



Universitatea Națională de Știință și Tehnologie
POLITEHNICA 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 obținerea de acoperiri pe bază de hidroxiapatită cu proprietăți de osteointegrare ridicată și proprietăți antibacteriene cu ajutorul tehnicilor electrochimice

Doctorand: Elena Ungureanu

Conducător științific: Prof.dr.habil.ing. Mihai Târcolea

COMISIA DE DOCTORAT

Președinte	Prof.dr.habil.ing. Florin Miculescu	de la	Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București
Conducător de doctorat	Prof.dr.habil.ing. Mihai Târcolea	de la	Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București
Referent	Prof.dr.habil. Anișoara Cîmpean	de la	Universitatea din București
Referent	Prof.dr.ing. Mircea Horia Țierean	de la	Universitatea Transilvania din Brașov
Referent	Conf.dr.ing. Cosmin Mihai Cotruț	de la	Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București

Cuprins

Rezumat	5
Introducere	6
<i>Partea I – Studiu de literatură</i>	7
Capitolul 1. Studiu de literatură privind aplicabilitatea biomaterialelor în medicină	7
1.1. Clase de biomateriale utilizate în medicină.....	7
Capitolul 2. Biofuncționalizarea biomaterialelor metalice cu acoperiri osteoconductive pe bază de fosfați de calciu	7
2.1. Necesitatea utilizării acoperirilor osteoconductive în aplicațiile medicale	7
2.2. Clasificarea metodelor de depunere	7
<i>Partea II – Cercetări experimentale</i>	8
Capitolul 3. Materiale și metode de caracterizare a acoperirilor pe bază de hidroxiapatită	8
3.1. Obiectivul tezei	8
3.2. Materiale utilizate	8
3.3. Metode de caracterizare	9
3.4. Metode de testare	9
Capitolul 4. Obținerea și caracterizarea de acoperiri bioactive, osteoconductive și antibacteriene pe bază de hidroxiapatită	9
4.1. Introducere	9
4.2. Pregătirea probelor și obținerea acoperirilor	9
4.3. Caracterizarea acoperirilor osteoconductive	10
4.3.1. Morfologie	10
4.3.2. Compoziție elementală.....	10
4.3.3. Compoziție fazică.....	11
4.3.4. Legături chimice.....	12
4.3.5. Rugozitate și topografie	12
4.4. Testarea acoperirilor	13
4.4.1. Teste de bioactivitate	13
4.4.2. Teste electrochimice	14
4.5. Concluzii	14
Capitolul 5. Influența pH-ului electrolitului asupra proprietăților fizico-chimice ale acoperirilor de HAp nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag	15
5.1 Obținerea acoperirilor de HAp nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag	15
5.2 Caracterizarea preliminară a acoperirilor pe bază de HAp	16
5.2.1. Morfologia acoperirilor pe bază de HAp	16
5.2.2. Compoziția elementală a acoperirilor pe bază de HAp	16
5.2.3. Compoziția fazică a acoperirilor pe bază de HAp nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag	18
5.2.4. Rugozitate și grosime de strat	19
5.3. Concluzii	20
Capitolul 6. Caracterizarea și testarea acoperirilor pe bază de HAp obținute la pH 5	20
6.1. Legături chimice și aderență	20
6.1.1. Legături chimice.....	20
6.1.2. Aderență	21
6.2. Proprietăți de umectabilitate	22
6.2.1. Unghi de contact	22

6.2.2. Energie liberă de suprafață.....	22
6.3. Comportamentul electrochimic.....	23
6.4. Evaluarea comportamentului <i>in vitro</i> în SBF și PBS.....	24
6.4.1. Teste de biomineralizare în SBF.....	24
6.4.2. Teste de biodegradare în PBS.....	24
6.5. Teste de biologie celulară.....	25
6.5.1. Viabilitatea și proliferarea preosteoblastelor MC3T3-E1.....	25
6.5.2. Morfologia preosteoblastelor MC3T3-E1.....	25
6.5.3. Diferențierea preosteoblastelor MC3T3-E1.....	26
6.6. Concluzii.....	27
Concluzii, contribuții proprii și perspective de cercetare.....	28
Bibliografie selectivă.....	33
Lista de lucrări.....	35

Mulțumiri

Elaborarea și definitivarea tezei de doctorat nu ar fi fost realizabilă fără sprijinul unor oameni cu calități profesionale de excepție.

În acest context, doresc să mulțumesc conducătorului de doctorat *Prof. Dr. Habil. Mihai Târcolea* pentru răbdare, profesionalism și îndrumare pe parcursul studiilor doctorale.

Mulțumesc distinșilor referenți *Prof. Dr. Habil. Anișoara Cîmpean, Prof.dr.ing. Mircea Horia Țierean și Conf. Dr. Ing. Cosmin Mihai Cotruț* pentru onoarea acordată de a face parte din comisia de susținere publică și de a evalua această teză de doctorat.

Cu deosebită emoție îmi exprim gratitudinea față de domnișoara *Ș.l. dr. ing Diana Vrânceanu* pentru suportul moral și logistic încă de la finalizarea studiilor de licență. Această deosebită colaborare s-a concretizat într-o lecție de viață, formându-mă omul de astăzi atât din punct de vedere profesional cât și personal.

Totodată, aș dori să mulțumesc membrilor comisiei de îndrumare: *Conf. dr. ing. Sorin Ciucă și Conf. dr. ing. Mihai Brânzei* pentru sugestiile și sfaturile oferite pe parcursul studiilor doctorale.

Sincere mulțumiri datorez membrilor departamentului Știința Materialelor Metalice, Metalurgie Fizică, din cadrul Facultății de Știința și Ingineria Materialelor pentru sprijinul și înțelegerea acordate pe parcursul stagiului de doctorat. Toate acestea au contribuit la formarea mea profesională.

Sunt profund recunoscătoare colectivului RECAST de la Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Optoelectronică - INOE 2000, îndeosebi doamnei *CS I. Alina Vlădescu (Dragomir)* și doamnei *CS III Anca Constantina Pârâu* pentru suportul moral și logistic în cadrul caracterizărilor numărului impresionant de eșantioane experimentale.

Calde mulțumiri se îndreaptă către departamentul de Biochimie și Biologie Moleculară, din cadrul Facultății de Biologie (Universitatea din București) pentru susținerea în realizarea studiilor pe culturi celulare, și totodată pentru sprijinul și îndrumările acordate.

Totodată, mulțumesc pentru sprijinul obținut prin Fondul Social European, în cadrul proiectului „Pregătirea doctoranzilor și cercetătorilor poStdoctorat în vederea dobândirii de coMpetente de cercetARE aplicaTivă – SMART”.

Mulțumiri se îndreaptă și către prietenii mei care m-au susținut și încurajat încă de la început.

Sunt profund recunoscătoare familiei mele pentru încurajările și dragostea necondiționată oferite pe parcursul formării mele și susținerea acordată în perioada stagiului de doctorat.

Rezumat

Prezenta teză de doctorat abordează un subiect important din ingineria biomaterialelor și anume biofuncționalizarea suprafețelor dispozitivelor medicale implantabile în vederea îmbunătățirii capacității de osteointegrare și reducerea riscului de eșec datorat infecțiilor intraspitalicești.

În această direcție au fost dezvoltate acoperiri pe baza de hidroxiapatită dopată cu ioni metalici care să accelereze procesele de osteointegrare și să inducă proprietăți antibacteriene cu ajutorul tehnicilor electrochimice. Totodată, parametrii implicați în tehnicile electrochimice abordate (timp, concentrația și pH-ul electrolitului) au fost optimizați în vederea obținerii unor acoperiri pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag cu grosimi apropiate și concentrații ale elementelor de dopare în cantități optime pentru obținerea unor caracteristici superioare și în același timp să nu inducă efecte citotoxice.

Aceste acoperiri au fost supuse unor caracterizări ample din punct de vedere al morfologiei, compoziției elementale și fazice, valorilor parametrilor structurali, cristalinității, dimensiunii de cristalit, legăturilor chimice, topografiei, umectabilității, aderenței, rugozității și grosimii de strat. Ulterior, acoperirile pe bază de hidroxiapatită au fost testate *in vitro* din punct de vedere al comportamentului electrochimic și al bioactivității în medii biologice sintetice acelulare și al răspunsului celular pe culturi de celule preosteoblaste (viabilitate, proliferare, morfologie și diferențiere).

Rezultatele obținute au evidențiat faptul că proprietățile noilor acoperiri pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag obținute în electrolit cu pH 5 pot fi modulate prin modificarea parametrilor implicați în procesul de depunere, obținându-se acoperiri cu proprietăți superioare ce pot fi utilizate în aplicații medicale.

Cuvinte cheie: hidroxiapatită, argint, stronțiu, depuneri electrochimice, codopare, pH-ul electrolitului, biocompatibilitate

Introducere

Biomaterialele au câștigat un interes deosebit în urma cerințelor clinice actuale determinată de capacitatea de abordare a condițiilor medicale, dar și de creșterea mediei de vârstă. Comercializarea implanturilor se bazează pe studierea și dezvoltarea unor noi materiale prin implicarea cercetătorilor din domenii precum chimie, biologie, medicină și ingineria materialelor.

Succesul unui implant depinde de procesul de remodelare osoasă și capacitatea acestuia de osteointegrare. Aceste procese sunt dependente de vârsta pacientului, afecțiuni medicale, dar și de prevalența bacteriilor din unitățile spitalicești care conduc la apariția infecțiilor asociate implantului.

În prezent asistăm la o creștere a pacienților de peste 50 de ani care suferă de afecțiuni asociate țesutului dur osos. Osteoporoza este una dintre afecțiunile țesutului osos care are un impact direct asupra procesului de remodelare osoasă și implicit viața pacientului, afectând aproximativ 22 % din populație la nivel european.

Infecțiile asociate dispozitivelor medicale implantabile sunt, de asemenea, o problemă cu care medicii curanți se confruntă după intervenția chirurgicală. Bacteriile Gram-pozitive (*S. aureus*) și Gram-negative (*E. coli*) pot afecta implantul chiar din primele zile de la implantare, existând riscul de apariție chiar și după 2 ani, din cauza deplasării bacteriilor de către sânge.

Astfel, dezvoltarea de implanturi care să dețină atât proprietăți bioactive, antibacteriene cât și proprietăți care să susțină proliferarea osteoblastelor este o cerință clinică necesară pentru reducerea intervențiilor chirurgicale, dar mai ales pentru îmbunătățirea calității vieții pacienților.

Piața de biomateriale este dominată în prezent de biomaterialele metalice, fiind urmată îndeaproape de cele ceramice. Dintre biomaterialele metalice, cea mai utilizată clasă este cea a aliajelor pe bază de titan datorită proprietăților superioare pe care le prezintă comparativ cu celelalte clase de biomateriale metalice.

Modificarea sau funcționalizarea suprafeței implanturilor pe bază de titan constituie una dintre direcțiile principale de cercetare din acest domeniu. Dintre cele mai utilizate biomateriale pentru acoperirea implanturilor metalice pe bază de titan se regăsesc cele ceramice, în speță fosfații de calciu și cu precădere hidroxiapatita. Existența hidroxiapatitei în structura țesuturilor dure a condus cercetătorii către un scop bine definit, și anume acela de a dezvolta noi straturi pe bază de hidroxiapatită pentru acoperirea implanturilor metalice realizate din aliaje pe bază de titan.

Pe lângă proprietățile superioare pe care aceasta le deține, structura hidroxiapatitei permite substituția ionilor de calciu cu alți ioni, îmbunătățind astfel caracteristicile și capacitatea de osteointegrare a implantului.

Metodele electrochimice permit obținerea de acoperiri pe bază de hidroxiapatită dopată cu diferite tipuri de elemente care să susțină proliferarea și diferențierea osteogenică a celulelor, inducând totodată și un efect antibacterian. Dintre tehnicile electrochimice, tehnica în puls permite acoperirea cu straturi cu proprietăți superioare datorită parametrilor electrochimici implicați în procesul de depunere ce pot fi controlați cu ușurință.

Partea I – Studiu de literatură

Capitolul 1. Studiu de literatură privind aplicabilitatea biomaterialelor în medicină

1.1. Clase de biomateriale utilizate în medicină

Domeniul biomaterialelor este un domeniu activ și în continuă expansiune de aproximativ 70-80 de ani, influențând într-un mod semnificativ sănătatea oamenilor, economia și alte domenii științifice. Biomaterialele și dispozitivele medicale sunt în prezent utilizate sub formă de proteze și implanturi în domenii ale medicinei precum cardiologie, ortopedie, stomatologie și chirurgia reparatorie. Cel mai convingător argument al beneficiilor aduse societății de către biomateriale este dat de milioanele de vieți care au fost salvate, în timp ce pentru alte câteva milioane calitatea vieții a fost îmbunătățită substanțial.

Importanța biomaterialelor în dezvoltarea de dispozitive medicale implantabile depinde de factori precum: a) obținerea, procesarea și dezvoltarea de noi biomateriale cu caracteristici îmbunătățite, b) o tehnică de proiectare bine dezvoltată, c) teste preclinice – teste in vitro pe culturi de celule specifice, și teste in vivo pe modele animale (șoareci, iepuri, etc.); teste clinice – teste pe oameni, d) obținerea aprobărilor și a certificărilor necesare în conformitate cu regulamentele Administrației Alimentelor și a Medicamentelor (FDA – Food and Drug Administration) din SUA sau din Uniunea Europeană (EU-MDR), e) implicarea industriei pentru a permite dezvoltarea și comercializarea produselor [3].

Capitolul 2. Biofuncționalizarea biomaterialelor metalice cu acoperiri osteoconductive pe bază de fosfați de calciu

2.1. Necesitatea utilizării acoperirilor osteoconductive în aplicațiile medicale

O tendință actuală pentru a crește biocompatibilitatea implantelor și pentru a îndeplini o serie cât mai mare de cerințe clinice, o reprezintă depunerile de hidroxiapatită (HAp) pe substraturile metalice. Acest concept a fost introdus pentru a obține în principal o integrare mai bună a implanturilor. Astfel, cele mai importante argumente care stau la baza aplicării și utilizării acoperirilor în cadrul aplicațiilor medicale se regăsesc următoarele:

- substratul conține elemente care prin eliberarea lor pot induce citotoxicitate, reacții adverse sau alergice;
- acoperirea protejează materialul de bază de mediul în care acesta a fost proiectat să funcționeze și îi crește stabilitatea chimică și mecanică și durata de utilizare;
- acoperirea îmbunătățește integritatea mecanică, ceea ce înseamnă că produsele acoperite sunt mai rezistente (de exemplu, la uzură);
- modificarea proprietăților de suprafață ale substratului/materialului de bază, cum ar fi biocompatibilitatea, transluciditatea, conductivitatea electrică, etc.;
- transformarea profilului de eliberare al substanțelor active, cum ar fi factori de creștere, elemente cu efect antibacterian/antifungic, etc.

2.2. Clasificarea metodelor de depunere

Literatura de specialitate oferă o varietate de tehnologii sub diferite denumiri și clasificări, astfel încât clasificarea metodelor de depunere a straturilor pe bază de hidroxiapatită se poate realiza după mai multe criterii. Cea mai utilizată clasificare a celor mai utilizate tehnici de depunere a straturilor pe bază de hidroxiapatită este în funcție de fenomenele implicate în procesul de depunere.

Partea II – Cercetări experimentale

Capitolul 3. Materiale și metode de caracterizare a acoperirilor pe bază de hidroxiapatită

3.1. Obiectivul tezei

Conform datelor de literatură prezentate în Capitolul 1 și 2, metoda electrochimică de depunere a acoperirilor pe bază de HAP este o metodă care permite obținerea unor acoperiri cu proprietăți superioare prin controlul facil al parametrilor electrochimici implicați în procesul de depunere.

Obiectivul principal al acestei teze de doctorat a constat în obținerea de straturi de hidroxiapatită cu proprietăți de osteointegrare ridicată și proprietăți antibacteriene cu ajutorul tehnicilor electrochimice. Acest deziderat poate fi realizat prin doparea hidroxiapatitei cu ioni metalici care să accelereze procesele de osteointegrare (Sr) și să inducă proprietăți antibacteriene (Ag). Aceste straturi dezvoltate în cadrul prezentei teze de doctorat pot fi utilizate la îmbunătățirea capacității de osteointegrare a dispozitivelor medicale implantabile metalice, cu precădere a celor din Ti și aliajelor de Ti.

Pentru atingerea obiectivului principal al tezei, alte obiective specifice au fost luate în considerare:

- Dezvoltarea unor straturi de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag de grosimi apropiate și concentrații ale elementelor de dopare în cantități optime pentru obținerea unor caracteristici superioare și în același timp să nu inducă efecte citotoxice;
- Optimizarea parametrilor electrochimici de depunere în vederea atingerii primului obiectiv specific;
- Caracterizarea complexă și minuțioasă a straturilor de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag din punct de vedere al morfologiei, compoziției elementale și fazice, a valorilor parametrilor structurali, cristalinității, dimensiunii de cristalit, legăturilor chimice, topografiei, umectabilității, rugozității și grosimii de strat;
- Testarea in vitro din punct de vedere al comportamentului electrochimic și al bioactivității în medii biologice sintetice acelulare și al răspunsului celular pe culturi de celule prosteoblate (viabilitate, proliferare, morfologie și diferențiere).

3.2. Materiale utilizate

În cadrul prezentei teze de doctorat s-a utilizat ca și substrat pentru acoperirile pe bază de hidroxiapatită, un aliaj de titan (Ti6Al4V) și titan pur (cp-Ti, gradul 2), ambele achiziționate de la BibusMetals, AG (Germania) sub formă de bare cu un diametru de 20 de mm. Pentru obținerea eșantioanelor experimentale, din barele de titan și aliaj de titan au fost debitate discuri cu o grosime de 2 mm.

Tabel 3.1. Compoziția chimică a titanului pur conform producătorului

	Material	
	Ti6Al4V ELI	Ti pur (grad 2)
Compoziție chimică [wt.%]	Al	5,77
	V	3,80
	Fe	0,11
	C	0,019
	N	0,002
	H	0,006
	O	0,109
	Reziduuri	max. 0,4
Titan	rest	
Fabricat conform următoarelor standarde	ASTM F136-13 ISO 5832-3:96 ASTM 348-13	ASTM B348-10 ASTM F67

3.3. Metode de caracterizare

Acoperirile pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag au fost caracterizate din punct de vedere al morfologiei, compoziției elementale și fazice, legăturilor chimice, rugozității și grosimii de strat, aderenței și al gradului de umectare și energiile de suprafață. În cele ce urmează sunt descrise pe scurt fiecare metodă de caracterizare, dar și tehnica utilizată pentru investigarea materialelor experimentale dezvoltate în cadrul prezentei teze de doctorat.

3.4. Metode de testare

Acoperirile pe bază de HAp nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag au fost testate din punct de vedere al comportamentului electrochimic, al bioactivității prin teste de biomineralizare în soluție biologică simulată (SBF) și de biodegradare în soluție tampon fosfat (PBS), fiind de asemenea puse în evidență și proprietățile biologice prin ample teste in vitro pe culturi de celule.

Capitolul 4. Obținerea și caracterizarea de acoperiri bioactive, osteoconductive și antibacteriene pe bază de hidroxiapatită

4.1. Introducere

Obiectivul general a constat în dezvoltarea unei noi tehnici de îmbunătățire a bioactivității aliajelor de Ti6Al4V utilizând depunerea asistată electrochimic în regim pulsant pentru obținerea de acoperiri pe bază de hidroxiapatită (HAp) dopate cu argint (Ag), ca posibili candidați în aplicațiile medicale, datorită capacității ridicate de osteointegrare și a efectului antibacterian. Obiectivele specifice au avut drept scop obținerea unor acoperiri pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Ag cu grosimi de strat apropiate [115].

4.2. Pregătirea probelor și obținerea acoperirilor

Depunerea straturilor de fosfați de calciu prin tehnici electrochimice în regim pulsant (ED) pe substrat de Ti6Al4V au fost realizate într-o celulă electrochimică standard cu trei electrozi: aliajul Ti6Al4V - electrodul de lucru (EL), o plăcuță Pt cu o arie de $\sim 1 \text{ cm}^2$ – electrodul auxiliar (EA), și un electrod de calomel (SCE) – electrod de referință (ER).

Depunerea electrochimică a fost realizată cu ajutorul unui potențiostat/galvanostat, utilizând o tehnică în regim pulsant prin aplicarea unei diferențe de potențial între EL și EA pe parcursul mai multor cicluri; 1 ciclu fiind format dintr-un potențial de activare (E_{ON}) de -2 V , aplicat timp (t_{ON}) de $0,5 \text{ s}$ și o perioadă de relaxare în care potențialul aplicat (E_{OFF}) are valoarea 0 V , timp (t_{OFF}) de 1 s [115]. În Tabelul 4.1 sunt prezentate codificările probelor și compoziția chimică a electrolitului utilizați pentru acoperirile de fosfați de calciu care prezintă un raport molar Ca/P de 1,67, acesta fiind specific hidroxiapatitei stoechiometrice. Pe scurt, substanțele chimice prezentate în Tabelul 4.1 au fost dizolvate succesiv în apă ultra-pură, iar pH-ul final al soluției a fost ajustat la 4 prin adăugarea unui volum foarte mic (aprox. 2 mL) de soluție de acid azotic, HNO_3 1M. Depunerile s-au realizat la temperatura de $75 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tabel 4.1. Codificarea probelor și compoziția chimică a electrolitului utilizat în cadrul depunerilor electrochimice[115]

Coating description	Codificare	Compoziție chimică [mM]			Raport molar Ca/P
		$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	$\text{Ag}(\text{NO}_3)$	
Ti6Al4V acoperit cu hidroxiapatită	HAp	5	3	-	1,67
Ti6Al4V acoperit cu hidroxiapatită dopată cu Ag	HAp-Ag	4,85	-	0,15	

Au fost depuse mai multe probe de hidroxiapatita dopată cu Ag, ce au avut ca scop final obținerea unei grosimi apropiate de cea a probelor nedopate, de aproximativ $7 \text{ }\mu\text{m}$. Așadar pe baza experimentelor realizate și ținând cont de grosimea de strat au fost selectați doi timpi de obținere, și anume 90 min . pentru acoperirile HAp nedopate și de 10 min pentru cele dopate cu

Ag, întrucât grosimile de strat obținute sunt apropiate, acestea înregistrând valori de 6,7 μm pentru acoperirile pe bază de HAp nedopate, și respectiv 7,1 μm pentru cele dopate cu Ag [115].

4.3. Caracterizarea acoperirilor osteoconductive

4.3.1. Morfologie

Din punct de vedere microscopic, analiza SEM a evidențiat o morfologie de tip plachetă, caracteristică HAp stoechiometrică (raport Ca/P = 1,67), în cazul ambelor tipuri de acoperiri.

Poate fi de asemenea observat că direcția de dezvoltare este perpendiculară pe suprafața electrodului de lucru, aceasta fiind direcția preferențială în procesul de cristalizare [31,165,174,180].

Totodată, în cazul acoperirilor pe bază de hidroxiapatită dopată cu Ag morfologia acoperirilor s-a modificat, formațiunile de tip plachetă devenind mai subțiri și mai late, pe care sunt fixate mici particule de culoare gri deschis ce pot fi atribuite Ag.

4.3.2. Compoziție elementală

Spectrele EDS au confirmat prezența elementelor caracteristice fosfaților de calciu (Ca, P, O), ale elementului de dopare Ag, precum și pe cele ale substratului (Ti, Al și V). Tabelul 4.3 prezintă compoziția elementală a acoperirilor pe bază de hidroxiapatită și raportul Ca/P. Ținând cont de concentrația masică (wt.%) a Ag din acoperirile HAp-Ag se poate afirma faptul că aceasta depășește limita de 6 wt.%, înregistrând o valoare de 7,3 wt.%.

Din analiza acestora se observă că ambele acoperiri prezintă un raport Ca/P mai mic decât cel al HAp stoechiometrică (1,67), de 1,58 pentru HAp și 1,62 pentru HAp dopată cu Ag. De asemenea se mai poate observa că doparea HAp cu Ag a dus la creșterea raportului Ca/P.

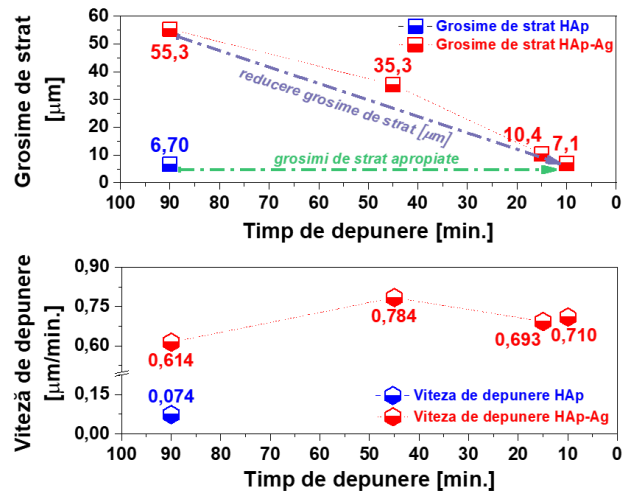


Figura 4.1. Variația grosimii de strat în funcție de timpul de depunere

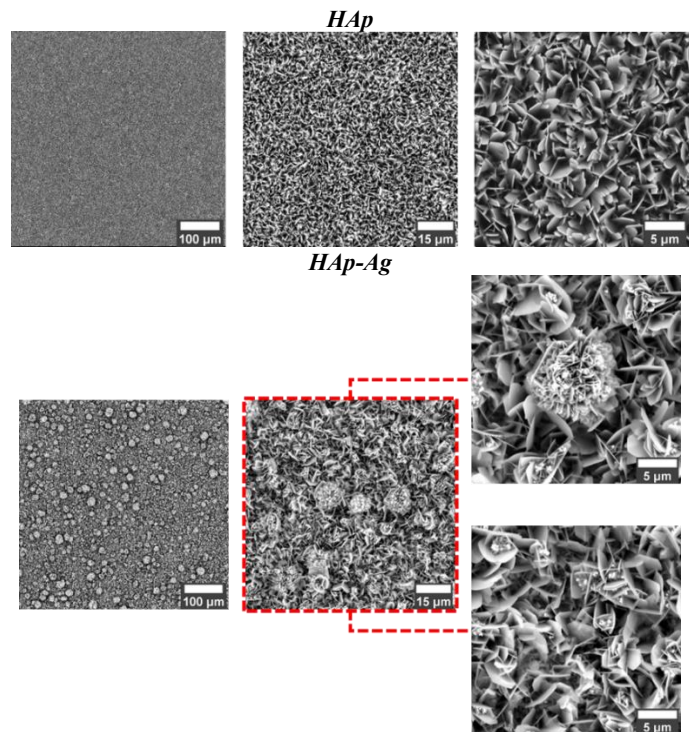


Figura 4.2. Imagini microscopice (SEM) ale acoperirilor pe bază de hidroxiapatită nedopate (HAp) și dopate cu Ag (HAp-Ag)

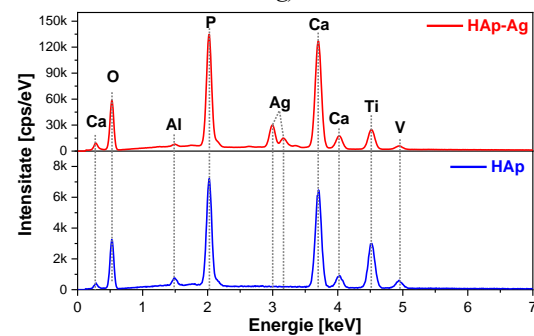


Figura 4.3. Spectrele EDS obținute pentru acoperirile HAp și HAp-Ag pe substrat de Ti6Al4V

Tabel 4.3. Compoziția elementală și raportul (Ca+Ag)/P pentru acoperirile pe bază de HAp

Compoziție elementală [at.% și wt.%]		HAp	HAp-Ag
Ca	at.%	61,2	59,3
	wt.%	67,1	61,9
P	at.%	38,8	38,1
	wt.%	32,9	30,8
Ag	at.%	0,0	2,6
	wt.%	0,0	7,3
Raport atomic (Ca+Ag)/P		1,58	1,62

Conform Figurii 4.5 se poate observa ca principalele elemente (Ca și P) ale HAp nedopate dar și ale celor dopate cu Ag sunt uniform distribuite în întreaga suprafață investigată a acoperirilor.

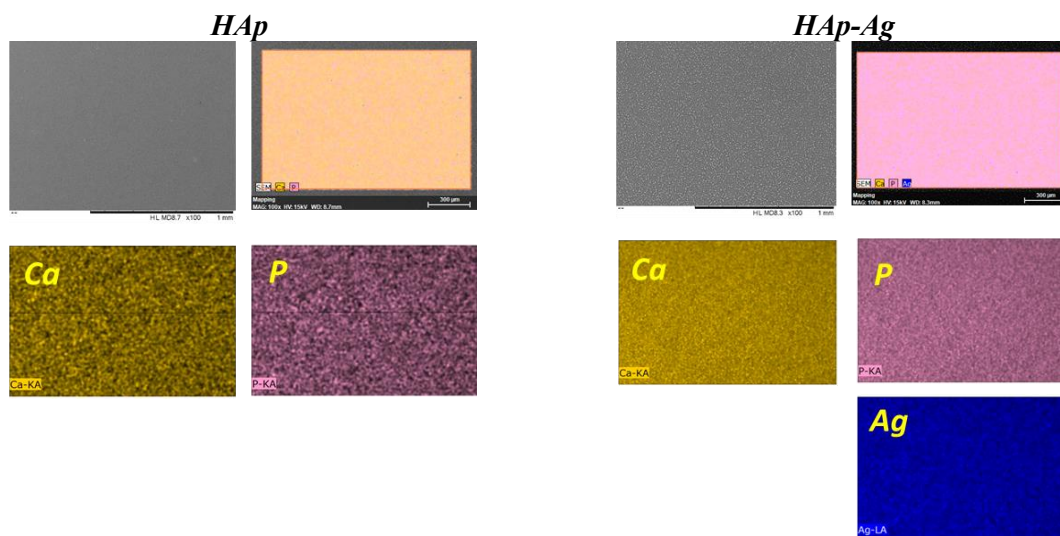


Figura 4.5. Distribuția elementelor constitutive (Ca, P și Ag) în acoperirile HAp și HAp-Ag

4.3.3. Compoziție fazică

Din analiza difractogramelor se remarcă faptul că ambele tipuri de acoperiri dezvoltate sunt cristaline (Figura 4.6). Maximele de difracție identificate pentru ambele tipuri de acoperiri sunt specifice hidroxiapatitei conform standardului ICDD numărul 09-0432, fiind astfel confirmată obținerea hidroxiapatitei pe substratul de Ti6Al4V prin tehnica electrochimică potențiostatică în pulsuri. După adăugarea Ag în structura HAp, intensitatea relativă a maximei de difracție asociată planului (002) de la 2θ de aproximativ 26° a scăzut, sugerând o scădere a cristalinității hidroxiapatitei [218]. De asemenea, se mai observă că odată cu adăugarea Ag în structura HAp, maxima de difracție de la 2θ de aproximativ 26° s-a deplasat ușor spre stânga, către valori mai mici ale unghiului 2θ [219], denotând că rețeaua cristalină a suferit modificări ale parametrilor de rețea.

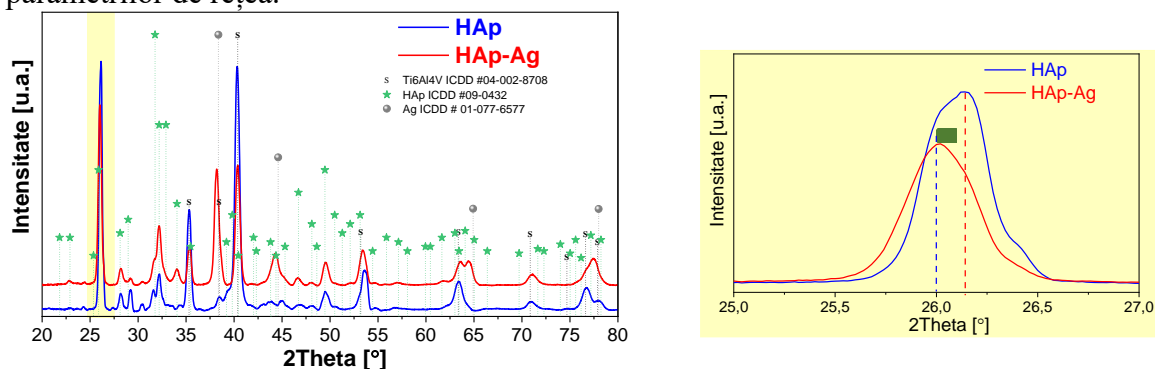


Figura 4.6. Difractograma de raze X a acoperirilor HAp și HAp-Ag

Așa cum se remarcă din tabelul 4.4, din punct de vedere al parametrilor de rețea se observă faptul că acoperirile prezintă valori similare pentru axa c , în timp ce pentru axa a și b valorile au crescut odată cu adăugarea Ag. Totodată, dimensiunea de cristalit și cristalinitatea au scăzut după adăugarea Ag în structura HAp.

Tabel 4.1. Principali parametri structurali: parametri de rețea, dimensiunea de cristalit și cristalinitate

Probă	2 θ [°]	Parametri de rețea		Dimensiune de cristalit	Cristalinitate, χ_c
		$a=b$ [nm]	c [nm]	[nm]	[%]
HAp	26,10	0,951	0,685	35,88	29,07
HAp-Ag	26,02	0,962	0,685	21,23	22,50

4.3.4. Legături chimice

Spectrele FTIR obținute pentru acoperirile pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată au evidențiat benzile de vibrație specifice grupării fosfat (PO_4^{3-}) în intervalul de undă 900 și 1200 cm^{-1} [224]. Prezența grupărilor PO_4^{3-} indică formarea unei structuri de tip apatită. Maxima de la 630 cm^{-1} este caracteristică grupării hidroxil (OH^-) și confirmă prezența HAp. De asemenea, se poate observa că odată cu introducerea Ag, nu au fost identificate deplasări către număr de undă mai mici sau mai mari ale maximelor de absorbție

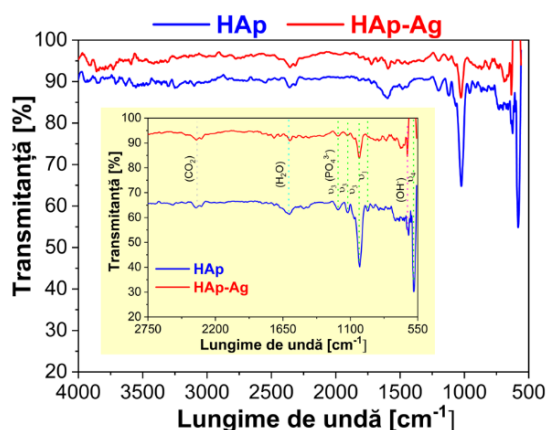


Figura 4.7. Spectrele FTIR ale acoperirilor HAp și HAp-Ag

4.3.5. Rugozitate și topografie

Conform rezultatelor obținute, se poate observa că, spre deosebire de substratul de Ti6Al4V, acoperirile HAp nedopate și dopate cu Ag au înregistrat valori mai mari.

În ceea ce privește indicele de asimetrie, Rsk, se poate afirma că acoperirile HAp și HAp-Ag prezintă valori pozitive ale acestui parametru, în timp ce substratul de aliaj de Ti6Al4V a înregistrat o valoare negativă a acestui parametru.

După cum se poate observa formațiunile de tip plachetă identificate din analiza SEM a acoperirilor HAp nedopate prezintă diferite dimensiuni conform analizei AFM (Figura 4.10). După adăugarea Ag, formațiunile de tip plachetă sunt mai mari cu margini mai ascuțite, în comparație cu cele observate în cazul HAp nedopate ale cărei formațiuni sunt mult mai mici.

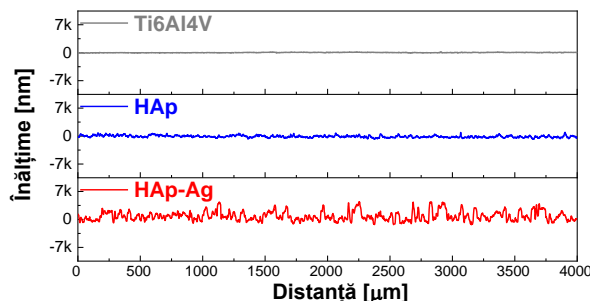


Figura 4.8. Profile reprezentative pentru suprafețele investigate

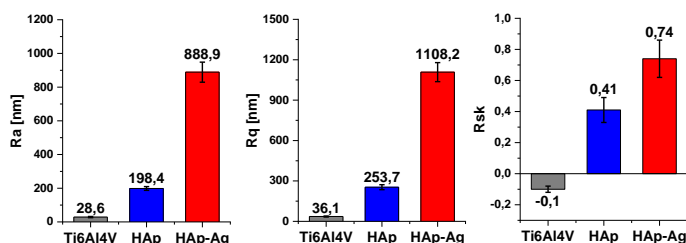


Figura 4.9. Evoluția principalilor parametrii ce definesc rugozitatea suprafețelor analizate



Figura 4.10. Imagini AFM cu topografia suprafeței acoperirilor dezvoltate

4.4. Testarea acoperirilor

4.4.1. Teste de bioactivitate

Conform rezultatelor obținute în urma testelor de imersie în SBF, aliajul de Ti6Al4V nu a favorizat precipitarea de noi fosfați de calciu pe suprafața materialului [115], prezentând astfel cea mai slabă capacitate de biomineralizare dintre materialele investigate (Figura 4.11).

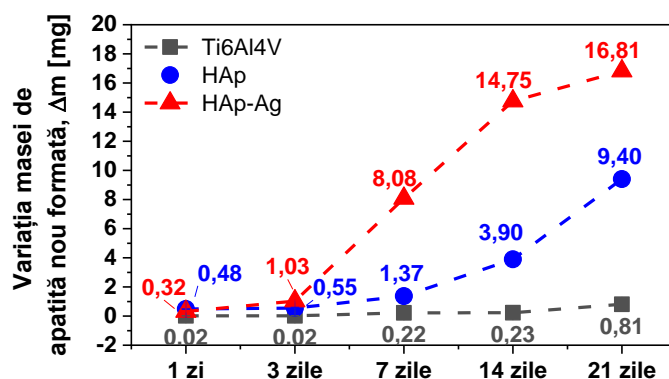


Figura 4.11. Evoluția masei de apatită nou formată pe suprafața materialelor experimentale

Cea mai bună capacitate de biomineralizare a fost înregistrată pentru acoperirile pe bază de hidroxiapatită dopată cu Ag, urmate de acoperirile pe bază de hidroxiapatită nedopată după de 21 de zile de imersie în SBF [115]. Astfel, pe baza rezultatelor obținute se poate afirma faptul că modificarea suprafeței aliajului de Ti6Al4V cu acoperiri pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Ag au dus la îmbunătățirea capacității de biomineralizare, indicând totodată faptul că adăugarea Ag în structura HAp accelerează precipitarea unui nou strat de apatită.

De asemenea, indiferent de tipul de acoperire, HAp dopată cu Ag sau nedopată, pe suprafață expusă la SBF s-a format un nou strat de apatită (Figura 4.12). După 21 de zile de expunere la mediul de testare SBF, ambele acoperiri prezintă structuri semisferice nou formate pe întreaga suprafață, care datorită tensiunilor interne acumulate generează fisuri.

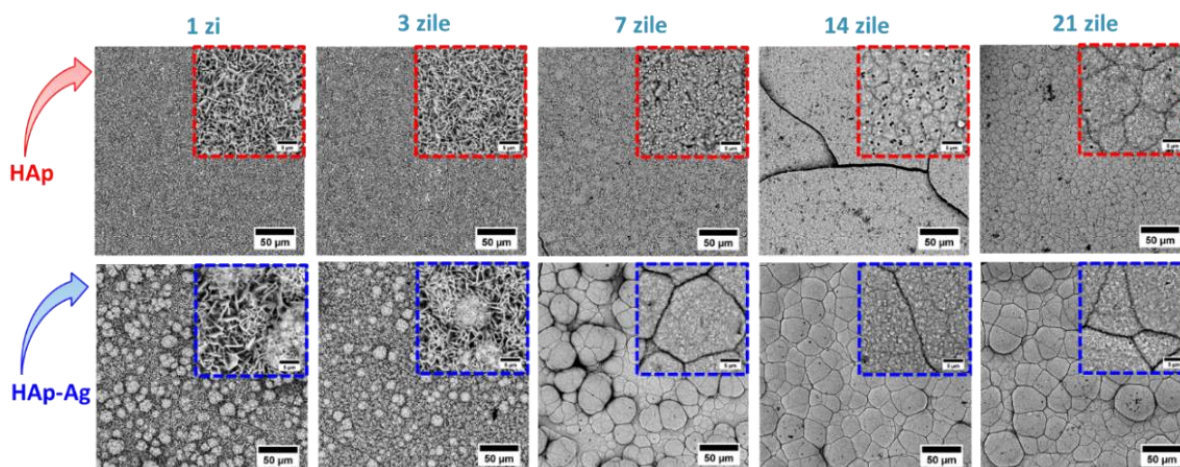


Figura 4.12. Imagini SEM ale acoperirilor HAp nedopată și dopată cu Ag după testele de imersie în SBF

4.4.2. Teste electrochimice

În Figura 4.14 sunt prezentate curbele potențiodinamice ale materialelor investigate în cele două medii de testare, în timp ce principalii parametri electrochimici obținuți din extrapolarea Tafel sunt prezentați în Tabelul 4.6.

În cazul testelor efectuate în SBF cel mai electropozitiv potențial de coroziune și astfel cea mai bună comportare la coroziune, este înregistrată în cazul aliajului acoperit cu hidroxiapatită dopată cu Ag (HAp-Ag), fiind urmat de HAp și Ti6Al4V. Din punct de vedere al densității de curent de coroziune, se remarcă faptul că cea mai mică valoare a acestui parametru și implicit un comportament electrochimic mai bun o prezintă proba HAp, urmată de aliajul neacoperit și abia apoi de acoperirile HAp-Ag care prezintă o valoare mai mare a acestui parametru, cel mai probabil din cauza caracterului metalic al elementului de dopare.

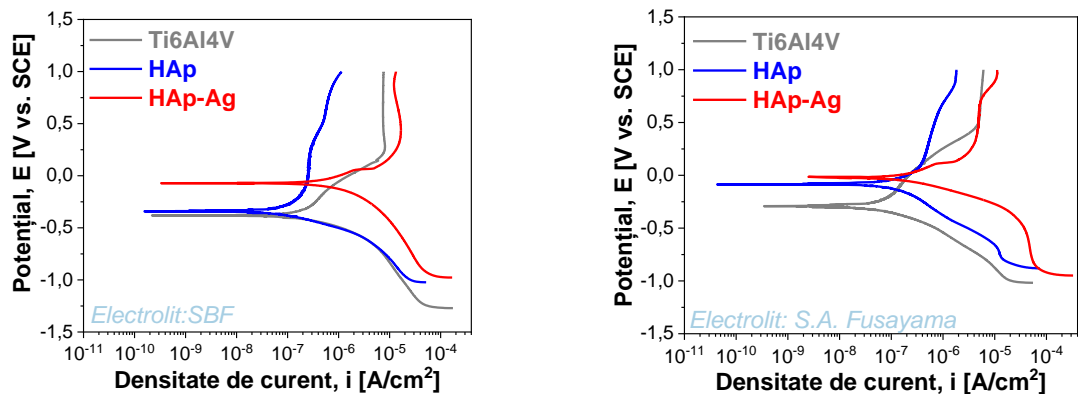


Figura 4.14. Curbele potențiodinamice pentru probele investigate în a) soluție biologică simulată - SBF și b) salivă artificială Fusayama

Tabel 4.6. Principalii parametri ai procesului de coroziune

Electrolit	Proba	E_{oc} [mV]	E_{corr} [mV]	i_{corr} [nA/cm ²]
SBF	Ti6Al4V	-286,01	-283,37	83,75
	HAp	-7,13	-206,28	40,07
	HAp-Ag	-10,58	-56,64	780,80
SA Fusayama	Ti6Al4V	-22,15	-292,95	96,13
	HAp	115,32	-81,81	60,71
	HAp-Ag	74,07	-21,88	232,27

În cazul testelor efectuate în salivă artificială Fusayama se observă un comportament electrochimic similar cu cel observat în cadrul testelor realizate în SBF. Astfel, cel mai bun comportament electrochimic identificat prin cel mai electropozitiv E_{cor} îl are proba HAp-Ag, fiind urmată de HAp și aliajul Ti6Al4V neacoperit, care a înregistrat cea mai mare valoare a acestui parametru. Cea mai mică densitate a curentului de coroziune a fost înregistrată în cazul probei HAp care din acest punct de vedere are un comportament electrochimic mai bun în salivă artificială în raport cu celelalte probe investigate.

4.5. Concluzii

Depunerea electrochimică potențiostatică în regim pulsant este o tehnică ce prezintă avantaje majore precum depunerea de straturi dopate dintr-o singură soluție electrochimică cu diferite specii ionice, iar prin modificarea parametrilor de depunere, se pot obține acoperiri cu proprietăți dorite/impuse. Cu toate acestea nu poate fi omis faptul că în cazul acoperirilor pe bază de hidroxiapatită timpul de depunere a fost de 90 minute, acesta fiind destul de lung comparativ cu timpul utilizat în cadrul acoperirilor ce conțin și Ag. De asemenea, în cazul acoperirilor pe bază de hidroxiapatită dopată cu Ag, formarea acelor aglomerări de particule precum și concentrația ridicată a Ag în straturile obținute, pot genera efecte nedorite precum citotoxicitate, care în ultimă instanță pot duce chiar la eșecul implantului, acest lucru nefiind de dorit.

Toate acestea, coroborate cu optimizarea atât din punct de vedere al timpului de depunere cât și al eficienței energetice, au condus la orientarea către altă tehnică electrochimică ce poate oferi în același timp atât proprietățile necesare straturilor obținute prin metoda potențiostatică în pulsuri cât și caracteristicile mai sus menționate.

Capitolul 5. Influența pH-ului electrolitului asupra proprietăților fizico-chimice ale acoperirilor de HAp nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag

5.1 Obținerea acoperirilor de HAp nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag

Acoperirile pe bază de HAp au fost obținute prin intermediul metodei electrochimice, utilizând tehnica galvanostatică în pulsuri pe substrat de titan pur (cp-Ti) [117]. S-a ales această tehnică de depunere a straturilor deoarece timpii de activare și de relaxare implicați în procesul de depunere conduc la obținerea unei aderențe mai ridicate a straturilor spre deosebire de celelalte tehnici. În plus, prin această tehnică, grosimea acoperirilor poate fi controlată cu ușurință.

Tabelul 5.2 prezintă concentrația molară a sărurilor utilizate în cadrul acoperirilor. Pentru prepararea electrolitului s-au dizolvat succesiv precursorii în apă ultra-pură (ASTM 1). În toate cazurile electrolitul a fost preparat astfel încât raportul Ca/P să fie 1,67 [159].

Tabel 5.2. Concentrația molară a sărurilor utilizate în cadrul acoperirilor pe bază de HAp [117]

Codificare	Compoziție chimică [mM]				(Ca+M)/P (M=Sr/Ag)	pH
	Ca(NO ₃) ₂ •4H ₂ O	NH ₄ H ₂ PO ₄	Sr(NO ₃) ₂	AgNO ₃		
H	10		-	-		4
H-Sr	9		1	-		
H-Ag	9,98	6	-	0,02	1,67	
H-Sr-Ag	8,98		1	0,02		5

Parametrii electrochimici utilizați în cadrul acoperirilor pe bază de HAp sunt prezentați în Tabelul 5.3.

Tabel 5.3. Parametrii electrochimici utilizați în cadrul acoperirilor pe bază de HAp

Codificare	Parametrii de depunere					
	Ciclu				Număr de cicluri; timp total depunere	Temperatură
	i _{ON} (mA/cm ²)	t _{ON} (s)	i _{OFF} (mA/cm ²)	t _{OFF} (s)		
H	-0,85	1	0	2	900 cicluri; 45 min	75 °C
H-Sr						
H-Ag						
H-Sr-Ag						

În Figura 5.1. este prezentat aspectul macroscopic al acoperirilor pe bază de hidroxiapatită nedopată (H) și dopată cu, stronțiu (H-Sr), argint (H-Ag) și cu stronțiu și argint (H-Sr-Ag). Conform aspectului macroscopic, în toate cazurile, indiferent de elementul de dopare sau de pH-ul electrolitului, acoperirile sunt uniforme, nu prezintă defecte, iar întreaga suprafață expusă electrolitului a fost acoperită în totalitate.

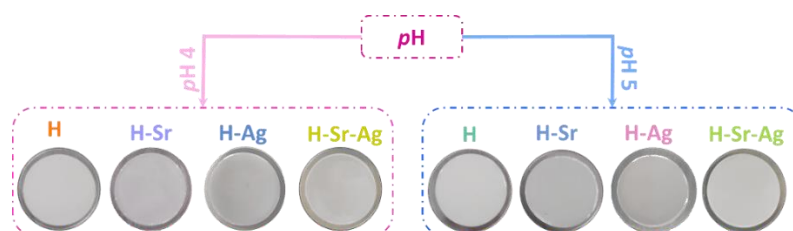


Figura 5.1. Aspectul macroscopic al acoperirilor pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu stronțiu și/sau argint

5.2 Caracterizarea preliminară a acoperirilor pe bază de HAp

5.2.1. Morfologia acoperirilor pe bază de HAp

Figura 5.2. prezintă morfologia acoperirilor pe bază de HAp nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag, obținute la pH 4 și 5, la diferite ordine de mărire. După cum se poate observa în aceste imagini, morfologia acoperirilor este compusă din formațiuni sub formă de panglici, foarte subțiri (de ordinul nanometrului), late și lungi indiferent de valoarea pH -ul electrolitului în care acestea au fost obținute. Totodată, se poate observa că acoperirile obținute în electrolit cu pH 5 prezintă panglici ușor mai înguste spre deosebire de cele obținute la pH 4.

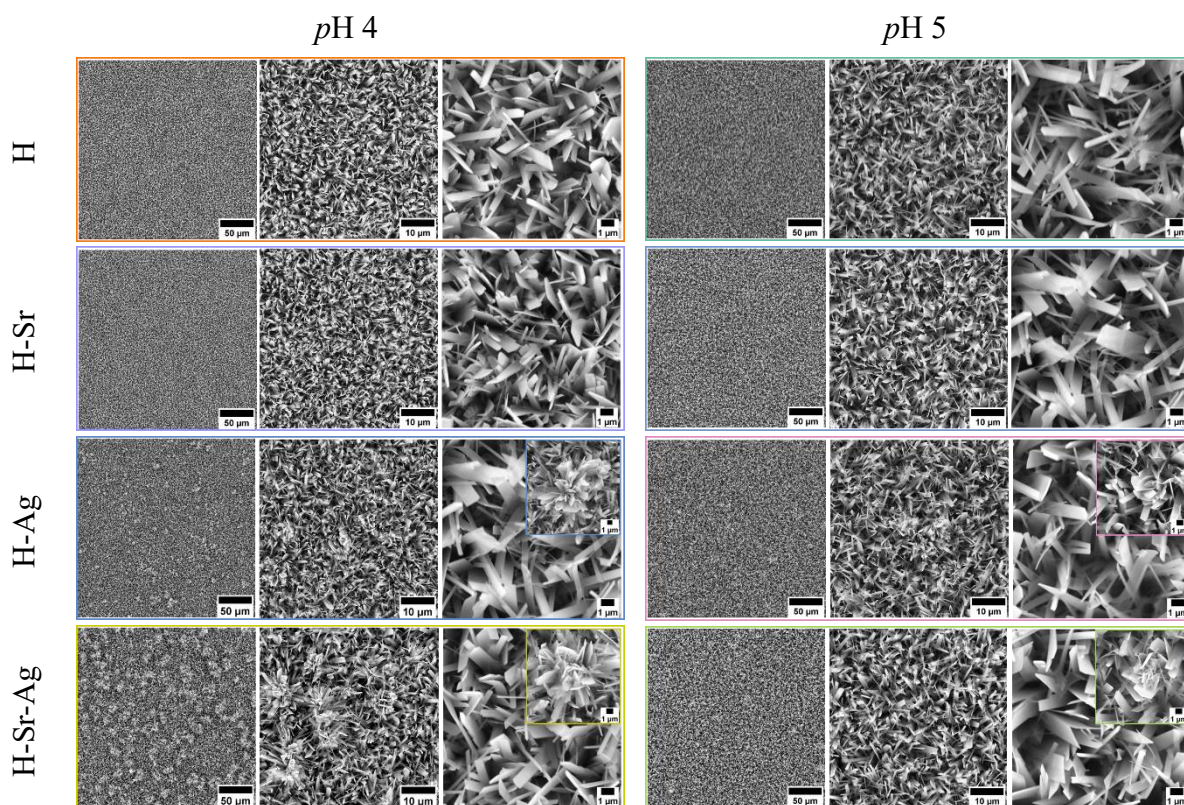


Figura 5.2. Morfologia acoperirilor pe bază de HAp nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag

Substituția ionilor de calciu cu cei de stronțiu a condus la îngustarea panglicilor comparativ cu cele obținute în cazul HAp nedopată, aspect ce poate fi observat doar la ordine de mărire mai mari. Substituția ionilor de Ca^{2+} cu ioni de Ag^+ a provocat, pe lângă morfologia sub formă de panglici, apariția unei morfologii sub formă de floare. Similar cu acoperirile dopate cu Ag sunt și cele codopate, unde morfologia predominantă este cea de tip panglică, însă este întâlnită și cea de tip floare. Cu toate acestea, morfologia acoperirilor H-Ag și H-Sr-Ag este puternic influențată de pH observându-se că la pH 5 densitatea aglomerărilor sub formă de floare scade semnificativ.

5.2.2. Compoziția elementală a acoperirilor pe bază de HAp

Compoziția elementală a acoperirilor pe bază de HAp este prezentată în Figura 5.3 și Tabelul 5.4. Indiferent de pH -ul electrolitului, conform spectrelor EDS se poate observa prezența tuturor elementelor implicate în procesul de depunere: Ca, P și O pentru straturile pe bază de HAp nedopată, Ag și Sr pentru straturile pe bază de HAp dopate și codopate cu cele 2 elemente, dar și Ti care provine din substratul de cp-Ti.

Pe baza compoziției elementale prezentate în Tabelul 5.4, a fost calculat raportul Ca/P pentru acoperirile pe bază de HAp nedopată și raportul $(Ca+M)/P$ pentru acoperirile pe bază de HAp dopată și codopată cu Sr și/sau Ag, unde M reprezintă Sr și/sau Ag [235,239] (Figura 5.4.).

Astfel, se poate observa în toate cazurile, indiferent de pH-ul electrolitului, că raportul este mai mic de 1,67 sugerând că toate acoperirile obținute sunt deficitare în Ca.

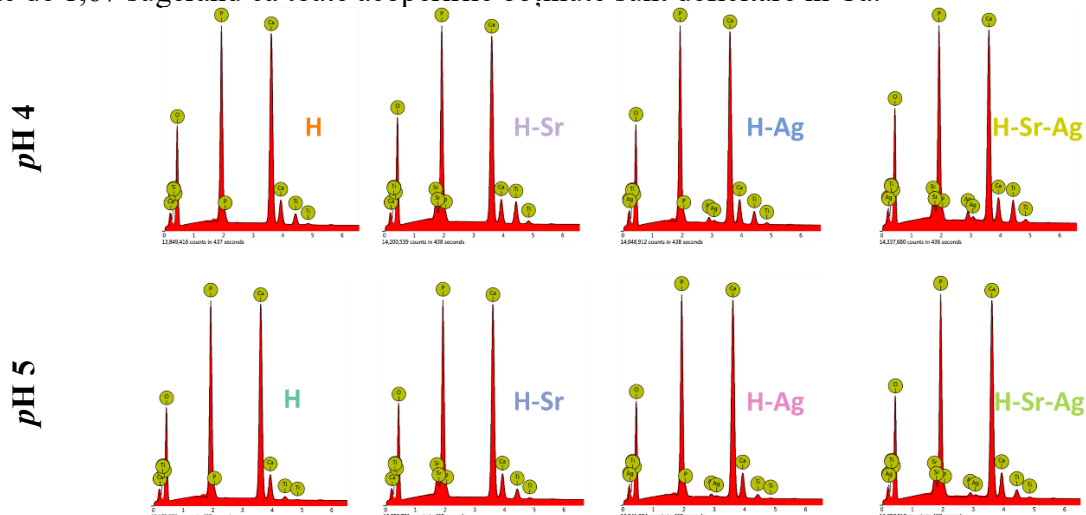


Figura 5.3. Spectrele EDS ale acoperirilor pe bază HAp nedopate și dopate cu Sr și/sau Ag

Tabel 5.4 Compoziția elementală și raportul (Ca+M)/P pentru acoperirile pe bază de HAp[117]

pH	Proba	Compoziție elementală [at.%]				Raport atomic (Ca+M)/P (unde, M=Sr, Ag, Sr+Ag)
		Ca	P	Sr	Ag	
4	H	60,70	39,30	-	-	1,54
	H-Sr	55,62	40,85	3,52	-	1,45
	H-Ag	60,17	38,16	-	1,67	1,62
	H-Sr-Ag	54,88	39,89	3,43	1,80	1,51
5	H	61,18	38,82	-	-	1,58
	H-Sr	56,38	40,16	3,45	-	1,49
	H-Ag	61,14	37,82	-	1,04	1,64
	H-Sr-Ag	56,39	39,41	3,34	0,86	1,54

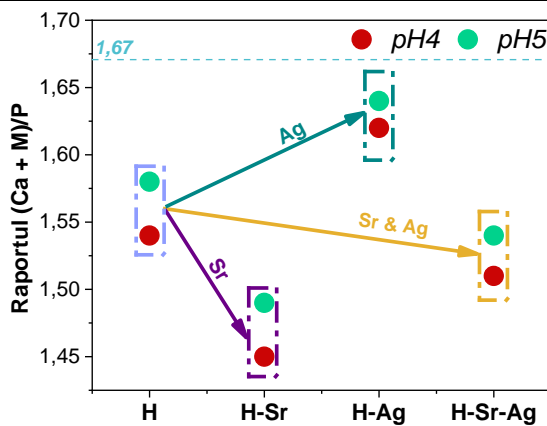


Figura 5.4. Progresul raportului (Ca+M)/P, unde M este Sr și/sau Ag

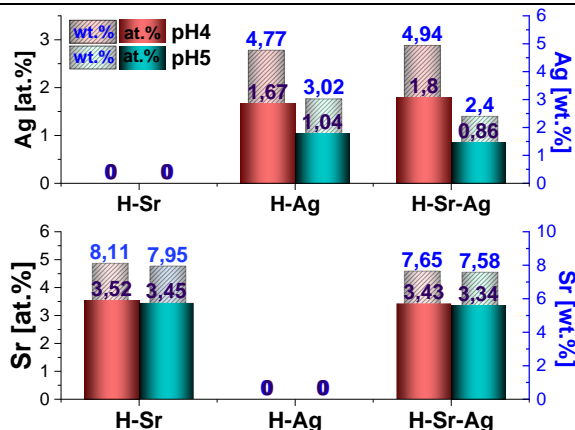


Figura 5.5. Compoziția exprimată în procente atomice și masice a celor 2 elemente de dopare

Comparând compoziția elementală înregistrată pentru fiecare element de dopare, se poate observa că pH-ul electrolitului influențează cantitatea acestuia regăsită în HAp, însă diferențe notabile sunt în cazul acoperirilor H-Ag unde cantitatea de Ag scade de la 1,67 at.% pentru cele obținute la pH 4 la 1,04 at.% pentru cele obținute la pH 5, în timp ce pentru straturile codopate, H-Sr-Ag, cantitatea de Ag scade de la 1,80 at.% pentru cele obținute la pH 4 la 0,86

H-Sr	26,05	26,40	9,446	6,876	48,52
H-Ag	26,01	26,31	9,426	6,867	48,05
H-Sr-Ag	25,99	26,57	9,445	6,888	49,49

Luând în calcul elementele de dopare, parametrii de rețea, a și c , au crescut ca urmare a diferenței dintre razele ionice ale celor trei elemente [245]. Analizând influența pH -ului electrolitului asupra acoperirilor se observă că, utilizarea unui pH mai mare duce la creșterea celor doi parametrii de rețea (Tabel 5.5). De asemenea, cristalinitatea și dimensiunea de cristalit au crescut odată cu creșterea pH -ului, sugerând faptul că la pH 5 pot fi obținute acoperiri pe bază de HAp cu cristalinitate mai ridicată.

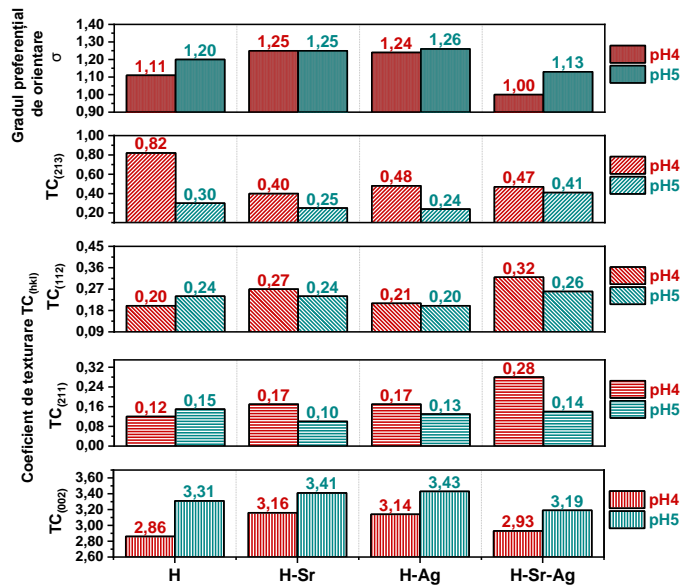


Figura 5.9. Coeficientul de texturare și gradul de orientare preferențială

5.2.4. Rugozitate și grosime de strat

În Figura 5.13 sunt prezentate grosimile de strat și parametrii specifici rugozității. Rezultatele obținute au indicat că rugozitatea acoperirilor este influențată de pH -ul electrolitului și de elementele de dopare. Prin urmare, atât prin modificarea pH -ului electrolitului cât și prin adăugarea elementelor de dopare (Sr și/sau Ag) se pot obține acoperiri uniforme cu topografie simetrică și o rugozitate de 380-680 nm. Comparând grosimile de strat pentru hidroxiapatita nedopată (H) în funcție de pH -ul electrolitului (Figura 5.13.) se poate observa că un pH mai mare favorizează creșterea grosimii de strat.

Această creștere a grosimii se datorează scăderii cantității de hidrogen eliberat [165], în urma căruia se obțin acoperiri mai compacte și mai uniforme. Adăugarea Sr sau Ag în structura HAp a condus, de asemenea, la creșterea grosimii de strat comparativ cu HAp nedopată indiferent de pH -ul electrolitului. Astfel, se poate nota că spre deosebire de Sr, la pH 5, deși Ag tinde să inhibe creșterea stratului, valorile înregistrate indică obținerea unei acoperiri cu o grosime de strat mai mare decât cea obținută în cazul HAp nedopată. În ceea ce privește codoparea cu Sr și Ag, se observă o creștere a grosimii de strat în cazul ambelor valori ale pH -ului, însă la pH 4 grosimea de strat este mai mare decât cea obținută la pH 5.

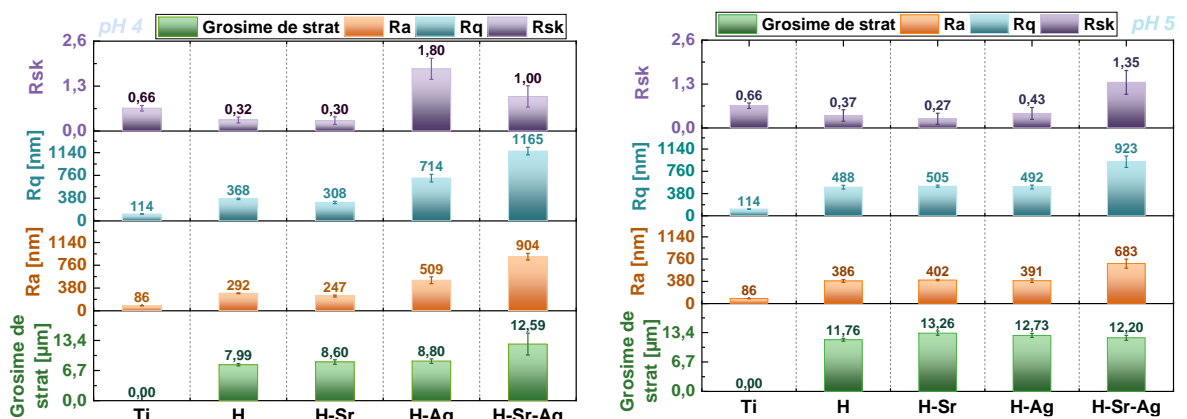


Figura 5.13. Grosimea de strat și parametrii de rugozitate ale acoperirilor pe bază de HAp

Rata de depunere a crescut odată cu creșterea pH -ului electrolitului în toate cazurile mai puțin în cazul acoperirilor codopate cu Sr și Ag unde se poate observa că rata de depunere nu a înregistrat diferențe notabile (Figura 5.14).

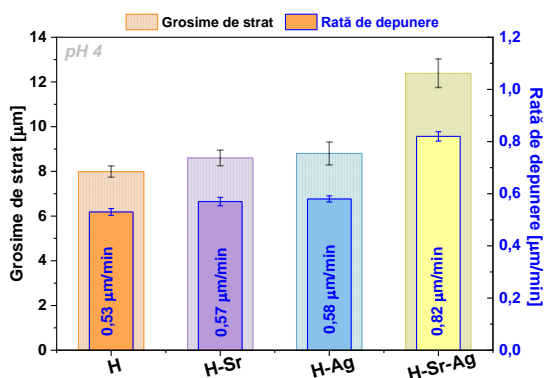


Figura 5.14. Rata de depunere a acoperirilor pe bază de HAp obținute la pH 4

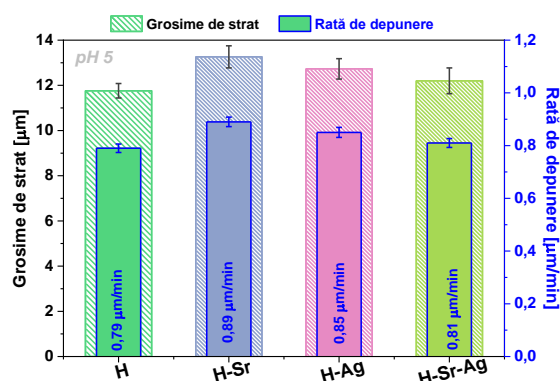


Figura 5.15. Rata de depunere a acoperirilor pe bază de HAp obținute la pH 5

5.3. Concluzii

Caracterizările prezentate în acest capitol au evidențiat faptul că tehnica galvanostatică în puls permite obținerea de acoperiri pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu stronțiu și/sau argint pe suprafața materialului metalic expus electrolitului, atât la pH 4 cât și la pH 5. Unul dintre principalii parametri electrochimici implicați în procesul de depunere este pH -ul electrolitului, iar prin tehnica galvanostatică în puls se obțin acoperiri uniforme și compacte. Așadar, în cadrul acestui capitol a fost, de asemenea, evaluată influența pH -ului electrolitului utilizat în cadrul depunerilor electrochimice asupra proprietăților și a caracteristicilor materialelor dezvoltate. În urma acestor rezultate au fost selectate acoperirile de hidroxiapatită nedopată și dopată cu stronțiu și/sau argint obținute la pH 5 prin prisma proprietăților superioare pe care acestea le dețin. Prin urmare, în continuare vor fi caracterizate și testate doar aceste tipuri de acoperiri.

Capitolul 6. Caracterizarea și testarea acoperirilor pe bază de HAp obținute la pH 5

6.1. Legături chimice și aderență

6.1.1. Legături chimice

Spectroscopia în infra-roșu cu transformată Fourier a evidențiat prezența grupărilor fosfat (PO_4^{3-}) în intervalul $900 - 1118 \text{ cm}^{-1}$ și a celor hidroxil (OH^-) în toate acoperirile pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag, obținute la pH 5 pe substrat de titan pur, confirmând astfel formarea fazei de hidroxiapatită. De asemenea prezența grupării HPO_4^{2-} din

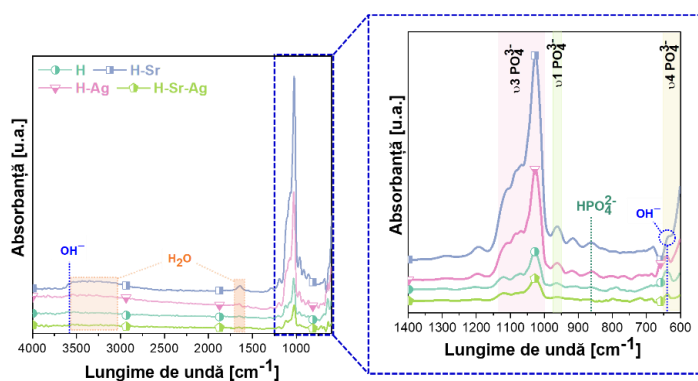


Figura 6.1. Legăturile chimice prezente în acoperirile pe bază de HAp

spectrele FTIR confirmă faptul că acoperirile obținute prin metoda electrochimică galvanostatică în puls la pH 5 sunt formate din HAp deficitară în calciu.

6.1.2. Aderență

În Figura 6.3 se regăsesc SEM ale urmelor amprentării în urma testelor de aderență cu bandă adezivă conform standardului ASTM D 3359-17 [205]. Din imaginile SEM se poate observa că marginile caroiajului sunt bine conturate, cu zone foarte mici delaminate, datorate procesului de amprentare.

Astfel, se observă un strat consistent și uniform de hidroxiapatită a rămas pe substrat după îndepărtarea benzii adezive, iar pe suprafața activă a benzii adezive doar un strat foarte subțire, superficial, a fost îndepărtat, fără a afecta integritatea structurală a acoperirii. Toate acoperirile de HAp prezintă o bună aderență și li se poate atribui un grad de exfoliere încadrat în categoria 4B. Astfel, stratul de HAp nedopat prezintă cel mai mic grad de exfoliere iar în urma dopării HAp, indiferent de natura elementului, zonele afectate se extind. La doparea cu Sr gradul de exfoliere este de 3,81% iar doparea cu Ag duce la o creștere de până la 4,27%. Chiar dacă ambele elemente de dopare conduc la o ușoară scădere a aderenței HAp, doparea simultană cu Sr și Ag nu are un efect concentrat negativ asupra aderenței iar gradul de exfoliere, chiar dacă este cel mai mare înregistrat și cel mai aproape de limita superioară a categoriei 4B, nu depășește 5%.

Astfel conform rezultatelor prezentate în Figura 6.4, obținute în urma testelor de aderență prin metoda zgârierii, se observă faptul că cea mai mare valoare a forței critice o prezintă acoperirile H urmată de acoperirile ce conțin Ag și cele codopate cu Sr și Ag, cele două din urmă fiind foarte apropiate una de cealaltă.

După realizarea testelor, probelor au fost analizate din punct de vedere al distribuției elementelor la finalul amprentei pentru a observa dacă au mai rămas elemente specifice straturilor, rezultatele fiind prezentate în Figura 6.5.

Rezultatele relevă faptul că la finalul amprentei încă sunt prezente urme ale principalelor elemente constitutive ale acoperirilor pe bază de hidroxiapatită (Ca și P) dar și ale elementelor de dopare Sr și/sau Ag

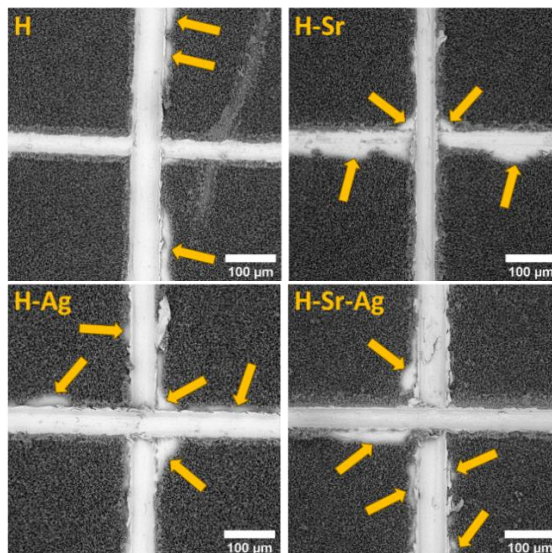


Figura 6.3. Imagini SEM ale urmelor amprentării după testul de aderență (săgețile portocalii indică zonele ce prezintă desprinderi/exfolieri)

Tabel 6.1. Evaluarea aderenței acoperirilor la substrat conform ASTM D3359-17

	H	H-Sr	H-Ag	H-Sr-Ag
Suprafață delaminată [%]	1,55 %	3,81 %	4,57 %	4,86 %
Aderență Conform ASTM D3359-17	4B	4B	4B	4B

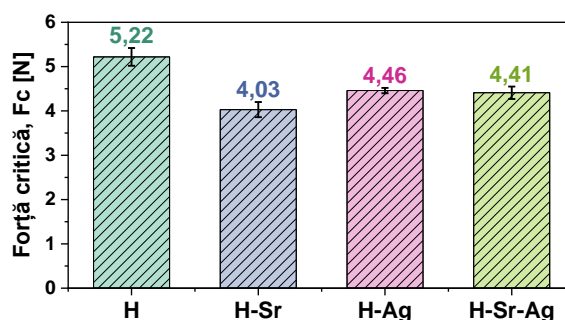


Figura 6.4. Forțele critice (F_c) obținute în urma testelor de aderență prin metoda zgârierii

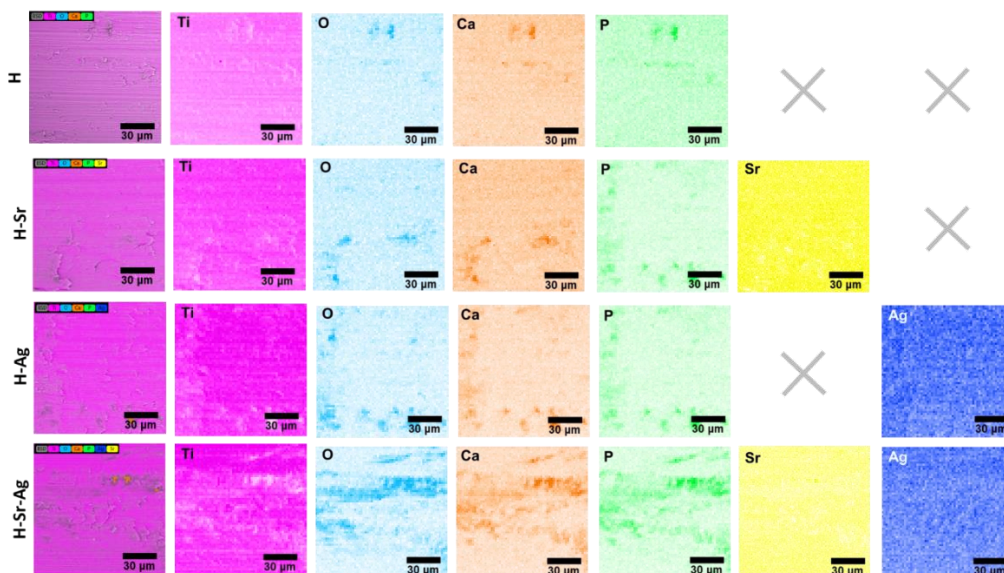


Figura 6.5. Distribuția elementelor componente substratului și straturilor la sfârșitul ampretei rezultate în urma testului de aderență

Figura 6.6. evidențiază faptul că cele două teste se regăsesc într-o bună concordanță, întrucât o forță critică mai mare indică o mai bună aderență și o străpungere/penetrare mai târzie a stratului, iar un procent mai mic de strat delaminat de pe suprafață indică o mai bună aderență a stratului la substrat.

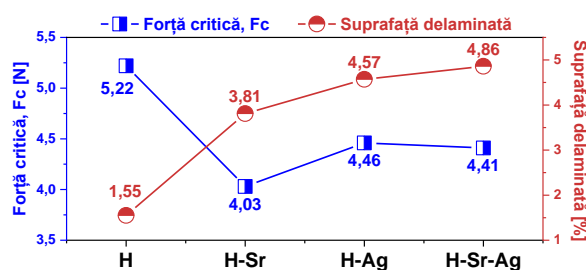


Figura 6.6. Evoluția rezultatelor aderenței obținute prin cele două metode de testare

6.2. Proprietăți de umectabilitate

6.2.1. Unghi de contact

Funcționalizarea substratului metalic cp-Ti cu acoperiri pe bază de nedopată sau dopată cu Sr și/sau Ag a condus la scăderea unghiului de contact măsurat cu SBF până la valori mai mici de 15° (Figura 6.7), indicând un puternic caracter hidrofil al acoperirilor pe bază de HAP nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag, sugerând astfel că acoperirea substratului a condus la modificarea chimiei suprafeței. Prin urmare, se poate afirma că acoperirile pe bază de HAP prezintă un caracter puternic hidrofil.

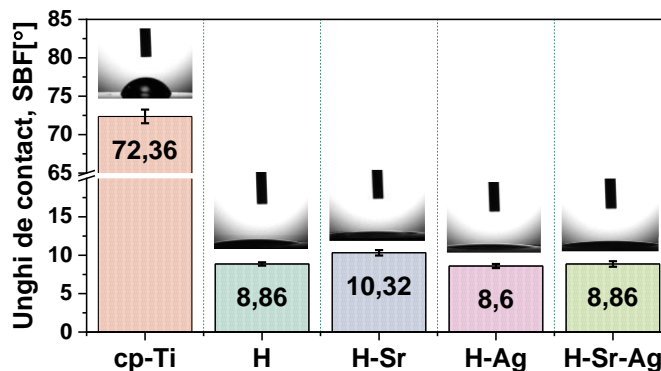


Figura 6.7. Unghiul de contact al suprafețelor testate cu SBF

6.2.2. Energie liberă de suprafață

Rezultatele unghiului de contact cu apă distilată, etilen glicol și toluen, utilizate în calcularea energiei libere de suprafață a acoperirilor pe bază de HAP se regăsesc în Figura 6.8. Acestea au indicat faptul că indiferent de lichidul utilizat, toate acoperirile prezintă un unghi de contact mai mic de 90° având un caracter hidrofil. În Figura 6.9 sunt prezentate valorile obținute pentru energia liberă de suprafață.

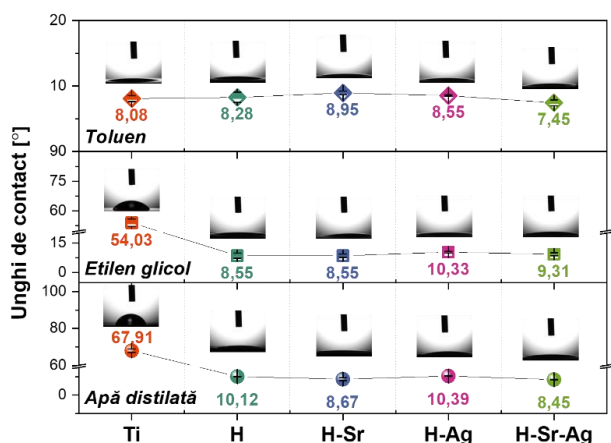


Figura 6.8. Unghiul de contact al suprafețelor pe bază de HAp măsurat cu apă distilată, etilen glicol și toluen

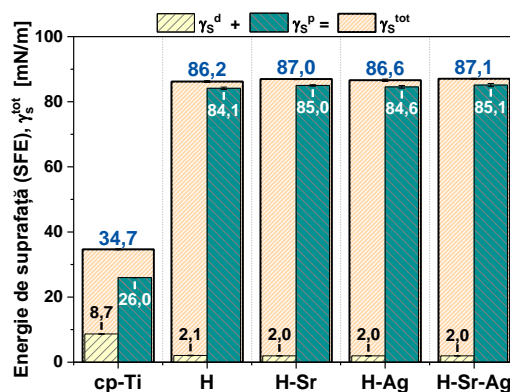


Figura 6.9. Energia de suprafață pentru cp-Ti și acoperirile pe bază de HAp

Acoperirile pe bază de HAp au înregistrat valori ale unghiului de contact între $7,5^\circ$ și $10,5^\circ$, fiind mult mai mici comparativ cu unghiurile de contact înregistrate de către substratul cp-Ti. Acoperirea H-Sr-Ag a înregistrat cea mai mare valoare a γ_s^{tot} de $87,1$ mN/m, urmată îndeaproape de acoperirea H-Sr cu un γ_s^{tot} de $87,0$ mN/m, H-Ag care a înregistrat o valoare de $86,6$ mN/m și H cu un γ_s^{tot} de $86,2$ mN/m.

6.3. Comportamentul electrochimic

Figura 6.11. prezintă variația potențialului de circuit deschis, iar Figura 6.12. prezintă curbele Tafel pentru cp-Ti și acoperirile pe bază de HAp nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag, iar parametrii electrochimici extrași în urma rezultatelor obținute se regăsesc în Tabelul 6.3.

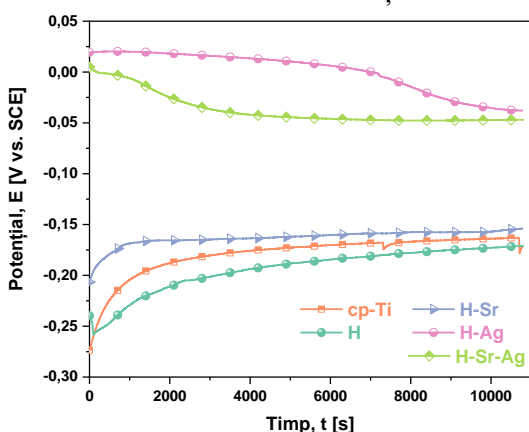


Figura 6.11. Variația potențialului de circuit deschis pentru cp-Ti și acoperirile pe bază de HAp

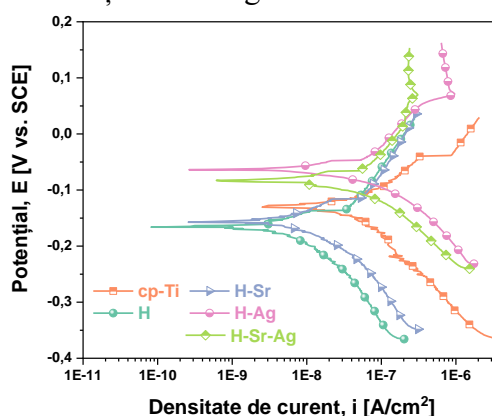


Figura 6.12. Curbele Tafel pentru cp-Ti și acoperirile pe bază de HAp

Este cunoscut faptul că un material are o bună rezistență la coroziune atunci când valorile potențialului de circuit deschis (E_{oc}) și de coroziune (E_{cor}) prezintă valori mai electropozitive, densitatea de curent de coroziune (i_{cor}) are o valoare mai mică, iar rezistența la polarizarea (R_p) este mare [232,233]. Ținând cont de aceste criterii și evaluând rezultatele obținute în urma testelor electrochimice a fost observat că rezistența la coroziune a substratului de titan pur a fost îmbunătățită prin acoperirea acestuia cu straturi pe bază de HAp.

Tabel 6.1. Parametrii electrochimici pentru cp-Ti și acoperirile pe bază de HAp

Probe	E_{oc} [mV]	E_{cor} [mV]	i_{cor} [nA/cm ²]	β_c [mV]	β_a [mV]	R_p [k Ω × cm ²]	Pe [%]
cp-Ti	-170,38	-129,79	83,54	189,97	123,87	390,24	-
H	-171,07	-166,24	18,07	220,93	136,73	2032,17	78,4
H-Sr	-154,12	-161,07	26,27	196,54	146,89	1391,28	68,5
H-Ag	-37,88	-63,20	52,63	103,21	165,55	525,20	37,0
H-Sr-Ag	-46,93	-84,42	48,63	120,37	200,22	672,12	41,8

Acoperirile pe bază de HAp nedopată au înregistrat cel mai mic icor, cel mai mare Rp și eficiență de protecție (Pe). Valorile înregistrate de H-Sr au fost apropiate de cele înregistrate de acoperirea H. Deși adăugarea Ag în structura HAp a condus la un comportament electrochimic mai slab comparativ cu celelalte tipuri de acoperiri, nu se poate afirma că proprietățile sunt slabe datorită caracterului metalic al Ag, indicând astfel că acesta nu a fost substituit în totalitate.

6.4. Evaluarea comportamentului *in vitro* în SBF și PBS

6.4.1. Teste de biomineralizare în SBF

Figura 6.14. prezintă evoluția masei de apatită nou formate în urma testelor de imersie în SBF a substratului cp-Ti și a acoperirilor pe bază de HAp nedopate și dopate cu Sr și/sau Ag. Conform rezultatelor, acoperirile pe bază de HAp au înregistrat o creștere în greutate pentru toate intervalele de timp comparativ cu substratul. Dintre acestea, acoperirea codopată se remarcă întrucât a înregistrat cea mai mare creștere la finalul testelor, de 16,43 mg (21 zile). Cu toate acestea, nu poate fi omis faptul că indiferent de perioada de imersie în SBF cantitatea de apatită nou formată pe suprafața acoperirilor a crescut în mod progresiv după fiecare interval de timp, indicând că acoperirile favorizează formarea unui nou strat de apatită, fiind astfel îmbunătățită capacitatea de osteointegrare [268].

6.4.2. Teste de biodegradare în PBS

Figura 6.16. prezintă evoluția masei substratului cp-Ti și a acoperirilor pe bază de HAp imersate în PBS. Conform acesteia se poate observa că toate acoperirile pe bază de hidroxiapatită dopate au înregistrat pierderi de masă mai mari comparativ cu hidroxiapatita nedopată pe întreaga perioadă de derulare a testelor, fiind astfel evidențiat efectul benefic al elementelor de dopare asupra capacității de degradare a hidroxiapatitei.

Cea mai mică pierdere masei, de -0,87 mg, a fost înregistrată de acoperirea H, urmată de H-Sr cu -1,05 mg și H-Ag cu -1,08 mg. Acoperirea codopată cu Ag și Sr a înregistrat cea mai mare pierdere a masei, de -1,12 mg. Această viteză de degradare în PBS poate fi explicată prin faptul că HAp poate prezenta și o mică parte de fază amorfă [117] ce favorizează degradarea acesteia.

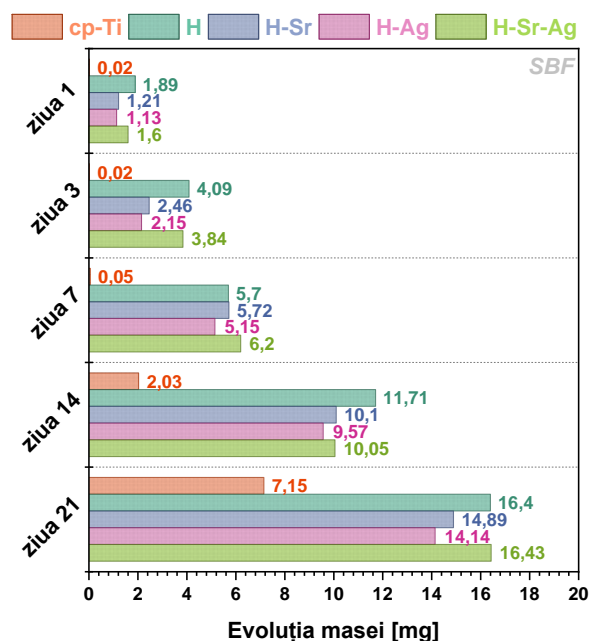


Figura 6.14 Evoluția masei de apatită pentru cp-Ti și acoperirile pe bază de HAp în urma testelor de imersie în SBF

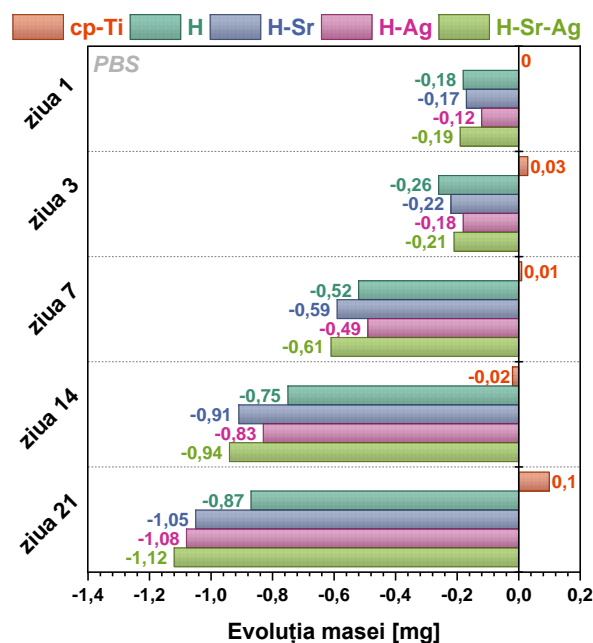


Figura 6.16. Evoluția masei de apatită pentru cp-Ti și acoperirile pe bază de HAp în urma testelor de imersie în PBS

6.5. Teste de biologie celulară

6.5.1. Viabilitatea și proliferarea preosteoblastelor MC3T3-E1

Figura 6.17. prezintă imaginile de microscopie cu fluorescență ale suprafețelor însămânțate cu preosteoblaste MC3T3-E1 timp de 1 și 3 zile, unde celulele vii sunt marcate în culoarea verde, iar cele moarte în culoare roșie și săgeți albe. Conform Figurii 6.17. se poate observa că preosteoblastele însămânțate pe suprafețele investigate au proliferat de la 1 la 3 zile, schimbându-și morfologia într-o formă alungită. Comparativ cu acoperirile pe bază de HAp, substratul cp-Ti a înregistrat cea mai mare creștere a densității atât la o zi de incubare cât și la 3 zile. Celulele moarte, evidențiate prin săgeți de culoare albă în Figura 6.17, au fost observate doar în cazul acoperirilor dopate cu Ag, evidențiind faptul că acesta poate induce un ușor efect citotoxic, cel mai probabil datorită concentrației de Ag din acoperiri și/sau datorită concentrației localizate de Ag conform imaginilor SEM.

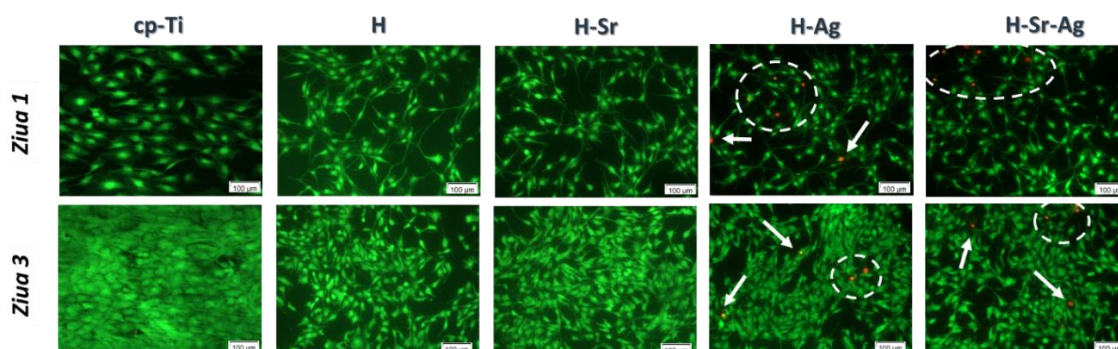


Figura 6.17. Imaginile de microscopie cu fluorescență ale suprafețelor însămânțate cu preosteoblaste MC3T3-E1 timp de 1 și 3 zile, unde celulele vii sunt marcate în culoarea verde, iar cele moarte în culoare roșie și săgeți albe

Figura 6.18. prezintă rezultatele obținute în urma testului CCK-8, de unde se poate observa că după o zi de menținere în mediul de cultură, indiferent de tipul de acoperire, cu sau fără element de dopare, nu există diferențe majore, valorile fiind apropiate. Diferențele în ceea ce privește proliferarea celulară apar după 3 zile de menținere a substratului și acoperirilor pe bază de HAp în mediul de cultură, unde se remarcă valori ale densității optice (DO) mai mari. Acoperirile H-Sr au înregistrat o creștere a densității preosteoblastelor, după 3 zile de incubare, comparativ cu acoperirile H și H-Ag, fiind totodată remarcată și o creștere a valorilor DO.

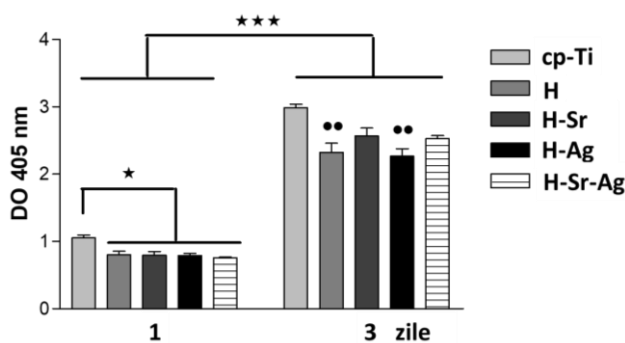


Figura 6.18. Capacitatea de proliferare a preosteoblastelor însămânțate pe substratul cp-Ti și acoperirile pe bază de HAp determinată cu ajutorul testului CCK-8 (***) $p < 0,001$ vs. 1 zi; * $p < 0,05$ pentru acoperirile pe bază de HAp vs. Ti la 1 zi; ** $p < 0,01$ pentru H și H-Sr vs. Ti la 3 zile)

6.5.2. Morfologia preosteoblastelor MC3T3-E1

Figura 6.19 evidențiază pe suprafața substratului cp-Ti, în lungul corpului celular, se observă o morfologie poligonal-elongată care prezintă fibre de stres. Comparativ cu substratul cp-Ti, preosteoblastele cultivate timp de o zi pe suprafețele acoperirilor pe bază de HAp prezintă o morfologie dendritică, filiformă, în timp ce după 3 zile de menținere, preosteoblastele prezintă o morfologie cuboidală. De remarcat este faptul că preosteoblastele crescute pe acoperirile pe bază de HAp prezintă contacte intercelulare prin alungiri citoplasmice fine.

Imaginile SEM au evidențiat preosteoblastele MC3T3-E1 aderate și răspândite la suprafața acestora prezentând trăsături morfologice și proeminențe ale membranei plasmactice diferite, sub formă de lamelipodii (prelungiri cu aspect de foi) și filopodii (prelungiri cu aspect digitiform). Astfel, preosteoblastele de pe suprafața substratului adoptă o conformație poligonală alungită predominant cu lamelipodii în jurul corpului celular, în timp ce pe acoperirile pe bază de HAp celulele prezintă mai multe conformații, respectiv fusiformă și poligonal-alungită cu numeroase lamelipodii mai ales după 1 zi de incubare dar și filopodii ce sunt mai frecvente după 3 zile de creștere în cultură.

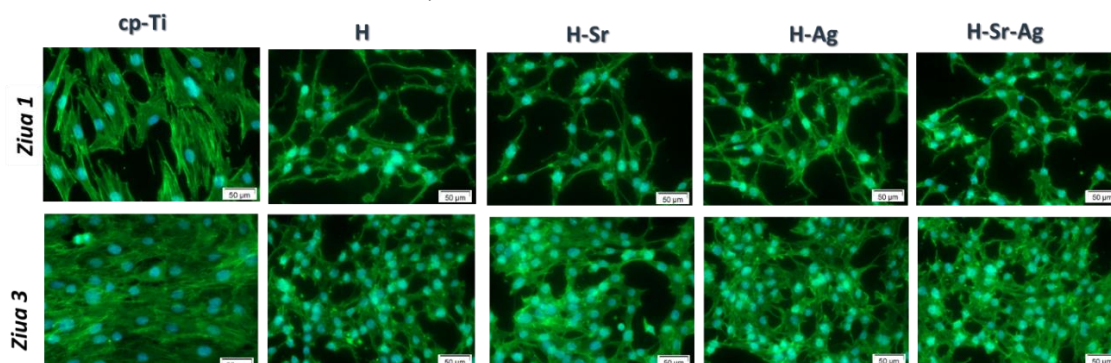


Figura 6.19. Morfologia preosteoblastelor MCT3T3-E1 însămânțate pe substratul cp-Ti și acoperirile pe bază de HAp

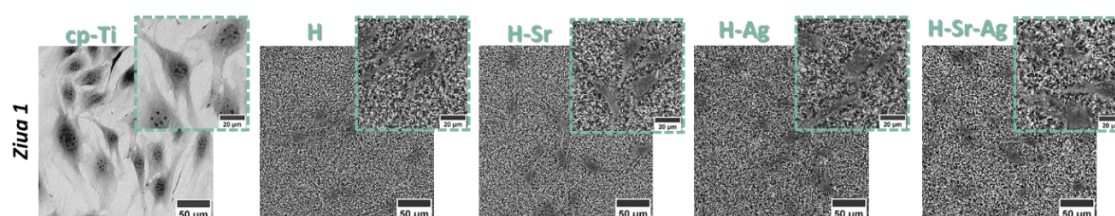


Figura 6.20. Imagini SEM ale preosteoblastelor MCT3T3-E1 însămânțate timp de 1 zi pe substratul cp-Ti și acoperirile pe bază de HAp

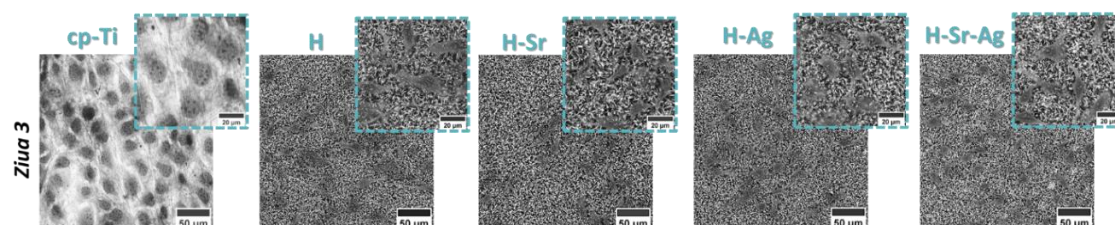


Figura 6.21. Imagini SEM ale preosteoblastelor MCT3T3-E1 însămânțate timp de 3 zile pe substratul cp-Ti și acoperirile pe bază de HAp

6.5.3. Diferențierea preosteoblastelor MC3T3-E1

Conform rezultatelor prezentate în Figura 6.22. se poate observa că după 7 zile, nu sunt diferențe semnificative între acoperiri și substratul cp-Ti. Activitatea ALP a preosteoblastelor a crescut de la 7 la 14 zile indicând susținerea procesului de diferențiere osteogenica.

Nivelul de collagen a evidențiat că între substratul cp-Ti și acoperirile pe bază de HAp nedopată nu sunt diferențe semnificative atât la 2 săptămâni

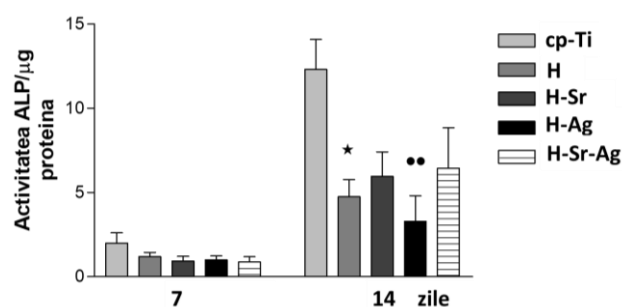


Figura 6.22. Cuantificarea activității ALP la 7 și 14 zile după însămânțare; *p < 0,05 pentru proba H-Sr vs. Ti și **p < 0,01 pentru H-Ag vs. Ti la 14 zile

cât și la 4 săptămâni. Ca și în cazul ALP, Sr susține diferențierea preosteoblastelor indiferent dacă este utilizat ca element singular sau împreună cu Ag.

Figura 6.24. prezintă cuantificarea mineralizării ECM determinată prin evidențierea depozitului de calciu. Comparativ cu substratul cp-Ti, toate acoperirile pe bază de HAp au înregistrat valori ale DO mult mai mari. Se remarcă faptul că acoperirile H și H-Sr-Ag au înregistrat cele mai mari valori ale DO urmate de acoperirea H-Sr și H-Ag.

6.6. Concluzii

Depunerea electrochimică galvanostatică în regim pulsant este o tehnică ce permite obținerea de acoperiri pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu stronțiu și/sau argint pe suprafața materialului metalic expus electrolitului la pH 5. În urma rezultatelor obținute se remarcă faptul că elementele de dopare influențează proprietățile acoperirilor pe bază de hidroxiapatită. Cu toate acestea, proprietățile acoperirilor pe bază de hidroxiapatită pot fi modulate prin modificarea parametrilor implicați în procesul de depunere, obținându-se acoperiri cu proprietăți superioare ce pot fi utilizate atât în aplicații ortopedice cât și stomatologice

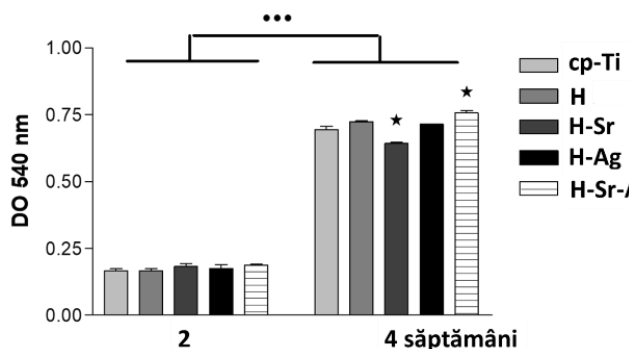


Figura 6.23. Nivelul de collagen secretat după 4 săptămâni de menținere în mediul de cultură. ●●● $p < 0,001$ vs. 2 săptămâni; * $p < 0,05$ pentru H-Sr și H-Sr-Ag vs. Ti la 4 săptămâni

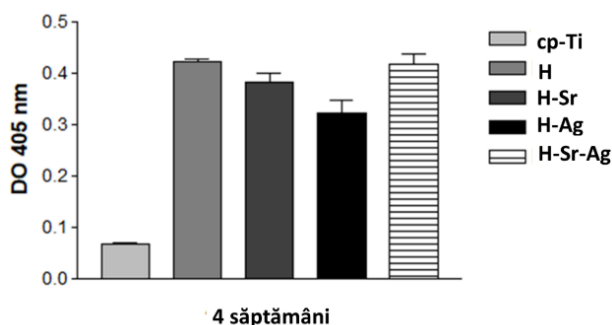


Figura 6.24. Cuantificarea mineralizării matricei extracelulare după 4 săptămâni de menținere în cultură a probelor (***) $p < 0,001$ pentru H-Sr și H-Sr-Ag vs. Ti; ** $p < 0,01$ pentru H-Ag vs. Ti)

Concluzii, contribuții proprii și perspective de cercetare

Principalul obiectiv al cercetărilor curente asupra biofuncționalizării dispozitivelor medicale implantabile constă în reducerea timpului de recuperare al pacienților supuși unei intervenții chirurgicale prin accelerarea osteointegrării și scăderea riscului de eșec asociat unor infecții intraspitalitești. Cu toate că biomaterialele trec de la o generație la alta prin acumularea unor proprietăți superioare, rămân totuși factori clinici care afectează succesul acestora in vivo.

Teza de doctorat „*Studii și cercetări privind obținerea de acoperiri pe bază de hidroxiapatită cu proprietăți de osteointegrare ridicată și proprietăți antibacteriene cu ajutorul tehnicilor electrochimice*” reprezintă un studiu amplu de actualitate care și-a propus rezolvarea unor probleme clinice prin creșterea capacității de osteointegrare a implanturilor metalice biofuncționalizate prin tehnici moderne utilizând biomateriale cu proprietăți osteoconductive și antibacteriene.

În urma studiilor și cercetărilor experimentale pot fi evidențiate următoarele concluzii generale:

- au fost obținute straturi de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag cu ajutorul a două tehnici electrochimice și anume tehnica potențiostatică în pulsuri și tehnica galvanostatică în pulsuri;
- în cazul ambelor tehnici au fost obținute straturi de hidroxiapatită cu un raport Ca/P apropiat de cel stoichiometric de 1,67; având o valoare mai mică se poate spune că hidroxiapatita obținută este deficitară în Ca.

În cazul utilizării tehnicii electrochimice potențiostatice în pulsuri:

- parametrii electrochimici au fost optimizați astfel încât grosimea straturilor (hidroxiapatită nedopată și dopată cu Ag) să fie similară ($\sim 7 \mu\text{m}$), prin modificarea parametrilor de obținere (timp de depunere, potențial de depunere aplicat, concentrația ionilor din soluția electrolitică);
- morfologia acoperirilor pe bază de hidroxiapatită prezintă o structură formată din plachete, cu o direcție preferențială de dezvoltare, perpendiculară pe suprafața substratului;
- doparea hidroxiapatitei cu Ag, a condus la modificarea morfologiei acoperirilor, formațiunile de tip plachetă devenind mai late și mai subțiri, fiind totodată identificate și zone cu mici aglomerări distribuite în rețeaua de plachete ce au fost atribuite Ag;
- compoziția elementală a evidențiat faptul că o dată cu adăugarea Ag, raportul Ca/P a crescut de la o valoare de 1,58 către 1,62, cea din urmă fiind mai apropiată de cea a hidroxiapatitei stoichiometrice (Ca/P=1,67);
- în urma compoziției fazice, ambele acoperiri au prezentat maxime de difracție specifice hidroxiapatitei, iar doparea cu Ag a dus la deplasarea către unghiuri mai mici a maximelor de difracție, evidențiind faptul că ionii de Ag^+ au substituit parțial ionii de Ca^{2+} din structura hidroxiapatitei; valoarea parametrului de rețea $a=b$ crește odată cu doparea ionilor de Ag, indicând faptul că celula cristalografică a hidroxiapatitei se modifică, confirmând totodată substituția Ca^{2+} cu cei ai elementului de dopare; dimensiunea de cristalit a scăzut de la o valoare de 35,88 nm obținută pentru hidroxiapatită, la o valoare de 21,23 nm pentru hidroxiapatita dopată cu Ag; o tendință similară a fost remarcată și pentru gradul de cristalinitate, care a scăzut de la o valoare de 29,07 % obținută pentru hidroxiapatita nedopată, la o valoare de 22,50 % pentru hidroxiapatita cu Ag;
- rugozitatea straturilor de hidroxiapatită a crescut considerabil după doparea cu ioni de Ag^+ fapt evidențiat de parametrul Ra al rugozității care a crescut de aproximativ 5 ori;
- testele de biomineralizare au evidențiat că ambele tipuri de acoperiri au condus la îmbunătățirea acestei caracteristici raportată la substrat iar doparea cu Ag^+ a dus la îmbunătățirea capacității de biomineralizare a hidroxiapatitei;

- din punct de vedere al comportamentului electrochimic ambele tipuri de acoperiri au condus la îmbunătățirea rezistenței la coroziune a substratului de Ti6Al4V atât în soluție biologică simulată cât și în salivă artificială, sugerând faptul că acoperirile propuse pot fi utilizate atât în aplicații medicale din domeniul ortopedic cât și din cel stomatologic.

În cazul utilizării tehnicii electrochimice galvanostatice în pulsuri:

- au fost selectați parametri de depunere astfel încât: (i) toate depunerile proiectate (hidroxiapatită nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag) să fie obținute la aceleași valori ale acestor parametri; (ii) timpul efectiv de depunere să scadă față de metoda electrochimică potențiostatică în pulsuri având ca scop optimizarea atât a timpului necesar depunerii cât și al eficienței energetice;
- au fost obținute straturi de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag utilizând electroliți cu compoziții chimice similare dar cu valori ale *pH*-ului diferite, de 4 și respectiv 5;
- morfologia obținută este preponderent sub formă de panglici foarte subțiri, lungi și late ce suferă mici modificări atât în funcție de valoarea *pH*-ului cât și a naturii elementului de dopare; creșterea valori *pH*-ului electrolitului de la 4 la 5 conduce la obținerea unor panglici ușor mai înguste, indiferent de tipul elementului de dopare utilizat; adăugarea argintului în structura hidroxiapatitei a condus la obținerea unei morfologii constituită atât din formațiuni de tip panglică precum și a unor formațiuni sub formă de floare, indiferent de valoarea *pH*-ului electrolitului; cu toate acestea, s-a remarcat că atunci când valoarea *pH*-ului a fost ajustată la 5, densitatea formațiunilor de tip floare în acoperirile ce conțin Ag a scăzut, indicând faptul că utilizarea unui *pH* mai ridicat conduce la o mai bună dispersie a Ag în acoperiri;
- compoziția elementală a confirmat prezența elementelor specifice hidroxiapatitei (calciu și fosfor) și a elementelor de dopare (argint și stronțiu); raportul (Ca+M)/P, unde M= Sr, Ag, Sr+Ag, a înregistrat valori cuprinse între 1,45 și 1,64 indiferent de *pH*-ul electrolitului sau tipul de element de dopare utilizat, cu valori mai mari obținute în cazul acoperirilor realizate la un *pH* de 5; odată cu creșterea *pH*-ului electrolitului, cantitatea de stronțiu din acoperiri nu a fost puternic influențată comparativ cu doparea cu Ag⁺, unde se observă o dependență între *pH*-ul electrolitului și cantitatea de Ag regăsită ulterior în acoperiri (creșterea *pH*-ului duce la scăderea cantității de Ag); straturile codopate cu ioni de stronțiu și argint prezintă o cantitate de argint mai mică la *pH* 5, indicând faptul că stronțiul inhibă substituția argintului odată cu creșterea *pH*-ului;
- difracția de raze X a indicat faptul că indiferent de valoarea *pH*-ului electrolitului dar și de natura elementului de dopare, principala fază identificată este cea de hidroxiapatită, dar și o fază secundară de monetit (precursor al hidroxiapatitei); nu au fost identificate diferențe majore între difractogramele obținute pentru straturile obținute la *pH* 4 și 5, în afara unor intensități ușor mai mari ale celor obținute la *pH* 5; maxima de difracție de la 2θ de $\sim 26^\circ$ și asociată planului de difracție (002) prezintă cea mai mare intensitate indiferent de tipul de element de dopare utilizat sau valoare a *pH*-ului electrolitului și indică faptul că orientarea preferențială este de-a lungul axei c; difractogramele de raze X au evidențiat ușoare deplasări către unghiuri mai mici ale maximei de difracție de la 2θ de $\sim 26^\circ$ după adăugarea elementelor de dopare indicând faptul că structura hidroxiapatitei a suferit modificări, fiind astfel confirmată doparea; din punct de vedere al parametrilor structurali, a fost remarcat faptul că parametrii de rețea *a* și *c* ai hidroxiapatitei au crescut odată cu adăugarea elementelor de dopare, confirmând de asemenea că elementele de dopare au substituit cu succes o parte din atomii de Ca din structura hidroxiapatitei; din punct de vedere al cristalinității a fost remarcat faptul că adăugarea elementelor de dopare Sr și/sau Ag în structura HAp a dus la creșterea acestui parametru, indiferent de valoarea *pH*-ului electrolitului (gradul de cristalinitate minim al hidroxiapatitei nedopate fiind de 46,64 % în cazul obținerii la *pH* 4);

- rugozitatea straturilor, conform parametrului Ra, crește în cazul acoperirilor obținute la pH 5 excepție făcând straturile dopate sau codopate cu Ag; cea mai mare rugozitate a fost înregistrată pentru straturile de hidroxiapatită codopată cu ioni de Sr și Ag obținute în cazul electrolitului cu pH 4;
- grosimea de strat are valori mai apropiate în cazul utilizării electrolitului cu pH 5 (11,5 și 13,5 μm) în timp ce straturile obținute la pH 4 au valori cuprinse între 8 și 12,6 μm ; utilizarea unui electrolit mai bazic a condus la creșterea grosimii de strat indiferent de natura elementului de dopare, excepție făcând straturile de hidroxiapatită codopate cu Sr și Ag unde grosimea de strat nu a fost puternic influențată de valoarea pH-ului (diferența fiind de doar 0,4 μm);
- rata de depunere a crescut odată cu creșterea valorii pH-ului indicând faptul că acesta influențează în mod direct procesul de creștere și nucleație al hidroxiapatitei;

Straturi de HAp nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag obținute în electrolit cu valoarea pH-ului 5:

- spectroscopia în infra-roșu cu transformată Fourier a evidențiat prezența grupărilor fosfat (PO_4^{3-}) și a celor hidroxil (OH^-) în toate acoperirile, confirmând astfel existența fazei de hidroxiapatită;
- testele de aderență prin metoda "tape test" au evidențiat faptul că acoperirile pe bază de hidroxiapatită obținute la pH 5 au o bună aderență la substrat acestea fiind încadrate în categoria 4B conform standardului ASTM D3359-09; chiar dacă suprafețele delaminate au avut valori mai mici de 5%, se remarcă acoperirile pe bază de hidroxiapatită nedopată întrucât suprafața delaminată a fost de doar 1,55%;
- testele de aderență prin metoda zgârierii au confirmat faptul că acoperirile pe bază de hidroxiapatită nedopată au o aderență mai bună la substrat, înregistrând cea mai mare forță critică, de 5,22 N, fiind urmate de acoperirile dopate cu Sr și/sau Ag care au înregistrat valori apropiate situate în intervalul 4,03 N – 4,46 N;
- pe baza celor două tipuri de teste utilizate pentru evaluarea aderenței se poate spune că adăugarea elementelor de dopare Sr și/sau Ag în structura HAp a dus la o ușoară diminuare a aderenței acoperirilor;
- din punct de vedere al gradului de umectare, analiza unghiului de contact cu soluție biologică simulată (SBF) a evidențiat faptul că toate acoperirile au un puternic caracter hidrofil, înregistrând unghiuri de contact în intervalul $8^\circ - 10^\circ$;
- energia liberă de suprafață a substratului a fost semnificativ îmbunătățită prin acoperirea acestuia cu straturi pe bază de hidroxiapatită valorile înregistrate în cazul acestora fiind de aproximativ 2,5 ori mai mari;
- acoperirile pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag au dus la îmbunătățirea comportamentului electrochimic al substratului de titan pur în SBF; cel mai bun comportament electrochimic evidențiat prin înregistrarea celei mai mici densități de curent de coroziune, a celei mai mari rezistențe de polarizare și a celei mai bune eficiențe de protecție la atacul coroziv îl prezintă acoperirile pe bază de HAp nedopate;
- testele de biomineralizare în SBF au evidențiat faptul că toate acoperirile favorizează precipitarea unui nou strat de apatită pe suprafață după 21 de zile de imersie în mediul de testare, îmbunătățind astfel capacitatea de biomineralizare a titanului; cele mai bune rezultate din punct de vedere al masei de apatită nou formată pe suprafață au fost înregistrate pentru acoperirile pe bază de HAp codopată cu Sr și Ag;
- testele de biodegradare realizate în soluție tampon fosfat (PBS) au indicat faptul că doparea HAp conduce la accelerarea degradării acoperirilor pe bază de hidroxiapatită; după 21 de zile de imersie, acoperirile pe bază de HAp codopate cu Sr și Ag au înregistrat cea mai mare pierdere de masă;
- studiile privind răspunsul preosteoblastelor asupra acoperirilor pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag dezvoltate au indicat faptul că aceste suprafețe susțin

aderența și capacitatea de proliferare a preosteoblastelor însămânțate, favorizând totodată și diferențierea osteogenă a preosteoblastelor;

- adăugarea Sr în acoperirile pe bază de hidroxiapatită a exercitat efecte benefice asupra răspunsului preosteoblastelor indiferent dacă acoperirea conține sau nu Ag.

Contribuții personale

Contribuțiile originale ale acestei teze de doctorat prezintă elemente de noutate în ingineria materialelor cu aplicații în medicină. Aceste contribuții au la bază:

- ✓ Realizarea unui studiu de literatură concentrat asupra celor mai utilizate materiale pentru fabricarea dispozitivelor medicale implantabile și al metodelor de depunere al acestora cu hidroxiapatită nedopată sau dopată cu diferiți ioni, în vederea inducerii unor noi caracteristici necesare din punct de vedere clinic;
- ✓ Selectarea elementelor de codopare pentru a îndeplini cerințele clinice actuale, cu precădere îmbunătățirea proprietăților de osteointegrare și inducerea celor antibacteriene;
- ✓ Identificarea și selectarea metodelor de depunere a hidroxiapatitei care să ofere posibilitatea atât a dopărilor cât și a codopărilor utilizând aceiași parametri de depunere;
- ✓ Selectarea și optimizarea naturii și valorilor parametrilor de depunere astfel încât să poată fi utilizați în cadrul obținerii tuturor materialelor proiectate;
- ✓ Obținerea unor depuneri de hidroxiapatită nedopată și dopată cu ioni de Ag prin metoda potentiostatică în pulsuri cu aceeași grosime de strat modificând parametri de depunere, și caracterizarea complexă comparativă și detaliată a acestora din punct de vedere al morfologiei, compoziției elementale, compoziției fazice, legăturilor chimice, valorilor parametrilor structurali, cristalinității, dimensiunii de cristalit, rugozității, capacității de biomineralizare și comportamentului electrochimic atât în soluție biologică simulată (SBF) cât și salivă artificială;
- ✓ Obținerea pentru prima dată a straturilor de hidroxiapatită codopate cu Sr și Ag prin metoda electrochimică galvanostatică în pulsuri cu morfologie de tip panglică;
- ✓ Caracterizarea complexă, comparativă și detaliată a straturilor de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag obținute la valori diferite ale *pH*-ului electrolitului, din punct de vedere al morfologiei, compoziției elementale, compoziției fazice, valorilor parametrilor structurali, cristalinității, dimensiunii de cristalit, rugozității, grosimii de strat și a ratei de depunere;
- ✓ Testarea complexă *in vitro* a hidroxiapatitei codopate cu Sr și Ag prin metoda electrochimică galvanostatică în pulsuri obținută în electrolit cu *pH* 5 din punct de vedere al:
 - comportamentului electrochimic în soluție biologică simulată (SBF),
 - bioactivității (biomineralizării în SBF și biodegradării în soluție tampon fosfat - PBS)
 - răspunsului celular pe culturi de celule preosteoblaste (viabilitate, proliferare, morfologie și diferențiere);
- ✓ Obținerea straturilor de hidroxiapatită codopată cu Sr și Ag în cantități optime care să susțină aderența și capacitatea de proliferare a preosteoblastelor și în același timp diferențierea osteogenă a preosteoblastelor;

Perspective de cercetare

Studiile și cercetările realizate în această teză de doctorat au condus la înțelegerea unor procese fizico-chimice ce stau la baza nucleației și creșterii straturilor de hidroxiapatită nedopată și dopată cu ioni metalici de Sr și/sau Ag dar și influența acestora asupra caracteristicilor necesare clinic. Cu toate acestea, unele probleme rămân deschise pentru a fi aprofundate prin caracterizarea și testarea amplă a acoperirilor pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag după cum urmează:

1. Determinarea comportamentului electrochimic în alte medii biologice sintetice acelulare (salivă artificială de diferite tipuri, mediul Dulbecco) în vederea înțelegerii acestui comportament în cazul acoperirii dispozitivelor medicale implantabile;
2. Cuantificarea cantității ionilor eliberați pe termen scurt și lung în urma testelor electrochimice în diverse fluide biologice sintetice, dar și în urma testelor de bioactivitate;
3. Investigarea acoperirilor cu ajutorul tehnicilor micro-CT pentru determinarea gradului de porozitate și înțelegerea mecanismului de creștere al formațiunilor sub formă de panglică;
4. Continuarea studiului *in vitro* privind capacitatea de proliferare și adeziune a preosteoblastelor pe perioade mai mari de timp și utilizarea unei linii celulare de fibroblaste umane;
5. Aprofundarea studiilor de diferențiere osteogenică prin cuantificarea proteinelor (ex.: osteopontin, osteocalcin) care susțin procesul de remodelare osoasă;
6. Realizarea testelor antibacteriene pe bacterii specifice infecțiilor asociate cu operațiile de implantare precum cele Gram-pozitive (*S. aureus*) și Gram-negative (*E. coli*) pentru cuantificarea proprietăților antibacteriene și antifungice;
7. Evaluarea proprietăților de biocompatibilitate a acoperirilor pe bază de hidroxiapatită nedopată și dopată cu Sr și/sau Ag prin realizarea testelor *in vivo* pe modele de animale.

Bibliografie selectivă

- [3] Ratner, B.D.; Hoffman, A.S.; Schoen, F.J.; Lemons, J.E. Biomaterials Science: An Evolving, Multidisciplinary Endeavor. In Biomaterials Science; Elsevier, 2013; pp. xxv–xxxix.
- [31] Safavi, M.S.; Walsh, F.C.; Surmeneva, M.A.; Surmenev, R.A.; Khalil-Allafi, J. Electrodeposited Hydroxyapatite-Based Biocoatings: Recent Progress and Future Challenges. *Coatings* 2021, 11, 1–62.
- [115]. **Ungureanu, E.**; Ionescu, I.C.; Zamfir-Andronic, R.I.; Vasilescu, M.; Milea, C.G.; Dobrescu, M.; Vranceanu, D.M.; Cotrut, C.M. Biofunctionalization of Ti6Al4V Surface with Ag Modified Hap Coatings via Electrochemical Deposition. *Bull., Series B* 82, 2020
- [117]. **Ungureanu, E.**; Vranceanu, D.M.; Vladescu, A.; Parau, A.C.; Tarcolea, M.; Cotrut, C.M. Effect of Doping Element and Electrolyte's Ph on the Properties of Hydroxyapatite Coatings Obtained by Pulsed Galvanostatic Technique. *Coatings* 2021, 11, doi:10.3390/coatings11121522.
- [159] Eliaz, N.; Sridhar, T.M. Electrocrystallization of Hydroxyapatite and Its Dependence on Solution Conditions. *Cryst Growth Des* 2008, 8, 3965–3977, doi:10.1021/cg800016h
- [165] Vladescu, A.; Vranceanu, D.M.; Kulesza, S.; Ivanov, A.N.; Bramowicz, M.; Fedonnikov, A.S.; Braic, M.; Norkin, I.A.; Koptuyg, A.; Kurtukova, M.O.; et al. Influence of the Electrolyte's PH on the Properties of Electrochemically Deposited Hydroxyapatite Coating on Additively Manufactured Ti64 Alloy. *Sci Rep* 2017, 7, doi:10.1038/s41598-017-16985-z.
- [174] Mokabber, T.; Lu, L.Q.; van Rijn, P.; Vakis, A.I.; Pei, Y.T. Crystal Growth Mechanism of Calcium Phosphate Coatings on Titanium by Electrochemical Deposition. *Surf Coat Technol* 2018, 334, 526–535, doi:10.1016/j.surfcoat.2017.12.011
- [180] Li, T.T.; Ling, L.; Lin, M.C.; Peng, H.K.; Ren, H.T.; Lou, C.W.; Lin, J.H. Recent Advances in Multifunctional Hydroxyapatite Coating by Electrochemical Deposition. *J Mater Sci* 2020, 55, 6352–6374.
- [205] ASTM D3359-17; Standard Test Methods for Rating Adhesion by Tape Test 1; 2017
- [218] Villaseñor Cerón, L.S.; Rodríguez Lugo, V.; Arenas Alatorre, J.A.; Fernández-García, M.E.; Reyes-Valderrama, M.I.; González-Martínez, P.; Mendoza Anaya, D. Characterization of Hap Nanostructures Doped with AgNp and the Gamma Radiation Effects. *Results Phys* 2019, 15, 102702, doi:10.1016/j.rinp.2019.102702
- [219] Vranceanu, D.M.; Tran, T.; **Ungureanu, E.**; Negoiescu, V.; Tarcolea, M.; Dinu, M.; Vladescu, A.; Zamfir, R.; Timotin, A.C.; Cotrut, C.M. Pulsed electrochemical deposition of Ag doped hydroxyapatite bioactive coatings on Ti6Al4V for medical purposes. *Bull., Series B* 2018, 80.
- [224] Predoi, D.; Popa, C.L.; Chapon, P.; Groza, A.; Iconaru, S.L. Evaluation of the Antimicrobial Activity of Different Antibiotics Enhanced with Silver-Doped Hydroxyapatite Thin Films. *Materials* 2016, 9, doi:10.3390/ma9090778
- [232] Baboian, R. Corrosion Tests and Standards: Application and Interpretation-Second Edition; ASTM International, 2005; ISBN 9780803120983.
- [233] Mansfeld, F. The Polarization Resistance Technique for Measuring Corrosion Currents. In *Advances in Corrosion Science and Technology*; Springer US: Boston, MA, 1976; pp. 163–262.
- [235] Vranceanu, D.M.; Ionescu, I.C.; **Ungureanu, E.**; Cojocar, M.O.; Vladescu, A.; Cotrut, C.M. Magnesium Doped Hydroxyapatite-Based Coatings Obtained by Pulsed Galvanostatic Electrochemical Deposition with Adjustable Electrochemical Behavior. *Coatings* 2020, 10, 1–15, doi:10.3390/COATINGS10080727.

- [239] Sun, J.P.; Song, Y. Strengthening Adhesion of the Hydroxyapatite and Titanium Interface by Substituting Silver and Zinc: A First Principles Investigation. *ACS Appl Nano Mater* 2018, 1, 4940–4954, doi:10.1021/acsanm.8b01103.
- [241] Narendran, P.; Rajendran, A.; Garhnayak, M.; Garhnayak, L.; Nivedhitha, J.; Devi, K.C.; Pattanayak, D.K. Influence of PH on Wet-Synthesis of Silver Decorated Hydroxyapatite Nanopowder. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2018, 169, 143–150, doi:10.1016/j.colsurfb.2018.04.039.
- [243] Wang, Y.; Liu, X.; Fan, T.; Tan, Z.; Zhou, Z.; He, D. In Vitro Evaluation of Hydroxyapatite Coatings with (002) Crystallographic Texture Deposited by Micro-Plasma Spraying. *Materials Science and Engineering C* 2017, 75, 596–601, doi:10.1016/j.msec.2017.02.119.
- [244] Liu, X.; He, D.; Zhou, Z.; Guo, X.; Liu, Y.; Hou, W.; Li, H. In Vitro Bioactivity and Antibacterial Performances of Atmospheric Plasma Sprayed C-Axis Preferential Oriented Hydroxyapatite Coatings. *Surf Coat Technol* 2021, 417, 127209, doi:10.1016/j.surfcoat.2021.127209.
- [245] Jadalannagari, S.; Deshmukh, K.; Ramanan, S.R.; Kowshik, M. Antimicrobial Activity of Hemocompatible Silver Doped Hydroxyapatite Nanoparticles Synthesized by Modified Sol–Gel Technique. *Appl Nanosci* 2014, 4, 133–141, doi:10.1007/s13204-013-0197-x.
- [268] Liu, Y.; Zhang, B.; Liu, F.; Qiu, Y.; Mu, W.; Chen, L.; Ma, C.; Ye, T.; Wang, Y. Strontium Doped Electrospinning Fiber Membrane with Antibacterial and Osteogenic Properties Prepared by Pulse Electrochemical Method. *Engineered Regeneration* 2022, 3, 339–351, doi:10.1016/j.engreg.2022.07.005.

Lista de lucrări

În cadrul stagiului doctoral au fost publicate **8 articole științifice** în reviste **cotate ISI** și **24 de lucrări** prezentate în cadrul unor **conferințe internaționale**. Toate aceste articole științifice și lucrări în cadrul unor conferințe, abordează subiecte din domeniul tezei de doctorat.

Lucrări publicate în reviste cotate ISI

1. **Ungureanu Elena**, Vladescu (Dragomir) A., Parau A.C., Mitran V., Cimpean A., Tarcolea M., Vranceanu D.M, Cotrut M.C., [In Vitro Evaluation of Ag- and Sr-Doped Hydroxyapatite Coatings for Medical Applications](#), Materials, **2023**, Vol. 16, Iss. 15, Art.no. 5428, pp.28, DOI: 10.3390/ma16155428, FI=3,400, **cu rezultate obținute din prezenta Teză de doctorat**;
2. Cotrut M.C., **Ungureanu Elena**, Ionescu I.C., Zamfir R.I., Kiss A.E., Parau A.C., Vladescu A., Vranceanu D.M., 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, Art.no. 1097, pp. 25, DOI: 10.3390/coatings12081097, WOS:000846987400001, FI= 3,236;
3. Vranceanu D.M., **Ungureanu Elena**, Ionescu I.C., Parau A.C., Kiss A.E., Vladescu A., Cotrut M.C., [Electrochemical Surface Biofunctionalization of Titanium through Growth of TiO₂ Nanotubes and Deposition of Zn Doped Hydroxyapatite](#), Coatings, **2022**, Vol.12, Iss. 1, Art.No. 69, pp. 16, DOI: 10.3390/coatings12010069, WOS:000765085600001, FI=2,881;
4. **Ungureanu Elena**, Vranceanu D.M., Vladescu A., Parau A.C., Tarcolea M, Cotrut M.C., [Effect of doping element and electrolyte's ph on the properties of hydroxyapatite coatings obtained by pulsed galvanostatic technique](#), Coatings, **2021**, Vol 11, Nr. 12, Art.no. 1522, pp. 15, DOI: 10.3390/coatings11121522, WOS:000736213900001, FI=2,881, **cu rezultate obținute din prezenta Teză de doctorat**;
5. **Ungureanu Elena**, Ionescu I.C., Zamfir-Andronic R.I., Vasilescu M., Milea C.G., Dobrescu M., Vranceanu D.M., Cotrut M.C., [Biofunctionalization of Ti6Al4V surface with Ag modified HAp coatings via electrochemical deposition](#), U.P.B. Sci. Bull., Series B, Series B, **2020**, Vol. 82, Iss. 4, pp. 307-324, WOS:000610101300026, FI=0,5, **cu rezultate obținute din prezenta Teză de doctorat**;
6. Cotrut M.C., Ionescu I.C., **Ungureanu Elena**, Berbecaru A., Zamfir R.I., Vladescu A., Vranceanu 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, Art.No. 100866, pp. 12, DOI: 10.1016/j.surfin.2020.100866, WOS:000615255600005, FI= 4,837;
7. Vranceanu D.M., Ionescu I.C.; **Ungureanu Elena**, Cojocaru M.O., Vladescu A, Cotrut M.C., [Magnesium Doped Hydroxyapatite-Based Coatings Obtained by Pulsed Galvanostatic Electrochemical Deposition with Adjustable Electrochemical Behavior](#), Coatings, **2020**, Vol. 10, Nr 8, Nr. art. 727, pp. 15, DOI: 10.3390/coatings10080727, WOS:000564808400001, FI=2,436;
8. Thanh T.T., Cotrut M.C, Vranceanu D.M., **Ungureanu Elena**, Tarcolea M., [Studies of microstructure and composition of modified hydroxyapatite coatings via SEM investigations](#), U.P.B. Sci. Bull., Series B, **2020**, Vol. 82, Iss. 1, pp.145-154, WOS:000550837300012, FI=0,5.

Lucrări prezentate în cadrul unor conferințe internaționale

- 1 D.M. Vranceanu , I. Titorencu, A. Vladescu (Dragomir), A.C. Parau, V. Pruna, **E. Ungureanu**, C.M. Cotrut - *In Vitro biological behavior of bioactive hydroxyapatite-based coatings*, , International Conference on Biomaterials and Regenerative Medicine BIOREMEDI'2023, 19- 21 July, 2023, Sibiu, Romania

- 2 **E. Ungureanu**, A. Vladescu (Dragomir), D.M. Vranceanu, I. Titorencu, A.C. Parau, V. Pruna, C.M. Cotrut - *Development and in vitro evaluation of hydroxyapatite coatings obtained by electrochemical means*, 21st International Balkan Workshop on Applied Physics and Materials Science (IBWAP 2023), 11 - 14 Iulie, **2023**, Constanța, Romania
- 3 D.M. Vranceanu, I.C. Ionescu, **E. Ungureanu**, A.C. Parau, I. Titorencu, M. Badea, C. Adochite, A. Vladescu (Dragomir) and C.M. Cotruț - *In vitro evaluation of hydroxyapatite-based coatings obtained through electrochemical methods*, 9th International Conference on Materials Science and Technologies – RoMat 2020, 24-25 November **2022**, Bucharet, Romania
- 4 **E. Ungureanu**, D.M. Vrânceanu, A.C. Pârâu, R. Zamfir, A. Vlădescu (Dragomir) and C. Cotrut - *Development and characterization of hydroxyapatite-based coatings obtained by electrochemical deposition*, 9th International Conference on Materials Science and Technologies – RoMat 2020, 24-25 November **2022**, Bucharet, Romania
- 5 **Ungureanu Elena**, Diana M. Vranceanu, Anca C. Parau, Vladescu Alina, Cosmin M. Cotrut - *The influence of electrolyte's pH and doping element on the properties of hydroxyapatite coatings obtained by electrochemical deposition*, 9th International Conference Biomaterials, Tissue Engineering & Medical Devices – BiomMedD'2022, 20-22 Iulie **2022**
- 6 D.M. Vranceanu, I.C. Ionescu, **E. Ungureanu**, A. Berbecaru, G.A. Juravlea, R.I. Zamfir, A. Vladescu, Cosmin Mihai Cotruț, *Impact of surface modification techniques on the in vitro corrosion behavior and biomineralization ability of titanium*, 8th International Conference on Materials Science and Technologies – RoMat 2020 (virtual conference), 26-27 November **2020**, Bucharest, Romania;
- 7 Cosmin Mihai Cotruț, Diana M. Vranceanu, **E. Ungureanu**, A. Vladescu, “*Assessment of Electrochemical Behavior in Different Media of Silver Doped Hydroxyapatite-Based Coatings Deposited on Ti6Al4V Alloy for Medical Applications*” – NACE European Corrosion Management Virtual Conference, 17-18 November, **2020**, Bucharest, Romania
- 8 **E. Ungureanu**, T. Tran, M. Tarcolea, Cojocar, M. Dinu, A. Vladescu, D. Vranceanu, C. Cotrut, *Development of bioactive and bactericide coatings through electrochemical deposition of Ag and Zn doped HAP*, International Seminar on Biomaterials and Regenerative Medicine, 26-28 September, Craiova, Romania, **2019**
- 9 A Vladescu (Dragomir), D.M. Vranceanu, I. Titorencu, A.C.Parau, **E. Ungureanu**, C.M. Cotrut - *Physico-chemical and in vitro biological behavior of plate-like hydroxyapatite coatings obtained in pulsed galvanostatic mode*, European Materials Research Society – Spring Meeting (E-MRS 2023), Symposium H Advanced strategies for smart functional and multifunctional biomaterials and biointerfaces, May 29 to June 2, **2023**.
- 10 Pana, A.C. Parau, **E. Ungureanu**, J. Raczowska, C. Vitelaru, M. Dinu, K. Awsiuk, D.M. Vranceanu, C.M. Cotrut, and A. Vladescu- *ZrCu-based thin films metallic glasses with addition of Ca, Mo, Sr, Mg and Si*, 9th International Conference on Materials Science and Technologies – RoMat 2022, 24-25 November **2022**, Bucharet, Romania
- 11 D.M. Vranceanu, I.C. Ionescu, **E. Ungureanu**, A.C. Parau, R.I. Zamfir, I. Titorencu, M. Badea, C. Adochite, S. Costinas, M. Idomir, A. Vladescu, C.M. Cotrut - *In vitro evaluation of doped hydroxyapatite coatings electrochemically deposited on titanium nanostructured surface*, New Trends on Sensing- Monitoring- Telediagnosis for Life Sciences, NT SMT-LS 2022 – Sept. 8-10, **2022**, Braşov Romania
- 12 D.M. Vranceanu, I.C. Ionescu, **E. Ungureanu**, A. Kiss, A.C. Parau, C.M. Cotrut - *Influence of Mg and Zn content on the properties of hydroxyapatite-based coatings*, New Trends on Sensing- Monitoring- Telediagnosis for Life Sciences, NT SMT-LS 2022 – Sept. 8-10, **2022**, Braşov Romania
- 13 Diana M. Vranceanu, Ionut C. Ionescu, **Elena Ungureanu**, Anca C. Parau, Alina Vladescu, Cosmin M. Cotrut - *Biofunctionalization of titanium with titania nanotubes and doped hydroxyapatite-based coatings*, 9th International Conference Biomaterials, Tissue Engineering & Medical Devices – BiomMedD'2022, 20-22 Iulie **2022**
- 14 D.M. Vranceanu, I.C. Ionescu, **E. Ungureanu**, A. Kiss, G.A. Juravlea, R.I. Zamfir, I. Titorencu, A. Vladescu, C.M. Cotrut, *Physico-chemical properties and in vitro behavior of*

- Zn doped HAp based coatings deposited on nanostructured surface*, the European Materials Research Society - E-MRS (VIRTUAL Conference) May 30 to June 3, **2022**.
- 15 D. M. Vranceanu, I.C. Ionescu, **E. Ungureanu**, A. Berbecaru, G.A. Juravlea, R.I. Zamfir, A. Vladescu, C.M. Cotrut - *Assessment of surface modification techniques on the corrosion behavior and the ability of apatite formation of titanium*, European Materials Research Society – Spring Meeting (E-MRS 2021), 31.05. –04.06.2021, Virtual Conference, Biomaterials and soft materials, Symposium O - Bioinspired and biointegrated materials as new frontiers nanomaterials, **2021**
 - 16 D. M. Vranceanu, **E. Ungureanu**, I.C. Ionescu, 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*, 3rd Coatings and Interfaces Conference Part of the Coatings and Interfaces series 24–26 Nov **2021**, virtual conference
 - 17 **E. Ungureanu***, I.C. Ionescu, G.A. Juravlea, A.A. Closca, A. Vladescu and C.M. Cotrut, *Magnesium-doped hydroxyapatite coatings obtained by electrochemical deposition with enhanced features*, 8th International Conference on Materials Science and Technologies – RoMat 2020 (virtual conference), 26-27 November **2020**, Bucharest, Romania;
 - 18 Ionut C. Ionescu, M. Cojocaru, **E. Ungureanu**, A. Berbecaru, DM. Vranceanu, CM Cotrut, *Electrochemical behavior and adherence of hydroxyapatite-based coatings on nanostructured titanium surface*, 8th International Conference on Materials Science and Technologies – RoMat 2020 (virtual conference), 26-27 November **2020**, Bucharest, Romania;
 - 19 Ionut C. Ionescu, Diana M. Vranceanu, **Elena Ungureanu**, Andrei Berbecaru, M. Cojocaru, Anca C. Parau, Alina Vladescu, Cosmin Mihai Cotruț, *Bioactivation through duplex treatment of titanium-based surface intended for biomedical applications A duplex treatment approach for bioactivation of titanium-based surface intended for biomedical applications*, 1st International Conference “Medical Materials Science & Engineering – BIOMAT”, 20-23rd February, **2020**, Predeal, Romania;
 - 20 Diana M. Vranceanu, **E. Ungureanu**, A. Koptuyug, R. Surmenev, A. Vladescu, Cosmin Mihai Cotruț, *Nanostructured titanium dioxide surface biofunctionalized with nano-hydroxyapatite bioceramic based coating as tailored surface*”, International Conference on Functional Nanomaterials and Nanodevices (NANOMAT 2019), 10-14th September, **2019**, Prague, Czech Republic
 - 21 Diana M. Vranceanu, **Elena Ungureanu**, Mihaela Dinu, Andrey Koptuyug, Roman A. Surmenev, Alina Vladescu, Cosmin M. Cotrut, *Functionalization of electron beam melting manufactured surface by electrochemical deposition of hydroxyapatite*, 43rd ARA Congress, June 10-13, **2019**, Thessaloniki, Greece;
 - 22 D. Vranceanu, **E. Ungureanu**, G. Juravlea, R. Zamfir, C. Cotrut, *Electrochemical magnesium substituted hydroxyapatite for biodegradation control*, International Seminar on Biomaterials and Regenerative Medicine, 26-28 September, Craiova, Romania, **2019**
 - 23 Diana M. Vranceanu, **Elena Ungureanu**, Mihaela Dinu, Andrey Koptuyug, Roman A. Surmenev, Alina Vladescu, Cosmin M. Cotrut, *Electrochemical deposition of bioactive hydroxyapatite coating on electron beam melting manufactured surface* -7th International Conference on Materials Science and Technologies RoMAT 2018, 15-18 November **2018**, Bucharest Romania
 - 24 **Elena Ungureanu**, Diana M. Vranceanu, Alina Vladescu, Andrey Koptuyug, Ioan G. Sandu, Mihai Tarcolea, Cosmin M. Cotrut, *Characterization of Sr- and Mg- doped hydroxyapatite coatings obtained by electrochemical deposition on porous Ti6Al4V* - 7th International Conference on Materials Science and Technologies RoMAT 2018, 15-18 November **2018**, Bucharest Romania