogenic Open Electrode CCD* detektor sa srednjom kvantnom efikasnošću od ~40 % i relativno ravnomernim spektralnim odzivom u opsegu od ~200 nm do ~900 nm [172,246]. Električni signal iz detektora se pojačava u predpojačavaču, a zatim preko brojača prikuplja u računaru [172,246]. Konačni spektar snima se u pojedinim spektralnim opsezima, od kojih se svaki meri za određeni položaj rešetke. Širina pojedinačnih spektralnih opsega određena je brojem zarez na rešetki i zavisi od talasne dužine rasejane svetlosti. U zavisnosti od intenziteta Ramanovog signala i željenog odnosa signal/šum zadaje se vreme ekspozicije i broj akumulacija za pojedine spektralne opsege [172,246]. Rezolucija je bolja od 2 piksela na CCD detektoru, što za talasnu dužinu lasera od ~514,5 nm daje spektralnu rezoluciju od ~2 cm<sup>-1</sup> [172,246]. Disperzija na ~600 nm iznosi ~17,68 cm<sup>-1</sup>/nm. Preciznost sistema u spektralnom opsegu od ~450 do ~850 nm je ±1 cm<sup>-1</sup>.



## PRILOG A6-6

### – Tri Vista TR557 –

Na Sl.A6-6-1 je prikazan mikro-Ramanov spektrometar *Tri Vista TR557*. U daljem tekstu ovog priloga su izložene osnovne performanse ovog sistema.

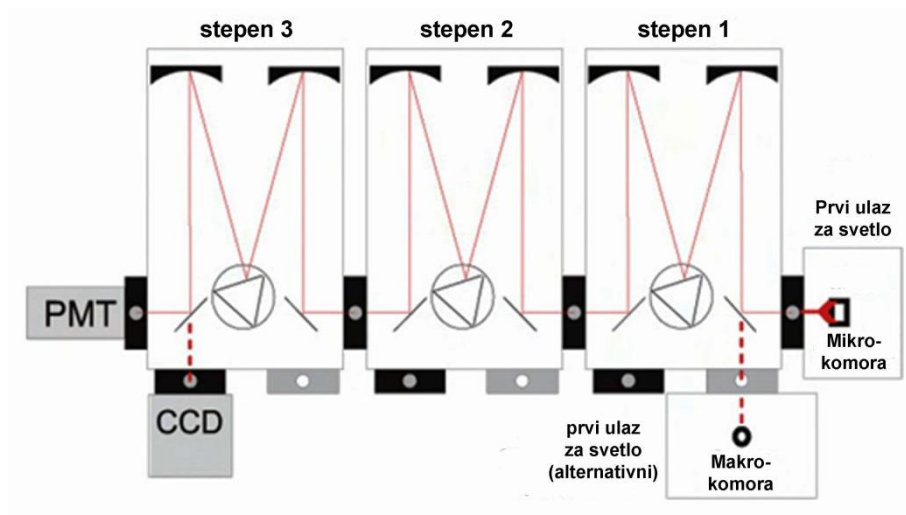


**Sl.A6-6-1.** Mikro-Ramanov spektrometar *Tri Vista TR557* se nalazi u Laboratoriji za Ramanovo rasejanje i fotoluminiscenciju, Centar za fiziku čvrstog stanja i nove materijale, Institut za Fiziku, Univerzitet u Beogradu, Zemun, Srbija (adaptirano iz [246]).

*Tri Vista TR557* funkcioniše u opsegu talasnih dužina između  $\sim 185$  nm i  $\sim 2.2$   $\mu\text{m}$  [246]. Ovaj spektrometar predstavlja jedan od najfleksibilnijih sistema za Ramanovu spektroskopiju, čiji se merni opseg kreće od ultraljubičaste ( $\sim 185$  nm) do bliske infracrvene ( $\sim 2,2$   $\mu\text{m}$ ) oblasti, sa najboljom rezolucijom reda 0.004 nm u oblasti vidljive svetlosti ( $\sim 500$  nm).

Devet rešetaka (po tri u svakom stepenu, Sl.A6-6-2) sa različitim brojem zarez po mm (od 300 do 2400 zarez/mm), omogućava snimanje Raman spektara u različitim oblastima talasnih dužina i pri različitim rezolucijama, što se kontroliše izborom odgovarajućih programskih komandi [246]. *Tri Vista TR557* model može da bude primenjen u jednostrukoj, dvostrukoj ili trostrukoj konfiguraciji. Primena jednostruke konfiguracije znači da svi stepeni (Sl.A6-6-2) mogu da budu korišćeni simultano i nezavisno za tri različita eksperimenta koji se izvode istovremeno. *Tri Vista TR557* model se najčešće primenjuje u dvostrukoj ili trostrukoj konfiguraciji, a razlozi za

njihove primene umesto jednostruke konfiguracije su visoka spektralna rezolucija (*eng.* high spectral resolution) i efikasno odbijanje lutajućeg svetla (*eng.* high stray light rejection) [246]. Ova dva efekta mogu da se dobiju u različitim modovima rada *Tri Vista TR557* sistema pri čemu (i) sabirajući (additive) mod rada omogućava visoku spektralnu rezoluciju i visoku linearnu disperziju, dok (ii) oduzimajući (subtractive) mod rada omogućava efikasno odbijanje lutajućeg svetla [246].



**SLA6-6-2.** Shematski prikaz trostrukog mikro-Ramanov spektrometra *Tri Vista TR557* u sabirajućem (additive) i oduzimajućem (subtractive) modu sa mikro- i makro-komorama i PTM i CCD detektorima.

*Tri Vista TR557* sistem je opremljen sa Princeton Instruments Spec-10: 256 detektorom, koji predstavlja potpuno integrisani CCD detektor [246]. Ovaj detektor sadrži elektrodu (senzor) sa odzivom u širokom spektralnom opsegu (200-1500 nm), a hlađen je tečnim azotom. *Tri Vista* je opremljen sa vertikalnim mikroskopom *BX51* (*Olympus*) i konfokalnim mikro-Raman interfejsom, koji je ekstenzija *BX51* mikroskopa i koji omogućava opciju mikro-Ramanove spektroskopije. Konfokalni Raman mikroskop ima prostornu rezoluciju u mikrometarskim razmerama. Pored navedenog, *Tri-Vista TR557* sistem je opremljen programski navođenim nosačem za uzorke sa opcijom pomeranja u svim pravcima koordinatnog sistema (x-, y-, i z-pravac) [246].

## PRILOG A6-7

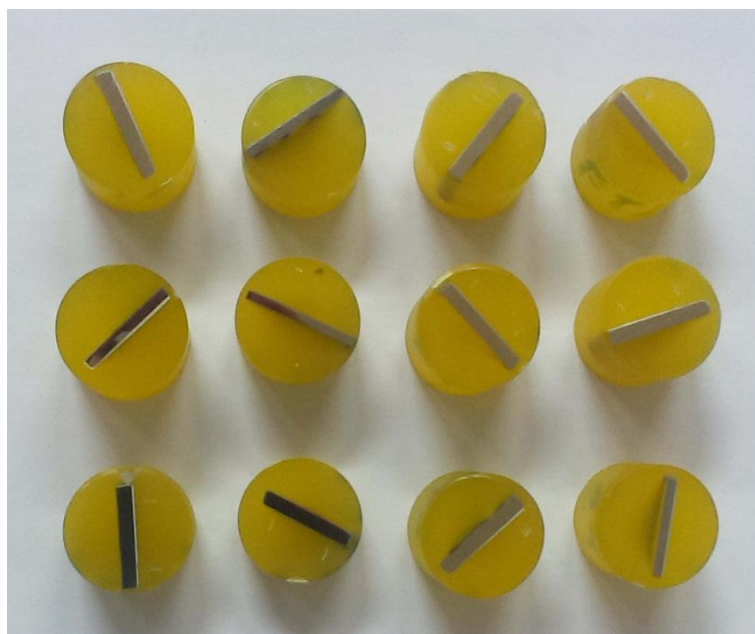
– Priprema poprečnih preseka HA prevlaka za ispitivanja –



**Sl.A6-7-1.** Uređaj na kome je izvršeno brušenje poprečnih preseka HA prevlaka se nalazi na Katedri za metalurško inženjerstvo, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija.



**Sl.A6-7-2.** Uređaj na kome je izvršeno poliranje poprečnih preseka HA prevlaka se nalazi na Katedri za metalurško inženjerstvo, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija.



**Sl.A6-7-3.** Makro-fotografije prikazuju tipičan izgled poliranih poprečnih preseka jedne serije ispitivanih hladno zatopljenih uzoraka HAP-fp i HAP-kp nanesenih pri različitim *SOD* i *Ts* koji su sečeni dijamantskom testerom.



**Sl.A6-7-4.** Makro-fotografije prikazuju tipičan izgled poliranih poprečnih preseka jedne serije ispitivanih toplo zatopljenih uzoraka HAP-fp i HAP-kp nanesenih pri različitim *SOD* i *Ts* koji su sečeni ručnom testerom.



## PRILOG A6-8

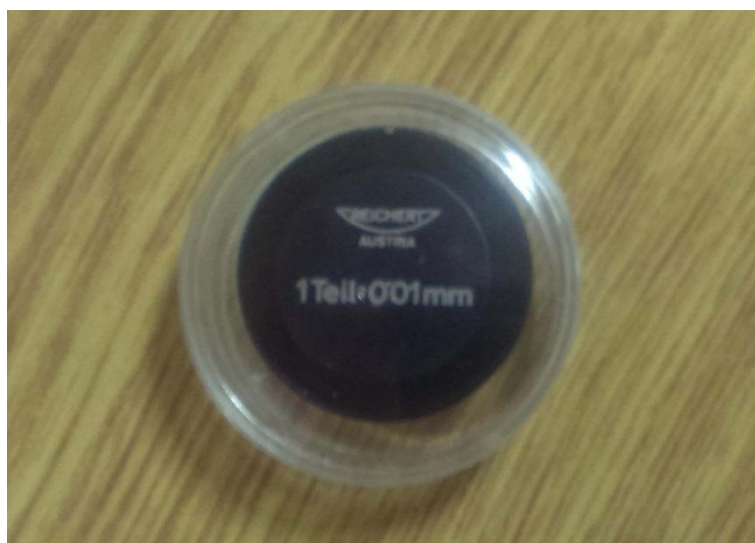
– SM –



**Sl.A6-8-1.** Stereo SM Karl Zeiss koji se nalazi na Katedri za metalurško inženjerstvo, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija.



**SL.A6-8-2.** SM *Reichert Jung MEF3* koji se nalazi na Katedri za metalurško inženjerstvo, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija.



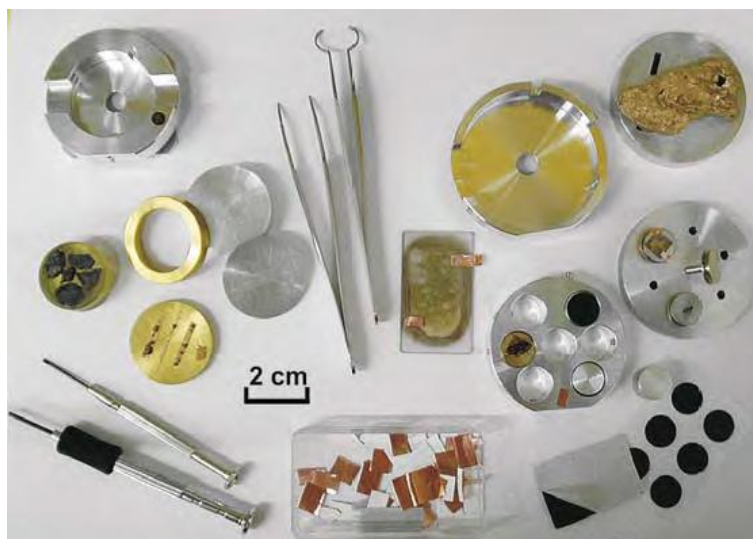
**SL.A6-8-3.** Standardna končanica (*Reichert*) sa najmanjim podeokom od 0.010 mm.

## PRILOG A6-9

– SEM-EDS –



**Sl.A6-9-1.** JEOL JSM-6610 LV SEM sa instaliranim Oxford Instruments X-Max SDD EDS se nalazi na Departmanu za mineralogiju, Rudarsko-geološki fakultet, Univerzitet u Beogradu (adaptirano iz [247]).



**Sl.A6-9-1.** Pribor za pripremu i montiranje uzoraka: aluminijumski nosači uzoraka, dvostrano lepljive ugljenikove trake, bakarna traka, pincete. se nalazi na Departmanu za mineralogiju, Rudarsko-geološki fakultet, Univerzitet u Beogradu (adaptirano iz [247]).





SLA6-9-3. Uredaj za napanje površina uzoraka (adaptirano iz [247]).



SLA6-9-4. Osnovni i dodatni delovi oko kolone JEOL JSM-6610 LV SEM (adaptirano iz [247]).



## **SEM model: JEOL JSM-6610LV**

### **Uvećanje**

X 5-300.000

### **Elektronski top**

Izvor elektrona: W žica, LaB<sub>6</sub>

Napon 0.3-30 kV

### **Vakuum sistem**

Rotaciona pumpa + turbomolekularna pumpa (uključene u osnovnu konfiguraciju mikroskopa)

Jonska pumpa (koristi se za LaB<sub>6</sub>)

Rotaciona pumpa za rad u niskom vakumu (10-270 Pa)

### **Detektori**

SE detektor; BSE detektor; CL detektor

EDS detektor (model: X-Max Large Area Analytical Silicon

Drift connected with INCAEnergy 350 Microanalysis

System); detekcija elemenata  $Z \geq 5$ ; granica detekcije

~ 0.1 mas.%, rezolucija 126 eV

### **Komora za uzorke**

Pomeranje uzorka: 5-osa (X, Y, Z, T - nagib, R - rotacija)

Maksimalna veličina uzorka: 20 cm (širina), 8 cm (visina),

1 kg (težina)

Dve infracrvene kamere

### **Standardi za mikroanalizu**

64 prirodna minerala i sintetička jedinjenja

**Uređaj za napanje uzoraka zlatom (Au)  
i ugljenikom (C): model LEICA SCD005**

### **Prateća oprema**

(ultrazvučna kada, binokular i drugo)

**Sl.A6-9-5.** Pregled celokupne opreme SEM laboratorije na Departmanu za mineralogiju, Rudarsko-geološki fakultet, Univerzitet u Beogradu (adaptirano iz [247])

## PRILOG A6-10

– pH-metar –



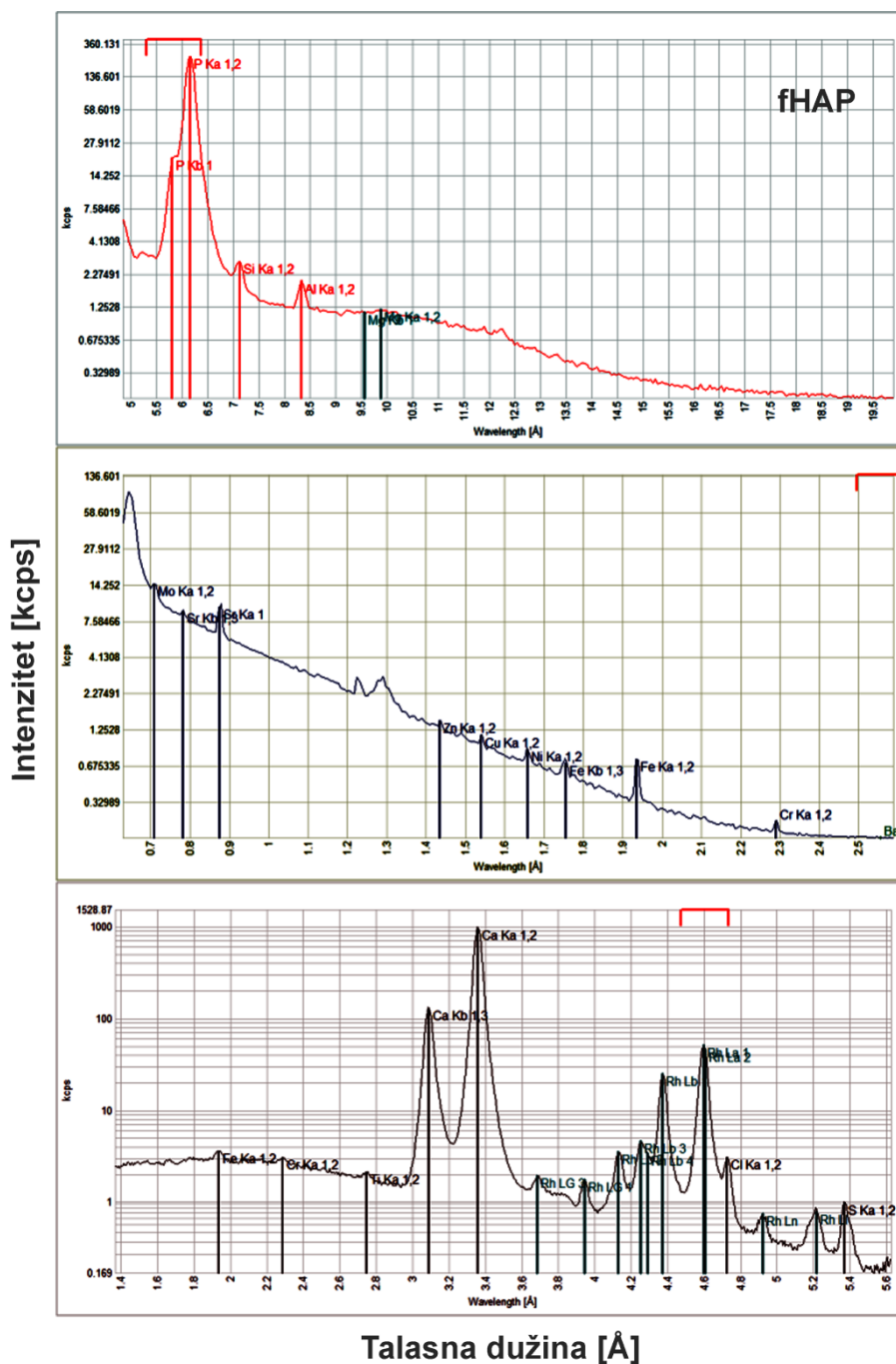
**Sl.A6-10-1.** Model *Docu-pH meter* (*Sartorius*) kakav poseduje CBC-SPMS-NTU, Singapore (adaptirano iz [248]).

# **PRILOG B**

**– Svojstva HA prahova –**

# PRILOG B1

– XRF analiza –



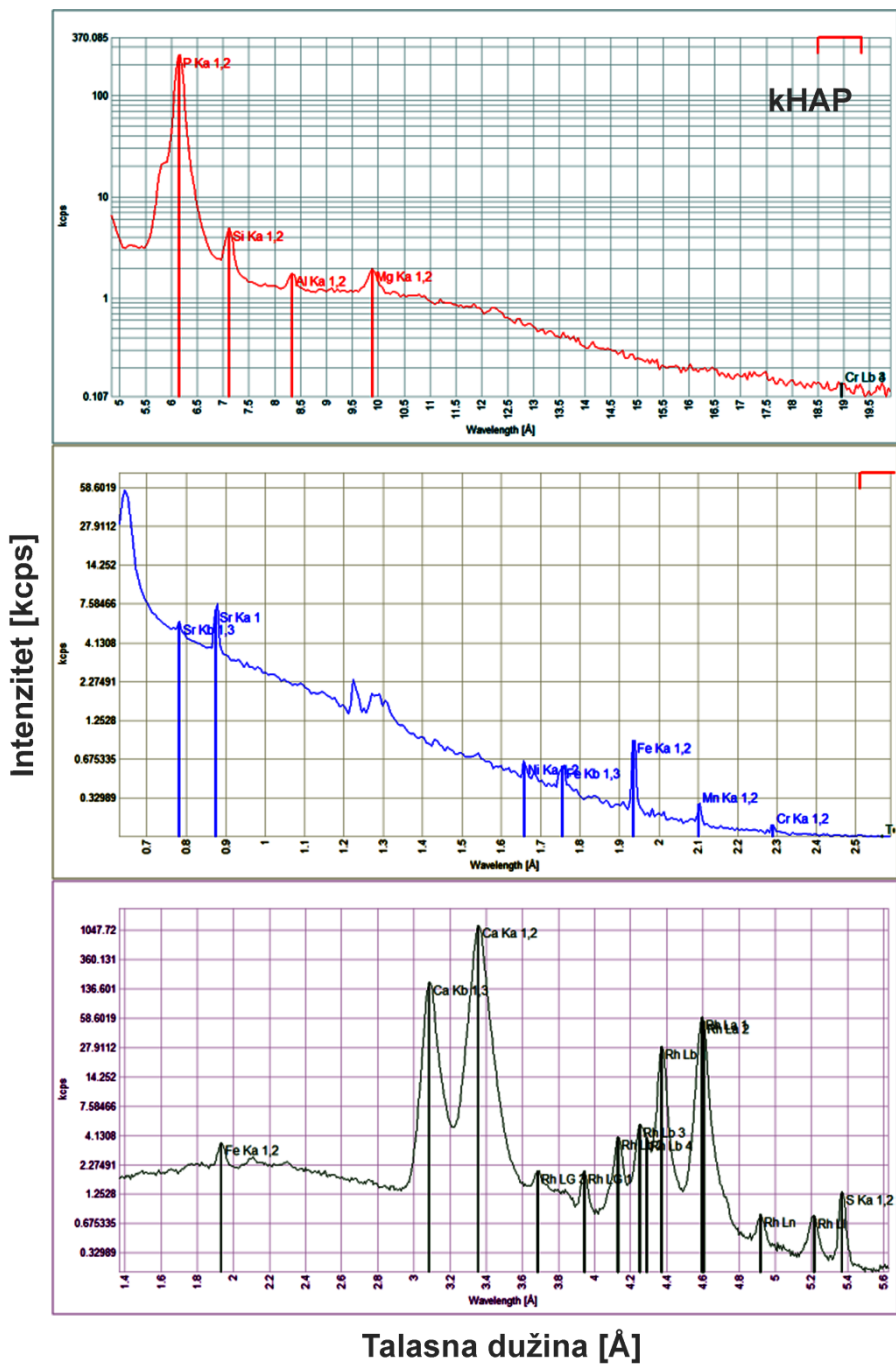
**Sl.B1-1.** Tri dela XRF spektra dobijenih sa fHAP koji su detektovani pomoću tri monokristala: LiF (220) (gornji spektar), LiF (200) (srednji spektar) i Ge (111) (donji spektar). Milerovi indeksi ravni ( $xy$ ) označavaju kristalografsku orijentaciju monokristala korišćenih za detekciju rentgenskog zračenja u odgovarajućim oblastima talasnih dužina. Rh signal potiče sa rentgenske cevi.

**Tab.B1-1.** Rezultati određivanja srednjeg hemijskog sastava fHAP koji odgovaraju XRF spektru sa Sl.B1-1. Koncentracija hemijskih elemenata je data u mas. %.

Faculty of Chemistry 11000 BELGRADE - RS fHAP - 0010				Measured on : 7.29.2014 8:47:04 PM Xray Path: : Vacuum Film Type : None Collimator Mask : 29 mm Viewed Diameter : 25.00 mm Viewed Area : 490.63 mm Viewed Mass : 1324.46 mg Sample Height : 1.79 mm			
ARL PFX-079 Rh 60KV LIF200 LIF220 Ge111 Method : Test Jul 2014 Kappa List : Any Sample Shapes & ImpFct : Teflon Calculated as : Oxides Case Number : 10 = All known				Calculated by UniQuant Thermo Fisher Scientific			
+ means part of 100% sum				< means w/o <			
Z		Wt%	Est.Err.	Z		Wt%	Est.Err.
4	Be			46	Pd	<	
5	B			47	Ag	<	
6	C			48	Cd	<	
7	N			49	In	<	
8	O			50	Sn	<	
9	F	<		51	Sb	<	
11	+ Na	0.174	0.017	52	Te	<2a	0.013
12	+ Mg	0.118	0.0060	53	I	<2a	0.016
13	+ Al	0.0793	0.0040	55	Ca	<2a	0.026
14	+ Si	0.0879	0.0044	56	Ba	<2a	0.033
15	+ P	20.89	0.11	57	La	<2a	0.0025
15	P			58	Ce	<	
16	+ S	0.0122	0.0008	59	Pr	<	
16	S			60	Nd	<	
17	+ Cl	0.0769	0.0042	62	Sm	<2a	0.0039
18	Ar	<		63	Eu	<2a	0.0022
19	+ K	0.0030	0.0009	64	Gd	<	
20	+ Ca	36.49	0.18	65	Tb	<2a	0.0023
21	Sc	<		66	Dy	<2a	0.0038
22	+ Ti	0.0159	0.0011	67	Ho	<	
23	V	<		68	Er	<	
24	+ Cr	0.0053	0.0011	69	Tm	<	
25	Mn	<		70	Yb	<2a	0.0022
26	+ Fe	0.0216	0.0012	71	Lu	<2a	0.0022
27	Co	<		72	Hf	<	
28	+ Ni	0.0057	0.0009	73	Ta	<	
29	Cu	<2a	0.0010	74	W	<	
30	Zn	<2a	0.0011	75	Re	<	
31	Ga	<		76	Os	<	
32	Ge	<		77	Ir	<	
33	As	<2a	0.0070	78	+ Pt	0.0065	0.0028
34	Se	<		79	+ Au	0.0152	0.0027
35	Br	<		80	Hg	<	
37	Rb	<		81	Tl	<2a	0.0051
38	+ Sr	0.0452	0.0023	82	Pb	<2a	0.0039
39	Y	<		83	Bi	<2a	0.0027
40	Zr	<2a	0.0024	90	Th	<2a	0.0076
41	Nb	<2a	0.0025	92	U	<	
42	+ Mo	0.0421	0.0037	94	Pu	<2a	0.0043
44	Ru	<2a	0.0035	95	Am	<	
45	Rh	<					

Sum Weight% before normalization to 100% = 59.1 %  
Total Weight% Oxygen = 41.91

D/S 0.808 Boric acid



**Sl.B1-2.** Tri dela XRF spektra dobijenih sa KHAP koji su detektovani pomoću tri monokristala: LiF (220) (gornji spektar), LiF (200) (srednji spektar) i Ge (111) (donji spektar). Milerovi indeksi ravni ( $xyz$ ) označavaju kristalografsku orijentaciju monokristala korišćenih za detekciju rentgenskog zračenja u odgovarajućim oblastima talasnih dužina. Rh signal potiče sa rentgenske cevi.

**Tab.B1-2.** Rezultati određivanja srednjeg hemijskog sastava kHAP koji odgovaraju XRF spektru sa Sl.B1-2. Koncentracija hemijskih elemenata je data u mas. %.

Faculty of Chemistry 11000 BELGRADE - RS KHAP - 0009			Calculated by UniQuant Thermo Fisher Scientific		
ARL PFX-079 Rh 60KV LIF200 LIF220 Ge111			X-ray Path: : Vacuum		
Method : :			Film Type : None		
Kappa List : AnySample			Collimator Mask : 29 mm		
Shapes & ImpFc : Teflon			Viewed Diameter : 25.00 mm		
Calculated as : Oxides			Viewed Area : 490.63 mm		
Case Number : 0 = All known			Viewed Mass : 1232.91 mg		
			Sample Height : 1.59 mm		
- means part of 100% sum			- means wt% < 10 mg/kg		
Z	Wt%	Est.Err.	Z	Wt%	Est.Err.
4	Ba		46	Pd	<
5	B		47	Ag	<
6	C		48	Cd	<2e
7	N		49	In	<
8	O		50	Sn	<
9	F	<	51	Sb	<
11	Na	0.132	52	Te	<
12	Mg	0.233	53	I	<2e
13	Al	0.0488	55	Ca	<
14	Si	0.197	56	Ba	<2e
15	P	18.42	57	La	<
15	P		58	Ce	<2e
16	S	0.0150	59	Pr	<
16	S		60	Nd	<
17	Cl	<	62	Sm	<
18	Ar	<	63	Eu	<
19	K	0.0063	64	Gd	<2e
20	Ca	40.42	65	Tb	<
21	Sc	<	66	Dy	<
22	Ti	<2e	67	Ho	<
23	V	<2e	68	Er	<2e
24	Cr	0.0063	69	Tm	<2e
25	Mn	0.0116	70	Yb	<
26	Fe	0.0388	71	Lu	<2e
27	Co	<	72	Hf	<2e
28	Ni	<2e	73	Ta	<
29	Cu	<2e	74	W	<2e
30	Zn	<2e	75	Re	<2e
31	Ga	<	76	Os	<
32	Ge	<	77	Ir	<2e
33	As	<	78	Pt	<
34	Se	<	79	Au	<
35	Br	<	80	Hg	<
37	Rb	<	81	Tl	<
38	Sr	0.0390	82	Pb	<
39	Y	<	83	Bi	<
40	Zr	<	90	Th	<
41	Nb	<	92	U	<
42	Mo	0.0086	94	Pu	<2e
44	Ru	<2e	95	Am	<
45	Rh	<			

Sum Weight% before normalization to 100% = 61.7 %  
Total Weight% Oxygen = 30.4

D/S 0.595 Boric acid

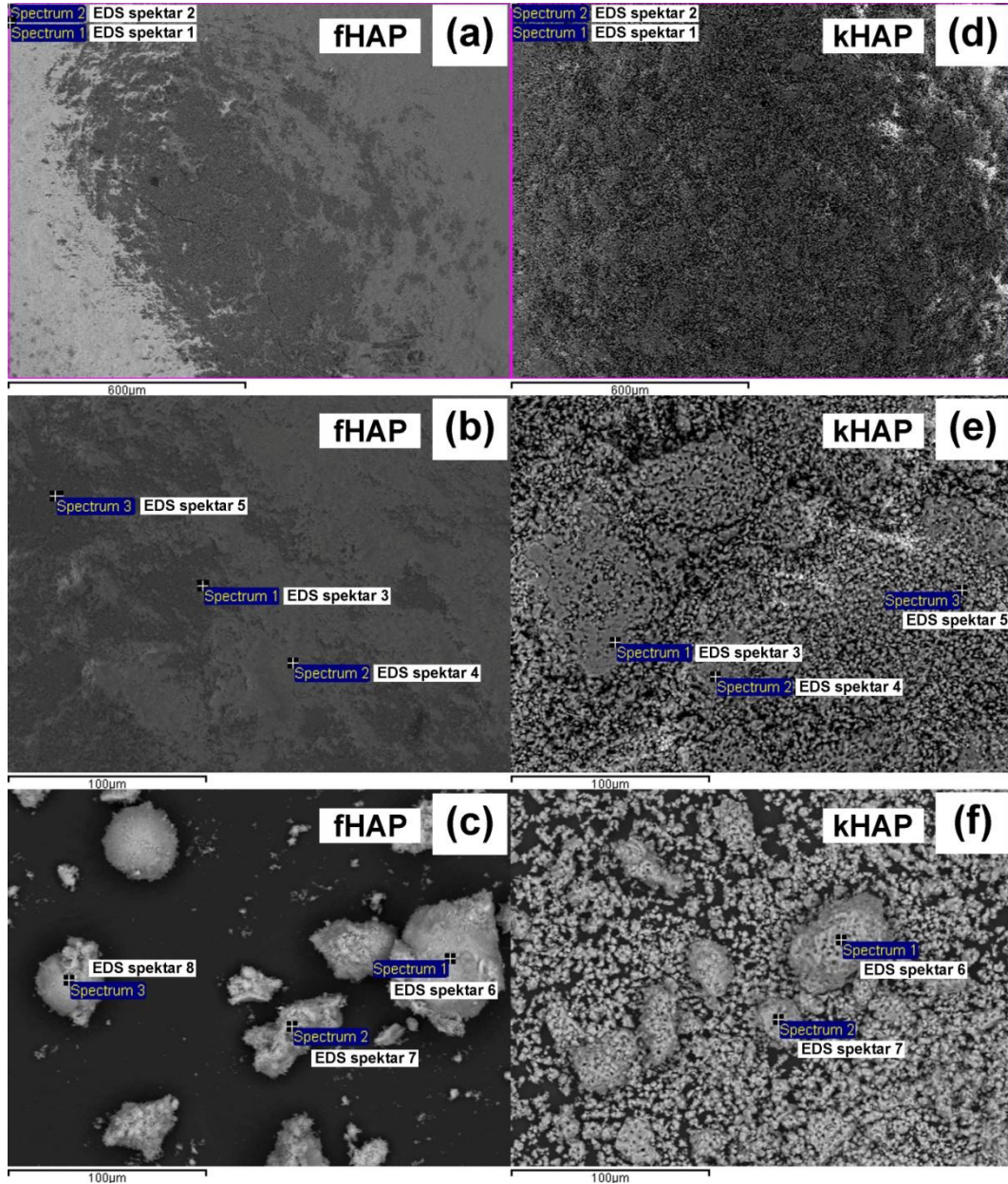
**Tab.B1-3.** Proračun pretvaranja mas.% u at.% hemijskih elemenata detektovanih pomoću XRF iz Tab.B1-1, u slučaju fHAP, i iz Tab.B1-2, u slučaju kHAP, sa ciljem određivanja srednjeg molarnog Ca/P odnosa ovih prahova.

<b>fHAP</b>						
	<b>Wt%</b>	<b>Est.Err.</b>	<b>Ar</b>	<b>At. Ratio</b>	<b>Bound oxygen</b>	<b>At%</b>
Al	0.0795	0.0040	26.98	0.0029	0.0044	0.0700
Si	0.0879	0.0044	28.09	0.0031	0.0063	0.0744
P	20.89	0.11	30.97	0.6744	1.6861	16.0328
S	0.0122	0.0008	32.06	0.0004	0.0011	0.0090
Cl	0.0769	0.0042	35.45	0.0022	0.0000	0.0516
K	0.0030	0.0009	39.10	0.0001	0.0000	0.0018
Ca	36.49	0.18	40.08	0.9105	0.9105	21.6438
Ti	0.0159	0.0011	47.87	0.0003	0.0007	0.0079
Cr	0.0053	0.0011	52.00	0.0001	0.0002	0.0024
Fe	0.0216	0.0012	55.85	0.0004	0.0004	0.0092
Ni	0.0057	0.0009	58.69	0.0001	0.0001	0.0023
Sr	0.0452	0.0023	87.62	0.0005	0.0005	0.0123
Mo	0.0421	0.0037	95.95	0.0004	0.0009	0.0104
O			16.00	2.6111		62.0719
Σ	57.7753			4.2066		100.0000
<b>kHAP</b>						
	<b>Wt%</b>	<b>Est.Err.</b>	<b>Ar</b>	<b>At. Ratio</b>	<b>Bound oxygen</b>	<b>At%</b>
Mg	0.233	0.012	24.31	0.0096	0.0096	0.2311
Al	0.0488	0.0030	26.98	0.0018	0.0027	0.0436
Si	0.197	0.0098	28.09	0.0070	0.0140	0.1691
P	18.42	0.11	30.97	0.5947	1.4867	14.3348
S	0.0150	0.0007	32.06	0.0005	0.0014	0.0113
K	0.0063	0.0009	39.10	0.0002	0.0001	0.0039
Ca	40.42	0.18	40.08	1.0085	1.0085	24.3100
Cr	0.0063	0.0010	52.00	0.0001	0.0002	0.0029
Mn	0.0116	0.0010	54.94	0.0002	0.0002	0.0051
Fe	0.0388	0.0019	55.85	0.0007	0.0007	0.0167
Sr	0.0390	0.0019	87.62	0.0004	0.0004	0.0107
Mo	0.0086	0.0029	95.95	0.0001	0.0002	0.0022
O			16.00	2.5248		60.8586
Σ	59.4444			4.1486		100.0000



## PRILOG B2

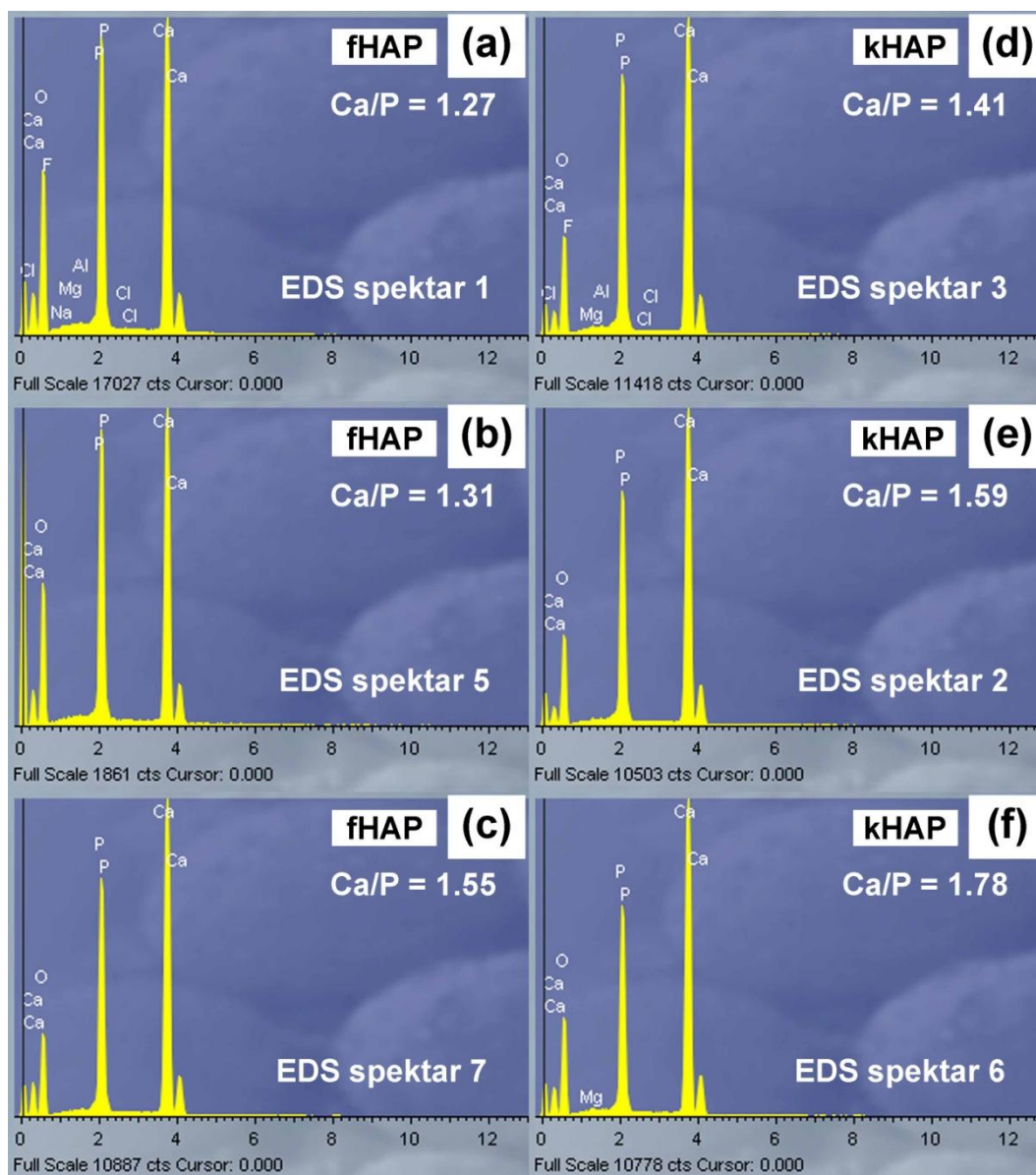
– EDS analiza –



**Sl.B2-1.** Vizuelni prikaz lokacija tipičnih EDS merenja srednjeg hemijskog sastava na hladno presovanim tabletama fHAP (a-c) i kHAP (d-f). Merenja su vršena na većim površinama (a i d), ravnijim i grubljim površinama pomoću tačkaste EDS analize (b i e), kao i na površinama samih čestica (c i f). Svetlije površine na (a i b) predstavljaju dobro presovane delove fHAP tablete, dok tamnije površine predstavljaju slabije presovane delove. Hladno presovanje čestica kHAP nije bilo tako izraženo kao u slučaju fHAP.

**Tab.B2-1.** Rezultati određivanja hemijskog sastava koji odgovaraju EDS merenjima sa Sl.B2-1. Tabela daje prikaz proračunatih vrednosti za srednji hemijski sastav i srednji molarni Ca/P odnos.

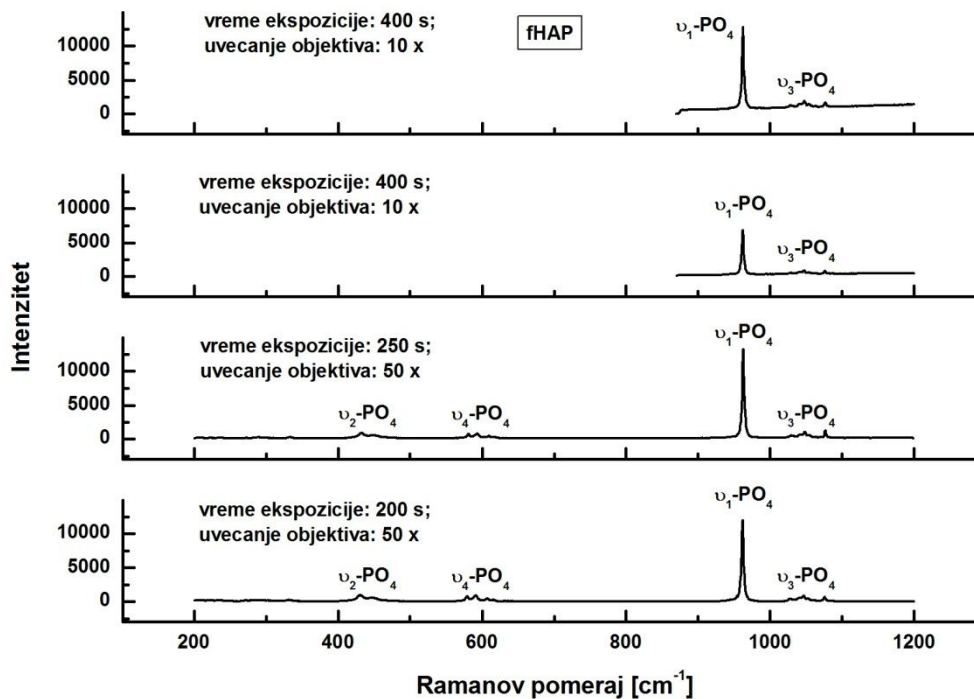
EDS spektar	fHAP								
	Elementi [at.%]								Molarni Ca/P odnos
	<i>F</i>	<i>Na</i>	<i>Mg</i>	<i>Al</i>	<i>P</i>	<i>Cl</i>	<i>Ca</i>	<i>O</i>	
<b>1</b>	0.00	0.00	0.00	0.12	16.47	0.10	20.98	62.33	1.27
<b>2</b>	0.00	0.00	0.00	0.17	16.44	0.00	21.02	62.37	1.28
<b>3</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	16.67	0.10	20.78	62.46	1.25
<b>4</b>	0.00	0.00	0.00	0.10	16.33	0.11	21.23	62.22	1.30
<b>5</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	16.32	0.00	21.44	62.24	1.31
<b>6</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	15.6	0.09	22.66	61.65	1.45
<b>7</b>	0.00	0.00	0.00	0.09	15.09	0.07	23.45	61.31	1.55
<b>8</b>	0.00	0.13	0.00	0.00	15.56	0.10	22.62	61.59	1.45
<b>Sr. vred.</b>		<b>0.02</b>		<b>0.06</b>	<b>16.06</b>	<b>0.07</b>	<b>21.77</b>	<b>62.02</b>	<b>1.36</b>
<b>±</b>	<b>0.00</b>	<b>±</b>	<b>0.00</b>	<b>±</b>	<b>±</b>	<b>±</b>	<b>±</b>	<b>±</b>	<b>±</b>
<b>St. odst.</b>		<b>0.04</b>		<b>0.07</b>	<b>0.56</b>	<b>0.05</b>	<b>1.00</b>	<b>0.43</b>	<b>0.11</b>
EDS spektar	kHAP								
	Elementi [at.%]								Molarni Ca/P odnos
	<i>F</i>	<i>Na</i>	<i>Mg</i>	<i>Al</i>	<i>P</i>	<i>Cl</i>	<i>Ca</i>	<i>O</i>	
<b>1</b>	0.00	0.00	0.16	0.09	14.91	0.00	23.63	61.21	1.58
<b>2</b>	0.00	0.00	0.17	0.08	14.90	0.00	23.66	61.19	1.59
<b>3</b>	0.00	0.00	0.15	0.07	15.72	0.00	22.25	61.81	1.41
<b>4</b>	0.00	0.00	0.16	0.12	15.59	0.00	22.41	61.72	1.44
<b>5</b>	0.00	0.00	0.20	0.08	15.10	0.00	23.27	61.35	1.54
<b>6</b>	0.00	0.00	0.34	0.07	14.04	0.00	25.01	60.55	1.78
<b>7</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	14.19	0.00	25.16	60.65	1.77
<b>Sr. vred.</b>			<b>0.17</b>	<b>0.07</b>	<b>14.92</b>		<b>23.63</b>	<b>61.21</b>	<b>1.59</b>
<b>±</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>±</b>	<b>±</b>	<b>±</b>	0.00	<b>±</b>	<b>±</b>	<b>±</b>
<b>St. odst.</b>			<b>0.10</b>	<b>0.04</b>	<b>0.64</b>		<b>1.14</b>	<b>0.48</b>	<b>0.15</b>



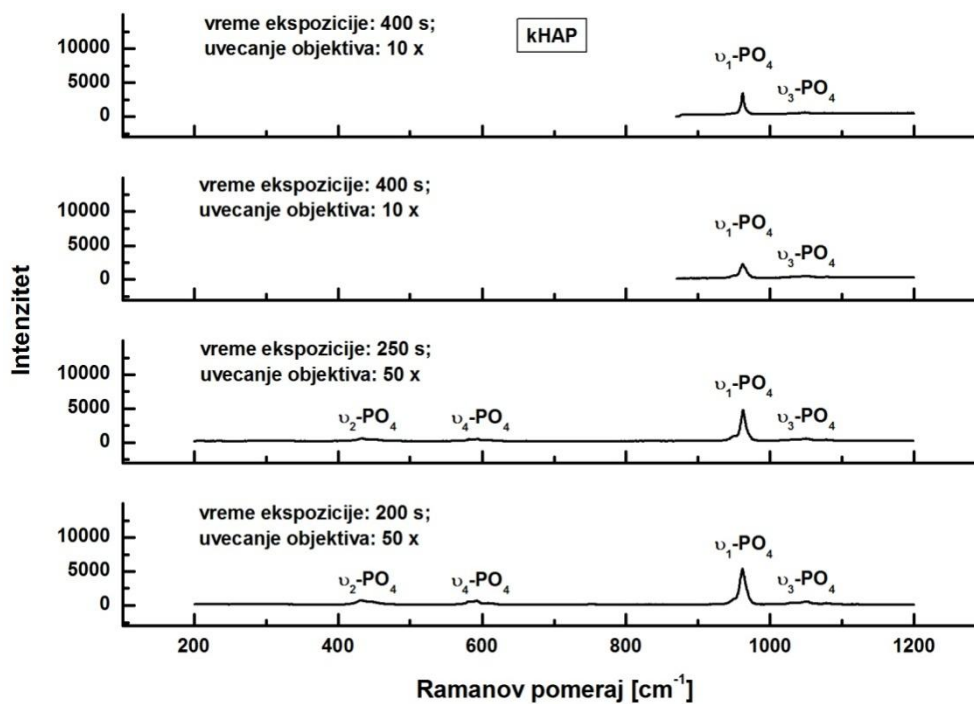
**Sl.B2-2.** Tipičan izgled EDS spektara dobijenih sa hladno presovanih fHAP (a-c) i kHAP (d-f) tableta u slučajevima kada su detektovane minimalne (a i d), intermedijatne (b i e) i maksimalne (c i f) vrednosti molarnog Ca/P odnosa.

## PRILOG B3

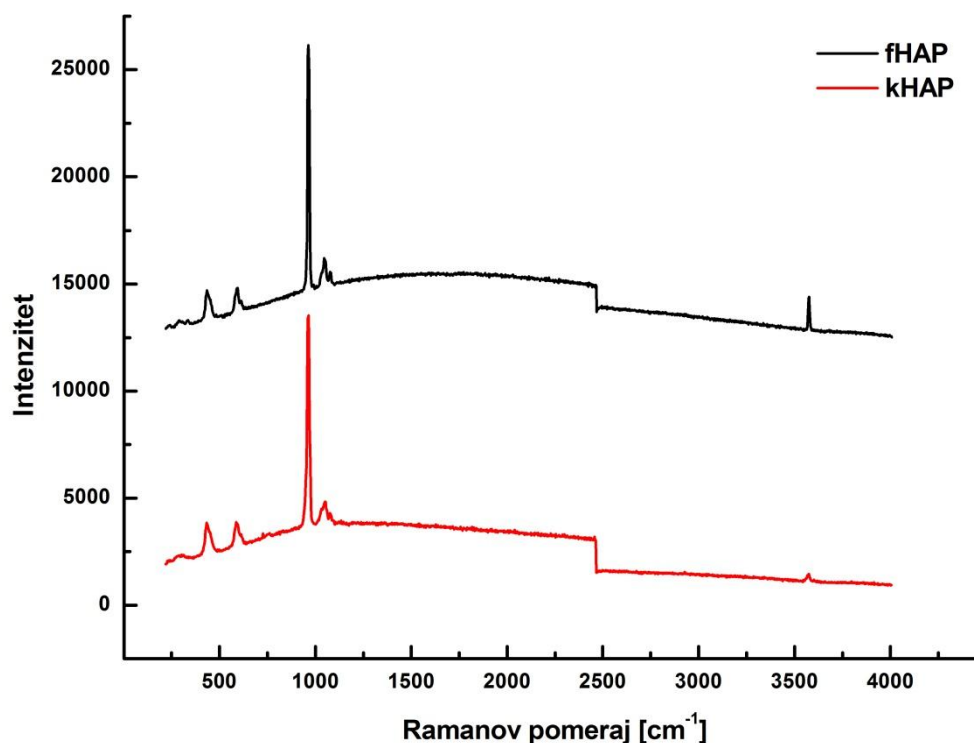
– MRS analiza –



Sl.B3-1. Originalni Raman spektri fHAP u oblasti frekvencija 200-1200 cm<sup>-1</sup> (Jobin Yvon T 64000).



Sl.B3-2. Originalni Raman spektri kHAP u oblasti frekvencija 200-1200 cm<sup>-1</sup> (Jobin Yvon T 64000).



**Sl.B3-3.** Originalni Raman spektri fHAP i kHAP u oblasti frekvencija 200-4000  $\text{cm}^{-1}$  (*Tri Vista TR557*); uvećanje objektiva 20 $\times$ ; vreme ekspozicije laserskog snopa ~200 s.

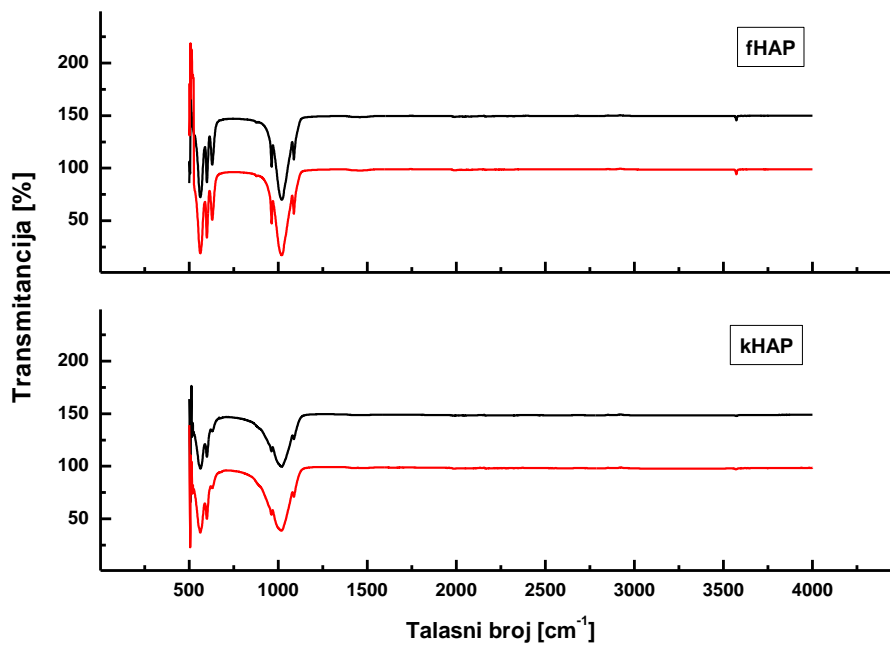
**Tab.B3-1.** Poređenje položaja, širina (FWHM) i integralnih intenziteta najintenzivnijeg HA pika sa Raman spektara fHAP i kHAP dobijenih tokom merenja koja su izvođena različitim danima na *Jobin Yvon T64000* spektroskopu i tokom merenja koja su izvođena na različitim uređajima za mikro-Ramanovu spektroskopiju (*Jobin Yvon T64000* i *Tri Vista TR557*).

Uredaj	Uslovi merenja (objektiv; vreme) i (dan)	Položaj i širina (FWHM*) HA pika (fHAP) [ $\text{cm}^{-1}$ ]	Položaj i širina (FWHM*) HA pika (kHAP) [ $\text{cm}^{-1}$ ]	Integralni intenzitet HA pika na ~ 962 $\text{cm}^{-1}$ (fHAP)	Integralni intenzitet HA pika na ~ 962 $\text{cm}^{-1}$ (kHAP)	Količnik integralnih intenziteta HA pikova fHAP i kHAP
<b>Jobin (4 dana)</b>	10 $\times$ ; 400 s (1)	962.3 i 3.22	962.0 i 5.06	61920	24679	~2.5
	10 $\times$ ; 400 s (2)	961.9 i 3.16	962.4 i 9.33	33908	31045	~1.1
	50 $\times$ ; 250 s (3)	962.8 i 3.24	962.7 i 7.83	68434	55936	~1.2
	50 $\times$ ; 200 s (4)	962.0 i 3.46	962.0 i 9.39	66366	78887	~0.8
<b>Tri Vista</b>	20 $\times$ ; 200 s	963.1 i 10.36	962.5 i 13.87	215867	235228	~0.9

\*FWHM – Full width at half maximum – širina pika na pola maksimuma

## PRILOG B4

– ATR-FTIR analiza –



**Sl.B4-1.** Primeri originalnih ATR-FTIR spektara fHAP i kHAP u oblasti frekvencija 500-4000 cm<sup>-1</sup>. Na frekvencijama <530 cm<sup>-1</sup> veliki odnos šuma i signala je onemogućavao identifikaciju pikova koji pripadaju vibracionom modu  $\nu_2$ -PO<sub>4</sub>.

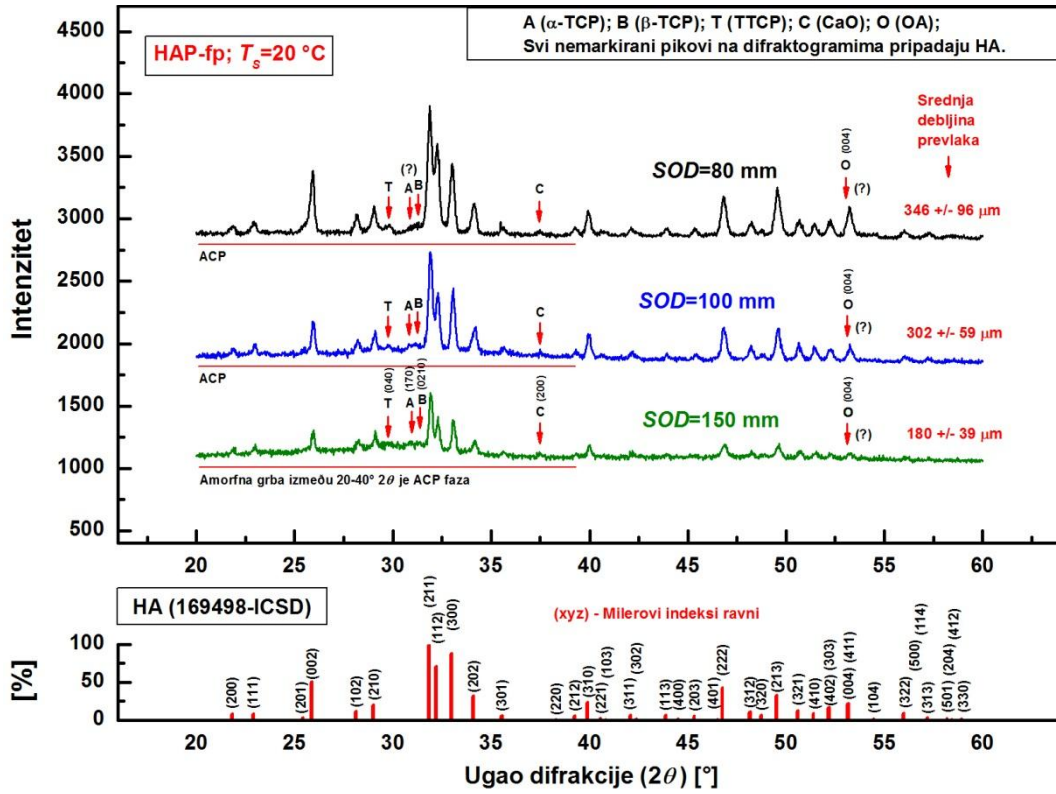
# **PRILOG C**

**– Analiza površinskih delova HA prevlaka –**



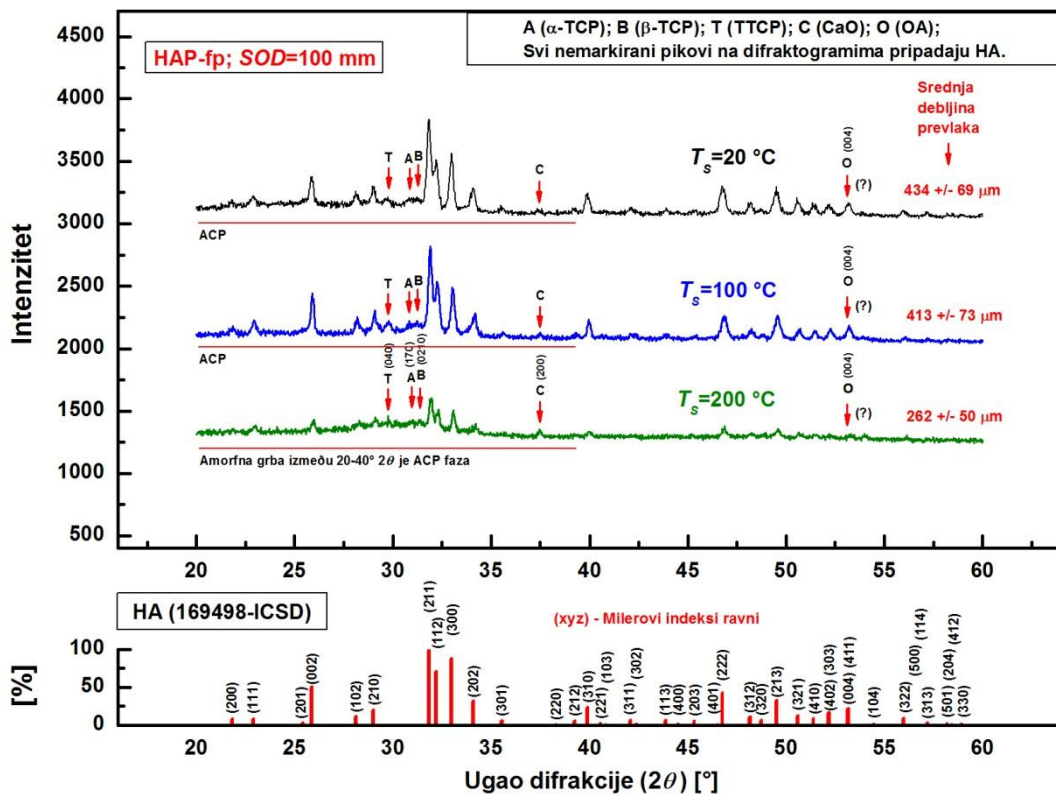
# PRILOG C1-1

## – Identifikacija faza sa rentgenskih difraktograma –

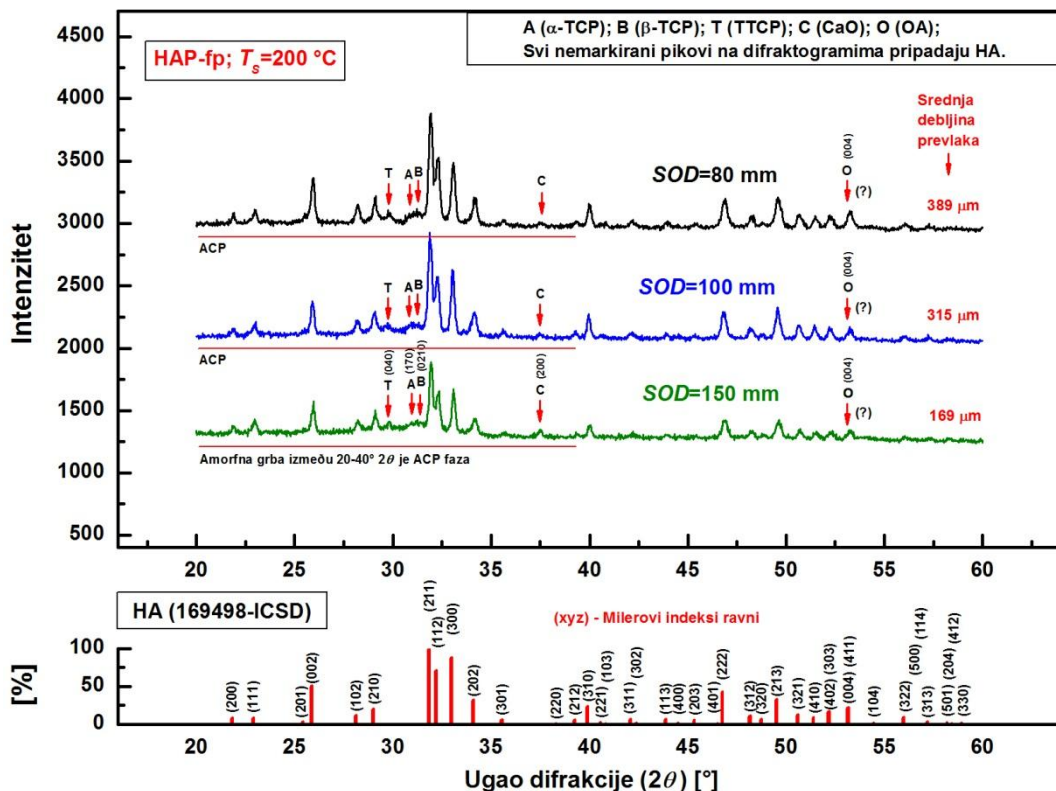


SI.C1-1-1. Originalni difraktogrami HAP-fp nanosenih pri različitim SOD i  $T_s=20\text{ °C}$ .

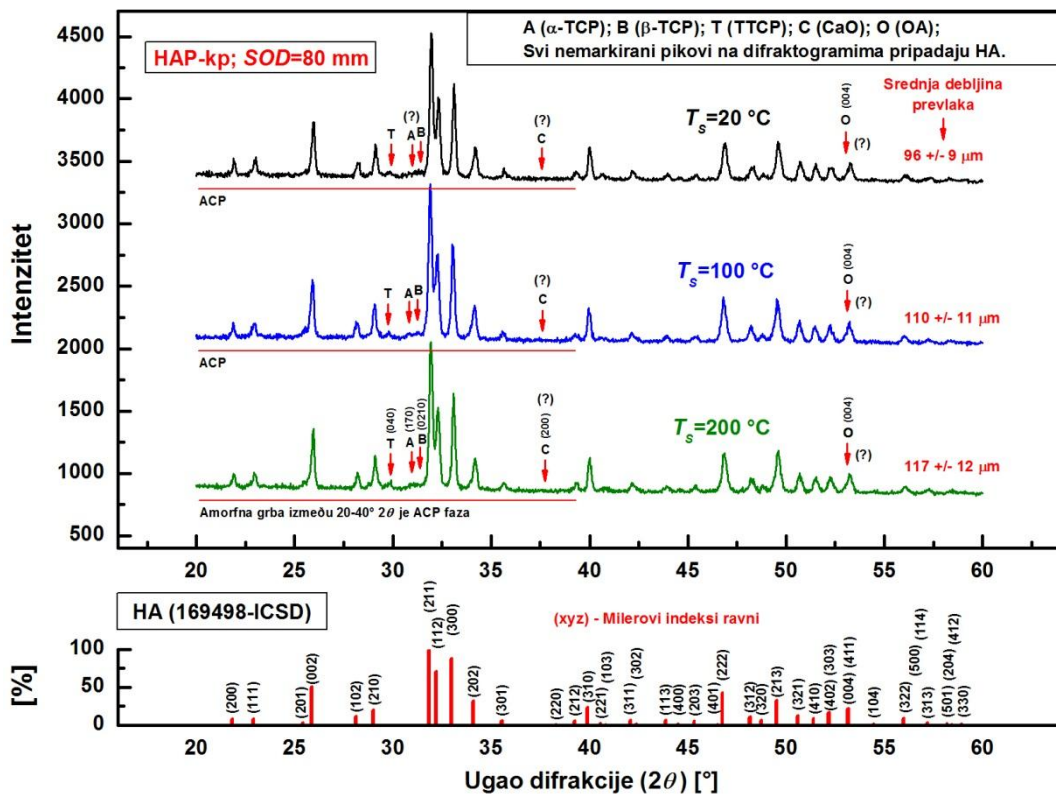




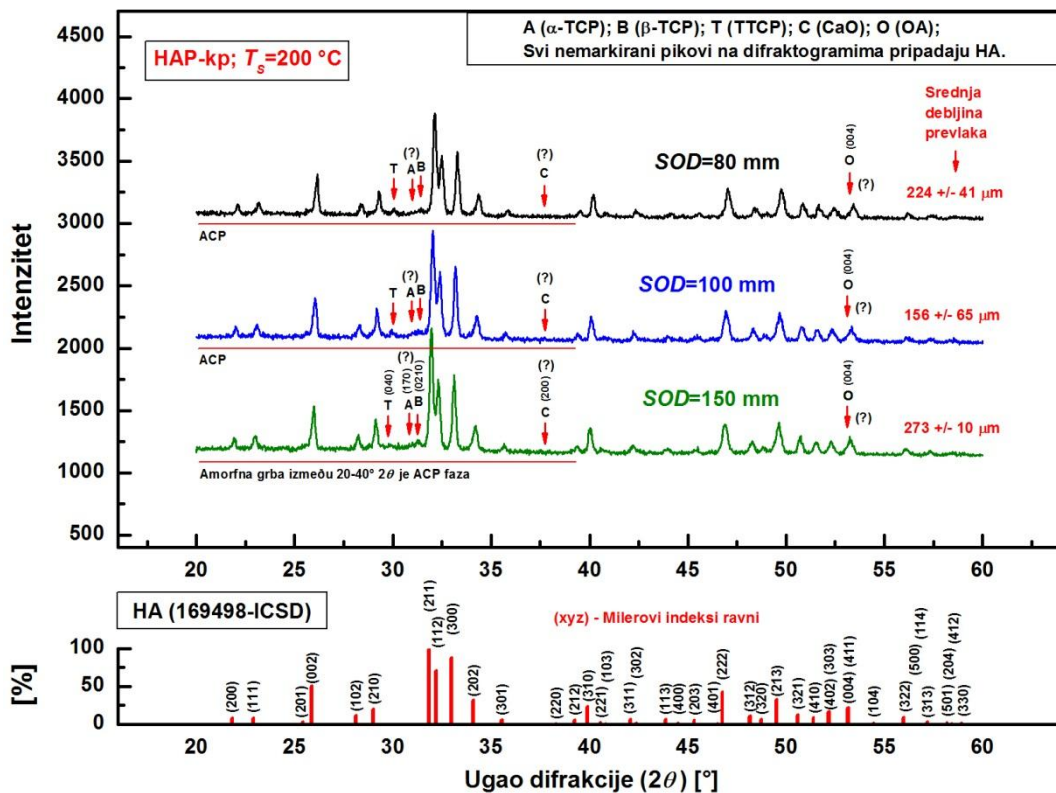
Sl.C1-1-2. Originalni difraktogrami HAP-fp nanosenih pri različitim  $T_s$  i SOD=100 mm.



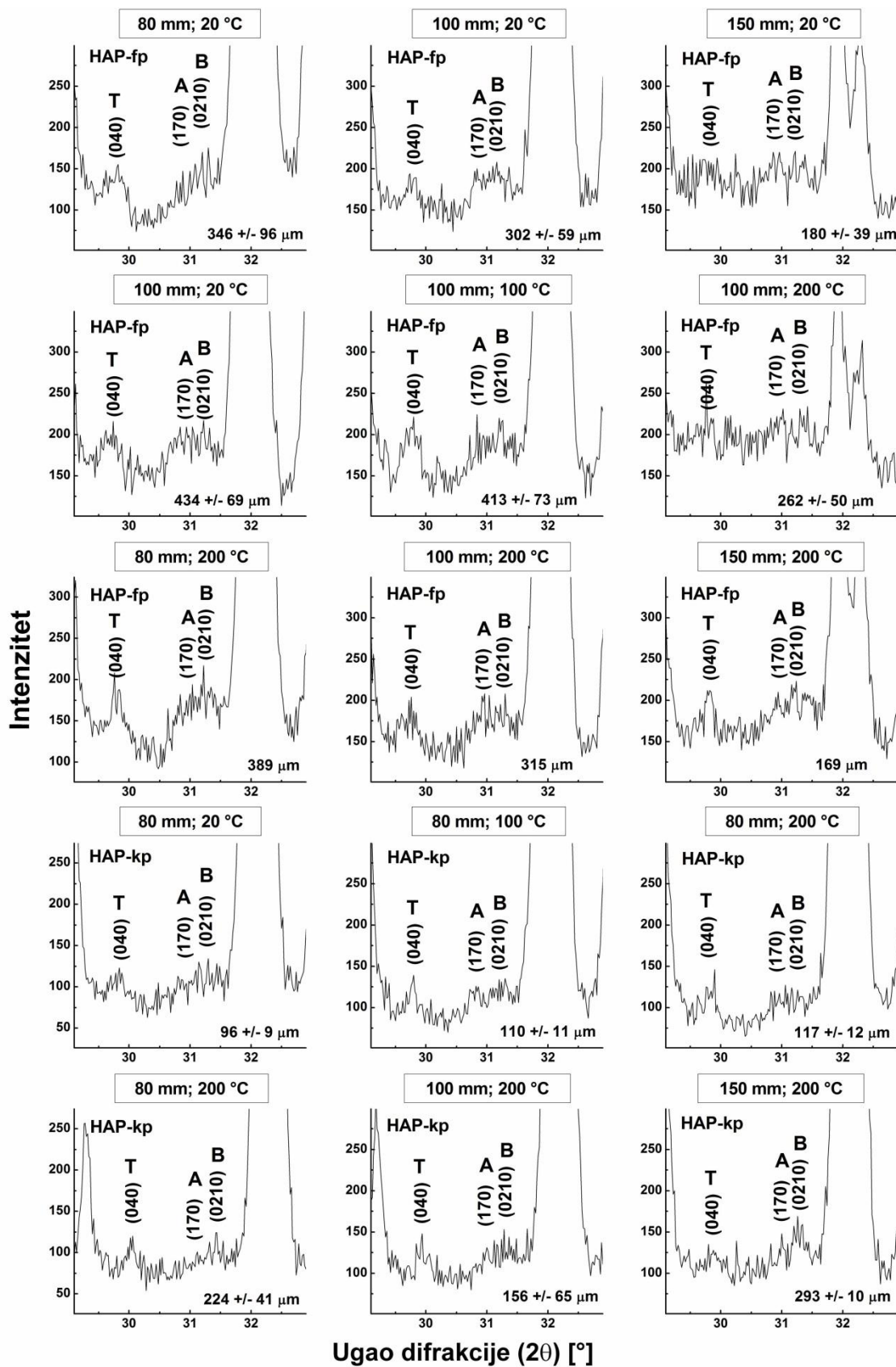
Sl.C1-1-3. Originalni difraktogrami HAP-fp nanosenih pri različitim SOD i  $T_s = 200\text{ }^\circ\text{C}$ .



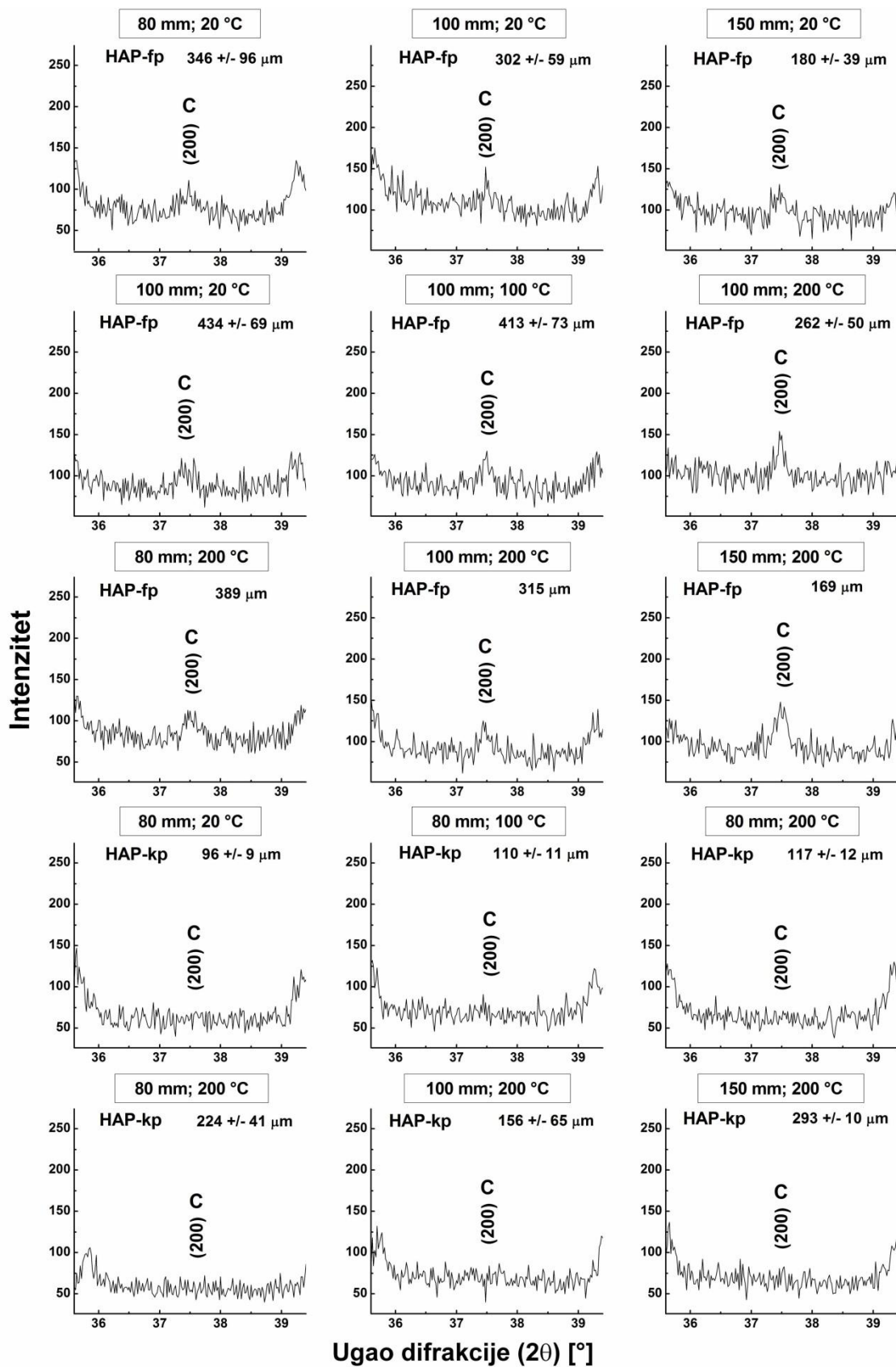
Sl.C1-1-4. Originalni difraktogrami HAP-kp nanosenih pri različitim  $T_s$  i  $SOD=80$  mm.



Sl.C1-1-5. Originalni difraktogrami HAP-kp nanosenih pri različitim  $SOD$  i  $T_s=200^\circ\text{C}$ .

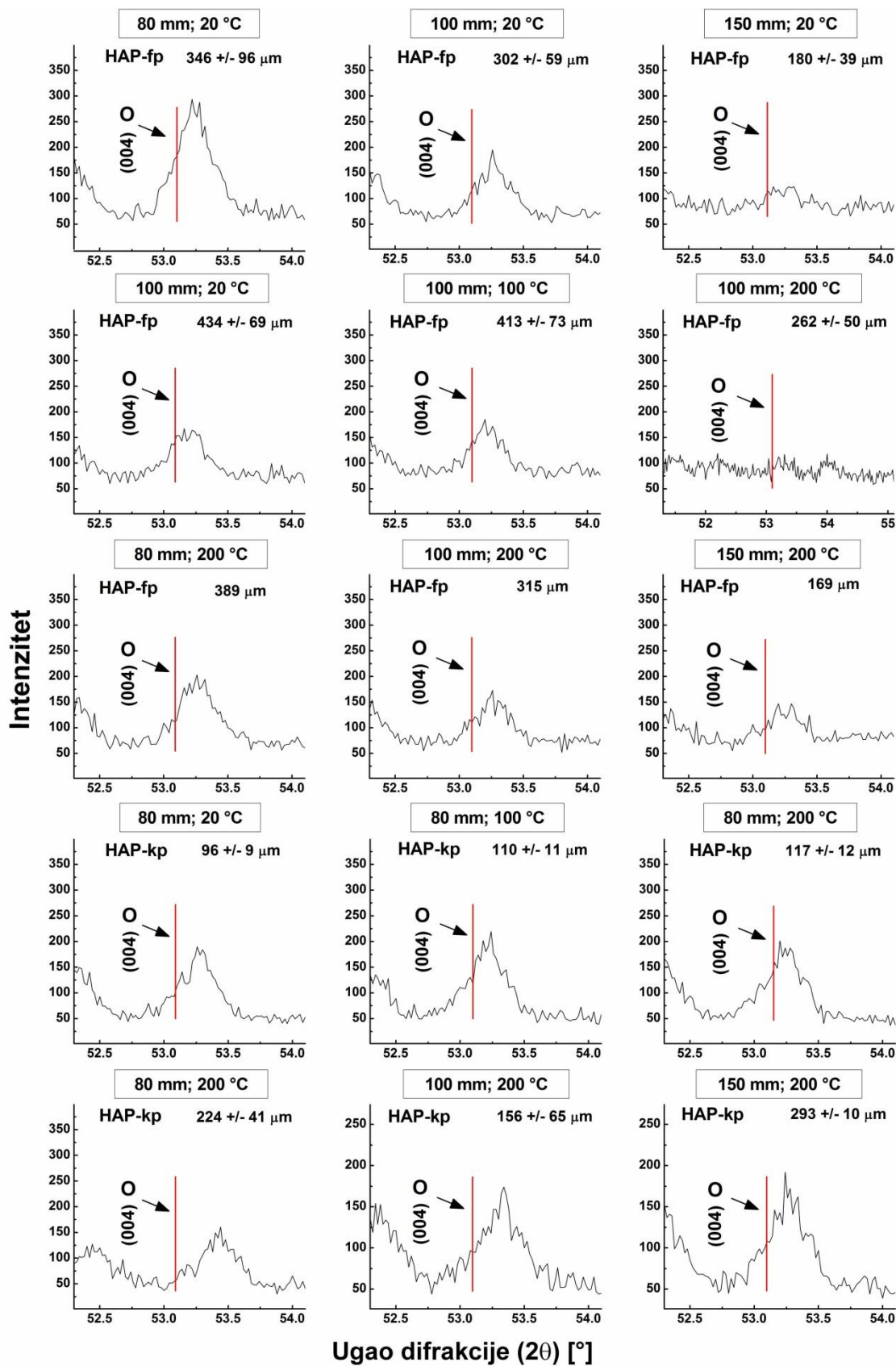


SLC1-1-6. Difraktogrami u  $2\theta$  intervalu  $29-33^\circ$ , za koji je karakteristična pojava najintenzivnijih refleksija faza TTCP (T),  $\alpha$ -TCP (A) i  $\beta$ -TCP (B). Srednje debljine prevlaka su date u  $\mu\text{m}$ .



SL.C1-1-7. Difraktogrami u  $2\theta$  intervalu  $35.5-39.5^\circ$ , za koji je karakteristična pojava najintenzivnijih refleksija CaO faze (C). Srednje debljine prevlaka su date u  $\mu\text{m}$ .





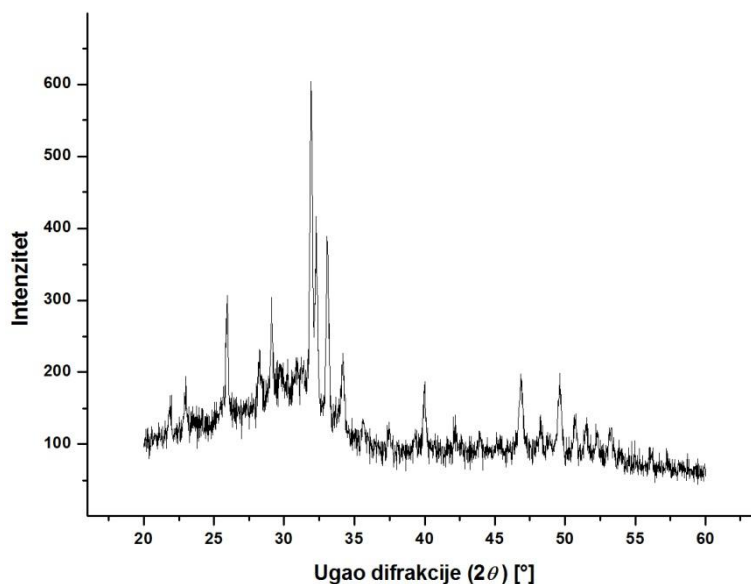
Sl. C1-1-8. Difraktogrami u  $2\theta$  intervalu 52-54°, za koji je karakteristična pojava distorzije (004) HA pika na 53.1° usled prisustva OA faze (O). Srednje debljine prevlaka su date u  $\mu\text{m}$ .

## PRILOG C1-2

### – Određivanje relativne kristaličnosti površinskih delova HA prevlaka (XRPD) –

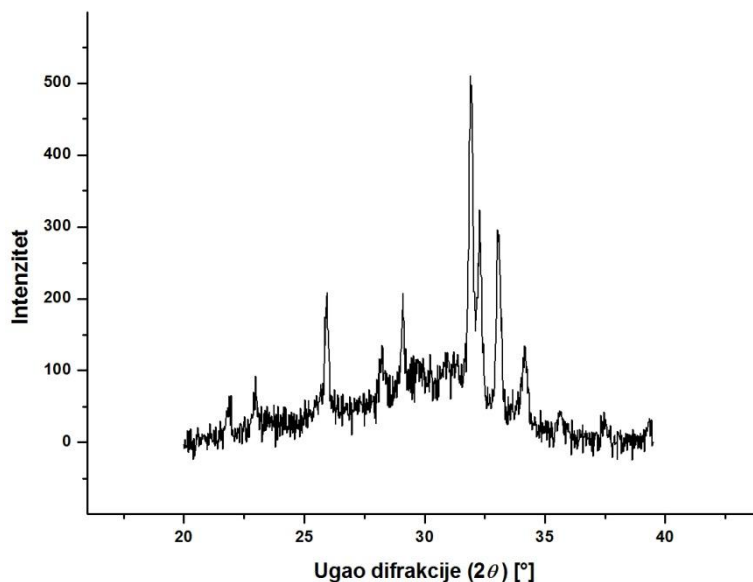
Relativne kristaličnosti površinskih delova prevlaka nanosenih pri različitim parametrima plazma sprej procesa su određene analizom difraktograma prevlaka pomoću programskog paketa Origin<sup>®</sup>. Svi difraktogrami, koji su razmatrani u ovom prilogu, su dobijeni pomoću *SIEMENS Kristaloflex D500* difraktometra (Univerzitet u Beogradu, Institut za nukleatne nauke Vinča, Laboratorija za materijale), a analiza difraktograma je izvršena u  $2\theta$  intervalu  $20-40^\circ$ . Relativne kristaličnosti su određene primenom Rutland-ove metode direktnog poređenja [30,53,54,88,227,228] (vidi poglavlje 2.6.3.3), a postupak je objašnjen na primeru HAP-fp, koja je nanosena pri  $SOD=150$  mm i  $T_S=20$  °C, dok su rezultati fitovanja difraktograma ostalih prevlaka predstavljeni u nastavku ovog priloga. Na kraju priloga su tabelarno sumirani svi rezultati. Postupak fitovanja je izvršen u nekoliko koraka (od I do VI).

(I) Sl.C1-2-1 prikazuje originalni difraktogram HAP-fp u intervalu  $20-60^\circ 2\theta$ .



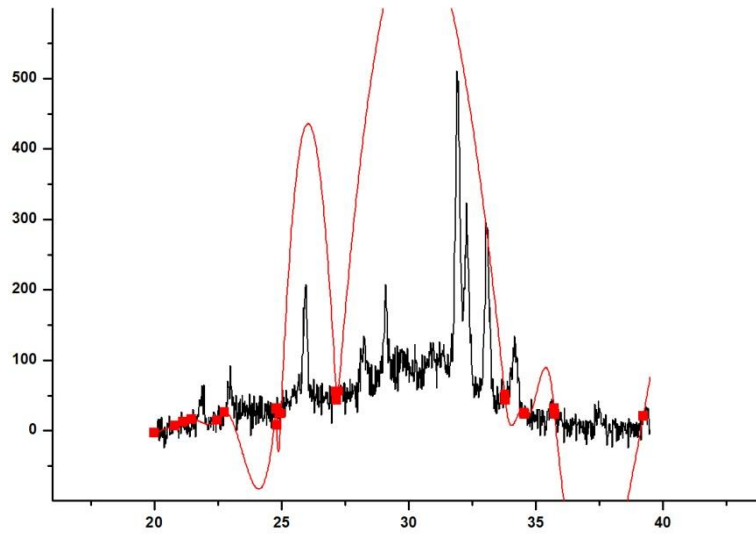
Sl.C1-2-1. Difraktogram snimljen na površini HAP-fp nanosene pri  $SOD=150$  mm i  $T_S=20$  °C

(II) Deo originalnog difraktograma ( $20-40^\circ 2\theta$ ) za analizu je izdvojen, nakon čega je izvršeno poravnanje (nulovanje) difraktograma po  $x$ -osi Origin<sup>®</sup> funkcijom *subtract streight line* (Sl.C1-2-2).

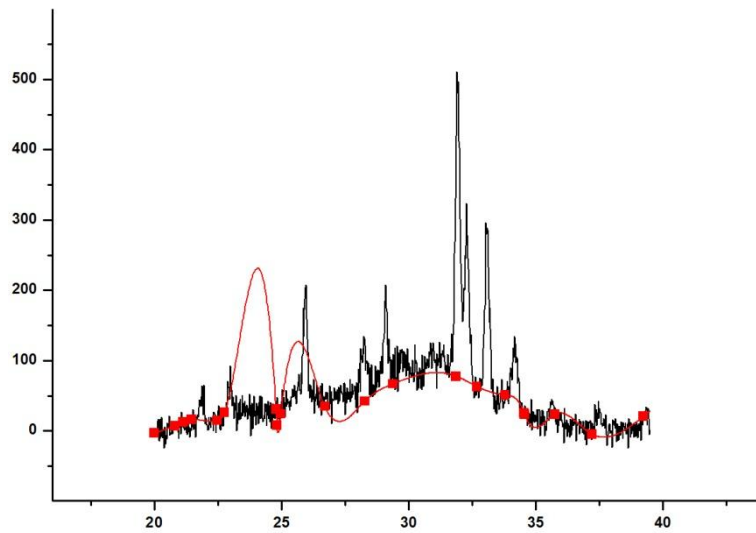


Sl.C1-2-2. Rezultat izdvajanja i poravnanja (nulovanja) po  $x$ -osi difraktograma HAP-fp.

(III) Ovaj korak se sastojao u kreiranju bazne linije amorfne grbe u intervalu  $20-40^\circ 2\theta$  primenom Origin<sup>®</sup> modula *Peak Analyzer* (funkcija *Create Baseline*). Ova bazna linija je važna jer se u kasnijim koracima koristi za integraciju površine ispod bazne linije (koja se koristi za određivanje udela amorfne faze), ali i za poravnanje pikova iznad amorfne grbe (koja se koristi za određivanje udela kristalnih faza). Kreiranje bazne linije je vršeno manuelno u Origin<sup>®</sup> modulu *Peak Analyzer* primenom funkcije *Spline*, koja je pod-funkcija funkcije *Create Baseline*. Funkcija *Spline* proizvodi zakrivljenost krive između susjednih tačaka (Sl.C1-2-3). Pomeranjem položaja tačaka bazne linije, oblik bazne (crvene) linije se postepeno usklađuje sa oblikom amorfne grbe (Sl.C1-2-4).



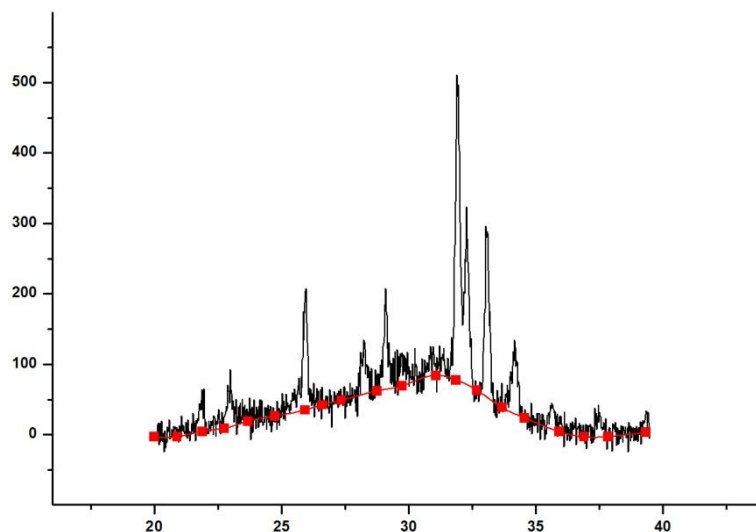
SI.C1-2-3. Zakrivljenost bazne linije pokazuje efekat Origin<sup>®</sup> funkcije *Spline*.



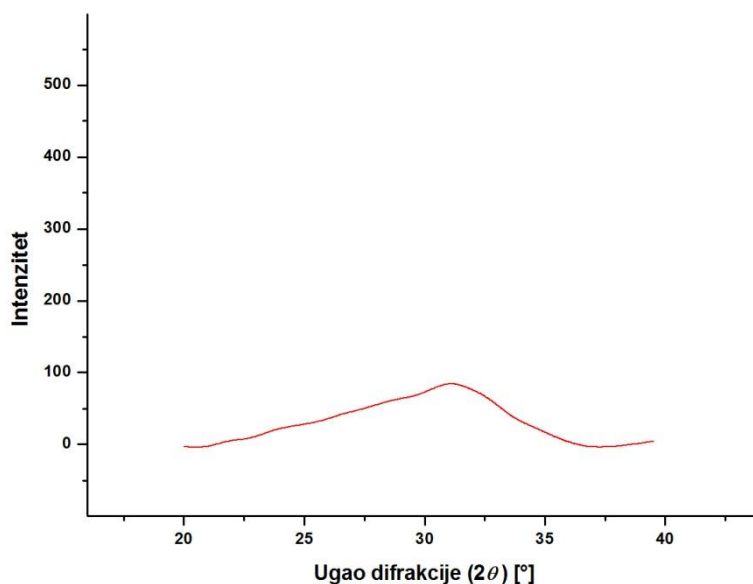
SI.C1-2-4. Pomeranje tačaka izaziva smanjenje zakrivljenosti bazne linije.

Na SI.C1-2-5 je prikazan oblik bazne linije nakon potpunog usklađivanja sa oblikom amorfne grbe, dok SI.C1-2-6 prikazuje konačan oblik bazne linije.



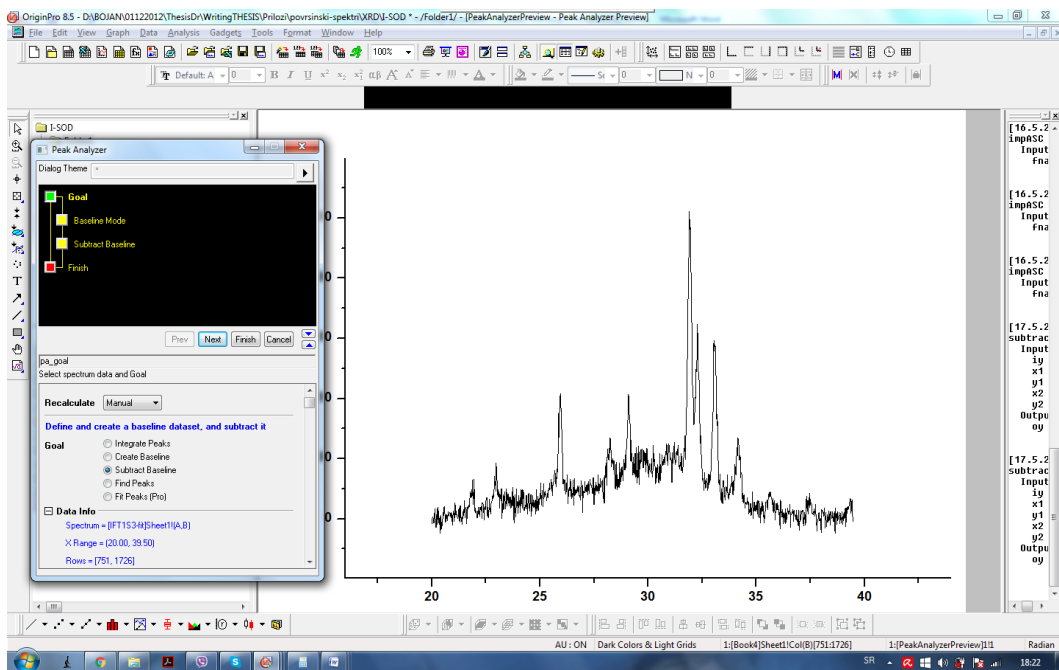


SI.C1-2-5. Izgled bazne linije nakon uslađivanja njenog oblika sa oblikom amorfne grbe.



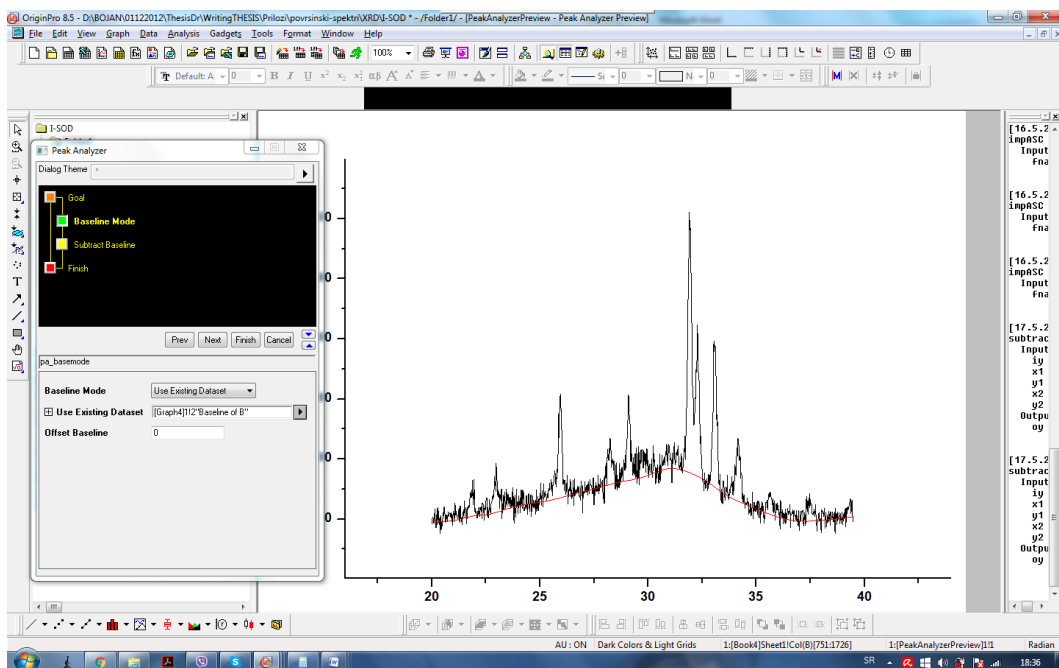
SI.C1-2-6. Konačan izgled bazne linije.

(IV) U ovom koraku se pomoću bazne linije, koja je kreirana u prethodnom koraku (SI.C1-2-6), vrši poravnanje (nulovanje) pikova iznad amorfne grbe sa ciljem kasnije integracije ukupne površine ispod ovih pikova. Poravnanje difraktograma sa SI.C1-2-2 se takođe vrši u Origin<sup>®</sup> modulu *Peak Analyzer* primenom Origin<sup>®</sup> funkcije *Subtract base line* (SI.C1-2-7).



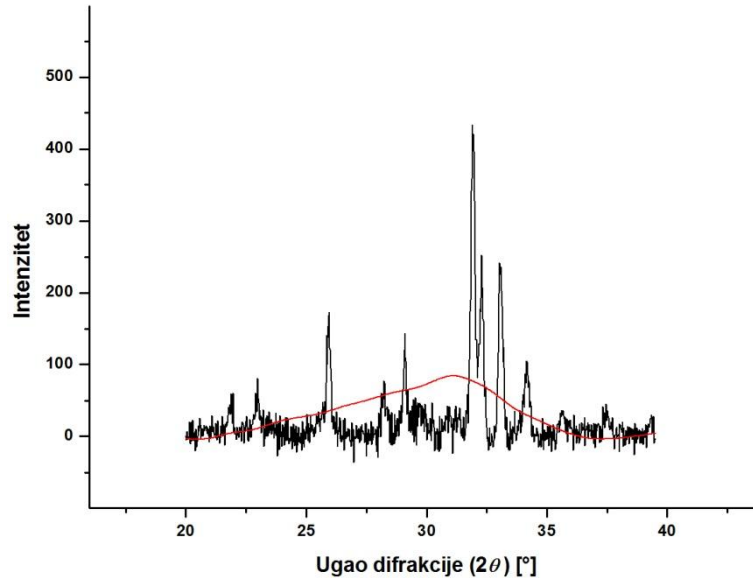
SI.C1-2-7. Poravnanje pikova iznad amorfne grbe u modulu *Peak Analyzer*.

Važan korak pri poravnanju pikova je da se koristi bazna linija koja je određena u prethodnom koraku (SI.C1-2-6). Zbog ovoga se u narednom koraku vrši učitavanje ove bazne linije (SI.C1-2-8).



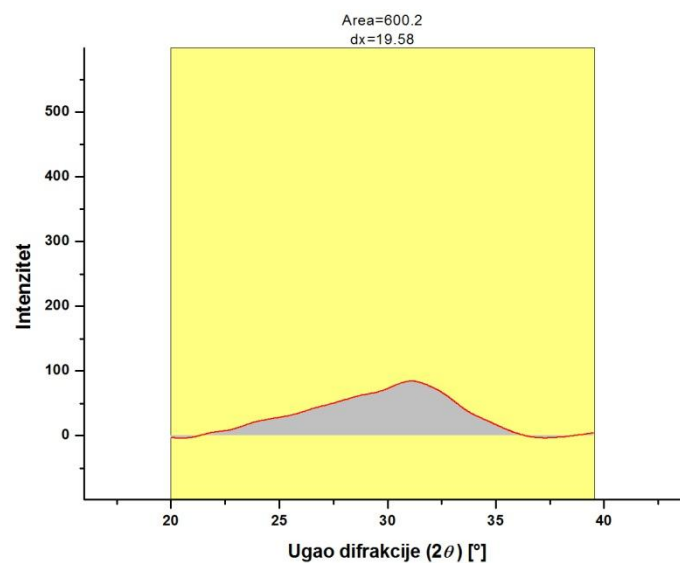
SI.C1-2-8. Izbor bazne linije sa SI.C1-2-6.

Nakon izbora bazne linije (Sl.C1-2-8), vrši se oduzimanje intenziteta bazne linije od originalnog difraktograma i dobijaju se pikovi iznad amorfne grbe, kao što je prikazano na Sl.C1-2-9.



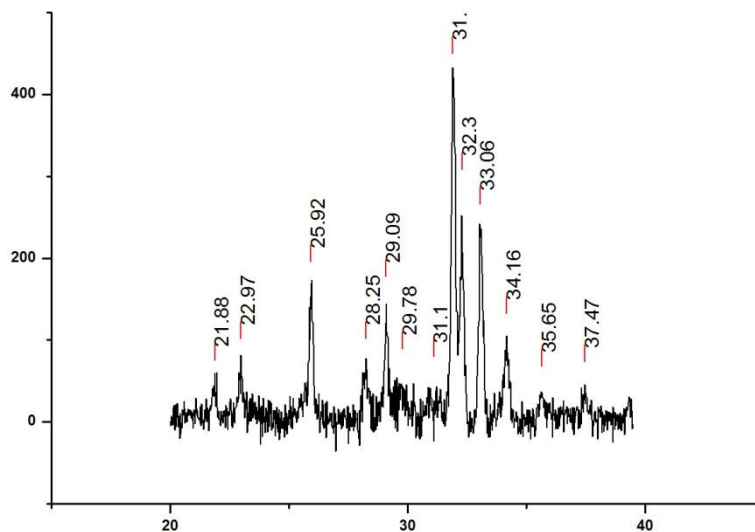
Sl.C1-2-9. Izgled kristalnih pikova iznad amorfne grbe nakon poravnanja.

(V) U ovom koraku se vrši integracija površine ispod bazne linije ( $A_A$ ) (Sl.C1-2-6) i pikova ( $A_K$ ) sa Sl.C1-2-9. Desni subskripti A i K u oznakama za integralne površine ( $A$ ) se odnose na amorfnu fazu i kristalne faze, respektivno. Na Sl.C1-2-10 je dat rezultat integracije površine ispod bazne linije, pri čemu je utvrđeno da ova površina u slučaju analizirane HAP-fp iznosila  $A_A=600.2$ .

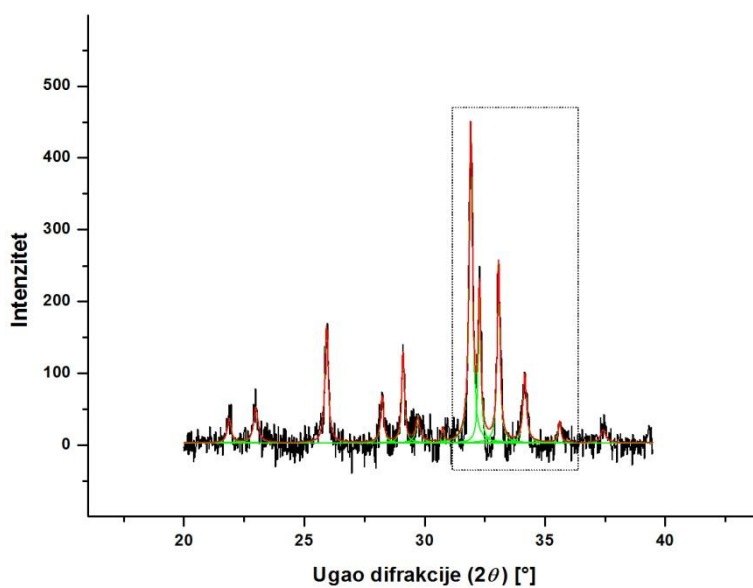


Sl.C1-2-10. Rezultat integracije površine ispod bazne linije.

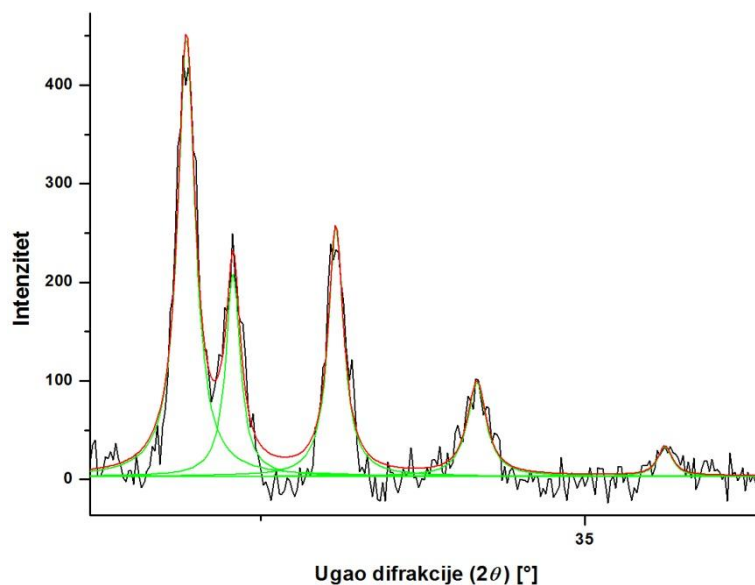
Iznad amorfne grbe je identifikovano ukupno 14 kristalnih pikova (što je utvrđeno i kod ostalih prevlaka) (Sl.C1-2-11). S obzirom da su se susedni pikovi TCP faza ( $\alpha$  i  $\beta$ ) teško razlikovali, površine ispod ovih faza su kod nekih uzoraka tretirane kao jedna. Zbog toga je, u tim slučajevima, vršena integracija 13 umesto 14 pikova. Dalje, u nekim slučajevima je intenzitet TCP i/ili CaO pikova bio zanemarljiv, pa je vršena integracija 11 i/ili 12 umesto 14 pikova. Integracija površina ispod pikova je izvršena fitovanjem svakog pika Lorentz-ovom funkcijom (Sl.C1-2-12, za jednačinu vidi **prilog C2-1**) do konvergencije (broj iteracija nije prelazio 10). Rezultati fitovanja za analiziranu HAP-fp su prikazani u Tab.C1-2-1.



Sl.C1-2-11. Selektovanih 13 pikova za fitovanje Lorentz-ovom funkcijom.



Sl.C1-2-12. Izgled fitovanih pikova kristalnih faza.



Sl.C1-2-13. Uvećani deo sa Sl.C1-2-12.

Tab.C1-2-1. Rezultati određivanja integralnih površina pikova iznad amorfne grbe.

Broj pika	Površine pikova za 5 fitovanja				
	1	2	3	4	5
1	10.09823	10.72964	15.58892	10.30289	10.3363
2	17.06316	17.14731	22.62348	16.75098	16.7223
3	41.6576	41.55009	46.31534	41.62153	41.55734
4	15.64806	27.25793	19.92608	15.38332	15.19067
5	26.93964	15.5283	30.42565	27.40417	27.30508
6	11.50914	12.74196	17.23379	11.95081	12.78809
7	2.84066	5.10435	6.26252	4.04582	4.0436
8	115.77799	115.54794	119.56508	115.94892	115.81034
9	43.40700	43.38888	44.93972	42.93277	43.31099
10	56.4306	54.42676	59.55381	56.6239	54.68877
11	26.18315	26.97262	30.86294	25.94633	26.09237
12	6.38343	6.39425	11.78717	6.45367	7.10613
13	7.34007	8.04555	13.99425	7.87566	7.96628
$\Sigma$ površina pikova	<b>381.28173</b>	<b>384.83558</b>	<b>439.07875</b>	<b>383.24077</b>	<b>382.91826</b>

Rezultati iz Tab.C1-2-1 pokazuju dobro slaganje između različitih fitovanja. Tipična statistika svakog fitovanja za rezultate prikazane u ovoj tabeli je sledeća:

Number of Points	976
Degrees of Freedom	936
Reduced Chi-Sqr	210.90487
Residual Sum of Squares	197406.96131
Adj. R-Square	0.91492
Fit Status	Succeeded(100)

Srednja površina kristalnih pikova ( $A_K$ ) je određena kao količnik sume površina  $\sum$  i broja fitovanja (5) tj. kao  $\sum/5$  (Tab.C1-2-1). U ovom primeru  $A_K=394.3\pm 25.1$  (greška je iznosila  $\sim 12\%$  tj.  $\pm 6\%$ ). Ova greška kod ostalih prevlaka pri fitovanju nije prelazila  $\sim 15\%$  ( $\pm 7.5\%$ ).

(VI) U ovom koraku je vršeno određivanje relativne kristaličnosti (odnosno amorfности) površinskih delova prevlaka na osnovu izraza C1-2-1 (odnosno C1-2-2):

$$R_K = \frac{A_K}{A_K + A_A} \times 100 \quad [\%]; \quad (C1-2-1)$$

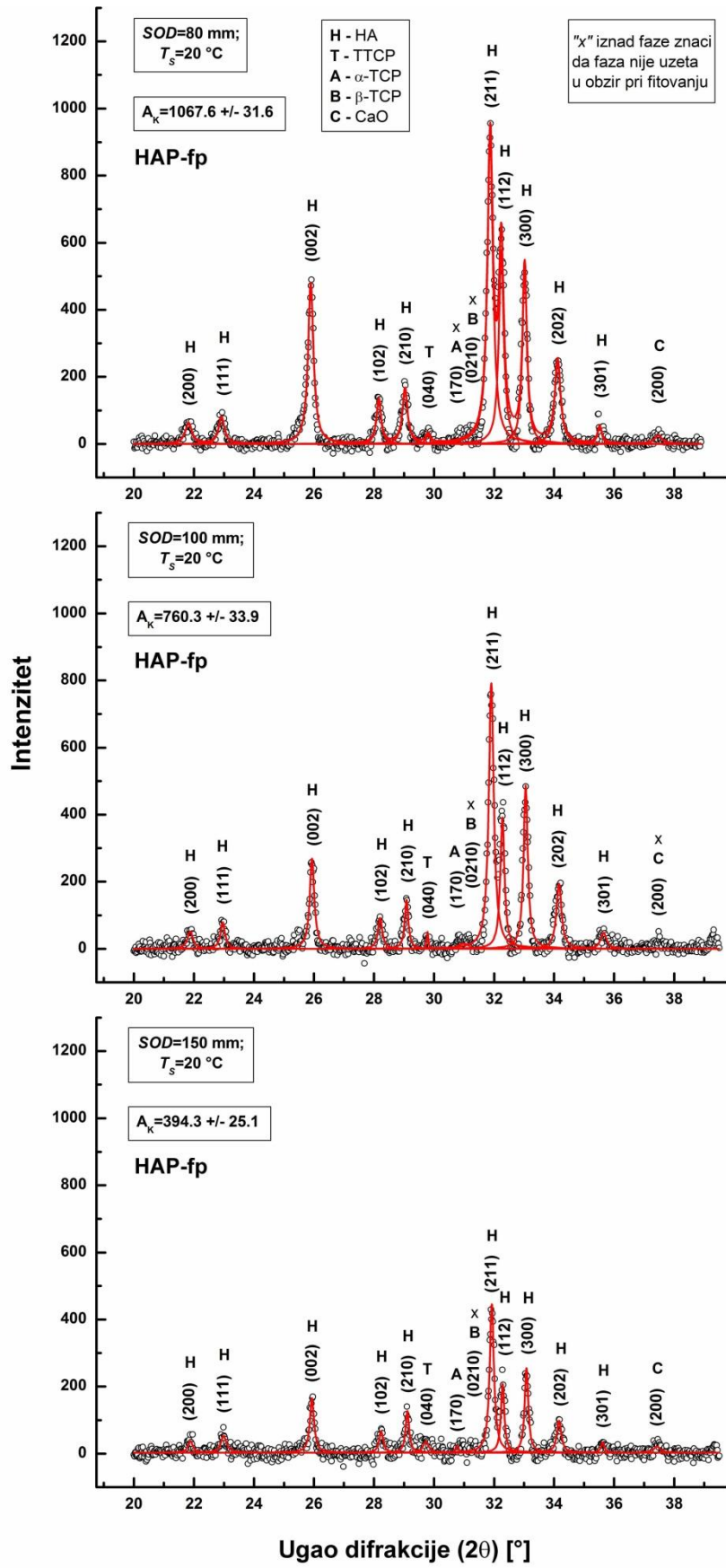
$$R_A = 100 - R_K \quad [\%], \quad (C1-2-2)$$

gde su  $R_K$  – relativna kristaličnost,  $A_A$  – integralna površina ispod amorfne grbe u intervalu  $20-40^\circ 2\theta$ ,  $A_K$  – integralna površina kristalnih pikova iznad amorfne grbe i  $R_A$  – relativna amorfnost.

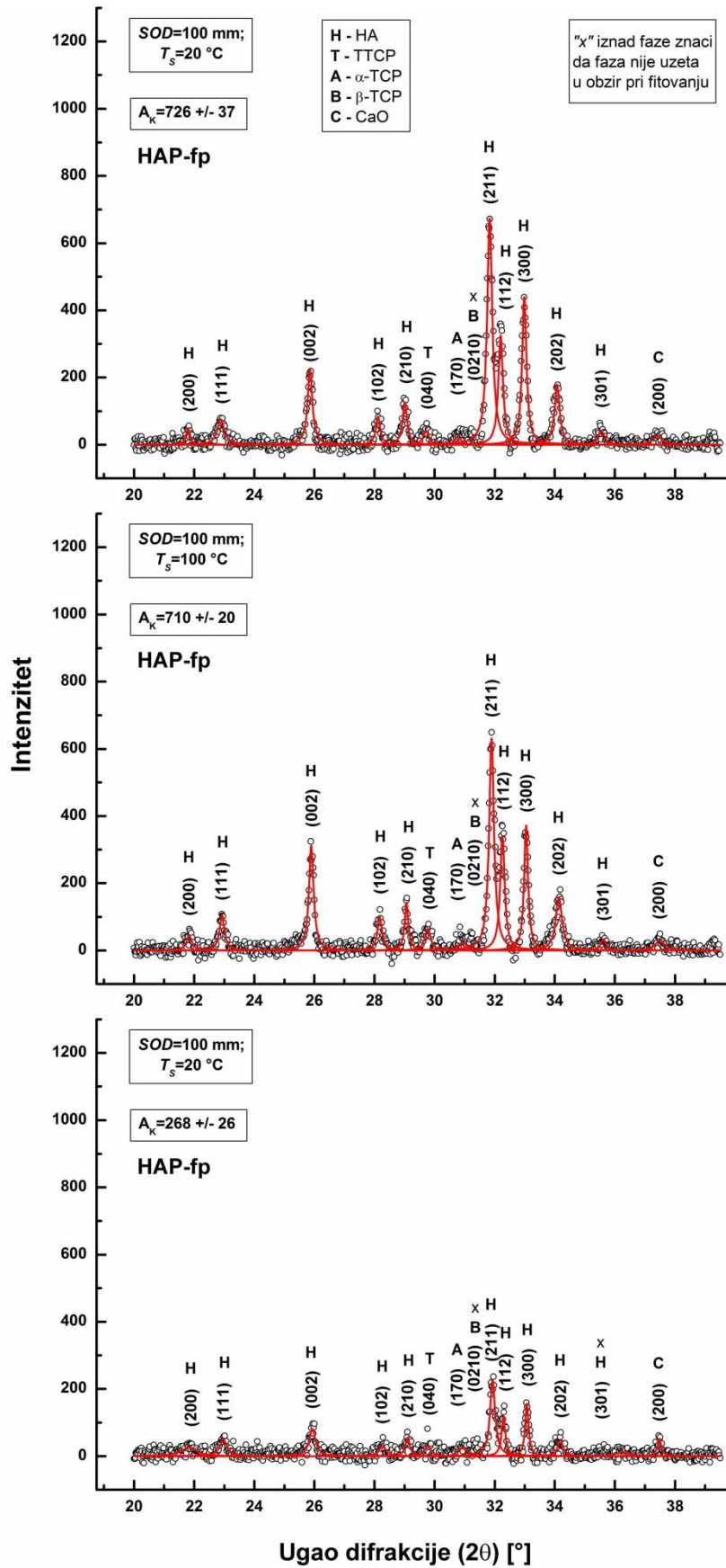
U slučaju HAP-fp, koja je analizirana u ovom primeru, relativna kristaličnost površinskih delova je iznosila  $R_K=39.6\pm 6.0\%$ .

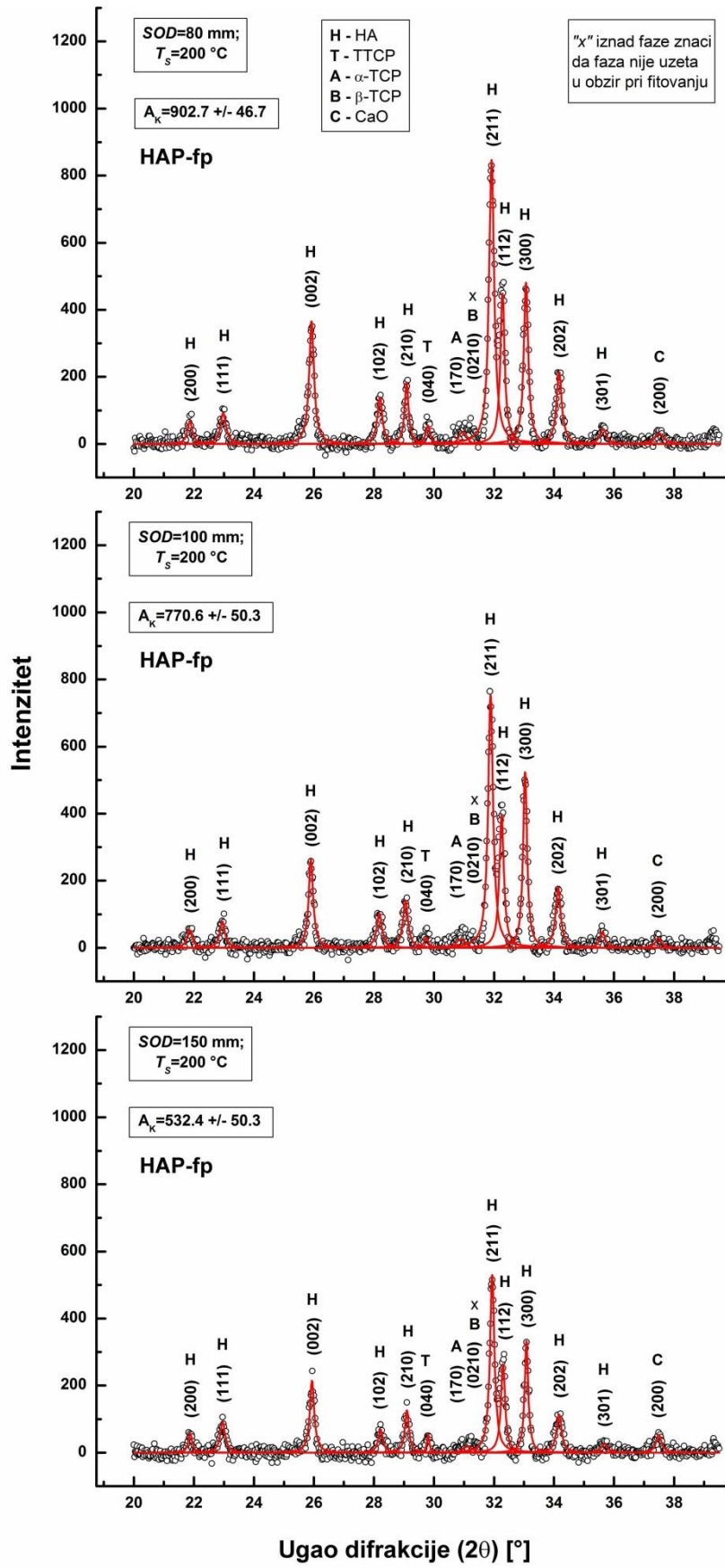
Sl.C1-2-14 prikazuje rezultate integracije površina ispod amorfne grbe difraktograma različitih prevlaka koje su analizirane u ovom radu.

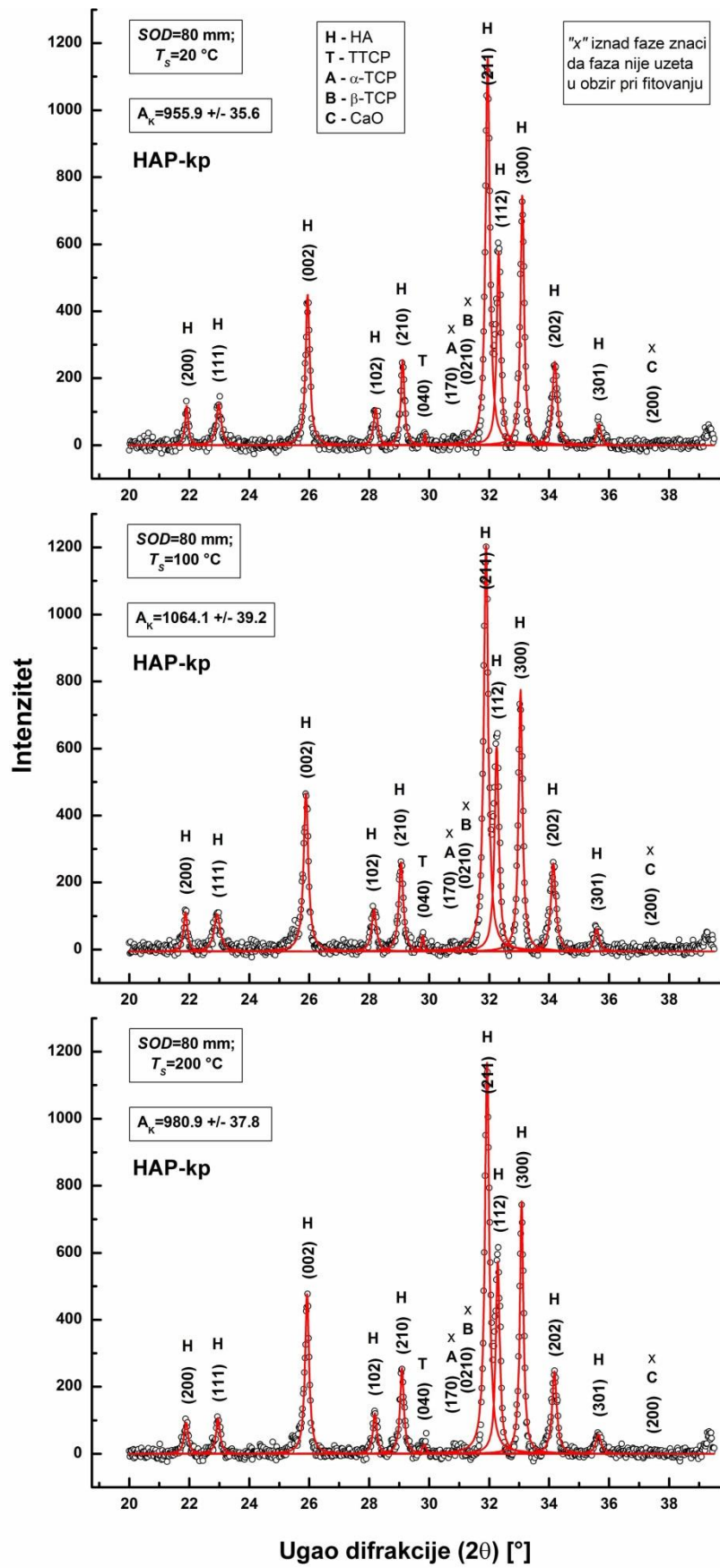


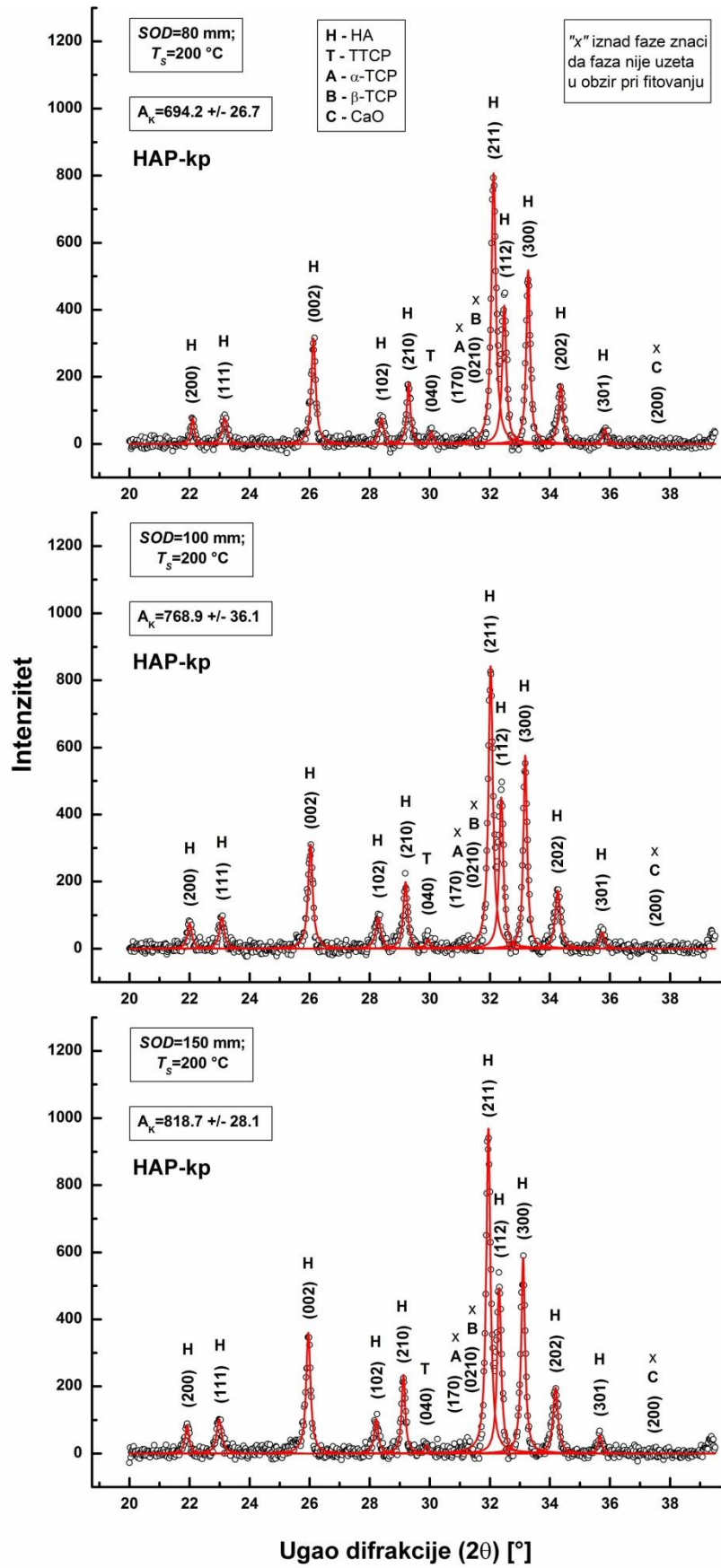












**Tab.C1-2-2.** Relativne kristaličnosti površinskih delova prevlaka ispitanih u ovom radu.

<b>Redni broj</b>	<b><math>T_S</math> [°C]</b>	<b><math>SOD</math> [mm]</b>	<b>Srednja debljina prevlake [μm]</b>	<b>Relativna kristaličnost [%]</b>	<b>Standardno odstupanje [±σ]</b>
<b>HAP-fp</b>					
<b>1</b>	<b>20</b>	<b>80</b>	<b>346</b>	72.8	3.0
<b>2</b>	<b>20</b>	<b>100</b>	<b>302</b>	56.4	4.6
<b>3</b>	<b>20</b>	<b>150</b>	<b>180</b>	39.6	6.0
<b>4</b>	<b>20</b>	<b>100</b>	<b>434</b>	51.7	5.1
<b>5</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>413</b>	55.8	2.8
<b>6</b>	<b>200</b>	<b>100</b>	<b>262</b>	32.1	7.3
<b>7</b>	<b>200</b>	<b>80</b>	<b>389</b>	67.5	5.2
<b>8</b>	<b>200</b>	<b>100</b>	<b>315</b>	61.2	6.5
<b>9</b>	<b>200</b>	<b>150</b>	<b>169</b>	50.0	6.4
<b>HAP-kp</b>					
<b>10</b>	<b>20</b>	<b>80</b>	<b>96</b>	84.2	3.7
<b>11</b>	<b>100</b>	<b>80</b>	<b>110</b>	80.6	3.7
<b>12</b>	<b>200</b>	<b>80</b>	<b>117</b>	85.6	3.9
<b>13</b>	<b>200</b>	<b>80</b>	<b>224</b>	79.4	3.8
<b>14</b>	<b>200</b>	<b>100</b>	<b>156</b>	75.3	4.7
<b>15</b>	<b>200</b>	<b>150</b>	<b>273</b>	75.4	3.4

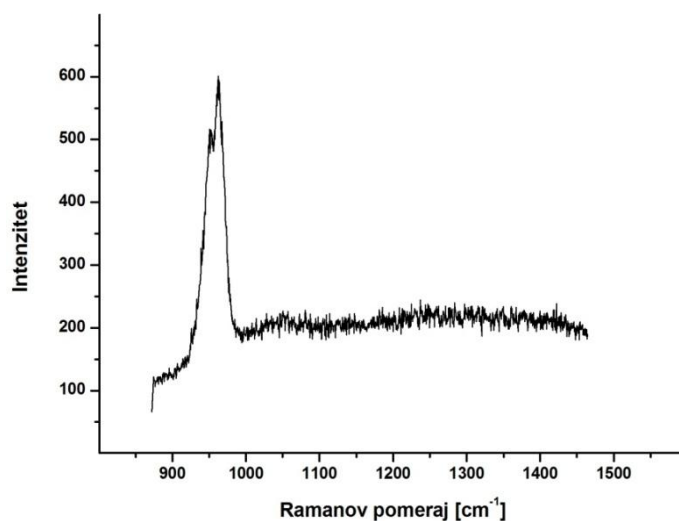
## PRILOG C2-1

### – Postupak fitovanja Raman spektara –

U ovom prilogu je objašnjen postupak fitovanja svih Raman spektara na primeru jednog spektra koji je snimljen na mernoj lokaciji 1 površine HAP-fp, nanasene pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=20$  °C (vidi **prilog C2-2**), u nekoliko koraka. Fitovanje svih Raman spektara je izvršeno pomoću programskog paketa Origin<sup>®</sup> u programskom modulu *Peak Analyzer*. Svi Raman spektri, koji su fitovani i razmatrani u ovom prilogu, ali i u celom radu, su dobijeni pomoću *Jobin Yvon T 64000* i *Tri Vista TR557* spektrometara, koji se nalaze u Laboratoriji za Ramanovo rasejanje i fotoluminiscenciju Centra za fiziku čvrstog stanja i nove materijale (Institut za Fiziku, Univerzitet u Beogradu) u Zemunu, Srbija. Nakon objašnjenja postupka fitovanja i dobijanja relativnih intenziteta, u drugom delu ovog priloga su dati primeri koji se bave kvalitativnom analizom greške pri određivanju relativnih intenziteta sa Raman spektara. Rezultati fitovanja Raman spektara sa površine HA prevlaka su dati u **prilogu C2-2**, dok su rezultati fitovanja Raman spektara dobijenih sa poprečnih preseka HA prevlaka dati u **prilozima E1 i E2**.

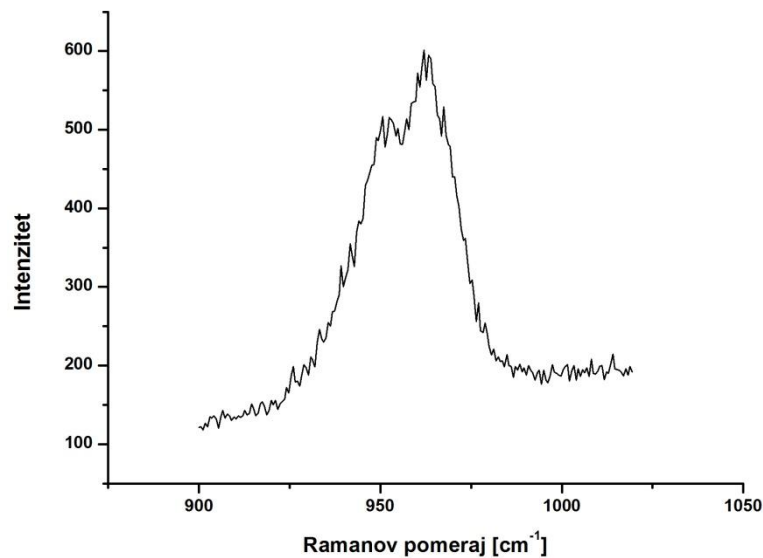
#### Postupak fitovanja

(I) Sl.C2-1-1 prikazuje originalni Raman spektar sa površine HAP-fp u oblasti frekvencija između  $\sim 800$  i  $\sim 1500$   $\text{cm}^{-1}$ .



Sl.C2-1-1. Originalni Raman spektar izmeren na mernoj lokaciji 1 površine HAP-fp nanasene pri  $SOD=80$ mm i  $T_S=20$  °C (vidi **prilog C2-2**).

(II) Raman spektar sa Sl.C2-1-1 je analiziran u odgovarajućoj oblasti frekvencija, 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  u ovom primeru, (Sl.C2-1-2).

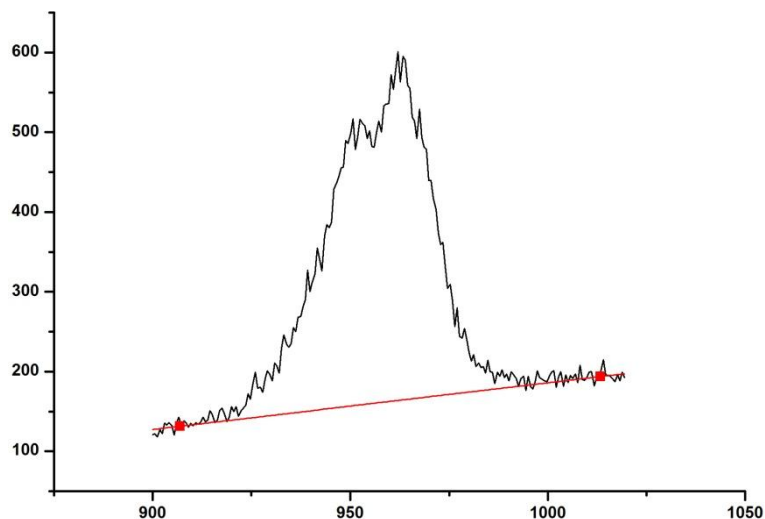


Sl.C2-1-2. Raman spektar sa Sl.C2-1-1 u oblasti frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$

(III) Nakon toga je startovan programski modul *Peak Analyzer* pomoću koga je fitovanje Raman spektra izvršeno u nekoliko koraka:

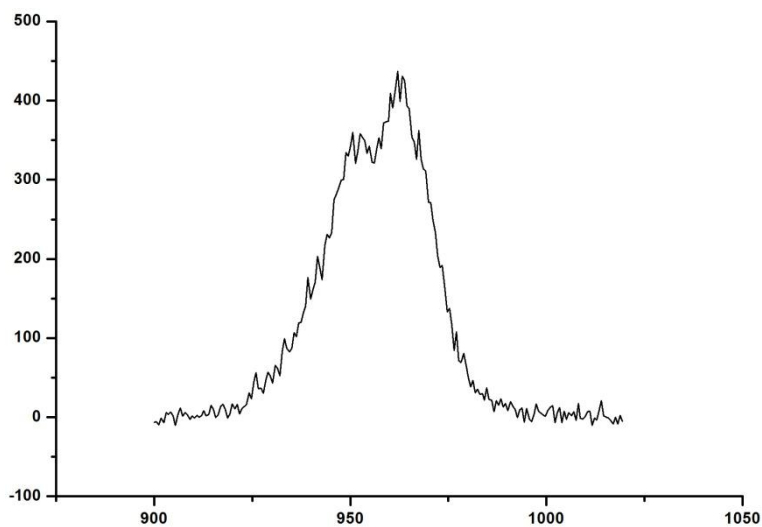
- Kreiranje bazne linije
- Oduzimanje bazne linije
- Zadavanje pikova od interesa
- Fitovanje pikova

U prvom koraku (kreiranje bazne linije), s obzirom na oblik pozadinskog rasejanja u datim Raman spektrima, izabrana je linearna bazna linija i izvršen je izbor dve tačke te linije, čijim je manuelnim pomeranjem bilo jednostavno podešavanje položaja bazne linije spektra. Za razliku od kreiranja složenog oblika bazne linije kod rentgenskih difraktorama (vidi **prilog C1-2**), zbog čega je vršen izbor opcije *Spline* (eng. Split line, razlomljena linija) pri kreiranju bazne linije, ovde se manuelni izbor dve tačke bazne linije (opcija *Line* – nerazlomljena linija) pokazao kao najjednostavniji i najbrži način koji unese najmanju, odnosno uvek sličnu, grešku pri fitovanju velikog broja Raman spektara.



SI.C2-1-3. Izgled i položaj bazne linije crvene boje.

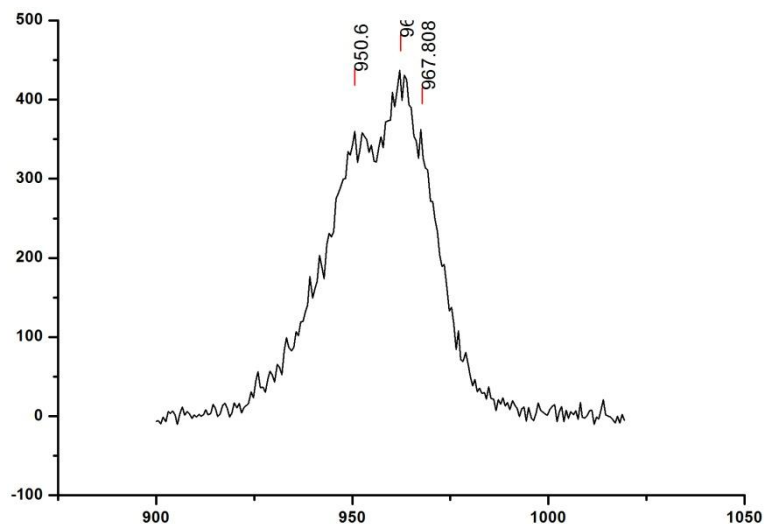
U drugom koraku (oduzimanje bazne linije), bazna linija sa SI.C2-1-3 je oduzeta od intenziteta Raman spektra (SI.C2-1-4).



SI.C2-1-4. Izgled Raman spektra nakon oduzimanja bazne linije.

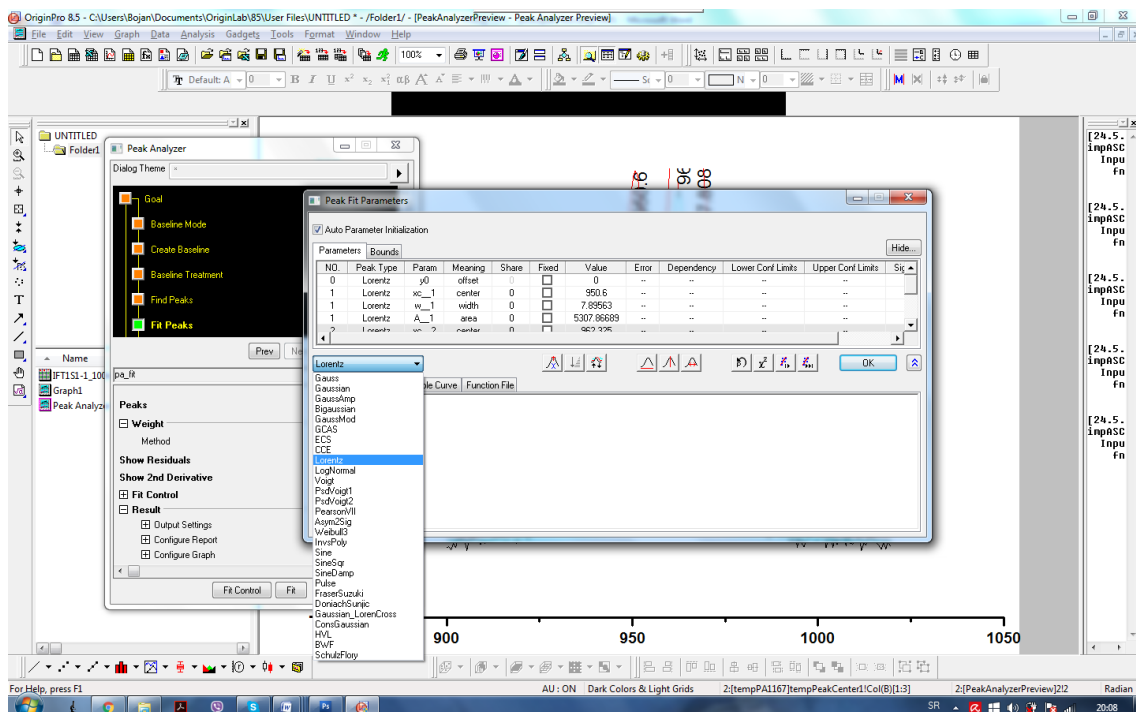
U trećem koraku (zadavanje pikova od interesa) izvršeno je manuelno zadavanje frekventnih položaja pikova od interesa u intervalima u kojima se, prema literaturnim podacima, očekuje njihova pojava. U ovom slučaju, izvršeno je zadavanje položaja  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  Raman pikova na frekvencijama 949-951, 960-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno, kao što je prikazano na SI.C2-1-5.



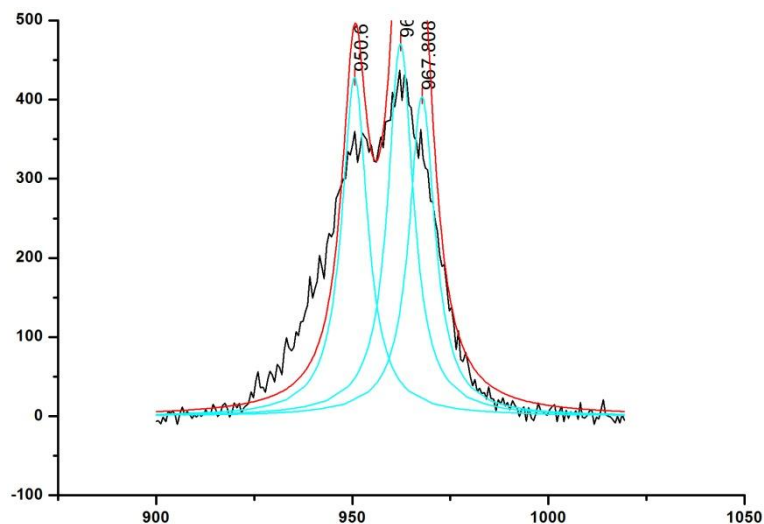


SI.C2-1-5. Zadavanje frekventnog položaja  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  Raman pikova.

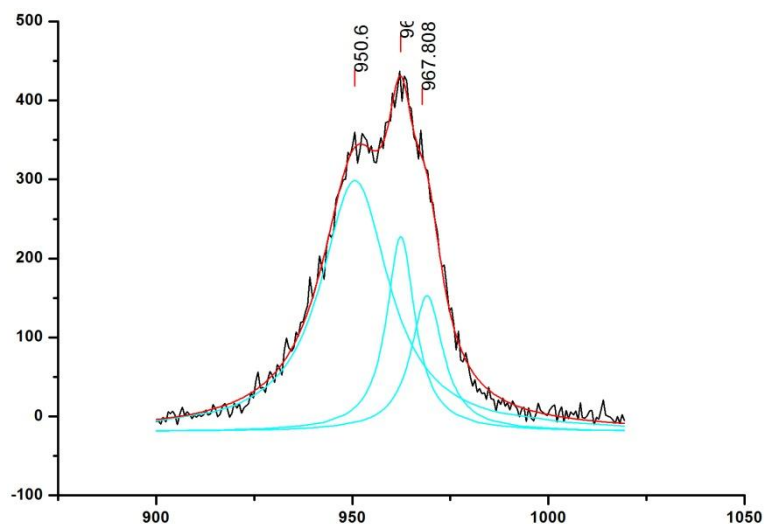
U četvrtom koraku (fitovanje pikova) je prvo izvršen izbor Lorentz-ove funkcije – *lorencijana* (SI.C2-1-6). Nakon toga, pre početka procesa fitovanja, kriva fitovanja (*eng.* fitting curve) koja predstavlja sumu 3 lorencijana, imala je izgled kao na SI.C2-1-7, dok je, nakon procesa fitovanja, ova kriva u velikoj meri odgovarala intenzitetu eksperimentalnog Raman spektra, kao što je prikazano na SI.C2-1-8.



SI.C2-1-6. Izbor Lorentz-ove funkcije za fitovanje Raman spektralne krive sa tri pika.



Sl.C2-1-7. Izgled Raman spektra pre fitovanja.



Sl.C2-1-9. Izgled Raman spektra nakon fitovanja.

Kao što je prikazano na Sl.C2-1-9, postupak fitovanja je izborom Lorentz-ovih funkcija (lorencijana koji su predstavljeni zelenim linijama), koje odgovaraju pojedinim Raman pikovima, doveo do formiranja krive fitovanja (crvena linija), koja predstavlja sumu tih lorencijana. Postupak fitovanja se sastojao od niza sukcesivnih iteracija koje su dovele do nalaženja minimalnog odstupanja krive fitovanja od eksperimentalnog Raman spektra (tamna linija), za šta se u programskom paketu Origin<sup>®</sup> koristi numerička metoda najmanjih kvadrata. Statistički podaci ovog postupka fitovanja su sledeći:

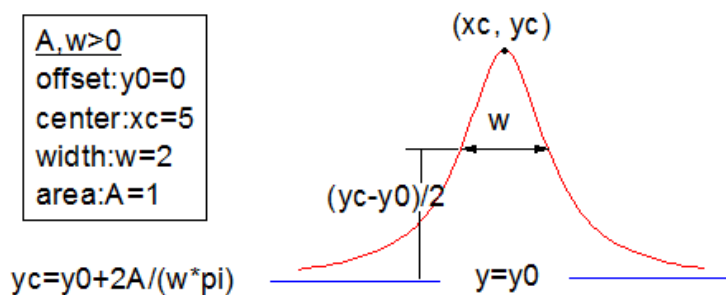
Number of Points	200
Degrees of Freedom	190
Reduced Chi-Sqr	120.16479
Residual Sum of Squares	22831.30995
Adj. R-Square	0.99368
Fit Status	Succeeded(100%)

Lorentz-ova funkcija kojom je vršeno fitovanje Raman spektara je oblika:

$$y = y_0 + \frac{2A}{\pi} \frac{w}{4(x - x_c)^2 + w^2}$$

gde su:  $y$  – intenzitet pika,  $A$  – integralna površina ispod pika,  $x_c$  – frekventni položaj pika ( $\text{cm}^{-1}$ ) i  $w$  – širina pika na polovini maksimalnog intenziteta pika.

Na Sl.C2-1-10 je dato grafičko objašnjenje parametara Lorentz-ove funkcije.



**Sl.C2-1-10.** Parametri Lorentz-ove funkcije.

Vrednosti parametara Lorentz-ove funkcije, koji odgovaraju Sl.C2-1-9 su dati u Tab.C2-1-1.

**Tab.C2-1-1.** Parametri Lorentz-ove funkcije koji odgovaraju Sl.C2-1-9.

Parameters		Value	Shared	Standard Error
Peak1(Lorentz)	y0	-21.17261	0	1.70776
	xc	950.32343	0	0.30472
	w	21.09132	0	0.67258
	A	10437.30238	0	512.72925
	H	315.03924		
Peak2(Lorentz)	y0	-21.17261	0	1.70776
	xc	962.20416	0	0.21442
	w	9.21022	0	0.9676
	A	3732.21439	0	644.83953
	H	257.97433		
Peak3(Lorentz)	y0	-21.17261	0	1.70776
	xc	969	0	0.39113
	w	9.59627	0	0.82494
	A	2460.22818	0	425.4928
	H	163.21235		

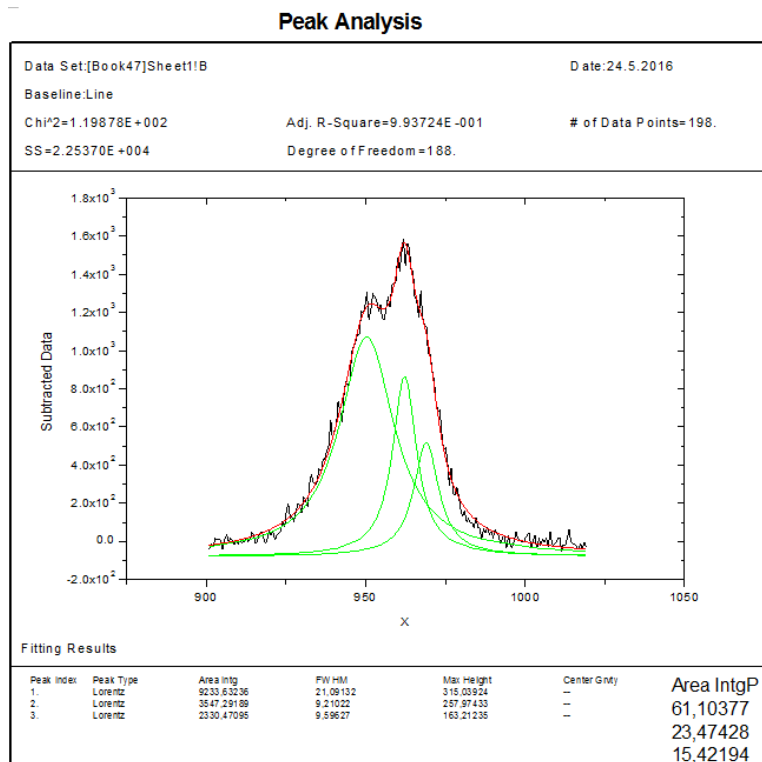
Iz Tab.C2-1-1, vrednosti integralnih površina ispod Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su označene sa  $A$  za svaki pik posebno (Peak1(Lorentz), Peak2(Lorentz) i Peak3(Lorentz)) i iznose  $A_1 = 10437.3$ ,  $A_2 = 3732.2$  i  $A_3 = 2460.3$ , respektivno. Smenom ovih vrednosti u izraze C2-1-1, C2-1-2 i C2-1-3 su dobijeni relativni intenziteti  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ , respektivno.

$$R_1 = \frac{A_1}{A_1 + A_2 + A_3} \times 100 = 62.8\% \quad (\text{C2-1-1})$$

$$R_2 = \frac{A_2}{A_1 + A_2 + A_3} \times 100 = 22.4\% \quad (\text{C2-1-2})$$

$$R_3 = \frac{A_3}{A_1 + A_2 + A_3} = 14.8\% \quad (\text{C2-1-3})$$

Origin® program poseduje opciju automatskog generisanja udela površina ispod pikova (Sl.C2-1-11), koja je iskorišćena u ovom radu jer je umnogome skraćivala vreme koje je bilo neophodno za obradu velikog broja Raman spektara.



**Sl.C2-1-11.** Rezultati fitovanja Raman spektra sa Sl.C2-1-9 koji su generisani nakon završetka postupka fitovanja. U donjem desnom uglu su uvećane vrednosti udela integralnih površina pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ , što su zapravo vrednosti relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ .

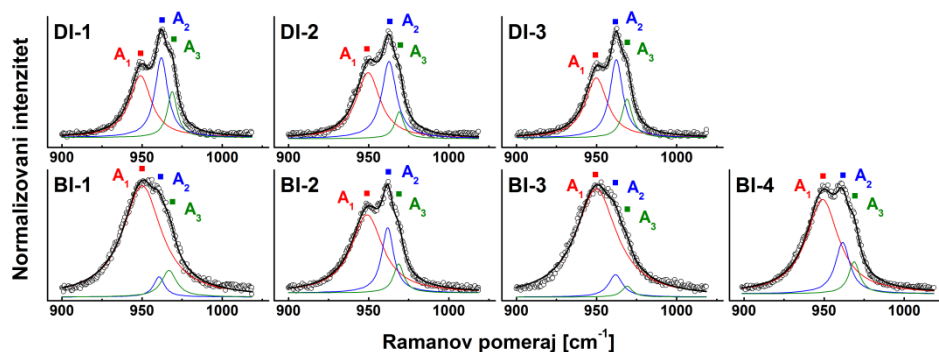
### Greške pri određivanju relativnih intenziteta $R_1$ , $R_2$ i $R_3$ .

U ovom radu su se razlikovale dve vrste grešaka pri određivanju relativnih intenziteta ( $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ ) Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  sa Raman spektara u oblasti frekvencija  $900-1020\text{ cm}^{-1}$ :

- Greška lokacije merenja (usled prisustva mikro-strukturne heterogenosti HA prevlaka) i
- Greška fitovanja integralnih površina ispod Raman pikova Lorentz-ovom funkcijom.

Greška lokacije merenja je određena uzimanjem nekoliko Raman spektara u radijusu od  $10-15\text{ }\mu\text{m}$  oko lokacije merenja od interesa na posmatranoj površini uzorka (Sl.C2-1-13). Nakon toga je izvršeno fitovanje dobijenih Raman spektara postupkom koji je gore naveden sa ciljem generisanja vrednosti relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  sa

svakog Raman spektra (Tab.C2-1-2). Potom su određene srednje vrednosti relativnih intenziteta  $\langle R \rangle$  i standardna odstupanja ( $\sigma$ ) za odgovarajuću lokaciju merenja, a procentualno izražena greška lokacije merenja je iznosila  $\sim 100 \times \sigma / \langle R \rangle$  (Tab.C2-1-2).



SI.C2-1-13. Fitovani Raman spektri uzeti sa istih lokacija blizu interfejsa (BI) i na 100  $\mu\text{m}$  dalje od interfejsa (DI).

Integralna površina ( $A_1$ ,  $A_2$  ili  $A_3$ ) ispod svakog Raman pika svakog Raman spektra iste lokacije merenja je dobijena postupkom fitovanja sa odgovarajućom standardnom greškom. S obzirom da su u slučaju iste merne lokacije oblici Raman spektara ispoljavali najmanje međusobne razlike u odnosu na udaljenije delove HA prevlaka, tako su i pomenute standardne greške integralnih površina Raman pikova ispoljavale najmanje međusobne razlike. Drugim rečima, srednja vrednost integralne površine ( $A_1$ ,  $A_2$  ili  $A_3$ ) svakog Raman pika na istoj mernoj lokaciji je imala odgovarajuću srednju standardnu grešku usled fitovanja Raman spektara. Ova srednja standardna greška je u ovom radu predstavljala grešku fitovanja određene lokacije merenja.

Određivanje greške fitovanja je objašnjeno na primeru fitovanja BI-2 Raman spektra sa SI.C2-1-13. Parametri Lorentz-ove funkcije za ovaj Raman spektar su prikazani u Tab.C2-1-3. Greška fitovanja  $A_1$  Raman pika za BI-2 Raman spektar je određena kao  $100 \times \sigma(A_1) / A_1$ , što je analogno izrazu za grešku lokacije merenja, gde su vrednosti za  $\sigma(A_1) \approx 1048$  i generisanu integralnu površinu pika  $A_1 \approx 29858$  obeležene tamnim pravougaonicima u Tab.C2-1-3. Ovaj postupak je ponovljen u slučajevima preostala tri Raman spektra na BI lokaciji merenja, nakon čega je određena srednja greška fitovanja za BI mernu lokaciju. Greške lokacije merenja i fitovanja su bile

izražene u procentima. Greške u slučajevima relativnih intenziteta  $R_2$  i  $R_3$  su određene kao u slučaju za  $R_1$ .

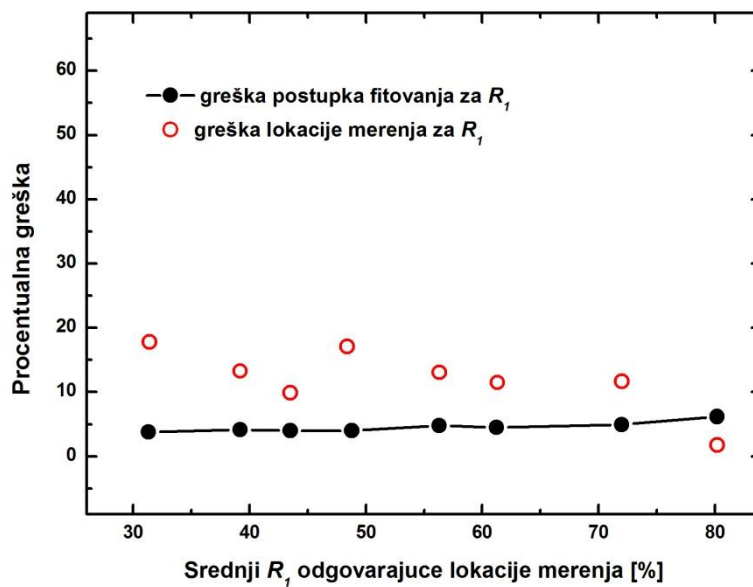
**Tab.C2-1-2.** Rezultati fitovanja Raman spektara sa Sl.C2-1-13.

Rezultati fitovanja Raman spektara						
	$R_1$	$\langle R_1 \rangle$ $\pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle$ $\pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle$ $\pm \sigma$
BI-1	86.2	78.9 $\pm 11.0$	5.0	13.7 $\pm 9.0$	8.8	7.4 $\pm 3.2$
BI-2	67.4		23.6			
BI-3	90.1		7.2			
BI-4	71.8		19.0			
DI-1	46.6	48.8 $\pm 3.2$	37.0	37.9 $\pm 1.1$	16.4	13.3 $\pm 4.2$
DI-2	52.4		39.1			
DI-3	47.3		37.6			

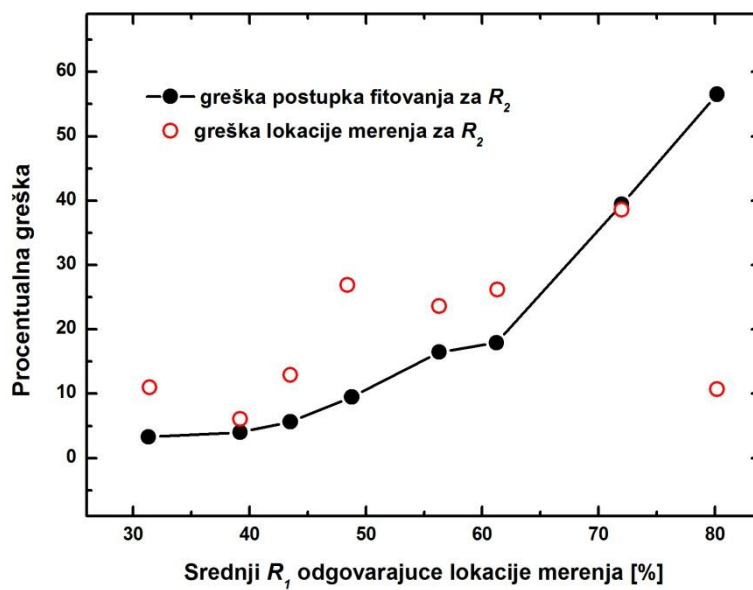
Greške lokacije merenja i fitovanja su upoređene u slučajevima najmanje 20 mernih lokacija. Svaka lokacija merenja je imala sopstvenu vrednost srednjeg relativnog intenziteta  $R_1$ , kao što se to može videti iz primera datog u Tab.C2-1-2 koja pokazuje srednje relativne intenzitete  $R_1$  lokacija merenja BI i DI (48.8 i 78.9). U mnogim slučajevima se dešavalo da se srednji relativni intenziteti  $R_1$  različitih mernih lokacija preklapaju po vrednosti, tako da su isti bili usrednjeni i prikazani kao jedna lokacija merenja. Na Sl.C2-1-14, C2-1-15 i C2-1-16 su upoređene procentualne greške lokacije merenja i fitovanja u slučajevima relativnih intenziteta  $R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  na mernim lokacijama sa različitim vrednostima srednjeg relativnog intenziteta  $R_1$ .

**Tab.C2-1-3.** Parametri Lorentz-ove funkcije za BI-2 Raman spektar sa Sl.C2-1-13.

Parameters				
	Value	Shared	Standard Error	
Peak1(Lorentz)	y0	-53.26968	0	3.60167
	xc	948.9766	0	0.24339
	w	23.88792	0	0.57401
	A	29857.56728	0	1048.24188
	H	795.71265		
Peak2(Lorentz)	y0	-53.26968	0	3.60167
	xc	961.89964	0	0.14443
	w	9.13803	0	0.6477
	A	9545.27083	0	1022.68659
	H	664.99092		
Peak3(Lorentz)	y0	-53.26968	0	3.60167
	xc	968.74986	0	0.28363
	w	7.79264	0	0.74797
	A	3613.76228	0	588.4704
	H	295.22651		

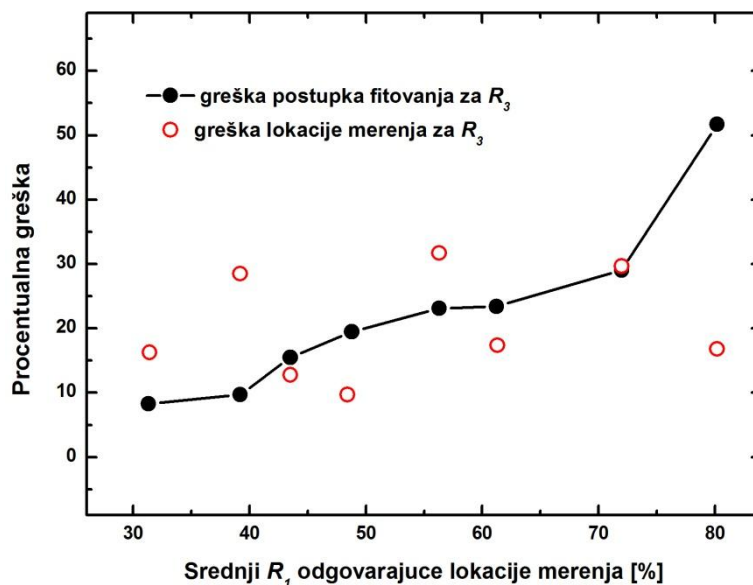


SI.C2-1-14. Poređenje grešaka lokacije merenja i fitovanja u slučaju  $R_1$ .



SI.C2-1-15. Poređenje grešaka lokacije merenja i fitovanja u slučaju  $R_2$ .





Sl.C2-1-16. Poređenje grešaka lokacije merenja i fitovanja u slučaju  $R_3$ .

U slučaju relativnog intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  je u većini slučajeva greška lokacije merenja bila veća od greške fitovanja. Ovaj rezultat je kvalitativno ukazivao da su, statistički posmatrano, lokacije merenja imale veći uticaj na grešku pri određivanju relativnih intenziteta ( $R_1$  i  $R_2$ ) Raman pikova  $A_1$  i  $A_2$  nego postupak fitovanja. Drugim rečima, ova analiza je pokazala da su zapažene promene relativnih intenziteta  $A_1$  i  $A_2$  Raman pikova u ovom radu najverovatnije bile posledica prisustva mikro-strukturne heterogenosti nanesenih HA prevlaka, posebno u slučaju promene relativnog intenziteta  $R_1$ , koji odražava promene relativne amorfности HA prevlaka, tj. sume ( $R_2+R_3$ ) relativnih intenziteta  $R_2$  i  $R_3$ , koja odražava promenu relativne kristaličnosti. Veći uticaj greške lokacije merenja nije bio iznenađujući imajući u vidu da su se HA prevlake sastojale od jediničnih mikro-depozita očvrsljica čestica polaznog HA praha, od kojih je svaka prošla kroz sebi svojstven termički ciklus zagrevanja u plazma mlazu i hlađenja pri udaru u substrat ili prethodno formirani depozit, pa je samim tim najverovatnije skoro svaka čestica mikro-depozita ispoljavala nešto drugačija svojstva od svojih suseda i/ili značajno drugačija svojstva od udaljenijih čestica mikro-depozita u HA prevlaci. U slučaju relativnog intenziteta  $R_3$ , greška lokacije merenja je skoro podjednako uticala na njegovu vrednost kao i greška fitovanja (Sl.C2-1-16). Ova činjenica je unosila nesigurnost pri tumačenju promena ovog relativnog intenziteta, u smislu da li je ta promena posledica mikro-strukturne heterogenosti HA prevlake ili greške fitovanja. Slično je važno i u slučaju relativnog intenziteta  $R_2$  u amorfnijim

oblastima, gde se uticaj greške fitovanja približavao uticaju greške lokacije merenja (Sl.C2-1-15).

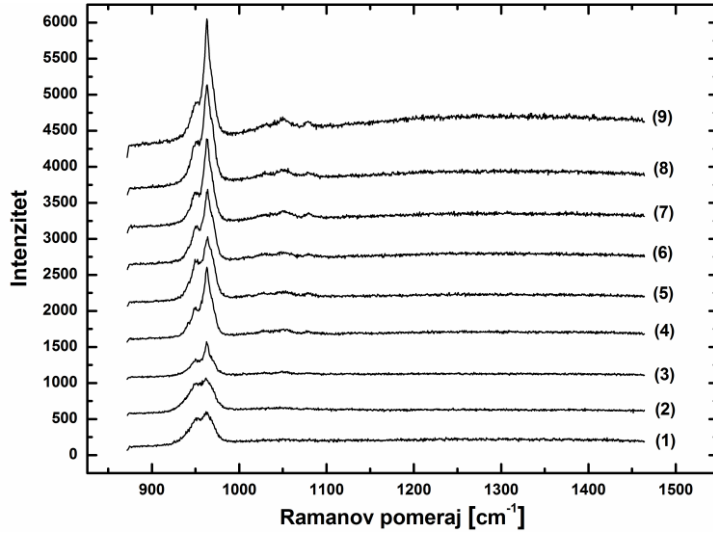
Na osnovu prikazane analize, u ovom radu su sve promene relativnih intenziteta  $R_1$  i  $R_2$  koje su bile manje od ~10 % smatrane greškom lokacije merenja, tj. ukazivale su na **strukturnu homogenost** HA prevlaka. S obzirom da je uticaj greške lokacije merenja i fitovanja bio podjednako izražen u slučaju relativnog intenziteta  $R_3$ , sve njegove promene koje su bile manje od ~20 % su smatrane greškom lokacije merenja i/ili fitovanja, osim u slučajevima gde je promena ovog intenziteta, tj. njegovog doprinosa, bila potkrepljena rezultatima drugih analiza ili metoda ispitivanja.

## **PRILOG C2-2**

**– Originalni površinski Raman spektri i rezultati fitovanja ovih spektara –**

## HAP-fp; SOD=80 mm; $T_S=20\text{ }^\circ\text{C}$

### Originalni površinski Raman spektri



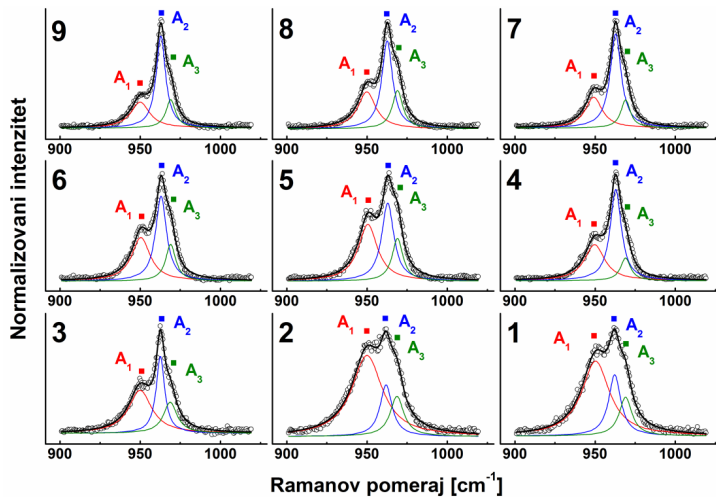
Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $\text{cm}^{-1}$   
 $A_2$ : 961-963  $\text{cm}^{-1}$   
 $A_3$ : 966-969  $\text{cm}^{-1}$

1-9: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

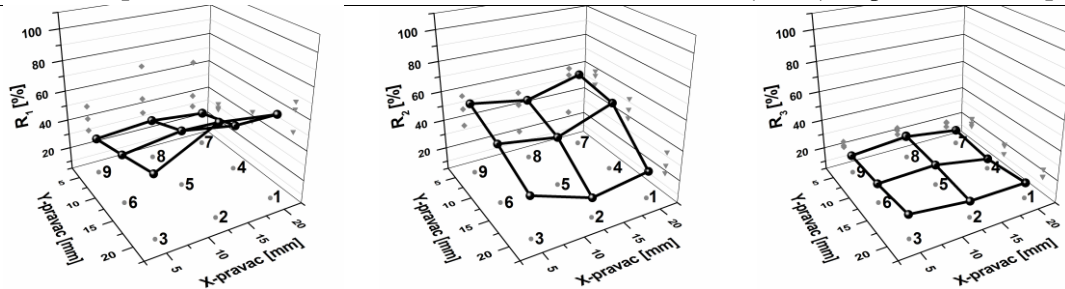
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih Raman spektara

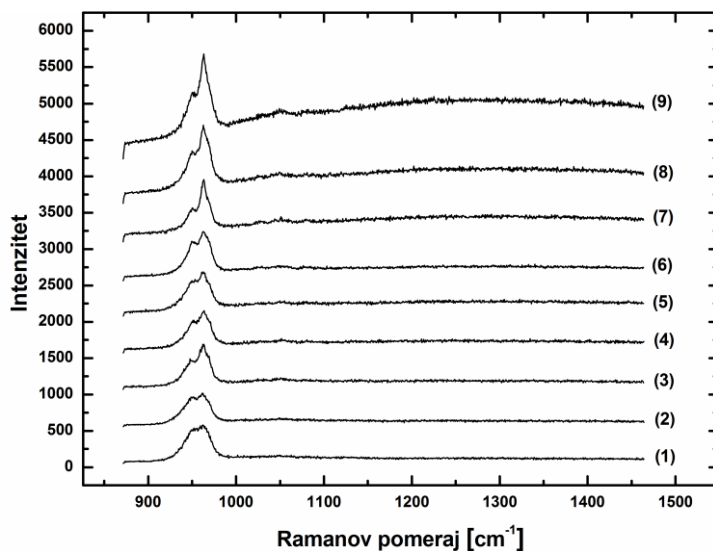
Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	61.1	23.5	15.4
2	66.1	18.1	15.8
3	46.4	32.8	20.8
4	36.0	52.3	11.7
5	42.7	38.4	18.9
6	37.4	44.7	17.9
7	27.9	57.3	14.8
8	32.2	47.4	20.4
9	29.1	54.0	16.9

### 3D-raspodele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-fp



## HAP-fp; $SOD=100$ mm; $T_S=20$ °C

### Originalni površinski Raman spektri



Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $\text{cm}^{-1}$

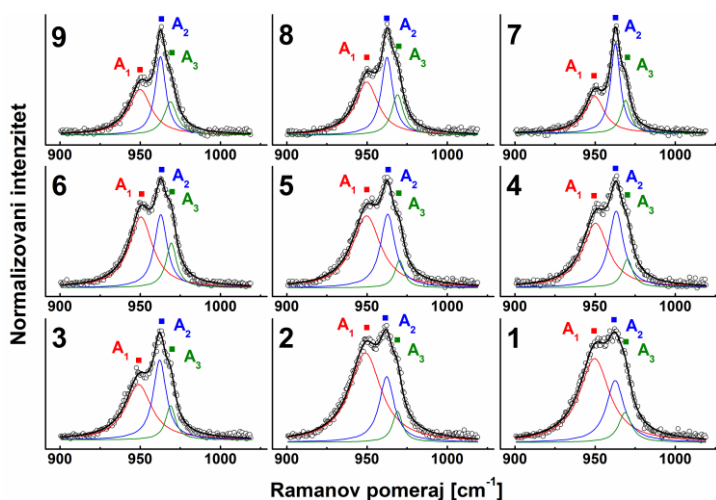
$A_2$ : 961-963  $\text{cm}^{-1}$

$A_3$ : 966-969  $\text{cm}^{-1}$

**1-9**: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

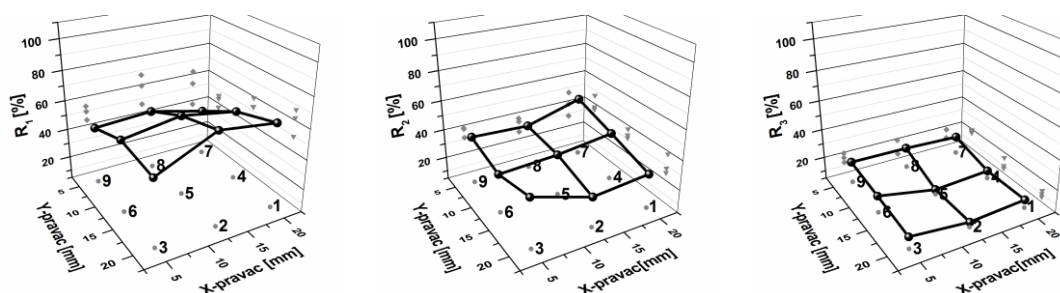
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih Raman spektara

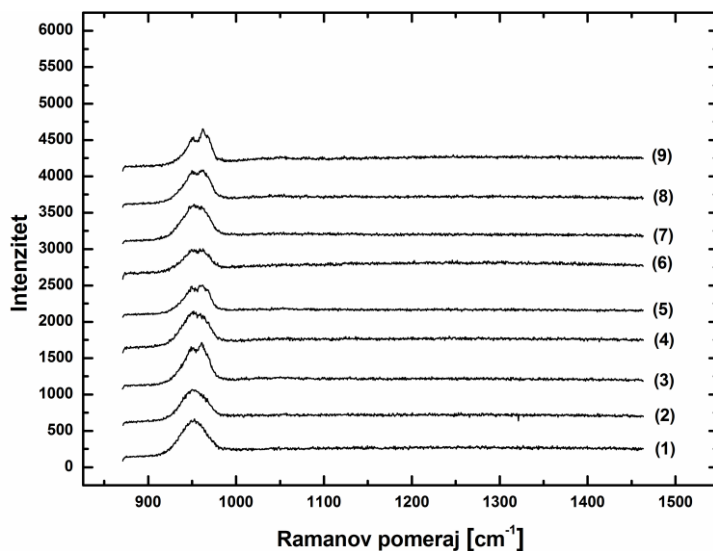
Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	61.6	28.2	10.2
2	66.8	25.2	8.0
3	49.5	38.0	12.5
4	52.7	37.4	9.9
5	59.1	32.9	8.0
6	53.1	30.9	16.0
7	36.9	46.1	17.0
8	45.8	35.5	18.7
9	43.4	37.3	19.3

### 3D-raspodele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-fp



## HAP-fp; $SOD=150$ mm; $T_S=20$ °C

### Originalni površinski Raman spektri



Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $\text{cm}^{-1}$

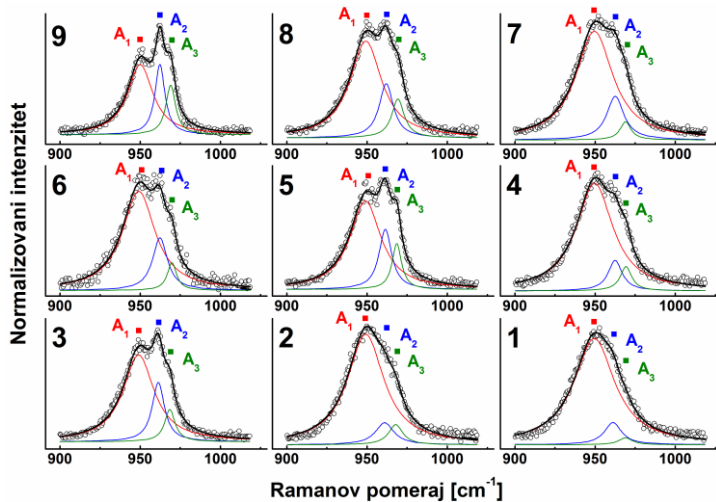
$A_2$ : 961-963  $\text{cm}^{-1}$

$A_3$ : 966-969  $\text{cm}^{-1}$

**1-9**: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

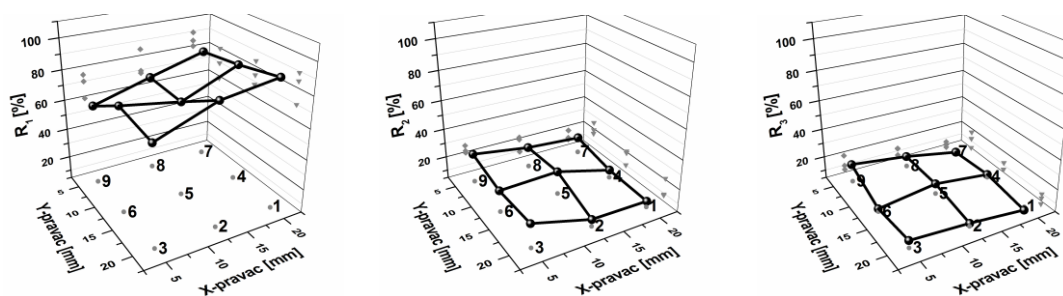
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih Raman spektara

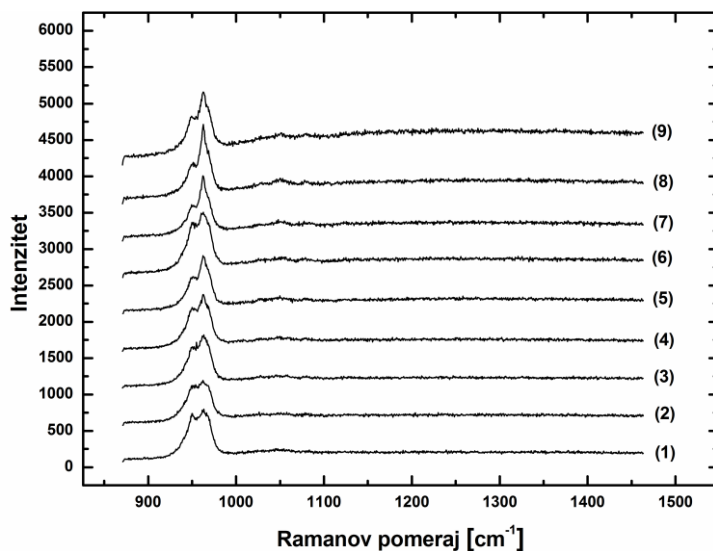
Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	89.1	8.7	2.2
2	84.1	9.3	6.6
3	69.8	20.7	9.5
4	83.4	10.0	6.6
5	67.8	20.5	11.7
6	74.2	19.3	6.5
7	79.6	16.0	4.4
8	69.3	18.8	11.9
9	58.4	24.6	17.0

### 3D-raspodele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-fp



## HAP-fp; $SOD=100$ mm; $T_S=20$ °C

### Originalni površinski Raman spektri



Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $\text{cm}^{-1}$

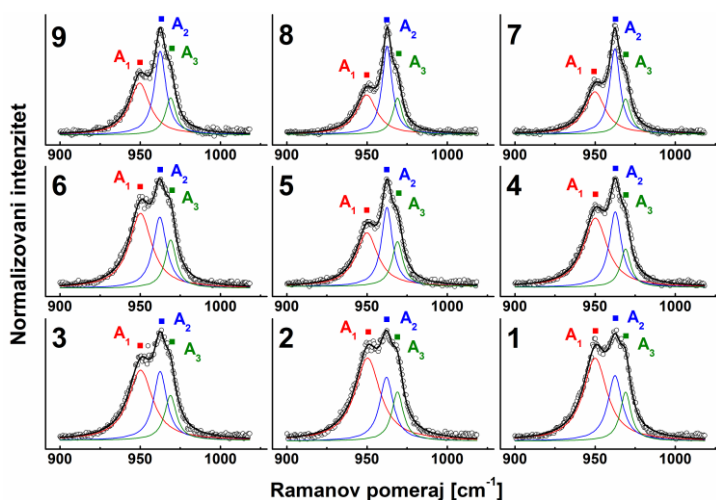
$A_2$ : 961-963  $\text{cm}^{-1}$

$A_3$ : 966-969  $\text{cm}^{-1}$

**1-9**: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

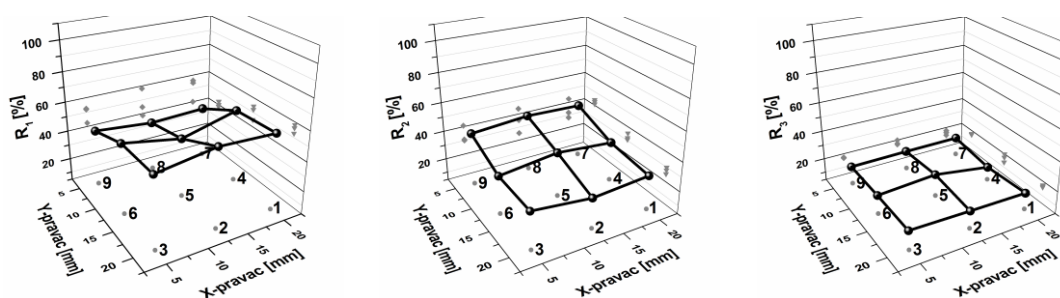
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih Raman spektara

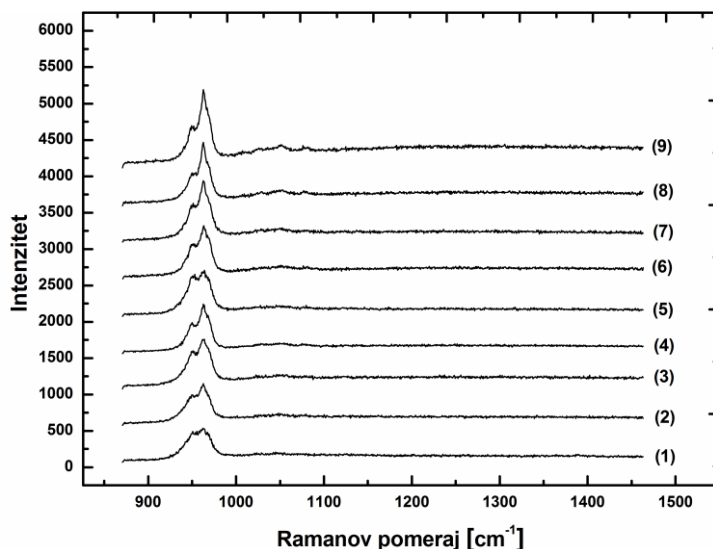
Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	56.1	28.0	15.9
2	58.1	25.4	16.5
3	52.6	30.0	17.4
4	54.3	32.0	13.7
5	44.8	35.4	19.8
6	52.0	30.7	17.3
7	40.0	42.6	17.4
8	38.6	44.0	17.4
9	42.4	40.8	16.8

### 3D-raspodele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-fp



## HAP-fp; SOD=100 mm; $T_S=100\text{ }^\circ\text{C}$

### Originalni površinski Raman spektri



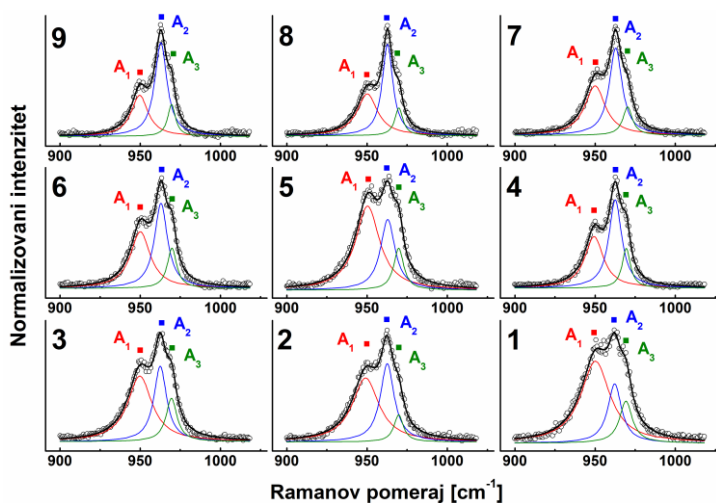
Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $\text{cm}^{-1}$   
 $A_2$ : 961-963  $\text{cm}^{-1}$   
 $A_3$ : 966-969  $\text{cm}^{-1}$

1-9: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

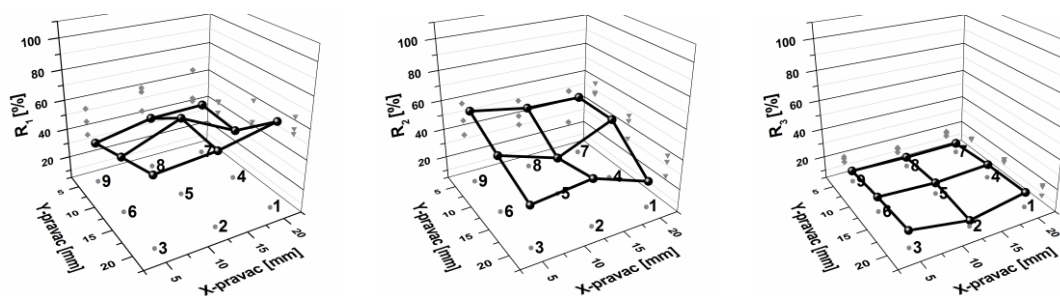
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih Raman spektara

Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	62.3	22.7	15.0
2	54.4	36.9	8.7
3	51.2	32.6	16.2
4	39.0	46.9	14.1
5	57.2	30.3	12.5
6	42.1	43.0	14.9
7	41.3	47.2	11.5
8	40.5	48.2	11.3
9	32.6	55.1	12.3

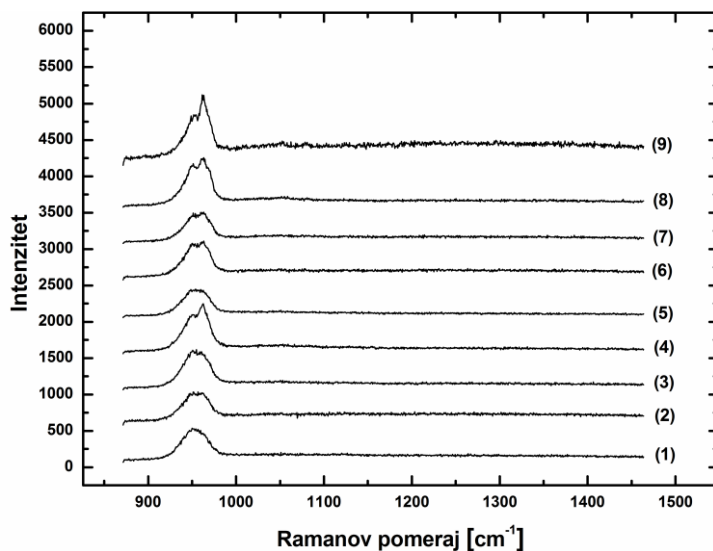
### 3D-raspodele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-fp





## HAP-fp; $SOD=100$ mm; $T_S=200$ °C

### Originalni površinski Raman spektri



Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $\text{cm}^{-1}$

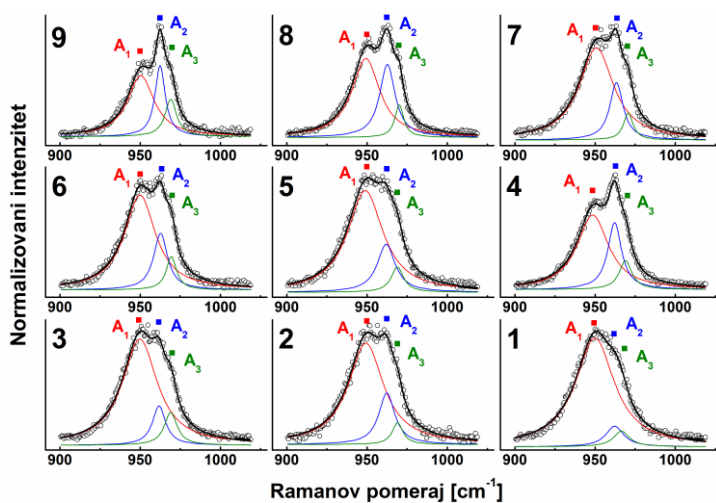
$A_2$ : 961-963  $\text{cm}^{-1}$

$A_3$ : 966-969  $\text{cm}^{-1}$

1-9: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

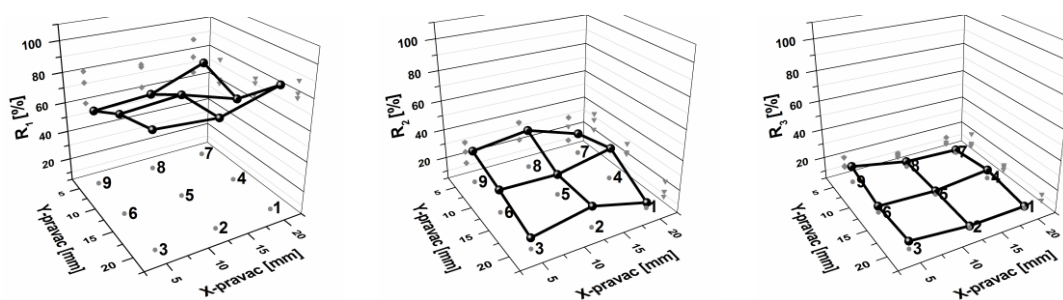
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih MRSpektara

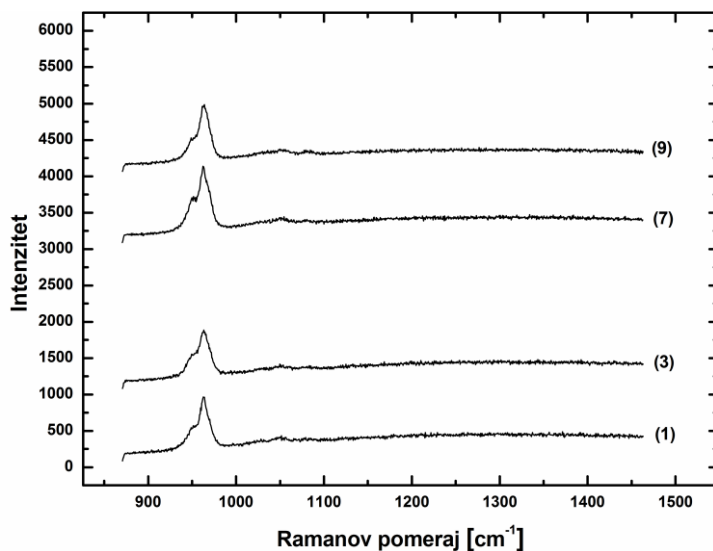
Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	86.1	8.3	5.6
2	75.4	19.1	5.5
3	78.2	12.0	9.8
4	62.7	26.7	10.6
5	73.8	19.1	7.1
6	70.6	20.4	9.0
7	73.7	19.6	6.7
8	59.4	32.2	8.4
9	56.6	27.3	16.1

### 3D-raspodele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-fp



## HAP-kp; $SOD=80$ mm; $T_S=20$ °C

### Originalni površinski Raman spektri



Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $cm^{-1}$

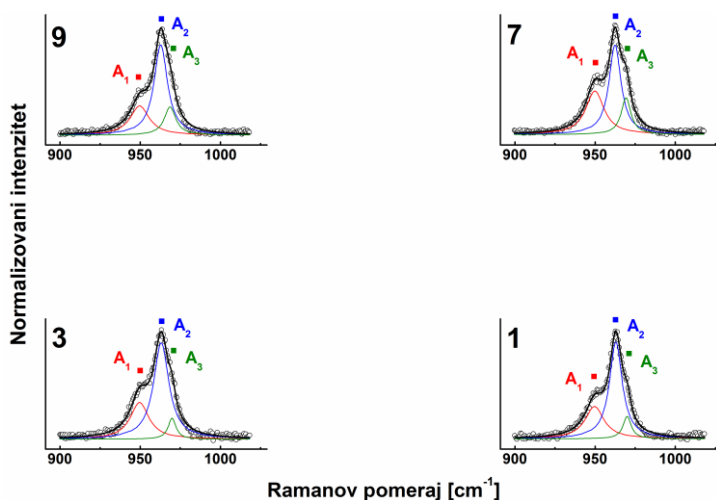
$A_2$ : 961-963  $cm^{-1}$

$A_3$ : 966-969  $cm^{-1}$

1-9: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $cm^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

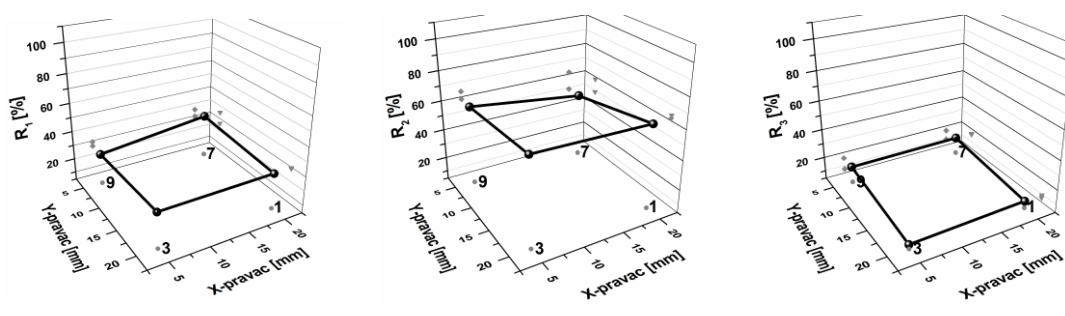
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih Raman spektara

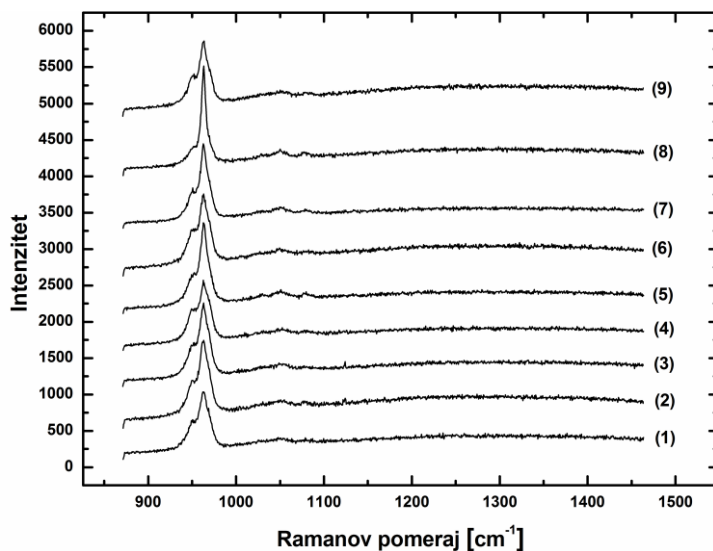
Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	29.4	61.3	9.3
3	29.0	63.6	7.4
7	34.9	48.8	16.3
9	26.0	58.3	15.7

### 3D-raspodele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-kp



## HAP-kp; SOD=80 mm; $T_S=20\text{ }^\circ\text{C}$

### Originalni površinski Raman spektri



Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $\text{cm}^{-1}$

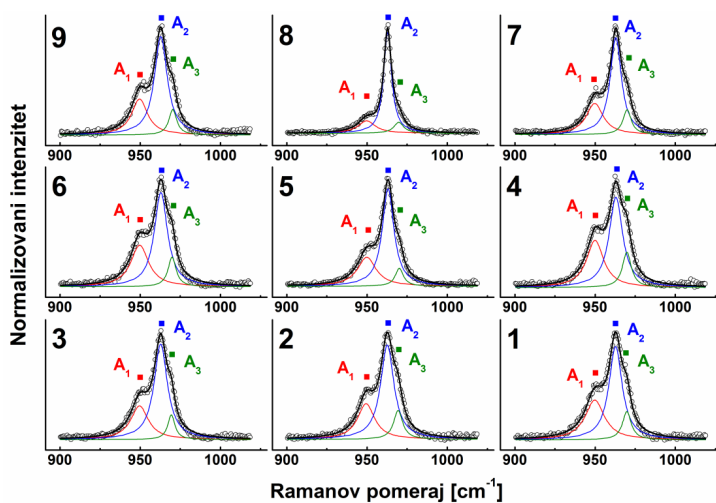
$A_2$ : 961-963  $\text{cm}^{-1}$

$A_3$ : 966-969  $\text{cm}^{-1}$

1-9: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

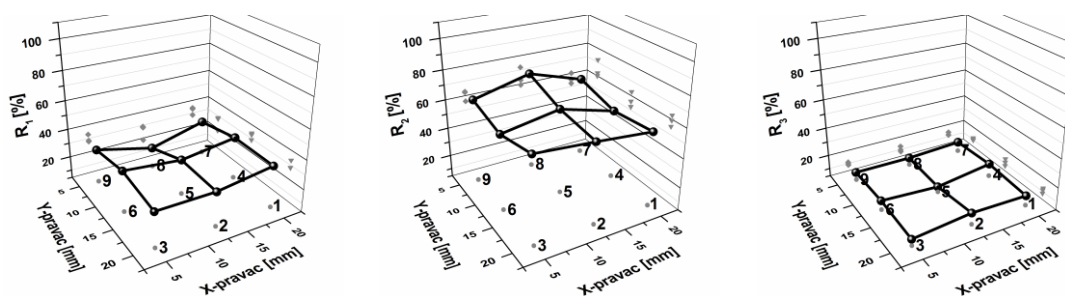
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih Raman spektara

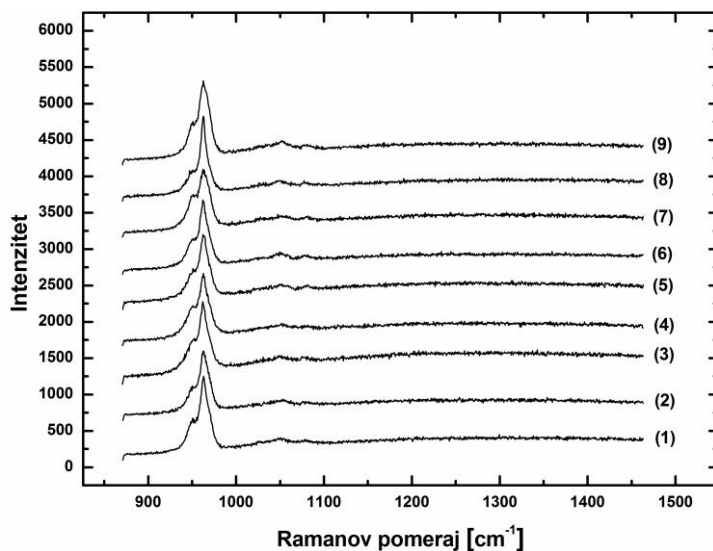
Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	33.4	55.3	11.3
2	28.2	59.3	12.5
3	28.4	62.7	8.9
4	34.0	52.4	13.6
5	28.9	62.8	8.3
6	32.9	56.1	11.0
7	28.5	60.1	11.4
8	18.5	71.8	9.7
9	27.8	62.2	10.0

### 3D-raspodele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-kp



## HAP-kp; $SOD=100$ mm; $T_S=20$ °C

### Originalni površinski Raman spektri



Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $\text{cm}^{-1}$

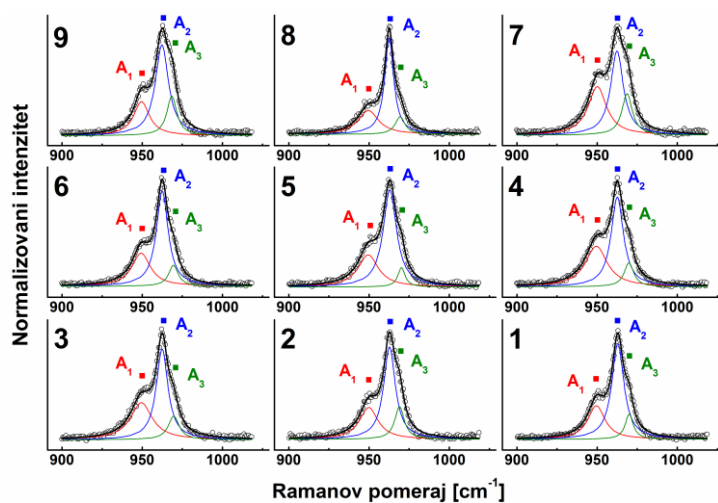
$A_2$ : 961-963  $\text{cm}^{-1}$

$A_3$ : 966-969  $\text{cm}^{-1}$

1-9: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

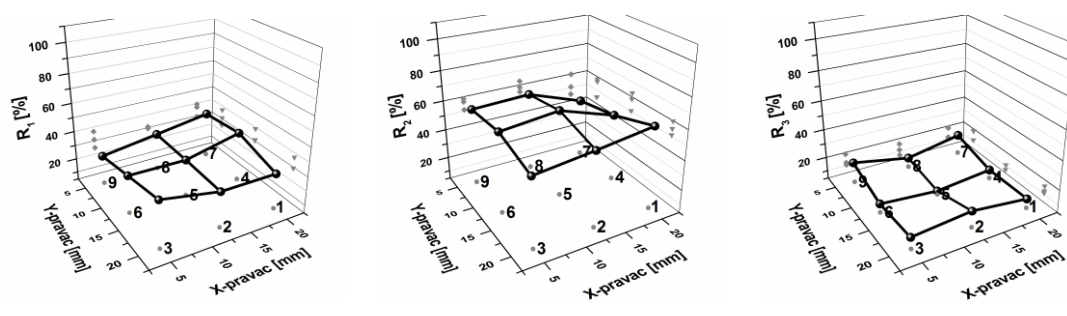
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih Raman spektara

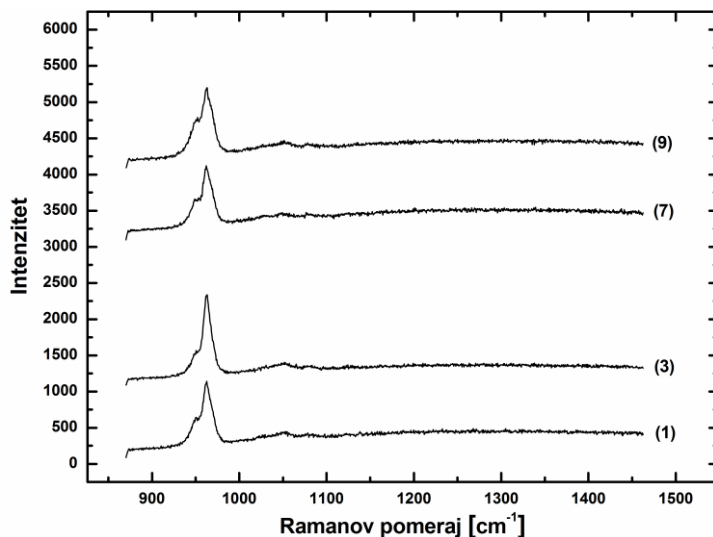
Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	29.2	59.9	10.9
2	29.2	55.0	15.8
3	36.8	50.9	12.3
4	39.0	50.4	10.6
5	30.3	62.7	7.0
6	30.8	58.6	10.6
7	36.7	44.9	18.4
8	30.6	58.2	11.2
9	24.7	56.5	18.8

### 3D-raspodele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-kp



## HAP-kp; $SOD=80$ mm; $T_S=100$ °C

### Originalni površinski Raman spektri



Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $\text{cm}^{-1}$

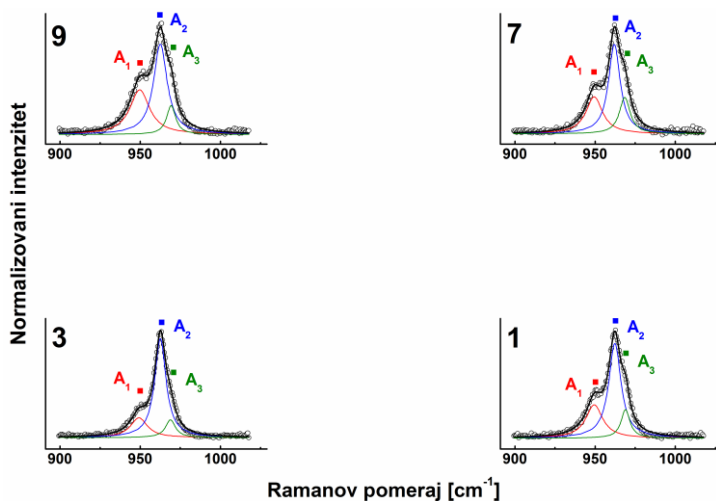
$A_2$ : 961-963  $\text{cm}^{-1}$

$A_3$ : 966-969  $\text{cm}^{-1}$

1-9: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

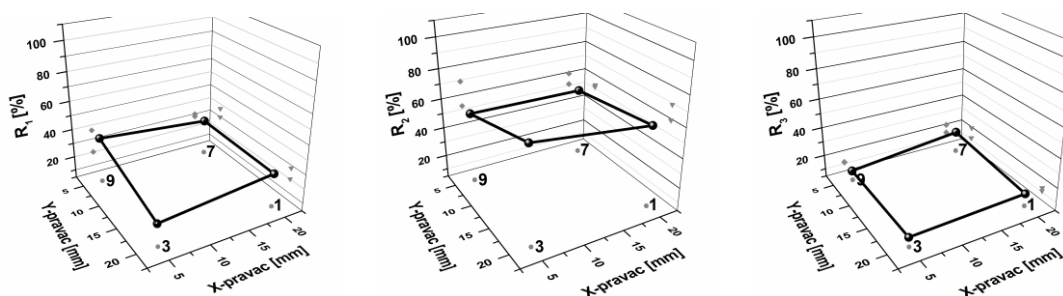
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih Raman spektara

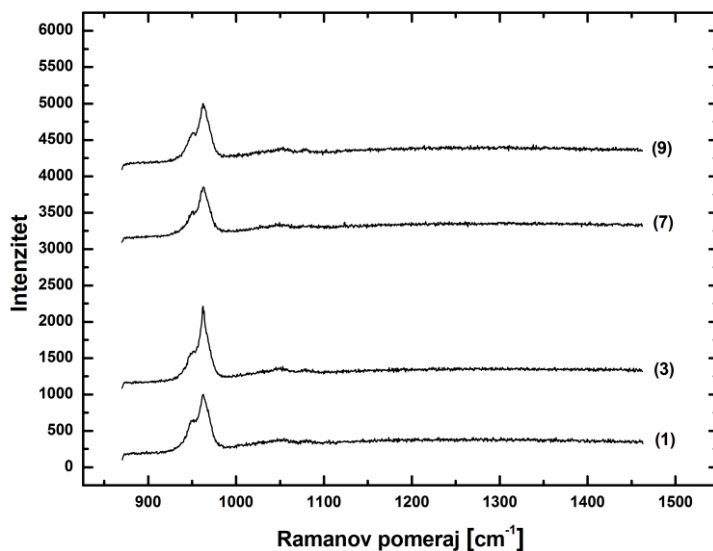
Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	27.9	59.0	13.1
3	20.1	69.0	10.9
7	29.6	51.1	19.3
9	36.3	52.3	11.3

### 3D-raspedele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-kpe



## HAP-kp; SOD=80 mm; $T_S=200\text{ }^\circ\text{C}$

### Originalni površinski Raman spektri



Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $\text{cm}^{-1}$

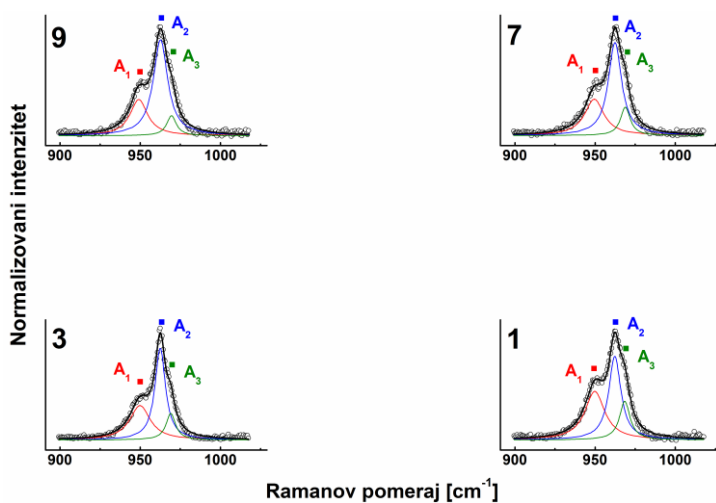
$A_2$ : 961-963  $\text{cm}^{-1}$

$A_3$ : 966-969  $\text{cm}^{-1}$

**1-9**: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

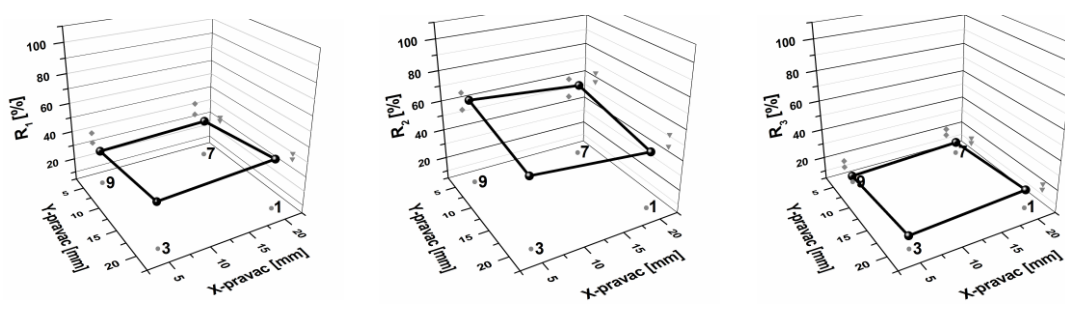
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih Raman spektara

Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	39.4	43.2	17.3
3	35.6	51.0	13.4
7	31.0	56.3	12.7
9	28.4	62.7	8.9

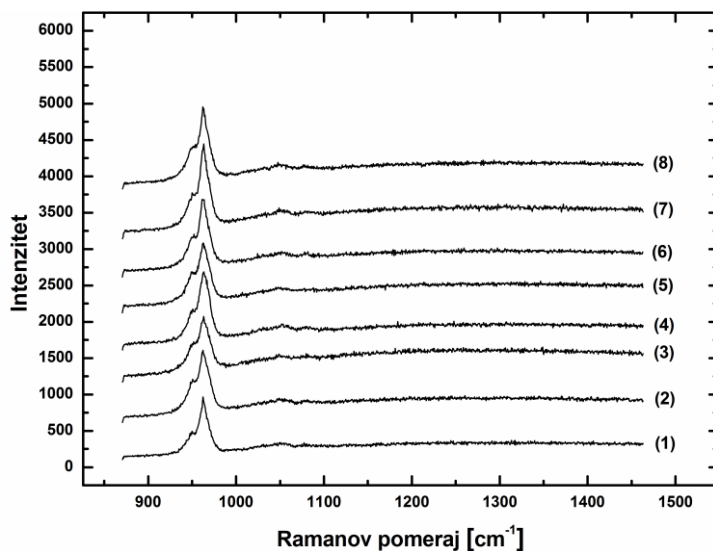
### 3D-raspodele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-kp





## HAP-kp; $SOD=80$ mm; $T_S=200$ °C

### Originalni površinski Raman spektri



Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $cm^{-1}$

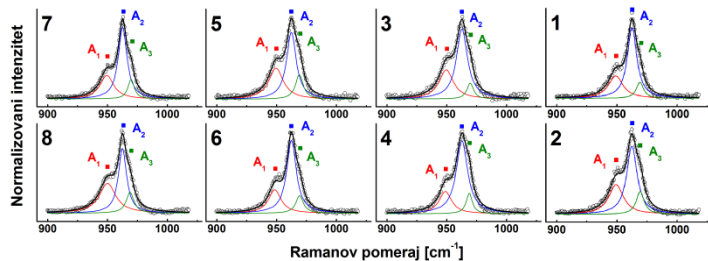
$A_2$ : 961-963  $cm^{-1}$

$A_3$ : 966-969  $cm^{-1}$

1-9: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $cm^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

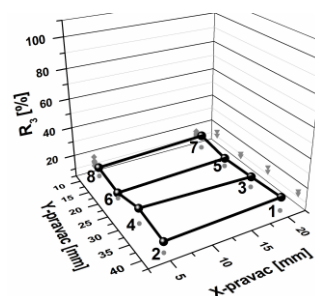
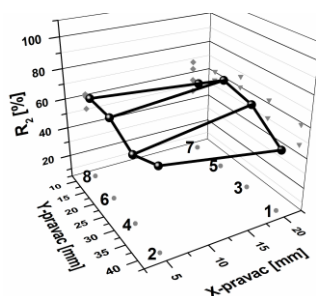
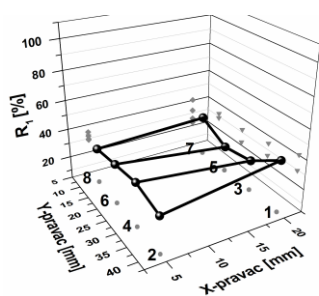
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih Raman spektara

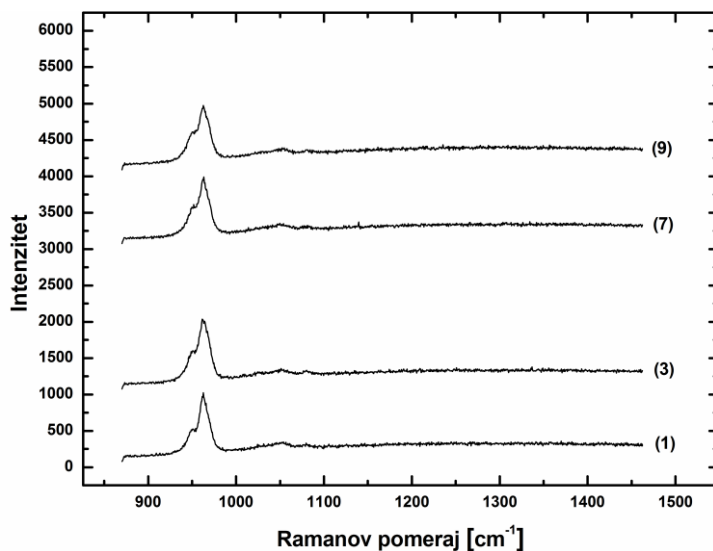
Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	28.8	60.4	10.8
2	32.1	54.1	13.8
3	31.8	59.8	8.4
4	22.4	67.2	10.4
5	34.6	50.3	15.1
6	25.8	62.3	11.9
7	29.5	58.6	11.9
8	40.2	45.8	14.0

### 3D-raspodele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-kp



## HAP-kp; $SOD=80$ mm; $T_S=200$ °C

### Originalni površinski Raman spektri



Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $\text{cm}^{-1}$

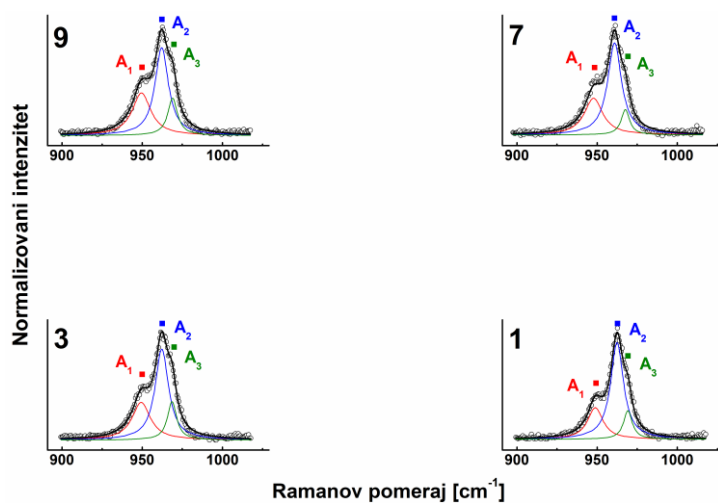
$A_2$ : 961-963  $\text{cm}^{-1}$

$A_3$ : 966-969  $\text{cm}^{-1}$

**1-9**: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

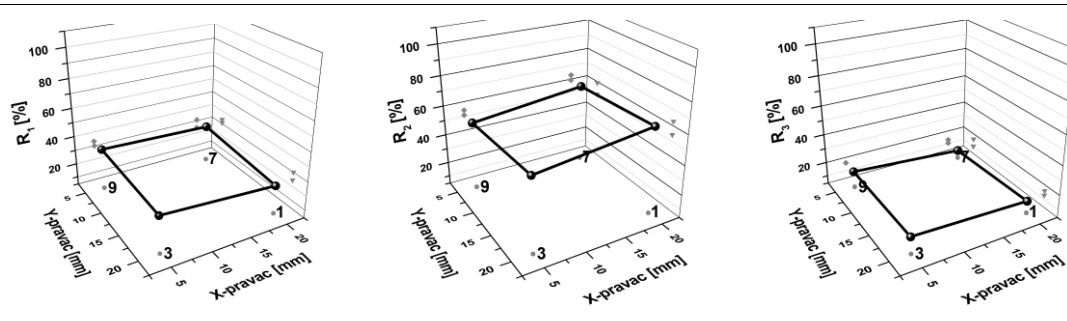
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih Raman spektara

Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	24.3	62.9	12.8
3	29.9	54.2	15.9
7	30.6	59.2	10.2
9	33.3	50.8	15.9

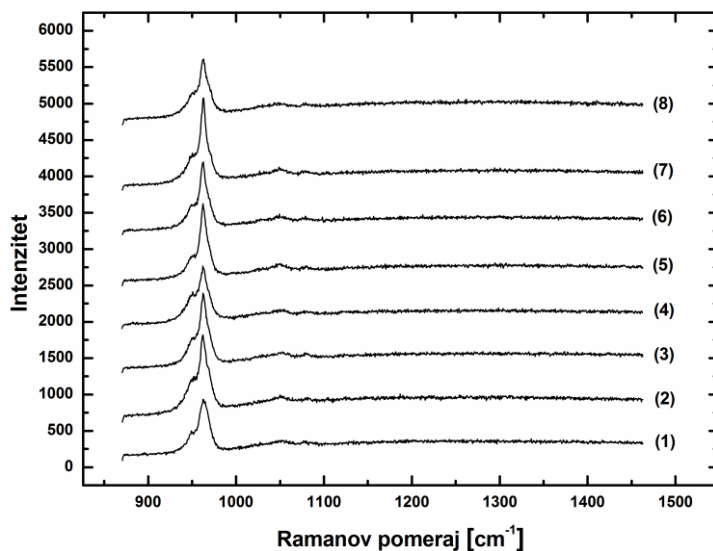
### 3D-raspodele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-kp





## HAP-kp; SOD=100 mm; $T_S=200\text{ }^\circ\text{C}$

### Originalni površinski Raman spektri



Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $\text{cm}^{-1}$

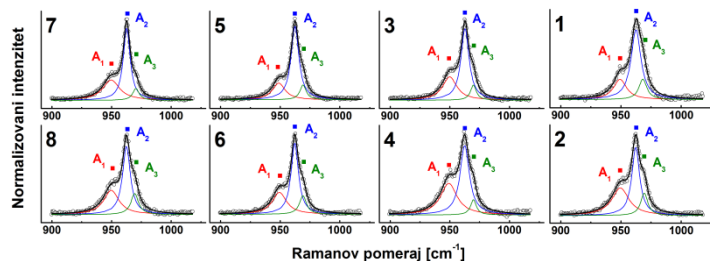
$A_2$ : 961-963  $\text{cm}^{-1}$

$A_3$ : 966-969  $\text{cm}^{-1}$

**1-9**: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

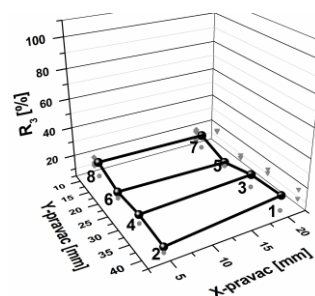
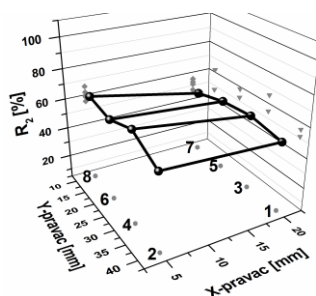
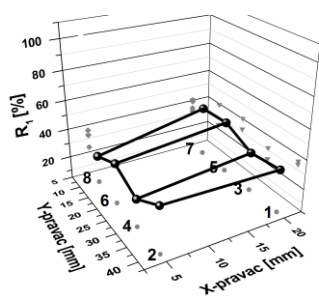
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih Raman spektara

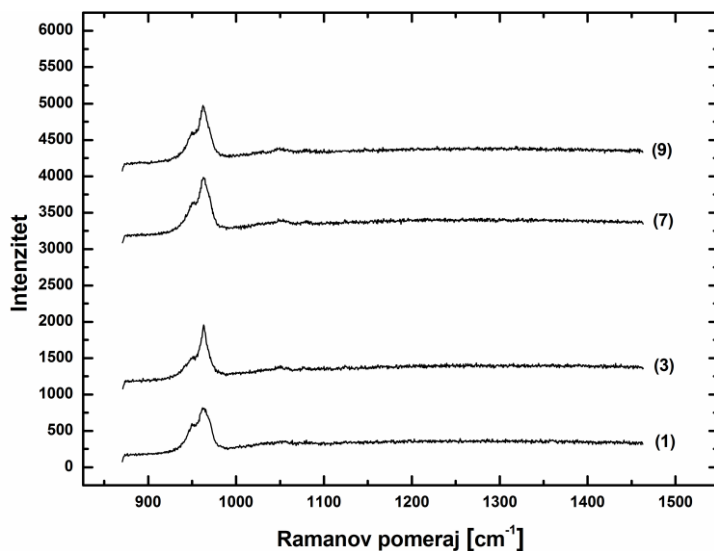
Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	23.5	61.7	14.8
2	39.1	46.9	14.0
3	32.3	58.6	9.1
4	40.2	52.6	7.2
5	23.5	65.7	10.8
6	31.4	54.9	13.6
7	35.9	55.6	8.5
8	33.8	51.0	15.2
9			

### 3D-raspodele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-kp



## HAP-kp; SOD=150 mm; $T_S=200\text{ }^\circ\text{C}$

### Originalni površinski Raman spektri



Frekventni položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova

$A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ :

$A_1$ : 949-951  $\text{cm}^{-1}$

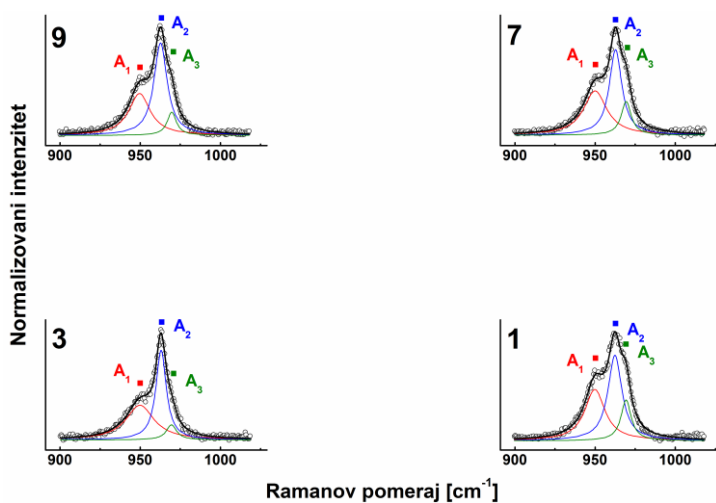
$A_2$ : 961-963  $\text{cm}^{-1}$

$A_3$ : 966-969  $\text{cm}^{-1}$

1-9: lokacije površinskih MRS merenja

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$ : Relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara unutar opsega frekvencija između 900 i 1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

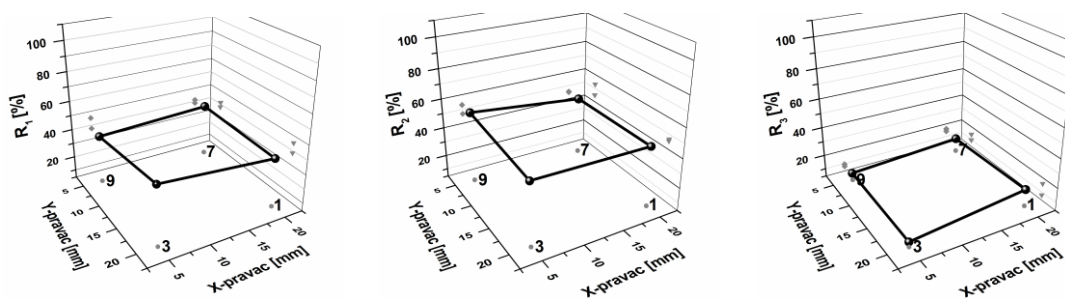
### Normalizovani i fitovani površinski Raman spektri



### Rezultati fitovanja površinskih Raman spektara

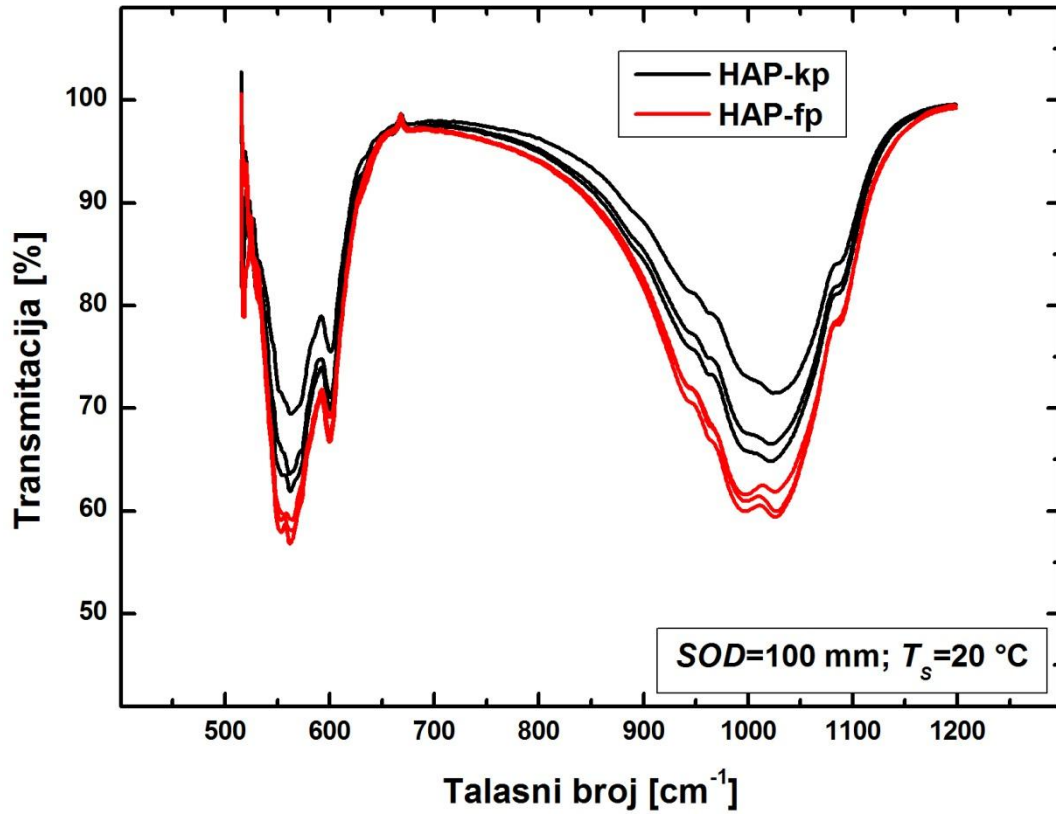
Lokacije merenja	$R_1$ [%]	$R_2$ [%]	$R_3$ [%]
1	38.4	45.5	16.1
3	45.3	46.8	7.9
7	41.0	44.9	14.1
9	37.6	53.0	9.5

### 3D-raspodele relativnih intenziteta $R_1$ (levo), $R_2$ (sredina) i $R_3$ (desno) na površini HAP-kp



## PRILOG C3

– ATR-FTIR površinskih delova HA prevlaka–

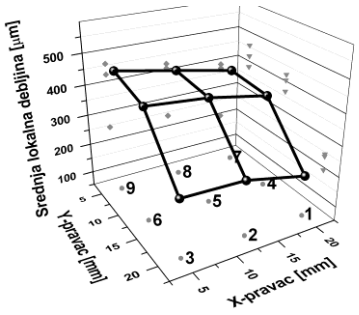
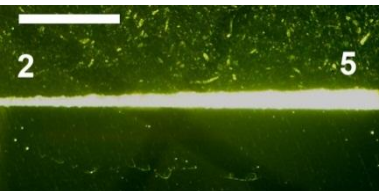


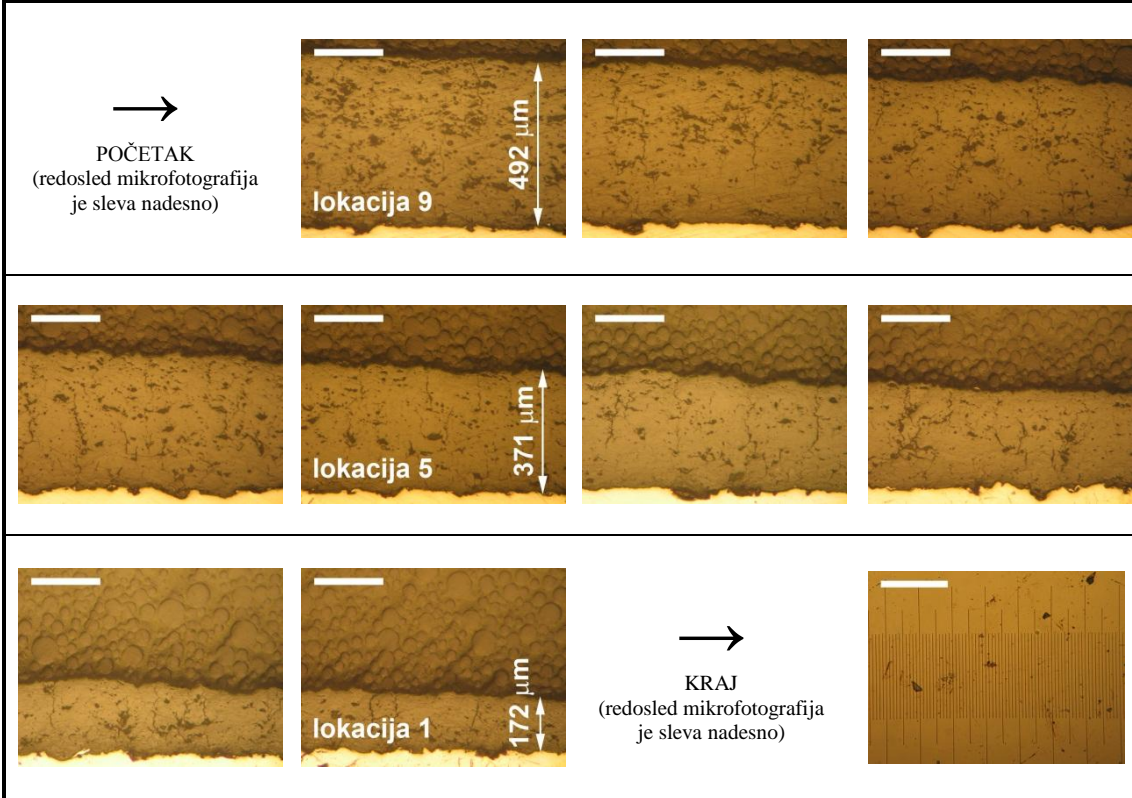
Sl.C3-1. Površinski ATR-FTIR spektri koji su uzeti sa udaljenih površinskih delova HAP-fp i HAP-kp nanesenih pri istim uslovima.

# **PRILOG *D***

**– Debljina HA prevlaka –**

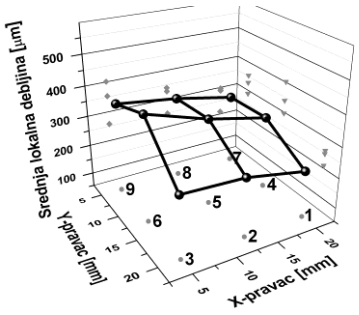
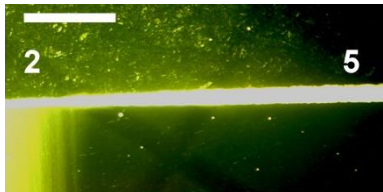
## HAP-fp; $SOD=80$ mm; $T_s=20$ °C

	Merenja lokalne debljine HA prevlake kalibrisanim mikrometrom na lokacijama merenja 1–9								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
 <p style="font-size: small;">Makrofotografija poprečnog preseka HA prevlake u 2-5 pravcu (stereo mikroskop). Dužina merne skale (gornji levi ugao) je 2 mm.</p>	180	230	200	360	390	430	400	420	460
	160	210	250	360	420	440	370	430	460
	200	220	230	370	380	410	340	440	450
	170	230	250	370	420	410	360	430	470
	200	250	260	360	400	400	400	400	450
	190	230	240	370	390	430	390	430	450
	210	240	250	380	400	450	380	420	450
	210	270	230	350	420	410	380	420	460
	200	250	270	360	420	420	390	390	470
	180	250	250	360	390	430	400	410	420
	190	220	240	390	400	400	370	410	460
<b>Srednja debljina</b> ± standardno odstupanje [µm]	<b>190</b> ± 16	<b>236</b> ± 17	<b>243</b> ± 18	<b>366</b> ± 11	<b>403</b> ± 15	<b>421</b> ± 16	<b>380</b> ± 19	<b>418</b> ± 15	<b>455</b> ± 14



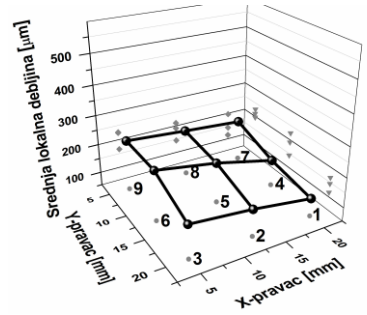
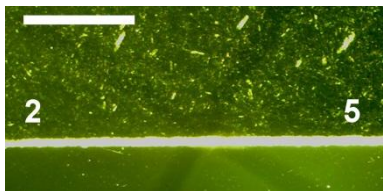
Mikrografije poprečnog preseka HAP-fp uzorka nanosenog pri  $SOD=80$  mm i  $T_s=20$  °C u pravcu 9-5-1 (polirano stanje, invertni svetlosni mikroskop Reichert-Jung MEF3, svetlo polje). Lokacije 9, 5 i 1 su naznačene, a srednje debljine na tim lokacijama su simbolično predstavljene strelicama. Poslednja slika je končanica kod koje je razmak između najvećih podeoka 100 µm. Dužina merne skale na svim slikama (gornji levi ugao) je 200 µm. Ovi poprečni presezi su nagriženi pomoću vodenog rastvora  $HNO_3$ , što je prikazano u **prilogu E1**.

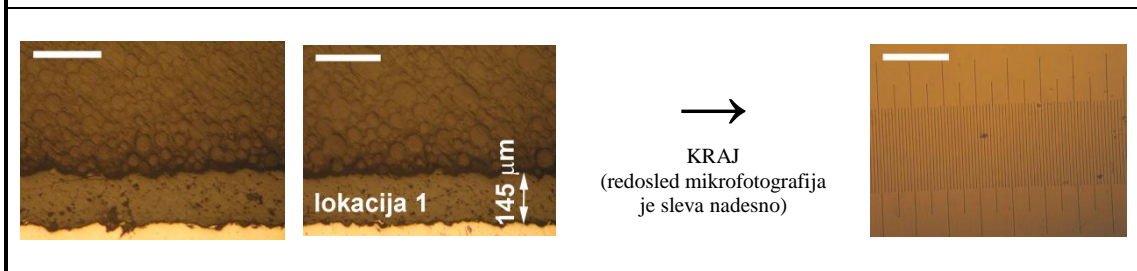
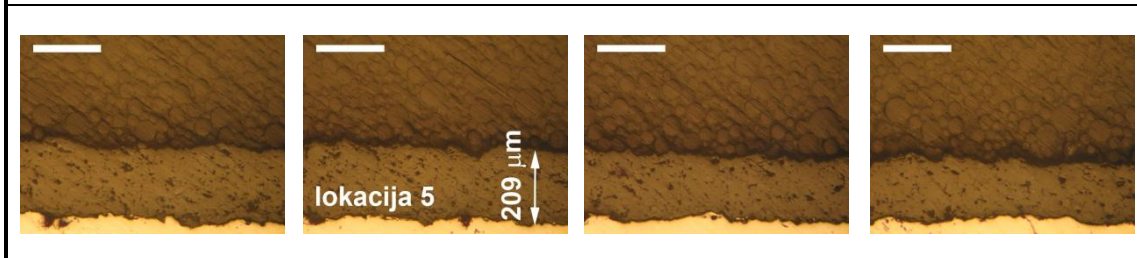
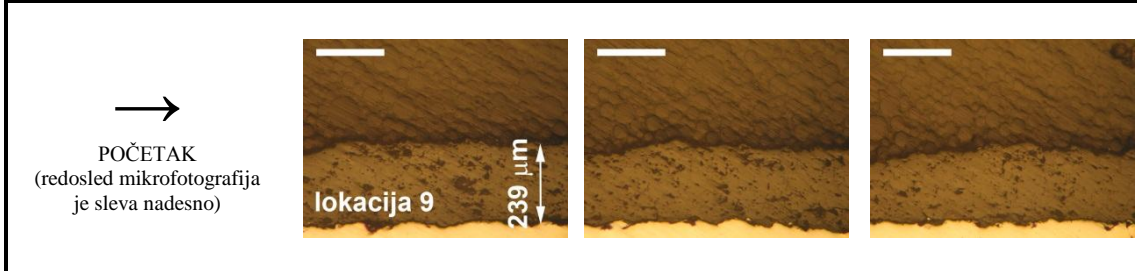
## HAP-fp; SOD=100 mm; $T_S=20\text{ }^\circ\text{C}$

Merenja lokalne debljine HA prevlake kalibrisanim mikrometrom na lokacijama merenja 1-9									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
									
 <p style="font-size: small;">Makrofotografija poprečnog preseka HA prevlake u 2-5 pravcu (stereo mikroskop). Dužina merne skale (gornji levi ugao) je 2 mm.</p>	200	250	250	300	345	405	290	345	370
	210	260	260	290	335	415	290	325	360
	215	250	265	290	340	410	285	315	340
	215	255	255	300	340	400	285	320	345
	205	245	260	300	340	405	290	335	360
	220	230	265	295	330	395	285	320	355
	205	260	255	305	335	380	280	335	350
	205	240	265	290	345	395	295	330	340
	210	235	250	295	340	390	290	320	340
	210	240	260	295	335	395	285	310	340
	200	250	250	300	345	405	290	345	370
<b>Srednja debljina</b> ± standardno odstupanje [µm]	→ 209± 6	248± 10	258± 6	296± 5	339± 5	401± 10	288± 4	327± 11	353± 12



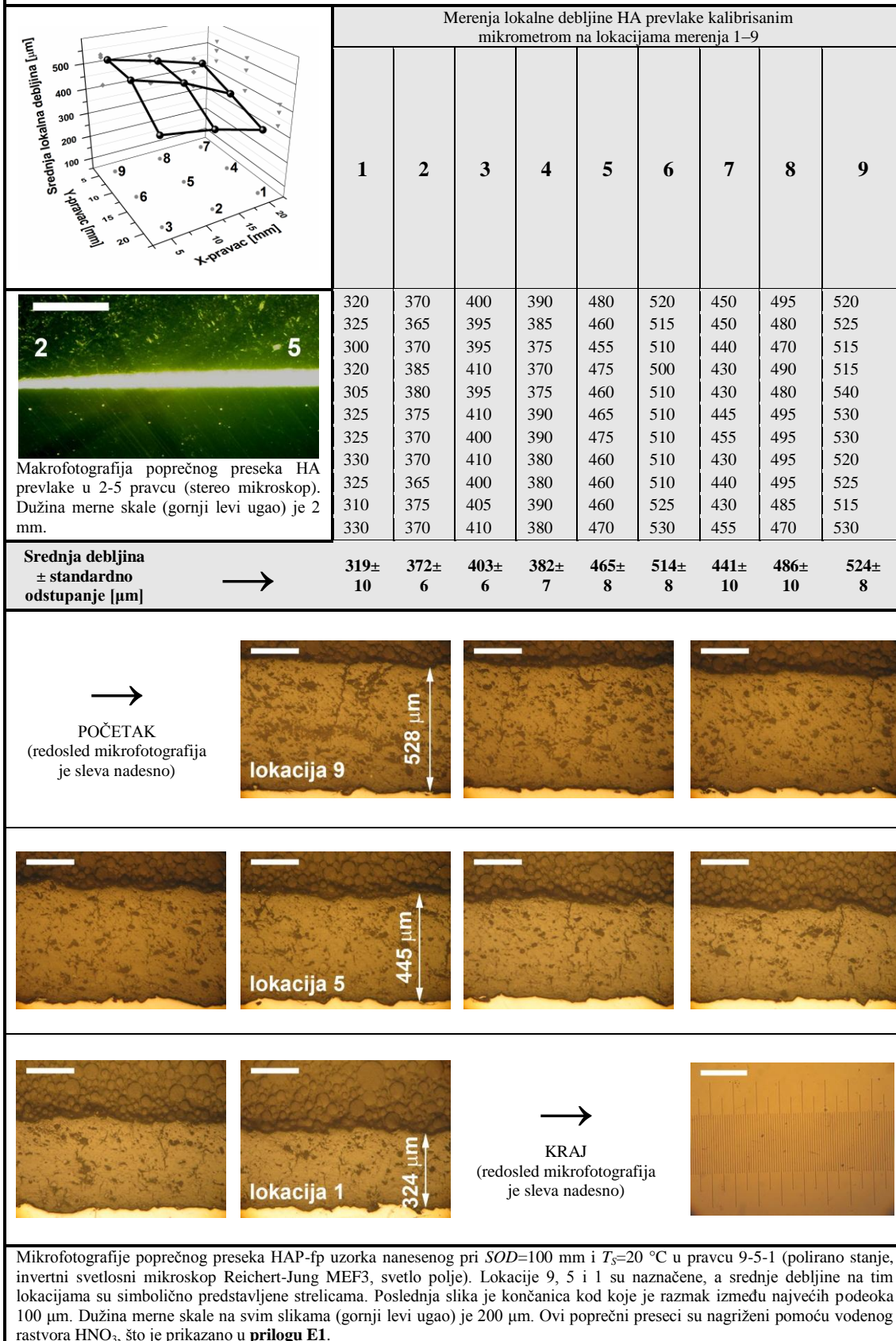
## HAP-fp; $SOD=150$ mm; $T_S=20$ °C

	Merenja lokalne debljine HA prevlake kalibrisanim mikrometrom na lokacijama merenja 1–9								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
 <p style="font-size: small;">Makrofotografija poprečnog preseka HA prevlake u 2-5 pravcu (stereo mikroskop). Dužina merne skale (gornji levi ugao) je 2 mm.</p>	100	140	170	130	190	210	230	210	220
	100	150	160	140	180	230	230	210	220
	120	150	170	140	190	230	180	210	230
	110	130	170	150	190	230	190	230	240
	110	150	160	140	200	220	190	220	240
	130	140	160	150	190	220	200	220	220
	120	150	160	140	190	230	200	200	230
	110	150	160	150	190	220	170	210	220
	110	150	170	150	190	220	190	200	220
	130	140	170	150	190	230	200	200	220
	130	150	180	150	200	230	180	200	230
<b>rednja debljina ± standardno odstupanje [µm]</b> →	115± 11	145± 7	166± 7	144± 7	191± 5	224± 7	196± 19	210± 10	226± 8



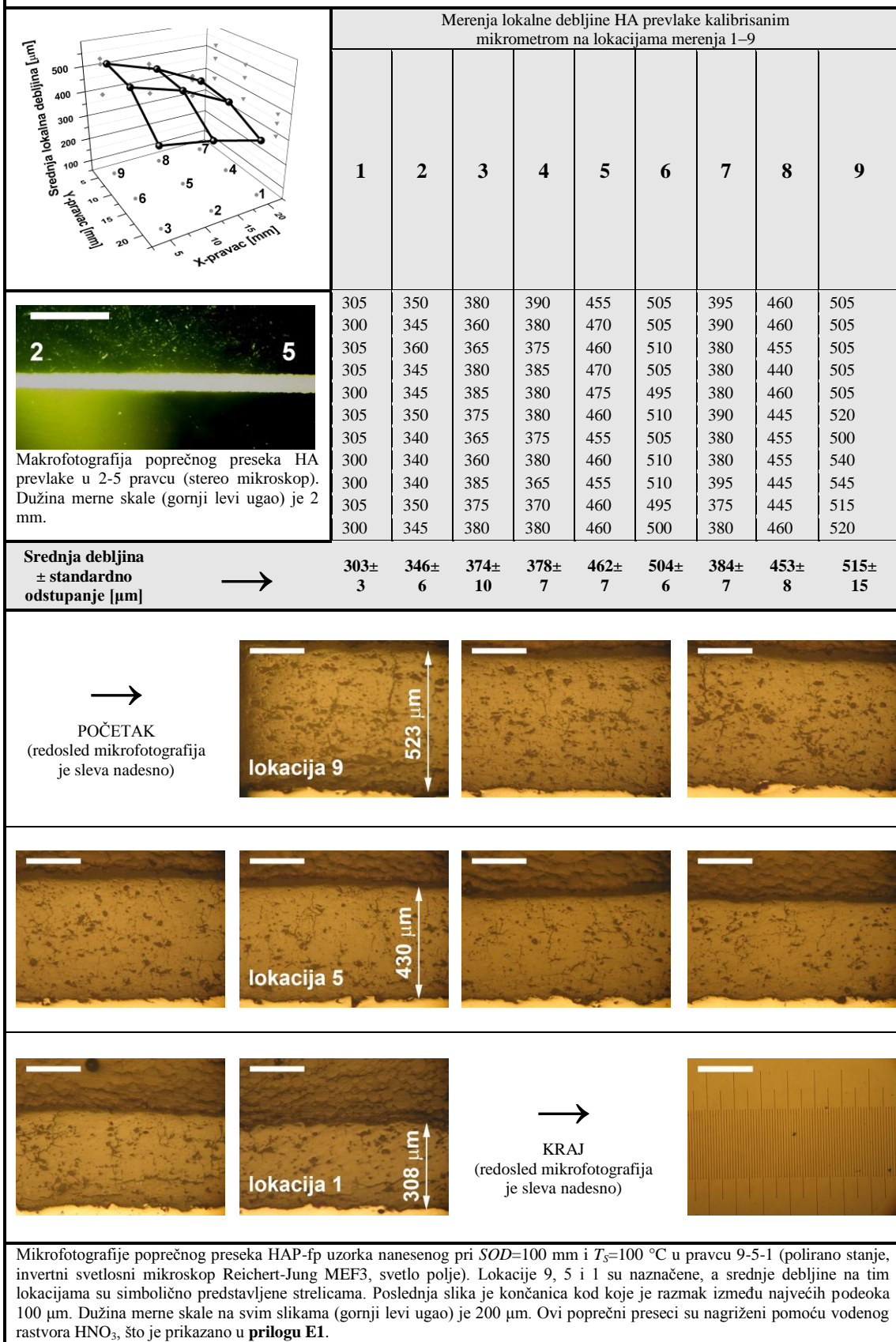
Mikrofotografije poprečnog preseka HAP-fp uzorka nanesenog pri  $SOD=150$  mm i  $T_S=20$  °C u pravcu 9-5-1 (polirano stanje, invertni svetlosni mikroskop Reichert-Jung MEF3, svetlo polje). Lokacije 9, 5 i 1 su naznačene, a srednje debljine na tim lokacijama su simbolično predstavljene strelicama. Poslednja slika je končanica kod koje je razmak između najvećih podeoka 100 µm. Dužina merne skale na svim slikama (gornji levi ugao) je 200 µm. Ovi poprečni presecci su nagriženi pomoću vodenog rastvora  $HNO_3$ , što je prikazano u **prilogu E1**.

## HAP-fp; $SOD=100$ mm; $T_S=20$ °C

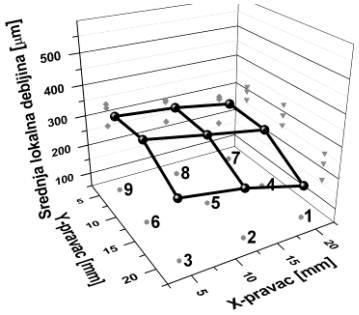



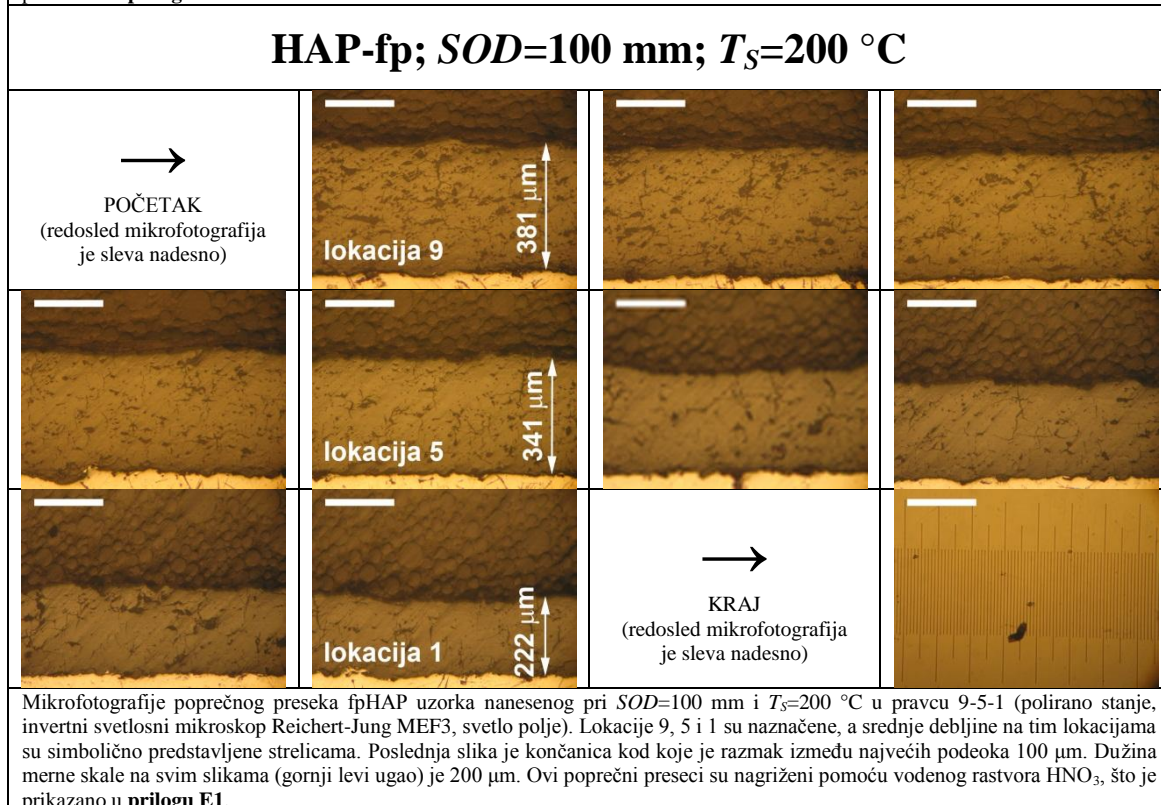
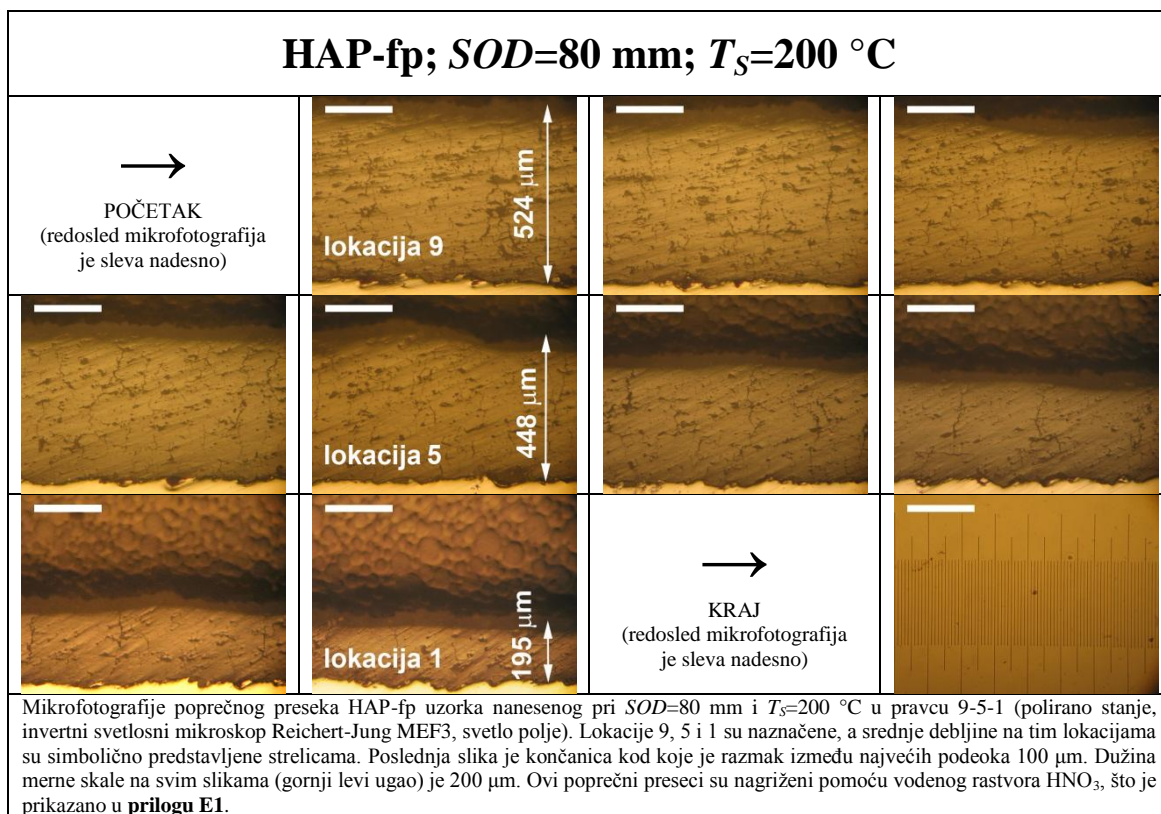


## HAP-fp; SOD=100 mm; $T_S=100\text{ }^\circ\text{C}$

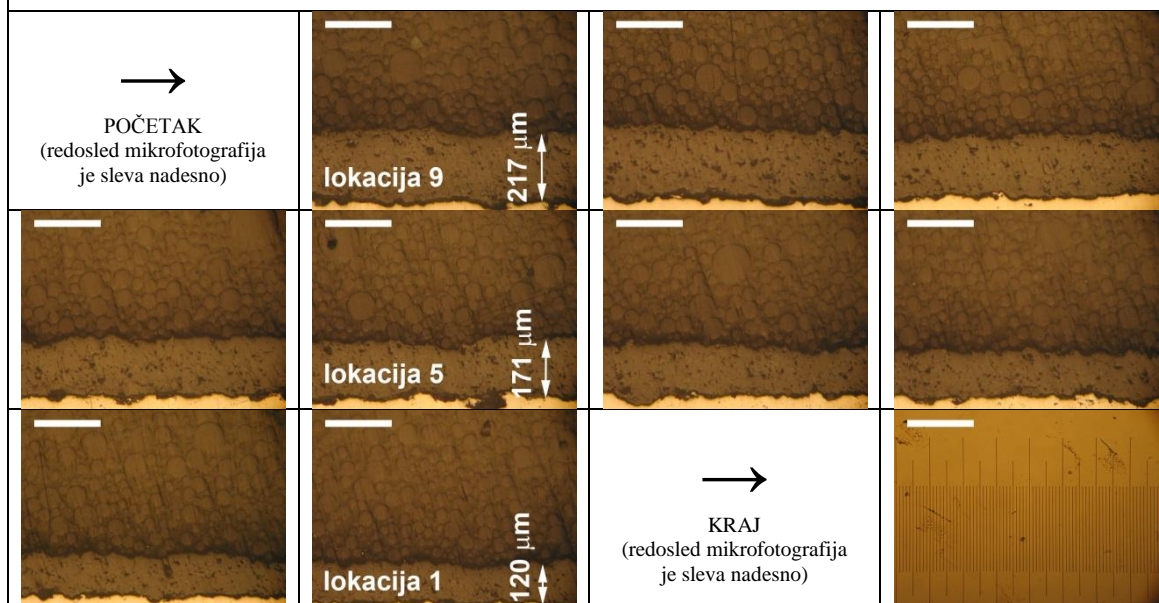


## HAP-fp; SOD=100 mm; $T_S=200\text{ }^\circ\text{C}$

Merenja lokalne debljine HA prevlake kalibrisanim mikrometrom na lokacijama merenja 1-9									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
									
 <p>Makrofotografija poprečnog preseka HA prevlake u 2-5 pravcu (stereo mikroskop). Dužina merne skale (gornji levi ugao) je 2 mm.</p>	130	230	240	250	300	325	260	290	310
	160	220	245	250	295	315	270	290	310
	170	210	250	260	300	315	250	300	305
	150	210	250	250	290	330	260	295	310
	160	210	250	250	290	330	270	305	315
	150	220	240	270	295	325	260	290	305
	170	215	255	250	280	315	270	285	305
	170	220	255	260	280	330	250	290	305
	210	220	250	250	270	315	260	285	315
	180	215	245	250	280	320	260	290	310
	130	210	260	240	280	330	270	300	320
<b>Srednja debljina</b> ± standardno odstupanje [µm]	→ 162± 23	→ 216± 6	→ 249± 6	→ 253± 8	→ 287± 10	→ 323± 7	→ 262± 7	→ 293± 6	→ 310± 5



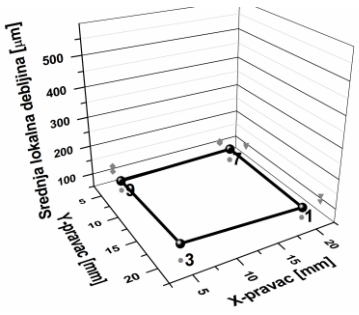
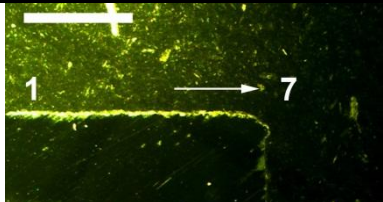
## HAP-fp; $SOD=150$ mm; $T_S=200$ °C



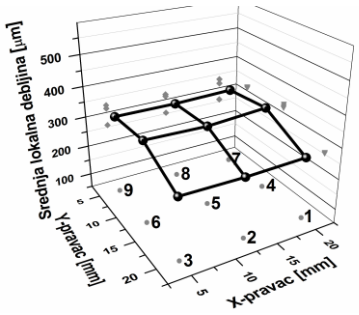
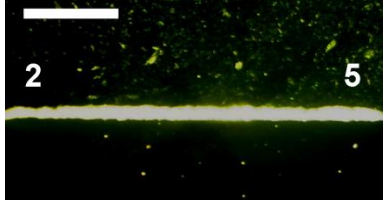
Mikrofotografije poprečnog preseka HAP-fp uzorka nanesenog pri  $SOD=150$  mm i  $T_S=200$  °C u pravcu 9-5-1 (polirano stanje, invertni svetlosni mikroskop Reichert-Jung MEF3, svetlo polje). Lokacije 9, 5 i 1 su naznačene, a srednje debljine na tim lokacijama su simbolično predstavljene strelicama. Poslednja slika je končanica kod koje je razmak između najvećih podeoka 100  $\mu\text{m}$ . Dužina merne skale na svim slikama (gornji levi ugao) je 200  $\mu\text{m}$ . Ovi poprečni preseki su nagriženi pomoću vodenog rastvora  $\text{HNO}_3$ , što je prikazano u **prilogu E1**.



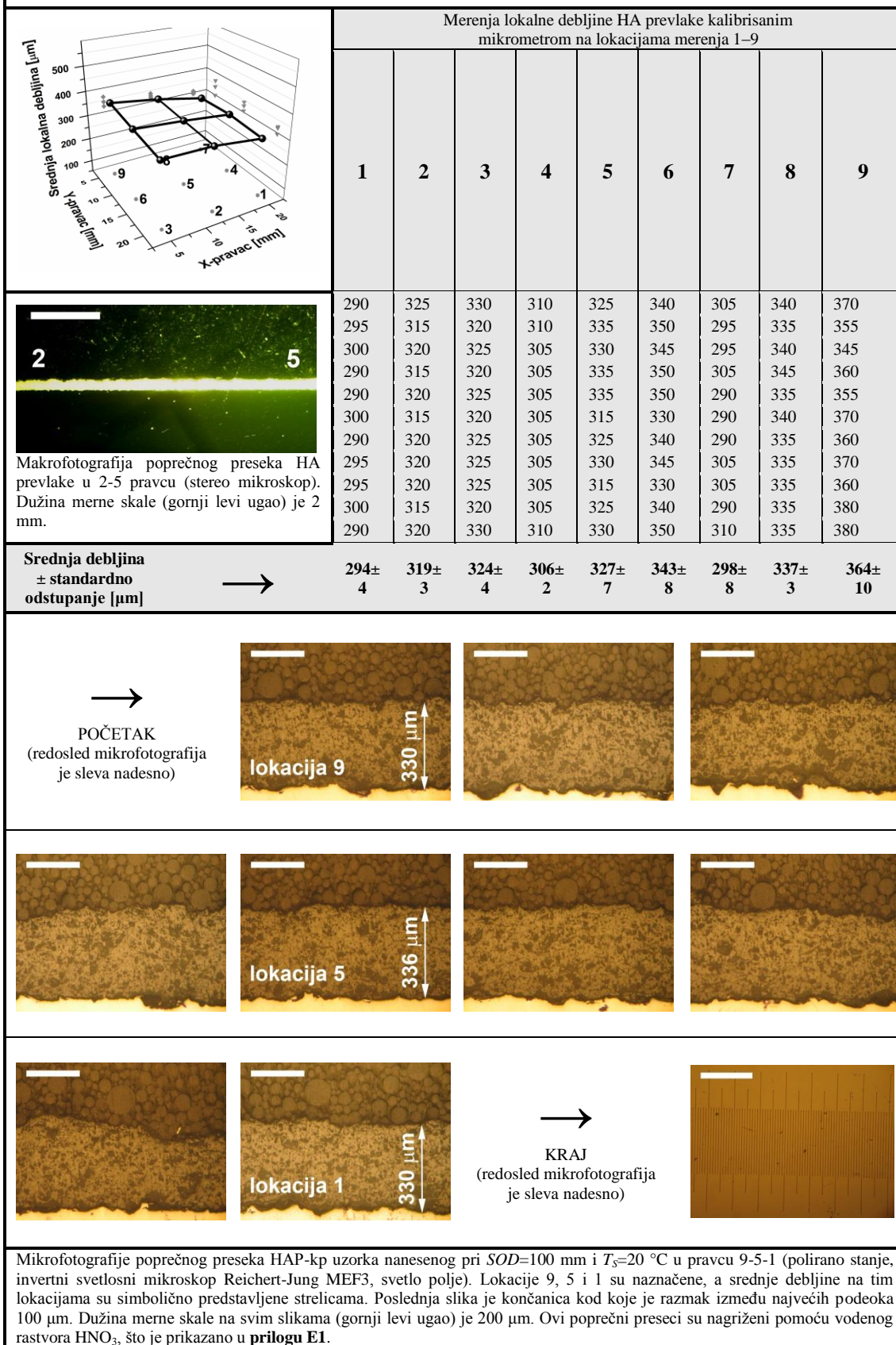
## HAP-kp; SOD=80 mm; $T_S=20\text{ }^\circ\text{C}$

	Merenja lokalne debljine HA prevlake kalibrisanim mikrometrom na lokacijama merenja 1-9								
	<b>1</b>		<b>3</b>				<b>7</b>		<b>9</b>
 <p style="font-size: small;">Makrofotografija poprečnog preseka HA prevlake u 1-7 pravcu (stereo mikroskop). Dužina merne skale (gornji levi ugao) je 2 mm. Strelica i broj 7 simbolično ukazuju da je sečenje vršeno u 1-7 pravcu.</p>	80		100				90		90
	75		95				95		85
	90		110				95		85
	100		120				90		85
	90		110				95		90
	80		100				95		90
	90		110				100		80
	100		120				90		90
	95		115				105		95
	95		115				110		95
	80		100				90		90
<b>Srednja debljina ± standardno odstupanje [µm]</b> →	<b>89± 9</b>		<b>109± 9</b>				<b>96± 7</b>		<b>89± 5</b>

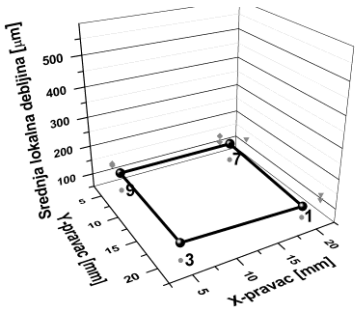
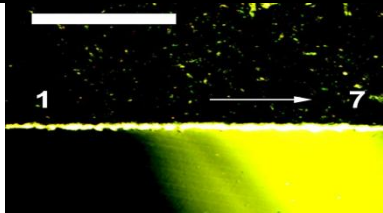
# HAP-kp; SOD=80 mm; $T_S=20\text{ }^\circ\text{C}$

Merenja lokalne debljine HA prevlake kalibrisanim mikrometrom na lokacijama 1-9									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
									
 <p>Makrofotografija poprečnog preseka HA prevlake u 2-5 pravcu (stereo mikroskop). Dužina merne skale (gornji levi ugao) je 2 mm.</p>	260	250	260	330	315	330	330	300	305
	255	260	255	325	315	330	315	310	320
	260	245	250	350	315	330	325	315	310
	255	260	250	340	310	320	320	325	315
	260	250	260	325	325	325	310	315	305
	260	250	260	330	325	325	305	305	315
	250	260	255	330	320	315	310	325	315
	260	255	260	330	310	320	310	305	310
	255	245	255	325	325	325	330	305	315
	250	260	255	325	320	325	305	310	315
	260	245	255	330	325	315	320	310	320
<b>Srednja debljina</b> ± standardno odstupanje [µm]	→ 257± 4	→ 253± 6	→ 256± 4	→ 331± 8	→ 319± 6	→ 324± 6	→ 316± 9	→ 311± 8	→ 313± 5

## HAP-kp; $SOD=100$ mm; $T_S=20$ °C

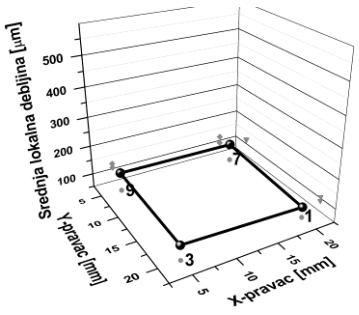
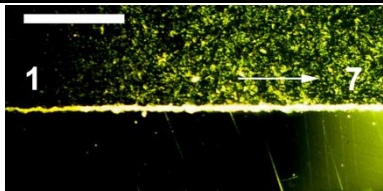


## HAP-kp; $SOD=80$ mm; $T_S=100$ °C

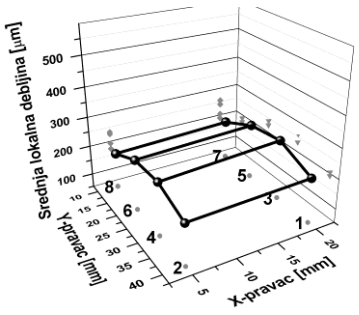
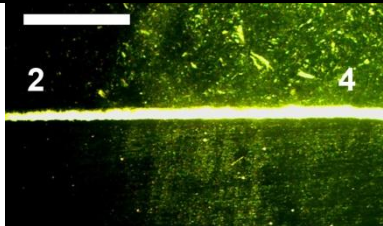
		Merenja lokalne debljine HA prevlake kalibrisanim mikrometrom na lokacijama merenja 1-9								
		1	3		7		9			
 <p>Makrofotografija poprečnog preseka HA prevlake u 1-7 pravcu (stereo mikroskop). Dužina merne skale (gornji levi ugao) je 2 mm. Strelica i broj 7 simbolično ukazuju da je sečenje vršeno u 1-7 pravcu.</p>		90		105				110		120
		80		100				130		95
		105		90				115		110
		95		120				100		120
		120		130				105		115
		80		115				110		130
		85		90				125		120
		90		110				115		110
		110		120				130		120
		80		120				120		130
90		130				125		130		
<b>Srednja debljina</b> ± standardno odstupanje [µm]		→	<b>93±</b> 13	<b>112±</b> 14			<b>117±</b> 10		<b>118±</b> 11	



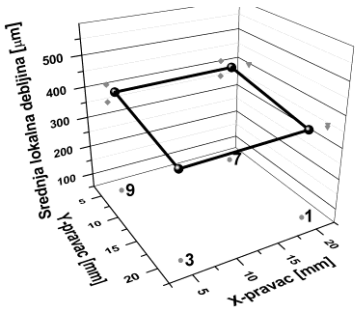
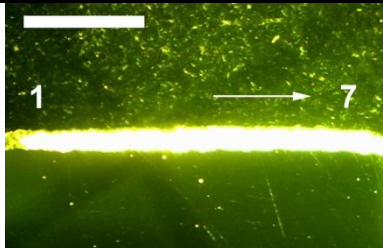
## HAP-kp; $SOD=80\text{ mm}$ ; $T_S=200\text{ }^\circ\text{C}$

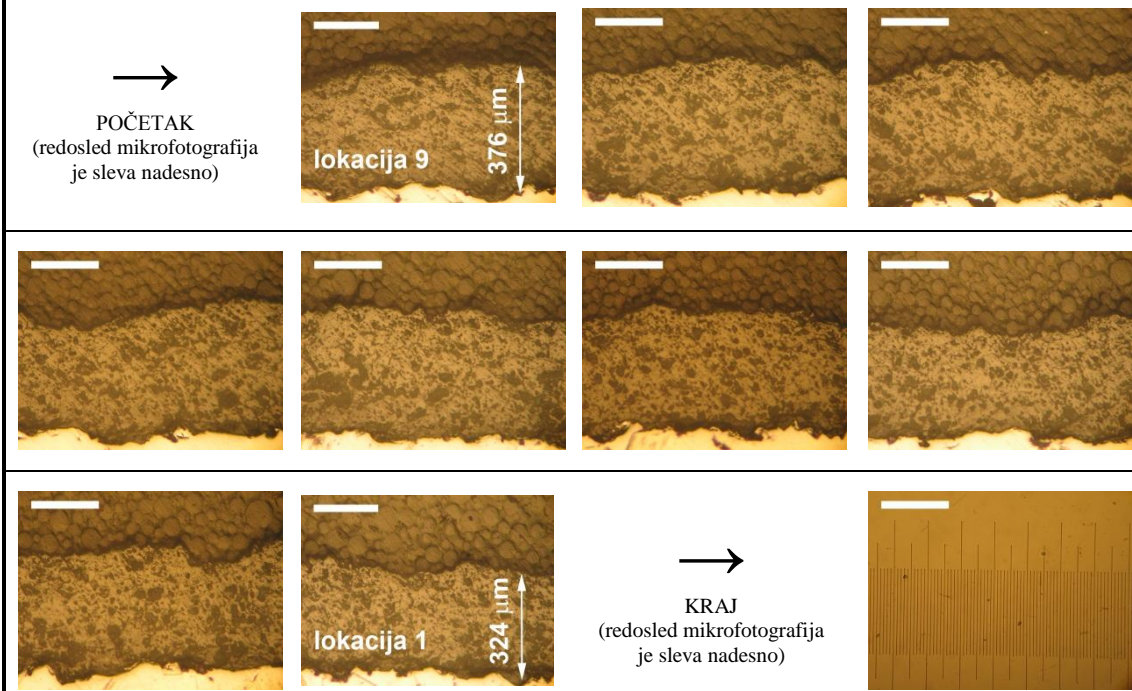
	Merenja lokalne debljine HA prevlake kalibrisanim mikrometrom na lokacijama merenja 1-9								
	<b>1</b>		<b>3</b>				<b>7</b>		<b>9</b>
 <p>Makrofotografija poprečnog preseka HA prevlake u 2-5 pravcu (stereo mikroskop). Dužina merne skale (gornji levi ugao) je 2 mm. Strelica i broj 7 simbolično ukazuju da je sečenje vršeno u 1-7 pravcu.</p>	80		90				105		120
	90		110				125		125
	85		105				110		110
	75		95				95		135
	80		85				120		110
	105		90				130		120
	95		120				115		120
	110		115				110		125
	100		120				115		110
	90		110				120		110
	90		105				115		120
<b>Srednja debljina</b> ± standardno odstupanje [µm]	→ <b>91±</b> <b>11</b>		<b>104±</b> <b>12</b>				<b>114±</b> <b>10</b>		<b>119±</b> <b>8</b>

## HAP-kp; SOD=80 mm; $T_S=200\text{ }^\circ\text{C}$

	Merenja lokalne debljine HA prevlake kalibrisanim mikrometrom na lokacijama merenja 1-8							
	1	2	3	4	5	6	7	8
 <p>Makrofotografija poprečnog preseka HA prevlake u 2-4-6-8 pravcu (stereo mikroskop). Dužina merne skale (gornji levi ugao) je 2 mm.</p>	160	190	230	245	245	250	190	220
	180	200	210	230	230	245	210	210
	170	180	220	225	240	260	180	225
	165	170	240	215	225	235	185	195
	185	210	215	250	210	230	195	215
	190	185	220	255	230	240	210	225
	160	210	230	245	225	250	190	205
	180	180	245	225	240	260	180	195
	170	185	225	230	215	265	170	180
	165	190	230	260	250	235	195	185
180	170	215	265	245	345	205	195	
<b>Srednja debljina ± standardno odstupanje [µm]</b>	<b>173±10</b>	<b>188±14</b>	<b>225±11</b>	<b>240±16</b>	<b>232±13</b>	<b>256±32</b>	<b>192±13</b>	<b>205±16</b>

## HAP-kp; $SOD=80$ mm; $T_S=200$ °C

	Merenja lokalne debljine HA prevlake kalibrisanim mikrometrom na lokacijama merenja 1–9								
	<b>1</b>		<b>3</b>				<b>7</b>		<b>9</b>
 <p style="font-size: small;">Makrofotografija poprečnog preseka HA prevlake u 1-7 pravcu (stereo mikroskop). Dužina merne skale (gornji levi ugao) je 2 mm. Strelica i broj 7 simbolično ukazuju da je sečenje vršeno u 1-7 pravcu.</p>	340		345				405		380
	330		330				420		390
	325		325				380		405
	360		310				390		410
	345		340				395		395
	360		360				410		380
	365		340				390		390
	330		330				410		390
	340		360				415		395
	350		325				380		400
	355		335				390		405
<b>Srednja debljina</b> ± standardno odstupanje [µm]	→	<b>345±</b> <b>14</b>	<b>336±</b> <b>15</b>				<b>398±</b> <b>14</b>		<b>395±</b> <b>10</b>



Mikrofotografije poprečnog preseka HAP-kp uzorka nanesenog pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=200$  °C u pravcu 9-1 (polirano stanje, invertni svetlosni mikroskop Reichert-Jung MEF3, svetlo polje). Lokacije 9 i 1 su naznačene, a srednje debljine na tim lokacijama su simbolično predstavljene strelicama. Poslednja slika je končanica kod koje je razmak između najvećih podeoka 100 µm. Dužina merne skale na svim slikama (gornji levi ugao) je 200 µm. Ovi poprečni presecci su nagriženi pomoću vodenog rastvora  $HNO_3$ , što je prikazano u **prilogu E1**.

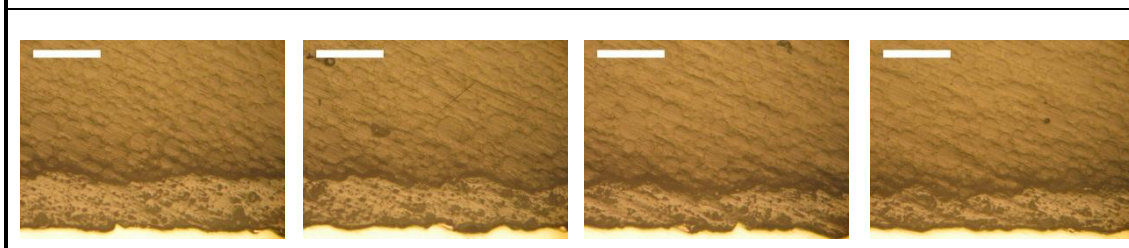
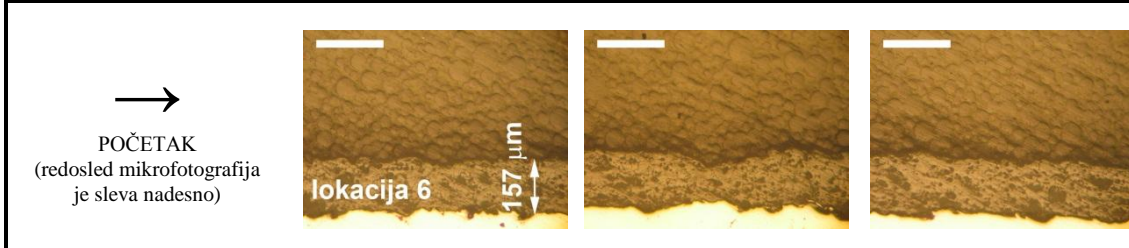
## HAP-kp; $SOD=100$ mm; $T_S=200$ °C



Merenja lokalne debljine HA prevlake kalibrisanim mikrometrom na lokacijama merenja 1–8

	1	2	3	4	5	6	7	8
	110	100	180	165	160	160	120	100
	110	95	175	165	160	160	120	100
	120	75	180	165	165	160	130	110
	110	90	180	170	165	175	120	100
	110	80	170	165	155	160	125	105
	110	75	170	160	160	155	120	100
	100	90	180	170	160	165	130	110
	105	90	170	165	165	160	130	110
	100	95	170	160	170	165	125	105
	110	90	170	160	165	165	130	110
	110	90	170	165	155	165	130	100

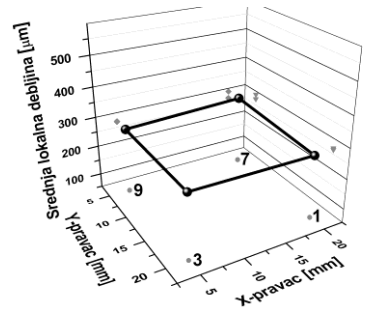
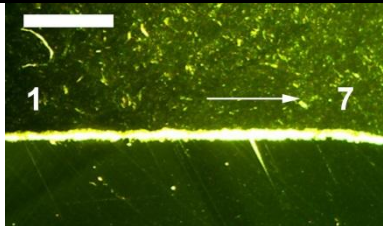
<b>Srednja debljina ± standardno odstupanje [µm]</b>	<b>109±6</b>	<b>88±8</b>	<b>174±5</b>	<b>165±4</b>	<b>162±5</b>	<b>163±5</b>	<b>125±5</b>	<b>105±5</b>
--	--------------	-------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------



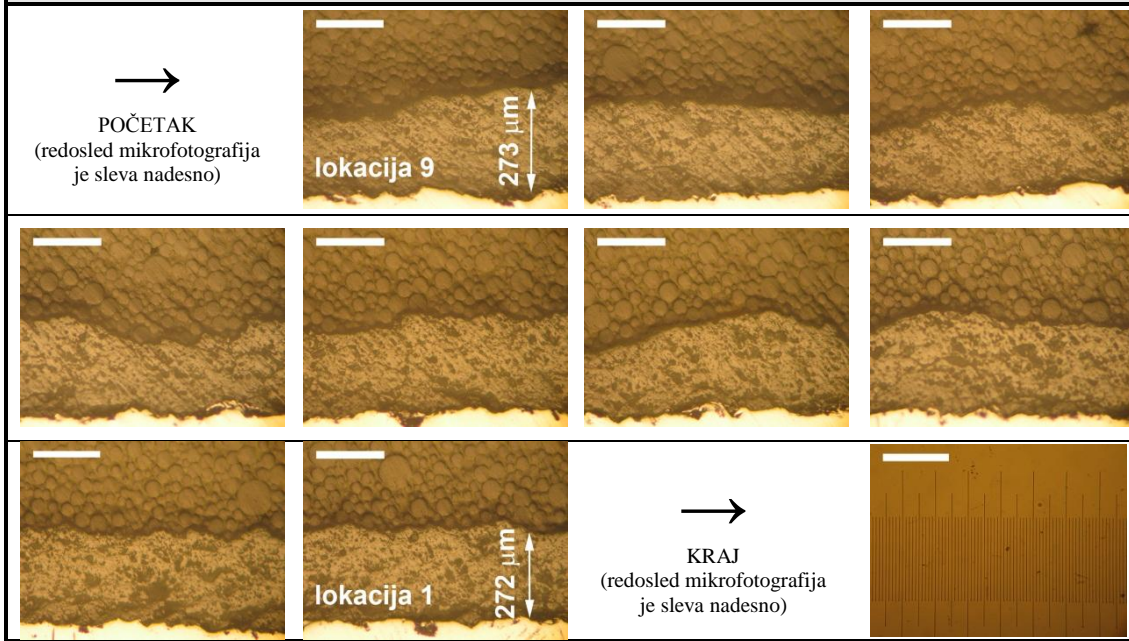
Mikrofotografije poprečnog preseka HAP-kp uzorka nanesenog pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=200$  °C u pravcu 6-1 (polirano stanje, invertni svetlosni mikroskop Reichert-Jung MEF3, svetlo polje). Lokacije 6 i 1 su naznačene, a srednje debljine na tim lokacijama su simbolično predstavljene strelicama. Poslednja slika je končanica kod koje je razmak između najvećih podeoka 100 µm. Dužina merne skale na svim slikama (gornji levi ugao) je 200 µm. Ovi poprečni preseki su nagrizeni pomoću vodenog rastvora  $HNO_3$ , što je prikazano u **prilogu E1**.



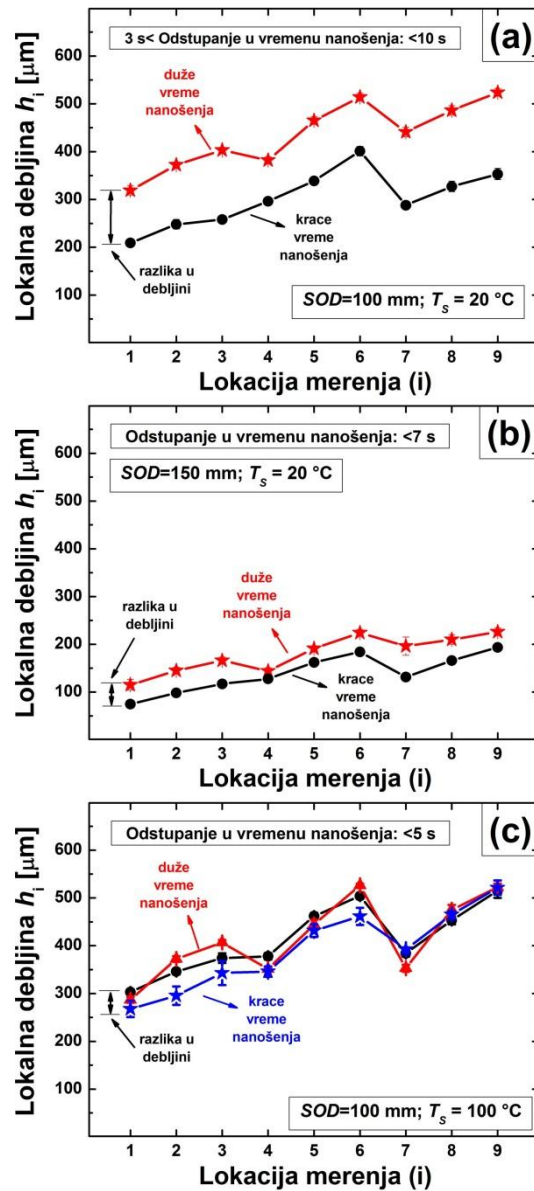
## HAP-kp; $SOD=150$ mm; $T_S=200$ °C

	Merenja lokalne debljine HA prevlake kalibrisanim mikrometrom na lokacijama merenja 1-9							
	1		3				7	9
 <p style="font-size: small;">Makrofotografija poprečnog preseka HA prevlake u 1-7 pravcu (stereo mikroskop). Dužina merne skale (gornji levi ugao) je 2 mm. Strelica i broj 7 simbolično ukazuju da je sečenje vršeno u 1-7 pravcu.</p>	260		290				280	265
	280		285				285	255
	275		275				315	250
	255		260				305	245
	245		250				275	270
	265		255				270	280
	280		260				305	290
	245		290				290	285
	265		260				280	290
	260		270				275	275
	270		270				290	280

<b>Srednja debljina ± standardno odstupanje [µm]</b>	<b>264±12</b>	<b>269±14</b>	<b>288±14</b>	<b>271±16</b>
--	---------------	---------------	---------------	---------------



Mikrofotografije poprečnog preseka HAP-kp uzorka nanesenog pri  $SOD=150$  mm i  $T_S=200$  °C u pravcu 9-1 (polirano stanje, invertni svetlosni mikroskop Reichert-Jung MEF3, svetlo polje). Lokacije 9 i 1 su naznačene, a srednje debljine na tim lokacijama su simbolično predstavljene strelicama. Poslednja slika je končanica kod koje je razmak između najvećih podeoka 100 µm. Dužina merne skale na svim slikama (gornji levi ugao) je 200 µm. Ovi poprečni preseki su nagriženi pomoću vodenog rastvora  $HNO_3$ , što je prikazano u **prilogu E1**.



**Sl.D-1.** Uticaj razlike u vremenu trajanja procesa nanošenja HAP-fp pri različitim  $SOD$  i  $T_s$  na raspodelu lokalne debljine HA prevlake.

## **PRILOG *E***

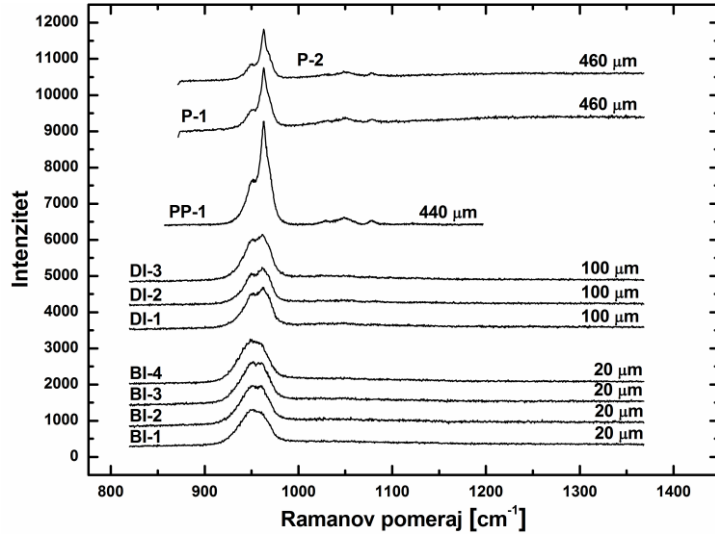
**– Analiza u pravcu debljine HA prevlaka –**

## **PRILOG *E1***

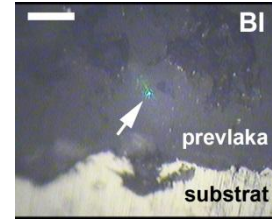
**– Analiza uzoraka sečenih dijamantskom testerom –**

## HAP-fp; SOD=80 mm; $T_S=20\text{ }^\circ\text{C}$ (lokacija 9)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

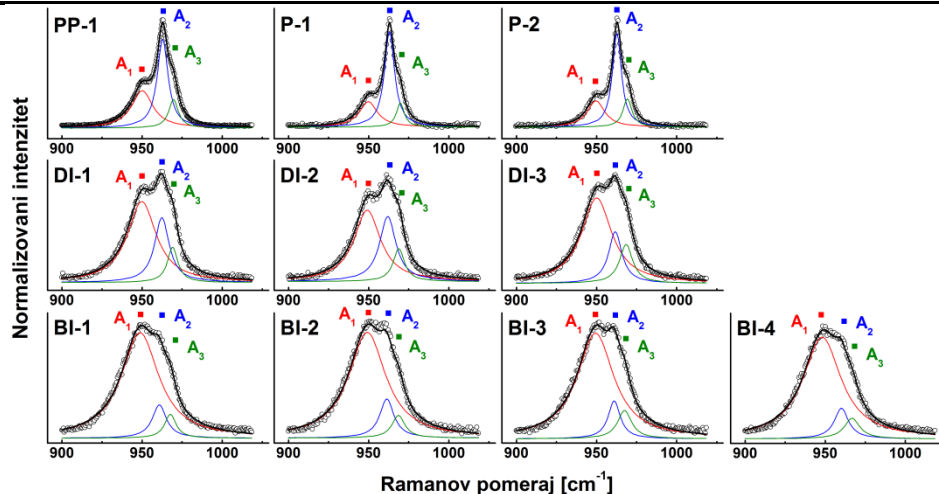


Svetlosne optičke mikrofotografije koje prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je  $20\text{ }\mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



#### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	82.5		11.1		6.4	
BI-2	80.6		12.7	11.2	6.7	7.4
BI-3	80.2	$\pm 1.2$	10.7	$\pm 1.1$	9.1	$\pm 1.2$
BI-4	82.3		10.2		7.5	
DI-1	62.5		26.9		10.6	
DI-2	55.5		32.8	26.3	11.7	12.2
DI-3	66.6	$\pm 6.5$	19.1	$\pm 6.9$	14.3	$\pm 1.9$
PP-1	37.8		48.4		13.8	
P-1	27.8		60.3	54.5	11.9	14.1
P-2	28.5	$\pm 5.6$	55.0	$\pm 6.0$	16.5	$\pm 2.3$

#### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija  $949\text{-}951$ ,  $961\text{-}963$  i  $966\text{-}969\text{ cm}^{-1}$ , respektivno.

BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

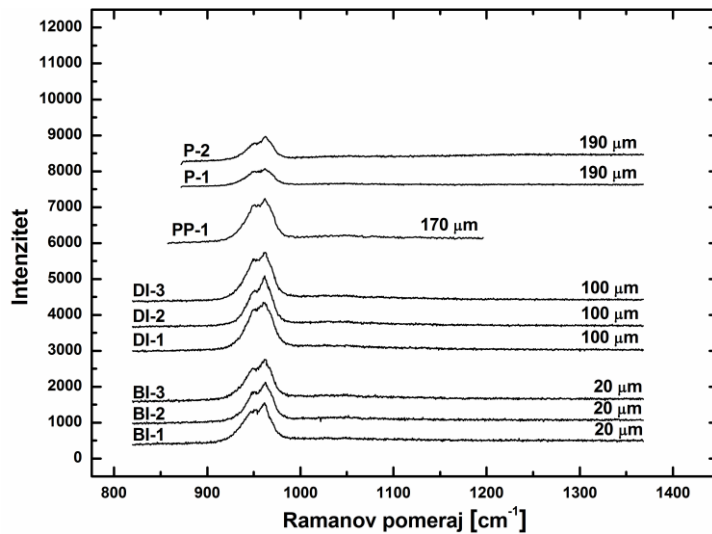
$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija  $900\text{-}1020\text{ cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje

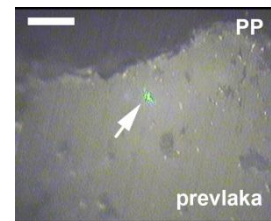
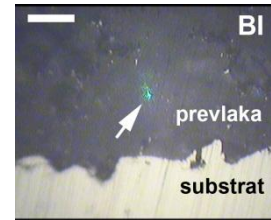


## HAP-fp; SOD=80 mm; $T_S=20\text{ }^\circ\text{C}$ (lokacija 1)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

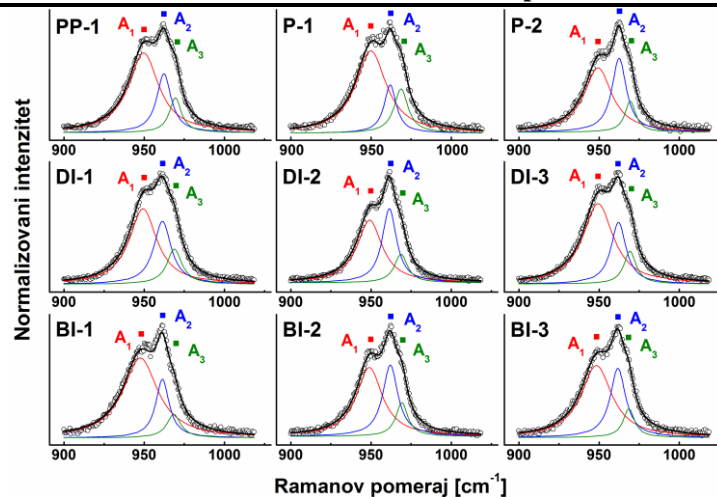


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je  $20\text{ }\mu\text{m}$ . Streljica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	69.5	60.8 $\pm 8.2$	21.6	28.8 $\pm 6.4$	8.9	10.4 $\pm 2.1$
BI-2	53.2		34.0		12.8	
BI-3	59.6		30.7		9.6	
DI-1	55.0	56.3 $\pm 6.2$	30.3	30.8 $\pm 5.2$	14.7	12.9 $\pm 1.8$
DI-2	50.8		36.2		13.0	
DI-3	63.1		25.8		11.1	
PP-1	63.8	61.4 $\pm 6.2$	24.3	25.2 $\pm 9.1$	11.9	13.4 $\pm 3.4$
P-1	66.1		16.5		17.3	
P-2	54.3		34.7		11.0	

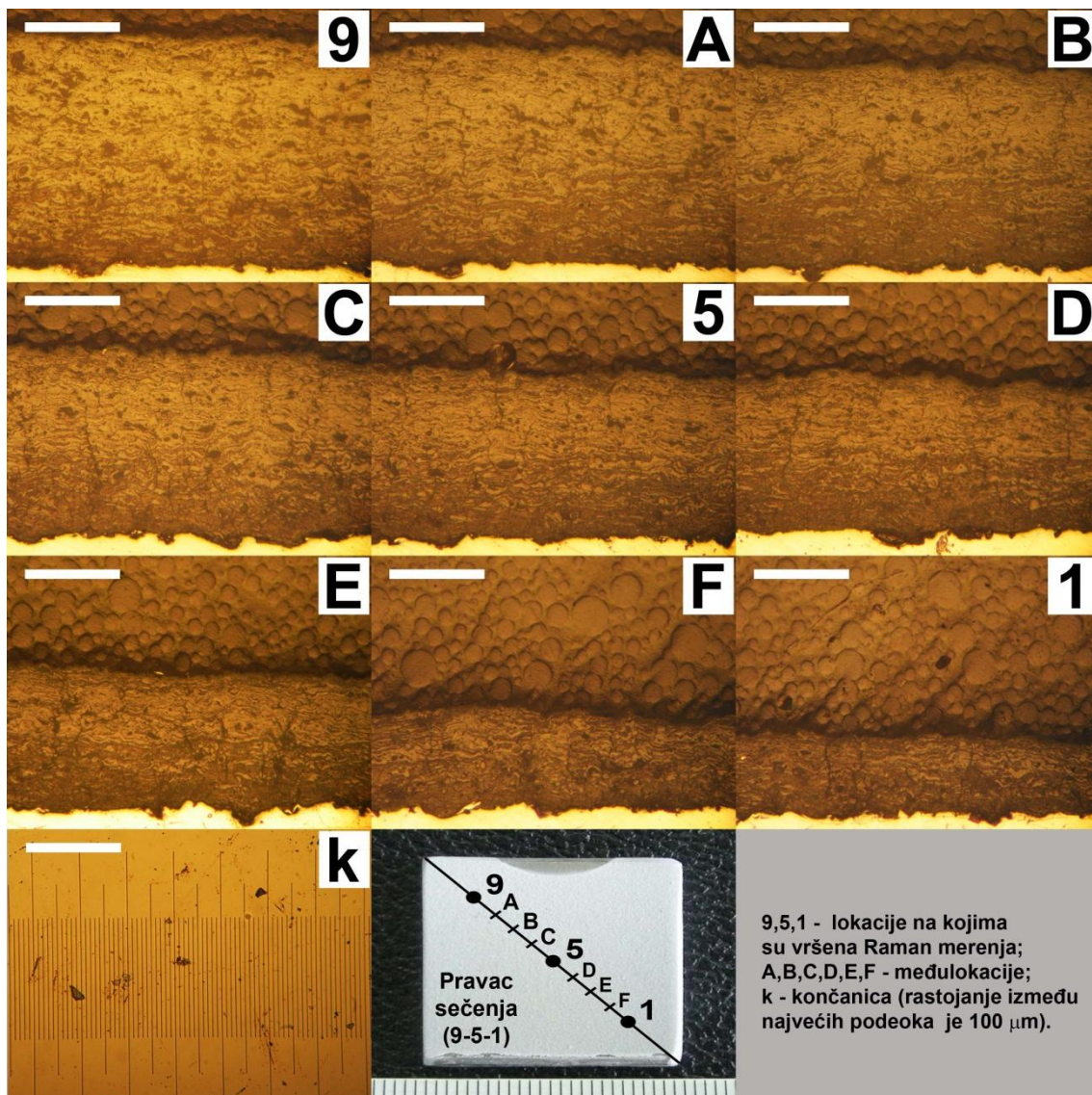
### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

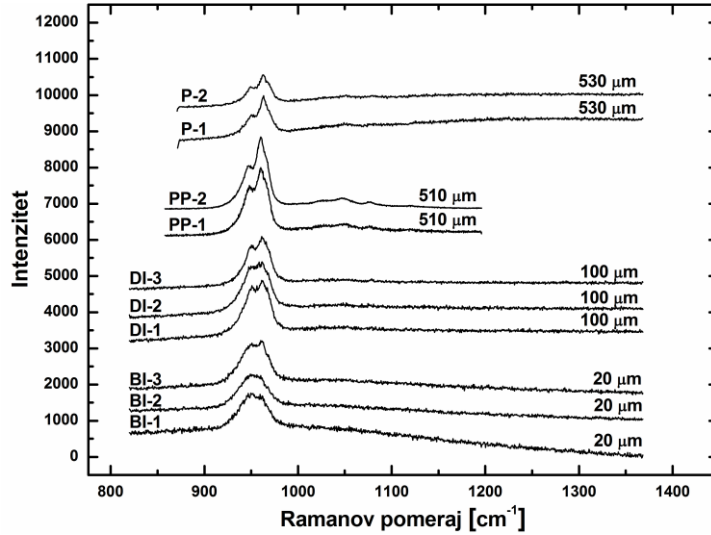
$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje



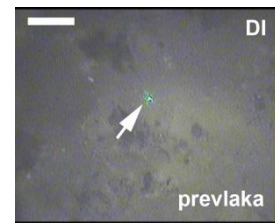
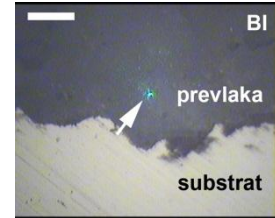
Slika prikazuje mikrostrukturu poprečnog preseka uzorka HAP-fp nanese pri  $SOD=80$  mm i  $T_s=20$  °C. Morfologija poprečnog preseka u pravcu 9-5-1 je dobijena sečenjem dijamantskom testerom, brušenjem voodopornim SiC abrazivnim papirom, poliranjem pomoću  $Al_2O_3$  pasta i hemijskim nagrivanjem u vodenom rastvoru  $HNO_3$  (0.058 mol/l) u trajanju od 4-5 sekundi. Slike mernih lokacija 9 i 1 odgovaraju Raman merenjima koja su prikazana na prethodne dve stranice priloga. Dužina merne skale na slikama 9, A, B, C, 5, D, E, F, 1 i k (gornji levi ugao) je  $200 \mu m$ . Slike su dobijene pomoću invertnog svetlosnog mikroskopa Reichert-Jung MEF3 u svetlom polju. Iste pozicije nenagrivenih poprečnih preseka ovog uzorka su prikazane u **prilogu D**.

## HAP-fp; SOD=100 mm; $T_S=20^\circ\text{C}$ (lokacija 9)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

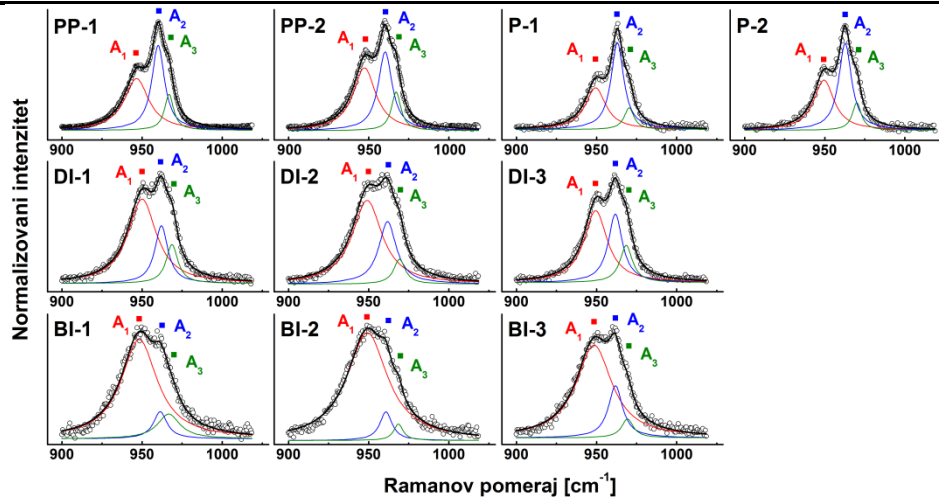


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20  $\mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



#### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	78.2	80.7 $\pm 6.7$	8.9	11.9 $\pm 5.8$	12.9	7.4 $\pm 4.9$
BI-2	88.3		8.1		3.6	
BI-3	75.7		18.6		5.6	
DI-1	65.0	60.2 $\pm 6.6$	21.8	27.7 $\pm 5.3$	13.2	12.1 $\pm 3.8$
DI-2	62.9		29.2		7.9	
DI-3	52.7		32.0		15.3	
PP-1	48.2	43.5 $\pm 4.3$	38.7	44.8 $\pm 5.8$	13.1	11.7 $\pm 1.5$
PP-2	45.7		41.6		12.7	
P-1	38.4		51.5		10.1	
P-2	41.8		47.5		10.7	

#### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

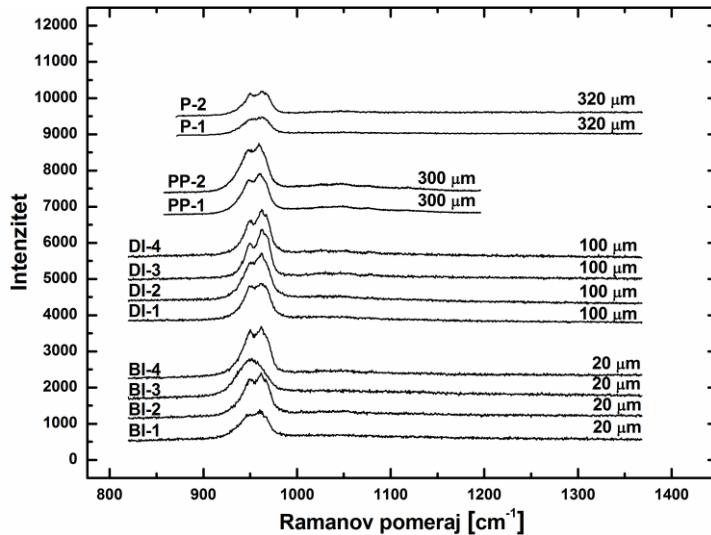
$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje

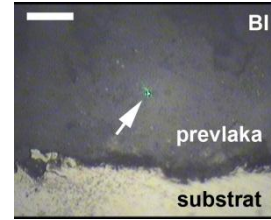


## HAP-fp; SOD=100 mm; $T_S=20^\circ\text{C}$ (lokacija 1)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

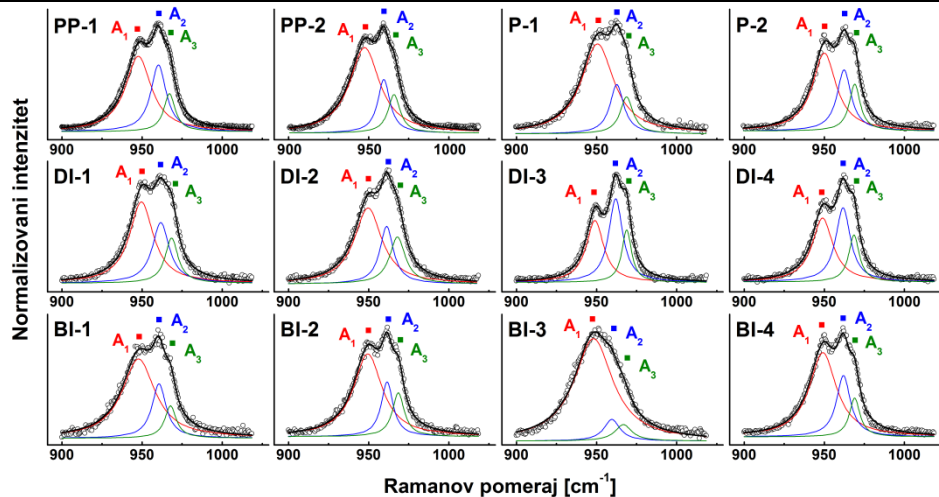


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere nemih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20  $\mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$
BI-1	67.8		21.7		10.5	
BI-2	65.4	70.3	19.3	18.6	15.3	11.1
BI-3	85.3	$\pm 10.2$	8.2	$\pm 7.3$	6.5	$\pm 3.7$
BI-4	62.8		25.0		12.2	
DI-1	53.9		29.3		16.8	
DI-2	56.5	48.4	22.6	33.1	20.9	18.5
DI-3	38.6	$\pm 8.3$	42.6	$\pm 8.9$	18.8	$\pm 1.8$
DI-4	44.6		37.9		17.5	
PP-1	55.9		30.9		13.2	
PP-2	67.9	62.4	18.8	23.8	13.3	13.8
P-1	69.9	$\pm 7.5$	17.6	$\pm 6.5$	12.4	$\pm 1.8$
P-2	56.1		27.4		16.5	

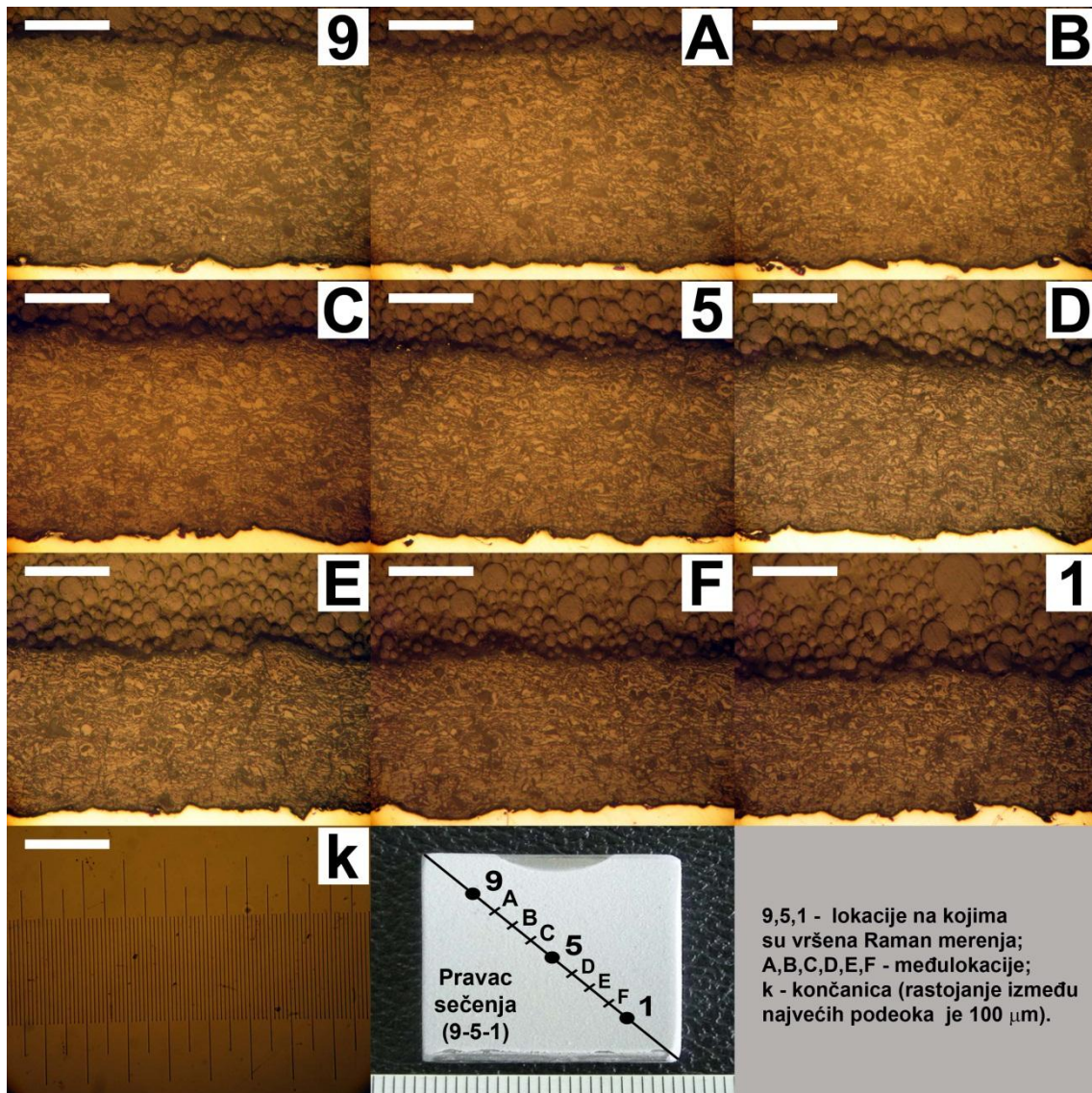
### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

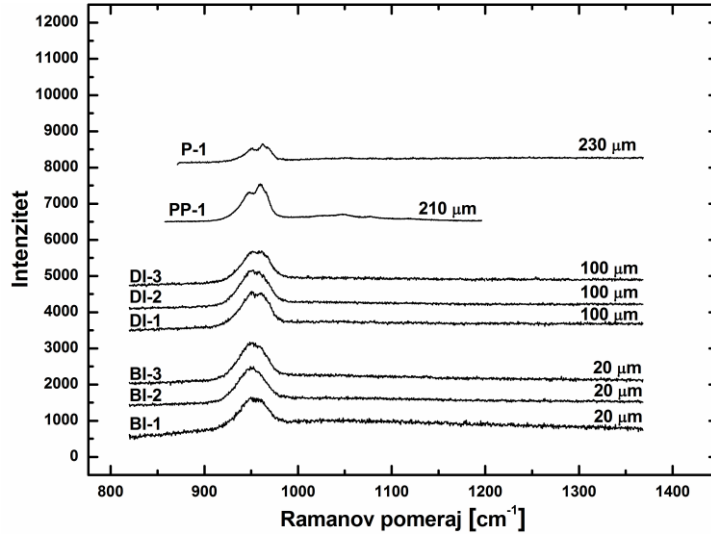
$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje



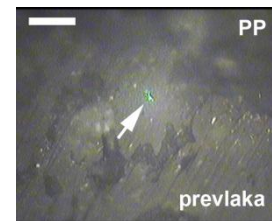
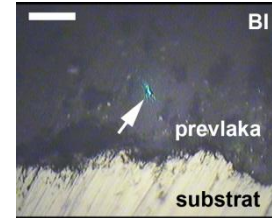
Slika prikazuje mikrostrukturu poprečnog preseka uzorka HAP-fp nanese pri  $SOD=100$  mm i  $T_s=20$  °C. Morfologija poprečnog preseka u pravcu 9-5-1 je dobijena sečenjem dijamantskom testerom, brušenjem voodopornim SiC abrazivnim papirom, poliranjem pomoću  $Al_2O_3$  pasta i hemijskim nagrivanjem u vodenom rastvoru  $HNO_3$  (0.058 mol/l) u trajanju od 4-5 sekundi. Slike mernih lokacija 9 i 1 odgovaraju Raman merenjima koja su prikazana na prethodne dve stranice priloga. Dužina merne skale na slikama 9, A, B, C, 5, D, E, F, 1 i k (gornji levi ugao) je 200  $\mu m$ . Slike su dobijene pomoću invertnog svetlosnog mikroskopa Reichert-Jung MEF3 u svetlom polju. Iste pozicije nenagrivenih poprečnih preseka ovog uzorka su prikazane u **prilogu D**.

## HAP-fp; SOD=150 mm; $T_S=20^\circ\text{C}$ (lokacija 9)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

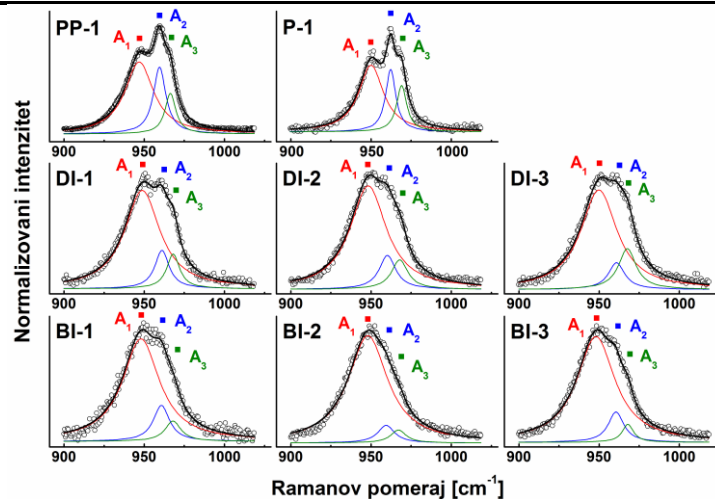


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20  $\mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	79.3	84.0 $\pm 4.6$	13.3	10.4 $\pm 3.2$	7.4	5.6 $\pm 1.5$
BI-2	88.5		6.9		4.6	
BI-3	84.2		10.9		4.9	
DI-1	76.0	75.6 $\pm 1.3$	13.2	11.9 $\pm 1.8$	10.8	12.5 $\pm 3.1$
DI-2	76.6		12.6		10.8	
DI-3	74.1		9.8		16.1	
PP-1	60.0	59.1 $\pm 1.3$	26.2	25.1 $\pm 1.6$	13.8	15.8 $\pm 2.8$
P-1	58.2		23.9		17.8	

### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

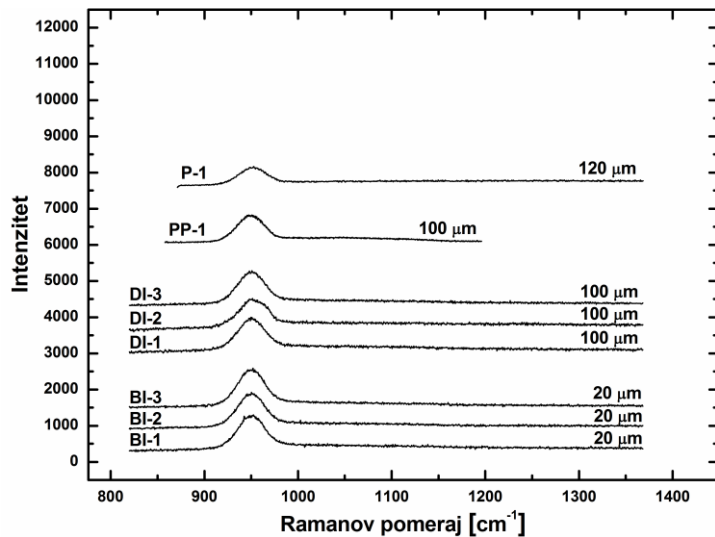
$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje

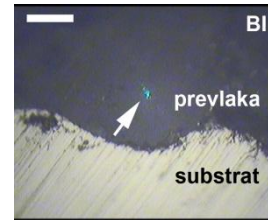


## HAP-fp; SOD=150 mm; $T_S=20^\circ\text{C}$ (lokacija 1)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

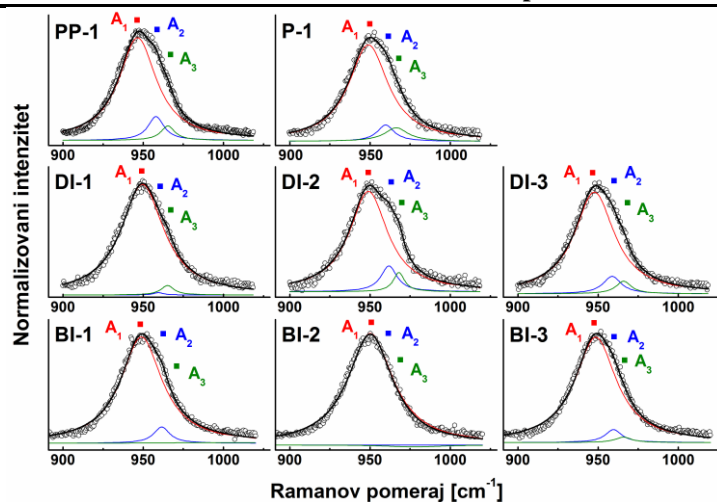


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20  $\mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	93.1	95.3 ±4.0	6.0	3.7 ±3.2	0.9	1.0 ±1.0
BI-2	100.0		0			
BI-3	92.9		5.0			
DI-1	96.5	89.6 ±6.2	0.6	6.1 ±4.9	2.9	4.3 ±1.3
DI-2	84.5		10.1			
DI-3	87.8		7.5			
PP-1	85.7	85.7 ±0.0	9.3	8.1 ±1.8	5.0	6.2 ±1.8
P-1	85.7		6.8		7.5	

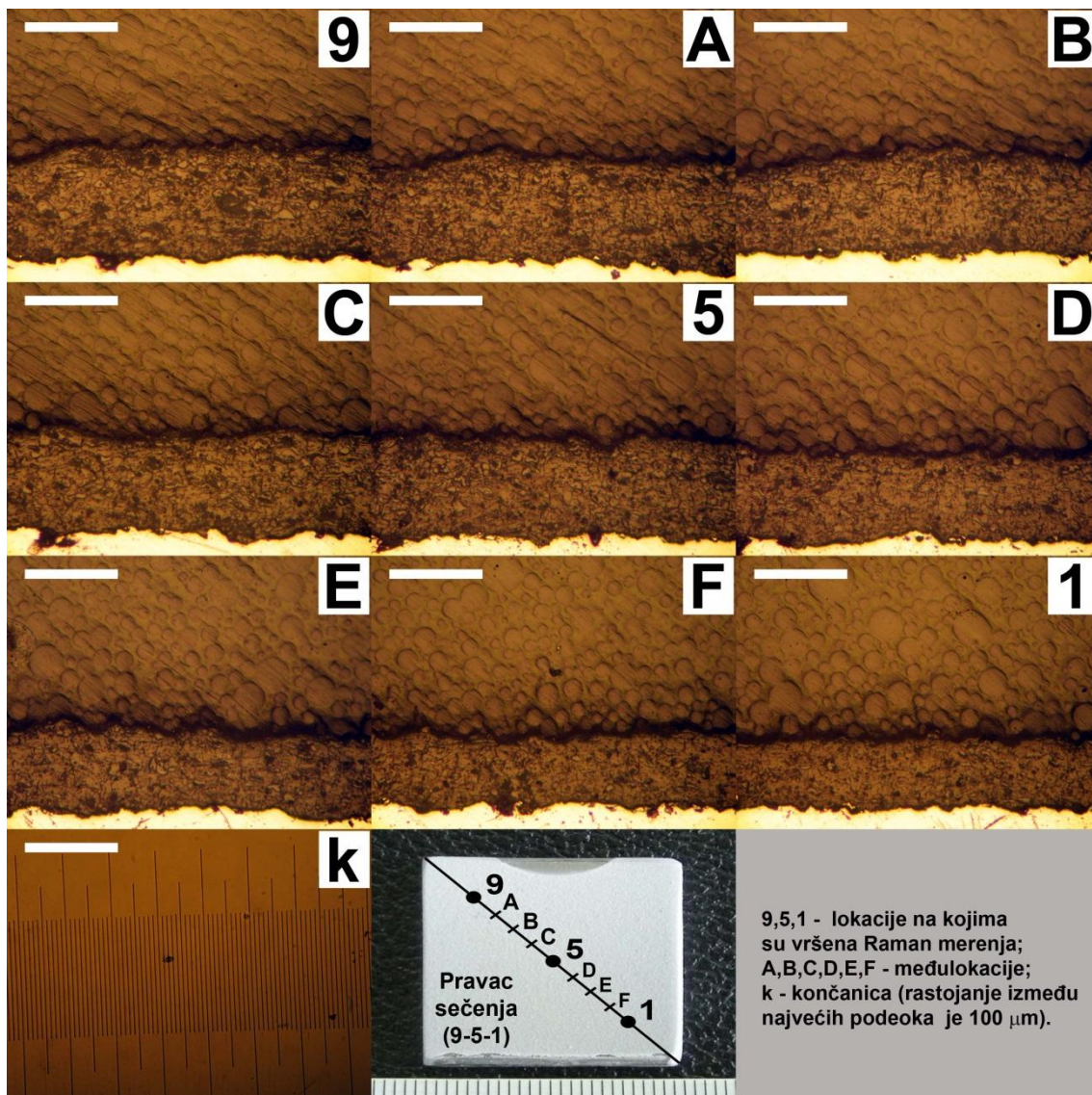
### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje

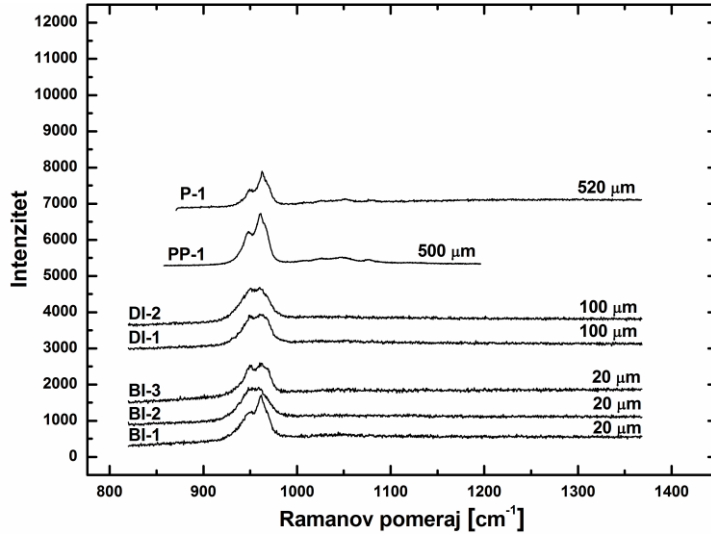


Slika prikazuje mikrostrukturu poprečnog preseka uzorka HAP-fp nanasene pri  $SOD=150$  mm i  $T_s=20$  °C. Morfologija poprečnog preseka u pravcu 9-5-1 je dobijena sečenjem dijamantskom testerom, brušenjem voodopornim SiC abrazivnim papirom, poliranjem pomoću  $Al_2O_3$  pasta i hemijskim nagrizanjem u vodenom rastvoru  $HNO_3$  (0.058 mol/l) u trajanju od 4-5 sekundi. Slike mernih lokacija 9 i 1 odgovaraju Raman merenjima koja su prikazana na prethodne dve stranice priloga. Dužina merne skale na slikama 9, A, B, C, 5, D, E, F, 1 i k (gornji levi ugao) je 200  $\mu m$ . Slike su dobijene pomoću invertnog svetlosnog mikroskopa Reichert-Jung MEF3 u svetlom polju. Iste pozicije nenagriženih poprečnih preseka ovog uzorka su prikazane u **prilogu D**.

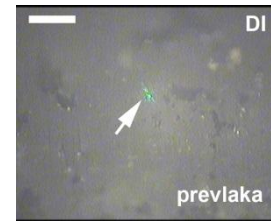
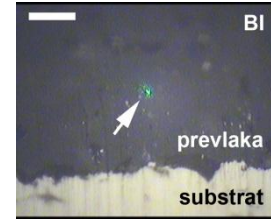


## HAP-fp; SOD=100 mm; $T_S=100$ °C (lokacija 9)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

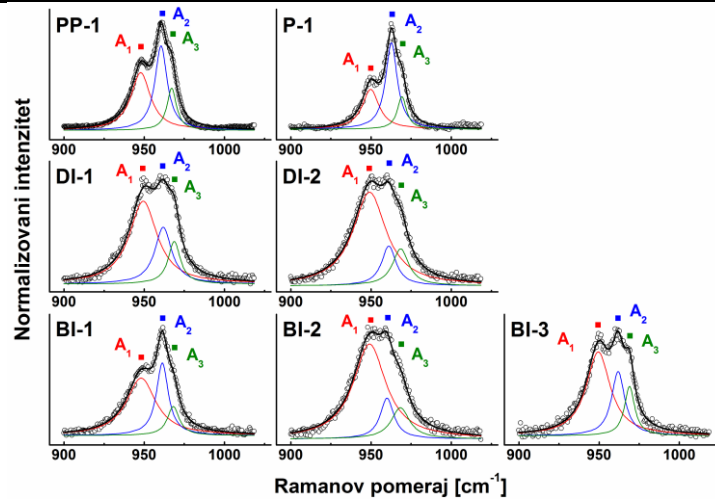


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20  $\mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	56.3	62.3 $\pm 8.4$	31.3	23.7 $\pm 8.8$	12.4	14.0 $\pm 1.6$
BI-2	71.9		14.0		14.1	
BI-3	58.6		25.9		15.5	
DI-1	59.8	65.3 $\pm 7.8$	25.9	20.1 $\pm 8.2$	14.3	14.6 $\pm 0.4$
DI-2	70.9		14.3		14.8	
PP-1	43.1	38.2 $\pm 6.8$	41.0	46.1 $\pm 7.2$	15.9	15.6 $\pm 0.4$
P-1	33.4		51.2		15.4	

### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

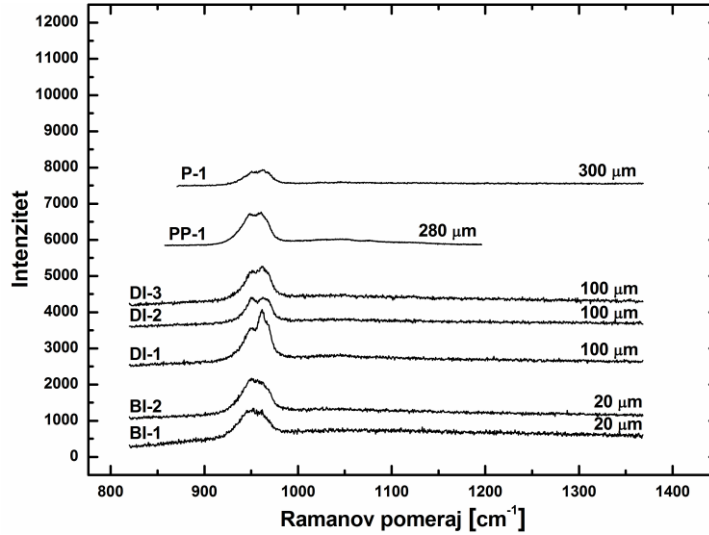
BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

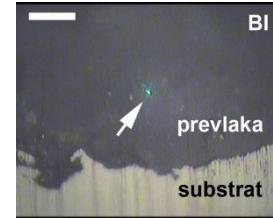
$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje

## HAP-fp; SOD=100 mm; $T_s=100$ °C (lokacija 1)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

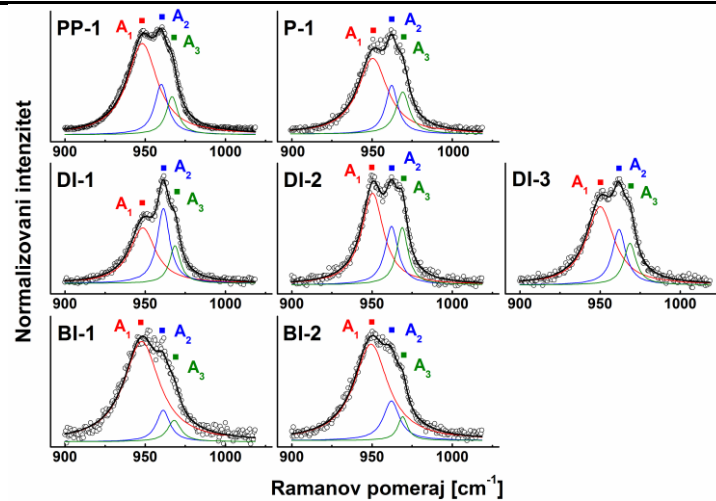


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20  $\mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle$ $\pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle$ $\pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle$ $\pm \sigma$
BI-1	82.1	79.8	10.7	13.5	7.2	6.7
BI-2	77.6	$\pm 3.2$	16.3	$\pm 4.0$	6.1	$\pm 0.8$
DI-1	49.9	56.4 $\pm 6.0$	35.0	26.9	15.1	16.7
DI-2	57.6		22.9	$\pm 7.0$	19.4	$\pm 2.4$
DI-3	61.7		22.7		15.6	
PP-1	69.5	66.8 $\pm 3.7$	18.2		12.3	
P-1	64.2		18.5	$\pm 0.2$	17.3	$\pm 3.5$

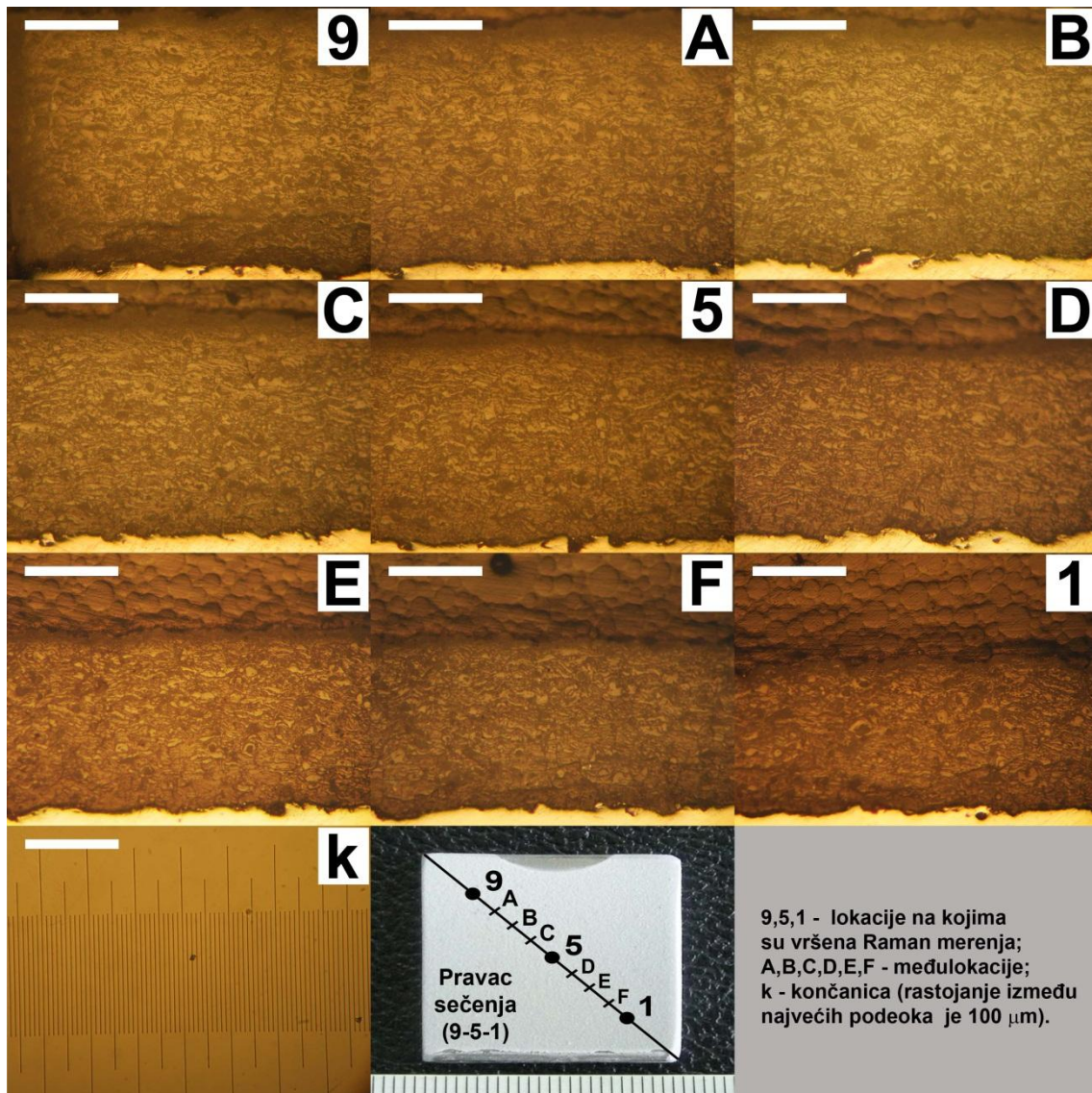
### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  – standardno odstupanje

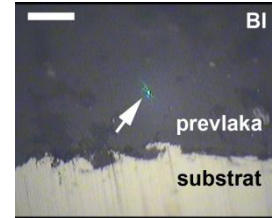
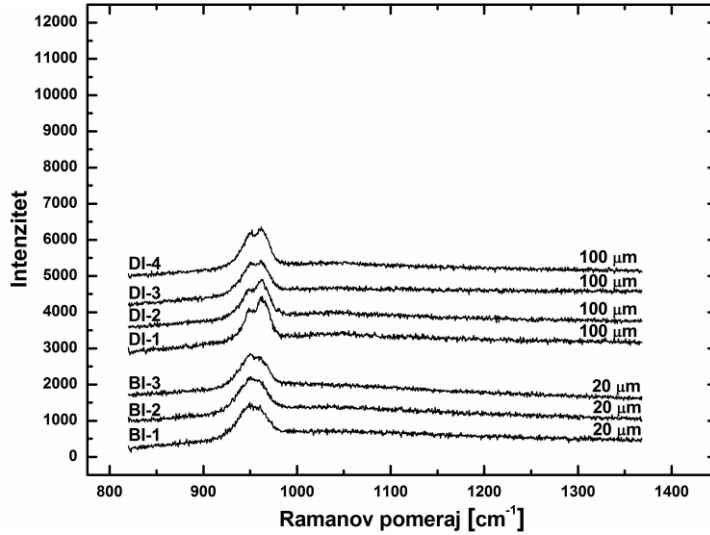


Slika prikazuje mikrostrukturu poprečnog preseka uzorka HAP-fp nanosene pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=100$  °C. Morfologija poprečnog preseka u pravcu 9-5-1 je dobijena sečenjem dijamantskom testerom, brušenjem voodopornim SiC abrazivnim papirom, poliranjem pomoću  $Al_2O_3$  pasta i hemijskim nagrivanjem u vodenom rastvoru  $HNO_3$  (0.058 mol/l) u trajanju od 4-5 sekundi. Slike mernih lokacija 9 i 1 odgovaraju Raman merenjima koja su prikazana na prethodne dve stranice priloga. Dužina merne skale na slikama 9, A, B, C, 5, D, E, F, 1 i k (gornji levi ugao) je 200  $\mu m$ . Slike su dobijene pomoću invertnog svetlosnog mikroskopa Reichert-Jung MEF3 u svetlom polju. Iste pozicije nenagrivenih poprečnih preseka ovog uzorka su prikazane u **prilogu D**.

## HAP-fp; $SOD=80$ mm; $T_S=200$ °C (lokacija 9)

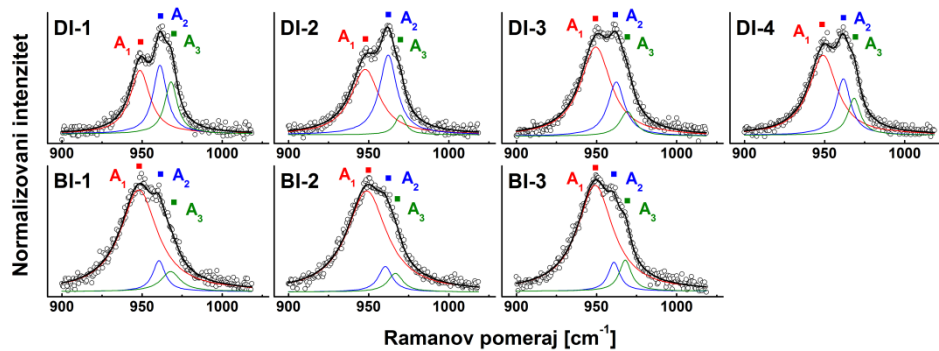
Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je  $20 \mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



#### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	81.8	83.2 $\pm 1.7$	9.3	8.7 $\pm 1.0$	8.9	8.1 $\pm 1.4$
BI-2	85.0		8.5		6.5	
BI-3	82.7		8.2		9.1	
DI-1	43.4	56.3 $\pm 10.5$	33.4	30.5 $\pm 8.5$	23.2	13.2 $\pm 7.3$
DI-2	52.5		41.3		6.2	
DI-3	66.8		23.5		9.7	
DI-4	62.4		23.8		13.7	

#### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija  $949-951$ ,  $961-963$  i  $966-969$   $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

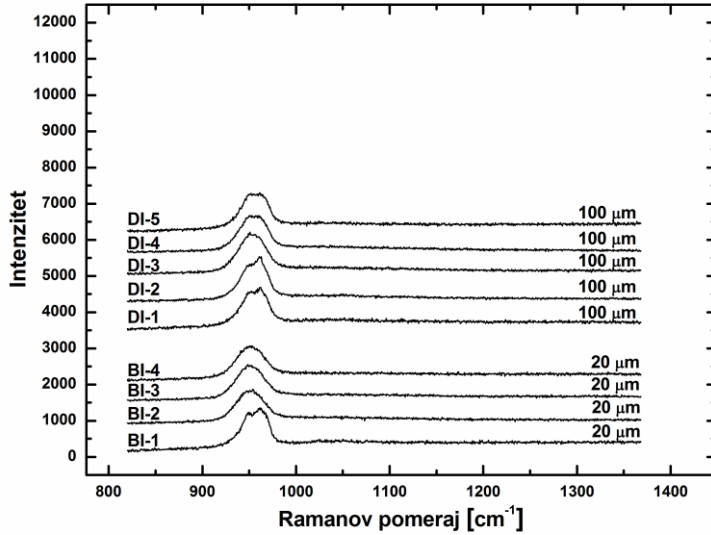
$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija  $900-1020$   $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje

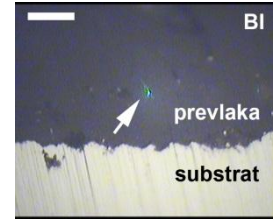


## HAP-fp; SOD=80 mm; T<sub>S</sub>=200 °C (lokacija 1)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u μm)

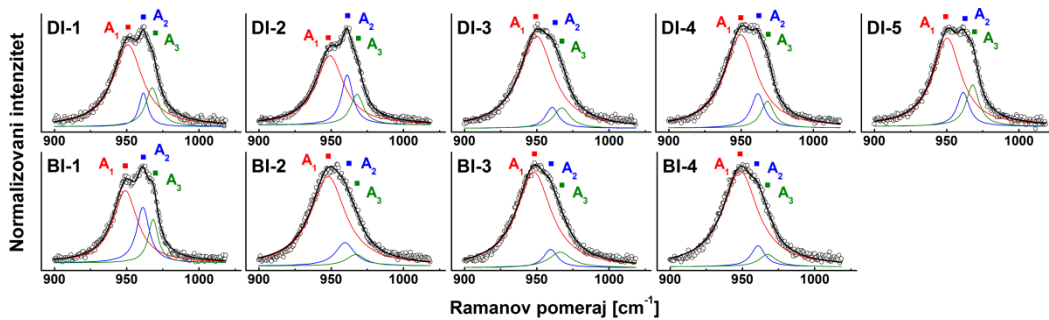


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20 μm. Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



#### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle$ $\pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle$ $\pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle$ $\pm \sigma$
<b>BI-1</b>	58.9		25.3		15.8	
<b>BI-2</b>	81.2	77.4	12.6	13.3	6.2	9.3
<b>BI-3</b>	83.6	$\pm 12.5$	7.2	$\pm 8.3$	9.2	$\pm 4.6$
<b>BI-4</b>	86.0		8.2		5.8	
<b>DI-1</b>	73.2		10.0		16.8	
<b>DI-2</b>	64.8		20.8		14.4	
<b>DI-3</b>	82.4		8.0		9.6	
<b>DI-4</b>	77.2	73.7 $\pm 6.6$	13.1	12.9 $\pm 4.9$	9.7	13.4 $\pm 3.5$
<b>DI-5</b>	70.8		12.7		16.5	

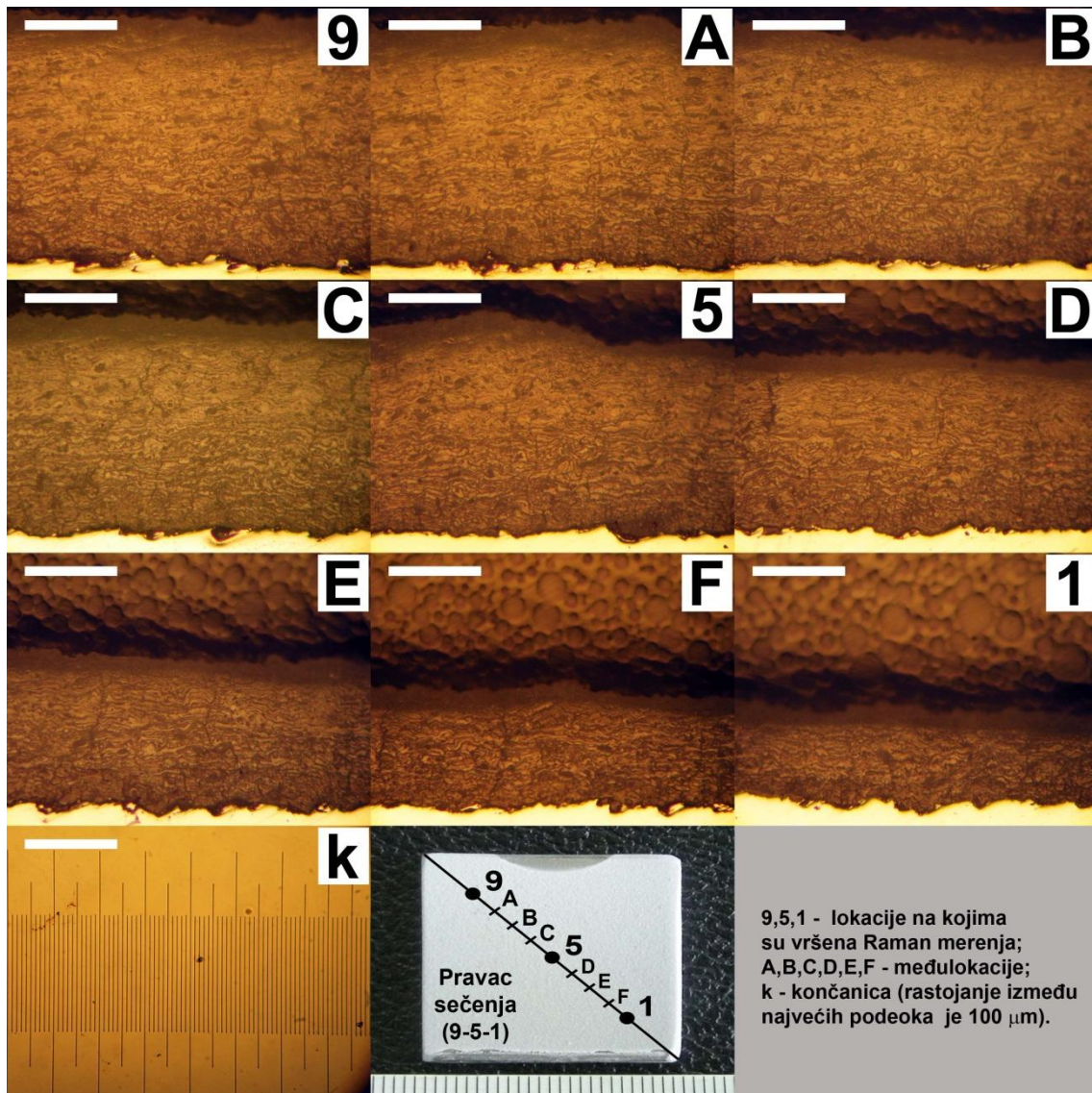
#### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

**BI** – bliže interfejsu  
**DI** – dalje od interfejsa  
**PP** – potpovršina  
**P** – površina

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi **prilog C2-1**)

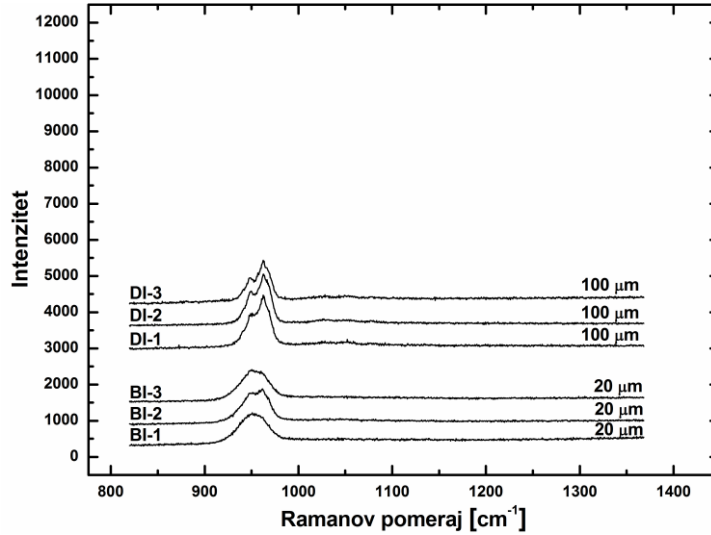
$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  – standardno odstupanje



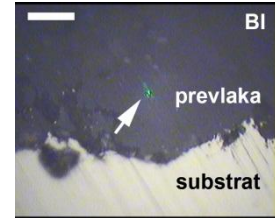
Slika prikazuje mikrostrukturu poprečnog preseka uzorka HAP-fp nanese pri  $SOD=80$  mm i  $T_3=200$  °C. Morfologija poprečnog preseka u pravcu 9-5-1 je dobijena sečenjem dijamantskom testerom, brušenjem voodopornim SiC abrazivnim papirom, poliranjem pomoću  $\text{Al}_2\text{O}_3$  pasta i hemijskim nagrivanjem u vodenom rastvoru  $\text{HNO}_3$  (0.058 mol/l) u trajanju od 4-5 sekundi. Slike mernih lokacija 9 i 1 odgovaraju Raman merenjima koja su prikazana na prethodne dve stranice priloga. Dužina merne skale na slikama 9, A, B, C, 5, D, E, F, 1 i k (gornji levi ugao) je 200  $\mu\text{m}$ . Slike su dobijene pomoću invertnog svetlosnog mikroskopa Reichert-Jung MEF3 u svetlom polju. Iste pozicije nenagrivenih poprečnih preseka ovog uzorka su prikazane u **prilogu D**.

## HAP-fp; SOD=100 mm; $T_S=200$ °C (lokacija 9)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

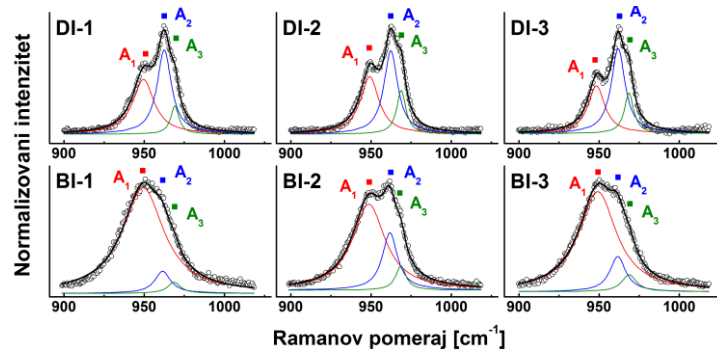


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20  $\mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	88.8	79.9 $\pm 9.4$	7.9	14.8 $\pm 7.8$	3.3	5.3 $\pm 1.8$
BI-2	70.0		23.3		6.7	
BI-3	80.8		13.2		6.0	
DI-1	44.0	39.2 $\pm 5.2$	46.8	47.1 $\pm 2.9$	9.2	13.7 $\pm 3.9$
DI-2	40.0		44.3		15.7	
DI-3	33.6		50.1		16.3	

### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

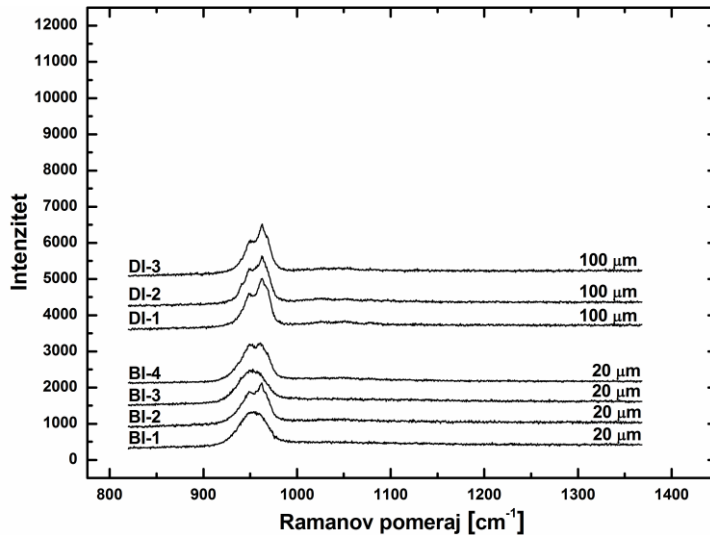
BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

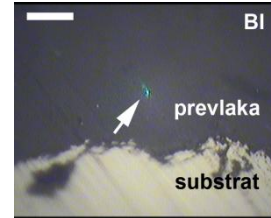
$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje

## HAP-fp; SOD=100 mm; $T_s=200$ °C (lokacija 1)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

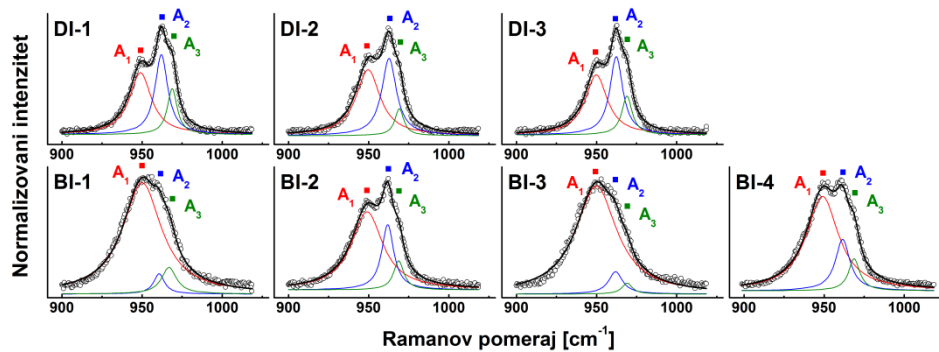


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20  $\mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



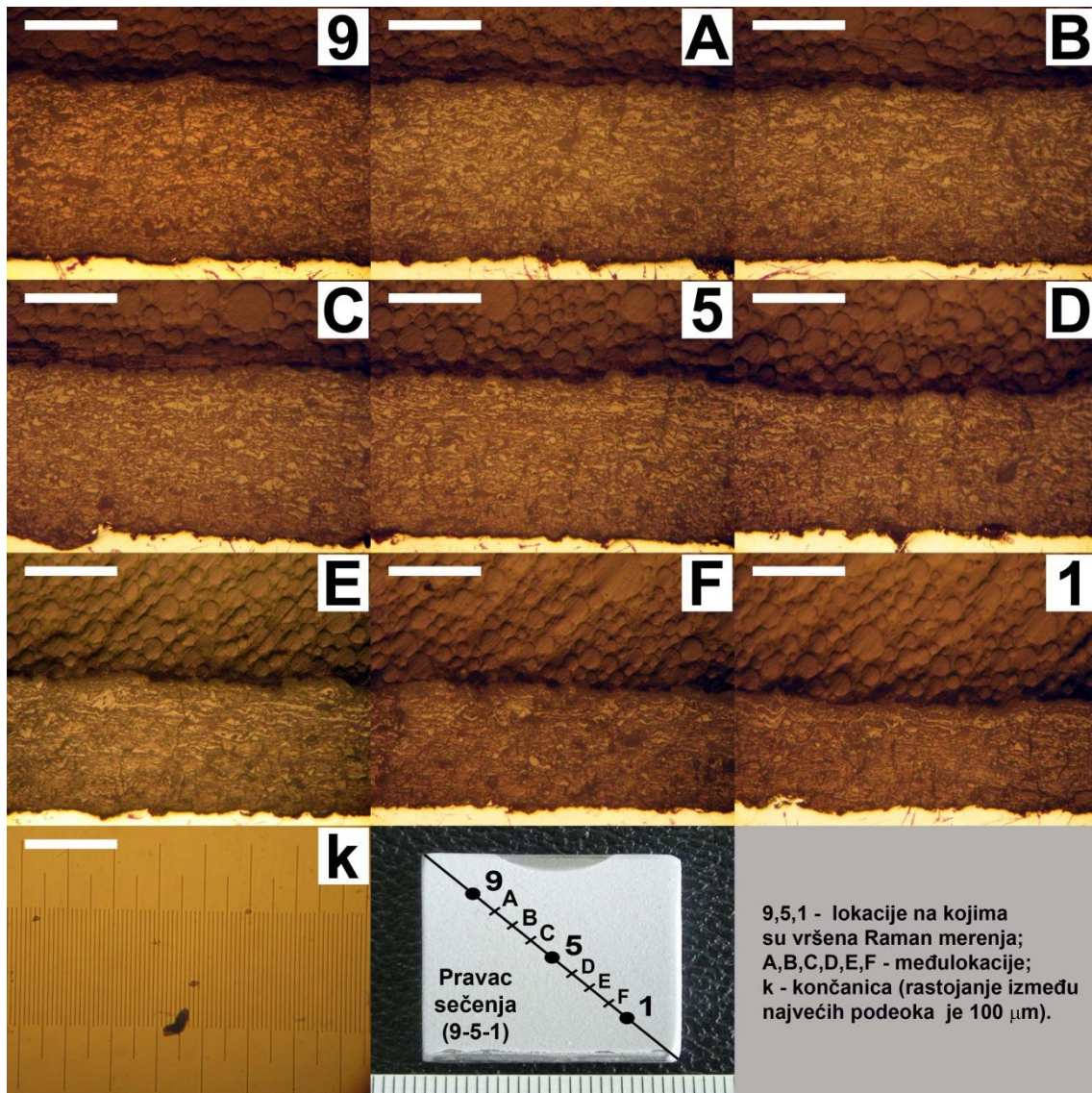
### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$	Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova $A_1$ , $A_2$ i $A_3$ su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969 $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.
BI-1	86.2	78.9 $\pm 11.0$	5.0	13.7 $\pm 9.0$	8.8	7.4 $\pm 3.2$	
BI-2	67.4		23.6		9.0		
BI-3	90.1		7.2		2.6		
BI-4	71.8		19.0		9.2		
DI-1	46.6	48.8 $\pm 3.2$	37.0	37.9 $\pm 1.1$	16.4	13.3 $\pm 4.2$	$R_1$ , $R_2$ i $R_3$ su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova $A_1$ , $A_2$ i $A_3$ koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020 $\text{cm}^{-1}$ (vidi prilog C2-1)
DI-2	52.4		39.1		8.5		
DI-3	47.3		37.6		15.0		

$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje

### Legenda

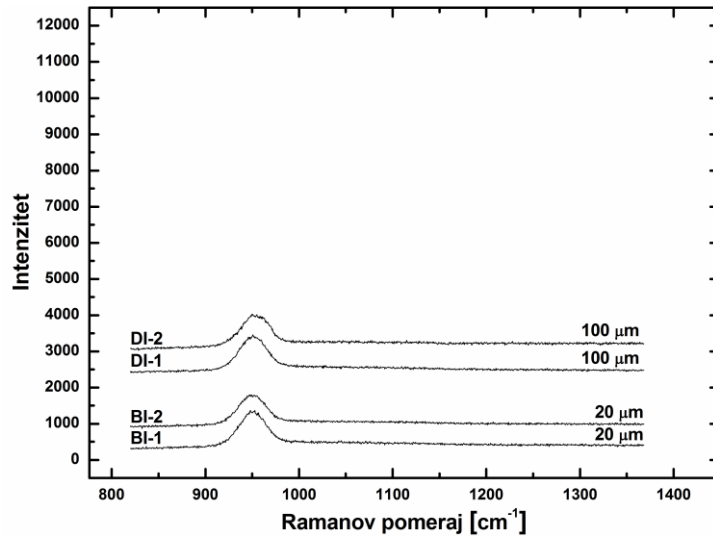




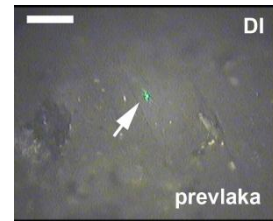
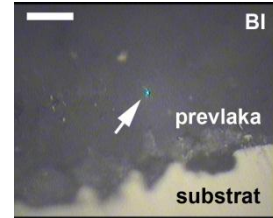
Slika prikazuje mikrostrukturu poprečnog preseka uzorka HAP-fp nanosene pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=200$  °C. Morfologija poprečnog preseka u pravcu 9-5-1 je dobijena sečenjem dijamantskom testerom, brušenjem voodopornim SiC abrazivnim papirom, poliranjem pomoću  $Al_2O_3$  pasta i hemijskim nagrivanjem u vodenom rastvoru  $HNO_3$  (0.058 mol/l) u trajanju od 4-5 sekundi. Slike merih lokacija 9 i 1 odgovaraju Raman merenjima koja su prikazana na prethodne dve stranice priloga. Dužina merne skale na slikama 9, A, B, C, 5, D, E, F, 1 i k (gornji levi ugao) je 200  $\mu m$ . Slike su dobijene pomoću invertnog svetlosnog mikroskopa Reichert-Jung MEF3 u svetlom polju. Iste pozicije nenagrivenih poprečnih preseka ovog uzorka su prikazane u **prilogu D**.

## HAP-fp; SOD=150 mm; $T_S=200$ °C (lokacija 9)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

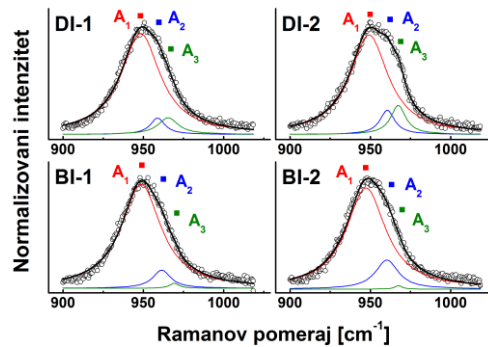


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere memih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20  $\mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	90.8	87.5	8.0	11.6	1.2	0.9
BI-2	84.2	$\pm 4.7$	15.2	$\pm 5.1$	0.6	$\pm 0.4$
DI-1	86.2		5.9		7.9	
DI-2	81.2	$83.7 \pm 3.5$	8.5	$7.2 \pm 1.8$	10.3	$9.1 \pm 1.7$

### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

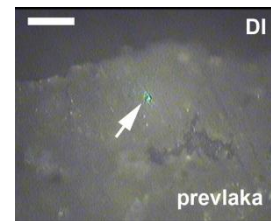
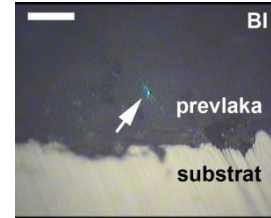
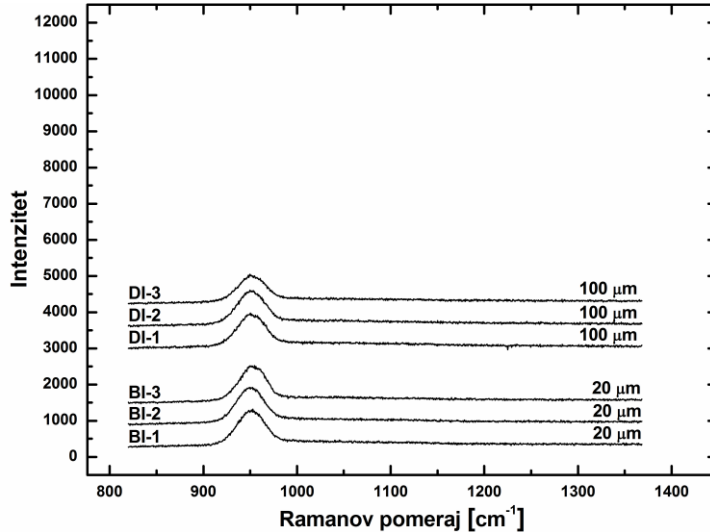
$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje

## HAP-fp; SOD=150 mm; $T_S=200\text{ }^\circ\text{C}$ (lokacija 1)

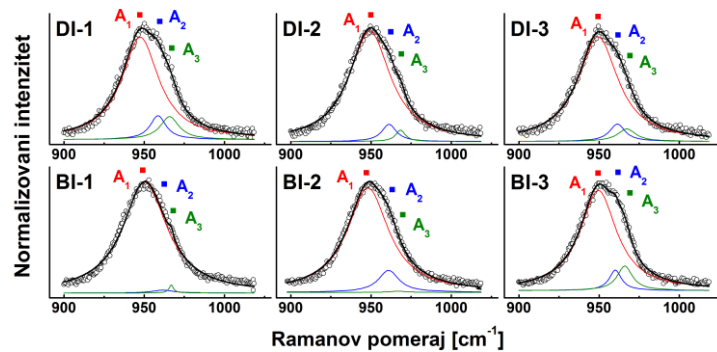
Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20  $\mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	97.9	90.5 $\pm 6.9$	1.2	5.9 $\pm 4.5$	0.9	3.6 $\pm 5.1$
BI-2	89.4		10.2		0.4	
BI-3	84.2		6.4		9.4	
DI-1	81.2	87.1 $\pm 5.4$	8.9	7.0 $\pm 1.7$	9.9	5.9 $\pm 3.7$
DI-2	91.7		5.7		2.6	
DI-3	88.4		6.3		5.3	

### Legenda

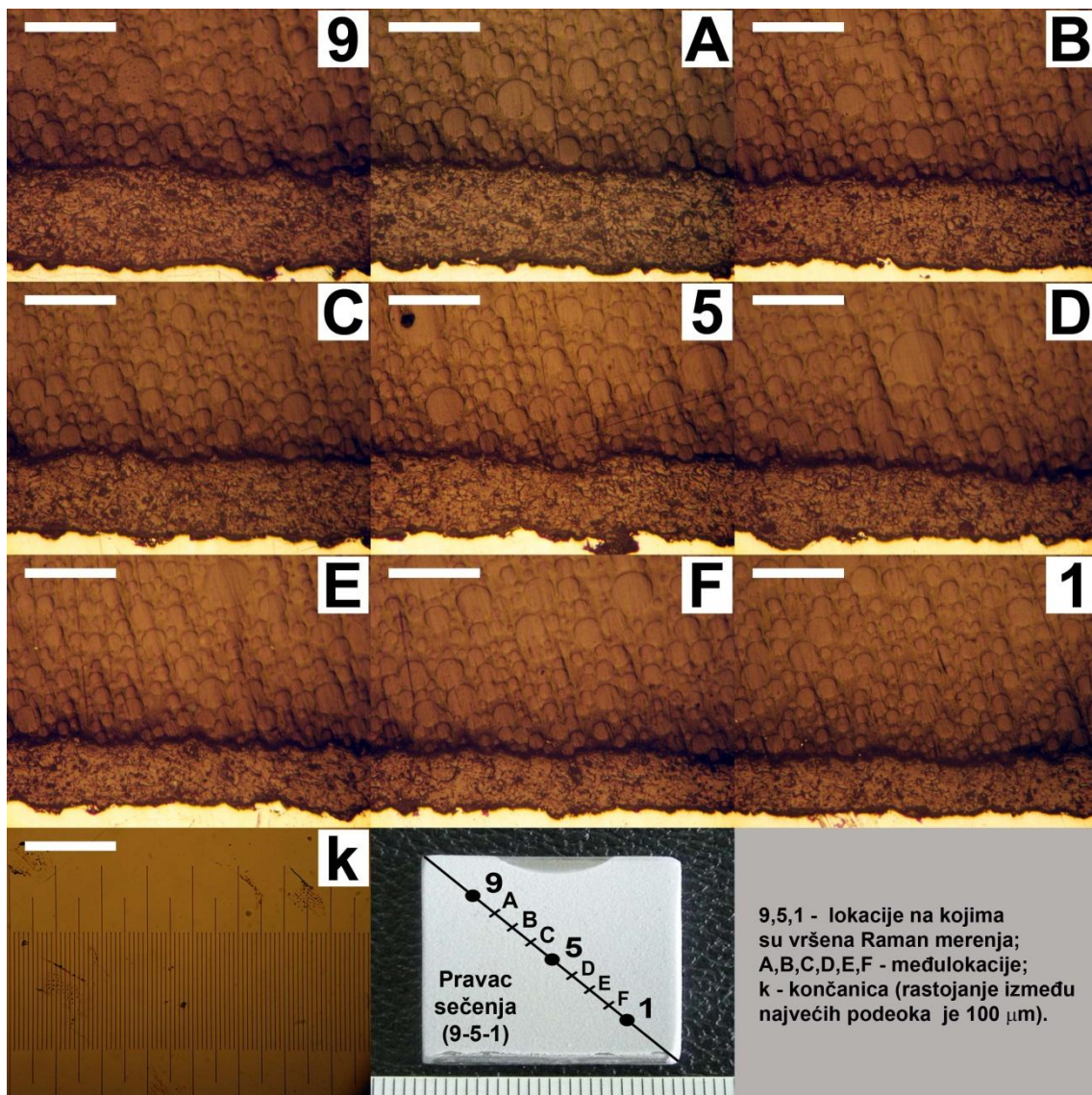
Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje

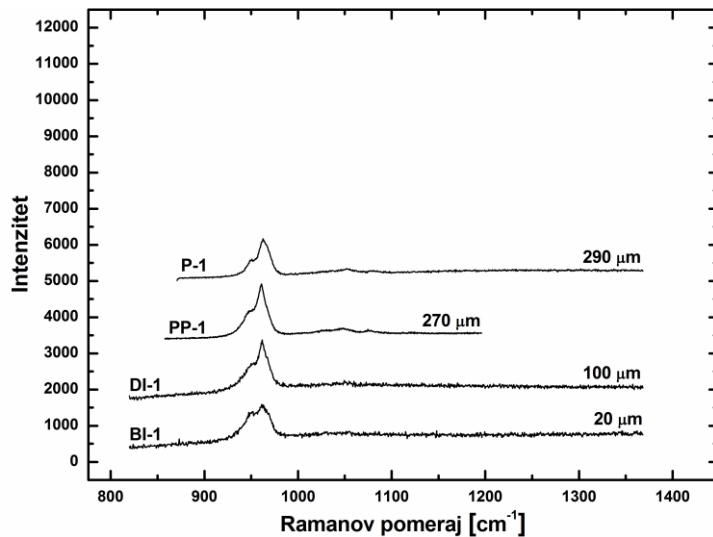




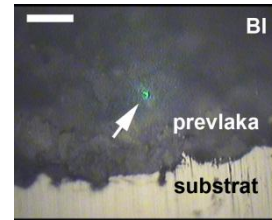
Slika prikazuje mikrostrukturu poprečnog preseka uzorka HAP-fp nanasene pri  $SOD=150$  mm i  $T_S=200$  °C. Morfologija poprečnog preseka u pravcu 9-5-1 je dobijena sečenjem dijamantskom testerom, brušenjem vodoopornim SiC abrazivnim papirom, poliranjem pomoću  $Al_2O_3$  pasta i hemijskim nagrizanjem u vodenom rastvoru  $HNO_3$  (0.058 mol/l) u trajanju od 4-5 sekundi. Slike mernih lokacija 9 i 1 odgovaraju Raman merenjima koja su prikazana na prethodne dve stranice priloga. Dužina merne skale na slikama 9, A, B, C, 5, D, E, F, 1 i k (gornji levi ugao) je 200  $\mu m$ . Slike su dobijene pomoću invertnog svetlosnog mikroskopa Reichert-Jung MEF3 u svetlom polju. Iste pozicije nenagriženih poprečnih preseka ovog uzorka su prikazane u **prilogu D**.

## HAP-kp; SOD=100 mm; $T_S=20^\circ\text{C}$ (lokacija 9)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

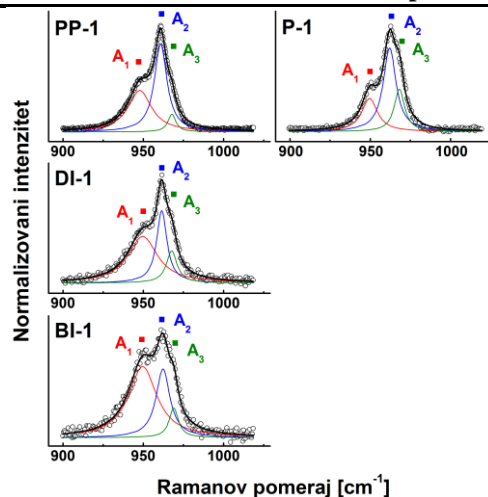


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere memih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je  $20\ \mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	60.5	60.5 $\pm 5.0^*$	30.6	30.6 $\pm 5.0^*$	8.9	8.9 $\pm 10.0^*$
DI-1	53.7	53.7 $\pm 5.0^*$	31.8	31.8 $\pm 5.0^*$	14.5	14.5 $\pm 10.0^*$
PP-1	44.4		48.7		6.9	
P-1	25.4	34.9 $\pm 13.4$	52.7	50.7 $\pm 2.8$	21.9	14.4 $\pm 10.6$

### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

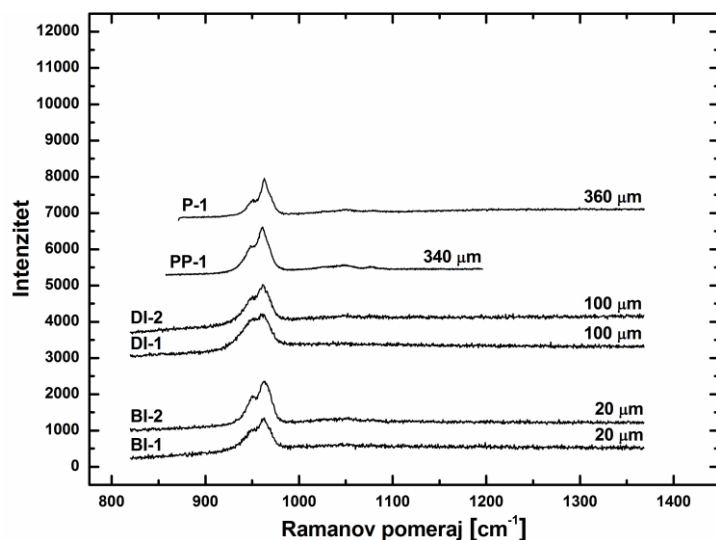
BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

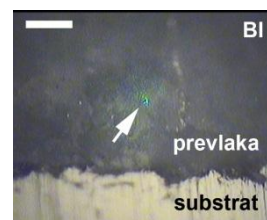
$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje

## HAP-kp; SOD=100 mm; T<sub>S</sub>=20 °C (lokacija 1)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u μm)

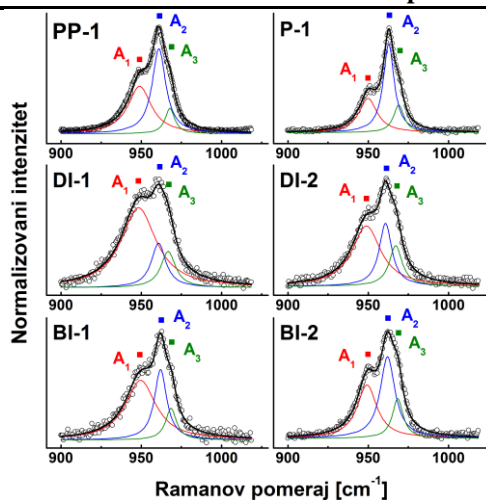


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20 μm. Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	58.1	48.4	30.0	37.5	11.9	14.1
BI-2	38.7	$\pm 13.7$	45.1	$\pm 10.7$	16.2	$\pm 3.0$
DI-1	68.4	61.7	17.3	22.2	14.2	16.1
DI-2	55.0	$\pm 9.5$	27.1	$\pm 6.9$	17.9	$\pm 2.6$
PP-1	43.0		47.0		10.0	
P-1	32.3	$37.6 \pm 7.6$	52.2	$49.6 \pm 3.7$	15.5	$12.8 \pm 3.9$

### Legenda

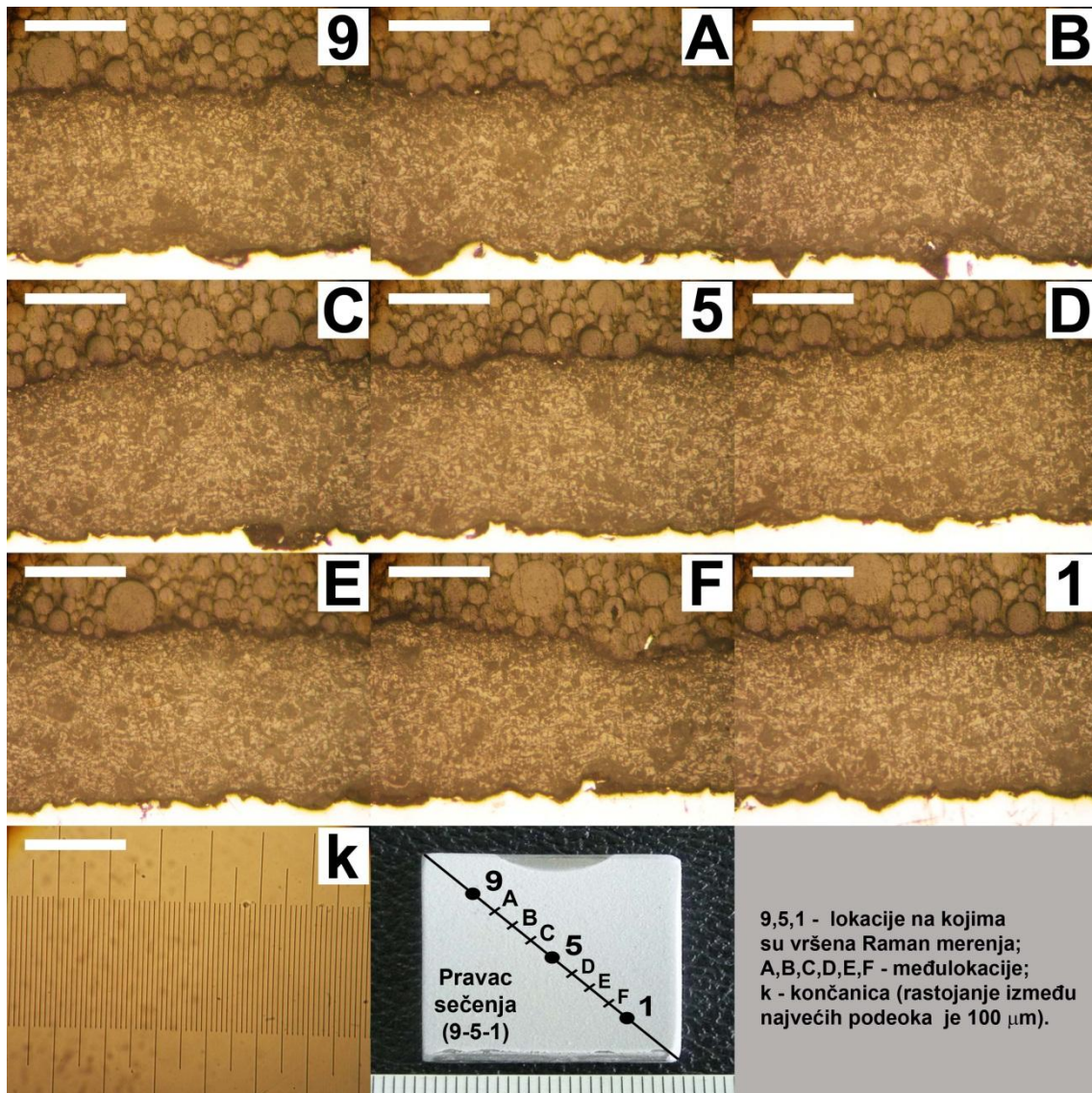
Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje

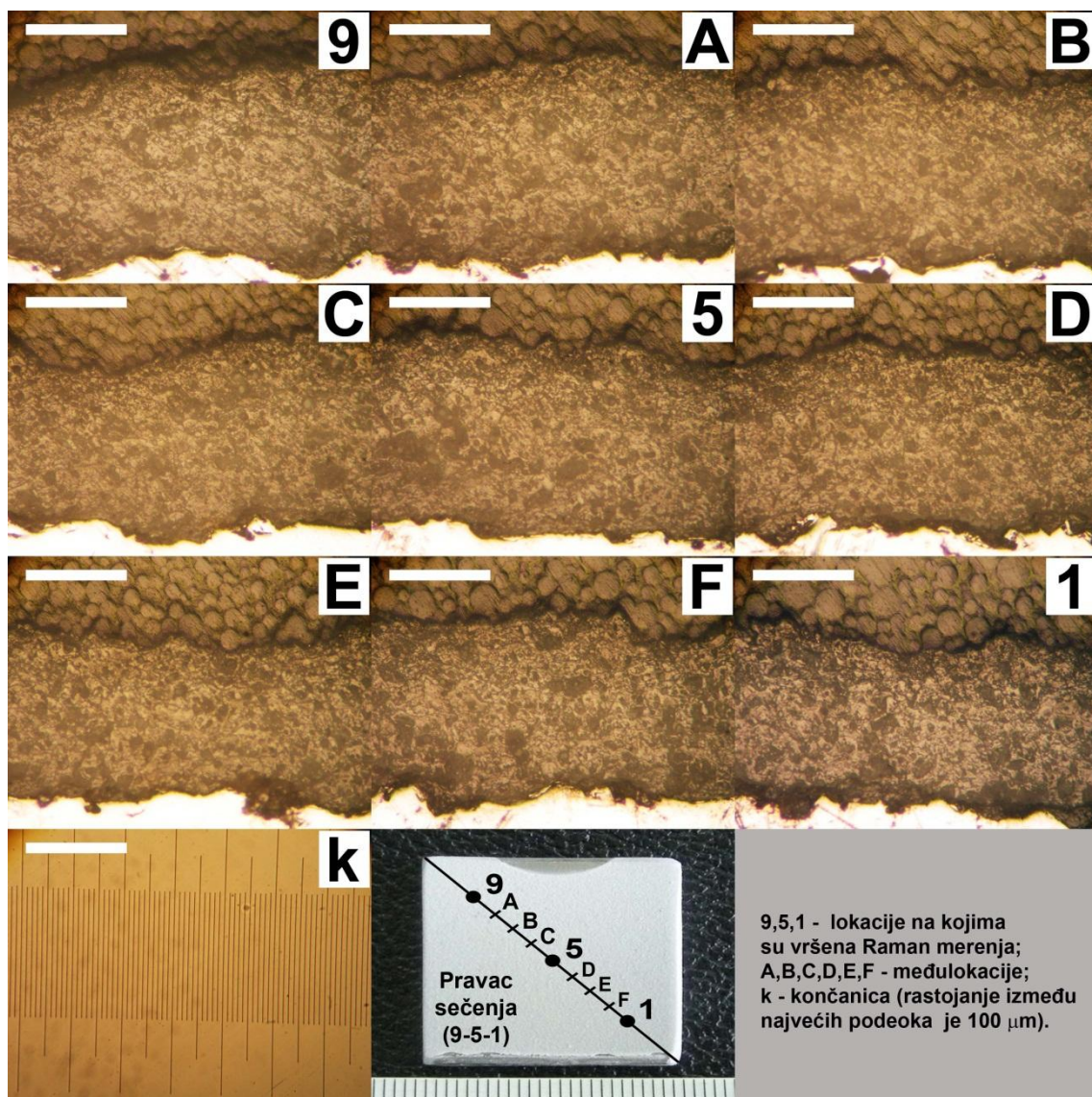




Slika prikazuje mikrostrukturu poprečnog preseka uzorka HAP-fp nanasene pri  $SOD=100$  mm i  $T_s=20$  °C. Morfologija poprečnog preseka u pravcu 9-5-1 je dobijena sečenjem dijamantskom testerom, brušenjem voodopornim SiC abrazivnim papirom, poliranjem pomoću  $\text{Al}_2\text{O}_3$  pasta i hemijskim nagrivanjem u vodenom rastvoru  $\text{HNO}_3$  (0.058 mol/l) u trajanju od 4-5 sekundi. Slike mernih lokacija 9 i 1 odgovaraju Raman merenjima koja su prikazana na prethodne dve stranice priloga. Dužina merne skale na slikama 9, A, B, C, 5, D, E, F, 1 i k (gornji levi ugao) je 200  $\mu\text{m}$ . Slike su dobijene pomoću invertnog svetlosnog mikroskopa Reichert-Jung MEF3 u svetlom polju. Iste pozicije nenagrivenih poprečnih preseka ovog uzorka su prikazane u **prilogu D**.



HAP-kp;  $SOD=80$  mm;  $T_S=200$  °C

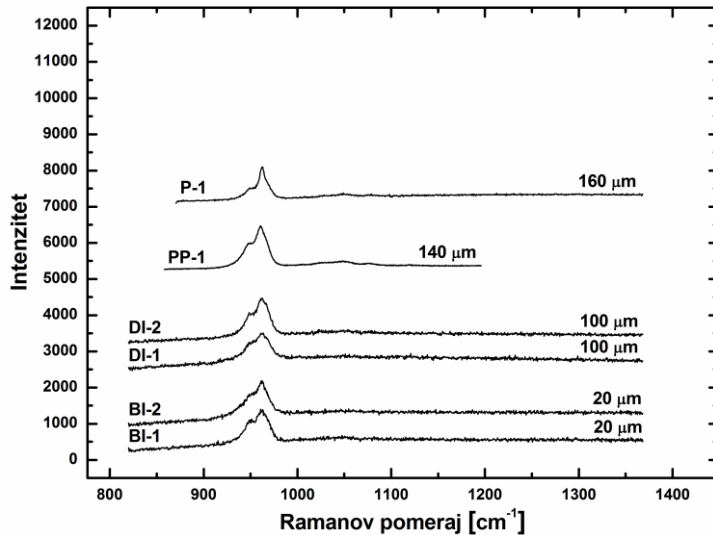


Slika prikazuje mikrostrukturu poprečnog preseka uzorka HAP-fp nanese pri  $SOD=80$  mm i  $T_S=200$  °C. Morfologija poprečnog preseka u pravcu 9-5-1 je dobijena sečenjem dijamantskom testerom, brušenjem voodopornim SiC abrazivnim papirom, poliranjem pomoću  $Al_2O_3$  pasta i hemijskim nagrivanjem u vodenom rastvoru  $HNO_3$  (0.058 mol/l) u trajanju od 4-5 sekundi. Slike memih lokacija 9 i 1 odgovaraju Raman merenjima koja su prikazana na prethodne dve stranice priloga. Dužina merne skale na slikama 9, A, B, C, 5, D, E, F, 1 i k (gornji levi ugao) je 200  $\mu m$ . Slike su dobijene pomoću invertnog svetlosnog mikroskopa Reichert-Jung MEF3 u svetlom polju. Iste pozicije nenagrivenih poprečnih preseka ovog uzorka su prikazane u **prilogu D**.

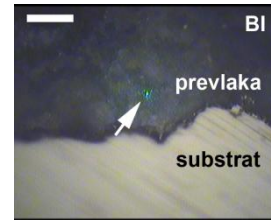


## HAP-kp; SOD=100 mm; T<sub>S</sub>=200 °C (lokacija 6)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u μm)

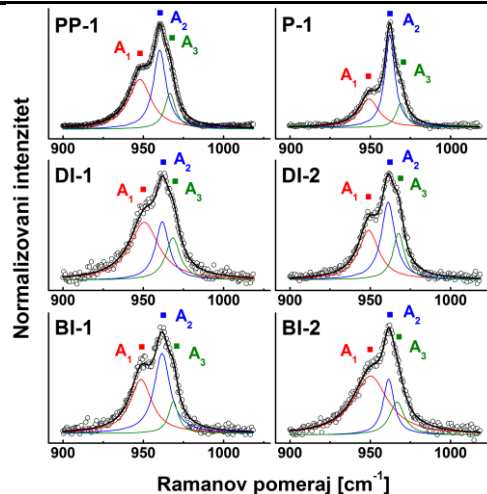


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20 μm. Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja.

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



#### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
<b>BI-1</b>	41.8	52.3	46.5	33.7	11.7	14.0
<b>BI-2</b>	62.9	$\pm 14.9$	20.9	$\pm 18.1$	16.2	$\pm 3.2$
<b>DI-1</b>	52.9	45.4	26.7	34.0	20.4	20.6
<b>DI-2</b>	37.9	$\pm 10.6$	41.2	$\pm 10.2$	20.9	$\pm 0.3$
<b>PP-1</b>	43.6		40.6		15.7	
<b>P-1</b>	31.6	37.6 $\pm 8.5$	54.8	47.7 $\pm 10.0$	13.6	14.6 $\pm 1.5$

#### Primeri merenja

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

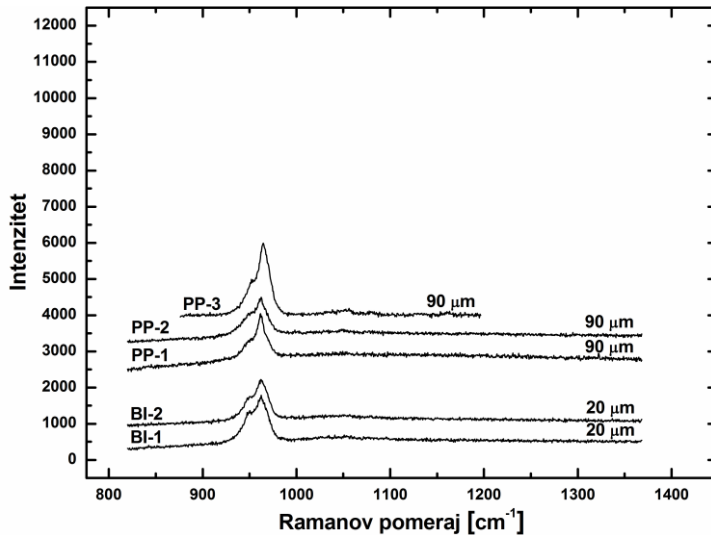
**BI** – bliže interfejsu  
**DI** – dalje od interfejsa  
**PP** – potpovršina  
**P** – površina

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi **prilog C2-1**)

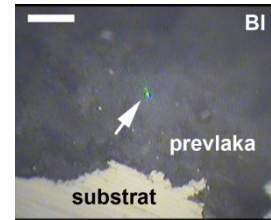
$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje

## HAP-kp; SOD=100 mm; $T_S=200$ °C (lokacija 1)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

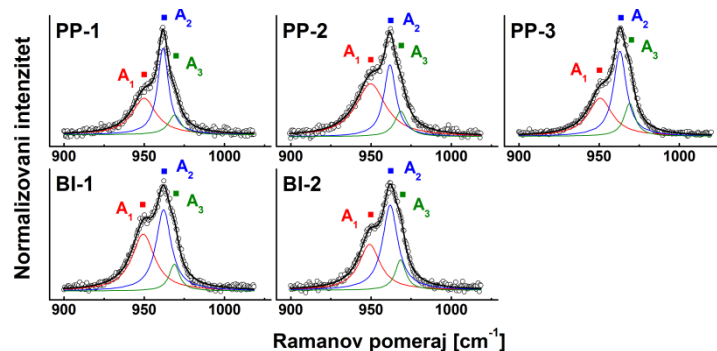


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20  $\mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	45.2	41.0	44.6	47.5	10.2	11.5
BI-2	36.8	$\pm 5.9$	50.4	$\pm 4.1$	12.8	$\pm 1.8$
PP-1	41.0		46.8		12.2	
PP-2	55.3		33.0		11.7	
PP-3	37.5	44.6 $\pm 9.4$	47.0	42.3 $\pm 8.0$	15.5	13.1 $\pm 2.1$

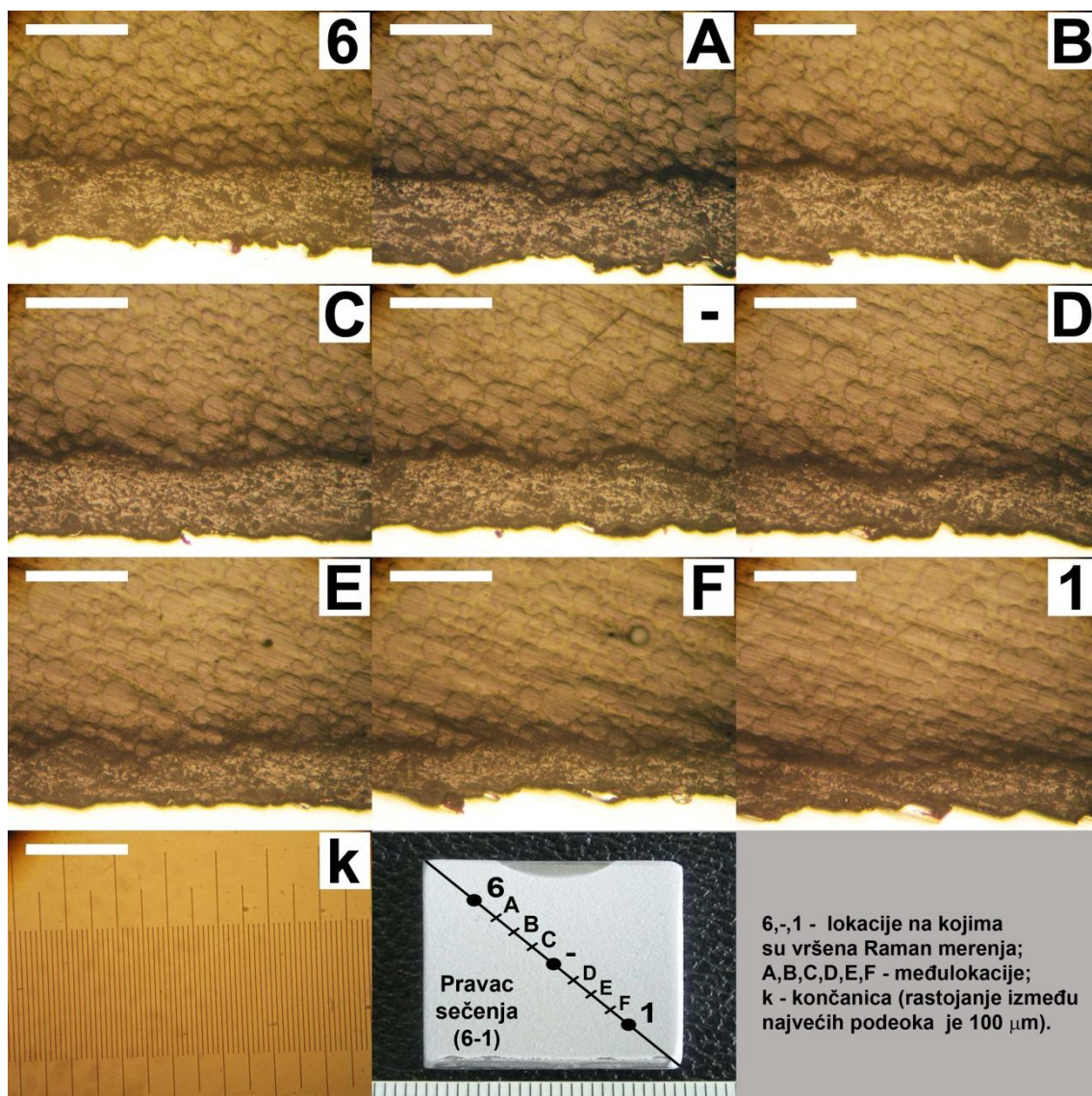
### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

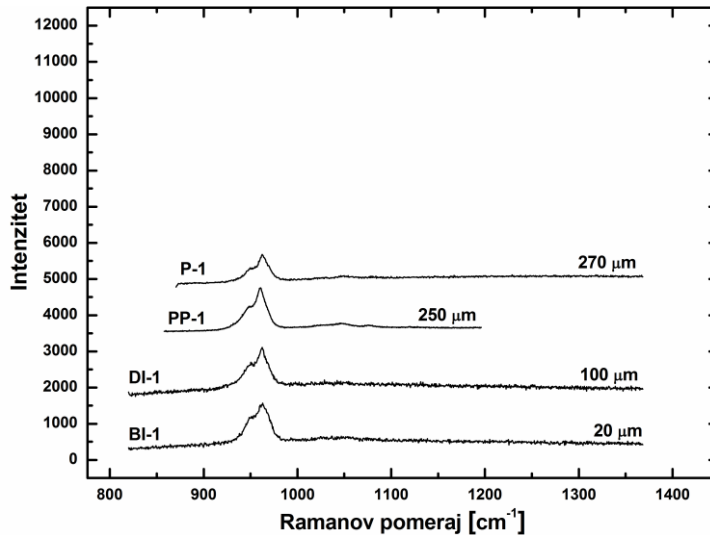
$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje



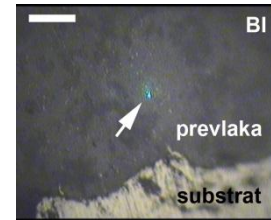
Slika prikazuje mikrostrukturu poprečnog preseka uzorka HAP-fp nanasene pri  $SOD=100$  mm i  $T_S=200$  °C. Morfologija poprečnog preseka u pravcu 6-1 je dobijena sečenjem dijamantskom testerom, brušenjem voodtopornim SiC abrazivnim papirom, poliranjem pomoću  $\text{Al}_2\text{O}_3$  pasta i hemijskim nagrizanjem u vodenom rastvoru  $\text{HNO}_3$  (0.058 mol/l) u trajanju od 4-5 sekundi. Slike mernih lokacija 9 i 1 odgovaraju Raman merenjima koja su prikazana na prethodne dve stranice priloga. Dužina merne skale na slikama 6, A, B, C, -, D, E, F, 1 i k (gornji levi ugao) je 200  $\mu\text{m}$ . Slike su dobijene pomoću invertnog svetlosnog mikroskopa Reichert-Jung MEF3 u svetlom polju. Iste pozicije nenagriženih poprečnih preseka ovog uzorka su prikazane u **prilogu D**. Ovde treba napomenuti da je pravac sečenja 6-1 praktično ekvivalentan pravcu 9-5-1.

## HAP-kp; SOD=150 mm; T<sub>S</sub>=200 °C (lokacija 9)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u μm)

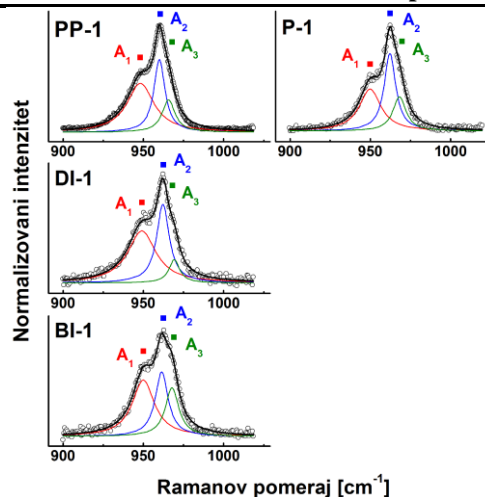


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20 μm. Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



#### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	44.5	44.5 ± 5.0	31.1	31.1 ± 5.0	24.3	24.3 ± 10.0
DI-1	52.2	52.2 ± 5.0	38.2	38.2 ± 5.0	9.6	9.6 ± 10.0
PP-1	50.2		32.9		16.9	
P-1	36.7	43.6 ± 6.6	40.5	36.7 ± 3.8	10.1	13.5 ± 3.4

#### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

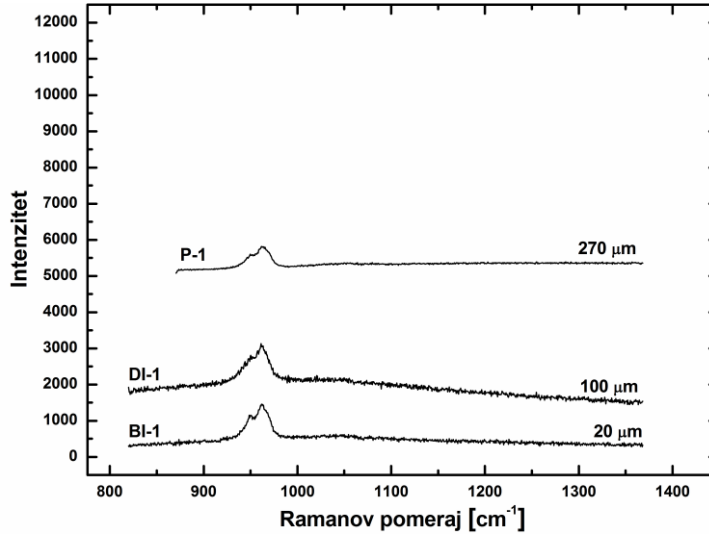
$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje

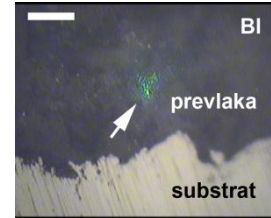


## HAP-kp; SOD=150 mm; $T_S=200$ °C (lokacija 1)

Originalni Raman spektri dobijeni na različitim rastojanjima od interfejsa substrat/prevlaka (u  $\mu\text{m}$ )

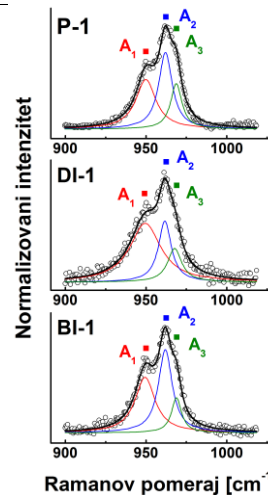


Svetlosne optičke mikrofotografije prikazuju primere mernih lokacija na poprečnom preseku uzorka:



Dužina merne skale je 20  $\mu\text{m}$ . Strelica pokazuje lokaciju Raman merenja

### Normalizovani i fitovani Raman spektri



#### Rezultati fitovanja Raman spektara

	$R_1$	$\langle R_1 \rangle \pm \sigma$	$R_2$	$\langle R_2 \rangle \pm \sigma$	$R_3$	$\langle R_3 \rangle \pm \sigma$
BI-1	41.9	41.9 $\pm 5.0$	44.3	44.3 $\pm 5.0$	13.8	13.8 $\pm 10.0$
DI-1	57.3	57.3 $\pm 5.0$	26.6	26.6 $\pm 5.0$	16.1	16.1 $\pm 10.0$
P-1	38.3	38.3 $\pm 5.0$	41.1	41.1 $\pm 5.0$	20.6	20.6 $\pm 10.0$

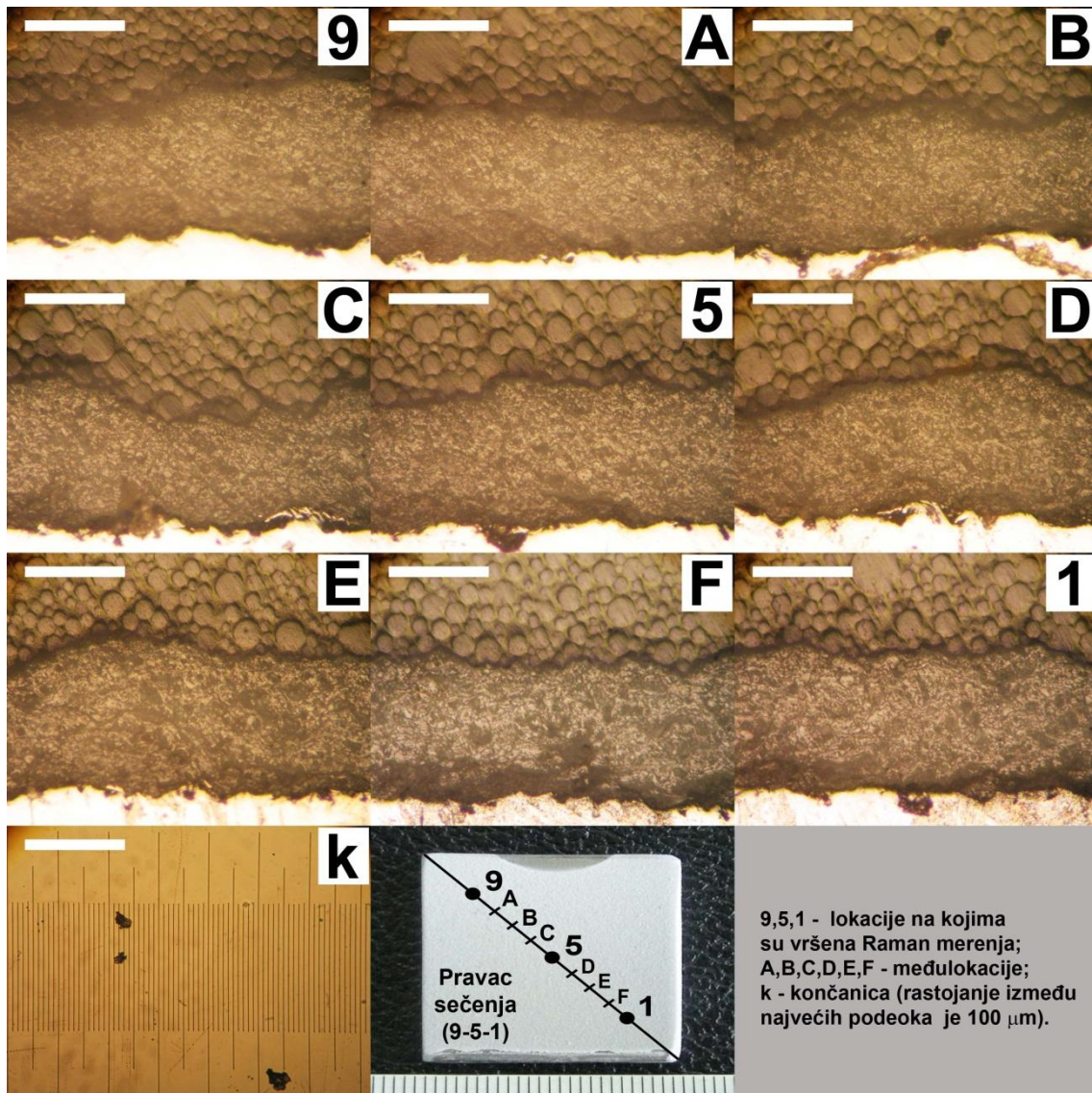
#### Legenda

Položaji maksimuma karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  su detektovani u opsezima frekvencija 949-951, 961-963 i 966-969  $\text{cm}^{-1}$ , respektivno.

BI – bliže interfejsu  
DI – dalje od interfejsa  
PP – potpovršina  
P – površina

$R_1$ ,  $R_2$  i  $R_3$  su relativni intenziteti karakterističnih Raman pikova  $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$  koji su dobijeni fitovanjem Raman spektara u opsegu frekvencija 900-1020  $\text{cm}^{-1}$  (vidi prilog C2-1)

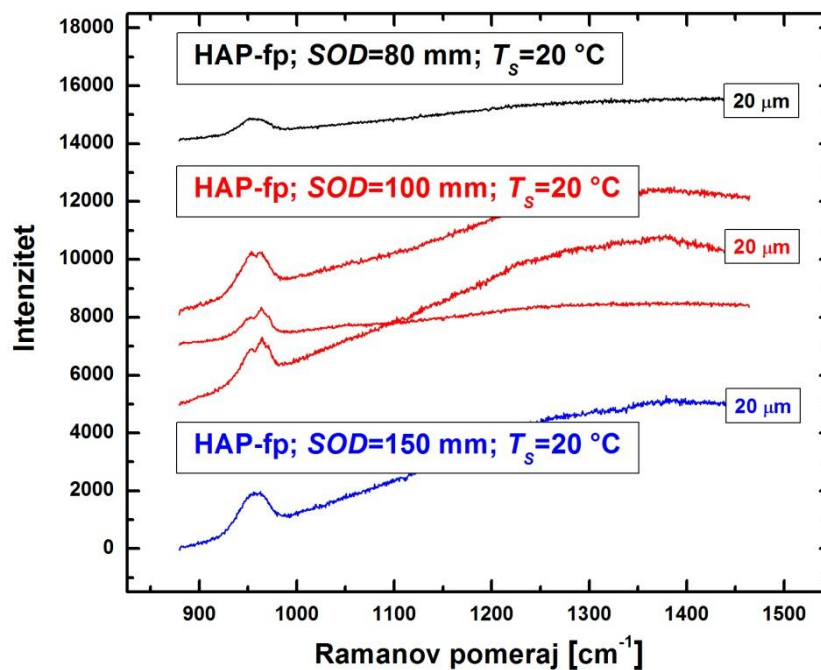
$\langle R \rangle$  - srednji relativni intenzitet  
 $\sigma$  - standardno odstupanje



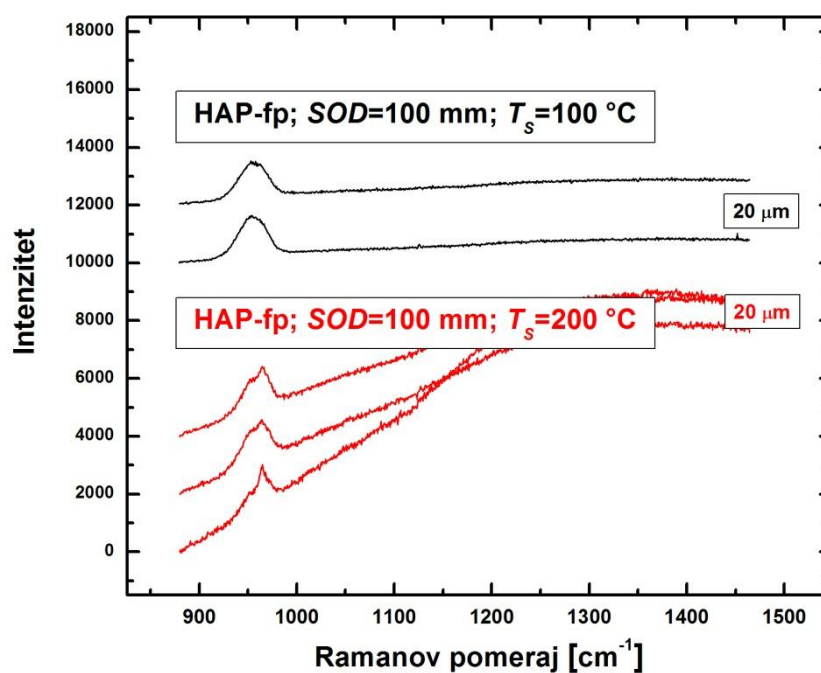
Slika prikazuje mikrostrukturu poprečnog preseka uzorka HAP-fp nanasene pri  $SOD=150$  mm i  $T_S=200$  °C. Morfologija poprečnog preseka u pravcu 9-5-1 je dobijena sečenjem dijamantskom testerom, brušenjem voodopornim SiC abrazivnim papirom, poliranjem pomoću  $\text{Al}_2\text{O}_3$  pasta i hemijskim nagrivanjem u vodenom rastvoru  $\text{HNO}_3$  (0.058 mol/l) u trajanju od 4-5 sekundi. Slike mernih lokacija 9 i 1 odgovaraju Raman merenjima koja su prikazana na prethodne dve stranice priloga. Dužina merne skale na slikama 9, A, B, C, 5, D, E, F, 1 i k (gornji levi ugao) je 200  $\mu\text{m}$ . Slike su dobijene pomoću invertnog svetlosnog mikroskopa Reichert-Jung MEF3 u svetlom polju. Iste pozicije nenagrivenih poprečnih preseka ovog uzorka su prikazane u **prilogu D**.

## **PRILOG E2**

**– Analiza uzoraka sečenih ručnom testerom –**

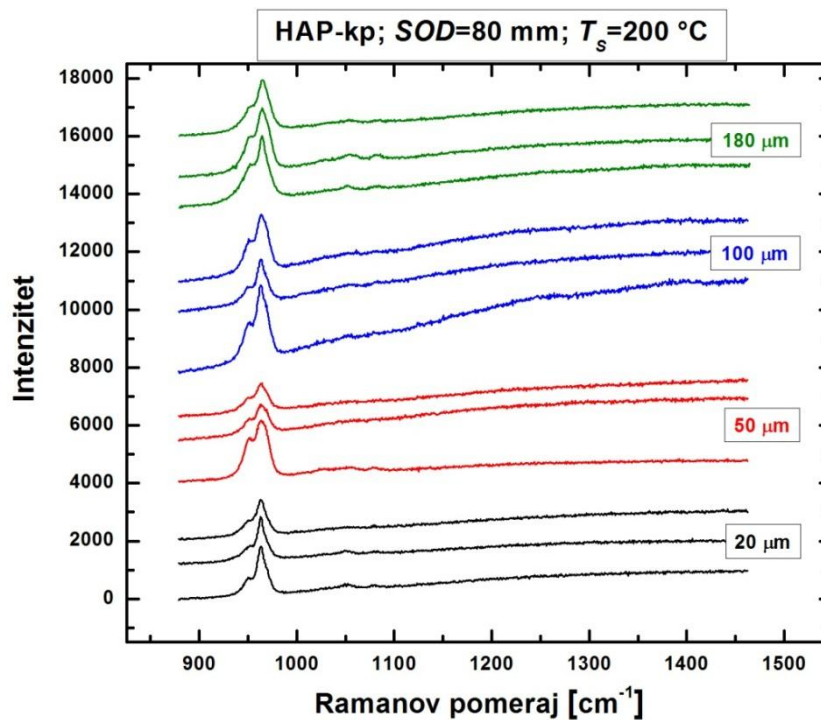


**Sl.E2-1.** Originalni Raman spektri snimljeni na poliranim poprečnim preseccima HAP-fp na lokaciji merenja 5; HAP-fp su bile nanese pri različitim  $SOD$  bez predgrevanja substrata ( $T_s = 20\text{ °C}$ ); rastojanje od interfejsa na kome su vršena merenja je dato u  $\mu\text{m}$ .

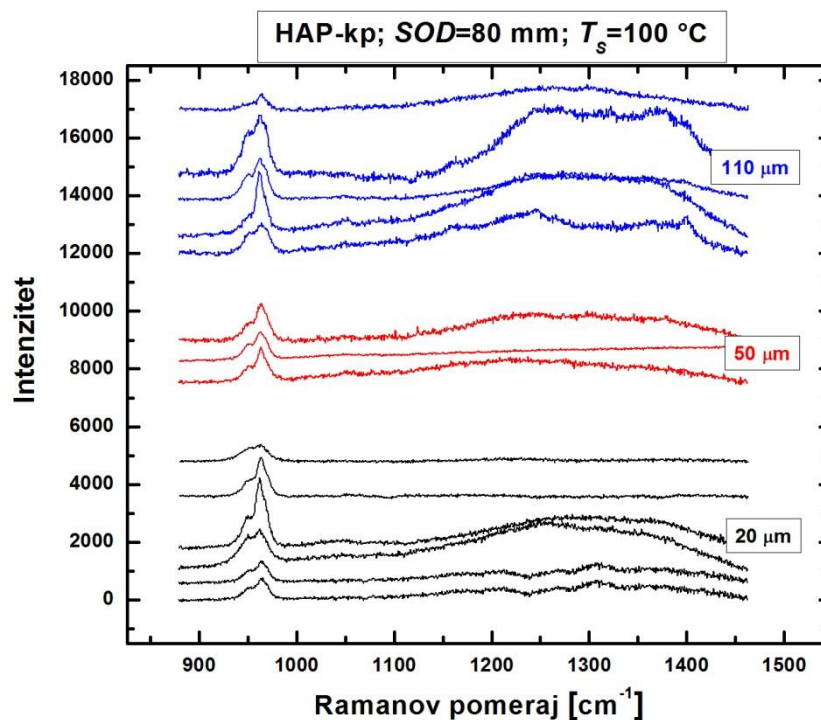


**Sl.E2-2.** Originalni Raman spektri snimljeni na poliranim poprečnim preseccima HAP-fp na lokaciji merenja 5; HAP-fp su bile nanese pri različitim  $T_s$  i  $SOD = 100\text{ mm}$ ; rastojanje od interfejsa na kome su vršena merenja je dato u  $\mu\text{m}$ .

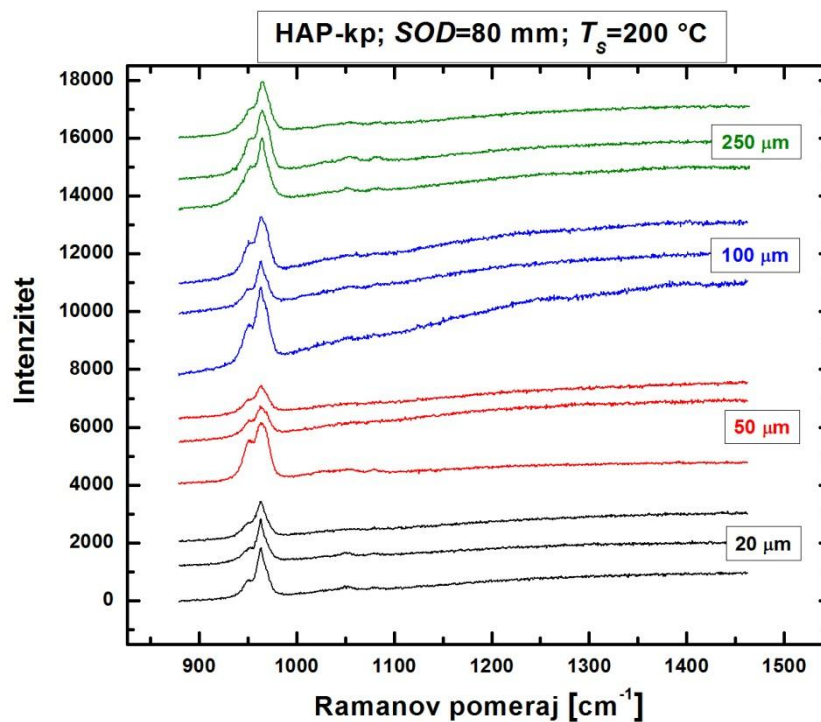




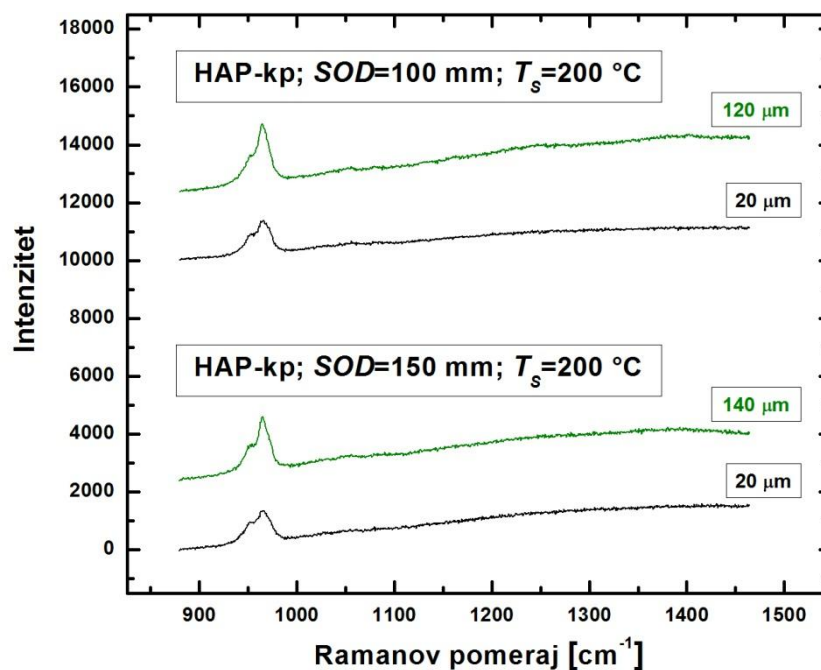
**Sl.E2-3.** Originalni Raman spektri snimljeni na poliranim poprečnim preseccima HAP-kp na lokaciji merenja 5; uslovi nanošenja HAP-kp su dati u gornjem delu slike; rastojanja od interfejsa na kojima su vršena merenja su data u  $\mu\text{m}$ .



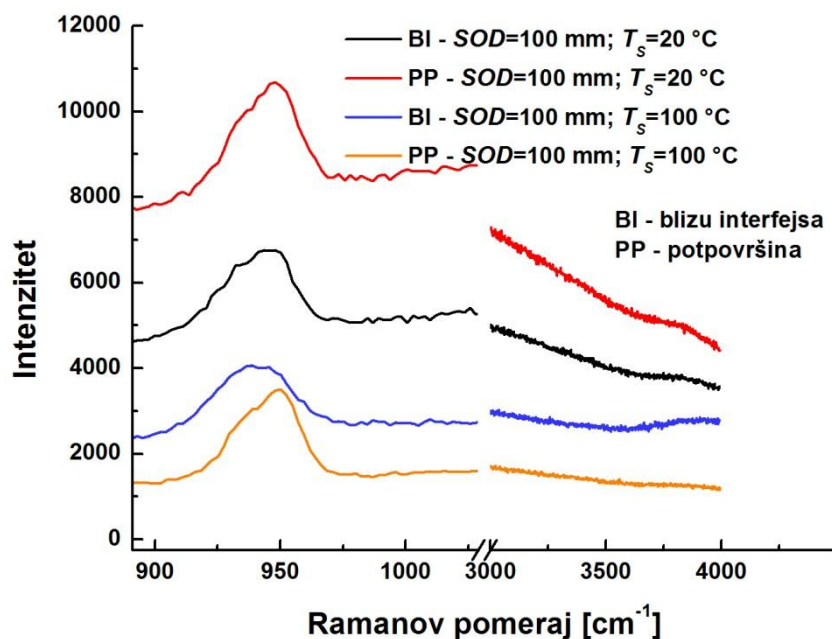
**Sl.E2-4.** Originalni Raman spektri snimljeni na poliranim poprečnim preseccima HAP-kp na lokaciji merenja 5; uslovi nanošenja HAP-kp su dati u gornjem delu slike; rastojanja od interfejsa na kojima su vršena merenja su data u  $\mu\text{m}$ .



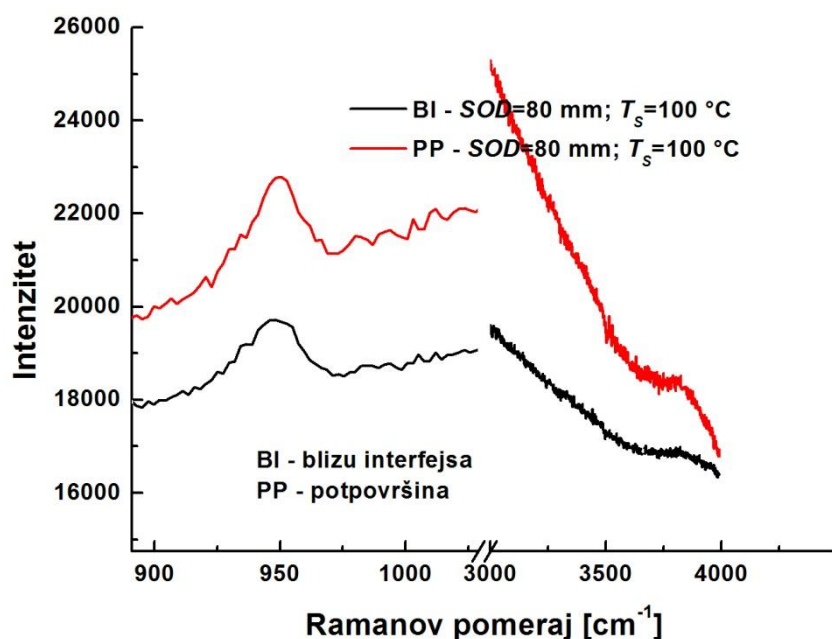
**SL.E2-5.** Originalni Raman spektri snimljeni na poliranim poprečnim presecima HAP-kp na lokaciji merenja 5; uslovi nanošenja HAP-kp su dati u gornjem delu slike; rastojanja od interfejsa na kojima su vršena merenja su data u  $\mu\text{m}$ .



**SL.E2-6.** Originalni Raman spektri snimljeni na poliranim poprečnim presecima HAP-kp na lokaciji merenja 5; uslovi nanošenja HAP-kp su dati na slici; rastojanja od interfejsa na kojima su vršena merenja su data u  $\mu\text{m}$ .



**Sl.E2-7.** Raman spektri, dobijeni pomoću *Tri Vista TR557*, prikazuju promene intenziteta  $\text{PO}_4^{3-}$  i  $\text{OH}^-$  hemijskih grupa HA u pravcu debljine HAP-fp; Raman spektri su snimljeni na poliranim poprečnim preseccima HAP-fp na lokaciji merenja 5, dok su debljine HAP-fp nanesenih pri  $SOD=100$  i  $T_s=20$  °C i HAP-fp nanesenih pri  $SOD=100$  i  $T_s=100$  °C iznosile  $\sim 300$  i  $\sim 350$   $\mu\text{m}$ , respektivno.

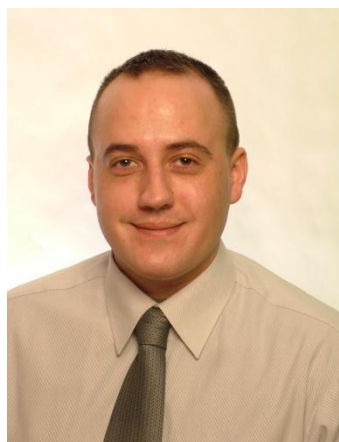


**Sl.E2-8.** Raman spektri, dobijeni pomoću *Tri Vista TR557*, prikazuju promene intenziteta  $\text{PO}_4^{3-}$  i  $\text{OH}^-$  hemijskih grupa HA u pravcu debljine HAP-kp; Raman spektri su snimljeni na poliranim poprečnim preseccima HAP-kp na lokaciji merenja 5, dok je debljina HAP-kp koja je nanesena pri datim uslovima iznosila  $\sim 120$   $\mu\text{m}$ .

## **PRILOG *F***

- Biografija autora; Izjave o autorstvu (**Prilog 1**), o istovetnosti elektronske i štampane verzije doktorskog rada (**Prilog 2**) i o korišćenju (**Prilog 3**) –

## Biografija autora



*Bojan R. Gligorijević*, diplomirani inženjer metalurgije i metalnih materijala, je rođen 23.06.1979 godine u Beogradu. Osnovnu školu „Vladimir Nazor“ završava u Železniku 1994 godine, a srednju elektrotehničku školu „Nikola Tesla“ u Beogradu 1998 godine. Tehnološko-metalurški fakultet upisuje 1998 godine. U toku studija, od maja 2005. do februara 2006 godine, Bojan R. Gligorijević zasniva svoj prvi radni odnos u oblasti istraživanja u grupi za fiziku materijala na Institutu za metalurgiju Tehnološkog Univerziteta Klaustal u Nemačkoj gde je pod rukovodstvom prof. dr Harald-a Schmidt-a bio angažovan na eksperimentima određivanja mehanizma difuzije kiseonika metodom razmene kiseonikovih izotopa u termalno formiranim silika slojevima na amorfnoj kovalentnoj Si-C-N keramici. Aprila 2007 godine diplomira na Katedri za

Metalurško Inženjerstvo Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu na temi „Ispitivanje difuzije kiseonika primenom razmene izotopa  $^{18}\text{O}_2/^{16}\text{O}_2$  na oksidovanoj amorfnoj kovalentnoj Si-C-N keramici“ sa ocenom 10 i ostvaruje prosečan uspeh na studijama sa ocenom 8,92. Na istoj katedri, pod mentorstvom prof. dr Nenada Radovića, *Bojan R. Gligorijević* nastavlja dalje usavršavanje i upisuje doktorske studije školske 2008/09 godine. Oktobra 2008 godine, kandidat takođe započinje specijalizaciju u oblasti zavarivanja i srodnih postupaka prema kriterijumima Međunarodnog Instituta za zavarivanje (IIW), a juna 2009 godine stiče stručno zvanje međunarodni inženjer zavarivanja (International Welding Engineer – IWE).

Nakon diplomiranja, od maja 2008 do avgusta 2013 godine, *Bojan R. Gligorijević* se zapošljava na Institutu Goša u Centru za zavarivanje i srodne postupke u svojstvu istraživača-saradnika. U ovom periodu, pored angažovanja na istraživačkim projektima Ministarstva Prosvete, Nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije aktivno učestvuje u hemijsko-strukturno-mehaničkim ispitivanjima materijala i izradi elaborata za privredu, izradi tehnologija zavarivanja, terenskom radu, pisanju projekata i obučavanju kadrova u oblasti zavarivanja i srodnih postupaka.

Od septembra 2013 godine do danas, *Bojan R. Gligorijević* je zaposlen u Inovacionom centru Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu i angažovan je na Nacionalnim projektima TR 34018 i TR 34028, koji su finansirani od strane Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije. U periodu decembar 2013 – januar 2014 godine, *Bojan R. Gligorijević* boravi u Singapuru na NTU-SPMS-CBC – (Nanyang Technological University – School for Physical and Mathematical Sciences – Division of Chemistry and Biological Chemistry) gde u svojstvu gostujućeg istraživača (*visiting researcher*) učestvuje u realizaciji pilot projekta vezanog za pravljenje i testiranje rastvora veštačke krvi u kome je takođe vršeno ispitivanje biomineralizacije hidroksiapatitnih prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim plazma sprej postupkom.

Od 2007. do danas, *Bojan R. Gligorijević* je učesnik brojnih internacionalnih i nacionalnih konferencija i skupova. Od maja 2013 je član Programskog Komiteta međunarodne konferencije „Welding and Related Technologies“, koju organizuju Ukrajinska akademija nauka (E.O. Paton Electric Welding Institute) i odeljenje Poljske akademije nauka u Kijevu, Ukrajina.

*Bojan R. Gligorijević* je učestvovao je u pisanju dva uspešna internacionalna projekta, od kojih je jedan bio finansiran od strane Svetske banke i bio namenjen za obučavanje kadrova u zavarivanju u području istočne Srbije (Bor i Majdanpek), dok je drugi bio projekat finansiran od strane Evropske Unije kroz program RSEDP 2 pod akronimom „W-tech“.

Od stranih jezika, *Bojan R. Gligorijević* govori engleski jezik na profesionalnom nivou, dok poznaje osnove nemačkog, francuskog i ruskog jezika.

Prilog 1.

## Izjava o autorstvu

Potpisani-a Bojan R.Gligorjević  
broj indeksa DS-4003/2008

### Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

Hemijsko-strukturna svojstva i biomineralizacija hidroksiapatitnih prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim plazma sprej postupkom

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, \_\_\_\_\_.

**Potpis doktoranta**  




Prilog 2.

## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Bojan R. Gligorijević  
Broj indeksa DS-4003/2008  
Studijski program Metalurško inženjerstvo  
Naslov rada Hemijsko-strukturna svojstva i biomineralizacija hidroksiapatitnih  
prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim plazma sprej postupkom  
Mentor dr Nenad Radović, van. prof. TMF-a

Potpisani/a 

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis doktoranta**

U Beogradu, \_\_\_\_\_.



**Prilog 3.**

## **Izjava o korišćenju**

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Hemijsko-strukturna svojstva i biomineralizacija hidroksiapatitnih prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim plazma sprej postupkom

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

① Autorstvo

2. Autorstvo - nekomercijalno

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima

5. Autorstvo – bez prerade

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

U Beogradu, \_\_\_\_\_.

**Potpis doktoranta**

