

Istraživanje biokorozivskih karakteristika titanij-magnezij kompozitnoga materijala

Stanec, Zlatko

Doctoral thesis / Disertacija

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:684269>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-22**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
STOMATOLOŠKI FAKULTET

Zlatko Stanec

**ISTRAŽIVANJE BOKOROZIJSKIH
KARAKTERISTIKA TITANIJ-MAGNEZIJ
KOMPOZITNOGA MATERIJALA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2018.



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
STOMATOLOŠKI FAKULTET

Zlatko Stanec

**ISTRAŽIVANJE BOKOROZIJSKIH
KARAKTERISTIKA TITANIJ-MAGNEZIJ
KOMPOZITNOGA MATERIJALA**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

Izv.prof.dr.sc. Amir Ćatić
Prof.dr.sc. Zdravko Schauperl

Zagreb, 2018.



UNIVERSITY OF ZAGREB
SCHOOL OF DENTAL MEDICINE

Zlatko Stanec

**BIO-CORROSIVE CHARACTERISTICS
OF TITANIUM-MAGNESIUM COMPOSITE
MATERIAL**

DOCTORAL THESIS

Supervisors:

Amir Ćatić, Ph.D.

Zdravko Schauperl, Ph.D.

Zagreb, 2018.

Rad je ostvaren na Zavodu za fiksnu protetiku Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Laboratorijski postupci provedeni su u Laboratoriju za materijalografiju Zavoda za materijale i Nacionalnom laboratoriju za duljinu Fakulteta strojarstva i brodogradnje Sveučilišta u Zagrebu, Kemijskom laboratoriju Veleučilišta u Karlovcu, Glavnom vodno-gospodarskom laboratoriju Hrvatskih Voda d.d. te na *Institute of materials and machine mechanics, The Slovak Academy of Sciences*, Bratislava, Slovačka.

Mentori rada: Izv.prof.dr.sc. Amir Ćatić

Prof dr.sc. Zdravko Schauperl

Lektor hrvatskog jezika: Ivana Kos. prof. hrvatskog jezika

Lektor engleskog jezika: Marijana Bender Vranković, prof. engleskog i njemačkog jezika

Sastav Povjerenstva za obranu doktorskog rada:

1. Prof dr. sc. Dragutin Komar
2. Prof. dr. sc. Hrvoje Ivanković
3. Prof. dr. sc. Adnan Ćatović
4. Izv. prof. dr.sc. Nikša Dulčić
5. Izv. prof. dr. sc. Bernard Janković

Datum obrane rada: 16.01.2018.

Rad sadrži: 155 stranica

46 tablica

59 slika

CD

Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora doktorskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

Zahvala

Na ovom mjestu najprije želim reći hvala mojim mentorima izv. prof. dr. sc. Amiru Čatiću i prof. dr. sc. Zdravku Shauperlu na svesrdnoj podršci tijekom stvaranja ovog rada. Njihov rad i primjer za mene je bio nadahnjujuć. Veliko hvala i članovima povjerenstva za ocjenu doktorskog rada prof. dr. sc. Dragutinu Komaru, prof. dr. sc. Adnanu Čatoviću, izv. prof. dr. sc. Nikši Dulčiću i izv. prof. dr. sc. Bernardu Jankoviću na korisnim sugestijama prilikom čitanja rada. Posebno bih se zahvalio prof. dr. sc. Hrvoju Ivankoviću na savjetima tijekom čitanja dijela rada koji se odnosio na područje kemijske znanosti.

Želim se zahvaliti svojim suradnicima u istraživanju dr. sci. Jasni Halambek, dipl. ing. i Krešimiru Maldiniju, dipl. ing. na njihovom istraživačkom zanosu i upornosti. Njihov doprinos ovom istraživanju nemjerljivo je velik. Isto tako, zahvaljujem se voditeljici Nacionalnog laboratorija za duljinu dr. sci. Gorani Baršić, dipl. ing. na pomoći. Posebno se želim zahvaliti slovačkoj grupi suradnika i istraživača bez kojih sve ovo ne bi bilo moguće. To su dr. sci. Martin Balog, dipl. ing., dr. sci. Peter Križik, dipl. ing. i dr. sci. Peter Švec ml., dipl. ing.

Zahvaljujem se mojoj obitelji i prijateljima što su imali razumijevanja kada nisam imao vremena za njih. Posebno hvala mojoj maloj nećakinji Viti na ljubavi koju pruža.

Istraživanje biokorozivskih karakteristika titanij-magnezij kompozitnoga materijala

Sažetak

U dugogodišnjoj kliničkoj primjeni titanija sve se više uočavaju štetni učinci kao što je otpuštanje iona Ti^{4+} uslijed neprihvatljivog biokorozivskog ponašanja. Magnezij se u posljednje vrijeme često primjenjuje u biointeraktivnim konceptima oseointegracijskih površina kao značajan čimbenik oseointegracije u biodegradacijskom procesu otpuštanja iona Mg^{2+} . Kako se titanij i magnezij ne mogu legirati, metalurgija praha smatra se tehnikom izbora za proizvodnju titanij-magnezijeva kompozitnoga materijala. Svrha ovog rada je istraživanje biokorozivskih svojstava titanij-magnezijeva materijala kroz proučavanje otpuštanja iona Ti^{4+} i Mg^{2+} te promatranje promjena nastalih na površini. Pripravljene su tri vrste materijala, s 1, 2 i 5 % magnezija u titanijskoj osnovi. Kao kontrolna skupina upotrijebljen je komercijalno čisti titanij stupnja 4. Za otpuštanje iona Ti^{4+} i Mg^{2+} korišten je test uranjanja u četiri vrste otopina: umjetnoj slini, umjetnoj slini s pH 4 i s dodanim fluorom te Hankovoj otopini koje su zatim analizirane metodom masene spektrometrije induktivno spregnutom plazmom. Površine uzoraka karakterizirane su skenirajućom elektronskom mikroskopijom, energijskom disperzivnom spektroskopijom, rendgenskom difrakcijskom analizom te profilometrijskim određivanjem hrapavosti površine. Rezultati istraživanja pokazali su značajno manje otpuštanje iona Ti^{4+} u usporedbi s kontrolnom skupinom. Dok su na otpuštanje iona Ti^{4+} statistički značajan utjecaj imale vrste otopina, otpuštanje iona Mg^{2+} bilo je pod utjecajem vrste ispitivanog materijala. Na površinama je uočena intenzivnija fizikalno kemijska aktivnost ispitivanog materijala koja sugerira na zaključak o potencijalnoj biointeraktivnosti istog. Istovremeno, magnezijeva korozija se je u nekim uvjetima pokazala neprihvatljivom za primjenu *in vivo*. Stoga su potrebna daljnja istraživanja strukture i sastava inovativnog titanij-magnezijeva kompozitnoga materijala proizvedenog tehnikom metalurgije praha.

Ključne riječi: Titanij; magnezij; biokorozija; otpuštanje iona; kompozitni materijal; metalurgija praha

Bio-corrosive characteristics of titanium-magnesium composite material

Summary

Introduction: Titanium and its alloys have been widely used as an implantable alloplastic biomaterial in the field of dental medicine for the last half century. Good mechanical properties, favourable corrosion behaviour and excellent biocompatibility are mentioned as the main reasons for such a large clinical application. The important bio-corrosive characteristic of titanium is the formation of dioxide layer of TiO_2 which protects the metal of dissolving. However, such a surface layer plays poor protective role in some environmental conditions such are low pH value of the medium and the presence of fluorides. Magnesium enhances osteoinduction, osteoconduction and osseointegration of implantable biomaterial by promoting some osteogenic processes in the alveolar bone during a peri-implant bone formation. However, magnesium, as a pure metal, demonstrates poor bio-corrosive behaviour resulting in the gaseous H_2 evolution and the alkalization of surrounding area. The powder metallurgy technique has been shown as the method of choice to unify the positive properties of two metals. In that way produced titanium-magnesium composite material could demonstrate better corrosive behaviour and develop an innovative and biomimetic surface characteristics in order to improve the process of osseointegration of such an implantable material. **Aim:** The aim of this study is to investigate the bio-corrosive characteristics of titanium-magnesium composite by determining the amount of released titanium and magnesium ions and by observing the surface changes during the corrosion test in simulated body fluids. **Materials and methods:** Three groups of innovative titanium-magnesium composite were produced by means of powder metallurgy technique: 1 mass%, 2 mass% and 5 mass% of magnesium in titanium matrix. Commercially pure titanium was used as a control group. The standardized static immersion test was used to carry out the bio-corrosion testing. Artificial saliva, artificial saliva with pH 4, artificial saliva with fluorides added and Hank's balanced salt solution were prepared. The amount of released titanium and magnesium ions in the solution were determined by means of inductively coupled plasma mass spectrometry. The surface topography was observed by means of scanning electron microscopy, energy dispersive spectroscopy and X-ray diffraction analysis. To compare the surface roughness

before and after the immersion, profilometry method was employed. Statistical evaluation was done by Statistica 7.0 software package. Significance level in all tests was set to $p < 0.05$.

Results and discussion: The amount of released titanium ions from all of three tested groups was significantly lower in comparison to the control group except in the case when the 5 mass% magnesium in titanium tested group was immersed in Hank's balanced salt solution. According to the literature data, the amount of released titanium ions from tested material obtained in this study can't provoke any biologically harmful side effect. Statistical analysis showed the significant influence of the type of solution on titanium ions release. At the same time, the magnesium ions release was more intense and faster than the titanium corrosion and under the influence of type of tested material. According to the literature data, the results of this investigation revealed that only the composite with 1 and 2 mass% of magnesium in titanium matrix performed biologically favourable corrosive behaviour. In the case of 5 mass% magnesium in titanium matrix group, the magnesium corrosion could provoke harmful biological side effects. Surface topography examination showed that localized forms of corrosion, dominantly pitting, prevailed on the surfaces of tested materials whereas the generalized corrosion was distinctive for the material of the control group. Chemical microanalysis of the surface after immersion revealed the presence of the atoms contained in the solutions and crystallographic examination confirmed the presence of hydroxyapatite and magnesium-oxide crystals formations. This could refer to the potentially biomimetic surface characteristic of the innovative titanium-magnesium composite. Profilometric study of the tested surfaces revealed that the vertical dimension of the roughness increased more than any other. **Conclusion:** Based on the bio-corrosion tests performed, one can conclude that the innovative titanium-magnesium composite showed better corrosive behaviour in terms of titanium ions release. The surface changes observed suggest the high bio-interactive potential of the tested material. The magnesium to titanium matrix ratio is found as the most significant factor in the development of a biodegradable titanium-magnesium composite concept with an acceptable magnesium corrosion rate. Since the results of the magnesium release revealed, in certain conditions, poor corrosive behaviour, further research on the development of titanium-magnesium composite are recommended.

Keywords: Titanium; magnesium; bio-corrosion; ion release; composite material; powder metallurgy

SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
1.1. Općenito o biomaterijalima.....	2
1.1.1. Povijest biomaterijala.....	3
1.1.2. Kovinski biomaterijali.....	4
1.1.3. Dentalni kovinski biomaterijali.....	7
1.2. Titanij i njegove legure.....	8
1.2.1. Primjena titanija.....	9
1.2.2. Osnovna svojstva titanija.....	10
1.2.2.1. Kristalografija titanija.....	11
1.2.3. Titanij u dentalnoj implantoprotetici.....	13
1.2.3.1. Legure titanija.....	13
1.3. Biokompatibilnost dentalnih kovinskih biomaterijala.....	15
1.3.1. Biokompatibilnost titanija.....	16
1.3.2. Biokorozija kovinskih biomaterijala.....	16
1.3.2.1. Biokorozijska svojstva titanijevih biomaterijala.....	19
1.3.3. Osteoindukcija, osteokondukcija i oseointegracija.....	23
1.3.3.1. Definicije i povijesni razvoj.....	23
1.3.3.2. Čimbenici oseointegracije titanijevih biomaterijala.....	24
1.3.3.3. Svojstva površine titanijevih biomaterijala.....	25
1.3.3.4. Bioaktivne površine titanijevih biomaterijala.....	26
1.3.3.5. Suvremene spoznaje na polju oseointegracije titanijevih biomaterijala.....	27
1.4. Magnezij.....	29
1.4.1. Osnovna svojstva magnezija.....	29
1.4.2. Magnezij kao biomaterijal.....	30
1.4.3. Biokorozijska svojstva magnezija.....	30
1.4.4. Magnezij u bioaktivnim površinama.....	32
1.5. Eksperimentalni postupci za biokorozijska testiranja.....	35
1.5.1. Biokorozijski testovi.....	35
1.5.1.1. Statički test uranjanja.....	36
1.5.1.2. Masena spektrometrija induktivno spregnutom plazmom.....	37

1.5.2. Testovi za određivanje karakteristika površine.....	40
1.5.2.1. Skenirajuća elektronska mikroskopija.....	40
1.5.2.2. Energijska disperzivna spektroskopija.....	41
1.5.2.3. Rendgenska difrakcijska analiza.....	42
1.5.2.4. Određivanje hrapavosti površine.....	43
1.6. Suvremene spoznaje i strategije razvoja titanijskih biomaterijala.....	46
2. Svrha istraživanja.....	48
2.1. Svrha i hipoteze istraživanja.....	49
3. Materijali i postupci.....	50
3.1. Metodologija i plan istraživanja.....	51
3.2. Priprava uzoraka ispitivane i kontrolne skupine.....	53
3.2.1. Podjela i označavanje uzoraka.....	54
3.3. Statički test uranjanja.....	56
3.3.1. Priprava otopina.....	57
3.3.2. Laboratorijski postupak.....	59
3.3.3. Određivanje koncentracije iona u otopinama.....	62
3.3.4. Izračunavanje količine otpuštenih iona i brzine korozije.....	64
3.3.5. Gravimetrijska analiza.....	65
3.4. Testovi za određivanje karakteristika površine.....	66
3.4.1. Skenirajuća elektronska mikroskopija i energijska disperzivna spektroskopija.....	66
3.4.2. Rendgenska difrakcijska analiza.....	67
3.4.3. Profilometrijsko određivanje hrapavosti površine.....	67
3.5. Statistička analiza.....	68
4. Rezultati.....	70
4.1. Rezultati statičkog testa uranjanja.....	71
4.1.1. Rezultati otpuštanja iona Ti^{4+} i Mg^{2+} kod Ti-1Mg skupine.....	71
4.1.2. Rezultati otpuštanja iona Ti^{4+} i Mg^{2+} kod Ti-2Mg skupine.....	75
4.1.3. Rezultati otpuštanja iona Ti^{4+} i Mg^{2+} kod Ti-5Mg skupine.....	79
4.1.4. Rezultati otpuštanja iona Ti^{4+} kod CP Ti 4 skupine.....	83
4.1.5. Rezultati gravimetrijske analize.....	91

4.2.	Rezultati testova za određivanje karakteristika površine.....	94
4.2.1.	Rezultati skenirajuće elektronske mikroskopije i energijske disperzivne spektroskopije.....	94
4.2.2.	Rezultati rendgenske difrakcijske analize.....	97
4.2.3.	Rezultati profilometrijskog određivanja hrapavosti površine.....	100
5.	Rasprava.....	111
5.1.	Otpuštanje iona titanija i magnezija iz ispitivanih uzoraka.....	112
5.2.	Promjene površine ispitivanih uzoraka tijekom biokorozivnog testiranja.....	121
6.	Zaključci.....	132
7.	Literatura.....	135
8.	Životopis.....	154
9.	Privitak	

Popis skraćenica

hcp - heksagonska gusta slagalina

bcc - kubična prostorno centrirana kristalna rešetka

ELI - *extra low interstitials*

SVE - standardna vodikova elektroda

V_{SVE} - volt u usporedbi s elektrodnim potencijalom standardne vodikove elektrode

HA - hidroksiapatit ($Ca_{10}(OH)_2(PO_4)_6$)

IBAD - ionskim snopom potpomognuto nanošenje

ATP - adenzin trifosfat

ADP - adenzin difosfat

SEM - skenirajuća elektronska mikroskopija

EDS - energijska disperzivna spektroskopija

XPS - rendgenska fotoelektronska spektroskopija

XRD - rendgenska difrakcijska analiza

STU - statički test uranjanja

HO - Hankova otopina

ICP-MS - masena spektrometrija induktivno spregnutom plazmom

SE - sekundarni elektroni

BSE - odbijeni elektroni

BIC - kontakt implantat - kost

CP Ti - komercijalno čisti titanij

CP Ti 4 - komercijalno čisti titanij stupnja 4

P/M - metalurgija praha

Ti-Mg - titanij-magnezijev kompozitni materijal

Ti-1Mg - titanij-magnezijev kompozitni materijal s 1 % masenog udjela Mg u Ti osnovi

Ti-2Mg - titanij-magnezijev kompozitni materijal s 2 % masenog udjela Mg u Ti osnovi

Ti-5Mg - titanij-magnezijev kompozitni materijal s 5 % masenog udjela Mg u Ti osnovi

CIP - hladno izostatičko prešanje

VP - uniaksijalno prešanje u vakuumu

ASTM - Američko društvo za testiranje i materijale

USF - umjetna slina modificirana po Fusayami

USFpH4 - umjetna slina modificirana po Fusayami s pH 4

USFF - umjetna slina modificirana po Fusayami s dodatkom iona F⁻

HDH - hidrid - dehidrid postupak

WEDM - tehnika erodiranja žicom

SiC - silikatno - karbidni

SPM - specifični prirast mase

ANOVA - analiza varijance

PCA - analiza glavnih komponenata

OCP - oktakalcijev fosfat pentahidrat ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

E_b - elektrodni potencijal pri kojem dolazi do loma zaštitnog pasivnog sloja

Ca-P - kalcijevi fosfatni spojevi

1. UVOD

1.1. Općenito o biomaterijalima

Zbog sve većih zahtjeva suvremene medicine, a u koraku s modernim informacijskim i tehnološkim tokovima, znanost o biomaterijalima postaje izrazito dinamično područje osmišljavanja i stvaranja novih koncepata odnosa stranog materijala i tkiva domaćina. Današnja stremljenja usmjerena su prema razvoju biološki “inspiriranih” materijala čija se uloga od pasivne preko aktivne promiče u biointeraktivnu. Od suvremenog se biomaterijala očekuje da će, osim nadoknade izgubljene funkcije, izazvati takav biološki odgovor koji će novonastalom sustavu biomaterijal - domaćin dati svojstva koja što vjernije oponašaju izgubljeno tkivo ili organ.

U dentalnoj medicini, kovinski biomaterijali su još uvijek najraširenija skupina zbog svojih dobrih mehaničkih svojstava. Među njima najzastupljeniji su titanij (Ti) i njegove legure, kobalt-kromove legure, nehrđajući čelik te, od novijih, biorazgradive magnezijeve legure i nikal-titanij “memorijske” legure. U izradi dentalnih implantata titanij i njegove legure predstavljaju “zlatni standard”, a proces oseointegracije predstavlja ključnu točku kliničkog i istraživačkog interesa (1). Upravo se kvalitativna i kvantitativna svojstva osteogeneze uzimaju kao mjerilo kvalitete novog oseointegrirajućeg biomaterijala. Danas se pred istraživače oseointegrirajućih površina postavlja cilj: razviti materijal koji će postići imedijatnu oseointegraciju te otvoriti mogućnost za imedijatno opterećenje dentalnog implantata. U tom smislu, biološki “inspirirane” površine predstavljaju naročit izazov jer ulaze u interakciju s domaćinom kako bi iskoristile njegov prirodni potencijal.

Jedna od brojnih definicija biomaterijala jest da je to bilo koji materijal koji je izrađen kako bi na odgovarajući i prihvatljiv način došao u interakciju s biološkim sustavom. Potreba za biomaterijalima nastaje zbog gubitka jednog dijela organizma s posljedičnim gubitkom funkcije što se onda ugradnjom takvih materijala u živi organizam pokušava nadokanditi. Nije uvijek nužno da postoji fizički gubitak, nego gubitak funkcionalnosti određenog tkiva, organa ili dijela organskog sustava. U dentalnoj medicini najčešći razlog koji vodi k potrebi za ugradnjom biomaterijala jest gubitak zuba te posljedično narušena žvačna funkcija.

Među prvim definicijama biomaterijala je ona koja je prihvaćena konsenzusom 1987. godine na konferenciji Europskog društva za biomaterijale, a dao ju je Williams definirajući biomaterijale kao nežive materijale koji ulaze u interakciju s biološkim sustavom u obliku

medicinskog proizvoda (2). Danas je znanstvena disciplina koja izučava biomaterijale napredovala tako da se stalno otvaraju novi edukacijski programi pri akademskim ustanovama i institutima, provode kontinuirana znanstvena istraživanja te se istovremeno inovativni materijali ugrađuju i primjenjuju u suvremnoj industriji lijekova i medicinskih proizvoda.

1.1.1. Povijest biomaterijala

Prvi zabilježeni slučaj ugradnje biomaterijala bio je kirurški šav otkriven u kulturi starih Egipćana 3000 godina prije nove ere. Arheološka istraživanja pokazala su da su u Europi još 900 godina prije nove ere postojali zubni usadci, a stare Maje u Srednjoj Americi su pokušavale nadoknaditi izgubljene zube 600 godina prije nove ere. Na iskopinama su pronađene mandibule s ugrađenim punjenjima. Dentalna medicina je među prvim granama medicinske znanosti u kojoj su se biomaterijali počeli rabiti. Od materijala, tada su se koristili kamen, kost, školjke i zlato. U srednjem vijeku, otkrićem infekcije kao uzroka bolesti i smrti, ugradnja biomaterijala postaje manje popularnom (3).

Prva ozbiljna znanstvena istraživanja na biomaterijalima započinju početkom 19. stoljeća kad se uvode kovine kao gradivni materijali te tako 1829. godine Levert istražuje reakciju pasa na ugrađeni kovinski usadak. Nakon uvođenja aseptičkih metoda u kirurgiju, implantacije bilježe značajnu stopu uspjeha te tako 1886. godine njemački kirurg Hansmann koristi kovinske pločice za unutarnju fiksaciju kod prijeloma. Drugi svjetski rat je bio razdoblje kada su se kovinski i nekovinski biomaterijali uvelike počeli koristiti u ratnoj kirurgiji. Istovremeno se kovine pokušavaju ugraditi i u području dentalne kirurgije kada Goldberg i Gershkoff ugrađuju prvi subperiostalni implantat (4).

Titanij se istraživanjima Brånemarka 50-ih i 60-ih godina prošlog stoljeća počeo uvoditi u kliničku primjenu. Godine 1965 Brånemark je ugradio prvi titanijev dentalni implantat 34 godišnjem pacijentu i taj implantat je imao preživljenje od 40 godina. U isto vrijeme razvija se koncept oseointegracije, a već krajem 70-ih godina publicirano je desetogodišnje iskustvo s oseointegrirajućim implantatima (5).

Još je 1979. godine Hench predviđao smjerove razvoja u istraživanju i dizajnu biomaterijala te je naveo tri bitna područja izučavanja: studije o složenim (kompozitnim) sustavima koji pružaju jedinstvene kombinacije bioloških površina i podređene im mehaničke performanse;

istraživanja o reakcijama na razini sučelja domaćin-implantat kako bi se dugoročno mogao predvidjeti ishod odgovora; razvoj dugoročno predvidivih reakcija biomaterijala čija se pouzdanost temelji na reakciji na razini sučelja, biomehanici, mehanici loma, testovima umora i analizama neuspjeha (6).

Suvremena znanost biomaterijale dijeli u tri generacije gledajući kako su se razvijali:

- a) Biopasivni (bioinertni) materijali zadovoljavajućih fizikalnih svojstava sličnim onih okolnih tkiva s minimalnom reakcijom tkiva poštujući Williamsovu paradigmu o biokompatibilnosti;
- b) Bioaktivni materijali koji interferiraju sa staničnim i tkivnim odgovorom u fiziološkom okruženju;
- c) Biointeraktivni ("pametni") materijali napravljeni tako da izazivaju specifični stanični odgovor na molekularnoj razini kako bi se postigla regeneracija umjesto reparacije (7).

Današnja stremljenja u području znanosti o materijalima, općenito, jesu razvijati, kako Badami i Ahuja navode, "bio-pametne" materijale čije su karakteristike da kontrolirano mijenjaju svoja svojstva s obzirom na vanjske podražaje kao što su opterećenje, temperatura, vlažnost, pH, prisutnost električnog ili magnetskog polja (8). "Inteligentni" materijali imaju danas široku primjenu u terapiji, kod oblikovanja tkiva i kultura stanica, u bioseparaciji i biomimetici, za lokalnu primjenu visokospecifičnih lijekova te kao termoreaktivne površine, a u mnogim područjima dentalne medicine izazvali su male "revolucije" kao recimo: nikal-titanijeve (NiTi) legure koje "pamte" oblik (eng: *shape memory alloy - SMA*) u ortodonciji; "pametne" keramike u restorativnoj stomatologiji; "pametni" kompozitni materijali s amorfnim kalcij-fosfatom i dr. (9)

1.1.2. Kovinski biomaterijali

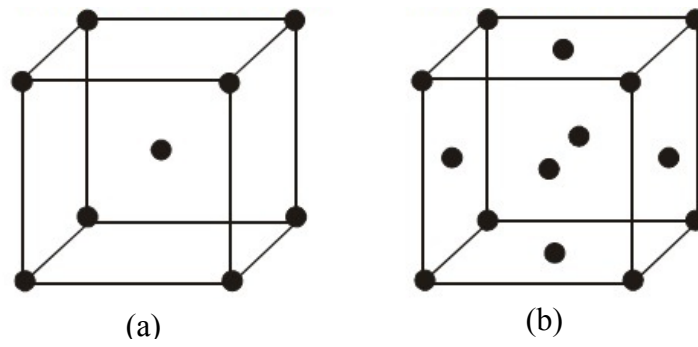
Kovine ili metali su materijali koji imaju svojstvenu kovinsku vezu između svojih atoma u krutom stanju. Budući da su kovine jaki donori elektrona, ne vežu se ni ionskom ni kovalentnom vezom već se atomi kovina slažu u pravilnu, ponavljajuću, trodimenzionalnu rešetku s elektronima koji migriraju između njih. Ti elektroni su odgovorni za kemijsku

reaktivnost kovina te za elektro- i termokonduktivnost. Tri su najčešća prostorna rasporeda u obliku kristalnih rešetki kod kovina (10):

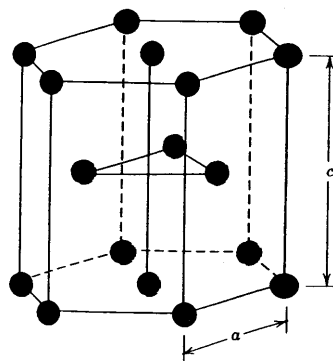
- a) Plošno centrirana kubična rešetka (eng. *face-centered cubic - fcc*) (Slika 1a.);
- b) Prostorno centrirana kubična rešetka (eng. *body-centered cubic - bcc*) (Slika 1b.);
- c) Heksagonska gusta slagalina (eng. *hexagonal close packed - hcp*) (Slika 2.).

Od mehaničkih svojstava kovinskih biomaterijala za biomedicinsku upotrebu bitno je da su što sličnija svojstvima tkiva koje se zamjenjuje. Ono što se od mehaničkih svojstava može izmjeriti su: istezljivost, granica razvlačenja, tvrdoća, čvrstoća, žilavost i dinamička izdržljivost. Niinomi u svom radu na titaniju i njegovim legurama istražuje vlačnu čvrstoću (MPa), dinamičku izdržljivost (MPa), granicu tečenja (MPa), produljenje (%) i modul elastičnosti (GPa) (11).

Suvremena istraživanja usmjerena su na razvoj treće generacije “pametnih” kovinskih biomaterijala. Uz već poznata fizikalna i mehanička svojstva kovina koji se koriste kao ugradbeni materijali, njihova biološka svojstva u žarištu su znanstvenog interesa. Biološka interakcija kovinskih materijala u kontaktu s tkivima ljudskog organizma ono je što takve materijale čini biomaterijalima. U svom radu, promišljajući o biokompatibilnosti i analizirajući 50-godišnje iskustvo s biomaterijalima, Williams zaključuje da u većini slučajeva jedini uvjet biokompatibilnosti kod primjene gotovih medicinskih proizvoda je da materijal ne smije štetiti tkivima svojim kemijskim i fizikalnim svojstvima, ali isto tako naglašava da je suvremenu paradigmu biokompatibilnosti potrebno mijenjati, oblikovati i nanovo gledati na biomaterijale kao nešto što ulazi u specifičnu i izravnu interakciju sa sastavnicama tkiva (12).



Slika 1. Shema prostorno (a) i plošno (b) centrirane kubične kristalne rešetke.



Slika 2. Shema heksagonske guste slagaline.

1.1.3. Dentalni kovinski biomaterijali

Kovine se u dentalnoj medicini uvelike koriste prvenstveno zbog dobrih fizikalnih i mehaničkih svojstava. Ono što kovinskim biomaterijalima nedostaje je njihova biološka funkcija budući da za ljudski organizam predstavljaju potpuno stran, aloplastičan materijal. Kako bismo kovine mogli učiniti biofunkcionalnim, moramo ih modificirati (13).

Od kovina, u dentalnoj medicini koriste se:

- a) Plemenite kovine: zlato (Au), platina (Pt), paladij (Pd), iridij (Ir), rutenij (Ru), rodij (Rh);
- b) Neplemenite (bazne) kovine: srebro (Ag), bakar (Cu), cink (Zn), indij (In), kositar (Sn), galij (Ga), krom (Cr), kobalt (Co), molibden (Mo), aluminijski (Al), željezo (Fe), berilij (Be), mangan (Mn), titanij (Ti), nikl (Ni), vanadij (V), niobij (Nb), cirkonij (Zr).

Dentalni kovinski biomaterijali dijele se na (14):

- a) Amalgame;
- b) Legure za dentalne odljeve:
 - I) Visoko plemenite (s udjelom plemenitih kovina ≥ 60 težinskih udjela (%) + zlato ≥ 40 težinskih udjela (%));
 - II) Plemenite (s udjelom plemenitih kovina ≥ 25 težinskih udjela (%));
 - III) Dominantno bazne (udio plemenitih kovina < 25 težinskih udjela (%)).
- c) Bazne kovinske legure:
 - I) Kobalt-krom (CoCr) i nikal-krom (NiCr) legure;
 - II) Titanij (Ti) i titanijske legure;
 - III) Kovane legure:
 - i) Legure od nehrđajućeg kovanog čelika;
 - ii) Kovane nikal-titanijske (NiTi) legure;
 - iii) Kovane beta-titanijske (β Ti) legure.

1.2. Titanij i njegove legure

Titanij (lat. *Titanium*, simbol Ti) je kemijski element atomskog broja 22, atomske mase 47,867. Svrstava se u kemijsku skupinu prijelaznih kovina. U elementarnom stanju je siv ili crni metalni prah. Talište mu je na 1670 °C, relativna gustoća 4506 kg/m³ i smatra se lakom kovinom. Spada u vrlo raširene elemente te ga u zemljinoj kori ima oko 0,7 % i to najčešće kao rutil (TiO₂) i ilmenit (FeTiO₃). Od ostalih minerala koji sadrže titanij treba spomenuti brukit i leukoksen. Glavna nalazišta su u Kanadi, Australiji, Indiji, Norveškoj, Rusiji te u nekim afričkim zemljama. Titanijevi minerali i njihov kemijski sastav prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Titanijevi minerali i njihov kemijski sastav.

Mineral	Sastav	Udio titanij-dioksida (TiO ₂)
Rutil	TiO ₂ (tetragonski)	~ 95%
Anatas	TiO ₂ (tetragonski, oktoedrijski)	~ 95%
Brukit	TiO ₂ (ortorompski)	~ 95%
Ilmenit	FeO · TiO ₂	40 - 65%
Leukoksen	Fe ₂ O ₃ · nTiO ₂	> 65%
Arizonit	Fe ₂ O ₃ · nTiO ₂ · mH ₂ O	---
Perovskit	CaTiO ₃	---
Geikielit	MgTiO ₃	---
Titanit ili sfen	CaTi[SiO ₄]O	---
Titanij-željezo magnetit	[Fe · Ti] ₂ O ₃	---

Titanij je prvi otkrio britanski klerik i mineralog Gregor 1791. godine izučavajući mineral ilmenit pronađen u dolini Manaccan, Ujedinjeno Kraljevstvo. Tu je nepoznatu kovinu koju je uspio izolirati prozvao manakanit. Kasnije, iste godine Klaproth, njemački kemičar otkriva

novu kovinu u mineralu rutilu i naziva je titanijem po titanima iz grčke mitologije. Zasluge za novo otkriće ipak su pripisane Gregoru, ali je zadržan Klaprothov naziv titanij.

Titanij se kao materijal odličnih fizikalnih i mehaničkih svojstava nije počeo ozbiljno iskorištavati sve do kasnih 40-tih godina dvadesetog stoljeća, dočim nakon Drugog svjetskog rata, tražeći nove materijale u ponovno pokrenutim industrijama svijeta, nije započela njegova proizvodnja. Jedan od glavnih razloga za to je bila i činjenica da je metalni titanij izrazito reaktivan u kontaktu s kisikom, ugljikom i dušikom i stoga ga je bilo teško izolirati sve dok Kroll, metalurg iz Luksemburga, nije razvio postupak gdje se isprva rude (ilmenit, rutil) zagrijavaju s ugljikom do temperature od 900 °C u struji klora pri čemu se dobije titanij-tetraklorid (TiCl_4) koji se zatim reducira pomoću magnezija (Mg) u inertnom plinu (15) te tako, isprva u Sjedinjenim Američkim Državama, započinje proizvodnja titanija. Produkt tog poznatog Krollovog procesa je takozvana titanijeva spužva koja je ime dobila zbog poroznog i spužvastog izgleda. Ovaj metalurški postupak ostao je, uz neke preinake i poboljšanja, do danas dominantni i primarni tehnološki proces u proizvodnji titanija (16). Ipak, zbog brzog trošenja prirodnih izvora rutila, proizvodni metalurški procesi se danas počinju preusmjeravati prema ilmenitu te se shodno tome ulažu veliki naponi u istraživanju novih postupaka proizvodnje titanija s posebnim naglaskom na postupke proizvodnje sintetskog rutila iz ilmenita, termokemijske postupke kao što je Krollov i Hunterov postupak, elektrokemijske procese izravne redukcije titanij-oksida, a naročito na hidrometalurške postupke (17).

1.2.1. Primjena titanija

Zbog svojih dobrih fizikalnih i mehaničkih svojstava, prije svega niske gustoće i visoke čvrstoće, prva industrija koja je kao sirovinu koristila titanij i njegove legure, sredinom prošlog stoljeća kada je počela njegova ozbiljna industrijska proizvodnja, bila je vojna zrakoplovna industrija. Vojni zrakoplovi zadržali su primat u količini upotrijebljenog titanija u SAD-u sve negdje do 80-ih godina prošlog stoljeća kada prvo mjesto preuzima civilna zrakoplovna industrija (15). Jedan od prvih komercijalnih zrakoplova koji je sadržavao oko 10% titanija u svojoj cjelokupnoj težini bio je Boeing 777 proizveden 1995 godine (18). Jedan od razloga zašto je od prethodnog tipa ovog zrakoplova, Boeinga 757 i 767, prošlo oko 10 godina, je i činjenica da su se u tom razdoblju intenzivno istraživale nove titanijeve legure, a

napose β -legure titanija. U konstrukciji zrakoplova, titanij i njegove legure koriste se za izradu trupa i motora.

Osim u zrakoplovnoj industriji, titanij se koristi u kemijskoj industriji kao sirovina za izradu pigmenata te kao građevinski materijal (16). Vrlo je važna sirovina za izradu bušilica i transportnih postrojenja za istraživanje i eksploataciju mora (19) naročito zbog velike otpornosti na koroziju u morskoj vodi.

Razvoj potrošačkog društva postupno uvlači titanij i u taj segment cjelokupne svjetske industrije. Tako se danas mogu pronaći predmeti poput okvira za naočale, video kamera, satova, nakita koji su izrađeni od titanija i njegovih legura. Posebno veliki dio u ovom segmentu primjene zauzimaju predmeti i rekviziti koji se koriste u sportu. Tako se, na primjer, glave za golf palice, okvire reketa za tenis, okvire za bicikl te posebni dodatci na sportskim cipelama za trkače sprintere izrađuju od legura titanija. Titanij se počeo uvoditi i u industriju automobila, isprva samo za sportske, trkače automobile, ali u posljednje vrijeme i za obiteljske (16).

Područje primjene u kojem se najdalje otišlo u znanstvenom doseg je biomedicinsko područje primjene titanija. Titanij se zbog svojih fizikalno-mehaničkih, a prije svega povoljnih biomedicinskih svojstava naveliko koristi u raznim poljima biomedicine. Čisti titanij smatra se najboljim kovinskim biomaterijalom zbog mogućnosti stvaranja pasivnog površinskog sloj oksida (20). Istovremeno se istražuju nove mogućnosti primjene, pronalaze nove sastavnice legura kako bi se poboljšala svojstva te razrađuju tehnološki procesi izrade suvremenog aloplastičnog biomaterijala.

U dentalnoj medicini titanij se najviše koristi u dentalnoj implantologiji za izradu oseointegrirajućih implantata, u protetici za izradu protetskih konstrukcija, u endodonciji u kombinaciji s niklom za izradu rotirajućih instrumenata (21).

1.2.2. Osnovna svojstva titanija

Ono što titanij čini jednim od najboljih biomaterijala su prije svega njegova izvrsna fizikalna svojstva: gustoća i čvrstoća i njihov međusobni odnos. Titanij ima izvrstan omjer čvrstoće i gustoće u odnosu na ostale kovine koje se potencijalno mogu koristiti kao biomaterijali, što

znači da su proizvodi od tog materijala lakši, a čvršći u odnosu na ostale materijale. Osnovna svojstva titanija prikazana su u Tablici 2.

Tablica 2. Osnovna svojstva titanija.

Gustoća	4506 kg/m ³
Tvrdoća	970 HV
Talište	1668 °C
Vrelište	3287 °C

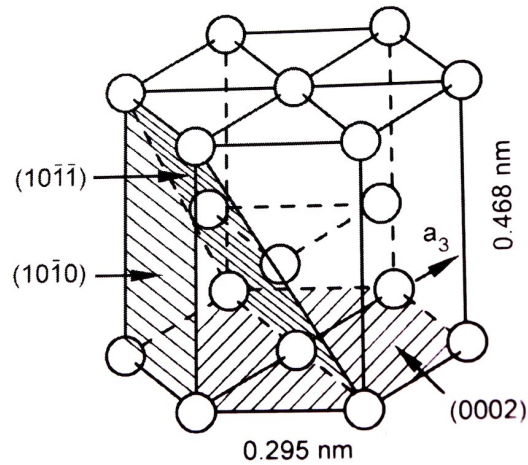
Titanij je izrazito reaktivna kovina i vrlo lako ulazi u kemijsku reakciju s kisikom, dušikom i ugljikom te se kao takav u elementarnom stanju teško može proizvesti. Shodno tome najrasprostranjeniji kemijski spoj titanija je titanij (IV) oksid (titanij dioksid, TiO₂). Od ostalih spojeva titanija, česti su titanijev (III) klorid (TiCl₃) te titanijevi dihalogenidi (TiBr₂, TiCl₂, TiI₂) te tetrahalogenidi (TiCl₄, TiBr₄, TiI₄). Od izotopa titanija, postoje pet stabilnih izotopa: titanij-46; titanij-47; titanij-48; titanij-49 i titanij-50 te oko deset radioaktivnih izotopa.

1.2.2.1. Kristalografija titanija

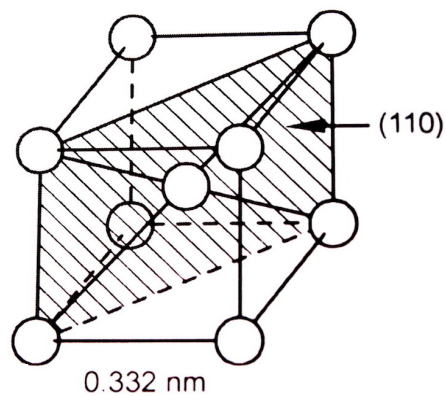
Titanij se na razini mikrostrukture javlja u dvije alotropske modifikacije. Na sobnoj temperaturi se nalazi u α -fazi koja ima heksagonsko gustu slagalinu - *hcp* (od eng.: *hexagonal close-packed*) (Slika 3.). Pri temperaturi od 882°C α -faza prelazi u β -fazu koja ima kubičnu prostorno centriranu kristalnu rešetku - *bcc* (od eng.: *body-centered cubic crystal structure*) (Slika 4.).

Modul elastičnosti ovisi o vrsti kristalne rešetke, to jest, gustoći sila koje vladaju unutar pojedinog oblika kristalne rešetke. Tako je u *hcp* kristalnoj rešetci gustoća sila koje povezuju atome veća nego kod *bcc* rešetke. Stoga α -titanij ima veći modul elastičnosti od β -titanija. Modul elastičnosti čistog titanija iznosi oko 110 GPa i funkcija je kuta između uzdužne (c) osi kristalne rešetke i vektora sile naprezanja koja djeluje te je anizotropan. Tako, ako je vektor sile naprezanja paralelan s uzdužnom (c) osi kristalne rešetke, onda modul elastičnosti čistog titanija iznosi oko 145 GPa, a ako je taj vektor okomit na uzdužnu os, onda modul elastičnosti

iznosi oko 100 GPa. Isto tako modul elastičnosti linearno pada s podizanjem temperature. B-titanij ima modul elastičnosti u rasponu od 70 GPa -105 GPa, dok α + β -legure titanija imaju i preko 115 GPa.



Slika 3. Kristalna rešetka α -titanija.



Slika 4. Kristalna rešetka β -titanija.

1.2.3. Titanij u dentalnoj implantoprotetici

U dentalnoj implantoprotetici titanij je “zlatni standard” za proizvodnju dentalnih implantata od 1977. godine (5). Usprkos tome što se sve više istražuju i uvode novi, ne-titanijevi materijali u primjenu, titanij je prisutan u najvećem broju dentalnih oseintegrirajućih implantata koji se danas nalaze na tržištu. Razlog tome su dobra mehanička svojstva, biokompatibilnost te prihvatljivo korozivno ponašanje (20).

1.2.3.1. Legure titanija

Titanij i njegove legure koje se koriste u dentalnoj medicini dijele se s obzirom na kristalografsku strukturu na α -, metastabilne β - i α/β - titanijeve legure i prikazane su u Tablici 3. (22). Kao što je već spomenuto, titanij se na sobnoj temperaturi nalazi u α -fazi i tvori heksagonski gusto slagano kristalnu rešetku za koju je karakterističan visok modul elastičnosti. Legiranjem titanija mogu se dobiti stabilne obje alotropske modifikacije na sobnoj temperaturi. Najčešće se za stabiliziranje α faze koristi kisik, aluminij i kositar, a za stabilizaciju β faze niobij, molibden, tantal, krom, vanadij i željezo.

Nelegirani (čisti) titanij i legure titanija sa α stabilizatorima kristalografski zadržavaju heksagonski gusto slagano rešetku na sobnoj temperaturi te stoga imaju veću otpornost puzanju, veću žilavost i čvrstoću te viši modul elastičnosti od ostalih titanijevih legura.

Metastabilne β legure zadržavaju prostorno centriranu kubičnu kristalnu rešetku te se lakše mogu hladno obrađivati od α legura. Glavni nedostatak im je slabija otpornost puzanju, niža žilavost te manja vlačna čvrstoća.

α/β legure sadrže obje vrste stabilizatora i shodno tome i obje faze u svojoj strukturi. Obično se koriste kada je potreban optimalan omjer pojedinih svojstava materijala kao što je recimo omjer između otpornosti puzanju i dinamičke izdržljivosti ili na primjer, omjer između vlačne čvrstoće i žilavosti.

Tablica 3. Vrste i sastav titanijskih legura u dentalnoj medicini (22).

vrsta legure	sastav legure	ASTM norma	ISO norma	naziv legure
α - titanij	čisti titanij stupnja 1	F 67	ISO 5832-2	CP - 1
	čisti titanij stupnja 2	F 67	ISO 5832-2	CP - 2
	čisti titanij stupnja 3	F 67	ISO 5832-2	CP - 3
	čisti titanij stupnja 4	F 67	ISO 5832-2	CP - 4
α/β - titanijeve legure	Ti-3Al-2.5V	F 2146	-	Ti-3Al-2.5V
	Ti-5Al-2.5Fe	-	ISO 5832-10	Tikrutan
	Ti-6Al-4V	F 1472	ISO 5832-3	Ti-6Al-4V
	lijevan Ti-6Al-4V	F 1108	-	Ti-6Al-4V
	Ti-6Al-4V ELI	F 136	ISO 5832-3	Ti-6Al-4V ELI
	Ti-6Al-7Nb	F 1295	ISO 5832-11	Ti-6Al-7Nb
metastabilne β -titanijeve legure	Ti-15Mo	F 2066	-	Ti-15Mo
	Ti-12Mo-6Zr-2Fe	F 1813	-	TMZF
	Ti-11.5Mo-6Zr-4.5Sn	F 9046	-	Beta 3
	Ti-13Nb-13Zr	F 1713	-	Ti-13Nb-13Zr
	Ti-45Nb	F 04.12.44	-	Ti-45Nb
	Ti-35Nb-7Zr-5Ta	F 04.12.23	-	TiOsteum

1.3. Biokompatibilnost dentalnih kovinskih biomaterijala

Biokompatibilnost je koncept usko vezan uz biomaterijale i kad se govori o biomaterijalima podrazumijeva se njihova biokompatibilnost. Problem s konceptom biokompatibilnosti je prvenstveno sama njegova definicija, a zatim i klinička primjena. Naime kako su se izmjenjivali biomaterijali tako je i nastajala sve veća potreba za mijenjanjem ustaljenih paradigmi i definicija. Tako se u početku, kad su se počele ugrađivati prve generacije biomaterijala, smatralo da najbolja biološka svojstva u kontaktu s tkivima imaju materijali koji su najmanje kemijski reaktivni te se shodno tome biokompatibilnost konceptualizirala pomoću pojmova netoksičan, neimunogen, netrombogen, nekancerogen, neiritabilan i tako dalje, jednom riječju, inertan. Međutim, ubrzo su se pojavili razlozi za odbacivanjem postojeće paradigme. Prvi razlog je bilo to što se je pokazalo da se specifični odgovor organizma razlikovao ovisno o mjestu primjene te stoga sam koncept biokompatibilnosti nije ovisio isključivo o samom biomaterijalu. Drugi razlog je bila činjenica da se od biomaterijala očekivalo da izazove specifični odgovor to jest da ne bude samo inertan. I treći razlog je, na neki način nastavak na drugi, a to je da se prilikom nekih primjena očekivalo da se materijal kroz vrijeme razgradi umjesto da ostane dugoročno u nepromijenjenom obliku. Tako se je došlo do definicije biokompatibilnosti kao sposobnosti materijala da obavlja svoju funkciju (djeluje) uz adekvatan odgovor organizma u specifičnoj situaciji (2). Ovakva definicija konceptualizira biokompatibilnost na tri razine:

- a) Nastoji ukazati na biomaterijal kao na nešto što ima svoju aktivnu funkciju i nije dovoljno samo da pasivno postoji;
- b) Naglašava da odgovor organizma mora biti adekvatan za tu određenu primjenu;
- c) Vrsta odgovora tkiva i njena adekvatnost mogu se mijenjati od situacije do situacije (23).

Kako bismo razmotrili primjenu koncepta biokompatibilnosti prvo je važno pobrojati činioce biokompatibilnosti. To su:

- a) Reakcije ili odgovori koji se događaju odvojeno na razini obiju faza sustava biomaterijal - domaćin;
- b) Međuprocеси koji nastaju prilikom njihova kontakta.

Vrlo je važno naglasiti da ti procesi nisu neki novi, nepoznati odgovori na bilo kojoj razini već poznati procesi, a ključ razumijevanja biokompatibilnosti je moći odrediti o kojim se to kemijskim, biokemijskim, fiziološkim, fizikalnim ili drugim mehanizmima radi i zašto, te koje su posljedice takvih interakcija. Dosadašnja istraživanja pokazuju da dentalne kovine mogu uzrokovati lokalni tkivni odgovor kao što je gingivitis i parodontitis (24). Pretpostavlja se da intenzitet ovakvih promjena direktno ovisi o vrsti kovine, njenom kemizmu i koncentraciji (25).

Činioci biokompatibilnosti koje susrećemo na razini biomaterijala kovinskog tipa su: makro- mikro- i nano struktura materijala, kristalna građa, konstante elastičnosti, kemijski sastav površine, površinska topografija, slobodna površinska energija, električna svojstva površine, korozijski parametri, otpuštanje iona, citotoksičnost, degradacijski parametri i parametri trošenja.

1.3.1. Biokompatibilnost titanija

Titanijeve biomaterijale nazivamo biomaterijalima dobre biokompatibilnosti zbog dobrih mehaničkih svojstava, inertnosti i dobre korozijske otpornosti titanija u usporedbi s kobaltovim biomaterijalima i onima načinjenim od nehrđajućeg čelika.

Međutim, nekoliko je problematičnih “točaka” u području biokompatibilnosti titanijevih biomaterijala koje su se pokazale nakon gotovo pola stoljeća kliničke primjene i prema kojima su usmjerena suvremena istraživanja: visok modul elastičnosti i posljedični učinak prigušenja opterećenja (26); biopasivnost koja ima za posljedicu dugo vrijeme potrebno za oseointegraciju titanijevih implantata; loše korozijsko ponašanje u uvjetima niske pH vrijednosti i prisutnih iona fluora (F) koje ima za posljedicu lokalnu reakciju te sustavni odgovor organizma(27, 28).

1.3.2. Biokorozija kovinskih biomaterijala

Korozija predstavlja spontani proces međudjelovanja kovine s okolinom kada kovina iz čistog stanja prelazi u termodinamski stabilniji oblik i pritom mijenja svojstva (29). Otpuštanje iona kritična je točka korozijskog ponašanja dentalnih kovinskih biomaterijala.

U suštini korozija je elektrokemijska reakcija koja se sastoji od dva dijela [1, 2]:

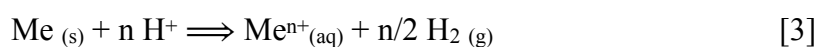
- anodnog



- i katodnog



pa ukupna reakcija izgleda [3]:



gdje, kao što je iz gornjih jednadžbi vidljivo, atomi kovine (Me) izlazeći iz kristalne rešetke gube elektrone te tako oksidiraju i postaju ioni kovine (Me^{n+}), a elektroni (e^-) bivaju privučeni od iona vodika (protona - H^+) koji se tako reduciraju i pretvaraju u plinoviti vodik (29). Ova bazična reakcija vrijedi za anaerobne uvijete i predstavlja jednostavnu redoks reakciju. U aerobnim uvjetima je razlika što je kisik oksidacijski agens, formiraju se kovinski oksidi, hidroksidi ili hidratizirani oksidi i ne stvara se plinoviti vodik. Elektrokemijska reakcija odvija se na granici faza kovina/elektrolit koja čini zatvoreni strujni krug.

Otpuštanjem iona iz kristalne rešetke oslobađa se energija (Gibbsova energija - G) sukladno drugom zakonu termodinamike za spontane procese. Ta promjena slobodne energije (ΔG) pokretačka je sila korozijske reakcije i čini korozijsku reakciju spontanom, a može se izraziti jednadžbom [4]:

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S \quad [4]$$

gdje je ΔH - promjena sadržaja topline sustava pri konstantnom tlaku i temperaturi odnosno vezane energije ili entalpije, T je termodinamička temperatura, a ΔS je promjena entropije.

Pourbaix, francuski kemičar, napravio je atlas korisnih potencijal-pH dijagrama za pojedine sustave koji sumiraju važne termodinamičke informacije za koroziju oko 70 različitih kovina (30). Na tim dijagramima mogu se precizno odrediti područja elektrodnog potencijala i pH vrijednosti sustava gdje pojedina kovina korodira, gdje pasivizira, a gdje ostaje zaštićena od

korozije. Ti dijagrami se nazivaju Pourbaix-ovi dijagrami ili ravnotežni dijagrami jer ukazuju na uvjete u kojima je kovina u ravnoteži s okolnim medijem.

U elektrokemijskom smislu, korozijski proces je redoks reakcija u galvanskom članku te se promjena slobodne energije može se matematički povezati s elektromotornom silom članka [5]:

$$\Delta G = -nEF \quad [5]$$

gdje je n broj elektrona, E je elektromotorna sila članka, a F Faradayeva konstanta (96487 C mol^{-1}). Ovo je ovdje vrlo važno spomenuti jer u procesu korozije nastaje prijenos elektrona, koji sa sobom nose određeni naboj te tako proizvode električnu struju. Kako struja protječe, anodni i katodni dijelovi članka izlaze iz ravnoteže. Dijagrami promjene potencijala anodnog ili katodnog dijela članka u funkciji električne struje nazivaju se polarizacijski dijagrami. Pomoću polarizacijskih dijagrama opisujemo korozijsko ponašanje pojedinih materijala.

Elektrokemijsku reakciju koja predstavlja korozijski proces u biološkim uvjetima nazivamo biokorozijom. S gledišta biokompatibilnosti kovinskih biomaterijala, biokorozija nam je vrlo bitna jer želimo znati:

- a) Što se događa s biomaterijalom tijekom ovog procesa?
- b) Kakve posljedice biokorozija ima na okolne stanice i tkiva?

Pod a): Biokorozijski proces kovinskog biomaterijala može dovesti do njegove biodegradacije, pasivizacije ili pak odlaganje iona iste ili druge kovine na površini što mijenja njena biomehanička svojstva, a sve ovisno o biokorozijskim uvjetima i vrsti kovinskog biomaterijala. Za dugotrajnu primjenu biomaterijala, poželjno je da isti ostane nepromijenjen kroz duže vrijeme kako bi zadržao svoja biomehanička svojstva i funkcionalnost. U tom slučaju, biomaterijali koji pokazuju nižu stopu biokorozije, postaje materijal izbora.

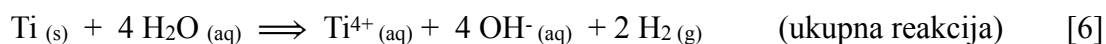
Pod b): Kationi se iz kovinskih biomaterijala počinju otpuštati brzo nakon ugrađivanja i nastavljaju se otpuštati još određeno vrijeme (31). Otpušteni ioni iz kovinskog biomaterijala mogu mijenjati biološke i biokemijske prilike u okolini stanica i tkiva te tako modificirati biološke mehanizme i metabolizam stanica što u konačnici može dovesti do umiranja stanica, zaustavljanja njihovog rasta i diobe (citotoksičnost) (25), maligne transformacije (genotoksičnost) (32) ili pak procesa koji intenziviraju rast i diobu stanica (33). Već spomenuti razvoj koncepta biokompatibilnosti upućuje na trend u znanosti o biomaterijalima,

a to je razvoj materijala koji bi mijenjali stanične mehanizme i odgovore kako bi se organizmu omogućilo samocijeljenje (7).

Kontrolirana korozija može biti način kako objediniti ova dva spomenuta učinka tako da se postupnim i kontroliranim otpuštanjem (biodegradacijom) iona iz biomaterijala mijenjaju njegova mehanička, fizikalna i kemijska svojstva u, za domaćina, povoljnom smjeru te ujedno izaziva povoljan biološki odgovor koristeći prirodne resurse organizma (biomimetika).

1.3.2.1. Biokorozivna svojstva titanijevih biomaterijala

S obzirom na korozivno ponašanje, titanij pripada grupi oksidom pasivizirajućih kovina. Njegovo specifično svojstvo je da korodira ili jako brzo ili veoma sporo ovisno o okolišnim uvjetima te je stoga korozivno svojstvo titanija ono koje ovisi o sustavu materijal-medij (34). Korozivna reakcija titanija može se prikazati [6-8]:



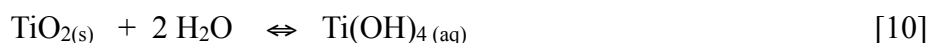
Pourbaix-ov dijagram za sustav titanij-voda (Slika 5.) pokazuje da titanij u širokom području elektrokemijskih i kemijskih uvjeta, a naročito onih koji vladaju u usnoj šupljini (redoks potencijal $0.2 V_{SVE} - 0.45 V_{SVE}$ i pH 5.3 - 7.8 (35)) pasivizira. Pasivizacija titanija predstavlja proces prilikom kojeg se na površini čistog titanija spontano formira sloj titanij (IV) oksida (TiO_2) koji štiti kovinu od daljnje korozije. Naime, termodinamski najstabilniji oblik titanija je oksidno stanje IV (Ti^{4+}) te jednažba za reakciju u vodenom sustavu izgleda [9]:



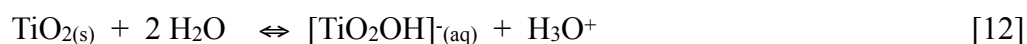
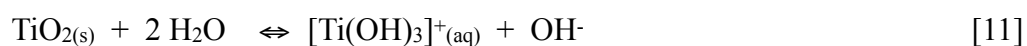
Međutim, Ti^{4+} ioni djeluju kao jaka Lewisova kiselina te deprotoniraju OH^{-} ione tako da se kao stabilni konačni produkt stvara netopivi hidratizirani titanij dioksid ($\text{TiO}_2 \cdot n \text{H}_2\text{O}$). U području kemijskih i elektrokemijskih uvjeta gdje je nemoguć nastanak oksida, titanij je

termodinamski stabilan i "imun" na koroziju, no takve uvjete ne nalazimo u biološkom sustavu usne šupljine i alveolne kosti. S druge strane, korozija titanija će se javiti onda kada spontano nastaju nestabilna oksidna stanja II i III te nestabilni topljivi oksidi u obliku pertitanil (TiO_2^{2+}), pertitanat (TiO_4^-) ili titanat iona (HTiO_3^-). Sukladno ovakvom termodinamičkom razmatranju, može se zaključiti da se titanij kao gradivni biomaterijal može upotrijebiti isključivo u pasivnom stanju.

Dosadašnja *in vitro* istraživanja pokazala su da za vrijeme uranjanja dolazi do pasivnog otapanja (36), ali i rasta zaštitnog oksidnog sloja. Ta dva procesa su kompetitivna i ovise o svojstvima zaštitnog sloja te značajkama elektrolita. Otapanje oksidnog sloja i otpuštanje titanija u okolinu važan je proces kako za površinu titanijskog biomaterijala tako i za okolinu i čini bit biokorozije titanijskog materijala. S termodinamičke točke gledišta, otapanje TiO_2 u vodenoj otopini prikazano je u kemijskoj jednadžbi [10]:



gdje je zapravo kation Ti^{4+} neutraliziran s četiri hidroksilne skupine i čini neutralni kompleks. Koncentracija takvog kompleksa u elektrolitu koja okružuje titanijsku površinu je oko 10^{-6} mol/l. Međutim, osim neutralnih kompleksa, prisutne su i niske koncentracije pozitivno i negativno nabijenih kompleksa nastalih prema kemijskim jednadžbama [11,12]:



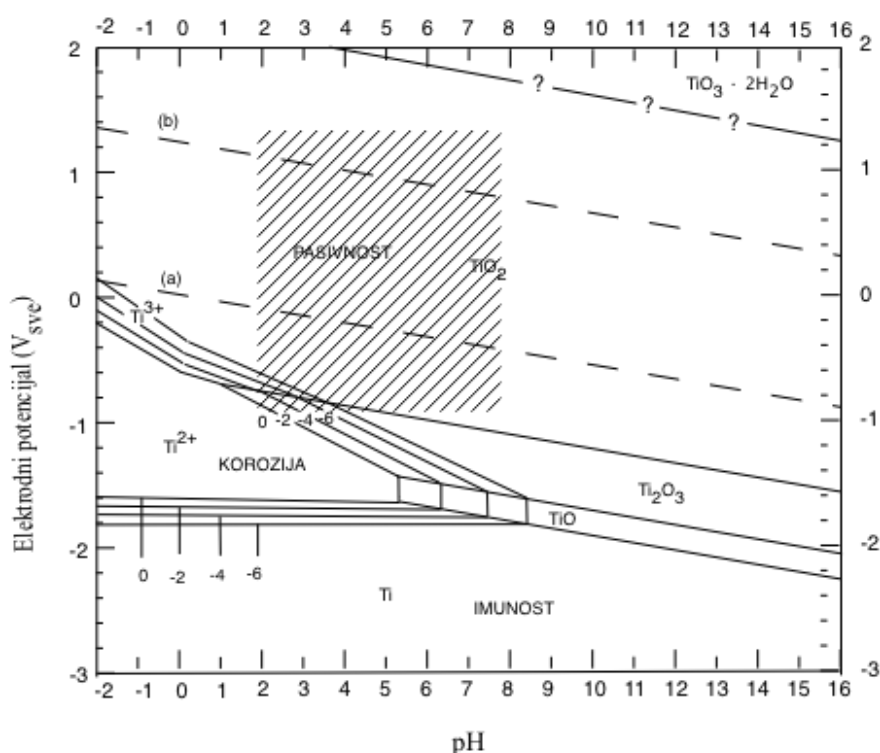
Koncentracija nabijenih titanijskih kompleksa u elektrolitu iznose oko 10^{-10} mol/l - 10^{-11} mol/l i ovisi o pH elektrolita (37).

U fiziološkim uvjetima ljudskog organizma titanijevi materijali spontano formiraju oksidni pasivni sloj na površini koji je odgovoran za izvrsnu otpornost takvih materijala na koroziju. Zaštitni oksidni sloj kemijski je otporan u fiziološkoj sredini i spontano se obnavlja ako je mehaničkim djelovanjem oštećen (repasivizacija). Ipak, pri izrazito reduktivnom potencijalu koji se javlja u uvjetima velikog trošenja (deplecije) kisika i niske pH vrijednosti te u

prisutnosti “agresivnih” halogenih aniona, fluora i klora, može doći do oštećenja zaštitnog pasivnog sloja i pojave korozije.

Za titanijeve biomaterijale, od praktične su važnosti sljedeće vrste korozije:

- a) Opća (uniformna ili generalizirana) korozija kada je zahvaćena jednolično cijela površina biomaterijala;
- b) Pukotinska korozija (*eng. crevice corrosion*) koja nastaje u pukotini između biomaterijala i okoline gdje se stvaraju nepovoljni kemijski i elektrokemijski uvjeti kao što je, na primjer, pad pH vrijednosti;
- c) Jamičasta korozija (*eng. pitting*) koja se javlja zbog izrazito korozivnog učinka iona halogenih elemenata, posebice klora i fluora, na titanijevu površinu;
- d) Galvanska korozija koja nastaje pri direktnom dodiru dvaju različitih kovina ili kada su dvije različite kovine uronjena u isti medij. Zbog razlike u elektrodnom potencijalu, kovina s negativnijim elektrodnom potencijalom postaje anoda, a ona s pozitivnijim, katoda.



Slika 5. Pourbaix-ov dijagram za sustav titanij-voda pri standardnim uvjetima. Iscrtano područje odgovara biološkim uvjetima u ljudskom organizmu.

Spontano formiran zaštitni sloj titanij oksida nema samo protektivnu nego i biološku važnost. Sljedeća svojstva oksidnog filma razlog su izvrsne biokompatibilnosti titanija i njegovih legura (37):

- a) Protektivna uloga, svega nekoliko nanometara debelog, oksidnog filma može se zahvaliti njegovom strukturnom integritetu i kemijskoj stabilnosti u velikom rasponu pH vrijednosti i raznolikosti kemizma elektrolita i tjelesnih tekućina;
- b) Titanij oksidni sloj se vrlo brzo repasivizira nakon lokalnog oštećenja;
- c) Niska topivost hidratiziranog titanij oksida u vodi kao i još niža sklonost stvaranju nabijenih kompleksa nakon otapanja,
- d) Sklonost hidrosilaciji i hidratizaciji oksidnog sloja te sposobnost vlaženja čini površinu pogodniju za interakciju s vodenim omotačem koji posjeduju osjetljive biomolekule kao što su proteini;
- e) Dielektrična konstanta slična onoj vode smanjuje učinak elektrostatskih sila između nabijenih čestica i umanjuje polarizacijski učinak;
- f) Izoelektrična konstanta titanij oksida, koja je malo niža od fiziološke pH vrijednosti, čini površinu neutralnom i tako umanjuje rizik od neželjenih jakih međudjelovanja između titanijeve površine i nabijenih područja velikih biomolekula poput proteina;
- g) “Prirodna sklonost” stvaranju kalcij-karbonatno-fosfatnih slojeva na površini titanij oksida kao važnog, nekoliko desetaka nanometara debelog, modificiranog međusloja koji se stvara nakon nekog vremena *in vivo*.

U istraživanjima koja su rađena na oseointegriranim implantatima, kada se promatra transmisijskim elektronskim mikroskopom (38), na sučelju titanijev implantat - kost može se razlikovati sloj titanija kao osnovnog materijala, zatim nekoliko nanometara debeo sloj titanij oksida, oko 5 nm debeo kalcij fosfatni sloj te 20 nm - 40 nm debeo sloj sastavljen od proteina, glikoproteina, glikolipida, lipoproteina, proteoglikana i sl., na koji potom naliže sloj kolagenih vlakana udaljenih svega 100 nm od površine titanijeva biomaterijala. Sloj biomolekula vrlo je bitan jer tako stanice ne dolaze u direktan kontakt sa stranim materijalom te je sloj proteina zapravo intermedijarni sloj posrednik. Nabrojana svojstva titanijevih

površina omogućuju procese osteoindukcije, osteokondukcije i oseointegracije, važne za kliničku primjenu titanijeva biomaterijala na polju dentalne medicine.

1.3.3. Osteoindukcija, osteokondukcija i oseointegracija titanijevih biomaterijala

Primjena titanijevih biomaterijala očituje se kroz biološke procese koje takvi materijali izazivaju i koji će biti ovdje opisani.

1.3.3.1. Definicije i povijesni razvoj

Osteoindukcija podrazumijeva diferencijaciju primitivnih, pluripotentnih stanica u stanice koje stvaraju novu kost i započinju osteogenezu (39). Osteoindukcija je temeljni biološki mehanizam koji se javlja kod ugradnje implantata, gdje se uslijed traume oslobađaju lokalni biokemijski i biofizikalni glasnici koji potpomažu diferencijaciju, organizaciju i mitogenezu stanica, iz preosteoblasta u osteoblaste (40). Urist i dr. su 70-ih godina izolirali glikoprotein koji su nazvali koštani morfogenetski protein kao jedini poznati osteoinduktivni agens (41).

Osteokondukcija predstavlja rast nove kosti preko neke površine, a površina koja omogućava svojim fizikalnim i kemijskim svojstvima takav rast naziva se osteokonduktivna površina. Osteokondukcija uvelike ovisi o prethodnoj osteoindukciji tj. traumom induciranim lokalnim čimbenicima koštanog rasta. No ipak, pokazalo se da osteoindukcija ovisi i o vrsti biomaterijala. Tako se osteokonduktivnost pokazala vrlo uspješnom na površinama građenim od biokompatibilnih biomaterijala kao što je titanij (42).

Oseointegracija se definira kao stvaranje izravnog sučelja kosti i implantata bez interpozicije mekog tkiva vidljivog optičkim mikroskopom (1). Taj proces prvi je slučajno opisao Leventhal 1951. godine (43). On je eksperimentirao s titanijem na laboratorijskim životinjama tako da je ugradio titanijeve vijke u kosti i titanijeve pločice u potkožje laboratorijskih životinja te došao do zaključka da titanij čvrsto sraštava s kosti i da u mekom tkivu ne izaziva nikakve promjene te da je bioinertan. Kasnije je koncept oseointegracije detaljno razradila švedska grupa na čelu s Brånemarkom. Oni su proveli kliničko 15-to godišnje istraživanje pri čemu su ugradili 2768 implantata u 410 bezubih čeljusti kod 371 pacijenta te ih pratili u narednih 5-9 godina i zaključili da gubitak kosti oko implantata iznosi 0,1 mm godišnje (44).

Takav koncept podrazumijevao je vrijeme potrebno za oseointegraciju i period latencije u kojem se implantat funkcijski ne opterećuje nekoliko mjeseci kako bi došlo do adekvatnog cijeljenja i odlaganja nove kosti. Ohrabreni visokom stopom uspjeha pri korištenju takvog koncepta, kliničari su počeli razmišljati o skraćivanju vremena potrebnog za dovršetak cjelokupne terapije. Razmišljalo se da bi izmjene u provedbi kirurškog i protetskog dijela terapije, kao i promjene u izvedbi (dizajnu) samog implantata mogli značajno utjecati na vrijeme koje je potrebno da se implanto-protetska terapija privede kraju (45). Kasnije, a na temelju dotadašnjih znanstvenih spoznaja, konstantan razvoj implantata i njihovih izvedbenih oblika na mikrometarskoj i nanometarskoj razini vodili su u značajan napredak u poboljšanju kvalitete oseointegracije i skraćivanje vremena potrebno za nju (46).

Danas je znanstvena i istraživačka pažnja usmjerena k postizanju ultimativnog cilja i ideala u području oseointegracije, a to je razvoj takve površine koja omogućuje imedijatnu stabilnost implantata i spremnost za funkcijsko opterećenje odmah po usađivanju, što terapeutu daje širok izbor terapijskih mogućnosti kako bi rehabilitirao pacijenta u najkraćem mogućem vremenu.

1.3.3.2. Čimbenici oseointegracije titanijevih biomaterijala

Oseointegracija je pod utjecajem čimbenika koji dolaze od strane biomaterijala, onih od strane domaćina te čimbenika samog terapijskog postupka tijekom i nakon implantacije. Isto tako, čimbenici se mogu podijeliti na one koji djeluju povoljno i one koji djeluju nepovoljno na kvalitetu i brzinu oseointegracije.

Na strani biomaterijala, oseointegracija ovisi o:

- a) Vrsti biomaterijala za izradu dentalnih implantata (47) i njihovom kemijskom sastavu (48, 49);
- b) Dizajnu implantata - makro - geometrija (1, 50);
- c) Površinska topografija na mikro- i nanometarskoj razini (45, 51, 52);
- d) Površinskoj obradi i prevlakama (53, 54).

Nakon ugradnje titanijevih implantata započinje nekoliko ključnih procesa. Oni se mogu podijeliti na procese koje se događaju na:

- a) Atomskoj i molekularnoj razini;
- b) Staničnoj razini.

Pod a) - Oseointegracija se može promatrati kao reakcija organizma na strano tijelo: kirurška trauma izaziva oksidativni stres koji ima za posljedicu pretjeranu produkciju slobodnih radikala i oksigeniranih derivata koji dolaze do titanijeve površine i dovode do podebljanja sloja već prisutnog titanij-dioksida nastalog na zraku. Ioni kalcija i fosfata iz koštanog matriksa bivaju inkorporirani unutar poroznog sloja titanij-dioksida stvarajući veoma kemijski dinamično sučelje kost-implantat (51).

Pod b) - Oštećenje koje nastaje tijekom preparacije ležišta implantata dovodi do ekspozicije koštanog matriksa u izvanstaničnu tekućinu, oslobađaju se nekolagene bjelančevine i faktor rasta. U specifičnom upalnom procesu, privučene kemotaksijom, nediferencirane osteoprogenitorne stanice iz koštane srži, endokortikalne i periostalne kosti migriraju na mjesto oštećenje. Proliferacijom i diferencijacijom takvih stanica u preosteoblaste i osteoblaste dolazi do depozicije nove kosti na površinu biomaterijala (55).

Oseointegracija je dinamički proces i može se histomorfološki podijeliti u tri stadija:

- a) Stvaranje i odlaganje primarnog (vlaknatog) koštanog tkiva;
- b) Prilagodba novostvorenog lamelnog koštanog tkiva na opterećenje;
- c) Remodeliranje novostvorenog koštanog tkiva pod kontinuiranim opterećenjem (55).

Zbog takve dinamičke prirode sučelja biomaterijal - kost u funkciji vremena, endosealni biomaterijal treba imati definirana kratkoročna i dugoročna biofunktionalna svojstva (45).

1.3.3.3. Svojstva površine titanijevih biomaterijala

Površina titanijevog biomaterijala prva je komponenta koja dolazi u kontakt s tkivom domaćina. Ako se površina gleda u fizikalnom smislu, ona predstavlja nagli prekid u prostornom rasporedu atoma što rezultira razlikom u električnim svojstvima između površine i osnove titanijevog biomaterijala, a što ima za posljedicu razliku između fizikalno-kemijskih svojstava u dva različita područja istog materijala (56). Nove fizikalno-kemijske

karakteristike površine nastale primjenom različitih metoda i tehnika obrade upućuju na to da površinu proučavamo kao sasvim novi biomaterijal (45).

Kako bi se nova kost počela stvarati i tako oseointegracija ostvarila, površina titanijevog biomaterijala mora zadovoljavati neke uvjete. Naime, dokazano je da je stanični odgovor izravno povezan s topografskom, fizikalnom (57) i kemijskom (58) prirodom površine implantata. Isto tako istraživanja pokazuju da neke karakteristike površine, djelujući na stanični odgovor, mogu odrediti tijek oseointegracije (59). Površina titanijevog biomaterijala, tako, postaje nositelj važnih fizikalnih i kemijskih čimbenika koji sudjeluju u biološkim procesima i svojim bioaktivitetom usmjerava proces oseointegracije u najpovoljnijem smjeru za kliničku primjenu. Optimizacijom biokompatibilnosti i osteokonduktivnih svojstava površine dolazi do boljeg koštanog cijeljenja i odlaganje nove kosti što vodi u brzo biološko srašćavanje implantata i kosti (60).

1.3.3.4. Bioaktivne površine titanijevih biomaterijala

Bioaktivne površine posljednjih su desetljeća tema istraživačkog rada na području dentalne implantologije i unutar koncepta oseointegracije (61). Osteokondukcija je svojstvo površine titanijevih biomaterijala da služe kao podloga za odlaganje nove kosti. Kreiranjem novih i različitih fizikalno-kemijskih svojstava površine možemo programirati i modificirati biološki odgovor (7), a time i osteokondukciju i oseointegraciju. U zadnje vrijeme, kemijsko i fizikalno strukturiranje površinske topografije najupotrebljiviji je parametar u poboljšanju kvalitete odnosa domaćin-implantat (45).

Površine dentalnih implantata posjeduju osteokonduktivna svojstva zbog fizikalne karakteristike hrapavosti. Hrapavost se može definirati na mikro- i nano-razini i karakterizirana je izmjenom vrhova i dolova koji se mogu kvantificirati koristeći dvo-dimenzionalne (2D) ili tro-dimenzionalne (3D) parametre. 2D profilna evaluacija opisuje se parametrima Ra, Rz i Rsm, a 3D evaluacija površine parametrima Sa, Sds i Sdr% (62).

Mikro-topografija površine povećava kontaktnu površinu između kosti i implantata te time dovodi do boljeg srašćanja (58). Godine 1980. dokazano je da je optimalna veličina pora potrebna za remodeliranje kosti veća od 50 μm (63). S druge strane, Wennerberg i dr. zaključuju da povećanjem hrapavosti površine ne dolazi do većeg otpušćanja iona titanijevih

implantata, a time ni do veće brzine korozije (64). Topografija površine opisuje se brojem dimenzija. Mikro-hrapavost ima jednu dimenziju, mikro-obrazac ima dvije dimenzije, a mikro-čestica ima tri dimenzije (51).

Nano-hrapavost površine titanijevog biomaterijala povećava energiju površine. Visoka energija površine povećava sposobnost vlaženja krvlju te tako fibrin, osteogene stanice i proteini ekstracelularnog koštanog matriksa lakše ulaze u interakciju s česticama površine pokrećući biološke puteve za brže koštano cijeljenje (65). Dokazano je da nano-topografija može direktno utjecati na proliferaciju i diferencijaciju stanica tj da nano-obrazac može modulirati stanični odgovor (66). Iako mnogi proizvođači komercijalno dostupnih osteokonduktivnih površina tvrde da se radi o nano-površinama, do danas nema mnogo znanstvenih radova koji istražuju nano-karakteristike tih proizvoda. Većina titanijevih implantata pokazuje nestrukturirane nano-površine nastale spontanom oksidacijom titanija na zraku (67) iako se pokazalo da samo homogeno distribuirane i organizirane nano-strukture dovode do bolje kvalitete novonastale kosti i veće stope oseointegracije (68).

Osim fizikalnih karakteristika površine, za bioaktivitet površine značajne su i njihove kemijske karakteristike (58, 69). Na površine biomaterijala nanose se različiti kemijski spojevi kako bi se poboljšala osteokonduktivnost. U početku su se u titanij-oksidni sloj inkorporirali samo anorganski supstrati. Jedna od najčešće upotrebljivanih bioaktivnih tvari je hidroksiapatit (HA) koji se počeo istraživati kao premaz na implantatima krajem 80-ih godina prošlog stoljeća (70) da bi se danas počeo istraživati na nano-razini te u različitim kombinacijama (71). Od ostalih bioaktivnih kemijskih spojeva spominju se ugljik, bioaktivna keramika, bioaktivno staklo, fluorid, kalcij-fosfat, titanij-oksid, titanij/titanij-nitrid (72) i dr. Od nedavno u istraživanjima se počinju koristiti i organske molekule poput proteina, enzima ili peptida koji bi inducirali specifičan stanični ili tkivni odgovor (53, 73, 74).

1.3.3.5. Suvremene spoznaje na polju oseointegracije titanijevih biomaterijala

Mnogo se istraživačkog napora na području znanosti o titanijevim biomaterijalima ulaže u poboljšanje kvalitete u sučelju kost - implantat kako bi se ubrzalo koštano cijeljenje i sraštavanje implantata za kost. Navode se dva pristupa (58):

- a) Poboljšanje kemijskih i biokemijskih svojstava biomaterijala;
- b) Poboljšanje fizikalnih svojstava biomaterijala.

Pod a) - Dodavanjem različitih organskih i anorganskih faza u strukturu i na površinu biomaterijala (aditivne tehnike modifikacije površine) stimulira se koštano cijeljenje i biokemijsko sljubljanje između proteina koštanog matriksa i površine biomaterijala (45).

Pod b) - Izgradnjom površinske topografije na mikro- i nanometarskoj razini (reduktivne tehnike modifikacije površine) dobiva se razvijenija površina pogodna za osteokondukciju, adsorpciju proteina, migraciju i proliferaciju stanica te, u konačnici, oseointegraciju.

Desetljećima se nastoje poboljšati karakteristike površine titanijevih biomaterijala različitim metodama obrade poput prskanja titanijevom plazmom, jetkanja ili pjeskarenja. Pritom se kombiniraju kemijske i fizikalne modifikacije površine kao što je elektrokemijska anodizacija (75). Presvlačenje površine različitim vrstama keramike još je jedan veliki trend na tom polju (76). Nanošenje različitih slojeva na površinu implantata koji imaju titanijevu jezgru pokazalo se problematičnim jer spoj između titanija i različitih faza na površini predstavlja slabu točku. Rokkum i dr. su objavili studiju u kojoj dokazuju otpuštanje komadića HA s površine (77). Takvo otpuštanje HA s površine aktivira osteoklastogenezu i posljedično ugrožava oseointegraciju (78). Nakon takvih neuspjeha došlo se je do zaključka da je ključno da sloj presvlake na površini ne bude deblji od 5 μm , a za to je bilo potrebno razviti posebne tehnologije nanošenja kao što su sol-gel nanošenje, prskanje, ionskim snopom potpomognuto nanošenje (IBAD od eng: *ion-beam-assisted deposition*) i sl. (79).

Alternativa nanošenju slojeva na površinu, razvijaju se tehnologije inkorporacije bioaktivnih nano čestica na jetkane površine (80) ili impregnacija površinskog sloja oksida nekom od bioaktivnih faza (81).

U posljednje vrijeme u središte znanstvene pažnje u istraživanju biointeraktivnih osteokonduktivnih površina dentalnih implantata ulazi magnezij (48) jer su se ioni Mg pokazali važnim čimbenikom osteogeneze (82).

1.4. Magnezij

Magnezij (lat. *Magnesium*, simbol Mg) je esencijalni makroelement u ljudskom organizmu. Važan je elektrolit i čimbenik u mnogim biokemijskim i metaboličkim procesima, a naročito u energetskim procesima. Ko i suradnici su dokazali da Mg igra važnu ulogu u procesu sinteze adenozin trifosfata (ATP) iz adenozin difosfata (ADP) i anorganskog fosfata (83). Većina (preko 60 %) Mg smještena je u mineraliziranim tkivima (kostima i tvrdim zubnim tkivima). U nedostatku izvanstaničnog Mg smanjen je rast i proliferacija osteoblasta te je Mg važan stanični mitogeni čimbenik u procesima pregradnje i stvaranja nove kosti (33).

1.4.1. Osnovna svojstva magnezija

Magnezij je u elementarnom stanju mekana, srebrnobijela krutina koja se lako da kovati, lijevati i valjati. U periodnom sustavu kemijskih elemenata spada u skupinu zemnoalkalijskih kovina. Atomski broj mu je 12, relativna atomska masa iznosi 24,3050 te ima tri izotopa Mg^{24} , Mg^{25} i Mg^{26} . Osnovna svojstva Mg prikazana su u Tablici 4. Na zraku vrlo brzo pasivizira stvarajući sloj magnezij-oksida (MgO) na površini.

U prirodi je vrlo rasprostranjen i osmi je element po zastupljenosti u sastavu zemljine kore i to najčešće u obliku MgO . U moru je treći element po količini, otopljen u obliku iona Mg^{2+} . Sastavni je element mnogih stijena naročito silikatnih (azbest, serpentin, olivin) i karbonatnih (magnezit, dolomit). Od minerala, nalazimo ga u karnalitu, kainitu, kizeritu i dr.

Tablica 4. Osnovna svojstva magnezija.

Gustoća	1738 kg/m ³
Tvrdoća	260 HV
Talište	650 °C
Vrelište	1091 °C

1.4.2. Magnezij kao biomaterijal

Magnezij kao biomaterijal prvi puta je upotrebljen 1878. godine kada je liječnik Huse upotrijebio magnezijevu žicu za stezanje krvareće krvne žile (84). Posljednja dva stoljeća magnezij je koristila kirurška struka kao kovinu s povoljnim biološkim svojstvima u širokom području medicine kao što su potporne strukture (stentovi) u krvnim žilama i implantati u koštanom tkivu (85). Naime, nakon dugogodišnjih napora da se smanji biokorozivna aktivnost materijala koji se ugrađuju u živo tkivo, danas je povećan interes za materijalima koji bi namjerno i kontrolirano korodirali (86).

Osim biodegradabilnosti, kao ključnog svojstva magnezijeva biomaterijala, mehanička svojstva Mg isto su tako važan čimbenik biokompatibilnosti. Modul elastičnosti magnezijevog biomaterijala iznosi 41 GPa - 46 GPa što je značajno manje od modula elastičnosti titanijskog ili nehrđajućeg čelika (87). Zbog toga je efekt prigušenja opterećenja puno manji kod Mg nego kod ostalih kovinskih biomaterijala.

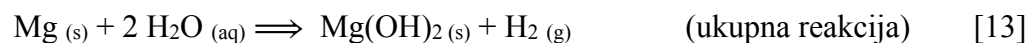
1.4.3. Biokorozivna svojstva magnezija

Magnezij i njegove legure imaju vrlo visoki katodni korozivni potencijal i koriste se kao "žrtvujuće" anode kako bi se zaštitile druge kovine od korozije. Otpornost na koroziju mu je veoma niska, a naročito kad je izložen agresivnom elektrolitskom učinku ioni klora (Cl⁻).

Najčešće vrste korozije kod Mg su:

- a) Galvanska - vidljiva je u kontaktu s drugim kovinama bilo da su u kontaktu na površini ili su dio nečistoća (vanjska ili unutarnja). Magnezij je u tom slučaju anoda i štiti drugu kovinu od korozije;
- b) Jamičasta korozija (*pitting*) - javlja se kad je Mg izložen korozivnom utjecaju iona Cl⁻;
- c) Napetostna korozija - nastaje uslijed mehaničkog opterećenja i korozivne okoline (88).

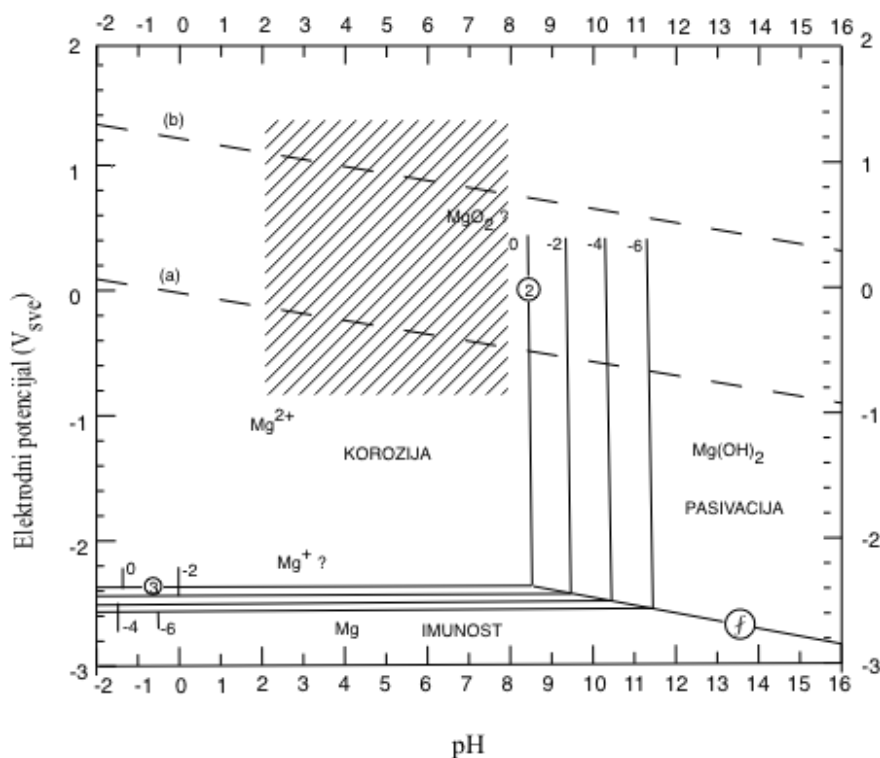
Korozija Mg u vodenim otopinama je elektrokemijska reakcija između Mg i vode pri čemu nastaje magnezijev hidroksid ($\text{Mg}(\text{OH})_2$) i plinoviti vodik (H_2). Reakcije korozije mogu se prikazati sljedećim jednadžbama [13-16] (89):



Termodinamski, Mg ima najniži elektrodni potencijal od svih građivnih kovina te za sustav Mg^{2+}/Mg pri 25 °C on iznosi -2,37 V_{SVE} . Međutim, elektrodni potencijal Mg u otopinama u kojima su prisutni ioni Cl^- obično iznosi -1,7 V_{SVE} zbog formiranja protektivnog filma $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ili MgO , ovisno o elektrodnom potencijalu i pH vrijednosti otopine. Pourbaix-ov dijagram za sustav Mg - voda pri standardnim uvjetima prikazan je na Slici 6. Iz njega se može zaključiti da se Mg otapa ispod vrijednosti pH od otprilike 11.5, dok pri višim pH vrijednostima pasivizira stvarajući $\text{Mg}(\text{OH})_2$. Isto tako, u uvjetima koji vladaju u usnoj šupljini i alveolnoj kosti (redoks potencijal 0,2 V_{SVE} - 0,45 V_{SVE} i pH 5.3 - 7.8), vidljivo je da se Mg aktivno otapa.

Biodegradabilnost je ključno svojstvo korozijskog ponašanja Mg koje se istražuje u svrhu razvoja novih biomaterijala s boljim kliničkim učincima. Iako istraživanje biodegradabilnosti Mg još uvijek nije standardizirano, provode se mnogi *in vitro* i *in vivo* eksperimenti. U *in vitro* uvjetima korozija Mg istražuje se u simulacijama tjelesnih tekućina. Najčešće se koriste elektrokemijski testovi, test uranjanja te analize površina metodama skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM), energijske disperzivne spektroskopije (EDS), rendgenska fotoelektronska spektroskopija (XPS) i rendgenska difrakcijska analiza (XRD) (90-92). Pritom, Kirkland i suradnici naglašavaju potrebu za potpunim razumijevanjem ispravnog odabira pojedinih metoda kao i uvid u sve čimbenike koje treba uzeti u obzir prije izvođenja zaključaka (93). Walker i suradnici pak uspoređuju *in vitro* metode koje bi reproducirale brzinu korozije biodegradabilnog magnezija koja je što sličnija onoj koja se može vidjeti u *in vivo* uvjetima (94). U *in vivo* uvjetima jedna od načina kvantifikacije korozije Mg je i plinska

metoda određivanja količine nastalog plinovitog H_2 . Zhao i suradnici su u svom *in vivo* radu razvili neinvazivni elektrokemijski senzor za određivanje malih količina plinovitog H_2 koji mjeri kroz kožu (95). Biokompatibilnost biodegradabilnih Mg legura određuje se istraživanjem učinka na vitalne funkcije laboratorijskih životinja (96) ili *ex vivo* na izoliranim tkivima mjereći koncentraciju otpuštenih iona i parametara upale (97).



Slika 6. Pourbaix-ov dijagram za sustav magnezij - voda pri standardnim uvjetima. Iscrtano područje odgovara biološkim uvjetima u ljudskom organizmu.

1.4.4. Magnezij u bioaktivnim površinama

Utjecaj magnezija na staničnu aktivnost osteoblasta otprije je poznat. Abed i suradnici su u *in vitro* uvjetima, na kulturi stanica dokazali da o izvanstaničnoj koncentraciji iona magnezija (Mg^{2+}) ovisi proliferacija i migracija humanih osteoblasta koji sudjeluju u remodelaciji kosti (98). Zreiqat i suradnici (82) su 2002. godine dokazali da je adhezija stanica na površinu biomaterijala potpomognuta preko $\alpha 5\beta 1$ - i $\beta 1$ - integrina, signalnih i adhezijskih proteina čija

funkcija ovisi o dvovalentnim kationima kao što je Mg^{2+} . $5\beta 1$ - i $\beta 1$ integrinski signalni put uključuje i SHC protein, a ujedno regulira i ekspresiju gena izvanstaničnog proteinskog matriksa. S druge strane, Leidi i suradnici su dokazali da se nedostatak Mg^{2+} može povećati otpuštanje signalne molekule dušičnog monoksida (NO) djelovanjem enzima NO - sintetaze što ima za posljedicu inhibiciju proliferacije osteoblasta (33).

U posljednje vrijeme sve je više istraživanja koja proučavaju modificirane bioaktivne površine u koje je inkorporiran biodegradabilni Mg (49, 99-101). Jung i suradnici su, koristeći simulacije tjelesne tekućine, metodom uranjanja te metodama SEM, XRD i XPS, dokazali da Mg^{2+} iz površinskog sloja TiO_2 ubrzava stvaranje i rast jezgara HA i poboljšavaju njegovu kristaliničnu strukturu (102). Isto tako, Mg ugrađen u površinski oksidni sloj ubrzava procese taloženja te povećava bioaktivnost površine u ranom stadiju oseointegracije (103).

Na staničnoj razini, Mg^{2+} otpušteni iz bioaktivnih površina induciraju adheziju i diferencijaciju osteoblasta, aktivnost alkalne fosfataze te nakupljanje kalcija (104, 105). Izgledno je da Mg^{2+} reguliraju aktivnost gena zaduženih za sintezu osteokalcina, osteopontina, alkalne fosfataze, koštanog sijaloproteina te kolagena tipa 1, kao direktnih pokazatelja osteoblastične aktivnosti u procesu stvaranja nove kosti (106, 107). Uspoređujući utjecaj izvanstaničnog Mg^{2+} u *in vitro* kokulturi osteoblasta i osteoklasta, Wu i suradnici su došli do zaključka da Mg^{2+} , osim što dovode do bolje osteoinduktivnosti, imaju i inhibitorski učinak na osteoklastogenezu (108). He i suradnici su dokazali da Mg^{2+} potiču aktivnost osteoblasta tako što unaprjeđuje komunikaciju kroz međustanične propusne veze (eng.: *gap junction intercellular communication*) između osteoblasta te tako utječu na stvaranje nove kosti (109). Osim ionskog oblika (Mg^{2+}) oksidni (MgO) sloj također je veoma važan čimbenik oseointegracije. Tan i suradnici su dokazali da MgO utječe na kristalizaciju HA te ga čini otpornijim na frakturu tako što transgranularnu pukotinu ograničava na intergranularnu (110). Dodavanje MgO drugim bioaktivnim površinama kao što je tantal (Ta) može još poboljšati njihova bioaktivna svojstva (111).

Na životinjskim modelima, implantati s bioaktivnim površinama u koje je ugrađen Mg pokazuju bolju oseointegraciju te pozitivan utjecaj na čvrstoću veze na sučelju implantat - kost (49, 101). Slično, Cho i suradnici su histomorfometrijski dokazali bolju vezu bioaktivne površine s Mg i kosti (112). Pang i suradnici su napravili prvo randomizirano, dvostruko slijepo kliničko istraživanje s 54 implantata koji sadrže Mg usadena u mandibularnu kost kod

40 pacijenata i pratili ih tijekom 15 mjeseci. Svi implantati pokazali su visoki stupanj stabilnosti u svim vremenskim točkama mjerenja. Prosječan gubitak marginalne kosti bio je između 0,71 mm i 0,75 mm u 15 mjeseci (113).

Na temelju dosadašnjih istraživanja može se zaključiti da Mg igra važnu ulogu u procesima diferencijacije, proliferacije, migracije (osteoindukcije), adhezije (ostekondukcije) osteoblasta, stvaranje nove ili remodeliranja postojeće kosti, kako stvaranjem njenog organskog dijela tako i mineralizacijom proteinskog matriksa (osteogeneze) što ima za posljedicu kvalitetnije, čvršće i brže svezivanje bioaktivne površine za kost domaćina (oseointegracija).

1.5. Eksperimentalni postupci za biokorozijaska testiranja

U okviru biokorozijaskih testiranja površina dentalnih biomaterijala koriste se biokorozijaski testovi i testovi za određivanje karakteristika površine.

1.5.1. Biokorozijaski testovi

U biokorozijaska testove spadaju testovi za određivanje korozijaskog ponašanja biomaterijala koji se provode u uvjetima koji oponašaju biološko okruženje. Kod dentalnih biomaterijala su to usna šupljina te koštano tkivo. Korozijasko ponašanje biomaterijala eksperimentalno se konkretizira metodama određivanja brzine korozije. Za određivanje brzine korozije, najčešće se koriste sljedeće eksperimentalne metode (114) :

- a) Gravimetrijske metode - gubitak ili prinos mase;
- b) Kemijsko analitičke metode;
- c) Plinske metode;
- d) Mjerenje debljine;
- e) Metode električnog otpora;
- f) Metoda unutarnjih markera;
- g) Elektrokemijske metode.

U okviru *in vitro* mjerenja korozije dentalnih legura, eksperimentalne metode dijele se na dvije osnovne skupine (115):

- a) Kemijska mjerenja - imerzijski testovi koji uključuju kemijske analitičke metode za određivanje količine eluiranih iona kovine;
- b) Elektrokemijska mjerenja - potencijostatička i potenciodinamička polarizacija te elektrokemijska impedancijska spektrometrija (EIS).

1.5.1.1. Statički test uranjanja

Statički test uranjanja (STU) je normirani biokorozivski test koji služi za kvalificiranje biokorozivskog ponašanja dentalnih legura. Ovaj test provodi se prema zahtjevima norme ISO 10271:2011 (116).

Pomoću ovog testa dobivaju se kvantitativni podatci o količini otpuštenih iona kovina, uključujući i ione štetnih kovina, iz dentalnih biomaterijala u *in vitro* uvjetima, koji oponašaju uvjete u usnoj šupljini i koštanom tkivu uz pomoć simulacija tjelesnih tekućina (otopina). Test se provodi tako da uzorak biva izložen korozivnoj otopini - simulaciji tjelesne tekućine kroz određeno vrijeme tako da nema pomaka između uzorka i otopine. U periodičkom statičkom imerzijskom testu uzorak stoji u otopini od 35 do 42 dana, a u svakom normiranom periodu (1, 3 ili 7 dana), tekućina u koju je uzorak uronjen, podvrgava se analitičkoj kemijskoj metodi te se tako dobije količina eluiranih iona iz uzorka u određenom vremenu, a iz čega se potom izračunava brzina korozije za pojedini dentalni biomaterijal.

Za provođenje bazičnih istraživanja biomaterijala u *in vitro* uvjetima koji oponašaju uvjete u usnoj šupljini koristi se umjetna slina budući da je prirodnu slinu zbog njene nestabilnosti nemoguće upotrijebiti u laboratorijskim uvjetima (117). Među najranijim istraživanjima s umjetnom slinom bilo je ono Soudera i Sweeneya, iz 1931, o toksičnosti žive iz dentalnog amalgama (118). Formule za umjetnu slinu mijenjale su se i modificirale tijekom vremena s obzirom na vrstu laboratorijskih eksperimenata. Fusayama i dr. (119) su objavili formulu umjetne sline za korozivna ispitivanja koja se onda počela koristiti za elektrokemijska i biološka ispitivanja dentalnih materijala.

pH vrijednost umjetne sline odgovara fiziološkim uvjetima i kreće se u blago kiselom području vrijednosti od 4 - 6 (117). Iz literature je pak razvidno da se korozivno ponašanje titanijevih biomaterijala uvelike mijenja s promjenom pH vrijednosti elektrolita. Fovet i ostali su na termodinamičkom modelu nastojali ukazati na područje pH vrijednosti koje osigurava stabilnost i netopivost pasivnog sloja titanij-dioksida (TiO_2) koji je odgovoran za dobra biokorozivna svojstva titanija i njegovih legura (120). S obzirom na to, a budući da se korozija može opisivati isključivo u određenom sustavu materijal - medij, vrlo je bitno nove titanijeve legure ispitati u otopinama različitih pH vrijednosti (121). Suito i dr. zaključuju da

stanja i bolesti usne šupljine koji dovode do snižavanja pH vrijednosti uzrokuju veću brzinu korozije titanija što za posljedicu može imati toksičnu i alergijsku reakciju (122).

Preparati fluora koji se uvelike koristi kao karijes-protektivno sredstvo, sadrže ione fluora (F⁻) koji djeluju agresivno na zaštitni pasivni sloj titanijeva dioksida i njihova prisutnost može aktivirati lokalizirane korozijske procese (123). Nekoliko je znanstvenih radova objavljeno koji dokazuju da ioni fluora negativno utječu na stabilnost titanijevih biomaterijala i uzrokuju prekomjerno otpuštanje iona titanija (124-130). Souza i suradnicu su dokazali da prisutnost iona fluora (F⁻) u otopinama u *in vitro* uvjetima dovode do pojave jamičaste korozije (eng: *pitting*) kod komercijalno čistog titanija, dok legura Ti-6Al-4V pokazuje generaliziranu koroziju po čitavoj površini (131).

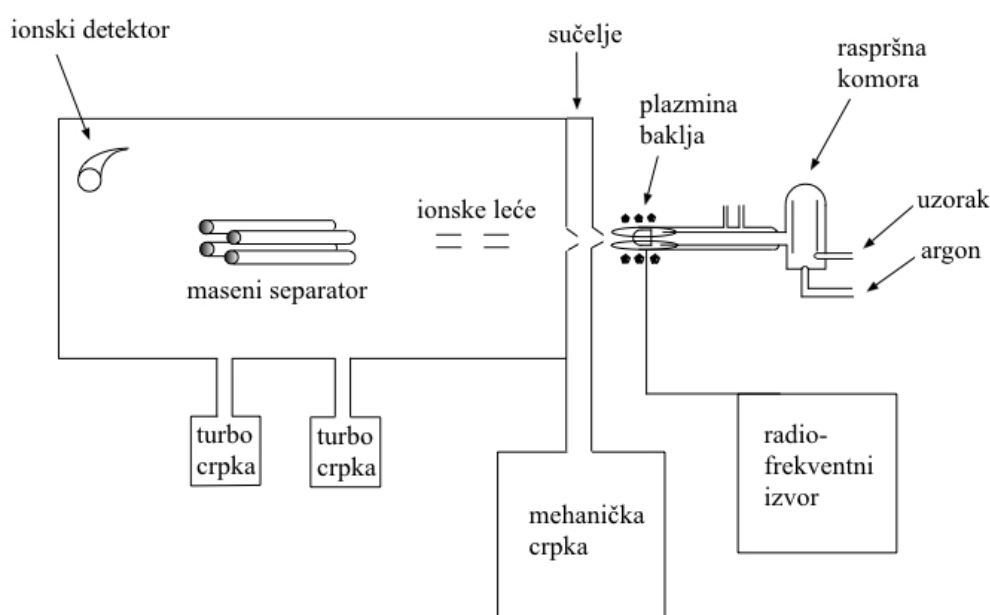
Za oponašanje ionskog sastava unutar tkiva i krvne plazme koristi se Hankova otopina (HO) čiji kemijski sastav je prikazan u tablici 6 (132). Osim što se Hankova otopina koristi za ispitivanje biokorozivskih svojstava kovinskih materijala, u posljednje vrijeme se uvelike koristi u *in vitro* ispitivanjima bioaktivnosti pojedinih materijala. Kokubo i suradnici, 2006 godine su zaključili da je ispitivanje taloženja apatita na površini materijala u ovakvim otopinama korisno za predviđanje *in vivo* bioaktivnosti pojedinih materijala kako kvalitativno, tako i kvantitativno (133). 2009. godine, Bohner i suradnici su mišljenja da hipoteza da se pomoću simulacija tjelesnih tekućina dokazuje *in vitro* bioaktivnost nema dovoljno znanstvene potpore (134).

1.5.1.2. Masena spektrometrija induktivno spregnutom plazmom

Masena spektrometrija induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS) je jedna od preciznih analitičkih kemijskih metoda za određivanje koncentracije iona pojedinih elemenata u nekoj otopini. Pioniri u ovom području, Houk i Thompson, 80-ih godina prošlog stoljeća počeli su objavljivati prve radove koji opisuju ovu metodu isprva u područjima mineralogije i geologije (135). Danas je ICP-MS prisutna metoda u svim znanstvenim istraživanjima gdje je potrebno odrediti kvalitativni elementarni kemijski sastav te kvantificirati koncentraciju pojedinih iona na pikogramskoj razini pa tako i u okviru biokorozivskih ispitivanja dentalnih legura (136).

Princip rada ICP-MS je da se pomoću plazme visoke temperature ispitivani uzorak razori do atomske i ionske razine te se spektrometrijski, na temelju mase iona, pojedini ioni identificiraju, a potom im se odredi ukupna količina, odnosno koncentracija u uzorku.

Uređaj se sastoji od sljedećih dijelova: sustava za uvođenje uzorka s peristaltičkom pumpom, izvora plazme i plazmine baklje, sučelja, ionskog optičkog sustava, uređaja za masenu separaciju te ionskog detektora. (Slika 7. i 8.)



Slika 7. Shematski prikaz uređaja masenog spektrometra induktivno spregnutom plazmom.

Uzorak koji je u tekućem obliku, uvodi se pomoću peristaltičke pumpe u uređaj brzinom od 1 mL/min. Nakon što se uvede u uređaj, uzorak se raspršuje u aerosol te se u raspršnoj komori razdvajaju čestice aerosola (kapljice) veličine promjera od 5 μm - 10 μm koje idu dalje prema plazminoj baklji. Plazma se smatra četvrtim agregatnim stanjem. Ona je električki provodljiv, disociran i visokoioniziran plin s jednakim brojem pozitivnog i negativnog naboja. U ICP-MS uređaju se najčešće koristi argonska plazma jer su jednom stvoreni ioni argona sposobni apsorbirati dovoljnu snagu iz vanjskog izvora koji održava temperaturu na razini prikladnoj za daljnju ionizaciju i beskonačno održavanje plazme. Kroz sustav koncentrično postavljenih cijevi, obavijenih zavojnicom priključenom na radiofrekventni izvor, pušta se argon u

plinovitom stanju i tada, pod utjecajem jakog, izmjeničnog elektromagnetskog polja, započinje inducirana lančana reakcija ionizacije argona (eng.: *inductively coupled plasma - ICP*). Plazma u analitičkoj zoni razvija temperaturu od 6000 K - 7000 K. Kada uzorak u obliku aerosola prođe sredinom plazmine baklje, prvo iz tekućeg prelazi u kruto stanje evaporacijom, a zatim sublimacijom u plinovito do atomske razine. Potom se atomima izbijaju elektroni te prelaze u ionski oblik. U dijelu uređaja koji se naziva sučelje, ioni izašli iz plazmine baklje prolaze kroz dvije stožaste cijevi u kojima se hlade i usmjeravaju tako da efikasno, konzistentno i sa sačuvanim električnim integritetom dođu do ionskog optičkog sustava. Sustav ionske optike služi za fokusiranje zrake iona prije nego što oni uđu u maseni separator. Sustav sadrži jednu ili više ionskih elektrostatskih leća (deflektora) koji usmjeravaju ione koje se želi analizirati iz sučelja prema dijelu za masenu separaciju, a istovremeno sprječavaju ulazak neutralnih čestica i fotona koji stvaraju pozadinski šum. Nagli pad tlaka u optičkoj komori, s razine atmosferskog tlaka na vakuum od $1,33 \cdot 10^{-2}$ Pa - $1,33 \cdot 10^{-3}$ Pa, dovodi do difuzije elektrona na periferiju zrake jer su lakši od pozitivno nabijenih iona koji ostaju u središtu zrake. To je prvi korak u fazi separacije pri čemu nastaje pozitivno nabijena zraka iona koja ulazi u maseni separator. Maseni separator je središnji dio uređaja. U ovom dijelu, ioni se razdvajaju na temelju omjera mase i naboja (m/z). Cilj je izdvojiti ione koji se žele analizirati od ostalih iona, iona otapala, matriksa i argona. U masenom separatoru održava se vakuum veličine $1,33 \cdot 10^{-5}$ Pa. Danas na tržištu postoji nekoliko vrsta masenih separatora, no najčešći je kvadrupolni maseni filter. Sastoji se od četiri cilindrične poluge sačinjene od nehrđajućeg čelika ili molibdena, dužine 15 cm - 20 cm, promjera do 1 cm i radne frekvencije veličine 2 MHz - 3 MHz. Unutar polja istosmjerne struje (DC) na jednom paru poluga i izmjeničnog električnog polja (RF) na drugom paru poluga, ioni se propuštaju na temelju omjera mase i naboja do ionskog detektora dok ostali bivaju odbačeni. Propušteni ioni iz filtera dolaze do višekanalnog ionskog detektora i tamo se broje i pretvaraju u električni impuls koji se potom računalno obrađuje. Rezoluciju kvadrupalnog masenog filtera možemo regulirati međusobnim omjerom istosmjernog i izmjeničnog električnog polja, a ona se obično kreće između 0.7 u - 1.0 u. Ionski detektor broji ione izašle iz masenog separatora te ih pretvara u električni signal koji se obrađuje računalno (137).



Slika 8. Fotografija uređaja masenog spektrometra induktivno spregnutom plazmom u Glavnom vodnogospodarskom laboratoriju Hrvatskih Voda d.d., Zagreb, Hrvatska.

1.5.2. Testovi za određivanje karakteristika površine

Površina kovinskog biomaterijala koji ulazi u interakciju s okolnim koštanim tkivom ili sluznicom usne šupljine može se karakterizirati na temelju njenog kemijskog sastava i njenih fizikalnih svojstava. Danas na raspolaganju stoji veliki broj eksperimentalnih metoda i tehnika pomoću kojih možemo odrediti karakteristike površine.

1.5.2.1. Skenirajuća elektronska mikroskopija

Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM) je zlatni standard za morfološku karakterizaciju na mikrometarskoj razini (51) odnosno za kvalitativnu analizu topografije površina, a neophodna je i u mikroanalizi kemijskog sastava površine.

Skenirajući elektronski mikroskop je vrsta elektronskog mikroskopa koji stvara sliku uslijed reakcije elektrona iz snopa i atoma u površini uzorka. Spektar uvećanja je od 20 puta - 3500000 puta odnosno ima rezoluciju čak i do 5 nm. Kvalitativni podatci o površinskoj topografiji koje nam daje ova metoda su dvodimenzionalni i odnose se na promatrani dio površine.

Princip rada SEM-a je da se snop elektrona, ubrzanih uz pomoć električnog napona u vakuumu, usmjeri pomoću sustava deflektora prema površini uzorka. Udaranjem o površinu uzorka dolazi do razmjene energije što rezultira:

- a) Emisijom sekundarnih elektrona;
- b) Odbijanjem elektrona visokog naboja;
- c) Emisijom ionizirajućeg zračenja - rendgenskih zraka.

Svaka od ovih komponenti može se registrirati posebnim detektorom gdje se onda podaci iz detektora pretvaraju u električni signal i šalju na zaslon računala i tako se analiziraju. Svaki od detektora ima specifičnosti pomoću kojih se mogu dobiti različiti kvalitativni i kvantitativni podaci o površini. Rezultati skeniranja objavljuju se mikrografski u obliku dvodimenzionalnih snimaka.

Detektori skenirajućeg elektronskog mikroskopa su:

- a) Detektor sekundarnih elektrona (SE) - detektira izbijene elektrone iz elektronskog omotača atoma s površine uzorka u trenutku sudara elektrona iz snopa i koristi se za određivanje površinske topografije. Sekundarni elektroni su niskih energija (manje od 50 eV) tako da samo oni stvoreni nekoliko nanometara ispod površine uzorka mogu izaći i biti detektirani. Budući da se pobuđuju elektroni bliže površini, može biti detektirano puno više elektrona iz tog područja, a uz pomoć računalnih mikroprocesora može se dobiti pseudotrodimenzionalna slika;
- b) Detektor odbijenih elektrona (BSE)- detektira primarne elektrone snopa koji su se odbili od površine u međudjelovanju s atomskim jezgrama atoma koji sačinjavaju uzorak. Ti elektroni imaju visoku energiju (preko 50 eV). Budući da atomske jezgre različitog atomskog broja odbijaju različit broj elektrona te time daju različiti kontrast na slici, pomoću ovog detektora možemo razlikovati mjesta različitog kemijskog sastava. BSE detektor prikazuje uzorak u nijansama sive boje koje odgovaraju atomskim masama koje grade uzorak.

1.5.2.2. Energijaska disperzivna spektroskopija

Energijaska disperzivna spektroskopija (EDS) je metoda koja se koristi u sklopu SEM analize i služi za mikroanalizu kemijskog sastava površine uzorka. Danas je vrlo raširena i

upotrebljavana metoda u istraživanjima kemizma površina (138). Dok s BSE detektorom samo vizualno možemo razlikovati da se radi o dva različita elementa, pomoću EDS-a možemo točno detektirati o kojim je kemijskim elementima riječ, a potom i odrediti njihov kvantitativni udio na promatranoj površini.

EDS detektorom se detektira energija rendgenskog zračenja. Prilikom udara primarnih elektrona u površinu uzorka dolazi do izbijanja elektrona iz elektronskog omotača. Prazno mjesto koje zaostaje nakon izbijanja elektrona mora se popuniti drugim elektronom iz elektronske ljuske više energije. Prelazak elektrona iz ljuske više u ljusku niže energije rezultira emitiranjem rendgenskih zraka. Svaki atom u periodnom sustavu elemenata ima karakterističnu energiju rendgenske zrake koju mjerimo spektrometrom te tako možemo odrediti kvalitativni i kvantitativni kemijski sastav površine.

Rezultati se objavljuju u obliku EDS - spektrograma, gdje je na ordinati intenzitet rendgenskog zračenja, a na apscisi energija pojedinog zračenja (u eV). Vrhovi u spektru označavaju elemente prisutne u uzorku.

1.5.2.3. Rendgenska difrakcijska analiza

Rendgenska difrakcijska analiza (XRD) je nerazorna analitička metoda koja se temelji na difrakciji (ogibu) rendgenskih zraka prilikom prolaska kroz kristalnu rešetku i služi za dobivanje informacija o vrsti i količini pojedinih kristalnih struktura u uzorku.

Ogib rendgenskih zraka u kristalnoj strukturi prvi je dokazao njemački fizičar von Laue za što je i 1914. godine dobio Nobelovu nagradu za fiziku. Istovremeno su sličan eksperiment razvili William H. Bragg i William L. Bragg (139) za što su sljedeće, 1915. godine i oni dobili istu nagradu. XRD je standardna metoda koja se koristi za fizikalnu i mineralnu karakterizacije biomaterijala (140).

Rendgenska difrakcijska analiza radi se uz pomoć rendgenskog difraktometra. Temeljni princip rada takvog uređaja je da proizvodi rendgenske zrake te ih usmjerava prema ispitivanom uzorku, mijenjajući kut upadnog zračenja pomoću goniometra. Rendgenske zrake, kada dođu do uzorka s pravilnom, kristaliničnom strukturom, ogibaju se zbog djelovanje elektronskog oblaka atoma koji se ponašaju kao optička rešetka za rendgensko zračenje. Do ogiba dolazi jer je valna duljina rendgenskih zraka bliska udaljenosti pojedinih

atoma u kristalnoj rešetci, a koja iznosi negdje od 10^{-9} m do 10^{-11} m. Raspršene rendgenske zrake međusobno interferiraju te se ili pojačavaju ili poništavaju, a to ovisi o kutu ogiba odnosno kristalnoj građi (difrakcijski kut, Θ). Kut pri kojem se raspršene rendgenske zrake najviše pojačavaju, tj. imaju najveći intenzitet, naziva se kut difrakcijskog maksimuma. Intenzitet difraktiranog (raspršenog) zračenja mjeri se detektorom koji radi na principu ionizirajuće komore. Od detektora se električni signal šalje na računalo koje ga obrađuje i bilježi zapis u obliku difraktograma. Difraktogram prikazuje ovisnost upadnog (difrakcijskog) kuta i intenziteta raspršenog zračenja. Na temelju difraktograma, iz baza podataka postupkom indeksacije, zaključuje se o vrsti kristala koji se nalazi u uzorku.

Svaki kristalinični materijal ima svoj specifičan difraktogram jer položaj difrakcijskih maksimuma ovise o geometriji kristalne rešetke. Pojavu da se rendgensko zračenje reflektira od ekvidistantnih ploha u kristalu, prvi su uočili Braggovi i izrazili je u Braggovoj jednadžbi [17]:

$$2d \sin \Theta = n \lambda \quad [17]$$

pomoću koje se mjereći difrakcijski kut kod kojeg se javlja maksimum (Θ) i poznavajući valnu duljinu rendgenskog zračenja (λ) može izračunati međuplošna udaljenost ekvidistantnih ploha u kristalnoj rešetci koja je specifična za svaki pojedini kristal. Na tome se temelji identifikacija, tj. kvalitativna mineralna analiza uz pomoć ove metode.

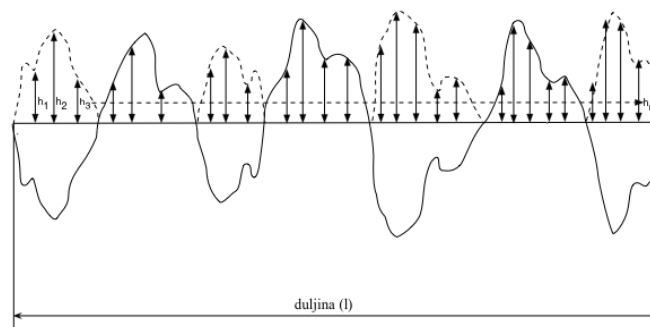
1.5.2.4. Određivanje hrapavosti površine

Hrapavost površine biomaterijala važna je jer je dokazano da, na mikrometarskoj razini, hrapave površine čine pogodnije podloge za sidrenje novostvorene kosti od glatkih površina, te tako pojačavaju biomehaničku vezu između kosti i materijala u ranoj fazi oseointegracije (45). 1980. godine Bobyn i dr. dokazuju da je za ranu fazu oseointegracije optimalna veličina pora u površini kovinskog biomaterijala između $50 \mu\text{m}$ - $400 \mu\text{m}$ (63).

Kako bi se hrapavost kvantificirala te tako mogla podvrgnuti matematičkoj i statističkoj analizi te uspoređivati između pojedinih uzoraka u eksperimentalnim postupcima, definirani

su kvantitativni parametri hrapavosti. Za dvodimenzionalnu evaluaciju površine mjere se sljedeći ključni parametri (62):

- a) R_a parametar - prosječna hrapavost profila definiran kao integral apsolutnih vrijednosti visina vrhova i dolova (h_n) duž ispitivanog profila (l). Slika 9. prikazuje grafički određivanje R_a parametra. R_a parametar nam daje dobar opći opis varijabilnosti visine vrhova i dubine dolova na ispitivanoj površini;
- b) R_z parametar - vertikalni parametar je zbroj aritmetičkih sredina apsolutnih vrijednosti visine pet najviših vrhova (h_p) i aritmetičke sredine apsolutnih vrijednosti pet najvećih dubina dolova (h_v) duž ispitivanog profila (l) i daje nam informaciju o vertikalnoj dimenziji hrapavosti tj. dubini. Slika 10. grafički prikazuje određivanje R_z parametra.

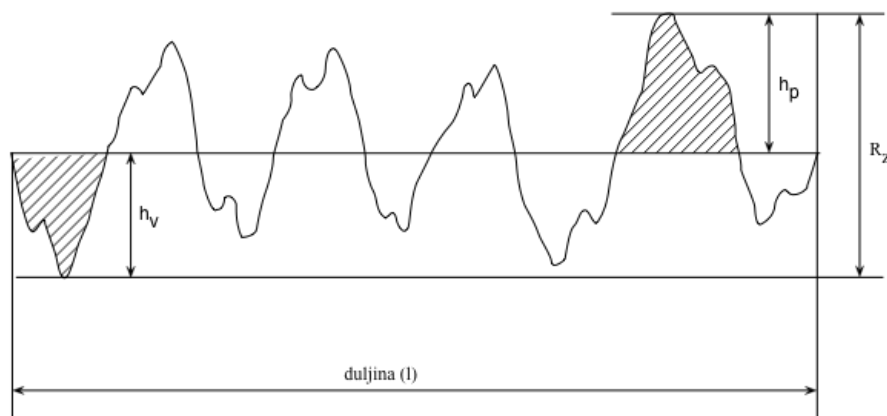


Slika 9. Grafički prikaz određivanja R_a parametra.

Jednadžba 18 prikazuje računanje R_a parametra:

$$R_a = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N |h_n| \quad [18]$$

gdje je R_a (μm) - srednje aritmetičko odstupanje profila, h_n (μm) - visina profila hrapavosti s obzirom na srednju referentnu crtu, n - broj točaka procjenjivanja visine profila uzduž mjerne linije



Slika 10. Grafički prikaz određivanja R_z parametra.

Jednadžba 19 prikazuje računanje R_z parametra:

$$R_z = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N h_n^2} \quad [19]$$

gdje je R_z (μm)- srednja visina neravnina, h_n (μm) - visina n-tog najvišeg vrha, n - broj točaka procjenjivanja visine profila uzduž mjerne linije.

Mjerenje hrapavosti površine mjeri se na nekoliko načina. Za mjerenje dvodimenzionalnih parametara hrapavosti površine najčešće se koristi kontaktna profilometrijska metoda. Uređaj za kontaktnu profilometriju koristi iglu koja određenom, konstantnom brzinom i mjernom silom prelazi preko površine uzorka u određenoj duljini. Mjerna jedinica instrumenta bilježi kretanje igle te stvara električni signal koji računalo obrađuje i daje rezultat koji se ispisuje na pisaču. Mjerenja ovom metodom provode se sukladno međunarodnim normama za profilometrijske metode koje normiraju termine, definicije, parametre, pravila i procedure za određivanje vrijednosti te nominalne karakteristike kontaktnog instrumenta.

1.6. Suvremene spoznaje i strategije razvoja titanijskih biomaterijala

Komercijalno čisti titanij (CP Ti 4) je materijal koji se već više od pola stoljeća rabi u dentalnom kliničkom radu (5). Za njegova dobra biokorozivna svojstva odgovoran je proces pasivizacije koji rezultira stvaranjem zaštitnog, čvrstog i netopljivog sloja titanijeva (IV) oksida (TiO_2) na površini i događa se kada čisti Ti dođe u kontakt s okolinom u kojoj ima prisutnog O_2 . Dakle, i u tjelesnim tekućinama pri fiziološkim uvjetima (141). Ono što je specifično za nastanak i rast pasivnog sloja oksida je da ioni O^{2-} s površine difundiraju u unutrašnjost kovine te reagiraju s kovinskim kationima. Ovaj je mehanizam jedinstven za titanij i još neke četverovalentne elemente kao što su Zr i Si. Ovakvo nastajanje oksidnog sloja ima pozitivan učinak jer sprječava da kovinski ioni dosegnu površinu i budu otpušteni u okolinu (142).

Osim zaštitne uloge, oksidni sloj ima i važno biološko značenje. On je posrednik u integraciji titanijskog biomaterijala u biološki sustav. Pritom, fizikalna i kemijska svojstva navedenog površinskog sloja igraju ključnu ulogu, a posebice debljina sloja, stehiometrija i kristalna struktura TiO_2 , kemizam adsorbenata koji se odlažu bilo putem kemijske ili fizikalne adsorpcije, hidrofilnost, močivost, topljivost, oštećenja sloja, sposobnost obnavljanja - repasivizacije i dr (37, 143).

Nakon višegodišnje kliničke primjene, čisti je titanij pokazao nekoliko loših svojstava koja nisu u skladu sa suvremenim zahtjevima bioloških koncepata u okviru znanosti o biomaterijalima. Njegova bioinertnost ne smatra se više pozitivnim svojstvom, već nedostatkom. Osim toga, neka istraživanja pokazuju da titanij nije inertan koliko se mislio već da u određenim uvjetima pokazuje loša korozivna svojstva (22, 127, 144). U uvjetima niskog pH, prisutnosti fluorida, prisutnosti određenih mikrobioloških vrsta, polimetalizma i dr., korozija titanija postaje brža i neprihvatljiva za zdravlje domaćina (122, 128, 145). Naročito je utjecaj iona F^- na titanijske biomaterijale i o njemu se mnogo istraživalo (124, 129, 131, 146). Ion F^- je vrlo malih dimenzija u odnosu na ostale halogene ione i ima veliku penetrativnu moć te dovodi do pojave jamičaste korozije (*pitting*). *Pitting* onemogućava proces oseointegracije. Histološka promatranja *in vivo* su pokazala da su implantati s jamičastom korozijom imali značajnije manji kontakt implantat-kost (BIC - od eng.: *bone-implant contact*) (147). Jamičasta korozija je oblik lokalizirane korozije koja nastaje prodorom F^- u sloj TiO_2 i

stvaranjem nabijenih kompleksa poput hidroksida titanijeva hidroksilfluorida ($\text{Ti}(\text{OH})_2\text{F}^+$) ili soli titanijeva heksafluorida ($[\text{TiF}_6]^{2-}$), titanijeva hidrida (TiH_2) i dr.

Vrijednosti količine otpuštenih iona Ti^{4+} važne su za procjenu učinka otpuštenog Ti^{4+} tijekom biokorozijskog procesa na okolne strukture, molekule, stanice i tkiva. Naime, u istraživanjima je dokazano da koncentracija iona Ti^{4+} od 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ do 9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ neznatno utječu na vitalitet osteoblasta, osteoklasta i epitelnih gingivnih stanica, dok koncentracija preko 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ima značajan učinak na vitalnost navedenih vrsta stanica (148). Isto tako je dokazano da su otpušteni ioni Ti^{4+} djelomično odgovorni za infiltraciju monocita čime je povećana osjetljivost epitelnih stanica gingive na mikroorganizme (149). To može dovesti do upale i nekroze tkiva koje neposredno okružuju implantirani titanijski biomaterijal. Isto tako, pokazalo se da su za nepovoljni biološki učinak upravo zaslužni nabijeni kompleksi prikazani u kemijskim jednadžbama 11 i 12 zato što snažno vežu i denaturiraju bjelančevina (37).

U biomehaničkom smislu loša karakteristika titanija je relativno visok modul elastičnosti u odnosu na kost što dovodi do efekta prigušenja opterećenja (150, 151). Sve to ukazuje na potrebu za razvojem novih strategija u proizvodnji titanijevih biomaterijala (152, 153).

Magnezij je u novije vrijeme sve više prisutan u studijama o razvoju novih oseointegrirajućih površina zbog izrazito povoljnog biološkog učinka na procese osteoindukcije i osteokondukcije. Osim toga, magnezij je esencijalni mikroelement i sastojak ljudskog organizma. Biokemija i metabolizam magnezija od vitalne su važnosti za organizam. Modul elastičnosti magnezija iznosi između 41 GPa - 45 GPa i vrlo je blizu iznosu modula elastičnosti prirodne kosti (154). Međutim, njegovo nepovoljno biokorozijsko ponašanje onemogućuje korištenje čistog magnezija za izradu dentalnih implantata.

Jedna je od strategija u razvoju inovativnog biomaterijala sačuvati pozitivna svojstva titanija te istovremeno svesti njegove nedostatke na manju mjeru dodajući magnezij u titanijevu osnovu. Budući da se titanij i magnezij ne mogu legirati zbog međusobne netopivosti te velike razlike u točkama taljenja (Mg - 650 °C, Ti - 1668 °C), tehnika metalurgije praha (P/M) smatra se adekvatnom proizvodnom strategijom. Pretpostavlja se da bi tako proizveden materijal imao niži modul elastičnosti od čistog titanija te bi se ujedno povećala bioaktivnost površine otpuštanjem iona magnezija u okolinu i nastanak drugačije površinske topografije *in situ*.

2. SVRHA ISTRAŽIVANJA

2.1. Svrha i hipoteze istraživanja

Svrha ovog istraživanja je određivanje kvalitativne i kvantitativne povezanosti strukture i sastava tri različita titanij-magnezijeve kompozita (Ti-Mg) proizvedena tehnikom P/M sa svojstvima i ponašanjem njihovih površina u *in vitro* uvjetima koji pomoću umjetnih tjelesnih tekućinama oponašaju biokorozijske uvjete.

Hipoteze koje se testiraju u ovom istraživanju su:

- a) Eksperimentalni Ti-Mg kompozitni materijali pokazuju bolja biokorozijska svojstva od komercijalno čistog Ti;
- b) Struktura i sastav Ti-Mg kompozita utječu na kvalitativne i kvantitativne promjene površine nastale u biokorozijskim uvjetima.

3. MATERIJALI I POSTUPCI

3.1. Metodologija i plan istraživanja

U ovom istraživanju ispitivani su Ti-Mg materijali s 1, 2 i 5 masena udjela magnezija. Ispitivani uzorci proizvedeni su tehnikom P/M tako da su pomiješani prah Ti s prahom Mg. Nakon homogenizacije prahova, praškasta mješavina je hladno zbijena postupkom hladnog izostatičkog prešanja (CIP) te prešana uniaksijalnim prešanjem u vakuumu (VP) u potpuno konsolidiran Ti-Mg materija.

Komercijalno čisti titanij (CP Ti) korišten je kao kontrolna skupina i zadovoljavao je kriterije Američkog društva za testiranja i materijale (ASTM) kao CP Ti stupnja 4. Proizveden je konvencionalnom tehnikom lijevanja i naknadne mehaničke obrade.

Površine uzoraka karakterizirane su uobičajenim laboratorijskim postupcima i metodama. Stanje površine uzoraka određivano je SEM metodom. Hrapavost površine određivana je kontaktnom profilometrijskom metodom za dvodimenzionalnu evaluaciju površine. Mikroanaliza kemijskog sastava površine određivana je EDS-om.

Nakon određivanja karakteristika površine, ispitivano je otpuštanje (elucija) iona Ti^{4+} i Mg^{2+} iz ispitivanih uzoraka te elucija iona Ti^{4+} iz kontrolne skupine uzoraka uronjenih u korozijske otopine u *in vitro* uvjetima. Proveden je STU s periodičnom analizom prema zahtjevima norme za korozijsko ispitivanje dentalnih kovinskih materijala ISO 10271:2011 (116). Ispitivanje je provedeno paralelno u četiri različite korozijske otopine:

- a) Umjetnoj slini modificiranoj po Fusayami (USF);
- b) Umjetnoj slini modificiranoj po Fusayami s $pH = 4$ (USFpH4);
- c) Umjetnoj slini modificiranoj po Fusayami sa 0,2 masena udjela (%) natrijeva fluorida (NaF) (USFF);
- d) Hankovoj otopini (HO).

Umjetna slina (a) predstavlja kemijski model koji simulira biokorozijske uvjete u usnoj šupljini. Budući da je već dokazano da titanijevi materijali pokazuju visoku stopu korozije u uvjetima s niskom pH vrijednošću (b) i prisutnim ionima fluora (F^-) (c) (155), ispitivalo se korozijsko ponašanje testiranih materijala i u navedenim uvjetima. Hankova otopina (d) predstavlja kemijski model koji oponaša biokorozijske uvjete u krvnoj plazmi i koštanom tkivu.

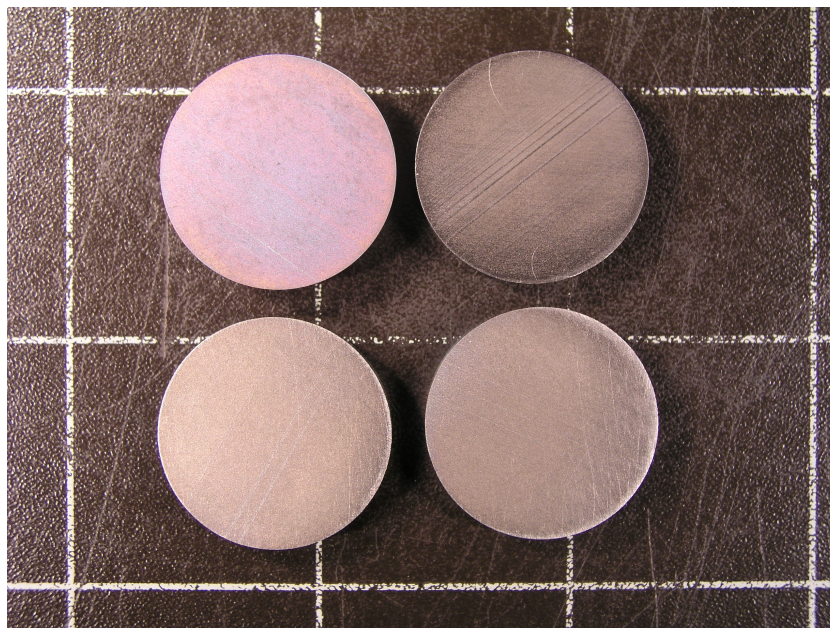
Svaka od otopina uzorkovana je po određenom vremenskom rasporedu (periodu) mjenom u danima, a koncentracija izlučenih iona Ti i Mg određivana je metodom ICP-MS. Statički test uranjanja proveden je ukupno 42 dana. Iz dobivenih rezultata koncentracije pojedinih iona u ispitivanim otopinama izračunavana je brzina korozije za pojedini uzorak.

Nakon provedenog STU, učinjena je gravimetrijska analiza kao jedna od pomoćnih metoda određivanja stupnja korozije. Isto tako, nakon provedenog STU ponovljeni su testovi za određivanje fizikalnih i kemijskih karakteristika površine: SEM, kontaktna profilometrija i EDS. Osim toga, uzorci su analizirani XRD metodom kako bi se identificirala kristalna struktura i fazni sastav produkata na površini materijala nastalih uslijed korozijskog djelovanja.

Za statističko određivanje srednjih vrijednosti i standardnih devijacija numeričkih rezultata korištene su standardne statističke metode. Razlike među skupinama uzoraka i elucijskim otopinama kod STU, analize hrapavosti površine te gravimetrijske analize procjenjivana je analizom varijance i Newman-Keulsovim testom. Utjecaj vrste elucijske otopine i vrste materijala na količinu otpuštenih iona Ti i Mg procjenjivana je multiplom regresijskom analizom i generalnim regresijskim modelom. Razina značajnosti kod svih testova postavljena je na 95% ($p < 0,05$).

3.2. Priprava uzoraka ispitivane i kontrolne skupine

Ispitivani uzorci Ti - Mg materijala s 1, 2 i 5 masena udjela (%) magnezija (Ti-1Mg, Ti-2Mg, Ti-5Mg) dobiveni su tehnikom P/M (156). Prah 99,4 postotnog α -titanija, proizvedenog hidrid-dehidrid postupkom (HDH), prosječna veličine čestica $< 150 \mu\text{m}$, pomiješan je s 1, 2, odnosno, 5 masena udjela (%) atomiziranog praha 99,8 postotnog magnezija prosječne veličine čestica od $30 \mu\text{m}$. Miješanje prahova obavljalo se 30 minuta miješalicom Turbula, "GlenMills", Clifton, SAD. Nakon homogenizacije prahova, praškasta mješavina bila je zbijena CIP postupkom pod 200 MPa. CIP sirovci tada su bili prešani VP na $500 \text{ }^\circ\text{C}$ i 1300 MPa u potpuno čvrsti titanij-magnezijev kompozit te ekstrudirani u oblik valjka. Valjci ispitivanog materijala bili su rezani tehnikom erodiranja žicom (WEDM - od eng.: *wire electrical discharge machining*) (157). Dobiveni su uzorci u obliku diska debljine 4 mm, promjera 27 mm. (Slika 11.)



Slika 11. Uzorci ispitivanog materijala u obliku diska promjera 27 mm, debljine diska 4 mm.

Čisti komercijalni titanij stupnja čistoće 4, tvrtke "Acnis International", Francuska, koji je bio služio kao kontrola, bio je proizveden kao polugotov proizvod tehnikom vrućeg valjanja, kaljenja te brušenja u obliku šipke promjera 15 mm. Od ostalih elemenata sadržavao je ugljika (C) maksimalno 0,08 masena udjela (%), kisika (O) maksimalno 0,4 masena udjela

(%) , dušika (N) maksimalno 0,05 masena udjela (%), vodika (H) maksimalno 0.015 masena udjela (%) te željeza (Fe) maksimalno 0.50 masena udjela (%). Od mehaničkih karakteristika imao je gustoću 4,54 g/cm³, vlačnu čvrstoću 550 MPa, modul elastičnosti 103,4 GPa. Proizveden je prema zahtjevima normi: ASTM B348 Gr.4, ASTM F67-02 te ISO 5832-2:1999 (158). Poluga je zatim bila rezana u diskove WEDM tehnikom, tako da su uzorci za istraživanje bili diskovi debljine 2,5 mm i promjera 15 mm.

Svaki od ispitivanih i kontrolnih uzoraka potom je bio inicijalno metalografski pripremljeni u Laboratoriju za materijalografiju Fakulteta strojarstva i brodogradnje, Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska. Uzorci su bili brušeni i polirani na polirnom stroju Phoenix Alpha, “Buehler”, SAD koristeći silikatno-karbidni (SiC) brusni papir normirane hrapavosti, prema zahtjevima norme ISO 6344-1:1998 (159), #320, #600, #1200 , #2500 i #4000, sukcesivno od grubljeg prema manje grubom pod mlazom vode i pri brzini od 60 okretaja u minuti u trajanju od 7 minuta po brusnom papiru (Slika 12.). Nakon toga, uzorci su bili očišćeni u ultrazvučnoj kupki 70%-tne otopine etanola u trajanju od 10 minuta, isprani u demineraliziranoj vodi te osušeni.

3.2.1. Podjela i označavanje uzoraka

Uzorci su bili podijeljeni po skupinama. Ispitivana skupina uzoraka bile se je sastojala od tri vrste uzoraka titanij - magnezijava kompozita Ti-1Mg, Ti-2Mg i Ti-5Mg, a kontrolna skupina od CP Ti 4. Svi uzorci bili su podijeljeni tako da su za svaku vrstu elucijske otopine bila pripremljena dva uzorka tj. od svake skupine po osam uzoraka. Radi lakšeg rukovanja, uzorci su bili označeni numerički kako je prikazano u Tablici 5.



Slika 12 Poliranje uzoraka na stroju za poliranje Phoenix Alpha, “Buehler”, SAD pomoću SiC brusnog papira pod mlazom vode u Laboratoriju za materijalografiju, Fakulteta strojarstva i brodogradnje Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska.

Tablica 5. Pregled uzoraka po skupinama i numeričke oznake pojedinih uzoraka s obzirom na skupinu i vrstu elucijske otopine.

elucijska otopina	Ispitivana skupina						Kontrolna skupina	
	Ti-1Mg		Ti-2Mg		Ti-5Mg		CP Ti 4	
	uzorak 1	uzorak 2	uzorak 1	uzorak 2	uzorak 1	uzorak 2	uzorak 1	uzorak 2
USF	2-1	2-2	3-1	3-2	5-1	5-2	1-1	1-2
USFpH4	2-3	2-4	3-3	3-4	5-3	5-4	1-3	1-4
USFF	2-5	2-6	3-5	3-6	5-5	5-6	1-5	1-6
HO	2-7	2-8	3-7	3-8	5-7	5-8	1-7	1-8

3.3. Statički test uranjanja

U okviru ovog istraživanja STU je bio proveden prema zahtjevima norme ISO 10271:2011 za korozijsko ispitivanje dentalnih kovinskih materijala (116) kao statički test uranjanja s periodičnom analizom koja propisuje metode i postupke za procjenu korozijskog ponašanja dentalnih kovinskih materijala. Svrha ovog testa je bila odrediti brzinu korozije ispitivanih uzoraka pomoću kvantitativnih podataka o količini otopljenih (eluiranih) iona u otopine - simulacije tjelesnih tekućina (USF, USFpH4, USFF i HO) i usporediti ih s kontrolnom skupinom (114).

3.3.1. Priprava otopina

Pripravljene su četiri vrste otopina - simulacije tjelesnih tekućina:

- a) Umjetna slina modificirana po Fusayami (USF)(119);
- b) Umjetna slina modificirana po Fusayami s pH vrijednošću 4 (USFpH4);
- c) Umjetna slina modificirana po Fusayami s dodatkom iona fluora (F-) (USFF) (160);
- d) Hankova otopina (HO).

Za pripravu otopine pod a) korišteno je: 0,4 g natrijeva klorida (NaCl) *pro analysi* (p.a.) EDUKA, "TTT d.o.o.", Hrvatska; 0,4 g kalijeva klorida (KCl) Analar NORMAPUR, "VWR International", LLC, SAD; 0,795 g kalcijeva klorida dihidrata ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), NORMAPUR Ph. Eur., "VWR International", LLC, SAD; 0,69 g natrijeva dihidrogenfosfata dihidrata ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), RECTAPUR, "VWR International", LLC, SAD; 0,005 g natrijeva sulfida nonahidrata ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), "Alfa Aesar", Njemačka; 1 g uree ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), Analar, NORMAPUR Ph. Eur., "VWR International", LLC, SAD. Sve kemikalije su izvagane na analitičkoj vagi Kern ALJ, "Kern&Sohn GmbH", Balingen, Njemačka s točnošću od +/- 0,0001 g i dodane u 1000 mL demineralizirane vode, "Demi 94 d.o.o.", Zagreb, Hrvatska, prema zahtjevima normi ISO 3696:1987 (161). pH vrijednost tako pripremljene otopine iznosio je 5,5 ali je dodavanjem kalijeva hidroksida (KOH), p.a., "Gram-mol d.o.o.", Hrvatska, pH otopine doveden je do vrijednosti od 6,5 koristeći pH-metar HQ440d, "Hach", Colorado, SAD. Tablica 6. prikazuje kemijski sastav USF.

Za pripravu otopine pod b) korištene su iste količine kemikalija i isti postupak kao i pod a) samo što nije dodavan KOH već je pH otopine pomoću 90% otopine mliječne kiseline ($C_3H_6O_3$), RECTAPUR, "VWR International", LLC, SAD spušten na vrijednost 4,0 koristeći pH-metar HQ440d, "Hach", Colorado, SAD.

Za pripravu otopine pod c) korišten je isti postupak i kemijski sastav kao kod otopine pod a) uz dodatak 2 g natrijeva fluorida (NaF), 99% NORMAPUR Ph. Eur., "VWR International", LLC, SAD.

Otopina pod d) pripremana je tako da je najprije pripremano pet (5) vrsta predotopina, zatim je pripremljena predmješavina i na kraju konačna otopina. Prva (I) predotopina pripremana je tako da se u 90 mL demineralizirane vode, "Demi 94 d.o.o.", Zagreb, Hrvatska, otopilo 8 g natrijeva klorida (NaCl), p.a. EDUKA, "TTT d.o.o.", Hrvatska; 0,4 g kalijeva klorida (KCl) Analar NORMAPUR, "VWR International", LLC, SAD; i 1 g D (+) glukoze ($C_6H_{12}O_6$), RECTAPUR Ph. Eur., "VWR International", LLC, SAD. Nakon toga je dodano demineralizirane vode do volumena od 100 mL. Druga (II) predotopina je pripremana tako da se u 90 mL demineralizirane vode otopilo: 0,358 g dinatrijeva hidrogenfosfata anhidrida (Na_2HPO_4), NORMAPUR, "VWR International", LLC, SAD; i 0,6 g kalijeva dihidrogenfosfata (KH_2PO_4), NORMAPUR Ph. Eur., "VWR International", LLC, SAD. Takvoj otopini je zatim dodano demineralizirane vode do volumena od 100 mL. Treća (III) predotopina primljena je tako da se u 50 mL demineralizirane vode otopilo 0,72 g kalcijeva klorida ($CaCl_2$), "VWR International", LLC, SAD. Četvrta (IV) predotopina pripremljena je otapanjem 1,23 g magnezijeva sulfata heptahidrata ($MgSO_4 \times 7H_2O$), NORMAPUR Ph. Eur., "VWR International", LLC, SAD u 50 mL demineralizirane vode. Peta (V) predotopina pripremljena je tako da se u 10 mL demineralizirane vode otopilo 0,35 g natrijeva hidrogenkarbonata ($NaHCO_3$), NORMAPUR, Ph. Eur., "VWR International", LLC, SAD. Nakon pripreme predotopina pristupilo se pripremi predmješavine tako da se je pomiješalo 10 mL predotopine I, 1 mL predotopine II, 1 mL predotopine III, zatim je dodano 86 mL demineralizirane vode i na kraju 1 mL predotopine IV i tako je dobivena predmješavina Hankove otopine. Neposredno prije upotrebe načinjena je konačna otopina miješanjem 99 mL predmješavine Hankove otopine s 1 mL predotopine V. Tablica 7. prikazuje kemijski sastav HO.

Tablica 6. Kemijski sastav umjetne
sline modificirane po Fusayami.

NaCl	0,4 g
KCl	0,4 g
CaCl ₂ x 2H ₂ O	0,795 g
NaH ₂ PO ₄ x H ₂ O	0,690 g
Na ₂ S x 9H ₂ O	0,005 g
urea	1 g
demineralizirana voda	1000 mL

Tablica 7. Kemijski sastav
Hankove otopine.

NaCl	8 g
KCl	0,4 g
KH ₂ PO ₂	0,06 g
d-glukoza	1 g
Na ₂ HPO ₄	0,048 g
MgSO ₄	0,098 g
CaCl ₂	0,140 g
NaHCO ₃	0,35 g
demineralizirana voda	1000 mL

Masa kemikalija je izmjerena na elektroničkoj analitičkoj vagi Kern ALJ, "Kern&Sohn GmbH", Balingen, Njemačka, s točnošću od +/- 0,0001 g. Za pripremu otopina korišteno je laboratorijsko posuđe "Šurlan", Medulin, Hrvatska. pH otopine mjeren je pH-metrom HQ440d, "Hach", Colorado, SAD, s točnošću od ± 0,05 pH jedinica.

3.3.2. Laboratorijski postupak

Uzorci su neposredno prije uranjanja bili odmašćeni i očišćeni etanolom, dva puta isprani demineraliziranom vodom te osušeni komprimiranim zrakom bez ulja i vode prema zahtjevima norme ISO 7183:2007 (162). Isto tako, prije uranjanja svakom je uzorku bila izmjerena masa na elektroničkoj analitičkoj vagi Kern ALJ, “Kern&Sohn GmbH”, Balingen, Njemačka (Slika 13.), s točnošću od $\pm 0,0001$ g te površina s točnošću od $\pm 0,1$ cm² pomoću mikrometarske mjerke, “Vogel Germany GmbH & Co.”, Kevelaer, Njemačka. Svaki uzorak je bio postavljen u posebnu bocu od borosilikatnog stakla “Šurlan”, Medulin, Hrvatska, prema zahtjevima norme ISO 3585:1998 (163) tako da nije dodirivao stijenku boce osim onoliko koliko je bilo potrebno za održavanje (Slika 14.). Od svake vrste materijala bila su uzeta po dva uzorka koji su bili tretirani na identičan način u paralelnim setovima. Na svaki uzorak dodano je $20 \pm 0,1$ mL otopine tako da su uzorci bili potpuno uronjeni. Boce su bile zatvorene kako bi se spriječilo isparavanje otopine i bile su držane u termostatu SPA-Thermostate, “VLM GmbH”, Bielefeld, Njemačka, na temperaturi od 37 ± 1 °C prema vremenskom rasporedu prikazanom u Tablici 8. Dodatne boce bile su postavljene za slijepu probu. U njima su bile otopine bez uzoraka i bile su tretirane na identičan način kao i otopine s uzorcima. Slijepa proba je bila postavljena kako bi se odredila razina onečišćenja za svaki ispitivani element.

Nakon isteka propisanog perioda, uzorci su bili izvađeni iz boce nemetalnom hvataljkom, isprani demineraliziranom vodom te osušeni komprimiranim zrakom bez ulja i vode. Potom im je, na analitičkoj vagi, bila određena masa te izmjerena ukupna površina uzorka. Preostaloj otopini u boci bila je izmjerena pH vrijednost te ukupni volumen (Slika 15.). Otopina iz boce bile je potom transportirana do laboratorija za elementarnu kemijsku analizu. Boce su bile prane nakon svakog perioda, ispirane demineraliziranom vodom te sušene komprimiranim zrakom bez ulja i vode sukladno smjernicama dobre laboratorijske prakse. Neposredno prije svakog novog perioda uranjanja bile su pripremljene svježe otopine. Test se provodio ukupno 42 dana, podijeljeno po periodima kako je prikazano u Tablici 8.

Priprava otopina i laboratorijski postupak STU bio je proveden u Laboratoriju za fizikalnu kemiju i koroziju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, u Hrvatskoj.



Slika 13. Određivanje mase uzorka na elektroničkoj analitičkoj vagi prije i poslije svakog perioda uranjanja.



Slika 14. Uzorak uronjen u ispitivanu otopinu tijekom statičkog testa uranjanja s periodičnom analizom prema zahtjevima norme ISO 10271:2011 (116).

Tablica 8. Vremenski raspored provođenja statičkog testa uranjanja s periodičkom analizom.

Period (n)	Vremenski raspon	Proteklo vrijeme (d)
1	1 d ± 1 h	1
2	3 d ± 1 h	4
3	3 d ± 1 h	7
4	7 d ± 1 h	14
5	7 d ± 1 h	21
6	7 d ± 1 h	28
7	7 d ± 1 h	35
8	7 d ± 1 h	42



Slika 15. Određivanje pH vrijednosti ispitivane otopine pomoću pH-metra prije i nakon svakog perioda uranjanja.

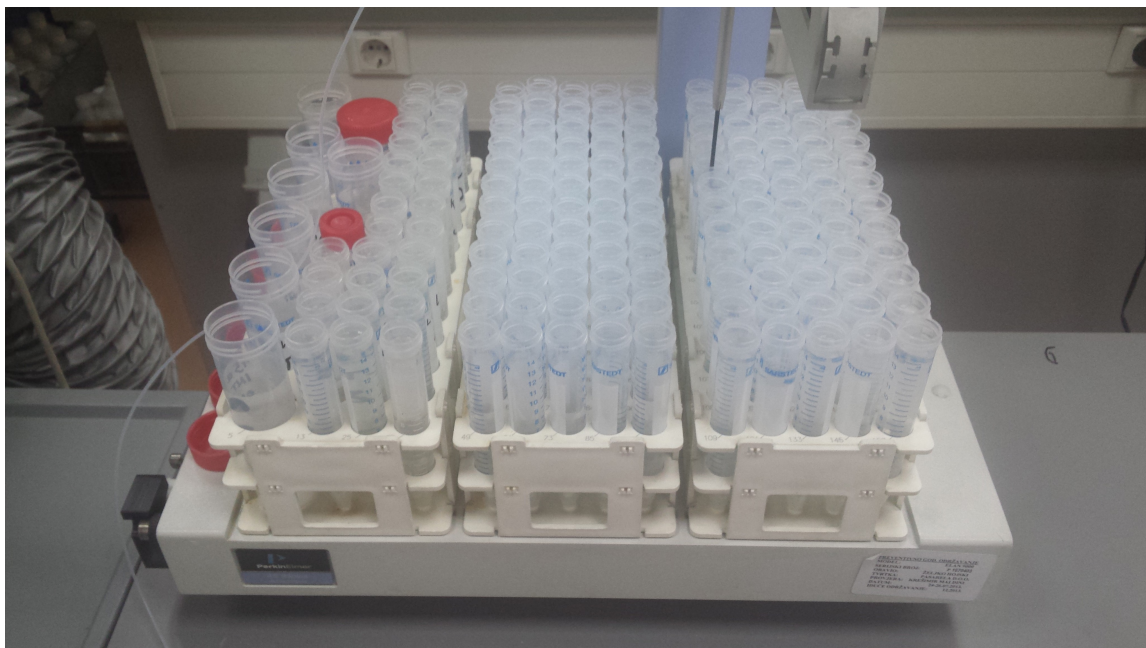
3.3.3. Određivanje koncentracije iona u otopinama

Koncentracije iona titanija i magnezija u otopini bile su određivane pomoću masenog spektrometra induktivno spregnutom plazmom Elan 9000, “PerkinElmer”, Waltham, SAD u Glavnom vodnogospodarskom laboratoriju, Hrvatske Vode d.d., Zagreb, Hrvatska.

Prije svakog mjerenja, instrument je bio stabiliziran 45 minuta. Za provjeru optimalnog rada instrumenta bila je korištena otopina PerkinElmer Pure Plus Elan 6100 Steup/Stab/Masscal solution, “PerkinElmer”, Waltham, SAD. Optimizirane vrijednosti instrumenta su bile: protok plina kroz raspršnu komoru (*nebulizer*) 0,90 L/min; napon leća 7,75 V; snaga ICP RF 1000,00 W; napon analogne faze -1887,00 V; napon pulsne faze 1100,00 V; donja granica detekcije 65,00 V; i AC rod offset -2,90 V.

Za uvođenje ispitivane otopine koristili su se spremnici volumena 15 mL i automatski sustav za uzimanje uzoraka (*automatic sampler*) PerkinElmer AS 93plus, “PerkinElmer”, Waltham, SAD (Slika 16. i 17.). Za određivanje masene koncentracije iona magnezija bio je napravljen niz kalibracijskih otopina koristeći normu PerkinElmer Pure Initial Calibration Verification Standard, “PerkinElmer”, Waltham, SAD, a za određivanje masene koncentracije iona titanija napravljen je niz kalibracijskih otopina koristeći normu PerkinElmer Pure Plus Multi-Elemental Calibration Standard 5, “PerkinElmer”, Waltham, SAD.

Rezultati masene koncentracije ispitivanih iona u ispitivanim otopinama i slijepoj probi su dobiveni numerički kao srednja vrijednost tri ponovljena mjerenje izražena u $\mu\text{g/L}$.



Slika 16. Spremnici s ispitivanim otopinama pripremljeni za kemijsku analizu metodom masene spektrometrije induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS).



Slika 17. Sustav za automatsko uzorkovanje otopine za kemijsku analizu na masenom spektrometru induktivno spregnutom plazmom, Elan 9000, "PerkinElmer", Waltham, SAD, u Glavnom vodnogospodarskom laboratoriju, Hrvatske Vode d.d., Zagreb, Hrvatska.

3.3.4. Izračunavanje količine otpuštenih iona i brzine korozije

Za izračunavanje količine izlučenih iona Ti^{4+} i Mg^{2+} po površini uzorka i brzine korozije (114) iz podataka o masenoj koncentraciji pojedinih iona u testiranoj otopini i slijepoj probi ($\mu\text{g/L}$), volumena otopina (L) te površine uzorka (cm^2), korištena je jednačba [20]:

$$\text{masa otp.iona } Ti^{4+} / Mg^{2+} = \frac{V \cdot (\gamma_1 - \gamma_2)}{A} \quad (\mu\text{g} / \text{cm}^2) \quad [20]$$

gdje je: V - volumen otopine u kojem je određivana koncentracija (L), γ_1 - masena koncentracija iona Ti^{4+}/Mg^{2+} u ispitivanoj otopini ($\mu\text{g/L}$), γ_2 - srednja vrijednost masene koncentracije iona Ti^{4+}/Mg^{2+} iz tri uzorka slijepo probe ($\mu\text{g/L}$) i A - površina uzorka (cm^2).

Kada je izmjerena koncentracija određenog iona u ispitivanoj otopini bila niža od koncentracije istog iona u slijepoj probi, uzimalo se je da je količina eluiranih iona nula. Iz ispitivanih uzoraka Ti-1Mg, Ti-2Mg i Ti-5Mg izračunavala se je brzina korozije - elucija za ione Ti^{4+} i Mg^{2+} , dok se za CP Ti 4 skupinu izračunavala brzina korozije - elucija samo za ione Ti^{4+} . Za izračunavanje brzine korozije za pojedine ione u obzir je uziman period u danima te je brzina bila izražena u $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$.

Rezultati su prikazani brojčano kao apsolutne vrijednosti količine otopljenih (eluiranih) iona Ti^{4+} i Mg^{2+} po površini uzorka u jedinicama $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Podatci su zatim statističkim metodama uspoređivani međusobno s obzirom na vrstu materijala i vrstu otopina te prikazani grafički pomoću dijagrama.

3.3.5. Gravimetrijska analiza

Iz podataka o masi uzoraka prije i poslije potapanja bila je učinjena gravimetrijska analiza. Kako bi se normalizirala promjena mase pojedinog uzorka, računana je specifični prirast mase (SPM) uzorka prema jednadžbi [21] (164):

$$SPM = \frac{m_2 - m_1}{m_1} (\%) \quad [21]$$

gdje je: m_1 - masa uzorka prije uranjanja, a m_2 - masa uzorka nakon uranjanja

Rezultati su iskazani u postotnim omjerima (%) u obliku dijagrama odnosa SPM i vremena te obrađeni statistički.

3.4. Testovi za određivanje karakteristika površine

Prije i poslije statičkog testa uranjanja kvalitativno i kvantitativno su bile određivane karakteristike površine elektronskom mikroskopijom, XRD analizom te kontaktnom profilometrijom.

3.4.1. Skenirajuća elektronska mikroskopija i energijska disperzivna spektrometrija

Skenirajuća elektronska mikroskopija je upotrijebljena za kvalitativno određivanje površinske topografije te za kvalitativnu i kvantitativnu mikroanalizu kemijskog sastava površine uzoraka.

Površina uzoraka bila je snimana SE i BSE detektorom tako da su po dva uzorka od svake ispitivane skupine bila snimana s oba detektora u uvećanju od 50 i 200 puta, odnosno u razlučivosti od 1 mm i 200 μm , u snopu elektrona uz napon ubrzanja od 20 kV. Snimanje je bilo učinjeno odmah nakon inicijalne metalografske pripreme površine uzoraka te neposredno nakon statičkog testa uranjanja na skenirajućem elektronskom mikroskopu tipa VEGA TS5136LS, "Tescan", Češka, u Laboratoriju za materijalografiju Fakulteta strojarstva i brodogradnje Sveučilišta u Zagrebu, u Hrvatskoj. Rezultati su prikazani kao SEM snimke.

Na istom uređaju bila je određivana i kvalitativna mikroanaliza kemijskog sastava površine uzoraka pomoću EDS detektora, "Oxford Instruments", Ujedinjeno Kraljevstvo, uz pomoć računalnog programa INCA. Analiza je bila obavljena tako da su se na poljima promatranja BSE detektorom odredile točke različitog elektronskog odjeka gdje je snimljen energijski disperzivni spektar te je kvalitativno i kvantitativno određen svaki od pojedinih kemijskih elemenata. Rezultati su prikazani u obliku EDS spektara iz kojih je vidljivo o kojim se je kemijskim elementima radilo te koliko su ti elementi bili zastupljeni u postotnim udjelima.

3.4.2. Rendgenska difrakcijska analiza

Nakon učinjenog statičkog testa uranjanja, na svim uzorcima je provedena rendgenska difrakcijska analiza. Uzorci su prije XRD bili isprani u destiliranoj vodi i pažljivo osušeni kako se ne bi bio ošteti sloj korozivskih produkata i kristalnih faza na njihovoj površini.

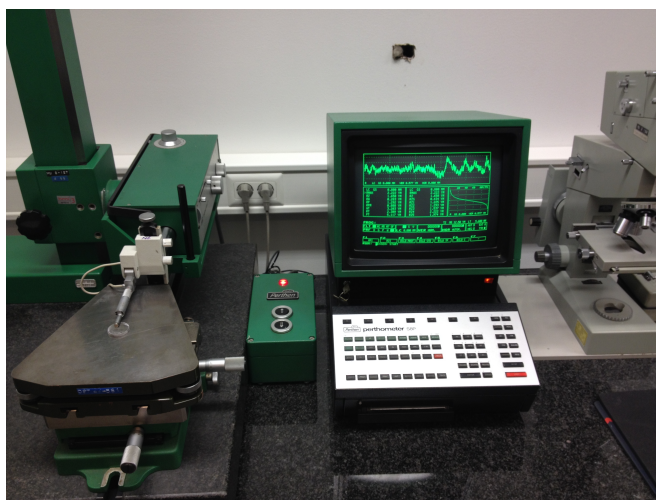
Analiza je bila provedena na sustavu D8 Advance, "Bruker", Billerica, SAD, na *Institute of materials and machine mechanics, The Slovak Academy of Sciences*, Bratislava, Slovačka. Za snimanje je bilo korišteno Cu - K α zračenje, pod naponom od 40 kV i jačini struje od 35 mA. Korištena je tehnika asimetrične geometrije s paralelnim snopom i konstantnim upadnim kutem (eng: *grazing incidence measurement*) koja se koristi za analizu tankih slojeva (165), a kako bi se smanjio utjecaj osnovnog materijala na dobiveni rezultat. Zbog hrapave površine uzoraka, snimanje je bilo učinjeno pod konstantnim upadnim kutem od 6 °. Kako bi se pojačao intenzitet upadne zrake, korišteno je Goebelovo ogledalo. Za bolju rezoluciju difrakcijskih maksimuma, bili su korišteni Sollerov prorez od 0,23 ° i LiF monokromator na izlaznoj zruci. Analiza je bila provedena u rasponu kuta 2 Θ od 20 ° - 90 ° uz korak od 0,03 ° te sa zadržavanjem od 3 s po koraku. Rezultati su prikazani u obliku XRD difraktograma svrstani u klasterne.

3.4.3. Profilometrijsko određivanje hrapavosti površine

Prvo mjerenje hrapavosti površine ispitivanih i kontrolnih uzoraka bilo je učinjeno neposredno nakon inicijalne metalografske pripreme površine uzoraka. Prije mjerenja uzorci su bili očišćeni ultrazvučno u destiliranoj vodi i osušeni. Drugo mjerenje bilo je učinjeno nakon statičkog testa uranjanja. Kako bi se površina očistila od korozivskih produkata, uzorci su prije mjerenja bili potopljeni u otopinu kromova (VI) oksida (CrO₃) koncentracije 10 g/L na dva sata, a zatim očišćeni ultrazvučno u destiliranoj vodi te osušeni. Mjerenje je bilo izvršeno na po dva uzorka iz svake skupine.

Mjerenje je bilo provedeno na kontaktnom profilometrijskom instrumentu Perthometer S8P, tvrtke "Mahr GmbH", Njemačka, u Nacionalnom laboratoriju za duljinu Republike Hrvatske (Slika 18.). Ovaj uređaj omogućuje dvodimenzionalno pretraživanje površinske topografije, a kalibriran je sukladno važećim nacionalnim normama za hrapavost.

Određivanje R_a (μm) i R_z (μm) parametara bilo je izvršeno prema zahtjevima normi ISO 4287:1997 (166) i ISO 4288:1996 (167). Ispitivani profili površina bili su pretraživani kontaktnim instrumentom s dijamantnom iglom, radnog radijusa od 5 μm (Slika 19.). Tijekom mjerenja igla se je kretala stalnom brzinom preko uzorka, uz mjernu silu od 1.3 mN. Gaussov filter (λ_c) je iznosio 0.8 mm, kako bi se razdvojila hrapavost od valovitosti i većih neravnina, a mjerena duljina (l_m) je bila 4.0 mm, prema zahtjevima norme ISO 3274:1996 (168). Na svakom uzorku, mjerni parametri su mjereni na šest profila (mjesta). Rezultati su objavljeni numerički kao razlike vrijednosti parametara R_a (μm) i R_z (μm) prije i poslije STU-a te su obrađeni statistički.



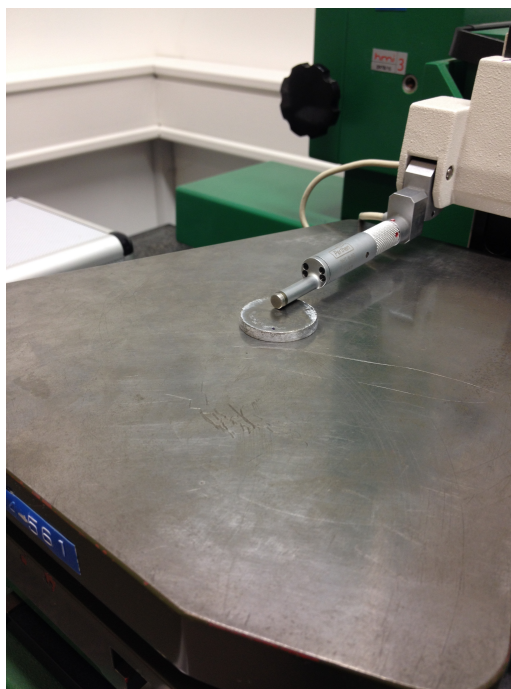
Slika 18. Instrument za kontaktnu profilometriju Perthometer S8P, “Mahr GmbH”, Njemačka u Nacionalnom laboratoriju za duljinu Republike Hrvatske.

3.5. Statistička analiza

Statistička analiza numeričkih rezultata količine otpuštenih iona, brzine korozije, specifičnog prirasta mase i R_a i R_z parametara učinjena je pomoću programskog paketa Statistica 11.0, “Dell Software”, Tulsa, SAD. Srednje vrijednosti i standardne devijacije računane su standardnim statističkim metodama. Razlika u količini otopljenih iona kao i razlika u parametrima hrapavosti među različitim elucijskim otopinama bila je procjenjivana analizom varijance (ANOVA) i Newman-Keulsovim testom. Isti testovi bili su korišteni za procjenu

razlike između ispitivanih materijala i kontrolne skupine. Utjecaj vrste elucijske otopine i vrste materijala na količinu eluiranih iona Ti^{4+} i Mg^{2+} te na parametre R_a i R_z bila je procjenjivana multiplom regresijskom analizom i Generalnim regresijskim modelom. Isti testovi bili su upotrijebljeni za procjenu prediktorskih varijabli na porast mase kod ispitivanih uzoraka. Razina značajnosti kod svih testova bila je postavljena na $p < 0,05$.

Za kvalitativnu analizu rezultata XRD analize bila je upotrijebljena statistička klaster analiza budući da je bio ispitivan dovoljan broj uzoraka sličnog materijala. Uzorci su bili svrstavani u klasterne na temelju sličnosti metodom analize glavnih komponenta (PCA, od eng: *principal component analysis*) u okviru računalnog programa Cluster Analysis, High Score Plus, “Panalytical”, Almelo, Nizozemska. Rezultati su prikazani u obliku difraktograma za svaki ispitivani uzorak po klasterima.



Slika 19. Prikaz mjerenja hrapavosti površine na uzorku Ti-2Mg nakon STU pomoću dijamantne igle na instrumentu za kontaktnu profilometriju Perthometer S8P, “Mahr GmbH”, Njemačka u Nacionalnom laboratoriju za duljinu Republike Hrvatske.

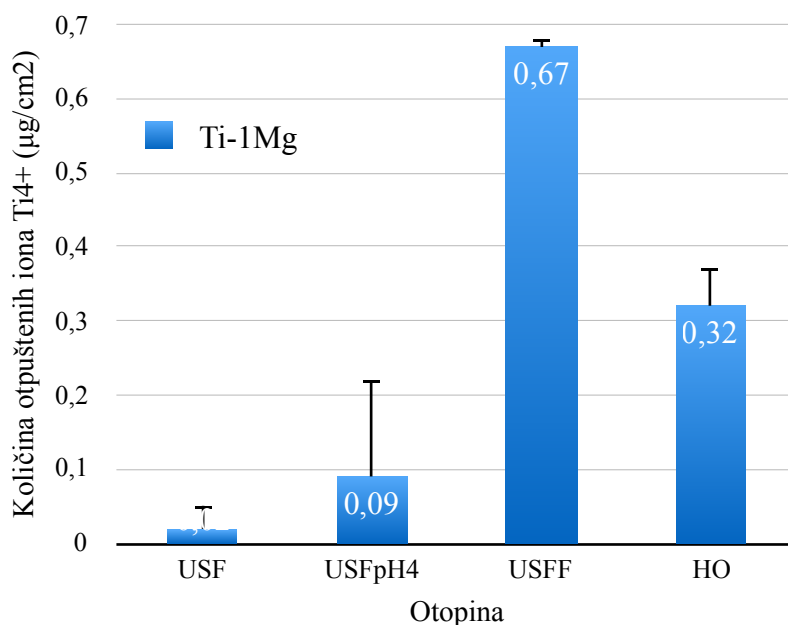
4. REZULTATI

4.1. Rezultati statičkog testa uranjanja

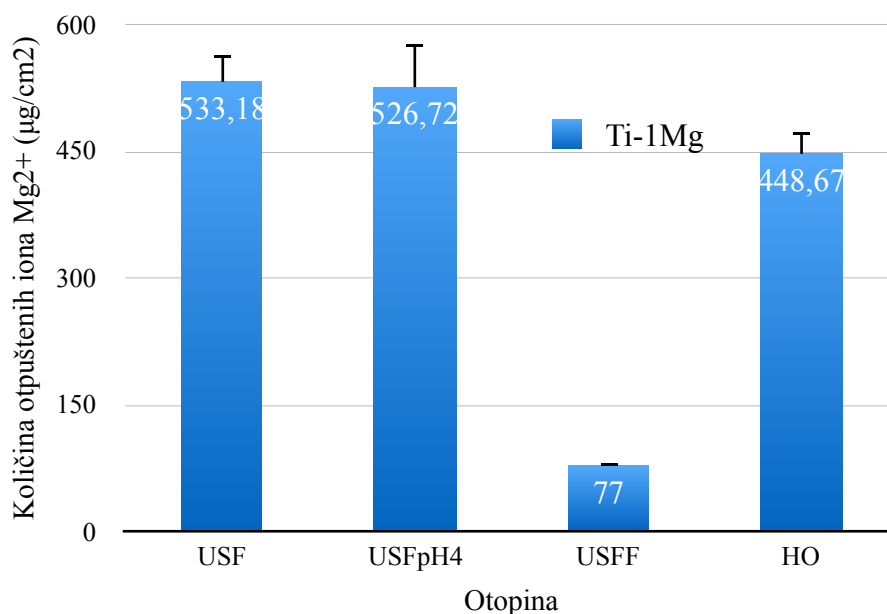
Rezultati statičkog testa uranjanja prikazani su numerički u tablicama te u obliku dijagrama.

4.1.1. Rezultati otpuštanja iona Ti^{4+} i Mg^{2+} kod Ti-1Mg skupine

Rezultati količine otpuštenih iona Ti^{4+} iz Ti-1Mg skupine prikazani su na Slici 20., a količine otpuštenih iona Mg^{2+} na Slici 21. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Ti i Mg iz uzorka Ti-1Mg u četiri različite vrste otopina prikazane su u Tablici 9. U Tablici 10. prikazani su rezultati ANOVA za testiranje razlika između količine otpuštenih iona Ti^{4+} i Mg^{2+} u četiri različite vrste otopina dok Tablica 11. i 12. prikazuju rezultate Newman-Keulsova testa.



Slika 20. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Ti^{4+} iz uzorka Ti-1Mg u četiri različite vrste otopina u 42 dana.



Slika 21. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Mg²⁺ iz Ti-1Mg u četiri različite vrste otopina u 42 dana.

Tablica 9. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Ti⁴⁺ i Mg²⁺ iz uzorka Ti-1Mg u četiri različite vrste otopina u 42 dana.

Otopina	Ti (µg/cm ²)		Mg (µg/cm ²)	
	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
USF	0,02	0,03	533,18	30,90
USFpH4	0,09	0,13	526,72	49,19
USFF	0,67	0,01	77,00	2,89
HO	0,32	0,05	448,67	23,41

Tablica 10. Analiza varijance za testiranje razlike u količini otpuštenih iona Ti^{4+} i Mg^{2+} iz uzorka Ti-1Mg u četiri različite vrste otopina.

varjabla	SS učinak	df učinak	MS učinak	SS greška	df greška	MS greška	F	p
Ti	0,5	3	0,17	0,020	4	0,0050	34,42	0,002574*
Mg	280873,7	3	93624,58	3930,642	4	982,6605	95,27	0,000355*
				* statistički značajna razlika uz $p < 0,05$				

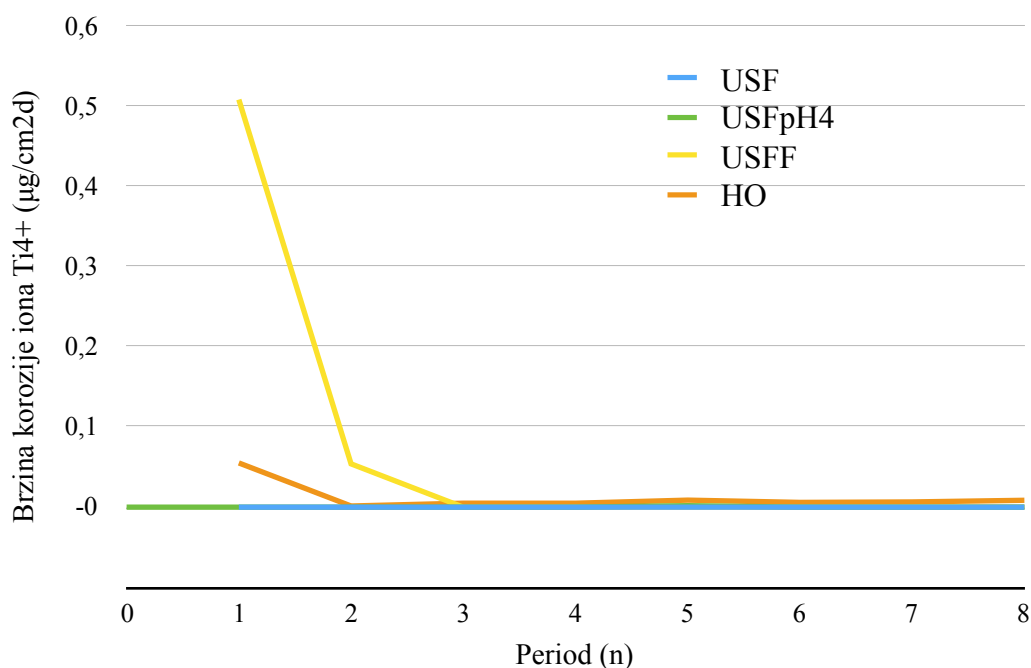
Tablica 11. Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlike u količini otpuštenih iona Ti^{4+} iz uzorka Ti-1Mg u četiri različite vrste otopina.

Ti	USF	USFpH4	USFF	HO
USF		0,388908	0,002856*	0,030542*
USFpH4	0,388908		0,002792*	0,033190*
USFF	0,002856*	0,002792*		0,007436*
HO	0,030542*	0,033190*	0,007436*	
		* statistički značajna razlika uz $p < 0,05$		

Tablica 12. Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlike u količini otpuštenih iona Mg^{2+} iz uzorka Ti-1Mg u četiri različite vrste otopina.

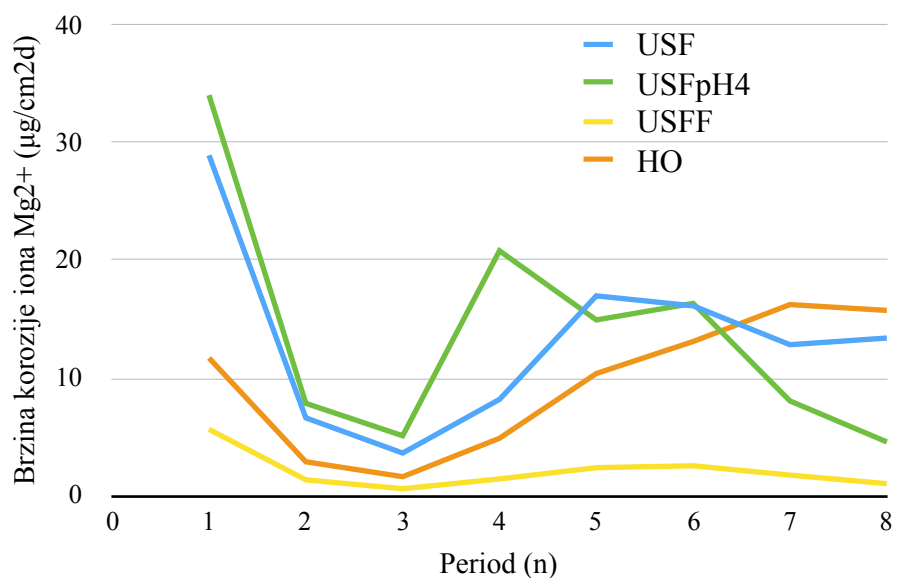
Mg	USF	USFpH4	USFF	HO
USF		0,846949	0,000656*	0,112033
USFpH4	0,846949		0,000517*	0,067679
USFF	0,000656*	0,000517*		0,000510*
HO	0,112033	0,067679	0,000510*	
		* statistički značajna razlika uz $p < 0,05$		

Slika 22. prikazuje kinetiku korozije iona Ti^{4+} kod skupine Ti-1Mg u četiri vrste otopina po periodima. Prosječna brzina korozije iona Ti^{4+} za uzorak Ti-1Mg u otopini USFF iznosila je $0,016 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$. U HO ona je iznosila $0,007 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$. Prosječne brzine korozije u otopinama USF i USFpH4 iznosile su $0,0005 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$, odnosno, $0,002 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$.



Slika 22. Kinetika korozije uzorka Ti-1Mg za ione Ti^{4+} u četiri vrste otopina po periodima (prema Tablici 8.).

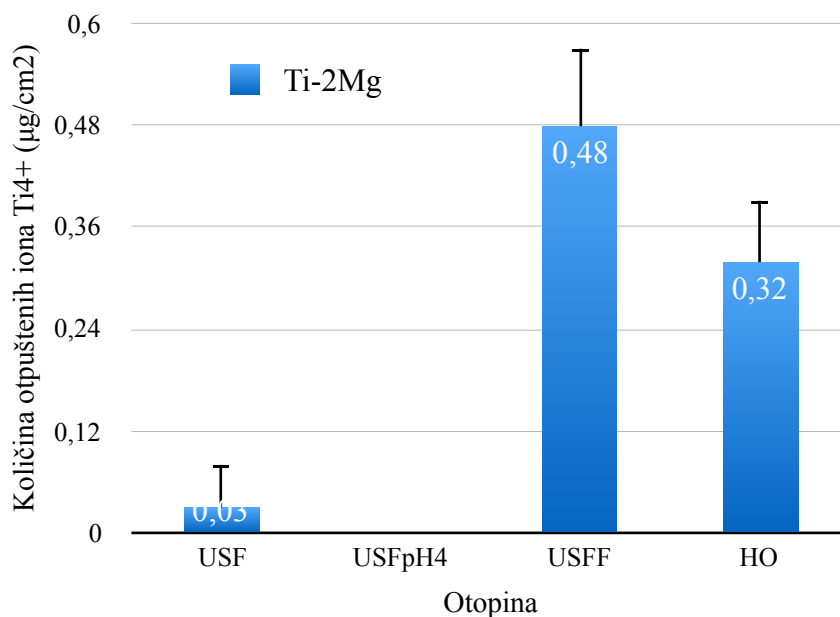
Slika 23. prikazuje kinetiku korozije u skupini Ti-1Mg za ione Mg^{2+} tijekom provođenja statičkog testa uranjanja u trajanju od 42 dana. Prosječna brzina korozije bila je u iznosu od $12,695 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$ u USF, $12,541 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$ u USFpH4 i $10,683 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$ u HO te $1,833 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$ u USFF.



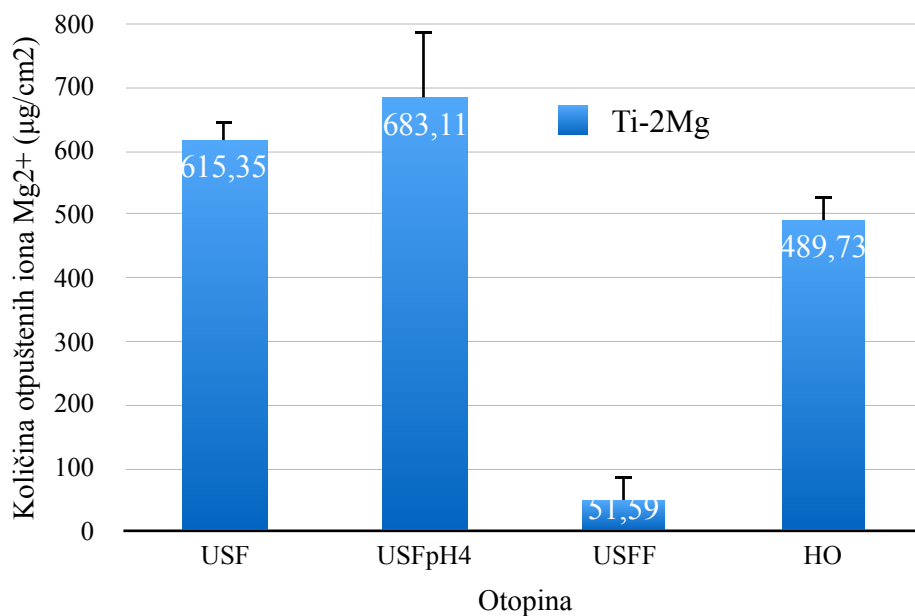
Slika 23. Kinetika korozije uzorka Ti-1Mg za ione Mg^{2+} u četiri vrste otopine po periodima (prema Tablici 8.).

4.1.2. Rezultati otpuštanja iona Ti^{4+} i Mg^{2+} kod Ti-2Mg skupine

Kod uzorka Ti-2Mg količina otpuštenih iona Ti^{4+} prikazana je na Slici 24. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Ti^{4+} i Mg^{2+} u 42 dana prikazani su u Tablici 13. te na Slici 24. i 25. Rezultati ANOVA prikazani su u Tablici 14., a Newman-Keulsova testa za testiranje razlika u Tablici 15. i 16.



Slika 24. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Ti⁴⁺ iz Ti-2Mg u četiri različite vrste otopine u 42 dana.



Slika 25. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Mg²⁺ iz Ti-2Mg u četiri različite vrste otopina u 42 dana.

Tablica 13. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Ti^{4+} i Mg^{2+} iz uzorka Ti-2Mg u četiri različite vrste otopina u 42 dana.

Otopina	Ti ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)		Mg ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	
	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
USF	0,03	0,05	615,35	32,64
USFpH4	0,00	0,00	683,11	104,76
USFF	0,48	0,09	51,59	34,54
HO	0,32	0,07	489,73	37,84

Tablica 14. Analiza varijance za testiranje razlika u količini otpuštenih iona Ti^{4+} i Mg^{2+} iz uzorka Ti-2Mg u četiri različite vrste otopina.

varijable	SS učinak	df učinak	MS učinak	SS greška	df greška	MS greška	F	p
Ti	0,3	3	0,1	0,02	4	0,004	26,91204	0,004112*
Mg	483196,7	3	161065,6	14666,42	4	3666,606	43,92771	0,001611*
				* statistički značajna razlika uz $p < 0,05$				

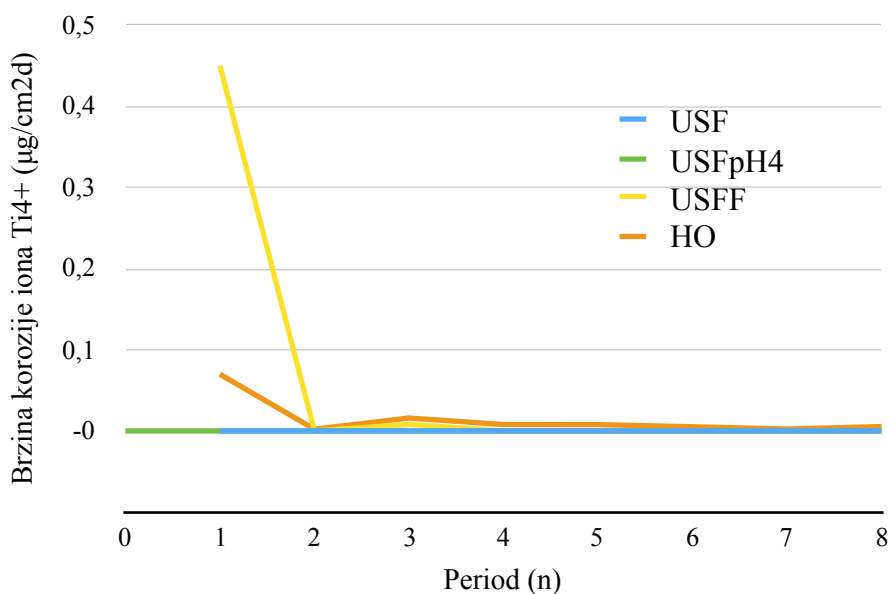
Tablica 15. Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlike u količini otpuštenih iona Ti^{4+} iz uzorka Ti-2Mg u četiri različite vrste otopina.

Ti	USF	USFpH4	USFF	HO
USF		0,625668	0,004820*	0,010252*
USFpH4	0,625668		0,005728*	0,015177*
USFF	0,004820*	0,005728*		0,068422
HO	0,010252*	0,015177*	0,068422	
				* statistički značajna razlika uz $p < 0,05$

Tablica 16. Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlike u količini otpuštenih iona Mg^{2+} iz uzorka Ti-2Mg u četiri različite vrste otopina.

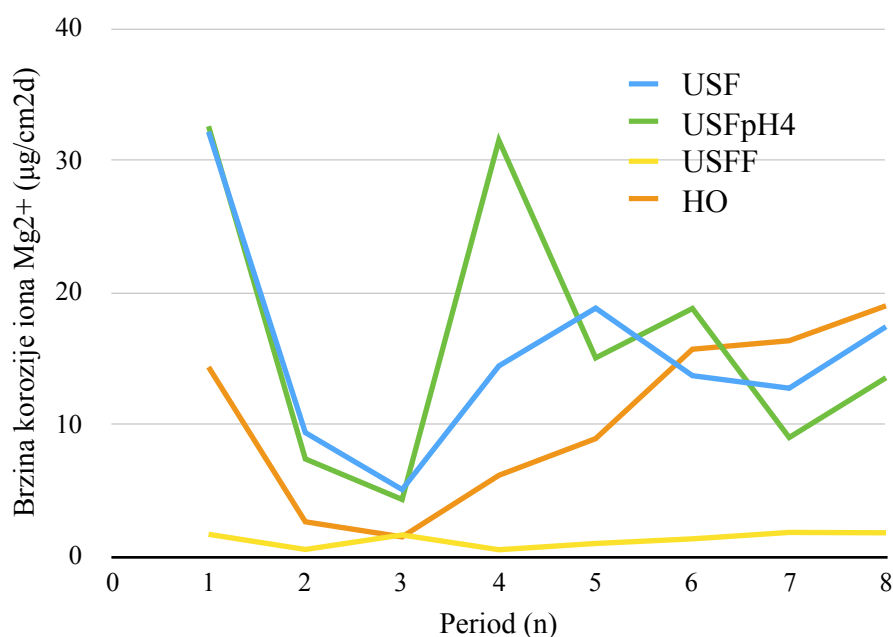
Mg	USF	USFpH4	USFF	HO
USF		0,325998	0,001808*	0,106860
USFpH4	0,325998		0,001839*	0,069760
USFF	0,001808*	0,001839*		0,002154*
HO	0,106860	0,069760	0,002154*	
* statistički značajna razlika uz $p < 0,05$				

Slika 26. prikazuje kinetiku korozije iona Ti^{4+} kod skupine Ti-2Mg u četiri vrste otopina tijekom 42 dana. Prosječna brzina korozije za uzorak Ti-2Mg u USFF iznosila je $0,011 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$ i to s najvećom korozijskim zbivanjem na početku testa. Brzina korozije u otopini HO je iznosila $0,008 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$. Prosječne brzine korozije iona Ti^{4+} u preostale dvije otopine (USF i USFpH4) bile su zanemarivo niske.



Slika 26. Kinetika korozije uzorka Ti-2Mg za ione Ti^{4+} u četiri vrste otopina po periodima (prema Tablici 8.).

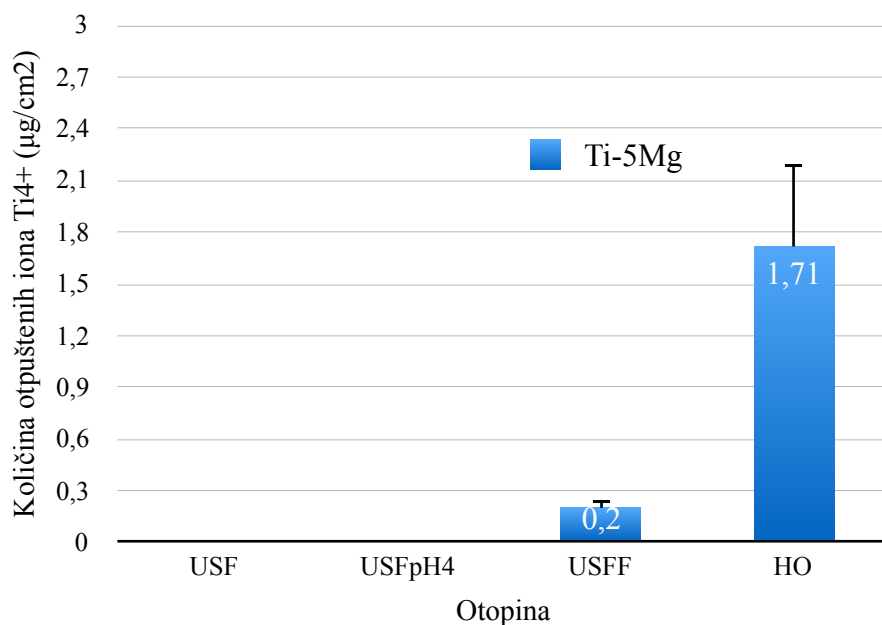
Na Slici 27. prikazana je kinetika korozije iona Mg^{2+} kod skupine Ti-2Mg tijekom 42 dana STU. Uzorak Ti-2Mg otpuštao je ione Mg^{2+} u otopini USFF prosječnom brzinom od 1,228 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$. U otopini HO, prosječna brzina korozije iznosila je 11,660 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$. U otopinama USF i USFpH4 uzorak Ti-2Mg je otpuštao ione Mg brzinom korozije od 14,651 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$, odnosno, 16,265 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$.



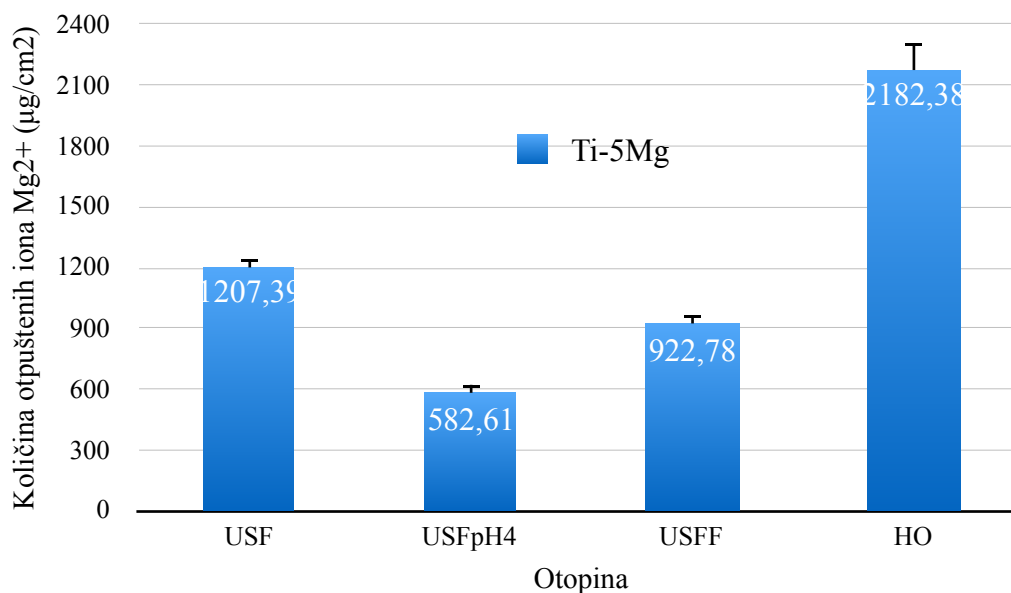
Slika 27. Kinetika korozije uzorka Ti-2Mg za ione Mg^{2+} u četiri vrste otopina po periodima (prema Tablici 8.).

4.1.3. Rezultati otpuštanja iona Ti^{4+} i Mg^{2+} kod Ti-5Mg skupine

Kod uzorka Ti-5Mg nije uočeno otpuštanje iona Ti^{4+} u USF i USFpH4 (Slika 28.). Niske vrijednosti količine otpuštenih iona Ti^{4+} su pronađene u USFF dok su u HO izmjerene vrijednosti od 1,71 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Za količinu otpuštenih iona Mg^{2+} vrijednosti su prikazane na Slici 29. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Ti^{4+} i Mg^{2+} iz ispitivanog uzorka Ti-5Mg u četiri različite vrste ispitivanih otopina tijekom 42 dana prikazane su u Tablici 17. Analiza varijance za testiranje razlika u količini otpuštenih iona prikazana je u Tablici 18., a rezultati Newman-Keulsova testa u Tablici 19. i 20.



Slika 28. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Ti^{4+} iz Ti-5Mg u četiri različite vrste otopina u 42 dana.



Slika 29. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Mg^{2+} iz Ti-5Mg u četiri različite vrste otopina u 42 dana.

Tablica 17. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Ti^{4+} i Mg^{2+} iz uzorka Ti-5Mg u četiri različite vrste otopina u 42 dana.

Otopina	Ti ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)		Mg ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	
	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
USF	0,00	0,00	1207,39	32,39
USFpH4	0,00	0,00	582,61	44,62
USFF	0,20	0,05	922,78	38,03
HO	1,71	0,48	2182,38	122,73

Tablica 18. Analiza varijance za testiranje razlika u količini otpuštenih iona Ti^{4+} i Mg^{2+} iz uzorka Ti-5Mg u četiri različite vrste otopina.

varijable	SS učinak	df učinak	MS učinak	SS greška	df greška	MS greška	F	p
Ti	4	3	1,4	0,23	4	0,058	23,29	0,005395*
Mg	2841753	3	947251,1	19550,26	4	4887,565	193,80	0,000087*
* statistički značajna razlika uz $p < 0.05$								

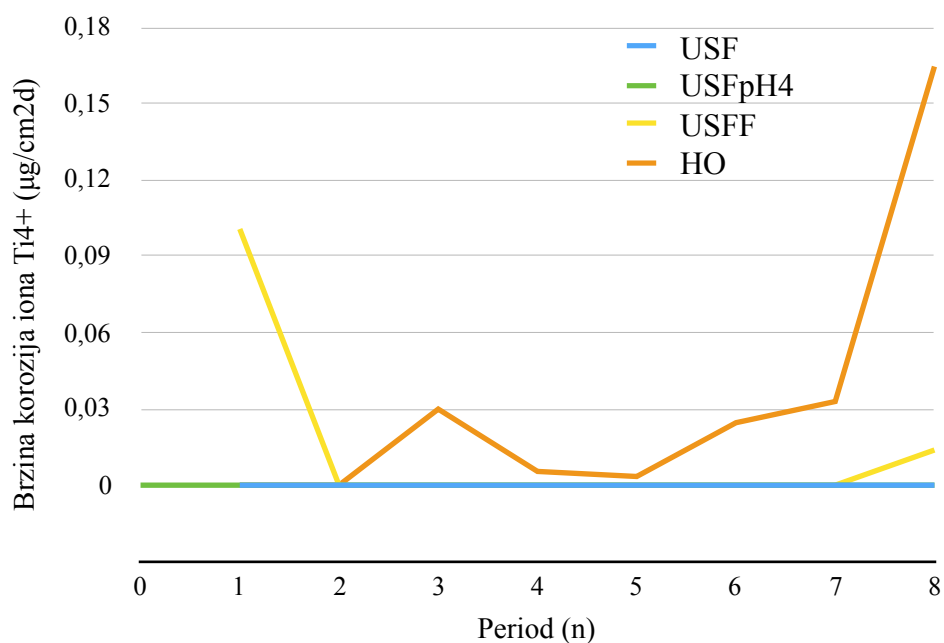
Tablica 19. Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlike u količini otpuštenih iona Ti^{4+} iz uzorka Ti-5Mg u četiri različite vrste otopina.

Ti	USF	USFpH4	USFF	HO
USF		1,000000	0,713862	0,007506*
USFpH4	1,000000		0,460062	0,004861*
USFF	0,713862	0,460062		0,003556*
HO	0,007506*	0,004861*	0,003556*	
* statistički značajna razlika uz $p < 0.05$				

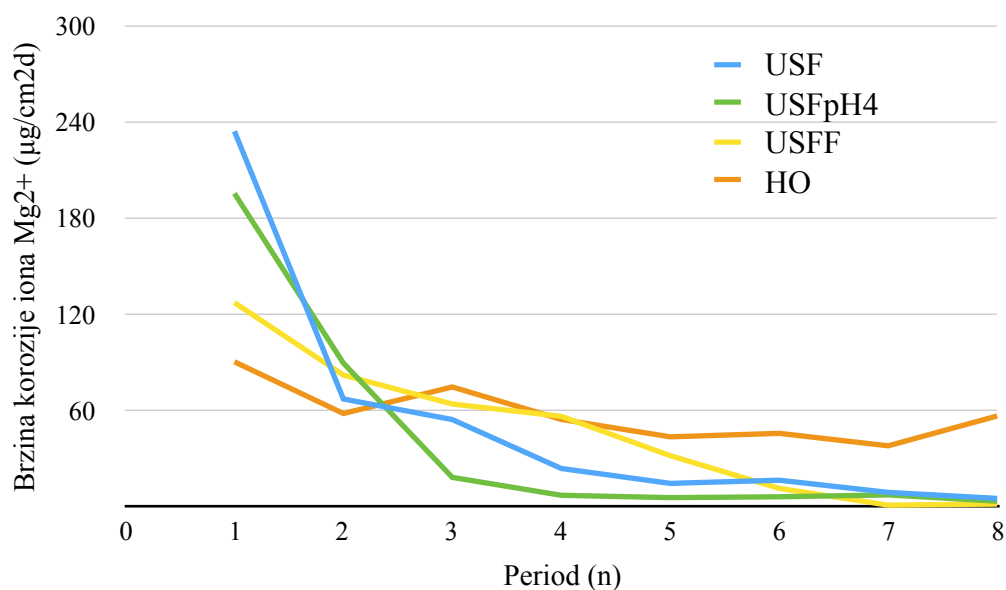
Tablica 20. Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlike u količini otpuštenih iona Mg^{2+} iz uzorka Ti-5Mg u četiri različite vrste otopina.

Mg	USF	USFpH4	USFF	HO
USF		0,002085*	0,015381*	0,000392*
USFpH4	0,002085*		0,008410*	0,000315*
USFF	0,015381*	0,008410*		0,000355*
HO	0,000392*	0,000315*	0,000355*	
* statistički značajna razlika uz $p < 0,05$				

Slika 30. prikazuje kinetiku korozije uzorka Ti-5Mg za ione Ti^{4+} tijekom statičkog testa uranjanja. Prosječna brzina korozije u otopini HO iznosila je 0,041 $\mu g/cm^2d$. U otopini USFF ona je iznosila 0,005 $\mu g/cm^2d$. Na Slici 31. prikazana je kinetika korozije za ione Mg^{2+} u skupini Ti-5Mg. Prosječna brzina korozije u HO bila 51,961 $\mu g/cm^2d$, u USF 28,747 $\mu g/cm^2d$, u USFF 19,590 $\mu g/cm^2d$ te u USFpH4 24,169 $\mu g/cm^2d$.



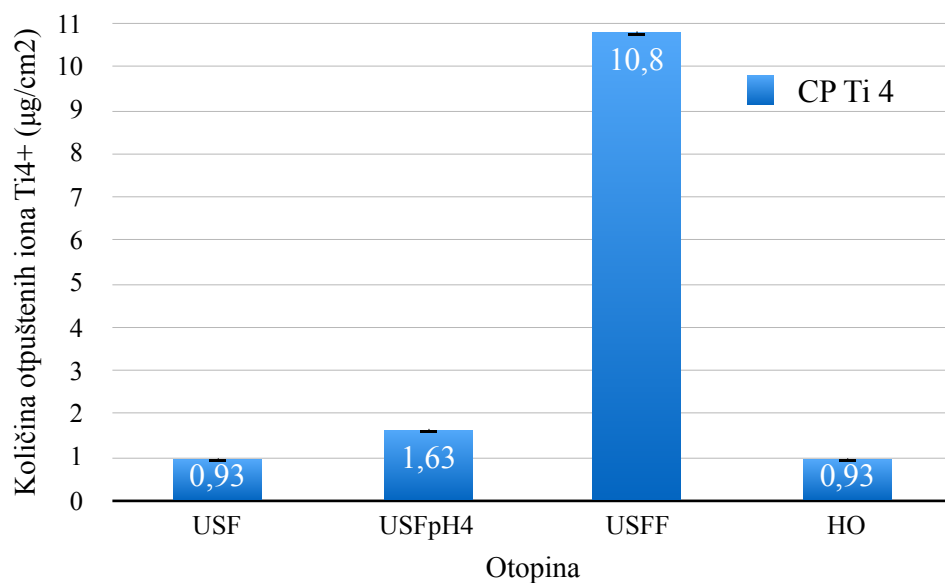
Slika 30. Kinetika korozije uzorka Ti-5Mg za ione Ti^{4+} u četiri vrste otopine po periodima (prema Tablici 8.).



Slika 31. Kinetika korozije uzorka Ti-5Mg za ione Mg^{2+} u četiri vrste otopina po periodima (prema Tablici 8.).

4.1.4. Rezultati otpuštanja iona Ti^{4+} kod CP Ti 4 skupine

Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Ti^{4+} iz uzoraka kontrolne skupine u četiri različite vrste otopina tijekom 42 dana prikazane su u Tablici 21. te na Slici 32. Tablica 22. prikazuje ANOVA za testiranje razlika, a u Tablici 23. su rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlika među parovima ispitivanih otopina. Na Slici 33. prikazana je kinetika korozije iona Ti^{4+} kod uzorka CP Ti 4 u četiri vrste otopine po periodima.



Slika 32. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Ti⁴⁺ iz kontrolne skupine CP Ti 4 u četiri različite vrste otopina u 42 dana.

Tablica 21. Srednje vrijednosti i standardne devijacije za količinu otpuštenih iona Ti⁴⁺ iz uzoraka CP Ti 4 u četiri različite vrste otopina u 42 dana.

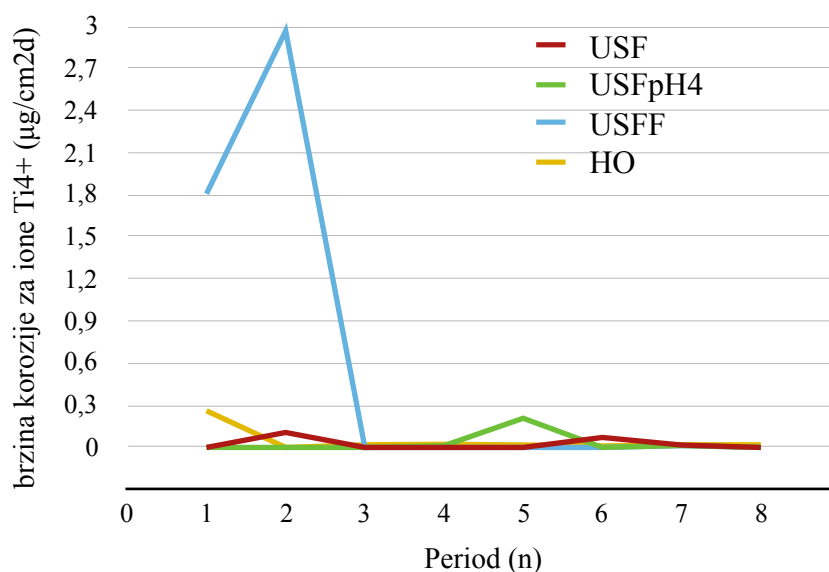
Otopina	Ti (µg/cm ²)	
	\bar{X}	SD
USF	0,93	0,01
USFpH4	1,63	0,01
USFF	10,80	0,01
HO	0,93	0,01

Tablica 22. Analiza varijance za testiranje razlike u količini otpuštenih iona Ti^{4+} iz uzorka CP Ti 4 između četiri različite vrste ispitivanih otopina.

varijabla	SS efekt	df efekt	MS efekt	SS greška	df greška	MS greška	F	p
Ti	209,93	3	69,98	0,00	8	0,00	699756,75	0,000000*
				* statistički značajna razlika uz $p < 0.05$				

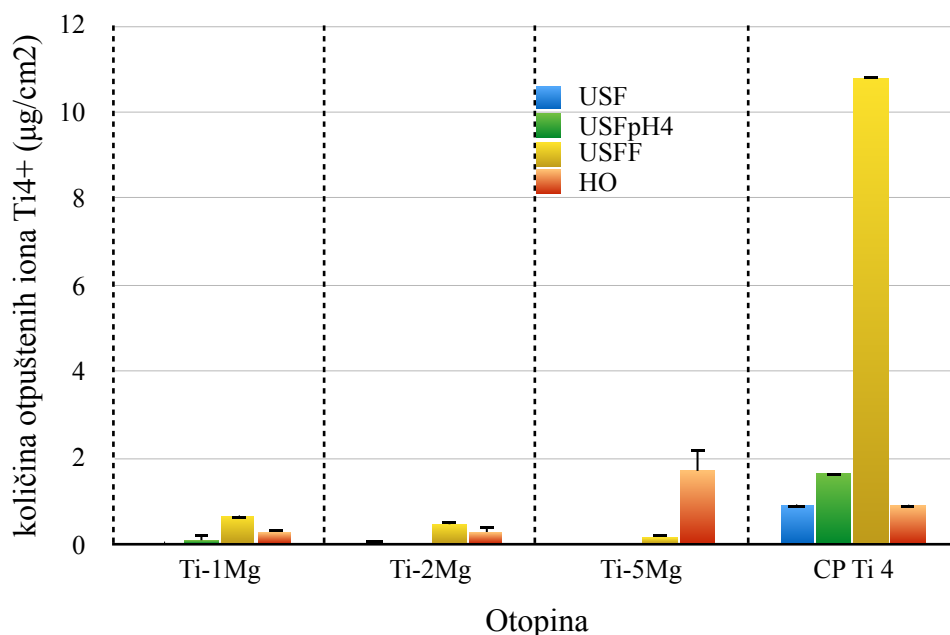
Tablica 23. Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlike u količini otpuštenih iona Ti^{4+} između parova ispitivanih otopina.

Ti	USF	USFpH4	USFF	HO
USF		0,000223*	0,000201*	1,000000
USFpH4	0,000223*		0,000223*	0,000201*
USFF	0,000201*	0,000223*		0,000231*
HO	1,000000	0,000201*	0,000231*	
		* statistički značajna razlika uz $p < 0,05$		

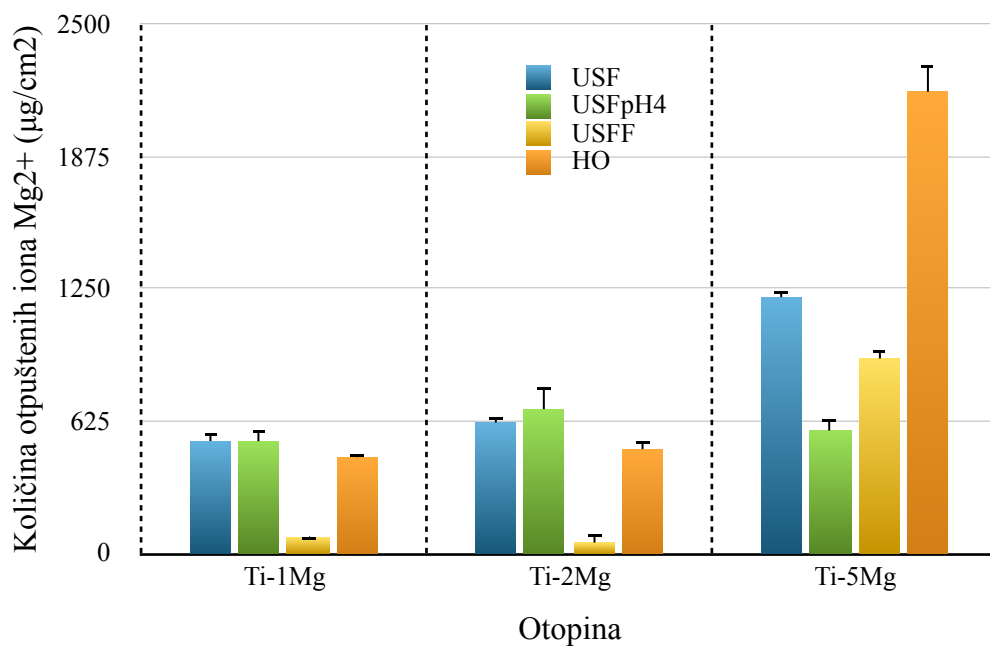


Slika 33. Kinetika korozije iona Ti⁴⁺ kod skupine CP Ti 4 u četiri vrste otopina po periodima (prema Tablici 8.).

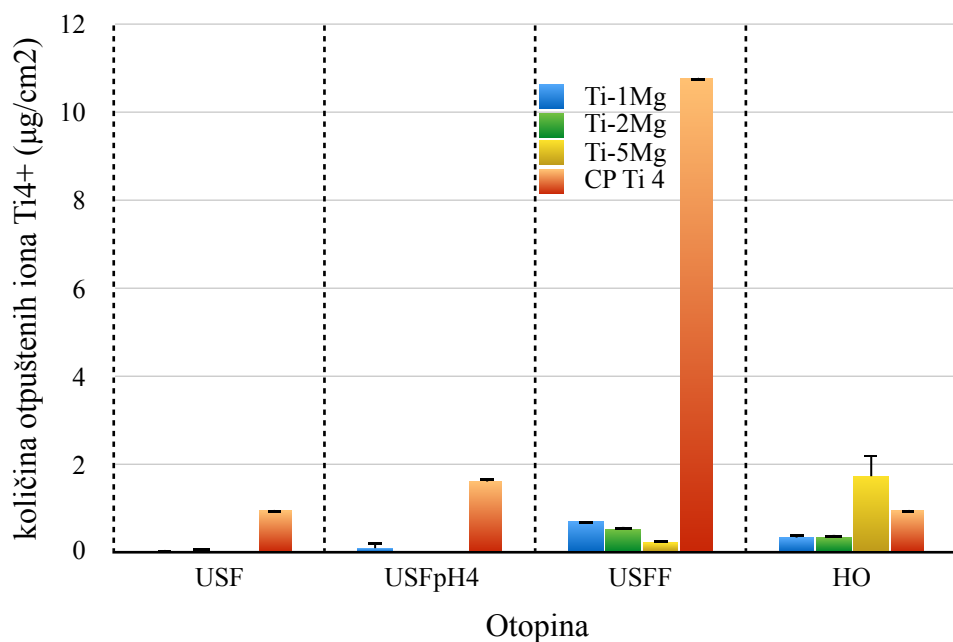
Slika 34. prikazuje usporedbu količine otpuštenih iona Ti⁴⁺ s površine uzoraka između ispitivane i kontrolne skupine, a Slika 35. usporedbu količine otpuštenih iona Mg²⁺ između uzoraka ispitivanih skupina. Usporedba količine otpuštenih iona Ti⁴⁺ s površine uzoraka ispitivane i kontrolne skupine između pojedinih otopina prikazuje Slika 36., a istovrsnu usporedbu količine otpuštenih iona Mg²⁺ prikazuje Slika 37.



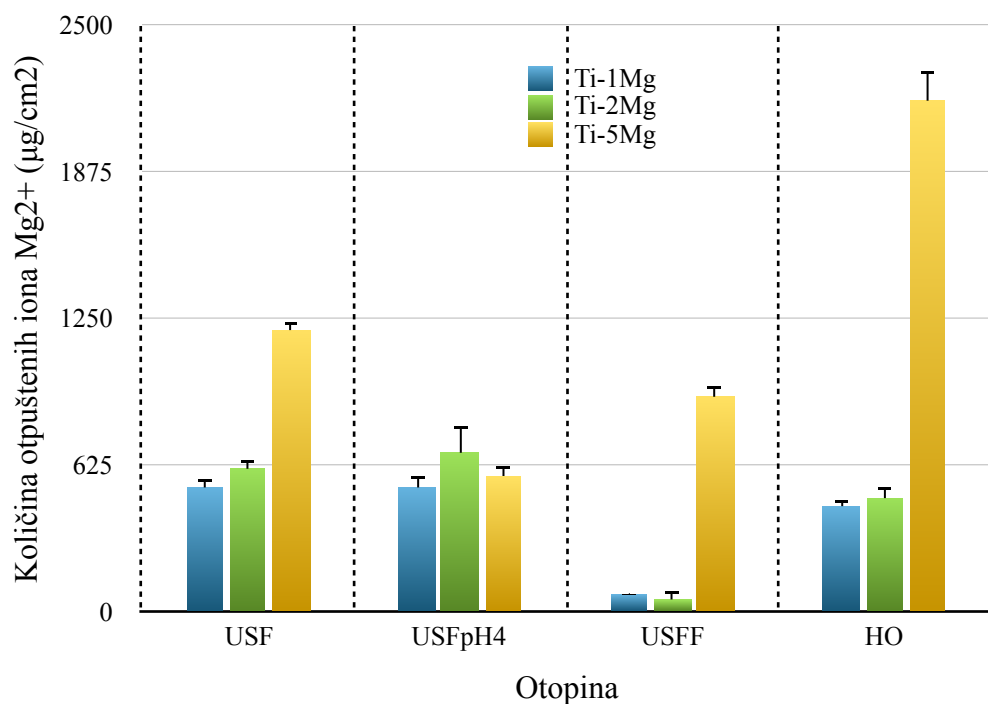
Slika 34. Količine otpuštenih iona Ti⁴⁺ nakon 42 dana uranjanja uspoređivane između uzoraka ispitivanih i kontrolne skupine.



Slika 35. Količine otpuštenih iona Mg²⁺ nakon 42 dana uranjanja uspoređivane između uzoraka ispitivane skupine.



Slika 36. Količine otpuštenih iona Ti⁴⁺ nakon 42 dana uranjanja uspoređivane između pojedinih otopina.



Slika 37. Količine otpuštenih iona Mg²⁺ nakon 42 dana uranjanja uspoređivane između pojedinih otopina.

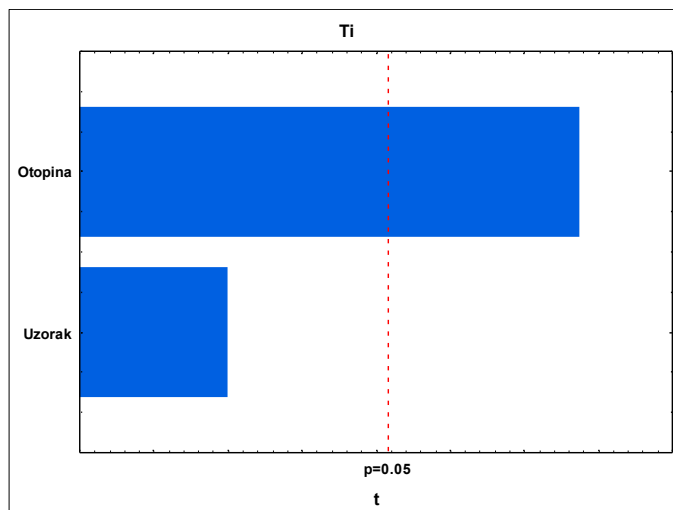
U Tablici 24. i 25. prikazani su rezultati multiple regresijske analize za testiranje korelacije između prediktorskih varijabli (vrsta uzorka, vrsta otopine). Rezultati generalnog regresijskog modela izraženi su u obliku Pareto dijagrama t - vrijednosti na Slici 38. i 39.

Tablica 24. Rezultati multiple regresijske analize za testiranje korelacije između prediktorskih varijabli i količine otpuštenih iona Ti^{4+} .

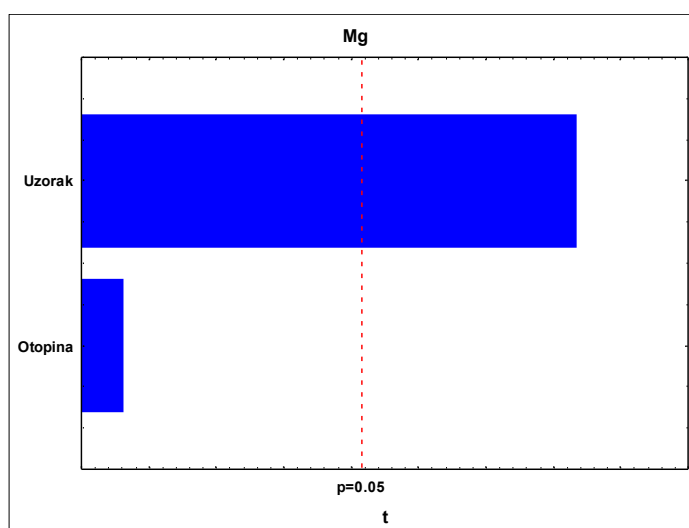
Prediktorska varijabla	statistički parametar	
	Beta	p
Otopina	0,58	0,002892*
Uzorak	0,17	0,331991
	R = 0,61; p < 0,007787*	
	* statistički značajna razlika uz p < 0,05	

Tablica 25. Rezultati multiple regresijske analize za testiranje korelacije između prediktorskih varijabli i količine otpuštenih iona Mg^{2+} .

Prediktorske varijable	statistički parametar	
	Beta	p
Otopina	0,05	0,762364
Uzorak	0,62	0,001440*
	R = 0,62; p < 0,00539*	
	* statistički značajna razlika uz p < 0,05	



Slika 38. Rezultati generalnog regresijskog modela izraženi u obliku Pareto dijagrama t - vrijednosti za testiranje korelacije između prediktorskih varijabli i količine otpuštenih iona Ti^{4+} .

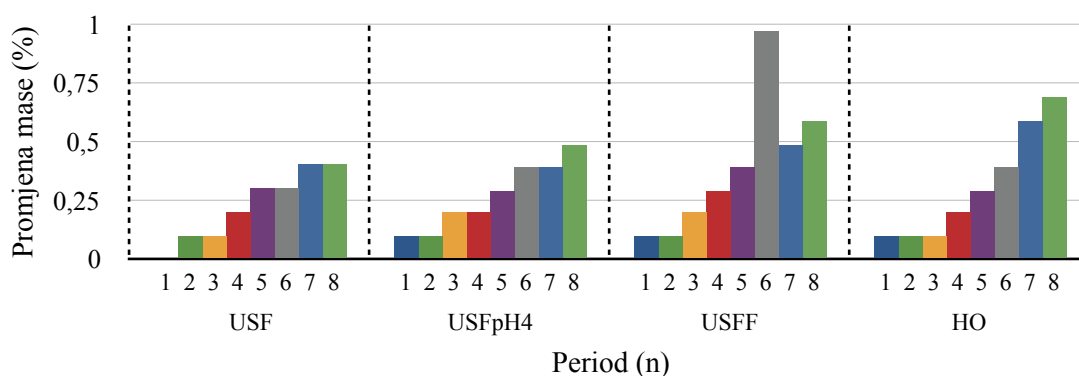


Slika 39. Rezultati generalnog regresijskog modela izraženi u obliku Pareto dijagrama t - vrijednosti za testiranje korelacije između prediktorskih varijabli i količine otpuštenih iona Mg^{2+} .

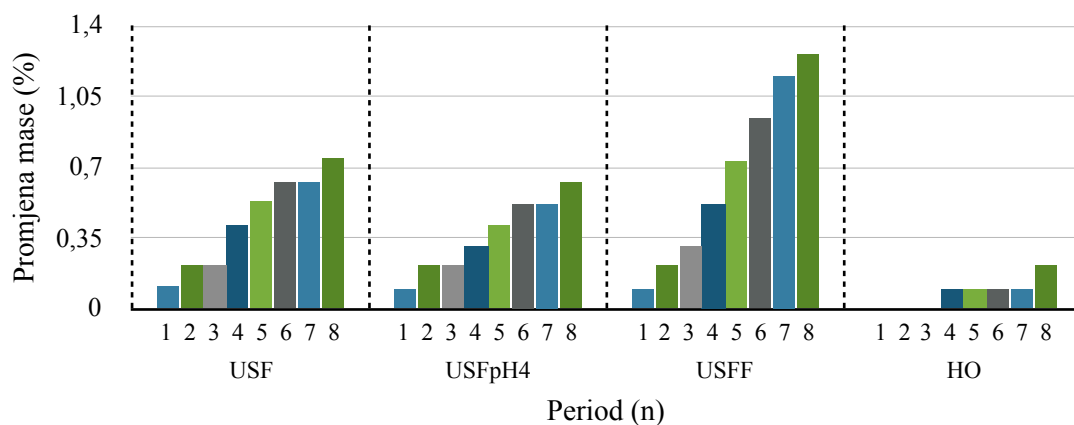
4.1.5. Rezultati gravimetrijske analize

Prosječni specifični prirast mase (SPM) uzorka različitih skupina u četiri vrste otopina kroz utvrđene periode (prema Tablici 8.) prikazan je na Slikama 40. - 42.

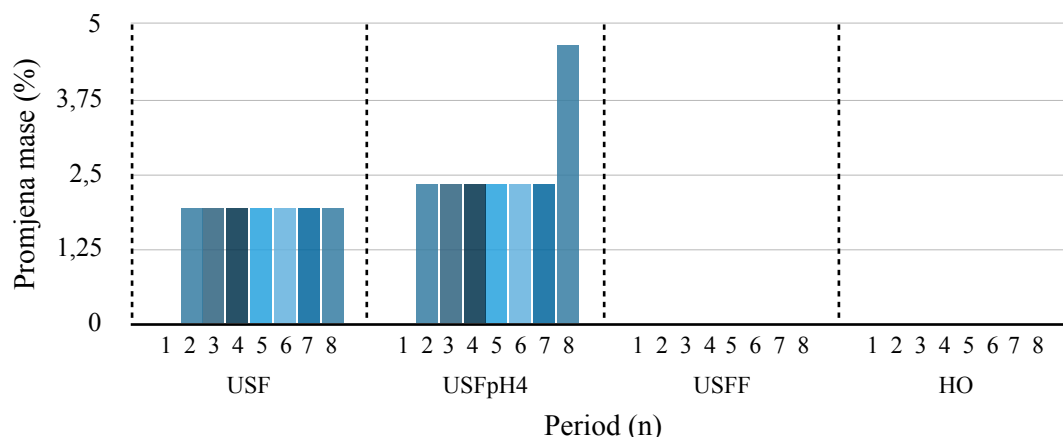
Kod kontrolne skupine CP Ti 4 nije bilo zabilježene promijene mase uzoraka u niti jednoj od ispitivanih otopina tijekom cijelog vremena provođenja testa.



Slika 40. Prosječni SPM uzoraka Ti-1Mg skupine u različitim vrstama otopina kroz periode uranjanja (prema Tablici 8.).



Slika 41. Prosječni SPM uzoraka Ti-2Mg skupine u različitim vrstama otopina kroz periode uranjanja (prema Tablici 8.).

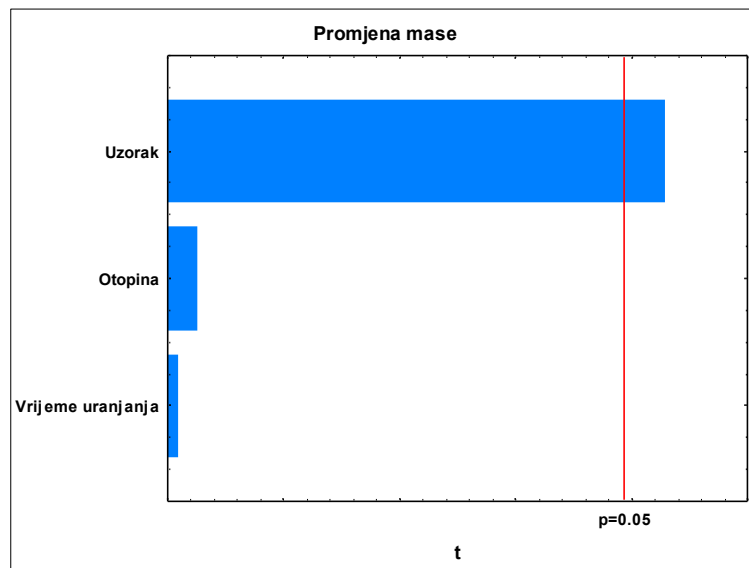


Slika 42. Prosječni SPM uzoraka Ti-5Mg skupine u različitim vrstama otopina kroz periode uranjanja (prema Tablici 8.).

U Tablici 26. prikazani su rezultati multiple regresijske analize za testiranje korelacije između prediktorskih varijabli (vrste uzorka, otopine i perioda uranjanja) i SPM-a. Rezultati generalnog regresijskog modela prikazani su u obliku Pareto-ovog dijagrama t - vrijednosti na Slici 43.

Tablica 26. Rezultati multiple regresijske analize za testiranje korelacije između prediktorskih varijabli i SPM.

Prediktorska varijabla	Statistički parametri	
	Beta	p
Otopina	0,007	0,903374
Period uranjanja	0,002	0,966994
Vrsta uzorka	0,486	0,033116*
	R = 0,50; p < 0,046108*	
	* statistički značajna razlika uz p < 0,05	



Slika 43. Pareto dijagram t - vrijednosti za testiranje korelacije između prediktorskih varijabli i SPM.

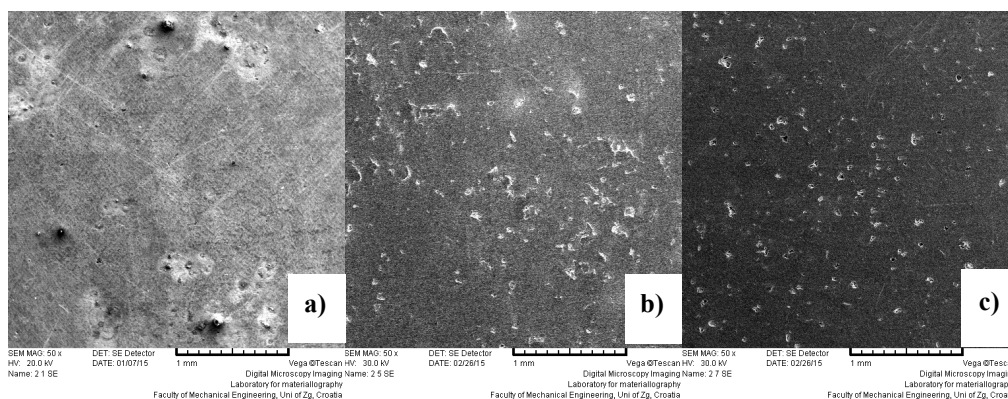
4.2. Rezultati testova za određivanje karakteristika površine

Rezultati SEM i EDS metoda prikazani su deskriptivno te u obliku SEM snimaka i EDS spektara. Pomoću XRD difraktograma prikazani su rezultati XRD analize. Rezultati profilometrijskog određivanja hrapavosti površine prikazani su numerički kao vrijednosti R_a i R_z parametra te su statistički obrađeni.

4.2.1. Rezultati skenirajuće elektronske mikroskopije i energijske disperzivne spektroskopije

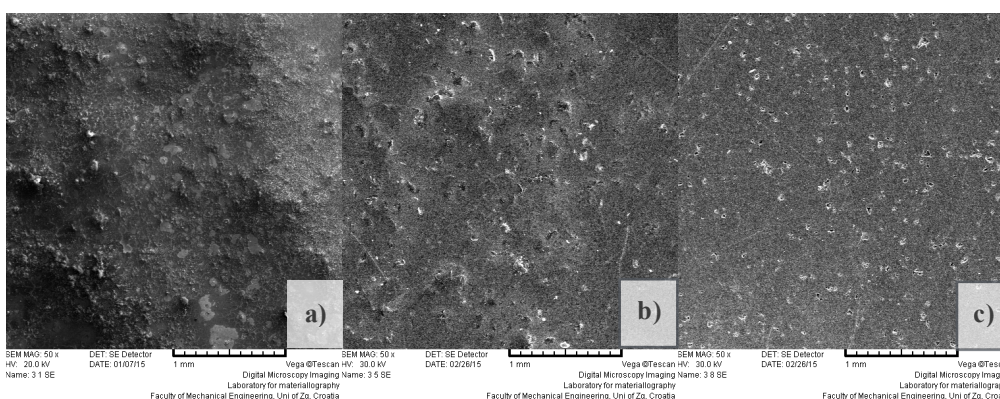
Na SEM snimkama površine Ti-1Mg uzorka prije uranjanja uočene su dvije sastavnice od kojih je jedna, prema učinjenoj EDS analizi, bila titanijeva, a druga je bila sastavljena od atoma magnezija. Površina Ti-2Mg uzorka okarakterizirana je SEM metodom također kao dvofazna, s više zastupljenom magnezijevom fazom nego kod uzorka Ti-1Mg. Kod uzorka Ti-5Mg, na SEM snimci, također su utvrđene dvije jasno odvojene faze različitog kemijskog sastava, titanijeva i magnezijeva. Skenirajuća elektronsko mikroskopska snimka površine uzorka CP Ti 4, učinjena prije statičkog testa uranjanja, pokazala je homogenu, jednofaznu, zrnatu strukturu površine, a EDS metodom utvrđena je prisutnost atoma titanija. SEM snimke i EDS spektri površina svih uzoraka prije i poslije provedenog statičkog testa uranjanja prikazani su u Pravitku.

Skenirajuće elektronsko mikroskopske snimke površina uzoraka Ti-1Mg skupine nakon provedenog STU u trajanju od 42 dana prikazane su na Slici 44. Utvrđeno je da je površina uzorka uronjenog u USF morfološki okarakterizirana s jamicama, uzdignućima i nepravilnim porama te jasno vidljivom pojavom površinskih precipitata (Slika 44a.). Na istovrsnom uzorku uronjenom u otopinu USFpH4 dominirala je porozna morfologija također s pojavom nataloženih faza. Površina Ti-1Mg uzorka u otopini USFF pokazala je poroznost s vidljivim područjima raslojavanja (Slika 44b.). Poroznost površine uz pojavu precipitata utvrđena je i kod Ti-1Mg uzorka iz otopine HO (Slika 44c.).



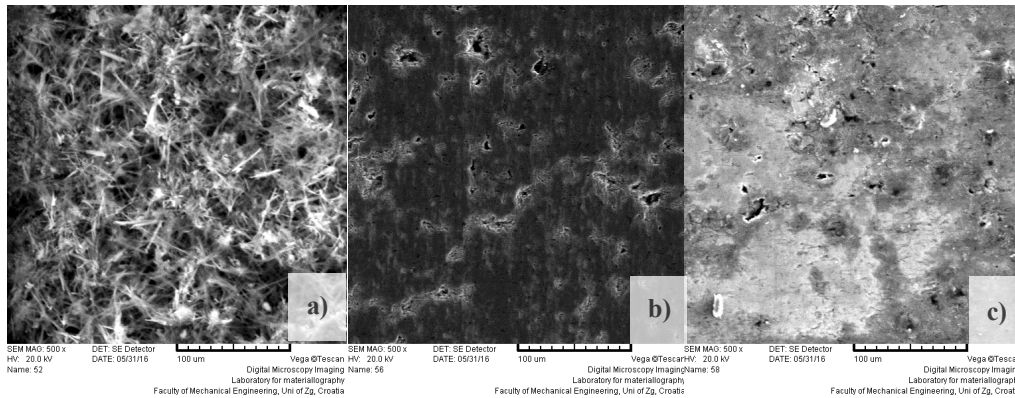
Slika 44. SEM snimke površine uzorka Ti-1Mg nakon 42 dana uranjanja u a) USF, b) USFF i c) HO.

Na površini Ti-2Mg uzorka iz otopine USF utvrđene su nepravilnosti u vidu uzdignuća i pukotina te jasno odvojena područja osnovnog materijala i površinskih precipitata (Slika 45a.) koja su pomoću BSE detektora upućivala na različiti kemijski sastav. Na površini uzorka koji je bio uronjen u otopinu UFF uočene su veće nepravilnosti u vidu pukotina, pora, delaminacija i uzdignuća (Slika 45b.). Površina Ti-2Mg uzorka uronjenog u HO otopinu pokazala je karakteristično poroznu strukturu s jasno različitim kemijskim sastavom pora (Slika 45c.).



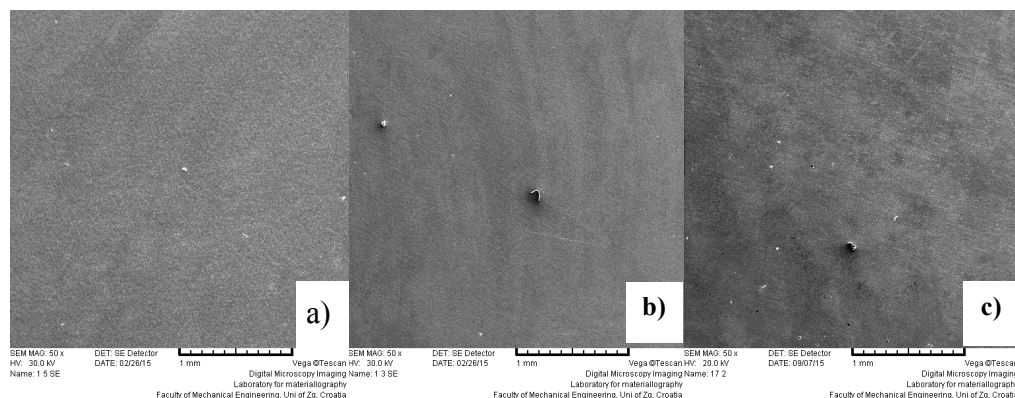
Slika 45. SEM snimke površine uzorka Ti-2Mg nakon 42 dana uranjanja u a) USF, b) USFF i c) HO.

Skenirajuća elektronsko mikroskopska snimka površine uzorka Ti-5Mg koji je bio uronjen u otopinu USF pokazuje prisutnost korozijskog precipitata (Slika 46a.). Površina Ti-5Mg uzorka uronjenog u otopinu USFF pokazuje na SEM snimci prisutnost nepravilnih pora i pukotine (Slika 46b.). Na površini istovrsnog uzorka uronjenog u otopinu HO utvrđena je prisutnost pora i korozijskih precipitata (Slika 46c.).



Slika 46. SEM snimke površina uzorka Ti-5Mg nakon 42 dana uranjanja u a) USF, b) USFF i c) HO.

Skenirajućom elektronsko mikroskopskom analizom površina uzorka CP Ti 4 nakon uranjanja u četiri vrste otopina uočene su morfološke promjene u vidu defekata veličine $\sim 0,1$ mm te nepravilnih pora veličine $< 40 \mu\text{m}$ (Slika 47.).



Slika 47. SEM snimke površine uzorka CP Ti 4 nakon 42 dana uranjanja u a) USF, b)USFF i c) HO.

U Tablici 27. prikazan je kemijski sastav precipitata na analiziranim površinama nakon 42 dana uranjanja na temelju učinjene EDS analize.

Tablica 27. Rezultati kvalitativne mikroanalize kemijskog sastava površine uzoraka metodom EDS nakon provedenog statičkog testa uranjanja u trajanju od 42 dana.

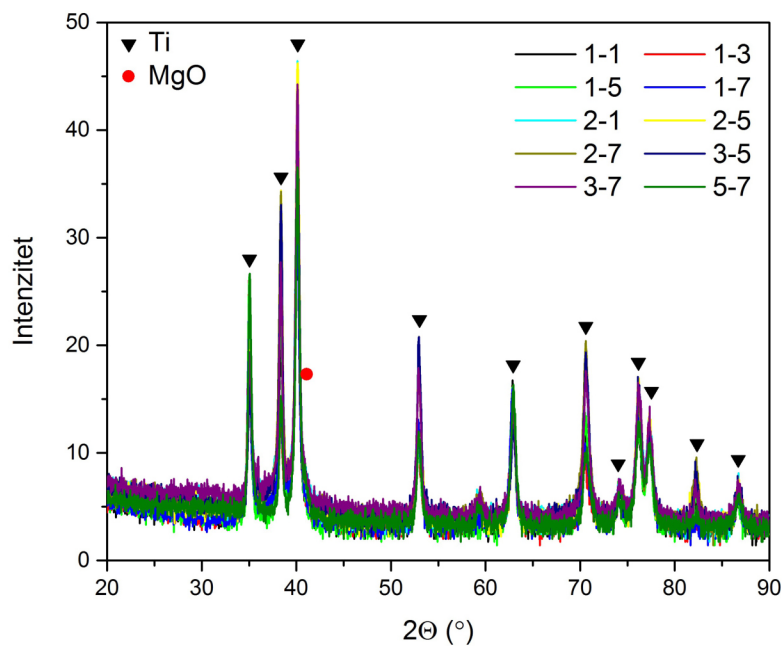
otopina/uzorak	Ti-1Mg	Ti-2Mg	Ti-5Mg	CP Ti 4
USF	Ca, P.	Ca, Mg, P, C, O.	Ca, P, O.	Na, K, Cl, O, C.
USFpH4	Ca, P.	Ca, P, C, O.	Ca, P, O.	C
USFF	Ca, Mg, Na, K, P, F, C, O.	Mg, Na, Ca, F, O.	-	Na, O, C.
HO	Ca, Mg, P, C, O.	Na, Ca, Mg, P, C, O.	-	-

4.2.2. Rezultati rendgenske difrakcijske analize

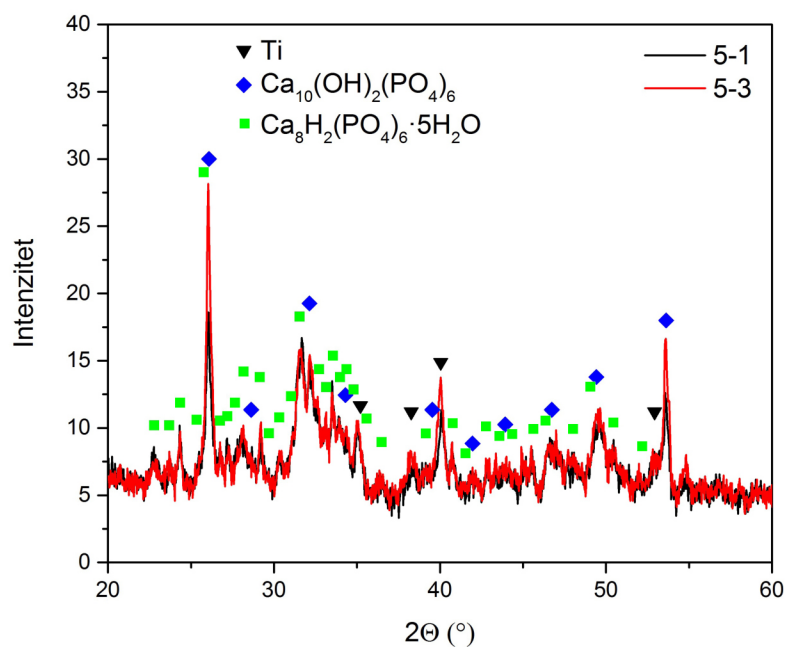
Na temelju rezultata XRD analize, na ispitivanim površinama nakon 42 dana provedenog STU pronađene su kristalne faze: α -titanija (Ti), magnezijeva - oksida (MgO), hidroksiapatita (HA - $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$), oktakalcijeva fosfata pentahidrata (OCP - $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) i kalcijeva fluorida (CaF_2). Ispitivani uzorci su pomoću metode PCA svrstani u četiri klastera prema utvrđenim kristalnim fazama koje su se formirale na ispitivanim površinama. U Tablici 28. prikazana je raspodjela uzoraka prema klasterima. Klasteri XRD difraktograma prikazani su na Slikama 48. - 51.

Tablica 28. Raspodjela ispitivanih uzoraka po klasterima prema karakterističnim kristalnim fazama utvrđenim XRD analizom. Uzorci su označeni prema Tablici 5.

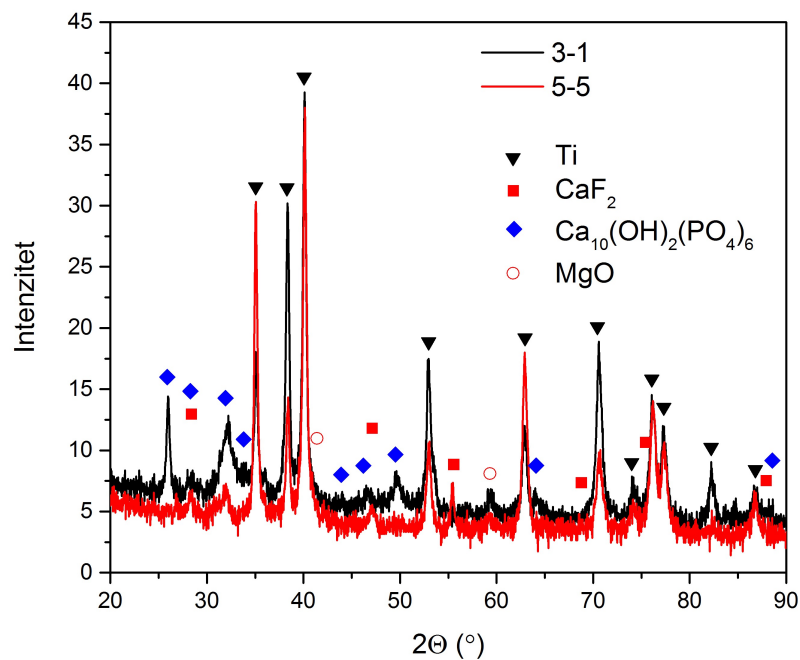
Klaster	Karakteristične kristalne faze	Uzorci
I	Ti, MgO.	1-1, 1-3, 1-5, 1-7, 2-1, 2-5, 2-7, 3-5, 3-7, 5-7.
II	Ti, HA, OCP	5-1, 5-3.
III	Ti, MgO, HA, CaF_2 .	3-1, 5-5.
IV	Ti, MgO, HA, OCP.	2-3, 3-3.
		HA = $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$; OCP = $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$



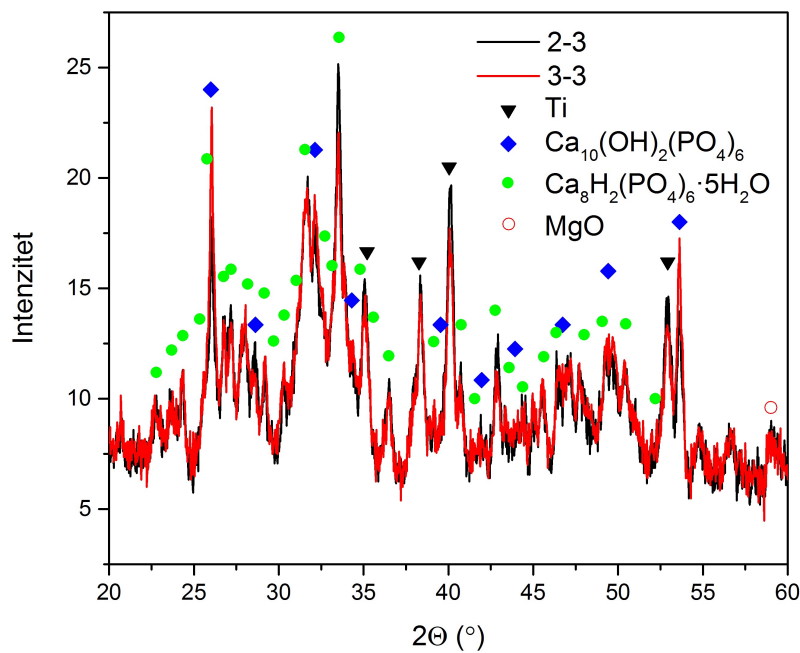
Slika 48. XRD-difraktogram klastera I. Na površinama ispitivanih uzoraka utvrđene su kristalne faze MgO i Ti. Uzorci su označeni prema Tablici 5.



Slika 49. XRD-difraktogram klastera II. Na površinama ispitivanih uzoraka utvrđene su kristalne faze HA, OCP i Ti. Uzorci su označeni prema Tablici 5.



Slika 50. XRD-difraktogram klastera III. Na površinama ispitivanih uzoraka pronađene su kristalne faze HA, MgO, CaF₂ i Ti. Uzorci su označeni prema Tablici 5.



Slika 51. XRD-difraktogram klastera IV. Na površinama uzoraka pronađene su kristalne faze HA, OCP, MgO i Ti. Uzorci su označeni prema Tablici 5.

4.2.3. Rezultati profilometrijskog određivanja hrapavosti površine

U Tablici 29. prikazane su srednje vrijednosti i standardne devijacije razlike izmjerenih parametara hrapavosti (R_a i R_z) ispitivanih površina prije i nakon 42 dana uranjanja u otopini USF. Tablica 30 prikazuje rezultate ANOVA za testiranje razlika između ispitivanih parametara, a u Tablici 31. i 32. su prikazani rezultati Newman - Keulsova testa.

Tablica 29. Srednje vrijednosti i standardne devijacije razlike izmjerenih R_a i R_z parametara prije i nakon 42 dana uranjanja ispitivanih uzoraka u otopini USF.

Uzorak	R_a (μm)		R_z (μm)	
	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
Ti-1Mg	0,04	0,03	0,02	0,03
Ti-2Mg	0,39	0,14	1,98	1,26
Ti-5Mg	-0,03	0,03	0,62	0,24
CP Ti 4	0,01	0,03	-0,07	0,10

Tablica 30. Analiza varijance za testiranje razlika R_a i R_z parametara između ispitivanih uzoraka nakon 42 dana uranjanja u otopinu USF.

Varijabla	SS učinak	df učinak	MS učinak	SS greška	df greška	MS greška	F	p
R_a	0,33	3	0,11	0,04	8	0,005	20,1 5	0,000437*
R_z	8,02	3	2,67	3,31	8	0,41	6,44	0,015799*
				* statistički značajna razlika uz $p < 0,05$				

Tablica 31 Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlika Ra parametra između ispitivanih uzoraka nakon 42 dana uranjanja u otopinu USF.

R _a	Ti-1Mg	Ti-2Mg	Ti-5Mg	CP Ti 4
Ti-1Mg		0,000587*	0,568768	0,678003
Ti-2Mg	0,000587*		0,000772*	0,000816*
Ti-5Mg	0,568768	0,000772*		0,553373
CP Ti 4	0,678003	0,000816*	0,553373	
* statistički značajna razlika uz p < 0,05				

Tablica 32. Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlika Rz parametra između ispitivanih uzoraka nakon 42 dana uranjanja u otopinu USF.

R _z	Ti-1Mg	Ti-2Mg	Ti-5Mg	CP Ti 4
Ti-1Mg		0,014613*	0,287610	0,864654
Ti-2Mg	0,014613*		0,032936*	0,019365*
Ti-5Mg	0,287610	0,03293*		0,426235
CP Ti 4	0,864654	0,019365*	0,426235	
* statistički značajna razlika uz p<0,05				

Tablica 33. prikazuje srednje vrijednosti i standardne devijacije razlike izmjerenih parametara hrapavosti (R_a i R_z) ispitivanih površina prije i nakon 42 dana uranjanja u otopini USFpH4. Rezultati ANOVA za testiranje razlika između ispitivanih parametara prikazani su u Tablici 34., a rezultati Newman - Keulsova testa u Tablici 35. i 36.

Tablica 33. Srednje vrijednosti i standardne devijacije razlike izmjerenih Ra i Rz parametara prije i nakon 42 dana uranjanja ispitivanih uzoraka u otopini USFpH4.

Uzorak	Ra (μm)		Rz (μm)	
	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
Ti-1Mg	0,10	0,04	1,61	0,49
Ti-2Mg	0,20	0,10	0,54	1,30
Ti-5Mg	0,09	0,04	1,57	0,73
CP Ti-4	0,01	0,01	-0,05	0,08

Tablica 34. Analiza varijance za testiranje razlika Ra i Rz parametara između ispitivanih uzoraka nakon 42 dana uranjanja u otopinu USFpH4.

Varijabla	SS učinak	df učinak	MS učinak	SS greška	df greška	MS greška	F	p
Ra	0,05	3	0,02	0,03	8	0,003	5,32	0,026144*
Rz	5,92	3	1,98	4,93	8	0,616	4,20	0,043476*
				* statistički značajna razlika uz $p < 0,05$				

Tablica 35. Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlika Ra parametra između ispitivanih uzoraka nakon 42 dana uranjanja u otopinu USFpH4.

Ra	Ti-1Mg	Ti-2Mg	Ti-5Mg	CP Ti 4
Ti-1Mg		0,079260	0,796881	0,182046
Ti-2Mg	0,079260		0,117169	0,017212*
Ti-5Mg	0,796881	0,117169		0,127131
CP Ti 4	0,182046	0,017212*	0,127131	
				* statistički značajna razlika uz $p < 0,05$

Tablica 36. Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlika Rz parametra između ispitivanih uzoraka nakon 42 dana uranjanja u otopinu USFpH4.

Rz	Ti-1Mg	Ti-2Mg	Ti-5Mg	CP Ti 4
Ti-1Mg		0,273375	0,949108	0,019705*
Ti-2Mg	0,273375		0,147247	0,048546*
Ti-5Mg	0,949108	0,147247		0,012568*
CP Ti 4	0,019705*	0,048546*	0,012568*	
* statistički značajna razlika uz $p < 0,05$				

U Tablici 37. prikazane su srednje vrijednosti i standardne devijacije za parametre R_a i R_z površina ispitivanih uzoraka nakon 42 dana uranjanja u otopinu USFF. Tablica 38. prikazuje rezultate ANOVA za testiranje razlika između ispitivanih parametara, a u Tablici 39. i 40. rezultati Newman - Keulsova testa.

Tablica 37. Srednje vrijednosti i standardne devijacije razlike izmjerenih R_a i R_z parametara prije i nakon 42 dana uranjanja ispitivanih uzoraka u otopini USFF.

Uzorak	R_a (μm)		R_z (μm)	
	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
Ti-1Mg	0,80	0,10	5,83	1,52
Ti-2Mg	1,04	0,37	5,52	0,54
Ti-5Mg	0,20	0,03	2,64	0,76
CP Ti 4	-0,06	0,01	-0,17	0,06

Tablica 38. Analiza varijance za testiranje razlika Ra i Rz parametara između ispitivanih uzoraka nakon 42 dana uranjanja u otopinu USFF.

Varijabla	SS efekt	df efekt	MS efekt	SS greška	df greška	MS greška	F	p
R _a	2,34	3	0,78	0,29	8	0,04	21,40	0,000354*
R _z	71,22	3	23,74	6,34	8	0,79	29,93	0,000107*
				* statistički značajna razlika uz p < 0,05				

Tablica 39. Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlika Ra parametra između ispitivanih uzoraka nakon 42 dana uranjanja u otopinu USFF.

R _a	Ti-1Mg	Ti-2Mg	Ti-5Mg	CP Ti 4
Ti-1Mg		0,175298	0,004992*	0,001550*
Ti-2Mg	0,175298		0,001901*	0,000681*
Ti-5Mg	0,004992*	0,001901*		0,131616
CP Ti 4	0,001550*	0,000681*	0,131616	
		* statistički značajna razlika uz p < 0,05		

Tablica 40. Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlika Rz parametra između ispitivanih uzoraka nakon 42 dana uranjanja u otopinu USFF.

R _z	Ti-1Mg	Ti-2Mg	Ti-5Mg	CP Ti 4
Ti-1Mg		0,684490	0,005960*	0,000354*
Ti-2Mg	0,684490		0,004309*	0,000306*
Ti-5Mg	0,005960*	0,004309*		0,004916*
CP Ti 4	0,000354*	0,000306*	0,004916*	
		* statistički značajna razlika uz p < 0,05		

Srednje vrijednosti i standardne devijacije za parametre R_a i R_z ispitivanih površina nakon 42 dana uranjanja u otopinu HO prikazane su u Tablici 41. Rezultate ANOVA prikazuje Tablica 42., a rezultate Newman - Keulsova testa za testiranje razlika između parova ispitivanih uzoraka prikazuje Tablica 43. i 44.

Tablica 41. Srednje vrijednosti i standardne devijacije razlike izmjerenih R_a i R_z parametara prije i nakon 42 dana uranjanja ispitivanih uzoraka u HO.

Uzorak	R_a (μm)		R_z (μm)	
	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
Ti-1Mg	0,16	0,04	3,49	1,03
Ti-2Mg	0,19	0,06	4,77	0,47
Ti-5Mg	0,08	0,03	0,89	0,56
CP Ti-4	0,01	0,01	0,08	0,04

Tablica 42. Analiza varijance za testiranje razlika R_a i R_z parametara između ispitivanih uzoraka nakon 42 dana uranjanja u HO.

Varijabla	SS učinak	df učinak	MS učinak	SS greška	df greška	MS greška	F	p
R_a	0,06	3	0,02	0,01	8	0,001	12,68	0,002078*
R_z	43,34	3	14,44	3,19	8	0,399	36,21	0,000053*
				* statistički značajna razlika uz $p < 0,05$				

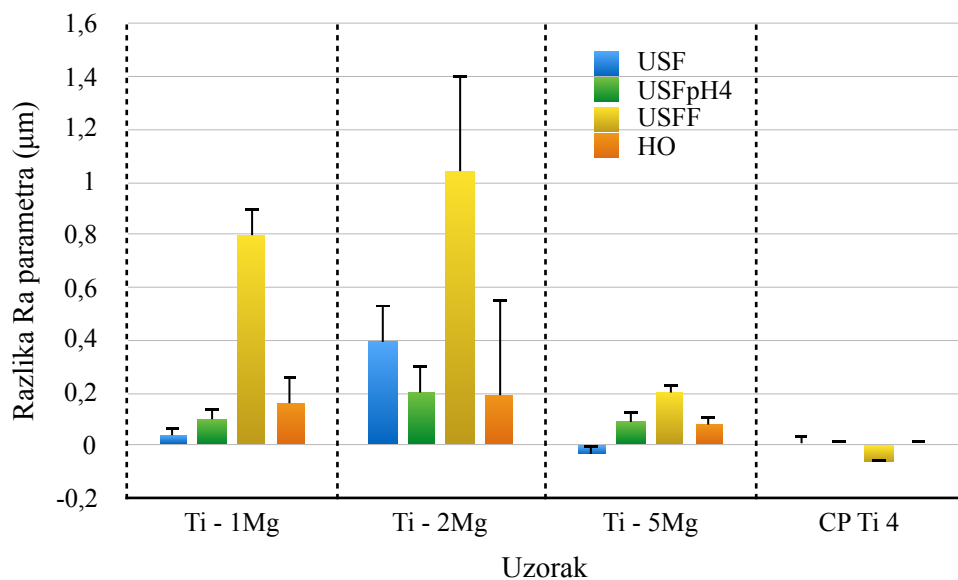
Tablica 43. Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlika Ra parametra između ispitivanih uzoraka nakon 42 dana uranjanja u HO.

R _a	Ti-1Mg	Ti-2Mg	Ti-5Mg	CP Ti 4
Ti-1Mg		0,412441	0,042933*	0,003918*
Ti-2Mg	0,412441		0,027456*	0,002460*
Ti-5Mg	0,042933*	0,027456*		0,049339*
CP Ti 4	0,003918*	0,002460*	0,049339*	
		* statistički značajna razlika uz p < 0,05		

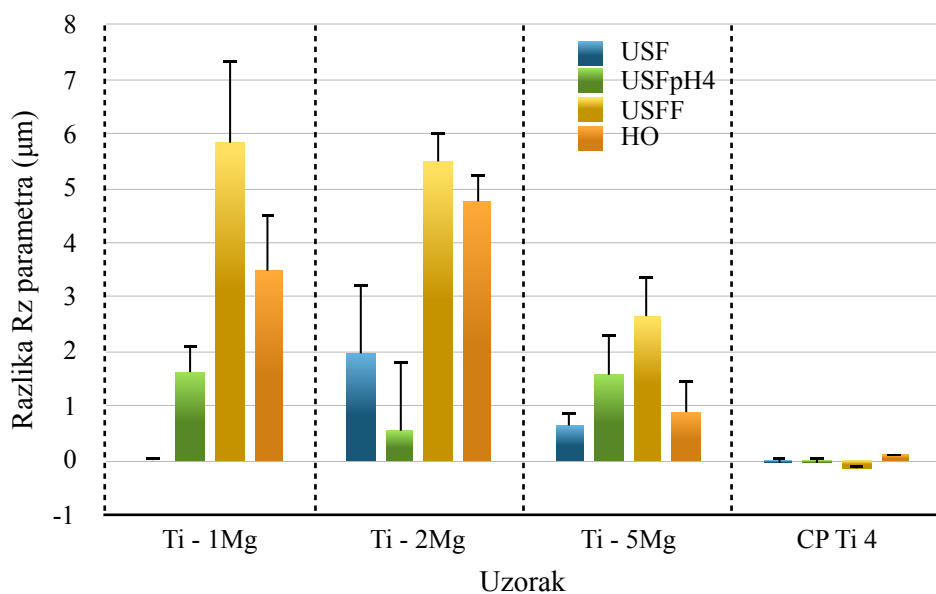
Tablica 44. Rezultati Newman-Keulsova testa za testiranje razlika Rz parametra između ispitivanih uzoraka nakon 42 dana uranjanja u HO.

R _z	Ti-1Mg	Ti-2Mg	Ti-5Mg	CP Ti 4
Ti-1Mg		0,038082*	0,001165*	0,000609*
Ti-2Mg	0,038082*		0,000346*	0,000279*
Ti-5Mg	0,001165*	0,000346*		0,153493
CP Ti 4	0,000609*	0,000279*	0,153493	
		* statistički značajna razlika uz p < 0,05		

Usporedba razlike izmjerenih R_a parametra prema vrsti uzorka prikazana je na Slici 52. Slika 53. prikazuje istovrsnu usporedbu za R_z parametar.

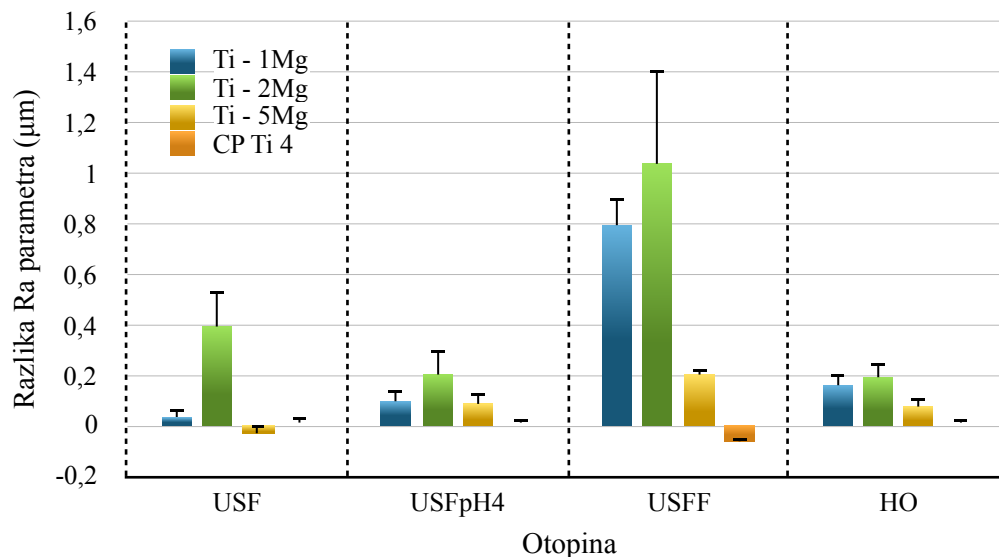


Slika 52. Usporedba razlike R_a parametra prije i poslije testa uranjanja prema vrsti uzorka.

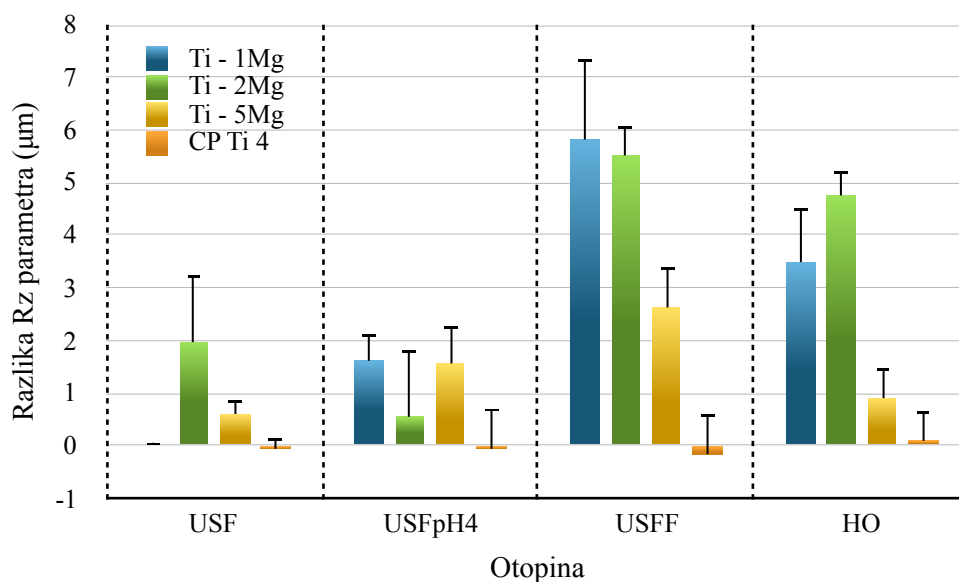


Slika 53. Usporedba razlike R_z parametra prije i poslije testa uranjanja prema vrsti uzorka.

Usporedba razlike R_a parametra prije i poslije STU prema vrsti otopine prikazana je na Slici 54., a razlike R_z parametra na Slici 55.



Slika 54. Usporedba razlike R_a parametra prije i poslije testa uranjanja prema vrsti otopine.



Slika 55. Usporedba razlike R_z parametra prije i poslije testa uranjanja prema vrsti otopine.

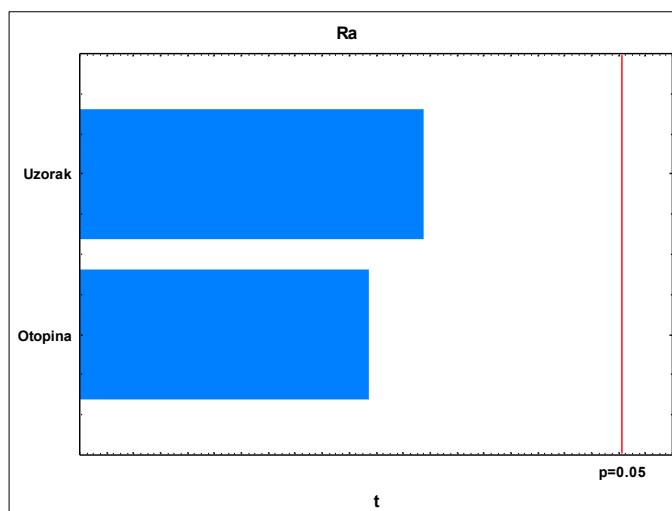
Rezultati multiple regresijske analize za testiranje korelacije između prediktorskih varijabli i parametra R_a su prikazani u Tablici 45., a za parametar R_z u Tablici 46. Na Slici 56. prikazan je Pareto-ov dijagram t vrijednosti za testiranje korelacije između prediktorskih varijabli i R_a parametra, a na Slici 57. Pareto-ov dijagram za R_z parametar.

Tablica 45. Rezultati multiple regresijske analize za testiranje korelacije između prediktorskih varijabli i parametra hrapavosti R_a .

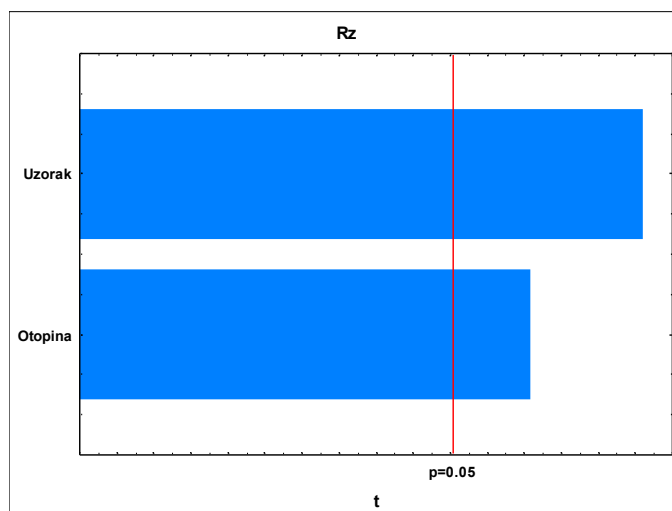
Prediktorska varijabla	Statistički parametar	
	Beta	p
Otopina	0,17	0,245027
Uzorak	0,17	0,249707
R = 0,23; p < 0,26359		

Tablica 46. Rezultati multiple regresijske analize za testiranje korelacije između prediktorskih varijabli i parametra hrapavosti R_z .

Prediktorska varijabla	Statistički parametar	
	Beta	p
Otopina	0,40	0,003456*
Uzorak	0,26	0,49200*
R = 0,51; p < 0,00261		
* statistički značajno različito uz p < 0,05		



Slika 56. Rezultati generalnog regresijskog modela izraženi kao Pareto dijagram t vrijednosti za testiranje korelacije između prediktorskih varijabli i parametra R_a .



Slika 57. Rezultati generalnog regresijskog modela izraženi kao Pareto dijagram t vrijednosti za testiranje korelacije između prediktorskih varijabli i parametra R_z .

5. RASPRAVA

5.1. Otpuštanje iona titanija i magnezija iz ispitivanih uzoraka

Biokorozivna svojstva površine dentalnih kovinskih materijala važna su odrednica u procjeni biokompatibilnosti biomaterijala (169). Cilj ovog rada bio je istražiti biokorozivno ponašanje inovativnog Ti-Mg kompozitnog materijala i usporediti ga s ponašanjem CP Ti 4 materijala u korozivnim uvjetima koje simuliraju uvjete u usnoj šupljini i alveolnoj kosti. Središnji dio ovog istraživanja čini kvalitativna i kvantitativna analiza te usporedba biokorozivnog ponašanja eksperimentalnog materijala s materijalom iz kontrolne skupine kroz kontinuum otpuštanja iona Ti^{4+} i Mg^{2+} tijekom statičkog testa uranjanja.

U usporedbi s količinom otpuštenih iona Ti^{4+} iz kontrolne skupine, kod Ti-1Mg skupine je utvrđena za 47 puta manja količina otpuštenih iona u otopini USF, za 18 puta manja količina u otopini USFpH4, za 16 puta manja u otopini USFF te za 3 puta manja u otopini HO (Tablice 9. i 21.). Rezultati količine otpuštenih iona Ti^{4+} i Mg^{2+} iz uzorka Ti-1Mg pokazali su statistički značajnu razliku u količini otpuštenih iona obje vrste u sve četiri vrste otopina (Tablica 10.). Rezultati Newman-Keulsova testa potvrdili su statistički značajnu razliku u količini otpuštenih iona Ti^{4+} između USFF i ostalih triju ispitivanih otopina (Tablica 11.). Nije bilo statistički značajne razlike u količini otpuštenih iona Ti^{4+} između otopina HO, USF i USFpH4. Za količinu otpuštenih iona Mg^{2+} , statistički značajna razlika utvrđena je samo između otopine USFF i ostalih triju vrsta otopina (Tablica 12.).

Za Ti-2Mg skupinu utvrđena je statistički značajna razlika u količini otpuštenih iona Ti^{4+} i Mg^{2+} između svih vrsta otopina za oba navedena iona (Tablica 14.). U usporedbi s kontrolnom skupinom, otpuštanje iona Ti^{4+} bilo je za 31 puta (u otopini USF) do 2 puta (u otopini USFpH4) manje (Tablice 13. i 21.). Rezultati Newman-Keulsova testa za količinu otpuštenih iona Ti^{4+} pokazuju statistički značajnu razliku između otopina USF i USFpH4 te ostale dvije vrste otopine (Tablica 15.). Za količinu otpuštenih iona Mg^{2+} , USFF je pokazala statistički značajnu razliku u odnosu na rezultate dobivene od preostalih triju vrsta otopina, kao što je vidljivo iz Tablice 16.

Iz rezultata količine otpuštenih iona Ti^{4+} i Mg^{2+} kod Ti-5Mg skupine, utvrđena je statistički značajna razlika između svih ispitivanih otopina za obje vrste iona (Tablica 18.). Prema Newman-Keulsovom testu za testiranje razlika potvrđena je statistički značajna razlika između količine otpuštenih iona Ti^{4+} u otopini HO i ostalih triju vrsta otopina (Tablica 19.).

Za količinu otpuštenih iona Mg^{2+} , statistički značajna razlika utvrđena je pak između svih vrsta otopina (Tablica 20.). Uspoređujući količinu otpuštenih iona Ti^{4+} između ove skupine i kontrolne skupine, utvrđena je znatno manja količina otpuštenih iona (za čak 54 puta u otopini USFF do 1 puta u otopini USF) s iznimkom u otopini HO gdje je utvrđena dvostruko veća količina otpuštenih iona kod Ti-5Mg skupine nego kod kontrolne skupine (Tablice 17. i 21.).

Kod Ti-1Mg skupine utvrđena je sporija korozija u usporedbi s kontrolnom skupinom. Uočeno je da su uzorci uronjeni u otopinu USFF pokazivali bržu koroziju na početku testa, dok oni uronjeni u otopinu USFpH4 nešto veću na kraju testa (Slika 22.). Najbrža korozija iona Ti^{4+} kod Ti-1Mg ($0,507 \mu g/cm^2d$ u 1. periodu u otopini USFF) bila je za skoro 6 puta sporija nego najbrža korozija u kontrolnoj skupini (Slike 22. i 33.). Kinetičko promatranje kod Ti-2Mg skupine pokazuje vrlo sličnu brzinu korozije iona Ti^{4+} kao i kod Ti-1Mg skupine. I kod ove skupine, na početku testa najveći korozivni učinak pokazala je otopina USFF kada je brzina korozije za ione Ti^{4+} iznosila $0,450 \mu g/cm^2d$ (Slika 26.). Kod ove skupine je najbrža korozija iona Ti^{4+} bila za više od 6,5 puta sporija od najbrže korozije iona Ti^{4+} kod kontrolne skupine (Slike 26. i 33.). Ostale vrste otopina su na početku testa pokazale veći korozivni učinak na početku testiranja da bi kroz sljedeće periode testa, uzorak Ti-2Mg pokazao visoku otpornost na koroziju promatrajući otpuštanje iona Ti^{4+} . U kinetičkom promatranju brzine korozije iona Ti^{4+} , kod skupine Ti-5Mg utvrđena je slabija korozijska otpornost u odnosu na ostale ispitivane skupine u otopini HO. Naime, u posljednjem periodu testa izmjerena je najveća brzina korozije iona Ti^{4+} od $0,165 \mu g/cm^2d$ (Slika 30.). Također, intenzivnije korozijsko zbivanje primijećeno je u otopini USFF uz najveću brzinu korozije iona Ti^{4+} u 1. periodu testa ($0,101 \mu g/cm^2d$). U usporedbi s kontrolnom skupinom, najveća brzina otpuštanja iona Ti^{4+} bila je za oko 18 puta sporija. U otopinama USF i USFpH4, Ti-5Mg skupina je pokazala izvrsnu otpornost na koroziju iona Ti^{4+} kroz sve periode. U kinetičkom razmatranju kontrolne skupine razvidno da je korozija CP Ti 4 bila najbrža u prvih 24 h testa uranjanja. Promatranjem kinetike korozije iona Ti^{4+} utvrđeno je da je brzina korozije kod kontrolne skupine već nakon 24 h pala s prosječne vrijednosti od $0,25 \mu g/cm^2d$ na vrijednost od oko navedenih $1 ng/cm^2d$ i zadržala tu razinu tijekom cijelog perioda testiranja (Slika 33.).

Uspoređujući količinu otpuštenih iona Ti^{4+} između ispitivanih Ti-Mg skupina i kontrolne CP Ti 4 skupine utvrđena je značajno manja količina otpuštenih iona s iznimkom Ti-5Mg skupine

gdje je u otopini HO količina otpuštenih iona Ti^{4+} bila skoro 2 puta veća nego u istoj otopini kod kontrolne skupine (Slika 34.). Iz rezultata dobivenih na ispitivanim uzorcima može se diskutirati kao o boljim i prihvatljivijim u usporedbi s kontrolnom skupinom CP Ti 4. Referirajući se na podatak iz literature koji definira koncentraciju iona $Ti < 20 \mu\text{g/mL}$ kao biološki prihvatljivu (148), utvrđena količina iona Ti^{4+} tijekom STU sugerira zaključak da je količina eluiranih iona Ti^{4+} iz eksperimentalnih površina tijekom 42 dana premala da bi izazvala nepovoljan biološki učinak. U skladu s tim, Dimić i suradnici su utvrdili količinu otpuštenih iona Ti^{4+} iz čistog titanija u umjetnoj slini nakon 7 dana koja je bila ispod $0,5 \mu\text{g/cm}^2$ (170). Također, Okazaki i suradnici su utvrdili još manju količinu otpuštenih iona Ti^{4+} u istim u uvjetima te je ona iznosila oko $0,1 \mu\text{g/cm}^2$ (136).

Literaturni podatci govore da koncentracije iona Ti^{4+} od $1 \mu\text{g/mL}$ do $9 \mu\text{g/mL}$ neznatno utječu na vitalitet osteoblasta, osteoklasta i epitelnih stanica gingive, dok koncentracije preko $20 \mu\text{g/mL}$ imaju značajan učinak (148) te da su otpušteni Ti^{4+} odgovorni za niz nepovoljnih bioloških učinaka (147, 149, 171-174). Ako je prosječna eksponirana površina dentalnog implantata između $1,5 \text{ cm}^2$ i 3 cm^2 , onda iz rezultata ovog istraživanja (Tablica 21.) možemo pretpostaviti da bi se u 42 dana iz dentalnog implantata, načinjenog od CP Ti 4, prosječne veličine površine, moglo izlučiti $1,4 \mu\text{g} - 2,8 \mu\text{g}$ Ti^{4+} u slinu ili ekstracelularnu tekućinu alveolne kosti. S obzirom na protok i perfuziju navedenih tjelesnih tekućina u tom periodu, koncentracija bi bila znatno manja.

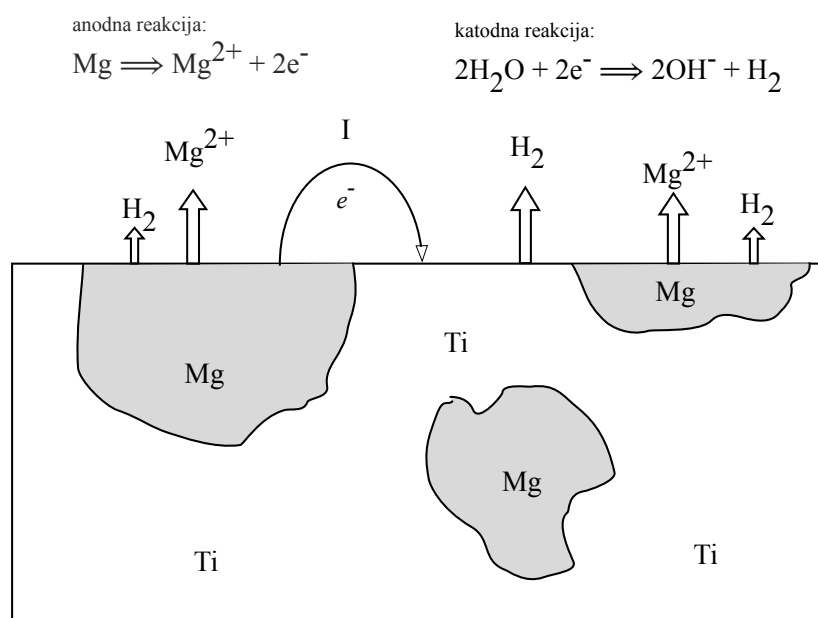
Statističkom analizom utvrđeno je da na količinu otpuštenih iona Ti^{4+} značajno utječe vrsta otopine dok struktura i sastav materijala nemaju statistički značajnog učinka (Slika 38.). Najznačajniji učinak na eluciju iona Ti^{4+} je pokazala otopina USFF gdje je količina otpuštenih iona Ti^{4+} bila veća između kontrolne i ispitivanih skupina za 16 do 50 puta (Slika 36.). Ovakav rezultat u skladu je s poznatim korozivnim učinkom fluora na titanijske površine (129, 130). Nakagawa i suradnici su zaključili da površine Ti i njegovih legura ne mogu izdržati koncentraciju NaF koja prelazi 0,5% što je oko 2230 ppm F, a da se ne pokrene korozijski proces (175). Slične rezultate dobili su Souza i suradnici u svom istraživanju na čistom Ti gdje su koristili koncentracije od 20 ppm F - 12300 ppm F (131). U ovom radu korištena je koncentracija od 0,2 % NaF u otopini umjetne sline što odgovara koncentraciji od 906 ppm F. Količina otpuštenih iona Ti^{4+} nakon 42 dana uranjanja u otopini USFF je bila oko 11 puta veća nego u otopinama USF i HO (Slika 32.). Brzina korozijske CP Ti 4 u USFF (Slika

33.) bila je najveća u prva 4 dana testa uranjanja i to tako da je najbrža korozija zabilježena 4. dana, a zatim je počela padati te je dosegla razinu brzine korozije CP Ti 4 uzorka u otopinama USF i HO. Za pretpostaviti je da pH otopine USFF, koji je bio iznad 5,0, pridonio brzom stabilizaciji degradacije i usporavanju korozijskog procesa. Naime, za pojavu korozije titanija u otopinama koje sadrže F^- odgovorna je i pH vrijednost otopine, odnosno, koncentracija fluorovodične kiseline (HF). Ona nastaje tako da se H^+ vežu za F^- nastale disocijacijom NaF. Tako se, na primjer, lokalizirani oblik korozije titanija može pojaviti pri koncentraciji 452,5 ppm F^- uz pH 4,2 ili pri koncentraciji od 227 ppm F^- uz pH 3,8 (176). Topografski, pojava jamičaste korozije (*pitting*) vidljiva je na SEM snimci uzorka CP Ti 4 uronjenog u otopinu USFF (Slika 47b.). Otopina USFpH4 također je pokazala značajan učinak na brzinu korozije iona Ti^{4+} i to najznačajniji na kontrolnu skupinu. Mabileau i suradnici su dobili slične rezultate u svojoj studiji kada su ispitivali utjecaj F^- iona, vodikova peroksida i mliječne kiseline na titanijsku površinu (177). U posljednje vrijeme nastoji se iskoristiti opisan korozivni učinak F^- na titanijevu površinu u pozitivnom smislu kako bi se poboljšala bioaktivna svojstva površina. Tako su Li i suradnici utvrdili da se mijenja sposobnost prijanjanja osteoblasta na tako modificiranim površinama (178).

Osim iona F^- , koroziju ubrzava i pH medija. Koike i suradnici su istraživali korozijsko ponašanje čistog titanija u otopinama mliječne i mravlje kiseline u rasponu pH vrijednosti od 1,0 do 8,5 i pratili otpuštanje iona Ti^{4+} , promjenu mase uzorka i makroskopski izgled. Ono što su zaključili je da korozija titanija usporava s porastom pH vrijednosti (179). Ovo istraživanje, također, pokazuje da ukupna količina otpuštenih iona Ti^{4+} u otopini koja je bila kiselija od umjetne sline (USFpH4) statistički značajno veća u odnosu na USF, no ipak znatno manja nego kod uzoraka koji su bili uronjeni u otopinu USFF (Slika 36.). Iako se u ovom istraživanju nije ispitivalo korozijsko ponašanje istovremeno u prisutnosti iona F^- i nižeg pH, može se zaključiti da ovakvi uvjeti istovremeno uvelike ubrzavaju koroziju CP Ti 4 što potvrđuju i rezultati dosadašnjih istraživanja (120, 180). U takvim uvjetima otpušteni ioni Ti^{4+} mogu biti odgovorni za nastanak nepovoljnog biološkog učinka u vidu periimplantatnog mukozitisa koji može progredirati u periimplantitis i posljedičnu resorpciju alveolne kosti (181). Otopina HO pokazala je pak izrazito korozivan učinak na površinu uzorka Ti-5Mg skupine (Slika 34. i 36.). Ovakav učinak može se objasniti pojavom intenzivnog i brzog korozijskog zbivanja, naročito u kasnom periodu testiranja (Slika 30.) te utjecajem visokog

masenog udjela Mg komponente čija brza korozija (Slika 31) može narušiti integritet pasivnog zaštitnog sloja titanijske površine. Brzina korozije Mg^{2+} iona je, naime, u ovoj skupini bila za oko 2 - 3 puta brža nego kod ostale dvije ispitivane skupine (Slika 23. 27. i 31.).

U usporedbi s kontrolnim i Ti-5Mg skupinom, ispitivane Ti-1Mg i Ti-2Mg skupine pokazuju značajno manje otpuštanje iona Ti^{4+} s površine uzoraka (Slika 34.). Mikrogalvanski učinak značajan je čimbenik ovakvog korozijskog ponašanja jer je Ti-Mg kompozit sačinjen od dvije, međusobno netopive faze, titanijske i magnezijske koje imaju različite elektrodne potencijale. Takav sustav neminovno dovodi do pojave i mikro-galvanskih mjesta na inter-metalnim granicama. To je u skladu s rezultatima Hihare i suradnika koji su u svojoj studiji o kovinsko matričnim kompozitima utvrdili da galvanska korozija između osnovnog materijala i punila “upravlja” korozijskim procesom (182). Candan i suradnici su utvrdili da dodavanjem titanijske komponente magnezijevoj leguri dolazi do povećanja korozijske otpornosti legure za 45 puta (183). Shema mikrogalvanske korozije inovativnog Ti-Mg kompozita prikazana je na Slici 58.



Slika 58. Shema mikrogalvanske korozije na površini eksperimentalnog Ti-Mg kompozita tijekom statičkog testa uranjanja.

Za razliku od titanijeve komponente, magnezijeva sastavnica Ti-Mg kompozita pokazala je puno bržu koroziju. Najveća brzina korozije za ione Mg^{2+} kod Ti-1Mg skupine bila je u 1. periodu testa u otopini USFpH4 te je tada iznosila $34,019 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$. (Slika 23.). U sve četiri otopine uzorak Ti-1Mg pokazuje najmanju brzinu otpuštanja iona Mg^{2+} na početku 3. perioda (7. dan provođenja testa). Kada gledamo kinetiku otpuštanja iona Mg^{2+} , Ti-2Mg skupina je pokazala vrlo slično korozijsko ponašanje kao i Ti-1Mg skupina. Najbrža korozija bila je u otopini USFpH4 u 1. periodu te je brzina korozije iznosila $32,571 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$ (Slika 27.). Promatrajući brzinu korozije iona Mg^{2+} u navedenoj skupini, utvrđena je sličnost s ostalim skupinama u brzini korozije na početku testa. I ovdje, uzorci su najbrže korodirali u otopina USFpH4 i USF s početnom stopom korozije od $196,185 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$, odnosno $234,987 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$. No za razliku od ostalih uzoraka, brzina otpuštanja iona Mg^{2+} kod Ti-5Mg skupine bila je u kasnijim periodima testa ujednačene brzine što je vidljivo na Slici 31.

Kada se uspoređuje količina otpuštenih iona Mg^{2+} , primjećuje se da je ukupna količina otpuštenih iona Mg bila veća iz materijala s većim masenim udjelom Mg (Slika 35.), a statistički značajan učinak na količinu eluiranih Mg^{2+} iona ima vrsta ispitivanog materijala, točnije, maseni udio magnezijeve komponente u titanijevoj osnovi (Slika 39.). Ovakav rezultat u skladu je s istraživanjem Esena i suradnika koji zaključuju da je volumni omjer Ti / Mg u kompozitnom materijalu najvažniji parametar u kreiranju biodegradabilnog Ti / Mg kompozita s prihvatljivom stopom korozije (184).

Količina otpuštenih iona Mg^{2+} i brzina njihove elucije važni su parametri u procjeni biokompatibilnosti magnezijevih biomaterijala. Naime, kako je u uvodnom dijelu ovog rada spomenuto, magnezijeva korozija rezultira stvaranjem hidroksidnih (OH^-) iona (porastom pH vrijednosti medija) i plinovitog H_2 prema jednadžbama 14. i 15. Znanstvena saznanja korisna za procjenu biodegradacije magnezija i zaključivanje na temelju rezultata ovog istraživanja su (185, 186):

- a) stvaranje plinovitog H_2 ometajući je čimbenik u biomedicinskoj primjeni magnezija;
- b) za 1 mL stvorenog H_2 potrebno je 1 mg otpuštenog Mg;
- c) mjerenje brzine biodegradacije Mg ekvivalentno je mjerenju evolucije plinovitog H_2 ;
- d) 1 mol stvorenog H_2 odgovara 2 mol nastalih iona OH^- ;

- e) brzina nastanka plinovitog H_2 do određene mjere može biti pokazatelj stupnja alkalizacije okolnog medija;
- f) magnezij je skloniji lokalnoj koroziji i H_2 se obično stvara na mjestima lokalne korozije.

Na temelju *in vivo* istraživanja dokazano je da se, u biološkom sustavu, negativni učinak nastalog H_2 može do određene mjere tolerirati otplavlivanjem i resorpcijom (187). Song je u svom istraživanju utvrdio prag za brzinu stvaranja plinovitog H_2 od 0,01 mL/cm²d kao biološki prihvatljivu (154). Sukladno tome, iz rezultata ovog istraživanja utvrđeno je da su prihvatljivu brzinu biokorozije iona Mg^{2+} imali jedino uzorci Ti-1Mg i Ti-2Mg u otopini USFF čiji je prosječni iznos bio 1,833 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$, odnosno, 1,228 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{d}$ (Slika 23. i 27.). Brzina otpuštanja Mg^{2+} iona u otopini HO, za eksperimentalne materijale Ti-1Mg i Ti-2Mg neznatno je veća od biološki prihvatljive, dok je ona za Ti-5Mg materijal daleko iznad te granice (Slika 31). Kraemer i suradnici su u svom istraživanju korozijskog ponašanja magnezijeve legure u otopini HO utvrdili brzinu korozije Mg koja je bila za oko 5 - 10 puta brža nego kod Ti-1Mg i Ti-2Mg skupine u istoj vrsti otopine (87).

Iako utjecaj otopine nije pokazao statističku značajnost (Slika 39.), iz rezultata prikazanih na Slici 37. može se vidjeti da je količina otpuštenih iona Mg^{2+} značajno manja u otopini USFF kod Ti-1Mg i Ti-2Mg skupine što je i utvrđeno Newman - Keulsovim testom (Tablice 12. i 16.). Slične rezultate o utjecaju otopina simuliranih tjelesnih tekućina, točnije njihovog kemijskog sastava, dobili su Ma i suradnici (188). Inhibitorni učinak F⁻ na koroziju magnezija razjasnili su Song i suradnici u svom preglednom radu naglašavajući stvaranje netopljivog MgF_2 na površini ključnim procesom u inhibiciji otpuštanja Mg^{2+} iona (189). Rezultati usporedbe Mg korozije između pojedinih otopina (Slika 37.) pokazuju da nije bilo značajne razlike u količini otpuštenih iona Mg^{2+} između kiselog medija (USFpH4) i neutralnih otopina USF i HO (Tablice 12. i 16.). Vjerojatno je da struktura i kemizam nataloženih produkata korozije štite Mg komponentu unutar Ti-Mg kompozita od ubrzane korozije pri nižim pH vrijednostima. Istovremeno, niska pH vrijednost otopine brzo je neutralizirana procesom alkalizacije koji usporava korozijski proces. Poznato je da je magnezij vrlo otporan na koroziju ako pH prijeđe vrijednost od 10,5 što odgovara pH vrijednosti zasićenog $Mg(OH)_2$ (189).

Međutim, količina otpuštenih iona Mg^{2+} iz uzorka Ti-5Mg skupine bila je izrazito velika u otopini HO (Tablica 17.). Ovakav rezultata može se tumačiti kao posljedica izrazitog korozivnog učinka iona Cl^- na magnezijeve biomaterijale. Kako su kloridni ioni u najvećoj koncentraciji bili prisutni u otopini HO (Tablica 7.) te kako je Ti-5Mg skupina sadržavala najveći maseni udio Mg od svih ispitivanih skupina, tako je utjecaj Cl^- iona u tom slučaju bio najizraženiji. Ovakav rezultat u skladu je s istraživanjem Songa i suradnika u kojem je utvrđeno da nativan $MgO/Mg(OH)_2$ površinski sloj biva razoren i ne može pružiti dovoljnu zaštitu osnovi materijala ako koncentracija iona Cl^- bude veća od 104 mmol/l (189). Williams i suradnici su dokazali ovisnost potencijala pucanja (E_b od eng. *breakdown potential*) površinskog zaštitnog sloja čistog magnezija o koncentraciji iona Cl^- (190). Kloridni ioni razaraju zaštitni sloj na površini i ubrzavaju koroziju Mg tako što vežu ione Mg^{2+} u topljivi $MgCl_2$. Tako dolazi do migracije Mg iz krutog materijala preko zaštitnog sloja u otopinu. Taltavull i suradnici su zaključili da korozija magnezijevog biodegradabilnog materijala u kloridnim otopinama ovisi o svojstvima djelomično zaštitnog pasivnog sloja i razornom učinku iona Cl^- na taj zaštitni sloj (191). Također, Liu i suradnici su dokazali da što su veće koncentracije iona Cl^- to je brže nastajanje i rast aktivnih mjesta korozije, veće razaranje i veća hidratacija zaštitnog sloja na površini magnezijevih legura (192). U radu Liu i suradnika utvrđeno je da albumini mogu biti korisni u kontroli korozije magnezija nastale uslijed djelovanja iona Cl^- što je značajan podatak za predviđanje korozijskog ponašanja navedenih legura u biološkom okruženju (193).

Iz rezultata specifičnog prirasta mase (SPM) Ti-1Mg skupine (Slika 40.) može se vidjeti da je kod uzoraka ove skupine u otopini USF uočen SPM od 0,1 % nakon 4 dana uranjanja da bi se masa uzorka nakon 35 dana uranjanja povećala za 0,41 %. Otopina USFpH4 uzrokovala je SPM od 0,1 % nakon prvog dana uranjanja u ovoj skupini uzoraka. Ta se vrijednost lagano povećavala da bi na kraju testa dosegla razinu od 0,49 %. U otopini USFF uzorci iz Ti-1Mg skupine pokazali su SPM od 0,1% u prvih nekoliko dana da bi već nakon 28. dana taj iznos dosegao najvišu vrijednost od 0,98 %. Daljnje uranjanje dovelo je do pada vrijednosti SPM-a. Uranjanje u HO pokazalo je SPM uzoraka u iznosu od 0,1 % nakon prvih nekoliko dana pa sve do 0,69 % nakon isteka perioda testiranja. Za Ti-2Mg skupinu (Slika 41.), uranjanje u USF rezultiralo je SPM-om od 0,11 % nakon prvog dana pa do 0,69 % nakon 42. dana. Niži postotak SPM-a zabilježen je kod uzoraka ove skupine koji su bili uronjeni u USFpH4. Te su

se vrijednosti kretale od 0,1 % do 0,63%. Između svih otopina, USFF je uzrokovala najveći SPM uzoraka ove skupine i on se je kretao u rasponu od 0,1 %, nakon prvog dana, do 1,26 % nakon 42. dana. Suprotno tome, kod uzoraka Ti-2Mg skupine uronjenih u HO zamijećen je najmanji SPM i on je iznosio od 0,1 %, nakon 14. dana, do 0,21 %, nakon 42. dana. U Ti-5Mg skupini (Slika 42.), uzorci koji su bili uronjeni u USFF i HO nisu pokazivali promjenu mase tijekom vremena testiranja. Uranjanje uzoraka ove skupine u otopinu USF uzrokovalo je SPM od 1,92 % već nakon 4 dana uranjanja. Kroz daljnje periode nije više zabilježen prirast mase. Još su veće vrijednosti dobivene prilikom uranjanja uzoraka Ti-5Mg skupine u otopinu USFpH4. Nakon 4 dana uranjanja zabilježen je SPM u iznosu od 2,32 % i ostao je konstantan do 35. dana testiranja da bi nakon 42. dana iznosio 4,65 %. Kod kontrolne CP Ti 4 skupine nije bilo zabilježene promijene mase uzoraka u niti jednoj od ispitivanih otopina tijekom cijelog vremena provođenja testa.

Statističkom analizom utvrđena je statistička značajnost u korelaciji vrste otopine, perioda uranjanja i vrste ispitivanog uzoraka sa SPM-om (Tablica 26.). Od prediktorskih varijabli, jedino je vrsta uzorka imala značajan utjecaj na promjenu mase uzorka (Slika 43.).

Utvrđeno je da je za korozijski proces na površini Ti-Mg kompozita svojstveno taloženje korozijskih produkata za razliku od korozije kontrolne skupine gdje nije bilo pojave precipitata koji bi se gravimetrijski dali izmjeriti. Vrsta ispitivanog materijala, odnosno, maseni udio Mg u Ti osnovi pritom je imao statistički značajni utjecaj. Ovakav rezultata je u skladu s istraživanjima Atrensa i suradnika koji zaključuje da u korozijskom procesu Mg biomaterijala značajan udio otpuštenih iona Mg^{2+} ostaje “zarobljen” u površinskom precipitatu kao $Mg(OH)_2$ (194). Lebouil i suradnici zaključuju da taj udio može biti i do 40 % (195). Kuwahara i suradnici su mjerili SPM na površini čistog magnezija nakon uranjanja u HO i došli do zaključka da ioni Mg^{2+} ulaze u reakciju s HO i da se pritom precipitira sloj magnezijeva apatita koji pokazuje izrazitu stabilnost (164). Uspoređujući rezultate količine otpuštenih iona Mg^{2+} u otopini HO kod Ti-5Mg skupine koji su pokazali da je u otopinu izlučena najveća količina navedenih iona u usporedbi s ostalim otopinama (Slike 35. i 37.) i podataka o SPM uzoraka Ti-5Mg u otopini HO gdje nije bilo promjene mase (Slika 42.), može se zaključiti da je u ovom slučaju brza korozija vodila ione Mg^{2+} direktno s površine materijala u otopinu bez “zarobljavanja” određene količine Mg u obliku korozijskog taloga kako se u literaturi opisuje (194, 195).

5.2. Promjene površine ispitivanih uzoraka tijekom biokorozivnog testiranja

Na površinama ispitivanih uzoraka svih triju ispitivanih skupina prije testa uranjanja SEM i EDS analizom su jasno utvrđene dvije različite faze, titanijeva i magnezijeve. Kod Ti-5Mg skupine, Mg-faza bila je najzastupljenija u strukturi površine od svih triju ispitivanih skupina uzoraka. Osim Mg, kod ispitivanih skupina bila je utvrđena i prisutnost atoma kisika (O) što govori u prilog sklonosti ispitivanih uzoraka za površinsko vezivanje kisika i stvaranje pasivnog, oksidnog sloja u atmosferskim prilikama. EDS analizom površine uzorka kontrolne skupine utvrđene je prisutnost atoma Ti.

Kod uzoraka Ti-1Mg skupine nakon testa uranjanja SEM pretragom utvrđena su veća morfološka odstupanja površine u usporedbi s istom površinom prije uranjanja (Slika 44.). Elementarnom mikroanalizom površine uronjene u otopinu USF utvrđena je prisutnost Ca i P, kao i kod uzoraka uronjenih u otopinu USFpH4. Za razliku, kod površina Ti-1Mg uzoraka uronjenih u otopinu USFF utvrđena je prisutnost Ca, Mg, Na, K, P, F, C i O, a na površinama uzoraka koji su bili uronjeni u HO, na području korozivskih precipitata jasno je utvrđena prisutnost Ca, Mg, P, C i O (Tablica 27.).

EDS analizom područja precipitata nastalih tijekom uranjanja, kod Ti-2Mg skupine, utvrđena je prisutnost atoma Ca, Mg, P, C i O. Vrlo slične morfološke promjene mogle su se uočiti i na površini Ti-2Mg uzorka iz otopine USFpH4 (Slika 45.). I ovdje su u području precipitata bili detektirani atomi Ca, P, C i O. Na površini Ti-2Mg uzorka koji je bio uronjen u otopinu UFF također su utvrđena područja različitog kemizma koja su odgovarala površinskom precipitatu. EDS analizom utvrđeni su energetske spektri atoma Mg, Na, Ca, F i O. Na površini uzoraka ove skupine koji su bili uronjeni u HO nađena je prisutnost atoma Na, Ca, Mg, P, C i O (Tablica 27.).

U korozivskom precipitatu formiranom na površini Ti-5Mg uzorka (Slika 46.) koji je bio uronjen u otopinu USF utvrđena je prisutnost atoma Ca, P i O. Vrlo sličan kemijski sastav utvrđen je i kod istovrsnog uzorka uronjenog u otopinu USFpH4. Na površinama Ti-5Mg uzoraka koji su bili uronjeni u otopine USFF i HO, EDS analizom utvrđena je prisutnost samo atoma Ti iz titanijeve osnove (Tablica 26.).

U područjima površinskih defekata (Slika 47.) nastalih uslijed korozivnog djelovanja otopina na uzorke iz kontrolne skupine, EDS analizom je utvrđena prisutnost atoma Na, K, Cl, O, i C (Tablica 26.).

Morfološko proučavanje površine uzoraka SEM analizom u skladu je s razmatranjem Zhao i suradnika koji govori da, za razliku od titanijeve površine koja je sklona generaliziranom obliku korozije, magnezijeva površina je puno više sklona lokaliziranim oblicima korozije kao što su jamice (*pitting*) (196). Te jamice su plitke i imaju tendenciju samoograničavanja korozije zbog katodne reakcije koja oslobađa H₂ i proizvodi OH⁻ ione, sukladno kemijskoj jednačini 15, koji pak povećavaju lokalni pH i ubrzavaju odlaganje zaštitnog Mg(OH)₂ sloja.

U fizikalno kemijskom pogledu, površine uzoraka iz ispitivanih skupina pokazali su aktivnije i raznovrsnije korozivno ponašanje u usporedbi s kontrolnom skupinom. Kako se iz termodinamičkog modela zna da magnezij, u ovakvim uvjetima, radije disocira nego pasivizira (Slika 6.), bilo je za očekivati da će kemijska reaktivnost i mogućnost pojavljivanja novih spojeva na površini koja sadrži magnezij biti veća. Skenirajućom elektronsko mikroskopskom analizom eksperimentalne površine okarakterizirane su pojavom taloga i precipitata kod svih skupina ispitivanih površina. Prisutnost pukotina objašnjava se isušivanjem površine neposredno prije SEM skeniranja (Slike 44b., 45b. i 45c.). Energijski spektri ispitivanih površina, utvrđeni EDS metodom, pokazuju prisutnost atoma iz sastavnica površine i iz sastavnica otopina u koje su bili uronjeni. Važno je napomenuti da su na površinu precipitali spojevi sastavljeni od atoma Ca, P, O, K, Na i F koji su se nalazili u otopinama (Tablica 27.).

Ovakvi rezultati su u skladu s istraživanjem Takadame i suradnika koji je u svom radu na tretiranoj titanijskoj površini objasnio mehanizam odlaganja Ca²⁺ zamjenom s ionima Na⁺ te posljedično privlačenje fosfatnih grupa i formiranje isprva amorfnih, a kasnije i kristaliničnih oblika Ca-P spojeva (197). Također, Xin i suradnici u *in vitro* studiji na magnezijevoj leguri EDS analizom utvrđuju nastanak Ca-P taloga na površini materijala koji su bili uronjeni u otopine koje su sadržavale Ca²⁺ (198). Kalcij fosfatni spojevi važni su za predviđanje bioaktivnosti ispitivanog materijala. Oliveira i suradnici su dokazali da prisutnost Ca-P spojeva na površini biomaterijala pospješuje vitalitet osteoblasta i za osteoblaste vezanu gensku ekspresiju (199).

Rezultati dobiveni rendgenskom difrakcijskom analizom (XRD) svrstani su u četiri klastera. U klaster I svrstani su ispitivani uzorci CP Ti 4 koji su tijekom testa uranjanja bili uronjeni u sve četiri vrste ispitivanih otopina, zatim uzorci Ti-1Mg koji su bili uronjeni u otopine USF, USFF i HO, uzorci Ti-2Mg koji su bili uronjeni u otopine USFF i HO te uzorci Ti-5Mg iz HO. Značajka njihova XRD difraktograma jest da su na površini bile detektirane kristalne faze MgO i čistog Ti (Slika 48.). Kod uzoraka svrstanih u klaster II nađene su kristalne faze koje po kemijskom sastavu odgovaraju hidroksiapatitu (HA) ($\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$) i oktakalcijevu fosfatu pentahidratu (OCP) ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) uz kristalnu strukturu čistog Ti (Slika 49.). Ovdje su svrstani uzorci Ti-5Mg koji su bili uronjeni u otopine USF i USFpH4. U klaster III svrstani su uzorci Ti-1Mg i Ti-2Mg koji su bili uronjeni u otopinu USFpH4 te su na njihovim površinama XRD analizom utvrđeni kristali HA, OCP, MgO uz kristale čistog Ti (Slika 50.). Za klaster IV karakteristično je da se sastoji samo od jednog uzorka, uzorka Ti-5Mg koji je bio uronjen u otopinu USFF. Drugi uzorak naznačen na XRD-difraktogramu, uzorka Ti-2Mg iz otopine USF (Slika 51.) nije klasteriran već je svrstan ovamo samo zato što su uočene sve kristalne faze kao kod prvog uzorka osim kalcijeva-florida (CaF_2). Od ostalih kristalnih faza; XRD analizom uočeno je taloženje HA i MgO uz kristale čistog Ti. Statističkom obradom uočeno je da je najveći učinak na raznolikost kemijske pojavnosti kristalnih faza na površini imao uzorak Ti-5Mg, a od otopina USFpH4.

Kristal MgO utvrđen je u 3 od 4 klastera difraktograma dobivenih XRD analizom. Esen i suradnici su dobili slične rezultate na Ti-Mg kompozitnom materijalu i zaključili kako površinski MgO sloj čini važnu sastavnicu u postupku dizajniranja novih biodegradabilnih Mg materijala s prihvatljivom korozivskom aktivnošću (184). Također, Song i suradnici su opisali model površinskog pasivnog sloja za korozivski proces magnezija gdje je srednji sloj sastavljen većinom od MgO, a vanjski sloj od $\text{Mg}(\text{OH})_2$. Smatra se da hidratacijom MgO nastaje stabilniji $\text{Mg}(\text{OH})_2$ koji se nalazi na samoj površini dok u srednjem sloju i dalje zaostaje MgO (200). Takav MgO važan je čimbenik procesa osteokondukcije i oseointegracije implantiranog biomaterijala (103, 111, 201).

Osim MgO, na površini su detektirane još dvije kristalne strukture koje pokazuju značajan osteogeni učinak: HA ($\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$) i OCP ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Arvidsson i suradnici su tretirali titanijske površine zagrijavanjem, anodizacijom i fluoridacijom kako bi povećali njihovu bioaktivnost i na takvim su površinama dokazali pojavu HA (202). Također, Yang i

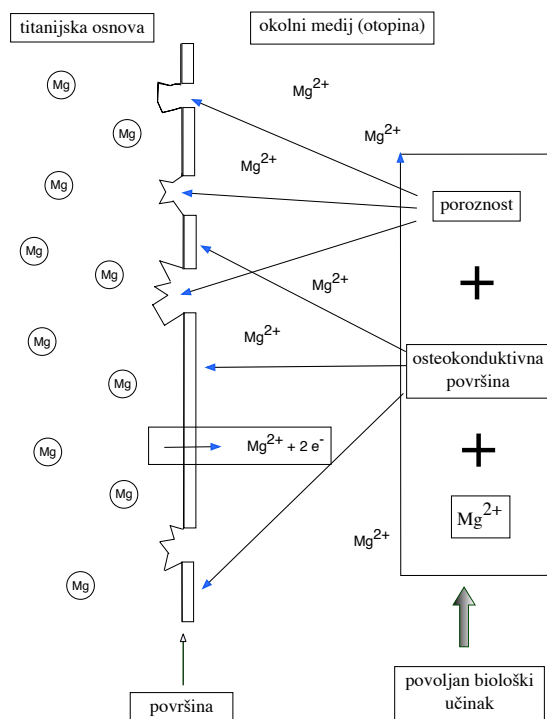
suradnici su hidrotermalno tretirali titanijsku površinu kako bi postigli depoziciju bioaktivnog HA sloja (203). Kalcij fosfatni spojevi koji se kristaliziraju na površini u obliku HA ili nekom drugom, osim svoje bioaktivne uloge imaju i važnu antikorozivnu ulogu. Hiromoto i suradnici su dokazali da HA sloj na površini magnezijeve legure ima značajan antikorozivni učinak (204). Istovremeno, Suzuki i suradnici su u svom preglednom radu utvrdili značaj OCP na aktivnost osteoblasta i stvaranje nove kosti (205).

Međutim, kalcij fosfatni kristalni oblici nisu nađeni na površinama uronjenim u HO što se može dovesti u svezu s korozijskim ponašanjem Mg u kloridnim otopinama. Naime, HO za razliku od svih triju varijanti USF ima značajno veću koncentraciju Cl⁻ iona u svom sastavu. Cl⁻ ioni su izrazito korozivni za Mg u neutralnim vodenim otopinama. Kao što je već spomenuto, brzina korozije raste s porastom koncentracije Cl⁻ iona. Radi se o destrukciji pasivnog sloja, nastanku jamičaste korozije (*pitting*) i otapanju Mg. Osim Cl⁻, korozivno djelovanje na Mg imaju i ioni SO₄²⁻, NO₃⁻, Br⁻, PO₄³⁻, NO₂⁻ i ClO₄⁻ (189), od kojih su samo sulfati i fosfati bili u sastavu ispitivanih otopina. S druge strane, F⁻ ioni djeluju kao inhibitori korozije. Suprotno nego kod Ti. Gulbrandsen i suradnici su dokazali da je teško topljiv magnezijev fluorid (MgF₂) koji se nataloži na površinu odgovoran za to (206). U ovom istraživanju nisu utvrđene kristalne faze MgF₂ već sloj, također teško topivog kalcijeva fluorida (CaF₂) (Slika 50.). Ujedno, ovakav rezultat je u skladu s istraživanjem Barrerea i suradnika koji su u *in vitro* studiji dokazali da su Mg²⁺ ioni inhibitori rasta HA kristala na titanijskoj površini (207). Iz navedenog se može zaključiti da je u HO prisutnost iona Cl⁻ uvjetovala intenzivno otpuštanje iona Mg²⁺ s površine u okolni medij bez znatnog zadržavanja na površini u obliku precipitata što je i utvrđeno testom uranjanja, naročito kod Ti-5Mg skupine (Slika 35.). Povećana koncentracija iona Mg²⁺ u otopini pak inhibira odlaganje Ca-P spojeva na površini i tako se stvara “začarani krug” Mg biodegradacije ispitivanog materijala.

S druge strane, povećanje pH vrijednosti otopine ubrzava taloženje Mg(OH)₂ i Ca-P spojeva na površini te se tako površina dovodi u pasivno stanje, a korozijski proces se usporava. Ovakvo razmatranje u skladu je s istraživanjima Ng i suradnika koji su dokazali da brzina korozije magnezija značajno pada pri pH 7,4 - 8,0 (208). Porastom pH vrijednosti iznad 10,2 taloženje i pasivizacija postaju dominantni. No, uvjeti u kojima je pH raste bez adekvatne regulacije nisu za očekivati u biološkoj sredini usne šupljine i alveolne kosti. Iz tog razloga,

test uranjanja je bio izveden tako da se u pravilnim periodima pripremljala svježa otopina s korigiranim pH. Tako je oponašan puferski mehanizam sline i krvne plazme. Istovremeno, zanimljivo je da veoma nizak pH otopine USFpH4 nije pokazao nepovoljan učinak na stvaranje Ca-P taloga na površini. Na površinama svih triju grupa eksperimentalnih uzoraka uronjenih u kiselu otopinu EDS analizom registrirani su energijski spektri atoma Ca i P (Tablica 27.), a XRD analizom je utvrđena prisutnost kristaliničnih formi Ca-P spojeva (Tablica 28.). To sugerira na zaključak da prisutnost magnezija u ispitivanom Ti-Mg materijalu može kompenzirati nepovoljan učinak niskog pH na stvaranje Ca-P spojeva na površini.

Prilikom razrade ideje o inovativnom kompozitnom materijalu imalo se je na umu da će se otpuštanjem Mg isprazniti mjesta na površini i tako povećati poroznost površine kako bi u nastale pore urasla nova kost (Slika 59.). Itälä i suradnici su na životinjskom modelu dokazali da je veličina pora vrlo značajan čimbenik u procesu oseointegracije (209). Dohan Ehrenfest i suradnici u preglednom radu napominju da su za kvantitativno opisivanje površinske topografije implantata važni parametri R_a , R_z i R_{sm} (51).



Slika 59. Shema biokorozivnog ponašanja eksperimentalne Ti-Mg površine tijekom statičkog testa uranjanja.

U ovom istraživanju, u otopini USF najveća razlika vrijednosti R_a parametra uočena je kod uzorka Ti-2Mg ($0,39 \pm 0,14 \mu\text{m}$) dok je kod uzorka Ti-5Mg izmjerena negativna razlika ($-0,03 \pm 0,03 \mu\text{m}$). Razlika vrijednosti R_z parametra također je bila najveća kod Ti-2Mg uzorka ($1,98 \pm 1,26 \mu\text{m}$) nakon čega je slijedila ona kod Ti-5Mg ($0,62 \pm 0,24 \mu\text{m}$) dok je kod uzorka CP Ti 4 razlika vrijednost bila negativna ($-0,07 \pm 0,10 \mu\text{m}$) (Tablica 29.). Analiza varijance pokazala je statistički značajnu razliku između ispitivanih uzoraka za oba, R_a i R_z parametra (Tablica 30.). Rezultati Newman-Keulsova testa za R_a i R_z parametar pokazali su statistički značajnu razliku između uzorka Ti-2Mg i ostalih ispitivanih uzoraka (Tablica 31. i 32.).

Slično kao i u otopini USF najveća razlika vrijednost R_a parametra u otopini USFpH4 uočena je kod uzoraka Ti-2Mg skupine ($0,20 \pm 0,10 \mu\text{m}$) dok je najmanja razlika vrijednosti pronađena kod CP Ti 4 ($0,01 \pm 0,01 \mu\text{m}$). Za R_z , najveća razlika vrijednosti pronađena je za uzorke Ti-1Mg ($1,61 \pm 0,49 \mu\text{m}$) i Ti-5Mg ($1,57 \pm 0,73 \mu\text{m}$) iza kojih slijedi uzorak Ti-2Mg ($0,54 \pm 1,31 \mu\text{m}$). Negativna razlika vrijednosti R_z parametra uočena je kod uzorka CP Ti 4 ($-0,05 \pm 0,08 \mu\text{m}$) (Tablica 33.). Analiza varijance pokazala je statistički značajnu razliku između testiranih uzoraka za oba, R_a i R_z parametra (Tablica 34.). Prema rezultatima Newman-Keulsova testa, R_a parametar je pokazao statističku značajnost u razlici između Ti-2Mg i kontrolne skupine (Tablica 35.) dok je za R_z parametar statistički značajna razlika bila između kontrolne skupine i svih ostalih uzoraka (Tablica 36.).

U usporedbi s prethodne dvije otopine, u otopini USFF vrijednosti obaju parametara su porasli kod triju ispitivanih uzoraka, Ti-1Mg, Ti-2Mg i Ti-5Mg. Najveća razlika vrijednosti R_a parametra zabilježena je kod uzorka Ti-2Mg ($1,04 \pm 0,37 \mu\text{m}$) te je padala sljedećim redom: Ti-1Mg ($0,80 \pm 0,10 \mu\text{m}$) > Ti-5Mg ($0,20 \pm 0,03 \mu\text{m}$) > CP Ti 4 ($-0,06 \pm 0,01 \mu\text{m}$). Najveća razlika vrijednosti R_z parametra pronađena je kod Ti-1Mg uzorka ($5,83 \pm 1,52 \mu\text{m}$). Slična je razlika vrijednosti nađena kod uzorka Ti-2Mg ($5,52 \pm 0,54 \mu\text{m}$) dok je kod uzorka Ti-5Mg pronađena skoro dvostruko manja razlika vrijednosti ($2,64 \pm 0,76 \mu\text{m}$). Kontrolna je skupina, kao i kod prethodnih dviju otopina, pokazala negativnu razliku vrijednosti R_z parametra ($-0,17 \pm 0,06 \mu\text{m}$) (Tablica 37.). Analiza varijance pokazala je statistički značajnu razliku između ispitivanih uzoraka za oba parametra (Tablica 38.). Prema rezultatima Newman-Keulsovu testu R_a parametar se je za Ti-1Mg i Ti-2Mg skupine statistički značajno razlikovao od onog kod kontrolne i Ti-5Mg skupine (Tablica 39.). Nije bilo statistički značajne razlike

između Ti-1Mg i Ti-2Mg skupine. U slučaju R_z parametra statistički značajna razlika pronađena je između svih parova ispitivanih uzoraka osim između Ti-1Mg i Ti-2Mg para (Tablica 40.).

Najveća razlika vrijednosti R_a parametra u HO izmjerena je kod Ti-2Mg uzorka ($0,19 \pm 0,06 \mu\text{m}$) te se je ista padala sljedećim redoslijedom: Ti-1Mg ($0,16 \pm 0,04 \mu\text{m}$) > Ti-5Mg ($0,08 \pm 0,03 \mu\text{m}$) > CP Ti 4 ($0,01 \pm 0,01 \mu\text{m}$). Najveća razlika vrijednosti R_z parametra utvrđena je u skupini Ti-2Mg ($4,77 \pm 0,47 \mu\text{m}$) nakon čega su slijedile skupine Ti-1Mg ($3,49 \pm 1,03 \mu\text{m}$) i Ti-5Mg ($0,89 \pm 0,56 \mu\text{m}$), dok je najmanja razlika vrijednosti utvrđena u kontrolnoj skupini CP Ti 4 ($0,08 \pm 0,04 \mu\text{m}$) (Tablica 41.). Analiza varijance pokazala je statistički značajnu razliku između testiranih skupina za oba parametra (Tablica 42). Rezultati Newman-Keulsova testa za R_a parametar, prikazani u Tablici 43., pokazali su statistički značajnu razliku između svih testiranih skupina osim između skupina Ti-1Mg i Ti-2Mg. U slučaju R_z parametra statistički značajna razlika utvrđena je između svih parova skupina osim između Ti-5Mg i kontrolne skupine (Tablica 44.).

Temeljem statističke analize, dobivena je slaba, statistički neznačajna korelacija ($R = 0,23$; $p < 0,26359$) između prediktorskih varijabli (skupina uzorka, otopina) i parametra hrapavosti R_a (Tablica 45.). Prema beta koeficijentu, nijedna od prediktorskih varijabli ne pokazuje statistički značajan doprinos. Ti su rezultati u skladu s rezultatima generalnog regresijskog modela izraženog kao Pareto dijagram t vrijednosti (Slika 56.) Statistički značajna korelacija (Tablica 46.) utvrđena je između prediktorskih varijabli (skupina uzorka, otopina) i parametra hrapavosti R_z ($R = 0,51$; $p < 0,00261$). I vrsta otopine i skupina uzorka statistički značajno utječu na zavisnu varijablu (R_z parametar). Sukladno rezultatima generalnog regresijskog modela izraženog u obliku Pareto dijagrama t vrijednosti (Slika 57.), obje prediktorske varijable pokazuju statistički značajan doprinos. Ipak, vrsta uzorka ima nešto veći utjecaj na vrijednosti parametra R_z za razliku od vrste otopine.

Najveće povećanje vertikalne dimenzije površinske topografije (R_z) pokazali su uzorci Ti-1Mg i Ti-2Mg u otopini USFF. U HO ti isti uzorci pokazuju nešto manju razliku (Slika 55.). Zanimljivo je da su ti isti uzorci pokazivali statistički značajnu razliku u usporedbi s kontrolnom skupinom (Slika 53.) što govori u prilog hipotezi da korozijski proces na površini eksperimentalnog materijala povećava hrapavost u smjeru povoljnom za oseointegraciju više nego kod površine iz kontrolne skupine. Istovremeno, statistička analiza je pokazala da su

jedino na R_z parametar utjecale prediktorske varijable: vrsta uzorka i otopine (Slika 57.). Na R_a parametar iste varijable nisu imale statistički značajnog učinka (Slika 56.). Dakle, ako površinu promatramo dvodimenzionalno, degradacijski procesi su dominantno utjecali na vertikalnu dimenziju površinske topografije. Pritom su na razliku u dubini pora imali utjecaja, kako korozivnost okolnog medija, tako i struktura i sastav ispitivanog materijala. U skladu s ovim rezultatima Li i suradnici su dobili rezultate istražujući mehanička svojstva Ti-Mg kompozita u HO koristeći test uranjanja u trajanju od 104 h (210). Kumar i suradnici su u *in vitro* istraživanju o bioaktivnosti različito tretiranih titanijskih površina profilometrijski utvrdili da se vrijednost R_a parametra povećava kod tretiranih titanijskih površina (211).

Kroz znanstvenu literaturu provlači se pitanje koja je veličina pora potrebna za uspješno urastanje kosti tijekom oseointegracije (63, 209). Goetz i suradnici su dokazali da je za titanijsku leguru Ti6Al4V optimalna veličina pora iznosi 200 μm (212). Istovremeno, Karageorgiou i suradnici u pregledu radova nalaze da je minimalna veličina pora potrebnih za osteogenezu $\sim 100 \mu\text{m}$ zbog veličine stanica, mogućnosti migracije i transporta. Ipak, pore veličine $> 300 \mu\text{m}$ pogodnije su za stvaranje nove kosti i vaskularizaciju (213).

Uspoređivanje korozijskog ponašanja Ti-Mg kompozita s drugim materijalima, a napose čistim Ti i čistim Mg ima ograničen značaj jer korozijska svojstva pojedinog materijala ovise o čimbenicima vezanim uz proizvodnju, sastav, strukturu materijala s jedne strane te čimbenicima eksperimentalnih postupaka s druge strane. U literaturi postoji malo relevantnih podataka na temu korozije Ti-Mg kompozita. Esen i suradnici tako korozijsko ponašanje Ti-Mg eksperimentalnog materijala u svojoj elektrokemijskoj studiji opisuju kao, istovremeno, bioinertno i biodegradacijsko gdje je Ti komponenta odgovorna za bioinertnost, a Mg komponenta za biodegradabilnost takvog materijala (184). U skladu s rezultatima ovog istraživanja, volumni omjer Ti/Mg sastavnica i kontinuirani MgO sloj smatraju najvažnijim parametrima koje treba uzeti u obzir kod kreiranja biodegradabilnog Ti-Mg kompozita s prihvatljivom brzinom korozije. U idejnom konceptu novog eksperimentalnog Ti-Mg kompozita, Mg je sastavnica čija kontrolirana biokorozija (biodegradacija) mijenja strukturu površine i stvara biološke preduvjete za uspješnu oseointegraciju. Titanij pritom ostaje čvrsta struktura i nositelj biomehaničkih svojstava potrebnih za ispunjavanje funkcije biomaterijala. Također, Jiang i suradnici su tako u svom radu pokušali modificirati mehanička svojstva eksperimentalnog materijala, naročito modul elastičnosti, mijenjajući volumni udio Ti u materijalu sastavljenom od poroznog titanija s inkorporiranim magnezijem, (153).

Ograničenja ovog istraživanja mogu se naći prije svega u metodološkom pristupu proučavanja problema korozije ispitivanog Ti-Mg materijala. Biokorozija titanijeve sastavnice Ti-Mg kompozita može se vrlo dobro opisati mjereći količinu otpuštenih iona Ti^{4+} zato što Ti^{4+} ioni vrlo brzo budu "zarobljeni" u pasivni sloj oksida koji je vrlo otporan na izvanjske utjecaje (214). Za utvrđivanje učinka na biološki sustav bitne su one količine koje budu otpuštene s površine zato što mogu izazvati toksični efekt. Stoga, određivanje količine otpuštenih iona Ti^{4+} ima značaj u proučavanju biokorozijskih karakteristika inovativnog Ti-Mg kompozitnog materijala proizvedenog tehnikom P/M te u predviđanju biološkog učinka. S druge strane, kod magnezijeve sastavnice biološki učinak ne ovisi samo o ionima Mg^{2+} koji su otpušteni nego i o onima koji ostaju "zarobljeni" u površinskom sloju korozijskog precipitata. Iz tog razloga, samo određivanje količine otpuštenih iona Mg^{2+} može biti dobro za razlučivanje povoljnog od nepovoljnog biološkog djelovanja te stvaranje smjernica i strategija za razvoj materijala, ali ne i za precizno utvrđivanje i predviđanje biološkog učinka korozije biomaterijala. Također, otopinama kao korozivnim medijima u testu uranjanja htjelo se je obuhvatiti što širi raspon

precipitirajućih čimbenika za nastanak nepovoljnog korozijskog ponašanja kod ispitivanih materijala koristeći postojeća saznanja iz znanstvenih rezultata. Takvom širinom u eksperimentalnom izboru sigurno se je izgubilo na preciznosti u zaključivanju o pojedinim učincima biokorozijskog ponašanja ispitivanog materijala. Xin i suradnici u svom preglednom radu naglašavaju da rezultati korozijskog ponašanja biomaterijala dobiveni iz *in vitro* radova ovise u mnogome o eksperimentalnim čimbenicima te da se često objavljuju zbunjujući rezultati koje je nemoguće uspoređivati (198). Iz toga proizlazi potreba za standardizacijom metoda za *in vitro* istraživanja biokorozijskih karakteristika. Mueller i suradnici u svom kritičkom osvrtu upozoravaju da je nekonzistentnost rezultata dobivenih *in vitro* istraživanjem korozije magnezija iz različitih studija uglavnom posljedica razlika u korozivnim medijima, materijalima te u upotrebi različite metodologije. Istovremeno naglašavaju potrebu za usmjeravanjem znanstvene i istraživačke pažnje na *in vivo* studije kako bi se bolje razumjeli utjecaji povezujućih procesa na degradaciju biomaterijala (215). Slično, Kirkland i suradnici, uspoređujući različite metode karakterizacije korozijskog ponašanja biodegradabilnih materijala na bazi magnezija kao što su metoda gubitka mase, evolucije H₂, potenciodinamička polarizacija, elektrokemijska impedancijska spektroskopija i pH metrija, zaključuju da su sve te metode komplementarne za razumijevanje i predviđanje korozije i naglašava jasnu potrebu za normizacijom metoda (93).

Nedostatak organskog supstrata u eksperimentalnoj postavi poput velikih organskih biomolekula kao što su proteini ili bioloških sustava poput stanica može se smatrati ograničavajućim u predviđanju biološkog učinka korozijskog procesa ispitivanog materijala. Kokubo i suradnici su u svom preglednom radu, proučavajući kemijski sastav otopina simulacija tjelesnih tekućina, zaključili da je istraživanje odlaganja apatita u simulacijama tjelesnih tekućina korisno za predviđanje koštane bioaktivnosti površine materijala i da se tako smanjuje broj korištenih životinja i vrijeme provođenja eksperimenata na životinjama (133). Nasuprot tome, Bohner i suradnici su utvrdili da nema dovoljno relevantnih znanstvenih podataka da bi se odgovorilo na pitanje da li se bioaktivnost može predvidjeti testiranjem u otopinama simulacija tjelesnih tekućina te da ako i ima, još uvijek postoji mjesta za poboljšanje (134). Slično, Pan i suradnici naglašavaju da se prezasićenim otopinama za predviđanje bioaktivnosti materijala dobivaju pogrešne znanstvene informacije jer su one određene isključivo kemijskim sastavom otopine, a ne i biološkim procesima određenima

vitalitetom osteoblasta i reguliranim djelovanjem čimbenika rasta poput estrogena, paratireoidnog hormona i koštanih morfogenetskih proteina dok istovremeno pojedini ioni izlučeni s površine biomaterijala imaju značaj učinak na ekspresiju navedenih čimbenika (216).

Usprkos navedenim nedostacima, iz rezultata ovog istraživanja dobivene su znanstvene informacije korisne za predviđanje i usmjeravanje strategija eksperimentiranja i razvijanja smjernica za unaprjeđivanje unutar postojećeg koncepta P/M Ti-Mg biomaterijala. Isto tako, važno je uputiti na nužnost daljnjih *in vitro* i *in vivo* istraživanja kao i kliničkih pokusa kako bi P/M Ti-Mg kompozitni biomaterijal “zaživio” svoju kliničku primjenu.

6. ZAKLJUČCI

Temeljem rezultata istraživanja biokorozivskih karakteristika titanij - magnezij kompozitnog materijala mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Otpuštanje iona Ti^{4+} s površine ispitivanog Ti-Mg kompozita bilo je značajano manje i sporije nego s površine kontrolnog CP Ti 4. Količina otpuštenih Ti^{4+} iona u sve četiri vrste otopina bila je premala da bi izazvala potencijalno nepovoljan biološki učinak;
- U otopinama umjetne sline eksperimentalni Ti-Mg kompozit je pokazao odlična korozivska svojstva. Količina otpuštenih iona Ti^{4+} bila je za 16 - 50 puta manja u usporedbi s kontrolnom skupinom sugerirajući da u uvjetima koji vladaju u usnoj šupljini ovaj materijal pokazuje bolju biokompatibilnost od CP Ti 4;
- U Hankovoj otopini Ti-Mg kompoziti s nižim masenim udjelom Mg komponente (Ti-1Mg i Ti-2Mg) pokazali su bolja korozivska svojstva s obzirom na količinu otpuštenih iona Ti^{4+} , a u usporedbi s kontrolnom (CP Ti 4) skupinom što sugerira potencijalno povoljnije biokorozivsko ponašanje biomaterijala u svrhu endosealne implantacije;
- Količina otpuštenih iona Mg^{2+} iz Ti-Mg kompozita proporcionalno je ovisila o masenom omjeru Mg u Ti osnovi dok fizikalno-kemijska svojstva otopina nisu imala značajnog utjecaja;
- Brzina otpuštanja iona Mg^{2+} bila je, s obzirom na poznate biološke učinke magnezijeve korozije, prihvatljiva jedino kod uzoraka s nižim masenim omjerom Mg (Ti-1Mg i Ti-2Mg) i to uz prisutnost iona F^- kao snažnog inhibitora korozije Mg. U ostalim uvjetima (otopinama), biodegradacija Mg je bila prebrza te neprihvatljiva za biološko okruženje;
- Morfološka, topografska i kemijska promatranja ispitivanih Ti-Mg površina pokazala su izrazitiju fizikalno-kemijsku aktivnost za razliku od CP Ti 4 površine koje su ostale manje promijenjene. Pojava kristalnih precipitata s osteokonduktivnim svojstvima (MgO) te za oseointegraciju povoljno povećanje vertikalne dimenzije (R_z) površinske hrapavosti tijekom korozivskog procesa upućuje na zaključak o eksperimentalnim Ti-Mg površinama kao potencijalno izrazito biointeraktivnim;
- Eksperimentalni Ti-Mg kompozitni materijal pokazao je iznimno dobro biokorozivsko ponašanje. Maseni omjer Mg/Ti najznačajniji je čimbenik u razvoju strategije kreiranja biodegradabilnog Ti-Mg kompozita s prihvatljivom brzinom magnezijeve korozije;

- Potrebna su daljnja poboljšanja strukture i sastava testiranog Ti-Mg materijala koja bi rezultirala jedinstvenim P/M Ti-Mg biodegradacijskim i biokorozivskim konceptom koji bi omogućio brzu i adekvatnu oseointegraciju ovakvih površina temeljenu na suvremenim biološkim principima.

7. LITERATURA

1. Coelho PG, Jimbo R. Osseointegration of metallic devices: current trends based on implant hardware design. *Arch Biochem Biophys*. 2014;561:99-108.
2. Williams DF. Definition in biomaterials: proceedings of a consensus conference of the European Society for Biomaterials. Elsevier ed. Chester England: European Society for Biomaterials; 1987 March 3-5. 72 p.
3. Sullivan RM. Implant dentistry and the concept of osseointegration: a historical perspective. *J Calif Dent Assoc*. 2001;29(11):737-45.
4. Gaviria L, Salcido JP, Guda T, Ong JL. Current trends in dental implants. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2014;40(2):50-60.
5. Branemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallen O, et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl*. 1977;16:1-132.
6. Hench LL. Future developments and applications of biomaterials: an overview. *Biomater Med Devices Artif Organs*. 1979;7(2):339-50.
7. Hench LL, Polak JM. Third-generation biomedical materials. *Science*. 2002;295(5557):1014-7.
8. Badami V, Ahuja B. Biosmart materials: breaking new ground in dentistry. *ScientificWorldJournal*. 2014;2014:986912.
9. Gautam P, Valiathan A. Bio-smart dentistry: stepping into the future! *Trends Biomater Artif Organs*. 2008;21(2):94-7.
10. Ratner BD. Chapter I.1.2 - The Nature of Matter and Materials. In: Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE, editors. *Biomaterials Science (Third Edition)*: Academic Press; 2013. p. 6-9.
11. Niinomi M. Mechanical properties of biomedical titanium alloys. *Mater Sci Eng A Struct Mater*. 1998;243(1-2):231-6.
12. Williams DF. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*. 2008;29(20):2941-53.
13. Hanawa T. An overview of biofunctionalization of metals in Japan. *J R Soc Interface*. 2009;6 Suppl 3:S361-9.
14. Chapter 10 - Restorative Materials—Metals. In: Powers RLSM, editor. *Craig's Restorative Dental Materials (Thirteenth Edition)*. Saint Louis: Mosby; 2012. p. 199-251.

15. D.Eylon SRS. Titanium technology in the USA - an overview. *J Mater Sci Technol.* 2001;17(04):439-43.
16. Luetjering G, Williams JC. Introduction. *Titanium. Engineering Materials, Processes.* second edition ed: Springer Berlin Heidelberg; 2007. p. 1-14.
17. Zhang W, Zhu Z, Cheng CY. A literature review of titanium metallurgical processes. *Hydrometallurgy.* 2011;108(3-4):177-88.
18. Boyer R. New titanium applications on the Boeing 777 airplane. *JOM.* 1992;44(5):23-5.
19. Schutz RW, Watkins HB. Recent developments in titanium alloy application in the energy industry. *Mater Sci Eng A Struct Mater.* 1998;243(1-2):305-15.
20. Elias CN, Lima JHC, Valiev R, Meyers MA. Biomedical applications of titanium and its alloys. *JOM.* 2008;60(3):46-9.
21. Jorge JR, Barao VA, Delben JA, Faverani LP, Queiroz TP, Assuncao WG. Titanium in dentistry: historical development, state of the art and future perspectives. *J Indian Prosthodont Soc.* 2013;13(2):71-7.
22. Bhola R, Bhola SM, Mishra B, Olson DL. Corrosion in Titanium Dental Implants/Prostheses-A Review. *Trends Biomater Artif Organs.* 2011;25(1):34-46.
23. *The Williams Dictionary of Biomaterials:* Liverpool University Press; 1999.
24. Schmalz G, Garhammer P. Biological interactions of dental cast alloys with oral tissues. *Dent Mater.* 2002;18(5):396-406.
25. Yamamoto A, Honma R, Sumita M. Cytotoxicity evaluation of 43 metal salts using murine fibroblasts and osteoblastic cells. *J Biomed Mater Res.* 1998;39(2):331-40.
26. Niinomi M, Boehlert CJ. *Titanium Alloys for Biomedical Applications. Advances in Metallic Biomaterials:* Springer; 2015. p. 179-213.
27. Sicilia A, Cuesta S, Coma G, Arregui I, Guisasola C, Ruiz E, et al. Titanium allergy in dental implant patients: a clinical study on 1500 consecutive patients. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(8):823-35.
28. Lopez-Jornet P, Perrez FP, Calvo-Guirado JL, Ros-Llor I, Ramirez-Fernandez P. Metallic ion content and damage to the DNA in oral mucosa cells patients treated dental implants. *J Mater Sci Mater Med.* 2014;25(7):1819-24.

29. McCafferty E. Introduction to corrosion science. New York: Springer; 2010. xvi, 575 p. p.
30. Pourbaix M. Atlas of electrochemical equilibria in aqueous solutions: National Association of Corrosion Engineers; 1974.
31. Traisnel M, le Maguer D, Hildebrand HF, Iost A. Corrosion of surgical implants. Clin Mater. 1990;5(2-4):309-18.
32. Adams JE, Jaffe KA, Lemons JE, Siegal GP. Prosthetic implant associated sarcomas: a case report emphasizing surface evaluation and spectroscopic trace metal analysis. Ann Diagn Pathol. 2003;7(1):35-46.
33. Leidi M, Delleria F, Mariotti M, Banfi G, Crapanzano C, Albisetti W, et al. Nitric oxide mediates low magnesium inhibition of osteoblast-like cell proliferation. J Nutr Biochem. 2012;23(10):1224-9.
34. Schenk R. The Corrosion Properties of Titanium and Titanium Alloys. Titanium in Medicine. Engineering Materials: Springer Berlin Heidelberg; 2001. p. 145-70.
35. de Almeida PDV, Gregio A, Machado M, De Lima A, Azevedo LR. Saliva composition and functions: a comprehensive review. J Contemp Dent Pract. 2008;9(3):72-80.
36. Healy K, Ducheyne P. Passive dissolution kinetics of titanium in vitro. J Mater Sci Mater Med. 1993;4(2):117-26.
37. Textor M, Sittig C, Frauchiger V, Tosatti S, Brunette DM. Properties and Biological Significance of Natural Oxide Films on Titanium and Its Alloys. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2001. 171-230 p.
38. Listgarten M, Buser D, Steinemann S, Donath K, Lang N, Weber H. Light and transmission electron microscopy of the intact interfaces between non-submerged titanium-coated epoxy resin implants and bone or gingiva. J Dent Res. 1992;71(2):364-71.
39. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. Eur Spine J. 2001;10 Suppl 2:S96-101.
40. Frost H. The Biology of Fracture Healing: An Overview for Clinicians. Part II. Clin Orthop Relat Res. 1989;248:294-309.
41. Urist MR, Strates BS. The classic: Bone morphogenetic protein. Clin Orthop Relat Res. 2009;467(12):3051-62.

42. Johansson CB, Han CH, Wennerberg A, Albrektsson T. A quantitative comparison of machined commercially pure titanium and titanium-aluminum-vanadium implants in rabbit bone. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1998;13(3):315-21.
43. Leventhal GS. Titanium, a metal for surgery. *J Bone Joint Surg Am*. 1951;33(2):473-4.
44. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Branemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg*. 1981;10(6):387-416.
45. Coelho PG, Granjeiro JM, Romanos GE, Suzuki M, Silva NRF, Cardaropoli G, et al. Basic research methods and current trends of dental implant surfaces. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009;88B(2):579-96.
46. Vandeweghe S, Nicolopoulos C, Thevissen E, Jimbo R, Wennerberg A, De Bruyn H. Immediate loading of screw-retained all-ceramic crowns in immediate versus delayed single implant placement. *Int J Prosthodont*. 2013;26(5):458-64.
47. Ballo AM, Cekic-Nagas I, Ergun G, Lassila L, Palmquist A, Borchardt P, et al. Osseointegration of fiber-reinforced composite implants: histological and ultrastructural observations. *Dent Mater*. 2014;30(12):e384-95.
48. Galli S, Naito Y, Karlsson J, He W, Miyamoto I, Xue Y, et al. Local release of magnesium from mesoporous TiO₂ coatings stimulates the peri-implant expression of osteogenic markers and improves osteoconductivity in vivo. *Acta Biomater*. 2014;10(12):5193-201.
49. Galli S, Naito Y, Karlsson J, He W, Andersson M, Wennerberg A, et al. Osteoconductive potential of mesoporous titania implant surfaces loaded with magnesium: an experimental study in the rabbit. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2015;17(6):1048-59.
50. Jimbo R, Tovar N, Marin C, Teixeira HS, Anchieta RB, Silveira LM, et al. The impact of a modified cutting flute implant design on osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2014;43(7):883-8.
51. Dohan Ehrenfest DM, Coelho PG, Kang BS, Sul YT, Albrektsson T. Classification of osseointegrated implant surfaces: materials, chemistry and topography. *Trends Biotechnol*. 2010;28(4):198-206.
52. Wennerberg A, Albrektsson T. On implant surfaces: a review of current knowledge and opinions. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2010;25(1):63-74.

53. Morra M. Biochemical modification of titanium surfaces: peptides and ECM proteins. *Eur Cell Mater.* 2006;12:1-15.
54. Gredes T, Kubasiewicz-Ross P, Gedrange T, Dominiak M, Kunert-Keil C. Comparison of surface modified zirconia implants with commercially available zirconium and titanium implants: a histological study in pigs. *Implant Dent.* 2014;23(4):502-7.
55. Schenk RK, Buser D. Osseointegration: a reality. *Periodontol 2000.* 1998;17:22-35.
56. Kittel C. *Introduction to solid state physics*: Wiley; 1971.
57. Elias CN, Oshida Y, Lima JH, Muller CA. Relationship between surface properties (roughness, wettability and morphology) of titanium and dental implant removal torque. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2008;1(3):234-42.
58. Albrektsson T, Wennerberg A. Oral implant surfaces: Part 1--review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. *Int J Prosthodont.* 2004;17(5):536-43.
59. Tsimbouri P, Gadegaard N, Burgess K, White K, Reynolds P, Herzyk P, et al. Nanotopographical effects on mesenchymal stem cell morphology and phenotype. *J Cell Biochem.* 2014;115(2):380-90.
60. Lemons JE. Biomaterials, biomechanics, tissue healing, and immediate-function dental implants. *J Oral Implantol.* 2004;30(5):318-24.
61. Frojd V, Franke-Stenport V, Meirelles L, Wennerberg A. Increased bone contact to a calcium-incorporated oxidized commercially pure titanium implant: an in-vivo study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2008;37(6):561-6.
62. Wennerberg A, Albrektsson T. Suggested guidelines for the topographic evaluation of implant surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000;15(3):331-44.
63. Bobyn JD, Pilliar RM, Cameron HU, Weatherly GC. The optimum pore size for the fixation of porous-surfaced metal implants by the ingrowth of bone. *Clin Orthop Relat Res.* 1980(150):263-70.
64. Wennerberg A, Ide-Ektessabi A, Hatkamata S, Sawase T, Johansson C, Albrektsson T, et al. Titanium release from implants prepared with different surface roughness. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15(5):505-12.

65. Wennerberg A, Jimbo R, Stubinger S, Obrecht M, Dard M, Berner S. Nanostructures and hydrophilicity influence osseointegration: a biomechanical study in the rabbit tibia. *Clin Oral Implants Res.* 2014;25(9):1041-50.
66. Ahn EH, Kim Y, Kshitiz, An SS, Afzal J, Lee S, et al. Spatial control of adult stem cell fate using nanotopographic cues. *Biomaterials.* 2014;35(8):2401-10.
67. Svanborg LM, Andersson M, Wennerberg A. Surface characterization of commercial oral implants on the nanometer level. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2010;92(2):462-9.
68. Biggs MJ, Richards RG, Gadegaard N, McMurray RJ, Affrossman S, Wilkinson CD, et al. Interactions with nanoscale topography: adhesion quantification and signal transduction in cells of osteogenic and multipotent lineage. *J Biomed Mater Res A.* 2009;91(1):195-208.
69. Sul YT, Johansson C, Albrektsson T. Which surface properties enhance bone response to implants? Comparison of oxidized magnesium, TiUnite, and Osseotite implant surfaces. *Int J Prosthodont.* 2006;19(4):319-28.
70. Cook SD, Thomas KA, Kay JF, Jarcho M. Hydroxyapatite-coated titanium for orthopedic implant applications. *Clin Orthop Relat Res.* 1988(232):225-43.
71. Mehdikhani-Nahrkhalaji M, Fathi MH, Mortazavi V, Mousavi SB, Akhavan A, Haghghat A, et al. Biodegradable nanocomposite coatings accelerate bone healing: In vivo evaluation. *Dent Res J (Isfahan).* 2015;12(1):89-99.
72. Xuereb M, Camilleri J, Attard NJ. Systematic review of current dental implant coating materials and novel coating techniques. *Int J Prosthodont.* 2015;28(1):51-9.
73. Morra M, Cassinelli C, Cascardo G, Mazzucco L, Borzini P, Fini M, et al. Collagen I-coated titanium surfaces: mesenchymal cell adhesion and in vivo evaluation in trabecular bone implants. *J Biomed Mater Res A.* 2006;78(3):449-58.
74. Sverzut AT, Crippa GE, Morra M, de Oliveira PT, Beloti MM, Rosa AL. Effects of type I collagen coating on titanium osseointegration: histomorphometric, cellular and molecular analyses. *Biomed Mater.* 2012;7(3):035007.
75. Sul YT, Johansson C, Byon E, Albrektsson T. The bone response of oxidized bioactive and non-bioactive titanium implants. *Biomaterials.* 2005;26(33):6720-30.
76. Granato R, Marin C, Suzuki M, Gil JN, Janal MN, Coelho PG. Biomechanical and histomorphometric evaluation of a thin ion beam bioceramic deposition on plateau root form

implants: an experimental study in dogs. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2009;90(1):396-403.

77. Rokkum M, Reigstad A, Johansson CB. HA particles can be released from well-fixed HA-coated stems: histopathology of biopsies from 20 hips 2-8 years after implantation. *Acta Orthop Scand.* 2002;73(3):298-306.

78. Narducci P, Nicolin V. Differentiation of activated monocytes into osteoclast-like cells on a hydroxyapatite substrate: an in vitro study. *Ann Anat.* 2009;191(4):349-55.

79. Coelho PG, Lemons JE. Physico/chemical characterization and in vivo evaluation of nanothickness bioceramic depositions on alumina-blasted/acid-etched Ti-6Al-4V implant surfaces. *J Biomed Mater Res A.* 2009;90(2):351-61.

80. Mendes VC, Moineddin R, Davies JE. Discrete calcium phosphate nanocrystalline deposition enhances osteoconduction on titanium-based implant surfaces. *J Biomed Mater Res A.* 2009;90(2):577-85.

81. Jayesh RS, Dhinakarsamy V. Osseointegration. *J Pharm Bioallied Sci.* 2015;7(Suppl 1):S226-9.

82. Zreiqat H, Howlett CR, Zannettino A, Evans P, Schulze-Tanzil G, Knabe C, et al. Mechanisms of magnesium-stimulated adhesion of osteoblastic cells to commonly used orthopaedic implants. *J Biomed Mater Res.* 2002;62(2):175-84.

83. Ko YH, Hong S, Pedersen PL. Chemical mechanism of ATP synthase. Magnesium plays a pivotal role in formation of the transition state where ATP is synthesized from ADP and inorganic phosphate. *J Biol Chem.* 1999;274(41):28853-6.

84. Witte F. The history of biodegradable magnesium implants: a review. *Acta Biomater.* 2010;6(5):1680-92.

85. Zhu S, Xu L, Huang N. [Development of biodegradable magnesium-based biomaterials]. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi.* 2009;26(2):437-9, 51.

86. Williams D. New interests in magnesium. *Med Device Technol.* 2006;17(3):9-10.

87. Krämer M, Schilling M, Eifler R, Hering B, Reifenrath J, Besdo S, et al. Corrosion behavior, biocompatibility and biomechanical stability of a prototype magnesium-based biodegradable intramedullary nailing system. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2016;59:129-35.

88. Song GL, Atrens A. Corrosion mechanisms of magnesium alloys. *Adv Eng Mater.* 1999;1(1):11-33.
89. Makar GL, Kruger J. Corrosion of magnesium. *Int Mater Rev.* 1993;38(3):138-53.
90. Li Z, Song G-L, Song S. Effect of bicarbonate on biodegradation behaviour of pure magnesium in a simulated body fluid. *Electrochim Acta.* 2014;115:56-65.
91. Yang GF, Kim YC, Han HS, Lee GC, Seok HK, Lee JC. In vitro dynamic degradation behavior of new magnesium alloy for orthopedic applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2015;103(4):807-15.
92. Zeng R-C, Qi W-C, Cui H-Z, Zhang F, Li S-Q, Han E-H. In vitro corrosion of as-extruded Mg–Ca alloys—the influence of Ca concentration. *Corros Sci.* 2015;96:23-31.
93. Kirkland N, Birbilis N, Staiger M. Assessing the corrosion of biodegradable magnesium implants: a critical review of current methodologies and their limitations. *Acta Biomater.* 2012;8(3):925-36.
94. Walker J, Shadanbaz S, Kirkland NT, Stace E, Woodfield T, Staiger MP, et al. Magnesium alloys: predicting in vivo corrosion with in vitro immersion testing. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2012;100(4):1134-41.
95. Zhao D, Wang T, Kuhlmann J, Dong Z, Chen S, Joshi M, et al. In vivo monitoring the biodegradation of magnesium alloys with an electrochemical H₂ sensor. *Acta Biomater.* 2016;36:361-8.
96. Wang Y, Zhu Z, He Y, Jiang Y, Zhang J, Niu J, et al. In vivo degradation behavior and biocompatibility of Mg-Nd-Zn-Zr alloy at early stage. *Int J Mol Med.* 2012;29(2):178.
97. Schumacher S, Stahl J, Baumer W, Seitz JM, Bach FW, Petersen LJ, et al. Ex vivo examination of the biocompatibility of biodegradable magnesium via microdialysis in the isolated perfused bovine udder model. *Int J Artif Organs.* 2011;34(1):34-43.
98. Abed E, Moreau R. Importance of melastatin-like transient receptor potential 7 and magnesium in the stimulation of osteoblast proliferation and migration by platelet-derived growth factor. (1522-1563 (Electronic)).
99. Park KD, Lee BA, Piao XH, Lee KK, Park SW, Oh HK, et al. Effect of magnesium and calcium phosphate coatings on osteoblastic responses to the titanium surface. *J Adv Prosthodont.* 2013;5(4):402-8.

100. Cecchinato F, Xue Y, Karlsson J, He W, Wennerberg A, Mustafa K, et al. In vitro evaluation of human fetal osteoblast response to magnesium loaded mesoporous TiO₂ coating. *J Biomed Mater Res A*. 2014;102(11):3862-71.
101. Galli S, Jimbo R, Andersson M, Bryington M, Albrektsson T. Surface characterization and clinical review of two commercially available implants. *Implant Dent*. 2013;22(5):507-18.
102. Jung SC, Lee K, Seo KW, Lee WG, Kim BH. Effect of Mg ion bioactivity on the TiO₂ nano-network surface. *J Nanosci Nanotechnol*. 2013;13(1):617-20.
103. Urgan G, Cakir A. Investigation of MgO effect on bioactivity of coatings produced by MAO. *Surf Coat Technol*. 2015;282:52-60.
104. Nguyen TY, Garcia S, Liew CG, Liu H. Effects of magnesium on growth and proliferation of human embryonic stem cells. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2012;2012:723-6.
105. Kim BS, Kim JS, Park YM, Choi BY, Lee J. Mg ion implantation on SLA-treated titanium surface and its effects on the behavior of mesenchymal stem cell. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2013;33(3):1554-60.
106. Kwon Y-D, Lee D-W, Hong S-O. Magnesium vs. machined surfaced titanium-osteoblast and osteoclast differentiation. *J Adv Prosthodont*. 2014;6(3):157-64.
107. Wang G, Li J, Zhang W, Xu L, Pan H, Wen J, et al. Magnesium ion implantation on a micro/nanostructured titanium surface promotes its bioactivity and osteogenic differentiation function. *Int J Nanomedicine*. 2014;9:2387-98.
108. Wu L, Feyerabend F, Schilling AF, Willumeit-Römer R, Luthringer BJ. Effects of extracellular magnesium extract on the proliferation and differentiation of human osteoblasts and osteoclasts in coculture. *Acta Biomater*. 2015;27:294-304.
109. He L, Zhang X, Liu B, Tian Y, Ma W. Effect of magnesium ion on human osteoblast activity. *Braz J Med Biol Res*. 2016;49(7).
110. Tan C, Yaghoubi A, Ramesh S, Adzila S, Purbolaksono J, Hassan M, et al. Sintering and mechanical properties of MgO-doped nanocrystalline hydroxyapatite. *Ceram Int*. 2013;39(8):8979-83.

111. Roy M, Balla VK, Bandyopadhyay A, Bose S. MgO-doped tantalum coating on Ti: microstructural study and biocompatibility evaluation. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2012;4(2):577-80.
112. Cho LR, Kim DG, Kim JH, Byon ES, Jeong YS, Park CJ. Bone response of Mg ion-implanted clinical implants with the plasma source ion implantation method. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21(8):848-56.
113. Pang KM, Lee JW, Lee JY, Lee JB, Kim SM, Kim MJ, et al. Clinical outcomes of magnesium-incorporated oxidised implants: a randomised double-blind clinical trial. *Clin Oral Implants Res*. 2014;25(5):616-21.
114. McCafferty E. Kinetics of Corrosion. *Introduction to Corrosion Science*: Springer New York; 2010. p. 119-75.
115. Geis-Gerstorfer J. In vitro corrosion measurements of dental alloys. *J Dent*. 1994;22(4):247-51.
116. Dentistry - Corrosion test methods for metallic materials (ISO 10271:2011). Static immersion test with periodic analysis. Brussels: Comité Européen de Normalisation; 2011. p. 4.
117. Leung VW, Darvell BW. Artificial salivas for in vitro studies of dental materials. *J Dent*. 1997;25(6):475-84.
118. Souder W, Sweeney W. Is mercury poisonous in dental amalgam restorations? *Dental Cosmos*. 1931;73:1145-52.
119. Fusayama T, Katayori T, Nomoto S. Corrosion of gold and amalgam placed in contact with each other. *J Dent Res*. 1963;42:1183-97.
120. Fovet Y, Gal JY, Toumelin-Chemla F. Influence of pH and fluoride concentration on titanium passivating layer: stability of titanium dioxide. *Talanta*. 2001;53(5):1053-63.
121. Abey S, Mathew MT, Lee DJ, Knoernschild KL, Wimmer MA, Sukotjo C. Electrochemical behavior of titanium in artificial saliva: influence of pH. *J Oral Implantol*. 2014;40(1):3-10.
122. Suito H, Iwawaki Y, Goto T, Tomotake Y, Ichikawa T. Oral factors affecting titanium elution and corrosion: an in vitro study using simulated body fluid. *PLoS One*. 2013;8(6):e66052.

123. Reclaru L, Meyer JM. Effects of fluorides on titanium and other dental alloys in dentistry. *Biomaterials*. 1998;19(1-3):85-92.
124. Noguti J, de Oliveira F, Peres RC, Renno ACM, Ribeiro DA. The role of fluoride on the process of titanium corrosion in oral cavity. *Biometals*. 2012;25(5):859-62.
125. Rosalbino F, Delsante S, Borzone G, Scavino G. Influence of noble metals alloying additions on the corrosion behaviour of titanium in a fluoride-containing environment. *J Mater Sci Mater Med*. 2012;23(5):1129-37.
126. Kassab EJ, Gomes JP. Assessment of nickel titanium and beta titanium corrosion resistance behavior in fluoride and chloride environments. *Angle Orthod*. 2013;83(5):864-9.
127. Milosev I, Kapun B, Selih VS. The effect of fluoride ions on the corrosion behaviour of Ti metal, and Ti6-Al-7Nb and Ti-6Al-4V alloys in artificial saliva. *Acta Chim Slov*. 2013;60(3):543-55.
128. Smaira E, El Ghoul W, Rahi M, Mostapha G, Rifai K. Effect of Fluoride-Based Prophylactic Agents on Titanium Corrosion: A Literature Review and Clinical Implications. *Dental News*. 2014;21(3):12-7.
129. Juanito GM, Morsch CS, Benfatti CA, Fredel MC, Magini RS, Souza JC. Effect of Fluoride and Bleaching Agents on the Degradation of Titanium: Literature Review. *Dentistry (Sunnyvale)*. 2015;2015.
130. Rodrigues A, Oliveira N, Dos Santos M, Guastaldi A. Electrochemical behavior and corrosion resistance of Ti-15Mo alloy in naturally-aerated solutions, containing chloride and fluoride ions. *J Mater Sci Mater Med*. 2015;26(1):1-9.
131. Souza JC, Barbosa SL, Ariza EA, Henriques M, Teughels W, Ponthiaux P, et al. How do titanium and Ti6Al4V corrode in fluoridated medium as found in the oral cavity? An in vitro study. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2015;47:384-93.
132. Majumdar P, Singh SB, Chatterjee UK, Chakraborty M. Corrosion behaviour of heat treated boron free and boron containing Ti-13Zr-13Nb (wt%) alloy in simulated body fluid. *J Mater Sci Mater Med*. 2011;22(4):797-807.
133. Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*. 2006;27(15):2907-15.
134. Bohner M, Lemaître J. Can bioactivity be tested in vitro with SBF solution? *Biomaterials*. 2009;30(12):2175-9.

135. Houk RS, Thompson JJ. Elemental and isotopic analysis of solutions by mass spectrometry using a plasma ion source. *Am Mineral*. 1982;67:238-43.
136. Okazaki Y, Gotoh E. Comparison of metal release from various metallic biomaterials in vitro. *Biomaterials*. 2005;26(1):11-21.
137. Thomas R. *Practical Guide to ICP-MS: A Tutorial for Beginners*: Taylor & Francis; 2003.
138. Mhlanga N, Ray SS. Characterisation and thermal properties of titanium dioxide nanoparticles-containing biodegradable polylactide composites synthesized by sol-gel method. *J Nanosci Nanotechnol*. 2014;14(6):4269-77.
139. Bragg WH, Bragg WL. The Reflection of X-rays by Crystals. *Proc Math Phys Eng Sci*. 1913;88(605):428-38.
140. Sampath Kumar TS. Chapter 2 - Physical and Chemical Characterization of Biomaterials A2 - Bose, Amit BandyopadhyaySusmita. *Characterization of Biomaterials*. Oxford: Academic Press; 2013. p. 11-47.
141. Hanawa T. A comprehensive review of techniques for biofunctionalization of titanium. *J Periodontal Implant Sci*. 2011;41(6):263-72.
142. Steinemann SG. Titanium—the material of choice? *Periodontol 2000*. 1998;17(1):7-21.
143. Albrektsson T, Brånemark P, Hansson H-A, Kasemo B, Larsson K, Lundström I, et al. The interface zone of inorganic implants *In vivo*: Titanium implants in bone. *Ann Biomed Eng*. 1983;11(1):1-27.
144. Pigatto PD, Guzzi G, Brambilla L, Sforza C. Titanium allergy associated with dental implant failure. *Clin Oral Implants Res*. 2009;20(8):857.
145. Foti B, Tavitian P, Tosello A, Bonfil JJ, Franquin JC. Polymetallism and osseointegration in oral implantology: pilot study on primate. *J Oral Rehabil*. 1999;26(6):495-502.
146. Huang HH. Effects of fluoride concentration and elastic tensile strain on the corrosion resistance of commercially pure titanium. *Biomaterials*. 2002;23(1):59-63.
147. Olmedo DG, Duffó G, Cabrini RL, Guglielmotti MB. Local effect of titanium implant corrosion: an experimental study in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2008;37(11):1032-8.

148. Mine Y, Makihira S, Nikawa H, Murata H, Hosokawa R, Hiyama A, et al. Impact of titanium ions on osteoblast-, osteoclast- and gingival epithelial-like cells. *J Prosthodont Res.* 2010;54(1):1-6.
149. Makihira S, Mine Y, Nikawa H, Shuto T, Iwata S, Hosokawa R, et al. Titanium ion induces necrosis and sensitivity to lipopolysaccharide in gingival epithelial-like cells. *Toxicol In Vitro.* 2010;24(7):1905-10.
150. Sumitomo N, Noritake K, Hattori T, Morikawa K, Niwa S, Sato K, et al. Experiment study on fracture fixation with low rigidity titanium alloy. *J Mater Sci Mater Med.* 2008;19(4):1581-6.
151. Niinomi M, Nakai M. Titanium-based biomaterials for preventing stress shielding between implant devices and bone. *Int J Biomater.* 2011;2011.
152. Gepreel MA-H, Niinomi M. Biocompatibility of Ti-alloys for long-term implantation. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2013;20:407-15.
153. Jiang G, Wang C, Li Q, Dong J, He G. Porous titanium with entangled structure filled with biodegradable magnesium for potential biomedical applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2015;47:142-9.
154. Song G. Control of biodegradation of biocompatible magnesium alloys. *Corros Sci.* 2007;49(4):1696-701.
155. Lindholm-Sethson B, Ardlin BI. Effects of pH and fluoride concentration on the corrosion of titanium. *J Biomed Mater Res A.* 2008;86(1):149-59.
156. Bolzoni L, Ruiz-Navas EM, Gordo E. Powder metallurgy CP-Ti performances: Hydride–dehydride vs. sponge. *Mater Des.* 2014;60(0):226-32.
157. Nourbakhsh F, Rajurkar KP, Malshe AP, Cao J. Wire Electro-Discharge Machining of Titanium Alloy. *Procedia CIRP.* 2013;5(0):13-8.
158. Implants for surgery -- Metallic materials -- Part 2: Unalloyed titanium. ISO 5832-2:1999. Brussels: Comité Européen de Normalisation; 1999.
159. Coated abrasives -- Grain size analysis -- Part 1: Grain size distribution test. ISO 6344-1:1998. Brussels: Comité Européen de Normalisation; 1998.
160. Zhang BB, Zheng YF, Liu Y. Effect of Ag on the corrosion behavior of Ti–Ag alloys in artificial saliva solutions. *Dent Mater.* 2009;25(5):672-7.

161. Water for analytical laboratory use -- Specification and test methods. ISO 3696:1987. Bruxelles: Comité Européen de Normalisation; 1987.
162. Compressed-air dryers -- Specifications and testing. ISO 7183:2007. Brussels: Comité Européen de Normalisation; 2007.
163. Borosilcate glass 3.3 - properties. ISO 3585:1998. Brussels: Comité Européen de Normalisation; 1998.
164. Kuwahara H, Al-Abdullat Y, Mazaki N, Tsutsumi S, Aizawa T. Precipitation of magnesium apatite on pure magnesium surface during immersing in Hank's solution. *Mater Trans.* 2001;42(7):1317-21.
165. Ma CH, Huang JH, Chen H. Residual stress measurement in textured thin film by grazing-incidence X-ray diffraction. *Thin Solid Films.* 2002;418(2):73-8.
166. Geometrical Product Specifications (GPS) -- Surface texture: Profile method -- Terms, definitions and surface texture parameters. ISO 4287:1997. Brussels: Comité Européen de Normalisation; 1997.
167. Geometrical Product Specifications (GPS) -- Surface texture: Profile method -- Rules and procedures for the assessment of surface texture. ISO 4288:1996. Brussels: Comité Européen de Normalisation; 1996.
168. Geometrical Product Specifications (GPS) -- Surface texture: Profile method -- Nominal characteristics of contact (stylus) instruments. ISO 3274:1996. Brussels: Comité Européen de Normalisation; 1996.
169. Hanawa T. Evaluation techniques of metallic biomaterials in vitro. *Sci Technol Adv Mater.* 2002;3(4):289-95.
170. Dimić I, Cvijović-Alagić I, Völker B, Hohenwarter A, Pippan R, Veljović Đ, et al. Microstructure and metallic ion release of pure titanium and Ti–13Nb–13Zr alloy processed by high pressure torsion. *Mater Des.* 2016;91:340-7.
171. Jacobs JJ, Urban RM, Hallab NJ, Skipor AK, Fischer A, Wimmer MA. Metal-on-metal Bearing Surfaces. *J Am Acad Orthop Surg.* 2009;17(2):69-76.
172. Siddiqi A, Payne AG, De Silva RK, Duncan WJ. Titanium allergy: could it affect dental implant integration? *Clin Oral Implants Res.* 2011;22(7):673-80.
173. Olmedo DG, Paparella ML, Spielberg M, Brandizzi D, Guglielmotti MB, Cabrini RL. Oral mucosa tissue response to titanium cover screws. *J Periodontol.* 2012;83(8):973-80.

174. Özcan M, Hämmerle C. Titanium as a reconstruction and implant material in dentistry: advantages and pitfalls. *Materials (Basel)*. 2012;5(9):1528-45.
175. Nakagawa M, Matsuya S, Udoh K. Corrosion behavior of pure titanium and titanium alloys in fluoride-containing solutions. *Dent Mater J*. 2001;20(4):305-14.
176. Souza JCM, Henriques M, Teughels W, Ponthiaux P, Celis J-P, Rocha LA. Wear and Corrosion Interactions on Titanium in Oral Environment: Literature Review. *J Bio Tribo Corros*. 2015;1(2):13.
177. Mabileau G, Bourdon S, Joly-Guillou ML, Filmon R, Baslé MF, Chappard D. Influence of fluoride, hydrogen peroxide and lactic acid on the corrosion resistance of commercially pure titanium. *Acta Biomater*. 2006;2(1):121-9.
178. Li JY, Zheng LW, Ma L, Kwong DL, Cheung LK, Pow EH. Effect of Fluoride-Modified Titanium Surface on Early Adhesion of Irradiated Osteoblasts. *Biomed Res Int*. 2015;2015:219752.
179. Koike M, Fujii H. The corrosion resistance of pure titanium in organic acids. *Biomaterials*. 2001;22(21):2931-6.
180. Schiff N, Grosgeat B, Lissac M, Dalard F. Influence of fluoride content and pH on the corrosion resistance of titanium and its alloys. *Biomaterials*. 2002;23(9):1995-2002.
181. Wachi T, Shuto T, Shinohara Y, Matono Y, Makihira S. Release of titanium ions from an implant surface and their effect on cytokine production related to alveolar bone resorption. *Toxicology*. 2015;327:1-9.
182. Hihara LH, Latanision RM. Corrosion of metal matrix composites. *Int Mater Rev*. 1994;39(6):245-64.
183. Candan S, Unal M, Koc E, Turen Y, Candan E. Effects of titanium addition on mechanical and corrosion behaviours of AZ91 magnesium alloy. *J Alloys Compd*. 2011;509(5):1958-63.
184. Esen Z, Dikici B, Duygulu O, Dericioglu AF. Titanium–magnesium based composites: Mechanical properties and in-vitro corrosion response in Ringer's solution. *Mater Sci Eng A*. 2013;573:119-26.
185. Song G. Recent progress in corrosion and protection of magnesium alloys. *Adv Eng Mater*. 2005;7(7):563-86.

186. Song G, Atrens A, StJohn D. An Hydrogen Evolution Method for the Estimation of the Corrosion Rate of Magnesium Alloys. In: Mathaudhu SN, Luo AA, Neelameggham NR, Nyberg EA, Sillekens WH, editors. *Essential Readings in Magnesium Technology*. Cham: Springer International Publishing; 2016. p. 565-72.
187. Witte F, Kaese V, Haferkamp H, Switzer E, Meyer-Lindenberg A, Wirth C, et al. In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response. *Biomaterials*. 2005;26(17):3557-63.
188. Ma W, Liu Y, Wang W, Zhang Y. Effects of electrolyte component in simulated body fluid on the corrosion behavior and mechanical integrity of magnesium. *Corros Sci*. 2015;98:201-10.
189. Song G, Atrens A. Understanding magnesium corrosion—a framework for improved alloy performance. *Adv Eng Mater*. 2003;5(12):837-58.
190. Williams G, Dafydd H, Subramanian R. Chloride Ion Concentration Effects on Passivity Breakdown in Magnesium. *ECS Trans*. 2014;58(31):23-34.
191. Taltavull C, Shi Z, Torres B, Rams J, Atrens A. Influence of the chloride ion concentration on the corrosion of high-purity Mg, ZE41 and AZ91 in buffered Hank's solution. *J Mater Sci Mater Med*. 2014;25(2):329-45.
192. Liu W, Cao F, Xia Y, Chang L, Zhang J. Localized Corrosion of Magnesium Alloys in NaCl Solutions Explored by Scanning Electrochemical Microscopy in Feedback Mode. *Electrochim Acta*. 2014;132:377-88.
193. Liu C-L, Zhang Y, Zhang C-Y, Wang W, Huang W-J, Chu PK. Synergistic effect of chloride ion and albumin on the corrosion of pure magnesium. *Front Mater Sci*. 2014;8(3):244-55.
194. Atrens A, Song GL, Liu M, Shi Z, Cao F, Dargusch MS. Review of recent developments in the field of magnesium corrosion. *Adv Eng Mater*. 2015;17(4):400-53.
195. Lebouil S, Duboin A, Monti F, Tabeling P, Volovitch P, Ogle K. A novel approach to on-line measurement of gas evolution kinetics: Application to the negative difference effect of Mg in chloride solution. *Electrochim Acta*. 2014;124:176-82.
196. Zhao M-C, Liu M, Song G-L, Atrens A. Influence of pH and chloride ion concentration on the corrosion of Mg alloy ZE41. *Corros Sci*. 2008;50(11):3168-78.

197. Takadama H, Kim H-M, Kokubo T, Nakamura T. TEM-EDX study of mechanism of bonelike apatite formation on bioactive titanium metal in simulated body fluid. *J Biomed Mater Res.* 2001;57(3):441-8.
198. Xin Y, Hu T, Chu P. In vitro studies of biomedical magnesium alloys in a simulated physiological environment: a review. *Acta Biomater.* 2011;7(4):1452-9.
199. Oliveira NCM, Moura CCG, Zanetta-Barbosa D, Mendonça DBS, Cooper L, Mendonça G, et al. Effects of titanium surface anodization with CaP incorporation on human osteoblastic response. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2013;33(4):1958-62.
200. Song G, Atrens A, Wu X, Zhang B. Corrosion behaviour of AZ21, AZ501 and AZ91 in sodium chloride. *Corros Sci.* 1998;40(10):1769-91.
201. Hickey DJ, Ercan B, Sun L, Webster TJ. Adding MgO nanoparticles to hydroxyapatite-PLLA nanocomposites for improved bone tissue engineering applications. *Acta Biomater.* 2015;14:175-84.
202. Arvidsson A, Franke-Stenport V, Andersson M, Kjellin P, Sul YT, Wennerberg A. Formation of calcium phosphates on titanium implants with four different bioactive surface preparations. An in vitro study. *J Mater Sci Mater Med.* 2007;18(10):1945-54.
203. Yang S, Lee S, Bajpai I, Kim S. Hydrothermal treatment of Ti surface to enhance the formation of low crystalline hydroxyl carbonate apatite. *Biomater Res.* 2015;19:4.
204. Hiromoto S, Yamamoto A. High corrosion resistance of magnesium coated with hydroxyapatite directly synthesized in an aqueous solution. *Electrochim Acta.* 2009;54(27):7085-93.
205. Suzuki O. Octacalcium phosphate: osteoconductivity and crystal chemistry. *Acta Biomater.* 2010;6(9):3379-87.
206. Gulbrandsen E, Taftø J, Olsen A. The passive behaviour of Mg in alkaline fluoride solutions. Electrochemical and electron microscopical investigations. *Corros Sci.* 1993;34(9):1423-40.
207. Barrere Fv, Van Blitterswijk C, De Groot K, Layrolle P. Nucleation of biomimetic Ca-P coatings on Ti6Al4V from a SBF× 5 solution: influence of magnesium. *Biomaterials.* 2002;23(10):2211-20.
208. Ng W, Chiu K, Cheng F. Effect of pH on the in vitro corrosion rate of magnesium degradable implant material. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2010;30(6):898-903.

209. Itälä AI, Ylänen HO, Ekholm C, Karlsson KH, Aro HT. Pore diameter of more than 100 μm is not requisite for bone ingrowth in rabbits. *J Biomed Mater Res.* 2001;58(6):679-83.
210. Li Q, Jiang G, Wang C, Dong J, He G. Mechanical degradation of porous titanium with entangled structure filled with biodegradable magnesium in Hanks' solution. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2015;57:349-54.
211. Kumar A, Bhat V, Balakrishnan M, Hashem M, Vellappally S, Al Kheraif AA, et al. Bioactivity And Surface Characteristics Of Titanium Implants Following Various Surface Treatments: An In Vitro Study. *J Oral Implantol.* 2014.
212. Götz H, Müller M, Emmel A, Holzwarth U, Erben R, Stangl R. Effect of surface finish on the osseointegration of laser-treated titanium alloy implants. *Biomaterials.* 2004;25(18):4057-64.
213. Karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials.* 2005;26(27):5474-91.
214. Hansen DC. Metal corrosion in the human body: the ultimate bio-corrosion scenario. *Electrochem Soc Interface.* 2008;17(2):31.
215. Mueller W-D, Nascimento ML, De Mele MFL. Critical discussion of the results from different corrosion studies of Mg and Mg alloys for biomaterial applications. *Acta Biomater.* 2010;6(5):1749-55.
216. Pan H, Zhao X, Darvell BW, Lu WW. Apatite-formation ability – Predictor of “bioactivity”? *Acta Biomater.* 2010;6(11):4181-8.

8. ŽIVOTOPIS

Zlatko Stanec rođen je 25.03.1974. godine u Brežicama, Republika Slovenija. Osnovnu školu završio je u Samoboru, a srednju školu zdravstvenog usmjerenja pohađao je u Zagrebu. Godine 1992. upisao je studij stomatologije na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu gdje je i diplomirao 1998. godine. Nakon položenog državnog ispita zapošljava se u Privatnoj stomatološkoj ordinaciji Stanec u Samoboru, a 2004. godine otvorio je vlastitu Ordinaciju dentalne medicine u kojoj i danas radi. Poslijediplomski sveučilišni doktorski studij upisao je 2011. godine na istom fakultetu. Područja interesa unutar dentalne medicine su mu protetika dentalne medicine i dentalna implantologija. Živi i radi u Samoboru.

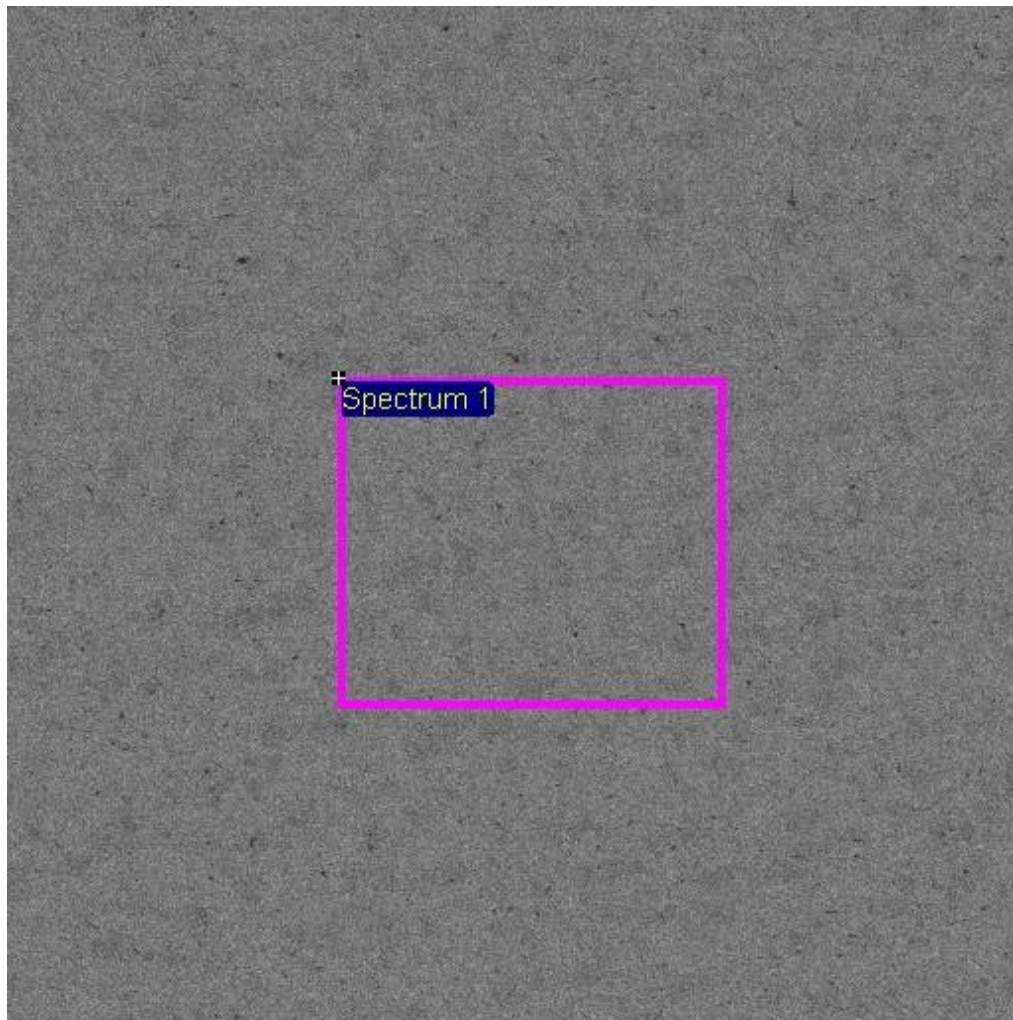
Popis objavljenih radova:

- Stanec Z, Halambek J, Maldini K, Balog M, Križik P, Schauperl Z, et al. Titanium ions release from an innovative titanium-magnesium composite: An in vitro study. *Acta stomatologica Croatica*. 2016 Mar;50(1):40.;
- Stanec Z, Halambek J, Maldini K, Balog M, Križik P, Schauperl Z, et al., editors. The effect of magnesium on the development of biologically inspired titanium-based surface produced by powder metallurgy technique. 25th Annual Scientific Meeting of European Association of Osseointegration; 2016: Wiley Online Library.;
- Balog M, Viskic J, Krizik P, Schauperl Z, Snajdar M, Stanec Z, et. al., editors. CP Ti fabricated by low temperature extrusion of HDH powder: application in dentistry. *Key engineering materials* 2016: Trans Tech Publ.;
- Balog M, Snajdar M, Krizik P, Schauperl Z, Stanec Z, Catic A. Titanium-Magnesium Composite for Dental Implants (BIACOM). In: The Minerals M, Materials S, editors. *TMS 2017 146th Annual Meeting & Exhibition Supplemental Proceedings*. Cham: Springer International Publishing; 2017. p. 271-84.

9. PRIVITAK

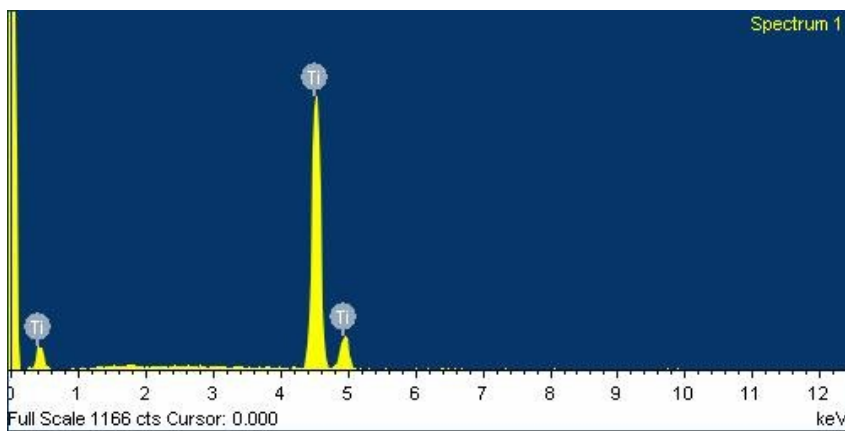
SEM snimke i EDS spektri površina uzoraka

površina uzorka CP Ti 4 prije uranjanja - spektar 1



300μm

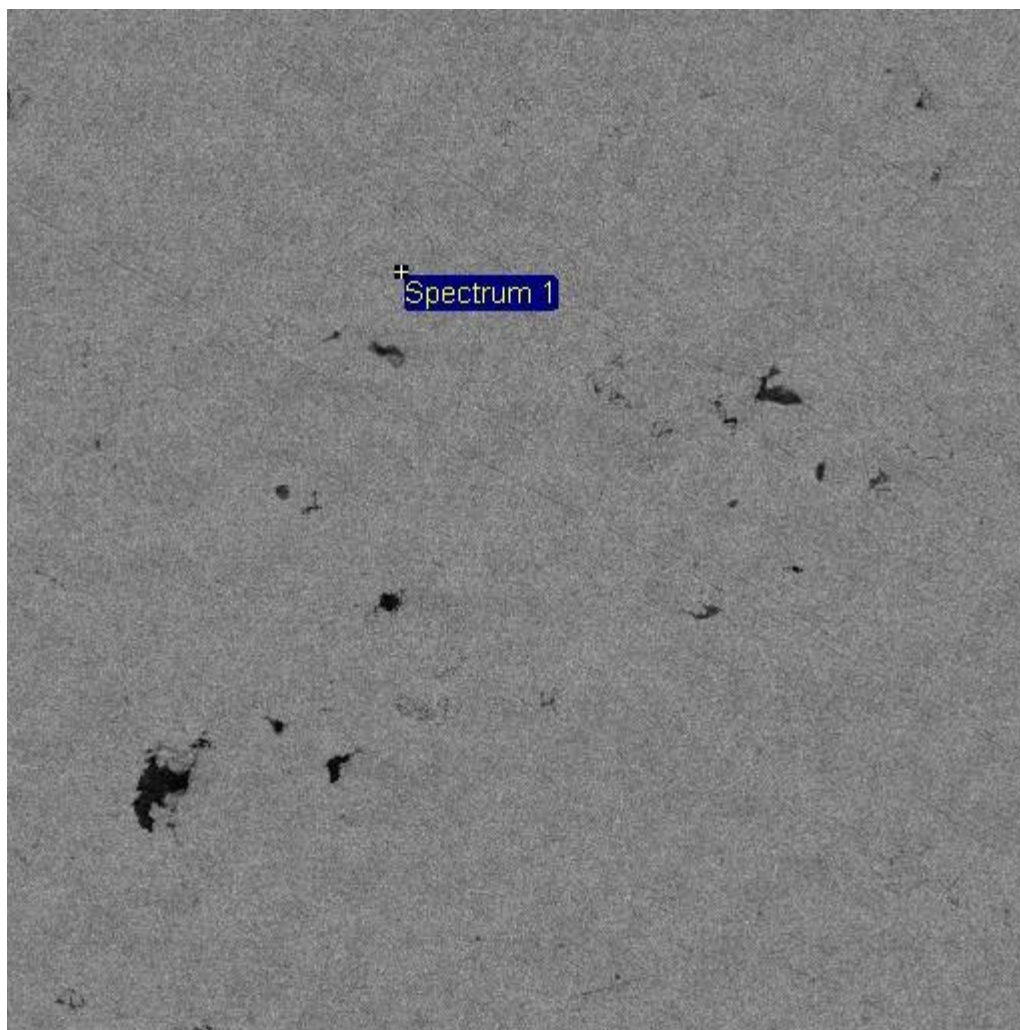
Electron Image 1



Elementi:

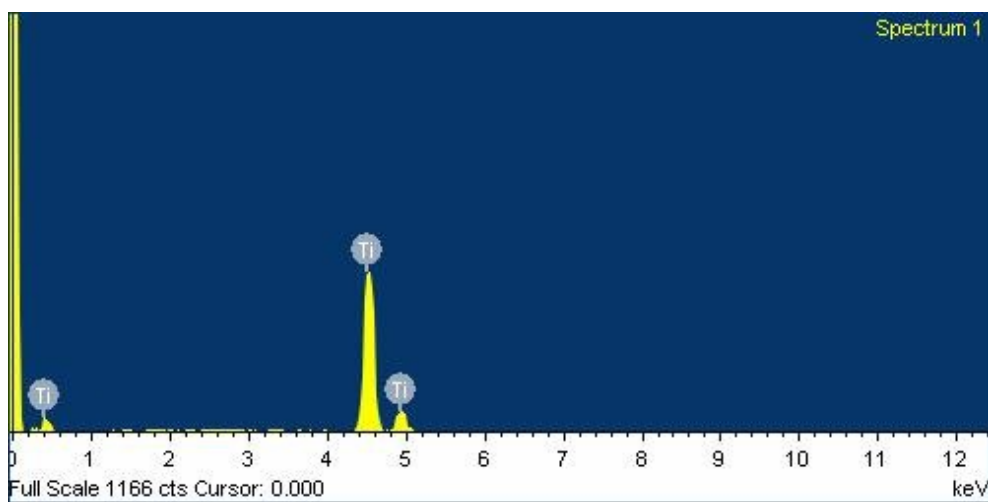
Ti

površina uzorka Ti-1Mg prije uranjanja - spektar 1



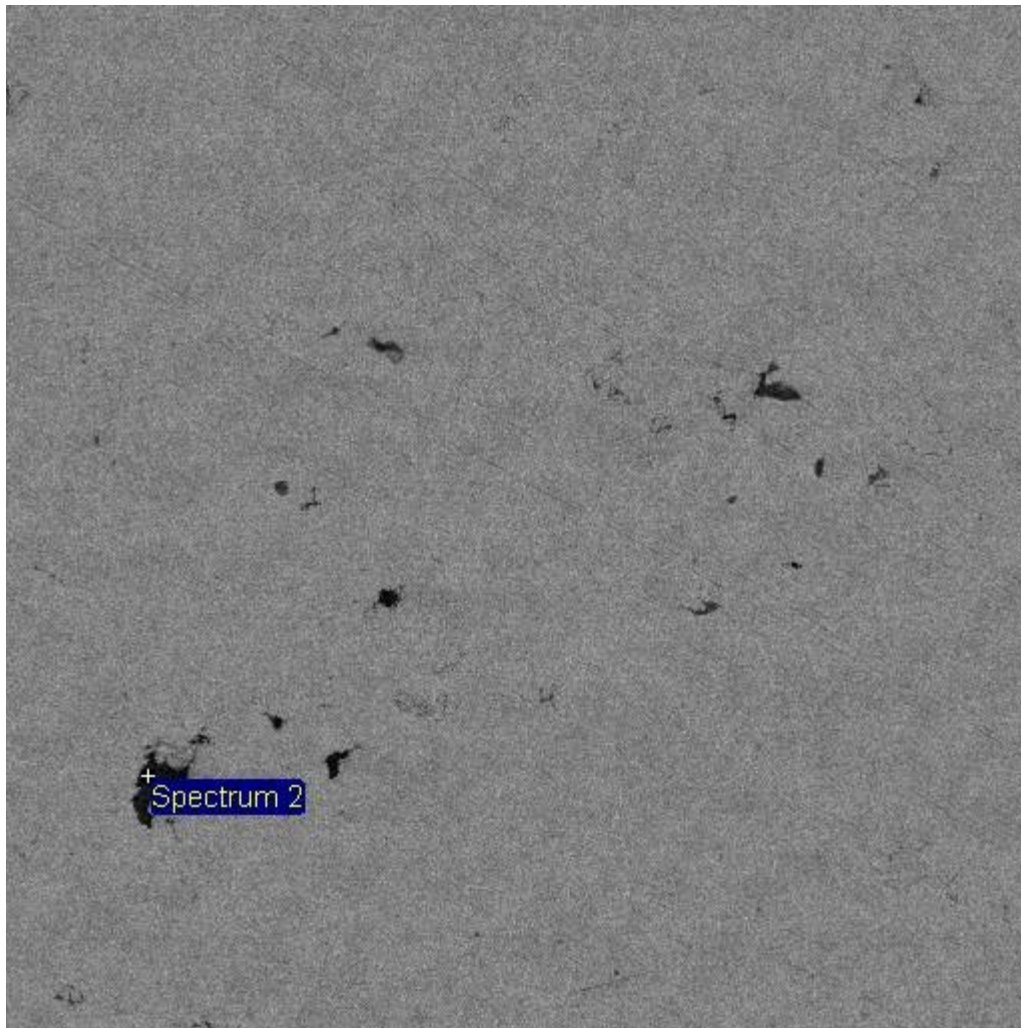
300µm

Electron Image 1



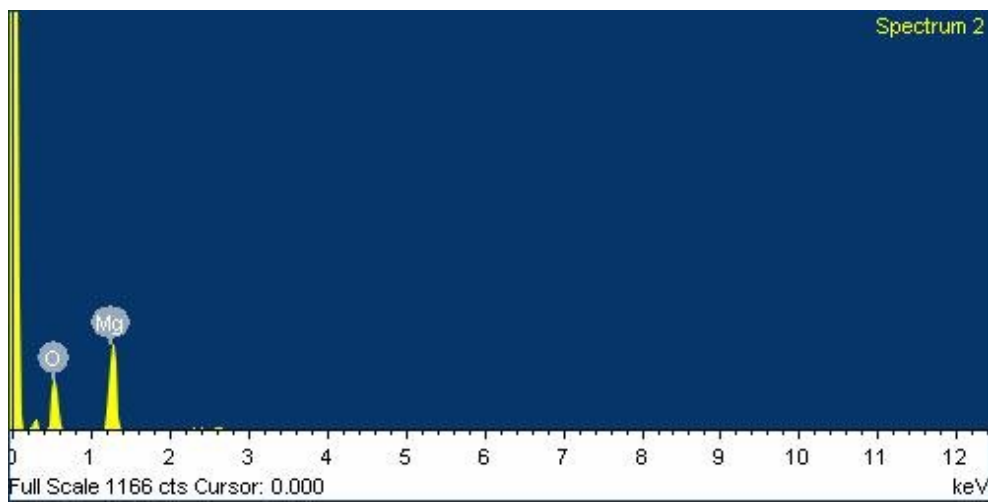
Elementi:
Ti

površina uzorka Ti-1Mg prije uranjanja - spektar 2



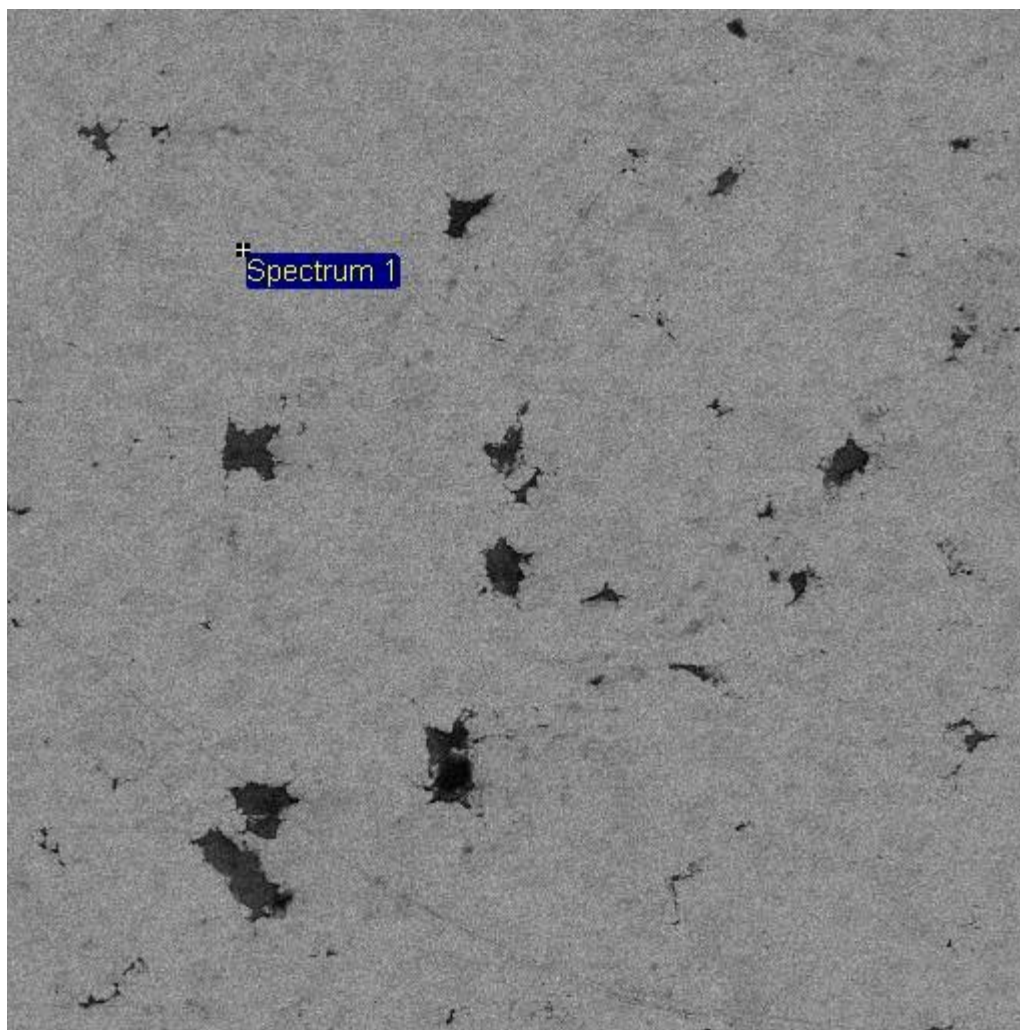
300µm

Electron Image 1



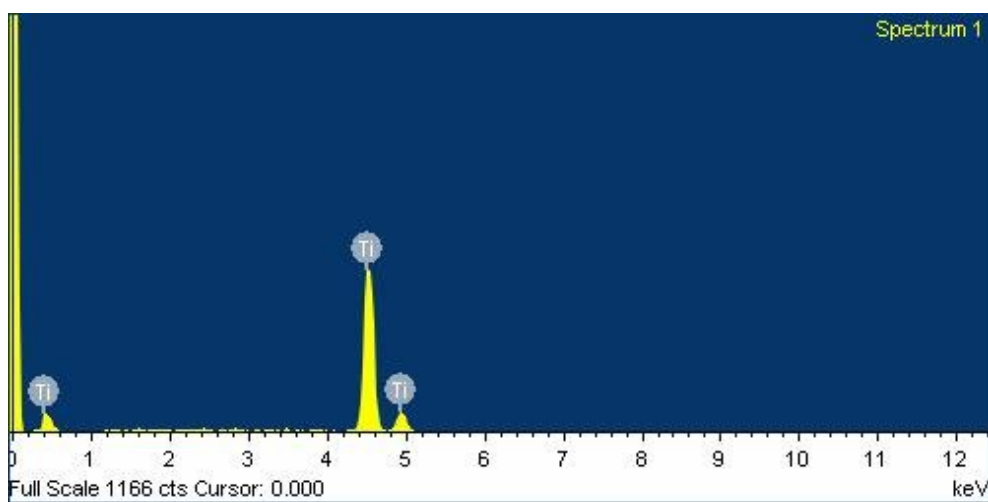
Elementi:
Mg
O

površina uzorka Ti-2Mg prije uranjanja - spektar 1



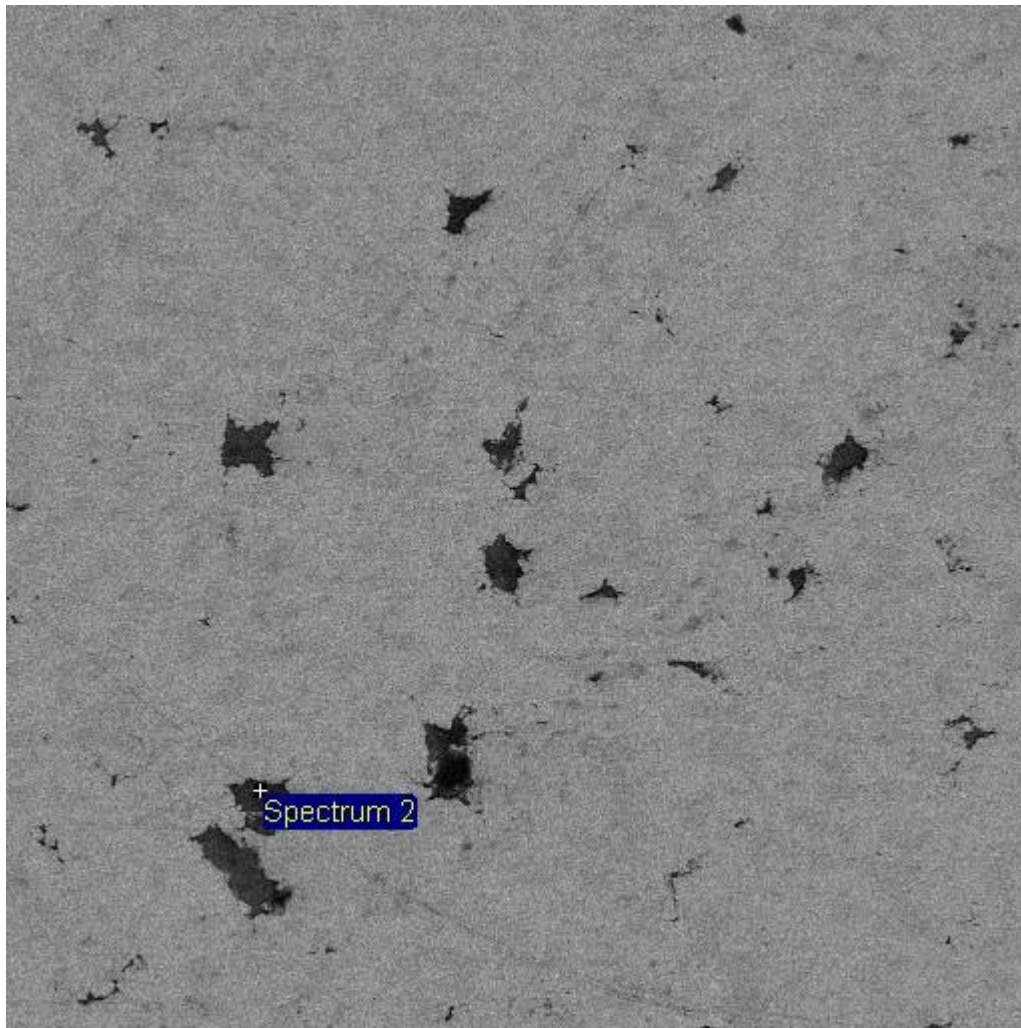
300µm

Electron Image 1



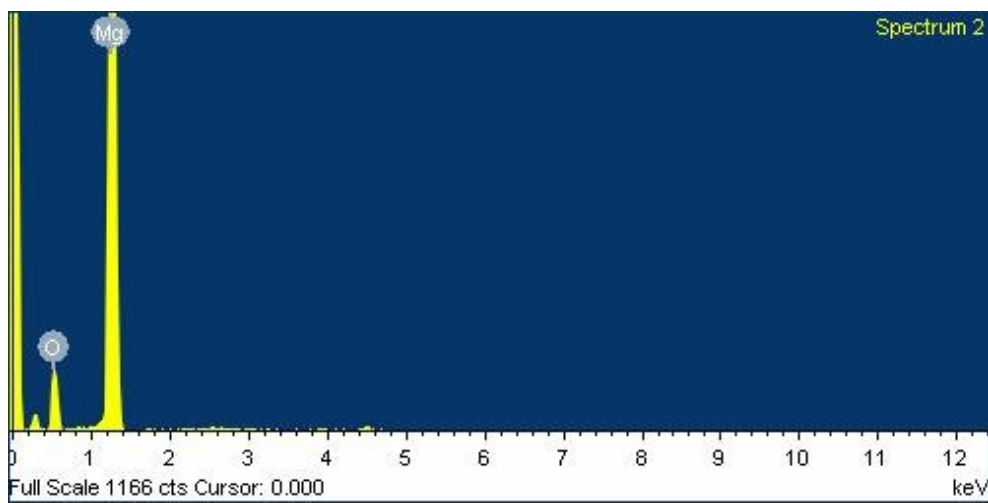
Elementi:
Ti

površina uzorka Ti-2Mg prije uranjanja - spektar 2



300µm

Electron Image 1



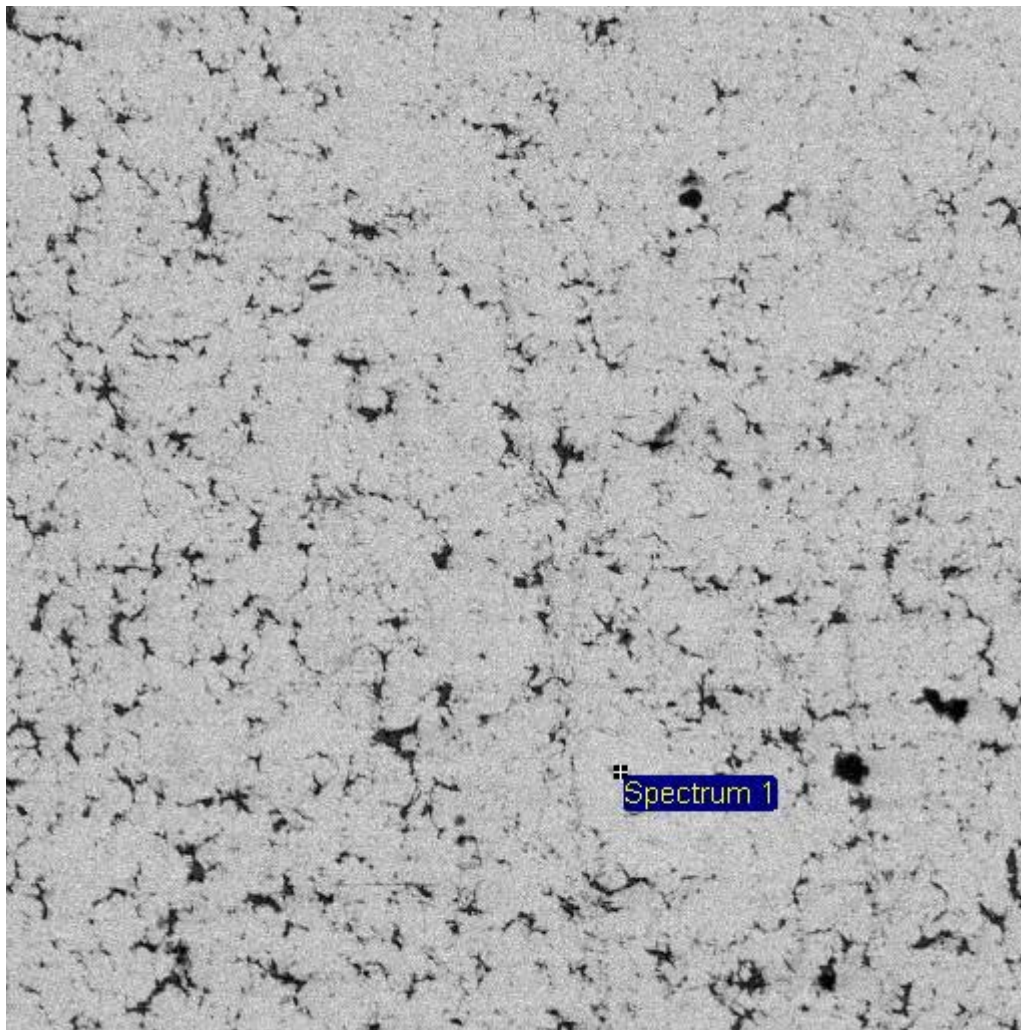
Elementi:

Mg

Ti

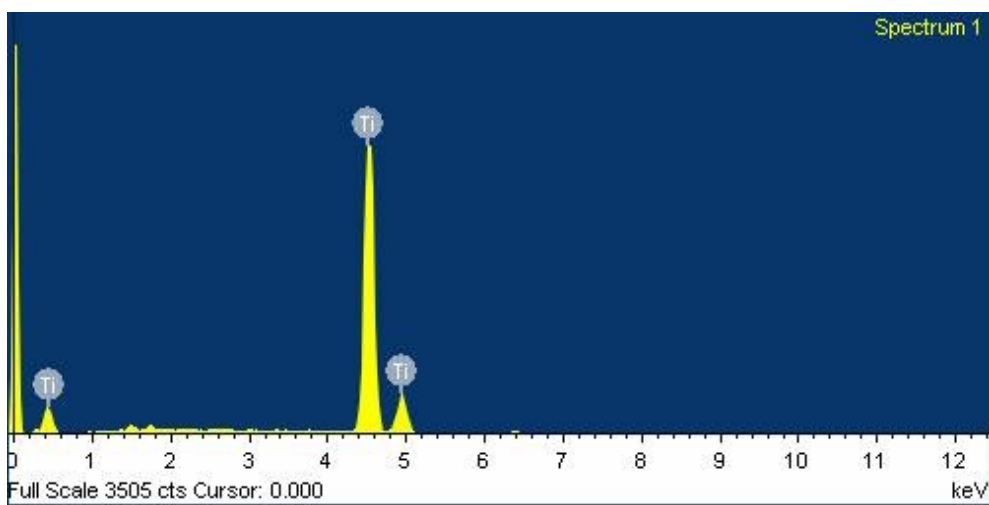
O

površina uzorka Ti-5Mg prije uranjanja - spektar 1



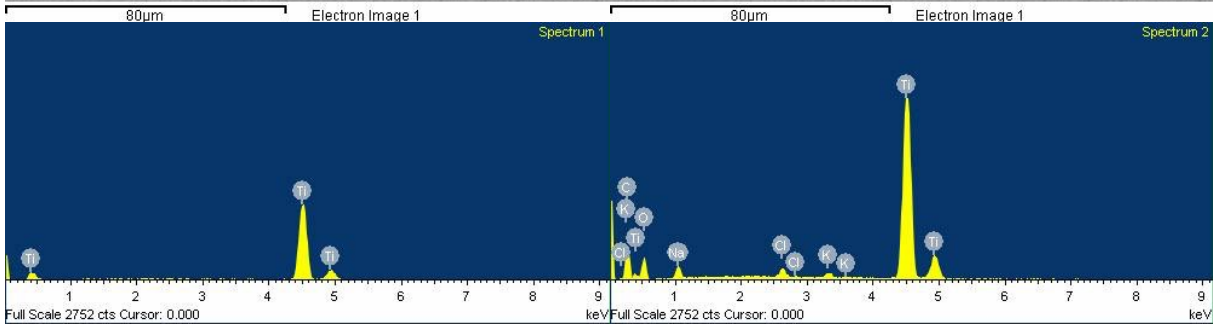
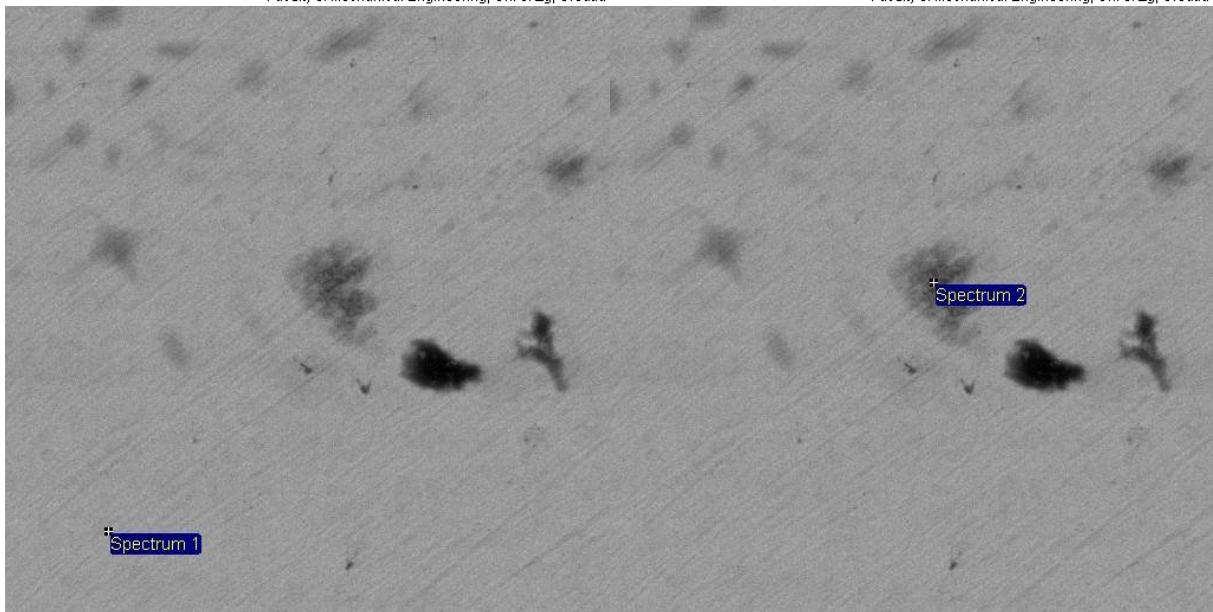
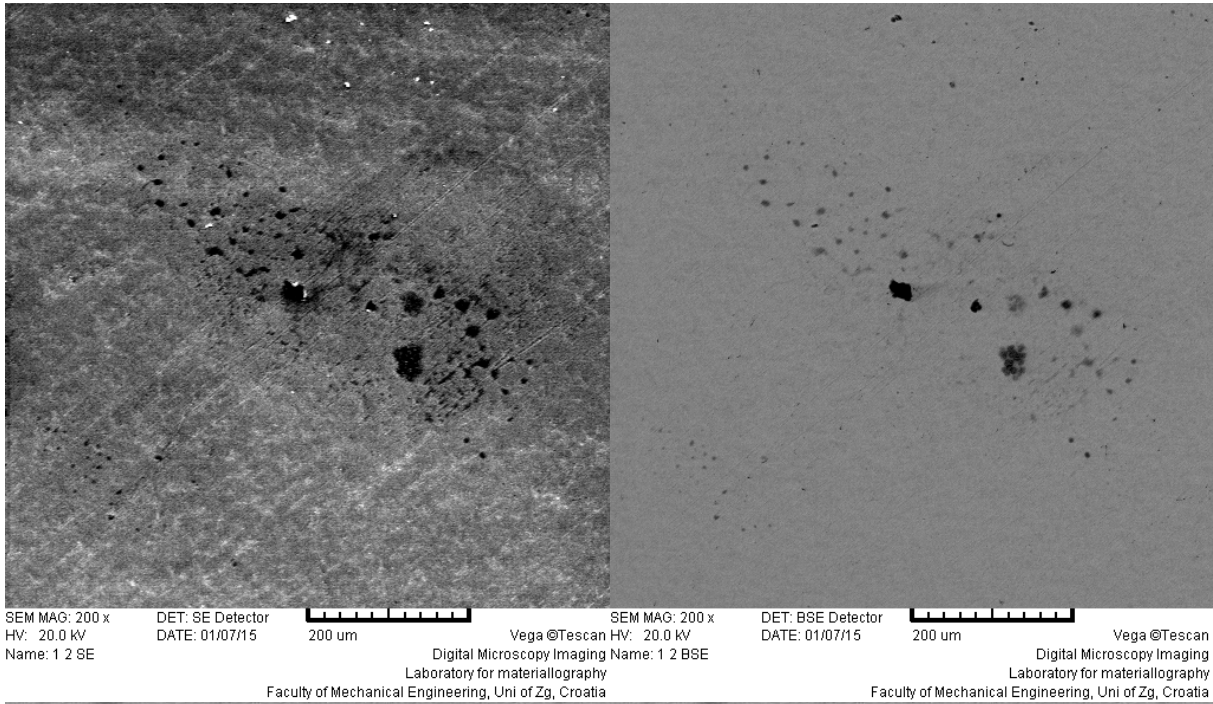
300µm

Electron Image 1

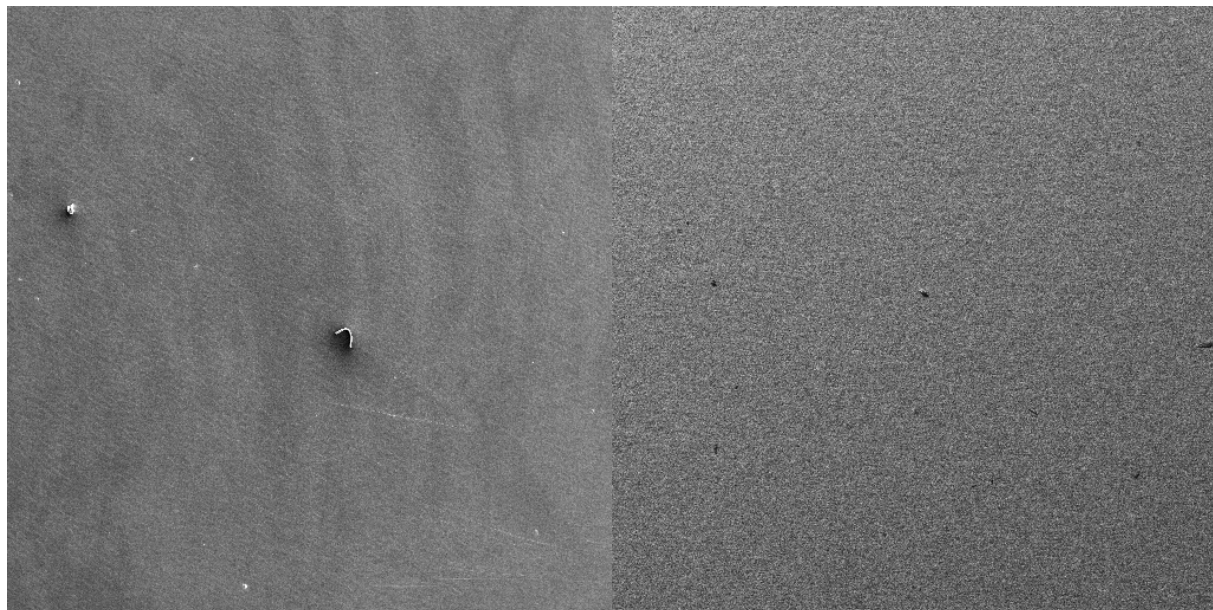


Elementi:
Ti

površina uzorka CP Ti 4 nakon 42 dana uranjanja u otopini USF



površina uzorka CP Ti 4 nakon 42 dana uranjanja u otopini USFpH4



SEM MAG: 50 x
HV: 30.0 kV
Name: 1_3 SE

DET: SE Detector
DATE: 02/26/15

1 mm

Vega ©Tescan HV: 30.0 kV
Name: 1_5 BSE

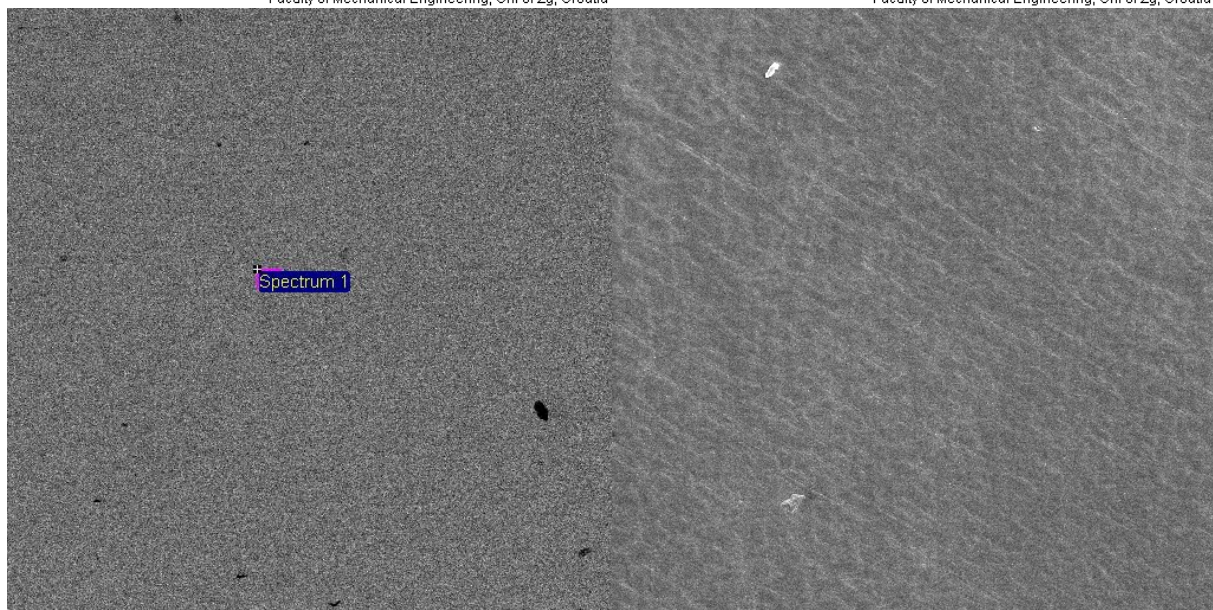
SEM MAG: 50 x
DET: BSE Detector
DATE: 02/26/15

1 mm

Vega ©Tescan

Digital Microscopy Imaging
Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia

Digital Microscopy Imaging
Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia



700µm

Electron Image 1

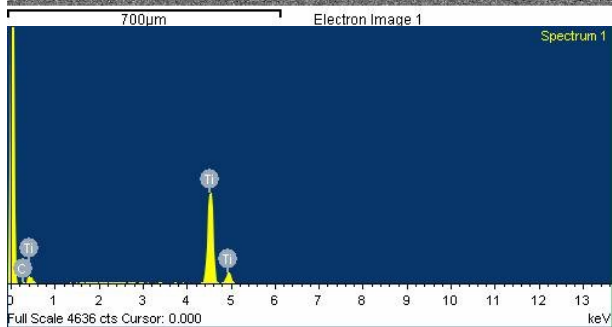
SEM MAG: 200 x
HV: 30.0 kV
Name: 1_3 SE1

DET: SE Detector
DATE: 02/26/15

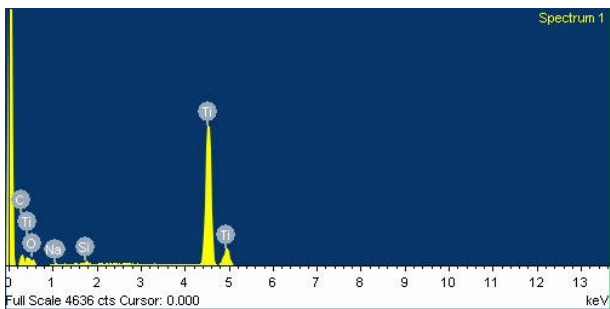
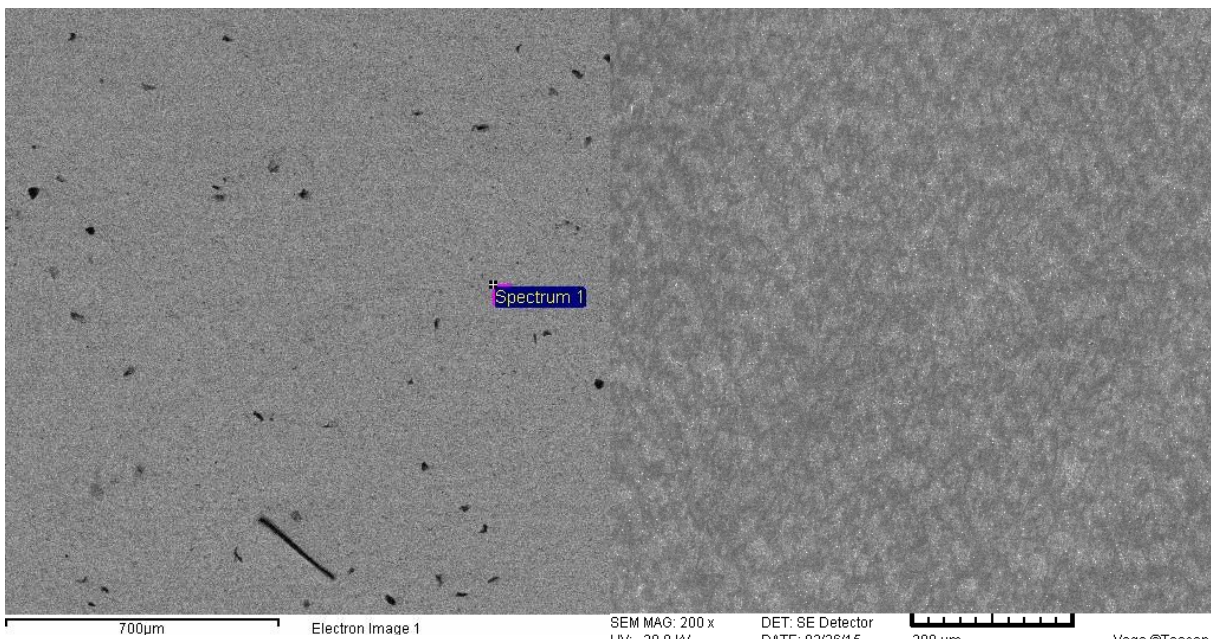
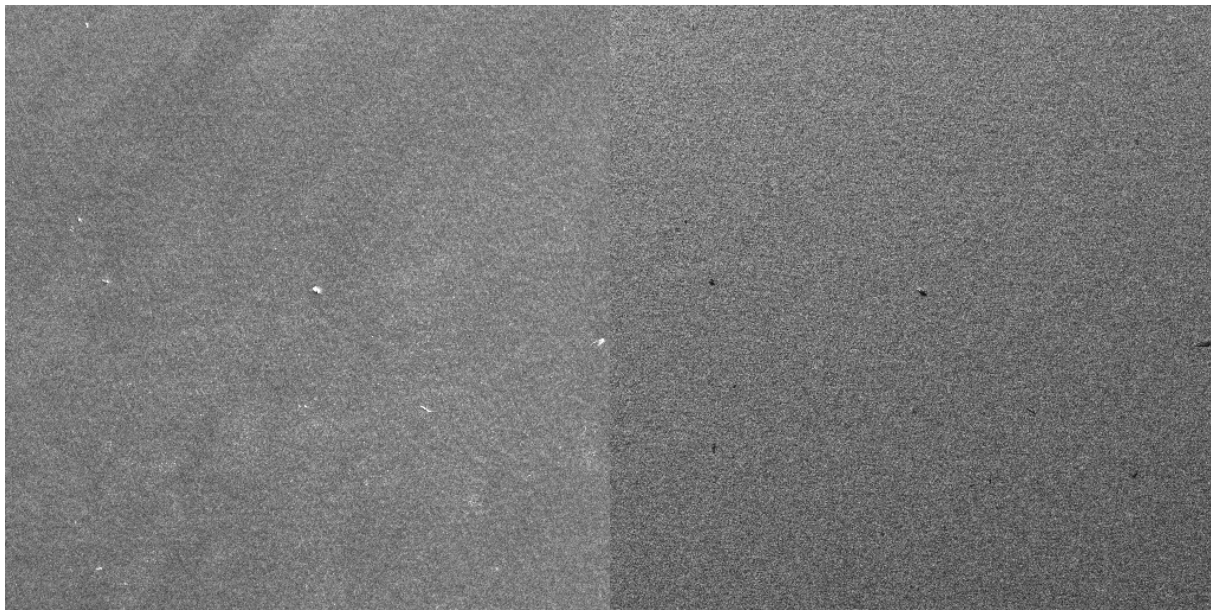
200 µm

Vega ©Tescan

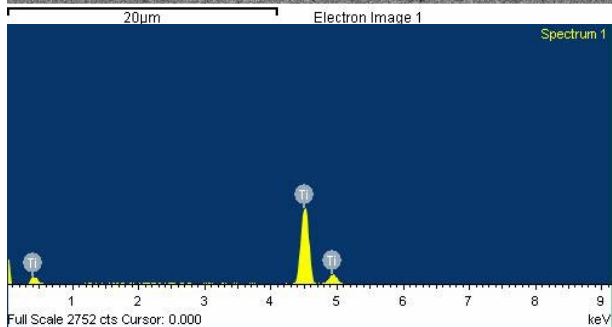
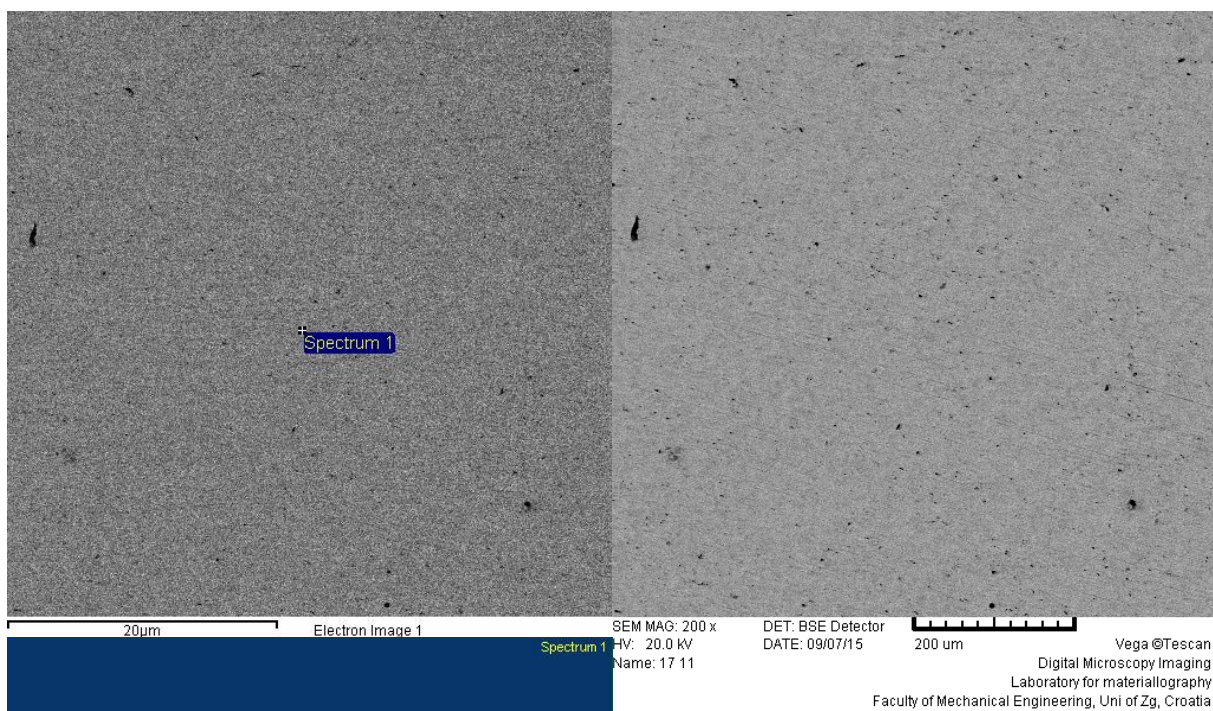
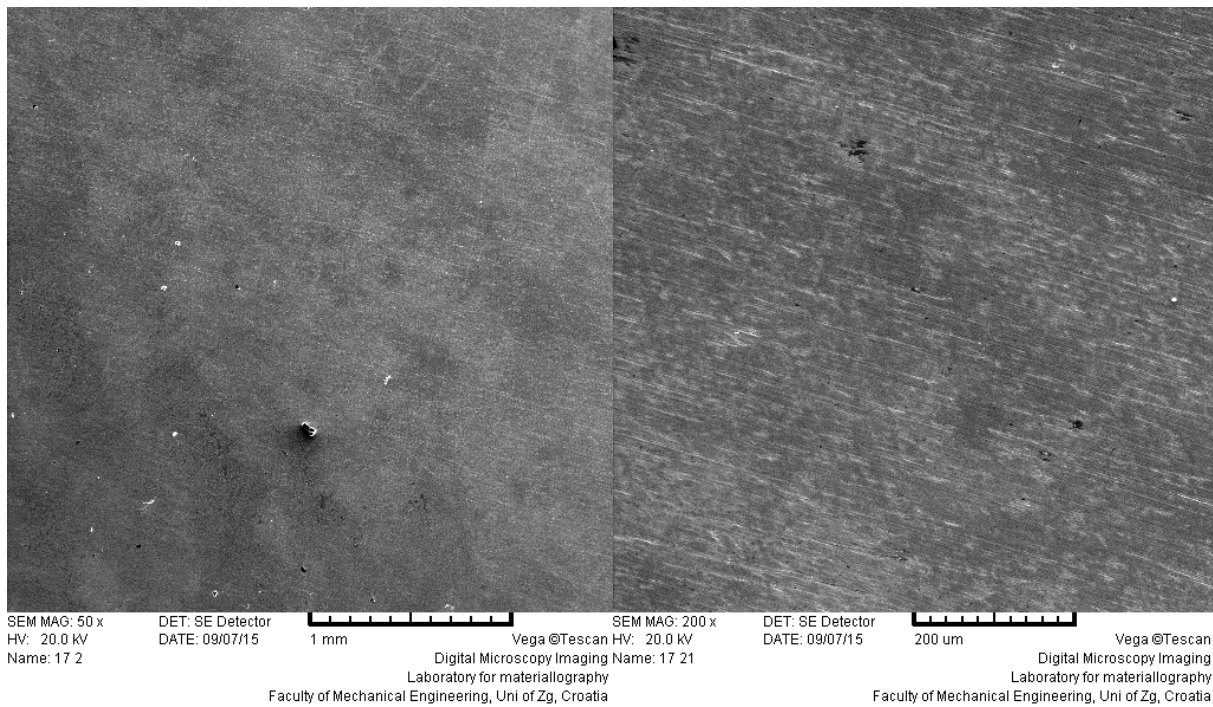
Digital Microscopy Imaging
Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia



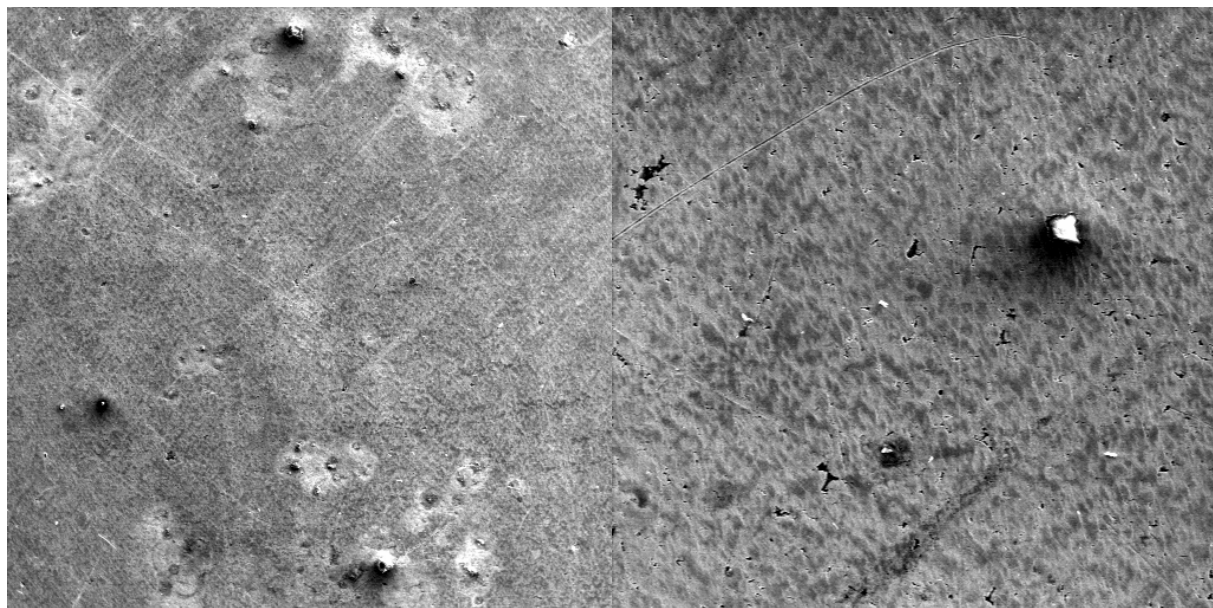
površina uzorka CP Ti 4 nakon 42 dana uranjanja u otopini USFF



površina uzorka CP Ti 4 nakon 42 dana uranjanja u HO



površina uzorka Ti-1Mg nakon 42 dana uranjanja u otopini USF



SEM MAG: 50 x
HV: 20.0 kV
Name: 2 1 SE

DET: SE Detector
DATE: 01/07/15

1 mm

Vega ©Tescan

SEM MAG: 200 x
HV: 20.0 kV

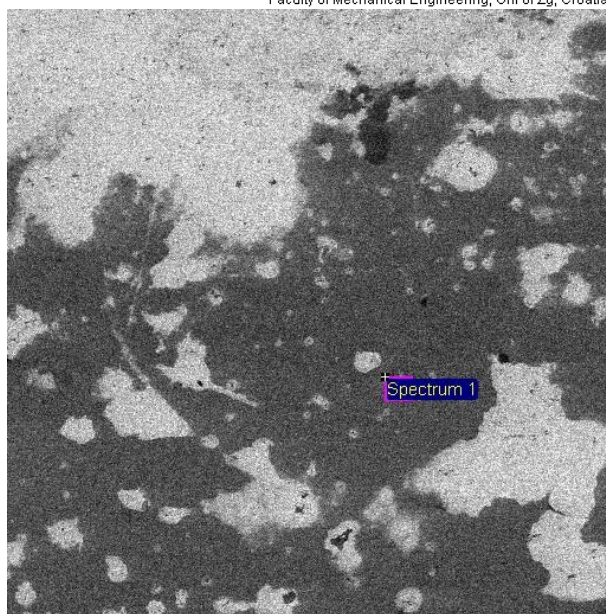
DET: SE Detector
DATE: 01/07/15

200 µm

Vega ©Tescan

Digital Microscopy Imaging
Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia

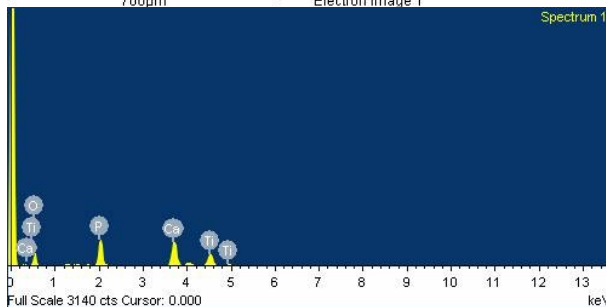
Digital Microscopy Imaging
Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia



700µm

Electron Image 1

Spectrum 1



SEM MAG: 200 x
HV: 20.0 kV
Name: 2 2 BSE

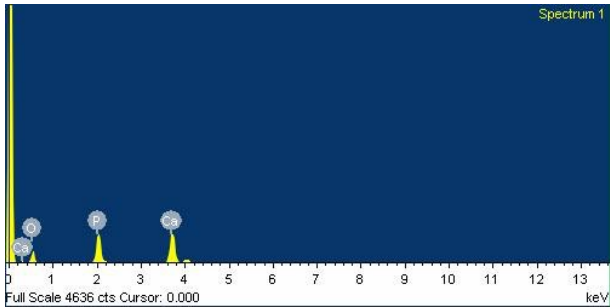
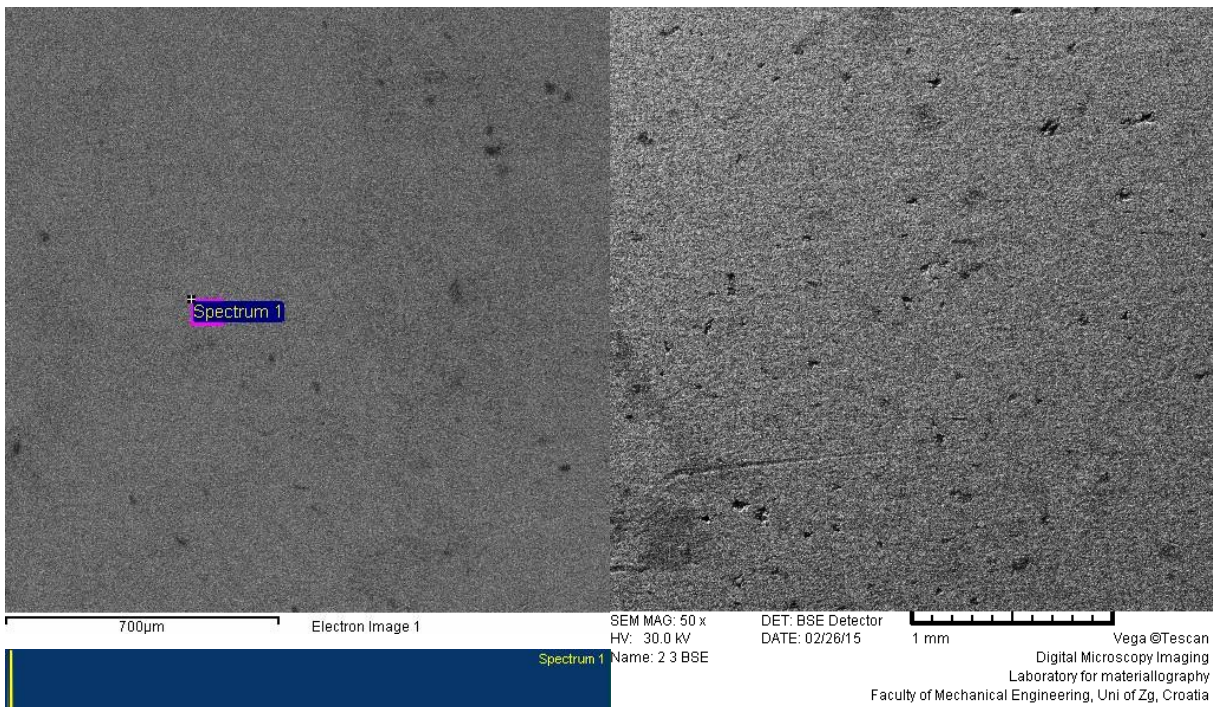
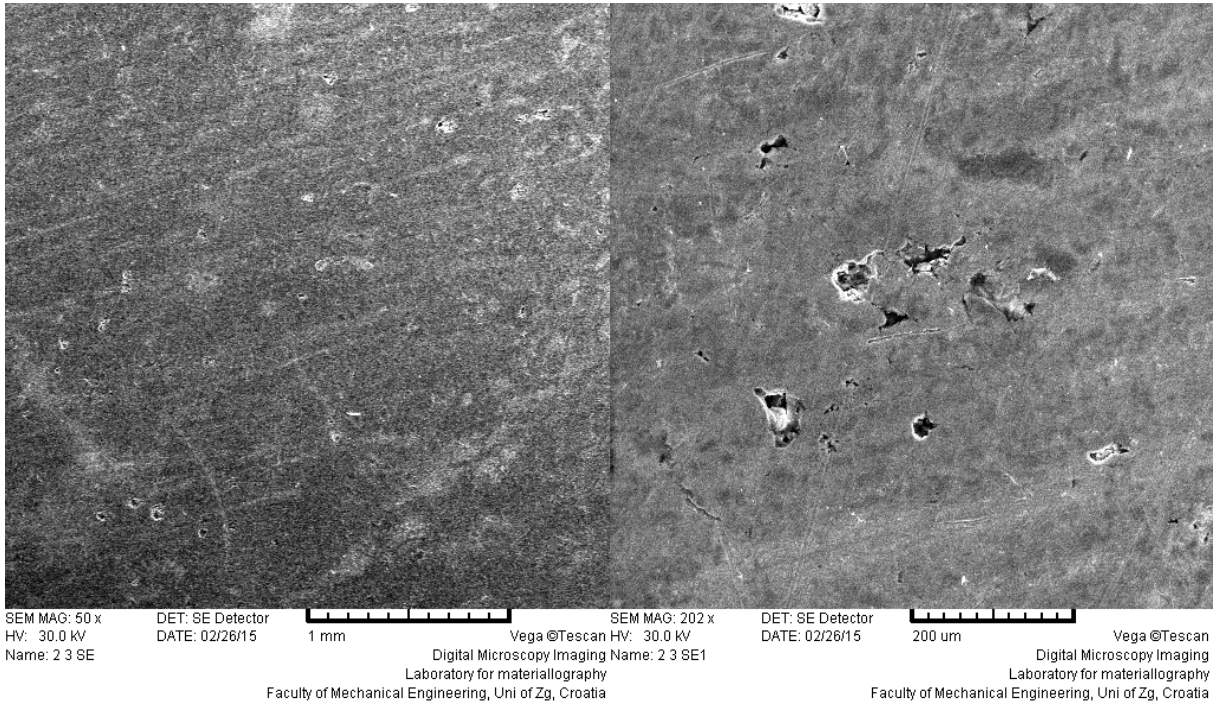
DET: BSE Detector
DATE: 01/07/15

200 µm

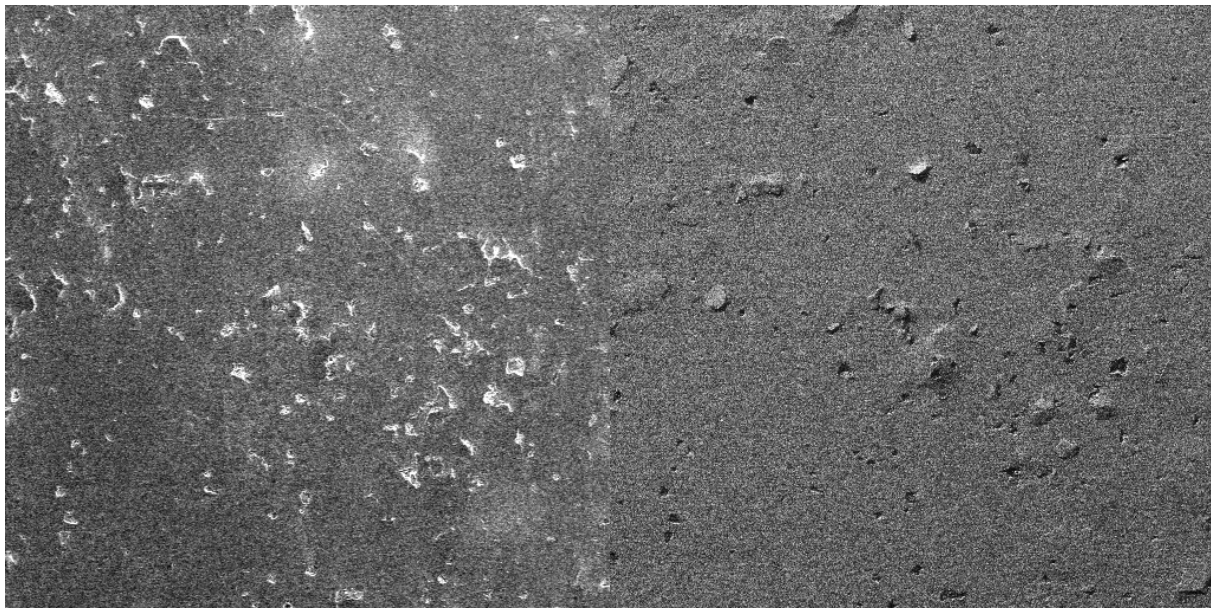
Vega ©Tescan

Digital Microscopy Imaging
Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia

površina uzorka Ti-1Mg nakon 42 dana uranjanja u otopini USFpH4



površina uzorka Ti-1Mg nakon 42 dana uranjanja u otopini USFF



SEM MAG: 50 x
HV: 30.0 kV
Name: 2.5 SE

DET: SE Detector
DATE: 02/26/15

1 mm

Vega ©Tescan HV: 30.0 kV
Name: 2.5 BSE

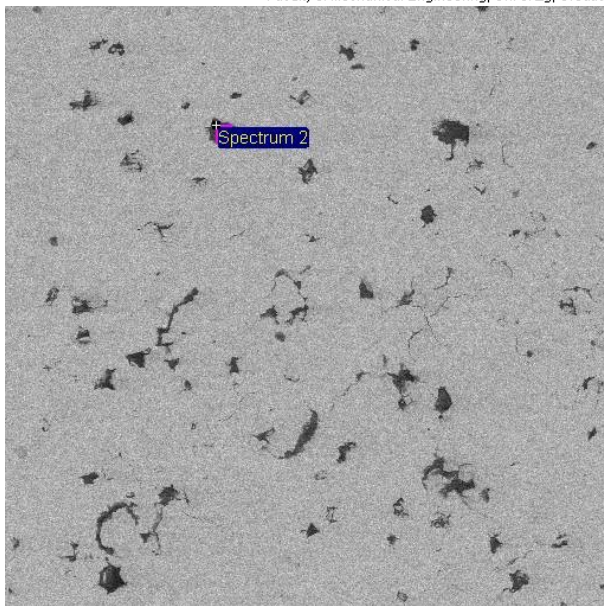
DET: BSE Detector
DATE: 02/26/15

1 mm

Vega ©Tescan

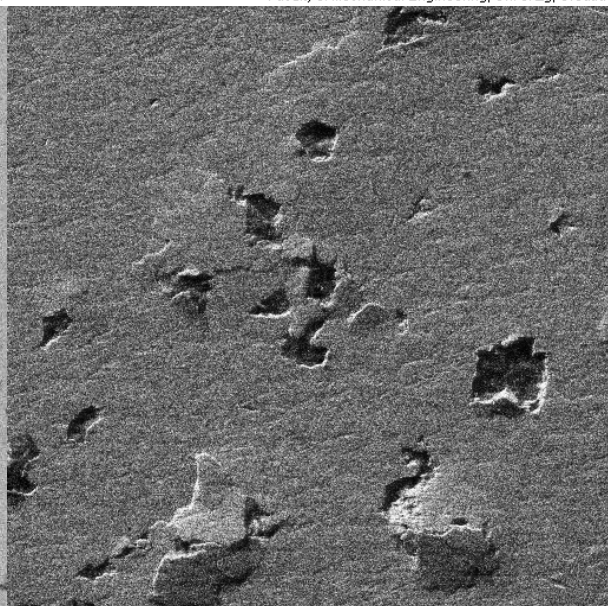
Digital Microscopy Imaging
Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia

Digital Microscopy Imaging
Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia



700µm

Electron Image 1



SEM MAG: 200 x

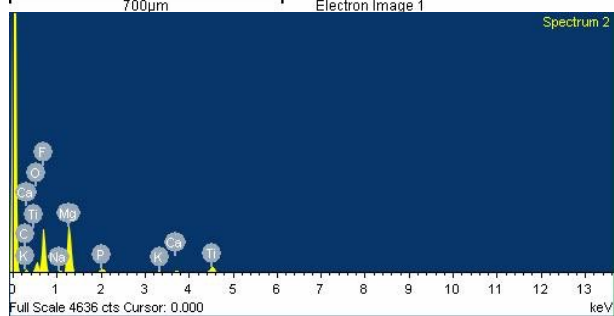
DET: BSE Detector

200 µm

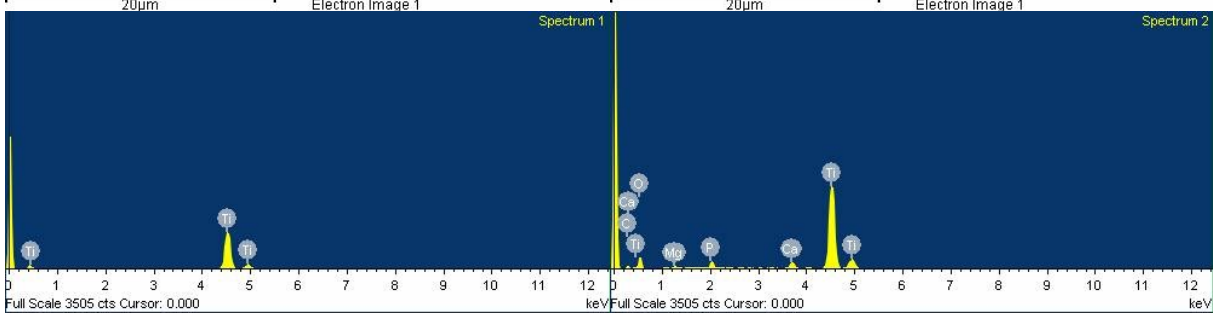
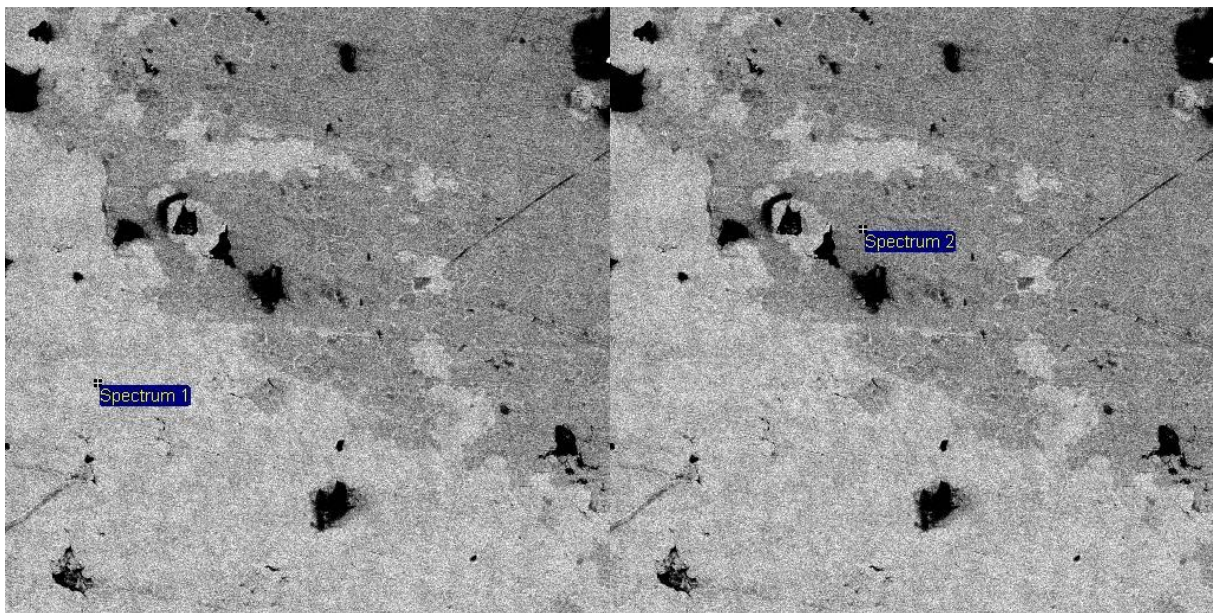
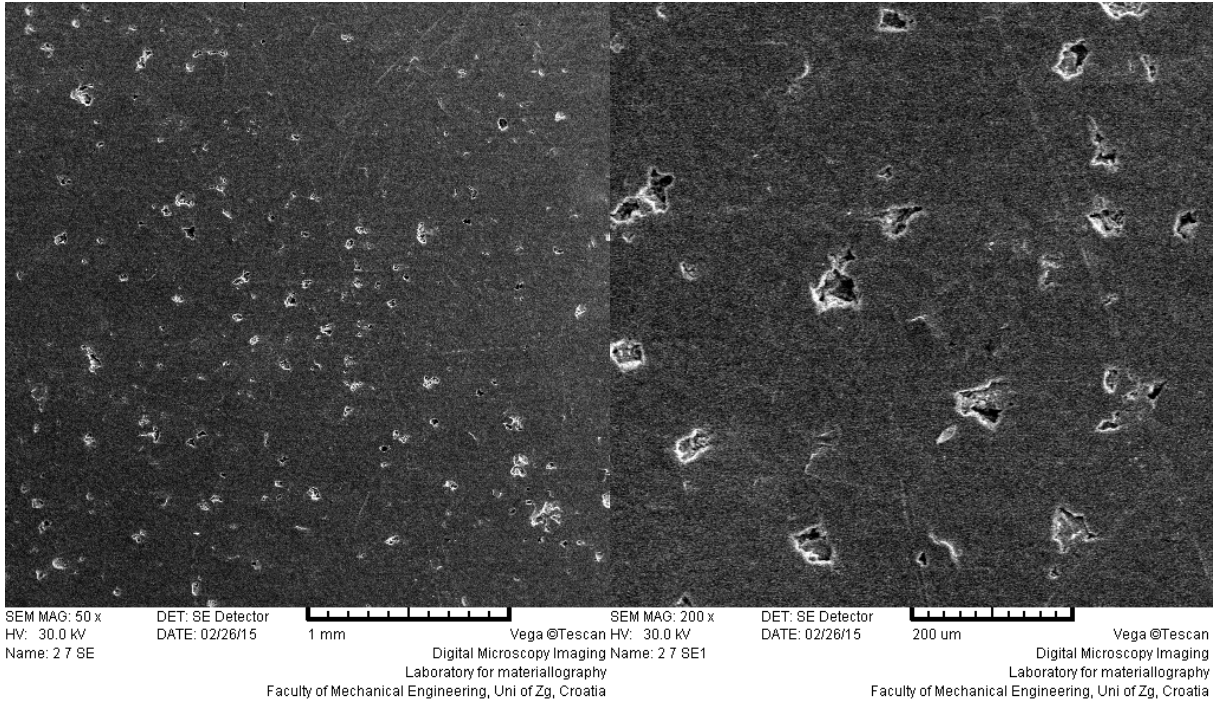
Vega ©Tescan

HV: 30.0 kV
Name: 2.5 BSE1

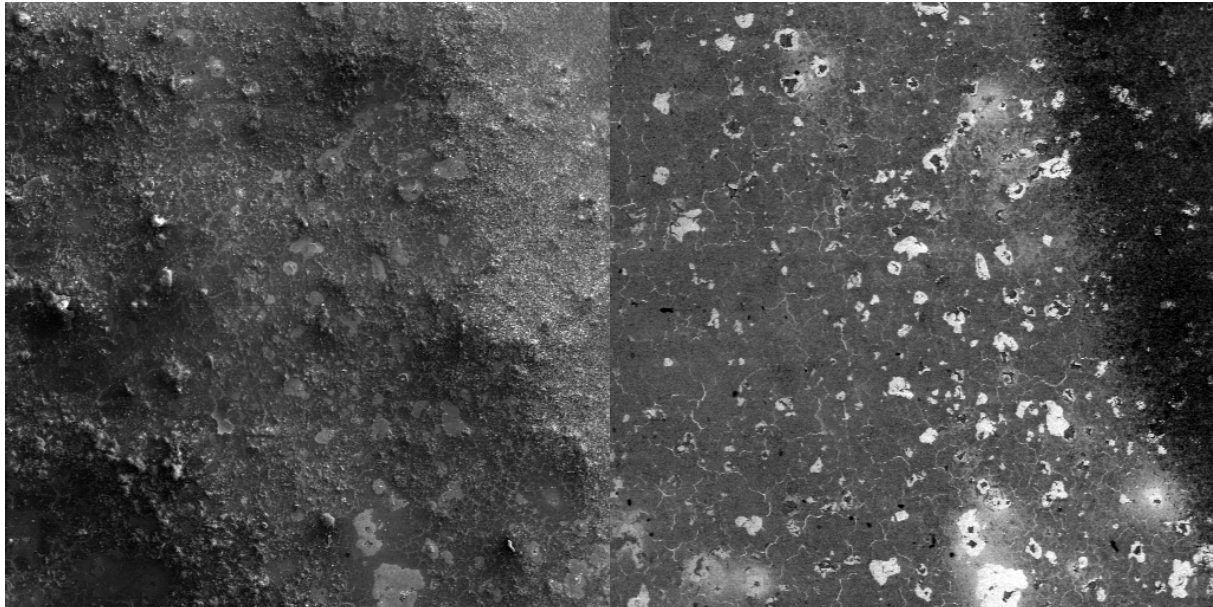
Digital Microscopy Imaging
Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia



površina uzorka Ti-1Mg nakon 42 dana uranjanja u HO



površina uzorka Ti-2Mg nakon 42 dana uranjanja u USF



SEM MAG: 50 x
HV: 20.0 kV
Name: 3 1 SE

DET: SE Detector
DATE: 01/07/15

1 mm

Vega ©Tescan
Digital Microscopy Imaging
Name: 3 1 BSE

Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia

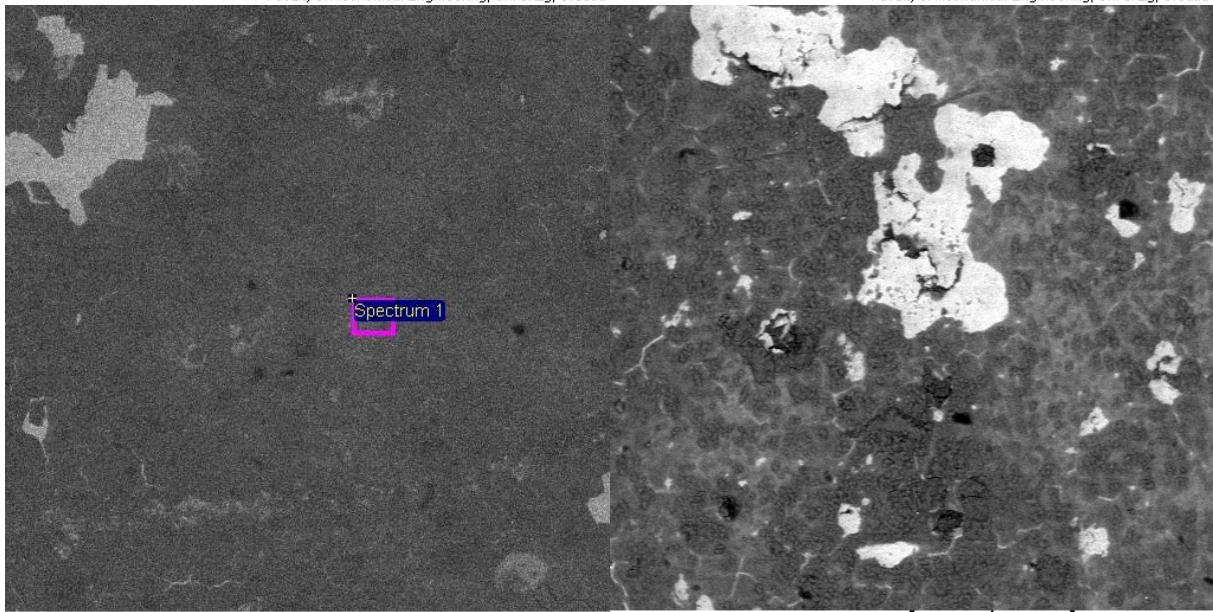
SEM MAG: 50 x
HV: 20.0 kV

DET: BSE Detector
DATE: 01/07/15

1 mm

Vega ©Tescan
Digital Microscopy Imaging
Name: 3 1 BSE

Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia



700µm

Electron Image 1

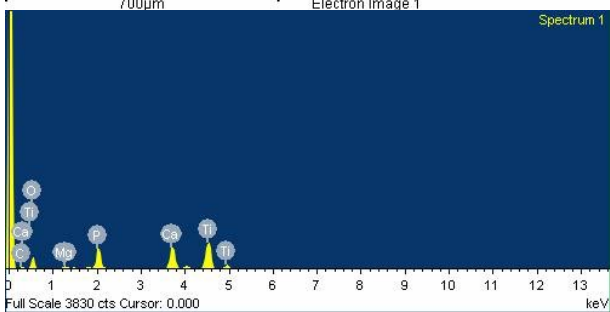
SEM MAG: 200 x
HV: 20.0 kV
Name: 3 2BSE

DET: BSE Detector
DATE: 01/07/15

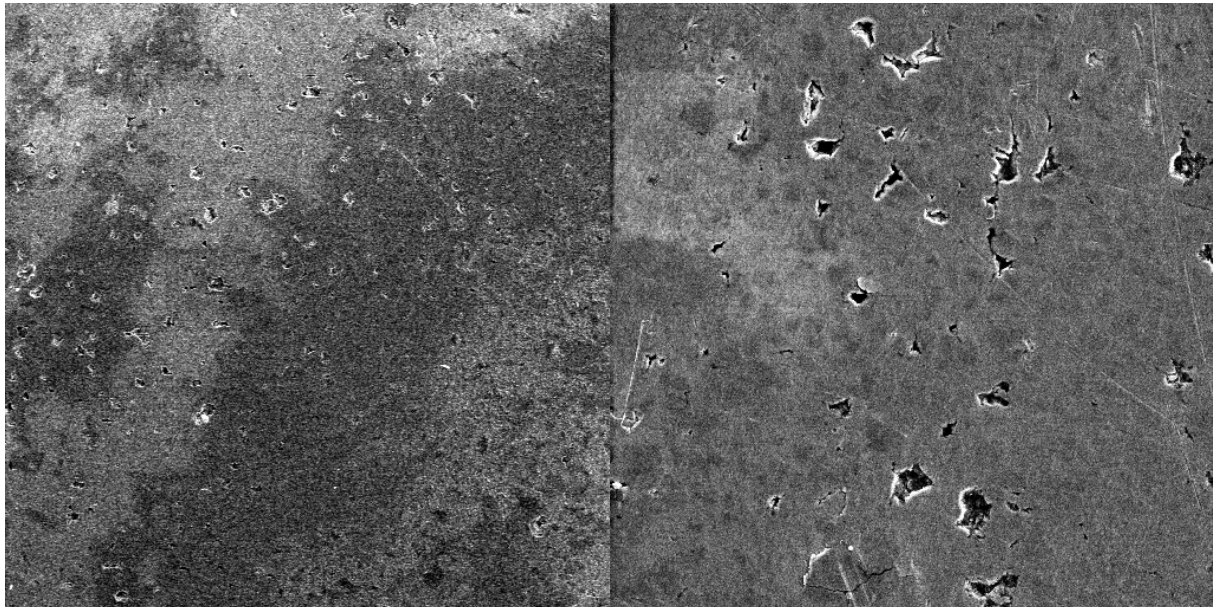
200 µm

Vega ©Tescan

Digital Microscopy Imaging
Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia



površina uzorka Ti-2Mg nakon 42 dana uranjanja u otopini USFpH4



SEM MAG: 50 x
HV: 30.0 kV
Name: 3 3 SE

DET: SE Detector
DATE: 02/26/15

1 mm

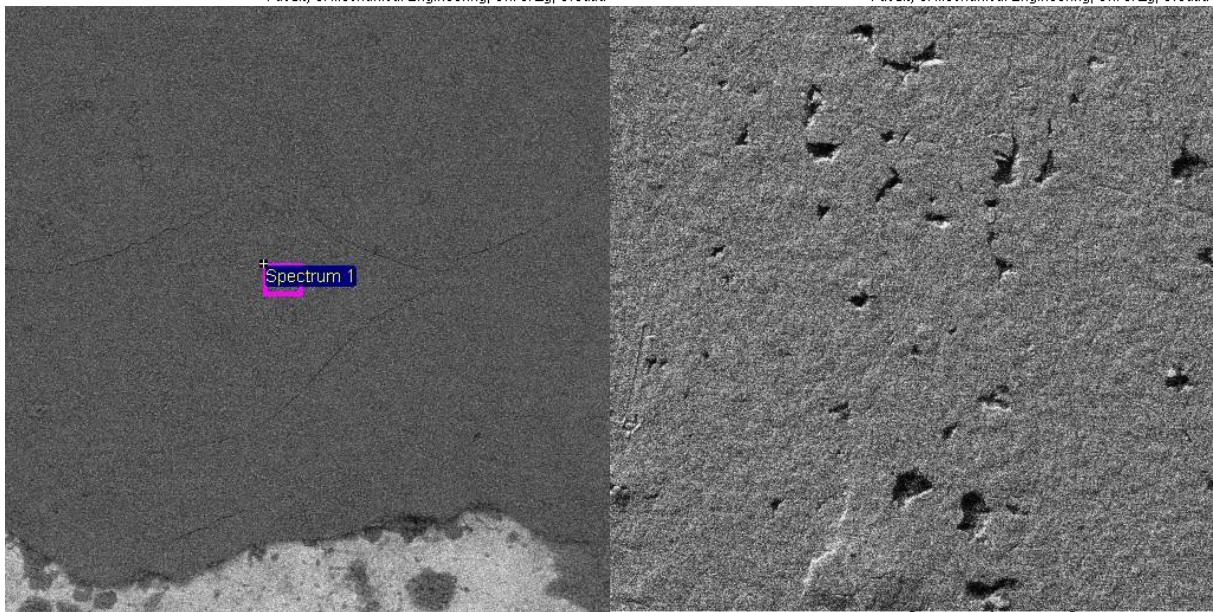
SEM MAG: 200 x
HV: 30.0 kV
Name: 3 3 SE1

DET: SE Detector
DATE: 02/26/15

200 μm

Digital Microscopy Imaging
Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia

Digital Microscopy Imaging
Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia



700μm

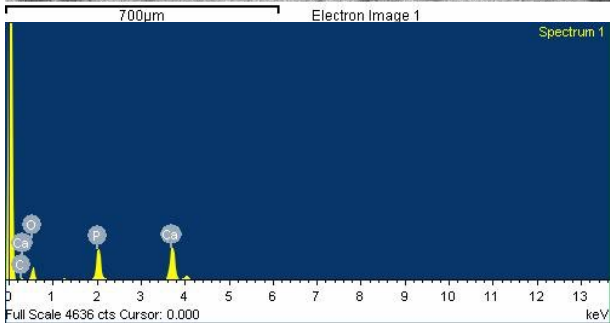
Electron Image 1

SEM MAG: 200 x
HV: 30.0 kV
Name: 3 3 BSE1

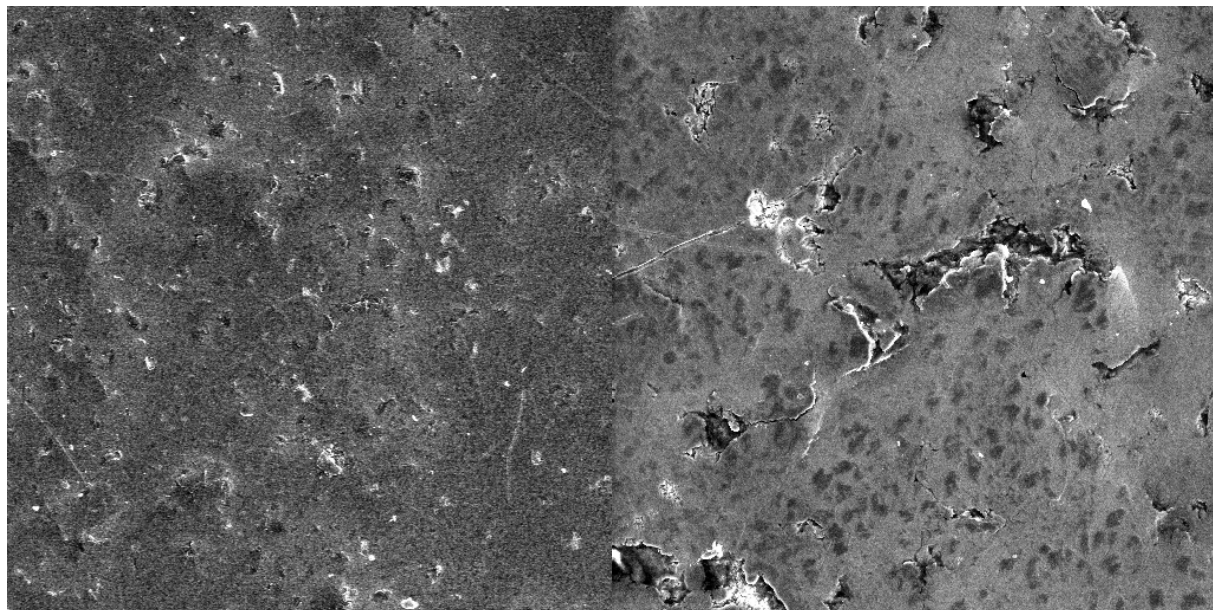
DET: BSE Detector
DATE: 02/26/15

200 μm

Digital Microscopy Imaging
Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia



površina uzorka Ti-2Mg nakon 42 dana uranjanja u otopini USFF



SEM MAG: 50 x
HV: 30.0 kV
Name: 3 5 SE

DET: SE Detector
DATE: 02/26/15

1 mm

Vega ©Tescan
Digital Microscopy Imaging
Name: 3 5 SE1

SEM MAG: 200 x
HV: 30.0 kV

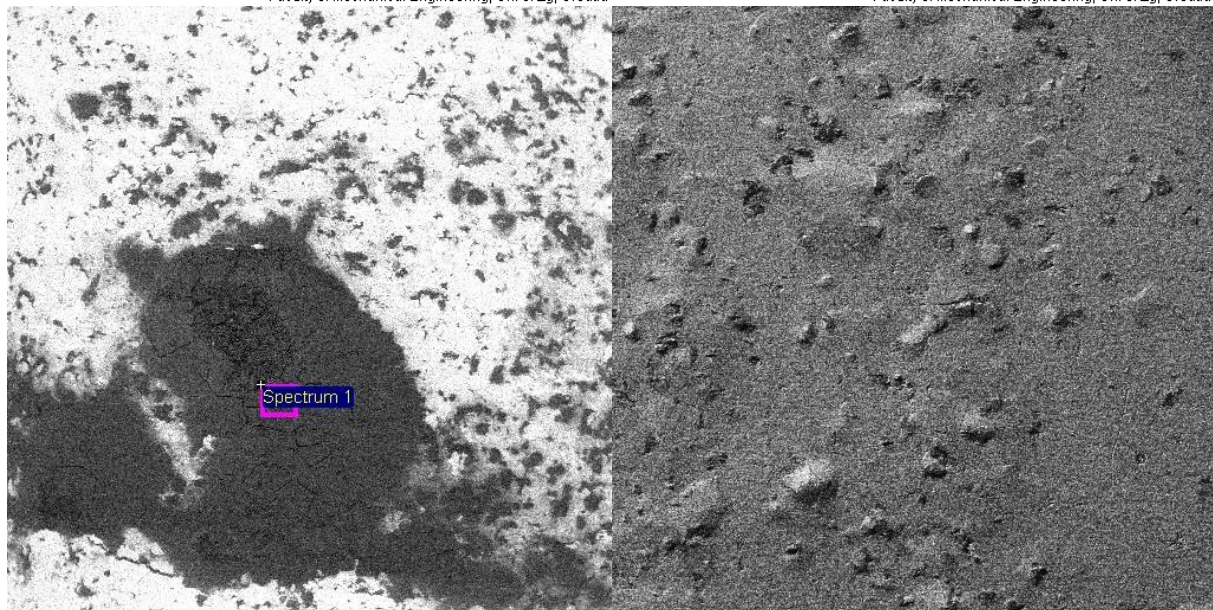
DET: SE Detector
DATE: 02/26/15

200 um

Vega ©Tescan
Digital Microscopy Imaging

Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia

Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia



700um

Electron Image 1

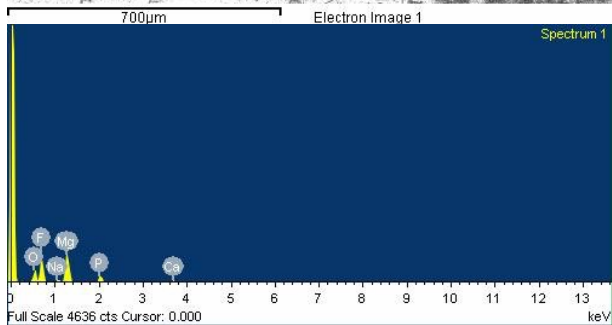
SEM MAG: 50 x
HV: 30.0 kV
Name: 3 5 BSE

DET: BSE Detector
DATE: 02/26/15

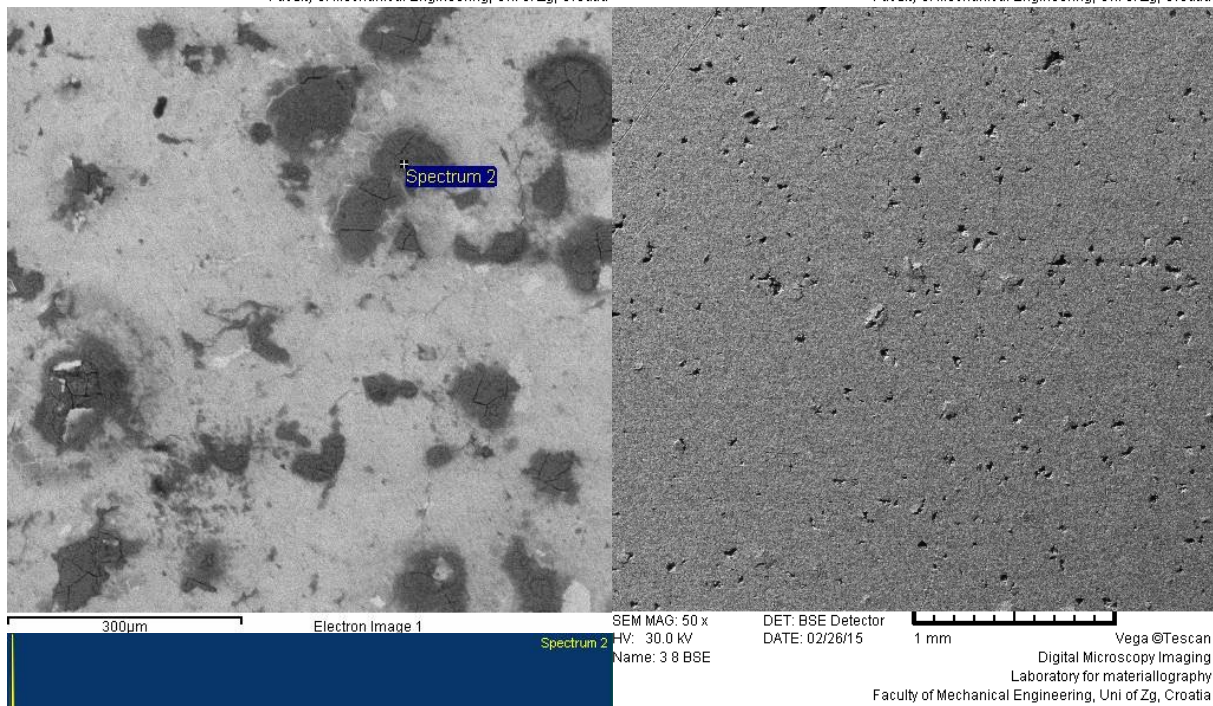
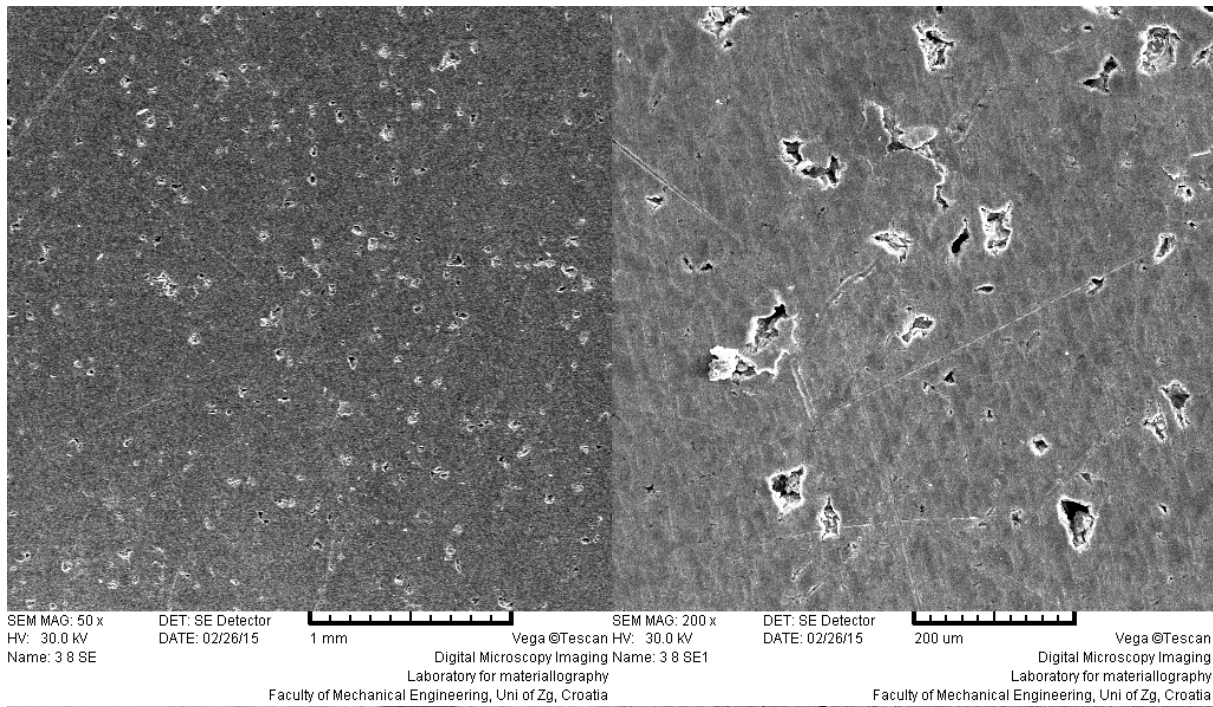
1 mm

Vega ©Tescan
Digital Microscopy Imaging

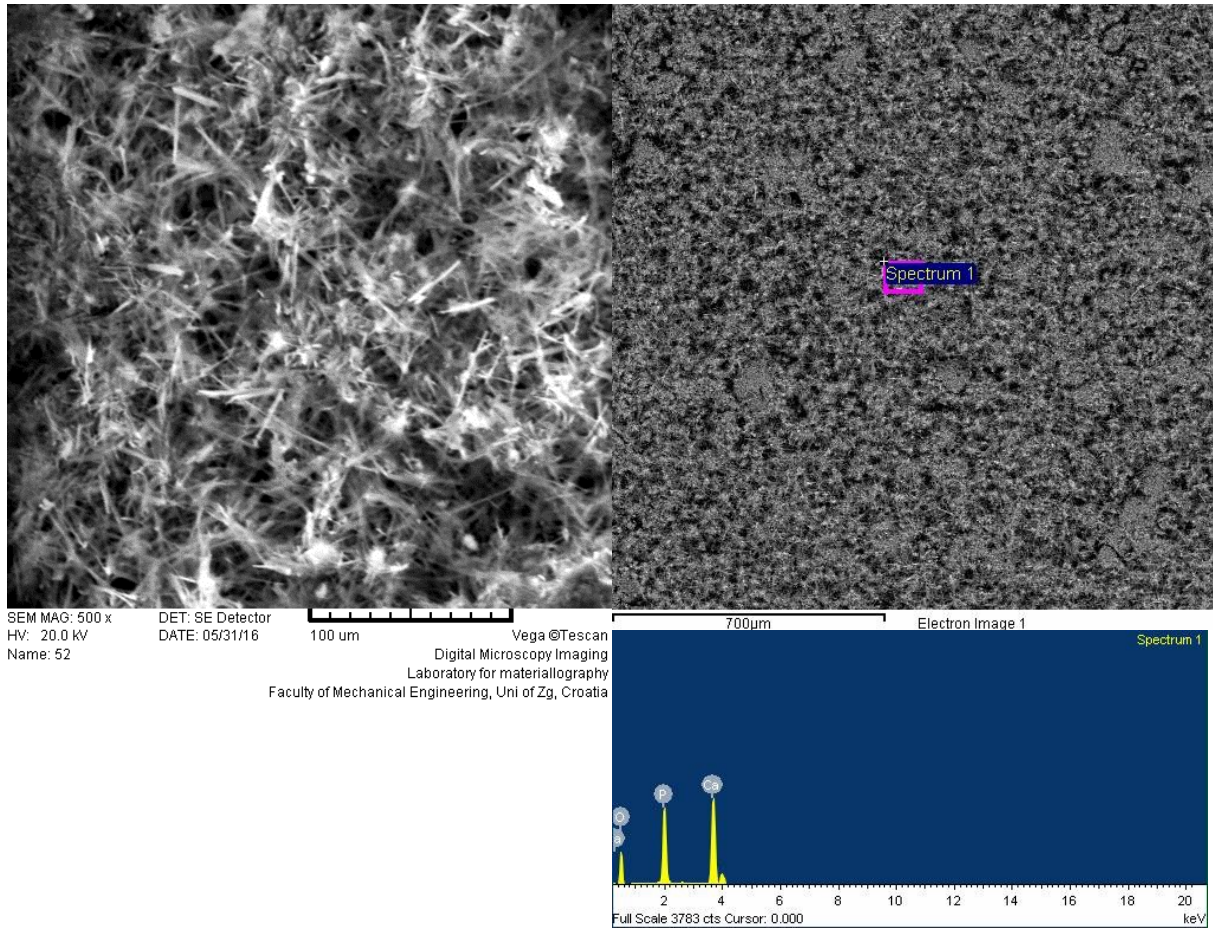
Laboratory for materiallography
Faculty of Mechanical Engineering, Uni of Zg, Croatia



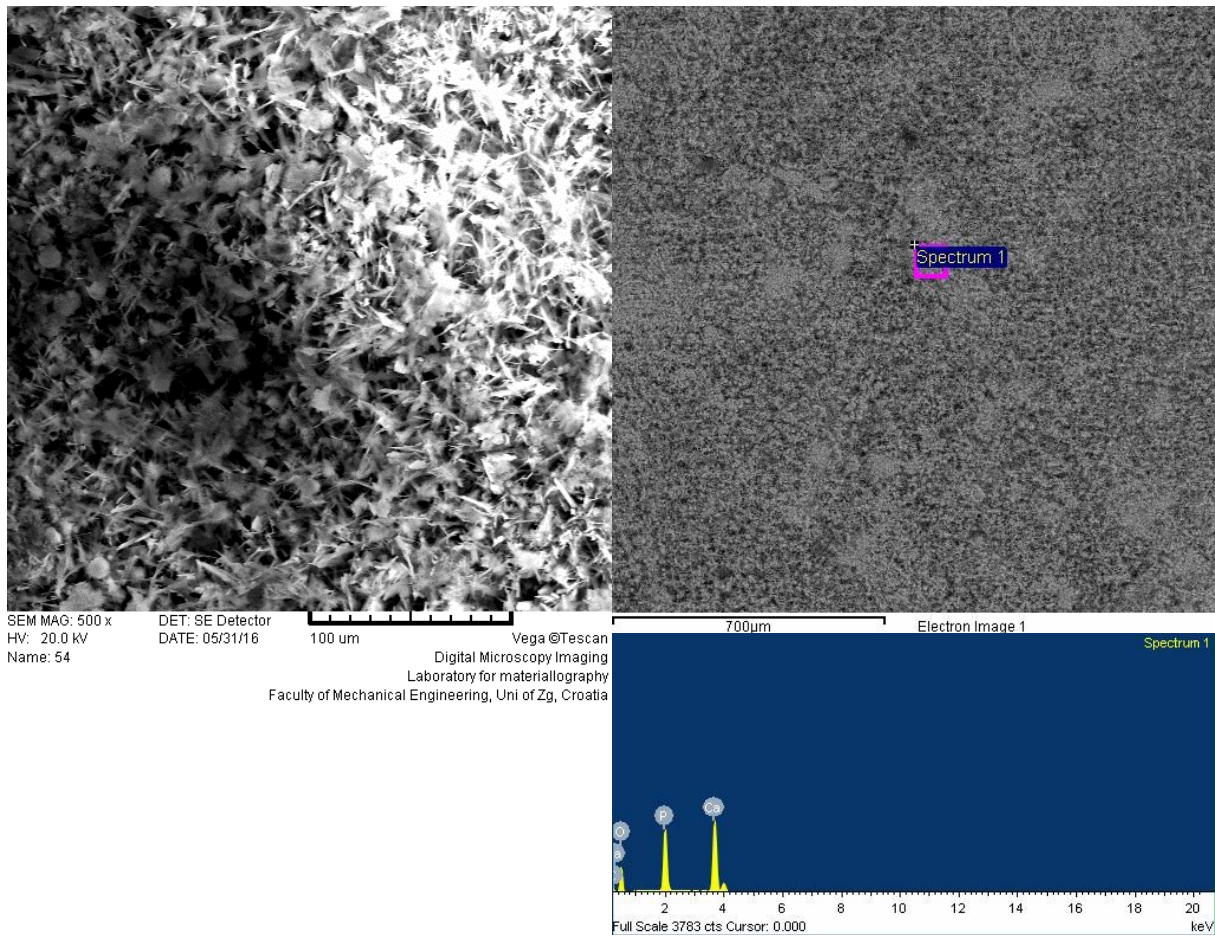
površina uzorka Ti-2Mg nakon 42 dana uranjanja u otopini HO



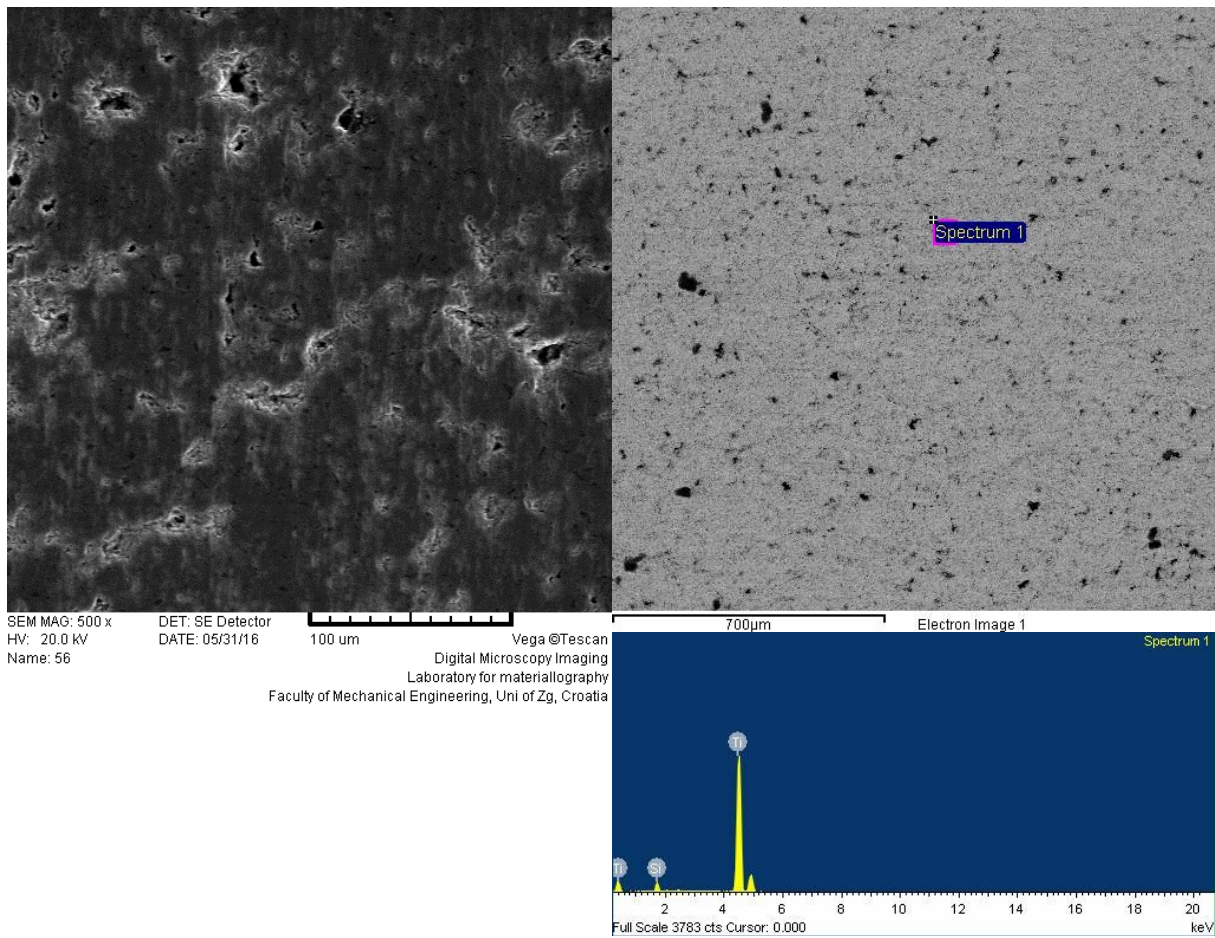
površina uzorka Ti-5Mg nakon 42 dana uranjanja u otopini USF



površina uzorka Ti-5Mg nakon 42 dana uranjanja u otopini USFpH4



površina uzorka Ti-5Mg nakon 42 dana uranjanja u otopini USFF



površina uzorka Ti-5Mg nakon 42 dana uranjanja u otopini HO

