

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

Evelina Mustapić i Nikolina Miličević

**Modifikacija površine implantnih materijala s ciljem poboljšanja
biokompatibilnosti**

Zagreb, 2017.

Ovaj rad izrađen je u Zavodu za elektrokemiju pod vodstvom doc. dr. sc. Helene Otmačić Ćurković i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2016./2017.

POPIS KRATICA

I - jakost struje, A

I_{kor} - jakost korozijske struje, A

j - gustoća struje, A cm⁻²

j_0 - gustoća struje izmjene, A cm⁻²

j_{kor} - gustoća korozijske struje, A cm⁻²

F - Faradayeva konstanta, $F = 9,648 \cdot 10^4 \text{ C mol}^{-1}$

R - opća plinska konstanta, $R = 8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$

z - broj elektrona

α - koeficijent prijenosa (vrijednost od 0 do 1)

η - prenapon, $\eta = E - E_0$, mV

T - termodinamička temperatura, K

b_a - nagib anodnog Tafelovog pravca, V dek⁻¹

b_k - nagib katodnog Tafelovog pravca, V dek⁻¹

a_a – odsječak anodnog Tafelovog pravca, V dek⁻¹

a_k – odsječak katodnog Tafelovog pravca, V dek⁻¹

E - potencijal, V

E_{kor} - korozijski potencijal, V

E_0 - potencijal otvorenog kruga, V

R_{ct} - otpor prijenosu naboja, $\Omega \text{ cm}^2$

R_p - polarizacijski otpor, $\Omega \text{ cm}^2$

z - djelotvornost inhibitora, %

Z - impedancija, $\Omega \text{ cm}^2$

$|ZI|$ - apsolutna vrijednost impedancije, $\Omega \text{ cm}^2$

R_a - hrapavost površine, nm

SADRŽAJ RADA

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO I CILJEVI RADA	3
2.1. Ciljevi rada	3
2.2. Implantati u ljudskom tijelu.....	3
2.3. Nehrdajući čelik.....	5
2.3.1. Sastav i podjela nehrđajućeg čelika	6
2.4. Titan i njegove legure	7
2.5. Nitinol.....	9
2.6. Zaštita biomaterijala od korozije	10
2.6.1. Modifikacija površine implantata	10
2.6.1.1. Podjela tehnika modificiranja površine implantata	11
2.6.1.1.1. Hrapavljenje površine.....	11
2.6.1.1.2. Hrapavljenje površine strukturiranjem	13
2.6.1.1.3. Kemijska modifikacija površine	14
2.6.1.1.4. Vežanje farmaceutika ili biofarmaceutika na površinu	14
2.6.1.1.5. Formiranje poroznih površina	15
2.7. Samoorganizirajući monoslojevi	15
2.8. Karboksilne kiseline	16
2.8.1. Omega-3 masne kiseline	17
3. MATERIJALI I METODE RADA	20
3.1. Provedba eksperimenta.....	20
3.1.1. Postupak pripreme radnih elektroda	20
3.1.2. Postupak pripreme otopina	20
3.1.3. Postupak formiranja samoorganizirajućih monoslojeva.....	20
3.2. Elektrokemijski korozijski procesi	21
3.2.1. Elektrokemijska korozijska ispitivanja istosmjernom strujom, DC–tehnik.....	22
3.2.1.1. Metoda Tafelove ekstrapolacije	23
3.2.1.2. Metoda linearne polarizacije	25
3.2.1. Elektrokemijska korozijska ispitivanja izmjeničnom strujom, AC–tehnik.....	26
3.3. Karakterizacija površine	28
3.3.1. Fourier transformacijska infracrvena spektroskopija.....	28
3.3.2. SEM- pretražna elektronska mikroskopija.....	28
3.3.3. Određivanje kontaktnog kuta.....	28
4. REZULTATI	29

4.1. Samoorganizirajući monoslojevi formirani na oksidiranim metalnim uzorcima	29
4.1.1. Određivanje optimalne koncentracije omega-3 masne kiseline u EtOH za formiranje zaštitnih slojeva na nehrđajućem čeliku.....	29
4.1.2. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija.....	30
4.1.3. Titan	39
4.1.4. Nitinol	44
4.4. Površinske karakteristike formiranih samoorganizirajućih monoslojeva.....	48
5. RASPRAVA.....	53
5.1. Utjecaj koncentracije omega-3 masne kiseline na formiranje samoorganizirajućih monoslojeva na oksidiranim metalima	53
5.2. Elektrokemijska korozivna ispitivanja nehrđajućeg čelika SS316L.....	54
5.2.1. Elektrokemijska korozivna ispitivanja titana	55
5.2.2. Elektrokemijska korozivna ispitivanja nitinola.....	55
5.3. Površinska karakterizacija	56
6. ZAKLJUČAK.....	58
7. ZAHVALE	59
8. LITERATURA	60
9. SAŽETAK.....	63
10. SUMMARY.....	64
11. ŽIVOTOPISI.....	65

1. UVOD

Svake godine milijunima pacijenata poboljšava se kvaliteta života pomoću kirurških zahvata koji uključuju ugradnju implantata. Pojam implantata koristi se za uređaje ili konstrukcije koji zamjenjuju ili djeluju kao dio cjeline ili cjelina biološke strukture. Trenutno, implantati se koriste u različitim dijelovima tijela za brojne primjene poput ortopedije, srčani stimulatori, kardiovaskularni stentovi, protetika, sustav za dostavu lijeka i dr. Istodobno s povećanim životnim vijekom u današnje vrijeme raste potreba za novijim i dugotrajnijim implantatima. Uz mnogobrojne, nesumnjivo pozitivne rezultate, postoje i određene komplikacije kod primjene implantata. Kada su u pitanju metalni implantati moguće je pucanje implantata, lokalizirana korozija, galvanska korozija kod primjene različitih metala, trošenje materijala ili infekcija. Pojava infekcije oko implantata jedna je od najčešćih komplikacija. Metal ne može izazvati infekciju, ali može pospješiti razvoj infekcije nudeći prihvatljiv supstrat za rast bakterija. U ortopediji i traumatologiji se koriste implantati izrađeni najčešće od različitih vrsta nehrđajućeg čelika ili titana. Spomenuti materijali se razlikuju po kemijskom sastavu, te ovisno o površinskoj strukturi se primjenjuju u raznim oblicima završne obrade. Hrapavost biomaterijala određuje veličinu ukupne površine implantata što utječe na brojna svojstva samog materijala i određuje biokompatibilnost s organizmom domaćina. [1,2]

Osteoartritis jedan je od primjera promjenjive potrebe u liječenju. U 2000. broj ukupnih operacija zamjena kukova iznosio je 152,000 što predstavlja povećanje od 33% u odnosu na broj istih operacija 1990. godine i predstavlja oko pola procijenjenog broja operacija do 2030. godine. Kardiovaskularne bolesti su još jedan primjer. Tijekom posljednja dva desetljeća koronarni stentovi postali su novi standard u postupku angioplastike. Unatoč različitim materijalima trenutno dostupnih za stentove, još uvijek postoji potreba za jednim materijalom koji ima željena mehanička svojstva, uz istovremeno postizanje optimalne biokompatibilnosti. Biokompatibilnost se odnosi na reakciju izazvanu s materijalom kada je umetnut u tijelo.

Iako kardiovaskularni stentovi spašavaju brojne živote, ovi uređaji imaju mnoga ograničenja. Konkretno, pojavljivanje tromboze i restenoze. S obzirom na to da ti problemi proizlaze iz površinskih interakcija, tehnike za modifikaciju površine su aktivno područje trenutnog istraživanja. Postoje brojni načini za modifikaciju površine materijala kojima će se povećati funkcionalnost. Neke od njih su hrapavljenje površine strukturiranjem, kemijska modifikacija površine, nanošenje površinskih premaza i filmova, pričvršćivanje farmaceutika ili

biofarmaceutika na površinu, i formiranje poroznih površina kako bi se olakšala isporuka lijekova. [3]

U ovom radu fokus je bio na formiranju površinski aktivnih filmova karboksilnih kiselina, odnosno omega-3 masnih kiselina. Tijekom posljednjih nekoliko desetljeća kontinuirano raste interes za omega-3 masnim kiselinama i njihovom ulogom u prevenciji bolesti i očuvanju zdravlja. Ove masne kiseline poznate su po svojim pleiotrofnim učincima, uključujući protuupalno djelovanje, sprječavanje agregacije platela, blagi antihipertenzivni učinak i utjecaj na sniženje razine triglicerida. Upravo je akumulacija platela jedan od glavnih problema kod primjene stentova jer dovodi do ponovnog začepjenja krvnih žila te će se zbog toga u ovom radu ispitati mogućnost modifikacije površine metala koji se koriste za izradu implantata (nehrđajući čelik, nitinol i titan) omega-3 masnim kiselinama. [4]

2. TEORIJSKI DIO I CILJEVI RADA

2.1. Ciljevi rada

Cilj ovog rada je ispitati mogućnost formiranja površinski aktivnih filmova omega-3 masnih kiselina, poznate po svojim pleiotrofnim učincima, uključujući protuupalno djelovanje i sprječavanje agregacije platela, na metale koji se koriste za izradu implantata: nehrđajućeg čelika SS316L, titana te nitinola (legura nikla i titana). Modifikacija materijala je provedena s ciljem sprječavanja problema odbacivanja implantata radi upalnih djelovanja i zgrušavanje krvi kod stentova.

Svojstva modificiranih metalnih površina analizirana su elektrokemijskim metodama kako bi se utvrdio utjecaj filma masnih kiselina na korozivnu stabilnost metala. Osim primjenom elektrokemijskih tehnika, utjecaj omega-3 masnih kiselina se nastojao detektirati i analizom površine metala, uključujući pregled pretražnom elektronskom mikroskopijom (SEM), Fourier transformacijskom infracrvenom spektroskopijom (FTIR) te goniometrijom kako bi se dobile kvalitativne i kvantitativne informacije o sloju zaštitnog filma na površini ispitivanih materijala.

Krajnji cilj bio je na temelju rezultata primijenjenih tehnika, metoda i analiza detektirati nastanak i trajnost zaštitnih filmova masnih kiselina na površini metala te utvrditi da li poboljšavaju korozivnu otpornost titana, nehrđajućeg čelika i nitinola u fiziološkoj otopini.

2.2. Implantati u ljudskom tijelu

Materijali korišteni za izradu implantata nazivaju se biomaterijali zbog nužnosti da zadovoljavaju stroge biološke kriterije kod ugradnje. Metalni materijali se već desetljećima nalaze u ulozi biomaterijala. Najčešća primjena takvih implantata je u ortopediji gdje se svodi na pružanje potpore ili zamjene funkcije dijela lokomotornog sustava, odnosno kosti i zglobova (intramedularni čavli, segmenti endoproteza i dr.). Međutim ima takvi materijali imaju široku primjenu te se koriste i u oralnoj i maksilofacijalnoj kirurgiji (dentalni implantati, vijci, žice i sl.) te u kardiovaskularnoj kirurgiji (dijelovi elektrostimulatora, stentovi, srčani zalisci i dr.). [2]

Najčešće korišteni materijali za implantate su metalni materijali poput nehrđajućeg čelika (SS- austenitni i precipitacijski očvrnuti), titana i njegovih legura, superlegura na bazi kobalta (Co – Cr legure), biokeramika, kompozitnih materijala i polimera što je vidljivo iz tablice 1. [1]

Tablica 1. Materijali i njihova primjena u ortopediji [5]

Vrsta materijala	Primjena
<p>Metali</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Nehrđajući čelici (austenitni – AISI 316, 316L, 316 LVM, 316Ti, 32 ➤ Titan i titanove legure Ti, Ti-6Al-4V, Ti-6Al-7Nb ➤ Kobaltove superlegure Co-Cr Co-Cr-Mo ➤ Magnezij ➤ Tantal 	<p>Umjetni zglobovi, fiksatori prijeloma kostiju</p> <p>Umjetni zglobovi</p> <p>Umjetni zglobovi, fiksatori prijeloma kostiju</p> <p>Umjetni zglobovi</p> <p>Umjetni zglobovi</p>
<p>Keramike</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Aluminijev oksid - Al₂O₃ ➤ Cirkonijev oksid – ZrO₂ ➤ Kalcijev sulfat ➤ Kalcijev fosfat ➤ Ugljik 	<p>Dijelovi implantat kuka</p> <p>Dijelovi implantat kuka</p> <p>Dodatak za zarastanje kostiju</p> <p>Dodatak za zarastanje kostiju</p> <p>Prevlake ortopedskim implantatima</p>
<p>Polimeri</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Silikon ➤ Poliester ➤ Polietilen (PE) ➤ Polimetilmetakrilat (PMMA) 	<p>Zglobovi kostiju</p> <p>Fiksiranje prijeloma</p> <p>Dijelovi implantata koljena i kuka</p> <p>Koštani cement</p>

2.3. Nehrdajući čelik

Nelegirani čelici, ugljični čelici i ostali legirani čelici se ne mogu koristiti kao materijali u ortopediji radi podložnosti koroziji u prisutnosti agresivnih otopina koje sadrže kisik. Stoga se koriste nehrđajući čelici koji su legirani različitim elementima koji dovode do poboljšanja svojstva materijala. [6]

Nehrdajući čelik koji se primjenjuje u medicini kao biomaterijal sadrži 17-19% kroma, 13-15% nikla i 2-3% molibdena koji poboljšavaju otpornost na koroziju, a udio ugljika je ispod 0,03%. Najvrjednija značajka nehrđajućeg čelika uz mehaničku čvrstoću je njegova otpornost na koroziju. Glavne prednosti nehrđajućeg čelika su u tome što ga ima u dovoljnim količinama. Usprkos svojoj visokoj otpornosti na koroziju, čelici su izloženi konstantnoj koroziji, pojavi pittinga i dr. što može dovesti do prelaska metalnih iona u okolna tkiva s neželjenim biološkim posljedicama što u konačnici može dovesti do smanjenja mehaničke čvrstoće legure.

Prisutnost kroma dovodi do stvaranja samoobnavljajućeg pasivnog sloja na površini čelika što dovodi do sprječavanja daljnje difuzije kisika čime osigurava zaštitu od korozije u najvećoj mjeri. Nikal, kao legirajući element povećava otpornost i osigurava bolju obradivost čelika, pogotovo kaljenje. Isto tako, što je veći udio molibdena, veća je otpornost nehrđajućeg čelika na štetne utjecaje iona koji bi uzrokovali koroziju. [6,7] Budući da krom ima kubičnu volumno-centriranu strukturu (BCC), njegov dodatak stabilizira BCC strukturu željeza. Međutim, ugljik ima veliki afinitete prema kromu te dolazi do stvaranja karbida tipičnog sastava $Cr_{23}C_6$. Kao rezultat, ugljik penetrira u područja oko karbida, pri čemu se koncentracija kroma smanjuje jer stvara karbid što dovodi do smanjenja otpornosti na koroziju u području oko karbida. Prema tome, ugljik mora biti pod strogom kontrolom, ne smije prijeći 0,03%, jer je njegovo prisustvo nepoželjno. [8]

Različite medicinske naprave koje nisu namijenjene ugradnji u organizam, ali ipak dolaze u dodir s ljudskim tkivima, primjerice kirurški i stomatološki instrumenti, izrađuju se uglavnom od komercijalnih vrsta nehrđajućeg čelika. S druge strane, čelike za izradu implantata svrstavamo u posebnu kategoriju nehrđajućih čelika iz razloga što za njih vrijede posebni zahtjevi: izražena otpornost prema lokaliziranoj koroziji (*pitting*) i pukotinskoj koroziji (koroziji u procjepu) te ograničenja količine i veličine nemetalnih uključaka. Za kategoriju nehrđajućih čelika namijenjenih izradi implantata karakteristični su proizvodni postupci poput: taljenja u vakuumu, elektrolučnog pretaljivanja u vakuumu, elektrolučno rafiniranje pod troskom i dr. Sve redom postupci koji osiguravaju visok stupanj čistoće, kemijske i

mikrostrukturne homogenosti te homogenosti mehaničkih svojstava. Svi ovi postupci nisu osmišljeni specijalno za proizvodnju implantata, već se primjenjuju u svim slučajevima gdje proizvedeni dijelovi moraju funkcionirati u visokozahtjevnim uvjetima. [9]

2.3.1. Sastav i podjela nehrđajućeg čelika

Prema sastavu i strukturi nehrđajući čelici mogu biti feritni, austenitni, martenzitni, perlitni, te feritno – austenitni (duplex čelici). Kada govorimo o nehrđajućim čelicima kao biomaterijalima, najčešće korišteni čelici su austenitni i precipitacijski očvrnuti.

Austenitni nehrđajući čelici predstavljaju najveću grupu nehrđajućih čelika. Austenitne čelike karakterizira plošno centrirana kubična kristalna rešetka ili FCC (*eng. Face Centered Cubic*) koja ostaje nepromijenjena bez obzira na obradu materijala hlađenjem ili zagrijavanjem. Ovi čelici imaju odlična mehanička svojstva pri vrlo niskim temperaturama, a isto tako pri vrlo visokim temperaturama zadržavaju visoku čvrstoću i odličnu otpornost prema oksidaciji. Udio kroma kod austenitnih nehrđajućih čelika, čija je uloga da usporava potencijalne transformacije u neki drug tip kristalne rešetke prilikom ohlađivanja s visokih temperatura, kreće se u rasponu od 16 do 26%. Udio nikla iznosi $\leq 35\%$ čime je osigurano da austenitna faza ostane nepromjenjiva. Kao implantabilni materijali, nehrđajući austenitni čelici su vrlo popularni zbog svoje prihvatljive cijene, obnovljivosti standardnim tehnikama te mehaničkih svojstava koje je moguće prilagoditi širokom spektru zahtjeva na čvrstoću. [9,10] Unatoč pasivaciji, austenitni nehrđajući čelici nisu otporni na koroziju u dovoljnoj mjeri da bi u organizmu mogli ostati dulje vrijeme, već svoju primjenu danas najčešće nalaze kao privremeni fiksirajući elementi poput vijka za kosti, intramedularnih čavala, šipki i sl. Najrašireniji austenitni čelik za izradu implantata nosi oznaku 316L (18Cr-14Ni-2,5Mo), gdje L označava vrlo nizak udio ugljika, u cilju bolje otpornosti na koroziju i bolju zavarljivost. Za izradu implantata, 316L (*AISI – eng. American Iron and Steel Institute*) se podvrgava pretaljivanju u vakuumu, ponovno u cilju osiguranja maksimalne čistoće i odsutnosti feritne faze u strukturi, čime se povećava i otpornost prema koroziji. Uobičajeno se tip čelika 316L u proizvodnji implantata koristi u djelomično očvrnutom stanju jer takav ima više vrijednosti granice razvlačenja, vlačne čvrstoće i otpornosti prema umoru u odnosu na samo popušteno stanje. [9,10]

Precipitacijom očvrnuti, PH (*eng. Precipitation-Hardenable*) čelici su krom-nikal čelici koji mogu biti očvrnuti starenjem. Kada kažemo očvrnuti, u biti se govori o otežavanju plastičnog tečenja materijala, tj. o povišenju njegove granice razvlačenja (iznosa naprezanja

koje uzrokuje trajnu, plastičnu deformaciju). Ono što plastično tečenje čini mogućim jest slobodno kretanje dislokacija u mikrostrukturi. S obzirom na polaznu mikrostrukturu, razlikujemo martenzitne, poluaustenitne i austenitne PH čelike. [9,10]

Glavne prednosti nehrđajućeg čelika su u tome što ga ima u dovoljnim količinama što rezultira niskom nabavnom cijenom. Troškovi izradbe implantata su niski jer ne zahtijeva složene postupke oblikovanja u različite oblike. Međutim, glavni nedostatak mu je slaba otpornost na koroziju.

2.4. Titan i njegove legure

Titan je jedinstven materijal za zubne nadomjestke, krunice i mostove. Ne izaziva nikakve alergijske reakcije. Titan je tzv. reaktivni metal, koji na površini formira jedan od najotpornijih oksida. To krunu ili most štiti od oštećenja slatkom ili kiselim hranom, od agresivnih tjelesnih tekućina i od korozije. Titan je iznimno čvrst materijal, uz to, titan je neutralna okusa, tj. pacijentu se u ustima ne javlja okus metala, što se ponekad događa kod drugih metal-keramičkih krunica i mostova. [11]

Titan je dominantan materijal od kojeg se izrađuju zubni implantati. Glavni problem kod zubnih implantata je odbacivanje implantata, što se događa, između ostalog i zbog toga što dolazi do upalnih procesa te se pokušavaju razne metode da bi se to spriječilo.

Oseointegracija dentalnih implantata (srastanje s kosti) omogućuje čvrsto držanje titanskih vijaka u kosti. Oseointegracijska stopa titanovih dentalnih implantata je vezana uz njihov sastav i hrapavost površine. [12]

Neposredno nakon stavljanja implantata i nekoliko tjedana nakon ugradnje dentalnih implantata njihova stabilnost u kosti je čisto mehaničke prirode. Implantati imaju navoje, ležište implantata se pripremi ovisno o tvrdoći kosti tako da se implantati ugrađuju određenom silom. Nakon ugradnje dentalnih implantata dolazi do reakcije u okolnoj kosti te se čisto mehanička stabilnost smanjuje već dva tjedna nakon stavljanja implantata. No, otprilike istovremeno s gubitkom mehaničke stabilnosti razvija se biološka stabilnost. [12]

Zahvaljujući biokompatibilnosti titana i hrapavoj površini dentalnih implantata razvija se biološka stabilnost. „Hrapava“ površina implantata je pridjev iza koga stoje desetljeća intenzivnog istraživanja i eksperimentiranja, s ciljem dobivanja površine implantata koji će optimalno interreagirati s kosti. Posljednjih je godina napravljen veliki napredak u usavršavanju dizajna i površine implantata. Cilj je u što kraćem vremenu ostvariti što bolje

urastanje vitalnih koštanih stanica u mikrostrukturu površine dentalnih implantata. Govorimo o srastanju dentalnih implantata s kosti, o oseointegraciji.

Tercijarna stabilnost nastupa nakon funkcionalne integracije i opterećenja dentalnih implantata. Znači, nakon što su na implantate stavljene krunice, mostovi ili skeletirane proteze i implantati izloženi žvačnim silama. [12]

Osteokonduktivna prevlaka Ca-P promiče liječenje kosti i taloženje što dovodi do brze biološke fiksacije implantata. Korištene su različite metode za povećanje hrapavosti površine ili za primjenu osteokonduktivnih premaza za titanske dentalne implantate. [13]

Opisani su površinski premazi, kao što su: „*titanium plasma-spraying*“, „*grit-blasting*“, „*acid-etching*“, „*anodization or calcium phosphate coatings*“, kao i njihova odgovarajuća površinska morfologija i svojstva.

Većina tih površina su komercijalno dostupne i pokazale su kliničku djelotvornost (>95% više od 5 god). Komparativna klinička ispitivanja s različitim površinama usatka se rijetko izvode. Budućnost dentalne implantologije treba težiti razvijanju površine s kontroliranom ili standardiziranom topografijom ili kemijom. Ovaj pristup će biti jedini način da se razumije interakcija između proteina, stanica i tkiva, te implantatskih površina. [14] Ove terapijske strategije u konačnici trebaju poboljšati proces oseointegracije dentalnih implantata. [12]

Tablica 2. Površinska svojstva titanovih dentalnih implantata [12]

Tip implantata	Hrapavost površine (μm)	Kontaktni kut ($^{\circ}$)
Komercijalno čisti titan (cpTi)	$Ra = 0,22 \pm 0,01^*$	$55,4 \pm 4,1$
Stupanj 5 legure titana (Ti6Al4V)- legure titana s aluminijem i vanadijem	$Ra = 0,23 \pm 0,01^*$	$56,3 \pm 2,7$
TPS (Titanium plasma spray coated surface)	$Ra = 7,01 \pm 2,09$	n.d.
SLA –hrapavljenje implantata pjeskarenjem	$Ra = 1,15 \pm 0,05$	$138,3 \pm 4,2$
Modificirani SLA	$Ra = 1,16 \pm 0,04$	0
Plasma prskanje implantata hidroksiapatitom	$Ra = 1,06 \pm 0,21$	$57,4 \pm 3,2$
Biomimetička Ca-P prevlaka	$Ra = 1,83 \pm 0,64$	$13,4 \pm 0,17$

* obrađene i polirane površine ; Ra – prosječna hrapavost

U implantologiji se najčešće rabe slitine titana s aluminijem i vanadijem (Ti-6Al-4V). Međutim, vrijednost njihovih modula elastičnosti ipak je značajno viša od vrijednosti modula elastičnosti ljudske kosti. Osim toga, istraživanja su pokazala da je vanadij izuzetno toksičan pa se iz tog razloga intenzivno radi na razvoju novih legura koje sadrže elemente koji ne bi bili toksični za ljudski organizam.

Loša svojstva titana su visoko talište, što zahtijeva posebnu tehnologiju obradbe, niski modul elastičnosti, kemijska reaktivnost taline s kisikom, vodikom i dušikom te srebrnobijela boja koja daje neestetski izgled. U nekim slučajevima zbog gubitka marginalne kosti i recesije mekih tkiva može doći do otkrivanja metalnog dijela implantata. Oksidacija prilikom taljenja uzrokuje poroznost, a reakcija taline s fosfatnim materijalima za ulaganje uzrokom je krhkosti odljeva. Titan ima mali toplinski koeficijent rastezanja, što stvara probleme pri spajanju titana s keramičkim estetskim materijalima. Reagira s fluoridima koji se upotrebljavaju u svrhu prevencije karijesa, a to je uzrokom promjene boje i korozije titanskoga rada. [15]

2.5. Nitinol

Nitinol, je približno ekvatomaska legura nikla i titana. Nitinol kombinira dvije usko povezane jedinstvene karakteristike: 'pamćenje' oblika (memorijska legura) i superelastičnost. Karakteristika 'pamćenja' oblika daje mu mogućnost da se deformira na jednoj temperaturi, a zatim se vrati u svoj prvobitni oblik kada se zagrije do temperature transformacije. Nitinolna žica se koristi za izradu implantata koji mogu biti isporučeni u tijelo u kompaktnom obliku, a zatim se aktivirati u njihovom funkcionalnom obliku nakon što su raspoređeni u tijelu. Nitinol je memorijska legura što znači da se promjena kristalne strukture odvija između martenzitne i austenitne strukture. Martenzitna struktura nitinola je mekana i lako se deformira što ju čini bitnim materijalom za implantate za mekana tkiva kao što su arterijski stentovi. Nitinolni eksponati su superelastični, 10 puta više od najboljeg nehrđajućeg čelika koji se koristi danas u medicini. Superelastičnost se odvija na temperaturama odmah iznad temperature transformacije. [16]

Poznavanje i predviđanje elektrokemijskih procesa nužan je preduvjet za dizajniranje i optimiranje biokompatibilnih prevlaka na nitinolu. Elektrokemijske metode se koriste za in-vitro istraživanja reaktivnosti nitinola i za funkcionaliziranje njegove površine. Biokompatibilnost nitinola je ispitivana s posebnom pozornošću radi nikla, zbog otapanja u ljudskom tijelu što može dovesti do infekcija i odbacivanja implantata. Kako bi se to spriječilo, korišteni su različiti tretmani površine, kao što su laserski tretman plazme, ionska implantacija, samoorganizirajući monoslojevi organskih kiselina, elektropoliranje, jetkanje u

kiselinama, hidroksiapatitni premazi, anodna oksidacija, itd. Anodna oksidacija se pokazala ekonomski najprihvatljivijom metodom modificiranja i kontroliranja površine. Cilj je potenciostatski stvoriti zaštitni film oksida na nitinolu. [17]

2.6. Zaštita biomaterijala od korozije

Korozija, tj. postupno propadanje materijala elektrokemijskim napadom je od velike važnosti naročito kada je neki metalni implantat smješten u neprijateljskom elektrolitičkom okolišu ljudskog tijela. Naime, vodeni medij u ljudskom tijelu se sastoji od različitih aniona kao što je klorid, fosfat i bikarbonatni ion te kationa kao što su Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , organske tvari niske molekulske mase, polimerne komponente relativno visoke molekularne mase i otopljeni kisik. Promjene pH vrijednosti također utječu na koroziju. Iako, pH vrijednost ljudskog tijela obično oko 7.0, ta vrijednost se mijenja zbog neravnoteže u biološkom sustavu zbog bolesti, infekcija i drugih čimbenika.

Dakle postoje brojni čimbenici koji mogu uzrokovati brzo propadanje biomaterijala, prema tome, glavni cilj je kvalitetna zaštita biomaterijala od korozije. Metalne materijale se od korozijskih procesa može zaštititi obradom površine, upotrebom prevlaka te elektrokemijski. Svojstva površinskih slojeva konstrukcijskih metala često određuju njihovu vrijednost jer ona presudno utječu na trajnost u eksploataciji, a time i ekonomičnost primjene. Zato se posvećuje sve veća pažnja inženjerstvu površina i tehnologijama površina. [18]

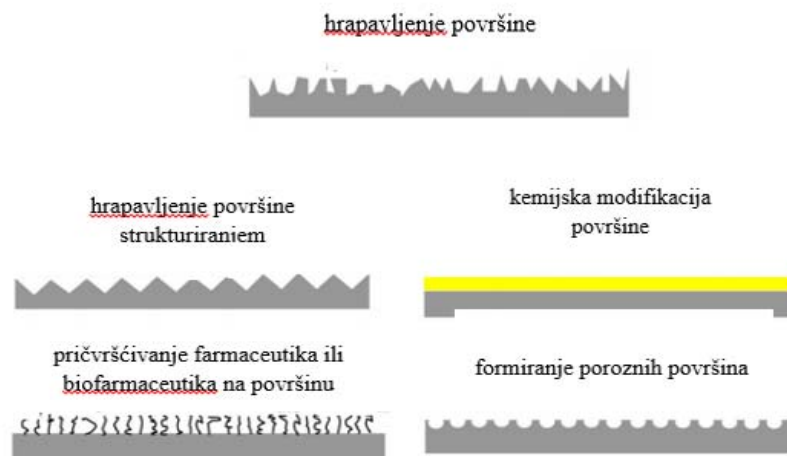
2.6.1. Modifikacija površine implantata

Materijali od kojih su izrađeni implantati su u stalnom kontaktu s agresivnim tjelesnim tekućinama zbog čega često slabe ili u konačnici propadaju zbog korozije. Ponašanje korozije različitih implantata i uloga oksidnog filma na površini te produkti, najviše utječu na neuspjeh implantata. Kako bi se poboljšao životni vijek implantata vrši se modifikacija površine implantata, što se smatra da je najbolje rješenje za borbu protiv korozije i povećanje biokompatibilnosti. [5]

Modifikacija površine se rješava raznim tehnikama prikazanim na slici 1.:

- hrapavljenje površine
- hrapavljenje površine strukturiranjem
- kemijska modifikacija površine
- nanošenje površinskih premaza i filmova
- vezanje farmaceutika ili biofarmaceutika na površinu
- formiranje poroznih površina kako bi se olakšala isporuka lijekova.

Ovim tehnikama omogućavamo bolja mehanička svojstva i poboljšanu biokompatibilnost. [5]



Slika 1. Tehnike korištene za modifikaciju površine pomoću kojih se smanjuje tromboza ili restenoza. [5]

2.6.1.1. Podjela tehnika modificiranja površine implantata

Tehnike modificiranja površine implantata mogu se podijeliti na aditivne i ablativne tehnike.

Ablativne tehnike uklanjaju materijal s površine implantata stvarajući pore. To su tehnike hrapavljenja pjeskarenjem, jetkanjem, anodizacijom, kugličarenjem i laserom, a sve imaju za cilj povećanje površine implantata i poboljšanje oseointegracije. [20]

2.6.1.1.1. Hrapavljenje površine

Općenito, neravna površina povećava površinu materijala i ograničuje kretanje stanica, što pridonosi pojačanom vezanju stanica. Osim toga, hrapava površina modificira površinu bez kemijske promjene, što može imati prednosti, ovisno o tvari i željenoj upotrebi.

a) Hrapavljenje implantata „grit-blasting“-om

Pjeskarenje je postupak kojim se dobije hrapava površina implantata sudaranjem s mikroskopskim česticama koje se nanose velikom brzinom pomoću komprimiranog zraka. Može se dobiti različita površinska hrapavost, a karakteristike površine dobivene pjeskarenjem ovise o vrsti čestica, tvrdoći, veličini i brzini sudara. Postupak se obično provodi česticama aluminijevog (Al_2O_3) ili titanovog oksida (TiO_2) veličine oko 25 nm. Međutim, one mogu kontaminirati površinu implantata i ostati trajno ugrađene čime mogu ugroziti oseointegraciju. [20,21]

b) hrapavljenje implantata nagrivanjem kiselinom

Nagrivanjem kiselinom površina implantata postaje hrapava. Površina se povećava bez onečišćenja čistog titana mikročesticama. Zajednička primjena klorovodične i sumporne kiseline najpouzdanija je do sada istražen metoda nagrivanja koja osigurava ravnomjerno hrapavu površinu s porama od 0,3-1,5 mikrometara širine i 1-2 mikrometra dubine. Ova struktura odgovara ponašanju koštanog matriksa. Kod najnovijih generacija implantata nahrapavljenih pjeskarenjem i nagrivanjem posebnim postupkom, omogućuje se brža oseointegracija. To znači da je vrijeme čekanja između kirurškog i protetičkog zahvata znatno kraće, i to gotovo dvostruko. [14]

c) hrapavljenje implantata anodizacijom

Anodna oksidacija jedna je od najčešće korištenih tehnika za stvaranje nanostrukture s promjerom manjim od 100 nm na titanskim implantatima. Rezultat anodizacije je zadebljanje oksidnog sloja. Kada se jake kiseline koriste u elektrolitskoj otopini, sloj oksida se djelomično otapa i oblikuje nanoporoznu površinu titana koja pozitivno utječe na koštani odgovor. [22]

d) hrapavljenje površine kugličarenjem

Kugličarenje je tehnika slična pjeskarenju. To je proces bombardiranja površine implantata malim sferičnim medijem. Svaki djeluje kao maleni čekić ostavljajući udubine, ali se snaga, intenzitet i smjer hrapavljenja mogu kontrolirati. [20]

e) hrapavljenje površine laserom

Uporaba lasera tehnika je kod koje nema izravnog kontakta, medija ni kontaminacije. Laserska zraka širine 3 do 5 mm visokog intenziteta pulseva ($5 - 15 \text{ W cm}^{-2}$) u trajanju od 10 do 30 ns uzrokuje nastajanje pravilnog saćastog uzorka s mikroporama. [20]

f) hrapavljenje implantata od titana plazma prskanjem („*spray-coating*“) - TPS

Plazma za obradu površine implantata proizvodi se u uređaju poznatom kao plazma baklja ili jednostavno plazma pištolj. On pretvara električnu energiju u toplinsku energiju plina (argon, vodik ili helij) zbog čega dolazi do njegove ionizacije. Prah titanovih čestica ubrizgava se u plamen plazme, gdje se zagrijava ($15.000-20.000^\circ\text{C}$) i ubrzava do te mjere da se može raspršiti s udaljenosti od 25 do 200 mm. Zagrijane čestice velikom brzinom (3.000 m s^{-1}) udaraju o hladnu površinu implantata i hlade se formirajući prevlaku debljine od oko 30 mikrometara. Rezultat je značajno povećanje površine te se preporučuje za područja s niskom gustoćom kosti. Tijekom ovog postupka materijal od kojeg je izrađen implantat ne zagrijava se čime se izbjegavaju njegove bilo kakve strukturne promjene, koje bi utjecale na promjenu mehaničkih svojstava. [20,22,23]

Često se za raspršivanje koriste i čestice hidroksilapatita koji svojim sastavom i strukturom omogućava specifičan biološki odgovor organizma na međupovršini materijala implantata i same kosti. Hidroksiapatit zbog svoje biokompatibilnosti, bioaktivnosti koja uzrokuje brže cijeljenje i bolju mehaničku fiksaciju, omogućava manje habanje i veću trajnost implantata. Mikrostrukturne karakteristike ovise o uvjetima nanošenja prevlake na supstrat, a mogu se poboljšati dodavanjem vezivnog međusloja koji će utjecati na strukturu i smanjiti količinu amorfnе faze na granici metal-hidroksilapatit. Bez obzira na kliničku uspješnost postoje i nedostaci plazma raspršivanja, kao što su varijacije u sastavu i debljini nanesenog sloja i nemogućnost dugotrajnog prijanjanja na površinu materijala koji mogu predstavljati opasnost za zdravlje i utjecati na stabilnost implantata. [23,24]

2.6.1.1.2. Hrapavljenje površine strukturiranjem

Hrapavljenje površine strukturiranjem nudi organizirano hrapavljenje što mijenja površinu materijala tako da strukturiranja mogu prigušiti nespecifične interakcije protein-površina. Ovakve tehnike modifikacije površine koriste se kako bi se poboljšala povezanost endotelних stanica, što utječe na zacjeljivanje krvnih žila. [5]

2.6.1.1.3. Kemijska modifikacija površine

Kemijske metode za modifikaciju kemijski mijenjaju površinu materijala bez znatnog utjecaja na ukupna svojstva. Postoje postupci kemijskog prevlačenja u parnoj fazi CVD (*eng. Chemical Vapour Deposition*) i fizikalnog prevlačenja u parnoj fazi PVD (*eng. Physical Vapour Deposition*) te plazmom potpomognuti postupci kemijskog prevlačenja u parnoj fazi PACVD (*eng. Plasma Assisted Chemical Vapour Deposition*).

Kemijsko prevlačenje iz parne faze, CVD je metoda za dobivanje gustih strukturalnih dijelova ili prevlaka. Predstavlja niz kemijskih reakcija koje transformiraju plinske molekule i metalne čestice u čvrsti materijal, u obliku tankog sloja, na površinu supstrata (osnove). CVD postupak je vrlo prilagodljiv i koristi se za proizvodnju prevlaka, prahova, vlakana i dr.

PVD je tzv. fizikalni postupak nanošenja prevlaka iz parne faze. To znači da se deponirani materijal, dobiven na fizikalni način, iz čvrste faze prenosi (naparivanjem ili zaprašivanjem) u parnu fazu, od izvora kroz vakuum ili plazmu na osnovni materijal, gdje se naknadno parna faza kondenzira u obliku tankog filma. Ovim se postupkom mogu postići tanke prevlake od gotovo svih elemenata. Zaštitnom se prevlakom mogu poboljšati svojstva nehrđajućih čelika, aluminijskih, magnezijevih i Ti legura. Bitne pretpostavke za dobivanje tankih slojeva PVD postupcima su dovoljno dobra prionjivost između sloja prevlake i osnovnog materijala te kompaktna morfologija sloja (kompaktni fini kristalni stupnjeviti rast kristala u slojevima).

Također, jedna od metoda za kemijsku modifikaciju površine su samoorganizirajući monoslojevi (SAM). SAM iskorištava visoki kemijski afinitet takozvanih „sidrenih grupa“, tj. adhezijskih grupa molekula kojima se prekriva površina obrađivane površine. [5]

Kemijska modifikacija površine metala samoorganiziranjem je nova ohrabrujuća tehnologija u zaštiti od korozije, koja može zamijeniti prije korištene, za okoliš neprihvatljive postupke obrade površine. Zbog visokog privlačnog djelovanja među molekulama, SAM nadilazi efekte korozijske zaštite uobičajeno korištenih inhibitorskih molekula. [25]

2.6.1.1.4. Vezanje farmaceutika ili biofarmaceutika na površinu

Sposobnost tvari da se vežu na površinu materijala zadržavajući svoja svojstva jedan je od razloga zbog čega tehnika, vezanja farmaceutika na površinu materijala pogodna za isporuku lijeka ili biomolekula. Bioaktivni spoj može biti vezan preko elektrostatskih interakcija, interakcija ligand-receptor ili kovalentno vezan, pri čemu su kovalentne veze najčešće jer su najčvršće i najstabilnije. CVD tehnika se ne koristi samo kako bi se poboljšala biokompatibilnost, već se može koristiti za stvaranje veze skupine proteina na površini polimera i druge biomolekule putem kovalentnih veza. Biomolekule vezane na površinu materijala pomažu u kontroli ponašanja stanica ili omogućavaju izravno signaliziranje stanica

što omogućava smanjenje mogućih defekata. Također, dodavanjem (bio) farmaceutika i (bio) molekula na površinu materijala osigurava se lokalizirana isporuka molekule ili lijeka bez promijene njihovih svojstava. [5]

2.6.1.1.5. Formiranje poroznih površina

Kao što je već spomenut, stentovi se mogu modificirati lijekovima za poticanje ozdravljenja žile. Lijekovi koji se koriste na ovaj način mogu biti vezani izravno na površinu stenta, ili mogu biti uključeni u površinu stenta pomoću pore koja služi poput nosača lijeka sve do njegove isporuke. Porozni stentovi dopuštaju ugradnju lijeka bez dodatne polimerne obloge. Postoje razne modifikacijske tehnike za podešavanje površine s ciljem isporuke lijeka na predviđeno mjesto bez njegovog prethodnog raspadanja. Upotreba fotolitografije ili meke litografije za stvaranje pora u polimernim površinama uzorka ili izrada poroznih mikro- ili nano-čestice za ugrađivanje na polimernu podlogu za primjenu lijeka su jedne od metoda. Stentovi s poroznim prevlakama od hidroksiapatita su pokazali obećavajuće rezultate za isporučivanje lijeka.

Iako su se mnoge tehnike modifikacije površine razvile u nastojanju da se stvore bolji i funkcionalniji stentovi, idealna modifikacija površine ostaje nedostižna. Kako raste potreba za kardiovaskularnim stentovima, tako raste i potreba istraživanja u ovom području, stoga samoorganizirajući monoslojevi imaju veliki potencijal da postanu često korištena tehnika za modifikaciju površine materijala s obzirom na brojne prednosti koje nudi. [5]

Površina implantata može biti glatka ili hrapava. Hrapavost se ostvaruje površinskom obradom: pjeskarenjem i jetkanjem, laserskom obradom ili nanošenjem sloja nekog materijala. Površina implantata se povećava hrapavošću, čak 6 do 10 puta, ubrzava se proces oseointegracije te se ostvaruje i dodatna mehanička veza s okolinom. Danas se upotrebljavaju implantati s hrapavom površinom, bez nanošenja sloja drugog materijala. Pokazalo se da zbog deformacije metalnih implantata pri djelovanju žvačnih sila, dolazi do lomljenja i dislokacije fragmenata površinski nanesenog materijala s implantata. Time mogu nastati uvjeti za iritaciju okolnog tkiva, ulazak mikroorganizama, periimplantitis, s mogućom posljedicom gubitka implantata. Potpuno metalni implantati hrapave površine (bez površinskog sloja drugog materijala) su nešto lomljiviji u usporedbi s metalnim implantatima glatke površine. [19]

2.7. Samoorganizirajući monoslojevi

Modificiranje metalne površine prevlakama je najčešća metoda zaštite metala od korozije. U novije vrijeme istražuje se mogućnost prevlačenja površine implantata tankim filmovima

organskih molekula- samoorganizirajućim monoslojevima. Oni mogu služiti za zaštitu od korozije, ali i za modifikaciju drugih važnih svojstava površine kao što je primjerice hidrofobnost.

Organizirani sloj amfifilnih molekula u kojoj jedan kraj molekule, "glava" pokazuje reverzibilni afinitet za supstrat dok rep sadrži na svome termalnom kraju funkcionalne skupine. Samoorganizirajući monoslojevi (SAM) formiraju se adsorpcijom adhezijske skupine dugolančane organske molekule na odgovarajući supstrat jednostavnim procesom uranjanja. Uređenost monosloja ovisit će o prirodi kemijske interakcije između supstrata i adhezijske skupine, kao i o jačini intermolekularnih interakcija između alkilnih lanaca adsorbiranih molekula. Završna funkcionalna skupina SAMa određuje međufazna svojstva monosloja: hidrofobni/hidrofilni karakter površine, površinski naboj i reaktivnost. SAM-ovi od alkilklorosilana, alkilalkoksisilana i alkilaminosilana zahtijevaju hidroksilirane površine kao podlogu za njihovo oblikovanje. Pokretačka snaga za ove samoorganizirajuće monoslojeve je in situ nastajanje polisiloksana, koji je vezan za površinu silanolne skupine (-SiOH) preko Si-O-Si veza. Podloge za pripremu ovih pojedinačnih slojeva su silicijev oksid, aluminijev oksid, kvarc, staklo, tinjac, cink-selenid, germanij oksid i zlato. Samoorganizirajući monoslojevi koji se koriste su monoslojevi masnih kiselina, organosilicijevi derivati, alkilni monoslojevi na siliciju, višeslojni difosfati, organosulfatni adsorbati na metalnim i poluvodičkim površinama.[26]

2.8. Karboksilne kiseline

Karboksilne kiseline su organski spojevi koji u svojoj molekuli sadrže jednu ili više karboksilnih skupina. Opća formula je R-COOH, pri čemu je R- alkil, a -COOH karboksilna skupina karakteristična za sve karboksilne kiseline. Nazivaju se još i masne kiseline, jer su prvi put izolirane iz prirodnih izvora, hidrolizom masti i voskova.

Alifatske ravnolančane monokarboksilne kiseline (s jednom karboksilnom skupinom) nazivaju se masnim kiselinama, a esteri viših masnih kiselina s glicerolom osnovni su sastojci masti i ulja. Masti i ulja prirodni su esteri trovalentnog alkohola glicerola i triju više masnih kiselina s parnim brojem ugljikovih atoma.

Fizikalna svojstva masnih kiselina ovise o duljini lanca, stupnju nezasićenosti i razgranatosti lanca. Karboksilne kiseline samo su djelomično disocirane u vodi i u usporedbi s jakošću anorganskih kiselina ubrajaju se u slabe kiseline.

Razlikuju se dvije grupe masnih kiselina: zasićene i nezasićene masne kiseline. Zasićene masne kiseline ne sadrže dvostruke kovalentne veze ili druge funkcionalne skupine u molekularnom lancu. Zasićenost se odnosi na vodik koji se u maksimalnom mogućem broju veže na ugljikove atome u lancu osim kod karboksilne skupine. Kod nezasićenih masnih kiselina postoji jedna ili više alkenih funkcijskih skupina unutar lanca gdje svaki alken zamjenjuje jednostruku ugljikovu vezu s dvostrukom vezom, što znači da dva atoma ugljika dijele dva elektronska para u kovalentnoj vezi. [27]

2.8.1. Omega-3 masne kiseline

Esencijalne višestruko nezasićene masne kiseline mogu se podijeliti u dvije skupine: omega-3 masne kiseline i omega-6 masne kiseline. Esencijalne masne kiseline ne mogu se sintetizirati u organizmu, te ih je stoga potrebno unositi hranom. Ljudskom organizmu nužne su dvije nezasićene masne kiseline: linolna i α -linolenska; prva je omega-6 nezasićena masna kiselina, a druga je omega-3 nezasićena masna kiselina. Enzimskim reakcijama u organizmu one se konvertiraju u višestruko nezasićene masne kiseline (NMK) duljih lanaca, odnosno dolazi do uvođenja novih dvostrukih veza. Naoko male strukturne razlike dviju NMK uzrokuju različito ponašanje u organizmu. Dok nusprodukti razgradnje omega-6 kiselina uzrokuju upalne procese, zgrušavanje krvi, omega-3 kiseline djeluju potpuno suprotno. [28]

Omega-3 masne kiseline često se opisuju kao dragocjene masnoće zbog povoljnog djelovanja na zdravlje: u prvom redu štite srce i krvne žile spuštanjem razine triglicerida, modulacijom upale i antiaritmijskim djelovanjem. Tijekom posljednjih nekoliko desetljeća kontinuirano raste interes za omega-3 masnim kiselinama, kao i za njihovom ulogom u prevenciji bolesti i očuvanja zdravlja. Ključna uloga omega-3 masnih kiselina je u njihovoj mogućnosti smanjenja upalnih procesa u tijelu i sprječavanju nastajanja krvnih ugrušaka te imaju zaštitno djelovanje protiv degenerativnih bolesti.[28,29]

Podjela omega-3 masnih kiselina:

1. ALA – α -linolenska kiselina: 18 C atoma (laneno ulje, zeleno lišće, orasi i sl.)
2. EPA – eikozapentaenska masna kiselina: 20 C atoma (ribe hladnih mora i morska hrana)
3. DHA – dokozaheksaenska masna kiselina: 22 C atoma (alge, morsko raslinje)

Mehanizam zdravstvenih učinaka omega-3 masnih kiselina vezan je za njihovu ugradnju u membranske fosfolipide, a rezultat je smanjena sinteza eikozanoida. Eikozanoidi su parakrini

(s lokalnim djelovanjem) hormoni s brojnim funkcijama poput toga da osiguraju permeabilnosti krvnih žila, grušanje krvi, stvaranje krvnih pločica i utječu na upalne procese. Upalni procesi su podloga brojnih kroničnih bolesti. Postoje dobri (omega-3) i loši eikozanoidi (omega-6), a razlika je u djelovanju na intenzitet upalnog procesa, nakupljanju trombocita i stvaranju ugrušaka. Nama su zanimljivi dobri eikozanoidi koji djeluju protuupalno.

Omega-3 masne kiseline pokazuju povoljan učinak na reumatske bolesti. Studije na životinjama pokazale su da unos omega-3 masnih kiselina može odgoditi pojavu simptoma artritisa, smanjiti njihov intenzitet te poboljšati pokretljivost zglobova. Drugim riječima, omega-3 fosfolipidi smanjuju razinu medijatora upale (eikozanoida i citokina). [28,29]

Esencijalne masne kiseline čine strukturne komponente svih tkiva te su neophodne za sintezu staničnih membrana. ALA se tijelu može konvertirati u EPA i DHA što je vrlo važno jer je EPA prekursor u nastanku tvari sličnih hormonima-eikozanoida, koji djeluju u stanicama koje ih sintetiziraju ili u susjednim stanicama. Procesu na koje eikozanoidi djeluju uključuju: migraciju kalcija i ostalih tvari unutar i izvan stanica, opuštanje i kontrakciju mišića, sprječavanje i poticanje zgrušavanja, regulaciju lučenja probavnih sokova i hormona, diobu i rast stanica. U Eikozanoide spadaju i prostaglandini, leukotrieni i tromboksani. EPA je prekursor serije-3 prostaglandina i serije-5 leukotriena, a adekvatno stvaranje serije-3 prostaglandina, kako je pokazano, ima važnu ulogu u zaštiti od srčanog udara, kao i u zaštiti od određenih upalnih bolesti poput reumatoidnog artritisa, lupusa i astme. EPA također utječe na metabolizam lipoproteina te smanjuje stvaranje brojnih tvari – citokina, interleukina 1 β (IL-1 β), te čimbenika nekroze tumora α (TNF- α) koji imaju proinflamatorno djelovanje. DHA je prekursor metabolita 10,17S – dokozatriena, koji je dio obitelji „resolvina“. Oni pak u mozgu predstavljaju odgovor na ishemijski inzult i suprotstavljaju se pro-upalnom djelovanju leukocita. DHA nadalje ima esencijalnu ulogu u razvoju i funkciji retine i mozga. dokazano je da omega-3 masne kiseline pozitivno utječu na smanjenje razine triglicerida u krvi i posljedično na smanjenje tromboze, na smanjenje povišenog krvnoga tlaka te da sprječavaju srčanu aritmiju. [30,31]

Upala se danas smatra glavnim čimbenikom koji doprinosi mehanizmima u podlozi ateroskleroze, a terapije s omega-3 masnim kiselinama povezuju se sa smanjenjem razine TNF-alfa i interleukina-1-beta u plazmi, što ukazuje na protuupalno djelovanje. Neželjeni učinci unosa omega-3 masnih kiselina su minimalni, a mogu uključiti blage gastroenterološke

smetnje, međutim krvarenje uzrokovano unosom omega-3 masnih kiselina za sada je teorijska nuspojava te njen klinički značaj nije dokazan čak ni pri unosu visokih doza. [30,31,32]

3. MATERIJALI I METODE RADA

3.1. Provedba eksperimenta

3.1.1. Postupak pripreme radnih elektroda

Uzorci metala, nehrđajućeg čelika 316L i titanove legure, pripremaju se na isti način. Prvi korak u pripremi uzoraka je rezanje uzoraka određenih dimenzija na strojnoj pili. Zatim se izrezani metal zavari na bakrenu žicu te tako pripremljen uzorak se pomoću kalupa zalijeva dvokomponentnom epoksidnom smolom i suši 24 sata. Nakon otvrdnjivanja smole, uzorak se mehanički obrađuje brusnim papirom, granulacije 80, 120, 400, 800, 1200 i 2400 te je završni korak poliranje glinicom. Uzorak nitinola se pripremio na način da se obradio brusnim papirom granulacije 80,120,400,800.

Izložena površina uzorka nehrđajućeg čelika iznosi $1,13 \text{ cm}^2$, uzorka titana $0,785 \text{ cm}^2$, a uzorka nitinola 1 cm^2 .

3.1.2. Postupak pripreme otopina

Za pripremu zaštitnih slojeva masnih kiselina korišten je komercijalni preparat, Biofarm Natura line Omega-3 koji po kapsuli sadrži 650 mg alfa linolenske kiseline (ALA). Ispitivane su različite koncentracije omega-3 masne kiseline koje su pripravljene otapanjem kapsula u 96% etanolu.

- koncentracija A $\rightarrow 2,6 \text{ g L}^{-1} \rightarrow 0,4 \text{ kapsule/100ml}$
- koncentracija B $\rightarrow 6,5 \text{ g L}^{-1} \rightarrow 1 \text{ kapsula/100 ml}$
- koncentracija C $\rightarrow 1,6 \text{ g L}^{-1} \rightarrow 0,25 \text{ kapsule/100 ml}$
- koncentracija D $\rightarrow 13 \text{ g L}^{-1} \rightarrow 2 \text{ kapsule/100 ml}$

3.1.3. Postupak formiranja samoorganizirajućih monoslojeva

Nakon poliranja uzorci su odmašćeni etanolom u ultrazvučnoj kupelji te potom isprani vodovodnom vodom, a zatim redestiliranom vodom. Potom su uzorci stavljeni na oksidaciju pri temperaturi od 80°C u vremenu od 24 h. Nakon formiranja oksidnog sloja izvršena je adsorpcija kiseline na oksidiranu površinu uzoraka u peći u vremenskom periodu od 20 h pri temperaturi 40°C . Postupak završava sušenjem u peći u vremenskom intervalu od 5 h pri temperaturi od 50°C . Nakon formiranja monosloja, elektrode se uranjaju u fiziološku otopinu, odnosno 0,9 % otopinu NaCl - a.

3.2. Elektrokemijski korozijski procesi

Ljudsko tijelo je moguće poprište brojnih elektrokemijskih procesa, pa i elektrokemijske korozije. Pri tome tjelesne tekućine predstavljaju elektrolit, a različiti materijali od koji su izgrađeni implantati predstavljaju elektrode na kojima se odvijaju elektrokemijske reakcije, pri čemu se u tijelo otpuštaju različiti ioni koji mogu narušiti biokompatibilnost. [2]

Elektrokemijska korozija je proces koji uključuje najmanje dvije elektrokemijske reakcije, oksidaciju i redukciju. Oksidacija je proces otpuštanja, a redukcija proces primanja negativnog električnog naboja (elektrona). Reakcija oksidacije se u korozijskim procesima odnosi na oksidaciju metala, primjerice:



Sekundarnim reakcijama mogu nastati korozijski produkti, koji ili omogućuje daljnju koroziju na tim mjestima (slabo prijanjajući korozijski produkti – hrđa) ili usporavaju daljnju koroziju (zaštitni, slabo topivi korozijski produkti, npr. karboksilne kiseline).

Ovisno o svojstvima materijala i karakteristikama medija u kojem se odvija korozija ona se može manifestirati kroz različite oblike korozijskog oštećenja. Opća korozija je najčešća vrsta koja pogađa sve metale, a odvija se po cijeloj površini metala. Kod jamičaste korozije, intenzitet korozije je pojačan, naime korozija će se dogoditi samo na određenim dijelovima površine materijala, no ona će prodrijeti duboko u strukturu materijala. Lokalizirana korozija pojaviti će se ukoliko postoji nehomogenost u sastavu materijala ili okoline. [33,34]

Korozijska stabilnost metala koji formiraju zaštitni pasivni sloj (nehrđajući čelici, titanove legure, nitinolne žice) ovisi o stabilnosti tog sloja. On je u principu stabilan do određenog anodnog potencijala, odnosno do potencijala pucanja pasivnog sloja, pri kojem dolazi do oštećenja pasivnog sloja i razvoja korozije. Kod potencijala negativnijih od potencijala pucanja pasivnog filma može doći do repasivacije. Drugim riječima, dolazi do obnavljanja zaštitnog pasivnog filma i usporavanja korozije. Oksidni film koji se formira na površini biomaterijala pokazuje dobru kemijsku stabilnost u brojnim medijima. Recimo, u vodenim otopinama koje sadrže kloride, npr. fiziološkoj otopini zamijećena je pojava pucanja pasivnog filma, ali i brz proces repasivacije. [33,34,35]

Intenzitet korozije se može pratiti mjerenjem količine otpuštenih iona nakon izlaganja korozijskom mediju kao i elektrokemijskim metodama. Elektrokemijska priroda procesa korozije omogućava primjenu različitih elektrokemijskih mjernih tehnika za određivanje

intenziteta korozije. U ovom radu korištene su tehnike s istosmjernom strujom (DC–tehnike, *engl. direct current technics*) i tehnike izmjeničnom strujom (AC–tehnike, *engl. alternating current technics*). [2,34,35]

Uzorci su podvrgnuti elektrokemijskim ispitivanjima, odnosno metodama Tafelove ekstrapolacije, linearne polarizacije i elektrokemijske impedancijske spektroskopije. Polarizacijska mjerenja koje koriste potenciostatske tehnike imaju mogućnost karakterizacije korozijskog ponašanja materijala. Ispitivanja se provode u troelektrodnom sustavu, u kojem je radna elektroda metal, odnosno legura koja se istražuje, inertna protuelektroda se koristi za zatvaranje strujnog kruga i najčešće je od platine ili grafita, a referentna elektroda je tipična zasićena kalomel elektroda (ZKE).

3.2.1 Elektrokemijska korozijska ispitivanja istosmjernom strujom, DC–tehnike

Pri elektrokemijskim ispitivanjima korozije DC–tehnika, upotrebljavaju se polarizacijske metode mjerenja (potenciostatske i galvanostatske metode). Potenciostatska metoda temelji se na zadavanju u svakoj pojedinoj mjernoj točki konstantni potencijal između radne (ispitivane) elektrode i neke referentne elektrode, te mjerenju pripadajuće vrijednosti struje koja teče između radne elektrode i protuelektrode. Galvanostatska metoda temelji se na zadavanju konstantne vrijednosti struje koja prolazi u strujnom krugu između radne elektrode i protuelektrode, te mjerenju odgovarajućih vrijednosti potencijala između ispitivane i referentne elektrode. Cilj mjerenja je snimanje krivulja polarizacije struja-napon. Na temelju anodnih i katodnih krivulja dobiva se slika o korozijskom ponašanju određenog materijala u određenom mediju. Na potenciostatskoj polarizaciji osniva se više metoda za određivanje brzine korozije, poput Tafelove ekstrapolacije i određivanje polarizacijskog otpora. [33,34]

3.2.1.1. Metoda Tafelove ekstrapolacije

Metoda Tafelove ekstrapolacije temelji se na osnovnoj jednažbi elektrokemijske kinetike, Butler-Volmerovoj jednažbi (2), kojom je opisana ukupna struja koja prolazi kroz granicu faza na kojoj se odvija jedna katodna i jedna anodna reakcija, a koje nisu pod difuzijskom kontrolom:

$$j = j_0 \left\{ \exp \left[\frac{(1-\alpha) \times z \times F \times \eta}{R \times T} \right] - \exp \left[\frac{-\alpha \times z \times F \times \eta}{R \times T} \right] \right\} \quad (2)$$

gdje je: j – gustoća struje [A m^{-2}];

j_0 – gustoća struje izmjene [A m^{-2}];

η – prenapon (elektrodni potencijal) [V], $\eta = E - E_0$;

z – broj elektrona;

F – Faradayeva konstanta, $F = 9,648 \cdot 10^4 \text{ C mol}^{-1}$;

α – koeficijent prijenosa (ima vrijednost od 0 do 1)

R – opća plinska konstanta, $R = 8,314 \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$

T – Termodinamička temperatura [K].

Povećanjem prenapona reakcija redukcije se usporava, a ubrzava se reakcija oksidacije. Kod vrlo visokih prenapona, struja redukcije se može zanemariti te Butler – Volmerova jednažba poprima oblik prikazan jednažbom (3):

$$j = j_0 \left\{ \exp \left[\frac{(1-\alpha) \times z \times F \times \eta}{R \times T} \right] \right\} \quad (3)$$

koji se logaritmiranjem pretvara u oblik (4):

$$\eta = \left[\frac{-2,303 \times R \times T}{z \times F \times (1-\alpha)} \right] \log j_0 + \left[\frac{2,303 \times R \times T}{z \times F \times (1-\alpha)} \right] \log j \quad (4)$$

koji se može pisati i u sljedećem obliku (5):

$$\eta = a + b \log j \quad (5)$$

Jednadžba prikazana u ovom obliku naziva se Tafelova jednadžba. Parametri Tafelove jednadžbe su:

$$a_a = \left[\frac{-2,303 \times R \times T}{z \times F \times (1 - \alpha)} \right] \log j_0 \quad (6)$$

$$a_k = \left[\frac{-2,303 \times R \times T}{z \times F \times \alpha} \right] \log j_0 \quad (7)$$

$$b_a = \frac{2,303 \times R \times T}{z \times F \times (1 - \alpha)} \quad (8)$$

$$b_k = \frac{-2,303 \times R \times T}{z \times F \times \alpha} \quad (9)$$

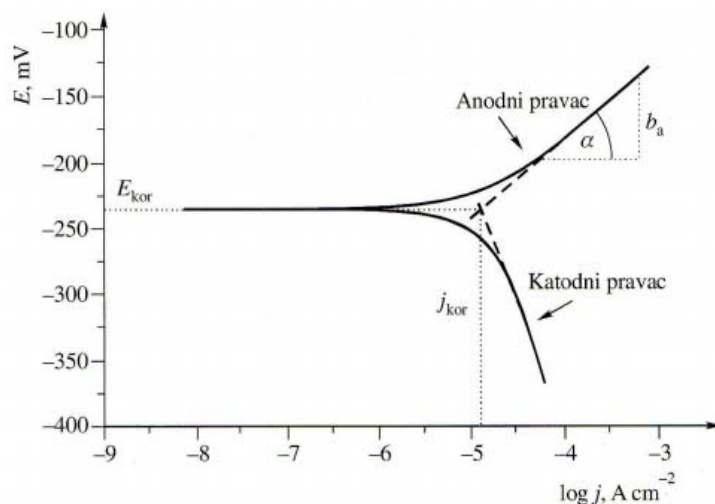
gdje je: a_a – odsječak anodnog Tafelovog pravca

a_k – odsječak katodnog Tafelovog pravca

b_a - nagib anodnog Tafelovog pravca

b_k - nagib katodnog Tafelovog pravca

Područja u kojima vrijedi Tafelova aproksimacija, na polulogaritamskom prikazu polarizacijske krivulje vide se kao linearne ovisnosti potencijala o logaritmu gustoće struje u području visokih napona polarizacije ($E = E_{kor} \pm 250$ mV) što je prikazano slikom 2. Sjecište Tafelovih pravaca, dobiveno ekstrapolacijom u području nižih napona polarizacije, definira korozijski potencijal (E_{kor}) i korozijsku gustoću struje (j_{kor}), dok nagibi odgovaraju Tafelovim nagibima (b_a , b_k). [33,34]



Slika 2. Prikaz Tafelove ekstrapolacije

Metoda Tafelove ekstrapolacije služi i za određivanje djelotvornost zaštite materijala, odnosno djelotvornosti zaštite oksidnog sloja koji se nalazi na površini oksidiranog materijala, a računa se prema izrazu [33,34]:

$$Z = \frac{J_{kor} (netretiranog) - J_{kor} (tretiranog)}{J_{kor} (netretiranog)} \times 100\% \quad (10)$$

3.2.1.2. Metoda linearne polarizacije

Korozijski parametri (bili kinetički ili termodinamički) korozijskog sustava koji se sastoji od nekog metalnog materijala koji korodira i korozivnog okoliša, govore o korozijskim svojstvima tog materijala u danom okolišu. Korozijski parametri Wanger-Traudove jednadžbe iskazane su relacijom (11):

$$i = i_{kor} \left\{ \exp \left[\frac{2,303 \times (E - E_{kor})}{b_a} - \frac{2,303 \times (E - E_{kor})}{b_k} \right] \right\} \quad (11)$$

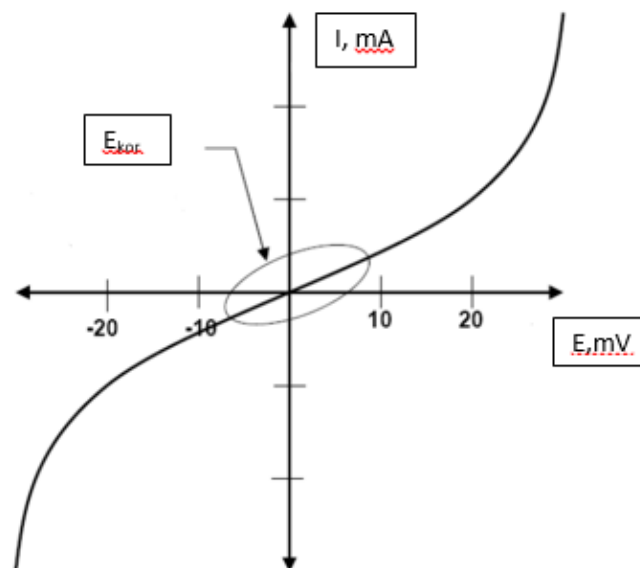
gdje je i_{kor} – jakost korozijske struje [A]; E_{kor} – korozijski potencijal [mV]; b_a i b_k – nagibi anodnog i katodnog Tafelovog pravca. Gornja relacija izvedena je pod pretpostavkom da je

korozijski proces zbroj jedne parcijalne reakcije oksidacije i jedne parcijalne reakcije redukcije koje su pod aktivacijskom kontrolom.

M.Stern i A.L.Geary su na temelju izraza (11) postavili jednadžbu koja omogućava izračunavanje polarizacijskog otpora koristeći eksperimentalno određene vrijednosti gustoće korozijske struje.

$$R_p = \frac{\Delta E}{\Delta i} = \frac{b_a \times b_k}{2,303 \times (b_a + b_k) \times R_p} = \frac{B}{i_{kor}} \quad (12)$$

Polarizacijski otpor je mjera otpora metala prema koroziji, a definiran je nagibom krivulje potencijal-struja u neposrednoj blizini korozijskog potencijala, slika 3. Proizlazi da se polarizacijski otpor može odrediti iz nagiba polarizacijske krivulje u području malih napona polarizacije te izračunati struja, pomoću anodnog i katodnog Tafelovog nagiba, ako su poznati. Tafelovi nagibi mogu biti određeni iz polarizacijskih krivulja šireg područja potencijala ili se mogu naći u literaturi. [33,34]



Slika 3. Prikaz ovisnosti struje o potencijalu u blizini korozijskog potencijala

3.2.1. Elektrokemijska korozijska ispitivanja izmjeničnom strujom, AC-tehnike

Kod elektrokemijskih tehnika s izmjeničnom strujom ne dolazi do narušavanja sustava pa se elektrokemijskoj impedancijskoj spektroskopiji, EIS metodi daje prednost pri istraživanju elektrokemijskih reakcija na granici faza.

EIS je pouzdana i nedestruktivna metoda pogodna za mjerenja u elektrokemijskim sustavima. EIS je vrlo moćna tehnika koja se koristi u sve većem broju različitih područja. Unaprijeđenjem računalnih programa za analizu podataka impedancije u ovisnosti o frekvenciji, te potenciozata, metoda je potpuno automatizirana i danas ima vrlo široko područje primjene vezano uz različite elektrodne procese. Neke primjene EIS metode su utvrđivanje brzine reakcija, određivanje kapaciteta, vodljivosti, te debljine sloja i prisutnosti pora i raspuklina na ispitivanom uzorku. [36]

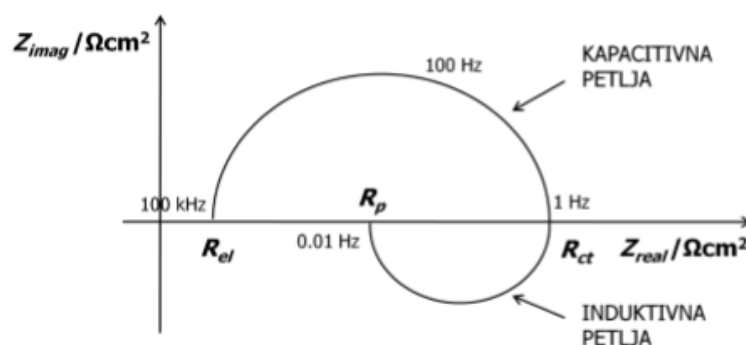
Metoda se osniva na odzivu strujnog kruga na izmjenični napon ili struju kao funkciju frekvencije. Budući da metoda ne uključuje linearnu promjenu potencijala, moguća su mjerenja u otopinama male vodljivosti. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija je metoda kojom se na elektrodu dovodi izmjenično promjenjiv potencijal male amplitude (5-10 mV) te širokog opsega frekvencija (1mHz–1MHz). Kao odziv prati se amplituda te fazni pomak izmjenično promjenjive struje iste frekvencije.

Za razliku od istosmjernih struja gdje je frekvencija jednaka nuli, kod izmjeničnih struja je frekvencija različita od nule pa analogna jednačba glasi:

$$E = I \times Z \quad (13)$$

gdje je Z Faradayska impedancija koja je ekvivalent otporu kod istosmjerne struje.

Nakon završenog eksperimenta, dobiveni podaci mogu se prikazati u različitim oblicima, a neki od njih su Nyquistov prikaz i Bodeov dijagram. Nyquistov prikaz impedancijskog spektra predstavlja ovisnost imaginarne komponente impedancije u odnosu na realnu komponentu, za svaku pobudnu frekvenciju. Na slici 4. je prikazan Nyquistov dijagram za jednostavan elektrokemijski sustav. [33,34]



Slika 4. Nyquistov dijagram za jednostavan elektrokemijski sustav

3.3. Karakterizacija površine

Analiza i određivanje struktura površina provedena je pretražnim elektronskim mikroskopom (SEM), dok je uredenost filmova ispitana goniometrijom i Fourier transformacijskom infracrvenom spektroskopijom (FTIR).

3.3.1. Fourier transformacijska infracrvena spektroskopija

FTIR spektroskopija je metoda kojom se određuje kemijski sastav, struktura i konformacija tvari. Spektroskopija omogućuje karakterizaciju materijala u kapljevitom i krutom stanju, kao i karakterizaciju uzoraka podvrgnutih pirolizi. Analizira se spektralno područje od 400 do 4000 cm^{-1} . Osnovne komponente sustava su: optička jedinica, Michelsonov interferometar, izvor zračenja s monokromatorom, FR-DTGS detektor (područje rada: 7800-350 cm^{-1}), pripadajući softver s bazom podataka Spectrum Library L 1108721 Stadtler Hummel. Uzorak u krutom (film, pastila) i kapljevitom stanju, pirolizat, organski, prirodni/ sintetski. [37]

3.3.2. SEM- pretražna elektronska mikroskopija

Pretražni elektronski mikroskop je mikroskop u kojemu se slika površine uzorka dobiva s pomoću sekundarnih elektrona što ih izbija uski elektronski snop koji pretražuje površinu uzorka. Morfologija površine provedena je mikroskopom Tescan Vega III Easyprobe (Češka). [37]

3.3.3. Određivanje kontaktnog kuta

Goniometar je uređaj za mjerenje kontaktnog kuta testnih kapljevina na supstratu. Opremljen je softverom za izračunavanje slobodne energije površine krutine kao i njenih komponenata (npr. disperzne, polarne i komponente vodikovih veza, udjele kisele i bazne komponente). Početna točka računanja je uvijek pojednostavljena Young-Dupréova jednadžba ravnoteže sila u “točci tri faze” između kapljevine, krutine i pare. Goniometar se koristi za istraživanje površinskih karakteristika uzorka, u područjima istraživanja i razvoja, kontrole kvalitete i kontrole proizvoda. Mi smo vršili mjerenje kontaktnog kuta na goniometru DataPhysics OCA 20. [37,38]

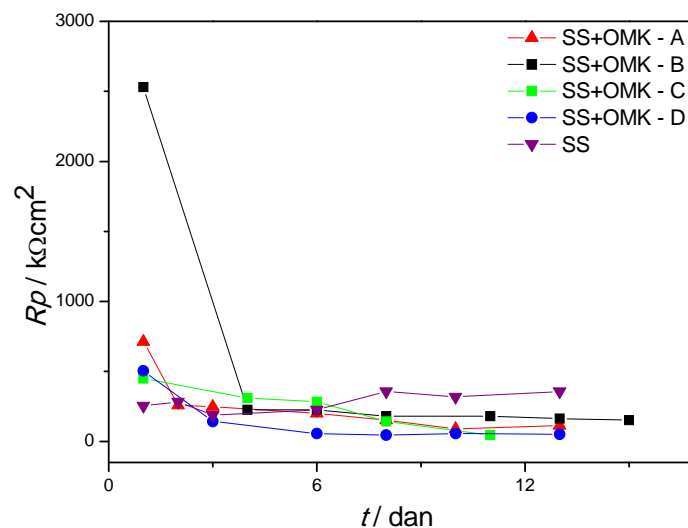
4. REZULTATI

4.1. Samoorganizirajući monoslojevi formirani na oksidiranim metalnim uzorcima

Svojstva zaštitnih organskih slojeva ovise o brojnim parametrima, a među najvažnijima je površina uzorka, odnosno priprema površine metalnog uzorka te sama otopina koja se nanosi na površinu. Drugim riječima, bitna je koncentracija otopine omega-3 kiseline iz koje će se formirati zaštitni monosloj na prethodno oksidiranim metalnim uzorcima. Stoga su uspoređivana svojstva netretiranih i tretiranih površina ispitivanih metalnih materijala. Određivanje optimalne koncentracije omega-3 masne kiseline u EtOH provodilo se na prethodno oksidiranoj površini uzorka čelika. Čelik je tretiran s četiri različite koncentracije ALA:

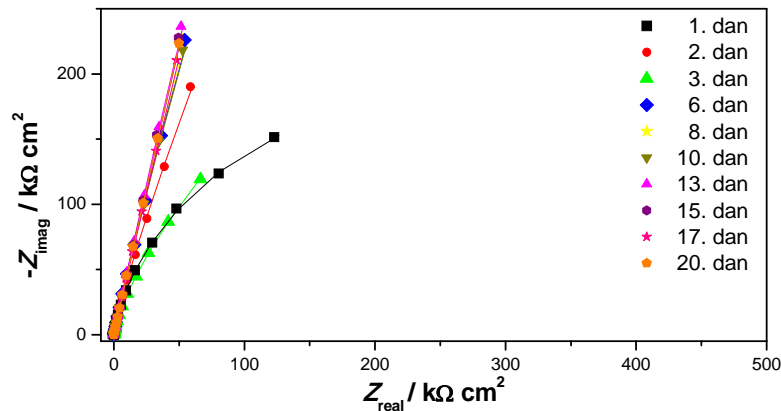
- koncentracija A → 2,6 g L⁻¹
- koncentracija B → 6,5 g L⁻¹
- koncentracija C → 1,6 g L⁻¹
- koncentracija D → 13 g L⁻¹

4.1.1. Određivanje optimalne koncentracije omega-3 masne kiseline u EtOH za formiranje zaštitnih slojeva na nehrđajućem čeliku

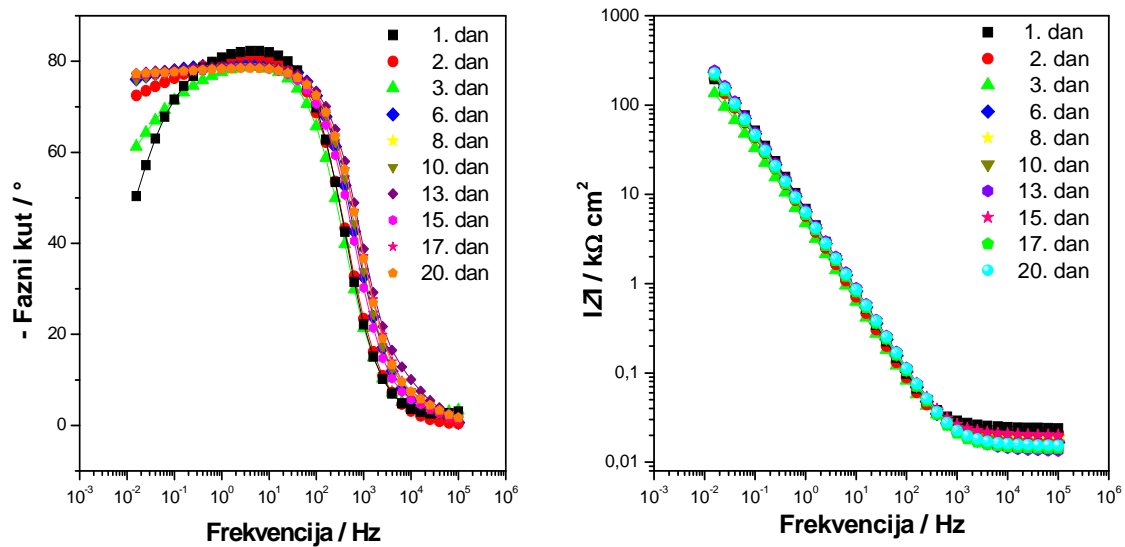


Slika 5. Ovisnost polarizacijskog otpora o vremenu tretiranih i netretiranih uzoraka nehrđajućeg čelika (SS) u 0,9% otopini NaCl-a

4.1.2. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija



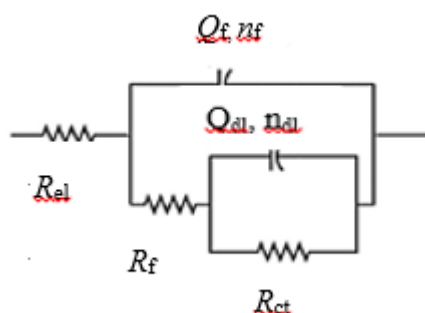
Slika 6. Nyquistov prikaz impedancijskih krivulja za uzorak čelika oksidiranog na 80°C



Slika 7. Bodeov prikaz impedancijskih krivulja za uzorak čelika oksidiranog na 80°C

Dobiveni impedancijski spektri analizirani su pomoću modela električnog ekvivalentnog kruga $2RQ$ prikazanim na slici 8. On opisuje ponašanje metala na kojem se nalazi stabilni pasivni film. Pri tome R_f predstavlja otpor oksida, R_{ct} otpor prijenosu naboja, n_f i n_{dl} su koeficijenti koji opisuju odstupanje od idealnog kapacitivnog ponašanja, a Q predstavlja CPE (*constant phase element*) što je u biti modificirani kapacitivni element. Modifikacija je

uvedena zbog boljeg opisa realnih površina koje odstupaju od idealnog kapacitivnog ponašanja.

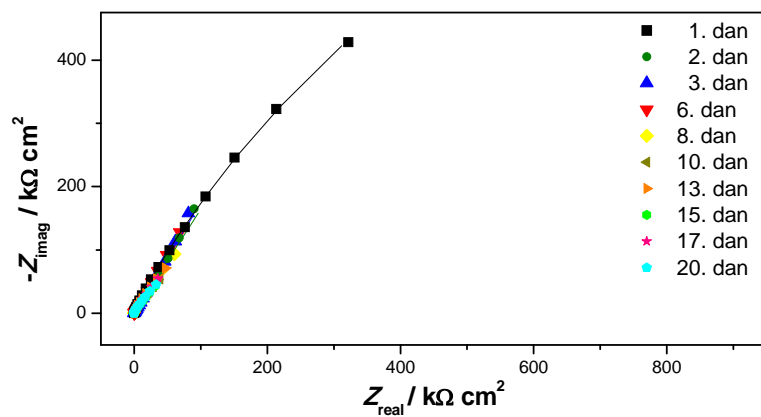


Slika 8. Električni ekvivalentni krug $2RQ$

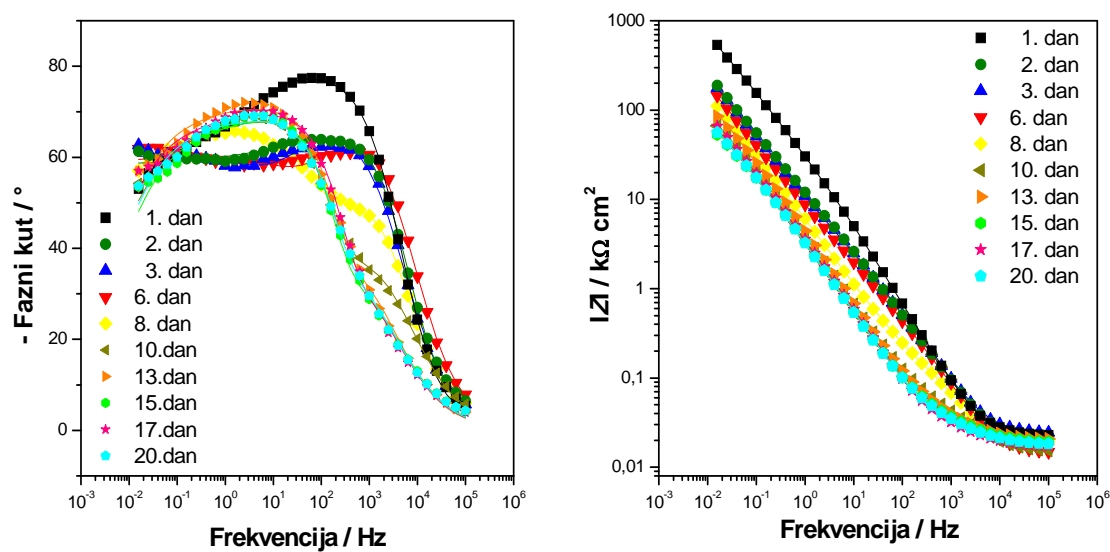
Tablica 3. Impedancijski parametri za netretirani uzorak čelika oksidiranog na 80°C

Dan	$R_f / \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	n_t	$Q_t / \mu\text{S sec}^n \text{ cm}^{-2}$	$R_{ct} / \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	n_{dl}	$Q_{dl} / \mu\text{S sec}^n \text{ cm}^{-2}$
1.	0,026	0,47	5,030	574,4	0,94	2,427
2.	84,69	0,92	31,54	$5,612 \times 10^{13*}$	0,58	62,44
3.	0,244	0,45	9,211	2183	0,91	36,48
6.	0,010	1,00	8,876	9687	0,82	22,77
8.	0,009	1,00	7,829	17890	0,83	23,58
10.	0,007	0,84	26,60	8390	1,0	5,691
13.	0,013	0,85	26,10	24320	1,0	4,375
15.	0,006	0,84	26,06	$5,213 \times 10^{12*}$	1,0	5,527
17.	0,004	1,00	6,739	$1,2550 \times 10^{12*}$	0,83	27,27
20.	0,006	0,84	27,41	$3,777 \times 10^9*$	1,0	4,751

* velika ekstrapolacija mjernih podataka



Slika 9. Nyquistov prikaz impedancijskih krivulja za uzorak čelika tretiran s $2,6 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 masnih kiselina (A)

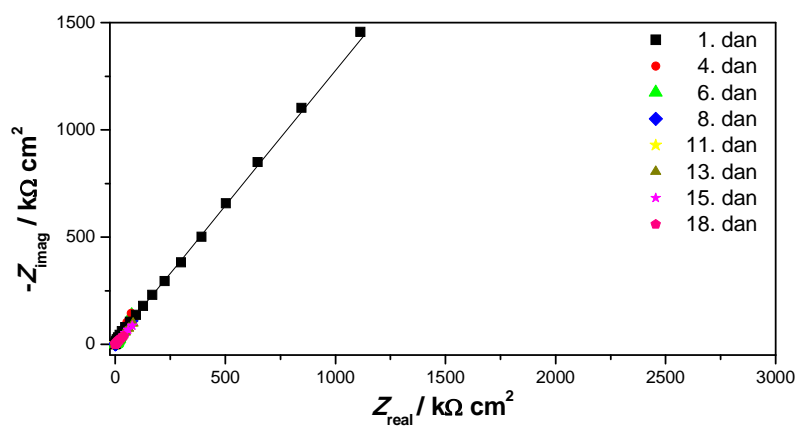


Slika 10. Bodeov prikaz impedancijskih krivulja za uzorak čelika tretiran s $2,6 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 kiselinom

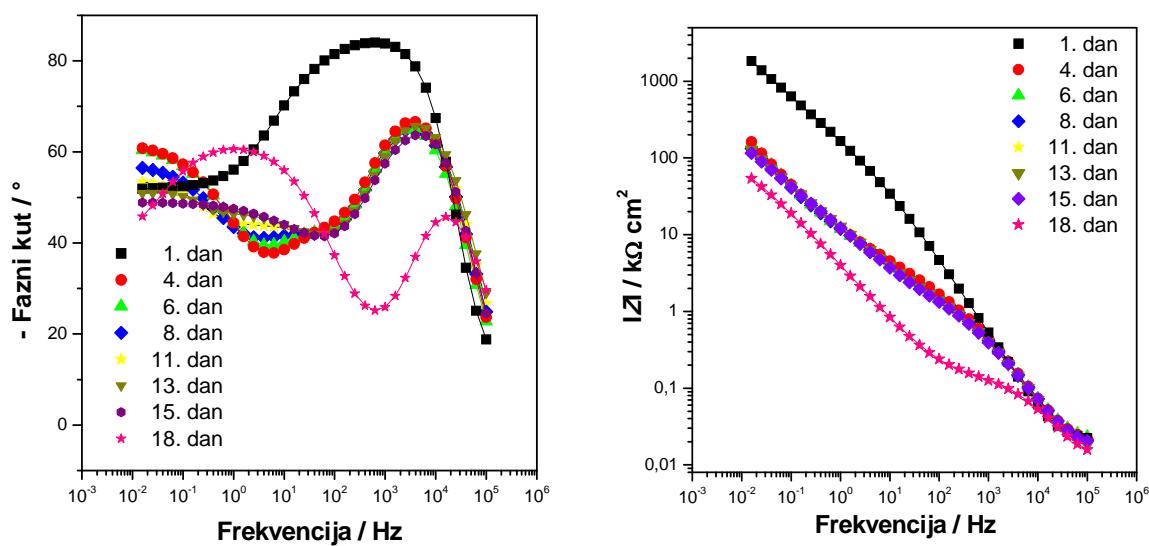
Tablica 4. Impedancijski parametri za uzorak čelika tretiran s 2,6 g L⁻¹ omega-3 masnih kiselina

Dan	$R_f / k\Omega \text{ cm}^2$	n_f	$Q_f / \mu S \text{ sec}^n \text{ cm}^{-2}$	$R_{ct} / k\Omega \text{ cm}^2$	n_{dl}	$Q_{dl} / \mu S \text{ sec}^n \text{ cm}^{-2}$
1.	40,87	0,90	4,903	3239	0,60	4,872
2.	0,009	0,65	23,49	$3,276 \times 10^{14*}$	0,97	1,090
3.	448,6	0,78	11,67	$1,930 \times 10^{10*}$	0,62	16,11
6.	1,244	0,81	10,72	$5,018 \times 10^{16*}$	0,62	23,00
8.	0,220	0,80	14,11	585,7	0,71	29,11
10.	0,114	0,70	55,60	252,6	0,93	10,66
13.	0,092	0,74	46,72	299,5	0,95	8,513
15.	0,080	0,71	69,70	176,3	0,98	8,728
17.	0,058	0,73	63,99	258,1	0,98	7,310
20.	0,075	0,72	6813	188,5	0,93	11,12

* velika ekstrapolacija mjernih podataka

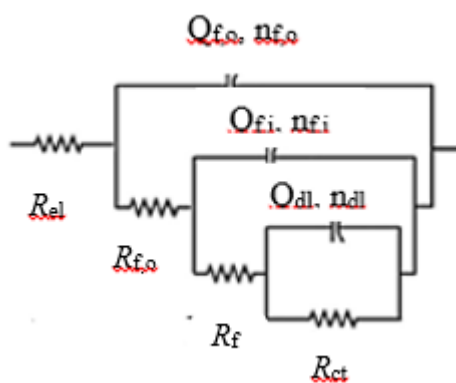


Slika 11. Nyquistov prikaz impedancijskih krivulja za tretirani uzorak čelika s 6,5 g L⁻¹ omega-3 kiselinom (B)



Slika 12. Bodeov prikaz impedancijskih krivulja za tretirani uzorak čelika s $6,5 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 kiselinom

Dobiveni impedancijski spektri analizirani su pomoću modela električnog ekvivalentnog kruga $3RQ$ prikazanim na slici 13.

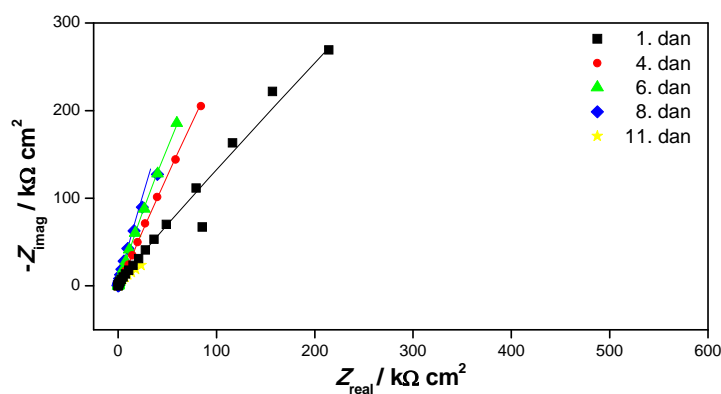


Slika 13. Električni ekvivalentni krug $3RQ$

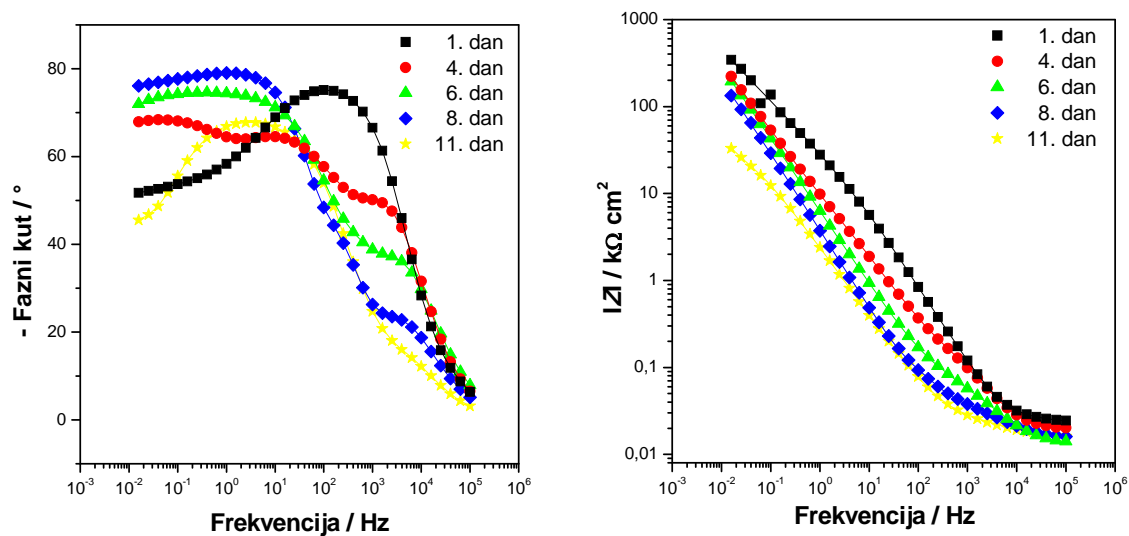
Tablica 5. Impedancijski parametri za uzorak čelika tretiran s $6,5 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 masnih kiselina

Dan	$R_{f,o} / \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	$n_{f,o}$	$Q_{f,o} / \mu\text{S sec}^n \text{ cm}^{-2}$	$R_{f,i} / \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	$n_{f,i}$	$Q_{f,i} / \mu\text{S sec}^n \text{ cm}^{-2}$	$R_{ct} / \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	n_{dl}	$Q_{dl} / \mu\text{S sec}^n \text{ cm}^{-2}$
1.	0,022	0,67	0.612	146,9	0,99	0,292	$2,192 \times 10^{17*}$	0,55	1,442
4.	1,388	0,87	0,943	8,699	0,66	10,56	$5,027 \times 10^{13*}$	0,71	20,35
6.	1,320	0,86	1,067	10,73	0,64	1285	$4,394 \times 10^{12*}$	0,72	18,68
8.	1,217	0,86	1,095	17,67	0,60	18,14	$3,417 \times 10^{13*}$	0,70	15,63
11.	1,277	0,86	1,106	60,04	0,56	22,78	$6,591 \times 10^{12*}$	0,77	8,246
13.	1,057	0,86	1,129	210,1	0,55	27,25	$3,277 \times 10^{16*}$	0,94	3,130
15.	0,613	0,90	0,747	0,428	0,97	0,278	$2,406 \times 10^{14*}$	0,54	30,24
18.	0,131	0,81	2,392	121,4	0,71	65,48	67,70	1,0	279,2

* velika ekstrapolacija mjernih podataka



Slika 14. Nyquistov prikaz impedancijskih krivulja za tretirani uzorak čelika s $1,6 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 kiselinom (C)

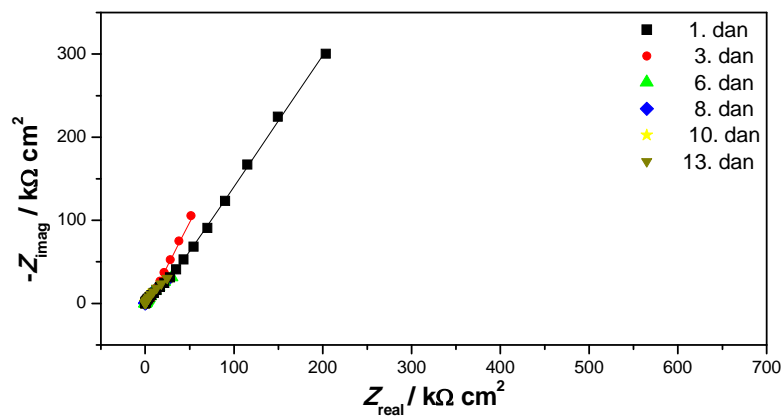


Slika 15. Bodeov prikaz impedancijskih krivulja za tretirani uzorak čelika s $1,6 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 kiselinom

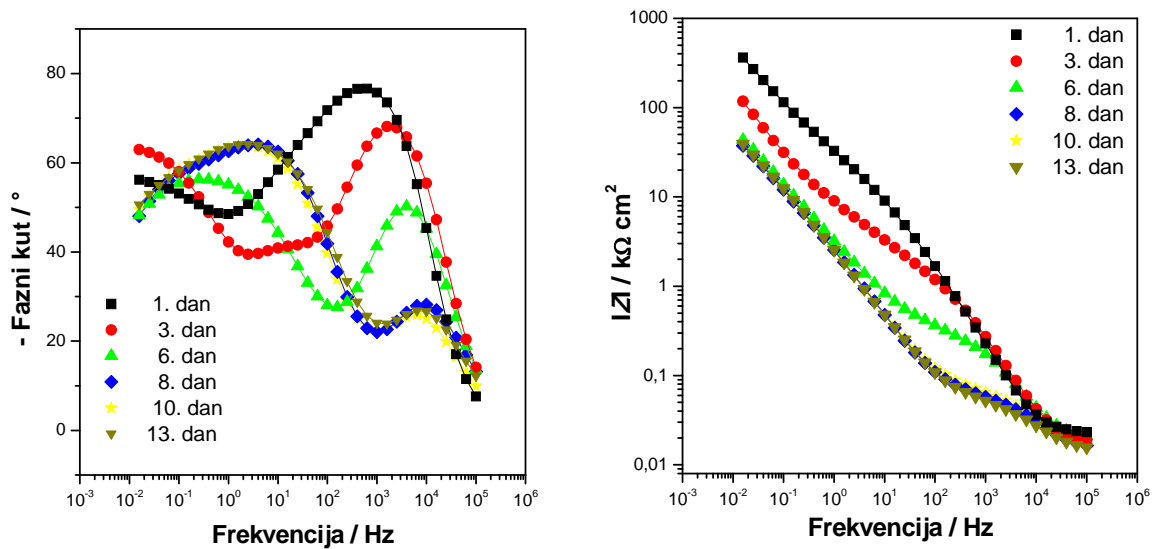
Tablica 6. Impedancijski parametri za uzorak čelika tretiran s $1,6 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 masnih kiselina

Dan	$R_{f,o} / \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	$n_{f,o}$	$Q_{f,o} / \mu\text{S sec}^n \text{ cm}^{-2}$	$R_{f,i} / \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	$n_{f,i}$	$Q_{f,i} / \mu\text{S sec}^n \text{ cm}^{-2}$	$R_{ct} / \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	n_{dl}	$Q_{dl} / \mu\text{S sec}^n \text{ cm}^{-2}$
1.	0,016	0,89	2,196	19,27	0,86	1,971	$1,925 \times 10^5$	0,53	8,736
4.	0,229	0,83	6,156	37,91	0,74	15,70	9190	0,81	5,112
6.	0,071	0,80	11,29	0,205	0,86	12,34	379,4	0,83	10,76
8.	0,035	0,76	24,22	0,017	0,97	132,9	$1,046 \times 10^{16*}$	0,95	15,63
11.	0,002	0,79	27,99	43,34	0,77	70,62	52,76	0,99	$3,460 \times 10^{-4}$

* velika ekstrapolacija mjernih podataka



Slika 16. Nyquistov prikaz impedancijskih krivulja za tretirani uzorak čelika s 13 g L^{-1} omega-3 kiselinom (D)



Slika 17. Bodeov prikaz impedancijskih krivulja za tretirani uzorak čelika s 13 g L^{-1} omega-3 kiselinom

Tablica 7. Impedancijski parametri za uzorak čelika tretiran s 13,0 g L⁻¹ omega-3 masnih kiselina

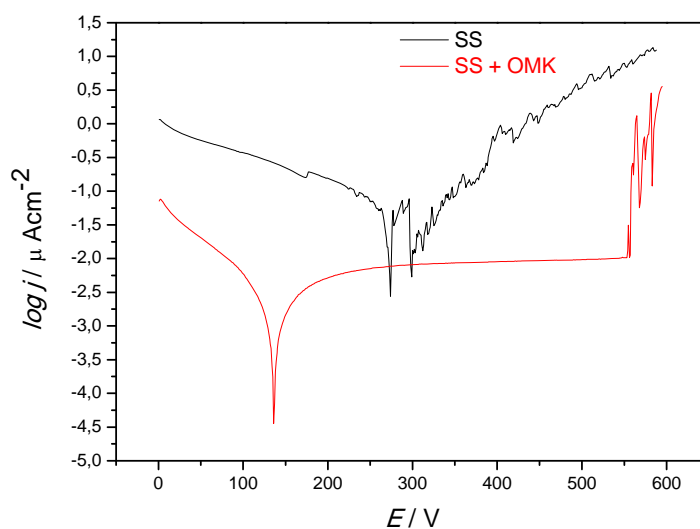
Dan	$R_{f,o} / \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	$n_{f,o}$	$Q_{f,o} / \mu\text{S sec}^n \text{ cm}^{-2}$	$R_{f,i} / \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	$n_{f,i}$	$Q_{f,i} / \mu\text{S sec}^n \text{ cm}^{-2}$	$R_{ct} / \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	n_{dl}	$Q_{dl} / \mu\text{S sec}^n \text{ cm}^{-2}$
1.	4,980	0,93	1,316	46,35	0,62	5,063	$1,501 \times 10^{12*}$	0,65	6,666
4.	1,372	0,89	1,452	10,60	0,66	18,93	$5,502 \times 10^{12*}$	0,76	2,658
6.	0,295	0,83	2,932	186,9	0,83	91,24	$3,568 \times 10^{14*}$	1,0	$1,877 \times 10^6$
8.	0,054	0,74	11,50	11,12	0,79	72,18	123,6	0,61	46,01
11.	0,061	0,73	13,40	20,51	0,77	74,57	150,7	0,58	35,77
13.	0,048	0,73	15,49	27,58	0,76	78,93	203,4	0,53	38,15

* velika ekstrapolacija mjernih podataka

Iz dobivenih rezultata zaključilo se da je optimalna koncentracija otopine 6,5 g L⁻¹ (B) te su daljnji uzorci tretirani navedenom koncentracijom.

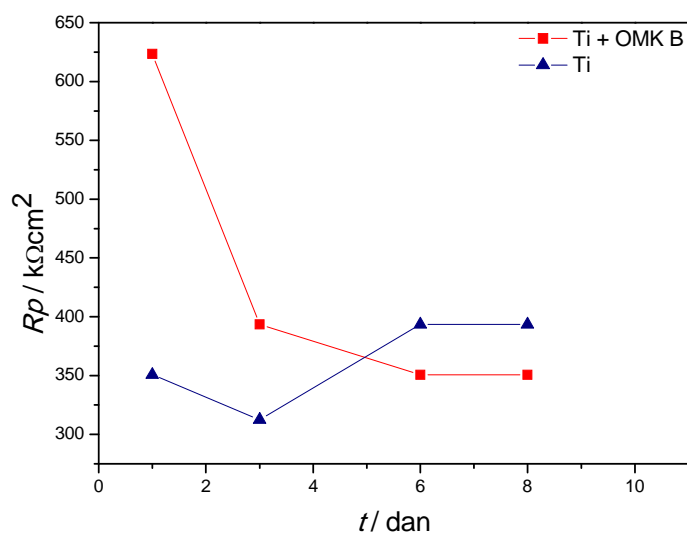
Tablica 8. Parametri dobiveni iz polarizacijskih krivulja metodom Tafelove ekstrapolacije

Uzorak	E_{kor} (mV)	j_{kor} ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)	β_a (mV/dek)	$-\beta_b$ (mV/dek)	z (%)
SS	-100,3	0,069	68,4	113,2	
SS + OMK B	-19,5	0,003	114,2	48,4	95,65

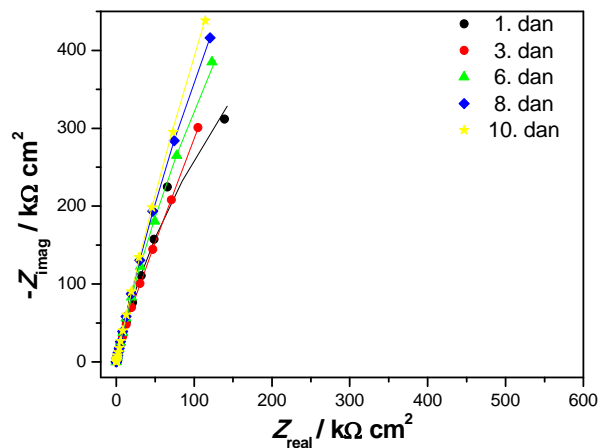


Slika 18. Polarizacijske krivulje dobivene metodom Tafelove ekstrapolacije netretiranog uzorka čelika oksidiranog na 80°C te uzorka čelika oksidiranog na isti način i tretiranog s omega-3 kiselinom

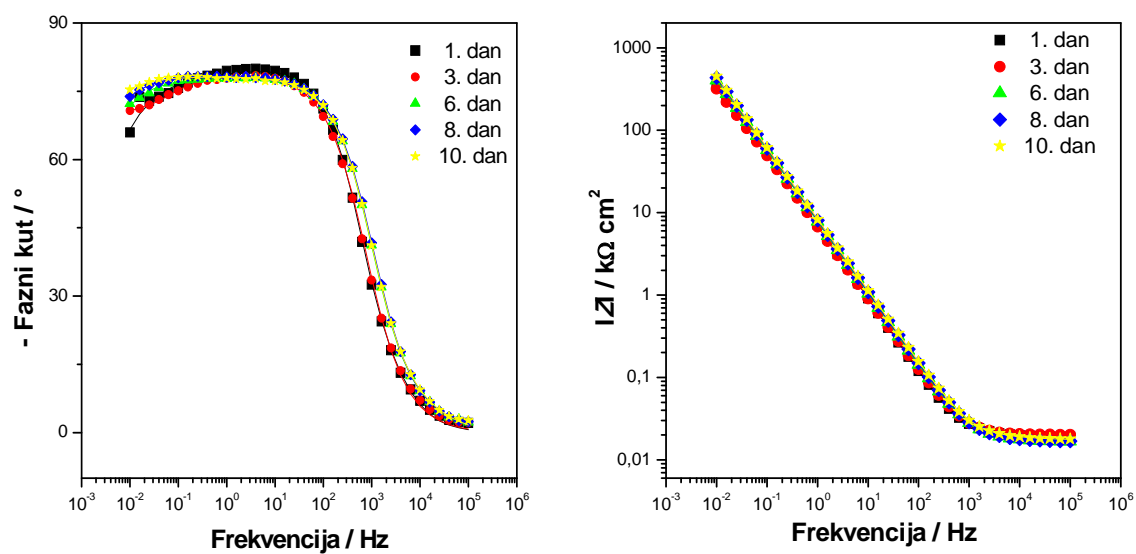
4.1.3. Titan



Slika 19. Ovisnost polarizacijskom otpora u vremenu dobivenih ispitivanjem netretiranog uzorka titana i uzorka titana tretiranog otopinom omega-3 masnim kiselinama koncentracije 6,5 g L⁻¹



Slika 20. Nyquistov prikaz impedancijskih krivulja za netretirani uzorak titana oksidiranog na 80°C

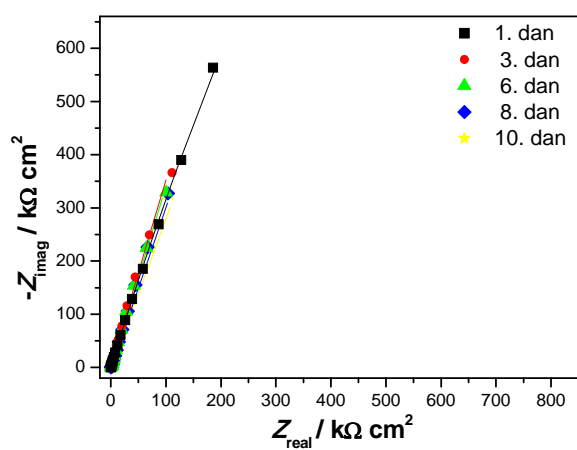


Slika 21. Bodeov prikaz impedancijskih krivulja za netretirani uzorak titana oksidiranog na 80°C

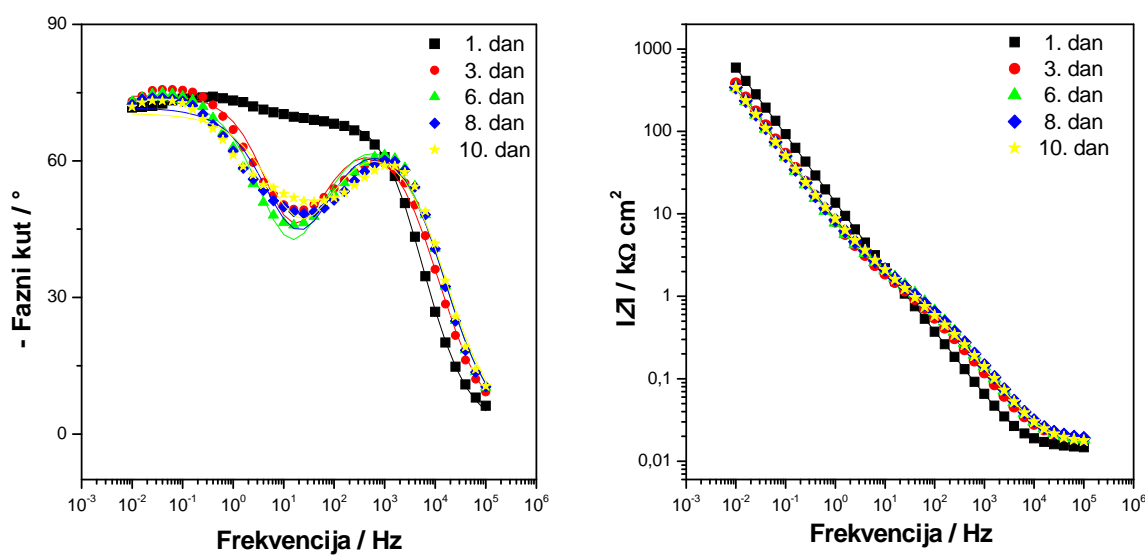
Dobiveni impedancijski spektri također su analizirani pomoću modela električnog ekvivalentnog kruga $2RQ$.

Tablica 9. Impedancijski parametri za netretirani uzorak titana oksidiranog na 80°C

Dan	$R_f / k\Omega$ cm^2	n_f	$Q_f / \mu S \text{ sec}^n$ cm^{-2}	$R_{ct} / k\Omega$ cm^2	n_{dl}	$Q_{dl} / \mu S$ $sec^n \text{ cm}^{-2}$
1.	0,015	1,00	7,074	1926	0,80	21,65
3.	698,4	0,88	29,57	3037	0,89	9,678
6.	0,007	0,92	10,81	3971	0,84	15,34
8.	0,007	0,89	13,91	5437	0,85	11,13
10.	0,012	0,86	18,09	919,2	0,89	6,205



Slika 22. Nyquistov prikaz impedancijskih krivulja za uzorak titana tretiran s 6,5 g L⁻¹ omega-3 masnih kiselina



Slika 23. Bodeov prikaz impedancijskih krivulja za uzorak titana tretiran s 6,5 g L⁻¹ omega-3 masnih kiselina

Tablica 10. Impedancijski parametri za uzorak titana tretiran s 6,5 g L⁻¹ omega-3 masnih kiselina

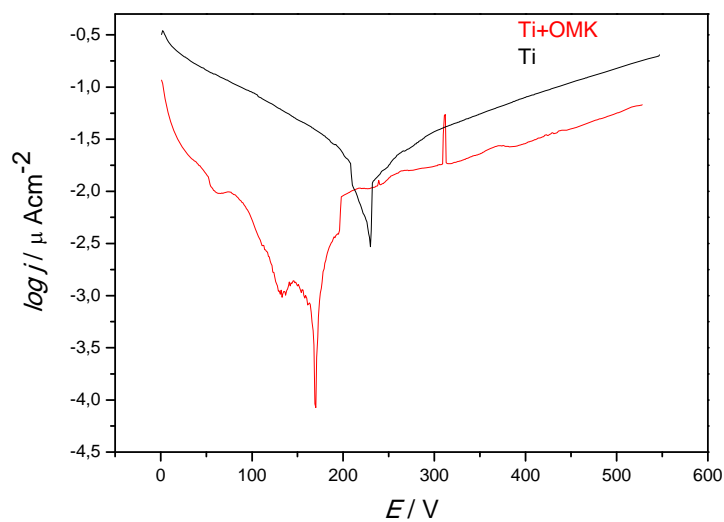
Dan	$R_f / k\Omega$ cm^2	n_f	$Q_f / \mu S$ sec^n cm^{-2}	$R_{ct} / k\Omega$ cm^2	n_{dl}	$Q_{dl} / \mu S$ sec^n cm^{-2}
1.	0,450	0,82	13,29	4,497	0,83	2,708
3.	2,314	0,77	10,69	$1,931 \times 10^{16*}$	0,80	16,41
6.	0,244	0,78	8,380	$1,493 \times 10^{15*}$	0,84	20,89
8.	2,126	0,78	8,492	$5,232 \times 10^{12*}$	0,81	19,42
10.	2,030	0,76	9,761	$4,430 \times 10^{12*}$	0,79	17,58

* velika ekstrapolacija mjernih podataka

Korozijski parametri, inhibitorska djelotvornost (Z) za netretirani uzorak oksidiran na 80°C te uzorak oksidiran na isti način i tretiran s 6,5 g L⁻¹ omega-3 kiselinom.

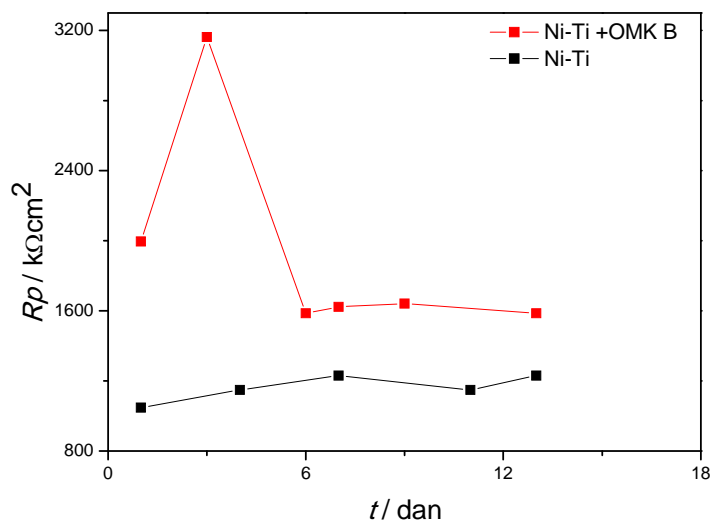
Tablica 11. Parametri dobiveni iz polarizacijskih krivulja metodom Tafelove ekstrapolacije

Uzorak	E_{kor} (mV)	j_{kor} ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)	β_a (mV/dek)	$-\beta_b$ (mV/dek)	z (%)
Ti	-213,3	0,021	175,7	121,4	
Ti + OMK B	-163,4	0,004	130,3	126,7	80,95

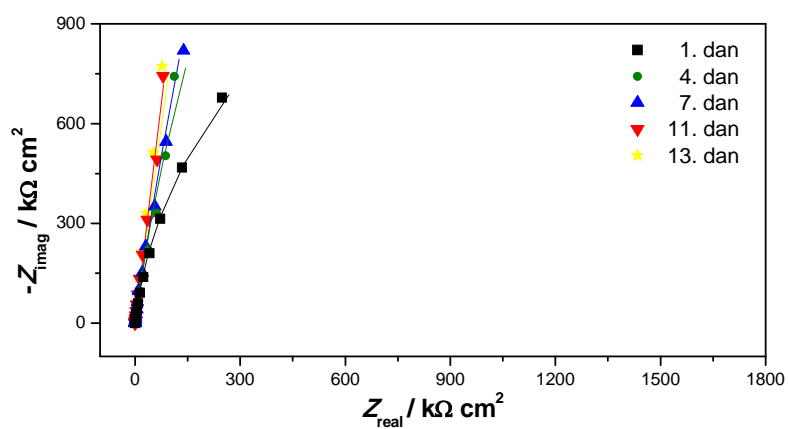


Slika 24. Polarizacijske krivulje netretiranog uzorka titana oksidiranog na 80°C te uzorka titana oksidiranog na isti naćin i tretiranog s omega-3 kiselinom

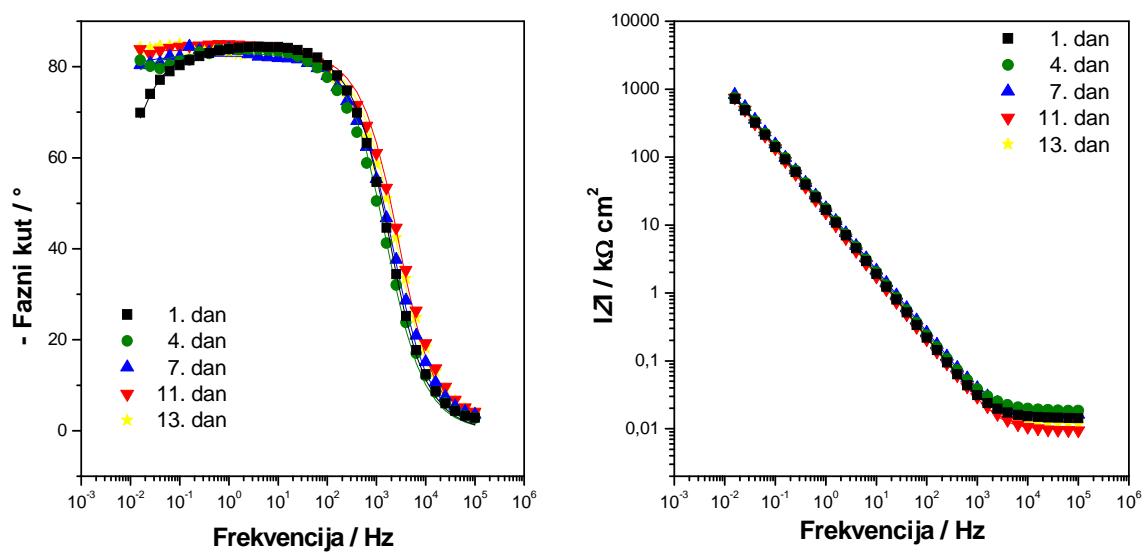
4.1.4. Nitinol



Slika 25. Ovisnost polarizacijskom otpora u vremenu dobivenih ispitivanjem netretirane nitinolne žice i uzo+rka nitinolne žice tretirane otopinom omega-3 masnim kiselinama koncentracije $6,5 \text{ g L}^{-1}$



Slika 26. Nyquistov prikaz impedancijskih krivulja za netretirani uzorak nitinol oksidiranog na 80°C



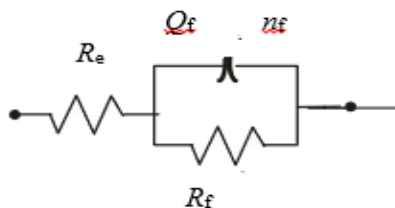
Slika 27. Bodeov prikaz impedancijskih krivulja za netretirani uzorak nitinol oksidiranog na 80°C

Tablica 12. Impedancijski parametri za netretirani uzorak nitinol oksidiranog na 80°C

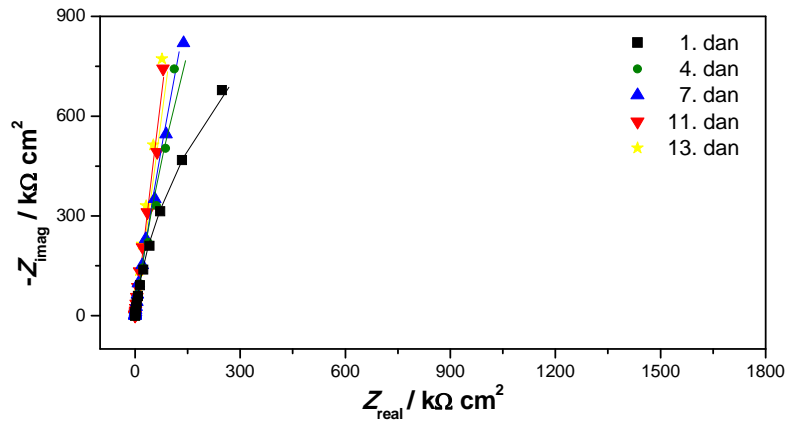
Dan	$R_f / k\Omega \text{ cm}^2$	n_f	$Q_f / \mu\text{S sec}^n$
1.	2765	0,93	10,96
4.	12010	0,92	10,66
7.	31530	0,92	10,25
11.	$1,279 \times 10^{15*}$	0,93	11,80
13.	$1,031 \times 10^{22*}$	0,92	11,29

* velika ekstrapolacija mjernih podataka

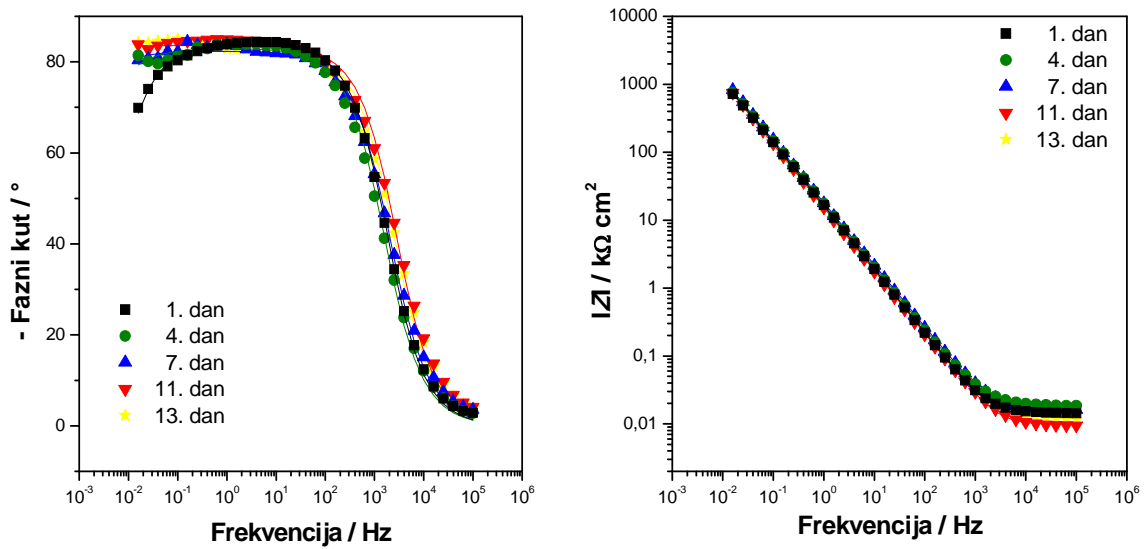
Dobiveni impedancijski spektri analizirani su pomoću modela električnog ekvivalentnog kruga 1RQ prikazanim na slici 28.



Slika 28. Električni ekvivalentni krug 1 RQ



Slika 29. Nyquistov prikaz impedancijskih krivulja za uzorak nitinol tretiran s $6,5 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 masnih kiselina



Slika 30. Bodeov prikaz impedancijskih krivulja za uzorak nitinol tretiran s $6,5 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 masnih kiselina

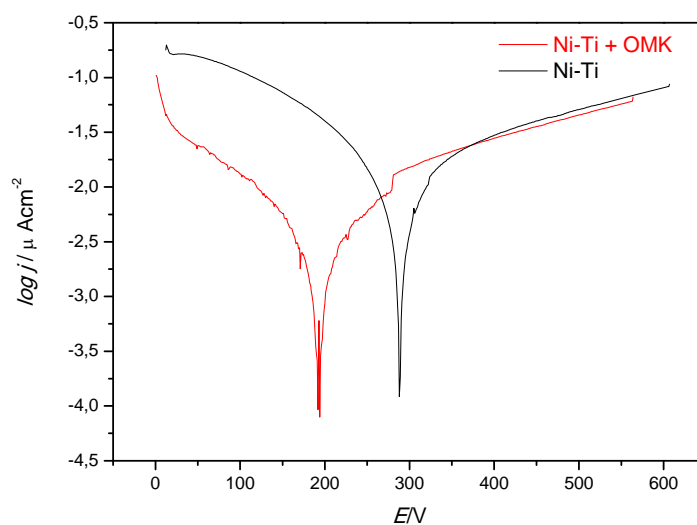
Tablica 13. Impedancijski parametri za uzorak titana nitinol s 6,5 g L⁻¹ omega-3 masnih kiselina

Dan	$R_{f,o} / \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	$n_{f,o}$	$Q_{f,o} / \mu\text{S sec}^n \text{ cm}^{-2}$	$R_{f,i} / \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	$n_{f,i}$	$Q_{f,i} / \mu\text{S sec}^n \text{ cm}^{-2}$	$R_{ct} / \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	n_{dl}	$Q_{dl} / \mu\text{S sec}^n \text{ cm}^{-2}$
1.	1,499	0,83	1,337	42,18	0,69	2,520	$4,845 \times 10^{12*}$	0,91	0,133
3.	8,456	0,84	0,920	23,44	0,92	1,302	$1,040 \times 10^{13*}$	0,93	2,199
6.	3,929	0,80	3,319	31,63	0,93	1,770	$2,771 \times 10^{15*}$	1,00	2,645
7.	5,788	0,82	2,248	35,09	0,90	2,077	$9,116 \times 10^{12*}$	0,95	3,120
9.	7,238	0,82	2,068	59,02	0,87	2,053	$7,491 \times 10^{14*}$	0,94	2,794
13.	10,23	0,85	0,938	93,10	0,83	1,649	$5,751 \times 10^{15*}$	0,90	1,975
16.	10,06	0,86	0,936	95,14	0,82	1,766	$4,483 \times 10^{13*}$	0,89	2,046

* velika ekstrapolacija mjernih podataka

Tablica 14. Parametri dobiveni iz polarizacijskih krivulja metodom Tafelove ekstrapolacije

Uzorak	$E_{kor} \text{ (mV)}$	$j_{kor} \text{ (}\mu\text{A/cm}^2\text{)}$	$\beta_a \text{ (mV/dek)}$	$-\beta_b \text{ (mV/dek)}$	$z \text{ (\%)}$
Ni-Ti	-136,2	0,009	229,7	112,3	
Ni-Ti + OMK B	-146,7	0,002	141,3	108,3	77,78

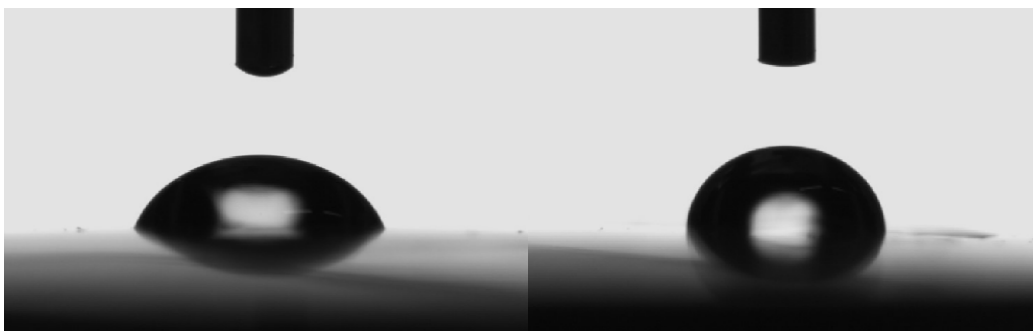


Slika 31. Polarizacijske krivulje dobivene metodom Tafelove ekstrapolacije netretiranog uzorka nitiola oksidiranog na 80°C te uzorka nitiola oksidiranog na isti način i tretiranog s omega-3 kiselinom

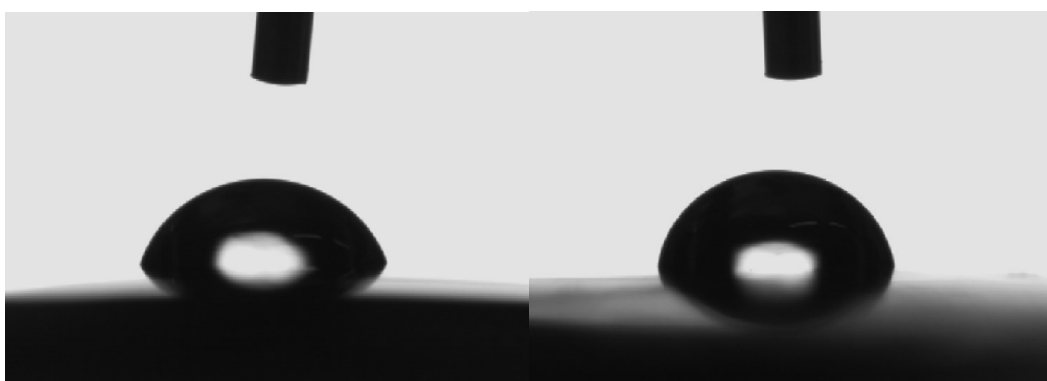
4.4. Površinske karakteristike formiranih samoorganizirajućih monoslojeva

Tablica 15. Vrijednosti kontaktnog kuta netretiranog uzorka titana i čelika oksidiranog pri 80°C te uzorka titana i čelika oksidiranog na isti način i tretiranog 6,5 g L⁻¹ omega-3 kiselinom

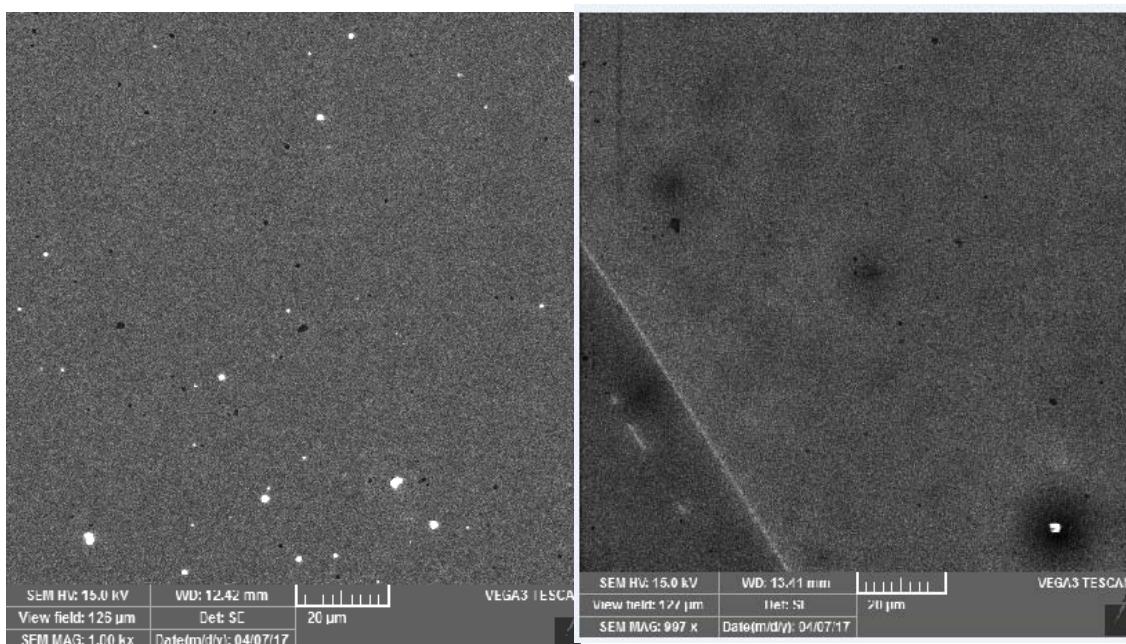
Uzorak	Ti	Ti + OMK	SS	SS + OMK
Kontaktni kut / °	73,07 ± 0,45	78,17 ± 4,58	70,75 ± 1,85	95,46 ± 4,17



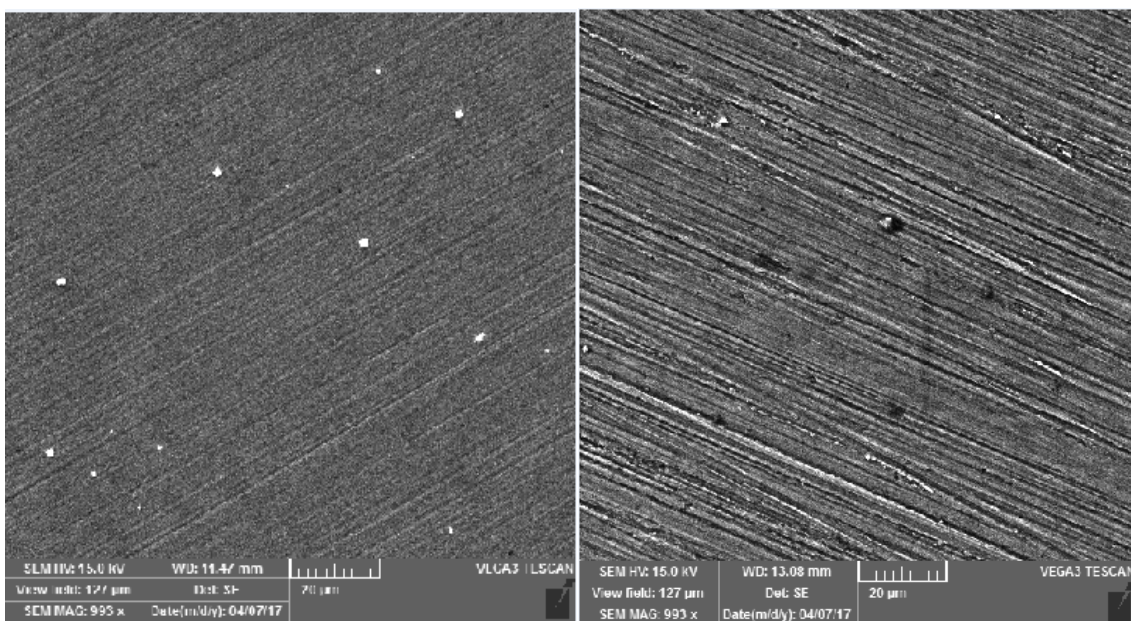
Slika 32. Kontaktni kut netretiranog uzorka čelika te uzorka čelika tretiranog s $6,5 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 kiselinom



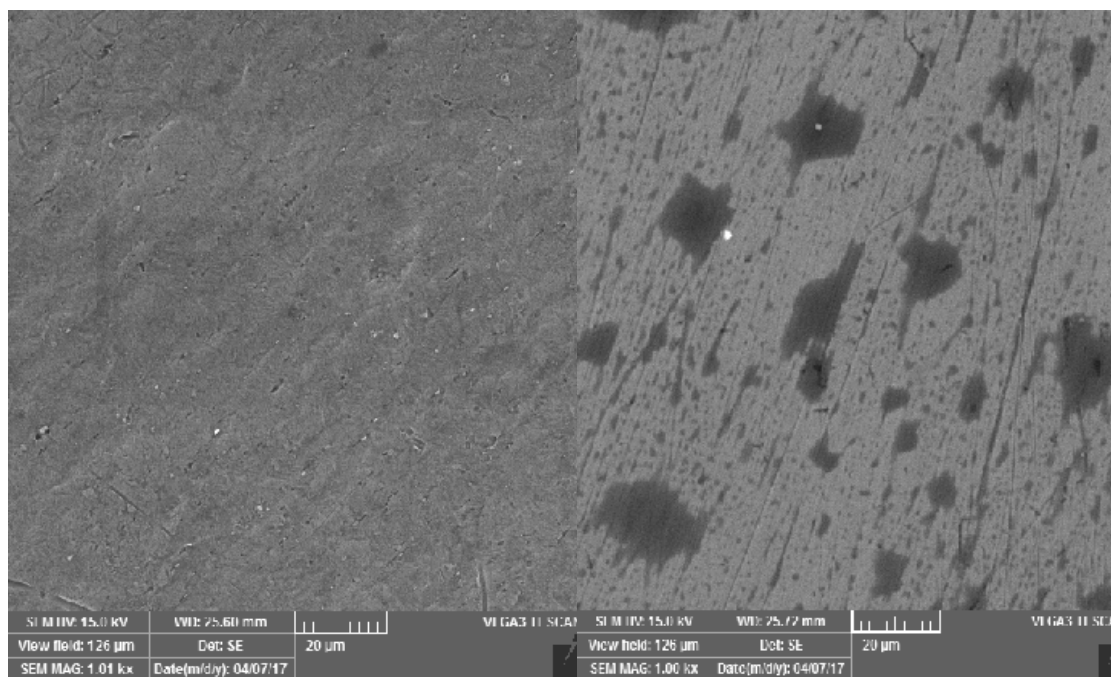
Slika 33. Kontaktni kut netretiranog uzorka titana te uzorka titana tretiranog s $6,5 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 kiselinom



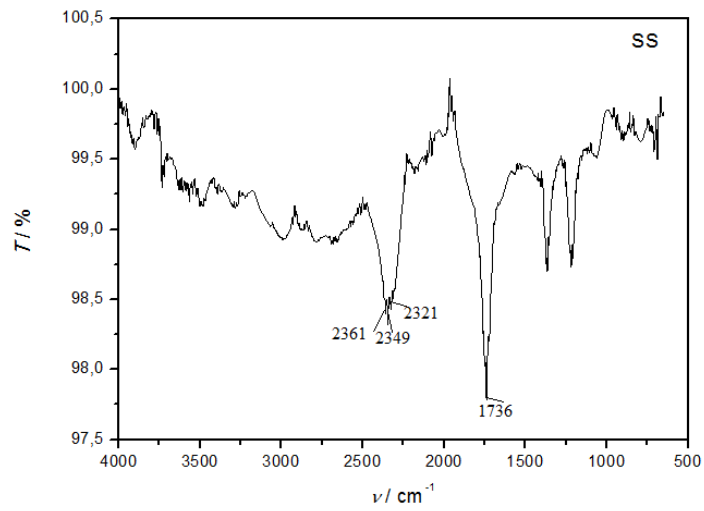
Slika 34. Izgled površine dobiven pretražnim elektronskim mikroskopom pri povećanju 1000x netretiranog uzorka čelika te uzorka čelika tretiranog $6,5 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 kiselinom



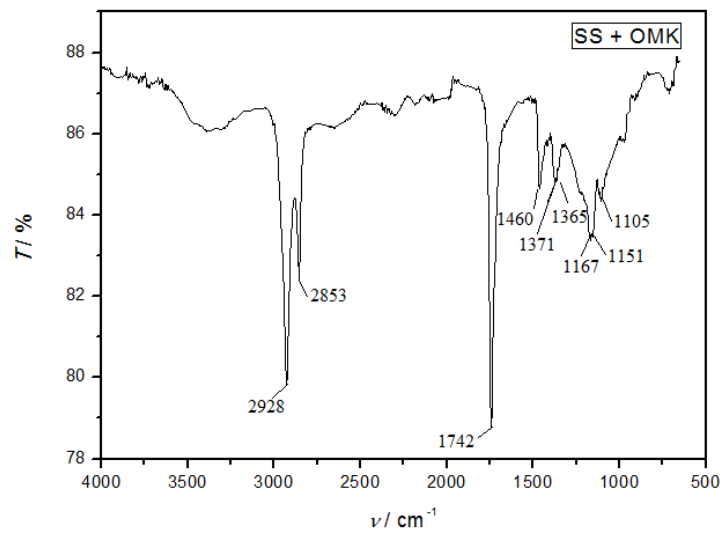
Slika 35. Izgled površine dobiven pretražnim elektronskim mikroskopom pri povećanju 1000x netretiranog uzorka titana te uzorka titana tretiranog $6,5 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 kiselinom



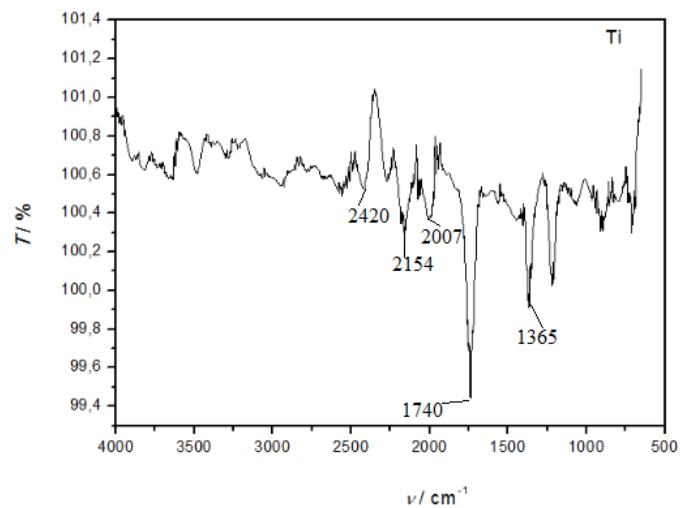
Slika 36. Izgled površine dobiven pretražnim elektronskim mikroskopom pri povećanju 1000x netretiranog uzorka nitinola te uzorka nitinola tretiranog $6,5 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 kiselinom



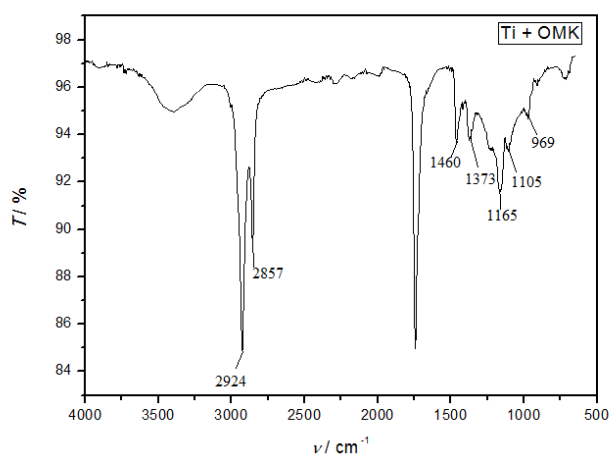
Slika 37. FTIR spektar za netretirani uzorak čelika



Slika 38. FTIR spektar za tretirani uzorak čelika s $6,5 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 kiselinom



Slika 39. FTIR spektar za netretirani uzorak titana



Slika 40. FTIR spektar za tretirani uzorak titana s 6,5 g L⁻¹ omega-3 kiselinom

5. RASPRAVA

U ovom radu provedene su modifikacije površine triju vrsta metala koji se najčešće koriste za izradu implantata, nehrđajućeg čelika SS316L, titana te nitinolne žice. Formiran je zaštitni film omega-3 masnih kiselina s ciljem poboljšanja biokompatibilnosti i korozijske otpornosti. Površinska karakterizacija metalnih uzoraka provodila se pretražnom elektronskom mikroskopijom, goniometrijom te Fourierovom transformacijskom infracrvenom spektroskopijom. Zaštitna svojstva samoorganizirajućeg monosloja kiselina ispitivala su se elektrokemijskim metodama: linearnom polarizacijom, metodom Tafelove ekstrapolacije te elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom.

5.1. Utjecaj koncentracije omega-3 masne kiseline na formiranje samoorganizirajućih monoslojeva na oksidiranim metalima

Cilj ispitivanja je odrediti optimalnu koncentraciju omega-3 masne kiseline iz koje će se formirati samoorganizirajući monoslojevi što djelotvornije zaštite. Formiranje samoorganizirajućih monoslojeva provedeno je adsorpcijom omega-3 masne kiselina na površinama uzoraka na kojima se nalazio oksidni sloj dobiven oksidacijom unutar 24 sata pri 80°C. Adsorpcija se odvijala pri temperaturi od 40°C 20 sati, nakon čega su uzorci sušeni pet sati na 50°C. Prilikom adsorpcije dolazi do kemijske reakcije oksidnog sloja s kiselinom, odnosno do kemisorpcije te samoorganizacije molekula na površini uzorka. Uzorak čelika tretiran je s četiri različite koncentracije omega-3 masnih kiselina. Tretirani uzorci uspoređivani su s netretiranim uzorkom oksidiranim pri istim uvjetima. Iz dobivenih rezultata prikazanih na slici 5. može se uočiti da su vrijednosti polarizacijskog otpora uzoraka tretiranih s omega-3 masnim kiselinama viši u odnosu na netretiran uzorak kod prvog dana mjerenja, odnosno nakon 45 minuta izloženosti uzorka korozivnom mediju. Najveći polarizacijski otpor pokazuje uzorak tretiran otopinom koncentracije B (6,5 g L⁻¹ ALA). Vrijednosti polarizacijskog otpora s vremenom opadaju te su nakon četvrtog dana izloženosti fiziološkoj otopini jednake za tretirane i netretirane uzorke. S obzirom na vrijednosti polarizacijskog otpora prvog dana zaključuje se da postoji zaštitni film koji je djelotvoran jer što je polarizacijski otpor viši, to je zaštita djelotvornija. Međutim može se zaključiti da zaštita nije dugotrajna s obzirom na pad otpora u vremenu.

S obzirom na dobivene vrijednosti otpora zaštitnog filma nanesenog pri različitim koncentracija otopine omega-3 masnih kiselina zaključilo se da je optimalna koncentracija otopine B te su daljnji uzorci tretirani navedenom koncentracijom.

5.2. Elektrokemijska korozijska ispitivanja nehrđajućeg čelika SS316L

Ispitivanja su provedena elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom koja daje detaljnije informacije o korozijskom ponašanju ispitivanih materijala.

Provedena je usporedba tretiranih i netretiranih uzoraka nehrđajućeg čelika SS316L što je prikazano Nyquistovim i Bodeovim dijagramima na slikama 6. i 7., 9. - 12., te 14. - 17.

Iz rezultata je vidljivo da se vrijednosti maksimuma krivulje faznog kuta svih uzoraka nalaze pri nižim frekvencijama. Najveći pomak maksimuma prema višim vrijednostima frekvencije ima uzorak tretiran koncentracijom B, dok netretiran uzorak ima maksimum pomaknut prema najnižoj vrijednosti frekvencije. Isto tako, vidljivo je pomicanje maksimuma faznog kuta prema nižim vrijednostima kod svih uzoraka u vremenu.

Dobiveni spektri analizirani su primjenom električnih modela prikazanim na slikama 8. i 13. te su impedancijski parametri prikazani u tablicama 3. - 7. Najmanji otpori zaštitnog oksida dobiveni su kod netretiranog uzorka što je i očekivano budući da nema formiran zaštitni sloj filma omega-3 masnih kiselina, dok su najveći otpori zabilježeni kod formiranja sloja koncentracijom B što ukazuje na učinkovitu zaštitu sloja. Kod pojedinih mjerenja nije bilo moguće točno odrediti R_{ct} zbog velike ekstrapolacije rezultata, što je označeno u svakoj tablici. Zbog toga nije bilo moguće uspoređivati vrijednosti R_{ct} za pojedine uzorke, no usporedbom vrijednosti $|Z|$ kod najnižih frekvencija vidi se da su najveći otpori kod uzorka čelika tretiranog s $6,5 \text{ g L}^{-1}$ otopinom omega-3 masne kiseline. Vrijednosti impedancijskih parametara upućuju na oštećenje zaštitnog filma s vremenom, što se očituje iz smanjenja R_f i povećanja Q_f i Q_{dl} .

Za određivanje djelotvornosti zaštitnog filma na površini netretiranog i tretiranog uzorka čelika koristila se metoda Tafelove ekstrapolacije. Rezultati mjerenja prikazani su na slici 18.

Dok su dobivene vrijednosti prikazane u tablici 8. Iz dobivenih vrijednosti uočljivo je kako je korozijski potencijal netretiranog uzorka u iznosu od $-100,3 \text{ mV}$ negativniji od korozijskog potencijala tretiranog uzorka koji iznosi $-19,5 \text{ mV}$. Dobiveni rezultati upućuju na postojanje zaštitnog monosloja na površini tretiranog uzorka.

Djelotvornost zaštitnog filma (z) računa se prema izrazu (10) te za uzorak čelika tretiranog omega-3 masnom kiselinom iznosi $95,65\%$ čime je dokazana djelotvornost zaštite koju pruža film.

5.2.1. Elektrokemijska korozivna ispitivanja titana

Ispitivanja na uzorcima titana provedena su pri istim uvjetima kao i za uzorak nehrđajućeg čelika. Prethodno se odredila otopina koncentracije B kao optimalna za nastavak mjerenja. Stoga su provedena mjerenja izvršena s otopinom $6,5 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 kiseline kako bi se uvidjelo korozivno ponašanje uzorka titana. Napravila se usporedba tretiranih i netretiranih uzoraka elektrokemijskim mjerenjem EIS što je prikazano Nyquistovim i Bodeovim dijagramima na slikama 20. - 23.

Iz rezultata je vidljivo kako je polumjer impedancijskog polukruga tretiranog uzorka najveći kod prvog dana te je polarizacijski otpor najviši nakon čega opada te se kod šestog dana uočava stagniranje u otporu koji je sada približno jednak netretiranom uzorku. Zaključuje se da je nakon šestog dana došlo do oštećenja zaštitnog filma. Također vidljivo je da se vrijednosti maksimuma krivulje faznog kuta nalaze pri nižim frekvencijama. Dobiveni spektri analizirani su primjenom električnog modela prikazanim na slici 13. te su impedancijski parametri prikazani u tablicama 9. i 10. Iako zaštitno djelovanje filma opada u vremenu, iz EIS-a (slika 23.) jasno se vidi da je i nakon duljeg izlaganja fiziološkoj otopini prisutan film omega-3 masne kiseline, što se može prepoznati po prisutnosti vrha faznog kuta pri višim frekvencijama. Iz koeficijenta n_f , vidljivo je da odstupanje od idealnog kapacitivnog ponašanja raste u vremenu što upućuje na probijanje kloridnih iona na površinu uzorka, odnosno dolazi do oštećenja zaštitnog filma. Korozivni parametri dobiveni metodom Tafelove ekstrapolacije prikazani su u tablici 11. iz čijih vrijednosti je određena djelotvornost zaštite filma. Djelotvornost (z) zaštitnog filma omega-3 masne kiseline iznosi 80,95%. Iz dobivenih vrijednosti uočljivo je kako je korozivni potencijal netretiranog uzorka u iznosu od $-213,3 \text{ mV}$ negativniji od korozivnog potencijala tretiranog uzorka koji iznosi $-163,4 \text{ mV}$. Dobiveni rezultati upućuju na postojanje zaštite monosloja na površini tretiranog uzorka.

5.2.2. Elektrokemijska korozivna ispitivanja nitinola

Uzorak nitinol mjerio se pri istim uvjetima kao i prethodni uzorci. Provelo se ispitivanje polarizacijskog otpora u vremenu te je iz dobivenih rezultata prikazanim na slici 25. vidljivo da nitinol pruža najveći otpor u vremenu u usporedbi s prethodna dva materijala. Također je provedena usporedba tretiranih i netretiranih uzoraka EIS-om što je prikazano na slikama 26. i 27, te 29. i 30. Prikazani dijagrami za netretirani uzorak analizirani su primjenom električnog modela 1 RQ prikazanim na slici 28, dok su tretirani uzorci analizirani primjenom 3 RQ modela prikazanim na slici 13. Dobiveni impedancijski parametri prikazani su u tablicama 12. i 13. Nije bilo moguće odrediti R_{ct} kod pojedinih mjerenja radi velike ekstrapolacije

rezultata, međutim uzevši u obzir $|Z|$ vrijednost vidljivo je da su najveći otpori kod uzorka prekrivenim zaštitnim filmom dobivenog koncentracijom $6,5 \text{ g L}^{-1}$ omega-3 masne kiseline.

Vrijednosti korozijskih parametara dobivenih Tafelovom ekstrapolacijom prikazane su u tablici 14. Iz dobivenih gustoća korozijskih struja izračunata je djelotvornost zaštitnog filma koja iznosi 77,78 %.

5.3. Površinska karakterizacija

Određivanje površinskih karakteristika uzorka čelika i titana provedeno je ispitivanjem kontaktnog kuta goniometrom te su dobiveni rezultati prikazani na slici 32. i 33.

Oksidne prevlake na metalima u pravilu su polarne građe te će privlačiti ione i polarne molekule, drugim riječima očekivano je da će površina oksidiranog uzorka biti hidrofilna. Vrijednost kontaktnog kuta netretiranog i tretiranog uzorka čelika i uzorka titana nalaze se u tablici 15.

Iz rezultata vidljivo je da je vrijednost kontaktnog kuta netretiranog uzorka čelika iznosi $70,75 \pm 1,85^\circ$ što potvrđuje njegovu hidrofilnost te se kapljica proteže duž površine. Vrijednost kontaktnog kuta tretiranog uzorka čelika iznosi $95,46 \pm 4,17^\circ$ što ukazuje na hidrofobnu površinu, odnosno formirani zaštitni monosloj je hidrofoban. Razlog tome je što se polarni dio molekule omega-3 masne kiseline orijentirano na površinu, a nepolarni je orijentiran prema van. Za razliku od uzorka čelika, vrijednost kontaktnog kuta tretiranog uzorka titana iznosi $78,07 \pm 4,58^\circ$ što ukazuje na hidrofilnu površinu, odnosno formirani zaštitni monosloj je hidrofilan što ukazuje na drugačiju orijentaciju molekula nego kod čelika.

Izgled površine uzoraka nehrđajućeg čelika 316L, titana i nitinola analiziran je pretražnim elektronskim mikroskopom kao što je prikazano na slikama 34.-36. Iz prikaza je vidljivo da nema značajnijih promjena u izgledu površine što znači da je nastao tanki sloj zaštitnoga filma. Također, kod nitinola je opaženo da površina nije potpuno homogena što se može povezati sa slabijom korozijskom zaštitom u odnosu na druga dva metala

FTIR spektri tretiranih i netretiranih uzoraka nehrđajućeg čelika i titana prikazani su na slikama 37.-40. Kod oba tretirana uzorka vidljivi su karakteristični vrhovi za simetrične i asimetrične vibracije CH_2 skupine na 2924 i 2857 cm^{-1} te vrh na 1736 cm^{-1} koji predstavlja karbonilnu skupinu ($-\text{C}=\text{O}$). Prisutnost apsorpcijskog vrha na 1460 i 1373 cm^{-1} upućuje na karakteristične COO^- simetrične vibracije što upućuje na disocijaciju karboksilne skupine.

Također, dubleti na 1165 cm^{-1} i 1105 cm^{-1} opisuju $-\text{CH}=\text{CH}_2$ istežanja karakteristična za omega-3 kiselinu. [39]

6. ZAKLJUČAK

Implantati kao materijali budućnosti moraju posjedovati dobra svojstva koja uključuju biokompatibilnost, čvrstoću i zadovoljavajuću korozijsku otpornost. Navedeni uvjeti proizlaze iz kvalitetno obrađene površine samog materijala koji se koristi kao implantat, što čini glavne razloge zbog čega se razvijaju različite tehnike modifikacije površine implantata, a jedan od mogućih načina je formiranje površinski aktivnih filmova.

U ovom radu istraživana su tri materijala koji se koriste za izradu implantata, nehrđajući čelik SS316L, titan te nitinol s ciljem modifikacije površine materijala zaštitnim filmom omega-3 masnih kiselina, u svrhu dobivanja kvalitetne zaštite. Zaštitni filmovi formirani su pri različitim koncentracijama otopine omega-3 masne kiseline te je utvrđeno kako su najbolji rezultati dobiveni s uzorcima oksidiranim na 80°C te tretiranim s 6,5 g L⁻¹ otopinom omega-3 masne kiseline. Inicijalno film masne kiseline pokazuje najbolja svojstva na nehrđajućem čeliku, no u vremenu dolazi do opadanja korozijske zaštite. S druge strane, filmovi dobiveni na nitinolu pokazuju manju djelotvornost ali su stabilniji u vremenu. Pretražnom elektronskom mikroskopijom te Fourier transformacijskom infracrvenom spektroskopijom potvrđeno je nastajanje tankih zaštitnih filmova karboksilne kiseline na površini izabranih materijala. Goniometrijom je utvrđena hidrofobna površina tretiranog nehrđajućeg čelika 316L što ukazuje na formiranje tankoga samoorganizirajućeg monosloja omega-3 masne kiseline.

Na temelju rezultata primijenjenih tehnika potvrđuje se postojanje i djelotvornost zaštitnog filma omega-3 masnih kiselina na primjenjivim materijalima što ukazuje na poboljšanje korozijsku otpornost i biokompatibilnost.

7. ZAHVALE

Posebne zahvale doc. dr. sc. Heleni Otmačić Ćurković, našoj mentorici, na nesebičnoj i stručnoj pomoći, savjetima, podršci i prije svega ukazanom povjerenju u našim idejama za ovaj rad te brojnim korisnim diskusijama i dobronamjernim sugestijama usmjerenim na podizanju znanstvene razine rada. Hvala joj na strpljivosti, razumijevanju i podršci tijekom izrade ovog znanstvenog rada.

Veliko hvala želimo uputiti i Ekatarini Kristan Mioč, mag.ing. cheming bez čije bi pomoći i beskonačnog strpljenja ovaj rad bilo teže realizirati. Također joj želimo zahvaliti na pomoći pri snimanju eksperimentalnih rezultata te pri izradi eksperimentalnog dijela rada kao i na svim dobronamjernim savjetima, raspravama i sugestijama koje su nam uvelike pomogle pri izradi rada.

Zahvaljujemo se i dr. sc. Zani Hajdari na pomoći prilikom izrade eksperimentalnog dijela rada te veliko hvala svim ostalim djelatnicima Zavoda za elektrokemiju na velikom strpljenju, suradnji i ugodnom boravku na Zavodu.

Od srca se želimo zahvaliti i svim prijateljima koji su bili puni razumijevanja i nisu odustali od nas.

Veliko hvala i našim obiteljima na ljubavi, nesebičnoj podršci, razumijevanju, strpljivosti i neizmornoj vjeri u naš uspjeh.

Hvala Vam svima!

8. LITERATURA

- [1] Khan W., Muntimadugu E., Jaffe M., Domb A.J., Focal Controlled Drug Delivery, Controlled Release Society, 2014, str. 34-55.
- [2] Hudetz D., Utjecaj biofilma kod stafilokokne infekcije oko čeličnih i titanijskih implantata, Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, 2009., str. 11-13
- [3] Ristić B., Popović Z., Adamović D., Devedžić G., Izbor biomaterijala u ortopedskoj kirurgiji, Vojnosanit pregled 2010., str. 847- 855
- [4] Seeger, J.M., Ingegno, M., D., Bigatan, E., Klingman, N., Drew, A., Widenhouse, C., Goldberg, E.P., Hydrophilic surface modification of metallic endoluminal stents, Presented at the Nineteenth Annual Meeting of the Southern Association for Vascular Surgery, Cancún, Mexico, 1995., str. 327-236
- [5] Govindarajan, T., Shandas, R., A Survey of Surface Modification Techniques for Next-Generation Shape Memory Polymer Stent Devices, Department of Bioengineering, University of Colorado-Denver, Anschutz Medical Campus, 2014., str. 2310-2323.
- [6] Regar E, Sianos G, Serruys PW (2001) Stent development and local drug delivery. Br Med Bull 59:227–248
- [7] Ginebra MP, Traykova T, Planell JA (2006) Calcium phosphate cements as bone drug delivery systems: a review. J Control Release 113:102–110
- [8] Pranjić J., Primjena metalnih materijala u stomatologiji, Metalurški fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2015., str. 18-19.
- [9] Davis, J. R., Handbook of materials for medical devices, ASM International, 2006.
- [10] Kumić, I., Novi postupak difuzijskoga modificiranja površina titanove legure za endoprotetske implantate, Fakultet strojarstva i brodogradnje Sveučilišta u Zagrebu, 2016., 20-27 str.
- [11] R. Van Noort, Titanium: the implant material of today, Journal of materials science (3801- 3811).
- [12] L. Le Guehennec, A. Soueidan, P. Layrolle, Y. Amouriq. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration, Dental materials (2007), 844–854.

- [13] Marija S. Došić, Bioceramics Calcium Phosphate Coatings On Titanium Produced By Electrochemical Techniques, doktorski rad, tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, 2015.
- [14] Davarpanah M, Martinez H, Kebir M, Tecucianu JF. Priručnik dentalne implantologije. Zagreb: In.Tri d.o.o.; 2006. pp. 209-213.
- [15] Čatović A, Jerolimov V, Živko-Babić J, Carek V, Dulčić N, Lazić B. Titan u stomatologiji. Acta Stomatol Croat. 1998;32(2):351-365.
- [16] <http://www.fwmetals.com/services/resource-library/nitinol-wire/> (pristupila 15.03.2017.)
- [17] Katić, J., Metilkoš-Huković, M., Surface modification of nitinol by biocompatible passive films, ESC transactions, 2010., str. 65-75.
- [18] Manivasagam, G., Dhinasekaran, D., Rajamanickam, A., Biomedical Implants: Corrosion and its Prevention, Recent Patents on Corrosion Science, 2010, str. 40-52.
- [19] Rosa MB, Albrektsson T, Francischone CE, Schwartz Filho HO, Wennerberg A. The influence of surface treatment on the implant roughness pattern. J Appl Oral Sci. (2012), 550-555.
- [20] Oshida Y, Tuna EB, Aktören O, Gençay K. Dental Implant Systems. Int. J. Mol. Sci. 2010,11(4):1580-1678.
- [21] Bressan E, Sbricoli L, Guazzo R, Tocco I, Roman M, Vindigni V, Stellini E, Gardin C, Ferroni L, Sivoletta S, Zavan B. Nanostructured surfaces of dental implants. Int J Mol Sci. 2013;14(1):1918-1931.
- [22] Bosco R, Van Den Beucken J, Leeuwenburgh S, Jansen J. Surface modification of metal implants with plasma sprayed layers. Coatings. (2012), 95-119.
- [23] Anil S, Anand PS, Alghamdi H, Jansen JA. Dental Implant Surface Enhancement and Osseointegration. In: I. Turkyilmaz , editor. Implant Dentistry – A Rapidly Evolving Practice InTech; 2011.
- [24] Burgler, R., Samoorganizirajući monoslojevi i vodljivi polimeri kao zaštita čelika od korozije, Fakultet strojarstva i brodogradnje, 2006.
- [25] Knežević G. i sur Osnove dentalne implantologije, Školska knjiga, Zagreb 2002., str. 9-25.
- [26] Abraham Ulman, Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers, Chemical Reviews (1996), 1533–1554.

- [27] Morrison, R. T., Boyd, R. N., Organic Chemistry, 6th Ed., Prentice Hall, New Jersey, 1992., str. 132-136.
- [28] Burdge GC. Metabolism of alpha-linolenic acid in humans. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2006;75(3):161-8
- [29] Vranešić B. D., Omega-3 masne kiseline – svojstva i djelovanje, pregledni članak, Centar za kliničku prehranu i Vitaminotek d.o.o., KBC Zagreb
- [30] Wesley, JA, Immunonutrition: the role of ω -3 fatty acids., Nutr, 1998, str.27-633.
- [31] Riediger, ND., Othman, RA., Suh, M., Moghadasian, MH., A systemic review of the roles of n-3 fatty acids in health and disease, J Am Diet Assoc, 2009, str. 668-679.
- [32] Harris, WS., Von Schacky, C., The Omega-3 Index: a new risk factor for death from coronary heart disease, Prev Med, 2004., str. 212-220.
- [33] Martinez, S., Mandić, Z., Uvod u elektrokemiju, Nastavni materijali, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu
- [34] Martinez, S., Kraljić Roković, M., Elektrokemijsko i korozijsko inženjerstvo, Nastavni materijali, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu
- [35] Burstein, GT., Liu, C., Souto, RM., The effect of temperature on the nucleation of corrosion pits on titanium in Ringer's solution, Biomaterials 2005, str. 245–256.
- [36] Magdić, K., Horvat-Radošević, V., Uloga elektrokemijske impedancijske spektroskopije u karakterizaciji elektroda i uređaja za pretvorbu i skladištenje energije, Zavod za istraživanje mora i okoliša, Institut Ruđer Bošković, 2012, str. 81.
- [37] Katalog opreme, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, 2007.
- [38] Dolar, D., Utjecaj poroznosti i ostalih karakteristika NF/RO membrana na njihovu separacijsku djelotvornost pri obradi voda, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, 2009., str. 3-22
- [39] Tao, Y.,T., Structural Comparison of Self-Assembled Monolayers of n-Alkanoic Acids on the Surfaces of Silver, Copper, and Aluminum, Contribution from the Institute of Chemistry, Academia Sinica, Taipei, 1993. str. 4350-4358

9. SAŽETAK

Modifikacija površine implantnih materijala s ciljem poboljšanja biokompatibilnosti

Kirurški zahvati koji uključuju ugradnju implantata poboljšavaju kvalitetu života mnogim pacijentima već dugi niz godina. Zbog produljenja životnog vijeka stanovništva, u današnje vrijeme, raste potreba za novim tretmanima te novijim i dugotrajnijim implantatima s boljim svojstvima kao što su biokompatibilnost, čvrstoća te zadovoljavajuća korozijska otpornost. Da bi se to postiglo razvijaju se različite tehnike modifikacije implantnih materijala, a jedna od njih je formiranje površinski aktivnih filmova karboksilnih kiselina.

Cilj ovog rada je ispitati mogućnost formiranja površinski aktivnih filmova omega-3 masnih kiselina, poznate po svojim pleiotrofnim učincima, uključujući protuupalno djelovanje i sprječavanje agregacije platela, na metale koji se koriste za izradu implantata, nehrđajućeg čelika SS316L, titana te nitinola (legura nikla i titana). Modifikacija površine materijala je provedena s ciljem sprječavanja problema odbacivanja implantata radi upalnih djelovanja i nastanka ugrušaka kod stentova.

Zaštitno djelovanje dobivenih tankih filmova potvrđeno je elektrokemijskim ispitivanjima, metodama Tafelove ekstrapolacije, linearne polarizacije te elektrokemijske impedancijske spektroskopije. Osim elektrokemijskih ispitivanja, uzorci su podvrgnuti analizama pretražnom elektronskom mikroskopijom, goniometrijom i Fourier transformacijskom infracrvenom spektroskopijom kako bi se dobile kvalitativne i kvantitativne informacije o dobivenom zaštitnom sloju. Analizom dobivenih rezultata moguće je detektirati nastanak i intenzitet zaštite filmova omega-3 masnih kiselina na površini implantnih materijala. Potvrđeno je postojanje i djelotvornost zaštitnog filma omega-3 masnih kiselina na primjenjivanim materijalima što ukazuje na poboljšanje korozijsku otpornost i biokompatibilnost.

Ključne riječi: *biokompatibilnost, korozijska otpornost, implantati, omega-3 masne kiseline*

10. SUMMARY

Surface modification of implants with the aim of improving biocompatibility

Surgical procedures involving implanted medical subjects improve the quality of human life for many years. Increased lifespan increases the need for new treatments and newer more improved and longer lasting implants with better properties such as biocompatibility, strength and satisfactory corrosion resistance. In order to achieve this, various implant surface modification techniques are developed, one being the formation of carboxylic acid films.

The purpose of this work is to examine possibilities of forming films of omega-3 fatty acids, known for their pleiotropic effects. These include anti-inflammatory and platelet aggregation prevention on implants, stainless steel, and nitinol. Modification of these materials was carried out in order to prevent the problem of rejecting implants for inflammatory action and blood clotting in stents.

Protective action of obtained thin films was determined by electrochemical assays, Tafel extrapolation methods, linear polarization and electrochemical impedance spectroscopy. Apart from electrochemical testing, samples were subjected to scanning electron microscopy, goniometry and Fourier transformational infrared spectroscopy to gain qualitative and quantitative information on the obtained protective layer. By analyzing the obtained results, it is possible to detect the formation and intensity of the protection of omega-3 fatty acids on the surface of implant materials. The existence and effectiveness of the omega-3 fatty acid protective film on the applied materials has been confirmed, suggesting improved corrosion resistance and biocompatibility.

Key words: *Biocompatibility, Corrosion resistance, Implants, Omega-3 fatty acids*

11. ŽIVOTOPISI

Nikolina Miličević

Rođena je 08. prosinca, 1992. godine, u Požegi. Osnovnu školu „fra Kaje Adžića“ pohađala je u Pleternici. Srednju školu „Opću Gimnaziju“ završila je 2011. godine nakon koje je upisala Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije. Preddiplomski studij Primijenjena kemija završila je 2015. godine, sa završnim radom *Primjene grafena u inženjerstvu materijala* pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Jelene Macan, a sada je redovna studentica diplomskog studija Primijenjena kemija, modul Primijenjena organska kemija. Stručnu praksu odradila je 2015. godine u Zvečevo d.o.o. u Požegi. Poznavanje engleskog i njemačkog jezika u govoru i pismu. Vještine poznavanje rada u laboratoriju i rukovanja laboratorijskom opremom. U radu na računalu koristi Microsoft Office, te programske pakete Origin, Mathematica, Matlab.

Evelina Mustapić

Rođena je 07. rujna, 1992. godine, u Zagrebu, gdje je započela osnovnoškolsko obrazovanje u Osnovnoj školi „Malešnica“. Srednjoškolsko obrazovanje završila je 2011. godine u Gimnaziji Lucijana Vranjanina, nakon koje upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu. Preddiplomski studij Primijenjena kemija završila je 2015. godine, sa završnim radom *Karakterizacija poliamidnih reverzno osmotskih membrana* pod vodstvom doc. dr. sc. Davor Dolar, a sada je redovna studentica diplomskog studija Primijenjena kemija, modul Primijenjena organska kemija. Stručnu praksu odradila je u Centru za forenzička ispitivanja, istraživanja i vještačenja „Ivan Vučetić“ 2015. godine u Zagrebu. Tijekom preddiplomskog studija odrađivala je demonstrature na laboratorijskim vježbama na Zavodu za opću i anorgansku kemiju. Poznavanje engleskog jezika u govoru i pismu te talijanskog jezika u govoru. Vještine poznavanje rada u laboratoriju i rukovanja laboratorijskom opremom. U radu na računalu koristi Microsoft Office, te programske pakete Origin, Mathematica i Matlab.