



VILNIAUS UNIVERSITETAS
CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS
NEORGANINĖS CHEMIJOS KATEDRA

Viačeslav Bedugnis

Chemijos studijų programa

Magistro baigiamasis darbas

KALCIO HIDROKSIAPATITO PLONŲ SLUOKSNIŲ
SINTEZĖ ANT SPECIFINIŲ PAVIRŠIŲ

Darbo vadovas (-ė)
prof. habil. dr. Aivaras Kareiva

Vilnius 2021

SANTRUMPOS

AJM	–	atominių jėgų mikroskopija
ALD	–	atominio sluoksnio nusodinimas
APS	–	atmosferinis plazmos purškimo
CAM	–	kontaktinio kampo matavimas
CSB	–	nusodinimas cheminiame tirpale
CHA	–	kalcio hidroksiapatitas ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)
CVD	–	cheminių garų nusodinimas
Ca-P-O	–	gelis, kuriame yra kalcio, fosforo ir deguonies elementų
DFS	–	dirbtinis fiziologinis skystis
DRIFTS	–	difuzinė atspindžio infraraudonosios Furjė transformacijos spektroskopija
EDTA	–	etilendiamintetraacto rūgštis
FDA	–	maisto ir vaistų administracija
FTIR	–	Fourier-transformuota infraraudonųjų spindulių spektroskopija
LPCVD	–	žemo slėgio cheminių garų nusodinimas
PECVD	–	cheminių garų nusodinimas plazmos pagalba
PVA	–	polivinilo alkoholis
PVD	–	fizikinis garų nusodinimas
RMS, R_q	–	paviršiaus šiurkštumo rodiklis (vidutinis šaknies kvadratas)
SEM	–	skenuojanti elektroninė mikroskopija
TCP	–	trikalčio fosfatas
TTCP	–	tetrakalcio fosfatas
TEA	–	trietanolaminas
XPS	–	rentgeno spindulių fotoelektroninė spektroskopija
XRD	–	rentgeno spindulių difrakcinė analizė

TURINYS

ĮVADAS	5
1. LITERATŪROS APŽVALGA	7
1.1 Kalcio hidroksiapatito plonų sluoksnių sintezės technologijos	7
1.1.1 Zolių-gelių metodas	8
1.1.2 Kiti cheminiai metodai	9
1.1.3 Fizikiniai metodai	11
2. EKSPERIMENTŲ METODIKA	12
2.1 Medžiagos ir reagentai	12
2.2 Nerūdijančio plieno paviršiaus paruošimas	12
2.3 Kalcio hidroksiapatito plonų sluoksnių sintezė	13
2.3.1 CHA plonų sluoksnių sintezė ant šiurkštaus nerūdijančio plieno paviršiaus spin-coating metodu	13
2.3.2 CHA plonų sluoksnių sintezė ant nerūdijančio plieno paviršiaus, modifikuoto TiN sluoksniu, spin-coating metodu	13
2.4 Tyrimų apibūdinimui naudota aparatūra	13
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	15
3.1 Kalcio hidroksiapatito plonų sluoksnių ant specifiskai šiurkštinto nerūdijančio plieno (316 L) paviršiaus sintezė ir apibūdinimas	15
3.1.1 XRD analizė	15
3.1.2 FTIR analizė	16
3.1.3 Ramano spektroskopijos analizė	17
3.1.4 XPS analizė	18
3.1.5 SEM analizė	19
3.1.6 Kontaktinio kampo matavimai	19
3.2 Dangų apibūdinimas po mirkymo dirbtiniame fiziologiniame skystyje (DFS)	21
3.2.1 XRD analizė	21
3.2.2 SEM analizė	24

3.2.3	Kontaktinio kampo matavimai	25
3.3	CHA DANGŲ ANT TITANO NITRIDO SLUOKSNIU MODIFIKUOTO 316 L PLIENO PAVIRŠIAUS SINTEZĖ IR APIBŪDINIMAS.....	26
3.3.1	XRD analizė	26
3.3.2	Mikroskopinis apibūdinimas	27
	IŠVADOS.....	32
	LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	33
	PADĖKOS.....	38
	SANTRAUKA	39
	SUMMARY	40

ĮVADAS

Mūsų laikais žmogaus gyvenimo bei medicinos išsivystymo lygis yra aukščiausias per visą žmonijos gyvavimo istoriją, kas lemia pastoviai ilgėjančią žmonių gyvenimo trukmę [1]. Dėl žmonių senėjimo tarp jų didėja kietųjų audinių sutrikimų bei lūžių skaičius, todėl auga metalinių kaulų implantų poreikis [2]. Yra žinoma, kad apie 80% visų chirurgijoje naudojamų kaulų implantų yra gaminami iš metalų, kurie pasižymi ilgu tarnavimo laiku bei mažu plastiškumu žmogaus kūno temperatūroje. Be to, jie turi puikų atsparumą korozijai bei biologinį suderinamumą [3-6]. Dažniausiai implantų gamyboje naudojami metalai, turintys anksčiau išvardintas savybes, yra nerūdijantis plienas, kobalto-chromo-molibdeno lydiniai, titanas ir jo lydiniai [2, 7]. Lyginant su kitais metalais, 316 L nerūdijantis plienas yra labai pigus ir dėl to išlieka patrauklus medicininiam taikymams bei tyrimams [8-9].

Implantas yra svetimkūnis mūsų organizme. Tai reiškia, kad nuo implanto paviršiaus tiesiogiai priklauso ar organizmas jį „priims“, ar kaulo audinių ląstelės susijungs su implanto paviršiumi [10]. 316 L nerūdijantis plienas nesudaro stiprių cheminių ryšių su natūraliu kaulu bei gali inicijuoti skaidulinio jungiamojo audinio formavimąsi aplink implantą, kas gali sukelti uždegimą ir tolimesnį implanto atmetimą [11-14]. Problemos, susijusios su 316 L nerūdijančio plieno implantų taikymu, gali būti išspręstos formuojant kalcio hidroksiapatito ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ arba CHA) dangą ant implanto paviršiaus [15]. CHA yra gerai žinomas dėl savo biologinio aktyvumo, biologinio suderinamumo bei gebėjimo sukelti naujo kaulinio audinio augimą. Naudojant CHA padengtus implantus dėl savo cheminio bei struktūrinio panašumo į kaulinį audinį hidroksiapatito molekulės formuoja stiprius cheminius ryšius su kaulo ląstelėmis [16-17].

Yra naudojami tokie metalinių implantų paviršiaus dengimo CHA metodai, kaip zolių-gelių (dip-coating arba spin-coating) [18], elektrocheminis nusodinimas [19], elektroforezinis nusodinimas [20], plazmos purškimo procesas [21] ir kiti. Procesai, kuriems reikalinga aukšta temperatūra, gali sukelti alternatyvių fosfato fazių susidarymą, kurios veikia implantų mechanines savybes bei CHA sluoksnių tirpumą žmogaus organizme [22]. Plazminis purškimas yra pats populiariausias ir vienintelis kliniškai patvirtintas metodas CHA sluoksniui ant implanto paviršiaus sukurti [23]. Tačiau naudojant šį metodą sunku kontroliuoti galutinio produkto fazinę sudėtį, kristališkumą, dangos storį, morfologiją ir atsparumą nutrupėjimui [22, 24]. Zolių-gelių sintezės metodas yra nesudėtingas, efektyvus, nereikalauja aukštos temperatūros, tinkamas įvairios geometrijos paviršiams dengti, draugiškas aplinkai ir pigus [22, 25-27]. Be to, zolių-gelių sintezės būdu gautos dangos yra homogeniškos, gero kristališkumo ir labai plonos [25-28].

Šiuo darbo **tikslas** yra zolių-gelių metodu susintetinti CHA plonus sluoksnius ant specifinių paviršių, kurie potencialiai gali būti naudojami implantais. Pagrindiniam darbo tikslui pasiekti buvo suformuluoti tokie uždaviniai:

1. Susintetinti ir apibūdinti CHA plonas dangas ant specifiškai šiurkštinto 316 L nerūdijančio plieno paviršiaus.
2. Ištirti fiziologinio skysčio poveikį CHA sluoksnių savybėms.
3. Susintetinti ir apibūdinti CHA plonas dangas ant 316 L nerūdijančio plieno, modifikuoto titano nitrido pasluoksniu.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Kalcio hidroksiapatito plonų sluoksnių sintezės technologijos

Plonu sluoksniu galima pavadinti ploną medžiagos sluoksnį, kurio storis svyruoja nuo kelių nanometrų iki kelių mikrometrų. Ploni sluoksniai susideda iš dviejų dalių: dengiančios medžiagos sluoksnio ir dengiamo paviršiaus (substrato), ant kurio yra sintezuojama plėvelė. Norint gauti geros kokybės plonus sluoksnius dažniausiai yra naudojami dviejų kategorijų sintezės technologijos, kurios priklauso nuo proceso prigimties: cheminės ir fizikinės plonų dangų sukūrimo technologijos [29]. Technologijas galima apibendrinti taip, kaip parodytą 1 lentelėje [29]:

1 lentelė

Plonų sluoksnių sintezės metodai

Fizikinio nusodinimo metodai	Cheminio nusodinimo metodai
Garinimo technologijos (PVD):	1. Zolių gelių metodas
1. Vakuuminis terminis	2. Nusodinimas cheminiame tirpale (CBD)
2. Elektronų pluošto	3. Purškimo pirolizės technika
3. Lazerio spindulių	4. Cheminis padengimas:
4. Elektroninio dulkinimo	Galvaninio dengimo technika
5. Jonų dangos	Elektrolitinis nusodinimas
6. Molekulinio pluošto epitaksija	5. Cheminių garų nusodinimas (CVD)
Purškimo technologijos:	Žemo slėgio CVD (LPCVD)
1. Nuolatinės srovės purškimas (DC)	CVD plazmos pagalba (PECVD)
2. Radijo dažnių purškimas (RF)	Atomino sluoksnio nusodinimas (ALD)

Kalcio hidroksiapatitas ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ arba CHA) dėl savo cheminės sudėties, kristalinės bei mineraloginės struktūros yra panašus į žmogaus kaulų bei dantų mineralus [30-31]. Dėl tokių savybių CHA dangos ant metalinių implantų paviršių pagerina jų atsparumą korozijai bei padidina implantų biologinį aktyvumą [32]. Klinikiniai CHA plonų sluoksnių reikalavimai yra pateikti 2 lentelėje [33].

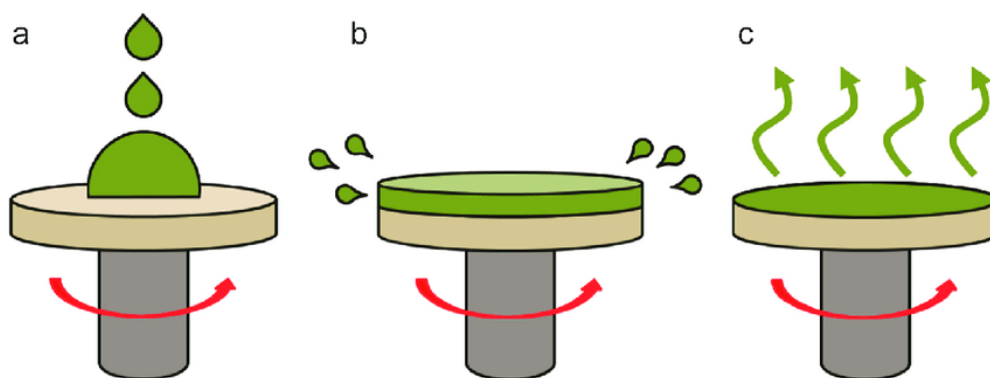
Klinikiniai reikalavimai CHA dangoms

Parametras	Reikalavimas
Ca/P santykis	1.67-1.76
Fazės grynumas	>95%
Kristališkumas	>62%
Tempimo jėga	>50.8 MPa
Šlyties jėga	>22 MPa
Sunkiųjų metalų kiekis	<50 ppm
Tankis	2.98 g/cm ³

1.1.1 Zolių-gelių metodas

CHA plonų sluoksnių sintezė naudojant zolių-gelių metodą yra plačiai ištirta naudojant įvairius pirmtakus [34-35]. Zolių-gelių sintezės metodas yra pranašesnis lyginant su kitomis paviršių dengimo technikomis. Tai maža kaina, technologiškai paprastas sintezės proceso įgyvendinimas, galimybė dengti sudėtingos formos objektus. Zolių-gelių metodu sukurtos dangos yra plonos, grynos bei turi tinkamą kristalinę struktūrą [36-37]. Egzistuoja du zolių-gelių dangų sintezės metodai: spin-coating ir dip-coating.

Spin-coating metodas naudojamas plonų (<1 μm) dangų sintezei ant plokščių paviršių. Dažniausiai ant substrato centro, kuris arba sukasi mažu greičiu, arba apskritai nesisuka, užpilamas nedidelis kiekis dengimo medžiagos. Tada substratas yra sukamas iki 10000 aps./min. greičiu. Proceso eigoje išcentrinė jėga skleidžia dangos medžiagą substrato paviršiuje [38]. Sukimasis tęsiasi tol, kol skystis nesisuka nuo substrato kraštų ir bus pasiektas norimas dangos sluoksnio storis. Dažniausiai naudojamas tirpiklis yra lakus ir išgaruoja sukimosi proceso metu, arba iškart po jo. Kuo didesnis kampinis sukimosi greitis, tuo plėvelė gaunasi plonesnė. Dangos storis taip pat priklauso nuo tirpalo ir tirpiklio klampos bei koncentracijos [39]. Spin-coating metodo schema pateikta 1 pav. [40].



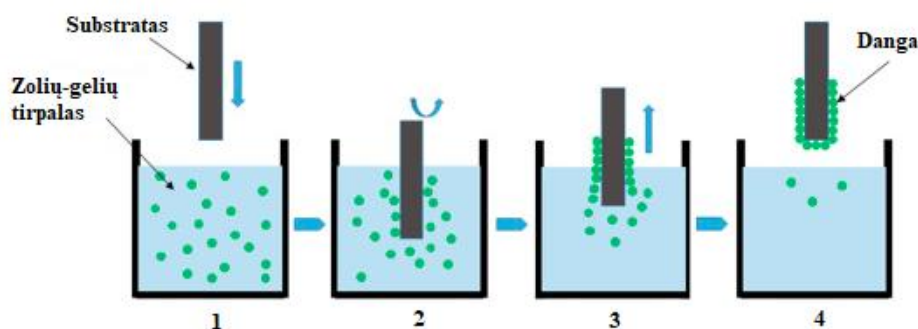
1 pav. Spin-coating metodo schema, kur: a) tirpalo aplikacija ant substrato paviršiaus; b) sukimosi procesas; c) dangos džiūvimas po sukimosi proceso

Vienas iš spin-coating metodo trūkumų yra medžiagos praradimas, kadangi skysčio perteklius sukimosi metu išsisklaido už substrato ribų. Atliekant laboratorinius tyrimus tai nėra labai didelė problema, tačiau pramonėje tai yra rimtas trūkumas.

Dip-coating proceso metu danga yra kuriama substratą kontroliuojamai panardinant į ir ištraukiant iš zolių-gelių tirpalo. Dip-coating procesą galima suskirstyti į keturis etapus:

1. Panardinimas, kurio metu substratas pastoviu greičiu panardinamas į zolio-gelio tirpalą.
2. Išlaikymas, kurio metu substratas kai kurį laiką išlieka panardintas į tirpalą.
3. Ištraukimas, kurio metu substratas ištraukiamas iš tirpalo pastoviu greičiu. Kuo didesnis ištraukimo greitis, tuo storesnis dangos sluoksnis gaunamas.
4. Džiovinimas, kurio metu išgaruoja ant padengto substrato likęs tirpiklis.

Dip-coating procedūros schema pateikta 2 pav. [41].



2 pav. Dip-coating metodo schema

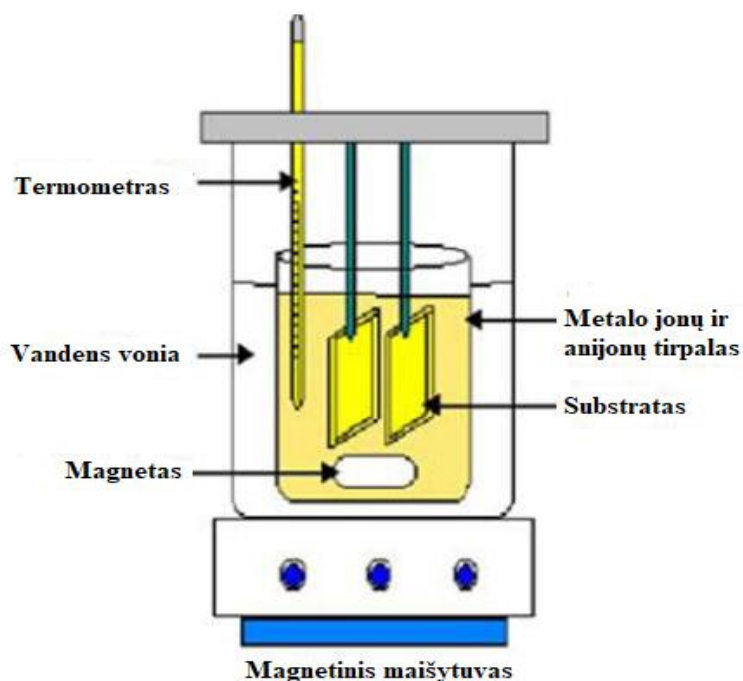
1.1.2 Kiti cheminiai metodai

Yra dar keletas kitų cheminių plonų sluoksnių sintezės metodų [29]:

1. Nusodinimas cheminiame tirpale (CDB)
2. Purškimo pirolizės technika
3. Cheminių garų nusodinimas (CVD)

Nusodinimas cheminiame tirpale (*angl.* Chemical Bath Deposition arba CBD) yra naudojamas puslaidininkių plėvelių formavimui ant substrato paviršiaus. Substratas yra panardinamas į praskiestą tirpalą, kuriame yra metalo jonų (pvz. švino, vario, cinko, kadmio) bei

hidroksido, sulfido arba selenido jonų. Procesu metu tinkamoje temperatūroje metalų jonai reaguoja su tirpale esančiais anijonais ant substrato paviršiaus. Šio proceso schema pateikta 3 pav. [42]. CDB metodas yra tinkamas didelio ploto plonų sluoksnių kūrimui ir naudojamas saulės elementų gamyboje [43].



3 pav. CBD metodo schema

Purškimo pirolizė yra dangų formavimo metodas, kurio metu ant įkaitusio substrato paviršiaus purškiamas tirpalas. Proceso pabaigoje tirpalo komponentai reaguoja tarpusavyje ir susidaro cheminis junginys (plonas medžiagos sluoksnis). Tirpalo cheminė sudėtis yra parenkama taip, kad proceso gale ant substrato liktų tik norimas junginys, o kitos medžiagos išgaruotų. Šis metodas puikiai tinka oksidų formavimui ant įvairių substratų ir ilgai buvo skaidrių elektros laidininkų iš SnO_x oksidų sintezės metodu ant stiklo paviršiaus [44].

Cheminių garų nusodinimas (*angl.* Chemical Vapor Deposition arba CVD) yra procesas kai danga yra formuojama iš garų cheminės reakcijos metu, kuri vyksta ant substrato paviršiaus [45]. CVD apima daugybę procesų, tokių kaip žemo slėgio CVD (LPCVD), CVD plazmos pagalba (PECVD) ir kiti [29,46]. CVD metodas turi keletą privalumų, tokių kaip galimybė padengti sudėtingos formos substratus, didelis paviršiaus padengimo greitis bei ekonomiškumas lyginant su fiziniu garų nusodinimo metodu. CVD metodikos trūkumai yra ribotas pirmtakų pasirinkimas (jie turėtų būti lakūs kambario temperatūroje), pavojingi šalutiniai produktai (pvz. CO dujos), sintezė vyksta aukštoje temperatūroje, kas riboja substratų pasirinkimą [47].

1.1.3 Fizikiniai metodai

Fizikinis garų nusodinimas (*angl.* Physical Vapor Deposition arba PVD) yra didžiausia plonų sluoksnių sintezės ant įvairių paviršių procesų šeima. Kiekvienas PVD metodas susideda iš trijų esminių žingsnių: 1. Medžiagos agregatinės būsenos keitimas iš kietosios į dujinę (sublimacija). 2. Garų transportavimas ant substrato paviršiaus. 3. Garų kondensacija ant substrato paviršiaus (plono sluoksnio susidarymas) [48].

Vakuuminis terminis garinimas yra vienas paprasčiausių PVD metodų. Medžiaga kaitinama vakuume tol, kol išgaruoja. Išgarinti atomai susitrenkia su kitomis dujų molekulėmis arba kietu paviršiu. Vakuumas kameros viduje turėtų pašalinti kitas dujų molekules ir užtikrinti, kad išgarinti medžiagos atomai pataikytų tik į substratą. Atomai, pasiekę substrato paviršių, praranda energiją, dėl ko negali išlikti dujinėje būsenoje. Gautų dangų sukibimas (adhezija) nėra toks geras lyginant su kitais PVD metodais [49-50].

Dulkinimo metodas (*angl.* Sputtering) – kai atomai yra išmetami iš šaltinio medžiagos didele energija turinčių dalelių pagalba (pvz. jonizuotos dujos). Sluoksnius galima purkšti nekeičiant cheminės sudėties. Metodo trūkumas yra mažas sluoksnio sintezės greitis, o galutiniame produkte galima rasti įstrigusią dujų pėdsakų, kurie turi įtakos mechaninėms dangos savybėms [51].

Jonų dengimo metodas (*angl.* Ion plating) yra purškimo ir garinimo metodų kombinacija. Paviršiaus bombardavimas elektronais prieš padengimą jį išvalo. Šis metodas tinka sudėtingų formų padengimui ir jo pranašumai yra didelis sintezės greitis, gera dangos kokybė bei adhezija [50, 52].

Kita PVD procesų grupė yra *purškimas* (*angl.* Spraying), kuris yra vykdomas aukštoje temperatūroje. Proceso metu ant substrato paviršiaus dideliu greičiu yra purškiamos išlydytos arba pusiau išlydytos dalelės. Pagal šildymo šaltinį purškimas skirstomas į plazminį, liepsnos, elektrinio lanko (*angl.* Electrical arc) ir detonacinį (*angl.* Detonation-gun spraying) [53]. Plazminis purškimas yra populiariausias ir vienintelis medicinoje priimtas implantų dengimo būdas, patvirtintas JAV maisto ir vaistų administracijos (FDA) [54].

Atmosferinis plazmos purškimo procesas (APS) yra vienas iš labiausiai priimtinių metodų biologiškai aktyvioms dangos paruošti [55]. APS technika pasižymi dideliu dangos formavimo greičiu, mažomis išlaidomis bei galimybe kontroliuoti dangų mikrostruktūrą. Pagrindiniai APS metodo trūkumai yra santykinai blogas CHA dangos sukibimas su substratu bei jos struktūriniai pokyčiai. Tai lemia naujų fazių susidarymą, tokių kaip α - arba β -trikalčio fosfatas (α -TCP, β -TCP), tetrakalcio fosfatas (TTCP) arba net kalcio oksidas (CaO). Amorfinės kalcio fosfatų fazės dažniausiai susidaro CHA sluoksniuose dėl greito lašelių aušinimo ant substrato paviršiaus [55-56].

2. EKSPERIMENTŲ METODIKA

2.1 Medžiagos ir reagentai

CHA plonų sluoksnių sintezei buvo naudojamos tokios medžiagos ir reagentai:

- Kalcio acetato monohidratas ($\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (99.9%), Fluka (JAV);
- Fosforo rūgštis (H_3PO_4) (konc. 85.0%), Reachem (JAV);
- 1,2-etandiolis ($(\text{CH}_2\text{OH})_2$) (99.0%), Alfa Aesar (JAV);
- Etilendiamintetraacto rūgštis (EDTA) (99.0%), Alfa Aesar (JAV);
- Trietanolaminas (TEA) (99.0%), Merck (Vokietija);
- Polivinilo alkoholis (PVA) (99.5%), Aldrich (JAV);
- Acetonas, Eurochemicals, Lietuva;
- Distiliuotas vanduo;
- AISI 316 L nerūdijančio plieno plokštelės (stačiakampio (20 x 10 x 0.5 mm) formos), Goodfellow (Anglija);
- AISI 316 L nerūdijančio plieno plokštelės (apvalios (10 x 0.5 mm) formos) su TiN (2-3 μm) sluoksniu, Goodfellow (Anglija);

2.2 Nerūdijančio plieno paviršiaus paruošimas

Buvo tiriami du 316 L nerūdijančio plieno paviršiaus tipai:

1. Paviršius modifikuotas formuojant skersinį ir išilginį raštuotą šiurkštinimą;
2. Paviršius padengtas titano nitrido (TiN) sluoksniu.

Paviršius modifikuotas formuojant skersinį ir išilginį raštuotą šiurkštinimą: Šiurkštam paviršiui gauti buvo naudojamas švitrinis popierius (2500 grit). Du švitrinio popieriaus gabaliukai buvo lengvai trinami vienas į kitą, kad būtų pašalintos visos didelės dalelės. Tada metalas buvo šiurkštinamas šlifavimo popieriumi vidutinišku spaudimu naudojant rodomąjį pirštą (skersai ir išilgai, 90° kampu). Po procedūros plokštės 15 minučių buvo valomos acetonu ultragarso vonioje ir po to džiovinamos ore [57-58].

Paviršius padengtas titano nitrido (TiN) sluoksniu: Eksperimentams buvo naudojamos apvalios (10 x 0,5 mm) 316 L nerūdijančio plieno plokštės su komerciniu būdu pritaikytu TiN sluoksniu (2-3 μm storio). Plokštės 15 minučių buvo valomos acetonu ultragarso vonioje ir po to džiovinamos ore.

2.3 Kalcio hidroksiapatito plonų sluoksnių sintezė

5,2854 g (0,03 mol) kalcio acetato monohidrato buvo ištirpinta 40 ml distiliuoto vandens ir sumaišyta su 4 ml 1,2-etandiolu. Į gautą tirpalą buvo lėtai įdedama 9,6439 g (0,033 mol) etilendiamintetraacto rūgšties (EDTA), deprotonuotos 24 ml trietanolamino (TEA). Po 10 valandų maišymo į tirpalą įpilta 1,23 ml fosforo rūgšties, praskiestos 20 ml distiliuoto vandens. Po 24 valandų maišymo 25 ml gauto gelio buvo sumaišyta su 15 ml 3% polivinilo alkoholio (PVA). Gautas tirpalas buvo maišomas stiklinėje su laikrodžiu kambario temperatūroje ir buvo naudojamas komercinių 316L nerūdijančio plieno substratų padengimui. Spin-coating paviršiaus dengimo metodas buvo vykdomas naudojant spin-coater P6700.

2.3.1 CHA plonų sluoksnių sintezė ant šiurkštaus nerūdijančio plieno paviršiaus spin-coating metodu

Apie 0,5 ml dengimo tirpalo buvo užlašinta ant plieno plokštelių naudojant švirkštą. Plokštelės buvo sukamos spin-coater įrenginyje 2000 aps./min. greičiu ore. Substratai buvo pakartotinai padengti 15, 20, 25 ir 30 kartų, laikantis tų pačių procedūrų. Po kiekvieno dengimo plokštelės buvo kaitinamos krosnyje 5 valandas 850 ° C temperatūroje.

2.3.2 CHA plonų sluoksnių sintezė ant nerūdijančio plieno paviršiaus, modifikuoto TiN sluoksniu, spin-coating metodu

Apie 0,5 ml dengimo tirpalo buvo užlašinta ant plieno plokštelių naudojant švirkštą. Plokštelės buvo sukamos spin-coater įrenginyje 2000 aps./min. greičiu ore. Substratai buvo pakartotinai padengti 1, 3, 5, 7 ir 10 kartų, laikantis tų pačių procedūrų. Po kiekvieno dengimo plokštelės buvo kaitinamos krosnyje 5 valandas 850 ° C temperatūroje.

2.4 Tyrimų apibūdinimui naudota aparatūra

Rentgeno spindulių difrakcijos (XRD) analizė atlikta D8 Focus difraktometru (Bruker AXS Inc., Vokietija) su LynxEye detektoriumi (Bruker, JAV) naudojant Cu K α spinduliuotę. Matavimai buvo fiksuojami 0,02 1,5°/min greičiu.

Sluoksnių pokyčiai buvo įvertinti naudojant difuzinę atspindžio infraraudonosios Furjė transformacijos spektroskopiją (DRIFTS) su FTIR Spectrum BX II spektrometru (Perkin – Elmer,

JAV). Spektrai buvo gauti iš 100 nuskaitymų. Foniniam spektrui buvo naudojama plika nerūdijančio plieno plokštė, 5 valandas kaitinta 850 °C temperatūroje.

Gautų mėginių struktūra ir morfologija buvo tiriama naudojant SU-70 skenuojantį elektroninį mikroskopą (SEM) (Hitachi, Japonija) ir BioScope Catalyst atominės jėgos mikroskopą (AFM) (Bruker, Vokietija). Prieš atliekant SEM analizę mėginiai buvo padengti plonu platinos sluoksniu, kad būtų išvengta krūvio kaupimosi ant mėginio paviršiaus ir pagerinta vaizdo kokybė.

CHA dangų hidrofobiškumo įvertinimui buvo atlikti kontaktinio kampo matavimai naudojant kontaktinio kampo matuoklį (CAM) (CAM 100, KSV, JAV). CAM matavimams buvo naudojamas distiliuotas vanduo.

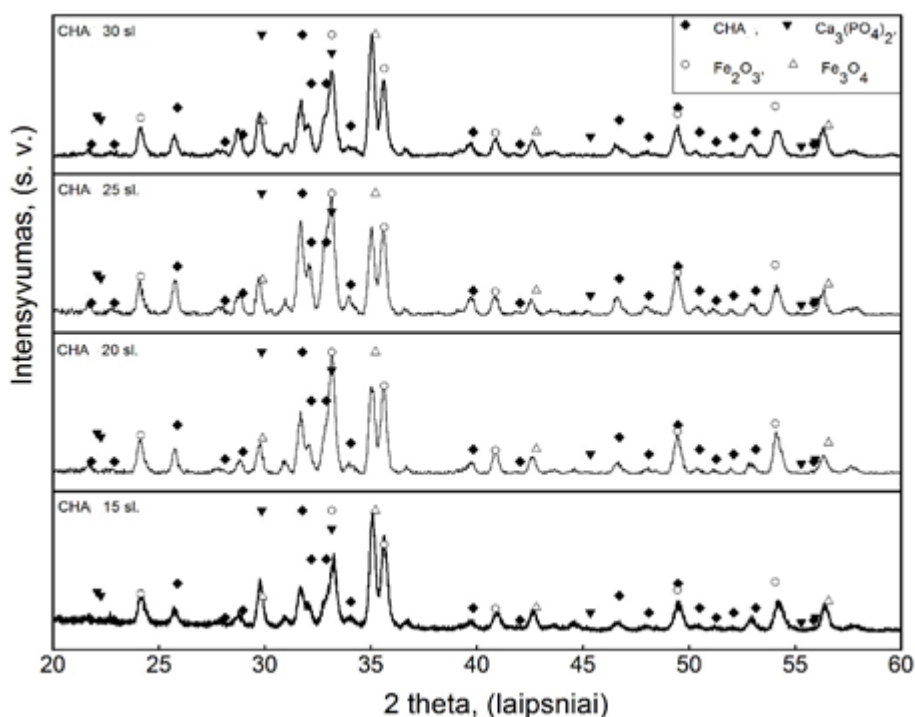
Ramano spektrai buvo matuojami Ramboss 500i micro spektrometru (Taivanas) ir „InVia Raman“ (Renishaw, Jungtinė Karalystė) spektrometru. Bendras kaupimo laikas buvo 400 s. Ramano juostų padėtis bangų skaičiaus ašyje buvo kalibruojama pagal polistireno plėvelės standartinį spektrą. Susintetintų mėginių XPS matavimai buvo atlikti JPS-9030 spektrometru (JEOL, Japonija).

3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1 Kalcio hidroksiapatito plonų sluoksnių ant specifiskai šiurkštinto nerūdijančio plieno (316 L) paviršiaus sintezė ir apibūdinimas

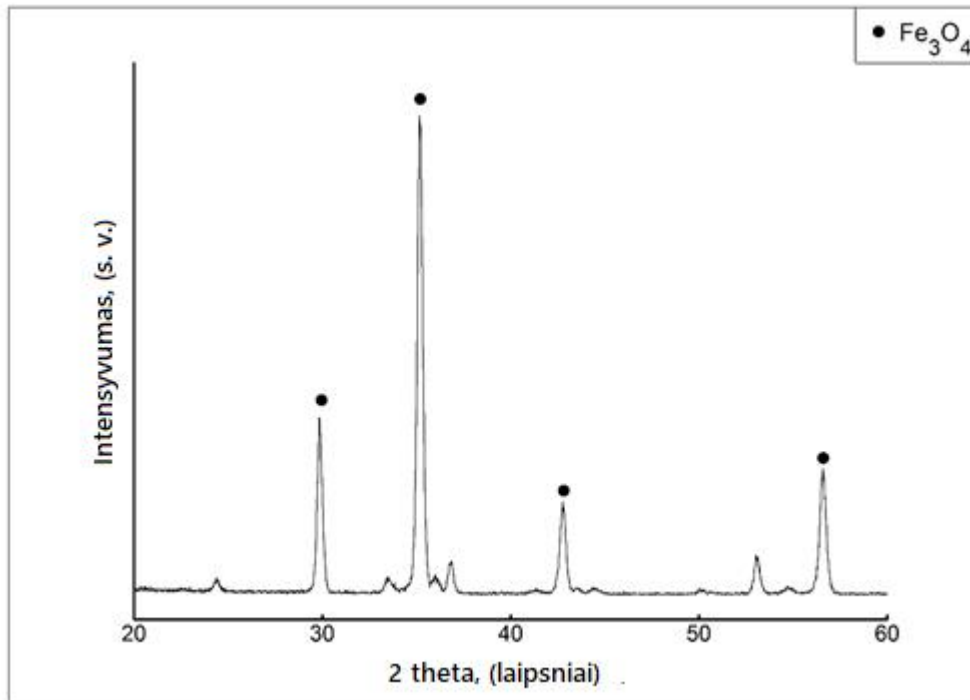
3.1.1 XRD analizė

Šioje dalyje CHA dangoms formuoti buvo naudotas skersai ir išilgai 90° kampu šiurkštintas plienas. Šiurkštinimo procedūra buvo atlikta adhezijos gerinimui tarp dangos ir substrato. 4 paveiksle pateikiamos CHA dangų, padengtų spin-coating metodu, difraktogramos.



4 pav. CHA dangų, gautų su skirtingu sluoksnių skaičiumi ant specifiskai šiurkštinto plieno, difraktogramos. Difrakcinių smailių žymėjimas: \blacklozenge CHA, \blacktriangledown Ca_3PO_4 , \circ Fe_2O_3 , \triangle Fe_3O_4

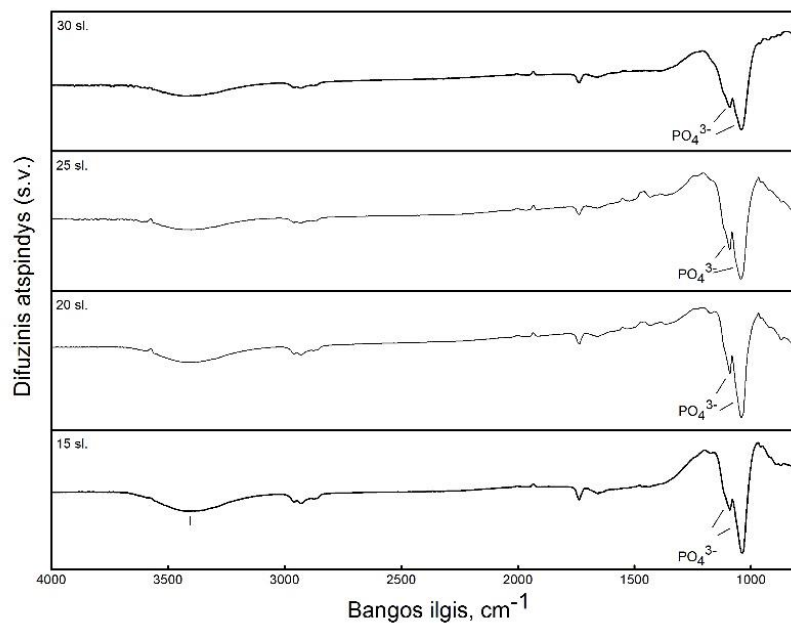
Sluoksnių skaičių didinant nuo 15 iki 30 CHA fazei priklausančių difrakcinių atspindžių smailės intensyvėja. Po 15 dengimo ir kaitinimo procedūrų XRD difraktogramose dominuoja geležies oksidams (Fe_2O_3 ir $\text{Fe}_{2,932}\text{O}_4$) būdingos smailės. Geležies oksidai susidaro ir kaitinant nerūdijančio plieno padėklą (5 pav.). CHA ir TCP ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) fazės pradeda formotis po 15 dengimo procedūrų. XRD rezultatai leidžia daryti išvadą, kad geriausio kristališkumo ir grynumo CHA danga yra su 25 Ca-P-O gelio sluoksniais.



5 pav. Specifiškai šurkštinto 316 L plieno, kaitinto 850 °C temperatūroje, difraktograma. Fe₃O₄ yra vienintelė susidaranti fazė

3.1.2 FTIR analizė

CHA dangų su 15, 20, 25 ir 30 Ca-P-O gelio sluoksniais FTIR spektrai pateikiami 6 paveiksle.

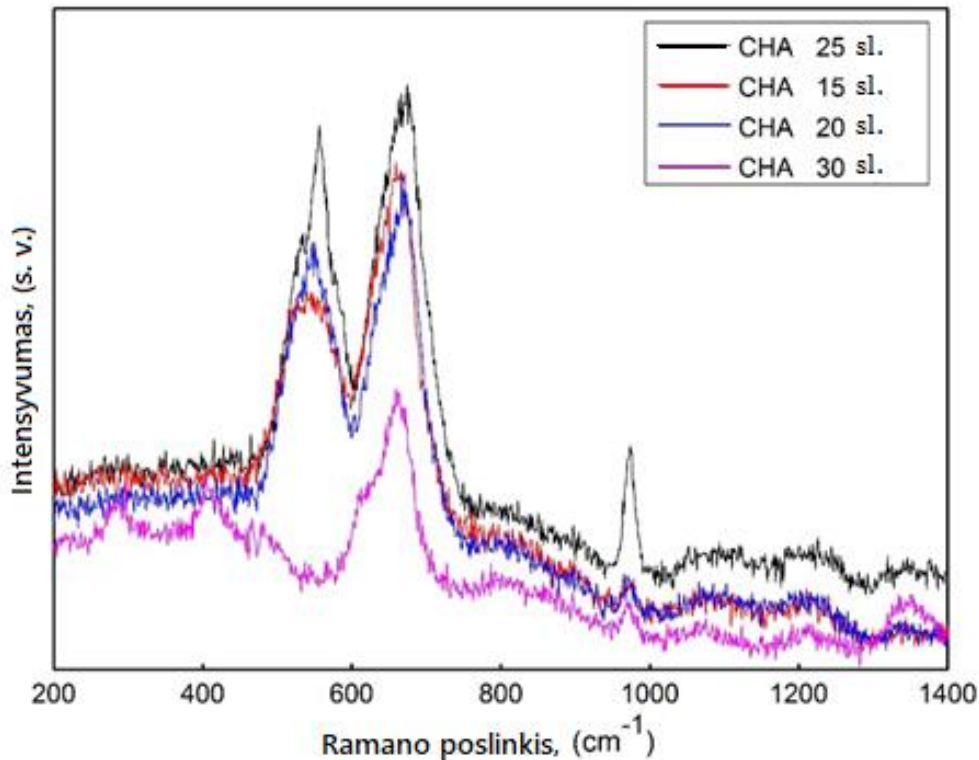


6 pav. CHA dangų su 15, 20, 25 ir 30 Ca-P-O gelio sluoksniais FTIR spektrai

Visų mėginių spektrai yra beveik identiški. Aiškiai matomos CHA charakteringos absorbcijos juostos $1100\text{--}950\text{ cm}^{-1}$ srityje. Visuose spektruose matoma silpna ir plati absorbcijos juosta $1550\text{--}1370\text{ cm}^{-1}$ srityje. Ši juosta, nors ir pasislinkusi į trumpesnių bangų sritį, matoma dėl valentinių simetrinių ir deformacinių svyruoklinių C–O virpesių apatito karbonato (CO_3^{2-}) grupėje. Silpna absorbcijos juosta ties 870 cm^{-1} taip pat gali būti priskirta ν_2 svyruokliniams C–O virpesiams apatito karbonatinėje grupėje, tuo patvirtindama, kad susidaro karbonatinis kalcio hidroksiapatitas

3.1.3 Ramano spektroskopijos analizė

7 paveiksle pavaizduotas CHA plonų sluoksnių ant specifiskai šiuurkštinto 316 L nerūdijančio plieno Ramano spektras $200\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$ srityje [57].



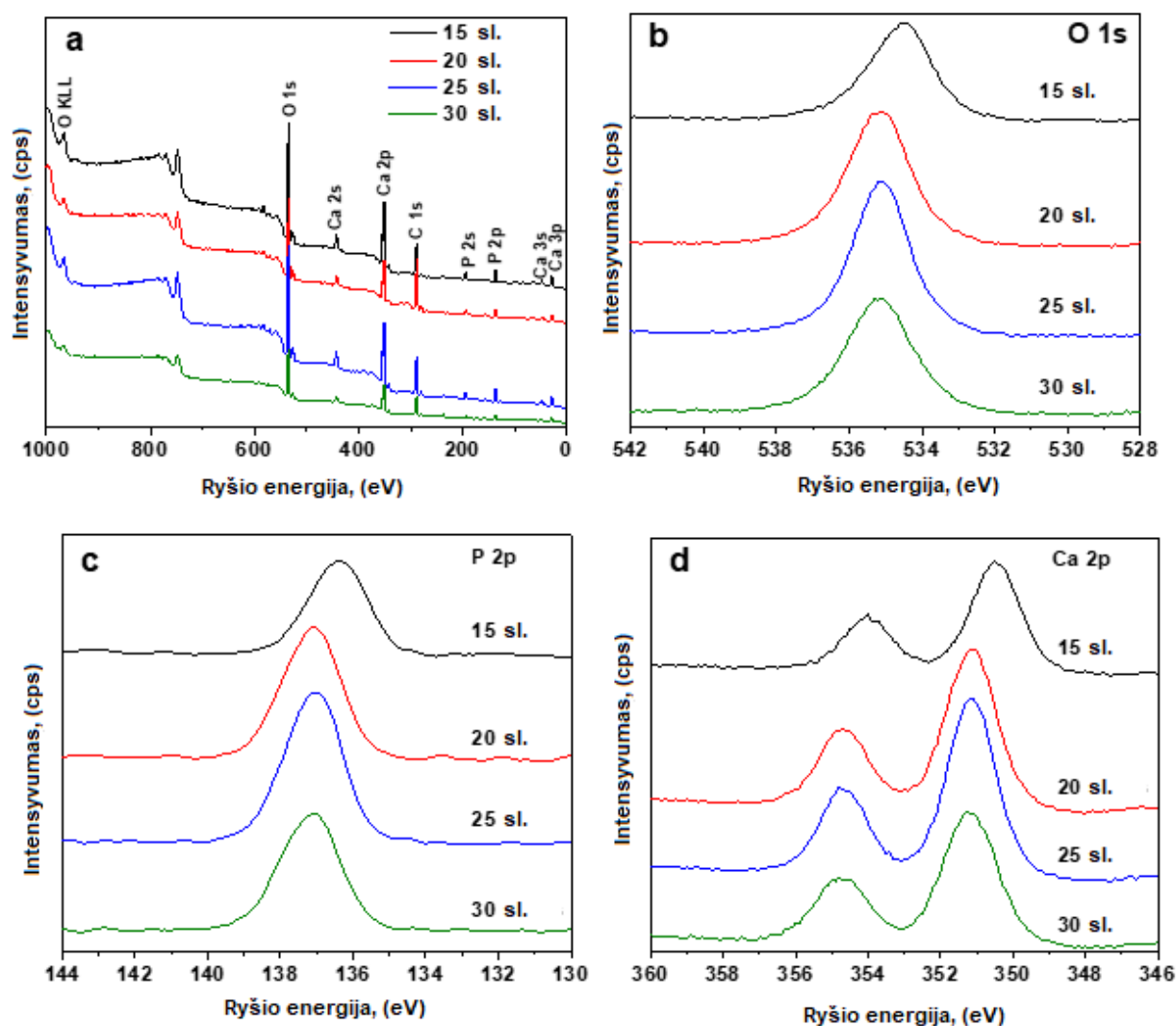
7 pav. 15, 20, 25 ir 30 CHA sluoksniais padengtų specifiskai šiuurkštinto 316 L nerūdijančio plieno mėginių Ramano spektras $200\text{--}1400$ spektrinėje srityje

Stebimos absorbcijos smailės proporcingai intensyvėjo didinant sluoksnių skaičių, tačiau vėl sumažėjo, padidinus dengimų skaičių nuo 25 iki 30. Intensyviausios smailės nustatytos ties 580 ir 640 cm^{-1} , kurios priskiriamos asimetriniams ν_4 virpesiams apatito fosfato grupėje. Smailės ties 960 cm^{-1} padėtis patvirtina kalcio hidroksiapatito stechiometriją (molinis santykis $\text{Ca:P} = 1.67$) [59].

Intensyviausios absorbcijos smailės stebėtos CHA mėginio su 25 gelio sluoksniais Raman spektre. Ramano spektroskopijos rezultatai gerai koreliuoja su XRD analizės rezultatais.

3.1.4 XPS analizė

Mėginių XPS rezultatų kalibravimui naudota anglies C 1s linija. Visų mėginių XPS spektruose matomi signalai būdingi kalciui, deguoniui, fosforui ir angliai (8a paveikslas) [57].

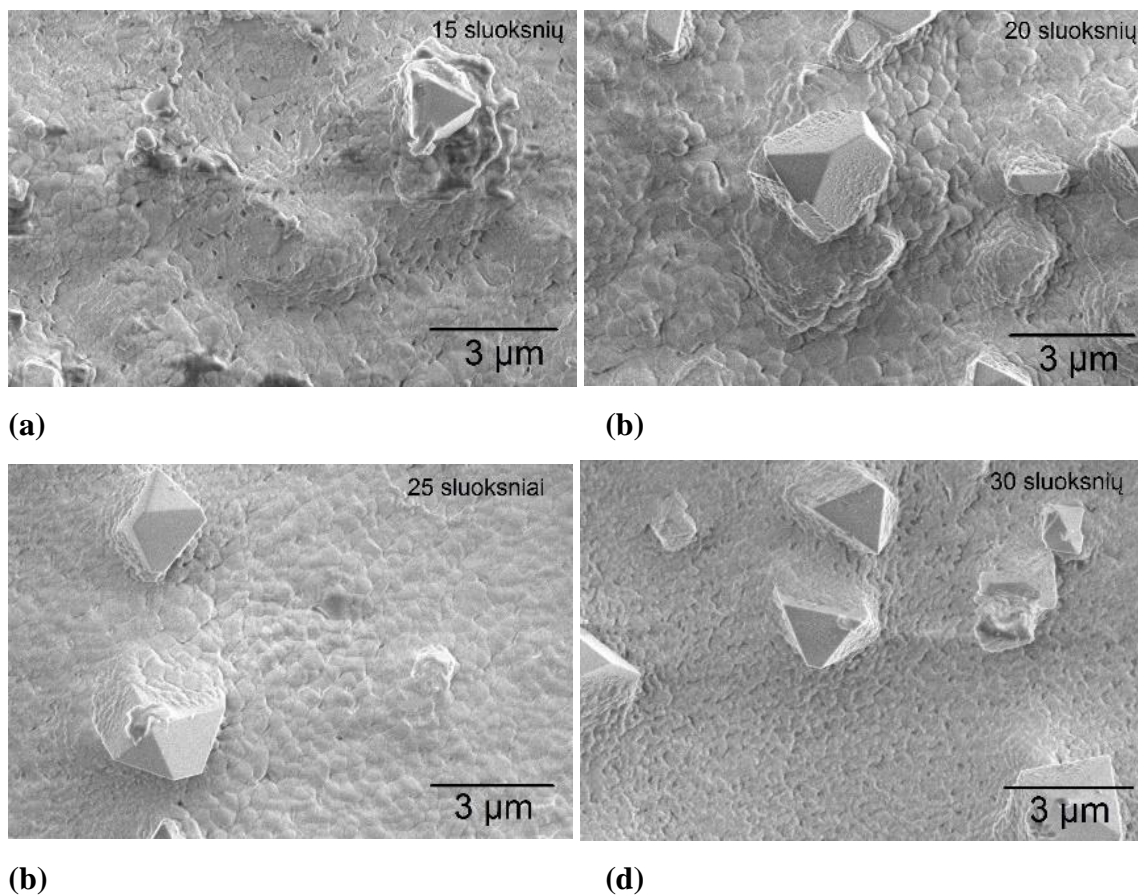


8 pav. CHA dangų su skirtingais Ca-P-O gelio sluoksnių skaičiais XPS spektrai (a) ir deguonies O 1s (b), fosforo P 2p (c) ir kalcio Ca 2p (d) sričių XPS spektrai [57].

Deguonies O 1s srities XPS spektre matoma smailė ties 535.1 eV ryšio energija priklauso O–P–O ir OH ryšiams apatite. Elementinės XPS analizės rezultatai parodė, kad Ca ir P santykis buvo mažesnis nei stochiometrinio kalcio hidroksiapatito (1,67). Tai nenuostabu, nes mėginiuose taip pat yra TCP.

3.1.5 SEM analizė

CHA dangų ant specifiskai šiurkštinto plieno paviršiaus dangų SEM nuotraukos pateikiamos 9 paveiksle.

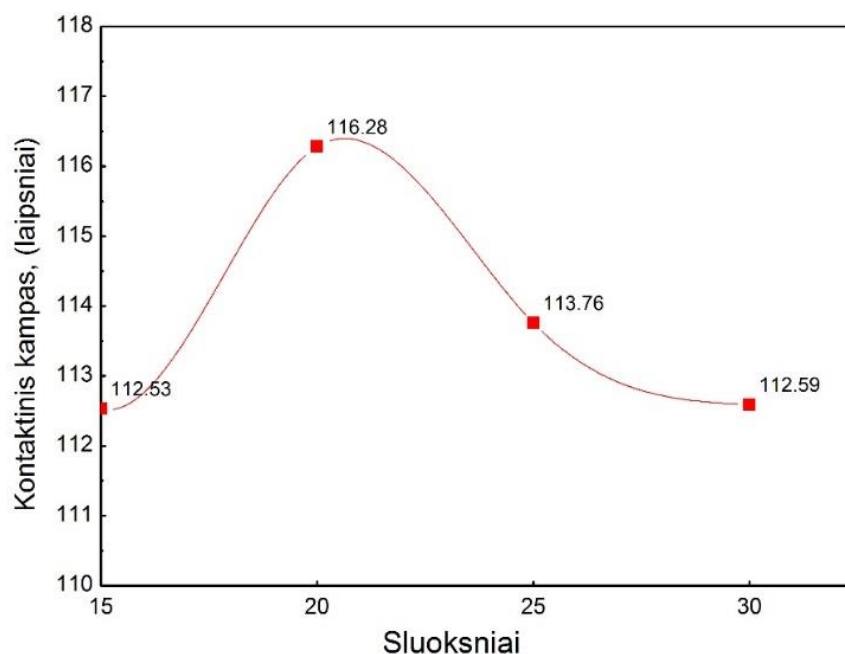
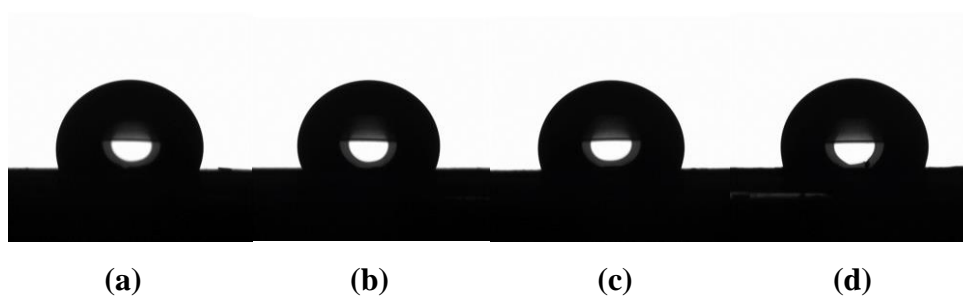


9 pav. CHA dangų ant specifiskai šiurkštinto plieno paviršiaus su (a) 15, (b) 20, (c) 25, (d) 30 Ca-P-O gelio sluoksniais SEM nuotraukos

Matome, kad dangos su 15 gelio sluoksnių paviršius yra su nelygumais ir nano poromis. Danga su 25 sluoksniais yra lygi, homogeniška sudaryta iš gerai sąveikaujančių sferinių maždaug 250 nm dydžio kristalitų. Susiformavęs sluoksnis yra vientisas ir be porų. Dangos su 30 sluoksnių paviršiuje vietoje apvalių nanosferų matosi susiformavusios nanoporos. Taisyklingos formos, maždaug 1-2 µm dydžio dalelės SEM nuotraukose yra TCP kristalai. TCP fazės buvimas buvo patvirtintas XRD duomenimis.

3.1.6 Kontaktinio kampo matavimai

Nedengto specifiškai šiurkštinto plieno paviršiaus kontaktinis kampas yra lygus 81.3° , t. y. žymiai mažesnis nei nešiurkštinto plieno. Visų CHA mėginių kontaktiniai kampai buvo labai panašūs, jų vertės svyravo 113° – 116° intervale (10 paveikslas). Lašo nuotraukos ant CHA dengtų paviršių su 15, 20, 25 ir 30 sluoksniais rodo, kad dangos yra šiek tiek hidrofobiškos. Šis rezultatas yra truputį netikėtas, nes skiriasi nuo ankstesnių rezultatų. Nešiurkštinto plieno paviršiaus kontaktinis kampas buvo lygus 107.3° . CHA dangos ant lygaus plieno paviršiaus buvo hidrofiliškos, jų kontaktinis kampas svyravo tarp 69.0° ir 78.8° . Taip pat buvo nustatyta, kad hidrofiliškumas priklauso nuo dangos sluoksnių skaičiaus ir dengimo metodo. Taip pat, nustatyta, kad ant šiurkštinto padėklo susidaro ženklius kiekius TCP, kuris neturi hidrofiliškos grupės kaip CHA, todėl pasižymi hidrofobinėmis savybėmis. Dėl šių fizikinių ir cheminių efektų sinergijos stebime padidėjusį, lyginant su ankstesniais mėginiais, dangų hidrofobiškumą.



10 pav. CHA dangų kontaktinio kampo pokyčiai (apačioje) didinant sluoksnių skaičių ir vandens lašų ant dangų paviršiaus su (a) 15, (b) 20, (c) 25, ir (d) 30 gelio sluoksnių nuotraukos (viršuje)

3.2 Dangų apibūdinimas po mirkymo dirbtiniame fiziologiniame skystyje (DFS)

3.2.1 XRD analizė

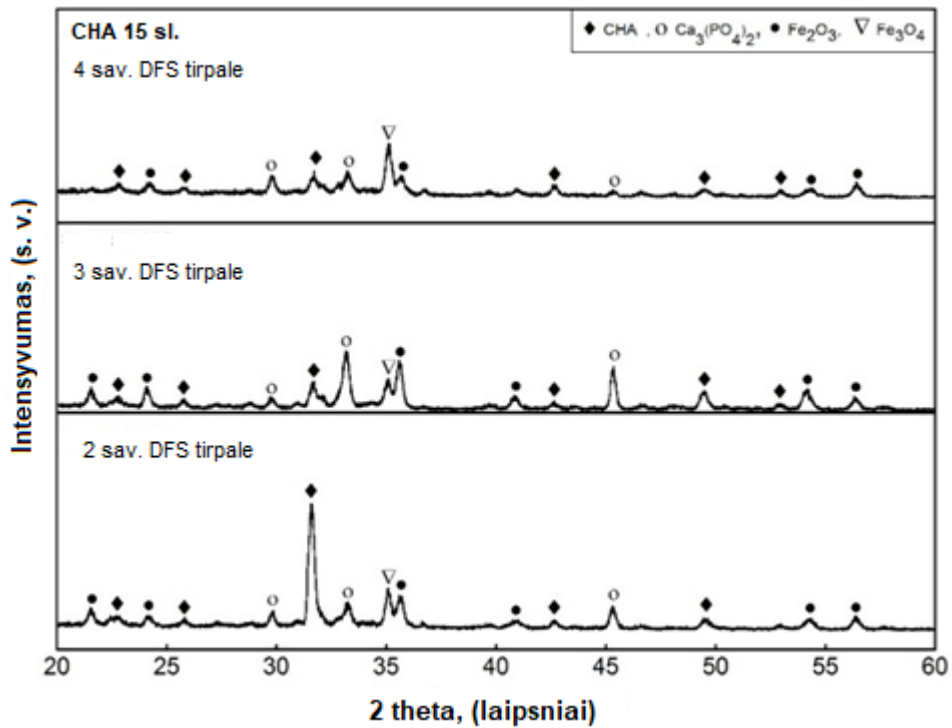
Visi CHA mėginiai, susintetinti ant modifikuoto šiurkštinto plieno paviršiaus, buvo pamerkti vienam mėnesiui į dirbtinį fiziologinį skystį (DFS). DFS buvo paruoštas naudojant Kokubos ir Takadamos siūlomą metodą [12]. Jonų koncentracijos paruoštame DFS tirpale yra pateiktos 3 lentelėje.

3 lentelė

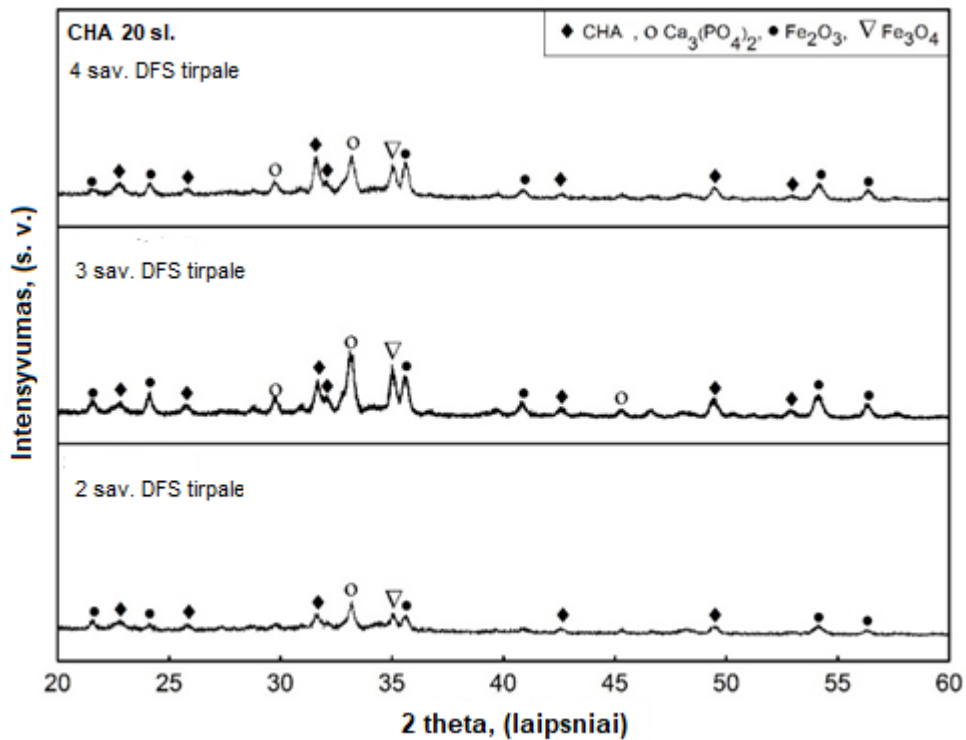
Gauto DFS tirpalo jonų koncentracija lyginant su žmogaus kraujo plazmoje esančią jonų koncentracija

Jonas	Jono koncentracija (mM)	
	Kraujo plazma	DFS
Na ⁺	142.0	142.0
K ⁺	5.0	5.0
Mg ²⁺	1.5	1.5
Ca ²⁺	2.5	2.5
Cl ⁻	103.0	147.8
HCO ₃ ⁻	27.0	4.2
HPO ₄ ²⁻	1.0	1.0
SO ₄ ²⁻	0.5	0.5
pH	7.2–7.4	7.40

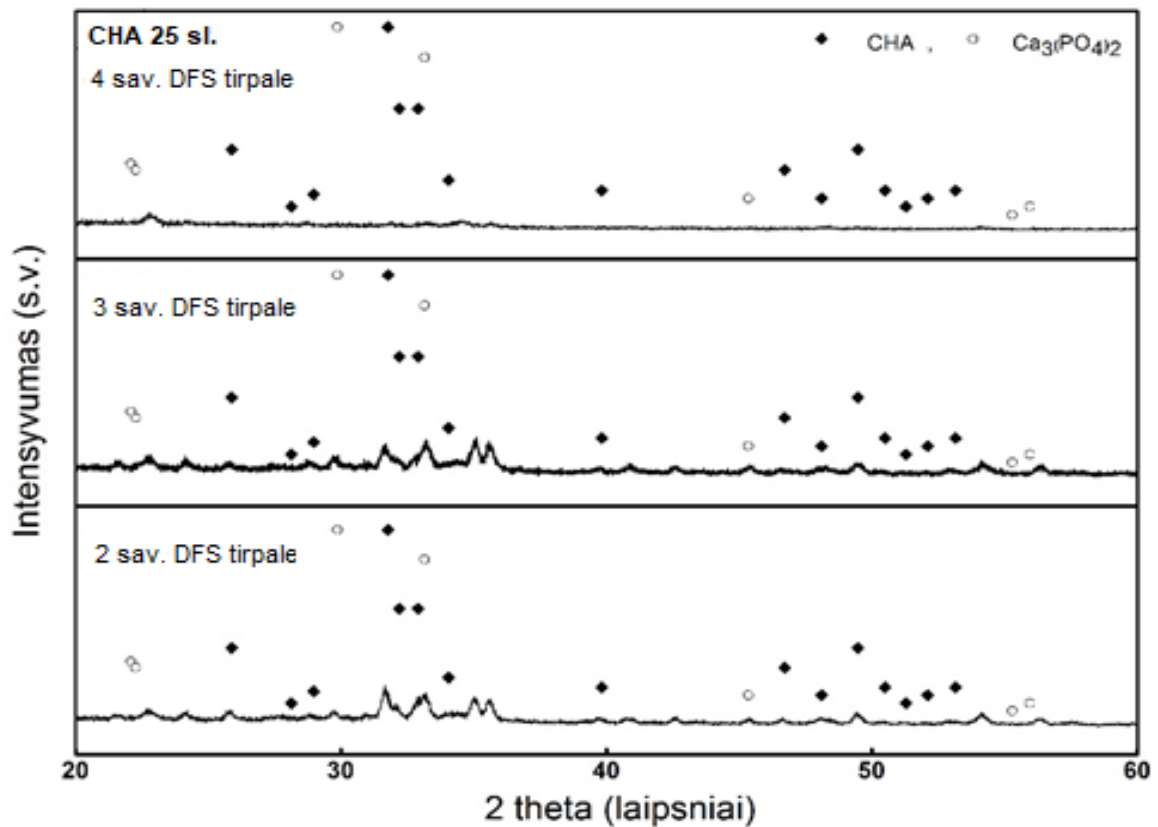
Faziniai ir morfologiniai mėginių pokyčiai buvo vertinami po 2, 3 ir 4 savaičių. XRD analizės rezultatai patvirtino, kad pamerkus mėginius į DFS, pradeda tirpti TCP, todėl nerūdijančio plieno paviršiuje formuojasi amorfinis kalcio fosfatas ir CHA. 15, 20 ir 25 CHA sluoksniais padengtų mėginių po 2, 3 ir 4 savaičių mirkymo DFS reprezentacinės difraktogramos yra pateiktos 11-13 paveiksluose.



11 pav. 15 CHA sluoksniais padengtų mėginių XRD difraktogramos po 2, 3 ir 4 savaičių mirkymo DFS. Difrakcinių smailių žymėjimas: ◆ yra CHA, ○ yra Ca_3PO_4



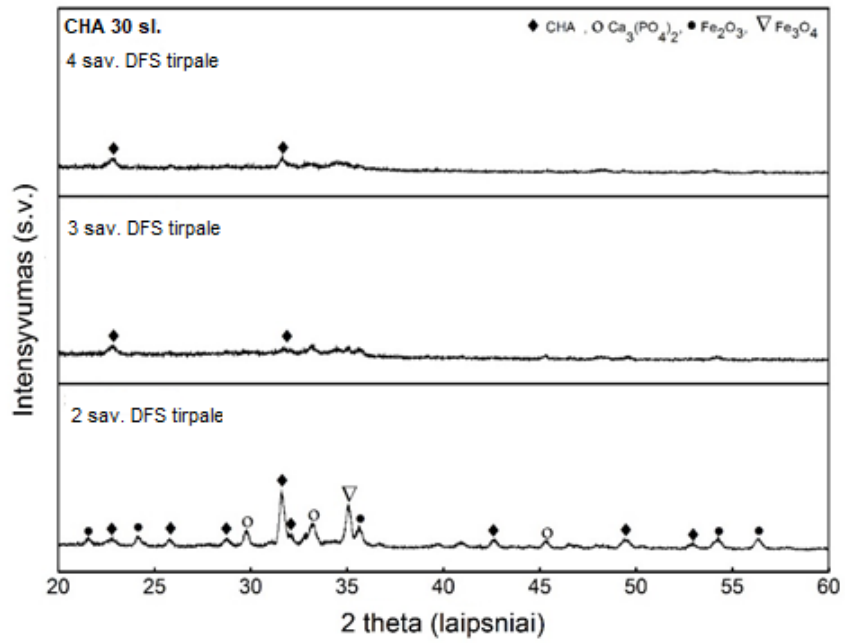
12 pav. 20 CHA sluoksniais padengtų mėginių XRD difraktogramos po 2, 3 ir 4 savaičių mirkymo DFS. Difrakcinių smailių žymėjimas: ◆ yra CHA, ○ yra Ca_3PO_4



13 pav. CHA dangų su 25 sluoksnių, mirkytų DFS 2, 3 ir 4 savaites, Rentgeno spindulių difraktogramos. Difrakcinių smailių žymėjimas: ◆ yra CHA, ○ yra Ca₃PO₄

Amorfinis kalcio fosfatas yra pradinė medžiaga biologiniam apatitui formuotis. Sumažėjusios ir paplatėjusios smailės rodo, kad sumažėjo fazių kristališkumas. Faziniai pokyčiai tarp skirtingų mėginių nėra vienodi. Po 4 savaičių mirkymo nebesimato nei CHA, nei TCP difrakcinių smailių. Tai rodo, kad dominuoja amorfiniai CHA ir kalcio fosfatas. Amorfinis kalcio fosfatas labai stipriai pagerina kaulų gijimą.

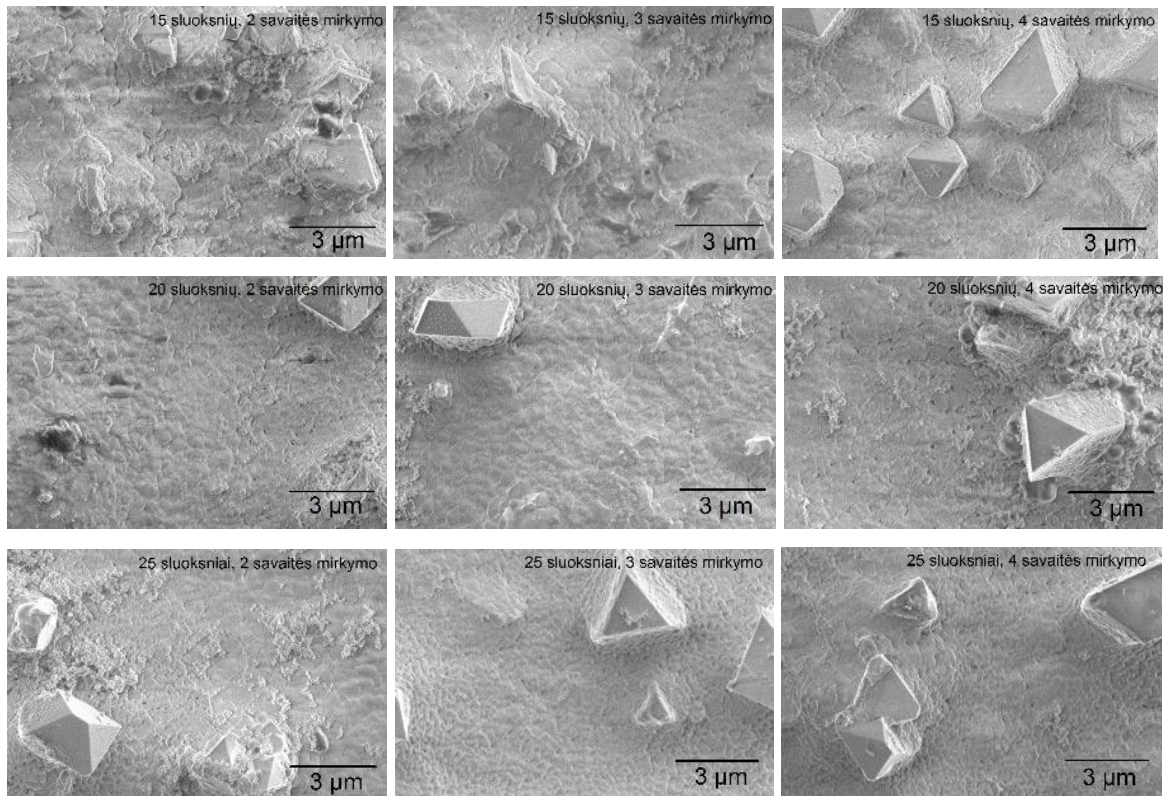
Toliau didėjant CHA sluoksnių skaičiui tirpimo ir nusodinimo procesas išlieka labai panašus, tačiau yra pastebimas nedidelis difrakcinių smailių intensyvumo padidėjimas (14 pav.).

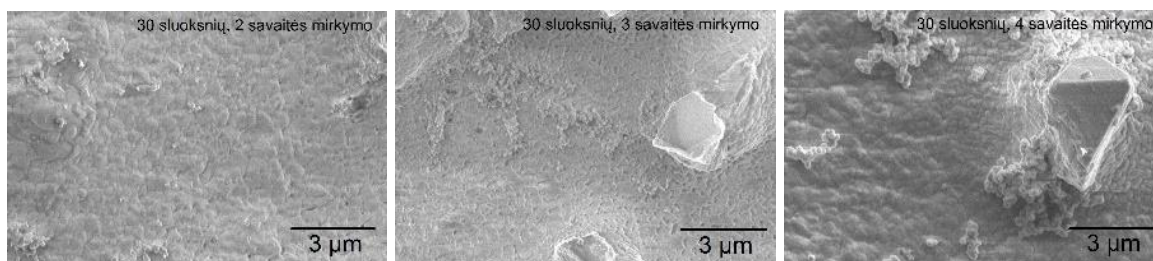


14 pav. CHA dangų su 30 sluoksnių, mirkytų DFS 2, 3 ir 4 savaites, Rentgeno spindulių difraktogramos. Difrakcinių smailių žymėjimas: ◆ yra CHA, ○ yra Ca_3PO_4

3.2.2 SEM analizė

CHA dangų, mirkytų DFS 2, 3 ir 4 savaites, SEM nuotraukos pateikiamos 15 paveiksle.



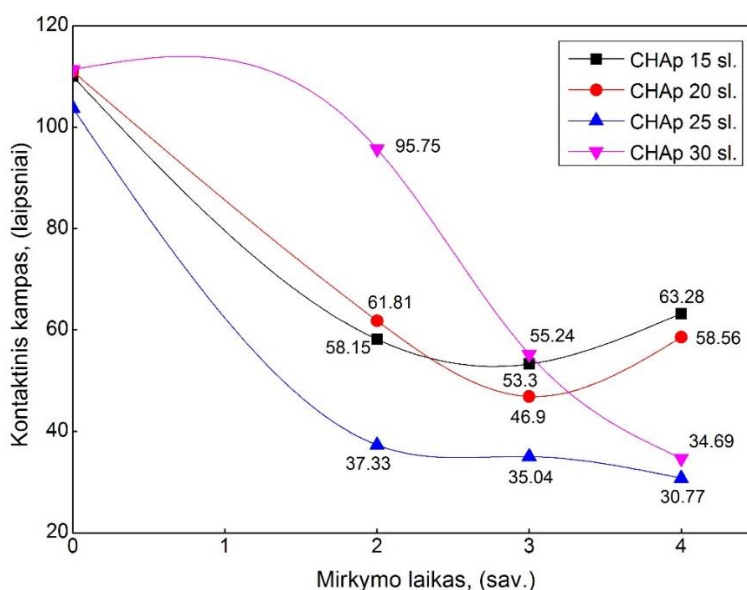


15 pav. CHA dangų su 15, 20, 25 ir 30 sluoksnių, mirkytų DFS 2, 3 ir 4 savaites, SEM nuotraukos

Įdomu pažymėti, kad CHA dangų paviršiaus morfologija po mirkymo DFS beveik nepasikeitė. Nepaisant fazinių pokyčių, matomų XRD difraktogramose, paviršiaus mikrostruktūrai įtakos neturi nei sluoksnių skaičius, nei mirkymo laikas. Atlikti tyrimai leido padaryti išvadą, kad dangoje esančio CHA tirpimas ir amorfinių fosfatų susidarymas vyksta tuo pačiu greičiu. Kita vertus, kristališkumo pokyčiai, kristalinių defektų susiformavimas ir kristalitų ribos turėtų būti tiriamos peršviečiamąja elektronine mikroskopija.

3.2.3 Kontaktinio kampo matavimai

Kontaktinio kampo matavimai patvirtina SEM rezultatus. Visi mėginiai po mirkymo DFS tapo labiau hidrofiliški lyginant su nemirkytais. Mėginių kontaktinio kampo vertės, nustatytos po 3 savaičių mirkymo, buvo tarp 40° ir 60° (16 paveikslas).

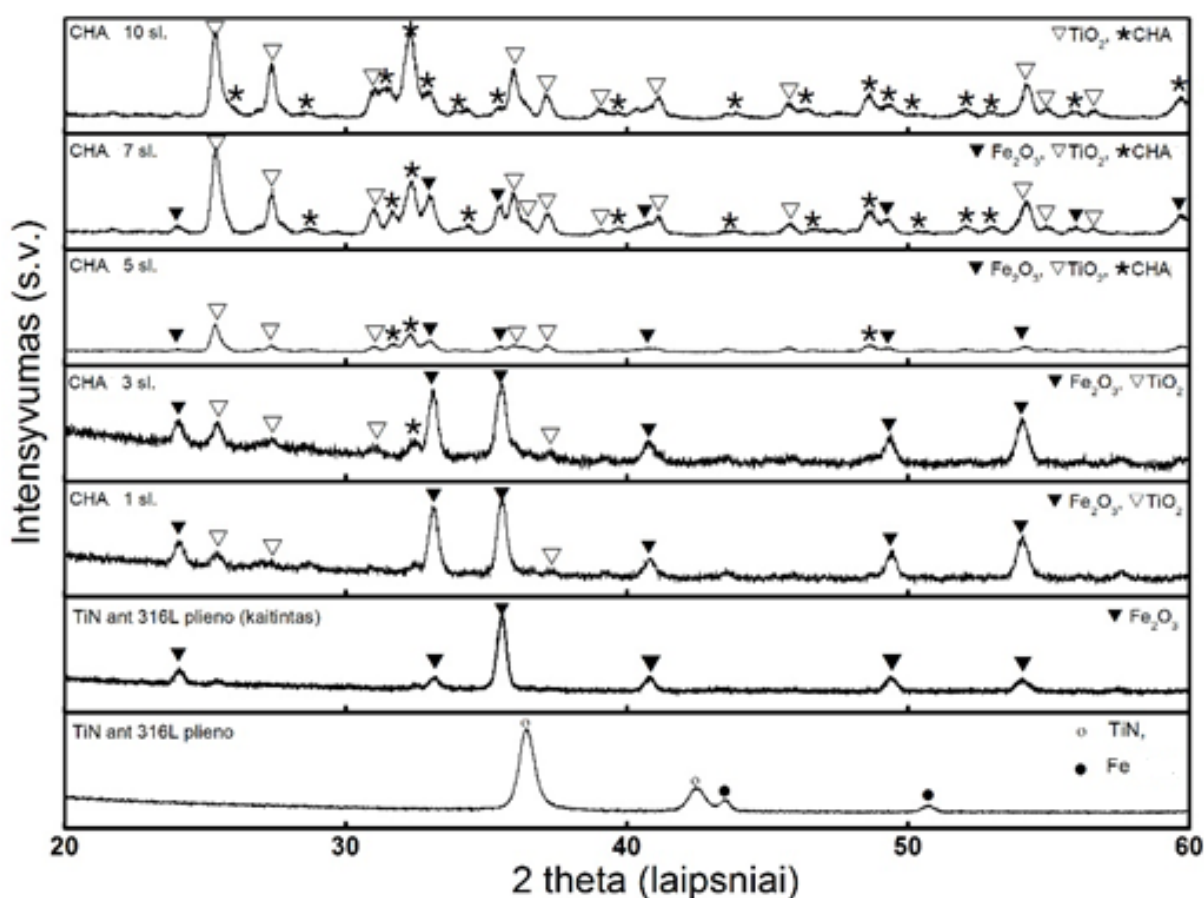


8 pav. CHA dangų su 15, 20, 25 ir 30 sluoksnių kontaktinio kampo matavimo rezultatai po mirkymo DFS

3.3 CHA DANGŲ ANT TITANO NITRIDO SLUOKSNIU MODIFIKUOTO 316 L PLIENO PAVIRŠIAUS SINTEZĖ IR APIBŪDINIMAS

3.3.1 XRD analizė

17 paveiksle pateikiamos CHA dangų, susintetintų ant 316 L plieno su TiN pasluoksniu, Rentgeno spindulių difraktogramos. Susidariusių dangų fazinė sudėtis akivaizdžiai priklauso nuo dengimo ir kaitinimo procedūrų skaičiaus.



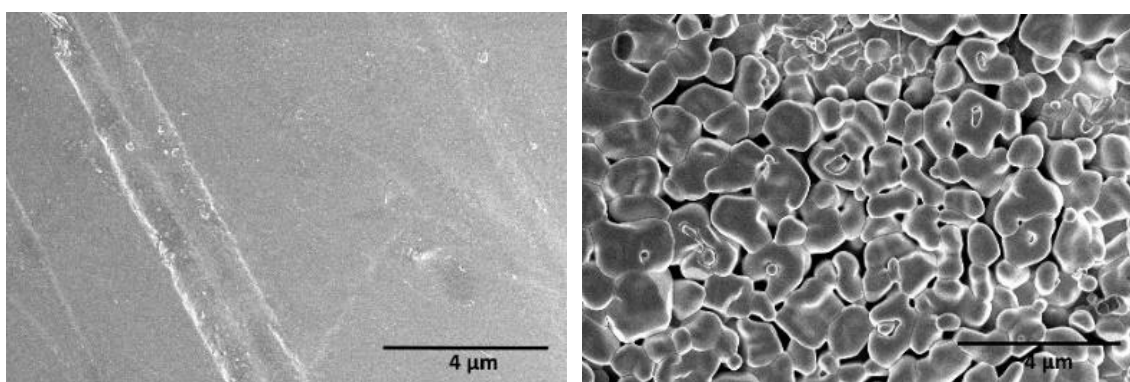
17 pav. CHA dangų su 1, 3, 5, 7 ir 10 gelio sluoksniais ant 316 L plieno su TiN pasluoksniu, XRD difraktogramos. Difrakcinių smailių žymėjimas: ● Fe, ○ TiN, ▼ Fe₂O₃, ▽ TiO₂, ★ CHA

Kaitinant nedengtą plieną su TiN pasluoksniu 850 °C ore, geležis oksiduoja ir susidaro geležies oksidas. Susidariusio Fe₂O₃ smailės užgožia TiN fazės difrakcinius atspindžius. Padengus padėklą vienu Ca-P-O gelio sluoksniu ir iškaitinus, matome atsiradusias TiO₂ fazės smailes. Tai reiškia, kad CHA sintezė zolių-gelių metodu skatina TiN oksidaciją. Po trijų dengimo ir kaitinimo procedūrų matoma nežymi CHA fazės užuomazga. Toliau didinant dengimo ir kaitinimo procedūrų

skaičių, CHA fazės, susiformavusios ant Fe/TiN substrato, smailės darosi intensyvesnės. Panašu, kad CHA fazės formavimasis stabdo Fe_2O_3 susidarymą ir skatina TiO_2 formavimąsi. Po 10 dengimo ir kaitinimo procedūrų geležies oksido fazės difraktogramoje nebematyti. Ji pilnai pakeista TiO_2 faze. Taigi, galime daryti išvadą, kad sintetinant kalcio hidroksiapatito dangas ant nerūdijančio plieno paviršiaus, TiN pasluoksnis veikia kaip buferis, stabdantis geležies oksidų susidarymą [57].

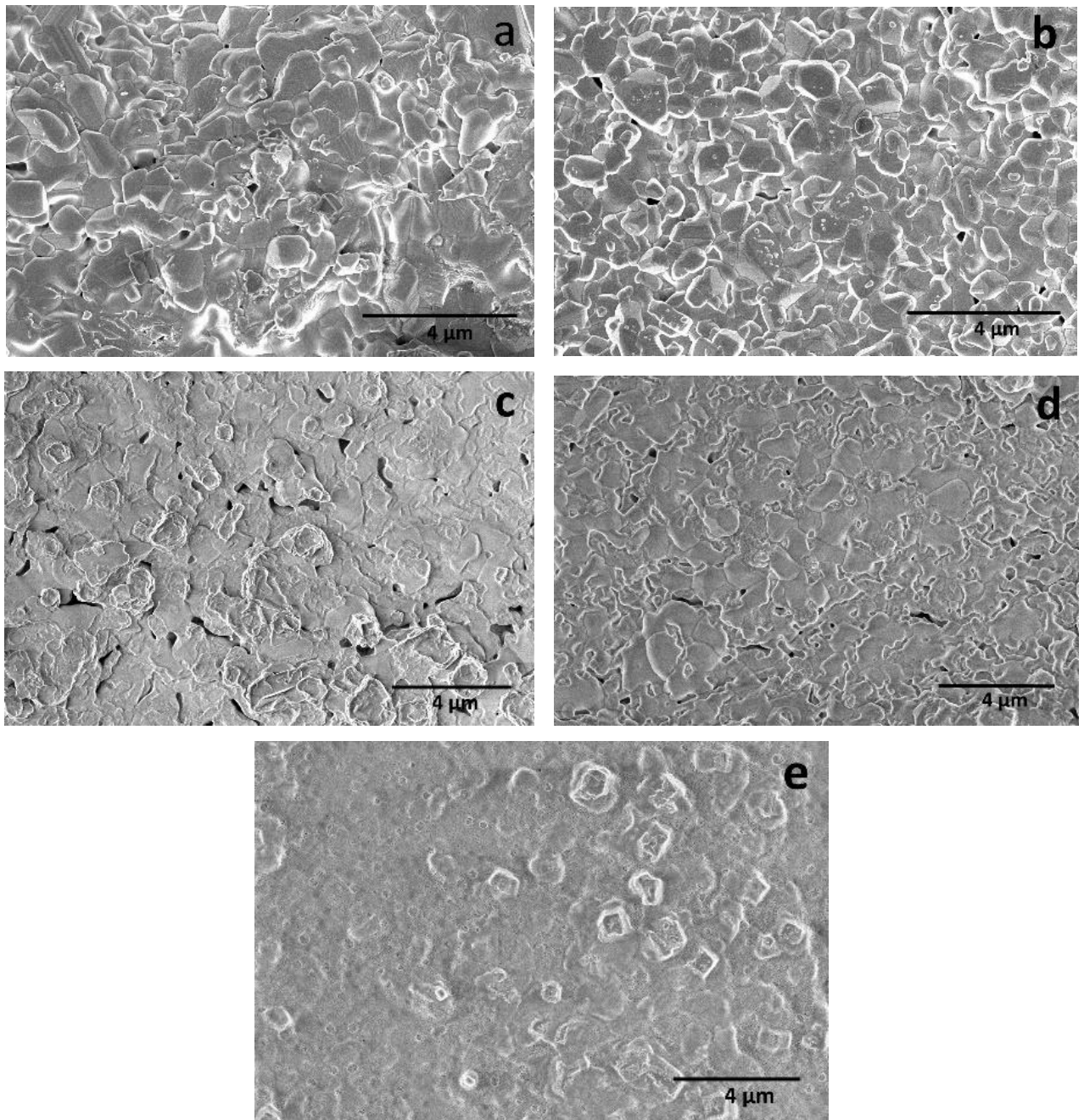
3.3.2 Mikroskopinis apibūdinimas

Fe/TiN padėklo iki kaitinimo ir po kaitinimo 850 °C temperatūroje SEM nuotraukos pateikiamos 18 paveiksle.



18 pav. Fe/TiN padėklo iki kaitinimo (kairėje) ir po kaitinimo 850 °C temperatūroje (dešinėje) SEM nuotraukos

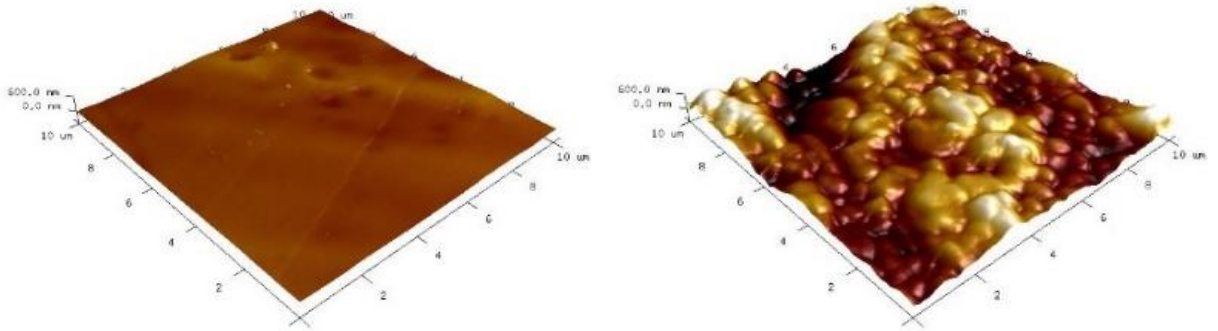
Iki kaitinimo Fe/TiN padėklo paviršius yra lygus ir neporėtas. Pakaitinus padėklą 850 °C temperatūroje ore paviršius homogeniškai pasidengia įvairios formos, maždaug 1-2 μm dydžio, dalinai sukibusiomis geležies oksido (Fe_2O_3) mikrodalelėmis. Susidaro porėta paviršiaus struktūra. Padengus substratą vienu Ca-P-O gelio sluoksniu (19a paveikslas), dalis akučių yra užpildytos titano oksido dalelėmis. Akivaizdūs skirtumai paviršiaus struktūroje matomi po 5 dengimo ir kaitinimo procedūrų (19c paveikslas) – susiformavo kompaktiška struktūra su pavienėmis nanoporomis (maždaug 200 nm dydžio).



19 pav. Zolių-gelių metodu susintetintų CHA dangų ant 316 L plieno su TiN pasluoksniu po 1 (a), 3 (b), 5 (c), 7 (d) ir 10 (e) dengimo ir kaitimo procedūrų SEM nuotraukos

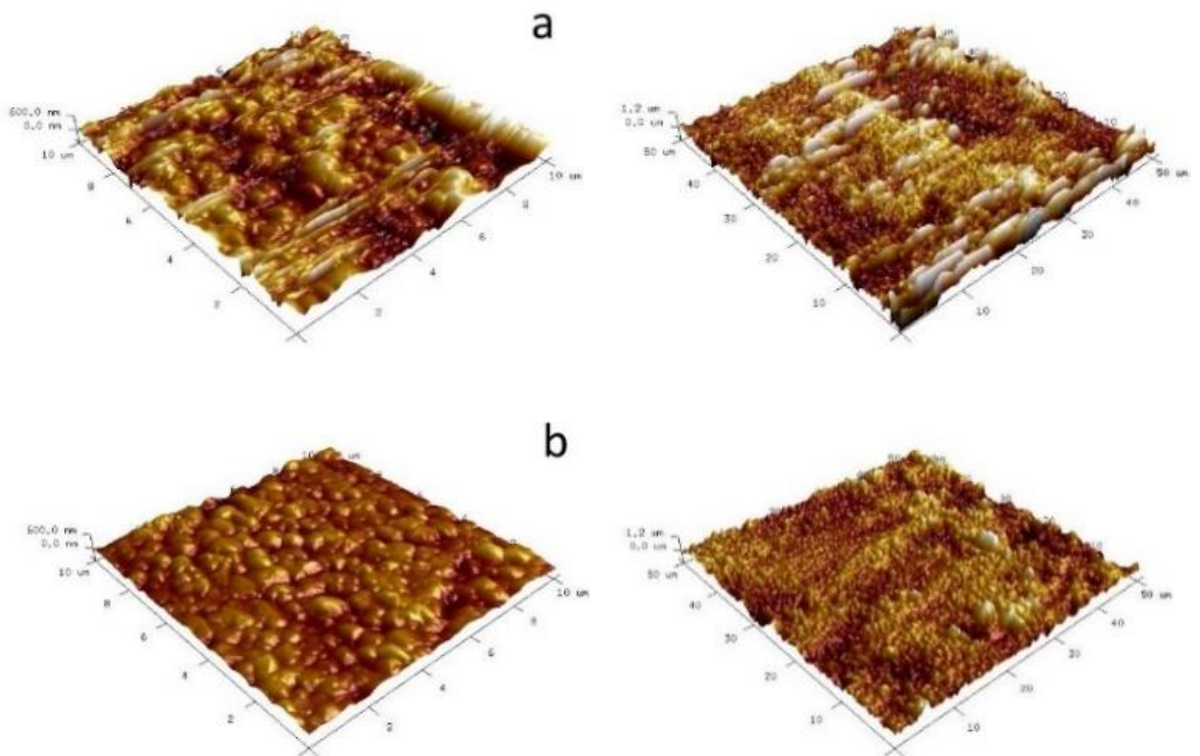
Dar lygesnė danga gaunama po 7 dengimo ir kaitinimo procedūrų (19d paveikslas). Matyti, kad plokšti kristalitai virto sferinėmis dalelėmis. CHA dangos su 10 sluoksnių paviršius yra lygus, su pavieniais stambesniais kristalitais (19 e paveikslas). Taigi, didinant sluoksnių skaičių nuo 7 iki 10 matoma nanodalelių augimo į didesnius darinius tendencija.

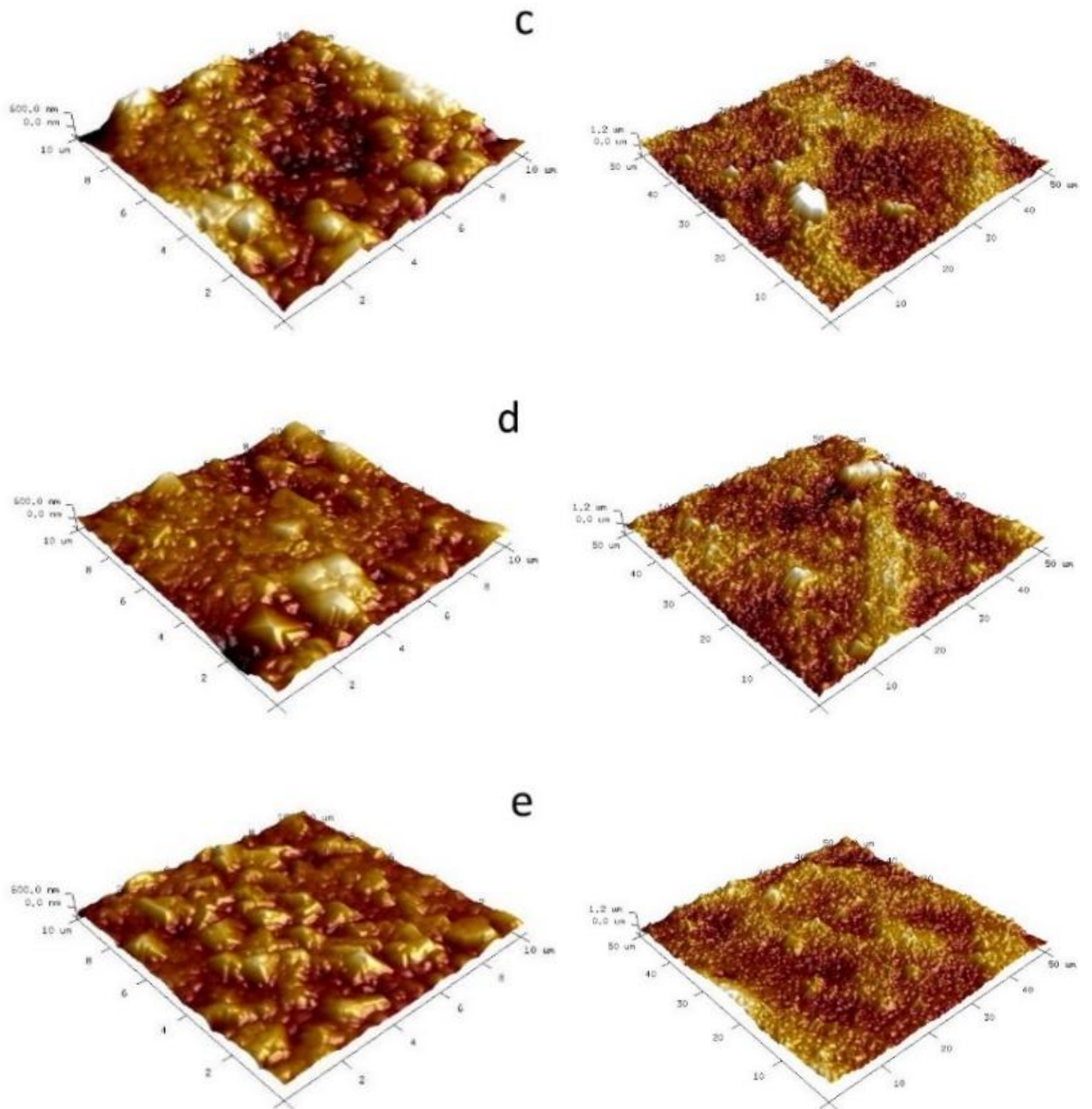
316 L nerūdijančio plieno substrato su TiN pasluoksniu AJM vaizdai prieš ir po kaitinimo 850 °C temperatūroje pateikti 20 pav.



20 pav. Fe/TiN substrato iki kaitinimo (iš kairės) ir po kaitinimo (850 °C temperatūroje iš dešinės) AJM nuotraukos

Yra matoma, kad AJM rezultatai gerai koreliuoja su SEM duomenimis ir rodo padidėjusį atkaitinto mėginio paviršiaus šiurkštumą. CHA sluoksniais padengtų substratų AJM nuotraukos pateiktos 21 pav.





21 pav. 1 (a), 3(b), 5 (c), 7 (d) ir 10 (e) CHA sluoksniais padengtų substratų su TiN pasluoksniu AJM nuotraukos

Kaip matome, didėjant CHA sluoksnių kiekiui, dangų šiurkštumas monotoniškai mažėja. Tačiau tarp 3 ir 5 CHA sluoksniais padengtų substratų skirtumo beveik nesimato.

Šiurkštumo skaičiavimo duomenys apibendrinami 4 lentelėje.

CHA dangų and Fe/TiN padėklo paviršiaus šiurkštumo rezultatai

Sluoksnių skaičius	RMS (Rq, nm)*	
	Paviršiaus sritis	Paviršiaus sritis
	10/10 μm	50/50 μm
0	321	410
1	233	447
3	195	362
5	196	359
7	147	318
10	117	260

Nekaitinto padėklo Rq vertės yra 37,4 nm (paviršiaus sritis 10/10 μm) ir 81,9 nm (paviršiaus sritis 50/50 μm). Matyti, kad didinant sluoksnių skaičių paviršiaus šiurkštumas tolygiai mažėja. Mažiausias pokytis yra tarp mėginių su 3 ir 5 sluoksniais. AJM duomenys gerai koreliuoja su SEM duomenimis.

IŠVADOS

1. Pirmą kartą kalcio hidroksiapatito (CHA) ploni sluoksniai zolių-gelių metodu buvo suformuoti ant specifiskai šiurkštinto nerūdijančio plieno (316 L) paviršiaus. XRD rezultatai leido padaryti išvadą, kad CHA ir TCP ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) fazės pradeda formotis po 15 dengimo procedūrų, o kad kristališkumo ir grynumo CHA dangos buvo gautos su 25 Ca-P-O gelio sluoksniais.
2. CHA dangų susidarymas ant specifiskai šiurkštinto nerūdijančio plieno (316 L) paviršiaus patvirtintas FTIR, Raman ir XPS spektroskopijų rezultatais. Be to, SEM tyrimais nustatyta, kad CHA danga su 25 sluoksniais buvo lygi, homogeniška sudaryta iš sferinių maždaug 250 nm dydžio kristalitų. Susiformavęs sluoksnis buvo vientisas ir be porų.
3. CHA mėginiai, susintetinti ant modifikuoto šiurkštinto plieno paviršiaus, buvo pamerkti vienam mėnesiui į dirbtinį fiziologinį skystį (DFS). Faziniai ir morfologiniai mėginių pokyčiai buvo vertinami po 2, 3 ir 4 savaičių. XRD analizės rezultatai patvirtino, kad pamerkus mėginius į DFS, pradeda tirpti TCP, todėl nerūdijančio plieno paviršiuje formuojasi amorfinis kalcio fosfatas ir CHA.
4. Nustatyta, kad CHA ploni sluoksniai ant specifiskai šiurkštinto nerūdijančio plieno (316 L) paviršiaus po mirkymo DFS tapo labiau hidrofiliški lyginant su nemirkytais.
5. Pirmą kartą CHA dangos buvo susintetintos ant 316 L plieno su TiN pasluoksniu. Parodyta, kad susidariusių dangų fazinė sudėtis akivaizdžiai priklausė nuo dengimo ir kaitinimo procedūrų skaičiaus. Nustatyta, kad TiN pasluoksnis veikia kaip buferis, stabdantis geležies oksidų susidarymą.
6. SEM rezultatai leido padaryti išvadą, kad CHA dangos ant 316 L plieno su TiN pasluoksniu su 10 Ca-P-O sluoksnių pasižymėjo lygiu paviršiumi, su pavieniais stambesniais kristalitais. AJM rezultatai atskleidė, kad didėjant CHA sluoksnių kiekiui, dangų šiurkštumas monotoniškai mažėja.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Nutt, J.L. and M.C. Solan. *Ageing and orthopaedics*. Orthopaedics and Trauma. 2017. **31**(5): p. 321-325.
2. Chen, Q., Thouas, G.A. *Metallic implant biomaterials*. Materials Science and Engineering: R: Reports. 2015. **87**: p. 1-57.
3. Niinomi, M. *Recent metallic materials for biomedical applications*. Metallurgical and Materials Transaction. 2002. **33**, 477.
4. Niinomi, M., Nakai, M., Heida, J. *Development of new metallic alloys for biomedical applications*. Acta Biomaterialia. 2012. **8**(11): p. 3888-3903.
5. Okazaki, Y., Gotoh, E., *Comparison of metal release from various metallic biomaterials in vitro*. Biomaterials. 2005. **26**(1): p. 11-21.
6. Navarro, M., Michiardi, A., Castano, O., Planel, J. *Biomaterials in orthopaedics*. Journal of the Royal Society Interface. 2008. **5**(27): p. 1137-1158.
7. Gepreel, M.A.H. and Niinomi, M. *Biocompatibility of Ti-alloys for long-term implantation*. Journal of the mechanical behavior of biomedical materials. 2013. **20**: p. 407-415.
8. Gurappa, I. *Development of appropriate thickness ceramic coatings on 316 L stainless steel for biomedical applications*. Surface and Coatings Technology. 2002. **161**(1): p. 70-78.
9. Khandelwal, H., Singh, G., Agrawal, K., Prakash, S., Agarwal, R. D., *Characterization of hydroxyapatite coating by pulse laser deposition technique on stainless steel 316 L by varying laser energy*. Applied Surface Science. 2013. **265**: p. 30-35.
10. Shah, F.A., P. Thomsen, and A. Palmquist. *Osseointegration and current interpretations of the bone-implant interface*. Acta Biomaterialia. 2019. **84**: p. 1-15.
11. Yang, H., Yang, K., Zhang, B. *Pitting corrosion resistance of La added 316L stainless steel in simulated body fluids*. Materials Letters. 2007. **61**(4-5): p. 1154-1157.
12. Kokubo, T.; Takadama, H. *How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?* Biomaterials. 2006. **27**: p. 2907-2915.
13. Bekmurzayeva, A.; Duncanson, W.J.; Azevedo, H.S.; Kanayeva, D. *Surface modification of stainless steel for biomedical applications: Revisiting a century-old material*. Mater. Sci. Eng. C 2018. **93**: p. 1073-1089.
14. Liu, D.M.; Yang, Q.; Troczynski, T. *Sol-gel hydroxyapatite coatings on stainless steel substrates*. Biomaterials. 2002. **23**: p. 691-698.
15. Balla, V.K.; Das, M.; Bose, S.; Ram, G.J.; Manna, I. *Laser surface modification of 316 L stainless steel with bioactive hydroxyapatite*. Mater. Sci. Eng. C 2013. **33**: p. 4594-4598.

16. Xin, F.; Jian, C.; Zou, J.P.; Qian, W.; Zhou, Z.C.; Ruan, J.M. *Bone-like apatite formation on HA/316L stainless steel composite surface in simulated body fluid*. *Transac. Nonferr. Metals Soc.* 2009. **19**: p. 347–352.
17. Sarkar, C.; Kumari, P.; Anuvrat, K.; Sahu, S.K.; Chakraborty, J.; Garai, S. *Synthesis and characterization of mechanically strong carboxymethyl cellulose-gelatin-hydroxyapatite nanocomposite for load-bearing orthopedic application*. *J. Mater. Sci.* 2018. **53**: p. 230–246.
18. Catauro, M., Papale, F., Bollino, F. *Characterization and biological properties of TiO₂/PCL hybrid layers prepared via sol–gel dip coating for surface modification of titanium implants*. *Journal of Non-Crystalline Solids.* 2015. **415**: p. 9-15.
19. Qiu, D., Yang, L., Yin, Y., Wang, A., *Preparation and characterization of hydroxyapatite/titania composite coating on NiTi alloy by electrochemical deposition*. *Surface and Coatings Technology.* 2011. **205**(10): p. 3280-3284.
20. Rojaee, R., Fathi, M., Raeissi, K. *Electrophoretic deposition of nanostructured hydroxyapatite coating on AZ91 magnesium alloy implants with different surface treatments*. *Applied Surface Science.* 2013. **285**(B): p. 664-673.
21. Chu, P.K., Chen, J.Y., Wang, L.P., Huang, N. *Plasma-surface modification of biomaterials*. *Materials Science and Engineering: R: Reports.* 2002. **36**(5–6): p. 143-206.
22. Barry, J.N., B. Twomey, A. Cowley, L. O'Neill, P.J. McNally, D.P. Dowling. *Evaluation and comparison of hydroxyapatite coatings deposited using both thermal and non-thermal techniques*. *Surface & Coatings Technology.* 2013. **226**: p. 82-91.
23. Ossa, C.P.O., S.O. Rogero, and A.P. Tschiptschin. *Cytotoxicity study of plasma-sprayed hydroxyapatite coating on high nitrogen austenitic stainless steels*. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine.* 2006. **17**(11): p. 1095-1100.
24. Hahn, B.D., J. M. Lee, D. S. Park, J. J. Choi, J. Ryu, W. H. Yoon, J. H. Choi, B. K. Lee, J. W. Kim, H. E. Kim, S. G. Kim. *Enhanced bioactivity and biocompatibility of nanostructured hydroxyapatite coating by hydrothermal annealing*. *Thin Solid Films.* 2011. **519**(22): p. 8085-8090.
25. Thanh, D.T.M., et al., *Controlling the electrodeposition, morphology and structure of hydroxyapatite coating on 316L stainless steel*. *Materials Science and Engineering: C,* 2013. **33**(4): p. 2037-2045.
26. Wang, H.N., Li, Y., Zuo, Y., Li, J., Ma, S., Cheng, L. *Biocompatibility and osteogenesis of biomimetic nano-hydroxyapatite/polyamide composite scaffolds for bone tissue engineering*. *Biomaterials.* 2007. **28**(22): p. 3338-3348.

27. Olding, T., M. Sayer, and D. Barrow, *Ceramic sol-gel composite coatings for electrical insulation*. Thin Solid Films, 2001. **398**: p. 581-586.
28. Tredwin, C.J., Young, A. M., Georgiou, G., Shin, S. H., Kim ,H. W., Knowles, J. C. *Hydroxyapatite, fluor-hydroxyapatite and fluorapatite produced via the sol-gel method. Optimisation, characterisation and rheology*. Dental Materials. 2013. **29**(2): p. 166-173.
29. Jilani, A., Abdel-Wahab, M. S., Hammad, A. H. *Advance Deposition Techniques for Thin Film and Coating, Modern Technologies for Creating the Thin-film Systems and Coatings*. [interaktyvus] IntechOpen, 2017. [žiūrėta 2021 m. gegužės 2 d.] Prieiga per internetą: <https://www.intechopen.com/books/modern-technologies-for-creating-the-thin-film-systems-and-coatings/advance-deposition-techniques-for-thin-film-and-coating>
30. L. Guo, H. Li. *Fabrication and characterization of thin nano-hydroxyapatite coatings on titanium*. Surface and Coatings Technology. 2004. **185**(2-3): p. 268-274.
31. Dongxia Liu, Keith Savino, Matthew Z. Yates. *Coating of hydroxyapatite films on metal substrates by seeded hydrothermal deposition*. Surface and Coatings Technology. 2011. **205**(16): p. 3975-3986.
32. M. Metikoš-Huković, E. Tkalčec, A. Kwokal, J. Piljac. *An in vitro study of Ti and Ti-alloys coated with sol-gel derived hydroxyapatite coatings*. Surface and Coatings Technology. 2003. **165**(1): p. 40-50.
33. Y. Yang, K. H. Kim, J. L. Ong. *A review on calcium phosphate coatings produced using a sputtering process—an alternative to plasma spraying*. Biomaterials. 2005. **26**(3): p. 327-337.
34. Robertson, S.F., A. Bandyopadhyay, and S. Bose. *Titania nanotube interface to increase adhesion strength of hydroxyapatite sol-gel coatings on Ti-6Al-4V for orthopedic applications*. Surface and Coatings Technology. 2019. **372**: p. 140-147.
35. Garcia-Casas, A., J.J. Aguilera-Correa, A. Mediero, J. Esteban, A. Jimenez-Morales. *Functionalization of sol-gel coatings with organophosphorus compounds for prosthetic devices*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2019. **181**: p. 973-980.
36. Dorozhkin, S.V. *Calcium orthophosphate coatings on magnesium and its biodegradable alloys*. Acta Biomaterialia. 2014. **10**(7): p. 2919-2934.
37. Asri, R.I.M., W.S.W. Harun, M.A. Hassan, S.A.C. Ghani, Z. Buyong. *A review of hydroxyapatite-based coating techniques: Sol-gel and electrochemical depositions on biocompatible metals*. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. 2016. **57**: p. 95-108.

38. Cohen, E.D. and Gutoff, E.B. (2002). Coating Processes, Survey. In Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, John Wiley & Sons, Inc, DOI: 10.1002/0471238961.
39. Scriven, L.E. *Physics and Applications of DIP Coating and Spin Coating*. MRS Online Proceedings Library. 1988. **121**: p.717–729.
40. Xie, K., Qiang, F., Qiao, G., Paul, W. *Recent progress on fabrication methods of polymeric thin film gas separation membranes for CO2 capture*. Journal of Membrane Science. 2018. p. 572.
41. Neacșu, I. A., Nicoară, A. I., Vasile, O. R., Vasile, B. S. *Chapter 9 - Inorganic micro- and nanostructured implants for tissue engineering*. Nanobiomaterials in Hard Tissue Engineering, William Andrew Publishing, 2016. p. 271-295.
42. Djelloul, A., Adnane, M., Larbah, Y., Zerdali, M., Chewki, Z., Messaoud, A. *Effect of Annealing on the Properties of Nanocrystalline CdS Thin Films Prepared by CBD Method*. Journal of Nano- and Electronic Physics. 2016. **8**(2): p. 1-7.
43. P.K. Nair, M.T.S. Nair, V.M. Garcí'a, O.L. Arenas, Y. Pena, A. Castillo, I.T. Ayala, O. Gomezdaza, A. Sa'nchez, J. Campos, H. Hu, R. Sua'rez, M.E. Rinco'n. *Semiconductor thin films by chemical bath deposition for solar energy related applications*. Solar Energy Materials and Solar Cells. 1998. **52**: p. 313-344.
44. Mooney, J. B., Radding, S. B. *Spray Pyrolysis Processing*. Annual Review of Materials Science. 1982. **12**(1): p. 81-101.
45. Makhlof, A.S.H. *1 - Current and advanced coating technologies for industrial applications*. Nanocoatings and Ultra-Thin Films. 2011. Woodhead Publishing. p. 3-23
46. Carlsson, J.-O. and P.M. Martin, *Chapter 7 - Chemical Vapor Deposition*. Handbook of Deposition Technologies for Films and Coatings (Third Edition), P.M. Martin, Editor. 2010, William Andrew Publishing: Boston. p. 314-363.
47. Park, J.-H. and T.S. Sudarshan, *Chemical vapor deposition*. 2001.
48. Jilani, A., M. Abdel-wahab, and A. Hammad. *Advance Deposition Techniques for Thin Film and Coating*. [interaktyvus]. 2017. [žiūrėta 2021 m. gegužės 4 d.]. Prieiga per internetą: <https://www.intechopen.com/books/modern-technologies-for-creating-the-thin-film-systems-and-coatings/advance-deposition-techniques-for-thin-film-and-coating>
49. Wei, Q., Y. Xu, and Y. Wang, *3 - Textile surface functionalization by physical vapor deposition (PVD)*, in *Surface Modification of Textiles*, Q. Wei, Editor. 2009, Woodhead Publishing. p. 58-90.
50. *Mechanical engineering*. [interaktyvus]. [žiūrėta 2021 m. gegužės 4 d.] Prieiga per internetą: <https://me-mechanicalengineering.com/physical-vapor-deposition/>

51. Sigmund, P. *Recollections of fifty years with sputtering*. Thin Solid Films. 2012. **520**(19): p. 6031-6049.
52. Carlsson, J.-O. and P.M. Martin. *Chapter 6 - Ion Plating*, in *Handbook of Deposition Technologies for Films and Coatings (Third Edition)*, P.M. Martin, Editor. 2010, William Andrew Publishing: Boston. p. 297-313.
53. Li, P.H. and P.K. Chu, *1 - Thin film deposition technologies and processing of biomaterials*. Thin Film Coatings for Biomaterials and Biomedical Applications. H.J. Griesser, Editor. 2016. Woodhead Publishing. p. 3-28.
54. Mohseni, E., E. Zalnezhad, and A.R. Bushroa. *Comparative investigation on the adhesion of hydroxyapatite coating on Ti-6Al-4V implant: A review paper*. International Journal of Adhesion and Adhesives. 2014. **48**: p. 238-257.
55. Henao, J., Poblano-Salas, C., Monsalve, M., Corona-Castuera, J., Barceinas-Sanchez, O. *Bio-active glass coatings manufactured by thermal spray: a status report*. Journal of Materials Research and Technology. 2019. **8**(5): p. 4965-4984.
56. Liu, X., He, D., Zhou, Z., Wang, G., Wang, Z., Guo, X. *Effect of post-heat treatment on the microstructure of micro-plasma sprayed hydroxyapatite coatings*. Surface and Coatings Technology. 2019. **367**: p. 225-230.
57. V. Jonauskė. *Synthesis of calcium hydroxyapatite coatings on the stainless steel substrates and investigation of influence of substrates surface modification on the quality of coatings*. Vilnius University, Vilnius, Lithuania, 2019, 105 p.
58. V. Jonauskė, S. Stanionyte, S.-W. Chen, A. Zarkov, R. Juskenas, A. Selskis, T. Matijosius, Thomas C. K. Yang, K. Ishikawa, R. Ramanauskas and A. Kareiva. *Fabrication of sol-gel derived calcium hydroxyapatite coatings on patterned rough surface, characterization and assessment of its behaviour in simulated body fluid*. Coatings. 2019. **9**(334): p. 1-14.
59. Karampas, I.A. and C.G. Kontoyannis. *Characterization of calcium phosphates mixtures*. Vibrational Spectroscopy. 2013. **64**: p. 126-133.

PADĖKOS

Nuoširdžiai dėkoju savo darbo varovui prof. habil. dr. Aivarui Kareivai už suteiktas žinias ir pagalbą rašant baigiamąjį magistro darbą.

Už pagalbą atliekant dengimo procedūras, tyrimus ir patarimus bei pagalbą ieškant mokslinės informacijos baigiamajam darbui norėčiau padėkoti dr. Vilmai Jonauskei.

Taip pat didelis ačiū visiems Vilniaus Universiteto Neorganinės chemijos katedros studentams ir darbuotojams už patarimus ir kantrybę.

SANTRAUKA

**VILNIAUS UNIVERSITETAS
CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS**

Viačeslav Bedugnis

KALCIO HIDROKSIAPATITO PLONŲ SLUOKSNIŲ SINTEZĖ ANT SPECIFINIŲ PAVIRŠIŲ

Pirmą kartą kalcio hidroksiapatito (CHA) ploni sluoksniai zolių-gelių metodu buvo suformuoti ant specifiskai šiurkštinto nerūdijančio plieno (316 L) paviršiaus. CHA dangų susidarymas patvirtintas XRD analizės, FTIR, Raman ir XPS spektroskopijų rezultatais. CHA mėginiai, susintetinti ant modifikuoto šiurkštinto plieno paviršiaus, buvo pamerkti vienam mėnesiui į dirbtinį fiziologinį skystį (DFS). Nustatyta, kad nerūdijančio plieno paviršiuje formuojasi amorfinis kalcio fosfatas ir CHA. Be to, Nustatyta, kad CHA ploni sluoksniai po mirkymo DFS tapo labiau hidrofiliški lyginant su nemirkytais. Pirmą kartą CHA dangos buvo susintetintos ant 316 L nerūdijančio plieno su TiN pasluoksniu. Parodyta, kad susidariusių dangų fazinė sudėtis akivaizdžiai priklausė nuo dengimo ir kaitinimo procedūrų skaičiaus. Nustatyta, kad TiN pasluoksnis veikia kaip buferis, stabdantis geležies oksidų susidarymą.

SUMMARY

**VILNIUS UNIVERSITY
FACULTY OF CHEMISTRY AND GEOSCIENCES**

Viačeslav Bedugnis

SYNTHESIS OF CALCIUM HYDROXYAPATITE THIN FILMS ON SPECIFIC SURFACES

For the first time, thin layers of calcium hydroxyapatite (CHA) were formed by the sol-gel method on a specifically roughened stainless steel (316 L) surface. The formation of CHA coatings was confirmed by XRD analysis, FTIR, Raman and XPS spectroscopy. CHA samples synthesized on the surface of modified roughened steel were immersed in simulated body fluid (SBF) for one month. It was found that amorphous calcium phosphate and CHA were formed on the surface of stainless steel. In addition, thin layers of CHA were found to become more hydrophilic after soaking in SBF compared to non-soaked ones. For the first time, CHA coatings were synthesized on 316 L stainless steel with a TiN sublayer. It was shown that the phase composition of the formed coatings obviously depended on the number of coating and heating procedures. The TiN layer was found to act as a buffer to inhibit the formation of iron oxides.