

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET
NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU

Predmet: Referat o urađenoj doktorskoj disertaciji kandidata *Bojana R. Gligorijevića*, dipl. inž. metalurgije i metalnih materijala

Odlukom br.35/176, od 14.aprila 2016. godine, imenovani smo od strane Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu za članove Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata *Bojana R. Gligorijevića* pod nazivom:

"Hemijsko-strukturna svojstva i biomineralizacija hidroksiapatitnih prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim plazma sprej postupkom".

Nakon pregleda dostavljene disertacije, pratećih materijala i razgovora sa kandidatom, Komisija je sačinila sledeći

R E F E R A T

1. UVOD

1.1. Hronologija odobravanja i izrade disertacije

- **30.09.2008.** Kandidat *Bojan R. Gligorijević* je upisao doktorske studije u široj naučnoj oblasti tehničkih nauka i užoj naučnoj oblasti metalurškog inženjerstva na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu (br. indeksa DS-4003/2008).
- **27.06.2013.** Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu doneta je Odluka o imenovanju Komisije za pregled, ocenu i odbranu Završnog ispita na doktorskim studijama kandidata *Bojana R. Gligorijevića* (Odluka br.35/212).
- **30.09.2013.** Kandidat *Bojan R. Gligorijević* je odbranio Završni ispit – pristupni rad za izradu doktorske disertacije, pod nazivom „*Hemijsko-strukturna svojstva i in-vitro performanse hidroksiapatitnih prevlaka nanešenih visokoenergetskim laminarnim plazma sprejom*”, sa ocenom 10, pred komisijom u sastavu: dr Nenad Radović, van. prof. TMF-a, dr Đorđe Janačković, red. prof. TMF-a i dr Željko Kamberović, red.prof. TMF-a.
- **11.09.2014.** Na zahtev kandidata *Bojana R. Gligorijevića*, uz saglasnost mentora, na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu doneta je Odluka br.35/237 o produženju roka za završetak studija za još dva semestra šk. 2014/2015.
- **30.04.2015.** Kandidat *Bojan R. Gligorijević* je prijavio temu doktorske disertacije pod nazivom: „*Hemijsko-strukturna svojstva i in-vitro performanse hidroksiapatitnih prevlaka nanešenih na čelične substrate primenom visokoenergetskog laminarnog plazma sprej postupka*“.
- **7.05.2015.** Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu doneta je Odluka o imenovanju Komisije za ocenu naučne zasnovanosti teme doktorske disertacije kandidata *Bojana R. Gligorijevića* pod nazivom „*Hemijsko-strukturna svojstva i in-vitro performanse hidroksiapatitnih prevlaka nanešenih na čelične substrate primenom visokoenergetskog laminarnog plazma sprej postupka*“ (Odluka br. 35/159).
- **9.07.2015.** Nasednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu doneta je Odluka o prihvatanju Izveštaja Komisije o naučnoj zasnovanosti teme i odobrenju izrade doktorske disertacije kandidata *Bojana R. Gligorijevića*. Takođe je prihvaćen predlog Komisije o promeni naslova teme doktorske disertacije, koji u konačnoj formi glasi: „*Hemijsko-strukturna svojstva i biomineralizacija hidroksiapatitnih prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim plazma sprej postupkom*“. Za mentora je određen dr Nenad Radović, van. prof. TMF-a (Odluka br. 35/302).

- **15.09.2015.** Na sednici Veća naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu data je saglasnost na predlog teme doktorske disertacije kandidata *Bojana R. Gligorijevića*, pod nazivom: „*Hemijsko-strukturna svojstva i biomineralizacija hidroksiapatitnih prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim plazma sprej postupkom*“ (Odluka br.61206-3803/2-15).
- **17.09.2015.** Na zahtev kandidata *Bojana R. Gligorijevića*, uz saglasnost mentora, na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu doneta je Odluka br.35/428 o produženju roka za završetak studija za još dva semestra šk. 2015/2016.
- **14.04.2016.** Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu doneta je Odluka o imenovanju Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata *Bojana R. Gligorijevića* pod nazivom „*Hemijsko-strukturna svojstva i biomineralizacija hidroksiapatitnih prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim plazma sprej postupkom*“ (Odluka br. 35/176).

1.2. Naučna oblast disertacije

Istraživanja koja su vršena u okviru doktorske disertacije kandidata *Bojana R. Gligorijevića* pripadaju široj naučnoj oblasti *tehničkih nauka* i užoj naučnoj oblasti *metalurškog inženjerstva* za koju je matičan Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu. Za mentora je izabran *dr Nenad Radović, van. prof. TMF-a*, koji je, na osnovu oblasti istraživanja, objavljenih radova i prethodnih iskustava vezanih za proučavanje strukturnih svojstava spojeva materijala nastalih procesom zavarivanja i srodnih postupaka, kompetentan da rukovodi izradom ove doktorske disertacije.

1.3. Biografski podaci o kandidatu

Bojan R. Gligorijević, diplomirani inženjer metalurgije i metalnih materijala, je rođen 23.06.1979. godine u Beogradu. Osnovnu školu „Vladimir Nazor“ završava u Železniku 1994. godine, a srednju elektrotehničku školu „Nikola Tesla“ u Beogradu 1998. godine. Tehnološko-metalurški fakultet upisuje 1998. godine. U toku studija, od maja 2005. do februara 2006. godine, Bojan R. Gligorijević zasniva svoj prvi radni odnos u oblasti istraživanja u grupi za fiziku materijala na Institutu za metalurgiju Tehnološkog Univerziteta Klaustal u Nemačkoj gde je pod rukovodstvom prof. dr Harald-a Schmidt-a bio angažovan na eksperimentima određivanja mehanizma difuzije kiseonika metodom razmene kiseonikovih izotopa u termalno formiranim silika slojevima na amorfnoj kovalentnoj Si-C-N keramici. Aprila 2007. godine diplomira na Katedri za Metalurško Inženjerstvo Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu na temi „*Ispitivanje difuzije kiseonika primenom razmene izotopa $^{18}\text{O}_2/^{16}\text{O}_2$ na oksidovanoj amorfnoj kovalentnoj Si-C-N keramici*” sa ocenom 10 i ostvaruje prosečan uspeh na studijama sa ocenom 8,92.

Na istoj katedri, pod mentorstvom prof. dr Nenada Radovića, *Bojan R. Gligorijević* nastavlja dalje usavršavanje i upisuje doktorske studije školske 2008/09. godine. Oktobra 2008. godine, kandidat takođe započinje specijalizaciju u oblasti zavarivanja i srodnih postupaka prema kriterijumima Međunarodnog Instituta za zavarivanje (IIW), a juna 2009. godine stiče stručno zvanje međunarodni inženjer zavarivanja (International Welding Engineer – IWE).

Nakon diplomiranja, od maja 2008. do avgusta 2013. godine, *Bojan R. Gligorijević* se zapošljava na Institutu Goša u Centru za zavarivanje i srodne postupke u svojstvu istraživača-saradnika. U ovom periodu, pored angažovanja na istraživačkim projektima Ministarstva Prosvete, Nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije aktivno učestvuje u hemijsko-strukturno-mehaničkim ispitivanjima materijala i izradi elaborata za privredu, izradi tehnologija zavarivanja, terenskom radu, pisanju projekata i obučavanju kadrova u oblasti zavarivanja i srodnih postupaka.

Od septembra 2013. godine do danas, *Bojan R. Gligorijević* je zaposlen u Inovacionom centru Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu i angažovan je na Nacionalnim projektima TR 34018 i TR 34028, koji su finansirani od strane Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

U periodu od decembra 2013. do januara 2014. godine, *Bojan R. Gligorijević* boravi u Singapuru na NTU-SPMS-CBC – (Nanyang Technological University – School for Physical and Mathematical Sciences – Division of Chemistry and Biological Chemistry) gde u svojstvu gostujućeg istraživača (*visiting researcher*) učestvuje u realizaciji pilot projekta vezanog za pravljenje i testiranje rastvora veštačke krvi u kome je takođe vršeno ispitivanje biomineralizacije hidroksiapatitnih prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim plazma sprej postupkom.

Od 2007. do danas, *Bojan R. Gligorijević* je učesnik brojnih internacionalnih i nacionalnih konferencija i skupova. Od maja 2013. je član Programskog Komiteta međunarodne konferencije „Welding and Related Technologies“, koju organizuju Ukrajinska akademija nauka (E.O. Paton Electric Welding Institute) i odeljenje Poljske akademije nauka u Kijevu, Ukrajina.

Bojan R. Gligorijević je učestvovao je u pisanju dva uspešna internacionalna projekta, od kojih je jedan bio finansiran od strane Svetske banke i bio namenjen za obučavanje kadrova u zavarivanju u području istočne Srbije (Bor i Majdanpek), dok je drugi bio projekat finansiran od strane Evropske Unije kroz program RSEDP 2 pod akronimom „W-tech“.

Od stranih jezika, *Bojan R. Gligorijević* govori engleski jezik na profesionalnom nivou, dok poznaje osnove nemačkog, francuskog i ruskog jezika.

2. OPIS DISERTACIJE

2.1. Sadržaj disertacije

Doktorska disertacija kandidata *Bojana R. Gligorijevića* je napisana na 345 strana u okviru kojih se nalazi 8 poglavlja (1. Uvod, 2. Prethodna istraživanja, 3. Ciljevi rada, 4. Eksperimentalni deo, 5. Rezultati, 6. Diskusija, 7. Zaključak i 8. Literatura), 162 slike, 20 tabela i 250 literaturnih navoda. Pored toga, ova doktorska disertacija sadrži naslovne strane na srpskom (1 strana) i engleskom (1 strana) jeziku, spisak članova komisije (1 strana), zahvalnicu (2 strane), listu simbola i skraćenica (2 strane), izvode na srpskom (4 strane) i engleskom (4 strane) jeziku i sadržaj (10 strana). Takođe, nakon osmog poglavlja su dati Prilozi (160 strana), koji su podeljeni na priloge A (33 strane), B (12 strana), C (53 strane), D (20 strana), E (37 strana) i F (4 strane). Prilozi A-E su vezani za eksperimentalni deo i rezultate ove doktorske disertacije, dok prilog F sadrži izjave o autorstvu, o istovetnosti elektronske i štampane verzije dokorskog rada i o korišćenju.

2.2. Kratak prikaz pojedinačnih poglavlja

U **prvom poglavlju** (*Uvod*) je istaknuta suština primene hidroksiapatitnih (HA) prevlaka na metalnim implantatima, ekonomičnost primene, ali i nedostaci niskoenergetskih konvencionalnih plazma instalacija koje su trenutno u upotrebi za nanošenje ovih prevlaka. S druge strane, istaknuti su problemi koji su vezani za trenutnu primenu simuliranih telesnih tečnosti za ispitivanje procesa biomineralizacije HA prevlaka, sa posebnim osvrtom na korišćenje nefizioloških pufera za regulaciju pH ovih simuliranih telesnih tečnosti. Na osnovu prethodnog su definisana dva glavna naučna cilja ove doktorske disertacije. Prvi cilj je podrazumevao ispitivanje hemijsko-strukturnih svojstava HA prevlaka dobijenih primenom visokoenergetske plazma instalacije čija se snaga plazma izvora, kao i svojstva plazma mlaza, značajno razlikuju od većine konvencionalnih plazma instalacija koje su trenutno u upotrebi, dok je drugi cilj podrazumevao ispitivanje početnog stadijuma biomineralizacije dobijenih HA prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima u kojima je regulacija pH ostvarena primenom

prirodnih puferskih sistema. Poslednji paragraf uvoda istakao je prednosti visokoenergetske plazma instalacije korišćene u ovoj doktorskoj disertaciji u odnosu na konvencionalne plazma instalacije, svojstva sistema za aktivnu regulaciju pH simuliranih telesnih tečnosti koji je primenjen u ovom radu, kao i metode koje su korišćene za karakterizaciju dobijenih HA prevlaka. Među metodama karakterizacije posebno istaknuta mikro-Ramanova spektroskopija, kao metod koji je najmanje primenjivan u dosadašnjim istraživanjima, a koji poseduje izuzetan potencijal da produbi razumevanje hemijsko-strukturnih svojstava HA prevlaka i mehanizma njihovog formiranja tokom procesa nanošenja.

Drugo poglavlje (*Prethodna istraživanja*) se sastoji iz šest potpoglavlja. U potpoglavlju *Atmosferski plazma sprej postupak* se detaljno opisuje proces formiranja plazma mlaza (zona I), interakcija čestica polaznih prahova sa plazma mlazom (zona II) i substratom (zona III). Pored toga, dat je detaljan opis parametara koji utiču na brzinu i temperaturu čestica polaznih prahova, kao i njihove raspodele u radijalnom i aksijalnom pravcu plazma mlaza, što je od suštinskog značaja za razumevanje procesa nanošenja prevlaka atmosferskim plazma sprej postupkom. U potpoglavlju *Termički ciklus zagrevanja i hlađenja čestice HA praha* je dat pregled faznih transformacija pri neravnotežnom zagrevanju i hlađenju hipotetičke čestice polaznog HA praha, pri čemu procesi zagrevanja simuliraju procese u plazma mlazu, dok procesi hlađenja simuliraju procese pri udaru čestice polaznog HA praha u substrat. S obzirom na velike brzine zagrevanja i hlađenja koje se postižu tokom interakcije čestice polaznog HA praha sa plazma mlazom i substratom, u ovom potpoglavlju su opisani i procesi ravnotežnog i kvazi-ravnotežnog zagrevanja i hlađenja hipotetičke čestice HA praha, kao i procesa rekristalizacije iz tečne i amorfne kalcijum fosfatne faze sa ciljem boljeg razumevanja pomenutih neravnotežnih procesa. U potpoglavlju *Hemijska, strukturna i morfološka heterogenost HA prevlaka* je opisan aktuelan mehanizam formiranja HA prevlaka dobijenih atmosferskim plazma sprej postupkom, koji je predložen od strane *Sun i saradnika* 2003. godine. Istaknuto je da ovaj model principijelno objedinjuje sve aspekte razmatrene u prvom i drugom potpoglavlju ove disertacije i daje kompletniju sliku o procesu nanošenja HA prevlaka, kao i da se na osnovu ovog modela jasno objašnjava jedan od najčešće zapaženih makro-strukturnih fenomena, poznat kao *gradijent kristaličnosti* HA prevlaka. Takođe, u ovom potpoglavlju je objašnjena i pojava drugih vrsta makro- i mikro-strukturnih defekata, poput prslina i poroznosti, dok je poseban deo posvećen fenomenu poznatom kao *površinska fazna heterogenost* HA prevlaka, koji je detektovan pomoću mikro-Ramanove spektroskopije, a čije poreklo, na osnovu pregleda dostupne literature, nije jednoznačno utvrđeno. Pored pomenutog, istaknut je nedostatak karakterizacije strukture HA prevlaka tradicionalnim metodama rentgenske difraktometrije i infracrvene spektroskopije, jer u prethodnim istraživanjima nisu u potpunosti uzimane u obzir razlike u lokalnoj strukturi ovih prevlaka. U ovom potpoglavlju su navedene i postojeće metode za smanjenje ili eliminaciju makro- i mikro-strukturnih heterogenosti HA prevlaka. U potpoglavlju *Uticaj parametara procesa nanošenja na svojstva HA prevlaka* je dat detaljan pregled prethodnih istraživanja uticaja svojstava polaznih HA prahova, snage plazma izvora, rastojanja substrata od mlaznice (SOD) i inicijalne temperature substrata (T_s) na hemijska, strukturna i morfološka svojstva HA prevlaka. Prikazan je pregled uticaja pomenutih eksperimentalnih parametara procesa nanošenja na brzinu i temperaturu čestica polaznih HA prahova, stepen dehidroksilacije, defosforizacije i topljenja čestica polaznih HA prahova, relativnu kristaličnost i fazni sastav rezultujućih HA prevlaka, razliku između kristaličnosti površine i interfejsa HA prevlaka, međulamelarni kontakt čestica HA depozita, adheziju i koheziju HA prevlaka, poroznost i tvrdoću HA prevlaka i prslina i žilavost HA prevlaka. Od posebne važnosti su delovi ovog potpoglavlja posvećeni studijama koje su utvrdile kontradiktorne rezultate vezane za uticaj pojedinih eksperimentalnih parametara procesa nanošenja plazma sprej postupkom, kao što su SOD i T_s . Pored pomenutih eksperimentalnih parametara, jedan deo ovog potpoglavlja razmatra i uticaje drugih važnijih eksperimentalnih parametara procesa nanošenja. U potpoglavlju *Biomineralizacija HA prevlaka* je dat detaljan hronološki pregled razvoja simuliranih telesnih tečnosti koje su korišćene za

ispitivanje procesa biomineralizacije na površini medicinskih implantata. Takođe, data su i detaljnija objašnjenja procesa biomineralizacije i uloge HA prevlaka vezane za njihovu primenu na površinama medicinskih implantata. Na osnovu ovog pregleda je utvrđeno da su najveći problemi kod primene simuliranih telesnih tečnosti bili vezani za odstupanje jonskog sastava ovih tečnosti u odnosu na neorganski deo krvne plazme, kao i za primenu nefizioloških puferskih sistema za održavanje pH stabilnosti simuliranih telesnih tečnosti. S obzirom da je u ovoj doktorskoj disertaciji razmatrano ispitivanje pH stabilnosti simuliranih telesnih tečnosti pomoću prirodnih puferskih sistema, dat je pregled prethodnih istraživanja koja su vezana za uticaj istih na promene pH simuliranih telesnih tečnosti sa vremenom, pri čemu su takođe razmatrani i uticaji procesa rastvaranja HA prevlaka i kalcijum fosfata, kao i taloženja karbonatnog apatita na pomenute promene pH. U potpoglavlju *Metode ispitivanja* su detaljno objašnjeni principi najvažnijih metodakorišćenih u ovoj doktorskoj disertaciji, kao i pregled prethodnih istraživanja koja su razmatrala primenu korišćenih metoda za hemijsko-strukturnu karakterizaciju HA prevlaka. U slučaju svake metode ispitivanja, objašnjena je metodologija karakterizacije svake od faza čije je prisustvo u HA prevlakama moguće, pri čemu su za svaku metodu navedeni najverovatniji indikatori koji ukazuju na prisustvo određene faze, kao i slučajevi kada nije moguće pouzdano utvrditi prisustvo određene faze.

U **trećem poglavlju** (*Ciljevi rada*) su sažete glavne nedoslednosti i nejasnoće prethodnih istraživanja na osnovu kojih su formirani i taksativno navedeni glavni i specifični naučni ciljevi ove doktorske disertacije.

Četvrto poglavlje (*Eksperimentalni deo*) se sastoji iz tri potpoglavlja. U potpoglavlju *Vrste, redosled i ciljevi eksperimenata i ispitivanja* je opisan i shematski predstavljen tok eksperimenata i metoda ispitivanja, pri čemu su navedeni ciljevi svih eksperimenata i metoda ispitivanja. U potpoglavlju *Eksperimentalne procedure* su detaljno opisani eksperimenti: (i) nanošenja HA prevlaka visokoenergetskim laminarnim plazma sprej postupkom (korišćeni materijali, postupak nanošenja, kombinacije eksperimentalnih parametara), (ii) pravljenja simuliranih telesnih tečnosti, (iii) testiranja pH stabilnosti ovih tečnosti i (iv) ispitivanja procesa taloženja karbonatnog apatita na površinama dobijenih HA prevlaka u napravljenim simuliranim telesnim tečnostima. U potpoglavlju *Uslovi ispitivanja* je hronološki opisan proces karakterizacije polaznih HA prahova i dobijenih HA prevlaka, pri čemu su za svaku metodu ispitivanja data objašnjenja postupaka pripreme uzoraka za ispitivanje, precizirane lokacije merenja kod metoda koje su primenjene za ispitivanje lokalnih svojstava uzoraka, kao i uslovi pri kojima su ispitivanja izvršena.

Peto poglavlje (*Rezultati*) se sastoji iz četiri potpoglavlja.

U potpoglavlju *Svojstva polaznih HA prahova* prikazani su rezultati ispitivanja morfoloških, hemijskih i strukturnih svojstava polaznih HA prahova različitih srednjih veličina čestica. Istaknuto je da je skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM) pokazala da su čestice finijeg polaznog HA praha (fHAP) bile nepravilnog sferičnog oblika, dok su čestice krupnijeg polaznog HA praha (kHAP) bile nepravilnog poliedarskog oblika. Navedeno je da su energetsko-disperzivna fluorescencija rentgenskih zraka (XRF) i energetsko-disperzivna spektrometrija (EDS) ukazale na visoku elementarnu čistoću polaznih HA prahova. Takođe, je navedeno da su XRF i EDS ukazale na to da su srednji molarni Ca/P odnosi fHAP i kHAP iznosili 1.3-1.4 i 1.5-1.7, respektivno, što je ukazivalo na kalcijum-deficitarnost fHAP i blisku stehiometričnost kHAP. Uočeno je da su Rentgenska difraktometrija praha (XRPD), prigušena unutrašnja reflektivna (ATR) infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR) i mikro-Raman spektroskopija (MRS) ukazale na visoku faznu čistoću fHAP, dok je kod kHAP ustanovljen sadržaj tetrakalcijum fosfat (TTCP) u tragovima.

U potpoglavlju *Analiza površinskih delova i debljine HA prevlaka* je prikazana identifikacija faza prisutnih u površinskim delovima HA prevlaka, kvalitativna procena faznih promena u zavisnosti od veličina čestica polaznog HA praha i vrednosti SOD i T_S , kao i kvantifikacija uticaja ovih parametara na: (i) promene srednje relativne kristaličnosti površinskih

delova HA prevlaka, (ii) varijaciju lokalne površinske relativne kristaličnosti i (iii) varijaciju lokalne debljine HA prevlaka. XRPD, MRS, ATR-FTIR i transmisijna FTIR (T-FTIR) spektrometrija površinskih delova HA prevlaka su pokazale da su dobijene HA prevlake sadržale fazne nečistoće koje su verovatno nastale kao posledica (i) termičkog razlaganja fHAP i kHAP u plazma mlazu i (ii) kaljenja istopljenih ili delimično istopljenih čestica polaznog HA praha pri udaru u substrat ili prethodno formirani depozit. Zabeleženo je dominantno prisustvo amorfnog kalcijum fosfata (ACP) i hidroksiapatita (HA) u prevlakama od fHAP (HAP-fp), kao i dominantno prisustvo HA u prevlakama od kHAP (HAP-kp). Zapaženo je da su analize površinskih delova HA prevlaka nanesenih pri različitim SOD i T_S pokazale da su se najveće promene u relativnom faznom sastavu dešavale u slučajevima relativnih sadržaja ACP i HA faza, dok su promene u relativnim sadržajima faznih nečistoća (trikalcijum fosfat – TCP, TTCP, kalcijum oksid – CaO i oksipatit – OA), bile praktično zanemarljive. Uočeno je da su MRS analiza površina prevlaka i merenja njihovih debljina ukazali na prisustvo izražene površinske fazne heterogenosti i neuniformnosti debljine HAP-fp. Tako je ustanovljeno da je povećanje SOD dovelo do smanjenja površinske fazne heterogenosti i neuniformnosti debljine HAP-fp, ali na račun smanjenja srednje relativne kristaličnosti, kao i da povećanje T_S nije imalo značajan uticaj. S druge strane, pokazano je da HAP-kp ispoljavaju površinsku faznu homogenost i uniformnost debljine, na koje promene SOD i T_S nisu imali značajnog uticaja. Ukazano je takođe da se kod HAP-fp i HAP-kp lokalna površinska relativna kristaličnost naizgled menjala u skladu sa promenom lokalne debljine.

U navedenom potpoglavlju prikazani su i rezultati karakterizacije hemijskih, strukturnih i morfoloških svojstava poprečnih preseka HA prevlaka dobijenih sečenjem pomoću dijamantske testere u pravcu njihove debljine, pri čemu su ova ispitivanja sprovedena na različitim delovima istih HA prevlaka, što je za rezultat omogućilo sagledavanje pomenutih svojstava ovih prevlaka i u pravcu koji je paralelan interfejsu prevlaka/substrat. Takođe su date detaljne procene uticaja veličine polaznih HA prahova, SOD i T_S na pomenuta svojstva HA prevlaka. Predstavljeni su rezultati analize poprečnih preseka HAP-fp pomoću MRS, XRPD i svetlosne mikroskopije (SM), koji su ukazali na porast relativne kristaličnosti sa povećanjem rastojanja od interfejsa prevlaka/substrat na debljim delovima ovih prevlaka, kao i da ova promena nije bila izražena na tanjim delovima istih prevlaka. Navedeno je da ova analiza ukazuje je na: (i) smanjenje poroznosti, (ii) smanjenje prisustva delimično istopljenih čestica fHAP, (iii) povećanje prisustva ACP oblasti, (iv) smanjenje debljine lamela fHAP depozita i (v) pad relativne kristaličnosti u pravcu interfejsa prevlaka/substrat i smeru od debljih ka tanjim delovima HAP-fp. S druge strane, pokazano je da MRS analiza na poprečnim presecima HAP-kp i ekvivalentnim lokacijama merenja ukazuje na slične tendencije promena relativne kristaličnosti sa povećanjem rastojanja od interfejsa kao u slučaju HAP-fp, ali i na to da su ove promene bile značajno manje izražene. Uočeno je da SM analiza nije ukazala na značajne razlike u morfološkim svojstvima po čitavom poprečnom preseku HAP-kp u pravcu interfejsa, što je bilo u skladu sa rezultatima MRS. Na osnovu toga pretpostavljeno je da su se tokom procesa nanošenja različitim delovima istih HA prevlaka uspostavili različiti procesi rekristalizacije, što je najverovatnije dovelo do pojave izražene fazne heterogenosti površine HAP-fp i fazne homogenosti površine HAP-kp.

U drugom delu potpoglavlja *Analiza površinskih delova i debljine HA prevlaka* prikazani su rezultati ispitivanja HA prevlaka u pravcu njihove debljine, pri čemu su ove prevlake bile invazivno sečene ručnom testerom, što je omogućilo identifikaciju slabijih mesta u ovim prevlakama koja su se manifestovala kroz pojavu delaminacije na interfejsu prevlaka/substrat i/ili pojavu mikro-prslina. Ovde su takođe izvršene detaljne procene uticaja veličine polaznih HA prahova, SOD i T_S na hemijska, strukturna i morfološka svojstva poprečnih preseka HA prevlaka. SEM-EDS rezultati su pokazali da su se mikro-prsline uglavnom koncentrisale u ACP oblastima ispitanih HA prevlaka. Pokazano je da je uticaj povećanja SOD na morfološko-strukturna svojstva HAP-fp bio analogan uticaju promena zapaženom u pravcu koji je paralelan

interfejsu prevlaka/substrat i smeru od debljih ka tanjim delovima HAP-fp. Međutim, istaknuto je da su MRS i SEM-EDS analize pokazale da je povećanje SOD na pojedinim lokacijama merenja uzrokovalo diskontinualnu promenu relativne kristaličnosti i delaminacije na interfejsu HAP-fp. S druge strane, navedeno je da su rezultati MRS, SM i SEM-EDS analiz pokazali da je povećanje T_S uticalo na: (i) smanjenje poroznosti, (ii) smanjenje debljine lamela HA depozita, (iii) smanjenje prisustva mikro-prslina nastalih usled sečenja ručnom testerom, (iv) uniformniju raspodelu ACP i rekristalisanih HA oblasti usled smanjenja debljine lamela HA depozita, (v) zanemarljivu promenu relativne kristaličnosti na većini lokacija merenja i (vi) pojavu diskontinualnih promena relativne kristaličnosti HAP-fp na pojedinim lokacijama merenja. U slučaju HAP-kp, navedeno je da su MRS, SM i SEM-EDS analize pokazale da je povećanje SOD uticalo na: (i) smanjenje relativne kristaličnosti u oblasti blizu interfejsa, (ii) pojavu delaminacije na interfejsu nakon sečenja ručnom testerom i (iii) smanjenje prisustva delimično istopljenih čestica kHAP. S druge strane, istaknuto je da su MRS, SM i SEM-EDS analize pokazale da je povećanje T_S uticalo na: (i) povećanje relativne kristaličnosti u oblasti blizu interfejsa i (ii) smanjenje prisustva prslina i delaminacije na interfejsu. Zapaženo je da pojava diskontinualnih promena svojstava, prisutna u slučaju HAP-fp, nije bila uočena u HAP-kp, što je pripisano odsustvu izražene lamelarnosti čestica kHAP depozita. Pretpostavljeno je da su, za razliku od kHAP, lamele fHAP depozita od istopljenih čestica fHAP pri udaru u podlogu postizale debljine, koje su, pored SOD i T_S , takođe imale uticaj na brzinu hlađenja ovih lamela.

U potpoglavlju *Biom mineralizacija HA prevlaka* su prikazani rezultati procedure pravljenja modifikovanih Kokubo rastvora kod kojih je moguće vršiti aktivnu regulaciju pH pomoću CO_2 . Takođe su prikazani rezultati testiranja pH stabilnosti ovih simuliranih telesnih tečnosti u prisustvu i odsustvu fiziološke smeše proteina albumina i gama globulina, u prisustvu i odsustvu kalcijumovog (Ca^{2+}) jona pri različitim polaznim teorijskim koncentracijama hidrogenkarbonatnih jona, kao i rezultati eksperimenata ispitivanja sklonosti formiranja karbonatnog apatita na površini HA prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima u uslovima bez i sa aktivnom regulacijom pH pomoću CO_2 i u prisustvu i odsustvu fiziološke smeše proteina ljudskog albumina i gama globulina. Istaknuto je da su ispitivanja pH stabilnosti simuliranih telesnih tečnosti pokazala da je dodavanje ljudskih proteina albumin i gama globulin izazvalo najveći pad u promeni pH sa vremenom da je dodatak Ca^{2+} jona blaže usporio promenu pH. Uočeno je da je uticaj dodatka proteina i Ca^{2+} jona na promene pH sa vremenom bio manje izražen u vodenim rastvorima sa većom polaznom teorijskom koncentracijom HCO_3^- jona. Pokazano je takođe da je u eksperimentima bez aktivne regulacije pH pomoću CO_2 , u odsustvu proteina, T-FTIR spektroskopija površina HA prevlaka registrovala prisustvo B-tipa kaprbonatnog apatite, dok je u prisustvu protein ukazala na simultano prisustvo B-tipa karbonatnog apatita i adsorbovanih proteina. Uočeno je da je u eksperimentima sa aktivnom regulacijom pH pomoću CO_2 , u odsustvu proteina, T-FTIR spektroskopija ukazala na pojavu manjeg taloženja karbonatnog apatita na površinama HA prevlaka, dok je u prisustvu proteina, ukazala na to da su se taloženje karbonatnog apatita i adsorpcija proteinskih vrsta odvijali paralelno na površinama HA prevlaka.

Ovde je neophodno napomenuti da je u glavnom tekstu **petog poglavlja Rezultati** dat prikaz reprezentativnih rezultata ispitivanja, dok su rezultati svih sprovedenih detaljnih ispitivanja dati u **prilozima A-E** ove doktorske disertacije.

Šesto poglavlje (Diskusija) se sastoji iz dva potpoglavlja. U potpoglavlju *Hemijska, strukturna i morfološka svojstva HA prahova i prevlaka* je razmatran uticaj svojstava polaznih HA prahova na ispitivana svojstva dobijenih HA prevlaka. Diskutovane su fazne promene u površinskim delovima HA prevlaka u odnosu na polazno stanje HA prevlaka, pri čemu je akcenat stavljen na uticaj veličine polaznih HA prahova. Fazne promene su razmatrane zasebno za svaku fazu čije je prisustvo detektovano u HA prevlakama. Pored toga, diskutovana je i zapažena analogija promena relativnih površinskih kristaličnosti određenih pomoću MRS i tradicionalnog XRPD metoda, čime je uveliko potvrđen potencijal i opravdanost primene MRS

metode za razmatranje lokalnog karaktera hemijsko-strukturnih svojstava HA prevlaka u ovoj doktorskoj disertaciji. Nakon toga su diskutovani rezultati koji su potvrdili vezu između fazne heterogenosti površine HA prevlaka i procesa rekristalizacije tokom formiranja ovih prevlaka, kao i rezultati koji su utvrdili postojanje analogije između uticaja parametara SOD i promene ispitivanih svojstava HA prevlaka u pravcu interfejsa prevlaka/substrat. Takođe je izvršena detaljna diskusija uticaja parametara SOD i T_S , promena sadržaja OH^- jona u pravcu debljine HA prevlaka, kao i procena zaostalih makro-naprezanja u ovim prevlakama. U potpoglavlju *Ekperimenti u simuliranim telesnim tečnostima i biomineralizacija HA prevlaka* diskutovani su rezultati vezani za proceduru pravljenja simuliranih telesnih tečnosti, stabilnosti njihove pH, kao i procesa formiranja karbonatnog apatita na površini dobijenih HA prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima. Diskusija je u svim razmatranim slučajevima podrazumevala utvrđivanje korelacije između rezultata dobijenih u okviru ove doktorske disertacije, kao i poređenje ovih rezultata sa rezultatima prethodnih istraživanja.

U **sedmom poglavlju (Zaključak)** je dat kratak pregled istraživanja sa glavnim zaključcima koji su proistekli iz rezultata ove doktorske disertacije. Istaknuto je da su rezultati ove doktorske disertacije, koji su sumirani u *Zaključaku*, potvrdili sve polazne hipoteze koje su bile postavljene na početku izrade disertacije. Konstatovano da je primenom visokoenergetskog laminarnog plazma sprej postupka bilo moguće postići izraženu strukturnu homogenost HA prevlaka po celoj njihovoj zapremini, što je i eksperimentalno potvrđeno u slučaju HA prevlaka debljine oko 100 μm , koje su dobijene nanošenjem polaznih HA prahova srednje veličine čestica $\sim 90 \mu m$ na čelične substrate pri $SOD=80 \text{ mm}$ i $T_S=200 \text{ }^\circ C$. S obzirom da je najveći udeo materijala HA prevlaka bio formiran od istopljenog dela čestica polaznih HA prahova, zaključeno je da je kristaličnost HA prevlaka dominantno bila pod uticajem procesa rekristalizacije tokom njihovog formiranja. Ukazano je na rezultate koji su potvrdili da je povećanje SOD i T_S u slučaju HA prevlaka od finijeg polaznog HA praha proizvelo diskontinualne promene relativne kristaličnosti na određenim lokacijama merenja, što nije detektovano u slučaju HA prevlaka od krupnijeg HA praha. Time je potvrđena hipoteza da je uticaj SOD i T_S najverovatnije kompleksniji u slučaju HA prevlaka od finijeg polaznog HA praha. Istaknuto je da su rezultati ispitivanja pokazali da su promene pH istih simuliranih telesnih tečnosti bile različite u slučajevima HA prevlaka od finijeg i krupnijeg polaznog HA praha, što je pripisano postojanju velike razlike u površinskoj kristaličnosti kod ovih prevlaka. Navedeno je takođe da je u rastvorima sa manjom polaznom teorijskom koncentracijom hidrogenkarbonatnih jona i nižom polaznom pH, koje su simulirale stanje ljudskog organizma u hiperhloroemičnoj metaboličkoj acidozi, utvrđeno da proces taloženja karbonatnog apatita započinje kasnije u poređenju sa rastvorima koji su simulirali stanje zdravog ljudskog organizma i koji su sadržali veću polaznu teorijsku koncentraciju hidrogenkarbonatnih jona i višu polaznu vrednost pH. Ovim je ukazano na to da rastvori čija svojstva simuliraju određeni kiselo-bazni poremećaj ljudskog organizma imaju potencijal da uzrokuju drugačiji ishod procesa biomineralizacije površine HA prevlaka u odnosu na rastvore koji simuliraju stanje zdravog ljudskog organizma, a koji se najčešće primenjuju u in-vitro ispitivanjima HA prevlaka. Konstatovano je da su rezultati takođe pokazali da prisustvo proteina odlaže proces taloženja karbonatnog apatita, pri čemu je potvrđena mogućnost da su procesi adsorpcije proteina i taloženje karbonatnog apatita na površini HA prevlaka procesi koji se odvijaju paralelno. Na ovaj način je potvrđena polazna hipoteza vezana za uticaj prisustva proteinskih vrsta u simuliranim telesnim tečnostima.

U **osmom poglavlju (Literatura)** je dat spisak korišćene literature tokom realizacije istraživanja i pisanja ove doktorske disertacije. Ovaj spisak literature uključuje i publikacije kandidata *Bojana R. Gligorijevića* objavljene u međunarodnim časopisima koje su proistekle iz ove doktorske disertacije.

3. OCENA DISERTACIJE

3.1. Savremenost i originalnost

U ovoj doktorskoj disertaciji su hidroksiapatitne prevlake, čija su hemijska, strukturna i morfološka svojstva proučavana, bile nanosene atmosferskim plazma sprej postupkom čiji plazma mlaz na izlazu iz mlaznice ispoljava laminarnost toka strujanja i homogeniju raspodelu brzine i temperature u aksijalnom i radijalnom pravcu u poređenju sa konvencionalnim plazma instalacijama korišćenim u prethodnim studijama. Laminarnost toka strujanja i homogenost raspodele brzine i temperature plazma mlaza su posledica specifične konstrukcije plazmatrona. S druge strane, u konvencionalnim plazma instalacijama, plazma mlaz je na izlazu iz mlaznice najčešće turbulentan sa nehomogenijom raspodelom brzine i temperature u radijalnom i aksijalnom pravcu, zbog čega je njihova primena nepovoljna jer turbulencije proizvode kompleksne trajektorije čestica HA prahova, što uzrokuje njihovo neravnomerno zagrevanje u plazma mlazu i umanjuje efikasnost njihovog topljenja. Kao posledica prethodnog, HA prevlake dobijene pomoću turbulentnog plazma mlaza najčešće poseduju povećanu poroznost, slabiju koheziju/adheziju čvrstoću, mikroprrsline i dr. Pored navedenog, u ovoj doktorskoj disertaciji je primenjena i snaga plazma izvora (~52 kW) koja značajno prevazilazi snage plazma izvora korišćenih u prethodnim istraživanjima. Naime, u dostupnoj literaturi postoji nedostatak dokumentovanih studija koje su koristile visokoenergetske plazma instalacije. Analiza prethodnih istraživanja je pokazala da je u poslednjih par decada prisutna tendencija primene konvencionalnih atmosferskih plazma sprej postupaka koji koriste plazma izvore nižih energija (<40 kW). Glavni cilj primene niskoenergetskih plazmatrona jedobijanje HA prevlaka sa manjim sadržajem faznih nečistoća. Međutim, ovakve HA prevlake, zbog neefikasnog topljenja polaznih HA prahova, najčešće poseduju izraženu poroznost, a samim tim i nisku adheziju/koheziju čvrstoću.

U ovoj doktorskoj disertaciji je korišćena mikro-Ramanova spektroskopija za ispitivanje hemijsko-strukturnih svojstava HA prevlaka. Najvećaprednost ovog metoda je ta što omogućava analizu HA prevlaka na mikrometarskom nivou, pa samim tim predstavlja adekvatan metod za proučavanje mikro- i makro-strukturne heterogenosti ovih prevlaka. Potencijal ovog metoda karakterizacije danas nije u dovoljnoj meri iskorišćen za ispitivanje hemijsko-strukturnih svojstava HA prevlaka. Međutim, primećen je vidni porast frekventnosti njegove primene u prethodnoj dekadi, dok su pojedini autori naglasili da ovaj metod karakterizacije može značajno da doprinese boljem razumevanju procesa nanošenja HA prevlaka atmosferskim plazma sprej postupkom. U većini prethodnih istraživanja je vršena karakterizacija strukture HA prevlaka primenom tradicionalne XRPD metode. Problem primene ove metode je taj što XRPD daje informaciju o prosečnom faznom sastavu ovih prevlaka, pri čemu analizira veću količinu materijala, zbog čega često nije moguće sagledavanje potencijalnih razlika u lokalnoj strukturi HA prevlaka. S druge strane, prethodna istraživanja su takođe pokazala kompatibilnost mikro-Ramanove spektroskopije i tradicionalne XRPD metode. Naime, ova istraživanja su pokazala da se relativni intenziteti Ramanovih pikova koji potiču od ACP i HA faza menjaju u skladu sa relativnim intenzitetima ovih faza dobijenih sa XRPD difraktograma. U ovoj doktorskoj disertaciji je potvrđena ovakva usaglašenost promena srednjih relativnih kristalichnosti površina HA prevlaka određenih pomoću mikro-Ramanove spektroskopije i XRPD metode, što je dalo okvir i pokazalo opravdanost primene mikro-Ramanove spektroskopije za posmatranje lokalnih promena u relativnoj kristalichnosti HA prevlaka. Pored XRPD, u ovom radu su korišćene i metode, poput FTIR, SEM-EDS i SM, pomoću kojih su dodatno potvrđeni rezultati ispitivanja dobijeni pomoću mikro-Ramanove spektroskopije.

U ovoj disertaciji je proučavan početni stadijum procesa biomineralizacije na površinama HA prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima koje su sadržale prirodne puferske sisteme (CO₂, albumin, globulin i fosfati). Veliki broj prethodnih istraživanja je vršio ispitivanja početnih stadijuma procesa biomineralizacije HA prevlaka (rastvaranje HA i taloženje

karbonatnog apatita) u simuliranim telesnim tečnostima čiji sastav ne odgovara sastavu ljudske krvne plazme, što se pre svega odnosi na primenu nefizioloških puferskih sistema. Pored toga, poslednjih godina postoji sve veća težnja za ispitivanjem uticaja prisustva različitih proteinskih vrsta (pre svega ljudskog albumina) na procese rastvaranja HA i taloženja karbonatnog apatita u simuliranim telesnim tečnostima. Međutim, ispitivanja uticaja proteina se i dalje vrše u prisustvu nefizioloških pufera, iako već postoje razvijeni sistemi za održavanje pH pomoću CO₂ u kojima je primena nefizioloških pufera apsurdna. U ovakvim sistemima uticaj proteina još uvek nije u dovoljnoj meri ispitan, što je uzeto u obzir pri izradi ove doktorske disertacije. Neophodno je posebno istaći da u raspoloživoj literaturi nije pronađena nijedna studija koja je razmatrala proces biomineralizacije HA prevlaka u kojoj je sastav simuliranih telesnih tečnosti tertian u kontekstu kiselo-baznih poremećaja, kao ni studije koje uzimaju u obzir modernu analizu krvne plazme i krvi uopšte, koja se bazira na tradicionalnom i modernom pristupu *Siggaard-Andersen-a* i *Stewart-a*, respektivno. Zbog toga uzimanje u obzir konteksta kiselo-baznih poremećaja ljudskog organizma, predstavlja originalan doprinos ove doktorske disertacije.

3.2. Osvrt na referentnu i korišćenu literaturu

U ovoj doktorskoj disertaciji je izvršen obiman pregled literature koji uključuje 250 literaturnih navoda iz oblasti nanošenja HA prevlaka primenom atmosferskog plazma sprej postupka i procesa biomineralizacije ovih prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima. Navedeni literaturni podaci sadrže eksperimentalne rezultate, analizu i diskusiju dobijenih rezultata i izvedene zaključke, kao i teorijske osnove primenjenih metoda ispitivanja, njihove mogućnosti i ograničenja. S obzirom da pregled prethodnih istraživanja, pored podataka o HA prahovima, sadrži i podatke o interakcijama drugih vrsta prahova sa plazma mlazom i metalnim substratima, kao i podatke vezane za proces osteointegracije ortopedskih implantata, tradicionalnu i modernu analizu krvne plazme i kiselo-bazne poremećaje ljudskog organizma, uočava se adekvatno i temeljno poznavanje predmetne oblasti istraživanja. Treba naglasiti da literaturni navodi u ovoj doktorskoj disertaciji pokrivaju period prethodnih istraživanja od četrdeset godina unazad, što je pokazatelj temeljne pretrage literature i poznavanja istorijskog aspekta razvoja oblasti nanošenja HA prevlaka atmosferskim plazma sprej postupkom i procesa biomineralizacije ovih prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima. Pored toga, oko 50 % literaturnih navoda je publikovano u prethodnih deset godina, a ovaj procenat je iznačajno veći ako se posmatra period od proteklih petnaest godina, što je pokazatelj aktuelnosti teme ove doktorske disertacije.

3.3. Opis i adekvatnost primenjenih naučnih metoda

U ovoj doktorskoj disertaciji su izvršena ispitivanja polaznih HA prahova, eksperimenti nanošenja i ispitivanja HA prevlaka, kao i eksperimenti biomineralizacije na površini HA prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima.

Veličina i morfologija fHAP i kHAP su procenjeni pomoću skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM). Kvantitativna merenja srednje veličine polaznih HA prahova i njihove raspodele nisu vršena jer su bila garantovana od strane proizvođača. Nakon SEM analize, izvršeno je ispitivanje hemijskog sastava polaznih HA prahova pomoću energetske-disperzivne spektrometrije (EDS) i energetske-disperzivne fluorescencije rentgenskih zraka (XRF). Potom je izvršena analiza faznog sastava polaznih HA prahova pomoću rentgenske difraktometrije praha (XRPD), mikro-Ramanove spektroskopije (MRS) i prigušene unutrašnje reflektivne infracrvene spektrometrije sa Fourier-ovom transformacijom (ATR-FTIR). Zatim je izvršeno nanošenje polaznih HA prahova na substrate od nerđajućeg čelika postupkom visokoenergetskog laminarnog atmosferskog plazma sprej postupka.

Nakon nanošenja polaznih HA prahova na substrate, izvršena su: (i) ispitivanja hemijsko-strukturnih svojstava površine dobijenih HA prevlaka, (ii) merenja njihove debljine, (iii)

ispitivanja hemijsko-strukturnih svojstava u pravcu debljine HA prevlaka i (iv) ispitivanja pH stabilnosti simuliranih telesnih tečnosti i formiranja karbonatnog apatita na površinama odabranih HA prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima.

Vizuelnim pregledom uzoraka je ustanovljeno da su HA prevlake imale neuniformnu debljinu zbog čega su izvršena merenja debljine svih HA prevlaka kalibrisanim mikrometrom na prethodno utvrđenim lokacijama merenja. Potom su izvršene XRPD, ATR-FTIR i T-FTIR (transmisiona infracrvena spektroskopija sa Fourier-ovom transformacijom) analize površinskih delova HA prevlaka na osnovu kojih je izvršena procena: (i) prisustva faza na površinama HA prevlaka, (ii) srednje relativne kristaličnosti površinskih delova HA prevlaka, kao i (iii) promena koje je izazvao atmosferski plazma sprej proces u odnosu na polazno stanje HA prahova. Pored toga, površine HA prevlaka su analizirane pomoću MRS na istim lokacijama merenja na kojima su izvršena merenja lokalne debljine HA prevlaka.

Nakon površinskih analiza, izvršena su ispitivanja hemijsko-strukturnih svojstava u pravcu debljine HA prevlaka. U *prvom slučaju*, uzorci su sečeni dijamantskom testerom u pravcu najvećih razlika u lokalnoj debljini i lokalnoj strukturi HA prevlaka. Ovaj pravac sečenja je bio ustanovljen na osnovu prethodnih površinskih hemijsko-strukturnih merenja, kao i merenja lokalne debljine HA prevlaka. Nakon sečenja, izvršena su MRS merenja na poliranim poprečnim presecima u pravcu debljine HA prevlaka na dve udaljene lokacije merenja (posmatrano u pravcu paralelnom interfejsu prevlaka/substrat), nakon čega su izmerene debljine poprečnih preseka pomoću svetlosne mikroskopije (SM) duž pomenutog pravca sečenja. Potom su polirani poprečni preseki nagriženi vodenim rastvorom HNO_3 i analizirani pomoću SM u svetlom polju. U *drugom slučaju*, uzorci su sečeni ručnom testerom pri čemu je sečenje u većem broju slučajeva vršeno u pravcu translatorskog pomeranja plazma pištolja. Nakon sečenja, izvršena su merenja debljine pomoću stereo SM, a potom i MRS i SEM-EDS merenja na poliranim poprečnim presecima u pravcu debljine HA prevlaka. U *trećem slučaju*, izvršena je kontrolna XRPD analiza u pravcu debljine HA prevlaka na udaljenim lokacijama sa ciljem provere zapažanja izvedenih iz MRS i SM merenja.

Razlog zbog koga je vršeno sečenje ručnom testerom HA prevlaka je bio da se unesu velika naprezanja i na taj način veštački izazove pojava prslina na interfejsu prevlaka/substrat i/ili unutar prevlaka. Na osnovu ovog je izvršena analiza slabijih mesta u HA prevlakama, koja je izvršena na osnovu rezultata MRS merenja relativne kristaličnosti i SEM-EDS merenja molarnog Ca/P odnosa. S druge strane, sečenje dijamantskom testerom je uzrokovalo značajno manja naprezanja u odnosu na sečenje ručnom testerom i u tom smislu je posmatrano kao referentno stanje. Generalni ciljevi XRPD, MRS, SM i SEM-EDS analiza su bili da se utvrdi raspodela amorfnih i kristalnih oblasti u pravcu debljine HA prevlaka.

Nakon nanošenja i karakterizacije HA prahova i prevlaka, napravljene su dve vrste simuliranih telesnih tečnosti primenom fizioloških puferaoznačenih kao: HHS i NS. Osnovna razlika između ovih rastvora je što jedan simulira hiperhloroemično metaboličko stanje (HHS), a drugi normalno stanje (NS), tj. zdravo stanje, ljudskog organizma. Sastavi ovih simuliranih telesnih tečnosti su izabrani na osnovu rezultata analiza ljudske krvi iz prethodnih istraživanja. Nakon pravljenja polaznih simuliranih telesnih tečnosti, izvršeno je testiranje njihove pH stabilnosti sa i bez prisustva proteinskih vrsta, kao i sa i bez prisustva Ca^{2+} jona. Ciljevi ovih ispitivanja su bili da se proceni sposobnost puferovanja fiziološke smeše HGG i HSA proteina u oblasti fiziološke pH, kao i da se proceni uticaj procesa taloženja (prisustva Ca^{2+} jona) na stabilnost pH. Eksperimenti su vršeni primenom principa nanošenja biomimetičkih prevlaka karbonatnog apatita u kojima se taloženje karbonatnog apatita postiže nereguliranim porastom pH usled difuzije CO_2 iz rastvora u okolni ambijentalni vazduh. Nakon ovih eksperimenata, u HHS simulirane telesne tečnosti su porinute odabrane HA prevlake u nanešenom stanju, a potom je posmatran proces taloženja karbonatnog apatita na njihovim površinama u uslovima neregulisanog porasta pH (u prisustvu i odsustvu proteinskih vrsta) i u uslovima aktivne regulacije pH (7.2-7.6) pomoću CO_2 (u prisustvu i odsustvu proteinskih vrsta). Cilj ovih

eksperimenata je bio da se proceni uticaj fiziološke smeše HGG i HSA proteina na proces taloženja karbonatnog apatita na površinama HA prevlaka. Formiranje karbonatnog apatita na površini HA prevlaka je bilo praćeno primenom T-FTIR metode.

Na osnovu svega izloženog je ustanovljeno da su primenjene naučne metode ispitivanja savremene, međusobno kompatibilne i adekvatne za karakterizaciju hemijskih, strukturnih i morfoloških svojstava HA prahova i prevlaka u ovoj doktorskoj disertaciji, kao i za ispitivanje pH stabilnosti napravljenih simuliranih telesnih tečnosti i formiranje karbonatnog apatita na površini HA prevlaka u napravljenim Kokubo rastvorima.

3.4. Primenljivost ostvarenih rezultata

Karakterizacija hemijskih, strukturnih i morfoloških svojstava HA prevlaka u ovom radu je pokazala nekoliko principijelnih razlika koje izdvajaju proces nanošenja ovih prevlaka pomoću *PJ-100* plazma instalacije od postupaka koji su primenjeni u prethodnim istraživanjima. Prvo, proces nanošenja HA prevlaka pomoću *PJ-100* plazma pištolja primenom snage plazma izvora od ~52 kW unosi značajno manji sadržaj CaO faze u poređenju sa konvencionalnim plazma instalacijama, iako su u njihovom slučajubile primenjene značajno niže snage plazma izvora. Drugo, proces nanošenja pomoću *PJ-100* plazma pištolja je uzrokovao pojavu fenomena blagih diskontinualnih promena relativne kristaličnosti u HAP-fp sa povećanjem SOD i T_S u relativno uskim intervalima ovih parametara procesa nanošenja, što nije detektovano u prethodnim istraživanjima. Treće, nanošenje HA prevlaka pomoću *PJ-100* plazma pištolja je pokazalo da je unutar intervala procesnih parametara, čiji je uticaj razmatran, moguće bez primene naknadne termičke obrade dobiti HA prevlake koje ispoljavaju visoku strukturnu homogenost u svim delovima njihove zapremine i koje se karakterišu odsustvom delaminacije na interfejsu prevlaka/substrat i odsustvom zaostaih makro-naprezanja. Ovakve HA prevlake su imale debljinu oko 100 μm , a dobijene su nanošenjem polaznih HA prahova srednje veličine čestica ~90 μm na substrate od nerđajućeg čelika pri $SOD=80\text{ mm}$ i $T_S=200\text{ }^\circ\text{C}$.

Rezultati eksperimenata u simuliranim telesnim tečnostima su pokazali tri važne posledice. Prvo, proces formiranja karbonatnog apatita na površinama HA prevlaka se zaista odvija u simuliranim telesnim tečnostima, čija je procedura pravljena razvijena u ovom radu. Drugo, prisustvo CO_3^{2-} i amidnih pikova na površinama HA prevlaka u eksperimentima sa aktivnom regulacijom pH pomoću CO_2 je pokazalo uspešnu primenu ovog načina regulacije pH simuliranih telesnih tečnosti. Treće, na površinama HA prevlaka nanesenih u ovom radu je ustanovljeno da se početni stadijum procesa biomineralizacije dešava, što je ukazalo na to da ove prevlake pokazuju potencijal da budu primenjene kao materijali za implantate.

3.5. Ocena dostignutih sposobnosti kandidata za samostalni naučni rad

Kandidat *Bojan R. Gligorijević*, dipl. inž. metalurgije i metalnih materijala, je tokom izrade ove doktorske disertacije pokazao da poseduje kvalitete za samostalni naučno-istraživački rad, što podrazumeva analitičnost, sistematičnost, pouzdanost i preciznost u radu. Takođe, kandidat je demonstrirao uspešnu analizu rezultata istraživanja, kao i smisao za njihovo adekvatno predstavljanje, što potvrđuju objavljeni radovi u međunarodnim časopisima i saopštenja sa međunarodnih konferencija, koji su proistekla iz rezultata ove doktorske disertacije.

4. OSTVARENI NAUČNI DOPRINOS

4.1. Prikaz ostvarenih naučnih doprinosa

- Rezultati ove doktorske disertacije su omogućili bolje razumevanje uticaja veličine čestica polaznog HA praha na strukturnu heterogenost i mehanizam formiranja

hidroksiapatitnih prevlaka u slučaju primene atmosferskog plazma sprej postupka visokih energija (52 kW). Na osnovu analize rezultata ispitivanja strukturne heterogenosti HA prevlaka nanesenih sa značajno različitim veličinama čestica polaznih HA prahova je predložena dopuna trenutno aktuelnog *Sun-ovog* modela formiranja HA prevlaka

- Pojašnjen je uticaj SOD i T_S na strukturnu heterogenost i mehanizam formiranja hidroksiapatitnih prevlaka u slučaju primene atmosferskog plazma sprej postupka visokih energija (52 kW). Na osnovu analize rezultata ispitivanja strukturne heterogenosti HA prevlaka je utvrđeno da povećanje SOD i T_S može da izazove diskontinualne promene relativne kristaličnosti HA prevlaka na lokalnom nivou, što nije dokumentovano u ranijim istraživanjima u kojima su korišćene plazma instalacije manjih snaga sa drugačijim termo-kinetičkim svojstvima plazma mlaza
- Istaknuta je važnost uticaja kiselo-baznih poremećaja ljudskog organizma na proces biomineralizacije površine hidroksiapatitnih prevlaka. Rezultati su pokazali da rastvori čija svojstva simuliraju određeni kiselo-bazni poremećaj ljudskog organizma imaju potencijal da uzrokuju drugačiji ishod procesa biomineralizacije površine HA prevlaka u odnosu na rastvore koji simuliraju stanje zdravog ljudskog organizma
- Utvrđen je i objašnjen efekat ljudskih proteina na proces biomineralizacije hidroksiapatitnih prevlaka u simuliranim telesnim tečnostima. Rezultati su pokazali da prisustvo proteina odlaže proces taloženja karbonatnog apatita, pri čemu je ukazano na mogućnost da se procesi adsorpcije proteina i taloženje karbonatnog apatita na površini HA prevlaka odvijaju paralelno.

4.2. Kritička analiza rezultata istraživanja

Naučni doprinosi ove doktorske disertacije poboljšavaju razumevanje mehanizma formiranja HA prevlaka nanešenih atmosferskim plazma sprejom, pri čemu su u disertaciji za pojedine rezultate dati okviri unutar kojih oni važe.

U ovoj doktorskoj disertaciji je pokazano postojanje veze između površinske fazne heterogenosti i procesa rekristalizacije tokom rasta HA prevlaka. Ovde treba napomenuti da ova veza važi kada su HA prevlake dominantno formirane od HA depozita nastalih očvršćavanjem istopljenih delova čestica polaznog HA praha. tj. u slučaju kada plazma mlaz dominantno topi čestice polaznog HA praha. Ukoliko su u strukturi HA prevlake dominantno prisutne neistopljene i/ili delimično istopljene čestice polaznog HA praha na faznu heterogenost površine HA prevlaka nema dominantan uticaj procesa rekristalizacije, već procesi termičkog razlaganja čestica polaznog HA praha u čvrstom stanju koji se odigravaju pod uticajem visokotemperaturnog plazma mlaza.

Dopuna *Sun-ovog* modela formiranja HA prevlaka, koja je predložena u ovoj doktorskoj disertaciji, odnosi se na slučajevne nanošenja HA prevlaka od polaznih HA prahova sa relativno manjim srednjim veličinama čestica, čije su trajektorije u plazma mlazu podložnije uticaju strujanja u poređenju sa polaznim HA prahovima relativno krupnijih srednjih veličina čestica. Drugim rečima, sa povećanjem veličine polaznih HA prahova dopuna *Sun-ovog* modela hipotetički prestaje da važi jer čestice polaznih HA prahova većih dimenzija poseduju veću inertnost, zbog čega su manje podložne uticaju strujanja plazma mlaza.

U ovoj doktorskoj disertaciji je pretpostavljeno da su diskontinualne promene relativne kristaličnosti sa povećanjem vrednosti SOD i T_S parametaravezane za kombinovani uticaj veličine čestica HA depozita i vrednosti ovih parametara na brzinu hlađenja istopljenih i/ili delimično istopljenih čestica polaznog HA praha. Naime, pretpostavljeno je da, unutar određenih intervala SOD i T_S , smanjenje, odnosno povećanje, veličine čestica HA depozita ima dominantniji uticaj na brzinu hlađenja nego povećanje SOD ili T_S , što se objašnjava efikasnijim, odnosno manje efikasnim, prelazom toplote sa pomenutih čestica na substrat ili prethodno

formirani HA depozit usled povećanja, odnosno smanjenja, površine njihovog međusobnog kontakta. Čestice polaznih HA prahova većih srednjih veličina uopšteno dostižu mali stepen topljenja u plazma mlazu zbog čega su one manje podložne promenama veličine pri udaru u substrat ili prethodno formirani HA depozit u poređenju sa polaznim HA prahovima manjih srednjih veličina. Zbog toga se u slučaju nanošenja HA prevlaka od prahova većih dimenzija ne očekuju diskontinualne promene relativne kristaličnosti sa povećanjem SOD i T_s kakve su uočene u slučaju nanošenja HA prevlaka od prahova manjih dimenzija.

Rezultati ove doktorske disertacije su nedvosmisleno potvrdili da ne postoje ograničenja vezana za primenu prirodnih puferskih sistema za regulaciju pH simuliranih telesnih tečnosti, s obzirom da su ovakvi sistemi razvijeni u prethodnoj dekadi. Zbog toga je u nekim skorašnjim studijama nejasna svrishodnost primene nefizioloških puferskih sistema koji ne postoje u ljudskom organizmu i koji definitivno proizvode uticaj na kinetiku procesa taloženja karbonatnog apatita na površini materijala za implantate.

4.3. Verifikacija naučnih doprinosa

Radovi u međunarodnim časopisima izuzetnih vrednosti (M21a):

- 1) **B.R. Gligorijević**, M. Vilotijević, M. Šćepanović, N.S. Vuković, N.A. Radović, *Substrate preheating and structural properties of power plasma sprayed hydroxyapatite coatings*, Ceram. Int. 42 (2016) 411–420. **IF** (2015) = 2.758; **ISSN** 0272-8842; **Link**: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0272884215016508>.
- 2) **B.R. Gligorijević**, M. Vilotijević, M. Šćepanović, D. Vidović, N.A. Radović, *Surface structural heterogeneity of high power plasma-sprayed hydroxyapatite coatings*, J. Alloys Compd. 687 (2016) 421-430. **IF** (2015) = 3.014; **ISSN** 0925-8388; **Link**: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925838816318862>.

Rad u međunarodnom časopisu (M23):

- 3) **Bojan R. Gligorijević**, Miroljub N. Vilotijević, Maja J. Šćepanović, Radovan V. Radovanović, Nenad A. Radović, *Cracking caused by cutting of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings and its relation to the structural features of coatings deposited at different initial substrate temperatures*, Hem. Ind., 2016 (prihvaćen za štampu; prilog).

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M34):

- 4) **B. Gligorijević**, *Amorphous Phase in the Hydroxyapatite Coatings Sprayed with High Power Plasma Jet*, 6th Scientific and Technical Conference of Young Scientists “Welding and Related Technologies”, Vorzel village, Kyiv Region, Organized by E. O. Paton Electric Welding Institute, Kyiv, Ukraine, 25. – 27. May 2011, 179 (nema **ISBN**).
- 5) **B.R. Gligorijević**, *State-of-the-art requirements for in-vitro testing of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings*, Proceedings of the 8th Scientific and Technical Conference of Young Scientists “Welding and Related Technologies”, Vorzel village, Kyiv Region, Organized by E. O. Paton Electric Welding Institute, Kyiv, Ukraine, 20 – 22. May 2015, 89 (nema **ISBN**).

5. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Na osnovu svega navedenog, Komisija je mišljenja da doktorska disertacija kandidata *Bojana R. Gligorijevića*, dipl. inž. metalurgije i metalnih materijala, pod nazivom „*Hemijsko-strukturna svojstva i biomineralizacija hidroksiapatitnih prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim plazma sprej postupkom*“ predstavlja značajan i originalan naučni doprinos u datoj oblasti. Ovo je potvrđeno kroz objavljivanje radova u međunarodnim časopisima i kroz saopštenja izdata na međunarodnim skupovima od značaja za datu oblast, dok su predmet i ciljevi rada jasno postavljeni i u potpunosti ostvareni. Komisija smatra da doktorska disertacija

pod nazivom „*Hemijsko-strukturna svojstva i biomineralizacija hidroksiapatitnih prevlaka dobijenih visokoenergetskim laminarnim plazma sprej postupkom*“ u potpunosti ispunjava sve zahtevane kriterijume, kao i to da je kandidat *Bojan R. Gligorijević* pokazao naučno-istraživačku sposobnost u svim fazama izrade ove doktorske disertacije.

Imajući u vidu kvalitet, obim i naučni doprinos postignutih i prikazanih rezultata, *Komisija* predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, da prihvati ovaj *Referat*, pruži na uvid javnosti podnetu doktorsku disertaciju kandidata *Bojana R. Gligorijevića*, dipl. inž. metalurgije i metalnih materijala, u zakonom predviđenom roku, kao i da *Referat* uputi Veću naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu na konačno usvajanje, a da nakon završetka procedure pozove kandidata *Bojana R. Gligorijevića* na usmenu odbranu disertacije pred *Komisijom* u istom sastavu.

ČLANOVI KOMISIJE

U Beogradu,

5.09.2016.

Dr Nenad Radović, van.prof.
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Đorđe Janačković, red.prof.
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Željko Kamberović, red.prof.
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Maja Šćepanović, naučni savetnik
Univerzitet u Beogradu, Institut za fiziku

Dr Miroljub Vilotijević, naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke Vinča

SAVEZ HEMIJSKIH INŽENJERA SRBIJE
ASSOCIATION OF CHEMICAL ENGINEERS OF SERBIA

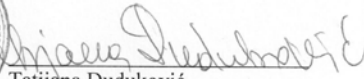
POTVRDA

Savez hemijskih inženjera Srbije, izdavač časopisa Hemijska industrija, ovim potvrđuje da je rad **Cracking caused by cutting of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings and its relation to the structural features of coatings deposited at different initial substrate temperatures** autora: Bojan R. Gligorijević, Miroljub N. Vilotijević, Maja J. Šćepanović, Radovan V. Radovanović, Nenad A. Radović prihvaćen za objavljivanje u časopisu Hemijska industrija.

Radu će ubrzo biti dodeljen DOI broj od strane Narodne biblioteke Srbije i rad će biti postavljen na web stranici www.ache.org.rs/HI, DOI Serbia.

Beograd, 05.09.2016.




Tatijana Duduković,
Generalni sekretar SHI Srbije

11000 Beograd, ul. Kneza Miloša br. 9; Telefon/fax: 011 3240-018
e-mail: shi@ache.org.rs
www.ache.org.rs
tekući račun: 205-2172-71 Komercijalna banka A.D., Beograd
Matični broj: 07000430, PIB 100344625