

UNIVERZITET U BEOGRADU

STOMATOLOŠKI FAKULTET

Minja D. Miličić Lazić

**UTICAJ TEHNOLOŠKOG PROCESA  
PROIZVODNJE NA BIOFUNKCIONALNE  
OSOBINE NIKL-TITANIJUM LEGURE ZA  
PRIMENU U STOMATOLOŠKOJ PROTETICI**

Doktorska disertacija

Beograd, 2023.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF DENTAL MEDICINE

Minja D. Miličić Lazić

**THE INFLUENCE OF TECHNOLOGICAL  
PRODUCTION PROCESS ON THE  
BIOFUNCTIONAL PROPERTIES OF NICKEL-  
TITANIUM ALLOY FOR USE IN  
PROSTHODONTICS**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2023.

**Mentori:**

**Doc. dr Katarina Radović**

Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet

Klinika za stomatološku protetiku

**Prof. dr Rebeka Rudolf**

Univerzitet u Mariboru, Mašinski fakultet

**Komisija:**

**Prof. dr Vojkan Lazić**

Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet

Klinika za stomatološku protetiku

**Prof. dr Igor Đorđević**

Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet

Klinika za stomatološku protetiku

**Prof. dr Branimir Grgur**

Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

**Datum odbrane:** \_\_\_\_\_

*Doktorska disertacija je realizovana na Klinici za Stomatološku protetiku, Laboratoriji za ćelijske kulture, Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, Tehnološko-metalurškom fakultetu, Univerziteta u Beogradu i Mašinskom fakultetu, Univerziteta u Mariboru sa kojima Stomatološki fakultet, Univerziteta u Beogradu ima potpisan Ugovor o saradnji u istraživačke svrhe.*

*Istraživanje je sprovedeno u okviru Eureka projekta PROCHA-SMA E! 1380, Ministarstva nauke i tehnoloskog razvoja pod nazivom „Proizvodnja i karakterizacija materijala sa memorisanim oblikom za primenu u stomatologiji i nautici”. Broj projekta 451-03-9/2021-14/200129.*

*Ispitivanje mikrostrukture (SEM, EDX, XRF, EBSD) kao i testovi tvrdoće su rađeni na Mašinskom fakultetu, Univerziteta u Mariboru, a testovi korozije (imerzioni, sulfidni i polarizaciono testiranje) na Tehnološko-metalurškom fakultetu, Univerziteta u Beogradu. Ispitivanje citotoksičnosti legura izvedeno je u Laboratoriji za ćelijske kulture, Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.*

*Zahvalnost:*

*Zahvaljujem se svojim mentorima, doc. dr Katarini Radović na beskrajnoj podršci i pomoći; prof. dr Rebeki Rudolf, na profesionalnom vođenju tokom realizacije eksperimentalnih istraživanja.*

*Najiskrenije hvala prof. dr Vojkanu Laziću, rukovodiocu projekta, na stručnoj pomoći i ukazanom poverenju sa kojim me je pratio tokom mog dosadašnjeg stručnog i naučnog usavršavanja.*

*Hvala predivnom čoveku i velikom stručnjaku, prof. dr Branimiru Grguru, na svesrdnom deljenju znanja.*

*Profesoru Igoru Đorđeviću hvala na konstruktivnim sugestijama i prijateljskom odnosu.*

*Hvala kolegama iz Laboratorije za ćelijske kulture, Stomatološkog fakulteta Milici, Dijani i Milošu, na čelu sa prof. dr Jelenom Milašin, koji su omogućili da se realizuju ispitivanja bioloških svojstava legura.*

*Upućujem zahvalnost Aleksandru Jovanoviću, Profesoru Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Prištini, i Dr Mariji Radulović, sa Ekonomskog fakulteta u Kragujevcu, na korisnim savetima tokom statističke obrade podataka.*

*Posvećeno mojoj porodici.*

## REZIME

Nikl-titanijum legure predstavljaju napredne funkcionalne materijale koji mogu pokazati različite mehaničke, hemijske i biofunkcionalne osobine zavisno od procesa proizvodnje. U ovoj doktorskoj disertaciji primenjena je metoda kontinualnog livenja za dobijanje nikl-titanijum legure i sprovedene su metode za ispitivanje biofunkcionalnih osobina dobijenih odlivaka. Osobine dobijene legure poređene su sa komercijalno dostupnom nikl-titanijum legurom dobijenom klasičnim postupkom livenja, odnosno pretapanjem u vakuum peći sa elektrootpornim zagrevanjem i finalnim livenjem u različite ingote.

Hemijska karakterizacija uzoraka vršena je metodama semikvantitativne i kvalitativne analize skenirajućom elektronskom mikroskopijom obogaćenom energijsko-disperzivnom rendgenskom spektroskopijom (SEM-EDX), rendgenskom fluorescentnom spektroskopijom (XRF) i difrakcijom povratnog raspršenja elektrona (EBSD). U okviru analize mehaničkih osobina legura, tvrdoća površine uzoraka ispitivana je statičkom metodom po Vickersu. Koroziono ponašanje kontinualno i klasično livene legure analizirano je kroz standardizacijom regulisanu grupu testova za ispitivanje korozije dentalnih legura (ISO 10271-2011). Postojanost uzoraka u pH neutralnoj i kiseloj sredini ispitivana je statičkim testom uranjanja i naknadnom analizom migracije jona u medijum metodom induktivno spregnute plazme (ICP). Sklonost legura ka tamnjenju ispitana je testom sulfidne matrice, nakon čega je vršeno elektrohemijsko ispitivanje metodom potenciodinamičke polarizacije. Da bi se ispitaio udeo određenih hemijskih elemenata novoformiranog površinskog sloja nakon testova korozije vršeno je ispitivanje topografije i sastava površine uzoraka fokusiranim jonskim snopom elektronske mikroskopije.

U cilju ispitivanja citotoksičnih svojstava nikl-titanijum legure dobijene metodom klasičnog i kontinualnog livenja sproveden je MTT test ćelijske vijabilnosti kroz dve vrste kontakta materijala i ćelija fibroblasta humanog porekla. Pri direktnom kontaktu analizirana je toksičnost same površine materijala, dok je indirektni kontakt podrazumevao analizu toksičnog efekta molekula materijala otpuštenih u medijum za ćelijsku kulturu.

Dobijeni rezultati pokazali su da su najvažnije prednosti kontinualnog nad klasičnim livenjem: mogućnost dobijanja odlivaka malih dimenzija, što eliminiše potrebu za daljim postupcima hladne ili tople obrade, stabilnija mikrostruktura i bolja koroziona postojanost legure u kiseloj sredini. Zabeležena je pojačana mitohondrijska aktivnost ćelija pri direktnom kontaktu sa obe grupe uzoraka,

pokazujući da pri kontaktu sa oksidnim slojem na površini uzoraka dolazi do povećane ćelijske proliferacije. Tokom vremena, u indirektnom testu primećen je trend blagog pada ćelijske vijabilnosti, ali broj vijabilnih ćelija nije ukazao na subtoksične doze molekula oslobođenih u medijum za ćelijsku kulturu. Prilikom obe vrste kontakta ćelija sa ispitivanim legurama uočena je njihova zadovoljavajuća biokompatibilnost.

Glavni nedostaci metode kontinualnog livenja su hemijska nehomogenost dobijenih odlivaka, nastala kao posledica neadekvatnih uslova mešanja rastopa i kontrola očvršćavanja rastopa, što uslovljava potrebu za daljim istraživanjima u cilju definisanja optimalnijih uslova livenja.

**Ključne reči: nikel-titanijum; kontinualno livenje; karakterizacija; biofunktionalne osobine; korozijska; biokompatibilnost.**

**Naučna oblast:** Stomatološke nauke

**Uža naučna oblast:** Stomatološka protetika

**UDK broj:**

## **ABSTRACT**

Nickel-titanium alloys represent smart, functional materials that can exert different mechanical, chemical, and biofunctional properties depending on the manufacturing process. In this doctoral dissertation, nickel-titanium alloy was produced by the continuous casting method (NiTi-2).

Biofunctional properties of continuous cast alloy were compared with commercial nitinol (NiTi-1) manufactured by the classical process, i.e., from remelting in a vacuum furnace with electro-resistive heating and final casting into ingots.

The chemical composition of the samples was analyzed via semiquantitative and qualitative analysis methods using scanning electron microscopy enriched with energy-dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDX), X-ray fluorescence spectroscopy (XRF), and electron backscatter diffraction (EBSD). In order to evaluate the mechanical properties of tested samples, the hardness was measured using the static Vickers test. The corrosion behavior of continuous and conventional cast alloys was evaluated according to the standard for corrosion testing of dental alloys (ISO 10271-2011). The release of metal ions in pH neutral and acidic solutions was measured by static immersion test. The chemical content of the suspensions was overseen by the inductively coupled plasma (ICP) method. The surface discoloration of the tested alloys was evaluated using a sulfide tarnish test. Corrosion potentials were investigated using polarization measurements. Finally, the formed corrosion layers on all samples were characterized with the focused ion beam (FIB) technique.

An MTT assay was performed to evaluate the biocompatibility testing of the NiTi-1 and NiTi-2 samples. During direct exposure, the toxicity of the sample's surface was examined, while indirect contact included the cell's contact with ion-enriched supernatants.

The results of our research showed that the most important advantages of continuous casting over classical casting are: the ability to produce strands of small diameter, which eliminates the need for further cold or hot processing procedures, a more stable microstructure, and better corrosion resistance in an acidic solution. Increased mitochondrial activity of cells grown directly on the tested samples was recorded, showing that contact with the oxide layer on the surface of the samples leads to increased mitochondrial activity and, thus, cell proliferation. Over time, in the indirect test, a slight decrease in cell viability was observed, but the number of viable cells did not indicate subtoxic doses of molecules released into the cell culture medium. During both types of cell contact with the investigated alloys, their satisfactory biocompatibility was demonstrated.

The main disadvantages of the continuous casting method are the chemical inhomogeneity of the obtained samples, caused as a result of inadequate mixing conditions during melting, and solidification, which indicates that further investigations are needed to define more optimal casting conditions.

**Keywords:** Nickel-titanium, continuous casting, characterization, biofunctional properties, corrosion, biocompatibility.

**Scientific field:** Dental Sciences

**Scientific subfield:** Dental Prosthodontics

**UDC:**



## Skraćenice/Abbreviations

ABAM	Antibiotic-antimycotic; antibiotik-antimikotik
ANOVA	Analysis of variance; analiza varijanse
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium; Dulbekov Modifikovani " <i>Eagle</i> " Medijum
DTM	Difficult-to-machine; teško obradivi materijali
EBSD	Electron backscatter diffraction; difrakcija povratnog raspšenja elektrona
EDM	Electrical discharge machining; elektroerozivna obrada
EDX	Energy dispersive X-ray analysis; energijska disperziona spektroskopija
FBS	Fetal bovine serum; fetalni goveđi serum
FIB	Focused ion beam; fokusirani jonski snop
HV	Hardness according to Vickers; tvrdoća po Vickersu
ICP-OES	Inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy; optička emisiona spektometrija sa induktivno spregnutom plazmom
MTT	Colorimetric assay for measuring cell metabolic activity; test metaboličke aktivnosti mitohondrija
NiTi-1	Commercial nitinol; uzorci klasično livene nikel-titanijum legure
NiTi-2	Nickel–titanium alloy produced by continuous casting; uzorci kontinualno livene nikel-titanijum legure
SEM	Scanning electron microscope; skenirajući elektronski mikroskop
SMA <sub>s</sub>	Shape memory alloys; legure sa memorisanim oblikom
TT	Transformation temperature; temperature transformacije

## Sadržaj

I UVOD I NAUČNA OSNOVA PROBLEMA .....	1
II PREGLED LITERATURE.....	3
2.1. Legure sa memorisanim oblikom.....	3
2.1.1. Legure sa memorisanim oblikom u medicini.....	7
2.1.2. Legure sa memorisanim oblikom u stomatologiji.....	8
2.1.3. Legure sa memorisanim oblikom u stomatološkoj protetici.....	10
2.2. Usna šupljina i njena specifičnost.....	12
2.3. Biokompatibilnost nikel-titanijum legure .....	16
2.4. Tehnološki postupci za izradu produkata od nikel-titanijum legure.....	17
2.4.1. Metoda kontinualnog livenja .....	22
III MATERIJAL I METODOLOGIJA .....	24
3.1. Priprema uzoraka .....	24
3.2. Hemijska analiza ispitivanih uzoraka na skenirajućem elektronskom mikroskopu (SEM/EDX, XRF i EBSD) .....	27
a) Energjska disperziona spektroskopija- EDX.....	27
b) Rendgenska fluorescentna analiza- XRF.....	28
c) Difrakcija povratnog raspršenja elektrona -EBSD.....	29
3.3. Priprema uzoraka i pregled površine metalografskim mikroskopom.....	29
3.4. Merenje makro i mikrotvrdoće .....	30
3.5. Testovi korozije .....	31
3.5.1. Statički imerzioni test.....	31
3.5.1.1. Ispitivanje postojanosti legura u rastvoru veštačke pljuvačke .....	31
3.5.1.2. Ispitivanje postojanosti legura u mlečnoj kiselini .....	32
3.5.2. Sulfidni test.....	33
3.5.3. Elektrohemijsko testiranje .....	34
3.6. Analiza karakteristika oksidnog sloja i produkata korozije na površini legura sa fokusiranim jonskim snopom.....	35
3.7. Ispitivanje citotoksičnosti uzoraka MTT testom.....	36
3.7.1. Priprema uzoraka .....	36
3.7.2. Kultivacija ćelijske kulture fibroblasta <i>in vitro</i> .....	36

3.7.3. Test direktnog kontakta ispitivanog materijala sa ćelijskom kulturom .....	38
3.7.4. Test indirektnog kontakta ispitivanog materijala sa ćelijskom kulturom .....	39
3.7.5. Priprema uzoraka za skenirajuću elektronsku mikroskopiju .....	39
3.8. Statistička obrada podataka .....	40
IV REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....	41
4.1. Hemijska analiza ispitivanih uzoraka.....	41
4.1.1. SEM/EDX i XRF analiza .....	41
4.1.2. Difrakcija povratnog raspršenja elektrona –EBSD .....	43
4.2. Pregled mikrostrukture uzoraka na metalografskom svetlosnom mikroskopu i analiza veličine zrna.....	45
4.3. Rezultati merenja makro i mikro tvrdoće .....	46
4.4. Rezultati korozionih ispitivanja .....	47
4.4.1. ICP-OES analiza za imerzioni test u veštačkoj pljuvački.....	47
4.4.2. ICP-OES analiza za imerzioni test u rastvoru mlečne kiseline.....	48
4.4.3. Karakteristike oksidnog sloja i produkata korozije na površini legura sa fokusiranim jonskim snopom ....	49
4.4.3.1. Imerzioni test .....	49
4.4.3.2. Sulfidni test.....	55
4.4.3.3. Polarizacioni test .....	62
4.4.4. Rezultati ispitivanja korozionog potencijala u okviru elektrohemijskog testiranja za uzorke NiTi-1 i NiTi-2 .....	68
4.5. Rezultati biokompatibilnosti legura NiTi-1 i NiTi-2 .....	72
V DISKUSIJA .....	74
5.1. Diskusija rezultata hemijske karakterizacije uzoraka .....	74
5.1.1. Princip rada skening elektronskog mikroskopa .....	76
5.1.2. Diskusija rezultata mikrostrukturne analize uzoraka .....	78
5.2. Diskusija rezultata korozionih ispitivanja .....	82
5.2.1. Testovi uranjanja.....	84
5.2.2. Karakteristike korozionih produkata sa FIB tehnikom.....	87
5.2.2.1. Karakteristike korozionih produkata za NiTi-1 leguru.....	89
5.2.2.2. Karakteristike korozionih produkata za NiTi-2 leguru.....	90
5.2.3. Poređenje kinetike korozije legura polarizacionim merenjima.....	90
5.3. Diskusija rezultata biokompatibilnosti .....	94
VI ZAKLJUČCI.....	98
LITERATURA.....	99

# I UVOD I NAUČNA OSNOVA PROBLEMA

Nikl-titanijum legure pripadaju grupi metalnih materijala koji imaju mogućnost da pamte oblik. Ovo izuzetno termomehaničko svojstvo, zajedno sa superelastičnim efektom, svrstalo je ove legure u grupu funkcionalnih materijala za biomedicinsku upotrebu. Za razliku od konvencionalnih legura, njihova osobenost sadržana je u tome da mehaničke karakteristike mogu biti prilagođene željenoj nameni. U osnovi makroskopski vidljivih, fizičkih promena legure, leže jedinstvene mikroskopske (kristalografske) transformacije (1). Fazna transformacija u vidu preraspodele atoma javlja se kao rezultat prilagođavanja kristalne strukturne rešetke minimalnom energetsom stanju za datu temperaturu ili mehaničko opterećenje. Sam način slaganja atoma unutar kristalne rešetke razlikuje se u zavisnosti od toga da li je pokretač promene termičke ili mehaničke prirode (Slika 2) (2).

Metalna rešetka legure postojana je na visokim temperaturama i ima kubnu strukturu (3). Iz navedenog razloga ova forma naziva se roditeljskom, austenitnom fazom. Prilikom hlađenja materijal prolazi kristalografsku transformaciju od kubne ka heksagonalnoj strukturnoj rešetki. Po završetku preraspodele atoma, koje prati njihovo bezdifuziono koordinatno kretanje, legura će biti u martenzitnoj, tzv. niskotemperaturnoj fazi. Inverzija ovog procesa u suprotnom smeru moguća je zagrevanjem legure, a poznavanjem tačnih temperatura kristalografske transformacije može se kontrolisati prelazak iz jedne u drugu formu. Temperaturni interval prelaznih procesa može varirati zavisno od stehiometrijskog sastava legure i njene termičke obrade, ali opšte je poznato da razlika između završne martenzitne i početne austenitne temperature iznosi oko 20°C (4).

Pored memorijskog efekta, drugo funkcionalno svojstvo jeste superelastičnost legure koja dolazi do izražaja nakon što se na austenitnu formu materijala primeni mehanički stres koji unutar legure izaziva sile smicanja što za posledicu ima martenzitnu transformaciju, praćenu promenom oblika elastično deformisane legure (5). Materijal u tom obliku perzistira isključivo dok traje opterećenje.

Dobra mehanička svojstva (Jangov modul elastičnosti, čvrstoća na savijanje i zatezanje, žilavost, otpornost na lom i habanje) osigurala su da se legura koristi za izradu endodontskih instrumenata (6), ortodontskih lukova, strukturnih komponenata kod ortopedskih i zubnih implantata (7), preciznih veznih i retencionih elemenata u stomatološkoj protetici. Zbog visoke granice elastičnosti i malog modula elastičnosti, nikl-titanijum legura ima mogućnost dugotrajnog oslobađanja malih sila, uz dobru savitljivost. Ovo je posebno značajno za ispitivanje legure sa stanovišta preciznih veznih elemenata u konvencionalnoj i implantat-protetici. Trenutno dostupne legure koje se koriste u

stomatološkoj protetici uglavnom karakteriše linearna zavisnost napona i deformacije kada se izlože opterećenju tokom žvačnih ciklusa.

Ipak, da bi se mogla sprovesti bezbedna primena ovih legura u stomatologiji, uslovi koji moraju biti zadovoljeni tiču se, pored dobre mehaničke, i tkivne kompatibilnosti materijala.

Svi gradivni materijali u stomatologiji moraju imati dobru biokompatibilnost zbog prirode sredine i opterećenja kojima su izloženi. Biološki zahtevi tiču se korozione otpornosti i hemijske inertnosti legura sa okolinom.

Regulatorna tela međunarodnih organizacija koja izdaju standardizacione norme o bezbednoj primeni legura u biomedicinskim naukama u fokusu rizičnih stvrstali su legure sa niklom. Prilikom eksploatacije stomatoloških materijala u usnoj šupljini dolazi do izražaja njihova podložnost degradaciji, pa su preporuke da se sadržaj nikla u dentalnim legurama ograniči na 1 mas.% (8). Ipak, dodatkom nikla kao legirajućeg elementa neplemenitim legurama može se značajno poboljšati livnost, a samim tim i preciznost dobijenih odlivaka. Poznato je da su binarne i ternarne legure baznih metala bez nikla nedovoljno fluidne zbog svoje male gustine.

Uočeno je da veliki broj legura sa svojstvom austenitno-martenzitne transformacije nemaju neophodnu duktilnost što u velikoj meri ograničava njihovu širu primenu u stomatologiji. Sa stanovišta legura u stomatološkoj protetici, nedovoljna duktilnost ima za posledicu tešku obradivost i malu otpornost na lom.

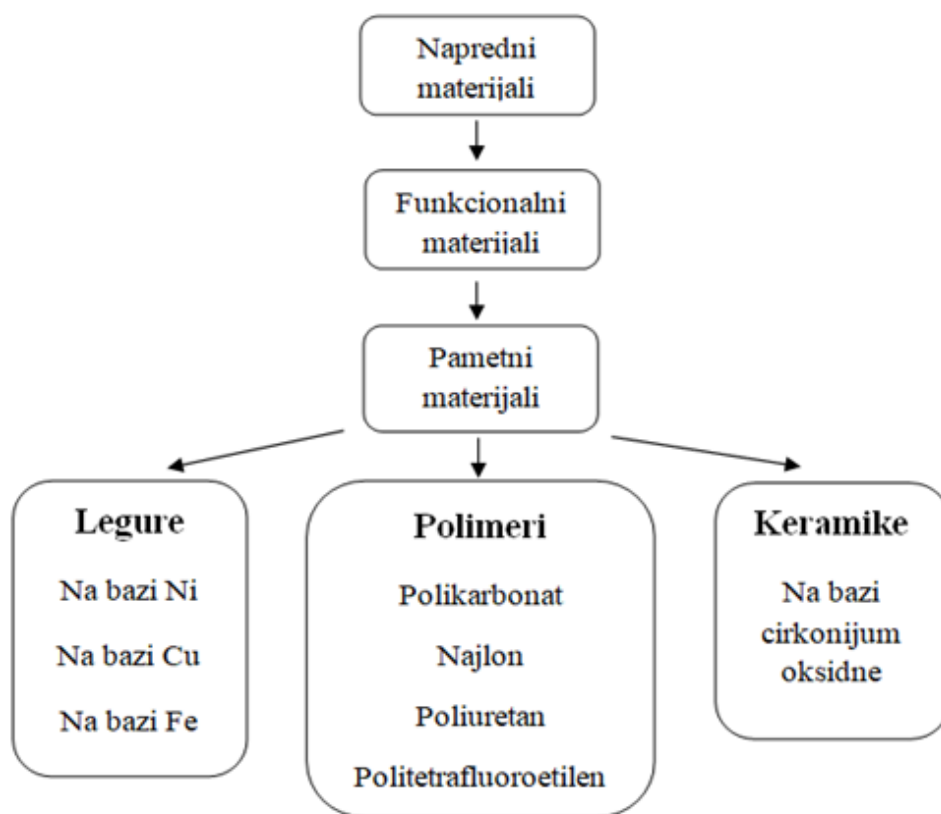
Tokom prethodne tri decenije nikel-titanijum legure su intenzivno proučavane u kontekstu proizvodnje i prerade (9, 10). Do danas su najširu komercijalnu primenu našle metode topljenja metala indukcijom strujom, naknadnog livenja i očvršćavanja rastopa. Planskim podešavanjem proizvodnih parametara (jačina struje koja meša rastop, temperatura predgrevanja, brzina livenja i očvršćavanja rastopa, krajnje dimenzije dobijenih odlivaka) moguće je uticati na fizičko-hemijska svojstva gotovih proizvoda.

U fokusu istraživanja ove doktorske teze bila je analiza uticaja tehnološkog procesa proizvodnje na biofunktionalne osobine nikel-titanijum legure. U te svrhe ispitivana je metoda kontinualnog livenja legure i poređena je sa komercijalno dostupnom legurom dobijenom tehnikom klasičnog livenja u blokove i naknadnom obradom. Ispitivanje je vršeno u cilju pronalaska optimalnog modela proizvodnje nikel-titanijum legure koja će objединiti dobre mehaničke i biološke karakteristike.

# II PREGLED LITERATURE

## 2.1. Legure sa memorisanim oblikom

Razvoj naprednih materijala kreće se u smeru unapređenja materijala koji imaju mogućnost prilagođavanja sopstvenog oblika i kompozicije uslovima sredine u kojoj se nalaze. Prema svojoj osnovnoj definiciji, materijali sa memorisanim oblikom (eng. *shape memory materials*) pripadaju grupi funkcionalnih materijala koje karakteriše mogućnost endogenog reagovanja na egzogene stimulse. Reakcija materijala na nadražaj se sastoji u produkciji odgovora na nadražaj, adaptaciji, kao i povratnoj informaciji. Pokretači reakcije su najčešće mehanička opterećenja i temperaturne oscilacije (hlađenje/zagrevanje), ali zavisno od hemijskog sastava materijala to mogu biti i promena pH sredine ili magnetizma (11). U grupu funkcijskih, tzv. pametnih materijala spadaju: legure metala, keramike i polimeri (Slika 1).



Slika 1. Šematski prikaz podele naprednih biomaterijala.

Zbog superiornih mehaničkih osobina, u biomedicinskim naukama posebno široku primenu našle su legure sa memorisanim oblikom (eng. *shape memory alloys-SMAs*) (12). Njihova glavna obeležja su mogućnost da zapamte željeni oblik (eng. *shape memory effect-SME*) i superelastičnost, koje se ispoljavaju zahvaljujući jedinstvenom kristalografskom obeležju. Naime, fazna raspodela legura sa memorisanim oblikom je analogna sa čelikom, što znači da mogu perzistirati u jednoj od dve različite faze, austenitnoj i martenzitnoj, i mogu prelaziti iz jedne u drugu (13). Nasuprot konvencionalnim metalnim materijalima, gde su temperaturno uzrokovane kristalografske transformacije praćene i promenom agregatnog stanja (od čvrstog nastaje tečno i obrnuto), specifičnost legura sa memorisanim oblikom ogleda se u tome što reverzibilna promena kristalne strukture rezultira samo promenom oblika materijala, zadržavajući pritom nepromenjeno, čvrsto agregatno stanje materijala. Ovu transformaciju unutar kristalne rešetke karakterišu bezdifuzione promene u vidu koordiniranog kretanja grupe atoma<sup>1</sup> (14).

Specifičnu preraspodelu atoma tokom martenzitne transformacije prvi je otkrio pronalazač Adolf Martens (1850-1914), po kome je kristalografska transformacija i dobila ime (15).

Međutim, tek 1938. godine opisana je fizički vidljiva promena, nazvana efekat memorije oblika legure. Identičnu promenu kod bronzе i legure bakra i cinka primetili su Alden B. Greninger i Victor G. Mooradian. Nadalje, otkriće ovog fenomena na leguri nikla i titanijuma prepisuje se američkom naučniku Wilijamu Buehleru 1963. godine (16).

*Wadood*(2) opisuje kristalografsku osobenost pokrenutu termičkim ili mehaničkim nadražajima koja se u literaturi navodi kao termoelastična martenzitna transformacija. Ukoliko je za vraćanje izvornog oblika plastično deformisane legure neophodna promena temperature, ta osobina naziva se efekat memorije oblika. Sa druge strane, superelastičnost legure je njeno svojstvo da povrati izvorni oblik uklaњanjem mehaničke sile koja je dovela do deformacije (Slika 2).

Mehanizam pamćenja oblika se ne može uspostaviti ukoliko nije prisutna martenzitna kristalografska forma. Na visokim temperaturama ovi metalni materijali poseduju austenitnu fazu (roditeljsku, matičnu fazu) za koju je karakteristična kubična B2 struktura (17, 18). Martenzitna faza legure sa tipom B19 strukture je prisutna na niskim temperaturama, ali samo pod uslovom da je vršeno naglo hlađenje (eng. *quenching*) visokotemperaturne na niskotemperaturnu formu. Ukoliko je za očvršćavanje legure na sobnoj temperature korišćen spor režim hlađenja, niskotemperaturna forma će i dalje imati austenitnu fazu sa tipom B2 strukture.

---

<sup>1</sup> Koordinantno kretanje atoma podrazumeva atomsku preraspodelu u okviru koje je kretanje jednog atoma u odnosu na ostale manje od njihovog međuatomskog rastojanja.

Makroskopski vidljive promene kristalografskih transformacija legura sa memorisanim oblikom mogu se ostvariti kroz:

- superelastičnost;
- jednosmerni efekat memorije oblika;
- dvosmerni efekat memorije oblika (19).

Jednosmerni efekat memorije oblika predstavlja svojstvo materijala da zapamti samo visokotemperaturni (austenitni) oblik legure. Suprotno tome, legure koje poseduju dvosmerni efekat pamćenja oblika, pamte i visokotemperaturni i niskotemperaturni (martenzitni) oblik (20). Prelazak iz jednog u drugi oblik iniciran je temperaturnom promenom. Da bi se postiglo svojstvo dvosmernog efekta memorije oblika neophodno je izvršiti specifičan trening legure koji se sastoji iz ponovljenih deformacija materijala praćenih unutrašnjim naprežanjem višim od granice njegovog razvlačenja. Tokom treninga, legura se ciklično deformiše u smeru željenih promena (21). Ova deformacija izvodi se na temperaturi višoj od  $A_f$  ili nižoj od  $M_f^2$ , (Slika 2). Jasno je dakle da se legura mehanički opterećuje samo tokom treninga, a da nakon što zapamti željene oblike, austenitni i martenzitni, legura tranzitira iz jednog u drugi isključivo zagrevanjem i hlađenjem iznad i ispod kritičnih temperatura.

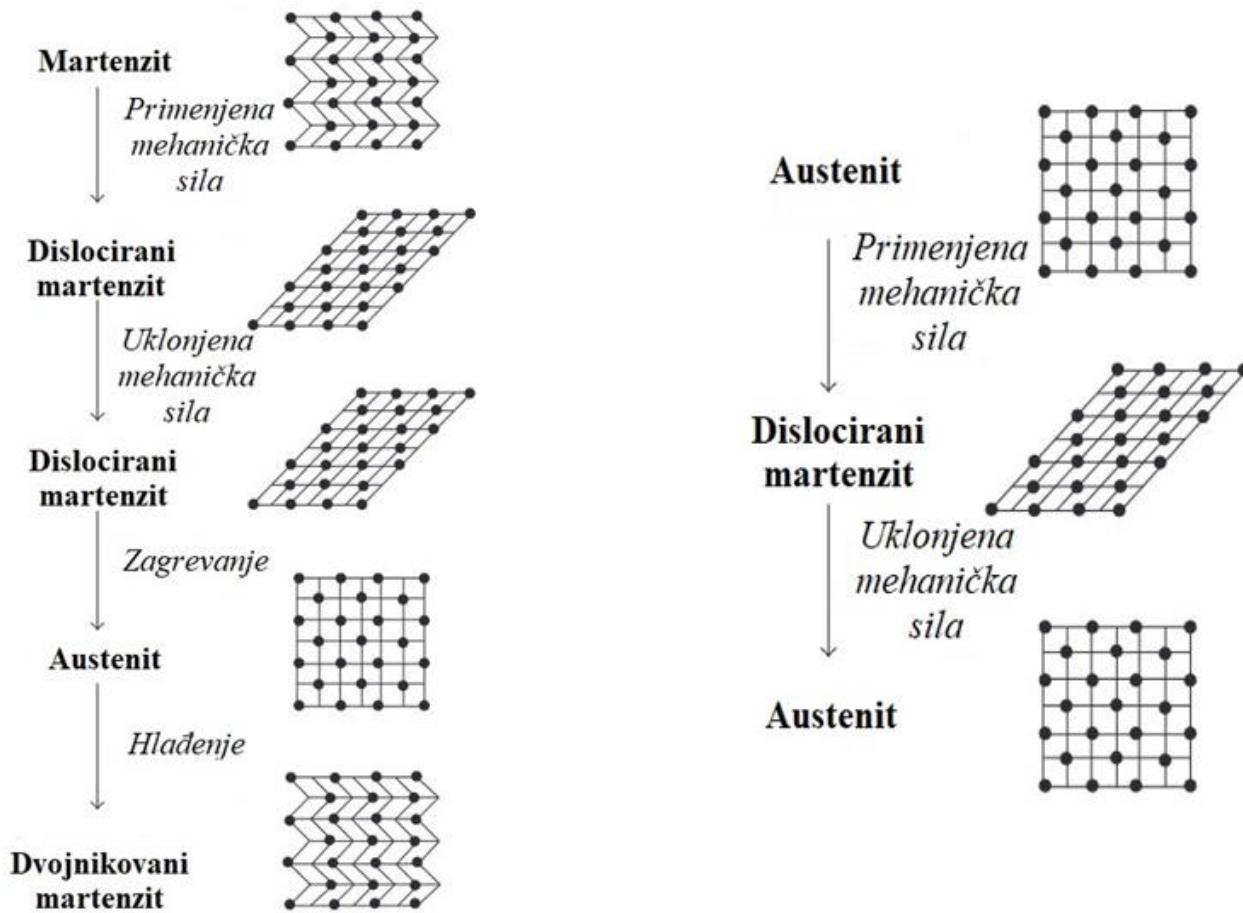
---

<sup>2</sup>Temperature faznih transformacija legura sa memorisanim oblikom.

As- eng. *Austenite start*, temperatura na kojoj započinje austenitna transformacija; Af- eng. *Austenite finish*, temperatura na kojoj se završava austenitna transformacija, tj. iznad koje je austenit potpuno formiran; Ms- eng. *Martensite start*, temperatura početka martenzitne transformacije;

Mf- eng. *Martensite finish*, temperatura na kojoj je martenzitna struktura potpuno formirana.





**Slika 2.** Šematski prikaz reverzibilne kristalografske transformacije nikel-titanijum legure: efekat memorije oblika (levo); superelastični efekat (desno) (2).

### 2.1.1. Legure sa memorisanim oblikom u medicini

Memorijski efekat je do sada pronađen kod različitih binarnih i ternarnih legura, a najpoznatije među njima su legure nikla i titanijuma (Ni-Ti); bakara, alumijijuma i nikla (Cu-Al-Ni); bakara, cinka i aluminijuma (Cu-Zn-Al); i zlata i kadmijuma (Au-Cd). Od svih navedenih, samo su nikel-titanijum legure našle široku komercijalnu primenu u medicini i stomatologiji zahvaljujući boljoj korozionoj rezistentnosti i biokompatibilnosti u odnosu na ostale (22).

Nikel-titanijum legura koristi se za proizvodnju koronarnih i ureteralnih stentova, hirurških instrumenata, fleksibilnih mikro-igala, endoskopskih katetera, endodontskih instrumenata, ortodontskih žica i ortopedskih implantata (23). Pored svega navedenog, najširu primenu nikel-titanijum legura nalazi za izradu stentova (24).

U osnovi terapijskog efekata svih samoekspandirajućih stentova leži isti princip. Ovi uređaji se u toku proizvodnje i prerade pripremaju tako da temperature transformacije legure budu u okviru temperature tela. Zatvoreni stent se u organizam uvodi na temperaturi nižoj od martenzitne završne temperature ( $M_f$ ), čime je osigurano da uređaj bude mek i duktilan (25). Na taj način se prevenira oštećenje endotela krvnih sudova tokom transporta. Tek nakon postavljanja na mesto lokalnog suženja, a pod uticajem više temperature tela koja odgovara austenitnoj završnoj ( $A_f$ ), dolazi do širenja stenta kroz koji je omogućen neometan protok krvi.

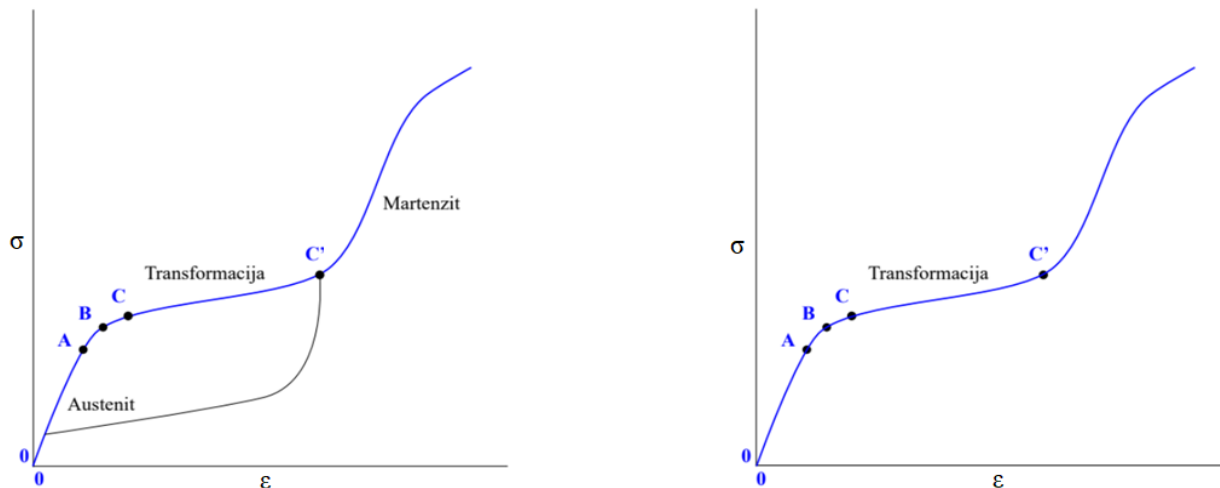
## 2.1.2. Legure sa memorisanim oblikom u stomatologiji

U stomatologiji Ni-Ti legura ima najširu primenu za izradu ortodontskih žica i endodontskih instrumenata. Prednost nikel-titanijumskih u odnosu na lukove od nerđajućeg čelika ogleda se pre svega u većoj elastičnosti. Upravo zbog toga, sila koja se proizvodi pri istoj elastičnoj deformaciji je nekoliko puta manja (26).

Zahvaljujući visokoj fleksibilnosti legure, nikel-titanijumski endodontski instrumenti predstavljaju zlatni standard u terapiji kanala korena zuba. Da bi se osigurala mogućost istovremenog čišćenja i oblikovanja individualno kompleksne kanalne morfologije neophodno je da legura poseduje osobinu superelastičnosti, koja je svojstvena isključivo binarnim legurama sa većom zastupljenošću nikla (56 mas.%), u odnosu na titanijum (44 mas.%) (27). Dobra fleksibilnost i veće vrednosti čvrstoće na zatezanje obezbediće visoku otpornost na zamor endodontskih instrumenata, i time sprečiti da dođe do loma instrumenta tokom mehaničkog oblikovanja kanalnog prosora.

Među dobrim mehaničkim svojstvima nikel-titanijum legure od značaja za primenu u stomatologiji su i dobre vrednosti aksijalne i torzione krutosti kao i niže vrednosti modula elastičnosti u odnosu na legure čelika i kobalta (14).

Prvi dentalni Ni-Ti implantati korišćeni su 80-ih godina prošlog veka (28). Kada su u pitanju željene osobine za materijale koji se koriste u izradi implanata prednost bi trebalo dati legurama koje imaju visok amortizacioni kapacitet i nizak modul elastičnosti. Svojstvo visokog amortizacionog kapaciteta definiše se kao mogućnost materijala da prihvaćenu mehaničku energiju prevede u toplotnu, čineći na taj način implant otpornim na šokove nastale usled spoljašnjeg opterećenja (29). Prema tome, metalni materijali sa visokim vrednostima amortizacionog kapaciteta imaju za rezultat dobro izbalansiran odnos stresa i deformacije (naprezanja) unutar legure (30). Nikel-titanijum dokazano imaju izraženiju fleksibilnost (podnose do 8% naprezanja) u odnosu na legure kobalta (Co-Cr) i nerđajući čelik (podnose 1% naprezanja) (31, 32).



**Slika 3.** Dijagram zavisnosti napona i deformacije: a) nikel-titanijum legura; b) metalni materijali bez svojstva superelastičnosti, preuzeto uz modifikacije (8).

Na slici 3 dat je prikaz martenzitne transformacije indukovane stresom. Interval od 0 do tačke A predstavlja uniformnu zavisnost između napona i deformacije. Tačka B označava granicu elastičnosti legure. Pri daljem opterećenju materijala, pri rastu napona smicanja, dolazi do naglog popuštanja unutar legure, što se na dijagramu definiše kao početak “tečenja”, tačka C (8). Tada dolazi do preuređenja kristalne rešetke bez difuzije atoma (austenit prelazi u martenzit). Fizička osobina legure koja se javlja zahvaljujući ovoj mehanički indukovanoj kristalografskoj transformaciji naziva se superelastičnost legure. Preuređenje molekula unutar kristalne rešetke završava se u tački C'. Jedinstveno ponašanje ove legure ostvaruje se kada se formira martenzitna kristalna struktura (tačka C'), pri čemu povratna kriva na dijagramu (crnom bojom označena) ukazuje da deformacija opada dok spoljašnja sila ostaje konstantna. Konačno, za ovaj dijagram karakteristično je nelinearno ponašanje i fenomen histereze napona legure (povratna kriva) (Slika 3. a). Kod klasičnih metalnih materijala, koji ne poseduju osobinu superelastičnosti, pri povećanju napona iznad tačke C' dolazi do loma (Slika 3. b).

Što se tiče vrednosti modula elastičnosti, željeno svojstvo legura je da ove vrednosti budu što niže i približnije vrednostima Jangovog modula kosti. Legura titana Ti6Al4V koja se koristi za izradu implanata ima modul elastičnosti 110 GPa, a za čist titan ta vrednost je 116 GPa. Co-Cr legura ima 210-235 GPa modul elastičnosti, a nikel-titanijum je 80 GPa za austenitnu i 30 GPa za martenzitnu formu legure. Jangov modul za ljudsku kost iznosi 20 GPa (33).

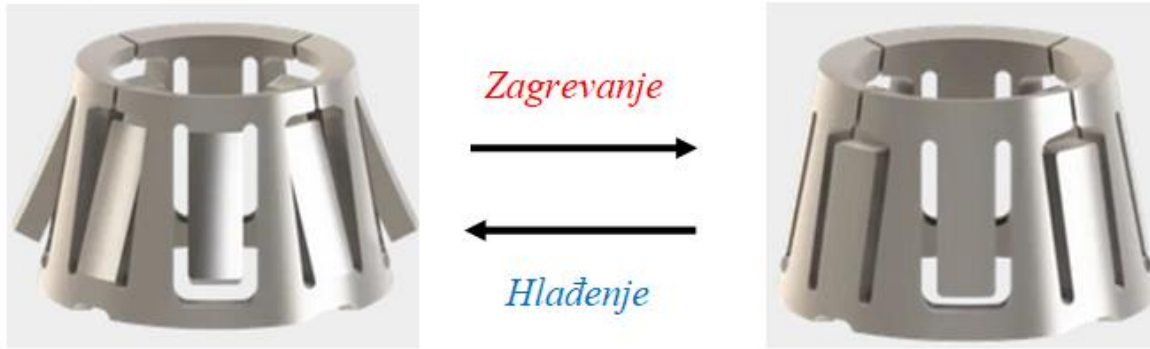
Ukoliko fizičke osobine materijala za izradu implantata nisu usklađene sa namenom ovih uređaja to može dovesti do tehničkih i bioloških komplikacija. Nizak amortizacioni kapacitet legure češće dovodi do problema sa samim implantom (fraktura), a razlike u vrednostima modula elastičnosti materijala za izradu implanta i okolne kosti mogu razviti nepovoljne efekte na potporno tkivo i smanjenje gustine kostiju (34, 35).

### 2.1.3. Legure sa memorisanim oblikom u stomatološkoj protetici

S obzirom na to da se legura Ni-Ti odlikuje efektom pamćenja oblika, ovo svojstvo osiguralo je i primenu legure u stomatološkoj protetici za izradu retencionih elemenata.

U cilju izrade nadoknada na neparalelnim nosačima i postizanja adekvatne angulacije suprastruktura u implanto-protetici, nikel-titanijum je prvi put korišćen za izradu memorijskog abatmenta još devedesetih godina prošlog veka (eng. *dyna memory abutment*) (36).

Prelaz ka rodo abatmentu (*Smileloc<sup>®</sup> Abutment System*) doveo je do pojave nešto naprednijeg sistema abatmenata sa memorijskim oblikom (Slika 4). Nitinolska pokrovna kapica preko abatmenta, u sklopu krune na implantatima, se u novije vreme koristi kao alternativa krunama retiniranim zavrtne ili cementom u cilju prevazilaženja poznatih tehničkih i bioloških komplikacija u implanto-protetici. Ovaj sistem prisutan u praksi poslednjih deset godina, odlikuje retencionu nitinolska komponenta koja se postavlja između implantatne suprastrukture i krunice tzv. *Nitinol sleeve* (37-39). Retencionu komponentu može perzistirati u dva oblika. Temperaturna promena dovodi do promena unutar kristalne rešetke što rezultira makroskopskom promenom oblika komponente iz „otključane“ u „zaključanu“ formu.



**Slika 4.** Nikl-titanijumska pokrovna kapica za pridržavanje kruna na implantatima putem efekta memorije oblika (40).

Prema savremenim rezultatima ovaj sistem retencije, zasnovan na dvosmernom efektu memorije oblika, objedinjuje prednosti i cementne retencije i retencije zavrtnjem (41). Nitinolska komponenta dozvoljava terapeutu jednostavno uklanjanje nadoknade u slučaju pojave bioloških ili tehničkih komplikacija, i naknadno vraćanje iste krune nakon saniranja problema (37).

Druga primena ove legure u stomatološkoj protetici bili su pokušaji da se izrade livene kukice kao sistem retencije mobilnih zubnih nadoknada. Poznato je da otkrića legure kobalta i hroma i legure čelika za primenu u stomatološkoj protetici datiraju još iz davne 1922. god. Američki istraživač Elwood Haynes je prvi predstavio ove metalne materijale kao legure čije fizičko-mehaničke osobine mogu da zadovolje zahteve za gradivne materijale u stomatološkoj protetici (42). Ipak, usled nedovoljno razjašnjenih bioloških efekata ovih legura, potencijal za njihovu povećanu eksploataciju ostvaruje se tek 80-ih godina prošlog veka. Od tada legura kobalta i hroma sa dodatkom molibdena predstavlja zlatni standard za izradu metalnog skeleta parcijalnih proteza. Kao *locus minoris resistentie* ovih zubnih nadoknada navode se livene kukice, imajući u vidu učestalu potrebu za reparaaturama izazvanu njihovim lomom (43). Retencione ručice kukice pridržavaju protezu zahvaljujući elastičnim svojstvima materijala. U vezi sa tim, poželjno svojstvo legura za izradu ovih komponenti je niži modul elastičnosti koji će osigurati elastičnu a sprečiti plastičnu deformaciju. U literaturi se mogu naći podaci u vezi sa ispitivanjem svojstava nikl-titanijum legure za izradu kukica, obzirom na to da niži modul elastičnosti ove legure u odnosu na leguru Co, Cr i Mo osigurava veću fleksibilnost uz smanjenje trajne deformacije (44).

## 2.2. Usna šupljina i njena specifičnost

Zbog svoje specifične namene, metalni materijali koji se upotrebljavaju u stomatologiji moraju zadovoljiti određene zahteve koji se tiču usaglašenosti između fizičke i biološke karakterizacije.

Iako su fizička svojstva nikel-titanijum legure potvrdila njenu široku primenu u stomatologiji, ono što u stručnoj literaturi predstavlja kontroverzu već više od decenije unazad, jeste koroziona otpornost ovih legura implantiranih u biološku sredinu (45, 46). Značaj korozije ogleda se u tome što predstavlja jedan od pet mogućih načina degradacije stomatoloških materijala. Antikorozioni potencijal govori u prilog boljoj biokompatibilnosti materijala, što je standardizacijom regulisan preduslov za primenu biomaterijala kako u medicini, tako i u stomatologiji (47).

Opasnost od razvoja korozije na nikel-titanijumskim nadoknadama u stomatologiji naglašena je iz dva ključna razloga. Prvi leži u činjenici da su ovi aparati izloženi konstantnom dejstvu kompresionih i zateznih sila usled mehaničkih opterećenja (Slika 6). Kao rezultat ponavljajućih naprezanja mogu se stvoriti pukotine u materijalu (48). Istovremeno, na oštećenim površinama deluju korozioni agensi, koji po svojoj prirodi u statičkim uslovima ne moraju biti agresivni za dati materijal, ali pod dinamičkim opterećenjem na mestu pukotine dovode do razvoja naponske korozije (49). Smatra se da su uređaji manjih dimenzija (ujedno i stomatološki) skloniji degradaciji usled mehaničkih oštećenja nego veći biomedicinski uređaji kao npr. ortopedski implantati (50). Drugi faktor koji olakšava razvoj korozije je u vezi sa prirodom tkivnih fluida u usnoj duplji (Slika 6). Biološka tkiva sadrže velike količine vode, elektrolita, hlorida i razloženog kiseonika što ih čini agresivnim okruženjem za bazne legure (51). Zato je degradacija gradivnih materijala u stomatologiji rezultat združenog dejstva fizičkih i hemijskih faktora.

Sa aspekta korozionog ponašanja nikel-titanijum pripada grupi pasivnih legura koje odlikuje mogućnost stvaranja površinskog oksidnog sloja. Pasivnost se karakteriše kao kratkoročno ili dugoročno stanje u koje mogu preći neki neplemeniti metali i na taj način postati koroziono rezistentni. Međutim, ovo svojstvo je vremenski ograničeno jer pod uticajem kiselih rastvora i hloridnih jona u okruženju može doći do prelaska iz pasivnog u aktivno stanje (52).

Najšire posmatrano, pojam korozione otpornosti ovih legura je široko kontekstualan fenomen s obzirom na to da se veliki broj istraživanja bavio ovom problematikom ali su dobijeni rezultati nekonzistentni (50, 53, 54, 55). Razlog za ovako varijabilne podatke leži u činjenici da postoje velike

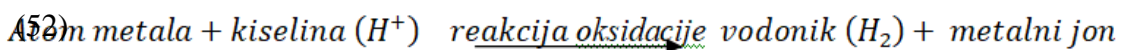
razlike u karakteristikama zaštitnog površinskog sloja koji se formira, a tiču se njegove debljine i homogenosti.

Dokazano je da je u pH neutralnim i alkalnim rastvorima bez prisustva hloridnih jona, ponašanje nikel-titanijum legure sličnije titanijumu, dok je u kiselim rastvorima i bogatim  $\text{Cl}^-$  jonima ponašanje sličnije niklu. Naime, titanijum je metal koji kada se nađe u sredini bogatoj kiseonikom spontano na površini obrazuje sloj sačinjen od različitih oksida ( $\text{Ti}_2\text{O}$ ,  $\text{Ti}_2\text{O}_3$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Ti}_2\text{O}_5$ ) (56). Dokazano je da ovaj oksid pospešuje rast osteoblasta, tj. poseduje bioaktivni potencijal (57). Ovaj sloj je postojan u širokom intervalu pH vrednosti, što znači da će štiti površinu materijala od korozije u slabo redukcijskim pa sve do izrazito oksidacijskih uslova (19).

Metalni materijali se u stomatološkoj protetici koriste kao gradivni materijali za izradu različitih podkonstrukcija fiksnih ili mobilnih zubnih nadoknada. Imajući u vidu da se radi o velikom broju neplemenitih i plemenitih legura problem njihovog međusobnog direktnog i indirektnog kontakta tiče se njihove galvanske raznorodnosti. Poznavanjem različitog ponašanja ovih legura, i sledstvenog izbegavanja njihovog kontakta može se sprečiti neželjena galvanska reakcija koja bi vodila rastvaranju manje postojanog metala. Međutim, važniji problem u vezi sa korozionim ponašanjem legura u stomatološkoj protetici tiče se elektrohemijske korozije nastale pod uticajem elektrolita, obzirom na stalno prisutnu vlažnost u usnoj šupljini.

Razvoj i tok elektrohemijske korozije pasivnih legura u kiseloj sredini podrazumeva prodor agensa unutar zaštitnog oksida i njegovu potpunu ili delimičnu razgradnju.

Dejstvo tog agensa dovodi do reakcije oksidacije na anodnom mestu na površini legure. Istovremeno dolazi do redukcije oksidacionog sredstva, tj. mlečne kiseline (52, 59). Oksidacijom atoma metala u kiselini stvaraju se metalni joni, koji se oslobađaju u organizam. Ovaj hemijski proces može se objasniti formulom:

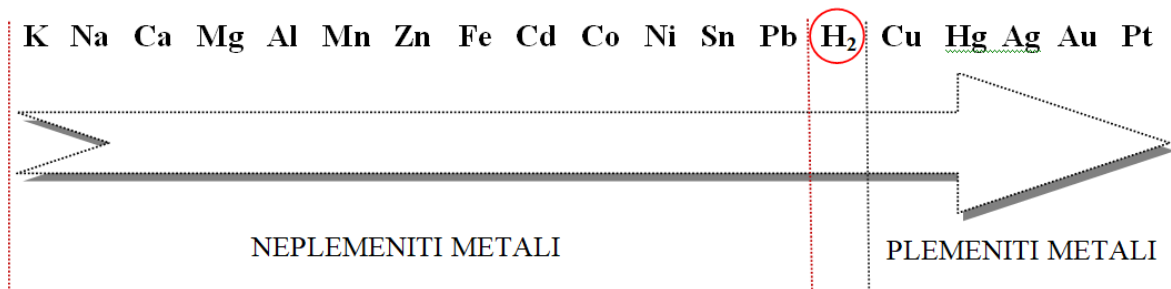


Krajnji rezultat ove oksido-redukcijske reakcije je oslobođeni metalni jon čiji biološki efekat zavisi od njegove prirode. Konkretno nikel pripada grupi prelaznih metala (VIII B grupa periodnog sistema elemenata), prisutan kao nečistoća u mnogim metalnim materijalima ili kao obavezan dodatak legurama kada je neophodno poboljšati livnost, duktilnost i gustinu.

Predvidivosti ponašanja metala u određenom elektrohemijskom okruženju može se proceniti analizom njegovog položaja u naponskom nizu koji je prvi opisao fizičar Alessandro Volta (1745-1827). Elementi su poređani unutar linearno rastućeg naponskog niza (Slika 5). Vrh niza čine



plemeniti metali jer su slabo reaktivni i time predstavljaju najstabilnije redukujuće supstance. Dno niza čine alkalni (neplemeniti) metali koji su hemijski najreaktivniji i time čine najjače redukcijske supstance. Nikl je metal koji ima negativan elektrodni potencijal u ovom nizu (60). U praksi, to znači da kada se nađe u rastvoru neke kiseline, reaguje tako što istiskuje vodonik. Stoga svi metali koji se nalaze levo od vodonika mogu da ga istisnu iz razblaženih kiselina, a metali desno od njega nemaju tu mogućnost.



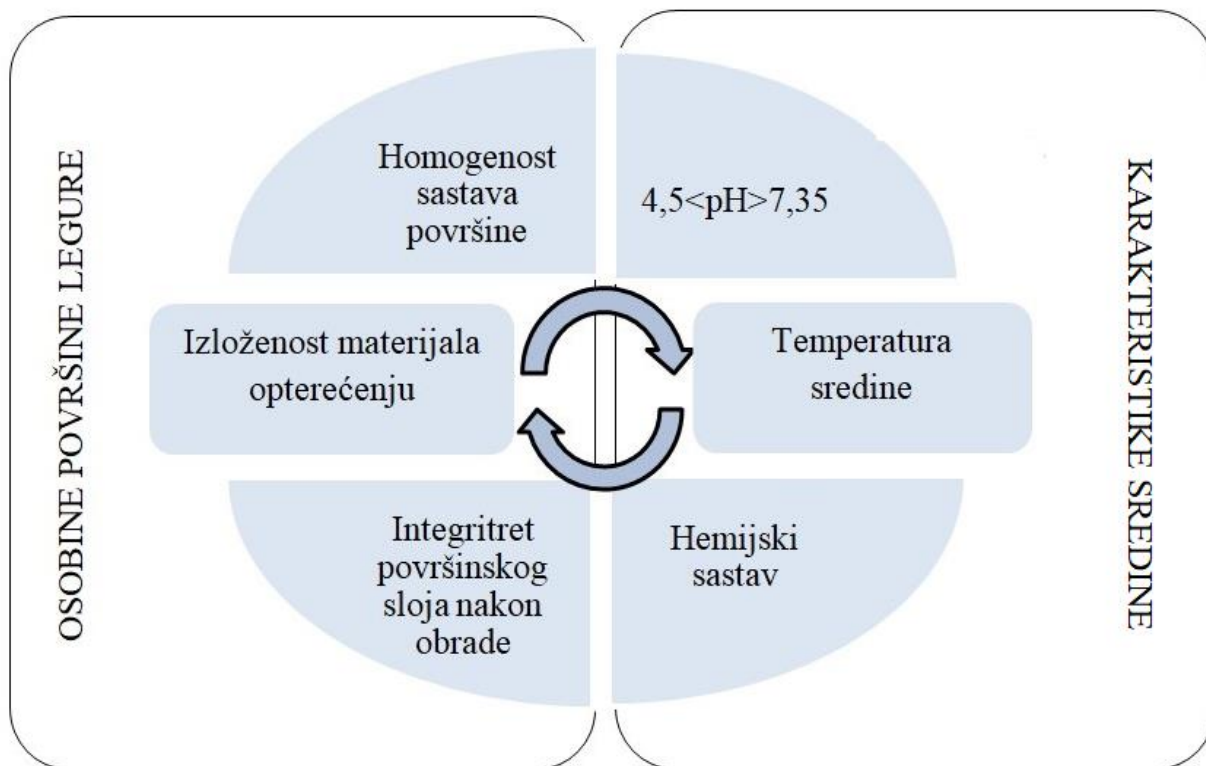
**Slika 5.** Naponski niz metala (61).

Sa aspekta pojedinačnog dejstva elemenata unutar korozionih jedinjenja, brojna istraživanja ističu i hloridne jone kao jedne od najagresivnijih agenasa odgovornih za degradaciju pasivnih legura, kakva je nikel-titanijum (62). Razlog za to je, pre svega mala veličina ovog molekula koja dozvoljava njegovu lakšu ugradnju u površinski oksidni sloj. Pored toga, izuzetno je laka apsorpcija jona Cl koji ima negativno naelektrisanje na oksidni sloj koji je pozitivno naelektrisan (52). Nakon inicijalnog prodora hlorida u površinski sloj, dalji tok može ići u dva smera, repasivizacije i potpunog ili delimičnog oporavka, ili dalje propagacije.

Mogućnost repasivizacije tj. sposobnost legure da izvrši samooporavak nakon površinskog oštećenja je od presudnog značaja za njenu dugoročnu postojanost. Ova sposobnost zavisi od dva uslova. Prvi se tiče kvaliteta oksidnog filma. Homogenost oksida će osigurati kontinuitet i sprečiti curenje metalnih jona. Drugi uslov podrazumeva da aktuelni potencijal legure ima negativniju vrednost od kritičnog piting<sup>3</sup> potencijala. U suprotnom, nehomogeni oksid na površini dozvolice akumulaciju vodonikovih jona unutar inicijalno formirane pukotine što stvara pozitivniju vrednost potencijala (46, 49). Što je vrednost potencijala veća to je razvoj korozije sigurniji i brži.

<sup>3</sup> Piting potencijal. Potencijal korozije pri kom dolazi do razvoja jamičastih (tačkastih) defekata na anodnim površinama metalog materijala.

Loš kvalitet oksidnog sloja zasigurno dovodi do oslobađanja toksičnih elemenata. Integritet sloja je mnogo važniji od njegove debljine da bi se moglo govoriti o zaštitnoj ulozi i sprečavanju curenja biotoksičnih jona iz legure (63).



**Slika 6.** Faktori koji definišu razvoj korozije nikel-titanijum legure.

## 2.3. Biokompatibilnost nikel-titanijum legure

Biološka karakterizacija nikel-titanijum legure vrši se na osnovu utvrđivanja načina nastanka i stepena biodegradacije ovih materijala. Imajući u vidu da usna duplja predstavlja specifično biološko okruženje, kao inicirajući faktori za biološku razgradnju legura navode se promene acido-baznog statusa, konstantna potopljenost u tkivne tečnosti, kao i izloženost kontinuiranom cikličnom naprezanju usled dejstva sila žvakanja (Slika 6) (64). Kako je dejstvo pomenutih faktora sinergističko, može se reći da delujući stvaraju ireverzibilni *circulus vitiosus* i da svi pomenuti faktori pogoduju razvoju korozije. U funkciji vremena, posledice korozije legura su mnogobrojne (59). Među biološkim, najštetnija je ispuštanje degradacionih produkata u usnoj duplji (65). Priroda degradacionih produkata zavisi od sastava legure. Interakcija tih produkata sa raznim tipovima ćelija, kao specifičnim indikatorima posebnih reakcija, manifestuje se u vidu odgovora domaćina na implantirani materijal (66). Alergijske reakcije na biomaterijale nastaju usled prenaplašenog, tj. nenormalnog imunološkog odgovora na metalne jone ili metalne soli koje se mogu osloboditi sa površine materijala. Nikl spada u grupu najjačih bioloških senzibilizatora (67-69).

Prema statistikama, otprilike 10-15% ljudske populacije pati od kontaktne preosetljivosti na metale. Ova alergija je znatno češća kod osoba ženskog pola nego muškog, sa približnom učestalošću populacije od 10% kod žena naspram 2% kod muškaraca (70). Pretpostavlja se da je razlog za to veća izloženost niklu kod žena putem nakita. Rezultati mnogobrojnih *in vivo* istraživanja potvrdili su da se preosetljivost na nikel ispoljava kao reakcija odložene hiperosetljivosti tip IV. To znači da od kontakta ćelija sa alergenom do ispoljavanja alergijske reakcije najčešće prođe više od 24 h.

Mehanizam nastanka alergijske reakcije na nikel podrazumeva sledeći tok. Nakon razgradnje površinskih slojeva materijala, oslobođeni joni metala difunduju kroz epitelne slojeve sluzokože usta (57). Pošto su ovi molekuli mali antigeni, poznati i kao hapteni, samostalno se ne ponašaju kao alergeni. Međutim, nakon kontakta sa proteinima u krvi domaćina, stvara se kompleks haptent-protein. Taj alergenski kompleks aktivira ćelijski imunitet (T limfocite) (57). Kliničke manifestacije reakcije kasne preosetljivosti na nikel ispoljavaju se kao oralne (pustulozne eflorescencije i migrirajući glositis) ili kožne (ekcem tj. kontaktni dermatitis) dermatoze (70).

Sa druge strane, literaturni podaci o citotoksičnim efektima legura nikla su različiti (71, 72). Odgovor za ovako varijabilne podatke može se prepisati nedovoljno razjašnjenim toksičnim efektima različitih hemijskih jedinjenja nikla (rastvorna i nerastvorna) koja se, pored elementarnog

nikla, mogu osloboditi iz legura prilikom proizvodnje ili eksploatacije (73, 74).

Primena nikel-titanijuma u stomatologiji podrazumeva izloženost rastvornim i nerastvornim jedinjenjama nikla, kako pacijenata tako i medicinskog osoblja, lekara i tehničara. Komercijalno dostupna Ni-Ti legura se proizvodi klasičnim metodama livenja blokova, tj. ingota, čija je obrada i oblikovanje u nadoknadu teška, dugotrajna i potencijalno rizična po zdravlje, s obzirom na to da tokom obrade dolazi do isparenja toksičnih jedinjenja.

Zbog toga, profesionalna izloženost zubnih tehničara utiče na zdravlje organa za disanje. Štetni produkti prašine koja se oslobađa tokom proizvodnje i obrade jesu upravo rastvorna jedinjenja nikla, jer nakon inhalacije ulaze u krvotok (74). Ovaj problem delimično može biti rešen usvajanjem predloženih protokola za bezbedan rad u zubotehničkoj laboratoriji, a tiče se korišćenja zaštitne opreme i obavezne primene adekvatnih sistema ventilacije unutar zubotehničkih laboratorija (75, 76).

## **2.4. Tehnološki postupci za izradu produkata od nikel-titanijum legure**

Proizvodnja nikel-titanijum legura može se vršiti različitim konvencionalnim metodama koje u osnovi imaju tehniku topljenja i livenja, ili kompjuterski vođenim aditivnim tehnikama (Slika 7).

Da bi se dobila legura željenog sastava, kao polazne sirovine koriste se visoko prečišćeni primarni metali. Najčešće korišćene metode su vakuumsko indukciono topljenje (eng. *vacuum induction melting*) i elektrolučno topljenje (eng. *vacuum arc remelting*). Sa aspekta osobina same legure, nedostatak klasične metode livenja ogleda se u mogućoj kontaminaciji rastopa nečistoćama iz okruženja (77). Poznato je da je titanijum nisko fluidan metal, velikog viskoziteta i da ima visoku tačku topljenja. Pored toga, veliki afinitet ovog metala ka kiseoniku stvara probleme tokom proizvodnje. Zbog toga je neophodno da se legura lije u inertnoj atmosferi. Dodatni problemi u vezi sa proizvodnjom ovih legura tiču se visoke cene primarnih sirovina i teške obrade poluproizvoda.

U literaturi se može naći veliki broj studija koje su se bavile analizom mikrostrukture i hemijske karakterizacije legura dobijenih indukcionim i elektrolučnim topljenjem (77-79). Iako obe metode

zadovoljavaju zahteve propisane standardom ASTM-F 2063 za medicinska sredstva, one ipak nose sa sobom određene nedostatke, a tiču se uglavnom visoke reaktivnosti rastopa i sklonosti ka segregaciji.

Uzorci dobijeni metodom elektrolučnog topljenja su dendritske i nehomogene strukture. Da bi se prevazišao ovaj problem, predlaže se višestruko pretapanje. Homogenu smešu rastopa moguće je dobiti pretapanjem legure i do pet puta. Međutim, sa povećanjem broja ciklusa pretapanja povećava se verovatnoća kontaminacije kiseonikom (80). Svaki atom Ti koji reaguje sa atomom O<sub>2</sub> se prethodno odvojio iz Ni-Ti rešetke. Na ovaj način smanjuje se temperatura transformacije legure i menja mikrostruktura.

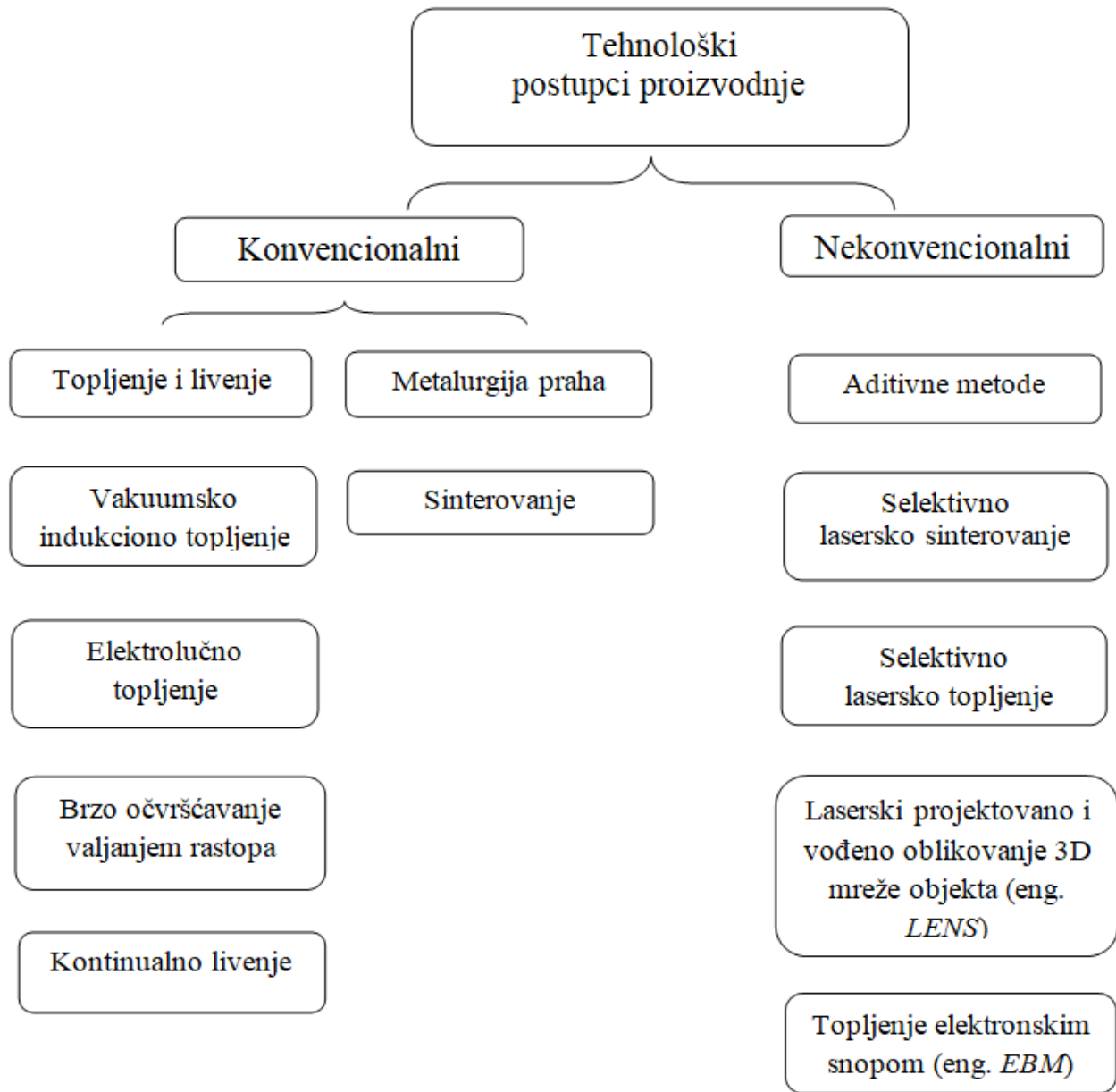
Iz navedenog razloga se metoda indukcionog topljenja u peći predlaže kao sigurniji metod za dobijanje homogene legure obzirom na to da rastop meša naizmenična struja (17). Time je osigurana bolja kontrola hemijskog sastava dobijenih ingota. Topljenje primarnih sirovina vrši se u inertoj atmosferi. Ipak, problem može nastati zbog toga što se u praksi najčešće koriste grafitni tiglovi zbog čega je neizbežna kontaminacija rastopa ugljenikom. Atom C reaguje sa atomom Ti i stvara se karbidno jedinjenje TiC (81). Pored toga što se na ovaj način smanjuje temperatura transformacije dobijene legure, to može negativno uticati i na mehaničke osobine. Poznato je da karbidi povećavaju krtost legure.

Ustanovljeno je da je dozvoljeni nivo nečistoća ugljenika i kiseonika u legurama 200-500 ppm za biomedicinske uređaje (81). Ove vrednosti smatraju se zanemarljivim jer je dokazano da ne menjaju funkcionalne osobine legure.

Još jedna metoda proizvodnje jeste brzo hlađenje valjanjem rastopa (eng. *rapid solidification i.e. melt spinning*). Ova tehnika podrazumeva da se topljenje legure vrši klasičnom metodom u indukcionoj peći, ali specifičnost se ogleda u brzini kojom se hladi rastop legure. Pri izlasku iz lonca u kom se vršilo topljenje, rastop se uliva na rotirajući vodeno hlađeni bakarni cilindar. Brzine hlađenja legure dovoljno su velike (uobičajeno  $10^5$ - $10^7$  K s<sup>-1</sup>) da se zadrži homogena β faza, nosilac memorije oblika (17). Na ovaj način osigurana je martenzitna struktura legure u livenom (eng. *as cast*) stanju, a samim tim i jednosmerni efekat memorije oblika bez naknadne potrebe za sekundarnim postupcima predgrevanja, žarenja i naglog kaljenja.

Izlivena legura dobijena ovom metodom je oblika traka. Metalografska ispitivanja traka pokazala su

sitnozrnastu strukturu legure uz dobre mehaničke osobine i niže temperature martenzitne transformacije (58).



**Slika 7.** Različiti tehnološki postupci proizvodnje nikl-titanijum legure za biomedicinsku primenu.

Metalurgija praha predstavlja nešto napredniju konvencionalnu metodu. Tehnike metalurgije praha u osnovi imaju metode mlevenja metalnih granula. Dobijeni prahovi se mogu koristiti za konvencionalne tehnike sinterovanja i daljeg kalupljenja ili kao polazne sirovine za kompjuterski generisane aditivne metode proizvodnje.

Kao primarna sirovina koristi se prah legure dobijen mehaničkim usitnjavanjem osnovnih metala. U

cilju sprečavanja kontaminacije kiseonikom, prah se posipa argonom. Potom sledi mešanje prahova na sobnoj temperaturi pod pritiskom od oko 400 MPa da bi se dobila gustina od oko 90 %  $\rho_t$  (58). U cilju daljeg povećanja gustine i homogenizacije praha vrši se sinterovanje na temperaturi približnoj temperaturi topljenja legure (ispod 1600°C) (77). Osnovna prednost metode sinterovanja jeste što proizvedene legure imaju visok odnos čvrstoća/gustina.

Uspešnost sinterovanja zavisi od karakteristika čestica metalnog praha (veličine, oblika i raspodele), parametara sinterovanja (temperature i vremena), i pritiska tokom kompaktacije prahova (82). Posebnu pažnju bi trebalo posvetiti uslovima u kojima dolazi do hlađenja legure nakon sinterovanja. Naime, prilikom sporog hlađenja na sobnu temperaturu, može doći do stvaranja precipitata i  $Ni_4Ti_3$  faze odgovorne za smanjenje duktilnosti legure (77).

Da bi se dobili proizvodi željene gustine, ponuđene su različite podvarijante tehnike kompaktacije sinterovanih čestica legure. Vakuumsko toplo presovanje (engl. *vacuum heat press*) realizuje se na temperaturi od 925 do 955 °C, pri pritisku od 30 ili 70 MPa (58). Ovom metodom moguće je dobiti samo proizvode jednostavnih oblika, što zahteva naknadnu obradu da bi se postigao gotov željeni oblik proizvoda.

Metoda injekcionog livenja metala (eng. *metal injection molding*) ima prednost jer omogućava proizvodnju malih i složenih oblika prema specijalno dizajniranim kalupima u koje se uliva rastop injekcionom metodom (77). Toplo izostatsko presovanje (eng. *hot isostatic pressing*) je postupak tokom kog se primenjuje istovremeno toplota i ujednačen pritisak u svim pravcima tokom sinterovanja (77).

Prednosti ovog načina proizvodnje su: precizna kontrola hemijskog sastava, dobijanje željenog sastava binarne legure, kontrola poroznosti, fina i stabilna mikrostruktura.

Aditivne metode predstavljaju različite tehnike brze izrade kompleksnih trodimenzionalnih oblika sabiranjem uzastopnih slojeva materijala. Najpoznatije među njima su selektivno lasersko topljenje (eng. *selective laser melting*), direktno sinterovanje metala (eng. *direct metal laser sintering*), selektivno lasersko sinterovanje (eng. *selective laser sintering*), topljenje elektronskim snopom (eng. *electron beam melting*) (83, 84). Cilj proizvodnje je dobijanje proizvoda veće gustine i manjeg nivoa nečistoća u odnosu na metode klasičnog livenja u kalupe. Polazna sirovina se može dobiti iz predlegiranih prahova ili mehanički usitnjenih osnovnih metala. Postupak mehaničkog usitnjavanja se najčešće vrši vodenom ili gasnom atomizacijom, jer rezultira najmanjim sadržajem nečistoća. Ipak, dozvoljen nivo nečistoća za biomedicinske uređaje dobijene aditivnim metodama je 0,04

mas.% za kiseonik, 0,02 mas.% za azot, 0,03 mas.% za ugljenik (85).

Mešanje primarnih metala u odnosu na prahove češće uzrokuje formiranje intermetalnih faza. Iz tog razloga preporuka je koristiti predlegirane prahove. Sadržaj Ni u Ti u metalnom prahu mora se precizno odmeriti prema željenoj nameni finalnog proizvoda. Poznato je da legure bogatije titanijumom pokazuju efekat memorije oblika, dok niklom bogate legure pokazuju izraženiji superelastični efekat.

Nakon pripreme primarnih sirovina, izradi metalnog objekta prethodi kompjuterski vođeno dizajniranje (3D CAD) geometrijskog oblika. Potom sledi topljenje metalnog praha pod uticajem laserskog zraka i slojevito slaganje. Kontinuitet između slojeva neophodan je da bi se osigurala mehanička otpornost strukture. Topljenjem jednog sloja istovremeno se vrši ponovno pretapanje prethodno laserski sinterovanog sloja čime se jača njihova veza. Po završenom slojevanju dobija se zadati oblik proizvoda.

Prema tome, nema potrebe za dodatnim postupcima sekundarne proizvodnje (obrada, izvlačenje, valjanje) radi postizanja željenog oblika i dimenzija. Iako iziskuje velike troškove proizvodnje, ovo je ekološki, energetski, i vremenski najefikasniji postupak. Takođe, nema bojazni od nastanka sekundarnih faznih transformacija, koje utiču na funkcionalne osobine legure.

Kao jedna od glavnih prednosti aditivnih metoda proizvodnje nikel-titanijum legure za biomedicinsku aplikaciju navodi se mogućnost dobijanja željene poroznosti proizvoda. Ovakav dizajn pogodan je za izradu skafolda, tj. potpornih matriksa (86). Ovi porozni potporni matriksi od različitih titanijumskih legura uspešno se koriste u osteogenezi jer dokazano omogućavaju lokalni rast osteoblasta. Međutim, podaci u literaturi ukazuju na važnost preciznog definisanja veličine i distribucije ovih šupljina jer se u slučaju prisustva iregularne poroznosti materijala može smanjiti čvrstoća proizvoda obrirom na to da sa povećanjem pora raste i osetljivost metalne strukture na propagaciju pukotine (87).

Sve do sada navedene metode proizvodnje pripadaju primarnim proizvodnim procesima. Ipak, neke metode zahtevaju primenu daljih postupaka sekundarne proizvodnje (obrade poluproizvoda) da bi se dobio gotov željeni dizajn i oblik. Ovo je pogotovo važno ako se kao primarne metode proizvodnje koriste metode livenja.



Da bi se sprečilo otpuštanje toksičnih jona metala gotovih proizvoda u biološko okruženje, poslednjih godina velika pažnja naučne zajednice usmerena je na poboljšanje površinskih svojstava legura sa memorisanim oblikom.

Poznato je da su konvencionalni procesi obrade teško obradivih materijala (eng. *difficult-to-machine*, *DTM*), kao što su bušenje, glodanje i mehaničko sečenje, veoma teški za izvođenje zbog velike tvrdoće, radnog očvršćavanja materijala i značajnog habanja alata. Veliki broj istraživanja u oblasti obrade nikel-titanijum legura pokazao je prednosti metode bezkontaktne elektroerozivne obrade ovih legura (88, 89). Ova metoda koristi termoelektričnu energiju za uklanjanje materijala, obezbeđujući viši kvalitet završne površine. Adekvatnom završnom obradom metala dobija se mogućnost bolje površinske strukture. To smanjuje verovatnoću nastajanja iregularnosti na površini metala u vidu hrapavosti koje mogu izazvati ispiranje potencijalno toksičnih elemenata kakav je nikel. Elektroerozioni postupak daje mogućnost stvaranja „zone bez nikla“ unutar gornje površine, koja se sastoji uglavnom od  $\text{TiO}_2$  i malih količina  $\text{NiO}$  i  $\text{Ni}_2\text{O}_3$  (75). U literaturi ne postoje podaci da ovaj metod obrade može negativno uticati na funkcionalna svojstva materijala.

### 2.4.1. Metoda kontinualnog livenja

Metoda kontinualnog livenja predstavlja tehnološki proces topljenja metala u vakuumskim uslovima i naknadno kontinuirano livenje rastopa (90). Peć za topljenje metala puni se šaržom od  $1500 \text{ cm}^3$  do  $3000 \text{ cm}^3$  (91). Rastop se meša u loncu u inertnoj atmosferi pod uticajem naizmenične struje. Uređaj za hlađenje rastopa i oblikovanje očvrstle legure nalazi se na malom rastojanju od lonca. Zbog toga se rastopljeni metal direktno učvršćuje u poluproizvod, čime se klasično livenje i obimna obrada ingota mogu izbeći. Na ovaj način štede se vreme izrade nadoknada i troškovi. Dodatna pogodnost je u tome što je korišćenjem različitih kalupa moguće dobiti proizvode željenih oblika. Poznato je da je osnovni problem klasičnih metoda livenja to što su dobijeni poluproizvodi u vidu ingota velikih dimenzija usled čega je neophodna naknadna ekstenzivna obrada za dobijanje proizvoda za biomedicinsku primenu. Još jedan problem klasične proizvodnje legura metodom topljenja i naknadnog livenja mogu biti prisutne male šupljine i poroznosti rasporedjene celom masom legure. Ukoliko se kao polazne sirovine koriste čvrsti metali nikla i titanijuma, prilikom njihovog topljenja, ukoliko parametri nisu adekvatno usklađeni, doći će do izražaja razlika u kinetici difuzije atoma titanijuma u masi nikla i obrnuto što za

posledicu ima stvaranje šupljina (4). Ovaj fenomen poznat je kao Kirkendalov efekat (eng. *Kirkendall effect porosity*), i značajno pogađa mehaničke osobine materijala (92). S toga je važno istaći da je planskim usmeravanjem tehnoloških parametara proizvodnje moguće uticati na fizičke osobine materijala i uskaditi ih sa željenom namenom.

*Radna hipoteza istraživanja:*

Kontinualno livenje, kao tehnološki proces, omogućilo bi izradu proizvoda od nikel-titanijum legure boljih biofunktionalnih osobina u odnosu na proizvode na tržištu.

**Glavni cilj israživanja:**

Prikazati proces kontinualnog livenja nikel-titanijum legure i uporediti biofunktionalne karakteristike proizvoda dobijenih datim tehnološkim postupkom sa sličnim proizvodima koji se već nalaze na tržištu.

**Bliži ciljevi:**

1. Uspostaviti optimalni model proizvodnje legura nikel-titanijum za upotrebu u stomatologiji.
2. Nakon karakterizacije hemijskog sastava legure, identifikovati površinsku i subpovršinsku strukturu, sa ciljem definisanja stepena homogenosti površinskog sloja.
3. Merenje koncentracije otpuštenih jona metala u rastvorima veštačke pljuvačke u *in vitro* uslovima.
4. Merenje korozijske otpornosti legura.
5. Određivanje stepena citotoksičnosti legura nikel-titanijum.

# III MATERIJAL I METODOLOGIJA

Za potrebe predmeta istraživanja ove doktorske disertacije realizovano je šest grupa eksperimenata. Za svako laboratorijsko istraživanje bili su izrađeni odgovarajući oblici uzoraka.

Istraživanje je odobreno od strane Etičkog odbora Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu pod brojem 36/7, 10.03.2020. godine. Svi eksperimenti su realizovani u skladu sa Helsinškom deklaracijom iz 1964. godine, i Edinburškom revizijom iz 2000. godine.

## 3.1. Priprema uzoraka

Materijali korišćeni u ovoj studiji su legure niki-titanijuma, podeljene u dve grupe uzoraka.

- i. (i) Prva grupa uzoraka, u istraživanju označena NiTi-1, su komercijalno dostupni uzorci (proizvođač Merkur d.d., Slovenija). Legura je proizvedena klasičnim postupkom livenja, odnosno pretapanjem u vakuum peći sa elektrootpornim zagrevanjem i finalnim livenjem u različite ingote;
- ii. (ii) drugu grupu uzoraka, u istraživanju označenu NiTi-2, predstavljali su uzorci proizvedeni kontinualnim livenjem u obliku šipki.

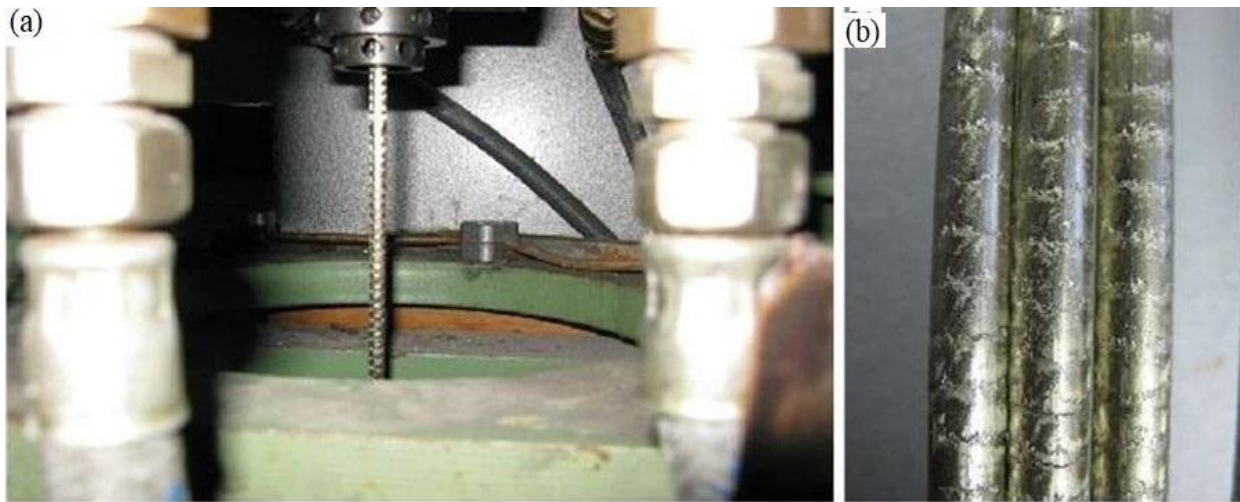
-Aparatura za kontinualno livenje-

Eksperimentalni uređaj za dobijanje legure NiTi-2 sastoji se od peći (Leybold Hereaus, Finland), za vakuumsko indukciono topljenje (eng. *vacuum induction melting*, *VIM*) i vertikalnog kontinualnog ulivnika (Techica Guss, Germany), (eng. *verical continuous casting*, *VCC*). Za topljenje je korišćena peć sa grafitnim tiglovima u koju je stavljeno 20 kg čvrstih komada pojedinačne inicijalne sirovine (Ni, odnosno Ti u traženom 50/50 at. %). Postupak topljenja je izveden u vakuumskim uslovima. Neposredno pre početka, komora je napunjena argonom (čistoće 5.0). U cilju osiguravanja

odgovarajućeg pretapanja, topljenje je brzo pokrenuto korišćenjem čeličnog štapa i držanjem na temperaturi livenja 10 min pre početka livenja. Pritisak u komori bio je  $10^{-2}$  mbara, a frekvencija mešanja rastopa 8000 Hz. Temperatura livenja je bila između 1410-1460 °C, što je za oko 50-100 °C iznad temperature topljenja legure nikel-titanijum, koja iznosi 1350 °C.

Indukciona peć povezana je sa kalupom tako da se istopljena legura direktno ulivala u kalup u kom je očvršćavala. Uređaj za hlađenje, mlaznica od itrijum oksida, bila je smeštena na 25 mm od izlaza kalupa. S obzirom na to da je bilo moguće kalibrisati širinu kalupa, za svrhu ovog istraživanja unutrašnji prečnik bio je podešen na 11 mm. Po završenom livenju dobijen je poluproizvod legure nikel-titanijum u obliku šipke (Slika 8).

Imajući u vidu da Ni-Ti legure pripadaju grupi teško obradivih materijala, zbog visokih vrednosti tvrdoće i činjenice da konvencionalna obrada ovih legura iziskuje veliko trošenje brusnog instrumenta i pregrevanje materijala koje mogu izmeniti funkcionalne osobine legure, nakon dobijanja šipki korišćena je metoda bezkontakne elektroerozivne obrade da bi se dobili uzorci pogodni za istraživanje.

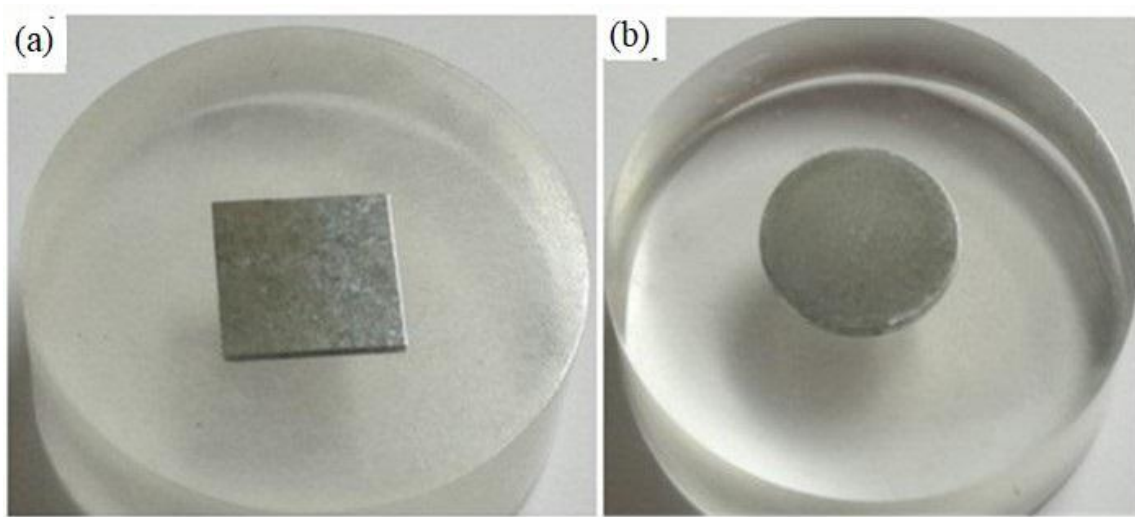


**Slika 8.** Kontinualno livenje: a) šipka očvrsele legure izlazi iz kristalizatora; b) izgled dobijenih poluproizvoda oblika šipki.

Sečenje uzoraka elektroerozijom vršeno je na sledeći način:

- i. (i) NiTi-1, oblik pločica, čije su dužine ivica iznosile 10 mm, debljine 1,2 mm (iz komercijalno dostupne legure);
- ii. (ii) NiTi-2, oblik diska prečnika 11 mm, debljine 1,6 mm.

Makroskopski izgled uzoraka prikazan je na slici 9 a) i b).



**Slika 9.** Makroskopski izgled uzoraka: a) NiTi-1; b) NiTi-2.

## **3.2. Hemijska analiza ispitivanih uzoraka na skenirajućem elektronskom mikroskopu (SEM/EDX, XRF i EBSD)**

### **a) Energijska disperziona spektroskopija- EDX**

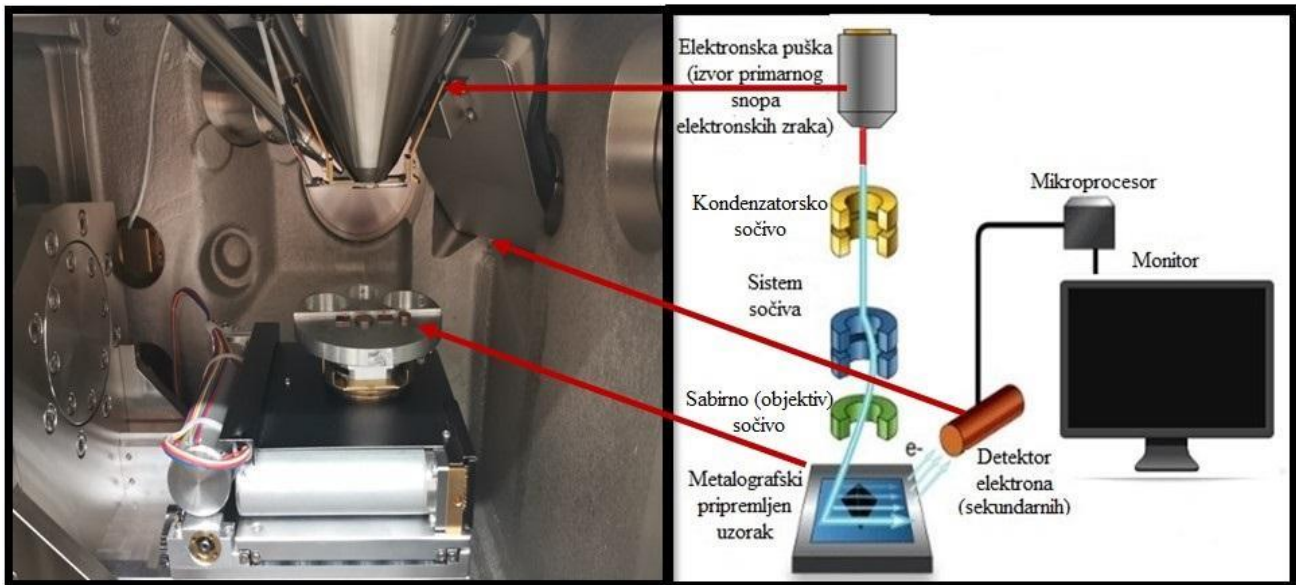
Čišćenje uzoraka neposredno pre analize elektronskom mikroskopijom sprovodi se kao obavezna procedura s obzirom na to da dobijeni kontrast slike zavisi od apsorpcionog sloja na površini ispitivanih uzoraka. U ovom slučaju priprema je podrazumevala isključivo mašinsko poliranje (tačka 3.3.) bez hemijskog nagrizanja da bi se isključio mogući uticaj kiseline na rezultate hemijske analize. Nakon čišćenja, ispitivani uzorci su fiksirani grafenskom tračicom<sup>4</sup> na metalnom nosaču i tako postavljeni u komoru aparata (Slika 10. a).

Za mikrohemijsku analizu uzoraka NiTi-1 I NiTi-2 korišćen je skenirajući elektronski mikroskop (SEM), Siron 400NC (FEI, SAD), obogaćen energijski disperzivnom rendgenskom spektroskopijom (EDX), INCA 350 (Oxford Instruments, UK). Radni parametri bili su 15 kV napona, 7 nA struje na rastojanju od 10 mm.

Delovi elektronskog mikroskopa su: komora, elektronska puška (izvor primarnog snopa elektronskih zraka), sistem elektromagnetnih sočiva (kondenzaciono, sabirno tj. objektiv sočivo I projektorsko sočivo), detektor sekundarno emitovanih elektrona, računarski monitor za prikaz slike (Slika 10. b) (93).

---

<sup>4</sup>Fiksaciona traka mora biti od materijala koji je provodljiv za elektrone.



**Slika 10.** SEM/EDX analiza: a) Uzorci NiTi-1 i NiTi-2 postavljeni na nosač unutar komore aparata; b) ilustrovani prikaz delova elektronskog mikroskopa (93).

SEM/EDX ispitivanja su bila sledeća:

- (i) Za NiTi-1: U centralnom delu uzorka izabrana su dva segmenta. U prvom segmentu ispitivanje je obavljeno na četiri merna mesta, a u drugom segmentu u pet tačaka. U marginalnom delu uzorka merenje je vršeno na četiri tačke mernog segmenta;
- (ii) Za NiTi-2: U centralnom delu uzorka izabrana su tri merna segmenta sa po tri merne tačke. U rubnom delu dva merna segmenta, jedan sa četiri i drugi sa dve merne tačke.

### **b) Rendgenska fluorescentna analiza- XRF**

Obzirom na to da metoda SEM/EDX pripada grupi semikvantitativnih hemijskih analiza postoje određena ograničenja prilikom analize a tiču se preciznosti. Iz tog razloga, da bi se dodatno potvrdila hemijska analiza uzoraka, vršena je dodatna rendgenska fluorescentna analiza (XRF), korišćenjem opreme Thermo Scientific Niton XL3t GOLDD (USA).

### c) Difrakcija povratnog raspršenja elektrona -EBSD

Detaljno ispitivanje mikrostrukture i vidljivost različitih faza uzoraka NiTi-1 i NiTi-2 obavljeno je korišćenjem SEM-Thermal Field Emission (SEM JEOL JSM-6500F), opremljenog analitičkim tehnikama difrakcije povratnog raspršenja elektrona (EBSD) (IMT, Ljubljana, Slovenija). Slike sekundarnih elektrona i slike povratno rasejanih elektrona snimljene su pri različitim uvećanjima i radnim parametrima pri 15 kV naponu, 7 nA struje pri konstantnom rastojanju.

### 3.3. Priprema uzoraka i pregled površine metalografskim mikroskopom

Priprema uzoraka za optičku mikroskopiju podrazumevala je višestepeni postupak sa ciljem stvaranja dovoljno kontrastne površine koja će dati uvid u elemente mikrostrukture.

Fiksiranje uzoraka vršeno je utiskivanjem u testo samovezujućeg akrilata unutar kalupa-držača. Potom je vršeno brušenje abrazivnim papirom različite finoće 180-4000 na mašini BUEHLER Automet 250. Nakon poliranja uzorci su očišćeni acetonom i alkoholom. Zatim je usledilo ultrazvučno čišćenje da bi se uklonile eventualne kontaminacije sa površine uzoraka.

S obzirom na to da se na poliranim uzorcima ne uočava struktura za posmatranje mikrostrukture površina uzoraka bila je nagrižena u skladu sa protokolom (ASTM Standard E 407, br. 192 "*Krols etchant*"):

NiTi-1 – 3 ml HF, 6 ml HNO<sub>3</sub>, 100 ml – vreme nagrizanja 30 sekundi;

NiTi-2 – 3 ml HF, 6 ml HNO<sub>3</sub>, 100 ml – vreme nagrizanja 30 sekundi.

U propuštenoj svetlosti optičkog mikroskopa posmatrana je mikrostruktura, a broj zrna određen je ASTM metodom.

Topografski pregled vršen je na aparatu Nikon EPIPHOT 300 sa mogućnošću uvećanja slike do 1000 puta.



### 3.4. Merenje makro i mikrotvrdoće

Tvrdoća uzoraka je merena statičkom Vickersovom metodom prema protokolu koji odgovara standardu ISO 6507-1:2018. Površina uzoraka pripremljena je hemijskim nagrivanjem kao za metalografsko snimanje (tačka 3.3.), u cilju uklanjanja nečistoća i hrapavosti koje mogu uticati na preciznost učitavanih rezultata. Ispitivanje tvrdoće uzoraka vršeno je na sledeći način:

- (i) Tvrdoća je merena na svakom uzorku iz svake eksperimentalne grupe na aVPN HPO 250 mašini, kojom je vršeno opterećenje od 49,03 N, u trajanju od 15 s. Merenje je realizovano 8 puta;
- (ii) Mikrotvrdoća je merenana aparatu ZWICK 3212, Ulm, Germany, kojim je vršeno opterećenje od 0,49 N u trajanju od 15 s. Uzorci su izlagani opterećenju po 3 puta.

Po oslobađanju opterećenja merena je dužina obe dijagonale otiska nastalog usled plastične deformacije klasično (NiTi-1) i kontinualno livene legure (NiTi-2).

U oba slučaja kao utiskivač korišćen je dijamantski vrh u obliku pravilne četverostrane piramide, kod koga se suprotne strane preklapaju pod uglom od  $(136 \pm 1)^\circ$ . Pregled otisaka tvrdoće je ispitan na Nikon EPIPHOT 300 mikroskopu.

Tvrdoća po Vickersu (oznaka: HV) je računata prema odgovarajućoj formuli:

$$HV = \frac{d_1 \times d_2}{F}$$

Pri čemu  $d$  označava dužinu svake naspramne dijagonale otiska, a  $F$  silu opterećenja.

## 3.5. Testovi korozije

Ispitivanje korozione otpornosti legura sprovedeno je kroz sledeće testove:

- (i) statički imerzioni test kojim se određuje postojanost legura u korozionoj sredini na osnovu količine otpuštenih metalnih jona u medijumu;
- (ii) sulfidni test, kojim se određuje sklonost legura ka tamnjenju;
- (iii) elektrohemijski test radi utvrđivanja kinetike korozionog procesa.

Testiranje i priprema uzoraka vršeni su prema protokolu za testiranje materijala koji imaju primenu u stomatologiji – ISO 10271: 2011.

### 3.5.1. Statički imerzioni test

#### 3.5.1.1. Ispitivanje postojanosti legura u rastvoru veštačke pljuvačke

Ispitivanje postojanosti legura u rastvorima veštačke pljuvačke izvedeno je na Klinici za stomatološku protetiku, Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Testiranje je obavljeno u okviru sedmodnevnog testa uranjanja. Da bi se simuliralo veštačko okruženje analogno onom u usnoj duplji korišćen je rastvor neutralne 6,5 pH vrednosti ( $1,5\text{gL}^{-1}$  KCL;  $1,5\text{ gL}^{-1}$  NaHCO<sub>3</sub>;  $0,5\text{ gL}^{-1}$  NaH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> x H<sub>2</sub>O;  $0,5\text{ gL}^{-1}$  KSCN;  $0,9\text{gL}^{-1}$  mlečna kiselina) prema preskripciji Instituta za biohemiju Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

U svrhu testiranja površina uzoraka obrađena je silikon-karbidnim papirima različite granulacije, a završna obrada vršena je papirom granulacije P1200 u skladu sa standardom ISO 6344-1:1998. Uzorci su čišćeni u ultrazvučnoj kadici u trajanju od 2 min u etanolu, isprani vodom i osušeni komprimovanim vazduhom.

Od aparature korišćene su epruvete od boro-silikatnog stakla dijametra Ø15 mm i 150 mm visine (ISO 3585), i pehametar kojim se vršilo merenje pH vrednosti korozionog medijuma ( $\pm 0,05$  pH jedinica).

Obe grupe uzoraka, NiTi-1 i NiTi-2, potopljene su pomoću najlonske žice u 5 ml rastvora u epruveti začepljenoj gumenim čepom da bi se sprečila evaporacija rastvora. Testiranje je vršeno u dva paralelna eksperimentalna seta.

Tokom imerzionog testa epruvete su držane na magnetnoj mešalici 7 dana na konstantnoj temperaturi

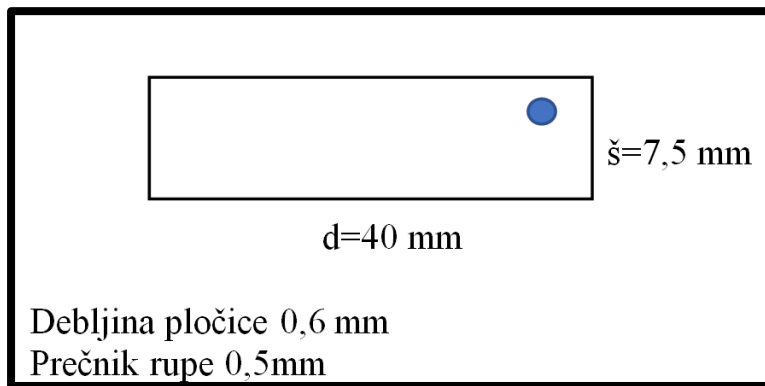
od  $37 \pm 0,2$  °C. Paralelno sa uzorcima, čisti rastvor tzv. „nulti rastvor“ tretiran je na isti način. Ovaj referentni rastvor korišćen je u cilju detekcije nečistoća i prisustva svakog ispitivanog elementa koji se može naći unutar korozionog medijuma (veštačke pljuvačke). Naknadno, dobijene vrednosti smatrale su se očekivano prisutnim i u testiranim uzorcima pa su bile eliminisane prilikom kvantitativne kalkulacije testiranih uzoraka.

Nakon vađenja uzoraka iz rastvora veštačke pljuvačke, da bi se procenila migracija metalnih jona u rastvor, hemijski sadržaj suspenzija je nadgledan induktivno spregnutom plazmom sa optičkom emisijom spektrometrijom (ICP-OES), na aparatu Aligent 720.

Pobuđivanje jona iz uzorka vršeno je induktivno spregnutom plazmom. Potom je vršena detekcija emitovanih jona u optičkom analizatoru aparata. S toga se može reći da je princip analize ICP-OES aparatima bio podeljen u dve faze. Prva faza podrazumevala je da se uzorak u obliku rastvora veštačke pljuvačke uvede u plazmu i na taj način prevede u aerosol koji čine ekscitovani joni, a drugi deo analize obuhvatao je kvalitativnu i kvantitativnu analizu elemenata na osnovu emitovanog zračenja iz aerosola u detektoru optičkog analizatora.

### **3.5.1.2. Ispitivanje postojanosti legura u mlečnoj kiselini**

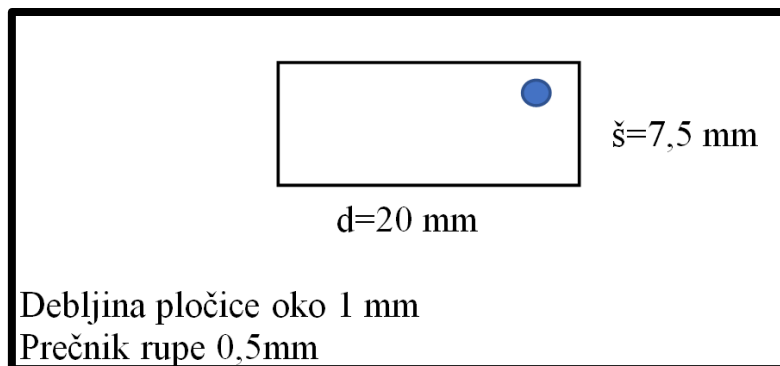
Za ispitivanje postojanosti legura u kiseloj sredini kao reagens korišćena je mlečna kiselina ( $C_3H_6O_3$ ) pH vrednosti 2,3, a uzorci su bili potapani na 7 dana. Priprema uzoraka i korišćena aparatura bili su identični kao za imerzioni test uranjanja u veštačkoj pljuvački, (tačka 3.5.1.1.). Izgled uzoraka pripremljenih za imerzioni test prikazan je na slici 11.



**Slika 11.** Dimenzije uzoraka za imerzioni test.

### 3.5.2. Sulfidni test

Sulfidni test pogodan je za testiranje dentalnih legura koje su sklone tamnjenju i formiranju sulfidnih mrlja. Kao reagens korišćen je rastvor zasnovan na natrijum sulfidu i vodi (2,23 %  $\text{Na}_2\text{S} \times \text{H}_2\text{O}$ ), a uzorci su potapani na 7 dana. Za testiranje svakog uzorka pripremljen je svež rastvor u vidu 22,3 g natrijum sulfida razblaženog u 1000 ml vode. Uzorci su pripremljeni u pogodne oblike za testiranje (Slika 12) i potapani u epruvete na identičan način kao za statički imerzioni test.



**Slika 12.** Dimenzije uzoraka za sulfidni test.

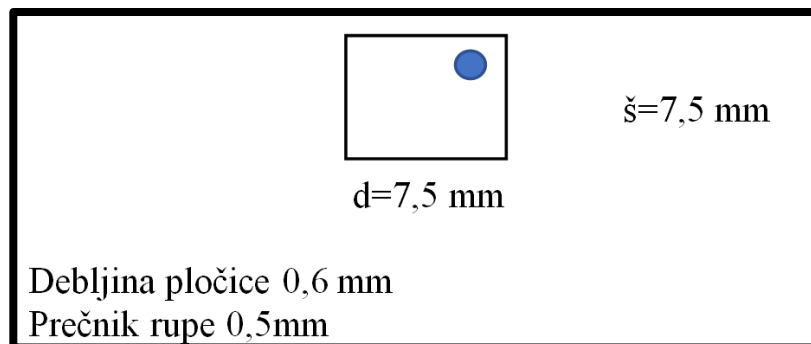
### 3.5.3. Elektrohemijsko testiranje

Elektrohemijskim testiranjem vršena je procena korozijske otpornosti legura korišćenjem potencio-dinamičke polarizacije. Od aparature korišćeni su: potenciostat Gamry 1010E, komercijalni multimeter, radna, pomoćna i referentna elektroda. Medijum za testiranje bio je 0,9 g L<sup>-1</sup> NaCl, pH vrednosti 7,4. Uzorci su bili pripremljeni sečenjem u pogodne oblike polirani siliko-karbidnim papirom visoke finoće i očišćeni acetonom i alkoholom. Potapanje u medijum vršeno je pomoću najlonske žice dužine 10 cm, dijametra 0,5 mm.

U okviru ovog istraživanja korišćen je skenirajući potenciostat sa rasponom potencijala ± 1600 mV. Držać uzorka bila je radna elektroda od ugljenika. Referentna elektroda tokom eksperimenta je bila zasićena kalomelova elektroda (eng. *saturated calomel electrode - SCE*). Elektrolit je napravljen tako što je 9 g NaCl rastvoreno u 950 ml vode. pH vrednost rastvora od 7,4 podešena je dodavanjem 1% C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>. Nakon završenog testiranja vršeno je merenje potencijala tj. anodna polarizacija. Potom je pokrenuto potencio-dinamičko skeniranje u trajanju od 5 min. Dimenzije uzoraka za elektrohemijski test prikazane su na slici 13.

Nakon toga, da bi se jasnije uočila razlika između korozijske postojanosti NiTi-1 i NiTi-2 legure ispitivana je i polarizaciona otpornost  $R_p$ , koja predstavlja zavisnost potencijala od struje u blizini ravnotežnog potencijala (±10 do 20 mV) i može se izračunati prema formuli:

$$R_p = \frac{\partial E}{\partial j}$$



**Slika 13.** Dimenzije uzoraka za elektrohemijski test.

Nakon izlaganja testovima korozije, uzorci su ultrazvučno čišćeni u deioniziranoj vodi i osušeni. Mikrostruktura uzoraka ispitana je na Mašinskom fakultetu Univerziteta u Mariboru i zabeležena prvo na makro snimcima na aparatu Canon 700D potom i na Nikon Epiphot 300 uveličavajućem svetlosnom mikroskopu.

### **3.6. Analiza karakteristika oksidnog sloja i produkata korozije na površini legura sa fokusiranim jonskim snopom**

Po završenim testovima korozije sprovedena je analiza karakteristika novoformiranog oksida na obe grupe uzoraka, NiTi-1 i NiTi-2. Prvi korak analize podrazumevao je jonsko sečenje oksidnog filma na imerziono, sulfidno i polarizaciono tretiranim uzorcima i merenje njegove debljine. U ove svrhe korišćen je uređaj Quanta 200 3D koji proizvodi primarni snop jona galijuma usmeren na površinu uzoraka. Nakon merenja debljine oksida, na istim mestima gde je vršeno njegovo jonsko sečenje, sprovedena je analiza hemijskih elemenata unutar ovog površinskog sloja u cilju određivanje masenog procentualnog sastava produkata korozije. Korišćena je skenirajuća elektronska mikroskopija obogaćena energijski disperzivnom rendgenskom spektroskopijom (SEM/EDX analizom) na mikroskopu Sirion 400 NC. Merenje je vršeno u okviru tri merne oblasti na uzorcima NiTi-1 i NiTi-2.

### **3.7. Ispitivanje citotoksičnosti uzoraka MTT testom**

Ispitivanje biokompatibilnosti izvedeno je u Laboratoriji za ćelijske kulture, Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu. U cilju vizuelne detekcije prisutnih ćelija na ispitivanim materijalima rađena je skenirajuća elektronska mikroskopija uzoraka na Rudarsko-geološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Ispitivanje citotoksičnosti izvedeno je prema zahtevima standarda za biološko vrednovanje medicinskih sredstava (ispitivanje citotoksičnosti u *in vitro* uslovima ISO 10993-5: 2009). Oznaka referentnog srpskog standarda je SRPS EN ISO 10993-5:2011).

#### **3.7.1. Priprema uzoraka**

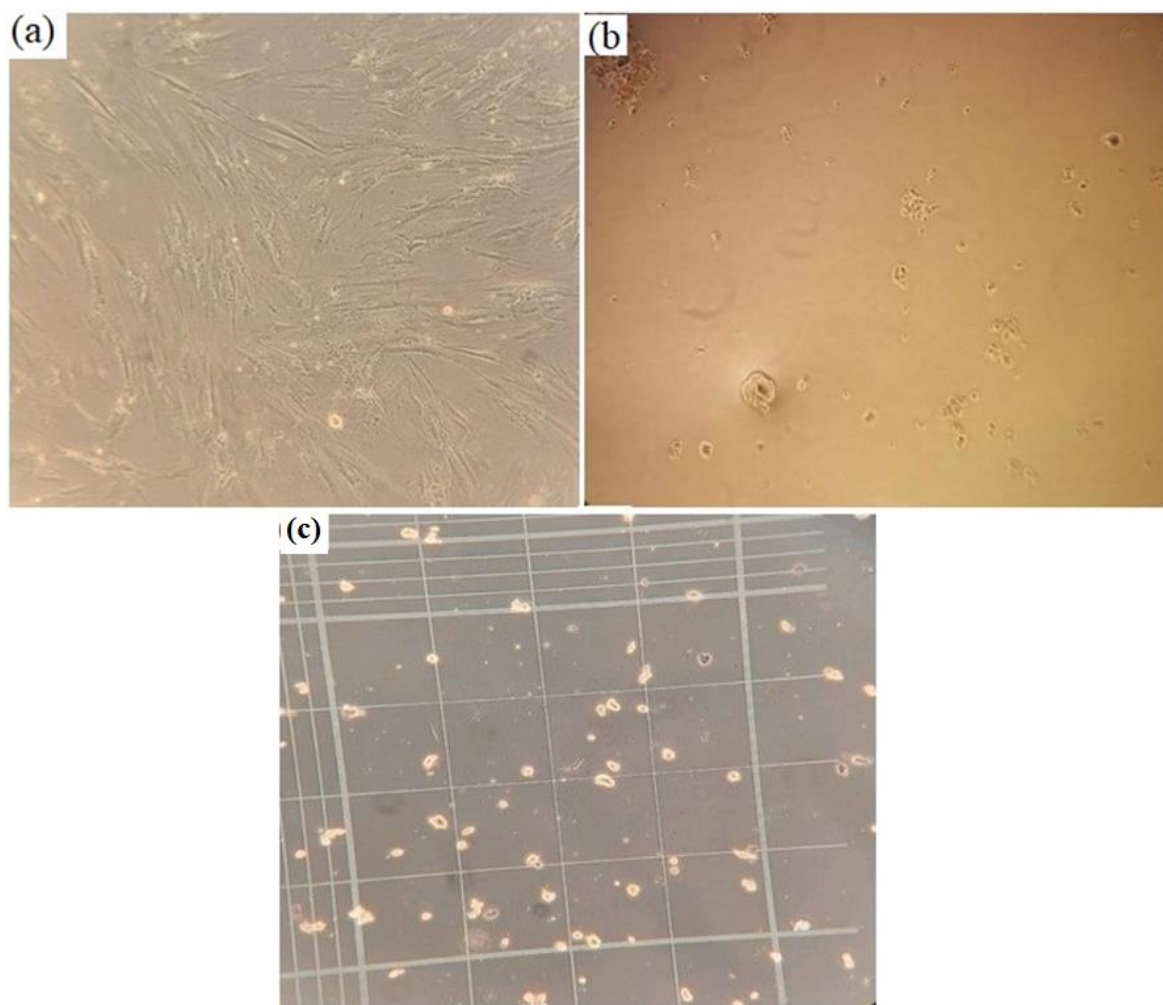
Eksperimentalni uzorci legura NiTi-1 i NiTi-2 (n=6) su očišćeni u ultrazvučnoj kadici u etanolu 2 min, isprani vodom i osušeni. Potom je vršena sterilizacija UV zracima (t = 1 h). Pokrovni stakleni diskovi korišćeni su kao kontrolni materijal u studiji. Odabrani su kao hemijski inertan materijal i pripremljeni na identičan način kao testirani uzorci.

#### **3.7.2. Kultivacija ćelijske kulture fibroblasta *in vitro***

Testiranje je vršeno na ćelijskoj kulturi fibroblasta izolovanih iz gingive, koja je dobijena od jednog pacijenta (nakon informisanog pristanka). Ćelije su zamrzavane u kriostatvoru (FBS sa dodatkom 10% dimetil-sulfoksida (DMSO)), i čuvane u kriovajlama, na -197 °C (tečni azot). Ćelije su odmrznute i sveže pasažirane pre primene u eksperimentima.

Kultura je uzgajana u plastičnim pločama (površine 25 cm<sup>2</sup>) u osnovnom medijumu za kultivaciju ćelija (DMEM/F12 sa dodatkom 10 % FBS i 1 % ABAM, sve od Gibco, Thermo Fisher) i inkubirana na temperaturi od 37 °C, u atmosferi sa 5 % CO<sub>2</sub> i 100 % vlažnosti vazduha. Inkubacija je rađena ispod sterilnog vertikalnog laminara. U cilju dobijanja dovoljnog broja za eksperimente, ćelije fibroblasta su kultivisane dok ne dostignu 80-90 % konfluentnosti, nakon čega su pasažirane. Ćelije nakon treće pasaže su korišćene u studiji. Žive ćelije su posmatrane pomoću invertnog svetlosnog mikroskopa,

(Carl Zeiss, Germany) (Slika 14), a zatim su isprane fosfatnim puferom (PBS-om). U cilju odvajanja konfluentnih ćelija vršena je tripsinizacija (TripLE Express, Gibco, Thermo Fisher),(Slika 14. b). Za brojanje ćelija korišćena je boja tripan plavo koja ulazi u mrtve ćelije, a boji samo membranu živih ćelija (Slika 14. c). Nakon potvrde vijabilnosti, ćelije su zasejavane u odgovarajućoj koncentraciji na ispitivani materijal. Tokom studije, analizirana je citotoksičnost prilikom direktnog kontakta ćelija sa materijalom, kao i indirektnog kontakta ćelija i materijala (otpuštenih molekula materijala u medijum za kulturu).



**Slika 14.** Ćelijska kultura fibroblasta pod invertnim svetlosnim mikroskopom pri uveličanju 20×: a) ćelije pre pasaže; b) ćelije nakon tretmana tripsinom; c) brojenje ćelija pred zasejavanje na materijal.



### 3.7.3. Test direktnog kontakta ispitivanog materijala sa ćelijskom kulturom

Uzorci ispitivane legure NiTi-1 i NiTi-2 su postavljeni kao gotov proizvod na dno bunarića od 12 polja. Nakon postavljanja sterilnih materijala, fibroblasti su zasejani na površinu materijala u koncentraciji  $5 \times 10^4$  ćelija po bunariću.

Citotoksičnost materijala, nakon odgovarajućih vremenskih intervala, merena je kroz procenu vijabilnosti ćelija direktnom metodom- MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-yl)-2,5-dipeniltetrazolium bromid) testom. Citotoksičnost je praćena u dva vremena: nakon 24 časa i 7 dana. Svi eksperimenti rađeni su u triplikatu.

Formula korišćena za kvantifikaciju mitohondrijske aktivnosti živih ćelija je:

$$\%mitohondrijske\ aktivnosti = \frac{tretman - negativna\ kontrola}{pozitivna\ kontrola - negativna\ kontrola} \times 100$$

Za procenu mitohondrijalne aktivnosti nakon direktnog izlaganja ispitivanim uzorcima, medijum je odbaćen, a medijum koji sadrži 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolijumbromid (MTT, 0,5 mg/ml) (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) je dodat u svaki bunar i inkubiran 3 h. Nakon toga, MTT rastvor je odliven i dodat DMSO kao rastvarač. Ploča je stavljena na šejker 20 minuta, na 250 rpm, u mraku, na 37 °C. Ekstrahovani obojeni rastvori iz ploča sa 12 bunarića prebaćeni su u novu ploču sa 96 bunarića. Apsorbovana količina nagrađenog formazana je direktno srazmerna količini vijabilnih ćelija. Optička gustina je merenana 550 nm pomoću mikročitača, RT-2100c (Rayto, China). Ćelije su zasejane i na sterilne staklene diskove, identične veličine i oblika kao i eksperimentalni diskovi. Procenat mitohondrijalne aktivnosti izračunat je kao razlika u odnosu na kontrolnu grupu (pokrovne staklene diskove).

### **3.7.4. Test indirektnog kontakta ispitivanog materijala sa ćelijskom kulturom**

Uzorci testiranih legura bili su potapani u 10 ml rastvora kompletnog medijuma (DMEM sa 10 % fetalnog goveđeg seruma i 100U/I antibiotika/antimitotika) i postavljeni u inkubator sa vlažnom atmosferom na temperaturi od 37°C i pri koncentraciji CO<sub>2</sub> od 5 % tokom 24 h.

Ćelije su zasejana u ploče sa 96 polja, u koncentraciji  $1 \times 10^4$ . Narednog dana osnovni medijum je odliven iz bunarića, a ekstrakti su dodati ćelijama u odgovarajućim grupama. Ćelije su bile izložene ekstraktima 24 h i 168 h. Nakon odgovarajućeg perioda, medijumi su odliveni, a dodat je MTT rastvor. Nakon inkubacije, odliven je MTT rastvor, a dodat rastvarač (DMSO). Očitavanje je rađeno kao u prethodnom ogledu. Kao kontrola služile su ćelije bez tretmana, gajene u kompletnom medijumu.

### **3.7.5. Priprema uzoraka za skenirajuću elektronsku mikroskopiju**

Posle 7 dana direktnog kontakta ćelija sa ispitivanim materijalima izvršeno je njihovo fiksiranje u 2% glutaraldehida 2 sata na 4°C, i dehidracija uz povećanje koncentracije etanola (30%, 50%, 70%, 90%, 100%), 10 minuta za svaku koncentraciju. Nakon toga, uzorci sa fiksiranim ćelijama prebačeni su u sušač nakritičnoj tački u trajanju od 30 minuta. Pripremljeni uzorci naparavani su zlatom (eng. *conductive coating*) debljine 15 nm u trajanju od 2 min, na aparatu Ion Sputter Coater Bal-TecSCD 005. Potom je vršena analiza skenirajućom elektronskom mikroskopijom na JEOL JSM-6610LV mašini.

### 3.8. Statistička obrada podataka

Statističkom analizom obuhvaćeni su svi dobijeni rezultati. Obrada podataka vršena je u statističkom programu (SPSS Statistics, Version 22.0; SPSS Inc, Chicago, IL, US). Za atributivna obeležja posmatranja korišćeni su testovi deskriptivne statistike, a za numerička obeležja parametarski ili neparametarski testovi zavisno od normalnosti raspodele podataka.

Procena razlike u tvrdoći između ispitivanih legura vršena je kroz t-test nezavisnih uzoraka.

Rezultati debljine novoformiranih oksidnih slojeva nakon testova korozije prikazani su kroz metode deskriptivne statistike, kao prosečna vrednost  $\pm$  standardna devijacija (SD). Kvantil-kvantil grafička tehnika (Q-Q plot) je korišćena da bi se utvrdila distribucija podataka.

U okviru tumačenja dobijenih rezultata biokompatibilnosti, test dvofaktorske analize varijanse korišćen je za procenu uticaja legura korišćenih u studiji i vremena proteklog od kontakta sa ćelijama na njihovu vijabilnost.

Za potrebe poređenja rezultata vijabilnosti ćelija između klasično i kontinualno livene legure korišćen je t-test nezavisnih uzoraka.

Granična vrednost za stepen značajnosti postavljena je na  $p \leq 0.05$ .

# IV REZULTATI ISTRAŽIVANJA

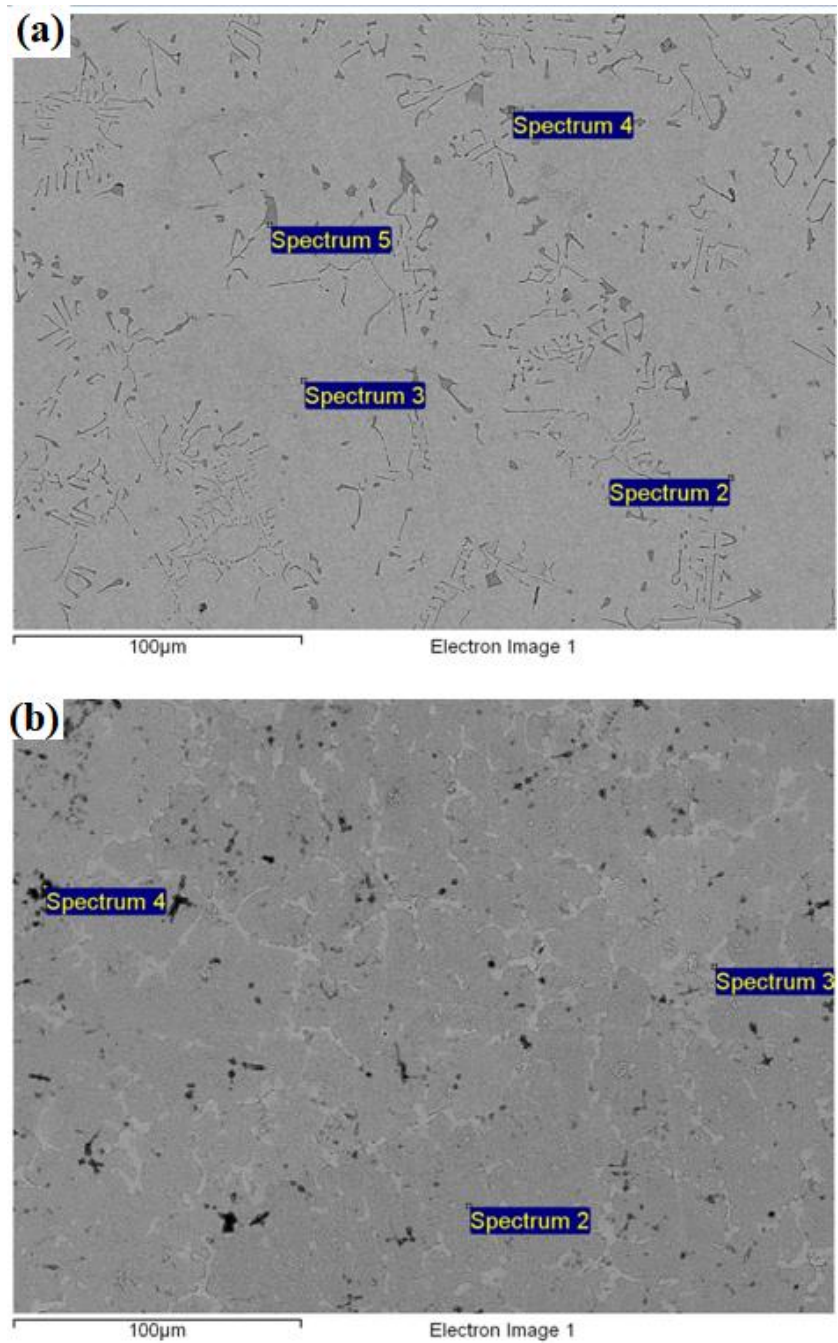
## 4.1. Hemijska analiza ispitivanih uzoraka

### 4.1.1. SEM/EDX i XRF analiza

Tabela 1 prikazuje maseni udeo nikla, titanijuma i gvožđa u nikel-titanijum legurama dobijenim metodom klasičnog (NiTi-1) i kontinualnog livenja (NiTi-2). Rezultati su dobijeni na bazi spektralnih podataka prikazanih na slici 15. Podaci dobijeni rendgenskom fluorescentnom analizom (XRF) pokazuju da je sadržaj nikla bio veći u kontinualno livenim uzorcima u odnosu na klasično livene uzorke. Nasuprot tome, titanijum je bio zastupljeniji u klasično livenim uzorcima. Energijski disperzivnom spektroskopskom analizom potvrđeni su prethodno dobijeni rezultati XRF analize, da je sadržaj nikla bio veći u kontinualno livenim uzorcima dok je sadržaj titanijuma bio veći u klasično livenim uzorcima. Rezultati obe metode merenja potvrdili su prisustvo gvožđa u kontinualno livenim uzorcima.

**Tabela 1.** Zastupljenost nikla, titanijuma i gvožđa u NiTi-1 i NiTi-2 legurama.

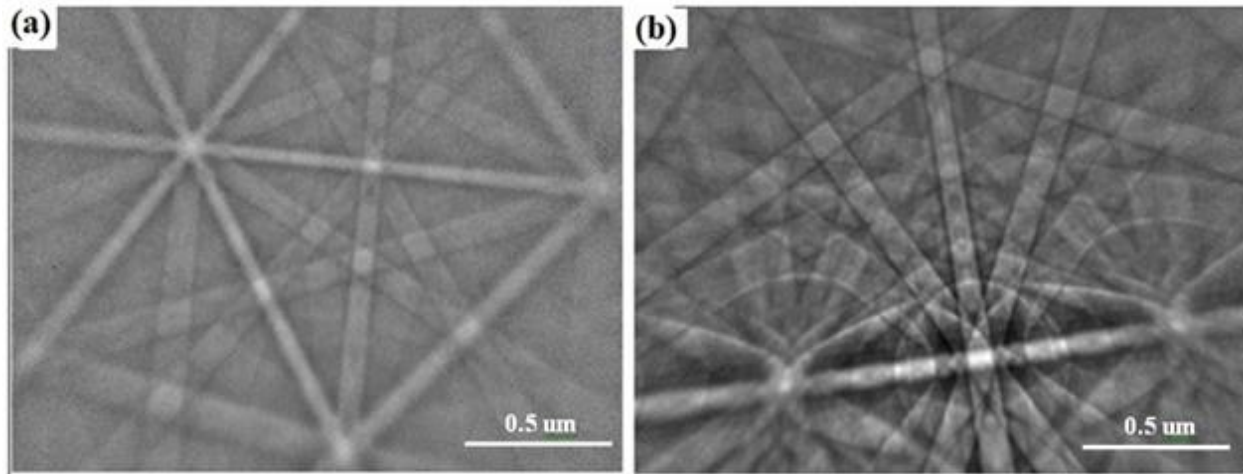
Element (mas. %)	NiTi-1	NiTi-2
<b>XRF:</b>		
Nikl	55.20	62.50-63.60
Titanijum	44.80	35.90
Gvožđe	Nije detektovano	1.40
<b>EDX:</b>		
Nikl	47.62	63.2
Titanijum	52.38	34.4
Gvožđe	Nije detektovano	1.53



**Slika 15.** SE mikrografski prikaz sa mapiranim oblastima na kojima je rađena EDX analiza: a) NiTi-1; b) NiTi-2 legura.

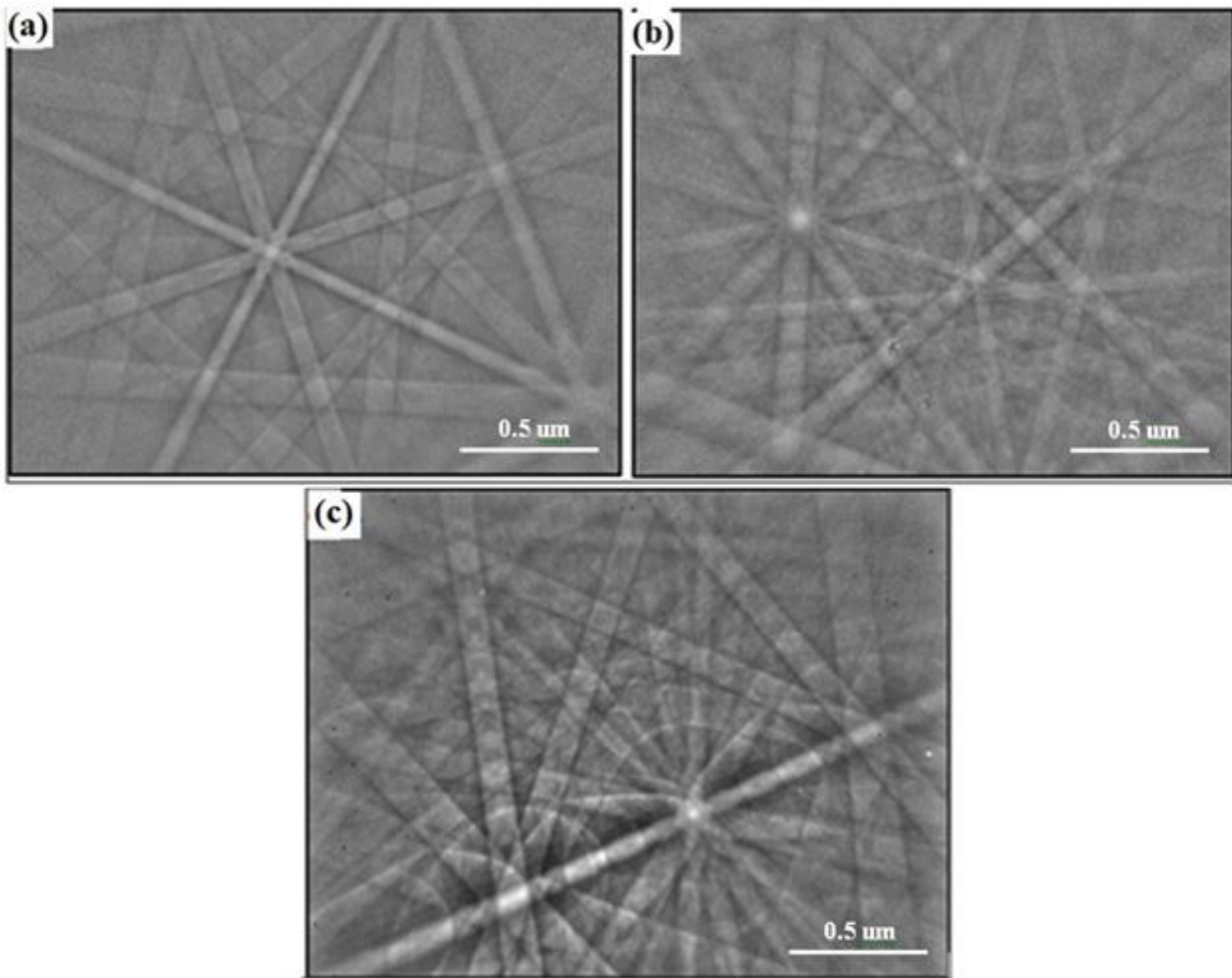
## 4.1.2. Difrakcija povratnog raspršenja elektrona –EBSD

Na slici 16 dat je prikaz skenirajuće elektronske mikroskopije obogaćene metodom povratnog raspršenja elektrona urađenog za leguru NiTi-1. Na osnovu prikupljenih podataka detektovane su NiTi-kubna (Slika 16. a) i Ni<sub>3</sub>Ti-heksagonalna faza (Slika 16. b) što ukazuje da se radi o dvofaznom sistemu.



**Slika 16.** EBSD analiza uzorka NiTi-1 pri rezoluciji od 0.5um: a) NiTi kubna faza; b) Ni<sub>3</sub>Ti heksagonalna faza.

Sa druge strane, uzorak legure NiTi-2 se pokazao kao trofazni sistem zbog prisustva dodatne NiTi<sub>2</sub> kubične faze (Slika 17. b), pored očekivanih NiTi kubične (Slika 17. a) i Ni<sub>3</sub>Ti heksagonalne faze (Slika 17. c).

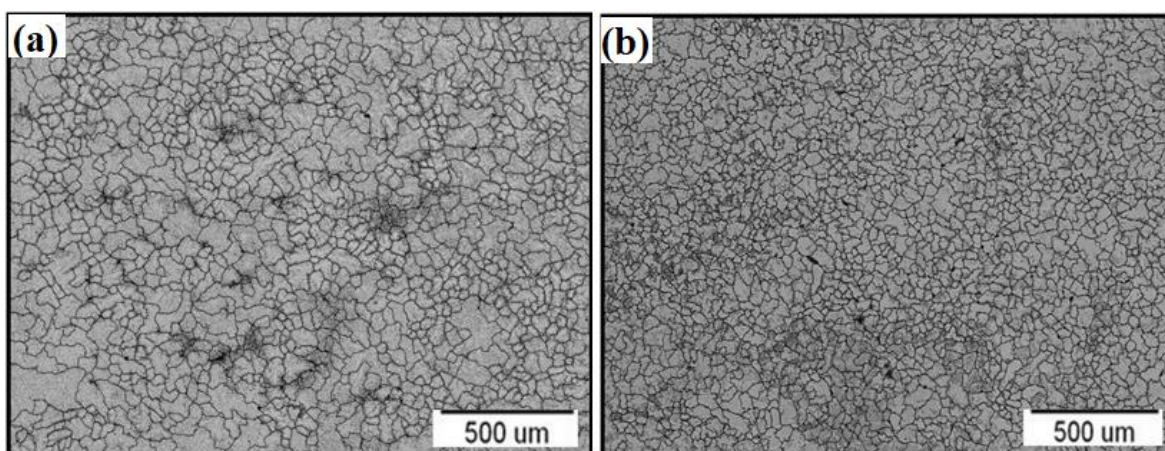


**Slika 17.** EDBS analiza uzorka NiTi-2 pri rezoluciji od 0.5 $\mu$ m: a) NiTi kubična faza; b) NiTi<sub>2</sub> kubična faza; c) Ni<sub>3</sub>Ti heksagonalna faza.



## 4.2. Pregled mikrostrukture uzoraka na metalografskom svetlosnom mikroskopu i analiza veličine zrna

Na slici 18 dat je prikaz mikrografije legura NiTi-1 i NiTi-2. Vizuelnim pregledom primećuje se razlika u veličini zrna testiranih uzoraka, pri čemu su zrna finije strukture zabeležena u NiTi-2 leguri (Slika 18. b), u odnosu na NiTi-1 (Slika 18. a).



**Slika 18.** Mikroskopski prikaz veličine zrna: a) Ni-Ti 1; b) Ni-Ti 2.

Rezultati mikrostrukturne ASTM analize su pokazali da je za leguru NiTi-1 broj zrna na  $1 \text{ mm}^2$  bio 4 puta manji u odnosu na NiTi-2 leguru. ASTM broj zrna se povećavao sa smanjenjem veličine zrna. Takođe, srednja veličina zrna bila je 2 i po puta manja za NiTi-2 leguru (Tabela 2).

**Tabela 2.** Mikrostrukturne karakteristike uzoraka NiTi-1 i NiTi-2 (indeks veličine zrna, broj zrna po  $\text{mm}^2$ , srednja veličina zrna).

Uzorak	Indeks veličine zrna G	Broj zrna po $\text{mm}^2$	Srednja veličina zrna (mm)
NiTi-1	5	256	0,0527
NiTi-2	7	1024	0,0234



### 4.3. Rezultati merenja makro i mikro tvrdoće

U tabeli 3 dat je prikaz rezultata dobijenih ispitivanjem tvrdoće i mikrotvrdoće uzoraka klasično (NiTi-1) i kontinualno livene legure (NiTi-2). T testom nezavisnih uzoraka ustanovljeno je da postoji statistički značajna razlika u tvrdoći između NiTi-1 i NiTi-2,  $p \geq 0,01$ .

Saglasno sa tim, NiTi-2 legura je pokazala statistički značajno veću mikrotvrdoću u odnosu na NiTi-1 leguru,  $p \geq 0,01$ .

**Tabela 3.** Vrednosti merenja tvdoće i mikrotvrdoće uzoraka NiTi-1 i NiTi-2.

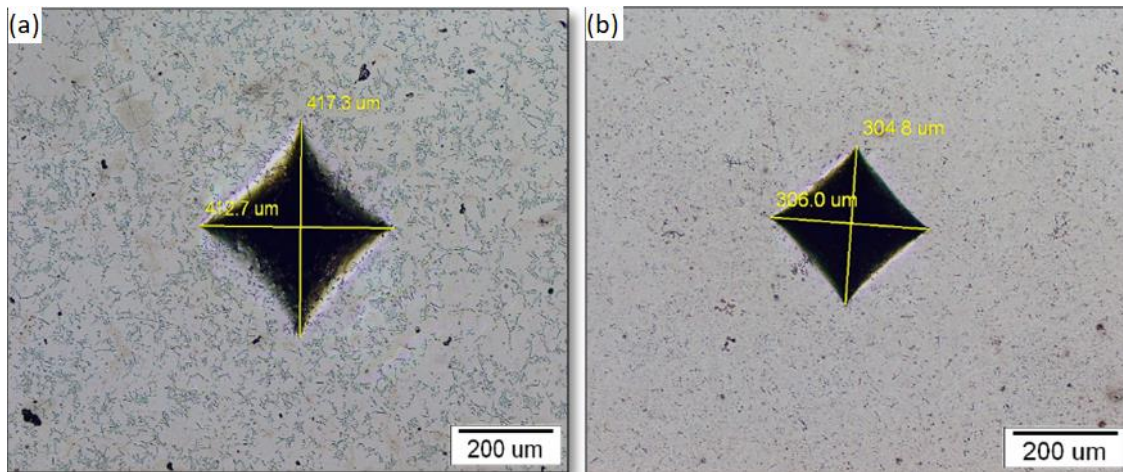
	<b>Tvrdoća HV5</b>	
	NiTi-1	NiTi-2
Prosečna vrednost	317	624
St. Dev.	23	20
Min	289	586
Max	357	644
N	8	8
	<b>Mikrotvrdoća HV0.05</b>	
Prosečna vrednost	275	630
St. Dev.	6	15
Min	268	613
Max	280	640
N	3	3

Napomena: N- Broj merenja

Prosečna vrednost razlike za merenja tvrdoće je iznosila -306,63. Eta kvadrat ( $\eta^2$ ) za veličinu uticaja iznosio je 0,07.

Prosečna vrednost razlike za mikrotvrdoću je bila -355, a eta kvadrat ( $\eta^2$ ) je iznosio 0,99.

Na slici 19 dat je mikrografski prikaz otiska kvadratne baze utiskivača kojim je vršeno opterećenje od 0,49 N za testiranje mikrotvrdoće. Za oba uzorka izmerena je dužina obe dijagonale pečata zaostalog u materijalu po završenom opterećenju.



**Slika 19.** Impresije utiskivača po završenom opterećenju: a) NiTi-1; b) NiTi-2.

## 4.4. Rezultati korozionih ispitivanja

### 4.4.1. ICP-OES analiza za imerzioni test u veštačkoj pljuvački

Tabela 5 prikazuje količinu oslobođenih metalnih jona iz uzoraka NiTi-1 i NiTi-2 nakon 7 dana potapanja u rastvor veštačke pljuvačke mereno ICP-OES analizom.

Dobijeni rezultati pokazuju da nije došlo do oslobađanja jona Fe iz NiTi-2 legure, iako je EDX analizom detektovano njegovo prisustvo u leguri. Koncentracija Ni jona je bila nešto veća u rastvoru sa uzorcima NiTi-1, u poređenju sa rastvorom sa uzorcima NiTi-2. Koncentracija Ti jona je bila ispod detekcionog limita za obe grupe.

**Tabela 5.** Količina oslobođenih metalnih jona ( $\mu\text{g cm}^2$ ) iz uzoraka NiTi-1 i NiTi-2 nakon 7 dana potapanja u rastvor veštačke pljuvačke pH 6,5 mereno ICP-OES analizom.

Uzorak		Ni	Ti
Nulti rastvor		<0.01	<0.01
Veštačka	NiTi-1	0.05	<0.01
pljuvačka	NiTi-2	0.04	<0.01

#### 4.4.2. ICP-OES analiza za imerzioni test u rastvoru mlečne kiseline

ICP analiza količine oslobođenih metalnih jona ( $\mu\text{g/cm}^2$ ) iz uzoraka NiTi-1 i NiTi-2 nakon 7 dana potapanja u rastvor mlečne kiseline pH 2,3 (Tabela 6), pokazala je da je koncentracija Ni jona bila dva puta veća u rastvoru sa konvencionalno livenom (NiTi-1) legurom, nego kod kontinualno livene (NiTi-2) legure, uprkos činjenici da je sadržaj nikla u leguri NiTi-2 bio veći. Što se tiče Ti jona, oslobađanje jona je bilo tri puta veće iz uzoraka NiTi-1 u poređenju sa NiTi-2.

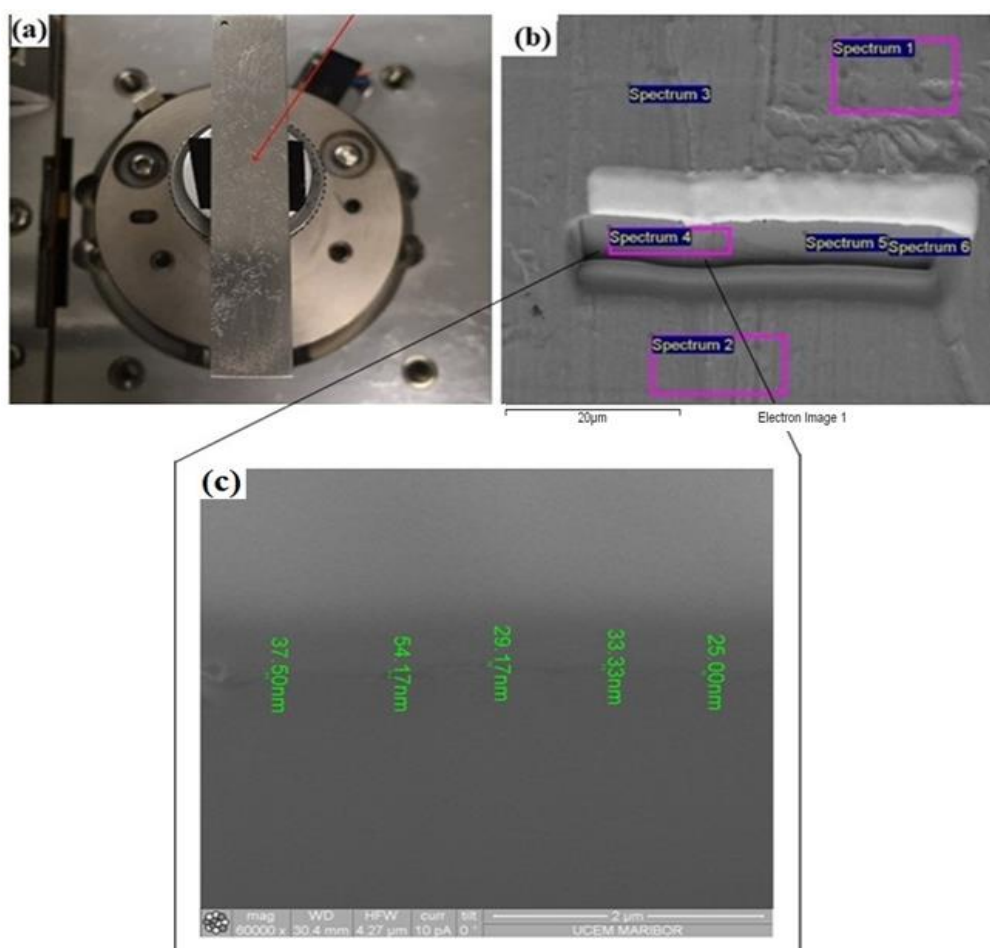
**Tabela 6.** Količina oslobođenih metalnih jona ( $\mu\text{g/cm}^2$ ) iz uzoraka NiTi-1 i NiTi-2 nakon 7 dana potapanja u rastvor mlečne kiseline pH 2,3 mereno ICP analizom.

Uzorak		Ni	Ti
Nulti rastvor		0.02	0.01
Mlečna	NiTi-1	2.33	2.17
Kiselina	NiTi-2	1.2	0.63

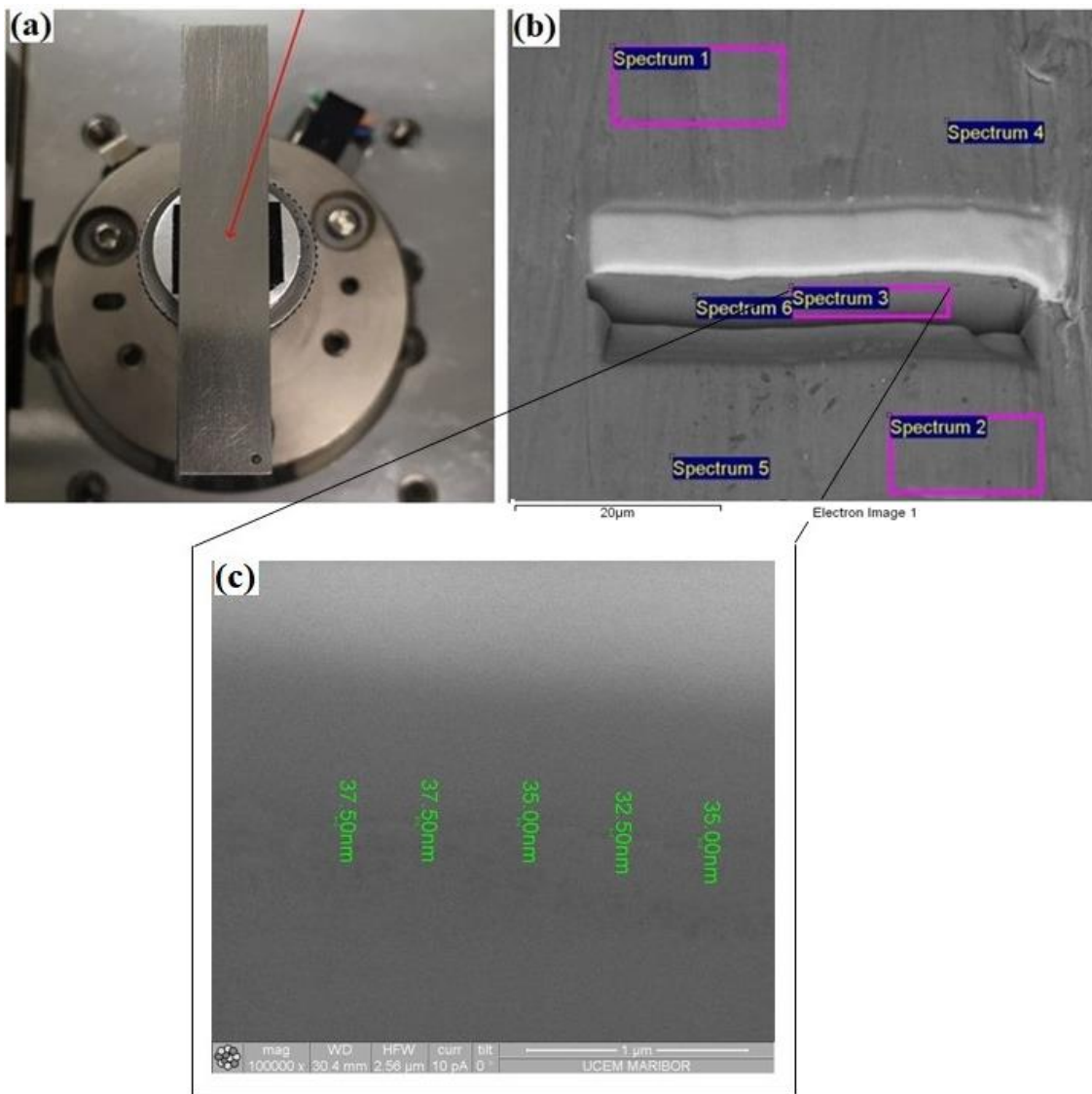
### 4.4.3. Karakteristike oksidnog sloja i produkata korozije na površini legura sa fokusiranim jonskim snopom

#### 4.4.3.1. Imerzioni test

Na slikama 20 i 21 prikazani su uzorci NiTi-1 i NiTi-2, nakon imerzionog testiranja u rastvoru mlečne kiseline, na kom je obeleženo mesto sečenja površine uzorka jonskim snopom i sprovedena analiza novoformiranog površinskog oksida.



**Slika 20.** Uzorak NiTi-1 nakon imerzionog testiranja u rastvoru mlečne kiseline: a) obeleženo mesto FIB poprečnog preseka; b) mapirano šest mernih tačaka jedne merne oblasti; c) softverski izmerena debljina oksidnog sloja jedne merne tačke.



**Slika 21.** Uzorak NiTi-2 nakon imerzionog testiranja u rastvoru mlečne kiseline: a) obeleženo mesto FIB poprečnog preseka; b) mapirano šest mernih tačaka jedne merne oblasti; c) softverski izmerena debljina oksidnog sloja jedne merne tačke.

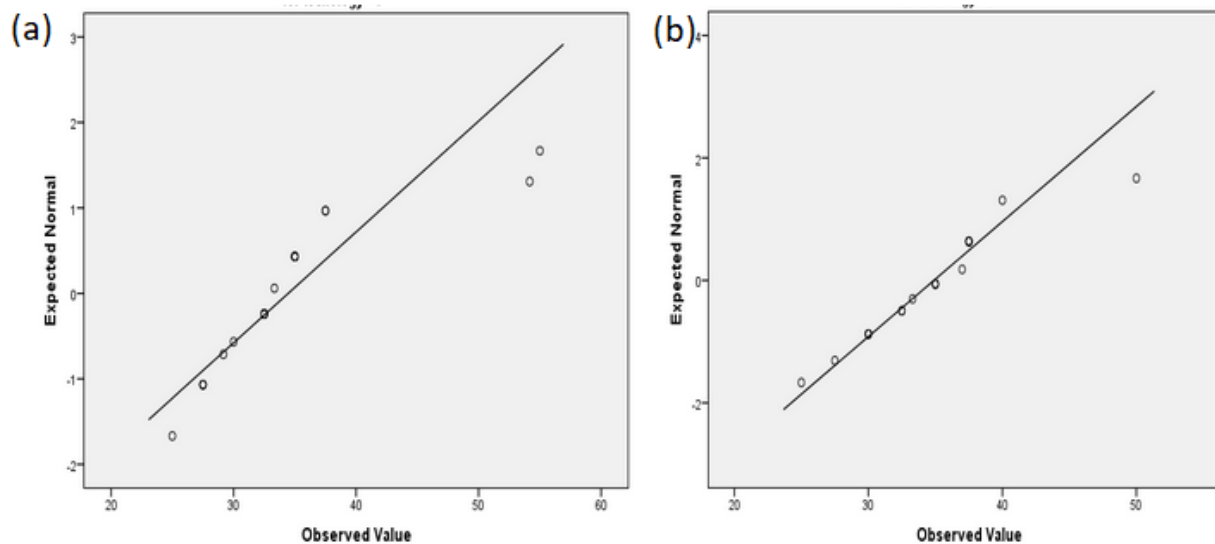
U tabeli 7 dati su rezultati merenja debljine oksidnog sloja formiranog na površinama uzoraka nakon ispitivanja statičkim testom uranjanja u rastvoru mlečne kiseline. Rezultati su prikazani kroz deskriptivne statističke podatke dobijene na dvadeset merenja. Uočava se da su debljine oksidnog sloja koji se formirao na oba uzorka približnih vrednosti. Međutim, analizom rasporele podataka dubine oksidnog sloja u odnosu na standardnu eksponencijalnu raspodelu (Slika 22) ustanovljeno je da NiTi-2

uzorak pokazuje homogenije podatke i manju standardnu devijaciju (SD=5,32) za razliku od NiTi-1 (SD=7,71).

**Tabela 7.** Vrednosti debljine oksidnog površinskog sloja nakon testa uranjanja uzoraka NiTi-1 i NiTi-2 u rastvoru mlečne kiseline.

	NiTi-1	NiTi-2
Prosečna vrednost	34.46	34.89
St. Dev.	7.71	5.32
Min	27.50	25.00
Max	55.00	50.00
N	20	20

Napomena: N=broj merenja



**Slika 22.** Q-Q plot grafikon debljine oksidnog sloja nakon testa uranjanja u rastvor mlečne kiseline: a) uzorak NiTi-1; b) uzorak NiTi-2.

Tabela 8 prikazuje maseni udeo elemenata na površini uzorka NiTi-1 na mestu sečenja oksida jonskim snopom za tri merne oblasti.

U okviru prve merne oblasti detektovano je prisustvo Ti i Ni u svim mernim tačkama. Procenat masenog udela Ni bio je veći nego Ti, iako je standardna devijacija bila ista za oba elementa. O<sub>2</sub> nije detektovan.

U drugoj i trećoj mernoj oblasti, pored Ni i Ti, u svim mernim tačkama je bio prisutan i O<sub>2</sub>. U obe oblasti Ni je bio zastupljeniji nego što je to bio slučaj za Ti. Razlika je u tome što su manje varijacije u masenom udelu Ni bile detektovane u trećoj mernoj oblasti. U prilog tome govore manje vrednosti standardne devijacije za ovaj element. Dodatno, u trećoj mernoj oblasti zabeležena je veća prosečna vrednost za O<sub>2</sub>, a manja za Ti, nego u drugoj.

**Tabela 8.** Maseni udeo elemenata na površini uzorka NiTi-1 na mestu FIB preseka nakon imerzionog testiranja (M.O.- merna oblast).

(u mas.%)	M.O. 1		M.O. 2			M.O. 3		
Spektar	Ti	Ni	O <sub>2</sub>	Ti	Ni	O <sub>2</sub>	Ti	Ni
Spektar 1	44.26	55.74	2.18	36.45	61.37	6.50	36.06	57.44
Spektar 2	42.48	57.52	2.77	36.64	60.59	2.48	39.97	57.55
Spektar 3	46.93	53.07	3.46	41.73	54.80	8.11	36.43	55.46
Spektar 4	43.66	56.34	2.48	38.14	59.38	5.07	43.79	51.14
Spektar 5	41.04	58.96	7.16	43.68	49.16	6.21	38.32	55.47
Spektar 6	41.63	58.37	6.53	43.67	49.80			
Spektar 7			6.11	36.94	56.95			
Prosečna vrednost	43.33	56.67	4.38	39.61	56.01	5.67	38.91	55.41
St.dev.	2.14	2.14	2.13	3.31	4.98	2.09	3.14	2.60
Min	41.04	53.07	2.18	36.46	49.16	2.48	36.06	51.14
Max	46.93	58.96	7.16	43.68	61.37	8.11	43.79	57.55

Rezultati kvalitativne elementarne analize oksidnog sloja uzorka NiTi-2, prikazani u tabeli 9, potvrdili su prisustvo Ti, Ni, O<sub>2</sub>, i Si.

U prvoj mernoj oblasti, u svih 6 mernih tačaka, ustanovljeno je samo prisustvo Ti i Ni, pri čemu je Ni bio zastupljeniji. Standardna devijacija je ista i visoka za oba elementa.

U drugoj mernoj oblasti, u svih 6 mernih tačaka su detektovani Ti, Ni i O<sub>2</sub>. Pored ovih elemenata, u jednoj tački (spektar 2) uočeno je prisustvo Si. Ukoliko se posmatra pojedinačan sadržaj elemenata, u tački gde je prisutan Si, ustanovljen je najveći procenat Ti. U tački gde je najmanji sadržaj O<sub>2</sub> (spektar 6), najveći je sadržaj Ni.

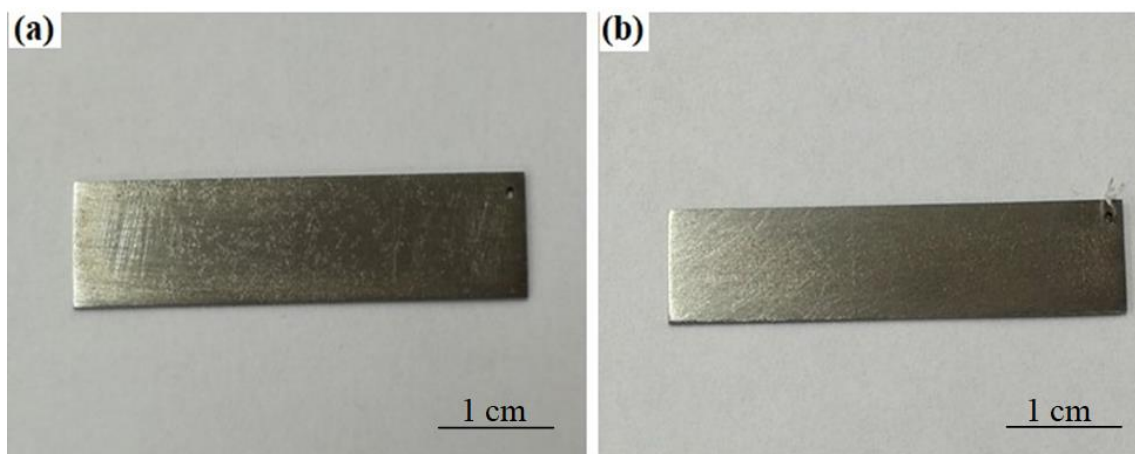
U trećoj mernoj oblasti, u svim mernim tačkama su bili prisutni Ti, Ni i O<sub>2</sub>. Ti je bio zastupljeniji od Ni. Standardna devijacija merenja je najmanja za O<sub>2</sub>, a najveća za Ni. Što se tiče standardne devijacije merenja Ti, ona je bliska po vrednosti O<sub>2</sub>.

**Tabela 9.** Maseni udeo elemenata na površini uzorka NiTi-2 na mestu FIB preseka nakon imerzionog testiranja (M.O.- merna oblast).

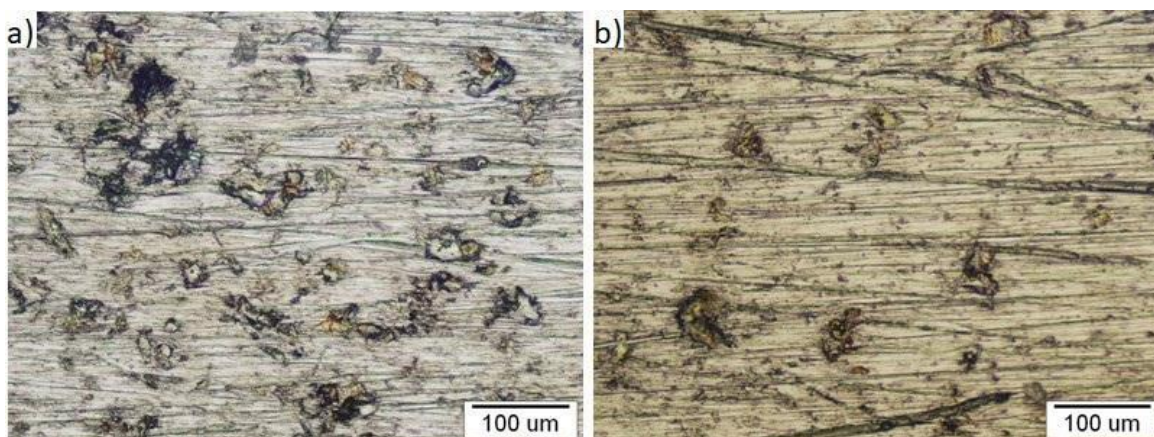
(u mas.%)	M.O. 1		M.O. 2				M.O. 3		
Spektar	Ti	Ni	O <sub>2</sub>	Si	Ti	Ni	O <sub>2</sub>	Ti	Ni
Spektar 1	40.17	59.83	7.25		35.88	56.86	11.06	37.92	51.02
Spektar 2	48.31	51.69	6.52	7.91	39.20	46.37	4.05	43.28	52.67
Spektar 3	35.72	64.28	8.98		30.97	60.04	9.81	43.69	46.50
Spektar 4	39.31	60.69	6.87		38.30	54.83	9.18	43.82	47.00
Spektar 5	47.21	52.79	6.01		33.06	60.93	5.65	37.29	57.06
Spektar 6	42.54	57.46	2.91		34.88	62.21	8.33	41.55	50.12
Prosečna vrednost	42.21	57.79					8.01	41.26	50.73
St.dev	4.84	4.84					2.66	2.95	3.90
Min	35.72	51.69	2.91	7.91	30.97	46.37	4.05	37.29	46.50
Max	48.31	64.28	8.98	7.91	39.20	62.21	11.06	43.82	57.06

Vizuelna metoda ocene razvoja korozije, izvršena markosopskim i mikroskopskim pregledom površine tretiranih uzoraka, je prikazana na slikama 23 i 24. Snimci zabeleženi optičkim metalografskim mikroskopom pokazali su lokalizovana žarišta različitog kružnog preseka na površini oba uzoraka što odgovara rupičastoj tj. tačkastoj (eng. *pitting*) koroziji.





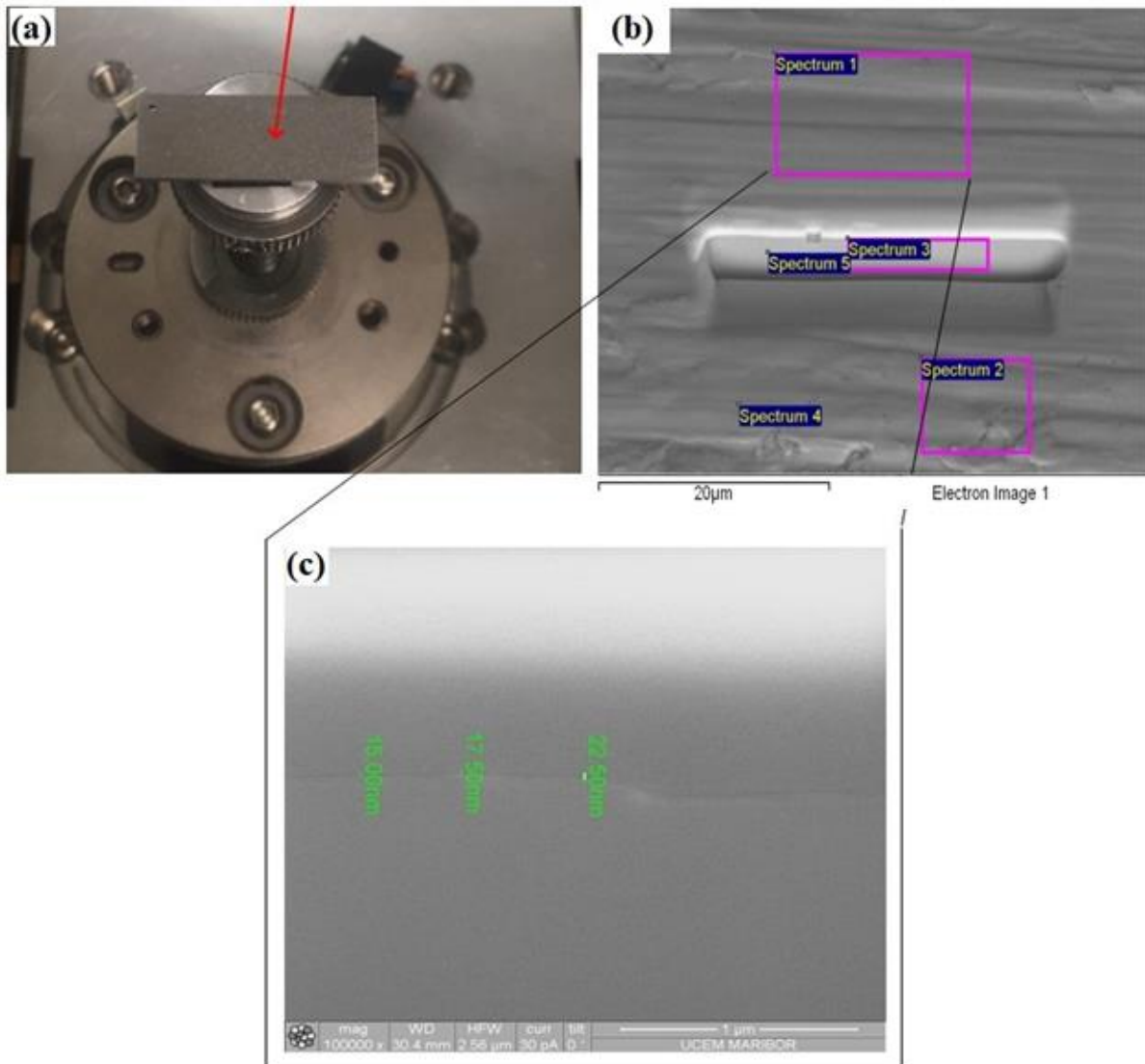
**Slika 23.** Makroskopski izgled uzoraka nakon statičkog testa uranjanja u rastvor mlečne kiseline: a) NiTi-1; b) NiTi-2.



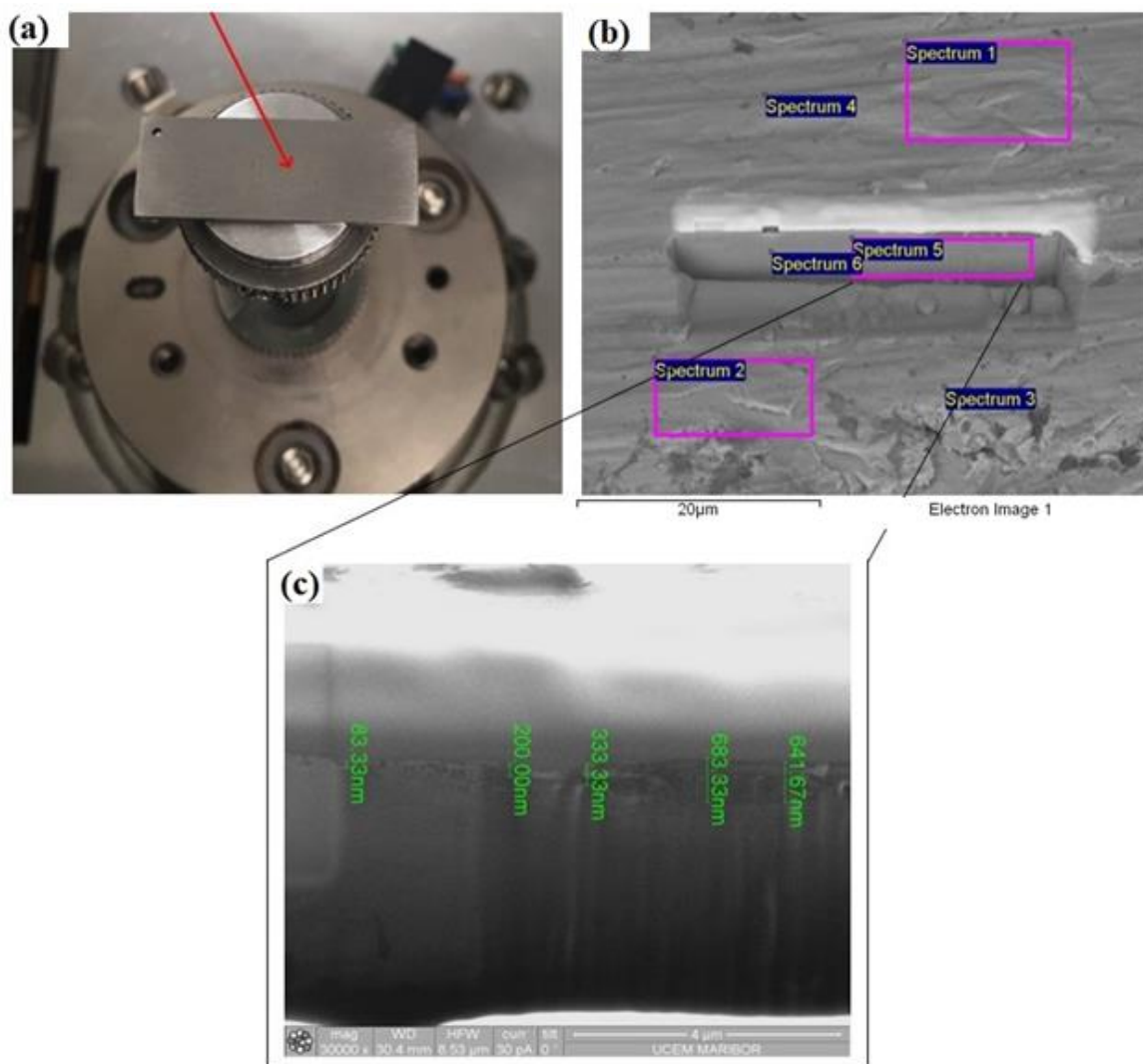
**Slika 24.** Optičke mikrografije uzoraka nakon statičkog testa uranjanja u rastvor mlečne kiseline: a) NiTi-1; b) NiTi-2.

### 4.4.3.2.Sulfidni test

Na slikama 25 i 26 prikazani su uzorci NiTi-1 i NiTi-2 po završenom tretmanu u rastvoru natrijum sulfida na kojima je sprovedena analiza debljine novoformiranog površinskog sloja i njegova elementarna analiza (FIB/EDX).



**Slika 25.** Uzorak NiTi-1 nakon sulfidnog testiranja: a) obeleženo mesto FIB poprečnog preseka; b) mapirano pet mernih tačaka jedne merne oblasti; c) softverski izmerena debljina oksidnog sloja jedne merne tačke.

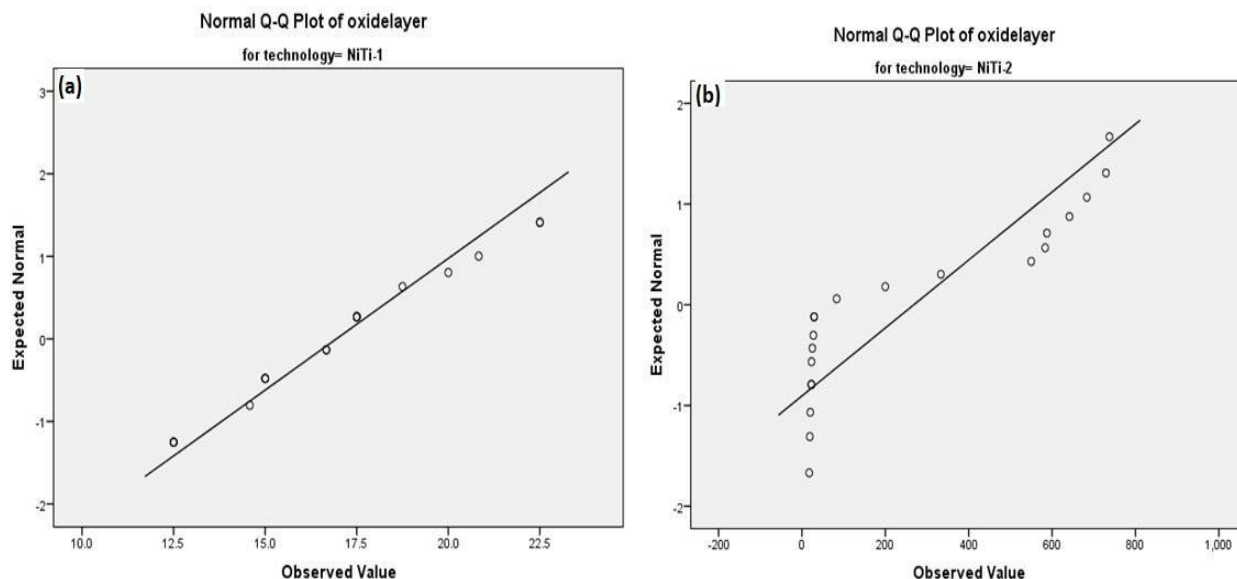


**Slika 26.** Uzorak NiTi-2 nakon sulfidnog testiranja: (a) obeleženo mesto FIB poprečnog preseka; (b) mapirano šest mernih tačaka jedne merne oblasti; (c) softverski izmerena debljina oksidnog sloja jedne merne tačke.

Rezultati merenja debljine novoformiranog oksida na uzorcima nakon sulfidnog testiranja pokazuju da je na površini NiTi-2 uzorka formiran 15 puta deblji oksidni sloj nego na NiTi-1 uzorcima (Tabela 10). Dodatno, analizom rasporele podataka (Slika 27), za vrednosti dubine oksidnog sloja na oba uzorka, ustanovljeno je da NiTi-1 uzorak pokazuje homogenije podatke i manju standardnu devijaciju ( $SD=3,13$ ) za razliku od NiTi-2 uzorka ( $SD=296,22$ ).

**Tabela 10.** Vrednosti deskriptivne statistike za oksidni površinski sloj nakon testa uranjanja uzoraka NiTi-1 i NiTi-2 u rastvoru natrijum-sulfida.

	NiTi-1	NiTi-2
Prosečna vrednost	16.95	268.21
St. Dev.	3.13	296.22
Min	12.50	17.50
Max	22.50	737.50
N	18	20



**Slika 27.** Q-Q plot grafikon debljine oksidnog sloja nakon sulfidnog testa: a) uzorak NiTi-1; b) uzorak NiTi-2.

Rezultati EDX analize na mestu FIB preseka uzorka NiTi-1 nakon sulfidnog testiranja, prikazani u tabeli 11, pokazali su prisustvo O<sub>2</sub>, Ti, Ni i Si na površini uzorka.

U prvoj mernoj oblasti, Ti i Ni su detektovani u svim mernim tačkama. Prisustvo O<sub>2</sub> je zabeleženo u tri tačke, a Si u dve tačke. Takođe, uočava se da u tačkama gde je prisutan O<sub>2</sub> nema prisustva Si i suprotno. U tački gde je bio izmeren najveći sadržaj O<sub>2</sub>, sadržaj Ti bio je najmanji.

Sadržaj Si je najveći u spektru gde je najveći sadržaj Ti. Ukoliko se posmatraju elementi koji su prisutni u svim mernim tačkama, sadržaj Ni je veći od Ti.

U drugim dvema mernim oblastima ustanovljeno je prisustvo O<sub>2</sub>, Ti i Ni u svim mernim tačkama.

U drugoj mernoj oblasti, posmatranjem sadržaja elemenata u pojedinim mernim tačkama, tj. spektrima, uočava se da je sadržaj O<sub>2</sub> bio najmanji tamo gde je najveći sadržaj Ni. Na bazi ovog zapažanja, očekuje se da je u spektru gde je najveći sadržaj O<sub>2</sub> najmanji sadržaj Ni, ali to nije slučaj. Najmanji sadržaj Ni detektovan je u spektru gde je najveći sadržaj Ti. Što se tiče standardne devijacije merenja, najmanja je za Ti, a najveća za Ni. Udeo Ni veći je od Ti u svim mernim tačkama.

U trećoj mernoj oblasti prosečna vrednost sadržaja O<sub>2</sub> je manja nego u drugoj mernoj oblasti, Ti veća, a sadržaj Ni je približan. Očekivano, Ni je zastupljeniji od Ti u ovoj mernoj oblasti. Standardna devijacija merenja svih elemenata je relativno slična. Uočava se da je u spektru gde je najveći sadržaj O<sub>2</sub>, najmanji sadržaj Ti.

**Tabela 11.** Maseni udeo elemenata na površini uzorka NiTi-1 na mestu FIB preseka nakon sulfidnog testiranja (M.O.- merna oblast).

(u mas.%)	M.O. 1				M.O. 2			M.O. 3		
Spektar	O <sub>2</sub>	Si	Ti	Ni	O <sub>2</sub>	Ti	Ni	O <sub>2</sub>	Ti	Ni
Spektar 1		2.27	45.81	54.19	10.10	36.56	53.34	5.05	39.94	55.01
Spektar 2	3.57		42.69	51.47	4.82	36.88	58.30	5.77	38.32	55.91
Spektar 3	7.94		37.67	54.39	5.82	36.37	57.81	8.09	36.81	55.10
Spektar 4		1.15	44.30	54.56	8.58	38.16	53.25	7.88	40.13	51.99
Spektar 5	6.70		39.50	53.80	9.44	38.71	51.85	6.44	39.20	54.36
Prosečna vrednost					7.75	37.34	54.91	6.65	38.88	54.48
St.dev.					2.31	1.04	2.93	1.32	1.36	1.49
Min	3.57	1.15	37.67	51.47	4.82	36.37	51.85	5.05	36.81	51.99
Max	7.94	2.27	45.81	54.56	10.10	38.71	58.30	8.09	40.13	55.91

Rezultati EDX analize sprovedene na uzorku NiTi-2 (Tabela 12) pokazuju da je u prvoj mernoj oblasti, u svih 6 mernih tačaka detektovano prisustvo Ti i Ni. Ipak, O<sub>2</sub> je zabeležen u dve merne tačke (spektar 5 i 6). Ukoliko se posmatraju pojedinačni elementi, u tački gde je najveći procenat O<sub>2</sub> (spektar 5), najmanji je procenat Ni.

U drugoj i trećoj mernoj oblasti, u svih 6 mernih tačaka uočeno je prisustvo O<sub>2</sub>, pored Ni i Ti.

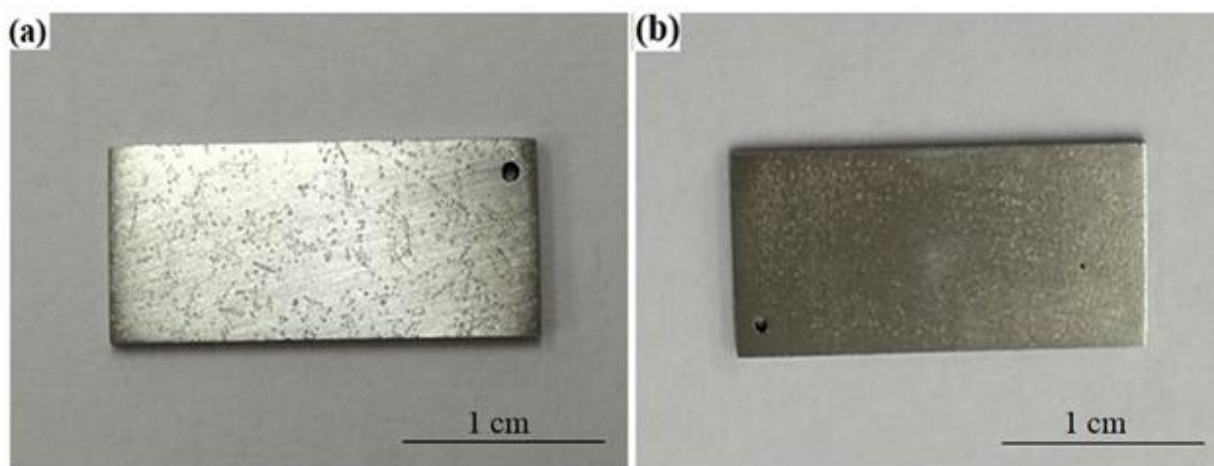
U drugoj mernoj oblasti, prosečan sadržaj Ti bio je veći od Ni, iako su zabeležene visoke standardne devijacije za oba elementa.

U trećoj mernoj oblasti prosečna vrednost Ni je bila veća od Ti. Standardne devijacije rezultata merenja su približne za O<sub>2</sub>, Ti i Ni. Ukoliko posmatramo pojedinačne elemente, u tački gde je najmanji procenat O<sub>2</sub> (spektar 6), najveći je procenat Ni. U tački gde je najveći procenat O<sub>2</sub> (spektar 4), detektovan je najmanji procenat Ti.

**Tabela 12.** Maseni udeo elemenata na površini uzorka NiTi-2 na mestu FIB preseka nakon sulfidnog testiranja (M.O. – merna oblast).

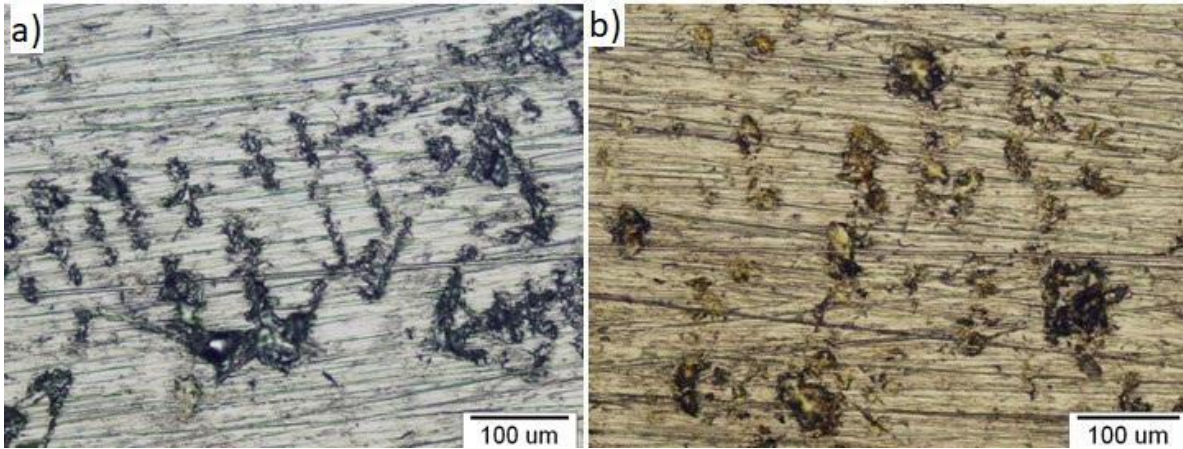
(u mas.%)	M.O. 1			M.O. 2			M.O. 3		
Spektar	O <sub>2</sub>	Ti	Ni	O <sub>2</sub>	Ti	Ni	O <sub>2</sub>	Ti	Ni
Spektar 1		44.53	55.47	14.04	37.57	48.39	9.68	37.36	52.97
Spektar 2		49.44	50.56	13.18	63.20	23.61	14.29	36.01	49.70
Spektar 3		35.95	64.05	18.99	55.16	25.85	8.84	45.26	45.90
Spektar 4		45.47	54.53	19.43	55.40	25.17	18.98	29.43	51.59
Spektar 5	10.61	44.06	45.33	8.55	36.53	54.92	5.24	36.86	57.90
Spektar 6	5.58	37.73	56.68	7.95	40.32	51.73	4.20	35.95	59.84
Prosečna vrednost				13.69	48.03	38.28	10.20	36.81	52.98
St.dev.				4.92	11.28	14.84	5.59	5.05	5.18
Min	5.58	35.95	45.33	7.95	36.53	23.61	4.20	29.43	45.90
Max	10.61	49.44	64.05	19.43	63.20	54.92	18.98	45.26	59.84

Vizuelnim pregledom površine tretiranih uzoraka (Slike 28 i 29) uočavaju se lokalizovani defekti nastali usled prodora korozionog reagensa baziranog na natrijum-sulfidu i vodi. Prisutni defekti su uniformno raspoređeni celom površinom uzoraka.



**Slika 28.** Makroskopski izgled uzoraka nakon sulfidnog testa: a) NiTi-1; b) NiTi-2.



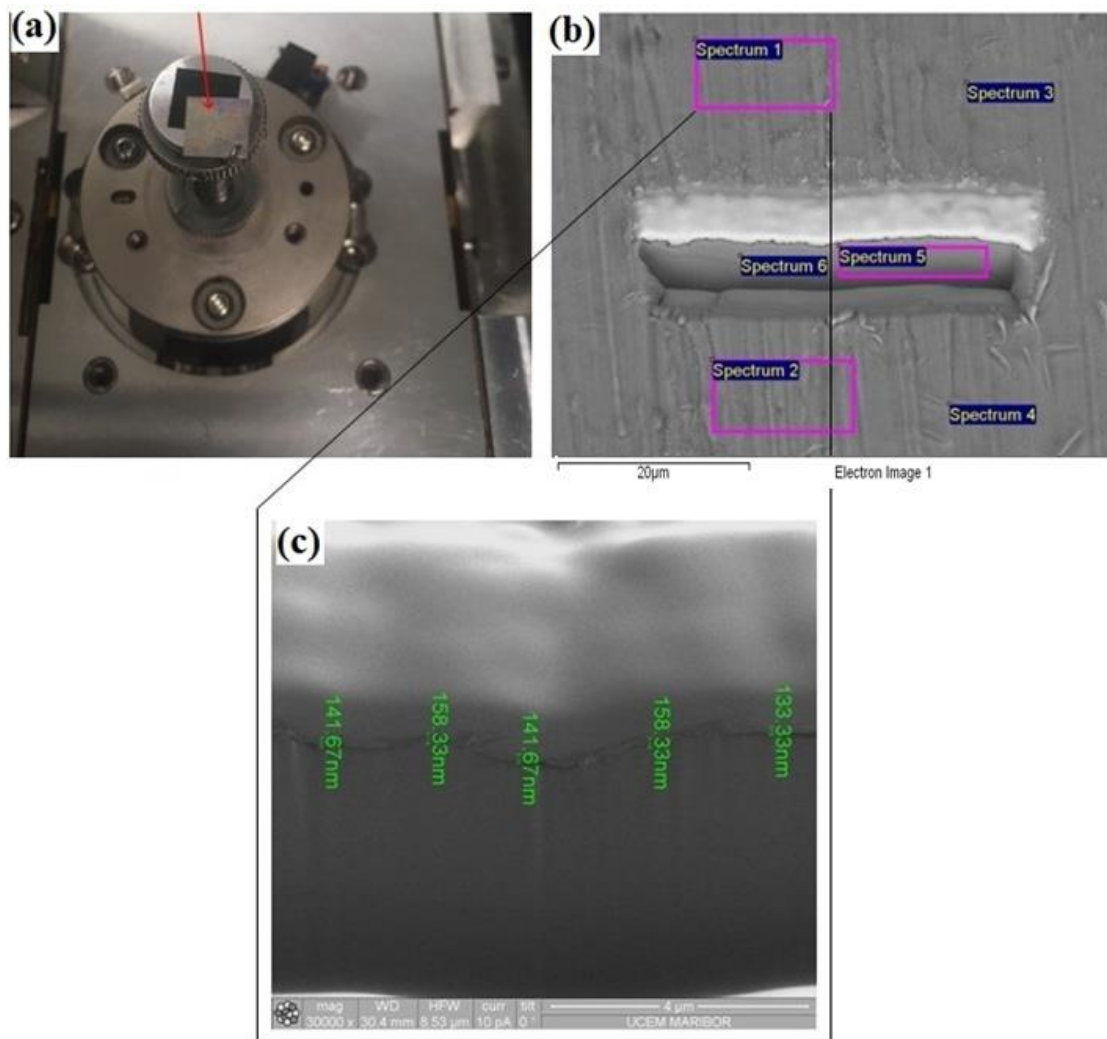


**Slika 29.** Optičke mikrografije uzoraka nakon sulfidnog testa: a) NiTi-1; b) NiTi-2.

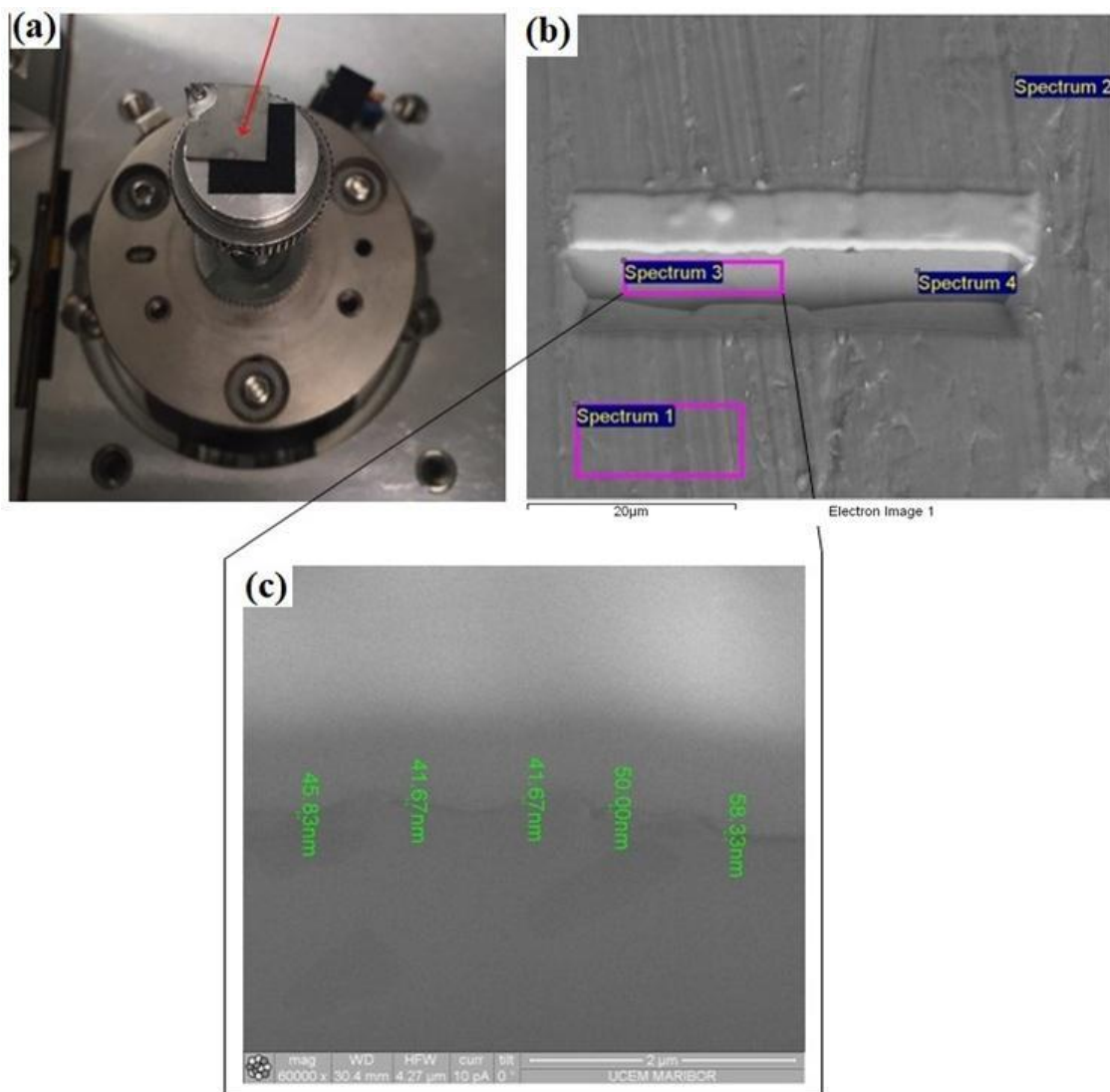


### 4.4.3.3. Polarizacioni test

Na slikama 30 i 31 prikazan je izgled klasično i kontinualno livenih uzorka nakon polarizacionog testiranja, sa obeleženim mestom FIB preseka.



**Slika 30.** Uzorak NiTi-1 nakon polarizacionog testiranja: a) obeleženo mesto FIB poprečnog preseka; b) mapirano šest mernih tačaka jedne merne oblasti; c) softverski izmerena debljina oksidnog sloja jedne merne tačke.

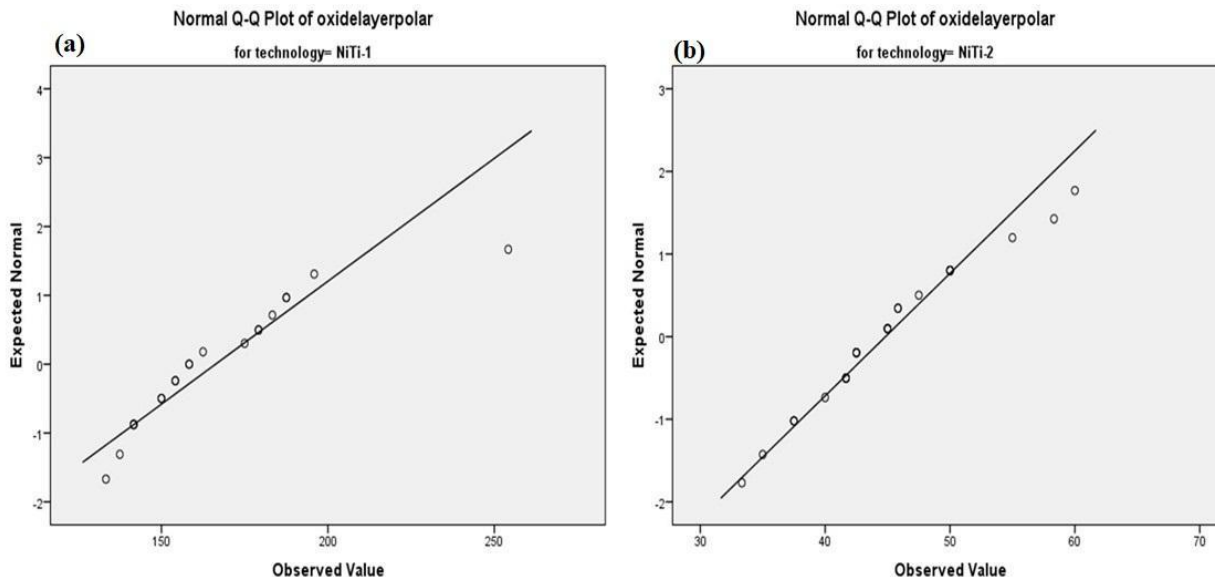


**Slika 31.** Uzorak NiTi-2 nakon polarizacionog testiranja: a) obeleženo mesto FIB poprečnog preseka; b) mapirano četiri merne tačke jedne merne oblasti; c) softverski izmerena debljina oksidnog sloja jedne merne tačke.

Na osnovu dobijenih rezultata FIB merenja, stanovljeno je da se na površini NiTi-1 uzorka formirao 3 i po puta deblji oksid nego na NiTi-2 uzorku (Tabela 13). Analizom distribucije podataka koji predstavljaju numerički izražene vrednosti dubine oksidnog sloja za obe grupe uzoraka ustanovljeno je da NiTi-2 uzorak pokazuje homogenije podatke i manju standardnu devijaciju ( $SD=6,74$ ) za razliku od NiTi-1 ( $SD=30$ ) (Slika 32).

**Tabela 13.** Vrednosti deskriptivne statistike za oksidni površinski sloj nakon polarizacionog testa za uzorke NiTi-1 i NiTi-2

	NiTi-1	NiTi-2
Prosečna vrednost	161.25	44.83
St. Dev.	30	6.74
Min	133.33	33.33
Max	254.17	60
N	20	25



**Slika 32.** Q-Q plot grafikon debljine oksidnog sloja nakon polarizacionog testa: a) uzorak NiTi-1; b) uzorak NiTi-2.

U tabeli 14 prikazani su rezultati EDX analize uzorka NiTi-1 koji su predstavljeni na slici 30.

Uočava se da su u svakoj mernoj oblasti, u svim tačkama, bili prisutni isti elementi - O<sub>2</sub>, Ni i Ti.

U prvoj mernoj oblasti zastupljenost Ni je bila veća od Ti, sa pet puta većom vrednosti standardne devijacije. Vrednost standardne devijacije za O<sub>2</sub> je bila bliska vrednosti za Ni.

Što se tiče druge i treće merne oblasti, detektovana je ista vrednost O<sub>2</sub>. U obe oblasti sadržaj Ni je bio veći od Ti. Takođe, zabeležene su veće vrednosti standardne devijacije za Ni.

**Tabela 14.** Maseni udeo elemenata na površini uzorka NiTi-1 na mestu FIB nakon polarizacionog testiranja (M.O. – merne oblasti).

(u mas.%)	M.O. 1			M.O. 2			M.O. 3		
Spektar	O <sub>2</sub>	Ti	Ni	O <sub>2</sub>	Ti	Ni	O <sub>2</sub>	Ti	Ni
Spektar 1	21.07	39.27	39.66	7.18	42.26	50.56	5.69	38.99	55.32
Spektar 2	18.65	39.97	41.38	6.07	35.76	58.17	6.63	41.39	51.97
Spektar 3	18.89	40.69	40.42	6.91	39.10	53.99	4.47	40.99	54.54
Spektar 4	15.51	38.69	45.80	6.57	37.81	55.62	7.38	42.68	49.94
Spektar 5	8.06	41.84	50.09	7.34	39.88	52.77	7.43	42.46	50.10
Spektar 6	7.05	39.02	53.93	7.50	38.66	53.83	9.65	39.33	51.03
Prosečna vrednost	14.87	39.91	45.22	6.93	38.91	54.16	6.88	40.97	52.15
St.dev.	5.95	1.19	5.81	0.53	2.17	2.58	1.76	1.55	2.29
Max	21.07	41.84	53.93	7.50	42.26	58.17	9.65	42.68	55.32
Min	7.05	38.69	39.66	6.07	35.76	50.56	4.47	38.99	49.94

Rezultati EDX analize sprovedene na mestu FIB preseka uzorka NiTi-2 prikazani su u tabeli 15.

Rezultati merenja prve merne oblasti su pokazali da su u svim mernim tačkama prisutni Ti i Ni, dok je prisustvo O<sub>2</sub> detektovano u jednoj mernoj tački (spektar 2). U toj mernoj tački je najmanji procenat Ni.

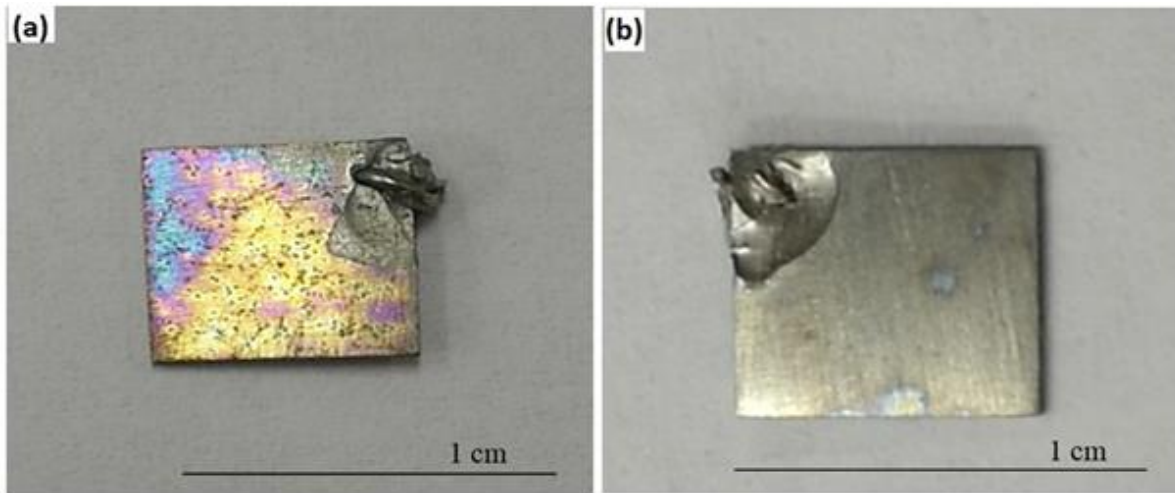
U drugoj mernoj oblasti su dobijeni drugačiji rezultati. Naime, u ovoj mernoj oblasti, u svim mernim tačkama su bili detektovani O<sub>2</sub>, Ti i Ni. Pored ovih elemenata, u po jednoj mernoj tački su bili prisutni C (spektar 1) i Cl (spektar 3). Rezultati su pokazali, da u tački gde je bio prisutan C (spektar 1), najmanje su bile količine Ti i Ni. U tački gde je prisutan Cl (spektar 3), tu je detektovan O<sub>2</sub> u najmanjoj količini, kao i nizak sadržaj Ti, a visok Ni.

Rezultati merenja u trećoj mernoj oblasti pokazali su takođe prisustvo O<sub>2</sub>, Ti i Ni u svim mernim tačkama. Najmanja standardna devijacija merenja je bila za Ti, a najveća za Ni. Posmatranjem pojedinačnih elemenata, uočava se da je u tački gde je najmanji udeo O<sub>2</sub> (spektar 2), najveći udeo Ni, a tamo gde je najveći udeo O<sub>2</sub> (spektar 3), najmanji udeo Ti.

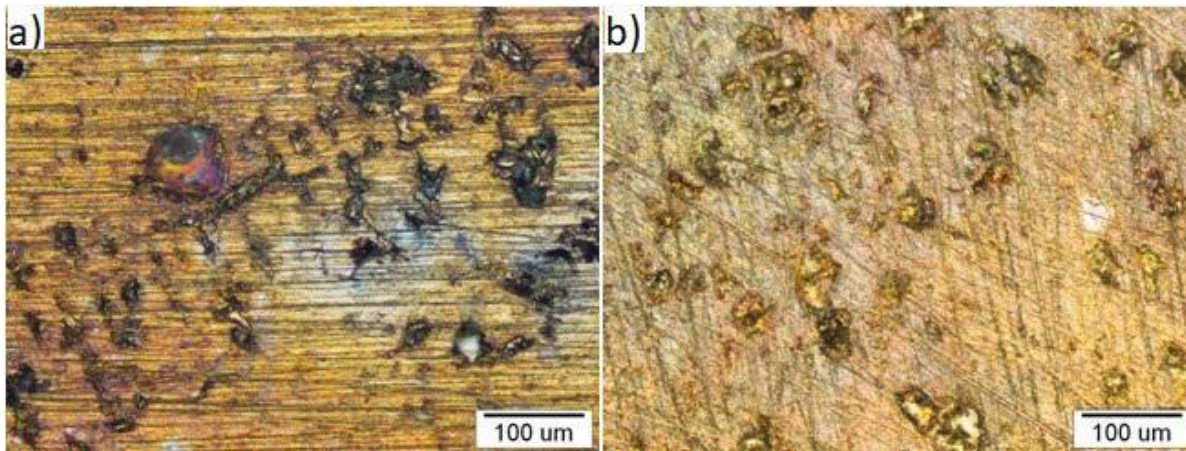
**Tabela 15.** Maseni udeo elemenata na površini uzorka NiTi-2 na mestu FIB  
nakon polarizacionog testiranja (M.O. – merna oblast).

(u mas.%)	M.O. 1			M.O. 2					M.O. 3		
Spektar	O <sub>2</sub>	Ti	Ni	C	O <sub>2</sub>	Cl	Ti	Ni	O <sub>2</sub>	Ti	Ni
Spektar 1		44.32	55.68	11.25	8.81		32.58	47.36	10.81	34.92	54.28
Spektar 2	12.25	41.53	46.21		5.98		34.60	59.42	4.80	34.35	60.85
Spektar 3		41.28	58.72		4.75	4.08	32.61	58.56	12.60	38.23	49.17
Spektar 4		41.25	58.75		10.01		40.78	49.21	12.57	35.78	51.66
Prosečna vrednost									10.19	35.82	53.99
St.dev									3.69	1.71	5.03
Max	12.25	44.32	58.75	11.25	10.01	4.08	40.78	59.42	12.60	38.23	60.85
Min	12.25	41.25	46.21	11.25	4.75	4.08	32.58	47.36	4.80	34.35	49.17

Markosopskim i mikroskopskim pregledom uočava se da je NiTi-1 uzorak više polarisan (Slike 33 i 34).



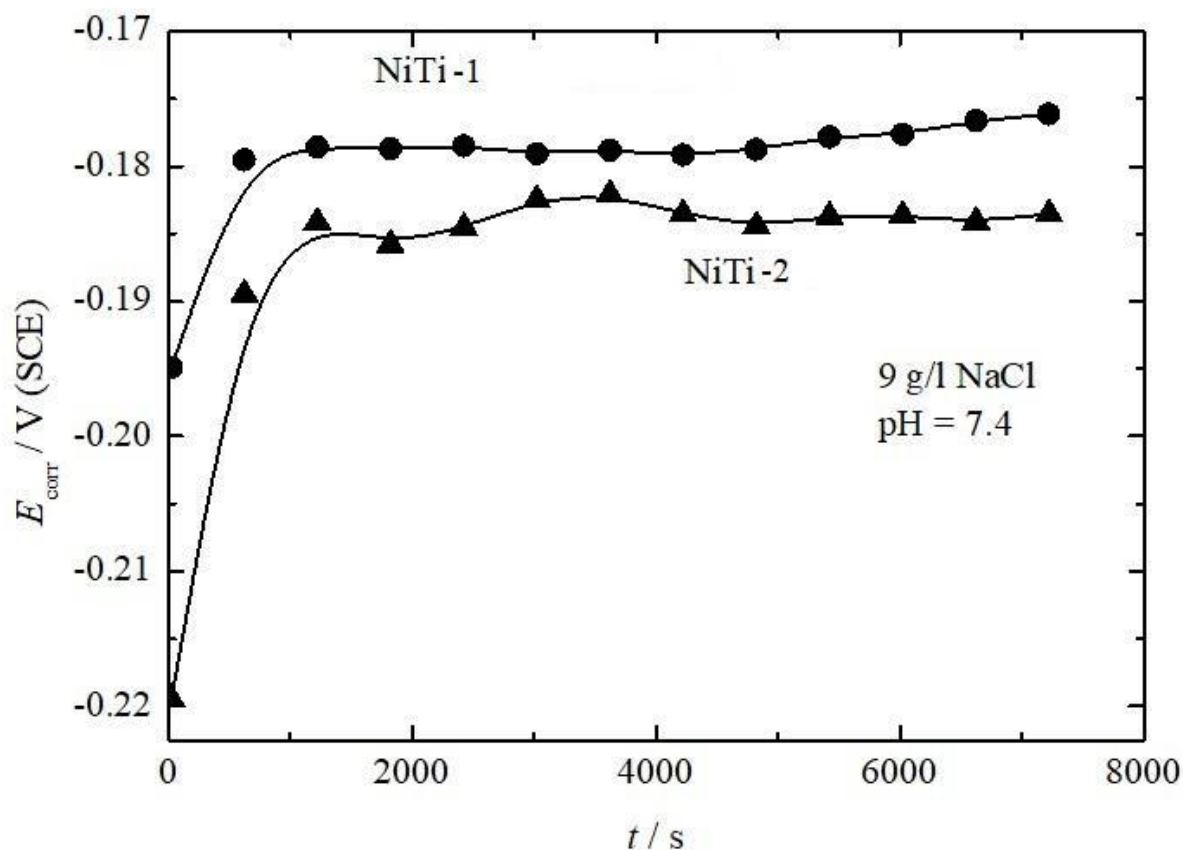
**Slika 33.** Makroskopski izgled uzoraka nakon poarizacionog testa: a) NiTi-1; b) NiTi-2.



**Slika 34.** Optička mikrografija uzoraka nakon polarizacionih ispitivanja: a) NiTi-1; b) NiTi-2.

#### 4.4.4. Rezultati ispitivanja korozionog potencijala u okviru elektrohemijskog testiranja za uzorke NiTi-1 i NiTi-2

Na slici 35 prikazana je zavisnost korozionog potencijala od vremena u rastvoru 0,9% NaCl, pH = 7,4, u atmosferi Ar. Uočava se da je potencijal obe legure pozitivirao u funkciji vremena. Ipak, NiTi-1 legura koja je bila podvrgnuta termičkoj obradi, dostigla je približno konstantnu negativnu vrednost  $E_{kor} = -0.18$  V, a legura NiTi-2, bez termičke obrade, uspostavila je negativnu vrednost korozionog potencijala od -0.19 V za približno isto vreme.

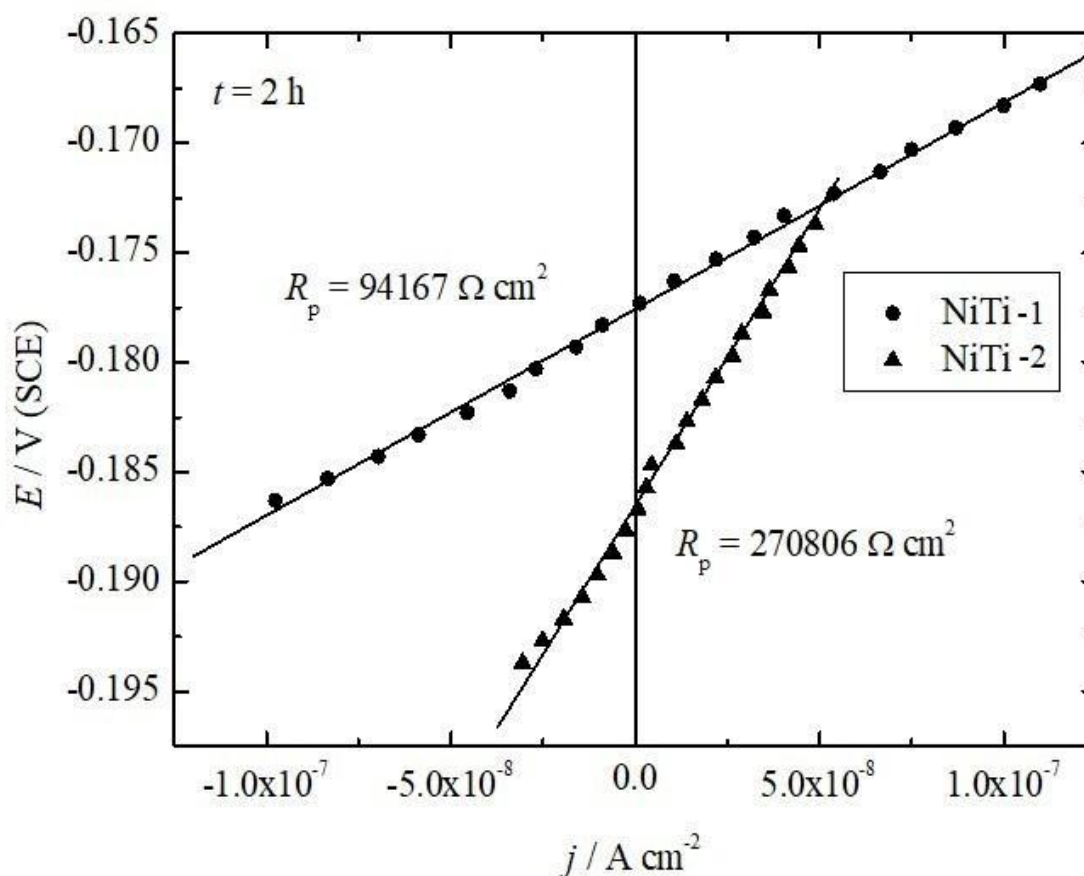


Slika 35. Zavisnost korozionog potencijala od vremena za legure NiTi-1 i NiTi-2.



## Polarizaciona otpornost

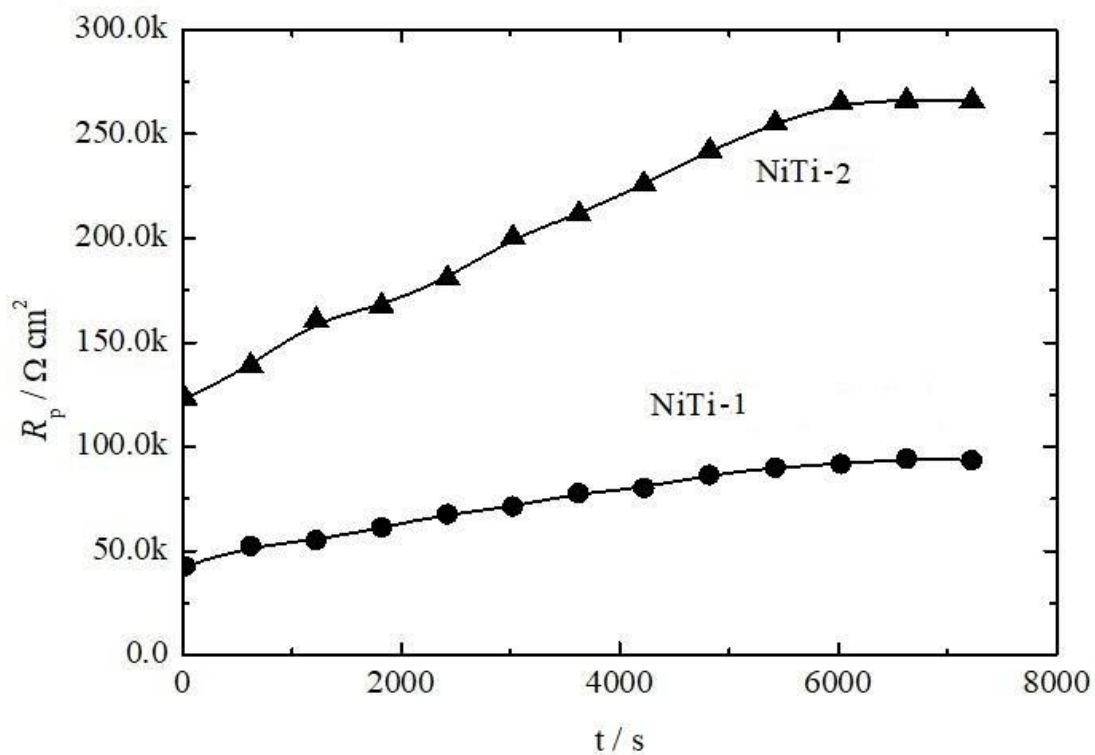
Kroz Evansov dijagram na slici 36 prikazana je oblast linearne polarizacije za ispitivane uzorke, na bazi čega je softverski određen polarizacioni otpor tokom vremena (Slika 37). Na osnovu rezultata merenja (Slika 36) utvrđeno je da NiTi-2 ima za oko 3 puta bolju korozionu stabilnost od NiTi-1 uzorka.



**Slika 36.** Oblast linearne polarizacije za uzorke NiTi-1 i NiTi-2.

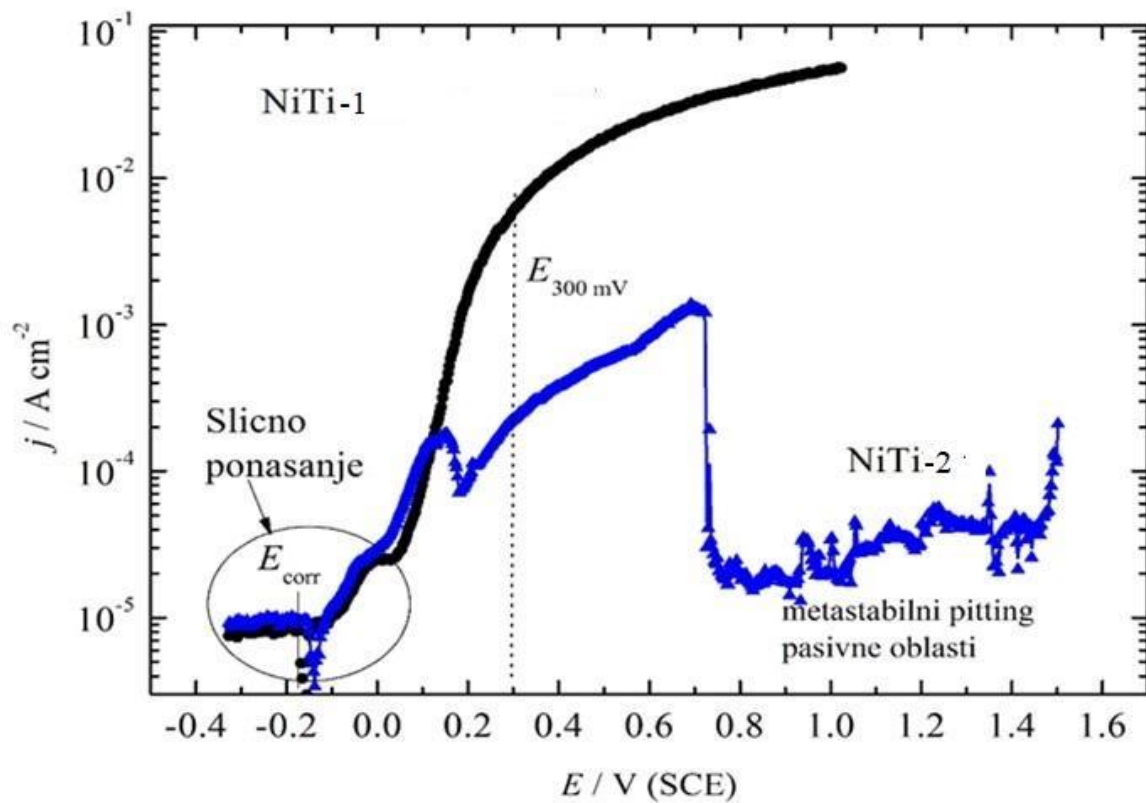
Na slici 37 prikazana je zavisnost polarizacione otpornosti od vremena. Sredina u kojoj su se nalazili uzorci je bila 0,9% NaCl, pH = 7,4, a atmosfera je Ar. Vrednost ostvarene polarizacione otpornosti ( $R_p$ ) za NiTi-1 je bila oko  $100\text{ k}\Omega\text{ cm}^2$  a za NiTi-2 oko  $250\text{ k}\Omega\text{ cm}^2$ .





**Slika 37.** Zavisnost polarizacione otpornosti  $R_p$  od vremena.

Slika 38 prikazuje krive potenciodinamičke polarizacije legura, pri čemu se uočava da nakon uspostavljanja ravnoteznog potencijala ( $E_{kor}$ ) dolazi do porasta gustine anodne struje što ukazuje na rastvaranje obe legure. Vrednost  $E_{pit}$  iznosi 0,7 V.



**Slika 38.** Anodne polarizacione krive za NiTi-1 i NiTi-2 u 0,9% NaCl, pH = 7,4, atmosfera Ar,  $\nu = 1$  mV s<sup>-1</sup>.

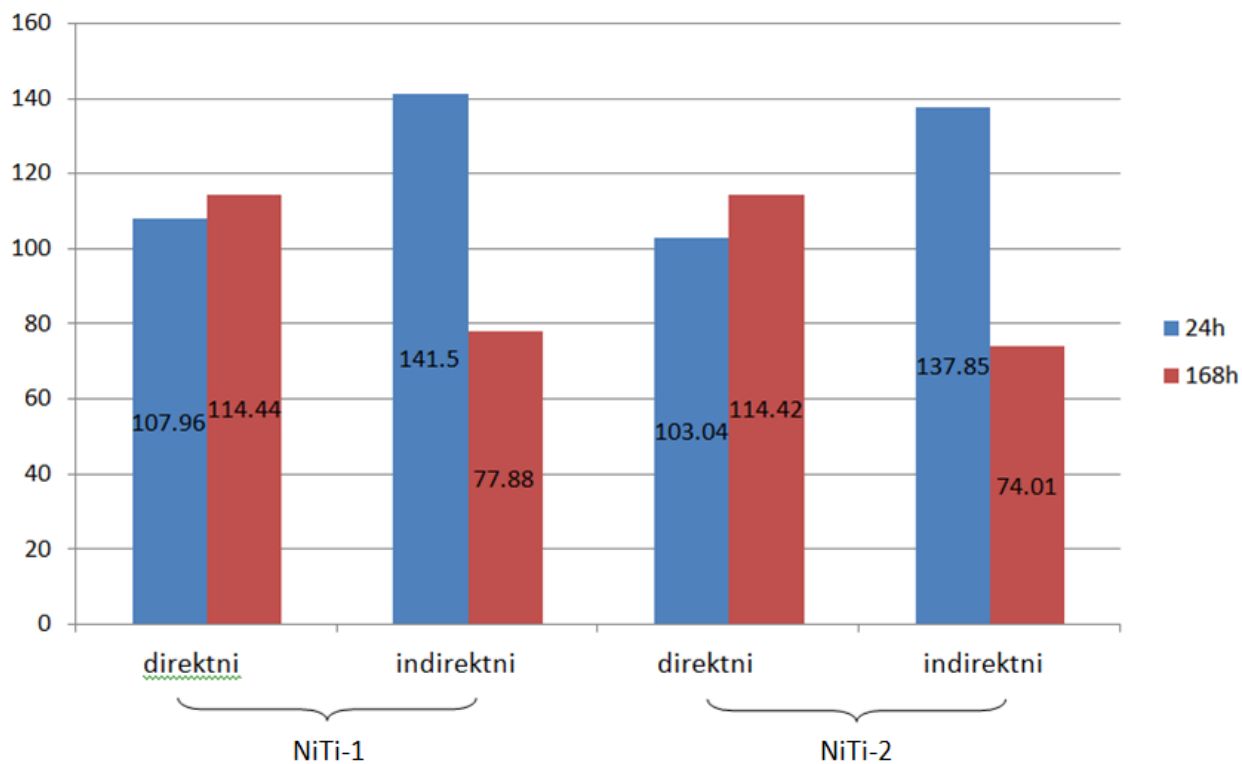
## 4.5. Rezultati biokompatibilnosti legura NiTi-1 i NiTi-2

Dvofaktorska ANOVA za analizu direktnog kontakta korišćena je da bi se ispitaio uticaj efekta dužine kontakta na ćelijsku proliferaciju i površinskih svojstava materijala u slučaju obe legure korišćene u studiji. Rezultati su pokazali da ne postoji statistički značajan izolovani uticaj površine legura na ćelijsku proliferaciju,  $p=0.616$ , ali da postoji statistički značajan uticaj vremena na ćelijsku vijabilnost,  $p=0.007$ . Prosečna vrednost broja živih ćelija, ostvareno pri kontaktu sa obe legure nakon 24h, je iznosila 105,49 %, a nakon 7 dana 114,43 %. Dodatno, rezultati su pokazali da proteklo vreme i ispitivane legure zajedno ne utiču statistički značajno na ćelijsku vijabilnost,  $p=0.938$ .

T testom nezavisnih uzoraka vršeno je međusobno poređenje vrednosti dobijenih za NiTi-1 grupu i NiTi-2 grupu, u okviru dvadesetčetvoročasovnog tretmana. Na grafikonu 1 uočava se veća ćelijska proliferacija na NiTi-2 leguri (srednja vrednost=107,96 %) u odnosu na NiTi-1 leguru (srednja vrednost=103.05 %), ali bez statistički značajne razlike,  $p=0.536$ . Nakon 7 dana ostvarena je identična prosečna vrednost ćelijske vijabilnosti za obe legure (NiTi-1=114,40%; NiTi-2=114,42%).

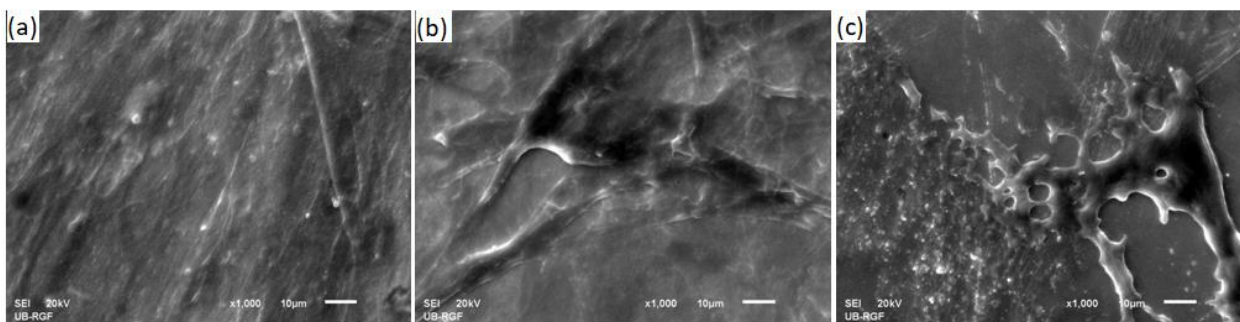
Pri indirektnom kontaktu dvofaktorska ANOVA pokazala je da ne postoji statistički značajan izolovani uticaj molekula otpuštenih u medijum za ćelijsku kulturu na rast fibroblasta,  $p=0.686$ , ali kao i pri direktnom kontaktu postojao je statistički značajan uticaj proteklog vremena na ćelijsku vijabilnost,  $p<0.01$ . Prosečna vrednost ćelijske proliferacije nakon 24h iznosila je 139,83 %, a nakon 7 dana 75,83 %. Rezultati su takođe pokazali da vreme i molekuli materijala zajedno ne utiču statistički značajno na ćelijsku proliferaciju,  $p=1$ .

T test nezavisnih uzoraka je pokazao da ne postoji statistički značajna razlika u ćelijskoj vijabilnosti pri kontaktu sa molekulima NiTi-1 i NiTi-2 legure nakon 24h (NiTi-1= 141,5 %; NiTi-2=137,85 %),  $p=0.703$ , ni nakon 7 dana (NiTi-1=77,88 %; NiTi-2=74,01 %),  $p=0.819$  (Grafikon 1).



**Grafikon 1.** Prosečne vrednosti procenta ćelijske proliferacije za NiTi-1 i NiTi-2 u direktnom i indirektnom kontaktu sa materijalom praćeno nakon 24 h i 168 h.

Na slici 39 prikazani su fibroblasti koji prekrivaju celu površinu uzoraka stvarajući debeo ćelijski sloj.



**Slika 39.** SEM fotografije fibroblasta na tri grupe uzoraka: a) NiTi-1; b) NiTi-2; c) kontrolni uzorak (sterilno pokrovno staklo).

# V DISKUSIJA

## 5.1. Diskusija rezultata hemijske karakterizacije uzoraka

Za svrhu ovog eksperimentalnog istraživanja kontinualno livenje bilo je izvedeno korišćenjem sistema koji podrazumeva indukcionu peć za topljenje i vertikalni ulivnik. Biofunktionalne osobine tako dobijene Ni-Ti legure poređene su sa komercijalno dostupnom nikel-titanijum legurom dobijenom metodom klasičnog livenja u ingote i naknadne termo-mehaničke obrade.

Analize hemijskog sastava ukazuju da postoji razlika između NiTi-1 i NiTi-2 u sadržaju nikla i titanijuma, što je posledica različitih proizvodnih procesa. Naši rezultati EDX i XRF analize pokazali su da je u obe legure sadržaj nikla bio veći u odnosu na sadržaj titanijuma. Međutim, poređenjem pojedinačne zastupljenosti jednog i drugog elementa između obe grupe uzoraka, sadržaj nikla je bio veći u kontinualno livenim (NiTi-2) uzorcima dok je sadržaj titanijuma bio veći u klasično livenim (NiTi-1) uzorcima. Prisustvo gvožđa detektovano je samo u kontinualno livenim uzorcima.

Odstupanje od ciljanog sastava, posebno je uočeno kod uzoraka dobijenih kontinualnim livenjem, što je najverovatnije posledica slabog mešanja na dnu lonca. Zbog veće gustine i niže tačke topljenja nikla (94), u poređenju sa titanijumom, ovaj metal se prvi topi i teče na dno lonca (90). Što se tiče gvožđa, detektovana koncentracija prevazilazi vrednosti koje se spontano mogu naći kao nečistoće u metalima nikla i titanijuma, što upućuje na to da je izvor gvožđa u ovom slučaju čelični štapa kojim je započeto mešanje rastopa. Na visokim temperaturama, kao što su one koje označavaju tačke topljenja oba metala, može doći do rastvaranja površinskog sloja štapa, i sledstvene kontaminacije rastopa gvožđem. U studiji Lojen i saradnika (91) u kojoj je ispitivan odnos količine unetih sirovina i parametara livenja sa udelom nečistoća u izlivenoj leguri pokazano je da topljenje i naknadno mešanje 1g čelika u 15 kg rastopa nikel-titanijum legure rezultira pojavom 0,007 mas.% Fe u očvrstoj leguri (91). Obzirom na to da je u našim rezultatima dobijena mnogostruko veća zastupljenost Fe, objašnjenje leži u činjenici da je zbog neadekvatnog mešanja svo gvožđe ostalo nataloženo na dnu lonca.

Uzimajući u obzir razlike u količini polaznih sirovina koje su korišćene u okviru ova dva proizvodna procesa, klasično livenje u ingote zahteva unošenje velike količine metala u vakuum peći, uz obavezno pretapanje zbog velike sklonosti Ti ka oksidaciji (95). Takođe, u ovom postupku potrebno je obezbediti odgovarajuće uslove mešanja obe komponente. Prema faznom dijagramu nikel-titanijum legure, visoki

ravnotežni uslovi se obično postižu tokom pretapanja, uz formiranje praktično homogene legure (96). Dalje, da bi se postigle potrebne dimenzije za primenu u stomatologiji, proizvodi od nikl-titanijuma dobijeni klasičnim livenjem u ingote moraju biti podvrgnuti sekundarnim metodama proizvodnje (postupak termo-mehaničkih tretmana). Tokom postupaka tople ili hladne obrade legure, valjanja ili izvlačenja materijala, dolazi do velikih deformacija, što može imati negativan uticaj na mikrostrukturu legura.

S druge strane, značajno manja masa (20 kg) legure se koristila za livenje u okviru jednog postupka kontinualnog livenja. U okviru ovog eksperimentalnog istraživanja vakuumsko indukciono topljenje vršilo se na srednjoj frekvenciji ( $f=8000$  Hz). Za dodatno mešanje Ni i Ti komponenti bilo bi neophodno korišćenje nižih frekvencija ( $f=2000$  Hz). S tim u vezi, naknadna istraživanja bi trebalo da budu usmerena na pronalaženje uslova optimalnih frekvencija i samim tim na pravilno mešanje.

Prema dostupnim literaturnim podacima topljenje osnovnih metala indukcijom strujom nosi sa sobom određene rizike (97), (98). Naime, zbog reaktivnosti osnovnih metala i njihove velike sklonosti ka segregaciji, snaga struje koja se koristi za razvijanje toplote u loncu predstavlja kritični faktor koji može dovesti do neželjene hemijske reakcije. S obzirom na to da se nikl prvi topi, neophodno je već u trenutku topljenja ovog metala isključiti struju. Ukoliko se predgrevanje nastavi, dolazi do burne reakcije prskanja unutar lonca što rezultira neadekvatnim mešanjem metala unutar rastopa (91, 99). Ukoliko se struja smanji ili ugasi nakon što je već započela neželjena reakcija prskanja i segregacije između metala, to neće sprečiti i njen dalji razvoj s obzirom na to da rastop nastavlja da apsorbuje toplotu iz lonca koji se prethodno zagrejao više od same šarže.

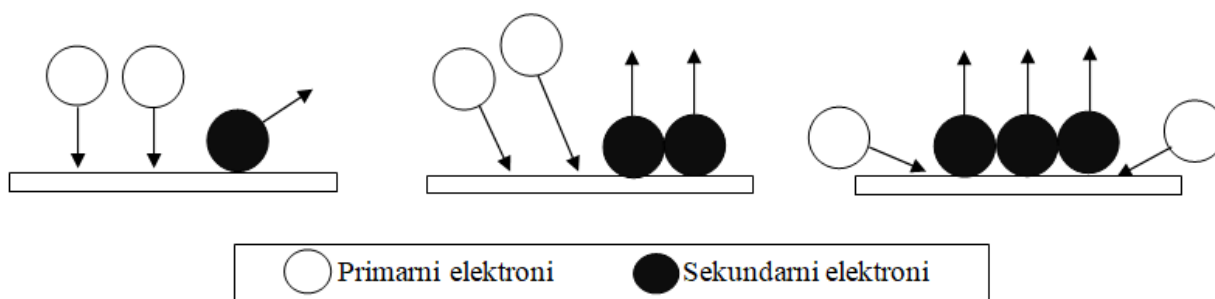
Poslednje tri decenije, sve do danas, najčešće korišćene metode dobijanja nikl-titanijum legure su topljenje metala u indukcijom i lučnim pećima (eng. *Vacuum Induction Melting and Vacuum Arc Remelting*). Peć sa grafitnim tiglovima je najbolji izbor za topljenje čistih metala, da bi se sprečila moguća kontaminacija rastopa (97, 100). Polazeći od pretpostavke da su nikl i titanijum elementi koji mogu formirati jedinjenja karbida ( $TiC$ ,  $Ni_3C$ ), zaštitni sloj u vidu praha  $TiC$  se brzo stvara sprečavajući na taj način dalju kontaminaciju rastopa ugljenikom (101).

U okviru našeg istraživanja za identifikaciju hemijskog sastava ispitivanih uzoraka korišćen je elektronski mikroskop obogaćen rendgenskom spektroskopijom distributera energije.

### 5.1.1. Princip rada skening elektronskog mikroskopa

U pogledu karakteristika SEM-EDX uređaja važno je istaći pre svega velike mogućnosti rezolucije (maksimalna rezolucija 0,1nm) i uveličanja (maksimalno uveličanje 200.000 puta). Dodatno, moguće je formiranje trodimenzionalne slike ispitivanih detalja (58). Pri opisivanju rezolucije u mikroskopiji, u literaturi se mogu naći i termini lateralna rastavlјivost dve tačke, tj. moć razlaganja mikroskopa. Bolja rezolucija označava mogućnost da se svaka tačka u građi posmatranog materijala vidi kao zaseban objekat. Ova sposobnost je direktno proporcionalna talasnoj dužini upotrebljene svetlosti (za optički mikroskop), odnosno talasnoj dužini elektrona (za elektronski mikroskop).

Pre početka analize, u komori su bili obebeđeni vakuumski uslovi ( $10^{-7}$  Pa) da bi se omogućilo neometano kretanje elektronskog snopa i sprečila njegova eventualna interakcija sa atomima drugih hemijskih elemenata. Pod uticajem struje iz elektronske puške, zagreva se katoda koja pokreće primarne elektrone čija energija dostiže vrednost od nekoliko desetina hiljada volti. Njihovo inicijalno pokretanje podrazumeva divergentno usmeren snop elektrona ka elektromagnetnim sočivima aparata. Snop postaje konvergentan nakon apsorpcije u prvom, tj. kondenzatorskom sočivu. Nakon toga, elektroni putuju dalje kroz cev koju čini sistem od najčešće tri sočiva. Izlazeći iz poslednjeg, sabirnog sočiva, elektronski zrak udara u uzorak pri čemu dolazi do razlaganja primarnog snopa na sekundarne, koji se dele na apsorbivane i odbijene (emitovane) zrake (93). U ovom postupku posebno je važan ugao pod kojim dolazi do upada primarnih elektrona na površinu ispitivanog uzorka (Slika 40). Naime, što je manji ugao pod kojim ovaj snop ostvaruje kontakt sa uzorkom, to je oslobađanje sekundarnih elektrona veće (58).



**Slika 40.** Šematski prikaz intenziteta emitovanih sekundarnih elektrona zavisno od ugla pod kojim primarni elektroni padaju na površinu uzorka.

Sekundarno emitovani elektroni otpuštaju specifično zračenje čiji intenzitet i talasna dužina određuju vrstu i udeo hemijskog elementa.

Oslobodene energije sekundarno emitovanih elektrona skupljaju se u detektoru aparata (spektrometar X zraka). Mikroprocesori konvertuju detektovane signale u pseudotrodimenzionalnu sliku različitih talasnih dužina koja je karakteristična za svaki hemijski element (102).

Ipak, postoje nedostaci ove metode određivanja hemijskog sastava. EDX metoda pripada kvalitativnim i semikvantitativnim tehnikama. To znači da se ograničenja uglavnom tiču preciznosti prilikom određivanja količine elemenata koje aparat prepozna u uzorku. Kvalitativna analiza SEM-EDX uređajima zasniva se na detekciji sekundarnih i povratno rasejanih elektrona, dok se za merenje težinskog procenta detektovanog elementa koriste X zruci nakupljeni u detektoru. Ovom metodom moguće je detektovati elemente čiji je težinski procenat minimum 0,1 mas.% (103).

Problem kvantifikacije elemenata može nastati zbog mogućeg preklapanja maksimuma sličnih energija za neke elemente, i zbog neophodnosti obezbeđivanja vakuumskih uslova u komori tokom analize.

Zbog svega navedenog, dodatna potvrda masenog udela elementarnih metala u leguri izvršena je XRF analizom. Razlika u odnosu na EDX metodu je u detektoru koji se koristi. EDX ima Si (Li) detektor za prikupljanje sekundarnih i povratno rasejanih elektrona (104), dok XRF metoda koristi analitički kristal za razlikovanje X zraka emitovanih sa površine uzorka. Ovim je obezbeđen veći detekcioni limit i mogućnost prepoznavanja elemenata u tragovima. Dodatno, XRF uređaji su osetljivi na lakše elemente (105). Rezultati koje smo dobili analizom hemijskog sastava legura XRF metodom bili su saglasni sa EDX dobijenim rezultatima.



## 5.1.2. Diskusija rezultata mikrostrukturne analize uzoraka

Analiza mikrostrukture korišćenjem difrakcione metode sprovedena je nakon završene hemijske analize uzoraka.

Fazna raspodela u mikrostrukтури klasično livenih i kontinualno livenih uzoraka je analizirana EBSD metodom. Na osnovu naših rezultata utvrđeno je da postoje dve faze u mikrostrukтури uzorka NiTi-1 (NiTi-kubična i Ni<sub>3</sub>Ti-heksagonalna), što ukazuje jasno da se radi o hipoeutektičkoj leguri<sup>5</sup>.

Poznato je da nikel-titanijum legure pripadaju višefaznim sistemima. Zavisno od hemijskog sastava legure i tehnološkog procesa proizvodnje moguće je formiranje dodatnih faza pored osnovne NiTi matrice (106, 107). Prema faznom dijagramu binarne NiTi legure, hemijske reakcije koje vode formiranju dopunskih faza, tj. intermetalnih jedinjenja su:

$Ti + 3 Ni \rightarrow Ni_3Ti$ , za svaki atom titanijuma vezuju se tri atoma nikla, što vremenom vodi smanjenju količine nikla i formiranju zone bogate titanijumom, tj. dopunske faze bogate titanijumom:

$2 Ti + Ni \rightarrow NiTi_2$  (108).

U sredinama bogatim niklom, kada se sav titanijum iskoristi, formirano NiTi<sub>2</sub> jedinjenje se vezuje za preostali nikel i na kraju se transformiše u NiTi matricu ili Ni<sub>3</sub>Ti jedinjenje.

Naši rezultati se mogu analizirati kroz dijagram fazne raspodele nikel-titanijum legura (109, 110) (Slika 41), na kom se vidi da su ove faze očekivane kod legura sa masenim udelom nikla većim od 50%. Suprotno tome, u mikrostrukтури legure NiTi-2 detektovana dodatna NiTi<sub>2</sub>-kubična faza. Uzimajući ovo u obzir evidentno je da su se uzorci razlikovali i po mikrostrukturnoj analizi prisutnih faza. Prema faznom dijagramu nikel-titanijum legura, NiTi<sub>2</sub> faza je očekivana u titanijumom bogatim legurama (111). Pojava ovog intermetalnog jedinjenja u leguri bogatoj niklom ukazuje na to da je došlo do varijacija u uslovima hlađenja legure. Neujednačena distribucija toplote dovodi do neujednačenog izlaganja različitih delova rastopa toploti, što za posledicu ima isparavanje nikla i formiranje faze bogate titanijumom, NiTi<sub>2</sub> (94).

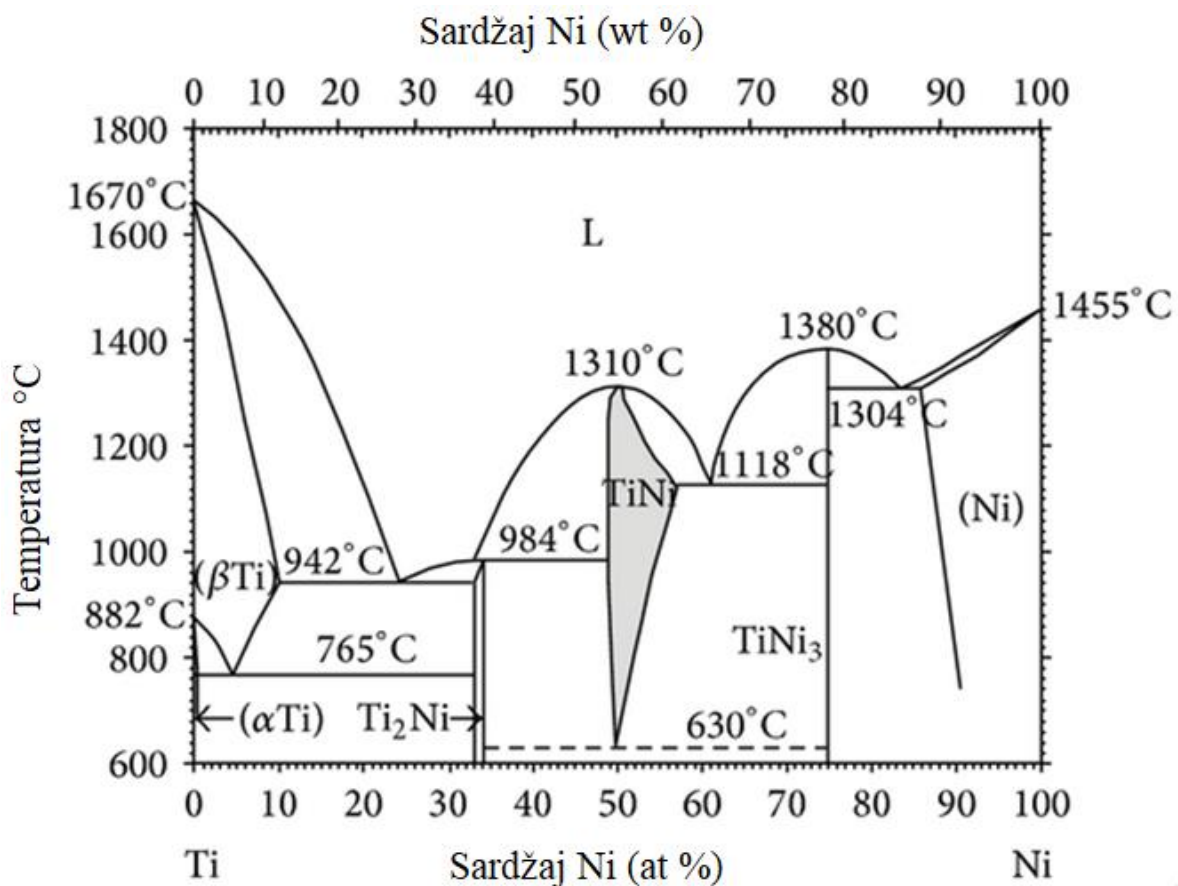
Kroz literaturne podatke se može zaključiti da efekat ove faze na svojstva legure zavisi od količine. Pojedine studije ukazale su da NiTi<sub>2</sub> faza, ukoliko se nađe u velikim količinama, može imati i negativan

---

<sup>5</sup>Eutektikum- smeša koju čine više čvrstih faza.

Hipoeutektikum- čvrsti rastvor od dve faze.

uticaj na mehanička svojstva (112, 108). Ova faza ima veću tvrdoću nego NiTi faza (matrica) koja čini osnovni matriks legure, pa velike količine NiTi<sub>2</sub> precipitata direktno mogu smanjiti superelastična svojstva legure. Jedna od metoda kojima se može preduprediti stvaranje ove nepoželjne faze jeste predgrevanje lonca do 500°C (112). Međutim, poželjno prisustvo ove faze u malim količinama obezbeđuje duktilnost leguri. Naime, pri hlađenju legure, zone NiTi<sub>2</sub> faze predstavljaju centre nukleacije martenzitnih zrna, nosioca efekta memorije oblika, što je presudan faktor za primenu u okviru abatmenta sa memoriskim oblikom u implantat-protetici. Brže hlađenje legure pogoduje stvaranju ove faze (113). Što se tiče Ni<sub>3</sub>Ti jedinjenja, koje je detektovano u obe grupe uzoraka, istraživanja su pokazala da utiče na povećanje tvrdoće legure (114).



**Slika 41.** Fazni dijagram za nikel-titanijum leguru (110).

Kada je u pitanju izučavanje promena u mikrostrukturi legura koje nastaju kao posledica proizvodno zavisnih parametara, poznato je da binarne legure sastavljene od istih elemenata mogu znatno varirati u veličini zrna (115).

Metalografskoj analizi naših uzoraka prethodila je priprema. Metode koje se mogu primenjivati zavise od prirode samog uzorka i tipa metalografske analize, s obzirom na to da bi postupci pripreme trebalo da budu izvedeni tako da sačuvaju autentičnost materijala.

Za ispitivanje topografije materijala korišćen je optički mikroskop. Iako ne daje uvid u kompletnu mikrostrukturu, metoda optičke mikroskopije koristi se kao dopunska tehnika za dobijanje informacija u vezi sa homogenošću cele ispitivane površine. Princip rada bazira se na projekciji slike posmatranog objekta. Slika se formira na osnovu prikupljene reflektovane svetlosti sa metalnog uzorka koja se sakuplja u objektivu mikroskopa.

Rezultati mikrostrukturne analize ispitivanih uzoraka su pokazali manja zrna i finiju mikrostrukturu kod uzoraka NiTi-2 u odnosu na NiTi-1 leguru, što ukazuje na dve ključne stvari. Prvo, da je prilikom naknadnog valjanja ili izvlačenja klasično izlivenne legure (NiTi-1) u oblike ingota, došlo do velikih deformacija u strukturi zrna ove legure. Drugo, da su varijacije u težinskom procentu elemenata unutar legure bile odgovorne za razlike u mikrostrukтури. Jasno je da veličina zrna svakog metalnog materijala zavisi od načina obrazovanja klica (centara nukleacije) i brzine rasta formiranih kristala tokom hlađenja rastopa legure (116). Veći broj inicijalno formiranih klica rezultiraće sa više sitnijih metalnih zrna u ukupnoj zapremini legure. Dopunske centre nukleacije u legurama omogućavaju teško topivi metali, kakav je Ni (117).

Veća količina nikl čestica u NiTi-2 leguri uticala je na povećanje broja klica tokom procesa nukleacije metalnih zrna, što je saglasno sa rezultatima prethodnih studija (108, 118). Redukcija u veličini zrna poboljšava superelastično svojstvo legure, jer dozvoljava željenu orijentaciju i stabilnost susednih zrna zbog mogućnosti proizvodnje većeg broja martenzitnih ploča (85).

Prilikom izrade odlivaka od metalnih materijala za primenu u stomatologiji teži se postizanju sto finije, sitnozrnaste mikrostrukture. Poznato je da je veličina zrna u direktnoj vezi sa mehaničkim osobinama materijala i da odlivci dentalnih legura koje karakteriše krupnozrna struktura imaju lošije mehaničke osobine. U stomatološkoj protetici takve legure, usled cikličnih opterećenja kojima su izložena svakodnevno, brzo pokažu znake zamora zbog čega nastaju lomovi metalnih konstrukcija. U našoj studiji, dobijeni rezultati merenja tvrdoće su potvrdili da su parametri mikrostrukture u vezi sa fizičkim osobinama materijala. Uzorci kontinualno livene legure, koji su imali manja zrna, pokazali su dva puta veću tvrdoću nego klasično liveni uzorci, i to za 50 %. Ovi rezultati podudaraju se sa rezultatima sličnih studija koje su analizirale površinska svojstva nikl titanijum legure sa različitim sadržajem nikla (119, 120). Ipak, problem velike tvrdoće kontinualno livene legure može biti njena izuzetno teška obrada.

Teorijski posmatrano, ako se uzmu u obzir mehanička svojstva nikel-titanijum legure, tvrdoću bi trebalo prilagoditi kliničkoj nameni. S obzirom na to da ova legura najširu primenu trenutno ima u ortopediji vilica za ortodontske lukove, više vrednosti tvrdoće su poželjne za tu namenu. Problem sa komponentama ortodontskih lukova sa niskim vrednostima tvrdoće je u tome što one mogu da ugroze prenos sile obrtnog momenta sa aktiviranog luka na bravicu, što dalje stvara rizik za razvoj plastične deformacije krila (26). Dodatno, nedovoljno tvrda površina materijala stvara problem za formiranje dobre površinske topografije pri završnoj obradi, što je preduslov da bi se sprečilo curenje jona teških metala iz legura.

Konačno, mehanička svojstva klasično i kontinualno livene legure definisana su združenim dejstvom hemijske i mikrostrukturne karakterizacije, veličine zrna i formiranjem dodatnih faza.

## 5.2. Diskusija rezultata korozionih ispitivanja

Rezultati korozionih ispitivanja ukazali su na dobru postojanost i klasično i kontinualno livene legure u ratvorima veštačke pljuvačke pH neutralne vrednosti. Ipak, ni jedna legura nije pokazala zadovoljavajuću korozionu otpornost u kiselim rastvorima, kao i neutralnim rastvorima bogatim jonima Cl<sup>-</sup>.

U okviru ove studije analizirana je korozija klasično i kontinualno livene nikel-titanijum legure kroz tri grupe eksperimenata:

- (i) Analitičke metode kojima je ispitivana postojanost legura na osnovu migracije metalnih jona u pH neutralni i kiselu rastvor nakon testova uranjanja;
- (ii) Metode vizuelnog pregleda površine legura makro i mikroskopski zabeleženim snimcima, na osnovu kojih je detektovan stepen zahvaćenosti površine legura korozijom;
- (iii) Elektrohemijske metode kojima je kroz merenje korozionog potencijala i polarizacione otpornosti određena kinetika korozionog procesa.

Podaci u literaturi u vezi sa korozionom otpornošću ovih legura su nekonzistenti. Korozija nikel-titanijuma je prema nekim istraživanjima opisana kao dobra, dok su druge studije ukazale na korozionu nepostojanost legure (66, 121-123). U uvodnom delu ove studije dat je opis faktora odgovornih za varijacije korozionog ponašanja. Iako svojstvo pasivnosti može osigurati biološki bezbednu leguru, usled moguće aktivacije, pod uticajem različitih uslova sredine, posebno je izražena opasnost od razvoja jamičaste korozije. Jamičasta, tzv. tačkasta-piting korozija, nastaje usled lokalizovanog prodora najčešće nekog oksidacionog sredstva koji za posledicu ima prekid kontinuiteta oksidnog filma kod pasivnih legura (52, 59).

Otpornost površinskog oksida na dejstvo korozionog agensa je determinisana sposobnošću legure da razvije homogen i kompaktni oksid. Integritet ovog sloja je mnogo važniji od njegove debljine da bi se moglo govoriti o zaštitnoj ulozi (63).

U prilog tome govore rezultati studija koje su se bavile analizom karakteristika oksidnog sloja, a koji su pokazali da debljina oksida na površini nikel-titanijum legure, kada se izloži korozionoj sredini, može

biti u širokom intervalu nanometarske skale, od 4 nm do 3500 nm (124). Veliki opseg ovih vrednosti posledica je različite površinske pripreme legure, koja rezultira različitom korozionom otpornošću. Pored uticaja spoljašnje sredine razvoju jamičaste korozije mogu pogodovati faktori u vezi sa samom površinom metalog materijala (nehomogenost površine, prisustvo nečistoća i hrapavosti) (125, 126).

Do danas su opisani različiti površinski tretmani. Najzastupljenije su tradicionalne metode u koje spadaju mehaničko poliranje, elektrohemijsko poliranje, hemijsko nagrivanje u kiselim rastvorima i toplotna obrada (tretman u autoklavu) (127). Pored toga, postoje i metode jonske implantacije plazmom kao i formiranje bioaktivnih premaza (128).

Istraživanja koja su pratila kapacitet formiranja oksidnog filma, na uzorcima podvrgnutim površinskom tretmanu sa netretiranim uzorcima, pokazala su da netretirani uzorci razvijaju mnogo deblji oksid na površini (120-340 nm), dok je na mehanički poliranim ili nagrivenim uzorcima taj film bio i do 10 puta tanji (11-16 nm) (129).

S tim u vezi, da bi se eliminisao uticaj površinskih faktora na rezultate korozionih ispitivanja, priprema uzoraka za naše istraživanje podrazumevala je višestepeni postupak mehaničkog čišćenja i poliranja. Prethodne studije (130, 131) su se bavile analizom uticaja različitih metoda površinske pripreme na kinetiku korozije i dobijeni rezultati su ukazali na višestruke prednosti poliranja nad hemijskim nagrivanjem. Pre svega, visokopolirane površine lišene su hrapavosti, dok nagrivanje različitim kiselinama može stvoriti jamičaste defekte do 8  $\mu$ m dubine. Ovakva hrapavost dokazano pogoduje razvoju nekih vidova lokalne korozije (59).

Takođe, polirane površine se sastoje od kombinacije titanijuma, titanijum oksida, manje količine nikel oksida i elementarnog nikla dok je na hemijski nagrivenim površinama koncentracija kiseonika znatno manja (130). Proces spontanog formiranja oksida prelaznih metala meri se Gibsovom slobodnom energijom (132). Veća zastupljenost Ti oksida na površini nikel-titanijum legura objašnjava se činjenicom da je za njegovo formiranje potrebna 4 puta manja energija nego za formiranje Ni oksida (127).

## 5.2.1. Testovi uranjanja

Rezultati ove studije su pokazali različito ponašanje klasično i kontinualno livene legure kada se nađu u rastvorima različite kiselosti.

Da bi se izvršila analiza bezbedne primene ovih legura u stomatološkoj protetici inicijalna procena postojanosti legura vršena je u rastvoru veštačke pljuvačke (pH 6,5), a potom i u rastvoru mlečne kiseline (pH 2,3) metodom optičke spektrometrije induktivno spregutom plazmom.

ICP-OES pripada metodama kvalitativne i kvantitativne detekcije hemijskog sastava uzoraka u tečnom stanju. Analitički detektor aparata optičke spektrometrije prepoznaje elemente (jone) indirektno iz aerosola uzoraka, merenjem talasne dužine svetlosti emitovane iz aerosola urorka nakon što prođu kroz komoru sa inertnom plazmom (133, 127).

Testovi uranjanja sprovedeni tokom 7 dana pokazali su različite koncentracije oslobođenih jona samo u kiseloj sredini. Legure NiTi-1 i NiTi-2 u rastvoru veštačke pljuvačke, koji ima neutralan pH, nisu pokazale značajnu razliku u koncentraciji oslobođenih jona, niti su ove količine bile klinički značajne. Ovi rezultati su očekivani s obzirom na to da je dobra otpornost na koroziju u pH neutralnim rastvorima dobro dokumentovana (47, 64, 134).

Naučna zajednica je saglasna u stavu da nikel spada u najjače biološke senzibilizatore. Zbog činjenice da pojedini biomedicinski uređaji sadrže različite koncentracije ovog alergena (135), neophodno je poštovati striktno regulative koje određuju detekcion limit za nikel (136). Maksimalno dozvoljene doze jona nikla oslobođenih iz biomedicinskih uređaja su  $0,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ / sedmično (64). To je 10 puta više od vrednosti dobijenih u našoj studiji nakon uranjanja u rastvoru pH neutralne veštačke pljuvačke. Rezultati ovog istraživanja pokazuju da je oslobađanje jona nikla iz uzoraka NiTi-2 iznosilo  $0,04 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ /nedeljno, i  $0,05 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ /nedeljno iz NiTi-1. Prema navodima studije (137) koja je ispitivala količinu oslobođenih jona nikla iz 7 različitih komercijalno dostupnih ortodontskih žica kondicioniranih u rastvoru veštačke pljuvačke i mlečne kiseline, ove koncentracije su varirale od 0,1 do  $7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ /nedeljno.

Sastav sintetske pljuvačke korišćene u ovoj studiji činila su mineralna jedinjenja koja se nalaze i u prirodnoj pljuvački uz dodatak mlečne kiseline. Prema literaturnim izvorima, dodavanjem mlečne kiseline u sintetski rastvor pljuvačke može se ubrzati dinamika korozije i razviti slabija koroziona stabilnosti pasivnih legura nego ako se koriste rastvori bez mlečne kiseline (138, 139). Dodatno,

važnost dodatka mlečne kiseline u sintetske rastvore ogleda se u činjenici da ovo jedinjenje u *in vivo* uslovima predstavlja jedan od glavnih produkata oralnih mikroorganizama (140).

Ipak, ograničenja eksperimentalog ispitivanja postojanosti legura tiču se statičkih uslova sredine u kojoj se vrši testiranje (konstantno neutralne pH vrednosti) koji suštinski nisu ostvarivi u jednom dinamičkom okruženju kakva je usna šupljina. Iz navedenog razloga neophodno je bilo ispitati i efekte kiselog rastvora na koroziону otpornost ovih legura. Prema protokolu standarda (ISO 10271) za ispitivanje koroziје dentalnih legura u *in vitro* uslovima neophodno je uključiti dodatne reagense kojima se stvaraju agresivniji uslovi u odnosu na one prisutne *in vivo*.

Praćenjem koroziönog ponašanja uzoraka NiTi-1 i NiTi-2 u rastvoru mlečne kiseline (pH 2,3) uočena je značajna razlika u koncentraciji otpuštenih jona. Oslobođanje jona nikla bilo je dva puta manje, a titanijuma tri puta manje iz testiranih NiTi-2 ( $0,63\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) u odnosu na NiTi-1 uzorke ( $2,17\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Migracija jona nikla iz obe legure bila je veća od dozvoljenih vrednosti (64).

Ovaj rezultat sugeriše da bi pri promeni acido-bazne ravnoteže u *in vivo* uslovima, došlo do rastvaranja legure. Normalan opseg pH vrednosti pljuvačke je 6,2 do 7,6. Tokom unošenja kiselih napitaka i hrane, kao i alkalnih medikamenata ove vrednosti u ekstremnim situacijama padaju na 2. Ipak, zahvaljujući puferskim jedinjenjima u sastavu pljuvačke (bikarbonatnim, proteinskim i fosfatnim) ovako niske vrednosti pH se relativno vrzo oporavljaju ka neutralnim.

Američka uprava za hranu i lekove (FDA) i evropska agencija za lekove (EMA), kao deo glavnog regulatornog tela sa procenu besbednosti, izdaju norme kojima se ovi uređaju kvalifikuju na osnovu stepena potencijalnog rizika koje mogu imati po ljudsko zdravlje (141). Taj rizik je direktno proporcionalan sa sastavom legure metala, prisustvom potencijalno toksičnih elemenata i sa vremenskim periodom u odnosu na koji će uređaj biti u kontaktu sa biološkim okruženjem. Prema direktivi za medicinska sredstva (MDD 93/42 EEC) zasnovanoj na predviđenom trajanju kontakta sa živim organizmom medicinski uređaji se dele na:

- Uređaje sa ograničenim kontaktom-neinvazivni medicinski uređaji čiji kumulativni zbir pojedinačnog ili ponovljenog trajanja kontakta iznosi manje od sat vremena. Ovi uređaji imaju mali rizik po zdravlje pacijenta;
- Produžena izloženost (uređaji srednjeg rizika)-medicinski uređaji čija kumulativna suma pojedinačnog, ili ponovljenog vremenskog kontakta nije veća od 30 dana;
- Produžena izloženost (uređaji višeg rizika)-medicinska sredstva čiji zbir pojedinačnog,



ili ponovljenog vremena kontakta prelazi 30 dana, čime se podrazumeva dugotrajna upotreba ili implantacija datog uređaja;

- Dugotrajna izloženost-medicinski uređaji predviđeni za kontakt sa centralnim nervnim sistemom i/ili kardiovaskularnim sisemom, zbog čega se smatraju uređajima visokog stepena rizika (58).

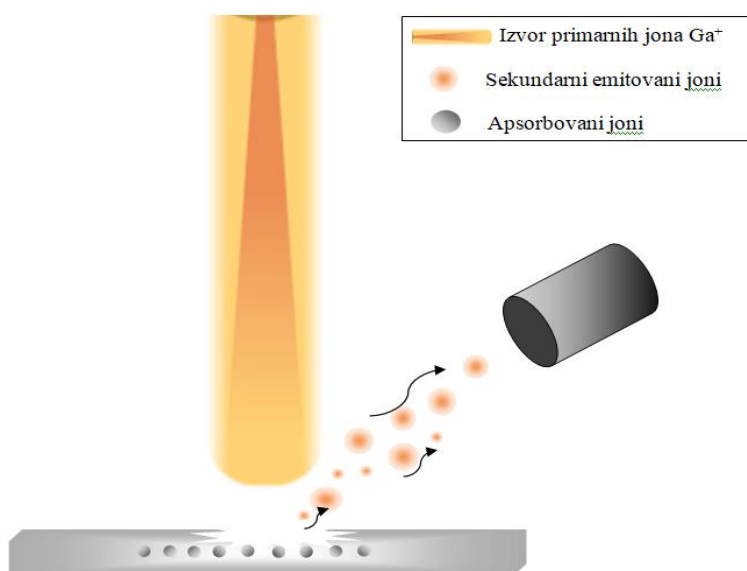
U slučaju stomatoloških uređaja gde materijali mogu doći u kontakt sa oralnim tkivom tokom dužeg vremenskog intervala, procenjuje se potencijalno nepovoljan biološki odgovor koji bi mogao nastati zbog, pre svega degradacije materijala i otpustanja jona nikla u biološko okruženje.

Po intenzitetu i obliku kliničke slike alergijske reakcije na nikl mogu biti različite. Najčešće se manifestuju kao kontaktni dermatitis, pustulozne eflorescencije, ekcem i sindrom pečenja u ustima (70). Takođe, studije su pokazale da pacijenti sa autoimunim stanjima, uključujući sistemski eritematozni lupus, reumatoidni artritis i Sjogrenov sindrom, imaju povećanu učestalost alergije na metale, posebno nikl. Među navedenim oboljenjima, posebno se istice sindrom pečenja i žarenja koji se u literaturi navodi kao jedna od alergijskih manifestacija koja u velikoj meri utiče na kvalitet života pacijenata, obzirom na ograničene terapijske mogućnosti lečenja. Rezultati istraživanja (142, 143) pokazali su da je koncentracija Ni u pljuvački značajno veća kod ispitanika sa sindromom pečenja i žarenja u ustima. Svi pacijenti kod kojih je ustanovljen ovaj sindrom su imali protetske nadoknade, uglavnom od baznih legura, sa niklom kao legirajućim elementom (143, 144). Osećaj pečenja i žarenja često se javlja u zoni prednje dve trećine jezika, tvrdom nepcu i sluznici donje usne. Što se tiče dinamike javljanja, pacijenti obično navode da su simptomi intenzivni tokom dana, a izostaju tokom noći. Najveći intenzitet tegoba javlja se kasno posle podne. Alergijska reakcija na nikl dokazuje se najčešće pozitivnim Patch testom (145). To je kožni test tokom kog se alergen dovodi u kontakt sa kožom ispitanika (najčešće na gornjem delu leđa) i rezultati se očitavaju drugog i trećeg dana. Pozitivan test podrazumeva prisutno crvenilo i kožne promene na tretiranoj površini. Pored ovog, koriste se i alergološki testovi iz krvi ispitanika, od kojih je najčešće primenjivan test migracije limfocita.

## 5.2.2. Karakteristike korozionih produkata sa FIB tehnikom

Nakon što su naši rezultati testova uranjanja potvrdili nepostojanost kontinualno i klasično livene legure u kiseloj sredini, upotrebljena je tehnika fokusiranog jonskog snopa (eng. *focused ion beam*) u cilju ispitivanja površinskih produkata korozije na uzorcima. Metoda podrazumeva korišćenje uređaja koji proizvode primarni snop jona galijuma i usmeravaju ih na površinu uzorka (Slika 42). Zavisno od intenziteta struje koja pokreće jonski snop, aparatima se može vršiti snimanje i/ili sečenje površinskih slojeva. Ukoliko se vrši jonsko sečenje površine materijala, što je bio slučaj u našem istraživanju, koriste se veliki intenziteti struje. Kao rezultat interakcije jonskog snopa sa ispitivanim materijalom dolazi do oslobađanja velike količine energije što rezultira površinskom disperzijom materijala. U zavisnosti od intenziteta i smera kanalsanja jona dobija se različit kontrast slike. Tamo gde je intenzivnija apsorpcija, manje je raspršivanje pa se dobija tamnija slika. Sa druge strane, veća emisija (raspršivanje) sekundarnih jona dovodi do stvaranja svetlije slike (146).

Ove dispergovane čestice se usmeravaju ka detektoru uređaja i dobija se skenirani zapis površine uzorka. Zahvaljujući subnanometrskoj rezoluciji ovih aparata dobija se zapis koji obiluje bogatstvom informacija.



**Slika 42.** Fokusirani jonski snop.

Sečenjem oksidnog sloja usmerenim jonskim snopom i naknadnim merenjem na mestu sečenja ustanovljena je ista debljina oksida na površinama uzoraka, (NiTi-1=34.46 nm; NiTi-2=34.89 nm), iako je ICP analiza rastvora mlečne kiseline pokazala različite koncentracije jona metala oslobođenih iz uzoraka. Klasično livena legura (NiTi-1) oslobodila je veće koncentracije metalnih jona. Takođe, niže vrednosti standardnih devijacija za dubinu oksidnog sloja u uzorcima NiTi-2 ukazuju na veću konzistentnost podataka kod ovog uzorka.

Što se tiče analize pojedinačnog oslobađanja jona Ni i Ti, rezultati obe grupe uzoraka su pokazali da je oslobađanje jona nikla veće od jona titanijuma i to podržava prethodne studije (66, 147); što se može objasniti činjenicom da je, nakon inicijalnog rastvaranja površinskog sloja TiO<sub>2</sub> ostao izložen unutrašnji sloj i to je sloj bogat Ni (66, 148). Pored toga, manja stabilnost nikl oksida uslovljava njegovu bržu dezintegraciju u odnosu na titanijum oksid.

Topografija površine markoskopskog biomaterijala trebalo bi da deluje kao zaštitna barijera jonske difuzije (149, 150). Teško je postići takav površinski integritet bez procesa sekundarne modifikacije površine, ali prema našim saznanjima, ovo je jedna od prvih studija koja upoređuje klasično i kontinualno (kontinuirano) livenje, kao primarni proizvodni process. Takođe se pokazalo da oslobađanje jona Ni nije bilo proporcionalno sadržaju nikla u uzorcima legure, što je suprotno ustaljenom mišljenju. Rezultati ove studije su u saglasnosti sa savremenim istraživanjima koja ističu značaj mikrostrukturne karakterizacije nad hemijskim sadržajem metalnih materijala (151). Pokazano je da je NiTi-2 legura koja ima mikrostrukturu sa manjim zrnima i većim brojem zrna po jedinici površine, biološki otpornija. Ipak, dobijeni rezultati sugerisali su na potrebu za daljom analizom karakteristika novoformiranog površinskog sloja.

Detaljan uvid u stanje površine uzoraka nakon testa uranjanja u rastvore mlečne kiseline, natrijum-sulfida i natrijum hlorida dobijen je analizom elementarnog sastava površinskog sloja uzoraka elektronskom mikroskopijom (SEM-FIB, SEM-EDX).

### 5.2.2.1. Karakteristike korozionih produkata za NiTi-1 leguru

Analizom naših rezultata FIB merenja za NiTi-1 leguru ustanovljeno je da je najmanja debljina oksidnog sloja bila nakon sulfidnog testiranja (17.01 nm), dok je najveća debljina površinskog sloja bila nakon polarizacionog ispitivanja - ukupna srednja vrednost je bila 166.25 nm. Nakon imerzionog testa uranjanja vrednost debljine oksida iznosila je 34.46 nm.

Studije u kojima je ispitivana korozija pasivnih legura nedvosmisleno su pokazale da fizičko-hemijske osobine oksidnog sloja imaju suštinsku ulogu u određivanju otpornosti na koroziju (152).

U okviru našeg istraživanja, kod sva tri tipa uzoraka, na mestima sečenja površinskog oksida jonskim snopom urađena je EDX analiza. Uočeno je da je kod polarizaciono testiranog uzorka, u svim mernim oblastima i tačkama prisutan  $O_2$ , pored Ni i Ti, što navodi na zaključak da dolazi do formiranja različitih oksida Ni i Ti. U slučaju imerzionog testiranja, pored Ni i Ti, koji su prisutni u svim mernim oblastima,  $O_2$  nije bio prisutan u svim mernim oblastima što govori da i u ovom slučaju dolazi do formiranja oksida, ali u dosta manjoj meri. Međutim, kod sulfidnog testiranja, pored ova tri elementa je detektovano i prisustvo Si u prvoj mernoj oblasti. Objašnjenje za ove rezultate leži u činjenici da su legure nikla osetljive na sulfide i druge nečistoće što je mogao biti razlog segregacije sa Si nakon završenog testiranja u rastvoru natrijum sulfida (152, 153). Adsorbovani Si na površini legure deluje kao inhibitor pasivizacije, zbog čega u tim mernim oblastima nije bio prisutan kiseonik.

Na osnovu svega navedenog, uzorak NiTi-1 koji je polarizaciono testiran je najviše korodirao, što je potvrđeno prisustvom  $O_2$  u svim mernim tačkama i velikom debljinom površinskog sloja. Uzorak koji je bio izložen sulfidnom testiranju razvio je najmanju debljinu površinskog sloja, i što je važnije,  $O_2$  nije prisutan u svim mernim tačkama, što navodi na zaključak da uzorak nije imao kapacitet za formiranje oksida kao nakon polarizacionog testiranja.

### 5.2.2.2. Karakteristike korozionih produkata za NiTi-2 leguru

Analizom dobijenih rezultata FIB merenja za NiTi-2 leguru ustanovljeno je da je najmanja debljina oksidnog sloja bila nakon imerzionog testiranja, 34.92 nm. Međutim, nakon sulfidnog testiranja primećeno je drugačije ponašanje ove legure. Debljina površinskog sloja kretala se od 22.00 nm do 637.50 nm, - ukupna srednja vrednost je bila 268.21 nm. Deluje da je interval izuzetno širok, međutim pregledom distribucije podataka koji predstavljaju debljinu površinskog sloja vidi se da su podaci grupisani oko maksimalne i minimalne vrednosti. Ukupna srednja vrednost debljine površinskog sloja nakon polarizacionog testiranja je bila 45.33 nm.

Rezultati EDX analize nakon testova korozije, pokazali su da ni u jednom slučaju nema prisustva svih elemenata u svim mernim oblastima. Nakon imerzionog testiranja detektovan je Si (7.91 mas.%), dok su nakon sulfidnog testiranja u dve merne oblasti bli prisutni O<sub>2</sub>, Ni i Ti, a potom u jednoj oblasti je O<sub>2</sub> registrovan samo u jednoj mernoj tački. Dodatno, zabeleženo je i prisustvo Cl (4.08 mas.%).

Iako je najveća prosečna debljina površinskog sloja izmerena nakon sulfidnog testiranja, njegova različita debljina od tačke do tačke ide u prilog činjenici da O<sub>2</sub> nije prisutan u svim mernim tačkama, te zbog toga oksid nije formiran po čitavoj površini uzorka, već samo delimično.

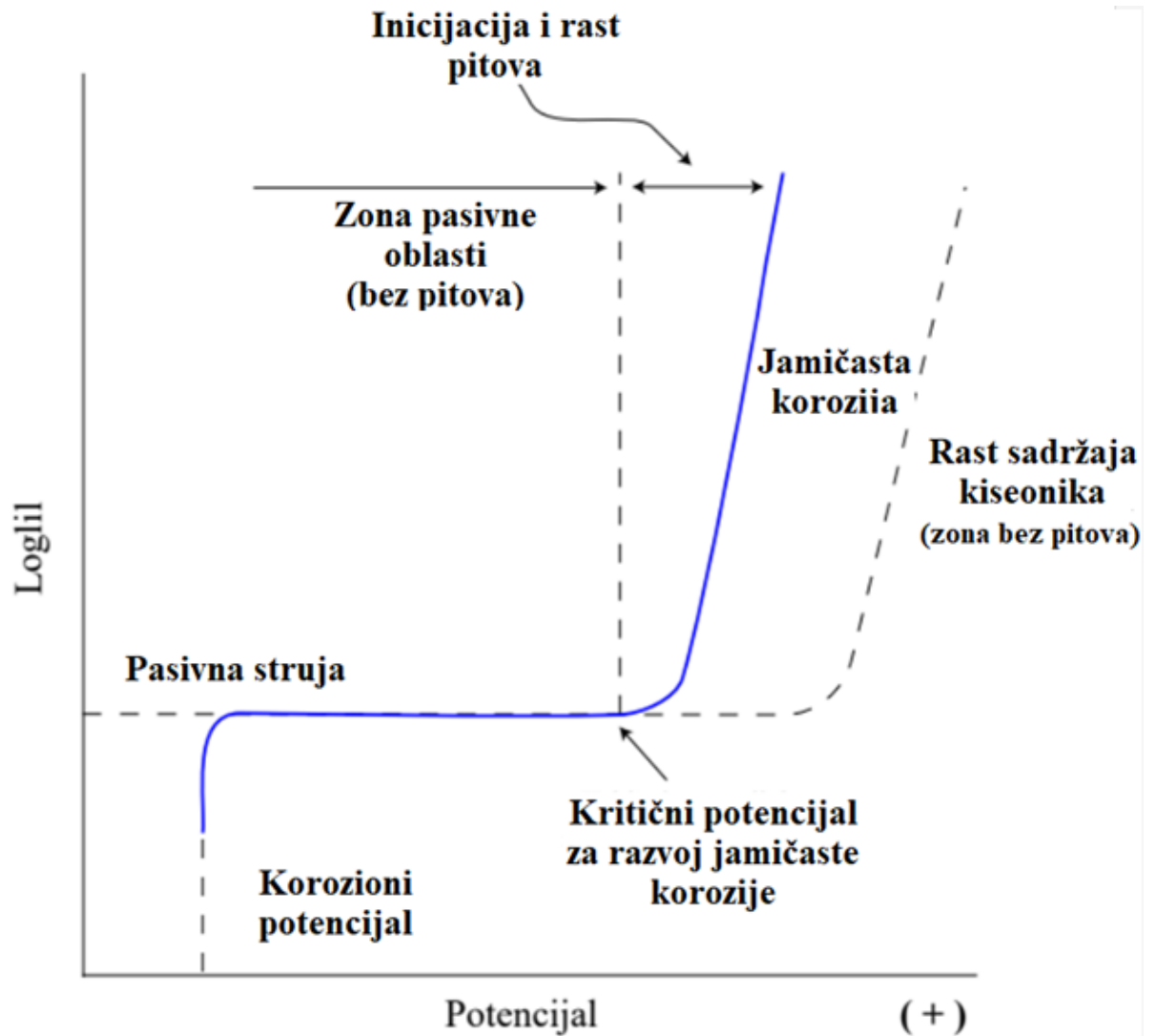
### 5.2.3. Poređenje kinetike korozije legura polarizacionim merenjima

Zahvaljujući polarizacionim merenjima moguće je ispitati korozionu otpornost nikel-titanijum legura anodnom polarizacijom. Idealan slučaj bi bio kada bi anodnom polarizacijom gustina struje veoma malo zavisila od potencijala do izdvajanja kiseonika od oko 1,2-1,5 V. To podrazumeva stanje pasivnosti nikel-titanijum legure. Što je manja struja pasivne oblasti to je manja i brzina korozije. Red veličina struja u pasivnoj oblasti za postojeane legure je od 0,1  $\mu\text{A cm}^{-2}$  do svega par  $\mu\text{A cm}^{-2}$ . Ukoliko su u rastvoru prisutni agresivni joni, u ovom slučaju su to bili joni Cl<sup>-</sup>, oblast pasivnosti se smanjuje usled narušavanja i proboja pasivnog filma.

Naš rezultat ispitivanja zavisnosti korozionog potencijala od vremena u rastvoru 0,9 % NaCl, pH = 7,4, u atmosferi Ar (Slika 35) pokazao je porast vrednosti potencijala za obe legure u funkciji vremena

(NiTi-1  $E_{kor}=-0.18$  V; NiTi-2  $E_{kor}=-0.19$  V). Ovakvo ponašanje ukazuje da kontinualno liveni uzorak pokazuje bolju korozionu stabilnost. Međutim, ni jedan od ispitivanih uzoraka nema stabilnu pasivnu oblast.

Na slici 43 dat je prikaz anodne polarizacione krive pri razvoju jamičaste korozije za nikel-titanijum legure prisutan u literaturi.

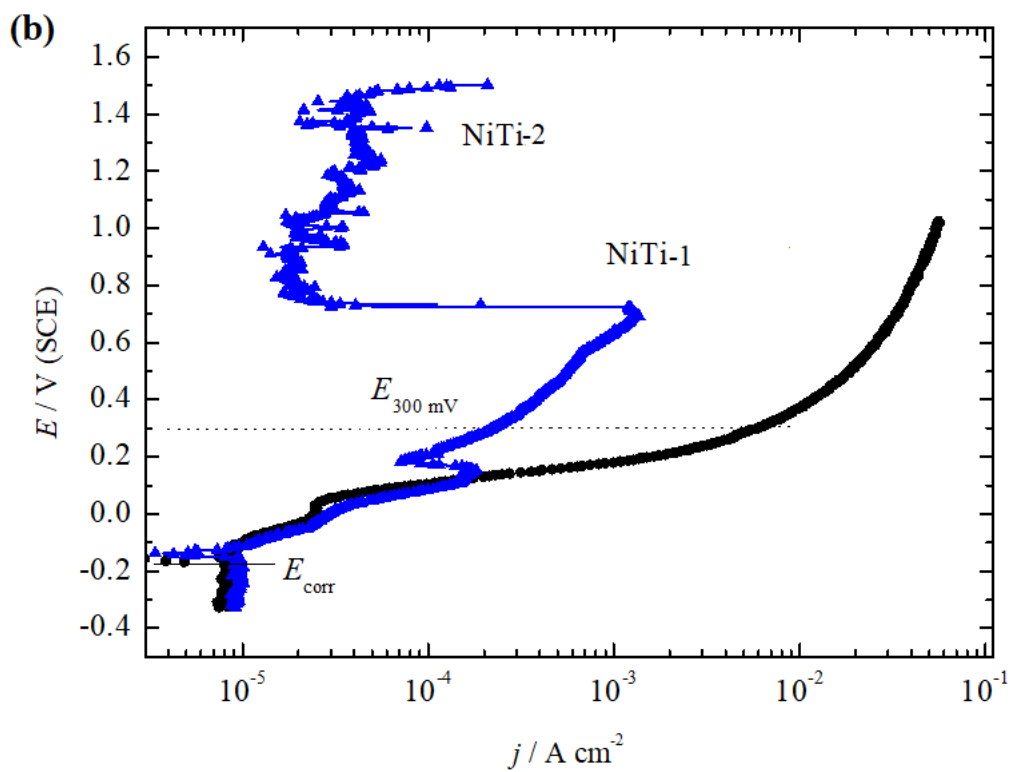
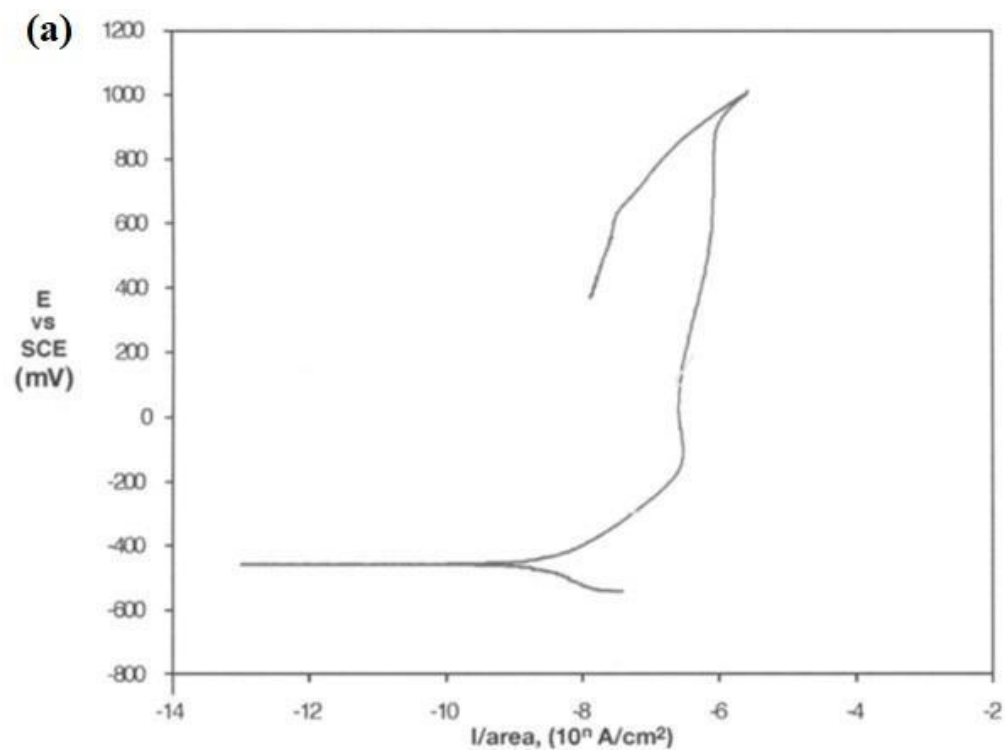


**Slika 43.** Tipičan dijagram zavisnosti struje od potencijala i oblasti aktivnog rastvaranja i pasivne oblasti za nikel-titanijum legure, preuzeto uz modifikacije (154).

Praćenjem zavisnosti potencijala od struje u ovoj studiji (Slika 37), određene su vrednosti polarizacione otpornosti ( $R_p$ ) za NiTi-1 (oko  $100 \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$ ) i za NiTi-2 (oko  $250 \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$ ). Dobijeni rezultati ukazali su na 2.5 puta manju brzinu korozije NiTi-2 legure. Međutim, obe legure su značajno oksidisane i  $R_p$  je više zavisna od strukture oksidnog poluprovodničkog filma, nego direktno od korozije. Porast gustine anodne struje nedvosmisleno ukazuje na obostrano rastvaranje legura. Ovo rastvaranje se kontinuirano nastavlja za leguru NiTi-1, dok zapis anodne krive legure NiTi-2 ukazuje da dolazi do pasivizacije površine kao posledica formiranja oksida. Međutim, poznato je da u prisustvu hloridnih jona dolazi do razaranja pasivnog sloja (repasivizacije) što se na krivoj potenciodinamičke polarizacije kontinualno livene legure registruje pojavom strujnih pikova (oblast metastabilnog pitinga).

Međutim, analizom polarizacionih merenja (Slika 44) u okolini korozionog potencijala su ta dva materijala slična, a tek na višim potencijalima NiTi-2 pokazuje bolju korozionu stabilnost. U uvodnom delu studije dat je detaljan opis koroziono zavisnih parametara za prelazne legure. Veliki broj studija koje su ispitivale kinetiku korozionog procesa u prvom redu ističu značaj mikrostrukture kao unutrašnjeg činioca odgovornog za razvoj nekog vida lokalne korozije (62, 155).

Slika 44a prikazuje standardne polarizacione krive za niki-titanijum leguru dostupne u literaturi koje su upoređene sa legurama u našoj studiji (slika 44. b). Kod ispitivanih legura NiTi-1 i NiTi-2 (slika 44. b), posle ostvarenog korozionog potencijala dolazi do porasta gustine struje sa potencijalom, što ukazuje na rastvaranje legure. NiTi-2 se delimično pasivira u oblasti potencijala od  $\sim -0,1$  do  $0,8 \text{ V}$  ali sa značajnim strujama rastvaranja koje ne zadovoljavaju popisane struje, koje bi trebalo da su manje,  $\sim 10 \mu\text{A cm}^{-2}$ .



**Slika 44.** Polarizacione krive: a) NiTi u hankovom rastvoru (63); b) NiTi-1 i NiTi-2 u fiziološkom rastvoru-naša studija.



Evaluacijom sveobukvatnih rezultata korozionih ispitivanja može se zaključiti da je zabeležena koroziona nestabilnost i klasično i kontinualno livene legure. Međutim, lošija koroziona stabilnost NiTi-1 u odnosu na NiTi-2 ukazuje da su tome doprinele i strukturne promene nastale usled mašinske obrade klasično livene legure. Takođe, razlike u faznoj strukturi i prisustvo kubične NiTi<sub>2</sub> faze u NiTi-2 leguri mogu biti razlog bolje polarizacione otpornosti ove legure (62). Takođe, što su zrna unutar mikrostrukture materijala veća – legura je manje koroziono rezistentna.

Imajući u vidu činjenicu da se klasifikacija različitih formi korozije može izvršiti prema makroskopski i mikroskopski vidljivim fizičkim promenama, metoda kontrole površine metalnih materijala pomoću mikroskopa predstavlja zlatni standard pri oceni razvoja korozije (156).

Stanje površine uzoraka nakon testova korozije zabeleženo je na makroskopskim snimcima, a potom i na svetlosnom mikroskopu sa uveličanjem 200 puta, pri čemu su bili vidljivi jamičasti defekti nastali tokom kontakta obe grupe ispitivanih uzoraka sa rastvorom mlečne kiseline, natrijum sulfida i natrijum-hlorida.

### **5.3. Diskusija rezultata biokompatibilnosti**

U okviru doktorske studije citotoksičnost ispitivanih legura analizirana je kroz dve vrste kontakta materijala i ćelija, direktnog i indirektnog. Direktnim kontaktnom materijala sa ćelijama fibroblasta humanog porekla ispitivana je toksičnost površine samog materijala. Kontakt ćelija sa površinom materijala podrazumevao je direktan kontakt novoformiranog oksida sa fibroblastima više nego elementarnog Ni i Ti sa njima. Prema mnogobrojnim studijama, medijum za ćelijsku kulturu je sredina u kojoj dolazi do reaktivnosti Ni i Ti sa kiseonikom što rezultira formiranjem oksida na površini niktitanijum legure (148).

Suprotno tome, indirektni kontakt podrazumevao je simultanu analizu isključivo efekata korozionih produkata (jona metala i/ili novoformiranih jedinjenja) koji su otpušeni iz legura u medijum za ćelijsku kulturu kroz nehomogene delove oksida. Sa tim u vezi, različito ponašanje ćelija pri kontaktu sa različitim jedinjenjima nikla imalo je za cilj da ukaže na njihovo biološki inertno ili toksično dejstvo.

Rezultati ove studije pokazali su da je mitohondrijalna aktivnost ćelija koje su uzgajane direktno na testiranim uzorcima bila veća u oba vremenska intervala u poređenju sa kontrolnim ćelijama, sa tendencijom proliferacije tokom vremena posmatranja.

Međutim, analizom ćelijskog ponašanja pri kontaktu sa otpustenim metalnim jonima u medijumu za kulturu ćelija (indirektni kontakt) primećeno je da nakon dvadesetčetvoročasovnog porasta broja ćelija (NiTi-1= 103.03 % ; NiTi-2= 107.96 %), sedmog dana po tretmanu dolazi do pada ukupne metaboličke aktivnosti ćelija u kulturi (NiTi-1= 74.0 %; NiTi-2= 77.88 %). Iako su tokom sedmodnevnog kontakta ćelija sa medijumom za kulturu zabeležene niže vrednosti ćelijske proliferacije, dobijeni rezultati ipak nisu ukazali na subtoksične ni letalne toksične doze. Obe legure pokazale su zadovoljavajuću biokompatibilnost.

Značajna ćelijska proliferacija u direktnom kontaktu sa uzorcima mogla bi biti posledica bolje adhezije fibroblasta za površinski oksid, obzirom na njegovo dokazano bioaktivno dejstvo (157). Kako oksid nije bio prisutan u ekstraktima materijala kojim su tretirane ćelije, očekivano je da bude zabeležena manja ćelijska proliferacija.

Opšte je poznato da se u vodenim rastvorima dobro rastvaraju sve soli alkalnih metala kao i sulfati (kao npr.  $\text{NiSO}_4$ ), zbog lakšeg raskidanja jonske veze među elementima. Oksidi, hidroksidi i sulfidi (kao npr.  $\text{Ni}_3\text{S}_2$ ) pripadaju nerastvorljivim solima (148).

Analiza toksičnosti ovih jedinjenja zasnovana isključivo na njihovom ponašanju u rastvorima nije dovoljna. Studije koje su se bavile analizom toksičnog potencijala nikla pokazale su da sveobuhvatni štetni efekti niklovih jedinjenja zavise od fizičko-hemijskih karakteristika datog jedinjenja (rastvorna/nerastvorna jedinjenja), načina izlaganja (puta ulaska u organizam) i puta ulaska u ćelije(75). Nikl jedinjenja mogu ući u organizam na različite načine: inhalacijom, gutanjem sa hranom ili dermalnom apsorpcijom. I rastvorna i nerastvorna jedinjenja imaju slične epigenetske efekte, ali nerastvorna jedinjenja nikla koja se inhalacijom unesu u organizam duže ostaju akumulirana u plućnom parenhimu pa su zato odgovornija za nastanak raka (152, 153). Rastvorna jedinjenja nikla će imati manju stopu zadržavanja jer ih apsorbuju pluća i uklanjaju se iz organizma putem bubrega.

Međutim, rezultati svih studija saglasni su u stavu da su u *in vivo* uslovima kancerogeni efekti izraženiji za nikl jedinjenja nego za elementarni nikl. Objašnjenje se može prepisati činjenici da iako joni nikla mogu proći ćelijsku membranu, rastvorljivi elementarni nikl će se brzo izbacivati kroz bubrege u *in vivo* uslovima što će sprečiti da se vezuje za nukleus ćelija u prekomenoj količini. Ipak, joni Ni koji se endocitozom unesu kroz membranu i dođu u kontakt sa citoplazmatskim organelama,

izazvaće acidozne promene unutar ćelije što za posledicu ima fuziju sa lizozomima i oslobađanje  $\text{Ni}^{2+}$ , što uzrokuje oštećenje DNK ćelija (158). U *in vitro* uslovima, gde izostaje renalni ekskrecioni klirens, elementarni nikl će pokazati kancerogeni potencijal zavisno od doze i dužine ekspozicije. Dodatno, zapremina medijuma u kom se uzgaja ćelijska kultura je prilično mala u poređenju sa površinom ispitivanih legura pa će zbog toga efekat korozije na ćelije u *in vitro* uslovima biti izraženiji nego u biološkom sistemu.

Što se tiče dermalnog puta ulaska, čist nikl zavisno od doze i dužine ekspozicije, unešen preko kože, može izazivati jaku lokalnu iritaciju koja u funkciji vremena vodi sledstvenoj nekrozi tkiva. Međunarodna agencija za istraživanje kancerskih oboljenja (IARC) ispitivala je štetnost nikla i njegovih jedinjenja na ljudski organizam. Dobijeni rezultati su jasno pokazali da su nikl jedinjenja svrstana u grupu I stepena kancerogenog efekta, dok su metalni nikl i legure nikla klasifikovane kao moguće kancerogene materije II stepena, zavisno od legirajućih elemenata i korozionog ponašanja (62, 155).

Sa stanovišta inhalacionog puta unošenja, udisanje nerastvornih jedinjenja nikla ima za posledicu njihovo taloženje u različitim delovima respiratornog trakta zavisno od veličine nataloženih čestica. Čestice manje od 100  $\mu\text{m}$  deponovaće se u nazofaringealnom regionu, dok će čestice akumulirane u traheobrahialnom regionu biti manje, između 4  $\mu\text{m}$  i 10  $\mu\text{m}$ . Izuzetno male čestice, prečnika manjeg od 4  $\mu\text{m}$ , deponovaće se u donjem alveolanom regionu respiratornog trakta (159).

Da bi se mogo izvršiti testiranje biokompatibilnosti na odgovarajućim ćelijama, neophodno je znati različito ćelijsko ponašanje za različite osobine površine materijala. Rezultati studija koje su ispitivale efekte različitih površinskih tretmana na koncentraciju nikla na površini pokazali su da ova vrednost kod istog uzorka može da varira od 0,4 do 27% zavisno od metode pripreme (159). Ukoliko se nikl-titanijum legura tretira vodonikom peroksidom toksični efekat legure biće sličan onom kod čistog nikla. Međutim, ukoliko se legura izloži sterilizacionom postupku u autoklavu ili vodenoj pari interakcija sa ćelijama pokazala je netoksičnost površine.

Poznato je da ćelije fibroblasta preferiraju glatke površine, pokazujući bolju adheziju za njih (150), (160). Shodno tome, uzorke smo pripremali mašinskim poliranjem njihovih površina.

Problem sa rezultatima dobijenih na bazi *in vitro* istraživanja jeste što se mogu posmatrati samo kao pretpostavke obzirom na dinamične uslove unutar čovekovog organizma. Ne može se sa sigurnošću utvrditi koja jedinjenja i soli nikla se formiraju u biološkoj sredini nakon degradacije legura bogatih niklom. Zbog prirode sredine, jedina jedinjenja koja se sigurno očekuju su  $\text{NiO}$  i  $\text{NiCl}$  (148).

Analizom dostupnih podataka u literaturi može se zaključiti da termin biokompatibilnosti nikel-titanijum legura nije suštinsko i apsolutno svojstvo ovih materijala već se definiše kao kontekstualni fenomen koji zavisi od budućeg mesta aplikacije u organizmu, komponenta koje se oslobode kao korozioni produkti, i novih hemijskih jedinjenja koja se formiraju pri kontaktu produkata legure sa biološkim fluidima (29, 161).

U vezi sa citološkom karakterizacijom usne duplje, za *in vitro* ispitivanje citotoksičnosti legura izabrane su primarne ćelijske linije fibroblasta. Fibroblasti su prisutni u skoro svim vrstama tkiva i igraju važnu ulogu u inflamatornim reakcijama tkiva. Takođe, ove ćelije se detektuju među prvima unutar hirurške rane koja zarasta (162).

Ćelije korišćene u našoj studiji su dobijene biopsijom gingive. Mnogobrojne studije pokazale su da se na ovaj način bolje simulira metabolički potencijal organizma jer primarno izolovane ćelije poseduju osobine tkiva iz kog su uzete.

Balać i sar. dali su kritički osvrt na ispitivanje toksičnosti biomaterijala kroz *in vitro* testove i razloge zbog kojih laboratorijski uslovi mogu biti klinički nerelevantni (57). Kao prvo, kontrolisani uslovi u kojima se ćelije kultivišu ne dozvoljavaju njihovu metaboličku aktivnost kao što je to unutar živog organizma. Drugo, medijumi za ćelijsku kultivaciju predstavljaju suspenzije pH neutralne vrednosti pa mogu biti nerelevantni za procenu postojanosti nekih metalnih materijala. Poznato je da se *in vivo* uslovi odlikuju promenom acido-bazne ravnoteže. Na primer, prilikom ugradnje implantata dolazi do pada pH vrednosti u implantiranoj regiji na 5,5. Oporavak ka neutralnoj sredini ostvaruje se tek nakon dve nedelje (163). Kiselost sredine može dovesti do većeg otpuštanja jona nikla u periimplantatnom tkivu. Treće, tokom kliničke implantacije metalnih materijala može doći do transporta oslobođenih molekula iz materijala u udaljena tkiva i organe i ćelijskog kontakta koji se ne može predvideti.

## VI ZAKLJUČCI

Na osnovu sprovedenih *in vitro* istraživanja o poređenju biofunktionalnih osobina nikl-titanijum legure dobijene metodom klasičnog i kontinualnog livenja proizilaze sledeći zaključci:

1. Za razliku od klasičnog livenja u kalupe, tehnologija kontinualnog livenja daje mogućnost dobijanja odlivaka malih dimenzija. Na taj način smanjena je potreba za daljim postupcima hladne ili tople obrade.
2. Iako tehnologija kontinualnog livenja rezultira različitim hemijskim sadržajem Ni i Ti, ova činjenica ne utiče negativno na biološke karakteristike dobijene legure. Pored toga, pošto nije bilo potrebe za sekundarnim proizvodnim procesima, mikrostruktura uzoraka za kontinualno livenje je pokazala manja zrna i veću homogenost mikrostrukture u poređenju sa klasično livenom legurom.
3. Analizirajući uticaj hemijskog sastava legura na tvrdoću, uočena je linearna zavisnost između sadržaja nikla i većih vrednosti tvrdoće kod kontinualno livenih uzoraka.
4. Testovima korozione postojanosti legura u rastvorima pH neutralne veštačke pljuvačke nije uočena razlika u koncentraciji otpuštenih metalnih jona iz obe grupe uzoraka, niti su dobijene vrednosti bile klinički značajne; dok je u slučaju uranjanja uzoraka u kiselu sredinu manja supresija Ni i Ti jona zabeležena iz legure nikl-titanijum dobijene kontinualnim livenjem. Dakle, može se zaključiti da je kontinualno livena legura otpornija na koroziju, iako su obe grupe uzoraka pokazale skoro istu debljinu oksidnog sloja.
5. MTT testom mitohondrijske aktivnosti ćelija pokazana je zadovoljavajuća biokompatibilnost pri direktnom i indirektnom kontaktu ćelija fibroblasta humanog porekla sa ispitivanim uzorcima.

## LITERATURA

1. Knowles KM, Smith DA. The crystallography of the martensitic transformation in equiatomic nickel-titanium. *Acta Metallurgica*. 1981 Jan;29(1):101–10.
2. Wadood A. Brief Overview on Nitinol as Biomaterial. *Advances in Materials Science and Engineering*. 2016 Nov 6;2016:e4173138.
3. Gao S, Bodunde OP, Qin M, Liao WH, Guo P. Microstructure and phase transformation of nickel-titanium shape memory alloy fabricated by directed energy deposition with in-situ heat treatment. *Journal of Alloys and Compounds*. 2022 Mar;898:162896.
4. Jokanović V, Petrović B, Zivkovic M. The main characteristics and application of the shape memory alloys in orthodontics and endodontics. *Serbian Dental Journal*. 2019 Mar 1;66:29–35.
5. Ramezannejad A, Xu W, Xiao WL, Fox K, Liang D, Qian M. New insights into nickel-free superelastic titanium alloys for biomedical applications. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. 2019 Dec;23(6):100783.
6. Gavini G, Santos MD, Caldeira CL, Machado ME de L, Freire LG, Iglecias EF, et al. Nickel-titanium instruments in endodontics: a concise review of the state of the art. *Braz Oral Res*. 2018 Oct 18;32(suppl 1):e67.
7. Bansiddhi A, Sargeant TD, Stupp SI, Dunand DC. Porous NiTi for bone implants: A review. *Acta Biomater*. 2008 Jul;4(4):773–82.
8. Stamenković D, i sar. *Stomatološki materijali - knjiga 1*, Stomatološki fakultet, Beograd, 2009.
9. Wen S, Gan J, Li F, Zhou Y, Yan C, Shi Y. Research Status and Prospect of Additive Manufactured Nickel-Titanium Shape Memory Alloys. *Materials (Basel)*. 2021 Aug 11;14(16):4496.
10. Hodgson D, Russell S. Nitinol melting, manufacture and fabrication. *Minimally Invasive Therapy & Allied Technologies*. 2000 Jan;9(2):61–5.
11. Umale T, Salas D, Tomes B, Arroyave R, Karaman I. The effects of wide range of compositional changes on the martensitic transformation characteristics of NiTiHf shape memory alloys. *Scripta Materialia*. 2019 Mar;161:78–83.
12. Morgan NB. Medical shape memory alloy applications—the market and its products. *Materials Science and Engineering: A*. 2004 Jul 25;378(1):16–23.
13. Robertson SW. On the Mechanical Properties and Microstructure of Nitinol for Biomedical Stent Applications. 2006 Dec 15 [cited 2022 Sep 10]; Available from: <https://escholarship.org/uc/item/1d5926nx>
14. Rudolf R, Lazić V, Raić K. *Metalni materijali u medicini i stomatologiji*. Tehnološko-metalurški fakultet, Bograd, 2020.

15. Portella PD, Helmerich R. Adolf Martens and his contribution to materials engineering. *Engineering Failure Analysis*. 2014 Aug 1;43:2–10.
16. Kauffman GB, Mayo I. The Story of Nitinol: The Serendipitous Discovery of the Memory Metal and Its Applications. *Chem Educator*. 1997 Jun;2(2):1–21.
17. Ivanić I, Gojić M, Kožuh S. Slitine s prisjetljivosti oblika (II. dio): podjela, proizvodnja i primjena. *Kemija u industriji : časopis kemičara i tehnologa Hrvatske*. 2014;63(9–10):331–44.
18. Zhang X, Sehitoglu H. Crystallography of the B2 → R → B19' phase transformations in NiTi. *Materials Science and Engineering: A*. 2004 Jun;374(1–2):292–302.
19. Stamenković D. et al, *Stomatološki materijali, Knjiga 2, Stomatološki fakultet, Beograd*, 2012;281-292
20. Lexcellent C, Leclercq S, Gabry B, Bourbon G. The two way shape memory effect of shape memory alloys: an experimental study and a phenomenological model. *International Journal of Plasticity*. 2000 Jan 1;16(10):1155–68.
21. Čorić D. Posebni metalni materijali - III Dio [Internet]. Ciglar D, editor. Zagreb: Fakultet strojarstva i brodogradnje; 2017 [cited 2022 Oct 16]. 89 p. Available from: <https://www.bib.irb.hr/878161>
22. Mehrpouya M, Cheraghi Bidsorkhi H. MEMS applications of NiTi based shape memory alloys: A review. *Micro and Nanosystems*. 2016 Nov 1;8:79–91.
23. Kapoor D. Nitinol for Medical Applications: A Brief Introduction to the Properties and Processing of Nickel Titanium Shape Memory Alloys and their Use in Stents. *Johnson Matthey Technology Review*. 2017 Jan 1;61:66–76.
24. Stoeckel D, Pelton A, Duerig T. Self-expanding nitinol stents: material and design considerations. *Eur Radiol*. 2004 Feb;14(2):292–301.
25. Duerig T, Pelton A, Stöckel D. An overview of nitinol medical applications. *Materials Science and Engineering: A*. 1999 Dec 15;273–275:149–60.
26. Alavi S, Kachuie M. Assessment of the hardness of different orthodontic wires and brackets produced by metal injection molding and conventional methods. *Dent Res J (Isfahan)*. 2017;14(4):282–7.
27. Thompson SA. An overview of nickel–titanium alloys used in dentistry. *International Endodontic Journal*. 2000;33(4):297–310.
28. Sachdeva R, Fukuyo S, Suzuki K, Oshida Y, Miyazaki S. Shape Memory NiTi Alloys - Applications in Dentistry. *Materials Science Forum*. 1990 Jan 1;56–58:693–8.
29. Tomić SZ. Biokompatibilnost i imunomodulatorne osobine nanomaterijala na bazi nanočestica zlata i ugljeničnih nanocevi, i naprednih biomaterijala na bazi NiTi i CuAlNi legura. Универзитет у Београду [Internet]. 2016 Jun 6 [cited 2023 Mar 18]; Available from: <https://nardus.mpn.gov.rs/handle/123456789/6331>

30. Senthilnathan K, Shamimi A, Bonsignore C, Paranjape H, Duerig T. Effect of Prestrain on the Fatigue Life of Superelastic Nitinol. *J of Materi Eng and Perform*. 2019 Oct 1;28(10):5946–58.
31. Mirshekari GR, Saatchi A, Kermanpur A, Sadrnezhaad SK. Laser welding of NiTi shape memory alloy: Comparison of the similar and dissimilar joints to AISI 304 stainless steel. *Optics & Laser Technology*. 2013 Dec 30;54:151–8.
32. Liu Y, Xie Z, Van Humbeeck J, Delaey L. Asymmetry of stress–strain curves under tension and compression for NiTi shape memory alloys. *Acta Materialia*. 1998 Jul 24;46(12):4325–38.
33. Niinomi M, Liu Y, Nakai M, Liu H, Li H. Biomedical titanium alloys with Young’s moduli close to that of cortical bone. *Regen Biomater*. 2016 Sep;3(3):173–85.
34. Bahraminasab M, Sahari B. NiTi Shape Memory Alloys, Promising Materials in Orthopedic Applications. In 2013. p. 261–78.
35. Akbarinia S, Sadrnezhaad SK, Hosseini SA. Porous shape memory dental implant by reactive sintering of TiH<sub>2</sub>–Ni-Urea mixture. *Materials Science and Engineering: C*. 2020 Feb 1;107:110213.
36. Metals as Biomaterials | Wiley [Internet]. Wiley.com. [cited 2023 Apr 8]. Available from: <https://www.wiley.com/en-us/Metals+as+Biomaterials-p-9780471969358>
37. Shah KC, Chao D, Wu BM, Jensen OT. Shape-Memory Retained Complete Arch Guided Implant Treatment Using Nitinol (Smileloc) Abutments. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2019 Aug;31(3):427–35.
38. Shah KC, Linsley CS, Wu BM. Evaluation of a shape memory implant abutment system: An up to 6-month pilot clinical study. *J Prosthet Dent*. 2020 Feb;123(2):257–63.
39. Shah KC, Seo YR, Wu BM. Clinical application of a shape memory implant abutment system. *J Prosthet Dent*. 2017 Jan;117(1):8–12.
40. Siu A, Chow J, WU B. Novel attachment system with shape-memory alloy: The SmileLoc. Conference: 2nd Branemark Memorial Symposium.2017
41. Mistry G, Sanghvi S. Screw-less and Cement-less Retrievable Implant Prosthetic Systems-A Review. *International Journal of Dental Science and Innovative Research* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2022 Oct 20]; Available from: [https://www.academia.edu/43740572/Screw\\_less\\_and\\_Cement\\_less\\_Retrievable\\_Implant\\_Prosthetic\\_Systems\\_A\\_Review](https://www.academia.edu/43740572/Screw_less_and_Cement_less_Retrievable_Implant_Prosthetic_Systems_A_Review)
42. Jabbari YSA. Physico-mechanical properties and prosthodontic applications of Co-Cr dental alloys: a review of the literature. *J Adv Prosthodont*. 2014 Apr 22;6(2):138–45.
43. Marie A, Keeling A, Hyde TP, Nattress BR, Pavitt S, Murphy RJ, et al. Deformation and retentive force following in vitro cyclic fatigue of cobalt-chrome and aryl ketone polymer (AKP) clasps. *Dental Materials*. 2019 Jun 1;35(6):e113–21.



44. Kola MZ, Raghav D, Kumar P, Alqahtani F, Murayshed MS, Bhagat TV. In vitro Assessment of Clasps of Cobalt-Chromium and Nickel-titanium Alloys in Removable Prosthesis. *J Contemp Dent Pract.* 2016 Mar 1;17(3):253–7.
45. Shabalovskaya SA. Surface, corrosion and biocompatibility aspects of Nitinol as an implant material. *Biomed Mater Eng.* 2002;12(1):69–109.
46. Jin S, Zhang Y, Wang Q, Zhang D, Zhang S. Influence of TiN coating on the biocompatibility of medical NiTi alloy. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2013 Jan 1;101:343–9.
47. Eliaz N. Corrosion of Metallic Biomaterials: A Review. *Materials (Basel).* 2019 Jan 28;12(3):E407.
48. Wang J, Li N, Rao G, Han E hou, Ke W. Stress corrosion cracking of NiTi in artificial saliva. *Dental Materials.* 2007 Feb 1;23(2):133–7.
49. Tian H, Chen M, Ge F, Song K, Wang X, Cui Z. Hydrogen permeation and stress corrosion cracking of heat-affected zone of E690 steel under the combined effect of sulfur species and cathodic protection in artificial seawater. *Construction and Building Materials.* 2021 Aug 16;296:123721.
50. Venugopalan R, Trépanier C. Assessing the corrosion behaviour of Nitinol for minimally-invasive device design. *Minimally Invasive Therapy & Allied Technologies.* 2000 Jan 1;9(2):67–73.
51. Stansbury EE, Buchanan RA. Fundamentals of Electrochemical Corrosion [Internet]. 2000 [cited 2022 Oct 22]. Available from: <https://dl.asminternational.org/technical-books/monograph/128/Fundamentals-of-Electrochemical-Corrosion>
52. Grgur B. KOROZIJA I ZAŠTITA. Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd. 2020.
53. Bae I, Kim BH, Kim DG, Sohn IB, Yang SW. Salt Heat Treatment and Passivation to Improve the Corrosion Resistance of Nitinol (Ni-Ti). *Materials (Basel).* 2021 Dec 16;14(24):7789.
54. Taheri Andani M, Haberland C, Walker JM, Karamooz M, Sadi Turabi A, Saedi S, et al. Achieving biocompatible stiffness in NiTi through additive manufacturing. *Journal of Intelligent Material Systems and Structures.* 2016 Nov 1;27(19):2661–71.
55. Lugovskoy A, Krovitsky T, Mor-Yossef C. Electropolishing of Nitinol Wires and Its Influence on Corrosion Mechanisms. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci.* 2019 Dec;358(5):052058.
56. Bignon Q, Martin F, Auzoux Q, Miserque F, Tabarant M, Latu-Romain L, et al. Oxide formation on titanium alloys in primary water of nuclear pressurised water reactor. *Corrosion Science.* 2019 Apr;150:32–41.
57. Balać I, Bugarski B, Ćosić I, Dramićanin M, Đorđević D, Filipović ND, et al. Biomaterijali [Internet]. Beograd : Institut tehničkih nauka Srpske akademije nauka i umetnosti; Društvo za istraživanje materijala; 2010 [cited 2022 Oct 27]. Available from: <https://vinar.vin.bg.ac.rs/handle/123456789/7344>
58. Mitoraj-Królikowska M, Drożdż E. Some Aspects of Oxidation and Reduction Processes in Ti–Al and Ti–Al–Nb Systems. *Materials (Basel).* 2022 Feb 22;15(5):1640.

59. Davis JR. Corrosion: Understanding the Basics. ASM International; 2000. 572 p.
60. McBride M, Murray N. Environmental Factors Governing Corrosion Rates on Overhead Transmission Structures, Hardware and Conductors. A report. Electric power research institute. 2011.
61. Oden A. Pentagon Chemistry - Illustrative and Explanative Series. 2020.
62. Gojić M, Vrsalović L, Kožuh S, Čubela D, Gudić S. Microstructure and Corrosion Properties Ni-Ti Alloy after Electrochemical Testing in 0.9 % NaCl Solution. *Zaštita materijala*. 2012;53(4):345–51.
63. Trepanier C, Venugopalan R, Pelton AR. Corrosion Resistance and Biocompatibility of Passivated NiTi. In: Yahia L, editor. *Shape Memory Implants* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2000 [cited 2022 Sep 19]. p. 35–45. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-59768-8\\_3](http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-59768-8_3)
64. Močnik P, Kosec T, Kovač J, Bizjak M. The effect of pH, fluoride and tribocorrosion on the surface properties of dental archwires. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017 Sep 1;78:682–9.
65. Quadras DD, Nayak USK, Kumari NS, Priyadarshini HR, Gowda S, Fernandes B. In vivo study on the release of nickel, chromium, and zinc in saliva and serum from patients treated with fixed orthodontic appliances. *Dent Res J (Isfahan)*. 2019 Aug;16(4):209–15.
66. Rincic Mlinaric M, Durgo K, Katic V, Spalj S. Cytotoxicity and oxidative stress induced by nickel and titanium ions from dental alloys on cells of gastrointestinal tract. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2019 Nov 15;383:114784.
67. Imani MM, Delavarian M, Arab S, Sadeghi M. Assessment of hair nickel and chromium levels in patients with a fixed orthodontic appliance: a systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Postepy Dermatol Alergol*. 2019 Jun;36(3):261–6.
68. Almutairi N, Almutawa F. The role of nickel allergy in hand dermatitis and its impact on handling cupronickel currency coins. A comparative cohort study from Kuwait. *Postepy Dermatol Alergol*. 2017 Aug;34(4):313–21.
69. Saito M, Arakaki R, Yamada A, Tsunematsu T, Kudo Y, Ishimaru N. Molecular Mechanisms of Nickel Allergy. *Int J Mol Sci*. 2016 Feb 2;17(2):E202.
70. Büdinger L, Hertl M. Immunologic mechanisms in hypersensitivity reactions to metal ions: an overview. *Allergy*. 2000 Feb;55(2):108–15.
71. Sevcikova J, Pavkova Goldbergova M. Biocompatibility of NiTi alloys in the cell behaviour. *Biometals*. 2017 Apr;30(2):163–9.
72. Huzum B, Puha B, Necoara RM, Gheorghevi S, Puha G, Filip A, et al. Biocompatibility assessment of biomaterials used in orthopedic devices: An overview (Review). *Exp Ther Med*. 2021 Nov;22(5):1315.
73. Yuksel B. Investigation of morphological abnormalities in red blood cells among dental laboratory technicians. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2021 Apr;28(16):20650–8.

74. Hu SW, Lin YY, Wu TC, Hong CC, Chan CC, Lung SCC. Workplace air quality and lung function among dental laboratory technicians. *Am J Ind Med.* 2006 Feb;49(2):85–92.
75. Bojanic V, Ilic V, Jovic B. EPIDEMIOLOGICAL AND PATHOGENETIC ASPECTS OF NICKEL POISONING. *Acta Medica Medianae.* 2007 Apr 1;46(2):37–44.
76. Hariyani N, Berniyanti T, Setyowati D. Effects of Occupational Environmental Controls on the Level of Co, Ni and Cr among Dental Technicians. *International Journal of Environmental Science and Development.* 2015 Jan 1;6:643–7.
77. Sharma N, Kumar K. Fabrication of NiTi alloy: A review. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers Part L Journal of Materials Design and Applications.* 2015 Dec 14;232.
78. Kabiri Y, Kermanpur A, Foroozmehr A. Comparative study on microstructure and homogeneity of NiTi shape memory alloy produced by copper boat induction melting and conventional vacuum arc melting. *Vacuum.* 2012 Feb 29;86(8):1073–7.
79. Jiang S yong, Zhang Y qiu. Microstructure evolution and deformation behavior of as-cast NiTi shape memory alloy under compression. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China.* 2012 Jan 1;22(1):90–6.
80. Frenzel J, George EP, Dlouhy A, Somsen Ch, Wagner MFX, Eggeler G. Influence of Ni on martensitic phase transformations in NiTi shape memory alloys. *Acta Materialia.* 2010 May 1;58(9):3444–58.
81. Ziolkowski A. Pseudoelasticity of shape memory alloys : theory and experimental studies /. 1<sup>st</sup> Edition. Butterworth-Heinemann. 2015.
82. Čapek J, Vojtech D, Novak P. Preparation of the NiTi alloy by a powder metallurgy technique. *METAL 2012 - Conference Proceedings, 21st International Conference on Metallurgy and Materials.* 2012 Jan 1;
83. Chekotu JC, Groarke R, O’Toole K, Brabazon D. Advances in Selective Laser Melting of Nitinol Shape Memory Alloy Part Production. *Materials (Basel).* 2019 Mar 8;12(5):809.
84. Zhou Q, Hayat MD, Chen G, Cai S, Qu X, Tang H, et al. Selective electron beam melting of NiTi: Microstructure, phase transformation and mechanical properties. *Materials Science and Engineering: A.* 2019 Jan 28;744:290–8.
85. Elahinia M, Shayesteh Moghaddam N, Taheri Andani M, Amerinatanzi A, Bimber BA, Hamilton RF. Fabrication of NiTi through additive manufacturing: A review. *Progress in Materials Science.* 2016 Oct 1;83:630–63.
86. Bansiddhi A, Sargeant TD, Stupp SI, Dunand DC. Porous NiTi for bone implants: a review. *Acta Biomater.* 2008 Jul;4(4):773–82.
87. Bernard S, Krishna Balla V, Bose S, Bandyopadhyay A. Compression fatigue behavior of laser processed porous NiTi alloy. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials.* 2012 Sep 1;13:62–8.

88. Sharma N, Gupta K. Wire Spark Erosion Machining of Ni rich NiTi Shape Memory Alloy for Bio-Medical Applications. *Procedia Manufacturing*. 2019 Jan 1;35:401–6.
89. Roy A, S N. Impact of variation in wire electro discharge machining responses of homologous TiNiCu shape memory alloys for smart applications: an experimental investigation. *Mater Res Express*. 2018 Sep;5(12):125701.
90. Stambolič A, Anžel I, Lojen G, Kocijan A, Jenko M, Rudolf R. Continuous vertical casting of a NiTi alloy. *Mater Tehnol*. 2016 Dec 12;50(6):981–8.
91. Lojen G, Stambolič A, Šetina Batič B, Rudolf R. Experimental Continuous Casting of Nitinol. *Metals*. 2020 Apr;10(4):505.
92. Hall R, Box PO. Synthesis of NiTi Microtubes via the Kirkendall Effect during Interdiffusion of Ti-Coated Ni Wires. *Intermetallics*. 2018 Jan 92(13):42-48
93. Mohammed A, Abdullah A. SCANNING ELECTRON MICROSCOPY (SEM): A REVIEW. Conference: Proceedings of International Conference on HYDRAULICS, PNEUMATICS, SEALING ELEMENTS, TOOLS, PRECISION MECHANICS, SPECIFIC ELECTRONIC EQUIPMENT & MECHATRONICS :9. 2019 Jan.
94. Chekotu JC, Goodall R, Kinahan D, Brabazon D. Control of Ni-Ti phase structure, solid-state transformation temperatures and enthalpies via control of L-PBF process parameters. *Materials & Design*. 2022 Jun 1;218:110715.
95. Kocich R, Szurman I, Kurska M, Kocich R, Szurman I, Kurska M. The Methods of Preparation of Ti-Ni-X Alloys and Their Forming. In: *Shape Memory Alloys - Processing, Characterization and Applications* [Internet]. IntechOpen; 2013 [cited 2023 May 23]. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/44019>
96. Tsai DC, Chiang CH. Vacuum Arc Melting Processes for Biomedical Ni-Ti Shape Memory Alloy. Zhou J, Adiguzel O, editors. *MATEC Web of Conferences*. 2015;30:01004.
97. Fashu S, Lototsky M, Davids MW, Pickering L, Linkov V, Tai S, et al. A review on crucibles for induction melting of titanium alloys. *Materials & Design*. 2020 Jan 15;186:108295.
98. Nayan N, Govind, Saikrishna CN, Ramaiah KV, Bhaumik SK, Nair KS, et al. Vacuum induction melting of NiTi shape memory alloys in graphite crucible. *Materials Science and Engineering: A*. 2007 Sep 15;465(1):44–8.
99. Gao S, Weng F, Bodunde OP, Qin M, Liao WH, Guo P. Spatial characteristics of nickel-titanium shape memory alloy fabricated by continuous directed energy deposition. *Journal of Manufacturing Processes*. 2021 Nov;71:417–28.
100. Frenzel J, Neuking K, Eggeler G. Induction Melting of NiTi Shape Memory Alloys – The Influence of the Commercial Crucible Graphite on Alloy Quality. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik*. 2004;35(5):352–8.

101. Zhang Z, Frenzel J, Neuking K, Eggeler G. On the reaction between NiTi melts and crucible graphite during vacuum induction melting of NiTi shape memory alloys. *Acta Materialia*. 2005 Aug 1;53(14):3971–85.
102. Popović D. Characteristics of polymethyl-methacrylate enriched with zinc-oxide nanoparticles in complete dentures [Internet] [doctoralThesis]. Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet; 2018 [cited 2023 May 23]. Available from: <https://smile.stomf.bg.ac.rs/handle/123456789/1038>
103. Newbury DE, Ritchie NWM. Performing elemental microanalysis with high accuracy and high precision by scanning electron microscopy/silicon drift detector energy-dispersive X-ray spectrometry (SEM/SDD-EDS). *J Mater Sci*. 2015 Jan 1;50(2):493–518.
104. Bertol APL, Chaves PC, Hinrichs R, Vasconcellos MAZ, Reis MA. Methodology for a fast determination of EDX Si(Li) detector response function in the 5 keV to 15 keV range. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*. 2018 Nov 11;908:394–400.
105. Nasrazadani S, Hassani S. Modern analytical techniques in failure analysis of aerospace, chemical, and oil and gas industries. In: *Handbook of Materials Failure Analysis with Case Studies from the Oil and Gas Industry* [Internet]. Elsevier; 2016 [cited 2023 Feb 25]. p. 39–54. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081001172000108>
106. Gallardo J, Gumpel P, Strittmatter J. Phase Change Behavior of Nitinol Shape Memory Alloys. *Advanced Engineering Materials*. 2002 Jul 17;4:437–52.
107. Marchenko E, Baigonakova G, Dubovikov K, Kokorev O, Yasenchuk Y, Vorozhtsov A. In Vitro Bio-Testing Comparative Analysis of NiTi Porous Alloys Modified by Heat Treatment. *Metals*. 2022 Jun;12(6):1006.
108. Feng Y, Du Z, Hu Z. Study on the Effect of Ni Addition on the Microstructure and Properties of NiTi Alloy Coating on AISI 316 L Prepared by Laser Cladding. *Materials*. 2021 Jan;14(16):4373.
109. Di Cocco V, Maletta C, Natali S. Structural transitions in a NiTi alloy: a multistage loading-unload cycle. *Frattura ed Integrità Strutturale*. 2011 Oct 1;5.
110. El-Hadad S, Ibrahim K, Wagner L. Characteristics of Anodized Layer in Investment Cast Ni50Ti50 Shape Memory Alloy. *Journal of Metallurgy*. 2014 Feb 25;2014:1–6.
111. Asgarinia F, Hashemi SM, Parvizi S. 5 - Heat treatment of NiTi alloys. In: Thomas S, Behera A, Nguyen TA, editors. *Nickel-Titanium Smart Hybrid Materials* [Internet]. Elsevier; 2022 [cited 2023 May 23]. p. 69–101. (Micro and Nano Technologies). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978032391173300016X>
112. Foroozmehr A, Kermanpur A, Ashrafizadeh F, Kabiri Y. Investigating microstructural evolution during homogenization of the equiatomic NiTi shape memory alloy produced by vacuum arc remelting. *Materials Science and Engineering: A*. 2011 Oct 15;528(27):7952–5.

113. Bhagyaraj J, Ramaiah KV, Saikrishna CN, Bhaumik SK, Gouthama. Behavior and effect of Ti<sub>2</sub>Ni phase during processing of NiTi shape memory alloy wire from cast ingot. *Journal of Alloys and Compounds*. 2013 Dec;581:344–51.
114. Hornbuckle B, Yu X, Noebe R, Martens R, Weaver M, Thompson G. Hardening behavior and phase decomposition in very Ni-rich Nitinol alloys. *Materials Science and Engineering: A*. 2015 Jul 1;639:336–44.
115. Clemens H, Mayer S, Scheu C. Microstructure and Properties of Engineering Materials. In: *Neutrons and Synchrotron Radiation in Engineering Materials Science* [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2017 [cited 2022 Sep 8]. p. 1–20. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9783527684489.ch1>
116. Pang N, Shi Z, Wang C, Li N, Lin Y. Influence of Cr, Mn, Co and Ni Addition on Crystallization Behavior of Al<sub>13</sub>Fe<sub>4</sub> Phase in Al-5Fe Alloys Based on ThermoDynamic Calculations. *Materials (Basel)*. 2021 Feb 6;14(4):768.
117. Sui S, Chew Y, Weng F, Tan C, Du Z, Bi G. Achieving grain refinement and ultrahigh yield strength in laser aided additive manufacturing of Ti–6Al–4V alloy by trace Ni addition. *Virtual and Physical Prototyping*. 2021 Jul 4;16(4):417–27.
118. Mashreghi A, Zare H. Investigation of nucleation and growth mechanism during electrochemical deposition of nickel on fluorine doped tin oxide substrate. *Current Applied Physics*. 2016 May;16(5):599–604.
119. Khanlari K, Shi Q, Li K, Hu K, Tan C, Zhang W, et al. Fabrication of Ni-Rich 58NiTi and 60NiTi from Elementally Blended Ni and Ti Powders by a Laser Powder Bed Fusion Technique: Their Printing, Homogenization and Densification. *Int J Mol Sci*. 2022 Aug 22;23(16):9495.
120. Mills S, Noebe R, Dellacorte C, Amin-Ahmadi B, Stebner A. Development of Nickel-Rich Nickel–Titanium–Hafnium Alloys for Tribological Applications. *Shape Memory and Superelasticity*. 2020 Jul 8;6.
121. Rondelli G, Torricelli P, Fini M, Rimondini L, Giardino R. In vitro corrosion study by EIS of an equiatomic NiTi alloy and an implant quality AISI 316 stainless steel. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2006;79B(2):320–4.
122. Geetha M, Singh AK, Muraleedharan K, Gogia AK, Asokamani R. Effect of thermomechanical processing on microstructure of a Ti–13Nb–13Zr alloy. *Journal of Alloys and Compounds*. 2001 Nov 14;329(1):264–71.
123. Bai Z, Rotermund HH. The intrinsically high pitting corrosion resistance of mechanically polished nitinol in simulated physiological solutions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2011 Oct;99(1):1–13.
124. Sullivan SJL, Dreher ML, Zheng J, Chen L, Madamba D, Miyashiro K, et al. Effects of Oxide Layer Composition and Radial Compression on Nickel Release in Nitinol Stents. *Shap Mem Superelasticity*. 2015 Sep 1;1(3):319–27.

125. Cano ZP, Kish JR, McDermid JR. Effect of Surface Condition on the Localized Corrosion Behavior of Magnesium Alloy AZ31B. In: Alderman M, Manuel MV, Hort N, Neelameggham NR, editors. *Magnesium Technology 2014* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2016 [cited 2022 Sep 19]. p. 335–40. Available from: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-48231-6\\_64](https://doi.org/10.1007/978-3-319-48231-6_64)
126. Nor Asma RBA, Yuli PA, Mokhtar CI. Study on the Effect of Surface Finish on Corrosion of Carbon Steel in CO<sub>2</sub> Environment. *Journal of Applied Sciences*. 2011 Apr 18;11(11):2053–7.
127. Shabalovskaya S, Anderegg J, Van Humbeeck J. Critical overview of Nitinol surfaces and their modifications for medical applications. *Acta Biomaterialia*. 2008 May 1;4(3):447–67.
128. Mohammadi Z, Soltani MK, Shalavi S, Asgary S. A Review of the Various Surface Treatments of NiTi Instruments. *Iran Endod J*. 2014;9(4):235–40.
129. Clarke B, Carroll W, Rochev Y, Hynes M, Bradley D, Plumley D. Influence of Nitinol wire surface treatment on oxide thickness and composition and its subsequent effect on corrosion resistance and nickel ion release. *J Biomed Mater Res*. 2006 Oct;79A(1):61–70.
130. Milošev I, Kapun B. The corrosion resistance of Nitinol alloy in simulated physiological solutions: Part 1: The effect of surface preparation. *Materials Science and Engineering: C*. 2012 Jul 1;32(5):1087–96.
131. Arjmand F, Zhang L. Mechanical polishing, surface roughness, near-surface deformation, and electrochemical corrosion of Alloy 690TT. *Surface and Interface Analysis*. 2015;47(12):1120–6.
132. Rudolf R, Stambolić A, Kocijan A. Atomic Layer Deposition of aTiO<sub>2</sub> Layer on Nitinol and Its Corrosion Resistance in a Simulated Body Fluid. *Metals*. 2021 Apr;11(4):659.
133. Lienemann CP, Dreyfus S, Pecheyran C, Donard OFX. Trace Metal Analysis in Petroleum Products: Sample Introduction Evaluation in ICP-OES and Comparison with an ICP-MS Approach. *Oil & Gas Science and Technology - Rev IFP*. 2007 Jan;62(1):69–77.
134. Fadl-allah S, El-Bagoury N, Gad-Elrab S, Ahmed R, El-Ousamii G. An overview of NiTi shape memory alloy: Corrosion resistance and antibacterial inhibition for dental application. *Journal of Alloys and Compounds*. 2014 Jan 15;583:455–64.
135. Hostynek JJ. Sensitization to nickel: etiology, epidemiology, immune reactions, prevention, and therapy. *Rev Environ Health*. 2006 Dec;21(4):253–80.
136. Health C for D and R. Technical Considerations for Non-Clinical Assessment of Medical Devices Containing Nitinol [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. FDA; 2021 [cited 2022 Sep 19]. Available from: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/technical-considerations-non-clinical-assessment-medical-devices-containing-nitinol>
137. Arndt M, Brück A, Scully T, Jäger A, Bourauel C. Nickel ion release from orthodontic NiTi wires under simulation of realistic in-situ conditions. *J Mater Sci*. 2005 Jul;40(14):3659–67.
138. Qu Q, Wang L, Chen Y, Li L, He Y, Ding Z. Corrosion Behavior of Titanium in Artificial Saliva by Lactic Acid. *Materials*. 2014 Aug;7(8):5528–42.

139. Musa Trolic I, Serdarevic NL, Todoric Z, Budimir A, Spalj S, Otmacic Curkovic H. Corrosion of orthodontic archwires in artificial saliva in the presence of *Lactobacillus reuteri*. *Surface and Coatings Technology*. 2019 Jul;370:44–52.
140. Arneberg P, Giertsen E, Emberland H, Øgaard B. Intra-Oral Variations in Total Plaque Fluoride Related to Plaque pH. *Caries Res*. 1997;31(6):451–6.
141. Draft-ich-guideline-q3d-r2-elemental-impurities-step-2b\_en.pdf [Internet]. [cited 2023 Jun 2]. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-ich-guideline-q3d-r2-elemental-impurities-step-2b\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-ich-guideline-q3d-r2-elemental-impurities-step-2b_en.pdf)
142. Yoshihisa Y, Shimizu T. Metal allergy and systemic contact dermatitis: an overview. *Dermatol Res Pract*. 2012;2012:749561.
143. Baričević M, Mravak-Stipetić M, Stanimirović A, Blanuša M, Kern J, Lončar B, et al. Salivary concentrations of nickel and chromium in patients with burning mouth syndrome. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2011;19(1):2–5.
144. Mattsson U, Warfvinge G, Jontell M. Oral psoriasis-a diagnostic dilemma: a report of two cases and a review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2015 Oct;120(4):e183-189.
145. De la Torre Gomar FJ, Heras González S, González Pérez R. Are Patch Test Results Usually Relevant in Patients With Burning Mouth Syndrome? *Actas Dermosifiliogr*. 2021 Jan 1;112(1):88–9.
146. Grandfield K, Engqvist H. Focused Ion Beam in the Study of Biomaterials and Biological Matter. *Advances in Materials Science and Engineering*. 2011 Aug 14;2012:e841961.
147. Katić V, Čurković L, Ujević Bošnjak M, Spalj S. Determination of corrosion rate of orthodontic wires based on nickel-titanium alloy in artificial saliva. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik*. 2014 Feb 1;45:99–105.
148. Ryhänen J, Niemi E, Serlo W, Niemelä E, Sandvik P, Pernu H, et al. Biocompatibility of nickel-titanium shape memory metal and its corrosion behavior in human cell cultures. *J Biomed Mater Res*. 1997 Jun 15;35(4):451–7.
149. Laplanche G, Kazuch A, Eggeler G. Processing of NiTi shape memory sheets – Microstructural heterogeneity and evolution of texture. *Journal of Alloys and Compounds*. 2015 Dec 5;651:333–9.
150. Markhoff J, Krogull M, Schulze C, Rotsch C, Hunger S, Bader R. Biocompatibility and Inflammatory Potential of Titanium Alloys Cultivated with Human Osteoblasts, Fibroblasts and Macrophages. *Materials*. 2017 Jan;10(1):52.
151. Taqa Amer, Fathi W, Mohammed R. Evaluation of Nickel Ion Release from Orthodontic Wires in Different Types of Artificial Saliva. *RDENTJ*. 2014 Dec 1;14(2):182–8.
152. Bocchetta P, Chen LY, Tardelli JDC, Reis AC dos, Almeraya-Calderón F, Leo P. Passive Layers and Corrosion Resistance of Biomedical Ti-6Al-4V and  $\beta$ -Ti Alloys. *Coatings*. 2021 May;11(5):487.



153. King F, Shoesmith DW. 13 - Nuclear waste canister materials, corrosion behaviour and long-term performance in geological repository systems. In: Ahn J, Apted MJ, editors. *Geological Repository Systems for Safe Disposal of Spent Nuclear Fuels and Radioactive Waste* [Internet]. Woodhead Publishing; 2010 [cited 2022 Sep 12]. p. 379–420. (Woodhead Publishing Series in Energy). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781845695422500132>
154. Debernardi G, Carlesi Jara C. Chemical-Electrochemical Approaches to the Study Passivation of Chalcopyrite. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review - MINER PROCESS EXTR METALL REV*. 2011 Jan 1;34.
155. Clover D, Kinsella B, Pejic B, De Marco R. The influence of microstructure on the corrosion rate of various carbon steels. *J Appl Electrochem*. 2005 Feb 1;35(2):139–49.
156. Idris S, Jafar F, Abdullah N. Study on corrosion features analysis for visual inspection & monitoring system: An NDT technique. *Jurnal Teknologi*. 2015 Dec 6;77.
157. Ponomarev VA, Popova AD, Sheveyko AN, Permyakova ES, Kuptsov KA, Ilnitskaya AS, et al. Microstructure and biological properties of titanium dioxide coatings doped with bioactive and bactericidal elements. *Applied Surface Science*. 2022 Feb 1;575:151755.
158. Muñoz A, Costa M. Elucidating the mechanisms of nickel compound uptake: A review of particulate and nano-nickel endocytosis and toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2012 Apr 1;260(1):1–16.
159. Genchi G, Carocci A, Lauria G, Sinicropi MS, Catalano A. Nickel: Human Health and Environmental Toxicology. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Feb;17(3):679.
160. Cai S, Wu C, Yang W, Liang W, Yu H, Liu L. Recent advance in surface modification for regulating cell adhesion and behaviors. *Nanotechnology Reviews*. 2020 Jan 1;9(1):971–89.
161. Feier AM, Pop TS, Borodi PG, Zuh SG, Oprişan A, Russu O, et al. From Basic Science to Clinical Perfection: What Defines the Orthopedic Biocompatible Implant? *Surgeries*. 2023 Mar;4(1):1–9.
162. Bainbridge P. Wound healing and the role of fibroblasts. *J Wound Care*. 2013 Aug;22(8):407–12.
163. Mani G, Porter D, Grove K, Collins S, Ornberg A, Shulfer R. Surface finishing of Nitinol for implantable medical devices: A review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2022 Dec;110(12):2763–78.

## Biografija

Minja Miličić Lazić je rođena 19.08.1988. u Beogradu, gde je završila osnovnu školu i gimnaziju. Integrisane studije stomatologije na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisuje 2007, a završava ih 2013, sa prosečnom ocenom 8,16.

Redovnu stručnu praksu je obavila na Stomatološkom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, a stručni ispit je položila 2015. godine. U januaru 2016. godine upisuje specijalističke studije, zdravstvenu specijalizaciju iz oblasti Stomatološke protetike koje završava polaganjem specijalističkog ispita 10.jula 2019, sa ocenom odličan. Od 2018. godine kandidatkinja je student doktorskih akademskih studija. Do sada je položila sve ispite predviđene planom i programom sa prosečnom ocenom 9,93.

Svoj radni staž započinje na Klinici za stomatološku protetiku, Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu u svojstvu saradnika u nastavi 2019. godine.

Učestvovala je u jednom međunarodnom projektu SLO/SRB *Proizvodnja i karakterizacija materijala sa memorisanim oblikom za primenu u stomatologiji i nautici*, finansiranom od strane Evropske Unije, u saradnji sa Ministarstvom prosvete, nauke i tehnološkog razvoja br.451-03-9/2021-14/200129. Trenutno je angažovana kao učesnik na projektu *Razvoj nove legure zlata sa germanijumom (Au-Ge) za primenu u stomatologiji, proizvodnji nakita i industriji* u okviru 17091 GOLD-GER Eureka projekta br.337-00-00294/2021-09/07.

Tokom 2018. učestvovala je na kursu *Maxillofacial Rehabilitation for Maxillofacial Surgeons, Prosthodontists and Orthodontists* u Beogradu. Pored toga, 2021. učestvovala je na kursu iz implantat-protetike, *2021 Melbourne ITI education week*. Od januara 2023. polaznik je kontinuiranog kursa iz implantologije *EAO Certificate in Implant Dentistry* organizovanog od strane Evropske asocijacije za oseointegraciju. Član je Srpskog lekarskog društva (SLD), Evropske asocijacije za oseointegraciju (EAO), Međunarodnog tima za implantologiju (ITI), i Međunarodne asocijacije za istraživanja u stomatologiji (IADR). Autor je ili koautor 13 naučnih radova (od toga 3 na SCI listi).

## Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Миња Миличић Лазић

Број индекса 4002/2018

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Утицај технолошког процеса производње на биофункционалне особине никл-титанијум легуре за примену у стоматолошкој протетици

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## **Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада**

Име и презиме аутора Миња Миличић Лазић

Број индекса 4002/2018

Студијски програм Базична и клиничка истраживања у стоматологији

Наслов рада Утицај технолошког процеса производње на биофункционалне особине  
никл-титанијум легуре за примену у стоматолошкој протетици

Ментори доц. Др Катарина Радовић и проф. др Ребека Рудолф

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској  
верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму  
Универзитета у Београду.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива  
доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.  
Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у  
електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис аутора**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Утицај технолошког поступка производње на биофункционалне особине никл-титанијум легуре за примену у стоматолошкој протетици

1. Ауторство (CC BY)
  2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
  - ③ Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
  4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
  5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
  6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)
- (Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.  
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

**Потпис аутора**

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

