



Universitatea “Babeş-Bolyai”



Cluj-Napoca,

Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică

CZIKÓ (căs. Sárközi) Melinda

***“Prepararea, caracterizarea și aplicarea
biocompozitelor”***

Rezumatul lucrării de doctorat

Conducător științific:

Prof. Dr. Mircea V. DIUDEA

Cluj-Napoca

2015



**“Babeş-Bolyai” University of Cluj-Napoca,
Faculty of Chemistry and Chemical Engineering
str. Arany János nr. 11, RO-400028, Cluj-Napoca**



**Conducător științific
Prof. Dr. DIUDEA V. Mircea**

Membrii comisiei

Președinte:

Prof. Dr. JANTSCHI Lorentz - Universitatea Tehnică, Cluj-Napoca

Referenți:

Prof. Dr. MUREȘAN Liana-Maria - Universitatea Babeş-Bolyai, Cluj-Napoca

Conf. Dr. BUNEA Andrea – Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară din Cluj-Napoca

Conf. Dr. CLICHICI Simona – Universitatea de medicină și farmacie Iuliu Hațieganu, Cluj-Napoca

Susținerea publică: **10 Iulie 2015**

Cluj-Napoca

2015

Mulțumiri

Această lucrare a fost posibilă prin sprijinul financiar oferit de Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013, cofinanțat prin Fondul Social European, în cadrul proiectului POSDRU/159/1.5/S/132400, cu titlul „Tineri cercetători de succes – dezvoltare profesională în context interdisciplinar și internațional” și Colegium Talentum.

Cuprinsul întregii teze

Mulțumiri	2
Abstract	3
Introducere	4
I. Partea teoretică	9
I. 1. Compozitele și biocompozitele.....	9
I. 1.1 Biomaterialele și compozitele lor.....	9
I.2. Metode de caracterizare a biomaterialelor	19
I.2.1 Difracție de raze X (XRD)	20
I.2.2 Microscopia electronică cu transmisie (TEM)	20
I.2.3 Analizor Shimadzu pentru particule de dimensiuni micro- și nano	21
I.2.4 Adsorpția și desorpția de N ₂ – Determinarea suprafeței specifice și a volumului porilor.....	21
I.2.5 Microscopia electronică de baleiaj (SEM)	21
I.2.6 Analiza termogravimetrică (TGA)	22
I.2.7 Spectroscopia IR (FTIR)	22
I.2.8 Testarea <i>in vitro</i>	23
I.3 Aplicarea materialelor bazate pe hidroxiapatită ca substrate în diferite procese de sorbție ..	24
II. Partea experimentală	27
II.1 Prepararea materialelor.....	27
II.1.1 Prepararea hidroxiapatitei	27
II.1.2 Prepararea materialului bazat pe hidroxiapatită cu diferiți aditivi.....	29
II.1.3 Prepararea of simulated body fluid (SBF)	35
II.2. Metode de caracterizare.....	36
II.2.1. Difracție de raze X	36
II.2.2 Microscopia electronică cu transmisie.....	36
II.2.3 Analizor Shimadzu pentru particule de dimensiuni micro- și nano	36
II.2.4 Adsorpția și desorpția de N ₂ – Determinarea suprafeței specifice.....	37
II.2.5 Microscopia electronică de baleiaj.....	37
II.2.6 Analiza termogravimetrică.....	37

II.2.7 Spectroscopia IR	38
II.2.8 Caracterizarea <i>in vitro</i> a compozitelor	38
II.3 Măsurători de sorbție și desorbție.....	38
II.3.1 Sorbția albuminului.....	38
II.3.2 Sorbția ibuprofenului	38
II.3.3 Desorbția ibuprofenului	39
III. Proprietățile compozitelor bazate pe hidroxiapatitei – rezultatele de caracterizare	40
III.1 Formarea structurii HAP	40
III.1.1 Efectul concentrației inițiale a precursorilor asupra formării structurii de cristal al hidroxiapatitei	40
III.1.2 Efectele materialelor aditivi asupra formării structurii de cristal al hidroxiapatitei.....	41
III.1.3 Variația mărimii cristalitelor în funcție de materialele aditive.....	46
III.1.4 Concluzii.....	50
III.2. Determinarea tendinței de aglomerare	51
III.2.1 Distribuția medie a mărimii particulelor și variația ei în timpul sintezei	51
III.2.2 Tendința de aglomerare măsurată cu TEM.....	57
III.2.3 Concluzii.....	63
III.3 Măsurări ale suprafeței specifice.....	63
III.3.1 Efectul aditivilor de silica și polimeri asupra suprafeței specifice și asupra volumului porilor materialelor	64
III.3.2 Efectul conținutului nanotuburilor de carbon asupra suprafeței specifice și a volumului porilor compozitelor HAP și HAPSi.....	65
III.3.3 Efectul adăugării chitosanului și a silicei pe suprafața specifică și variația compozitelor pe bază de hidroxiapatită cu nanotuburi de carbon	67
III.3.4 Concluzii.....	68
III.4 Determinarea morfologiei compozitelor cu microscopul electronic de baleiaj (SEM)	68
III.4.1 Efectul aditivilor de silica și polimeri asupra morfologiei compozitelor	68
III.4.2 Efectul nanotuburilor de carbon și a silicei asupra morfologiei compozitelor în formă de granule	69
III.4.3 Efectul chitosanului și a silicei asupra morfologiei pudrelor de hidroxiapatită cu nanotuburi de carbon	70
III.4.4 Concluzii.....	72

III.5 Stabilitatea termică a materialelor	72
III.5.1 Stabilitatea termică a HAP și HAPSi	72
III.5.2 Efectul aditivilor de polimeri asupra stabilității termice a materialelor	73
III.5.3 Efectul nanotuburilor de carbon și a silicei asupra stabilității termice a compozitelor acestora	75
III.5.4 Efectul chitosanului, a nanotuburilor de carbon și a silicei asupra stabilității termice a compozitelor	76
III.5.5 Concluzii.....	78
III.6 Caracterizarea <i>in vitro</i> a materialelor bazate pe hidroxiapatită.....	78
III.6.1 Efectele adăugării silicei și a polimerilor asupra comportamentului <i>in vitro</i> a materialelor	79
III.6.2 Efectul nanotuburilor de carbon asupra comportamentului <i>in vitro</i> a compozitelor ...	97
III.6.3 Concluzii.....	101
IV. Aplicarea materialelor bazate pe hidroxiapatită ca substrate în diferite procese de sorbție ..	103
IV.1 Sorbția albuminului.....	103
IV.2 Sorbția și desorbția ibuprofenului pe compozitele nanotuburi de carbon-hidroxiapatită	109
IV.2.1 Sorbția ibuprofenului.....	109
IV.2.2 Desorbția ibuprofenului.....	111
IV.3 Concluzii	112
V. Concluzii generale.....	114
Referințe.....	121
Lucrări științifice - articole	138
Comunicări științifice.....	139

Cuvinte cheie: hidroxiapatita, nanotuburi de carbon, biopolimeri, biocompozite, granulometrică medie, sorpție, testare *in vitro*

Introducere

Prepararea și dezvoltarea compozitelor noi este un domeniu de cercetare foarte popular, în ziua de azi. Materialul **compozit** este definit ca o substanță alcătuită din două sau mai multe materiale, insolubile între ele, formând materiale care posedă anumite proprietăți pe care nu le dețin materialele constituente în parte. Biocompozitele fac parte din grupul compozitelor, ale căror material de bază menține caracteristicile biomaterialelor. Biocompozitele sunt foarte importante pentru prepararea implantelor care sunt folosite pentru îmbunătățirea integrării în mediul înconjurător. În consecință, hidroxiapatita (HAP), ca material de bază, este o alegere bună pentru că este foarte similară cu partea minerală a osului uman. Dezavantajele în aplicarea hidroxiapatitei sunt proprietățile mecanice slabe care se pot îmbunătăți cu diferite materiale de adaos. Aceste materiale influențează proprietățile materialelor preparate. În acesta lucrare au fost folosiți diferiți biopolimeri, silice și nanotuburi de carbon funcționalizați cu $-COOH$ ca materiale aditive.

Silicea a fost aleasă pentru că are un rol esențial în prima fază a formării osului, fără ea având loc deformare osului. Ca biopolimeri au fost adăugați chitosanul, polivinilpirolidonă și gelatină. Acești biopolimeri sunt folosiți în ingineria țesuturilor deoarece influențează variațiile mărimii particulelor. Astfel, se poate mări suprafața specifică și crește numărul posibilităților de aplicare. Prin adăugarea nanotuburilor de carbon (CNT) proprietățile mecanice ale compozitelor preparate sunt îmbunătățite deoarece CNT-urile au proprietăți mecanice unice.

Cercetarea a fost făcută pentru a găsi răspunsuri la următoarele întrebări:

1. Influențează concentrația precursorilor, timpul de reacție și mărimea particulelor a materialelor care rezultă din reacții?

2. Influențează diferiți aditivi biopolimeri, timpul de reacție, morfologia și mărimea particulelor și astfel suprafața specifică, care influențează proprietățile lor de sorbenți și în consecință aplicarea lor?
3. Influențează concentrația fMCNT-ului adăugat și metoda de preparare a compozitelor proprietățile materialelor preparate?
4. Influența adăugării chitosanului la fMCNT-HAP și la fMCNT-HAPSi proprietățile compozitelor ce rezultă?

Pentru a găsi răspunsuri la aceste întrebări, în timpul experimentelor au fost studiate mărimea particulelor în procesul de sinteză și distribuția finală a mărimii particulelor, calcularea mărimii cristalitelor din datele de difracție de raze X, stabilitatea termică, morfologia, capacitatea de sorbție și comportamentul *in vitro*.

I. Partea teoretică

Biomaterialele sunt materiale nonviabile folosite în dispozitive medicale și de alte feluri, destinate să interacționeze cu sisteme biologice. Aceste materiale sunt capabile să intre în contact cu fluide și țesuturile ale corpului pentru perioade lungi de timp fără să provoace orice fel de reacții adverse. Unele biomateriale nu au proprietăți corespunzătoare pentru aplicarea lor ca și materiale substituitoare (bone graft) de os, dar această calitate se poate îmbunătăți prin adăugarea altor materiale. Materialele compozite sunt formate din două sau mai multe materiale constituente cu proprietăți fizice și chimice semnificativ diferite, din care, după combinare rezultă un material cu caracteristici diferite de cele ale materialelor individuale folosite. Compozitele sunt formate dintr-o *matrice* și un *material de întărire*. Biocompozitele fac parte din grupul compozitelor, și sunt materiale care adesea imită structura materialelor vii implicate în procesul de păstrare a calității de consolidare a matricei folosite, dar totodată furnizând biocompatibilitate [1, 2].

Hidroxiapatita (HAP) este materialul de bază deoarece este materialul anorganic principal al osului și al dinților. HAP este folosit în mod extensiv ca material de implant pentru os datorită excelenței sale calități osteoconductive [3-5]. Formula chimică a HAP este: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ [6] (Fig.1).

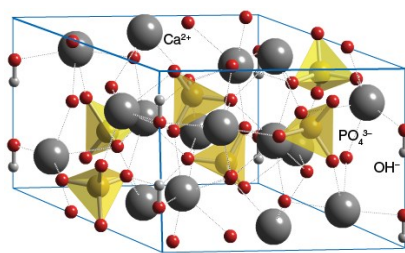


Figura 1. Structura hidroxiapatitei

Aplicarea hidroxiapatitei ca substrat pentru stimularea creșterii osului este limitată de slabele proprietăți mecanice. Se știe că siliciul este esențial în primele fazele ale mineralizării osului și a dezvoltării țesutului moale, așadar modificările structurale ale hidroxiapatitei cu silice fac ca acestea să fie materiale promițătoare pentru substituirea osului, pe bază de HAP. Ingineria țesuturilor necesită materiale biocompatibile corespunzătoare care pot fi folosite ca și schelete pentru plantarea celulelor și creșterea țesuturilor noi. S-a descoperit că compozitele cu structuri

nano pe bază de polimeri biodegradabili și ceramici bioactive ca și HAP au capacitatea de a stimula suprafața sau proprietățile chimice ale osului [8].

Pentru o eficiență mai mare într-o anumită aplicație, este esențial să luăm în considerare *relația dintre parametrii de sinteză* (concentrația precursorilor, substituirea cu silice în HAP, adăugarea diferiților bio-polimeri, adăugarea nanotuburilor de carbon) și *caracteristicile* materialelor. Luând în considerare afirmația de mai sus, este posibilă controlarea proprietăților finale ale HAP împreună cu aplicarea ei prin selectarea atentă a parametrilor de sinteză [9]. Hidroxiapatita poate fi folosită în următoarele aplicații: purificarea apei [10-12], ca material de umplură în coloane cromatografice pentru separarea proteinelor [13, 14], substrate pentru medicamente [15], catalizator [16]. Cea mai importantă și frecventă aplicație este însă folosirea HAP-lui ca și biomaterial. Ca material de implant primul proces după implantare este adsorbția de albumină pe suprafața lui [17]. Proprietățile materialului (morfologia, suprafața specifică, mărimea particulelor, materialul aditiv) influențează semnificativ capacitatea de sorbție. Capacitatea și eficiența sorbției au fost studiate pe materiale ca betaina [18], acid nicotinic [19], doxorubicina [20] și altele [21-23]. Pentru a dezvolta biomateriale cu substanțe active care se dizolvă cu o rată specifică, optima integrării implanturilor, sorbția și desorbția medicamentelor care reduc inflamațiile (ex. Ibuprofen) este esențială.

II. Partea experimentală

II.1 Prepararea materialelor

Observațiile experimentale raportate în mai multe studii arată că nanocristalele hidroxiapatitei pot fi preparate cu succes prin tehnica precipitării [24, 25]. Din acest motiv, metoda de precipitare a fost aleasă pentru prepararea HAP, HAPSi, CS/HAP, GEL/HAP și PVP/HAP. În literatură se cunosc mai multe metode de preparare a compozitelor cu nanotuburi de carbon. În acest studiu au fost încercate trei metode: agitarea mecanică (în etanol), agitare în surfactant (Triton X) și metoda de precipitare, după care a fost aleasă metoda care a dat compozitul cu omogenitatea cea mai bună.

Prepararea hidroxiapatitei

HAP a fost preparată cu metoda de precipitare în condiții controlate [26], descrise prin următoarea reacție:



Ca și materii prime au fost folosiți următorii reactivi: nitrat de calciu tetrahidrat, fosfat acid de amoniu, soluție de 25% de hidroxid de amoniu (Merck, Germany). Timpul de reacție a fost 22 de ore. După filtrare materialele au fost uscate 24 de ore la 105°C (ncHAP). O parte din materiale a fost tratată termic la 1000°C (cHAP). În timpul reacțiilor s-a lucrat cu trei concentrații de precursori diferiți pentru a studia efectul lor asupra formării structurii hidroxiapatitei (*Tabelul 1*).

Tabelul 1. Concentrațiile inițiale ale precursorilor

Material	[Ca(NO ₃) ₂] ₀ (mol/l)	[(NH ₄) ₂ HPO ₄] ₀ (mol/l)
HAPI	1.5	0.9
HAPII	1	0.6
HAPIII	0.5	0.3

Hidroxiapatită dopată cu silice

HAPSi a fost preparată prin metoda de precipitare similară hidroxiapatitei; ca sursă de silice (SiO₂), a fost folosit Na₂SiO₃.

Substituția grupărilor de fosfat cu cele de silice s-a desfășurat astfel:



Timpu de reacție a fost de 8 ore. După filtrarea materialelor rezultate acestea au fost uscate timp de 24 de ore la 105°C (ncHAPSi). Tratamentul termic ulterior a fost efectuat la 1000°C (cHAPSi) [27].

Prepararea hidroxiapatitei cu biopolimer

Soluțiile de chitosan (CS) de 0.09% respectiv 0.45%, de gelatină (GEL) și de polivinilpirolidonă (PVP) (0.5% și 0.1%) au fost adăugate în soluțiile de nitrat de calciu și fosfat acid de amoniu. Timpul de sinteză a fost de 22 ore. După terminarea reacției precipitatul a fost filtrat și spălat cu etanol, apoi uscat timp de 24 de ore la 90°C [28].

Prepararea compozitului fMCNT-HAP/HAPSi

Compozitele au fost preparate prin trei metode diferite: prin agitare mecanică în alcool etilic [29], agitare mecanică în Triton X [29] și metoda de coprecipitare [30].

Metoda de coprecipitare

Ca și sursă de Ca^{2+} s-a folosit tetrahidrat de azotat de calciu, iar ca și sursă de PO_4^{3-} , fosfatul acid de amoniu. La soluția de azotat de calciu s-a adăugat nanotuburi de carbon, multi-perete funcționalizate cu $-\text{COOH}$ (fMCNT) agitat timp de 10 minute. Apoi a fost adăugată picătură cu picătură soluția de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. pH-ul soluției a fost ajustat la 11 cu ajutorul soluției de hidroxid de amoniu. Timpul de reacție a fost de 22 de ore la temperatura ambiantă. După filtrare precipitatul a fost uscat timp de 24 de ore la 105°C. Prepararea compozitului cu conținut de silice (10wt.%) a fost efectuată similar, Na_2SiO_3 fiind utilizat ca sursă de SiO_2 [29], [31].

Prepararea compozitelor CS-fMCNT-HAP și CS-fMCNT-HAPSi

Compozitele au fost preparate prin metoda de precipitare. În prima fază fMCNT au fost amestecate cu soluția de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.5 mol L^{-1} iar soluția de chitosan (1wt.%) cu soluția de 0.3 mol L^{-1} $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ timp de 10 minute, la pH=11, pentru a obține o omogenitate mai bună. După combinarea acestor precursori soluția finală a fost agitată timp de 22 ore. Pentru a prepara SiO_2 de 10 wt.% care să conțină compozite, a fost adăugată soluție de Na_2SiO_3 împreună cu soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$.

II.2 Caracterizarea materialelor

Pentru a determina relația dintre structura și proprietățile/aplicațiile materialelor sintetizate, acestea au fost caracterizate prin diferite metode:

- Morfologie – microscopia electronică de transmisie (TEM) și microscopia electronică de baleiaj (SEM)
- Stabilitate termică – analiză termogravimetrică (TGA)
- Distribuția mărimilor particulelor – analizorul Shimadzu pentru particule de dimensiuni micro- și nano
- Cristalinitate și structură – difracție de raze X (XRD) și spectroscopie IR (FTIR)
- Suprafața specifică – metoda BET

II.2.1 Formarea structurii HAP și a mărimii cristaline a materialelor

Evoluția fazelor cristaline în funcție de timpul de reacției a fost studiată cu ajutorul difracției de raze X. *Fig.2* arată spectrele XRD ale hidroxiapatitei la diferite momente ale sintezei. Hidroxiapatita a fost confirmată că fiind singura fază cristalină prezentă în material, identificarea făcându-se cu ICDD, nr. de standard 01-072-1243 [32]. Evoluția compoziției fazale cu timpul de reacție a arătat că după 2 ore s-a format o fază de fosfat de calciu slab cristalizată, care s-a transformat treptat în HAP. Așa cum se vede și în *Fig.2*, HAP s-a format după 22 de ore la fiecare concentrație de precursori. Pornind de la concentrații inițiale diferite ale precursorilor, s-a constatat că nu există diferență între cristalinitatea celor trei probe.

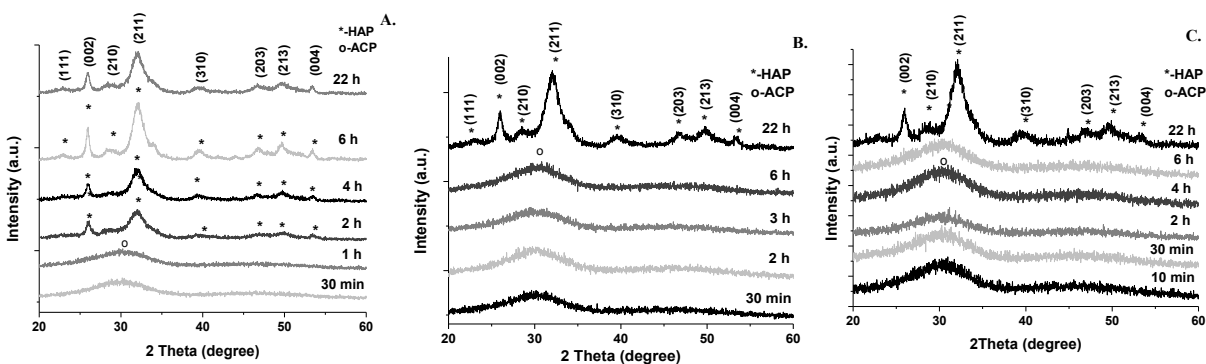


Figure 2. Spectrele XRD A. HAPI, B. HAPII, C. HAPIII la diferite momente ale sintezei

II.2.2 Efectele materialelor aditive asupra formării structurii cristaline ale hidroxiapatitei

Efectul variației concentrației de PVP

Spectrele XRD ale celor patru probe PVP/HAP cu concentrații diferite de PVP sunt prezentate în *Fig. 3*. Hidroxipatita mono-fazică a fost observată în toate cele patru probe, și nici o fază secundară nu a fost detectată. Nu s-au observat diferențe majore între spectre și evoluția fazelor în timp a fost similară cu cea a HAP-lui (*Fig. 2*). Structura PVP/HAP a hidroxiapatitei s-a format în 22 de ore în toate cazurile.

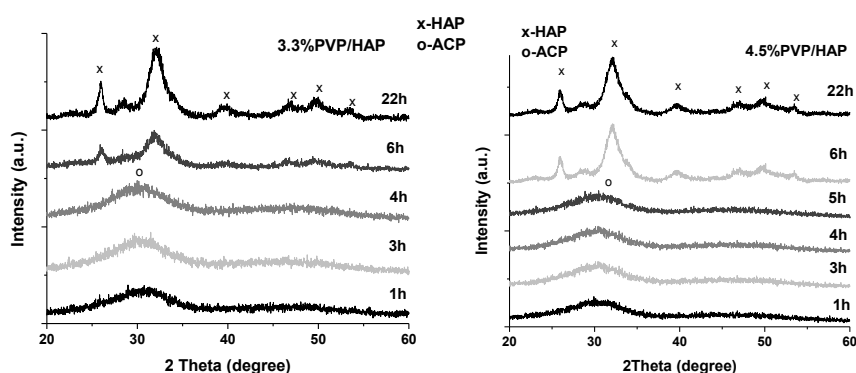


Figura 3. Spectrele XRD ale 3.3%PVP/HAP și 4.5%PVP/HAP la diferite momente ale sintezei

Efectul chitosanului (CS) asupra variației concentrației

Fig. 4 arată evoluția fazelor în timp pentru probele CS/HAP cu diferite concentrații de chitosan. În cazul 0.6%CS/HAP evoluția fazelor a arătat o tendință similară cu cea a HAP-lui. Prin creșterea concentrației inițiale a chitosanului în compozitele CS/HAP, are loc un fenomen interesant: în condiții alcaline (pH=11–12) după 20 de minute de la începutul reacției apare o fază slab cristalinizată de HAP. După 2 ore dispare această fază cristalină având loc paralel atât formarea fosfatului de calciu instabil (CaP), cât și a fosfatului de calciu amorf (ACP). După 5 ore de reacție reapare faza cristalină HAP, iar după 22 de ore devine definitivă.

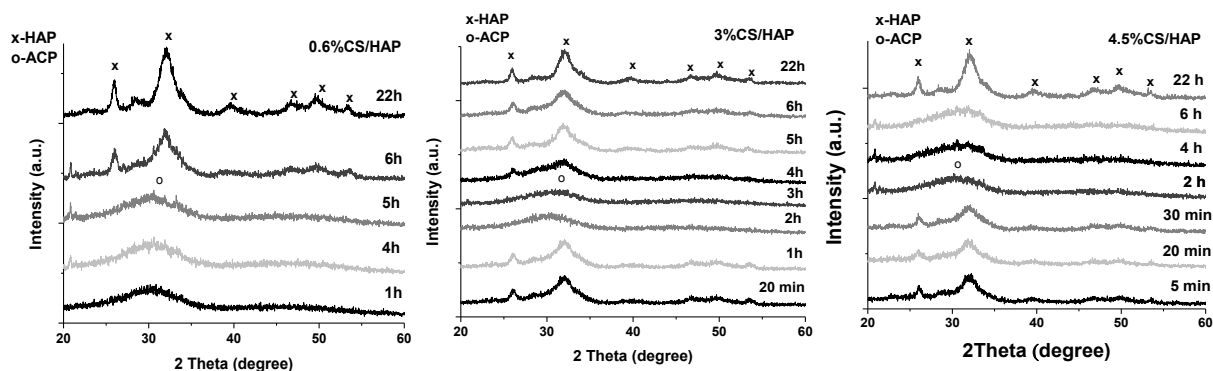


Figura 4. Spectrele XRD ale compozitului CS/HAP la diferite momente ale sintezei

La începutul reacției, după 2 ore, a apărut o fază slab cristalină de fosfat de calciu [33], care dispărut în timp, reapărând după 5 ore de la începutul reacției. Transformarea acestor faze a fost finală în aproximativ 22 de ore. O explicație ar putea fi faptul că cristalele de HAP s-au format din alți compuși ai fosfatului de calciu (CaP) cât și din fosfatul tricalcit amorf (ACP). Acest lucru indică faptul că CS a participat probabil într-o reacție chimică. Formarea fazei slab cristaline în stagiul timpuriu al reacției poate fi explicate prin schimbările de solubilitatea a reactanților datorită prezenței chitosanului. Acest fenomen interesant a fost observat numai după atingerea unei anumite concentrații de CS ($< 1.6\%$) și se poate explica prin fenomenele complexe care au loc simultan în reacția de precipitare ținând și de fenomenele de adsorbție în timpul reacției. Elucidarea mecanismului de acțiune a CS-lui în această sinteză necesită numeroase experimente viitoare.

Efectele adăugării nanotuburilor de carbon, a silicei și a chitosanului asupra cristalinității compozitelor

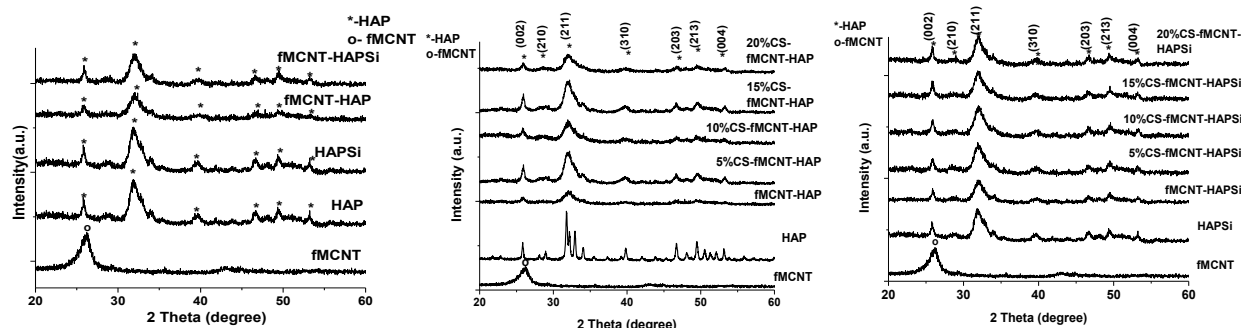


Figura 5. Spectrele XRD ale compozitului fMCNT-HAP

Rezultatele sunt prezentate în *Fig. 5* pe aceste difractograme nu s-a observat peakuri noi pentru compozitele fMCNT/hidroxiapatită iar valorile 2θ au fost în concordanță cu cele ale HAP pure (ICDD standard nr. 01-072-1243) [34, 35]. Vârful fMCNT s-a suprapus cu vârful de $2\theta = 26$ a HAP. Nici substituția cu silice nu a dus la schimbări în difractograma compozitelor. Nici în acest caz nu s-au observat picuri noi [36, 37] pentru compozitelor CS-fMCNT-HAP/HAPSi, iar valorile de 2θ au fost și aici în concordanță cu cele ale HAP pure [34, 38]. Prin adăugarea de fMCNT și chitosan la HAP s-a observat scăderea intensității picurilor ceea ce sugerează un grad de cristalinizare mai scăzute [39, 40].

II.2.2. Determinarea tendinței de aglomerare

Distribuția dimensiunii medii ale particulelor și variația ei în timpul sintezei

Distribuția dimensiunii medii ale particulelor și tendința de aglomerare a fost determinată cu analizator de particule Shimadzu SALD-7101 micro- și nano și cu TEM. Mărimea medie a particulelor în timpul sintezei hidroxiapatitei în cazul a trei concentrații inițiale de precursori este prezentată în *Fig. 6.A*. Se observă că în primele șase ore are loc o creștere treptată a dimensiunii medii ale particulelor, ajungând la dimensiuni de micrometri după care are loc o scădere a mărimii medii ale particulelor. Acest fenomen se poate explica prin aglomerarea și segregarea particulelor HAP în timpul preparării [28]. Valoarea cea mai mică s-a observat în cazul HAPII. Acest fenomen s-ar putea explica ar fi că creșterea cristalelor a fost suprimată de procesul de nucleație (*Fig. 6.A*). Polivinilpirolidonă (PVP) (*Fig. 6.C*), chitosanul (CS) (*Fig. 6.B*), gelatine (GEL) și silicea (SiO_2) au fost folosite ca și materiale aditive. Acestea acționează ca șabloane temporare moi sau centre de nucleație pentru a modula morfologia HAP-lui [41, 42]. Moleculile de PVP au acțiune de blocare sterică asupra creșterii cristalelor. Mărind cantitatea concentrație de PVP se poate schimba mărimea și forma nanocristalelor de HAP (*i.e.* cea mai mică particulă a fost observată la concentrația cea mare de PVP) [43]. Grupările -OH se găsesc în abundență în structura PVP-lui [44, 45] astfel încât acestea pot forma legături de hidrogen pe suprafața cristalelor de HAP, care are în structură și grupări de -OH. Astfel, mărimea particulelor a fost mai mare în cazul concentrației scăzute de polimeri față de mărimile observate în cazul HAP-ei pure, polimerul determinând creșterea particulelor. La concentrații mari numărul centrelor de nucleație crește, astfel încât dimensiunea finală va fi mai redusă [43]. În cazul HAPSi și

GEL/HAP procesul de aglomerare a particulelor nu a avut loc, mărimea medie a particulelor a fost constantă la valoarea de **16 nm**. Din 10% SiO₂ adăugat la HAP doar 6.03% au putut fi încorporate [27], iar cantitatea de SiO₂ rămasă în mediul alcalin a fost polimerizat [46] formându-se un strat subțire pe suprafața centrelor de nucleație, inhibând aglomerarea lor. Deci silicea inhibă creșterea cristalelor și reduce tendința de aglomerare [9]. În cazul gelatinei o explicație ar fi cea publicată de Shu *et al.* [47] care afirmă că adăugarea ei inhibă nucleația, dar și întârzie creșterea cristalelor de HAP.

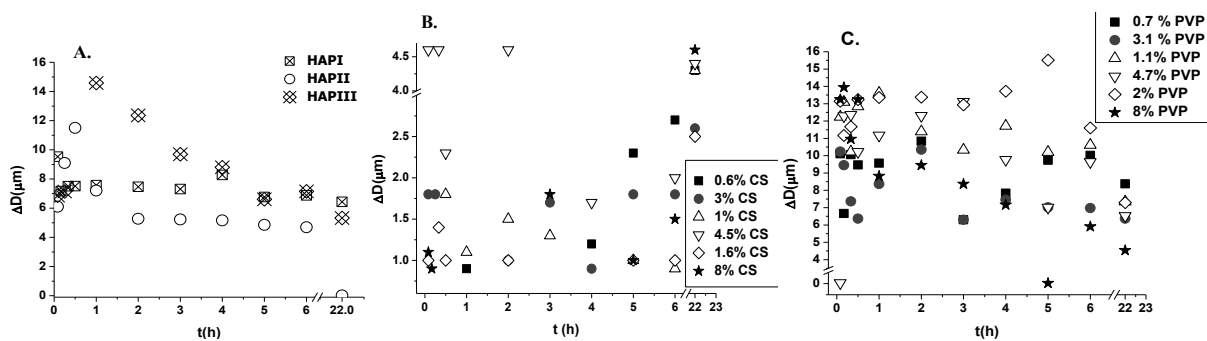


Figura 6. Variația mărimii particulelor în timpul sintezei

Prin adăugarea nanotuburilor de carbon mărimea particulelor a scăzut. Imaginile TEM ale nanoparticulelor HAP și CS/HAP indică formarea unor particule cu morfologie prismatică. PVP/HAP și GEL/HAP prezentând o structură asemănătoare unei țesături/pânze. În imaginile TEM se poate observa o distribuție omogenă a fMCNT. Cea mai mare omogenitate se găsește la materialele cu 10% CS și 10% fMCNT, atât pentru compozitele care conțin numai HAP cât și cu HAP și silice (*Fig.7*).

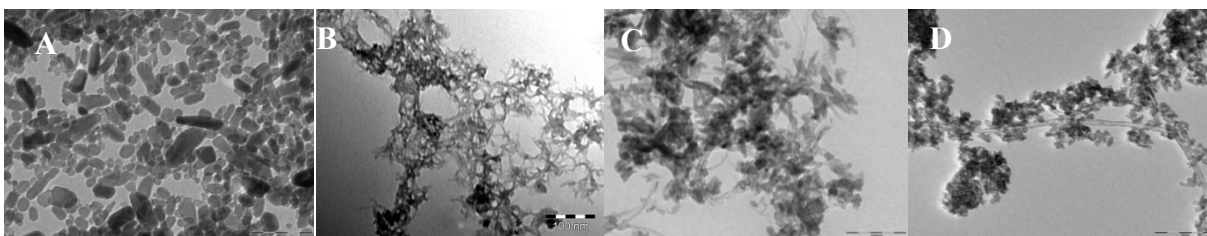


Figura 7. Imagini TEM images cu A-HAP, B-1.1%PVP/HAP, C- fMCNT-HAP, D- 10%CS-fMCNT-HAP

II.2.3 Măsurători de suprafețe specifice

Suprafețele specifice și distribuția volumului porilor au fost determinate din datele adsorbției-desorbției izotermice a N₂ efectuate la 77 K. Suprafețele specifice ale materialelor

bazate pe HAP cu conținut de fMCNT sau/și polimeri au fost calculate cu metoda BET, iar distribuția volumului porilor, ca funcție a diametrilor porilor, folosind metoda BJH. Determinarea suprafețelor specifice este importantă pentru evaluarea activității chimice și a capacității de sorbție ale materialelor [48].

S-a putut observa o bună corelație între volumul porilor și suprafața specifică obținută pentru materialele cu conținut diferit de materiale aditive. Adăugând SiO_2 la HAP a crescut suprafața specifică (*Fig.8*) acest efect regăsindu-se și la compozitele cu polimeri. Cea mai mare suprafață specifică a fost determinată în cazul **2%GEL/HAP** ($180\text{m}^2/\text{g}$) dat fiind faptul s-a măsurat cea mai mică mărime medie ale particulelor.

Volumul porilor și suprafețele specifice au avut o bună corelație și în cazul materialelor cu conținut diferit de fMCNT. Suprafața specifică a crescut adăugând SiO_2 la hidroxiapatită. De asemenea, s-a putut observa o creștere a suprafeței specifice prin adăugarea nanotuburilor de carbon. Cel mai mare volum s-a măsurat la probele cu 10% fMCNT (*Fig.9.B*). Relația dintre suprafața specifică și volumul porilor este următoarea: cu cât e mai mare suprafața specifică a compozitelor, cu atât crește mai mult volumul porilor.

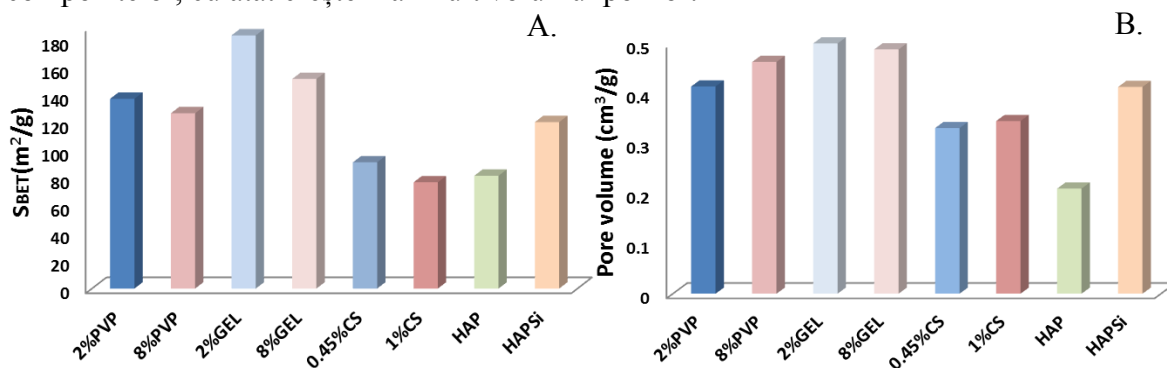


Figura 8. Suprafața specifică (A) și volumul porilor (B) ale materialelor HAP, HAPSi și polimer/HAP

Fig. 9A și B evidențiază aceste relații, și arată că compozitele cu 10 % fMCNT au avut cel mai mare volum al porilor. Luând în considerare datele obținute pentru suprafața specifică, în funcție de cantitatea de fMCNT, am ajuns la concluzia că următoarele studii trebuie concentrate pe compozite preparate cu metoda de precipitare, cu un conținut de 10% fMCNT, rezultatele fiind prezentate în următoarele secțiuni.

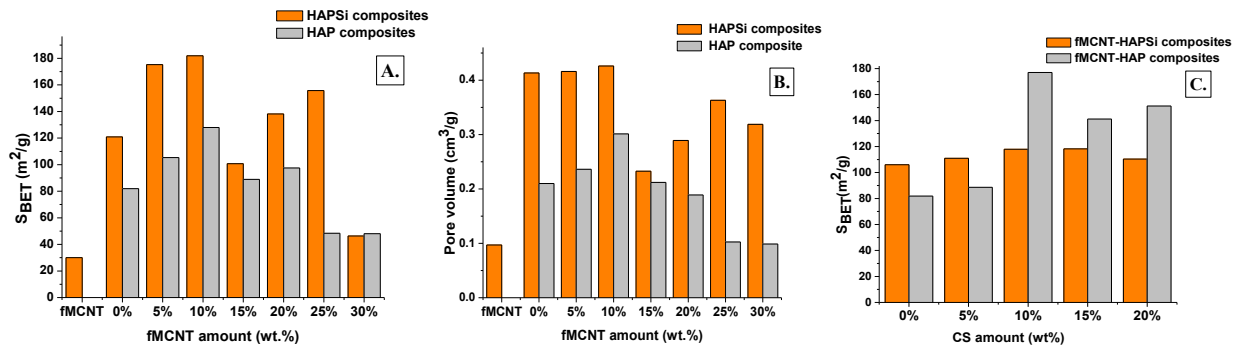


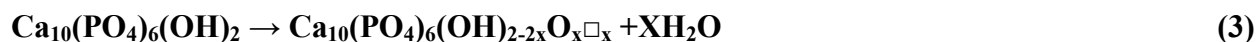
Figura 9. **A.** –Suprafața specifică, și **B.** –Porozitatea compozitelor cu HAP/HAPSi cu conținut diferit de fMCNT, **C.**- Suprafața specifică în cazul compozitelor CS-fMCNT-HAP și HAPSi

În formă pură, HAPSi a avut o suprafață specifică mai mare ($106 \text{ m}^2/\text{g}$) decât hidroxiapatita ($81,9 \text{ m}^2/\text{g}$). Suprafața specifică a compozitelor HAPSi a fost puțin influențată de cantitatea a CS adăugat, în cazul compozitelor cu HAP adăugarea polimerilor la structură a influențat puternic suprafața specifică. Compozitul *10% CS-fMCNT-HAP* a avut cea mai mare suprafață specifică ($178 \text{ m}^2/\text{g}$).

II.2.4 Stabilitatea termică a materialelor

Stabilitatea termică a materialelor a fost stabilită prin analiza termogravimetrică (TGA). Mai mult, analiza termogravimetrică diferențială (dTG) oferă informații despre felul în care partea organică este eliminată ceea ce arată gradul de interacțiune între hidroxiapatita și materialele aditive [49].

Scăderea de masă totală în cazul HAP și HAPSi are loc în două trepte: între $30 - 110^\circ\text{C}$ și $200 - 500^\circ\text{C}$. Întâi a fost eliminată apa adsorbită pe suprafețe și în pori ($\sim 100^\circ\text{C}$) [50], apoi la $\sim 280^\circ\text{C}$ a avut loc decompoziția reziduurilor de NH_4NO_3 și H_2O care au fost produșii secundari ale reacției de sinteză. [51, 52]. Crescând temperatura s-a observat un peak la 468°C (Fig. 10. A, B), și o scădere de masă de 1.9% în cazul HAP și 4.3% pentru HAPSi. Acestea au fost rezultatele dehidroxilației treptate a pulberii de HAP, ceea ce se poate explica prin reacția de mai jos [53]:



În cazul HAP la 468°C valoarea lui x este 1.12 ceea ce înseamnă că 56.1% a grupărilor de $-\text{OH}$ a fost eliminată, acest valori fiind calculate din scăderea de masă conform Fig. 10B.

C.

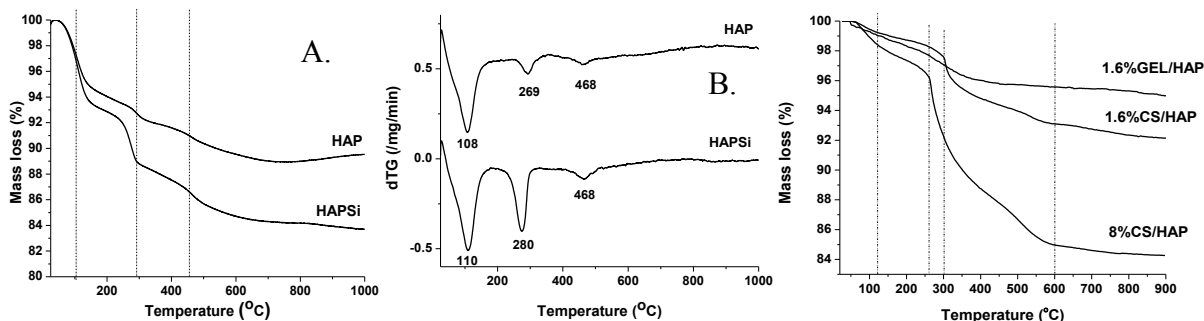


Figura 10. Analiza termogravimetrică a HAP, HAPSi și polimer/HAP

În cazul GEL/HAP la 320°C începe descompunerea termică, iar la 430°C se definește eliminarea moleculelor de GEL [54]. Studiile TGA a compozitelor cu conținut de chitosan au aratat trei faze în scăderea de masă. În cazul compozitului CS/HAP în prima etapă s-a eliminat apa adsorbită până la temperatura 110°C, în a doua etapă a avut loc descompunerea chitosanului (între 280–300°C), iar în a treia etapă s-a eliminat toată cantitatea de chitosan din compozit (între 500–610°C) [55-57]. Înainte de măsurătorile termogravimetrice compozitele de biopolimer-HAP au fost tratate ultrasonic cu etanol și apă timp de 6 ore (repetat de trei ori) pentru a elimina NH_4NO_3 , acesta este motivul pentru care eliminarea a NH_4NO_3 a fost mai nesemnificativă decât la alte materiale (*Fig 10.C*).

Pentru fMCNT scăderea de masă inițială a fost de 3.65% la 108°C datorită pierderii apei adsorbite [58]. Între 400°C și 600°C a avut loc eliminarea fMCNT-lui [59]. Cea mai mare scădere de masă a fost observată în cazul compozitelor cu SiO_2 pentru că SiO_2 are efect de legare a apei. Măsurătorile TGA arată că compozitele fMCNT-HAP au avut stabilitate termică mai bună decât cele cu silice (fMCNT-HAPSi), deoarece eliminarea de fMCNT a avut loc la temperaturi mai ridicate (510-609°C), în timp ce, în cazul fMCNT-HAPSi acest lucru s-a întâmplat la 476°C. Gruparea silice a îmbunătățit interacțiunea dintre grupările -COOH de pe MCNT și grupările -OH din HAP. Astfel încât interacțiunile de tip Van der Waals s-au slăbit rezultând o stabilitate termică mai redusă [60]. Stabilitatea termică a compozitului a fost redusă și prin adăugarea CS-lui. Descompunerea CS-lui și eliminarea fMCNT-lui au avut loc simultan, în același interval de temperatură.

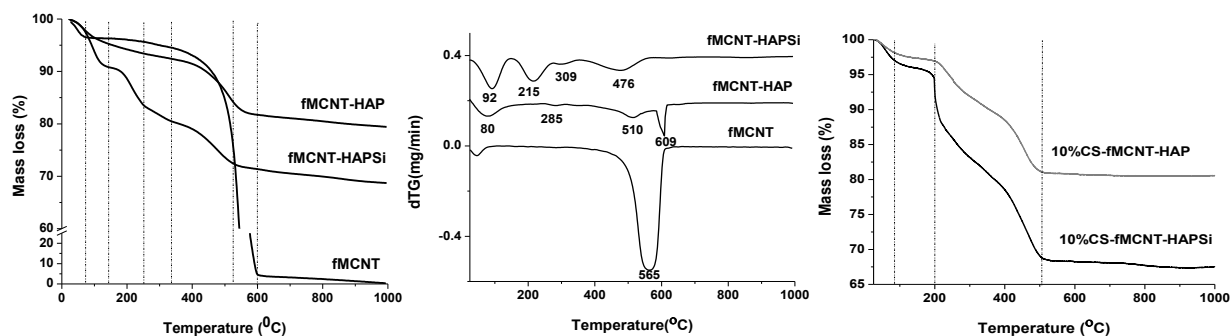


Figura 11. Analiza termogravimetrică a compozitelor fMCNT-HAP și CS- fMCNT-HAP

II.2.5 Caracterizarea *in vitro* a materialelor bazate pe hidroxiapatită

Activitatea biologică a materialelor bazate pe hidroxiapatită a fost testată prin imersarea lui în lichide cu compoziție asemănătoare celor din organism (simulated body fluid-SBF). Au fost monitorizate și discutate influența tratamentului termic asupra hidroxiapatitei pure, efectul dopării silicei și adăugării bio-polimerilor, a timpului de imersie și morfologia materialului (pulbere sau peleti compactați). Materialele au fost caracterizate cu diferite metode atât înainte cât și după imersare în SBF. După 28 de zile de imersare: materialele au avut o structură de hidroxiapatită cristalizată mai bună confirmată de rezultatele XRD și în cazul materialele cu gelatină, chitosan și dopată cu silice a apărut o nouă fază: HAP substituită cu K^+ și Na^+ , respectiv cristobalite pentru cHAPSi (Fig.12).

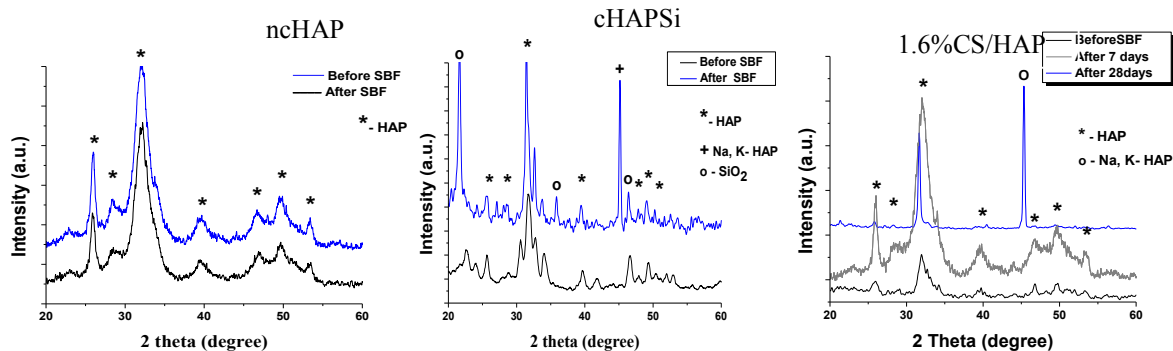


Figura 12. Spectru XRD a HAP și materiale bazate pe HAP înainte (linia albastră) și după imersare în soluția SBF (linia neagră)

Imaginile SEM arată formarea unui strat nou de material ceea ce s-a confirmat și analizele FTIR și TEM. Imaginile TEM au arătat că hidroxiapatita și compozitele ei se prezintă sub forma de nanoparticule.

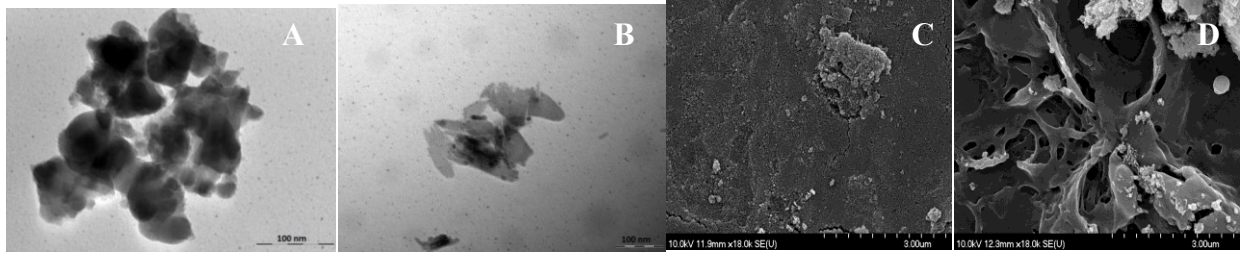


Figura 13. Imagini TEM cu **cHAPSi** înainte (A) și după (B) imersarea SBF și imagini SEM cu **fMCNT-HAPSi** înainte (C) și după (D) imersarea SBF

Prin imersie, atât în cazul materialelor sub forma de pulbere cât și în cazul peleiților s-a format un nou strat de material, hidroxiapatită, ca rezultat a unor reacții chimice de precipitare spontană. În literatura de specialitate s-a afirmat că suprafața particulelor joacă un rol important în acest proces de formare a unor nou strat de apatită [61]. Pentru a demonstra formarea acestui strat de apatită a fost monitorizată variația de masă a materialelor sub forma de pulbere și peleiți. În toate cazurile, s-a observat o scădere de masă în primele 3-5 zile (2-3 % masă) după care are loc o creștere de masă a materialelor. Scăderea de masă observată în primele zile de imersie s-a redus în cazul compozitelor cu chitosan și gelatină, ceea ce înseamnă că prin introducerea gelatinei și chitosanului se poate mări stabilitatea *in vitro* a compozitelor pe bază de hidroxiapatită. Rezultatele experimentelor au arătat că după 4 zile de imersare masa granulelor a început să crească și a continuat astfel până în ziua a 28-a (Fig. 14). Acest fenomen a fost similar în cazul hidroxiapatitei cât și a hidroxiapatitei cu diferite materiale aditive. Prin adăugarea la HAP nanotuburilor de carbon și în cazul HAPSi s-a observat o scădere în formarea stratului de hidroxiapatită în timpul imersării în SBF.

Cea mai mare variație de masă a fost înregistrată pentru cHAPSi, ceea ce a arătat o pierdere de masă mai mare în primele 3 zile, dar variația finală a fost peste 4%. Compozitele cu chitosan și gelatină au fost mai stabile, scăderile de masă fiind mai reduse și variația a fost peste 3.5%. Mărirea medie a masei după 28 de zile a fost situată în intervalul de 3-4.5% pentru toate materialele.

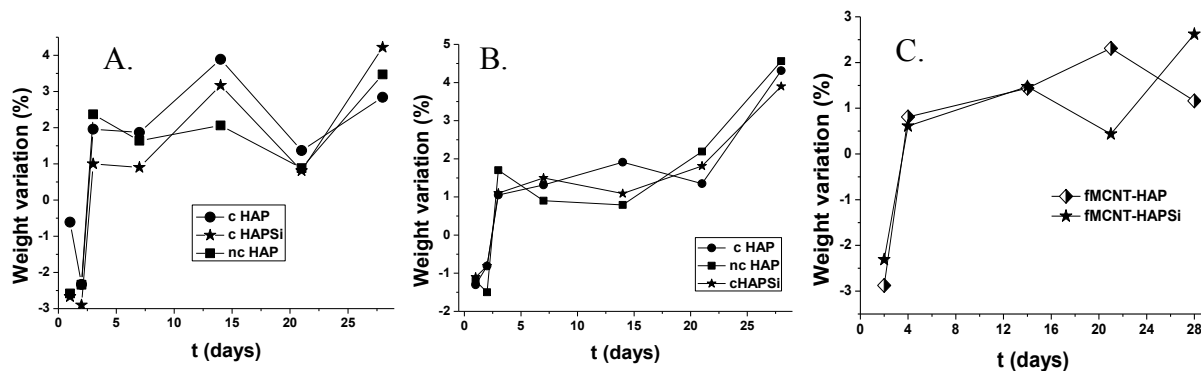


Figura 14. Variația masei peletei (A) și a granulelor (B, C) de materiale bazate pe HAP în funcție de durata imersării SBF

Fig. 15 rezumă cantitatea finală de ioni de calciu și fosfor precipitați din SBF pentru materiale sub forme de pulbere și cele compactate. Pentru materiale compozite de hidroxiapatită s-a putut observa un consum mai mare de ioni de fosfor, comparativ cu cHAPSi, ncHAP și cHAP. Acest lucru poate fi explicat prin formarea unei cantități mai mari de hidroxiapatită substituită cu ioni Na^+ and K^+ , fapt confirmat de rezultatele XRD. Acest lucru sugerează că adăugarea gelatinei și a chitosanului a mărit proprietățile de schimb ionic a hidroxiapatitei. Consumul de ioni de fosfor a fost mai mare pentru compozitele cu chitosan sub formă de peleti, iar pentru cele cu gelatină în cazul formei de pulbere. După 28 de zile de imersare SBF se poate vedea o structură de apatită bine cristalizată și confirmată de rezultatele XRD.

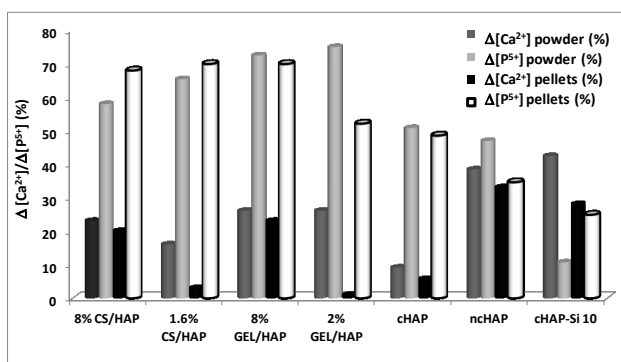


Figura 15. Consumul final de ioni de calciu și fosfor în cazul pudrei și HAP compactat, HAPSi și materiale bazate pe HAP biopolimerizat, după 28 de zile de imersare in SBF

În cazul peleților fMCNT-HAP și fMCNT-HAPSi Fig. 16C arată schimbările de concentrații ale ionilor de Ca^{2+} și fosfor în timpul imersării în SBF. Concentrația de ioni a oscilat în timp datorită formării și redizolvării a stratului de apatită nou formate. [27, 46]. Concentrația a

scăzut până în ziua a 15-a, ceea ce se poate datora formării HAP, creșterea concentrației sugerează redizolvarea parțială a stratului HAP nou format.

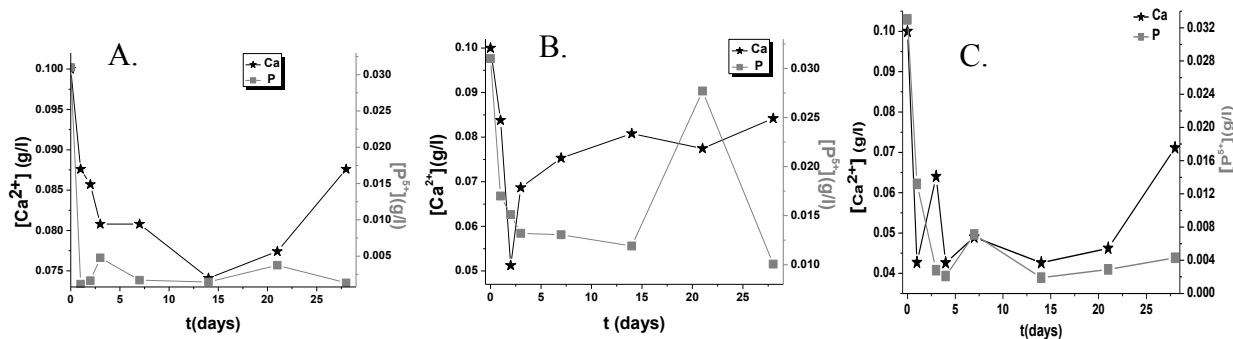


Figura 16. Variația concentrației de ioni de calciu și fosfor a pulberilor și peletilor de CS/HAP (A, B) și a granulelor fMCNT-HAPSi (C) în funcție de timpul îmbibării în SBF

În final, comparând materialele sub formă de pulbere cu cele compactate, putem afirma că pulberile au fost mai solubile. Toate materialele au determinat formarea apatitei osoase pe suprafața lor, dar mecanismul a fost diferit în funcție de compoziția fazală și a formei lor: pudră sau pelet.

III. Aplicarea materialelor bazate pe hidroxiapatită ca substrate în diferite procese de sorbție

III.1 Sorbția albuminei

Este foarte important studiul sorbției albuminei, deoarece după implantare proteinele fac legătura între fazele organice și anorganice [62].

Albumina bovină serică (BSA) a fost folosită în acest studiu ca o proteină model pentru a determina eficiența și capacitatea sorbției a compozitelor CS-fMCNT-HAP și CS-fMCNT-HAPSi cu conținuturi de chitosan diferiți. Hidroxiapatita are caracteristici de legare multiplă cu proteine, având un loc de legare pentru Ca^{2+} și unul pentru P [63]. Această capacitate devine mai bună dacă numărul de locuri de legare se mărește prin adăugarea nanotuburilor de carbon funcționalizate cu $-\text{COOH}$ și prin adăugare de chitosan. Hidrofobicitatea BSA-urilor individuale și a moleculelor compozite a îmbunătățit interacția lor reciprocă și comportamentul de sorbție. Adsorbția BSA-lui pe HAP se datorează în primul rând forțelor de atracție electrostatică între suprafața particulelor de HAP și moleculele de BSA. Fenomenul de sorbție a BSA-ului pe nanoparticulele de HAP a fost atribuită interacției electrostatice dintre cationul Ca^{2+} și anionul PO_4^{3-} a nanoparticulelor HAP cu anionul COO^- și cationul NH_4^+ a proteinei BSA [17, 64]. BSA a fost sorbit în primul rând prin atracția electrostatică dintre grupul $-\text{COOH}$ a BSA și ionul expus al calciului la schimb de ioni pe suprafața HAP [65]. Cantitatea de proteine sorbite depinde de suprafața specifică, densitatea de încărcare a suprafeței și de distribuția mărimii porilor [66].

Sorbția a fost studiate la concentrații inițiale diferite: 1 și 0.5 g/l de BSA și la două pH-ul diferite: 7,5 and 8 [67]. Rezultatele confirmă datele din literatură, eficiența sorbției fiind mai mare la pH=7.5 decât la pH=8. Comparând hidroxiapatita cu hidroxiapatita dopată cu silice, se poate constata cea fără silice a avut capacitate mai mare de sorbție acest rezultat fiind în concordanță cu măsurătorile de suprafață specifică.

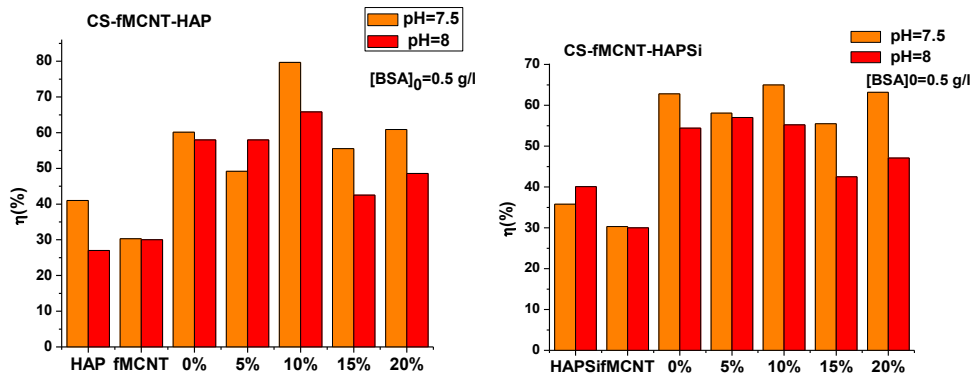


Figura 18. Eficiența sorpției de a CS-fMCNT-HAP/HAPSi la două valori diferite de pH

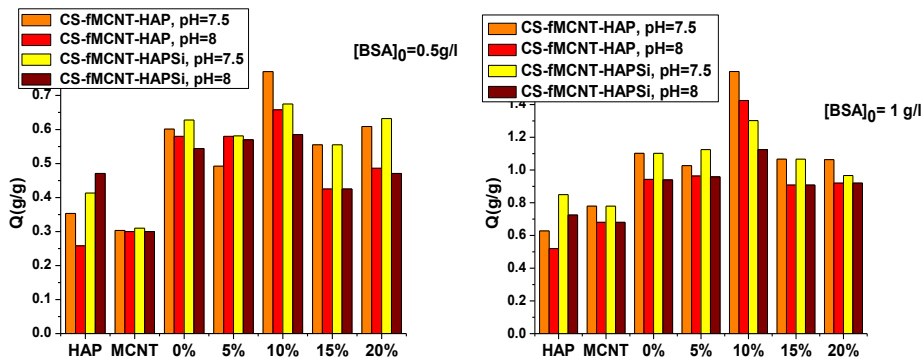


Figura 19. Capacitate de sorbție de BSA a compozitelor CS-fMCNT-HAP/HAPSi

Așa cum se vede în Fig.20 capacitatea de sorbție a arătat fluctuații datorită “competiției” dintre sorbție și desorbție până s-a ajuns la echilibru; acesta este o proprietate caracteristică a nanomaterialelor [68].

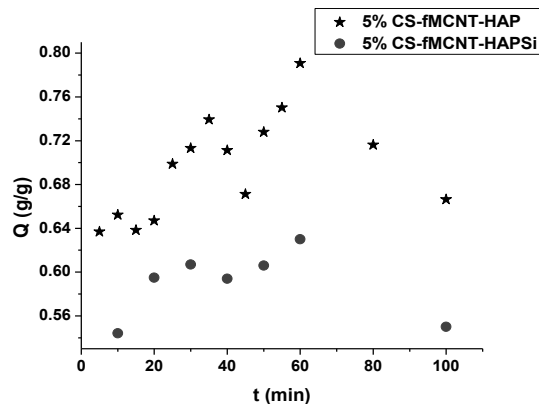


Figura 20. Sorbția BSA în timp, $[BSA]_0 = 0.5 \text{ g/l}$, pH=7.5 în cazul 5%CS-fMCNT-HAP/HAPSi

În Fig. 19 a arătată că 10%CS-fMCNT-HAP a avut cea mai mare capacitate de sorbție la pH=7.5. Astfel maxima de sorbție a fost determinată în cazul compozitei menționată anterior

(10%CS–fMCNT–HAP) în intervalul de 0,2 – 2,5 g/l de concentrație inițială de BSA la pH =7.5. Maxima a fost determinată la concentrație inițială de BSA 2 g/l.

III.2 Sorbția ibuprofenului

Ibuprofenul (IBU) a fost folosit ca medicament model pentru studierea capacității de sorbție și de desorbție a compozitelor. Ca și solvent pentru ibuprofen a fost folosit hexanul [69]. Pentru măsurătorile cu spectroscoopia UV lungimea de undă optima a fost aproximativ 272 nm.

În urma măsurătorilor s-a constatat că capacitatea de sorbție a crescut până la 17 g/l concentrație inițială IBU, după care a rămas constant.

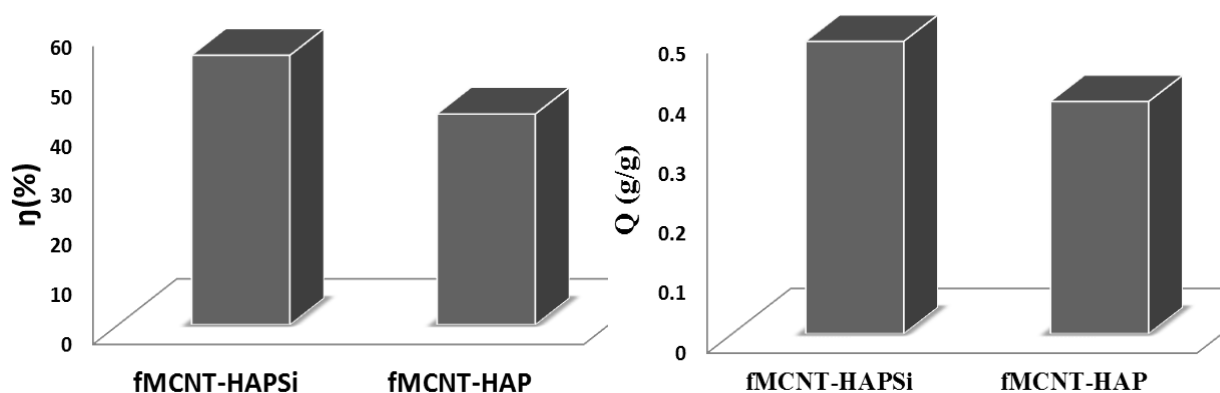


Figura 21. Capacitatea și eficiența de sorbție IBU a compozitului

Literatura prezintă două ipoteze pentru sorbția de IBU: (i) porii ar putea fi umpluți progresiv până la un prag la care s-ar satura tot volumul poros, și ibuprofenul rămas s-ar putea depozita doar în granule; (ii) suprafața granulată ar putea fi acoperită întâi cu substanța medicamentului, și porii ar fi umpluți treptat cu cantitatea depozitată crescândă [70]. Capacitatea de sorbție și eficiența ei în cazul compozitelor cu silice a fost mai mare (cu mai mult de 100 mg/g) decât pentru compozite fără silice (Fig. 21).

III.3. Desorbția ibuprofenului

Eliberare ibuprofenului s-a realizat prin imersarea probelor în SBF sub formă de granule. Prin desorbția IBU-lui de pe suprafața compozitelor a fost posibilă studiul unui posibil efecte de întârziere. Comparând compozitele cu- și fără silice s-a ajuns la concluzia că cea cu silice a avut o durată mai mare de desorbție. E. Chevalier *et al.* afirmă că pătrunderea ibuprofenului în pori

este corelată cu porozitatea mai mare a compozitelor [70], ceea ce duce la un conținut mai mic pe suprafață. În cazul nostru acest lucru poate cauza o eliberare mai lentă de ibuprofen pentru compozitul fMCNT-HAPSi (Fig. 22.B). Pentru fMCNT-HAP toată cantitatea de IBU absorbită a fost desorbită după 57 de ore. Prima jumătate a acestei cantități a fost desorbită în prima zi (Fig.22). În cazul fMCNT-HAPSi în primele 24 de ore doar o mică parte (11%) de IBU s-a desorbit, iar după 48 de ore desorbția s-a accelerat. Desorbția de pe compozitele cu silice a fost mai lentă decât în cazul compozitelor fără silice, deoarece numărul de legături de hidrogen a fost mai mare între grupurile de silanol de pe suprafață prin legăturile de hidrogen și IBU a fost mai mare [71].

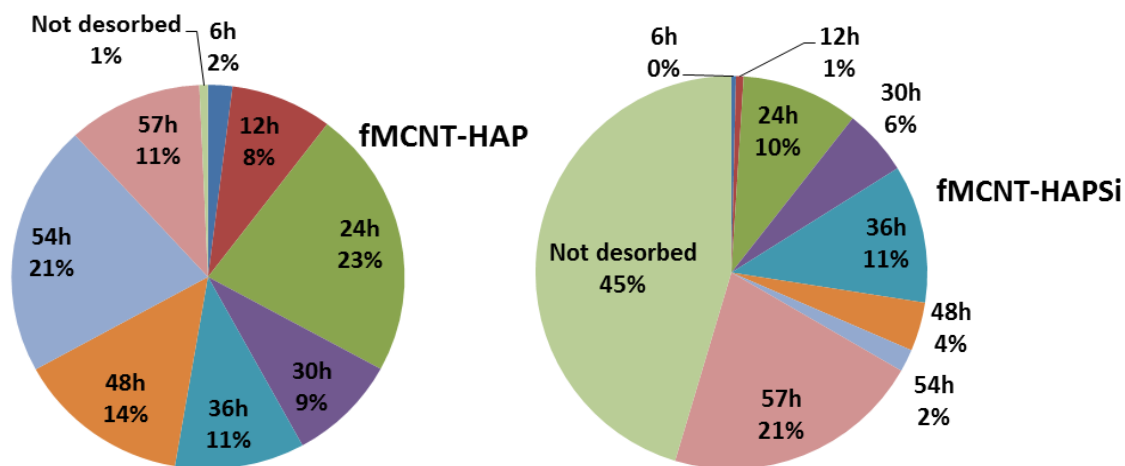


Figure 22. Eficiența desorbției de IBU în timp

IV. Concluzii generale

Teza prezintă prepararea, caracterizarea și posibilele aplicații ale biocompozitelor bazate pe hidroxiapatită. Materialul de bază ales a fost hidroxiapatita, care este principalul component anorganic a osului, astfel având o biocompatibilitate și bioactivitate foarte bună, dar proprietăți mecanice slabe care pot fi îmbunătățite prin folosirea materialelor aditive. Materialele pe bază de hidroxiapatită pot avea o serie de aplicații, de aceea a fost foarte importantă studierea influența condițiilor lor de preparare asupra proprietăților lor respectiv aplicabilităților acestora. Efectul aditivilor asupra proprietăților a fost studiate prin diferite metode (TEM, SEM, XRD).

Teza are două părți importante, împărțirea fiind făcută după tipul aditivilor:

- **A.** Silice și biopolimeri: chitosan (CS), polyvinilpirrolidone (PVP), gelatină (GEL);
- **B.** Nanotuburi de carbon multi-perete funcționalizate COOH (fMCNT) și chitosan;

S-au studiat: variația timpului de reacție în funcție de concentrația precursorului, *distribuția mărimii medii a particulelor*, *mărimea cristalitelor*; *cristalinitatea*, *stabilitatea termică*; *morfologia*; *capacitatea sorbției*; *comportamentul in vitro*.

A. Efectul SiO₂-lui și biopolimerilor

Pentru preparare materialelor a fost aleasă metodă de precipitare. S-au constatat următoarele:

1. Timpul de reacție se reduce (22h→6h) prin creșterea concentrației precursorilor sau prin adăugarea minim de 1.6 wt.% chitosan.
2. Mărimea cristalitelor de HAP cu polimeri a fost mai mică decât în cazul HAP-i pură. CS a redus (43→46 nm) mărimea cristalitelor pe când în cazul PVP-lui mărimea cristalitor a crescut.
3. GEL/HAP a avut cea mai mică mărime medie a particule și cea mai mare suprafață specifică.
4. Măsurările termogravimetrice cât și XRD au arătat că HAP-l nu s-a decompus sub 1000°C.

5. Pentru testarea *in vitro*, materialele au fost imersate în SBF, iar în timpul imersării s-a format un nou strat de apatită pe suprafață și cristalinitatea materialului a crescut. În cazul hidroxiapatite cu aditive s-a format o nouă fază Na^+/K^+ -HAP.

Bazat pe aceste rezultate se recomandă aplicația acestor materiale sub formă de nanopulberi, de ex. ca și purtător de medicamente sau ca absorbenți pentru purificarea apei.

B. Effectul chitosanului și a nanotuburi de carbon:

Rolul principal al nanotuburilor de carbon este de a îmbunătăți proprietățile mecanice ale compozitelor. S-au constatat următoarele:

1. Conținutul optim de fMCNT a fost de 10wt.%. Metoda optimă de preparare a fost precipitarea deoarece în aceste caz s-au obținut composite cu cea mai mare omogenitate.
2. Prin adaugare de fMCNT și CS la HAP cristalinitatea a fost redusă.
3. Compozitele cu nanotuburi funcționalizate și cu 10% de chitosan, și/sau 10 % silice au avut cea mai mare omogenitate și cea mai mare suprafață specifică.
4. Prezența simultană a chitosanului și a silicei în compozitele pe bază de HAP, nu influențează semnificativ suprafața specifică. Absența silicei din compozit, conduce la o creștere a suprafețe specifică odată cu creșterea concentrației de CS.
5. Eliminarea nanotuburilor de carbon a avut loc la o temperatură mai scăzută în cazul compozitelor fMCNT-HAP și fMCNT-HAPSi comparativ cu temperatura de descompunere a fMCNT pure. fMCNT-HAPSi a avut o stabilitate termică mai scăzută decât fMCNT-HAP. Stabilitatea termică a compozitelor a fost redusă prin adăugarea CS-lui, această descompunere având loc paralel cu descompunerea fMCNT-lui.
6. Adăugarea adaosul de fMCNT la HAP a influențat proprietățile materialelor. Testele de bioactivitate au sugerat că prezența fMCNT –lui în composite reduce noul strat de HAP în timpul imersării în SBF.
7. Din punct de vedere a unor posibile aplicații cum este depunerea pe implanturi, au fost determinate capacitatea și eficiența de sorbție de albumina și ibuprofen în cazul compozitelor cu fMCNT. S-a constatat că capacitatea și eficiența maximă de sorbție se manifestă la un *pH de 7.5*. Compozitele fără silice au capacitate și eficiență de sorbție mai mare decât cele cu silice, în concordanță și cu măsurătorile de suprafață specifică.

8. Studiile de desorbție au arătat că în cazul compozitelor cu silice desorbția IBU-lui au avut un loc numai 55% de IBU s-a desorbit după 57 de ore, pe când în cazul compozitelor fără silice după 57 de ore toate cantitatea de IBU s-a desorbit.

Literatura de specialitate arată că nanotuburile de carbon îmbunătățesc proprietățile mecanice ale compozitelor, dar măsurarea acestor proprietăți însă rămâne un plan de viitor.

În această teză au fost studiate influențele diferiților parametri de preparare asupra proprietății materialelor sintetizate. S-a constatat că materialele obținute au proprietăți adecvate pentru utilizarea lor ca și purtătoare de medicamente. O cerință importantă pentru purtătoarele de medicamente este eliberarea lentă și controlată a medicamentului astfel asigurând o concentrație *in vitro* constantă a medicamentului în timp îndelungat [72-74]. Aplicarea specifică a acestor materiale ca purtătoare de medicamente necesită studii suplimentare în viitor.

Referințe selectate

1. F. Xie, E. Pollet, P.J. Halley, L. Avérous, Starch-based nano-biocomposites, *Progress in Polymer Science*, 38 (2013) 1590-1628.
2. D.L. Batchelar, M.T.M. Davidson, W. Dabrowski, I.A. Cunningham, Bone-composition imaging using coherent-scatter computed tomography: Assessing bone health beyond bone mineral density, *Medical Physics*, 33 (2006) 904.
3. N. Rameshbabu, K.P. Rao, T.S.S. Kumar, Accelerated microwave processing of nanocrystalline hydroxyapatite, *Journal of Materials Science*, 40 (2005) 6319-6323.
4. N. Pramanik, S. Mohapatra, P. Bhargava, P. Pramanik, Chemical synthesis and characterization of hydroxyapatite (HAp)-poly (ethylene co vinyl alcohol) (EVA) nanocomposite using a phosphonic acid coupling agent for orthopedic applications, *Materials Science and Engineering: C*, 29 (2009) 228-236.
5. Z.-H. Zhou, P.-L. Zhou, S.-P. Yang, X.-B. Yu, L.-Z. Yang, Controllable synthesis of hydroxyapatite nanocrystals via a dendrimer-assisted hydrothermal process, *Materials Research Bulletin*, 42 (2007) 1611-1618.
6. L. Hao, H. Yang, N. Zhao, C. Du, Y. Wang, Controlled growth of hydroxyapatite fibers precipitated by propionamide through hydrothermal synthesis, *Powder Technology*, 253 (2014) 172-177.
7. N. Higon, M. Victoria Cabanas, J. Pena, M. Vallet-Regi, Dip coated silicon-substituted hydroxyapatite films, *Acta biomaterialia*, 2 (2006) 567-74.
8. A. Rogina, M. Ivankovic, H. Ivankovic, Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite within chitosan matrix, *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 33 (2013) 4539-44.
9. E.S.B. Melinda Czikó, Mircea Vasile Diudea, Reka Barabas Research on hydroxyapatite based composite materials, *Revue Roumaine de Chimie*, 59 (2014) 353-357.
10. A. Corami, S. Mignardi, V. Ferrini, Copper and zinc decontamination from single- and binary-metal solutions using hydroxyapatite, *Journal of hazardous materials*, 146 (2007) 164-70.
11. J. Reichert, J.G.P. Binner, An evaluation of hydroxyapatite-based filters for removal of heavy metal ions from aqueous solutions, *Journal of Materials Science*, 31 (1996) 1231-1241.
12. C. Stotzel, F.A. Muller, F. Reinert, F. Niederdraenk, J.E. Barralet, U. Gbureck, Ion adsorption behaviour of hydroxyapatite with different crystallinities, *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 74 (2009) 91-5.
13. K. Kandori, A. Fudo, T. Ishikawa, Adsorption of myoglobin onto various synthetic hydroxyapatite particles, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2 (2000) 2015-2020.
14. J. Sun, L. Wu, Adsorption of protein onto double layer mixed matrix membranes, *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 123 (2014) 33-8.
15. M.M. Ž. Stankevičiūtė, A. Beganskienė, A. Kareiva, Sol-gel synthesis of calcium phosphate coatings on Ti substrate using dip-coating technique, *Chemija*, 24 (2013) 288-295.
16. D. Xiao, X. Zhou, H. Li, Y. Fu, K. Duan, X. Lu, X. Zheng, J. Weng, Fabrication of hollow hydroxyapatite particles assisted by small organic molecule and effect of microstructure on protein adsorption, *Journal of the European Ceramic Society*, 35 (2015) 1971-1978.
17. S.K. Swain, D. Sarker, Study of BSA protein adsorption/release on hydroxyapatite nanoparticles, *Applied Surface Science*, 286 (2013) 99-103.
18. E. Bogya, M. Czikó, G. Szabó, R. Barabás, The red beetroot extract antioxidant activity and adsorption kinetics onto hydroxyapatite-based materials, *Journal of the Iranian Chemical Society*, 10 (2013) 491-503.
19. A.-C. Dancu, R. Barabas, E.-S. Bogya, Adsorption of nicotinic acid on the surface of nanosized hydroxyapatite and structurally modified hydroxyapatite, *Central European Journal of Chemistry*, 9 (2011) 660-669.
20. L. Gu, X. He, Z. Wu, Mesoporous hydroxyapatite: Preparation, drug adsorption, and release properties, *Materials Chemistry and Physics*, 148 (2014) 153-158.
21. L.J. del Valle, O. Bertran, G. Chaves, G. Revilla-López, M. Rivas, M.T. Casas, J. Casanovas, P. Turon, J. Puiggali, C. Alemán, DNA adsorbed on hydroxyapatite surfaces, *J. Mater. Chem. B*, 2 (2014) 6953-6966.
22. F. Vázquez-Hernández, C. Mendoza-Barrera, V. Altuzar, M. Meléndez-Lira, M.A. Santana-Aranda, M. de la L. Olvera, Synthesis and characterization of hydroxyapatite nanoparticles and their application in protein adsorption, *Materials Science and Engineering: B*, 174 (2010) 290-295.
23. E. Skwarek, W. Janusz, D. Sternik, Adsorption of citrate ions on hydroxyapatite synthesized by various methods, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 299 (2013) 2027-2036.

24. F. Castro, A. Ferreira, F. Rocha, A. Vicente, J. António Teixeira, Characterization of intermediate stages in the precipitation of hydroxyapatite at 37°C, *Chemical Engineering Science*, 77 (2012) 150-156.
25. I. Mobasherpour, M.S. Heshajin, A. Kazemzadeh, M. Zakeri, Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method, *Journal of Alloys and Compounds*, 430 (2007) 330-333.
26. G. With, H.J.A. Dijk, N. Hattu, K. Prijs, Preparation, microstructure and mechanical properties of dense polycrystalline hydroxy apatite, *Journal of Materials Science*, 16 (1981) 1592-1598.
27. R.B. E.S. Bogya, L. Bizo, V.R. Dejeu. *Preparation and characterization of silicate hydroxyapatites used for copper sorption*. in *11th International Conference and Exhibition of the European Ceramic Society*. 2009 Krakow, Poland.
28. R. Barabás, M. Czíkó, I. Dékány, L. Bizo, E.S. Bogya, Comparative study of particle size analysis of hydroxyapatite-based nanomaterials, *Chem. Pap.*, 67 (2013) 1414-1423.
29. D. Lahiri, S. Ghosh, A. Agarwal, Carbon nanotube reinforced hydroxyapatite composite for orthopedic application: A review, *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.*, 32 (2012) 1727-1758.
30. E.-S. Bogya, R. Barabás, A. Csavdári, V. Dejeu, I. Bâldea, Hydroxyapatite modified with silica used for sorption of copper(II), *Chem. Pap.*, 63 (2009) 568-573.
31. M. Jarcho, C.H. Bolen, M.B. Thomas, J. Bobick, J.F. Kay, R.H. Doremus, Hydroxylapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form, *J. Mater. Sci.*, 11 (1976) 2027-2035.
32. A. Paz, D. Guadarrama, M. López, J. E. González, N. Brizuela, J. Aragón, A comparative study of hydroxyapatite nanoparticles synthesized by different routes, *Química Nova*, 35 (2012) 1724-1727.
33. S. V. Dorozhkin, Amorphous Calcium Orthophosphates: Nature, Chemistry and Biomedical Applications, *International Journal of Materials and Chemistry*, 2 (2012) 19-46.
34. S. Mukherjee, B. Kundu, S. Sen, A. Chanda, Improved properties of hydroxyapatite–carbon nanotube biocomposite: Mechanical, in vitro bioactivity and biological studies, *Ceram. Int.*, 40 (2014) 5635-5643.
35. Z. Leilei, L. Hejun, L. Kezhi, F. Qiangang, Z. Yulei, L. Shoujie, A Na and Si co-substituted carbonated hydroxyapatite coating for carbon nanotubes coated carbon/carbon composites, *Ceramics International*, (2014)
36. A.E. Porter, N. Patel, J.N. Skepper, S.M. Best, W. Bonfield, Effect of sintered silicate-substituted hydroxyapatite on remodelling processes at the bone-implant interface, *Biomaterials*, 25 (2004) 3303-14.
37. E.L. Solla, F. Malz, P. González, J. Serra, C. Jaeger, B. León, The Role of Si Substitution into Hydroxyapatite Coatings, *Key Eng. Mater.*, 361-363 (2008) 175-178.
38. L. Chen, C.Y. Tang, H.S.-I. Ku, C.P. Tsui, X. Chen, Microwave sintering and characterization of polypropylene/multi-walled carbon nanotube/hydroxyapatite composites, *Composites Part B: Engineering*, 56 (2014) 504-511.
39. J. Venkatesan, Z.-J. Qian, B. Ryu, N. Ashok Kumar, S.-K. Kim, Preparation and characterization of carbon nanotube-grafted-chitosan – Natural hydroxyapatite composite for bone tissue engineering, *Carbohydr. Polym.*, 83 (2011) 569-577.
40. K. Grandfield, F. Sun, M. FitzPatrick, M. Cheong, I. Zhitomirsky, Electrophoretic deposition of polymer-carbon nanotube–hydroxyapatite composites, *Surface and Coatings Technology*, 203 (2009) 1481-1487.
41. K. Bleek, A. Taubert, New developments in polymer-controlled, bioinspired calcium phosphate mineralization from aqueous solution, *Acta biomaterialia*, 9 (2013) 6283-321.
42. M. Sadat-Shojai, M.T. Khorasani, E. Dinpanah-Khoshdargi, A. Jamshidi, Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures, *Acta biomaterialia*, 9 (2013) 7591-621.
43. H. Zhou, J. Lee, Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering, *Acta biomaterialia*, 7 (2011) 2769-81.
44. S.H. Teng, E.J. Lee, B.H. Yoon, D.S. Shin, H.E. Kim, J.S. Oh, Chitosan/nanohydroxyapatite composite membranes via dynamic filtration for guided bone regeneration, *Journal of biomedical materials research. Part A*, 88 (2009) 569-80.
45. X. Du, Y. Chu, S. Xing, L. Dong, Hydrothermal synthesis of calcium hydroxyapatite nanorods in the presence of PVP, *J. Mater. Sci.*, 44 (2009) 6273-6279.
46. M.J.A. Mijarsh, M.A. Megat Johari, Z.A. Ahmad, Effect of delay time and Na₂SiO₃ concentrations on compressive strength development of geopolymer mortar synthesized from TPOFA, *Construction and Building Materials*, 86 (2015) 64-74.
47. C. Shu, Y. Xianzhu, X. Zhangyin, X. Guohua, L. Hong, Y. Kangde, Synthesis and sintering of nanocrystalline hydroxyapatite powders by gelatin-based precipitation method, *Ceramics International*, 33 (2007) 193-196.

48. K. Sing, The use of nitrogen adsorption for the characterisation of porous materials, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 187-188 (2001) 3-9.
49. J. Peña, I. Izquierdo-Barba, M.A. García, M. Vallet-Regí, Room temperature synthesis of chitosan/apatite powders and coatings, *Journal of the European Ceramic Society*, 26 (2006) 3631-3638.
50. T. Wang, A. Dorner-Reisel, E. Müller, Thermogravimetric and thermokinetic investigation of the dehydroxylation of a hydroxyapatite powder, *J. Eur. Ceram. Soc.*, 24 (2004) 693-698.
51. G.M. Neelgund, K. Olurode, Z. Luo, A. Oki, A simple and rapid method to graft hydroxyapatite on carbon nanotubes, *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.*, 31 (2011) 1477-1481.
52. Z. Zyman, D. Rokhmistrov, V. Glushko, Structural changes in precipitates and cell model for the conversion of amorphous calcium phosphate to hydroxyapatite during the initial stage of precipitation, *J. Cryst. Growth*, 353 (2012) 5-11.
53. C. Kailasanathan, N. Selvakumar, Comparative study of hydroxyapatite/gelatin composites reinforced with bio-inert ceramic particles, *Ceramics International*, 38 (2012) 3569-3582.
54. K. Pandi, N. Viswanathan, In situ precipitation of nano-hydroxyapatite in gelatin polymatrix towards specific fluoride sorption, *International journal of biological macromolecules*, 74C (2014) 351-359.
55. X. Pang, I. Zhitomirsky, Electrophoretic deposition of composite hydroxyapatite-chitosan coatings, *Materials Characterization*, 58 (2007) 339-348.
56. L. Wang, C. Li, Preparation and physicochemical properties of a novel hydroxyapatite/chitosan-silk fibroin composite, *Carbohydrate Polymers*, 68 (2007) 740-745.
57. N. Davidenko, R.G. Carrodeguas, C. Peniche, Y. Solis, R.E. Cameron, Chitosan/apatite composite beads prepared by in situ generation of apatite or Si-apatite nanocrystals, *Acta biomaterialia*, 6 (2010) 466-76.
58. S.P. Victor, C.P. Sharma, Development and evaluation of cyclodextrin complexed hydroxyapatite nanoparticles for preferential albumin adsorption, *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 85 (2011) 221-8.
59. X.Y. Lu, N.Y. Zhang, L. Wei, J.W. Wei, Q.Y. Deng, X. Lu, K. Duan, J. Weng, Fabrication of carbon nanotubes/hydroxyapatite nanocomposites via an in situ process, *Appl. Surf. Sci.*, 262 (2012) 110-113.
60. T. Zhou, Effect of silane treatment of carboxylic-functionalized multi-walled carbon nanotubes on the thermal properties of epoxy nanocomposites, *eXPRESS Polymer Letters*, 4 (2010) 217-226.
61. P.N. Chavan, M.M. Bahir, R.U. Mene, M.P. Mahabole, R.S. Khairnar, Study of nanobiomaterial hydroxyapatite in simulated body fluid: Formation and growth of apatite, *Materials Science and Engineering: B*, 168 (2010) 224-230.
62. W. Zhang, Y. Chai, X. Xu, Y. Wang, N. Cao, Rod-shaped hydroxyapatite with mesoporous structure as drug carriers for proteins, *Applied Surface Science*, 322 (2014) 71-77.
63. T. Boix, J. Gomez-Morales, J. Torrent-Burgues, A. Monfort, P. Puigdomenech, R. Rodriguez-Clemente, Adsorption of recombinant human bone morphogenetic protein rhBMP-2m onto hydroxyapatite, *Journal of inorganic biochemistry*, 99 (2005) 1043-50.
64. J.W. Shen, T. Wu, Q. Wang, H.H. Pan, Molecular simulation of protein adsorption and desorption on hydroxyapatite surfaces, *Biomaterials*, 29 (2008) 513-32.
65. R.C.H. Diana T. Hughes Wassell, Graham Embery, Adsorption of bovine serum albumin onto hydroxyapatite, *Biomaterials*, 16 (1995) 697-702.
66. E. Fujii, M. Ohkubo, K. Tsuru, S. Hayakawa, A. Osaka, K. Kawabata, C. Bonhomme, F. Babonneau, Selective protein adsorption property and characterization of nano-crystalline zinc-containing hydroxyapatite, *Acta biomaterialia*, 2 (2006) 69-74.
67. N. Zhang, T. Gao, Y. Wang, Z. Wang, P. Zhang, J. Liu, Environmental pH-controlled loading and release of protein on mesoporous hydroxyapatite nanoparticles for bone tissue engineering, *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 46 (2015) 158-65.
68. Y.K. Tovbin, Foundations of the fluctuation theory of adsorption on microcrystalline particles, *Russian Journal of Physical Chemistry B*, 4 (2011) 1033-1045.
69. T. Kokubo, H.-M. Kim, M. Kawashita, Novel bioactive materials with different mechanical properties, *Biomaterials*, 24 (2003) 2161-2175.
70. E. Chevalier, M. Viana, S. Cazalbou, L. Makein, J. Dubois, D. Chulia, Ibuprofen-loaded calcium phosphate granules: combination of innovative characterization methods to relate mechanical strength to drug location, *Acta biomaterialia*, 6 (2010) 266-74.
71. J. Andersson, J. Rosenholm, M. Linden, *Mesoporous silica: An alternative diffusion controlled drug delivery system*, in *Topics in Multifunctional Biomaterials & Devices*.
72. C.S. M. Betsiou, A. Papageorgiou, Adsorption of Oxaliplatin by Hydroxyapatite, *Bioautomation*, 8 (2007) 138-145.

73. J.K. Pattarawadee Phichetbovornkul, Lupon Kaewsichan. *Development of Hydroxyapatite-Chitosan Matrix as a Drug Carrier*. in *The 10th International PSU Engineering Conference*. 2012. Hat Yai, Thailand.
74. H. Yang, L. Hao, N. Zhao, C. Du, Y. Wang, Hierarchical porous hydroxyapatite microsphere as drug delivery carrier, *CrystEngComm*, 15 (2013) 5760.

Lucrări științifice - articole

1. **E.-S. Bogyá, M. Czikó, G. Szabó, R. Barabás:** *The red beetroot extract antioxidant activity and adsorption mechanism onto hydroxyapatite-based materials*, Journal of the Iranian Chemical Society, pp. 491-503, **2013**. DOI: 10.1007/s13738-012-0183-3, *impact factor* - **1.406**
2. **R. Barabás, M. Czikó, I. Dékány, L. Bizo, E. S. Bogyá:** *Comparative study of particle size analysis for hydroxyapatite-based nanomaterials*, Chemical Papers 67 (11), pp. 1414-142, **2013**. DOI: 10.2478/s11696-013-0409-6, *impact factor* - **1.096**
3. **M. Czikó, E. S. Bogyá, R. Barabás, L. Bizo:** *In vitro biological activity comparison of some hydroxyapatite-based composite materials using simulated body fluid*, Central European Journal of Chemistry, 11 (10), pp. 1583-1598, **2013**. DOI: 10.2478/s11532-013-0293-5, *impact factor* - **1.329**
4. **E. S. Bogyá, M. Czikó, R. Barabás, A. Csavdári:** *Influence of synthesis method of nano-hydroxyapatite based materials on cadmium sorption processes*, Journal of the Iranian Chemical Society, Volume 11 (1), pp. 53-68, **2014**. DOI: 10.1007/s13738-013-0275-8, *impact factor* - **1.406**
5. **M. Czikó, E. S. Bogyá, M. V. Diudea, R. Barabás:** *Research on hydroxyapatite based composite materials* - Revue Roumaine de Chimie, 59(5), pp. 353-357, **2014**. *impact factor* – **0.393**
6. **R. Barabás, G. Katona, E. S. Bogyá, M. V. Diudea, A. Szentes, B. Zsirka, J. Kovács, L. Kékedy-Nagy, M. Czikó:** *Preparation and characterization of carboxyl functionalized multiwall carbon nanotubes-hydroxyapatite composites*, -Ceramics International, - submitted, *impact factor* - **2.086**

Comunicări științifice

1. **M. Czikó, E.S. Bogyá, R. Barabás, L. Bizo,** *Hydroxyapatite composites particle size changes with time*, XVII. International Conference on Chemistry, 23. page, Cluj Napoca, **s03.11.2011- prezentare**

2. **M. Czikó, R. Barabás, L. Bizo, E.S. Bogy**, Testing of hydroxyapatite based materials behavior in water and in SBF, *XVIII. International Conference on Chemistry*, pag. 23, *Băile Felix*, **23.11.2012** - *prezentare*
3. **M. Czikó, E.S. Bogy, R. Barabás, G. Katona, A. Szentes**, Testing of Carbon nanotubes/Hydroxyapatite/Ibuprophen behavior in simulated body fluid, Conference of „Environment friendly materials and technologies” and 56th "Hungarian Spectroscopy Symposium, Hungary, Veszprém, **01-03.07. 2013** - *poster*
4. **M. Czikó, R. Barabás, E.S. Bogy, G. Katona**, Preparation and examination of hydroxyapatite based composites, *XIX. International Conference on Chemistry*, pag. 39, *Baia Mare*, **21-23. 11. 2013**. - *prezentare*
5. **M. Czikó, R. Barabás, E.S. Bogy, G. Katona**, Preparation and Characterization of Hydroxyapatite-carbon nanotubes biocomposites, *PhD Conference*, *Szeged, Hungary*, **01.03.2014** - *prezentare*
6. **M. Czikó, E.S. Bogy, R. Barabás**, Nano-hydroxyapatite based materials synthesis method influence on Cd^{2+} sorption mechanism, *4th International Conference Natura – Econ*, *Sfantu Gheorghe*, **07.03.2014** - *poster*
7. **M. Czikó, R. Barabás, E.S. Bogy**, Preparation and characterization of hydroxyapatite based biomaterials, *Jedlik Ányos professional days*, *Veszprém, Hungary*, **11-13. 04. 2014** - *poster*
8. **M. Sárközi, B. Csákány, R. Barabás, G. Katona, E.S. Bogy**, *Albumine adsorption study on hydroxyapatite based composites*, *XX. International Conference on Chemistry*, page 39, *Cluj Napoca*, **6-9.11.2014** - *prezentare*