

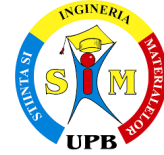


**UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCUREȘTI**

**Școala Doctorală Știința și Ingineria Materialelor**

313 Splaiul Independenței, Sector 6, București, 060042

Tel/fax: 021 402 9624; <http://www.sdsim.upb.ro>



## **Rezumatul Tezei de Doctorat**

**Studii și cercetări privind îmbunătățirea proprietăților de osteointegrare a titanului cu ajutorul tehnicilor electrochimice**

**Doctorand: Ionuț-Cornel Ionescu**

**Conducător științific: Prof.dr.ing Mihai Ovidiu Cojocaru**

### **COMISIA DE DOCTORAT**

Președinte	Prof.dr.habil.ing. <b>Florin Miculescu</b>	de la	Universitatea Politehnica din București
Conducător de doctorat	Prof.dr.ing. <b>Mihai Ovidiu Cojocaru</b>	de la	Universitatea Politehnica din București
Referent	Conf.dr. <b>Lucian Toma Ciocan</b>	de la	Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila"
Referent	Conf.dr.ing. <b>Bogdan Istrate</b>	de la	Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași
Referent	Conf.dr.ing. <b>Cosmin Mihai Cotruț</b>	de la	Universitatea Politehnica din București



## Cuprins

<b>Rezumat .....</b>	<b>4</b>
<b>Introducere .....</b>	<b>5</b>
<b>Capitolul 1. Biomateriale utilizate în medicina dentară pentru fabricarea implanturilor dentare .....</b>	<b>7</b>
<b>Capitolul 2. Tehnici de biofuncționalizare a titanului.....</b>	<b>7</b>
2.1 Obținerea suprafeței nanostructurate prin oxidare anodică .....	8
2.2 Metode de depunere a acoperirilor pe bază de hidroxiapatită .....	8
<b>Capitolul 3. Materiale, metode de analiză, caracterizare și testare a materialelor .....</b>	<b>9</b>
3.1 Obiectivele tezei de doctorat .....	9
3.2 Materiale utilizate .....	9
3.3 Metode de analiză și caracterizare .....	10
<b>Capitolul 4. Studii preliminare privind obținerea suprafețelor nanostructurate și a depunerilor electrochimice .....</b>	<b>10</b>
4.1 Introducere.....	10
4.2 Obținerea și caracterizarea suprafețelor nanostructurate cu nanotuburi de TiO <sub>2</sub> .....	10
4.2.1 Obținerea suprafețelor nanostructurate.....	10
4.2.2 Caracterizarea suprafețelor nanostructurate .....	11
4.2.3 Rugozitatea .....	12
4.3 Obținerea și caracterizarea acoperirilor osteoconductive .....	13
4.3.1 Obținerea acoperirilor osteoconductive.....	13
4.3.2 Caracterizarea acoperirilor osteoconductive .....	14
4.3.3 Concluzii.....	17
<b>Capitolul 5. Rezultate experimentale privind caracterizarea noilor suprafețe osteoconductive .....</b>	<b>17</b>
5.1 Obținerea acoperirilor osteoconductive depuse pe suprafață nanostructurată.....	17
5.2 Caracterizarea acoperirilor osteoconductive depuse pe suprafață nanostructurată .....	18
5.2.1 Morfologie .....	18
5.2.2 Compoziție elementală .....	19
5.2.3 Compoziție fazică, textura și dimensiunea de cristalit .....	20
5.2.4 Legături chimice .....	21
5.2.5 Rugozitate .....	21
5.2.6 Grosime de strat.....	22
5.2.7 Aderență .....	22
5.2.8 Energia de suprafață .....	23
<b>Capitolul 6. Testarea proprietăților suprafețelor nanostructurate și biofuncționalizate cu acoperiri pe bază de hidroxiapatită .....</b>	<b>24</b>
6.1 Testarea comportamentului electrochimic .....	24

6.1.1 Teste electrochimice de rezistență la polarizare .....	24
6.1.2 Investigații morfologice asupra acoperirilor după testele electrochimice .....	24
6.2 Evaluarea bioactivității în medii biologice simulate .....	24
6.2.1 Teste <i>in vitro</i> de biomineralizare .....	24
6.2.2 Teste <i>in vitro</i> de biodegradare .....	25
6.3 Evaluarea biocompatibilității prin teste de viabilitate celulară .....	26
6.3.1 Morfologia, proliferarea și viabilitatea celulară .....	26
6.4 Evaluarea eficienței antibacteriene .....	26
<b>Concluzii, contribuții proprii și direcții viitoare de cercetare.....</b>	<b>26</b>
Concluzii generale .....	26
Contribuții personale .....	29
Direcții viitoare de cercetare.....	30
<b>Bibliografie selectivă .....</b>	<b>31</b>
<b>Lista lucrărilor științifice publicate .....</b>	<b>34</b>
Lucrări științifice publicate în jurnale cotate/indexate ISI .....	34
Lucrări prezentate în cadrul unor conferințe internaționale .....	34

*Mulțumesc,*

*Domnului Prof. Dr. Ing. Mihai Cojocaru, conducătorul meu științific, pentru încrederea și răbdarea acordată pe întreaga perioadă a studiilor doctorale.*

*Distinșilor referenți, pentru bunăvoința de a fi acceptat această muncă și pentru aprecierile asupra tezei.*

*Membrilor Departamentului Știința Materialelelor Metalice, Metalurgie Fizică pentru sfaturile acordate în timpul realizării cercetărilor experimentale și ideile constructive asupra Tezei de doctorat.*

*Domnișoarei Ș.L. Dr. Ing. Diana Vrânceanu și domnișoarei Drd. Ing. Elena Ungureanu pentru sprijinul și suportul acordat pe tot parcursul activităților desfășurate în Laboratorul de Electrochimie și Funcționalizarea Suprafețelor din cadrul Universității Politehnica din București.*

*Doamnei C.S. II Dr. Irina Titorencu din cadrul Institutului de Biologie și Patologie Celulară "Nicolae Simionescu", pentru efectuarea testelor de biologie celulară pe culturi de celule osteoblaste.*

*Doamnei Prof. Dr. Mihaela Badea, Conf. Dr. Mihaela Idomir și ACS Cristina Adochițe din cadrul Universității Transilvania din Brașov, Facultatea de Medicină pentru efectuarea testelor antibacteriene pe culturi de bacterii E.coli.*

*Domnului Prof. Dr. Ing. Cristian Predescu din cadrul Universității Politehnica din București pentru sprijinul acordat în cadrul investigațiilor morfologice cu ajutorul microscopului de înaltă rezoluție.*

*Doamnei C.S. I Dr. Ing. Alina Vlădescu pentru accesul în laboratoarele Institutului Național de Cercetare Dezvoltare pentru Optoelectronică – INOE 2000 în vederea realizării investigațiilor structurale, de profilometrie și de umectabilitate.*

*Prietenilor mei pentru sprijinul și înțelegerea acordată pe perioada studiilor doctorale.*

*Mamei mele, dr. Aura Ionescu, și tatălui meu, Constantin Ionescu, pentru susținerea, suportul și înțelegerea acordată pe perioada studiilor doctorale.*

*Ionuț-Cornel Ionescu*

## Rezumat

În prezent, performanțele biomaterialelor din punct de vedere al capacității de osteointegrare, al reducerii aderenței bacteriene și a răspunsului inflamator, sunt în mod convențional îmbunătățite prin modificarea caracteristicilor de suprafață din punct de vedere al morfologiei/topografiei și/sau prin utilizarea de acoperiri funcționale.

Obiectivul principal al prezentei teze de doctorat constă în dezvoltarea de noi suprafețe cu proprietăți și caracteristici îmbunătățite din punct de vedere al comportamentului electrochimic, bioactivității, biocompatibilității și al eficienței antibacteriene, prin modificarea suprafeței biomaterialelor metalice pe baza de Ti utilizând tehnicile electrochimice pentru a obține o suprafață nanostructurată pe bază de nanotuburi de dioxid de titan (NT TiO<sub>2</sub>) și acoperirea ulterioară a acestora cu un strat de ceramică bioactivă pe bază de hidroxiapatită (H) nedopată și dopată cu elemente de dopare biocompatibile precum Mg (H-Mg) sau Zn (H-Zn).

Suprafața nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan (NT TiO<sub>2</sub>) obținută prin oxidarea anodică a Ti pur, utilizând un electrolit cu o concentrație de 0,5 wt.% HF și aplicând un potențial de 20V, timp de 30 min, a dus la obținerea unui diametru al NT de ~70 nm, o bună umectabilitate și o mai bună rezistență la coroziune, comparativ cu suprafața Ti pur. Ulterior, suprafața nanostructurată cu NT TiO<sub>2</sub> a fost biofuncționalizată cu acoperiri pe bază de HAp nedopată și dopată cu Mg sau Zn în diferite concentrații, utilizând tehnica electrochimică de depunere galvanostatică în pulsuri. Conform rezultatelor obținute din punct de vedere al aderenței și al grosimii de strat, probele care au prezentat o concentrație mai mare al elementului de dopare au fost eliminate întrucât au prezentat o aderență mai slabă la suprafața nanostructurată și diferențe notabile ale grosimi de strat, proprietăți care pot influența puternic rezultatul testelor ulterioare.

Testele *in vitro* au evidențiat faptul că adăugarea de Mg sau Zn în structura HAp poate ajusta comportamentul electrochimic al acoperirilor pe bază de HAp, putând fi totodată utilizate și pentru a îmbunătăți bioactivitatea, interacțiunea cu celulele osteoblaste, și de a oferi eficiență antibacteriană, în funcție de tipul elementului de dopare. Conform rezultatelor obținute, cea mai eficientă acoperire pe bază de HAp s-a dovedit a fi cea cu Zn, deoarece prezintă majoritatea proprietăților necesare unui bun comportament în organismul uman.

În concluzie se poate spune că proprietățile de osteointegrare ale dispozitivelor medicale implantabile pe bază de Ti pot fi îmbunătățite prin modificarea suprafeței utilizând tehnicile electrochimice, și anume oxidarea anodică și depunerea electrochimică galvanostatică în puls, acestea putând fi aplicate și pe forme geometrice complexe.

**Cuvinte cheie:** biofuncționalizare, nanotuburi de dioxid de titan, hidroxiapatită, dopare, magneziu, zinc.

## Introducere

Necesitatea la nivel global pentru utilizarea și obținerea de biomateriale mai eficiente și mai sigure crește considerabil, fiind în strânsă corelație cu creșterea anuală a populației lumii, a numărului tot mai mare de persoane în vârstă și a cerințelor funcționale ridicate de populația mai tânără. Titanul și aliajele sale sunt considerate ca fiind unele dintre cele mai importante biomateriale utilizate până în prezent, datorită caracteristicilor pe care le prezintă precum buna rezistență la coroziune în medii agresive, buna rezistență la solicitările mecanice și o bună biocompatibilitate.

Implanturile pe bază de titan sunt foarte stabile după implantarea în corpul uman, motiv pentru care sunt cunoscute ca fiind materiale bioinerte. Scopul clinic și cel mai critic factor în succesul pe termen lung al unui implant ortopedic sau dentar, este realizarea osteointegrării, prin stabilirea unei legături structurale și funcționale puternice la interfața biomaterial – țesut. Astfel, succesul unui implant nu este guvernat doar de materialul din care este fabricat, dar și de proprietățile de suprafață pe care acesta le are (chimia suprafeței, topografia, morfologia, structura, etc.), aceștia fiind factori critici în interacțiunea cu țesuturile din organismul uman.

În prezent, performanțele biomaterialelor sunt în mod convențional îmbunătățite prin modificarea caracteristicilor de suprafață din punct de vedere morfologic/topografic și/sau prin acoperiri funcționale. Această necesitate majoră de modificare a suprafeței implanturilor derivă din dorința de a îmbunătăți capacitatea de osteointegrare a biomaterialelor, de a reduce aderența bacteriană și răspunsul inflamator.

Astfel, această combinație de proprietăți pe care Ti și aliajele sale le prezintă, împreună cu posibilitățile versatile de modificare și biofuncționalizare a suprafeței, fac ca aceste materiale să fie potrivite pentru a putea fi utilizate cu succes în aplicațiile medicale.

**Obiectivul** principal al prezentei teze de doctorat "*Studii și cercetări privind îmbunătățirea proprietăților de osteointegrare a titanului cu ajutorul tehnicilor electrochimice*" constă în dezvoltarea de noi suprafețe cu proprietăți și caracteristici îmbunătățite, prin modificarea suprafeței biomaterialelor metalice pe baza de Ti utilizând tehnicile electrochimice în vederea obținerii de suprafețe nanostructurate pe bază de dioxid de titan (TiO<sub>2</sub>) sub formă de nanotuburi (NT) și acoperirea acestora cu ceramici bioactive pe bază de hidroxiapatită dopată cu elemente biocompatibile precum Mg sau Zn cu ajutorul tehnicii galvanostatice în pulsuri.

Teza este structurată în 6 capitole, fiind însoțită de o introducere și concluzii asupra rezultatelor obținute, precum și o bibliografie constituită din 246 de referințe bibliografice.

Primele două capitole cuprind o sinteză a studiilor publicate în literatura de specialitate, privind subiectul abordat în cadrul prezentei teze de doctorat.

**Capitolul 1** prezintă un studiu documentar ce abordează aspectele generale ale biomaterialelor utilizate în medicina dentară pentru fabricarea implanturilor dentare, punându-se accent pe titan și aliajele sale acestea fiind principalele materiale utilizate a fabricarea dispozitivelor implantabile, precum și pe biomaterialele ceramice pe bază de hidroxiapatită. De asemenea în cadrul acestui capitol sunt prezentate domeniile de utilizare ale acestor biomateriale împreună cu proprietățile specifice și aplicabilitatea acestora.

În cadrul **capitolului 2** este realizată o clasificare a tehnicilor de biofuncționalizare a suprafețelor metalice prin metode de modificare a suprafeței titanului utilizând tehnici mecanice, fizice, chimice și electrochimice, cât și prin utilizarea de acoperiri pe bază de hidroxiapatită, cu accent pe tehnicile electrochimice, de oxidare anodică și respectiv depuneri electrochimice, acestea fiind și tehnicile utilizate în cadrul prezentei teze de doctorat.

**Capitolul 3** prezintă obiectivele tezei de doctorat, materialele utilizate și strategia cercetărilor experimentale realizate pe parcursul tezei de doctorat. Metodele de caracterizare utilizate în cadrul prezentei teze de doctorat au vizat investigarea detaliată din punct de vedere

fizico-chimic folosind microscopia electronică de baleiaj (SEM), spectrometria de raze X cu dispersie după energie (EDS), difracția de raze X (XRD), spectrometria în infra-roșu cu transformată Fourier (FTIR), profilometria de contact, testul cu ”bandă adezivă”, testul prin zgâriere și energia de suprafață.

O caracteristică deosebit de importantă a acestor biomateriale o constituie comportamentul acestora în medii care simulează mediul uman, astfel, o atenție deosebit de importantă a fost acordată testărilor, fiind realizate teste de evaluare a comportamentului electrochimic în soluție biologică simulată (SBF) și salivă artificială Fusayama Meyer, precum și teste de bioactivitate prin imersie, punându-se accent pe capacitatea de biomineralizare în SBF dar și de biodegradare în soluție tampon fosfat (PBS).

Compatibilitatea de natură biologică a fost pusă în evidență prin efectuarea unor teste de viabilitate celulară *in vitro* utilizând testul cu sare de tetrazoliu (testul MTT) pentru cuantificarea viabilității celulare. Testele de biologie celulară au fost realizate utilizând culturi de celule osoase, mai precis celule osteoblaste din linia de osteosarcom uman MG63.

Un alt aspect important abordat în cadrul prezentei teze de doctorat a fost testarea eficienței bacteriene a suprafețelor dezvoltate. Testele antibacteriene au fost realizate pe tulpini bacteriene de *Escherichia coli* – *E.coli* (ATCC 25922).

În **capitolul 4** sunt prezentate rezultatele preliminare privind obținerea și caracterizarea suprafețelor nanostructurate cu nanotuburi de dioxid de titan (NT) obținute prin oxidare anodică, precum și a depunerilor electrochimice pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Mg în diferite concentrații pe substrat de aliaj de Ti obținute prin depunere electrochimică utilizând tehnica galvanostatică în pulsuri.

În **capitolul 5** sunt prezentate rezultatele experimentale privind obținerea și caracterizarea suprafeței nanostructurate cu nanotuburi de dioxid de titan (NT) selectată din **capitolul 4** neacoperită și acoperită cu straturi pe bază de hidroxiapatită nedopată (H) și dopată cu Mg (H-Mg) sau Zn (H-Zn) în diferite concentrații, și a vizat influența elementelor de dopare asupra caracteristicilor fizico-chimice ale hidroxiapatitei. Pe baza rezultatelor obținute în cadrul acestui capitol au fost selectate acoperirile care urmează a fi testate.

Astfel, în **capitolul 6** sunt prezentate rezultatele obținute în urma testării suprafețelor nanostructurate cu nanotuburi de dioxid de titan neacoperite și acoperite straturi pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Mg sau Zn în concentrații optime, din punct de vedere al comportamentului electrochimic, bioactivității, biocompatibilității și a eficienței antibacteriene.

Capitolul final, intitulat **Concluzii**, sintetizează principalele rezultate obținute pe parcursul elaborării tezei de doctorat, fiind totodată evidențiate contribuțiile originale ale autorului, dar și direcțiile viitoare de cercetare, întrucât unele probleme abordate rămân deschise pentru o tratare ulterioară mai amplă și, după caz, mai minuțioasă.



## Partea I

### Capitolul 1. Biomateriale utilizate în medicina dentară pentru fabricarea implanturilor dentare

În prezent, biomaterialele sunt văzute ca fiind indispensabile îmbunătățirii și extinderii calității vieții omului, putând fi utilizate sub formă individuală sau ca și componentă a unui sistem mai complex, având ca scop îndeplinirea funcțiilor pentru care a fost proiectat [4,5]. În Figura 1.1 este prezentată o ilustrare schematică a clasificării biomaterialelor în funcție de natura lor chimică și interacțiunea cu organismul uman.

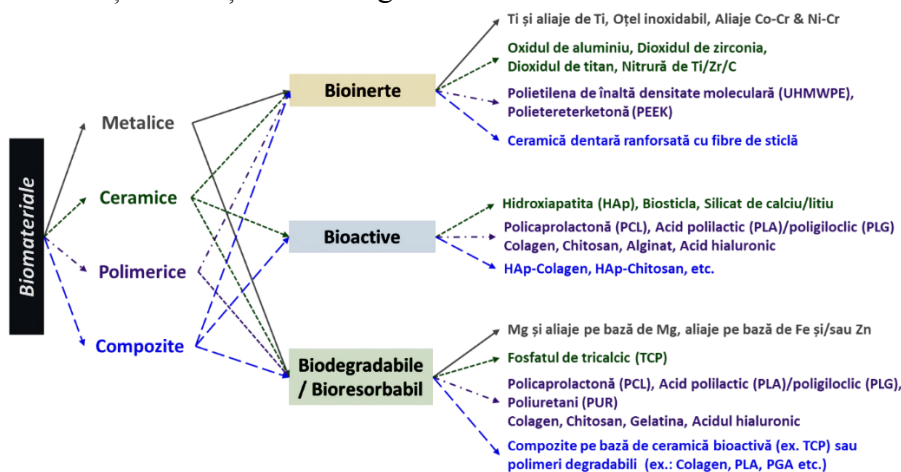


Figura 1.1. Clasificarea biomaterialelor în funcție de natura lor și răspunsul organismului uman

Este estimat ca implanturile dentare să aibă o rată de succes de 90% după 10 - 15 ani de la implantare. Cu toate acestea, între 5% și 11% dintre implanturile dentare nu prezintă o bună osteointegrare în țesuturile dure maxilo-faciale. Eșecul stabilității pe termen lung a implantului dentar se poate datora unor cauze biologice (20% dintre ele se datorează peri-implantitei, datorită formării plăcii microbiene sau a infecțiilor bacteriene [82]) și mecanice (osteopenia [83]). Comunitatea științifică depune eforturi considerabile pentru a găsi soluții optime, ușor de aplicat, fezabile și eficiente pentru a capacitatea de osteointegrare a implanturilor pe bază de Ti, dar și de a reducere sau chiar elimina infecțiile asociate implanturilor prin identificarea de agenți, elemente și materiale cu eficiență antibacteriană. În atingerea acestui obiectiv sunt utilizate diferite tehnici avansate de obținere și/sau procesare, urmate de acoperiri și modificări adecvate ale suprafeței.

### Capitolul 2. Tehnici de biofuncționalizare a titanului

Implanturile metalice au fost utilizate pe scară largă pentru a înlocui osul uman deteriorat, de mai bine de 40 de ani, rămânând în continuare cele mai utilizate. Cu toate acestea, este bine cunoscut că biomateriale metalice nu prezintă un caracter bioactiv necesar materialului implantabil pentru a forma o legătură biologică cu țesuturile adiacente, iar pentru a depăși adeziunea insuficientă, suprafața implanturilor metalice poate fi biofuncționalizată, fie prin metode mecanice și chimice sau cu straturi bioactive și durabile [85]. Cel mai important aspect și de care depinde în mare măsură succesul unui implant este starea suprafeței implantului.

În Figura 2.1 sunt prezentate principalele metode de biofuncționalizare ale titanului. Tratamentele de suprafață sau metodele de modificare pot îmbunătăți caracteristicile biologice ale implanturilor prin adăugarea de materiale cu proprietăți specifice, modificarea compoziției sau îndepărtarea materialului nedorit de pe suprafața implantului.

METODE DE BIOFUNCȚIONALIZARE A TITANULUI		
Metode	A Metode de modificare a suprafeței	B Tehnici de acoperire cu HAp
Mecanice	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Șlefuire, Lustruire</li> <li>▪ Sablare cu particule de <math>Al_2O_3</math>, SiC, <math>TiO_2</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ —</li> </ul>
Fizice	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Tratament în plasmă</li> <li>▪ Ablajie laser</li> <li>▪ Implantare ionică</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Pulverizare fizică din starea de vapori (PVD)</li> <li>▪ Pulverizare magnetron</li> <li>▪ Pulverizare în plasmă</li> <li>▪ Pulverizare termică</li> <li>▪ Depunere laser pulsată</li> <li>▪ Tratament/Iradie cu microunde</li> <li>▪ Oxidare la temperatură ridicată</li> <li>▪ Depunere asistată cu fascicul de ioni / electroni</li> </ul>
Chimice	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Tratament cu <math>H_2O_2</math></li> <li>▪ Tratament alcalin (NaOH, KOH)</li> <li>▪ Atac chimic cu acizi (HF)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Pulverizare chimică din starea de vapori (CVD)</li> <li>▪ Metoda biomimetică</li> <li>▪ Metoda sol-gel</li> <li>▪ Metoda hidrotermală</li> </ul>
Electrochimice	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Oxidare anodică</li> <li>▪ Lustruire electrochimică</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Depunere electrochimică</li> <li>▪ Depunere electroforetică</li> <li>▪ Oxidare în plasmă electrolitică</li> </ul>

Figura 2.1. Clasificarea principalelor metode de biofuncționalizare a titanului

## 2.1 Obținerea suprafeței nanostructurate prin oxidare anodică

Oxidare anodică este o tehnică versatilă, capabilă de a modifica proprietățile oxidului dezvoltat prin modificarea și/sau ajustarea parametrilor electrochimici (potențial aplicat, compoziția și concentrația electrolitului, timpul de anodizare, temperatura de proces, agitarea electrolitului, etc.) [94,100].

Wang și colaboratorii [123] au indicat o creștere notabilă a contactului dintre os și implant și a nivelului de expresie a genelor în osul fixat la NT  $TiO_2$ , în timp ce von Willmowski și colaboratorii [75] au raportat că expresia osteocalcinei a crescut cel mai mult pentru nanotuburile de  $TiO_2$  cu un diametru de 70 nm atunci când NT  $TiO_2$  cu diferite diametre (15-100 nm) au fost implantate într-un craniu de porc.

## 2.2 Metode de depunere a acoperirilor pe bază de hidroxiapatită

Modificările de suprafață ale implanturilor metalice cu acoperiri au rolul de a evita un răspuns nedorit din partea organismului gazdă, de a reduce aderența bacteriană și reacția inflamatorie imediată, precum și de a crește capacitatea de osteointegrare a implanturilor și aderența tisulară.

Pentru a îmbunătăți performanța biologică și biocompatibilitatea implanturilor metalice, de cele mai multe ori acestea sunt biofuncționalizate cu acoperiri pe bază de fosfați de calciu (CaP), dintre care cea mai întâlnită este hidroxiapatita (HAp,  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ) datorită similitudinii sale cu omoloaga sa întâlnită în faza anorganică a țesuturilor dure - HAp stoechiometrică – ce prezintă un raport Ca/P de 1,67.

**Metodele electrochimice**, sunt metode versatile, ce permit obținerea de acoperiri pe bază de hidroxiapatită nedopată sau dopată cu diferite tipuri de elemente biocompatibile, în vederea biofuncționalizării biomaterialelor metalice [7,136,137]. Depunerea electrochimică este un proces relativ rapid, care poate fi realizat inclusiv la temperaturi mici și în urma cărora se formează straturi uniforme ce acoperă întreaga suprafață expusă electrolitului. Totodată trebuie menționat faptul ca aceste metode sunt fezabile și pentru substraturi metalice care prezintă geometrii complexe [7,46], acesta fiind un mare avantaj al acestei metode comparativ cu alte tipuri de depunere.

În general depunerile electrochimice se pot realiza utilizând următoarele tehnici [7,136,141,142]: **tehnica potențiostatică/potențiodinamică, tehnica galvanostatică, tehnica în pulsuri.**

## Partea a II-a

### Capitolul 3. Materiale, metode de analiză, caracterizare și testare a materialelor

#### 3.1 Obiectivele tezei de doctorat

Obiectivul general al tezei de doctorat a urmărit îmbunătățirea proprietăților de osteointegrare a titanului prin dezvoltarea de suprafețe nanostructurate cu nanotuburi de dioxid de titan și acoperirea acestora cu straturi de hidroxiapatită cu proprietăți îmbunătățite din punct de vedere al comportamentului electrochimic, bioactivității, biocompatibilității și al eficienței antibacteriene. Pentru atingerea acestui deziderat o serie de obiective specifice au fost necesare:

1. Dezvoltarea unor suprafețe nanostructurate pe titan pur care să fie alcătuite din nanotuburi de dioxid de titan cu structură cristalină, cu un diametru de aproximativ 70 nm al nanotuburilor și care să îmbunătățească proprietățile de umectabilitate și rezistență la coroziune;
2. Identificarea influenței concentrației de Mg asupra caracteristicilor fizico-chimice, în vederea selecției unor acoperiri pe bază de hidroxiapatită dopată cu Mg în concentrație optimă, care ulterior vor fi utilizate pentru acoperirea suprafețelor nanostructurate;
3. Obținerea de straturi pe bază de hidroxiapatită dopată cu Mg sau Zn cu diferite concentrații pe suprafața nanostructurată a titanului;
4. Investigarea fizico-chimică și structurală a acoperirilor pe bază de hidroxiapatită dopată cu Mg sau Zn cu diferite concentrații pe suprafața nanostructurată și selectarea acestora în vederea testărilor ulterioare;
5. Testarea acoperirilor pe bază de hidroxiapatită dopată cu Mg sau Zn pe suprafața nanostructurată selectate după investigarea complexă, în vederea evaluării comportamentului electrochimic, bioactivității, biocompatibilității și al activității antibacteriene.

#### 3.2 Materiale utilizate

Titanul pur a fost utilizat în cadrul acestei teze în scopul biofuncționalizării suprafeței acestuia, având ca scop transformarea caracterului *inert* în *bioactiv*, la interfața cu țesuturile dure umane. În cazul testelor preliminare ce au avut ca scop identificarea cantității de element de dopare ce poate fi adăugată în structura hidroxiapatitei (HAp), sub formă de depuneri, pentru ca proprietățile acesteia să fie ajustate/controlate pentru a fi folosite în aplicații medicale a fost utilizat un aliaj de Ti și anume Ti6Al4V-ELI (Titan gradul 5).

Suprafața discurilor din Ti pur utilizate în cadrul metodei de nanostructurare a suprafeței și utilizate ulterior ca substrat pentru depunerile bioactive pe baza de hidroxiapatită, precum și cea a discurilor din aliaj Ti6Al4V utilizate ca substrat pentru depunerile preliminare de straturi pe bază de hidroxiapatită, a fost pregătită după cum urmează: (i) șlefuire pe hârtie metalografică de diferite dimensiuni ale particulelor abrazive de carbură de siliciu (SiC), acestea variind în intervalul 200 – 1200, (ii) lustruire în prezența unui emulsii pe bază de alumina ( $Al_2O_3$ ) cu o dimensiune a particulelor de 1  $\mu m$ , obținându-se astfel o suprafață cu aspect de luciu metalic, (iii) curățare și degresare în acetona utilizând o baie cu ultrasunete (Bandelin), timp de 30 de minute și apoi clătire cu apă ultrapură.

Pentru prepararea tuturor electroliților utilizați în cadrul metodelor de modificare a suprafețelor și mediilor de testare a noilor suprafețe dezvoltate au fost utilizate substanțe chimice de înaltă puritate produse de Sigma-Aldrich și Merk. La prepararea acestora dar și pentru curățarea/clătirea probelor experimentale a fost utilizată apă de două tipuri conform ASTM D1193-06(2018) (Specificații tehnice pentru apa utilizată ca reactiv): Tip I – apă ultra pură și Tip III – apa deionizată. Pentru prepararea acestor două tipuri de apă a fost utilizat un Sistem de purificare a apei Direct-Q3 UV produs de Millipore-Merk.

Pentru a reproduce condițiile în care dispozitivele medicale își exercită funcția, în organismul uman, pot fi utilizate mediile acelulare pentru testarea comportamentului *in vivo*. Astfel de medii sunt: soluția biologică sintetică (SBF) care a fost propusă de Kokubo [147], saliva artificială (SA) sau soluția tampon fosfat (PMS) utilizată și în biologice celulară.

### 3.3 Metode de analiză și caracterizare

Suprafețele nanostructurate dezvoltate și acoperirile bioactive studiate în cadrul prezentei teze de doctorat au fost analizate pentru determinarea: morfologiei suprafeței; compoziției elementale; legăturilor chimice; compoziției fazice, texturii și dimensiunii cristalitelor; proprietăților mecanice; rugozitate; grosime de strat; aderență; proprietăților de umectabilitate și determinarea energiilor de suprafață.

## Capitolul 4. Studii preliminare privind obținerea suprafețelor nanostructurate și a depunerilor electrochimice

### 4.1 Introducere

În vederea realizării unor suprafețe nanostructurate cu nanotuburi de dioxid de titan (NT-TiO<sub>2</sub>) ale căror proprietăți să fie adaptate cerințelor clinice cum ar fi structura cristalină și diametrul nanotuburilor, mai multe experimente au fost realizate pentru ca aceste deziderate să fie îndeplinite. Studii preliminare au fost efectuate și asupra depunerilor electrochimice de HAp dopată cu Mg pentru a se identifica cantitatea de element de dopare ce poate fi adăugată în structura HAp pentru ca proprietățile acesteia să fie ajustate/controlate pentru a fi folosite în aplicații medicale.

### 4.2 Obținerea și caracterizarea suprafețelor nanostructurate cu nanotuburi de TiO<sub>2</sub>

În cadrul prezentei teze de doctorat s-a realizat inițial optimizarea procesului de oxidare anodică prin selectarea parametrilor de proces și modificarea timpului de anodizare, fiind astfel selectate trei intervale de timp, de 30, 60 și 120 de minute.

Studiile științifice din ultima perioadă dar și o analiză sintetică a pieței de dispozitive medicale implantabile converg către ideea că bioactivarea titanului cu NT-TiO<sub>2</sub> cu diametrul de aproximativ 70 nm îmbunătățesc capacitatea de osteointegrare și biocompatibilitatea biomaterialelor pe bază de Ti utilizate în aplicațiile medicale [170,171].

#### 4.2.1 Obținerea suprafețelor nanostructurate

##### 4.2.1.1 Pregătirea probelor

Probele de titan pur (cp-Ti, gradul 2) sub formă de discuri a căror suprafață a fost pregătită conform metodei descrisă în §3.1 au fost utilizate în cadrul tratamentului de nanostructurare a suprafețelor (oxidare anodică).

##### 4.2.1.2 Oxidare anodică

Creșterea nanotuburilor de TiO<sub>2</sub> pe suprafața cp-Ti prin oxidare anodică a fost realizată în prezența unei soluții electrolitice cu o concentrație de 0,5 wt% HF. Procesul de oxidare anodică a fost realizat la un potențial constant de 20 V, timp de 120 min., 60 min., și respectiv 30 min., la temperatura camerei prin conectarea la o sursă de curent

*Tabel 4.1. Codificarea probelor și parametri electrochimici utilizați*

Material	Codificare probe
cp Ti lustruit	Ti-L
cp Ti anodizat timp de 120 min	NT-120
cp Ti anodizat timp de 120 min și tratat termic	NT-120 (TT)
cp Ti anodizat timp de 60 min	NT-60
cp Ti anodizat timp de 60 min și tratat termic	NT-60 (TT)
cp Ti anodizat timp de 30 min	NT-30
cp Ti anodizat timp de 30 min și tratat termic	NT-30 (TT)

continuu (Keysight DC N5771A) [48,49,102]. După etapa de oxidare anodică, probele au fost clătite cu apă ultra pură și uscate în jet de aer cald. În Tabelul 4.1. este prezentată codificarea probelor, împreună cu parametrii selectați

#### 4.2.1.3 Tratament termic

Pentru această modificarea structurală, a fost realizat un tratament termic la o temperatură de 450 °C, timp de 2 ore, utilizând un cuptor de tratamente termice (Nabertherm, Germania) iar răcirea a fost realizată în aer.

#### 4.2.2 Caracterizarea suprafețelor nanostructurate

După obținerea suprafețelor nanostructurate, acestea au fost caracterizate din punct de vedere al morfologiei, compoziției elementale și fazice, fiind totodată puse în evidență și caracteristici de suprafață precum, rugozitatea, gradul de umectare dar și rezistența la coroziune.

##### 4.2.2.1 Morfologie

În Figura 4.3 este prezentată morfologia suprafețelor obținute în urma oxidării anodice și tratamentul termic aplicat ulterior. Suprafața nanostructurată este formată din nanotuburi de dioxid de titan (NT-TiO<sub>2</sub>) aliniat, orientate vertical, goale pe interior, putând fi descrise ca fiind structuri tubulare paralele, distribuite uniform pe întreaga suprafață.

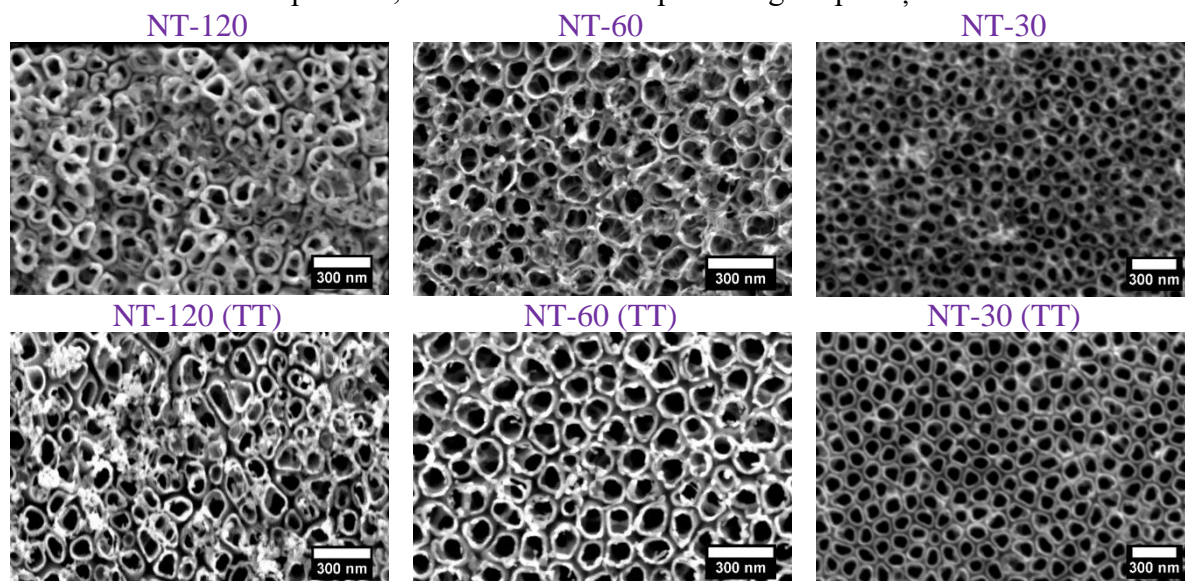


Figura 4.3. Imagini SEM cu morfologia suprafețelor după oxidarea anodică timp de 120, 60, și 30 min și tratament termic

Utilizând imaginile achiziționate cu ajutorul HR-SEM și softul de prelucrare a imaginilor, Image J, au fost măsurate diametrele nanotuburilor (Tabelul 4.3 și Figura 4.5). Conform acestei analize, a fost remarcat faptul că în cazul tuturor suprafețelor, tratamentul termic duce la o ușoară scădere a diametrului nanotuburilor către o valoare de aproximativ 70 de nm (de la un maxim de aproximativ 130 nm), precum și la o mai bună organizare a acestora.

Tabel 4.3. Diametrul nanotuburilor obținute în funcție de timpul de anodizare aplicat

Probă	Diametru NT
NT-120	128,25 (±10,96)
NT-120 (TT)	120,19 (±13,37)
NT-60	77,67 (± 15,94)
NT-60 (TT)	75,81 (± 10,89)
NT-30	75,27 (± 15,76)
NT-30 (TT)	70,08 (±11,67)

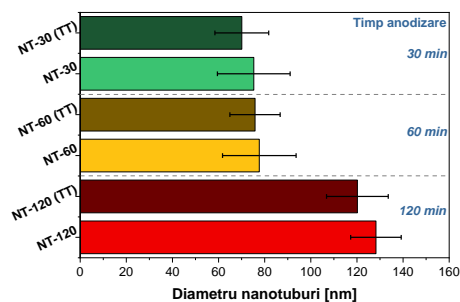


Figura 4.5. Diametrul nanotuburilor obținute în funcție de timpul de anodizare aplicat

#### 4.2.2.2 Compoziție elementală

Compoziția chimică obținută prin analiza EDS, a evidențiat prezența principalelor componente ale stratului de oxid și materialului de bază, și anume oxigen (O) și titan (Ti). Conform analizei EDS realizată pe suprafața eșantioanelor experimentale oxidate anodic se poate observa o creștere a concentrației de oxigen și o scădere a celei corespunzătoare titanului, independent de timpul de oxidare anodică, sugerând faptul că grosimea stratului de oxid de titan a crescut după tratamentul termic.

#### 4.2.2.1 Compoziție fizică

După cum poate fi observat (Figura 4.8), indiferent de timpul de anodizare selectat, înainte de tratamentul termic, dioxidul de titan ( $\text{TiO}_2$ ) prezintă o structură amorfă, fiind identificate ca fază principală Ti (conform ICDD # 04-007-9313) care a fost utilizat ca material de bază.

După aplicarea tratamentului termic, se poate observa apariția unor maxime de difracție caracteristice fazelor cristaline de  $\text{TiO}_2$  și anume, anatase conform standardului ICDD #021-1272 ca fază majoritară, precum și câteva maxime de difracție specifice rutilului (ICDD #021-1276). În urma rezultatelor obținute și a condițiilor necesare alegerii unor suprafețe nanostructurate cu nanotuburi de  $\text{TiO}_2$  al căror diametru să nu depășească 80 nm, s-a considerat că suprafețele obținute prin oxidare anodică la 120 de minute să fie înlăturate din prezentul studiu.

#### 4.2.3 Rugozitatea

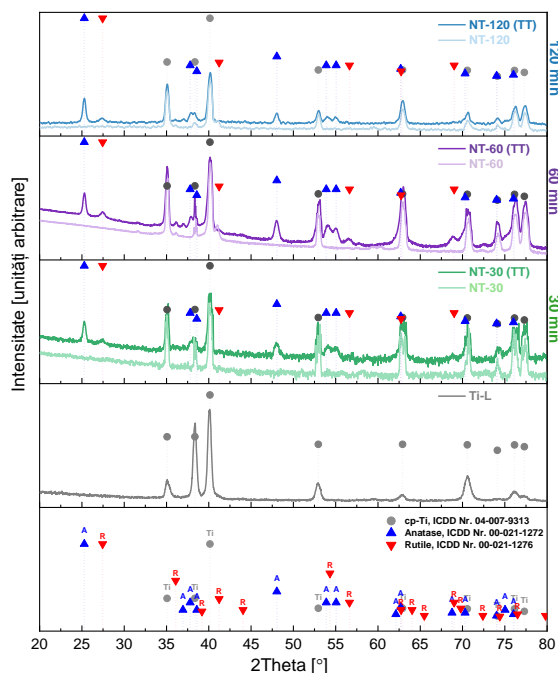
În Tabelul 4.6. sunt prezentați principalii parametri ai rugozității,  $R_a$ ,  $R_q$  și factorul de asimetrie,  $R_{Sk}$ , obținuți în urma măsurătorilor. Suprafețele lustruite a căror valori pot varia între 0,1  $\mu\text{m}$  și 3  $\mu\text{m}$  [185], au înregistrat valori de aprox. 82 nm în cazul parametrului  $R_a$ . Se observă că după procesul de anodizare, cel mai important parametru ce caracterizează rugozitatea ( $R_a$ ), prezintă creșteri semnificative care după aplicarea tratamentului termic încep să scadă.

**Tabel 4.6.** Valorile medii ale parametrilor ce caracterizează rugozitatea suprafețelor obținute ( $R_a$ ,  $R_q$  și  $R_{Sk}$ )

Denumire material	$R_a$ [nm]	$R_q$ [nm]	$R_{Sk}$
Ti-L	81,7 ( $\pm$ 11,4)	103,2 ( $\pm$ 13,4)	0,05 ( $\pm$ 0,01)
NT-60	266,8 ( $\pm$ 19,1)	335,1 ( $\pm$ 25,2)	0,12 ( $\pm$ 0,03)
NT-60 (TT)	186,3 ( $\pm$ 9,1)	234,6 ( $\pm$ 10,8)	-0,13 ( $\pm$ 0,05)
NT-30	159,8 ( $\pm$ 12,8)	198,34 ( $\pm$ 14,7)	0,20 ( $\pm$ 0,04)
NT-30 (TT)	128,2 ( $\pm$ 12,1)	161,48 ( $\pm$ 16,9)	0,17 ( $\pm$ 0,03)

#### 4.2.3.1 Gradul de umectare

Gradul de umectare este un factor important, care joacă un rol esențial în biocompatibilitatea și funcționalitatea implanturilor. În Figura 4.10 sunt prezentate rezultatele obținute în urma măsurătorilor unghiului de contact pentru suprafețele dezvoltate, dar și imagini cu forma picăturilor de SBF în contact cu suprafețele investigate. Se poate observa însă ca nici



**Figura 4.8.** Difractograme suprafețelor nanostructurate dezvoltate, înainte și după tratamentul termic

una din suprafețe nu prezintă un unghi de contact mai mare de  $90^\circ$ , indicând o suprafață hidrofilă cu energie de suprafață mare, adică lichidul se va răspândi pe suprafața solidă.

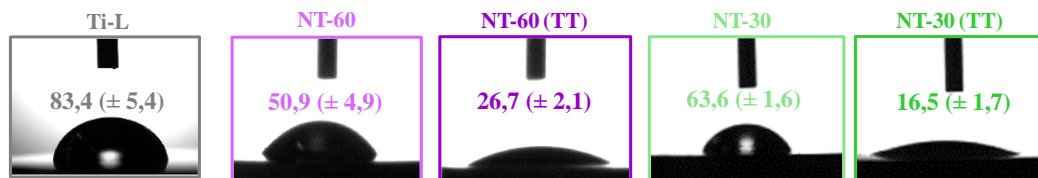


Figura 4.10. Valorile unghiului de contact pentru suprafața de Ti lustruită și suprafețele nanostructurate

Ca și o concluzie generală se poate spune că tratamentul de oxidare anodică face ca noile suprafețe nanostructurate să aibă un caracter mai hidrofil raportat la suprafața inițială (lustruită), iar cea mai mică valoare a unghiului de contact și în consecință cea mai mare umectabilitate, este înregistrată în cazul suprafeței obținută la un timp de 30 min. de anodizare și ulterior tratată termic (NT-30 (TT)).

#### 4.2.3.2 Rezistența la coroziune

Este cunoscut faptul că un material prezintă o bună rezistență la coroziune dacă acesta prezintă un potențial de coroziune ( $E_{cor}$ ) mai electropozitiv, o densitate de curent de coroziune scăzută ( $i_{cor}$ ) și o rezistență la polarizare mare ( $R_p$ ) [158,186]. În Figura 4.12 sunt prezentate curbele Tafel iar în Tabelul 4.7 sunt prezentați principalii parametri ai procesului de coroziune electrochimică obținuți în urma testelor de rezistență la coroziune în SBF.

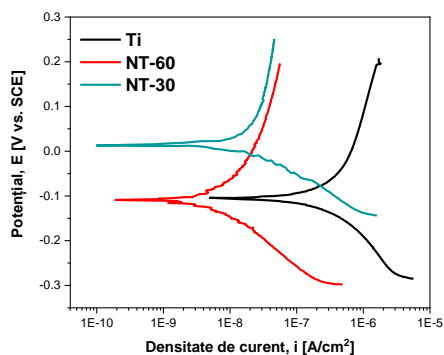


Figura 4.12. Curbele Tafel pentru materialele investigate

Tabel 4.7. Parametrii electrochimici caracteristici suprafețelor investigate ( $E_{cor}$  – potențial de coroziune,  $i_{cor}$  – densitate de curent de coroziune,  $R_p$  – rezistență la polarizare,  $CR$  – viteză de coroziune)

Proba	$E_{cor}$ (mV)	$i_{cor}$ (nA/cm <sup>2</sup> )	$\beta_c$ (mV)	$\beta_a$ (mV)	$R_p$ (k $\Omega$ cm <sup>2</sup> )	$CR$ ( $\mu$ m/an)
Ti-L	-105	684,32	242,56	839,50	119,56	5,96
NT-30 (TT)	-133	68,78	94,165	837,312	547,16	0,58
NT-60 (TT)	-109	11,143	136,63	421,80	4.026,83	0,01

Astfel, ținând cont de criteriile de mai sus enunțate se poate spune că titanul cu suprafețe nanostructurate cu nanotuburi de  $TiO_2$  prezintă o mai bună rezistență la coroziune în SBF, comparativ cu suprafața lustruită (Ti-L).

### 4.3 Obținerea și caracterizarea acoperirilor osteoconductive

În acest subcapitol sunt prezentate studiile preliminare ce au fost efectuate cu privire la obținerea depunerilor electrochimice de HAp dopată cu Mg pentru identificarea cantității de element de dopare ce poate fi adăugată în structura HAp pentru ca proprietățile acesteia să fie ajustate/controlate cu scopul de a fi folosite în aplicații medicale.

#### 4.3.1 Obținerea acoperirilor osteoconductive

##### 4.3.1.2 Depunerea electrochimică în regim pulsat

Substratul metalic din aliaj de titan, sub formă de discuri cu  $\Phi = 20$  mm și  $h = 2$  mm a fost utilizat ca electrod de lucru. Depunerile electrochimice au fost realizate într-o celulă electrochimică standard cu trei electrozi, respectiv: electrod de lucru (WE) –  $Ti6Al4V$ , electrod de referință (RE) – electrod de Calomel și electrod auxiliar (AE) – electrod de platină, cu

ajutorul unui potențostat/galvanostat PARSTAT MC (Princeton Applied Research - Ametek) utilizând tehnica galvanică în regim pulsant [141].

Codificarea probelor se regăsește în Tabelul 4.8. Parametri specifici tehnicii electrochimice în pulsuri sunt prezentați în Tabelul 4.9. Compoziția chimică a electroliților utilizați la obținerea acoperirilor pe bază de HAp este prezentată în Tabelul 4.10. Electroliții au fost pregătiți astfel încât raportul (Ca+Mg)/P să fie similar hidroxiapatitei stoechiometrice de 1,67.

**Tabel 4.8.** Codificarea probelor acoperite cu HAp nedopată și dopată cu Mg

Material	Codificare acoperiri
HAp	H
HAp dopată cu 1,05 mM Mg	H-Mg1
HAp dopată cu 1,575 mM Mg	H-Mg1,5
HAp dopată cu 2,10 mM Mg	H-Mg2

**Tabel 4.9.** Parametri electrochimici utilizați în cadrul depunerilor de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Mg

Parametri de depunere	Codificare probe
$i_{ON}$ [mA/cm <sup>2</sup> ]; $t_{ON}$ [s]	H; H-Mg1; H-Mg1,5; H-Mg2
Ciclu $i_{OFF}$ [mA/cm <sup>2</sup> ]; $t_{OFF}$ [s]	- 0,85 mA/cm <sup>2</sup> ; 1 s
Număr de cicluri;	0 mA/cm <sup>2</sup> ; 1 s
Timp total depunere	1200 cicluri
Temperatura	40 min.
	75 °C

**Tabel 4.10.** Compoziția chimică a electroliților utilizați la obținerea acoperirilor de HAp nedopată și dopată cu Mg

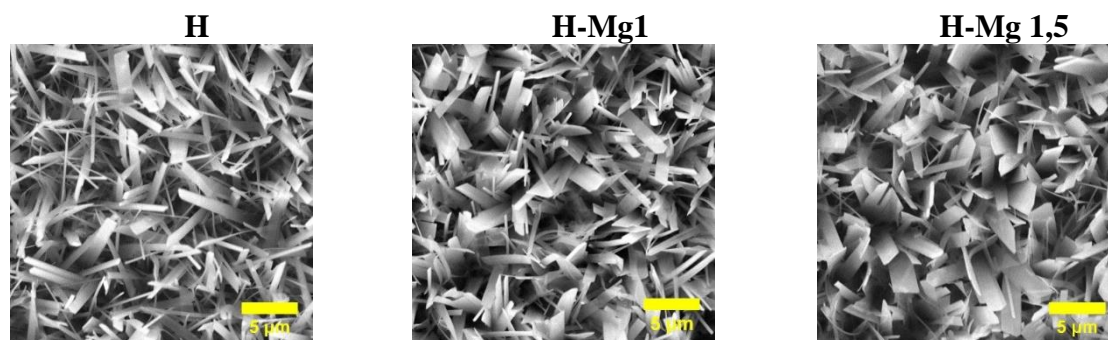
Substrat	Strat	Codificare probe	Compoziție chimică electrolit [mM]			pH
			Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6 H <sub>2</sub> O	
Ti6Al4V	HAp	H	10,500	-	-	5 (ajustat cu 1 M NaOH)
	HAp+Mg	H-Mg 1	9,450	6,25	1,050	
		H-Mg1,5	8,925		1,575	
		H-Mg2	8,400		2,100	

### 4.3.2 Caracterizarea acoperirilor osteoconductive

Eșantioanele experimentale obținute au fost investigate din punct de vedere al morfologiei, compoziției elementale și fazice, rugozității, aderenței și al comportamentului electrochimic, punându-se accent pe concentrația de Mg și influența acesteia asupra caracteristicilor HAp. În cazul probei H-Mg2, a fost observat că acoperirea nu este uniformă, fapt pentru care aceasta nu a fost utilizată în testele efectuate ulterior.

#### 4.3.2.1 Morfologie

În Figura 4.15. sunt prezentate imaginile SEM care evidențiază morfologia acoperirilor. Acoperirile de HAp nedopată (H) prezintă o morfologie ce este constituită din cristale lungi și subțiri, sub formă de panglică, aceasta fiind întâlnită și în alte studii [190,191]. Comparând acoperirile H-Mg cu cea de H, se poate observa ca cristalele de apatită sunt din ce în ce mai late, odată cu adăugarea Mg și creșterea concentrației acestuia. Rezultatele obținute sunt similare celor prezentate în studiul realizat de către Bakin și colaboratorii [195].



**Figura 4.15.** Morfologia acoperirilor pe bază de hidroxiapatită nedopată (H) și dopată cu diferite concentrații de Mg (H-Mg1 și H-Mg1,5) [141]



### 4.3.2.2 Compoziție elementală

Analiza EDS a acoperirilor a confirmat prezența elementelor specifice fosfaților de calciu (Ca și P), precum și a elementului de dopare (Mg), acestea fiind totodată uniform distribuite pe întreaga arie analizată. Raportul respectiv (Ca+Mg)/P calculat pentru acoperirile experimentale, este de 1,59 pentru acoperirile H și H-Mg1, observându-se că pentru acoperirile H-Mg1,5, această valoare scade ușor către 1,56, indicând că procesul de dopare peste o anumită concentrație duce la obținerea unei apatite deficitare în Ca, generată cel mai probabil de apariția defectelor în urma substituției ionice [196].

### 4.3.2.3 Compoziție fazică

Difractogramele de raze X ale acoperirilor pe bază de HAp nedopată și dopată cu Mg sunt prezentate în Figura 4.18. Toate acoperirile obținute prezintă maximele de difracție specifice HAp, conform standardului ICDD #09-0432. Totodată poate fi observat că cea mai puternică intensitate relativă a fost înregistrată pentru planul (002) la un unghi  $\theta = 25,95^\circ$ .

În difractograma detaliată din Figura 4.18, se poate observa că odată cu adăugarea Mg în HAp, maxima de difracție asociată planului (002) s-a deplasat ușor către unghiuri mai mari, pentru acoperirilor H-Mg1 și H-Mg1,5. Aceste constatări sunt în bună corelație cu alte studii și sugerează faptul că ionii de Mg au înlocuit o parte din ionii de Ca din rețeaua HAp [204,205].

De asemenea trebuie menționat că nu a fost identificată prezența Mg în stare metalică, indicând faptul că, Mg din acoperiri este doar în formă ionică.

În cazul acoperirilor H, dimensiunea de cristalit prezintă o valoare de 8,4 nm, care odată cu adăugarea Mg a crescut către o valoare de 8,8, respectiv 10,4 pentru acoperirile H-Mg1 și H-Mg1,5. Din punct de vedere al cristalinității se observă faptul că adăugarea Mg în HAp, a dus la o îmbunătățire a cristalinității acoperirilor, de la o valoare de ~ 18 % pentru acoperirile H, la un maxim de ~ 30 % pentru acoperirile H-Mg1. O valoare mai mică a cristalinității a fost remarcată în cadrul acoperirilor cu concentrația mai mare de Mg, de ~ 27 %. În concluzie, pe baza investigațiilor XRD, poate fi menționat că, cristalinitatea acoperirilor pe bază de HAp crește odată cu adăugarea Mg.

### 4.3.2.4 Rugozitate

Așa cum se poate observa din Tabelul 4.11, atât parametrul Ra cât și parametrul Rq au crescut odată cu adăugarea Mg în HAp. Odată cu creșterea concentrației de Mg din electrolitul utilizat la obținerea acoperirilor, de la 1 la 1,5 mM, se poate observa că parametrul Ra, a crescut de ~ 8 ori, trecând din scala nanometrică pentru acoperirile H și H-Mg1, în cea micrometrică pentru acoperirile H-Mg1,5. Conform literaturii de specialitate, valorile medii ale rugozității

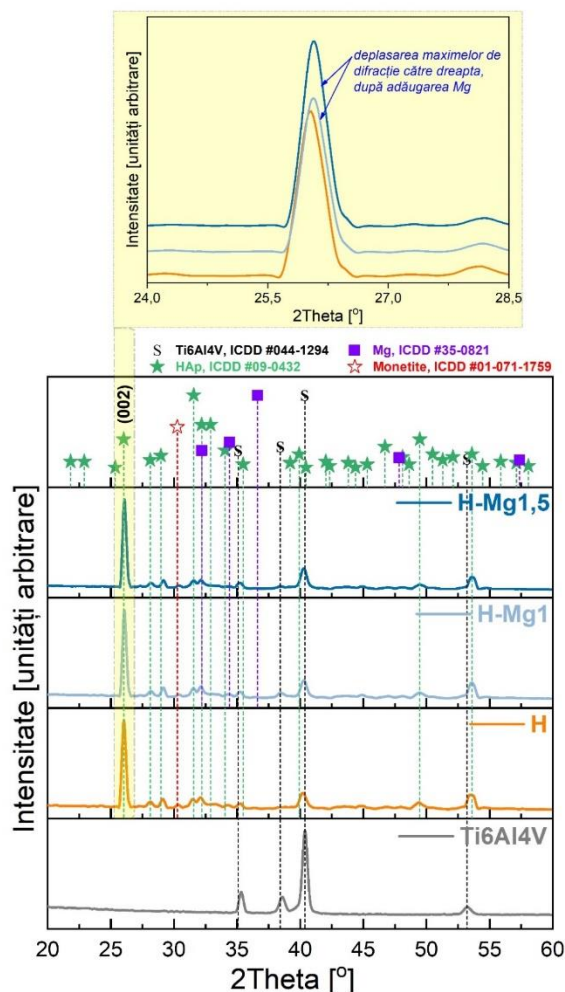


Figura 4.18. Difractogramele acoperirilor pe bază de HAp nedopată și dopată cu Mg cu diferite concentrații

(Ra) pentru implanturile dentare comerciale se găsesc în intervalul 0,1 – 10  $\mu\text{m}$  [206]. Astfel, se poate observa că acoperirile experimentale se încadrează în acest interval.

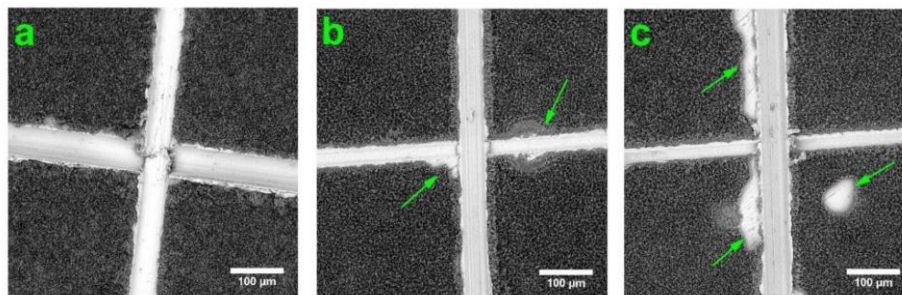
**Tabel 4.11.** Principali parametri ai rugozității (Ra, Rq și R<sub>Sk</sub>)

Material	Ra (nm)	Rq (nm)	R <sub>Sk</sub>	Grosime de strat ( $\mu\text{m}$ )
H	439,7 ( $\pm 33,9$ )	587,9 ( $\pm 66,7$ )	0,84 ( $\pm 0,1$ )	11,1 ( $\pm 0,9$ )
H-Mg1	558,2 ( $\pm 37,9$ )	710,9 ( $\pm 47,0$ )	0,38 ( $\pm 0,1$ )	12,2 ( $\pm 0,7$ )
H-Mg1,5	4.396,9 ( $\pm 895,4$ )	6.609,1 ( $\pm 1,071,4$ )	2,44 ( $\pm 0,25$ )	10,5 ( $\pm 0,7$ )

Conform rezultatelor obținute, se poate observa faptul că cea mai mică grosime de strat, de 10,5  $\mu\text{m}$ , a fost înregistrată pentru acoperirile H-Mg1,5, fiind urmate de acoperirile H, respectiv H-Mg, care au înregistrat valorii ale grosimii de strat de ~ 11, respectiv ~ 12  $\mu\text{m}$ . Diferențele dintre valorile grosimilor de strat obținute pot fi asociate cu rata de depunere care este influențată de cantitatea de Mg adăugată în electrolit.

#### 4.3.2.5 Aderență

În Figura 4.22 sunt prezentate imagini SEM cu amprentările/zgârieturile lăsate după testarea aderenței, utilizând testul cu banda adezivă (tape test) conform procedurii standardului ASTM D3359-17.



**Figura 4.22.** Imagini SEM ale acoperirilor (a) de hidroxiapatită – H, (b) hidroxiapatită dopată cu Mg – H-Mg1 și (c) hidroxiapatită dopată cu Mg – H-Mg1,5 după testele de aderență (săgețile de culoare verde indică zonele afectate/delaminat)[141]

Rezultatele aderenței (Tabelul 4.12) au fost clasificate în următoarele categorii: 5B (0%) pentru acoperirile H, și 4B, pentru acoperirile H-Mg1, deoarece în zone de intersecție a carioajelor au fost identificate mici zone cu desprinderi ale acoperirilor într-un procent de 1,24%. Odată cu creșterea cantității de Mg, se poate observa că unele delaminări nu sunt doar în zona de intersecție ci și de-a lungul amprentărilor, fiind astfel atribuită un punctaj de tip 3B, în care este afectată 9,55% din suprafață.

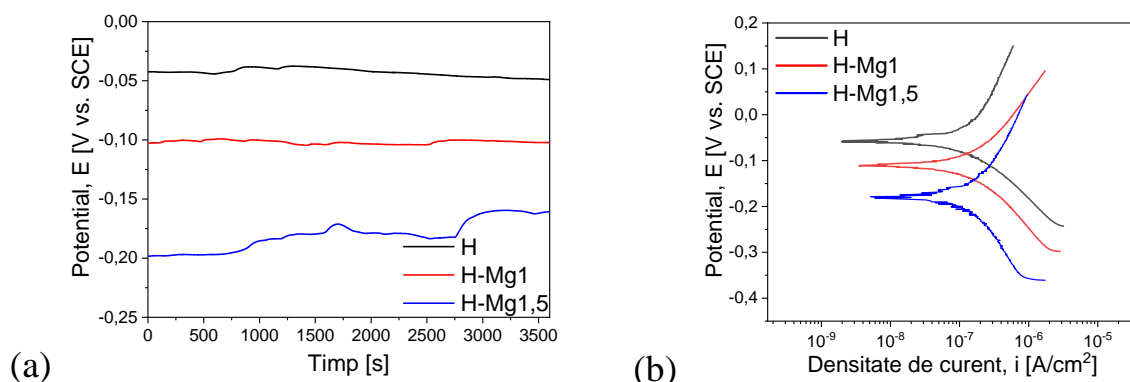
**Tabel 4.12.** Evaluarea aderenței acoperirilor la substrat conform ASTM D3359-17

	H	H-Mg1	H-Mg1.5
Suprafață afectată/delaminată [%]	0 %	1,24 %	9,55 %
Aderență Conform ASTM D3359-17	5B	4B	3B

Prin urmare, testele de aderență au evidențiat că cea mai mare parte a acoperirii rămâne pe substrat indiferent de tipul de acoperire, iar odată cu creșterea cantității de Mg aderența începe să scadă.

#### 4.3.2.6 Comportamentul electrochimic

În Figura 4.23 sunt prezentate curbele potențialului de circuit deschis și curbele Tafel pentru acoperirile pe bază de HAp nedopată și dopată cu Mg. Pe baza extrapolării Tafel au fost extrași principalii parametri electrochimici, aceștia fiind prezentați în Tabelul 4.13.



**Figura 4.23.** Evoluția potențialului de circuit deschis (a) și curbele Tafel (b) pentru acoperirile investigate

**Tabel 4.132.** Principalii parametri electrochimici obținuți pentru acoperirile investigate ( $E_{oc}$  – potențial de circuit deschis,  $E_{cor}$  – potențial de coroziune,  $i_{cor}$  – densitatea de curent de coroziune,  $R_p$  – rezistență la polarizare)

Material	H	H-Mg1	H-Mg1,5
$E_{oc}$ (mV)	-48,9 ( $\pm 5,2$ )	-102,2 ( $\pm 7,8$ )	-160,70 ( $\pm 9,4$ )
$E_{cor}$ (mV)	-56,9 ( $\pm 6,3$ )	-110,3 ( $\pm 9,1$ )	-180,50 ( $\pm 10,7$ )
$i_{cor}$ (nA/cm <sup>2</sup> )	22,45 ( $\pm 3,82$ )	53,70 ( $\pm 4,56$ )	90,43 ( $\pm 6,75$ )
$\beta_c$ (mV)	34,23 ( $\pm 5,51$ )	63,22 ( $\pm 9,47$ )	100,33 ( $\pm 12,34$ )
$\beta_a$ (mV)	35,98 ( $\pm 6,15$ )	60,67 ( $\pm 8,77$ )	105,39 ( $\pm 11,92$ )
$R_p$ (k $\Omega \cdot cm^2$ )	339,70 ( $\pm 10,42$ )	250,67 ( $\pm 11,13$ )	247,11 ( $\pm 12,58$ )

Astfel, rezultatele obținute subliniază faptul că adăugarea Mg duce la modularea comportamentului electrochimic, și implicit și a solubilității/biodegradării HAp. Aceste observații, sunt în bună corelație cu un studiu realizat de Cai și colaboratorii [210], în care a fost observat că prin creșterea conținutului de Mg se poate obține o viteză de degradare mai mare a HAp.

### 4.3.3 Concluzii

În concluzie, proprietățile și caracteristicile HAp obținute prin depunere electrochimică galvanostatică în pulsuri pot fi controlate prin adăugarea de Mg în diferite concentrații, obținându-se astfel biomateriale ceramice bioactive cu proprietăți ajustabile ce pot fi utilizate în aplicații medicale.

## Capitolul 5. Rezultate experimentale privind caracterizarea noilor suprafețe osteoconductive

### 5.1 Obținerea acoperirilor osteoconductive depuse pe suprafață nanostructurată

Depunerile pe bază de HAp au fost realizate pe substrat de Ti (cp-Ti grad 2) nanostructurat cu nanotuburi de dioxid de titan obținute prin oxidare anodică timp de 30 de minute și tratat termic la 450° C, realizat în mod similar cu cel prezentat în § 4.1.1.2. Protocolul de obținere al acoperirilor pe bază de HAp pe substrat nanostructurat a fost realizat în mod similar cu cel prezentat în § 4.3.1.

În Tabelul 5.1. este prezentată codificarea probelor utilizate în cadrul prezentului capitol al tezei de doctorat. Compoziția chimică a electrolitilor utilizați la obținerea acoperirilor pe bază de HAp nedopată și dopată cu Mg sau Zn în diferite concentrații este prezentată în Tabelul 5.2.

Electrolitiții au fost pregătiți astfel încât raportul (Ca+M)/P, unde M=Mg sau Zn în diferite concentrații să fie similar hidroxiapatitei (HAp) stoichiometrice de 1,67 [48,49].

**Tabel 5.1. Codificarea probelor acoperite cu HAp nedopată și dopată cu Mg sau Zn**

Nr. crt.	Descriere	Codificare
1	Suprafață nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan	NT
2	Hidroxiapatită nedopată depusă electrochimic pe suprafață nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan	H
3	Hidroxiapatită depusă electrochimic cu 1 mM de Mg în electrolit pe suprafață nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan	H-Mg1
4	Hidroxiapatită depusă electrochimic cu 1,5 mM de Mg în electrolit pe suprafață nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan	H-Mg2
5	Hidroxiapatită depusă electrochimic cu 0,015 mM de Zn în electrolit pe suprafață nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan	H-Zn1
6	Hidroxiapatită depusă electrochimic cu 0,02 mM de Zn în electrolit pe suprafață nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan	H-Zn2

**Tabel 5.2. Compoziția chimică a electrolizilor utilizați la obținerea acoperirilor de HAp nedopată și dopată cu Mg sau Zn**

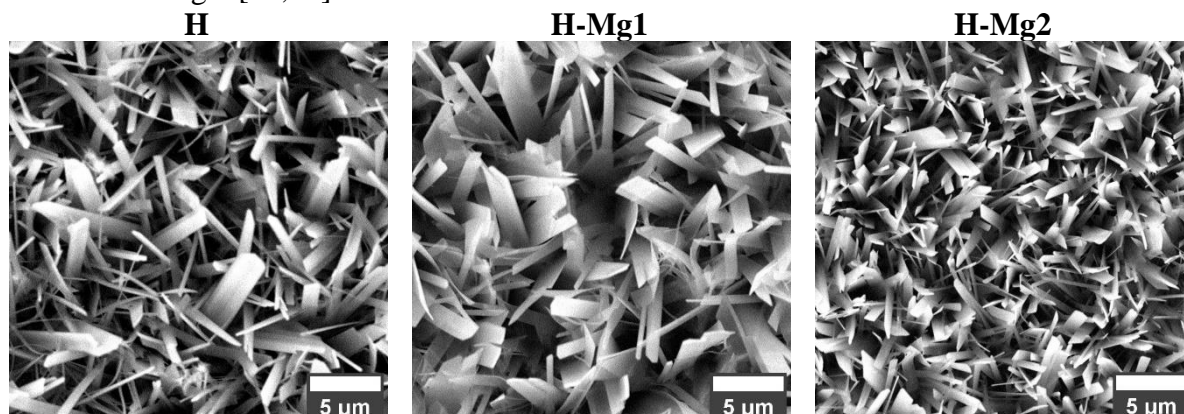
Substrat	Strat	Codificare probe	Compoziție chimică electrolit (mM)				pH
			Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O	Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	
NT	HAp	H	10,000		0	0	5 (ajustat cu 1 M NaOH)
	HAp+Mg	H-Mg1	9,000	6	1,000	0	
		H-Mg2	8,500		1,500	0	
	HAp+Zn	H-Zn1	9,985		0	0,015	
		H-Zn2	9,980		0	0,020	

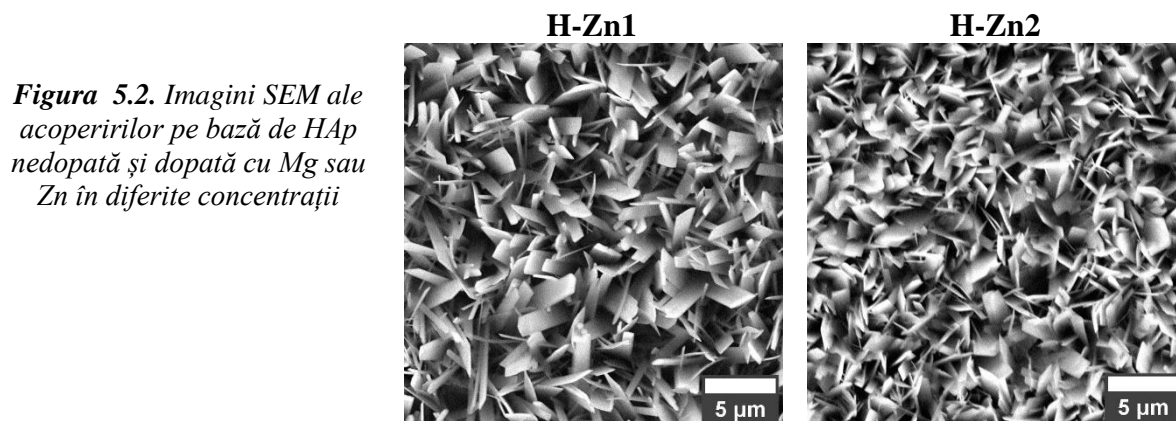
## 5.2 Caracterizarea acoperirilor osteoconductive depuse pe suprafață nanostructurată

Eșantioanele experimentale obținute au fost investigate din punct de vedere al morfologiei, compoziției elementale și fazice, legăturilor chimice, a rugozității, a aderenței și a energiei de suprafață, punându-se accent pe concentrația elementului de dopare, Mg sau Zn și influența acestuia asupra caracteristicilor HAp.

### 5.2.1 Morfologie

În Figura 5.2. sunt prezentat imagini ale morfologiilor acoperirilor pe bază de HAp nedopată și dopată cu Mg sau Zn în diferite concentrații obținute cu ajutorul microscopului electronic de baleiaj. Astfel, se remarcă faptul că toate acoperirile prezintă o morfologie constituită din cristale de tip panglică, ce acoperă întreaga suprafață ce a fost expusă electrolitului în timpul depunerii electrochimice. În funcție de tipul de element de dopare utilizat (Mg sau Zn) și de concentrația acestuia în electrolit au fost observate diferențe din punct de vedere morfologic [48,49].

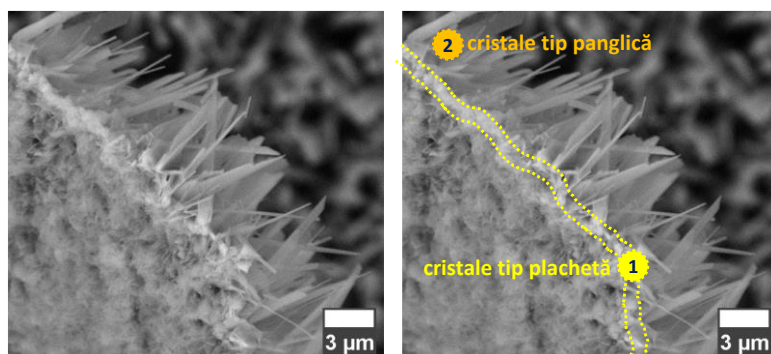




Straturile pe bază de HAp obținute au un aspect uniform iar în funcție de elementul de dopare și de concentrația acestuia în electrolitul utilizat în cadrul depunerilor, au fost observate următoarele aspecte:

- comparativ cu HAp nedopată (H), **acoperirile H-Mg** prezintă mici modificări din punct de vedere al morfologiei, și așa cum se observă în Figura 5.2., adăugarea unei concentrații de 1 mM în soluția electrolitică, duce la o ușoară creștere a dimensiunii panglicilor, acestea fiind un pic mai late, rămânând în continuare subțiri; creșterea concentrației către o valoare de 1,5 mM în electrolit, duce la o scădere vizibilă a dimensiunilor panglicilor, acestea prezentând lățimi mult mai mici, comparativ cu acoperirile H și H-Mg1;
- comparativ cu acoperirile H și H-Mg1, **acoperirile H-Zn** prezintă dimensiuni ale panglicilor mult mai mici din punct de vedere al lățimii, ce scade odată cu creșterea concentrației de Zn.

Din punct de vedere al mecanismului de formare a acoperirilor pe bază de HAp obținute prin depuneri electrochimice, Figura 5.3 evidențiază faptul că acoperirile obținute în cadrul prezentei teze de doctorat sunt alcătuite din două straturi ce prezintă morfologii diferite. Primul strat, este format în prima parte a procesului de depunere electrochimică, și este alcătuit din cristale de tip plachetă, ce determina un aspect mai compact și o grosime mai mică, comparativ cu cel de-al doilea strat care prezintă o grosime mai mare, și care este alcătuit din cristale de tip panglică, lungi și subțiri, dezvoltate perpendicular pe suprafața substratului metalic.



**Figura 5.3.** Imagine SEM reprezentativă pentru acoperirile pe bază de HAp dopată cu Mg (H-Mg2) în secțiune, fără și cu adnotări [49]

### 5.2.2 Compoziție elementală

În Tabelul 5.4 este prezentată **compoziția chimică** a acoperirilor obținute prin tehnica galvanostatică în pulsuri, obținută prin analiză EDS. Pe baza rezultatelor obținute a fost calculat raportul Ca/P cu și fără elementul de dopare (Mg sau Zn).

Conform acestor rezultate se poate observa că raportul (Ca+M)/P scade odată cu adăugarea elementelor de dopare, de la o valoare de 1,59 obținută pentru acoperirile H, la o valoare de 1,57 și 1,56 pentru acoperirile H-Mg1 și H-Mg2, și către valori de 1,56 și 1,55 pentru acoperirile H-Zn1 și H-Zn2.

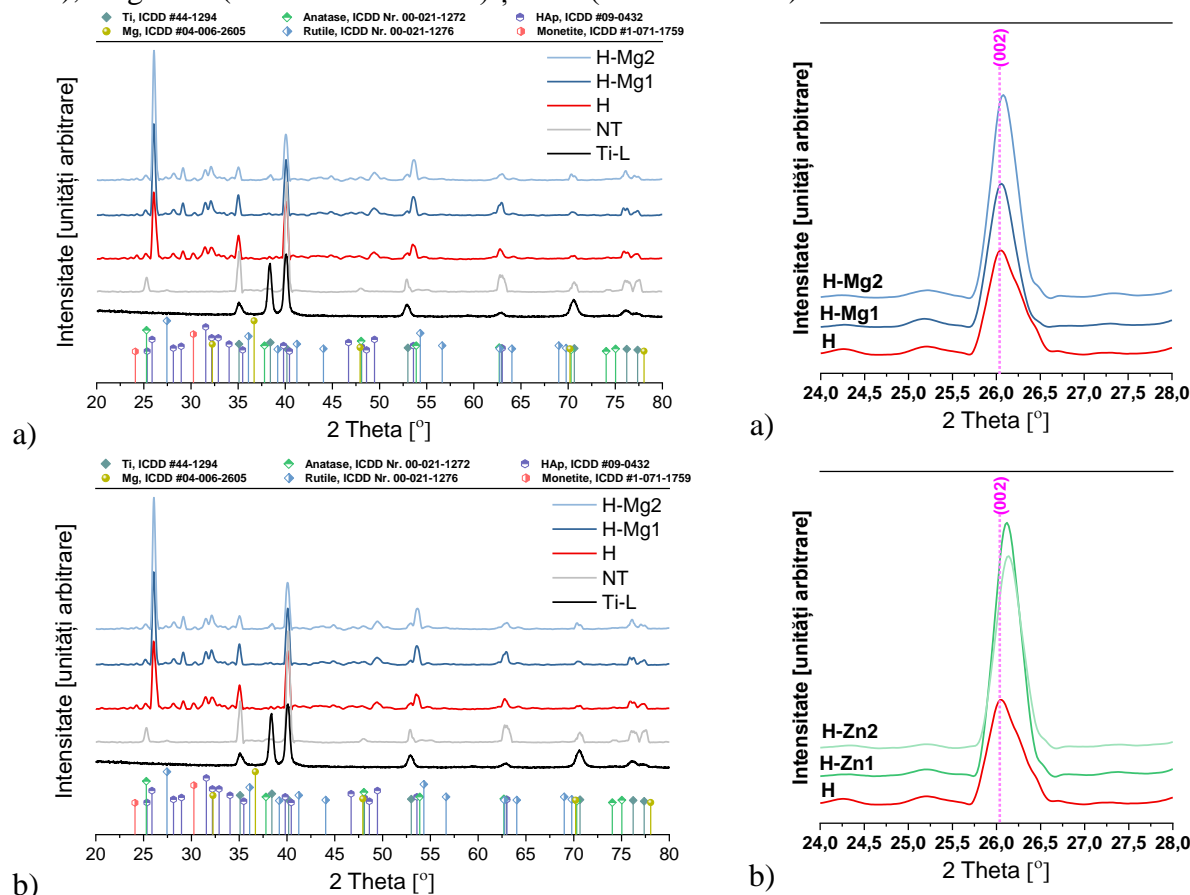
Din punct de vedere al concentrației elementului de dopare în acoperirile obținute trebuie precizat faptul că o concentrație a Zn de  $\leq 1,2$  wt. %, nu induce un efect citotoxic, îmbunătățește proliferarea celulară și oferă un bun efect antibacterian [214,215]. Totodată, în țesuturile osoase dure, Mg se regăsește într-o concentrație de 0,32 – 0,78 wt.%, iar în acest caz se poate observa că în ambele straturi de HAp dopată cu Mg, concentrația acestuia se regăsește în acest interval.

**Tabel 5.4.** Compoziție chimică (at.% și wt.%) a acoperirilor pe bază de HAp nedopată și dopată cu Mg sau Zn în diferite concentrații pe substrat nanostructurat

Material	Compoziție elementală								Raport Ca/P	Raport (Ca+M)/P
	Ca		P		Mg		Zn			
	[at.%]	[wt.%]	[at.%]	[wt.%]	[at.%]	[wt.%]	[at.%]	[wt.%]		
H	61,46	67,36	38,54	32,64	0	0	0	0	1,59	1,59
H-Mg1	60,55	66,66	38,89	33,03	0,46	0,31	0	0	1,56	1,57
H-Mg2	60,39	66,43	39,06	33,20	0,55	0,37	0	0	1,55	1,56
H-Zn1	60,21	65,71	39,01	32,90	0	0	0,78	1,39	1,54	1,56
H-Zn2	59,54	64,77	39,16	32,93	0	0	1,30	2,30	1,52	1,55

### 5.2.3 Compoziție fazică, textura și dimensiunea de cristalit

În Figura 5.8. sunt prezentate difractogramele de raze X obținute pentru acoperirile pe bază de HAp nedopată și dopată cu Mg sau Zn. Acestea au fost comparate cu standardele ICDD (Centrul Internațional pentru Date de Difracție), aferente următoarelor faze: hidroxiapatită (PDF #09-0432), monetite (PDF #1-071-1759), anatase (PDF #021-1272), titan (PDF #44-1294), magneziu (PDF #04-006-2605) și zinc (PDF #04-0831).



**Figura 5.8.** Difractogramele acoperirilor pe bază de HAp nedopate și dopate cu Mg (a) sau Zn (b) în diferite concentrații

**Figura 5.9.** Secțiune de interes a difractogramelor de raze X ale acoperirilor pe bază de HAp nedopate și dopate cu Mg (a) sau Zn (b) în diferite concentrații

Așa cum se remarcă în Figura 5.8, toate acoperirile obținute prezintă maxime de difracție specifice hidroxiapatitei (HAp) conform standardului ICDD, Nr. 09-0432, acestea fiind și cele predominante, sugerând faptul că aceasta este și faza principală identificată în aceste acoperiri.

În Figura 5.9. sunt prezentate secțiuni de interes ale difractogramelor pentru maxima de difracție asociată planului (002). Din aceste difractograme se observă că maxima de difracție a HAp de la  $\sim 26^\circ$  aferentă planului (002), își modifică intensitatea și se deplasează ușor spre dreapta, indicând faptul că ionii de Mg și Zn, îi substituie pe cei de Ca din structura HAp.

Astfel se poate concluziona că analizele XRD au confirmat doparea prin substituție a acoperirilor pe bază de HAp cu Mg sau Zn în diferite concentrații, fapt susținut de modificarea parametrilor structurali (dimensiune cristalit, parametrii de rețea, cristalinitate, deplasarea unghiului către valori mai mari pentru  $2\theta = \sim 26$  aferent planului (002)).

### 5.2.4 Legături chimice

În Figura 5.11. sunt prezentate spectrele FTIR pentru acoperirile pe bază de HAp nedopate și dopate cu Mg sau Zn în diferite concentrații depuse electrochimic pe suprafață nanostructurată. Întrucât acoperirile sunt poroase, spectrele FTIR înregistrate sunt zgomotoase.

Benzile de vibrație observate între 600 și  $1100\text{ cm}^{-1}$  sunt atribuite maximelor de absorbție ale grupării fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), acestea fiind prezente în toate acoperirile. Rezultatele FTIR au demonstrat formarea fazei stoichiometrice HAp pe substraturile nanostructurate, indiferent de natura și/sau prezența elementului de dopare [48,49].

Comparativ cu HAp nedopată (H), elementele de dopare Mg sau Zn în diferite concentrații au condus la scăderea intensității acestor benzi pentru acoperirile H-Mg2, H-Zn1 și H-Zn2, în timp ce acoperirile H-Mg1 prezintă intensități apropiate de cele ale H.

### 5.2.5 Rugozitate

În Figura 5.13 sunt prezentate valorile medii ale parametrului  $R_a$  - valoarea mediei aritmetice a abaterilor profilului de rugozitate în raport cu linia mediană,  $R_q$  - rădăcina pătratică a pătratelor deviațiilor profilului față de valoarea medie și  $R_{Sk}$  - factorul de asimetrie al profilului evaluat împreună cu deviațiile standard ale acestora.

În urma analizei principalilor parametrii ce caracterizează rugozitatea (Figura 5.13), se poate observa că:

- toate acoperirile prezintă o rugozitate medie ( $R_a$ ) mai mare decât cea a Ti (83 nm) și a NT (132 nm); în cazul suprafeței NT, creșterea rugozității este explicată prin prezența nanotuburilor pe suprafața Ti;

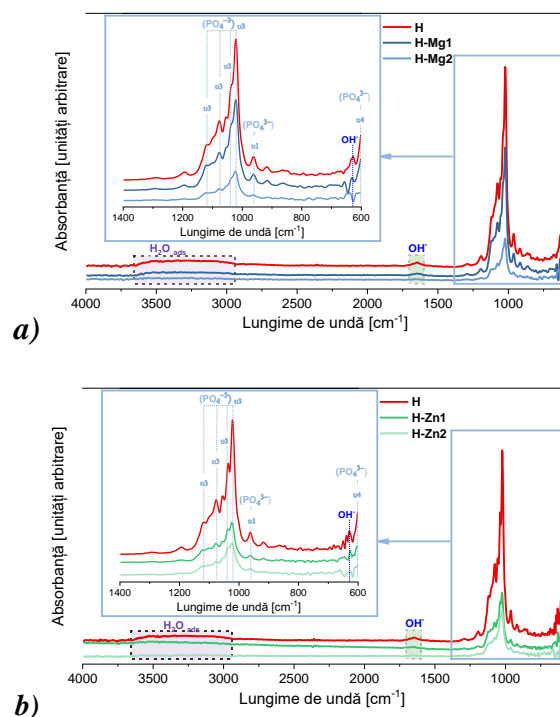


Figura 5.11. Spectrele FTIR ale acoperirilor pe bază de HAp nedopată și dopată cu Mg (a) sau Zn (b) depuse electrochimic pe suprafață nanostructurată

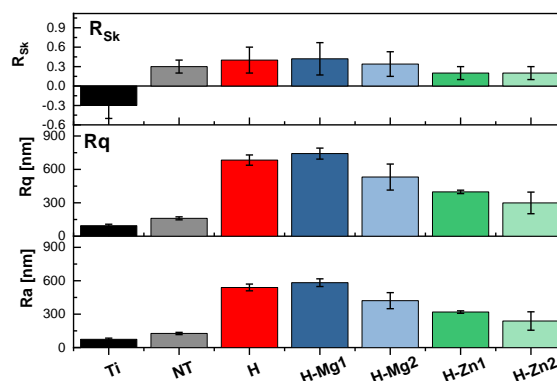


Figura 5.13. Parametrii caracteristici ai rugozității pentru acoperirile pe bază de HAp

- adăugarea Mg într-o concentrație de 1 mM în electrolit, duce la o ușoară creștere a parametrului Ra de la ~536 nm pentru acoperirile H, la 582 nm pentru H-Mg1, în timp ce creșterea concentrației de Mg din electrolit, a dus la scăderea rugozității către o valoare de ~ 493 nm, aceasta fiind mai mică decât H și H-Mg1;

- odată cu adăugarea Zn în HAp, valoarea mediei aritmetice a abaterilor profilului de rugozitate (Ra) scade de la o valoare 536 nm în cazul acoperirilor H, către o valoare de ~ 320 nm în cazul acoperirilor H-Zn1 și de ~ 242 nm în cazul acoperirilor H-Zn2, indicând faptul că odată cu creșterea concentrației de Zn din electrolit de la o valoare de 0,015 mM la 0,020 mM, scade și rugozitatea.

### 5.2.6 Grosime de strat

În Figura 5.14 sunt prezentate valorile grosimilor de strat obținute pentru acoperirile pe bază de HAp nedopate și dopate cu Mg sau Zn în diferite concentrații. Acoperirile codificate H, prezintă o grosime medie a stratului de ~ 10 μm, în timp ce acoperirile codificate cu H-Mg1 și H-Mg2 au înregistrat cele mai mari grosimi de strat, de respectiv 11 și 14 μm. Acoperirile codificate cu H-Zn1 și H-Zn2 prezintă grosimi de 10 și 6 μm.

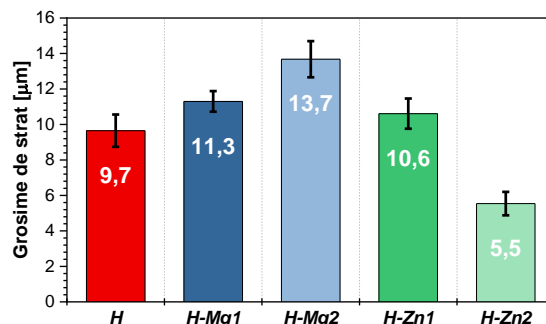


Figura 5.14. Grosimile de strat ale acoperirilor pe bază de HAp nedopată și dopată cu Mg sau Zn cu diferite concentrații

Conform literaturii de specialitate, o grosime prea mare a stratului duce la o slabă aderență a acestuia la substrat, iar una prea mică duce la o slabă stabilitate, astfel încât o grosime a stratului de ~ 10 μm este considerată ideală [220]. În concluzie, se poate observa că acoperirile cu o concentrație mai mică a elementului de dopare precum și acoperirile pe bază de HAp nedopată, întrunesc această condiție, având grosimi de strat de aprox. 10 μm.

### 5.2.7 Aderență

În Figura 5.15 sunt prezentate imaginile SEM obținute în urma efectuării testului de aderență. Testul de aderență cu „bandă adezivă” demonstrează faptul că aderența straturilor de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Mg și Zn în cantități mai mici (H, H-Mg-1, HZn-1) la substratul de titan cu suprafață nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan, se încadrează într-o categorie superioară conform standardului utilizat. O aderență ușor mai slabă prezintă straturile dopate cu o cantitate mai mare de element de dopare (H-Mg2, H-Zn2) care se situează tot în categoria superioară (3B) a standardului ASTM D 3359-17.

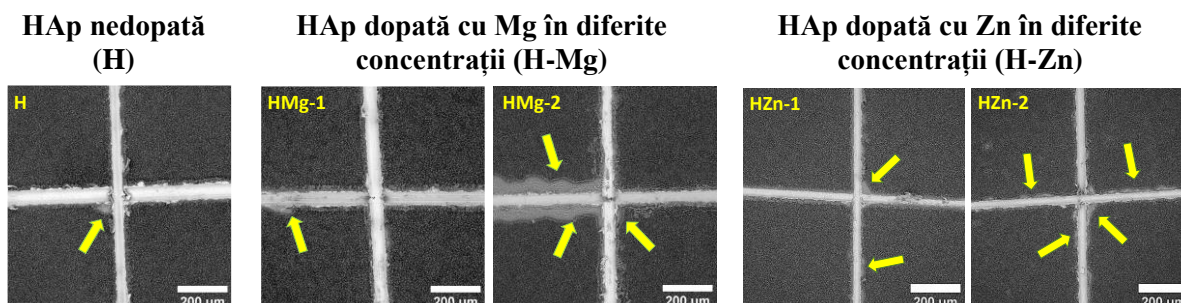


Figura 5.15. Imagini SEM ale urmelor amprentării după testul de aderență (săgețile galbene indică zonele ce prezintă desprinderi/exfolieri)

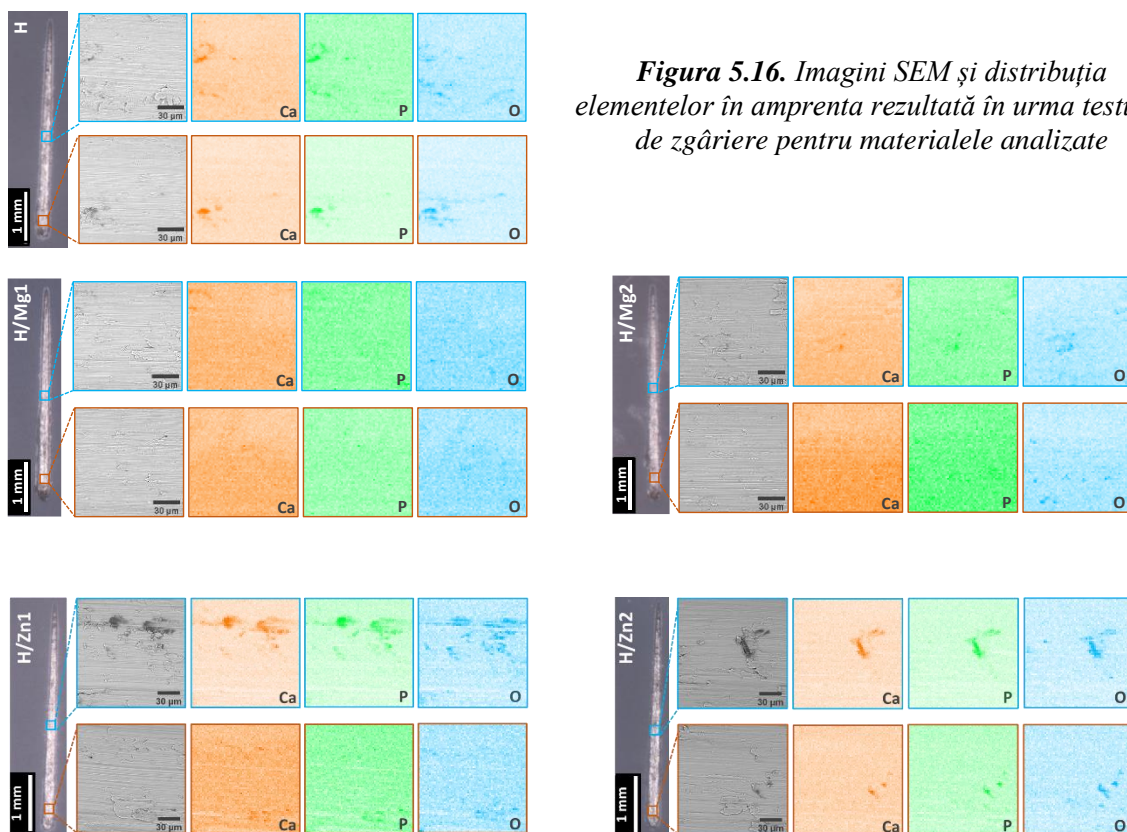
Complementar testului de aderență cu bandă adezivă, a fost realizat și un test de aderență utilizând metoda prin zgâriere, prin care a fost observat faptul că stratul este penetrat încă din primul mm al distanței parcurse de penetrator.

Cea mai mare valoare a forței critice ( $F_C$ ) a fost obținută pentru acoperirile pe bază de HAp nedopată (H), unde forța critică ( $F_C$ ) a avut o valoare de 3,15 N, urmată de acoperirile pe bază de HAp cu Zn, și anume H-Zn1 cu 2,95 N și 2,77 N pentru H-Zn2. Valori mai mici au fost



identificate pentru acoperirile de HAp dopate cu Mg, acestea înregistrând valori de 2,23 N pentru H-Mg1 și 1,68 N pentru H-Mg2.

În plus, compoziția elementară după testul de zgâriere a fost investigată în centrul și la finalul amprente (Figura 5.16) pentru a identifica dacă după trecerea penetratorului au mai rămas fosfați de calciu.



**Figura 5.16.** Imagini SEM și distribuția elementelor în amprenta rezultată în urma testului de zgâriere pentru materialele analizate

### 5.2.8 Energia de suprafață

Cu ajutorul datelor obținute în urma investigațiilor privind unghiul de contact al suprafețelor cu cele trei lichide, energia de suprafață a fost calculată.

Pe baza rezultatelor obținute se poate observa faptul că, biofuncționalizarea cu acoperiri pe bază de hidroxiapatită nedopată (H) și dopată cu Mg (H-Mg1) sau Zn (H-Zn1) a suprafeței nanostructurate cu nanotuburi de dioxid de titan duce la o îmbunătățirea energiei de suprafață de la o valoare de 61,9 mN/m obținută pentru suprafața NT, către valori de 64,7 mN/m pentru acoperirile de HAp nedopată (H).

Energia liberă de suprafață pentru Ti pur lustruit prezintă valori ce variază între 33,5 mN/m și 49,17 mN/m [222,223], astfel comparând aceste valori cu cele obținute în cadrul prezentei teze de doctorat, se remarcă faptul că, biofuncționalizarea Ti cu nanotuburi de dioxid de titan și acoperirea acestora cu straturi pe bază de HAp nedopată și dopată cu Mg sau Zn duc la o îmbunătățirea substanțială a capacității de umectare.

Din punct de vedere al elementelor de dopare se observă că adăugarea acestora în structura HAp a dus la o ușoară îmbunătățire a energiei libere totale de suprafață, aceasta atingând valori de 66,9 mN/m pentru H-Mg1 și de 65,8 mN/m pentru H-Zn1. Comparativ cu suprafața NT, cea mai mare energie de suprafață o are proba H-Mg1, urmată de H-Zn1 și H, indicând faptul că doparea cu Mg sau Zn, îmbunătățește caracteristicile de suprafață ale acoperirilor pe bază de HAp.

## Capitolul 6. Testarea proprietăților suprafețelor nanostructurate și biofuncționalizate cu acoperiri pe bază de hidroxiapatită

În acest capitol sunt prezentate rezultatele obținute în urma testării noilor suprafețe dezvoltate în prezenta teză de doctorat, din punct de vedere al comportamentului electrochimic, al bioactivității, biocompatibilității, dar și a eficienței antibacteriene.

Testele au fost realizate pe materialele selectate în urma investigațiilor din Capitolul 5, și cuprind probe din Ti pur cu suprafață:

- lustruită (Ti-L),
- nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan (NT),
- nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan și acoperită cu hidroxiapatită nedopată (H)
- nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan și acoperită cu hidroxiapatită dopată cu Mg (H-Mg) sau Zn (H-Zn) obținută în electrolizii cu cantitatea mai scăzută a elementului de dopare.

### 6.1 Testarea comportamentului electrochimic

Teste electrochimice de rezistență la polarizare (curbe Tafel) au fost utilizate pentru a studia comportamentul electrochimic al substratului (NT) și al straturilor de HAp dezvoltate. Testele au fost efectuate în două lichide biologice simulate și anume: soluție biologică sintetică (SBF) și salivă artificială Fusayama-Meyer (SA).

#### 6.1.1 Teste electrochimice de rezistență la polarizare

Pe baza rezultatelor obținute se poate concluziona că doparea cu Mg duce la un comportament electrochimic mai slab al HAp, fapt datorat naturii acestui element, și anume de a fi degradabil, putându-se astfel controla capacitatea de degradare a HAp. Pe de altă parte, adăugarea Zn în structura HAp duce la îmbunătățirea comportamentului electrochimic, comparativ cu acoperirile pe bază de HAp dopate cu Mg, întrucât Zn prezintă un grad de degradare mai mic comparativ cu Mg. În concluzie, se poate afirma faptul că proprietățile electrochimice ale acoperirilor pe bază de HAp pot fi modulate prin adăugarea de Mg sau Zn în structura HAp.

#### 6.1.2 Investigații morfologice asupra acoperirilor după testele electrochimice

După efectuarea testelor electrochimice, materialele investigate au fost analizate din punct de vedere al morfologiei cu ajutorul microscopului electronic de baleiaj nefiind observate modificări semnificative ale morfologiei, putându-se afirma că acestea sunt stabile în urma interacțiunii cu mediul de testare în timpul efectuării testelor electrochimice.

### 6.2 Evaluarea bioactivității în medii biologice simulate

În vederea evaluării bioactivității noilor suprafețe dezvoltate pe Ti pur, au fost realizate teste de biomineralizare și biodegradare. Probele din Ti cu suprafață lustruită și cu suprafață nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan nu au fost utilizate în testele de biodegradare, deoarece cinetica procesului de degradare/coroziune a titanului este destul de scăzută, astfel încât în timpul celor 21 de zile nu se pot înregistra rezultate evidente din punct de vedere al evoluției masei.

#### 6.2.1 Teste *in vitro* de biomineralizare

Testele de biomineralizare (precipitare a apatitei) au fost realizate prin imersarea probelor în SBF pentru o perioadă prestabilită de timp, de maxim 21 de zile.

### **6.2.1.1 Monitorizare gravimetrică**

În soluție biologică sintetică (SBF), toate materialele obținute prin biofuncționalizarea suprafeței de Ti pur, și anume, suprafața nanostructurată neacoperită (NT) și acoperită cu straturi pe bază de hidroxiapatită nedopată (H) și dopată cu Mg (H-Mg) sau Zn (H-Zn), au îmbunătățit capacitatea de biomineralizare a titanului cu suprafață lustruită (Ti-L), indiferent de perioada de imersare. În ceea ce privește evoluția masei de apatită nou formată, exceptând Ti-L care a avut cea mai slabă evoluție, se remarcă faptul că, suprafața nanostructurată neacoperită (NT) a înregistrat cea mai mică evoluție a masei, comparativ cu cea acoperită cu HAp nedopată sau dopată, indicând faptul că biofuncționalizarea cu straturi de ceramică bioactivă pe bază de HAp favorizează precipitarea unei cantități mai mari de apatită pe suprafață.

### **6.2.1.2 Investigații morfologice și de compoziție fazică a suprafețelor după testele de biomineralizare**

Este de remarcat că în SBF, pe toate suprafețele modificate prin tehnici electrochimice, s-au format straturi noi de apatită care prezintă o morfologie alcătuită din cristale semi-sferice, dezvoltate pe întreaga suprafață, demonstrând faptul că suprafețele dezvoltate au proprietăți bioactive superioare titanului pur (Ti-L), precum și o bună capacitate de biomineralizare în SBF. Această morfologie alcătuită din cristale semi-sferice este specifică apatitei precipitată din SBF [229,230].

Conform rezultatelor de difracție X prezentate a fost observat că la 21 de zile de la imersare în SBF, suprafața NT dar și acoperirile pe bază de HAp dopate și nedopate prezintă maxime de difracție caracteristice HAp conform standardului (ICDD #09-0432) bine conturate, confirmând prezența acestora și evidențiind astfel că straturile obținute prezintă un caracter bioactiv ce favorizează osteointegrarea. Comparativ cu suprafețele biofuncționalizate, Ti-L nu prezintă maxime de difracție specifice fosfaților de calciu, confirmând atât analiza gravimetrică, precum și pe cea SEM.

### **6.2.2 Teste *in vitro* de biodegradare**

Pentru a putea estima capacitatea de biodegradare a acoperirilor, au fost realizate teste de imersie în soluție tampon fosfat (PBS). Probele au fost imersate în PBS pentru un interval de 21 de zile fiind monitorizate pentru intervale diferite de timp (1 zi, 3 zile, 7 zile, 14 zile și 21 de zile).

#### **6.2.2.1 Monitorizare gravimetrică a acoperirilor**

Din punct de vedere al biodegradării în PBS, se poate observa că adăugarea elementelor de dopare, îmbunătățesc capacitatea de degradare a HAp. În concluzie, se poate afirma în ceea ce privește capacitatea de degradare a acoperirilor pe bază de HAp, că adăugarea elementelor de dopare Mg sau Zn au condus la o accelerare a proceselor de degradare a straturilor pe bază de HAp.

#### **6.2.2.2 Investigații morfologice și de compoziție fazică a acoperirilor după testele de biodegradare**

Morfologia acoperirilor după imersarea în PBS, confirmă rezultatele obținute în urma analizei gravimetrice, observându-se că spre vârfuri, panglicile prezintă semne de degradare (H-Mg și H-Zn) precum și o reducere a dimensiunii panglicilor, în cazul acoperirilor HAp nedopate (H).

Difractogramele obținute pentru suprafețele nanostructurate acoperite cu straturi pe bază de HAp nedopată (H) și dopată cu Mg (H-Mg) sau Zn (H-Zn), prezintă un aspect similar cu cel anterior imersării, indicând faptul că materialele obținute sunt relativ stabile și faptul că nu se dezvoltă alte tipuri de faze în PBS după 21 de zile de imersare. Cu toate acestea, trebuie

menționat faptul că au fost observate mici diferențe ale intensităților, comparativ cu cele inițiale.

### **6.3 Evaluarea biocompatibilității prin teste de viabilitate celulară**

#### **6.3.1 Morfologia, proliferarea și viabilitatea celulară**

Pentru monitorizarea colonizării probelor din Ti pur cu suprafață lustruită (Ti-L), cu suprafață nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan neacoperit (NT) și acoperit cu straturi pe bază de HAp nedopată (H) și dopată cu Mg (H-Mg) sau Zn (H-Zn) cu celulele osteoblaste din linia MG63 au fost realizate experimente de fluorescență ce au permis vizualizarea citoscheletului de  $\beta$  actină (culoare verde) și nucleul (culoare albastră).

Rezultatele de viabilitate celulară evidențiază faptul că din punct de vedere al viabilității celulare, tehnicile electrochimie propuse pentru biofuncționalizarea suprafeței Ti pur, și anume oxidare anodică și depunere electrochimică prin metoda galvanostatică în puls, îmbunătățesc comportamentul *in vitro* al Ti pur.

Rezultatele de viabilitate celulară obținute pentru acoperirile H-Mg și H-Zn sunt în bună corelație cu datele din literatură care afirmă că ionii de  $Mg^{2+}$  din HAp dopată cu Mg favorizează adeziunea și proliferarea celulară [58,236] în timp ce Zn în anumite concentrații [209,214] duce la o mai bună viabilitate celulară, comparativ cu HAp nedopată.

Studiile [56,206,236,237] indică faptul că în cazul acoperirilor de HAp-Zn și H-Mg, ioni de Zn și Mg sunt eliberați prin procesele de degradare, favorizând astfel proliferarea celulară. Astfel, în cadrul testelor de biodegradare (§6.3.2) a fost demonstrat că acoperirile pe bază de HAp dopate cu Mg sau Zn îmbunătățesc capacitatea de degradare a HAp.

#### **6.4 Evaluarea eficienței antibacteriene**

Conform rezultatelor obținute în urma testelor de evaluare a eficienței antibacteriene la *E. coli* a eșantioanelor experimentale, se pot enunța următoarele aspecte.

Valorile pozitive indică eficiență antibacteriană, astfel, suprafața nanostructurată neacoperită (NT) și acoperită cu HAp nedopată (H) și dopată cu Zn (H-Zn) indică un bun caracter antibacterian. Valorile negative ale eficienței antibacteriene, indică o posibilă activare a bacteriei *E. coli*, astfel încât s-a observat că adăugarea Mg în structura HAp nu induce un efect antibacterian. Astfel de rezultate pentru acoperirile pe bază de HAp cu Mg au fost raportate și în alte studii [239,240].

În concluzie, se poate spune că suprafața nanostructurată neacoperită și acoperită cu HAp nedopată și dopată cu Zn, oferă o bună eficiență antibacteriană, în timp ce adăugarea Mg duce la o posibilă activare a bacteriilor, prezentând o slabă eficiență antibacteriană.

## **Concluzii, contribuții proprii și direcții viitoare de cercetare**

În prezent, problema obținerii unor acoperiri pe bază de hidroxiapatită dopată cu elemente biocompatibile, având proprietăți prestabilite de bioactivitate dar și capacități antibacteriene, este un domeniu de cercetare de mare actualitate, cu perspective largi de aplicabilitate. În aceeași măsură se poate vorbi și despre obținerea unor suprafețe modificate la nivel nanometric, a dispozitivelor medicale implantabile metalice, care să sprijine creșterea și aderarea noului țesut. Alegerea corectă a utilizării tipului de acoperire sau suprafață în funcție de locul de implantare și rolul ce trebuie să îl îndeplinească poate fi succesul implantării dispozitivelor medicale.

#### **Concluzii generale**

Teza de doctorat "*Studii și cercetări privind îmbunătățirea proprietăților de osteointegrare a titanului cu ajutorul tehnicilor electrochimice*" reprezintă un studiu complex care abordează o problemă de actualitate din medicină, și anume îmbunătățirea capacității de osteointegrare a biomaterialelor metalice pe bază de Ti, și oferă ca soluție originală, utilizarea

metodelor electrochimice pentru biofuncționalizarea suprafeței de Ti cu o suprafață nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan obținută prin oxidare anodică, care la rândul ei este acoperită cu un strat de ceramică bioactivă pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu elemente biocompatibile, precum Mg și Zn. Acoperirile au fost obținute prin depunere electrochimică utilizând tehnica galvanostatică în pulsuri.

Astfel, următoarele concluzii au putut fi enunțate:

#### Rezultate experimentale preliminare

1. Au fost obținute suprafețe nanostructurate cu nanotuburi de dioxid de titan cu ajutorul tehnici de oxidare anodică, cu un diametru de aprox. 70 nm, optim pentru o osteoconductivitate și o osteointegrare favorabilă, cu un caracter puternic hidrofil și bune proprietăți anticorozive;
2. A fost efectuat un tratament de cristalizare optim al suprafețelor nanostructurate, ce a dus la transformarea din stare amorfă în stare cristalină a dioxidului de titan dezvoltat la suprafața titanului sub forma de nanotuburi;
3. Au fost obținute straturi de hidroxiapatită dopată cu Mg cu diferite concentrații ale elementului de dopare, cu ajutorul tehnicii electrochimice galvanostatice în pulsuri, în vederea identificării efectelor asupra proprietăților hidroxiapatitei, având ca scop selectarea acestora pentru depunerea ulterioară pe substrat de titan cu suprafață nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan;

#### Rezultate experimentale

4. Utilizarea tehnicii de depunere electrochimică galvanostatică în pulsuri a condus la obținerea de straturi de HAp nedopată și dopată cu Mg sau Zn pe suprafața titanului nanostructurat cu nanotuburi de dioxid de titan, uniforme și compacte pe întreaga suprafață expusă electrolitului;
5. Toate acoperirile obținute prezintă un singur tip de **morfologie**, de tip panglică; straturile de HAp dopate cu Mg prezintă mici modificări din punct de vedere al morfologiei, raportate la HAp nedopată, care constau într-o ușoară creștere a dimensiunii panglicilor, fiind un pic mai late, atunci când acestea sunt obținute în soluția cu concentrație de 1 mM de  $Mg(NO_3)_2$ ;
6. Comparativ cu HAp nedopată și dopată cu Mg indiferent de concentrația Mg, depunerile de HAp dopate cu Zn prezintă dimensiuni ale panglicilor mult mai mici din punct de vedere al lățimii, ce scad odată cu creșterea concentrației de Zn;
7. Din punct de vedere al **mecanismului de formare** al acoperirilor pe bază de HAp obținute prin depunerea galvanostatică în pulsuri, a fost evidențiat faptul că acoperirile obținute sunt alcătuite (în secțiune) din două straturi ce prezintă morfologii diferite; primul strat, este format în prima parte a procesului de depunere electrochimică, și este alcătuit din cristale de tip plachetă, cu aspect mai compact și o grosime mai mică, comparativ cu cel de-al doilea strat, care prezintă o grosime mai mare, și care este alcătuit din cristale de tip panglică, lungi și subțiri, dezvoltate perpendicular pe substrat;
8. Conform rezultatelor de **compoziție elementală**, raportul (Ca+M)/P (unde M-Mg sau Zn) scade odată cu adăugarea elementelor de dopare; toate acoperirile prezintă un raport (Ca+M)/P mai mic decât cel al HAp stoechiometrice, de 1,67, sugerând faptul că procesul de dopare duce la obținerea unei HAp deficitare în Ca;
9. Din punct de vedere al **compoziției fazice**, hidroxiapatita este faza principală a tuturor acoperirilor dezvoltate identificând-se și o fază minoritară și anume monetit care este un precursor al HAp; alte maxime de difracție identificate în toate acoperirile, au fost atribuite atât Ti pur cât și dioxidului de titan, prin cele două faze ale sale, și anume, anatase și rutil; nu au fost evidențiate maxime de difracție specifice elementelor de dopare în formă metalică;
10. Indiferent de tipul de element de dopare utilizat (Mg sau Zn), precum și de concentrația acestora, toate difractogramele prezintă aceeași alură și maxime de difracție, cu mici diferențe din punct de vedere al intensităților;

11. Maxima de difracție a HAp de la  $\sim 26^\circ$  aferentă planului (002), își modifică intensitatea și se deplasează ușor spre dreapta, indicând faptul că ionii de Mg și Zn, îi substituie pe cei de Ca din structura HAp demonstrând astfel efectul de dopare/substituție;
12. Din punct de vedere al *parametrilor structurali* calculați, se poate spune că aceștia scad odată cu adăugarea elementelor de dopare, indicând deformarea celulei cristalografice a HAp și confirmând substituția ionilor de Ca cu cei ai elementului de dopare;
13. Se observă o creștere a *dimensiunii de cristalit* odată cu doparea cu Mg sau Zn a HAp, indiferent de concentrația elementului de dopare;
14. *Gradul de cristalinitate* al HAp a crescut odată cu doparea acesteia indiferent de elementul de dopare; acesta a crescut odată cu creșterea concentrației de Mg și a scăzut odată cu creșterea concentrației de Zn;
15. Investigațiile *legăturilor chimice* au evidențiat prezența grupărilor fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) și hidroxil ( $\text{OH}^-$ ) pentru toate acoperirile, cele mai intense fiind remarcate în cazul acoperirilor pe bază de HAp nedopată; prezența grupărilor  $\text{PO}_4^{3-}$  între benzile de vibrație  $900$  și  $1100 \text{ cm}^{-1}$  confirmă formarea fazei HAp; adăugarea de Mg sau Zn, a dus la o diminuare a intensității benzii specifice grupării ( $\text{OH}^-$ ) în funcție de concentrația elementului de dopare, astfel încât cu cât cantitatea elementului de dopare este mai mare, cu atât intensitatea este mai slabă, indicând pierderea grupărilor  $\text{OH}^-$  din celula elementară și substituția cu ionii de Zn sau de Mg;
16. Toate acoperirile prezintă o *rugozitate* mai mare decât a titanului lustruit și nanostructurat cu nanotuburi de dioxid de titan; rugozitatea HAp crește odată cu adăugarea de Mg în structura sa și scade atunci când concentrația de Mg crește; rugozitatea straturilor de HAp dopate cu Zn prezintă rugozități mai mici decât ale HAp nedopate iar odată cu creșterea concentrației de Zn se observă o scădere a rugozității;
17. *Grosimile* straturilor de HAp dezvoltate, prezintă valori cuprinse între  $5,5$  și  $13,7 \mu\text{m}$ , cea mai mare valoare fiind a stratului de HAp dopată cu Mg obținut în electrolitul cu concentrația de  $1,5 \text{ mM}$  de  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  iar cea mai mică a stratului de HAp dopată cu Zn obținut în electrolitul cu concentrația de  $0,020 \text{ mM}$  de  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ ; creșterea concentrației de Mg duce la o creștere a grosimi de strat iar creșterea cantității de Zn la scădere a acesteia;
18. În urma *testelor de aderență* folosind testul cu bandă adezivă se poate spune că toate straturile au avut o bună aderență la suprafața titanului nanostructurat cu nanotuburi de dioxid de titan, remarcând-se însă, straturile de HAp nedopată și dopată cu Mg sau Zn obținute în electroliții cu concentrație mai mică a elementului de dopare; odată cu creșterea concentrației elementului de dopare, aderența scade făcând ca straturile să fie clasificate într-o categorie inferioară;
19. Forțele critice înregistrate în timpul testelor de aderență utilizând metoda prin zgâriere, pentru straturile de HAp dopate, sunt mai mici decât ale stratului de HAp nedopată sugerând că adăugarea de ioni de Mg sau Zn în structura HAp conduce la scăderea aderenței; creșterea concentrației elementului de dopare indiferent de natura sa, duce de asemenea la scăderea forței critice;
20. Testele de aderență utilizând metoda prin zgâriere au condus la o evaluare a aderenței straturilor într-un mod similar cu rezultatele testelor de aderență prin metoda cu bandă adezivă;
21. A fost demonstrată prezența unor urme de Ca și P în amprentă/zgârietură după efectuarea testelor de aderență prin zgâriere, acest lucru fiind benefic în cazul deteriorării acoperirilor rezultate în urma frecării cu țesuturile dure în timpul implantării sau a posibilei manipulări neglijente a dispozitivelor medicale acoperite cu HAp;
22. Atât suprafața nanostructurată cât și suprafețele nanostructurate și acoperite cu HAp nedopată sau dopată cu Mg sau Zn, prezintă un puternic caracter hidrofil indiferent de lichidul utilizat la măsurarea *unghiului de contact*;

23. **Energia liberă de suprafață** înregistrează valori mai mari după acoperirea suprafeței nanostructurate cu straturi de HAp nedopată sau dopată cu Mg sau Zn; elementele de dopare conduc și ele la o îmbunătățire (o creștere) a energiei de suprafață, comparativ cu energia de suprafață a HAp nedopată;
24. Nanostructurarea suprafeței titanului pur cu nanotuburi de dioxid de titan conduce la creșterea **rezistenței la coroziune** atât în SBF cât și în SA;
25. Depunerea de straturi de HAp nedopată pe suprafața nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan îmbunătățește **comportamentul electrochimic** al acesteia în ambele medii de testare (SBF și SA); doparea HAp cu Mg conduce la un comportament electrochimic mai slab și o posibilă degradare mai accentuată a straturilor depuse; doparea HAp cu ioni de Zn induce un comportament electrochimic mai slab al straturilor comparativ cu al celor de HAp nedopată dar mai bun decât al celor din HAp dopată cu Mg;
26. Tehnicile electrochimice utilizate la biofuncționalizarea suprafețelor au îmbunătățit **capacitatea de biomineralizare** a Ti indiferent de perioada de imersare în SBF; cea mai mare cantitate de apatită nou formată la finalul testelor de biomineralizare a fost înregistrată în cazul HAp dopată cu Zn urmată de HAp dopată cu Mg demonstrând astfel îmbunătățirea bioactivității acestor materiale din punct de vedere al capacității de biomineralizare;
27. În cadrul testelor de **biodegradare**, straturile de HAp dopată cu Mg s-au evidențiat prin cea mai mare pierdere de masă la finalul celor 21 de zile de imersare în PBS demonstrând că doparea cu acest element duce la o accelerare a proceselor de degradare a HAp;
28. Testele de **viabilitate celulară** pe culturi de celulele osteoblaste au demonstrat că tehnicile electrochimice (oxidarea anodică și depunerea galvanostatică în pulsuri) utilizate la biofuncționalizarea titanului au îmbunătățit comportamentul *in vitro* al noilor suprafețe dezvoltate; la finalul celor 3 zile de testare a viabilității celulare, stratul de HAp dopată cu Mg prezintă cea mai mare viabilitate celulară urmat apoi de stratul de HAp dopată cu Zn;
29. Cea mai mare **eficiența antibacteriană**, în urma testelor pe culturi de celulele bacteriene de tip *E. Coli*, a fost înregistrată în cazul acoperirilor de HAp dopată cu Zn cu o valoare de 16,25 % raportată la proba de control.

### Contribuții personale

Caracterul de noutate al prezentei teze de doctorat derivă chiar selecția metodelor de biofuncționalizate care ulterior, cu ușurință pot fi implementate în modificarea suprafețelor dispozitivelor medicale implantabile fabricate din titan cu geometrii complexe (ex.: implant dentar).

Contribuțiile personale rezultate în urma cercetărilor se pot sintetiza după cum urmează:

- Realizarea un studiu de literatură concentrat asupra tehnicilor electrochimice de funcționalizare a suprafeței titanului pentru îmbunătățirea interacțiunii cu țesuturile vii (biofuncționalizare) și a biomaterialelor utilizate în medicina dentară pentru fabricarea implanturilor dentare, punându-se accent pe titan și aliajele sale, precum și pe hidroxiapatită;
- Identificarea și selectarea metodelor în vederea nanostructurării suprafeței titanului cu nanotuburi de dioxid de titan și acoperirea ulterioară a acestei suprafețe cu straturi pe bază de hidroxiapatită;
- Identificarea și selectarea parametrilor electrochimici de obținere a acoperirilor pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu elemente biocompatibile prin tehnici electrochimice utilizând metoda galvanostatică în pulsuri.
- Obținerea acoperirilor pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu diferite concentrații de magneziu sau de zinc pe suprafața nanostructurată, utilizând aceiași parametri

- electrochimici de depunere (temperatura electrolitului în timpul procesului de depunere, densitatea de curent aplicată, pH-ul electrolitului, numărul și durata pulsurilor aplicate);
- Selectarea elementelor de dopare a hidroxiapatitei având ca obiectiv obținerea de acoperiri biocompatibile, bioactive, biodegradabile și/sau cu efect antibacterian;
  - Obținerea de straturi pe bază de hidroxiapatită dopată cu zinc pe suprafață nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan prin tehnica electrochimică galvanostatică în pulsuri care constituie un caracter de noutate la nivel global;
  - Obținerea de straturi pe bază de hidroxiapatită dopată cu zinc în concentrație optimă oferind un bun efect antibacterian, favorizând totodată și proliferarea celulară, fără a induce un efect citotoxic;
  - Caracterizarea comparativă, complexă și detaliată a suprafețelor nanostructurate cu nanotuburi de dioxid de titan neacoperite și acoperite cu straturi pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu magneziu sau zinc în diferite concentrații, utilizând metode și tehnici moderne de investigații și caracterizare precum, microscopie electronică de baleiaj (SEM și HR-SEM), spectrometrie cu dispersie de raze X după energie (EDS), difracție de raze X la unghiuri incidente (GI-XRD), spectrometrie în infraroșu cu transformată Fourier (FTIR). De asemenea aderența straturilor la suprafața nanostructurată cu nanotuburi de dioxid de titan a fost realizată prin testul cu bandă adezivă și metoda zgârierii (scratch test);
  - Testarea complexă a suprafețelor nanostructurate cu nanotuburi de dioxid de titan neacoperite și acoperite cu straturi pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu magneziu sau zinc în concentrațiile selectate care au constat în:
    - evaluarea comportamentului electrochimic în medii biologice sintetice (soluție biologică sintetică – SBF și salivă artificială – SA);
    - evaluarea bioactivității prin teste de biomineralizare în SBF și de biodegradare în soluție tampon fosfat (PBS);
    - evaluarea biocompatibilității prin teste de viabilitate celulară cu celule osteoblaste MG63;
    - evaluarea eficienței antibacteriene utilizând culturi de celule bacteriene *E. coli*.

### **Direcții viitoare de cercetare**

Unele probleme abordate în această lucrare rămân deschise pentru o tratare ulterioară mai amplă și, după caz, mai profundă. Din aceasta categorie fac parte următoarele:

- Cuantificarea și identificarea ionilor eliberați în soluții în urma testelor de bioactivitate și de testare a comportamentului electrochimic;
- Studiarea la nivel micro- și nanometric a interfețelor titan-nanotuburi și nanotuburi-hidroxiapatită în vederea aprofundării interacțiunii dintre aceste materiale dar și a aderenței între acestea;
- Identificarea sau dezvoltarea unei metode de testare a aderenței cu un grad mai mare de acuratețe pentru tipul de materiale dezvoltate în cadrul tezei;
- Utilizarea tehnicilor electrochimice dezvoltate și utilizate în cadrul tezei de doctorat în vederea biofuncționalizării suprafeței unui dispozitiv medical implantabil cu geometrie complexă;
- Extinderea perioadei de testare a viabilității celulare pe culturi de celule osteoblaste în vederea evidențierii performanțelor biologice pe termen îndelungat;
- Aprofundarea studiilor privind biocompatibilitatea materialelor dezvoltate prin efectuarea și a altor teste (potențial citotoxic, proliferare, apoptoză);
- Realizarea de teste *in vivo* pe modele animale, a materialelor dezvoltate, vederea stabilirii gradului de toxicitate și a reacțiilor adverse la contactul cu țesuturile vii.



## Bibliografie selectivă

- [4] D.F. Williams, *The Williams Dictionary of Biomaterials*, Liverpool University Press, 1999. <https://doi.org/10.5949/UPO9781846314438>.
- [5] M. Niinomi, *Metallic biomaterials*, *Journal of Artificial Organs*. 11 (2008) 105–110. <https://doi.org/10.1007/s10047-008-0422-7>.
- [7] M.S. Safavi, F.C. Walsh, M.A. Surmeneva, R.A. Surmenev, J. Khalil-Allafi, *Electrodeposited Hydroxyapatite-Based Biocoatings: Recent Progress and Future Challenges*, *Coatings*. 11 (2021) 110. <https://doi.org/10.3390/coatings11010110>.
- [46] A. Vladescu, D.M. Vranceanu, S. Kulesza, A.N. Ivanov, M. Bramowicz, A.S. Fedonnikov, M. Braic, I.A. Norkin, A. Koptyug, M.O. Kurtukova, M. Dinu, I. Pana, M.A. Surmeneva, R.A. Surmenev, C.M. Cotrut, *Influence of the electrolyte's pH on the properties of electrochemically deposited hydroxyapatite coating on additively manufactured Ti64 alloy*, *Sci Rep*. 7 (2017). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16985-z>.
- [48] D.M. Vranceanu, E. Ungureanu, **I.C. Ionescu**, A.C. Parau, A.E. Kiss, A. Vladescu, C.M. Cotrut, *Electrochemical Surface Biofunctionalization of Titanium through Growth of TiO<sub>2</sub> Nanotubes and Deposition of Zn Doped Hydroxyapatite*, *Coatings*. 12 (2022) 69. <https://doi.org/10.3390/coatings12010069>.
- [49] C.M. Cotrut, E. Ungureanu, **I.C. Ionescu**, R.I. Zamfir, A.E. Kiss, A.C. Parau, A. Vladescu, D.M. Vranceanu, A. Saceleanu, *Influence of Magnesium Content on the Physico-Chemical Properties of Hydroxyapatite Electrochemically Deposited on a Nanostructured Titanium Surface*, *Coatings*. 12 (2022) 1097. <https://doi.org/10.3390/coatings12081097>.
- [58] I.M. Chirică, A.-M. Enciu, T. Tite, M. Dudău, L. Albulescu, S.L. Iconaru, D. Predoi, I. Pasuk, M. Enculescu, C. Radu, C.G. Mihalcea, A.-C. Popa, N. Rusu, S. Niță, C. Tănase, G.E. Stan, *The Physico-Chemical Properties and Exploratory Real-Time Cell Analysis of Hydroxyapatite Nanopowders Substituted with Ce, Mg, Sr, and Zn (0.5–5 at.%)*, *Materials*. 14 (2021) 3808. <https://doi.org/10.3390/ma14143808>.
- [75] S. Lerouge, *Sterilization and cleaning of metallic biomaterials*, in: *Metals for Biomedical Devices*, Elsevier, 2019: pp. 405–428. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102666-3.00016-X>.
- [82] K. von der Mark, J. Park, *Engineering biocompatible implant surfaces. Part II: Cellular recognition of biomaterial surfaces: Lessons from cell-matrix interactions*, *Prog Mater Sci*. 58 (2012) 327–381. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2012.09.002>.
- [83] J.G. Caton, G. Armitage, T. Berglundh, I.L.C. Chapple, S. Jepsen, K.S. Kornman, B.L. Mealey, P.N. Papapanou, M. Sanz, M.S. Tonetti, *A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification*, *J Clin Periodontol*. 45 (2018) S1–S8. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12935>.
- [85] M.M.M. Abir, Y. Otsuka, K. Ohnuma, Y. Miyashita, *Effects of composition of hydroxyapatite/gray titania coating fabricated by suspension plasma spraying on mechanical and antibacterial properties*, *J Mech Behav Biomed Mater*. 125 (2022) 104888. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2021.104888>.
- [94] K. Indira, U.K. Mudali, T. Nishimura, N. Rajendran, *A Review on TiO<sub>2</sub> Nanotubes: Influence of Anodization Parameters, Formation Mechanism, Properties, Corrosion Behavior, and Biomedical Applications*, *J Bio Tribocorros*. 1 (2015) 28. <https://doi.org/10.1007/s40735-015-0024-x>.
- [100] T. Traini, G. Murmura, B. Sinjari, G. Perfetti, A. Scarano, C. D'Arcangelo, S. Caputi, *The Surface Anodization of Titanium Dental Implants Improves Blood Clot Formation Followed by Osseointegration*, *Coatings*. 8 (2018) 252. <https://doi.org/10.3390/coatings8070252>.
- [102] C.M. Cotrut, **I.C. Ionescu**, E. Ungureanu, A. Berbecaru, R.I. Zamfir, A. Vladescu, D.M. Vranceanu, *Evaluation of surface modification techniques on the ability of apatite formation and corrosion behavior in synthetic body fluid: An in vitro study*, *Surfaces and Interfaces*. 22 (2021) 100866. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2020.100866>.
- [120] Y. Sul, *The significance of the surface properties of oxidized titanium to the bone response: special emphasis on potential biochemical bonding of oxidized titanium implant*, *Biomaterials*. 24 (2003) 3893–3907. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00261-8](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00261-8).

- [123] N. Wang, H. Li, W. Lü, J. Li, J. Wang, Z. Zhang, Y. Liu, Effects of TiO<sub>2</sub> nanotubes with different diameters on gene expression and osseointegration of implants in minipigs, *Biomaterials*. 32 (2011) 6900–6911. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.06.023>.
- [136] D.S. Jayakrishnan, *Electrodeposition: the versatile technique for nanomaterials*, Woodhead Publishing Limited, 2012. <https://doi.org/10.1533/9780857095800.1.86>.
- [137] R. Drevet, H. Benhayoune, Electrodeposition of Calcium Phosphate Coatings on Metallic Substrates for Bone Implant Applications: A Review, *Coatings*. 12 (2022) 539. <https://doi.org/10.3390/coatings12040539>.
- [141] D.M. Vranceanu, **I.C. Ionescu**, E. Ungureanu, M.O. Cojocaru, A. Vladescu, C.M. Cotrut, Magnesium doped hydroxyapatite-based coatings obtained by pulsed galvanostatic electrochemical deposition with adjustable electrochemical behavior, *Coatings*. 10 (2020) 1–15. <https://doi.org/10.3390/COATINGS10080727>.
- [142] D. Gopi, J. Indira, L. Kavitha, A comparative study on the direct and pulsed current electrodeposition of hydroxyapatite coatings on surgical grade stainless steel, *Surf Coat Technol*. 206 (2012) 2859–2869. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2011.12.011>.
- [147] T. Kokubo, H. Takadama, How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials*. 27 (2006) 2907–2915. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>.
- [158] F. Mansfeld, The Polarization Resistance Technique for Measuring Corrosion Currents, in: M.G. Fontana, R.W. Staehle (Eds.), *Advances in Corrosion Science and Technology*, Volume 6, Springer US, Boston, MA, 1976: pp. 163–262. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-8986-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-8986-6_3)
- [170] E.P. Su, D.F. Justin, C.R. Pratt, V.K. Sarin, V.S. Nguyen, S. Oh, S. Jin, Effects of titanium nanotubes on the osseointegration, cell differentiation, mineralisation and antibacterial properties of orthopaedic implant surfaces, *Bone Joint J*. 100-B (2018) 9–16. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.100B1.BJJ-2017-0551.R1>.
- [171] L. Bai, Y. Zhao, P. Chen, X. Zhang, X. Huang, Z. Du, R. Crawford, X. Yao, B. Tang, R. Hang, Y. Xiao, Targeting Early Healing Phase with Titania Nanotube Arrays on Tunable Diameters to Accelerate Bone Regeneration and Osseointegration, *Small*. 17 (2021) 2006287. <https://doi.org/10.1002/sml.202006287>.
- [185] S. Ferraris, S. Spriano, G. Pan, A. Venturello, C.L. Bianchi, R. Chiesa, M.G. Faga, G. Maina, E. Vernè, Surface modification of Ti–6Al–4V alloy for biomineralization and specific biological response: Part I, inorganic modification, *J Mater Sci Mater Med*. 22 (2011) 533–545. <https://doi.org/10.1007/s10856-011-4246-2>.
- [186] R. Baboian, J.R. Scully, S.W.J. Dean, *Corrosion Tests and Standards*, Volume 6, Springer US Plenum Press, New York, 2005.
- [190] H. Wang, N. Eliaz, Z. Xiang, H.P. Hsu, M. Spector, L.W. Hobbs, Early bone apposition in vivo on plasma-sprayed and electrochemically deposited hydroxyapatite coatings on titanium alloy, *Biomaterials*. 27 (2006) 4192–4203. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.03.034>.
- [191] K. Kanamoto, K. Imamura, N. Kataoka, J. Oshitani, H. Imanaka, K. Nakanishi, Formation characteristics of calcium phosphate deposits on a metal surface by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-electrolysis reaction under various conditions, *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. 350 (2009) 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2009.09.007>.
- [195] B. Bakin, T. Koc Delice, U. Tiric, I. Birlik, F. Ak Azem, Bioactivity and corrosion properties of magnesium-substituted CaP coatings produced via electrochemical deposition, *Surf Coat Technol*. 301 (2016) 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2015.12.078>.
- [196] L. Morejón-Alonso, C. Mochales, L. Nascimento, W. Müller, Electrochemical deposition of Sr and Sr/Mg-co-substituted hydroxyapatite on Ti-40Nb alloy, *Mater Lett*. 248 (2019) 65–68. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.03.141>.
- [204] I. Uysal, F. Severcan, A. Tezcaner, Z. Evis, Co-doping of hydroxyapatite with zinc and fluoride improves mechanical and biological properties of hydroxyapatite, *Progress in Natural Science: Materials International*. 24 (2014) 340–349. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2014.06.004>.
- [205] N. v. Bulina, O.B. Vinokurova, N. v. Eremina, I.Y. Prosanov, V.R. Khusnutdinov, M. v. Chaikina, Features of solid-phase mechanochemical synthesis of hydroxyapatite doped by copper and zinc ions, *J Solid State Chem*. 296 (2021) 121973. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2021.121973>.

- [206] Y. Yajing, D. Qiongqiong, H. Yong, S. Han, X. Pang, Magnesium substituted hydroxyapatite coating on titanium with nanotubular TiO<sub>2</sub> intermediate layer via electrochemical deposition, *Appl Surf Sci.* 305 (2014) 77–85. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.02.163>.
- [209] Q. Ding, X. Zhang, Y. Huang, Y. Yan, X. Pang, In vitro cytocompatibility and corrosion resistance of zinc-doped hydroxyapatite coatings on a titanium substrate, *J Mater Sci.* 50 (2015) 189–202. <https://doi.org/10.1007/s10853-014-8578-4>.
- [210] Y. Cai, S. Zhang, X. Zeng, Y. Wang, M. Qian, W. Weng, Improvement of bioactivity with magnesium and fluorine ions incorporated hydroxyapatite coatings via sol–gel deposition on Ti6Al4V alloys, *Thin Solid Films.* 517 (2009) 5347–5351. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2009.03.071>.
- [214] A. Ito, K. Ojima, H. Naito, N. Ichinose, T. Tateishi, Preparation, solubility, and cytocompatibility of zinc-releasing calcium phosphate ceramics, *J Biomed Mater Res.* 50 (2000) 178–183. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(200005\)50:2<178::AID-JBM12>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(200005)50:2<178::AID-JBM12>3.0.CO;2-5).
- [220] R. Narayanan, S.K. Seshadri, T.Y. Kwon, K.H. Kim, Review Calcium Phosphate-Based Coatings on Titanium and Its Alloys, (2007) 279–299. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30932>.
- [222] R.M. do Nascimento, V.R. de Carvalho, J.S. Govone, A.C. Hernandez, N.C. da Cruz, Effects of negatively and positively charged Ti metal surfaces on ceramic coating adhesion and cell response, *J Mater Sci Mater Med.* 28 (2017) 33. <https://doi.org/10.1007/s10856-017-5848-0>.
- [223] L. Ponsonnet, K. Reybier, N. Jaffrezic, V. Comte, C. Lagneau, M. Lissac, C. Martelet, Relationship between surface properties (roughness, wettability) of titanium and titanium alloys and cell behaviour, *Materials Science and Engineering C.* 23 (2003) 551–560. [https://doi.org/10.1016/S0928-4931\(03\)00033-X](https://doi.org/10.1016/S0928-4931(03)00033-X).
- [229] T. Kokubo, Design of bioactive bone substitutes based on biomineralization process, *Materials Science and Engineering: C.* 25 (2005) 97–104. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2005.01.002>.
- [230] T. Kokubo, S. Yamaguchi, Novel bioactive materials developed by simulated body fluid evaluation: Surface-modified Ti metal and its alloys, *Acta Biomater.* 44 (2016) 16–30. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.08.013>.
- [236] S. Chen, Y. Shi, X. Zhang, J. Ma, Biomimetic synthesis of Mg-substituted hydroxyapatite nanocomposites and three-dimensional printing of composite scaffolds for bone regeneration, *J Biomed Mater Res A.* 107 (2019) 2512–2521. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36757>.
- [237] S. Horiuchi, M. Hiasa, A. Yasue, K. Sekine, K. Hamada, K. Asaoka, E. Tanaka, Fabrications of zinc-releasing biocement combining zinc calcium phosphate to calcium phosphate cement, *J Mech Behav Biomed Mater.* 29 (2014) 151–160. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2013.09.005>.
- [239] P. Shahmohammadi, B.A. Khazaei, Characterization of Zn/Mg-enriched calcium phosphate coating produced by the two-step pulsed electrodeposition method on titanium substrate, *Surfaces and Interfaces.* 22 (2021) 100819. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2020.100819>.
- [240] D. Franco, G. Calabrese, S. Petralia, G. Neri, C. Corsaro, L. Forte, S. Squarzoni, S. Guglielmino, F. Traina, E. Fazio, S. Conoci, Antimicrobial Effect and Cytotoxic Evaluation of Mg-Doped Hydroxyapatite Functionalized with Au-Nano Rods, *Molecules.* 26 (2021) 1099. <https://doi.org/10.3390/molecules26041099>.

## Lista lucrărilor științifice publicate

Rezultatele obținute pe parcursul elaborării tezei de doctorat au fost valorificate prin publicarea a **5 de articole** în jurnale cotate/indexate ISI, precum și prin participarea la **12 conferințe internaționale**.

### Lucrări științifice publicate în jurnale cotate/indexate ISI

1. Cotrut C.M., Ungureanu E., **Ionescu Ionut Cornel\***, Zamfir R.I., Kiss A.E., Parau A.C., Vladescu A., Vranceanu M.D., Saceleanu A., *Influence of Magnesium Content on the Physico-Chemical Properties of Hydroxyapatite Electrochemically Deposited on a Nanostructured Titanium Surface*, Coatings, 2022, Vol. 12., Iss. 8., Article No. 1097, DOI: [10.3390/coatings12081097](https://doi.org/10.3390/coatings12081097);
2. Vrânceanu, D.M., Ungureanu, E., **Ionescu Ionut Cornel**, Pârâu A.C., Kiss A.E., Vlădescu, A., Cotruț, C.M., *Electrochemical surface biofunctionalization of titanium through growth of TiO<sub>2</sub> nanotubes and deposition of Zn doped hydroxyapatite*, Coatings, 2022, Vol. 12, Iss. 1, Article No. 69, DOI: [10.3390/coatings12010069](https://doi.org/10.3390/coatings12010069);
3. Cotruț C.M., **Ionescu Ionut Cornel**, Ungureanu E., Berbecaru A., Zamfir R.I., Vlădescu A., Vrânceanu D.M., *Evaluation of surface modification techniques on the ability of apatite formation and corrosion behavior in synthetic body fluid: An in vitro study*, Surfaces and Interfaces, 2021, Vol. 22, Article No. 100866. DOI: [10.1016/j.surfin.2020.100866](https://doi.org/10.1016/j.surfin.2020.100866);
4. Vrânceanu D.M., **Ionescu Ionut Cornel**, Ungureanu E., Cojocaru M.O., Vlădescu A., Cotruț C.M.\*, *Magnesium doped hydroxyapatite obtained by pulsed galvanostatic deposition with adjustable electrochemical behavior*, Coatings, 2020, Vol. 10, Iss. 8, Article No. 727, DOI: [10.3390/coatings10080727](https://doi.org/10.3390/coatings10080727);
5. Ungureanu E., **Ionescu Ionut Cornel**, Zamfir-Andronic R.I., Vasilescu M, Milea C.G., Dobrescu M.C., Vrânceanu D.M., Cotruț C.M., *Biofunctionalization of Ti6Al4V surface with Ag modified HAp coatings via electrochemical deposition*, UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science, 2020, Vol. 82, Iss. 4, pp. 307-324.

### Lucrări prezentate în cadrul unor conferințe internaționale

1. D.M. Vranceanu, **Ionescu Ionut Cornel**, E. Ungureanu, A. Kiss, A.C. Parau, C.M. Cotrut, *Influence of Mg and Zn content on the properties of hydroxyapatite based coatings*, 6<sup>th</sup> International Conference New Trends on Sensing - Monitoring - Telediagnosis for Life Sciences NT-SMT-LS 2022, 8 - 10 September, 2022, Brasov, Romania (on site and online participation) - **poster**;
2. D.M. Vranceanu, **Ionescu Ionut Cornel**, E. Ungureanu, A.C. Parau, R.I. Zamfir I. Titorencu, M. Badea, C. Adochite, S. Costinas, M. Idomir, A. Vladescu and C.M. Cotrut, *In vitro evaluation of doped hydroxyapatite coatings electrochemically deposited on titanium nanostructured surface*, 6<sup>th</sup> International Conference New Trends on Sensing - Monitoring - Telediagnosis for Life Sciences NT-SMT-LS 2022, 8 - 10 September, 2022, Brasov, Romania (on site and online participation) - **poster**;
3. D.M. Vranceanu, **Ionescu Ionut Cornel**, E. Ungureanu, A.C. Parau, A. Vladescu., C.M. Cotrut, *Biofunctionalization of titanium with titania nanotubes and doped hydroxyapatite-based coatings*, 9<sup>th</sup> International Conference "Biomaterials, Tissue Engineering & Medical Devices" BIOMMEDD'2022, 20-22 Iulie 2022, Bucharest, Romania – **prezentare orală**;
4. D.M. Vranceanu, **Ionescu Ionut Cornel**, E. Ungureanu, A. Kiss, G.A. Juravlea, R.I. Zamfir, I. Titorencu, A. Vladescu and C.M. Cotrut, *Physico-chemical properties and in vitro behavior of Zn doped HAp based coatings deposited on nanostructured surface*, EMRS – Spring Meeting Virtual Conference, 30 Mai – 3 Iunie, 2022, Strasbourg, Franța (on-line) – **prezentare poster/orală**;

5. D.M. Vranceanu, E. Ungureanu, **Ionescu Ionut Cornel**, G.A. Juravlea, A. Kiss, A. Parau, A. Vladescu, C.M. Cotrut, *Biofunctionalization of Ti nanostructured surfaces with hydroxyapatite-based coatings intended for medical applications*, 3<sup>rd</sup> Coatings and Interfaces Conference, Part of the Coatings and Interfaces series, 24 – 26 Noiembrie 2021 (on-line) – **poster**;
6. D.M. Vranceanu, **Ionescu Ionut Cornel**, E. Ungureanu, A. Berbecaru, G.A. Juravlea, R.I. Zamfir, A. Vladescu, C.M. Cotrut, *Assessment of different surface modification techniques on the corrosion behavior and the ability of apatite formation of titanium*, EMRS – Spring Meeting Virtual Conference, 31 Mai – 1 Iunie, 2021, Strasbourg, Franța (on-line) – **prezentare orală**;
7. **Ionescu Ionut Cornel**, M. Cojocaru, E. Ungureanu, A. Berbecaru, D.M. Vranceanu, C.M. Cotrut, *Electrochemical behavior and adherence of hydroxyapatite-based coatings on nanostructured titanium surface*, 8<sup>th</sup> International Conference on Materials Science and Technologies, ROMAT2020, 26-27 Noiembrie 2020, București, România (on-line) – **poster**;
8. D.M. Vranceanu, **Ionescu Ionut Cornel**, E. Ungureanu, A. Berbecaru, G.A. Juravlea, R.I. Zamfir, A. Vladescu, C.M. Cotrut, *Impact of surface modification techniques on the in vitro corrosion behavior and biomineralization ability of titanium*, ROMAT2020, 26-27 Noiembrie 2020, București, România (on-line) – **prezentare orală**;
9. E. Ungureanu., **Ionescu Ionut Cornel**, G.A. Juravlea, A.A. Cloșcă, A. Vladescu, C.M. Cotrut, *Magnesium-doped hydroxyapatite coatings obtained by electrochemical deposition with enhanced features*, 8<sup>th</sup> International Conference on Materials Science and Technologies, ROMAT2020, 26-27 Noiembrie 2020, București, România (on-line);
10. **Ionescu Ionut Cornel**, D.M. Vranceanu, D. Tabaras, E. Ungureanu, A. Berbecaru, M. Cojocaru, A.C. Parau, A. Vladescu, C.M. Cotrut *Bioactivation through duplex treatment of titanium-based surface intended for biomedical applications*, 1<sup>st</sup> International Conference "Medical Materials Science & Engineering – BIOMAT" (1Biomat), 20 – 23 Februarie, 2021, Predeal, România – **poster**;
11. **Ionescu Ionut Cornel**, D.M. Vranceanu, E. Ungureanu, A. Berbecaru, A.C. Parau, A. Vladescu, M. Cojocaru, C.M. Cotrut, *Nanostructured titanium dioxide surface biofunctionalized with nano-hydroxyapatite bioceramic based coating as tailored surface*, International Conference on Functional Nanomaterials and Nanodevices – NANOMAT 2019, 11 – 13 Septembrie, 2019, Praga, Republica Cehă – **poster**;
12. **Ionescu Ionut Cornel**, D.M. Vranceanu, V.I. Negoiescu, A. Berbecaru, A.C. Parau, A. Vladescu, M. Cojocaru, C.M. Cotrut, *Electrochemical techniques for tailored biomedical surface properties: anodized treatment and HAp deposition – a duplex treatment*, Cel de-al 43-lea Congres al Academiei Româno-Americane de Arte și Științe" (ARA 34<sup>rd</sup>), 9 – 14 Iunie, 2019, Salonic, Grecia – **poster**.