



ACADEMIA ROMÂNĂ
INSTITUTUL DE CHIMIE FIZICĂ
“Ilie Murgulescu”
Spl. Independenței 202, PO BOX 12-194
060021 București
Tel: +4021 312 11 47 Fax: +4021 312 11 47
ROMÂNIA

DIRECTOR,
Dr.V. T. POPA

Denumirea proiectului

**NOI CONCEPTE SI STRATEGII PENTRU DEZVOLTAREA CUNOASTERII UNOR NOI
STRUCTURI BIOCOMPATIBILE IN BIOINGINERIE**

COD CNCSIS 248

ACTIVITĂȚI ICF

**1.5. Modificarea filmelor pasive prin activare chimica si/sau electrochimica;
studiul comportamentului suporturilor rezultate in fluide fiziologice simulate**

SINTEZA LUCRĂRII

2012

Activități angajate

1.5.d. Stabilirea prin metode electrochimice (voltametrie ciclică, polarizare Tafel, EIS, monitorizare potențial în circuit deschis și gradientii de potențial corespunzători) a comportării pe termen lung a filmelor obținute pe suporturi de Ti și TiAlV.

1.5.g. Caracterizarea morfologică pe termen lung cu metoda SEM a suprafețelor activate pe suporturi Ti și TiAlV.

1.5.j. Comportarea pe termen mediu prin metode electrochimice (voltametrie ciclică, polarizare Tafel, EIS, monitorizare potențial în circuit deschis și gradientii de potențial corespunzători) a filmelor obținute pe suporturi de TiNbZrTa.

1.5.l. Caracterizarea morfologică pe termen mediu cu metoda SEM a suprafețelor activate pe suporturi de TiNbZrTa.

1.5.m. Achiziție detector MCT cu ieșire analogică de semnal și vas Dewar, computer cu softurile aferente; soft-uri specializate

1.5.d. Stabilirea prin metode electrochimice (voltametrie ciclică, polarizare Tafel, EIS, monitorizare potențial în circuit deschis și gradientii de potențial corespunzători) a comportării pe termen lung a filmelor obținute pe suporturi de Ti și TiAlV

Soluțiile fiziologice folosite

S-au folosit următoarele soluții: soluție Ringer de pH neutru (7,1) și alcalin (8,91) și soluție Hank neutră (7,4).

Compoziția soluției Ringer a fost: (g/l): NaCl - 6,8; KCl - 0,4; CaCl₂ - 0,2; MgSO₄·7H₂O - 0,2048; NaH₂PO₄·H₂O - 0,1438; NaHCO₃ - 1,1; glucoză - 1.

Compoziția soluției Hank a fost (g/l): NaCl - 8; KCl - 0,4; CaCl₂ - 0,1384; MgCl₂·6H₂O - 0,1839; KH₂PO₄ - 0,06; NaHCO₃ - 0,35; Na₂HPO₄·7H₂O - 0,09.

Tehnici experimentale

S-au utilizat următoarele tehnici experimentale:

- voltametrie ciclică;
- polarizarea Tafel;
- spectroscopia electrochimică de impedanță (EIS);
- monitorizarea potențialelor în circuit deschis E_{oc} ;
- monitorizarea gradientilor de potențial în circuit deschis ΔE_{oc} .

Voltametrie ciclică

Măsurătorile de voltametrie ciclică s-au aplicat începând de la -500 mV până la +800 mV (față de electrodul saturat de calomel - SCE) folosind o viteză de baleiere de 1 mV/sec. S-a

utilizat echipamentul Voltalab 80 cu programul VoltaMaster 4. Din voltamogramele obținute s-au putut determina principalii parametri electrochimici ce caracterizează rezistența la coroziune a filmelor obținute pe suporturi metalici: E_{cor} – potențial de coroziune; E_p – potențial de pasivare; $|E_{cor} - E_p|$ - tendința la pasivare (valori mici arată o pasivare foarte ușoară); ΔE_p – domeniu de potențial de pasivitate; i_p - curent de pasivitate.

Polarizarea Tafel

Măsurătorile de polarizare Tafel s-au aplicat pe un domeniu de ± 200 mV în jurul potențialului în circuit deschis, cu o viteză de baleiere de 1 mV/sec. A fost utilizat același echipament Voltalab 80 cu programul VoltaMaster 4 care a furnizat valorile principalilor parametri de coroziune: pantele Tafel (anodică β_a și catodică β_c), rezistența de polarizare R_p , curentul de coroziune i_{cor} și viteza de coroziune V_{cor} , obținute din curbele Tafel.

Cantitatea totală de ioni eliberați în soluție (ion release) în ng/cm^2 s-a determinat astfel:

$$\text{ion release} = 1,016 \cdot V_{cor} \cdot 10^2 \quad (1)$$

în care: V_{cor} = viteza de coroziune în $\mu\text{m/an}$.

Tehnica spectroscopiei electrochimice de impedanță (EIS)

Spectrele de impedanță în forma Nyquist și Bode au fost obținute la potențialul în circuit deschis folosind impulsuri de 10mV la frecvențe între 100 mHz și 100 kHz cu un potențostat Voltalab 80. S-au înregistrat aceste spectre periodic, timp de 3000 ore de expunere.

Monitorizarea potențialelor în circuit deschis

Potențialele în circuit deschis (open circuit) E_{oc} au fost măsurate cu un voltmetru performant Hullett-Pakard, cu impedanță mare de intrare pentru a nu produce polarizarea electrodului și a obține rezultate de precizie. S-a monitorizat variația acestora timp de 3000 ore de imersie în soluțiile fiziologice enumerate mai sus.

Monitorizarea gradientilor de potențial în circuit deschis

S-au simulat și calculat gradientii de potențial ΔE_{oc} ce ar putea apărea datorită neuniformității pH-ului soluției Ringer $\Delta E_{oc1}(\text{pH})$ și neuniformității compoziției soluțiilor fiziologice $\Delta E_{oc2}(\text{c})$ și $\Delta E_{oc3}(\text{c})$ și anume:

$$\Delta E_{oc1}(\text{pH}) = E_{oc}^{RpH=7.1} - E_{oc}^{RpH=8.91} \quad (2)$$

$$\Delta E_{oc2}(\text{c}) = E_{oc}^{RpH=7.1} - E_{oc}^{HpH=7.4} \quad (3)$$

$$\Delta E_{oc3}(\text{c}) = E_{oc}^{RpH=8.91} - E_{oc}^{HpH=7.4} \quad (4)$$

S-au monitorizat acești gradienti de potențial timp de 3000 ore până în prezent și această monitorizare va continua pe perioade mai lungi de timp (1-2 ani) avându-se în vedere faptul că în organismul uman pot apărea multe situații neprevăzute.

Microscopia electronică de baleiaj (SEM)

Analiza SEM s-a realizat folosind un microscop de tip JEOL JSM7500F, operând la un voltaj de accelerație de 10 kV.

Comportarea pe termen lung a filmelor obținute pe suporturi de Ti și Ti6Al4V din curbe de voltametrie ciclică

Figura 1 prezintă câteva exemple de curbe de voltametrie ciclică în soluție Ringer de pH = 7,1 și soluție Hank de pH = 7,4 ale filmelor obținute pe suporturi de Ti și Ti6Al4V; s-a remarcat comportarea de metal pasiv mai nobilă în timp [1-4]. Toți parametrii electrochimici (Tabelele 1, 2) au avut valori mai favorabile odată cu creșterea timpului de imersie în fluidele fiziologice, arătând îmbunătățirea calităților protectoare ale acoperirii.

S-au determinat curenții de pasivitate în domeniul de potențial +400 mV ÷ +500 mV caracteristic fluidului uman [5]. Valorile curenților de pasivitate i_p și ale cantității totale de ioni eliberați în țesuturile înconjurătoare au scăzut în timp (0,6-1,9 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$) datorită înaltei rezistențe la coroziune a acoperirii. Aceste rezultate dovedesc îmbunătățirea comportării biomaterialelor în timp, adică stratul de hidroxiapatită format pe suprafață devine mai compact și se îngroașă în timp, adică devine mai bioactivă, osteoinductiv și osteoconductiv.

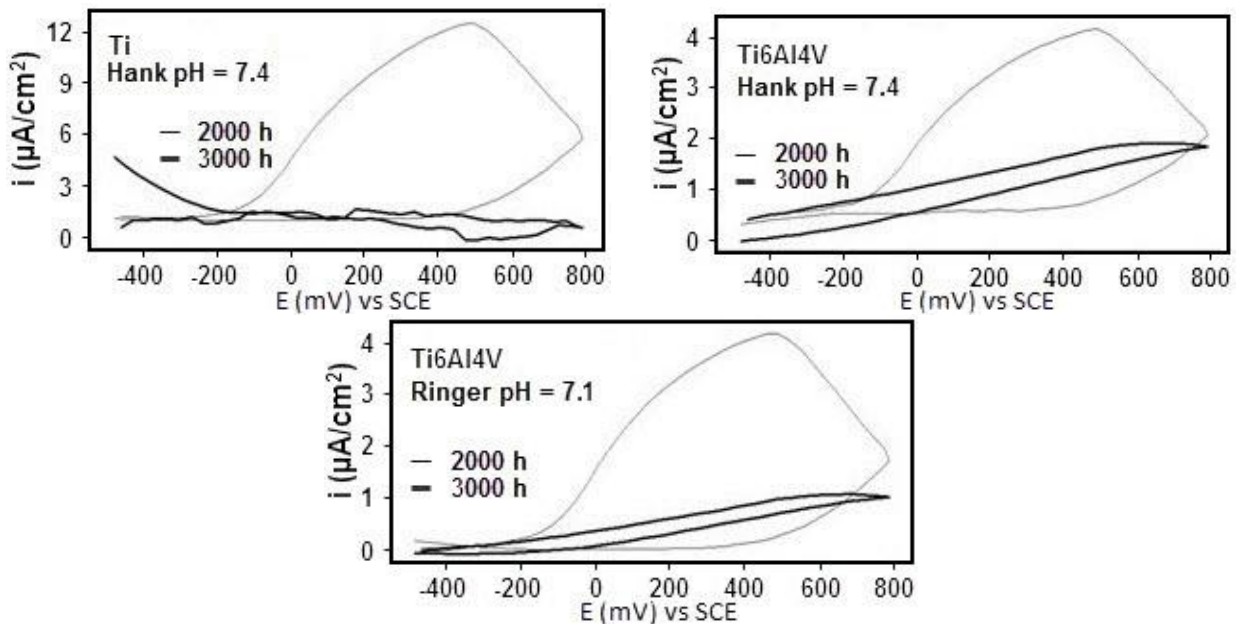


Fig. 1. Curbele de voltametrie ciclică pentru biomaterialele acoperite după imersia în soluții fiziologice

Tabelul 1. Principalii parametrii electrochimici pentru suportul de Titan acoperit

Timp (h)	E_{corr} (mV)	E_p (mV)	ΔE_p (mV)	$ E_{corr} - E_p $ (mV)	i_p ($\mu A/cm^2$)
Solutie Ringer pH = 7,1					
2000	-200	-180	>800	20	1,8
3000	-190	-175	>800	15	1,5
Solutie Ringer pH = 8,91					
2000	-200	-180	>800	20	1,9
3000	-195	-170	>800	20	1,7
Solutie Hank pH = 7,4					
2000	-190	-170	>800	20	0,9
3000	-180	-165	>800	15	0,8

Tabelul 2. Principalii parametrii electrochimici pentru suportul de aliaj Ti6Al4V ELI acoperit

Timp (h)	E_{corr} (mV)	E_p (mV)	ΔE_p (mV)	$ E_{corr} - E_p $ (mV)	i_p ($\mu A/cm^2$)
Solutie Ringer pH = 7,1					
2000	-190	-170	>800	20	0,9
3000	-180	-165	>800	15	0,7
Solutie Ringer pH = 8,91					
2000	-210	-190	>800	20	1,7
3000	-200	-180	>800	20	1,5
Solutie Hank pH = 7,4					
2000	-140	-120	>800	20	0,8
3000	-130	-115	>800	15	0,6

Comportarea pe termen lung a filmelor obținute din polarizare lineară Tafel

Tabelele 3 și 4 sumarizează valorile vitezelor de coroziune și cantitățile totale de ioni eliberați în soluțiile fiziologice pentru suportii de Ti și Ti6Al4V acoperiți cu HA. A rezultat o scădere a vitezelor de coroziune datorită îmbunătățirii calităților protectoare ale filmului de hidroxiapatită. În soluțiile Ringer și Hank de pH neutru s-au înregistrat viteze de coroziune mai mici decât cele din soluția Ringer alcalină denotând o rezistență anticorosivă mai bună în soluțiile neutre. Rezistențele de polarizare R_p au crescut în timp, dovedind îngroșarea stratului depus și au valori mai înalte în soluțiile fiziologice neutre decât în cea alcalină, evidențiind filme mai compacte, mai stabile.

Tabelul 3. Principalii parametri de coroziune pentru suportul de Titan acoperit

Timp (h)	R_p ($k\Omega \cdot cm^2$)	β_a (mV)	β_c (mV)	i_{cor} ($\mu A/cm^2$)	V_{cor} ($\mu m/an$)	Clasa de rezistență	Ion release (ng/cm^2)
Soluție Ringer pH = 7,1							
2000	150	59,5	-79,3	0,173	1,955	FS	198,63
3000	170	60,4	-102,4	0,120	1,356	FS	137,77
Soluție Ringer pH = 8,91							
2000	130	43,3	-27,6	0,151	1,706	FS	173,33
3000	160	93,1	-210,4	0,113	1,277	FS	129,74
Soluție Hank pH = 7,4							
2000	155	86,2	-61,8	0,142	1,605	FS	163,07
3000	180	150,4	-139,2	0,101	1,141	FS	115,92

PS – Perfect Stabil; FS – Foarte Stabil

Tabelul 4. Principalii parametri de coroziune pentru suportul de aliaj Ti6Al4V ELI acoperit

Timp (h)	R_p ($k\Omega \cdot cm^2$)	β_a (mV)	β_c (mV)	i_{cor} ($\mu A/cm^2$)	V_{cor} ($\mu m/an$)	Clasa de rezistență	Ion release (ng/cm^2)
Soluție Ringer pH = 7,1							
2000	512	69,3	-110,2	0,029	0,328	PS	33,32
3000	640	87,4	-120,5	0,023	0,259	PS	26,31
Soluție Ringer pH = 8,91							
2000	500	94,3	-70,5	0,132	1,492	FS	151,59
3000	590	101,4	-121,3	0,111	1,254	FS	127,41
Soluție Hank pH = 7,4							
2000	510	114,5	-160,3	0,026	0,294	PS	29,87
3000	611	97,8	-85,6	0,019	0,215	PS	21,84

PS – Perfect Stabil; FS – Foarte Stabil

Comportarea pe termen lung a filmelor obținute pe suporturi de Ti și Ti6Al4V din EIS

Spectrele Nyquist (câteva exemple sunt prezentate în Fig. 2) evidențiază semicercuri incomplete cu raze de curbură foarte mari, care arată o comportare capacitivă, un strat protector foarte rezistent [6,7]. Impedanța crește cu timpul de imersie în fluidele fiziologice, deci crește și grosimea filmului de hidroxiapatită. Astfel rezultatele obținute prin metoda spectroscopiei electrochimice de impedanță confirmă rezultatele obținute din curbele de voltametrie ciclică și atestă îmbunătățirea calităților stratului de hidroxiapatită.

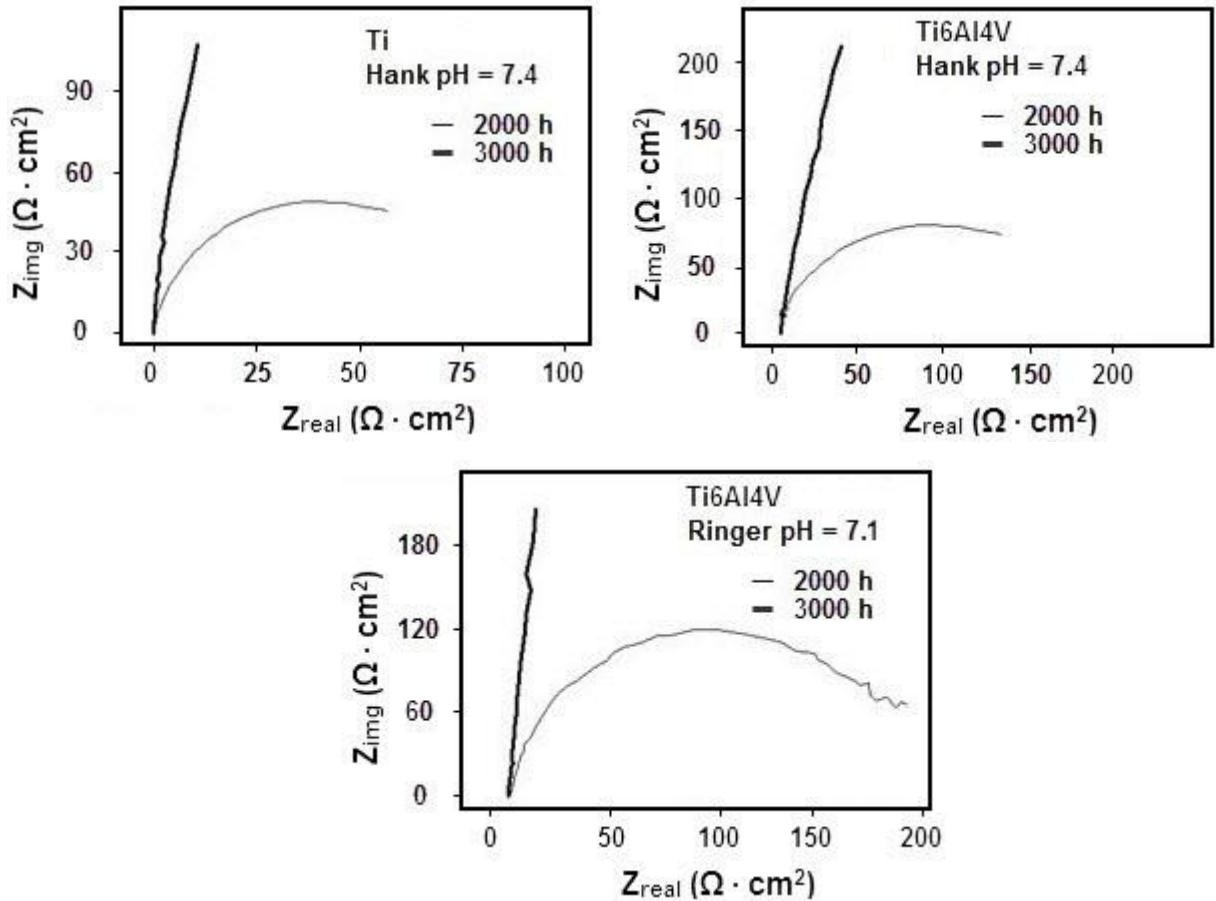


Fig. 2. Spectre Nyquist pentru biomaterialele acoperite după imersia în soluții fiziologice

Comportarea pe termen lung a filmelor obținute pe suporturi de Ti și Ti6Al4V din monitorizarea potențialelor în circuit deschis și a gradientilor de potențial corespunzători

Monitorizarea potențialelor în circuit deschis (Fig. 3) a evidențiat o tendință de înobilare în timp adică o comportare mai bună, deci o creștere a capacității protectoare a filmului de hidroxiapatită. Au rezultat valori mai electropozitive ale potențialelor în circuit deschis în soluțiile neutre Ringer și Hank decât în soluția Ringer alcalină, dovedind rezistența mai înaltă a stratului de hidroxiapatită în soluții fiziologice neutre.

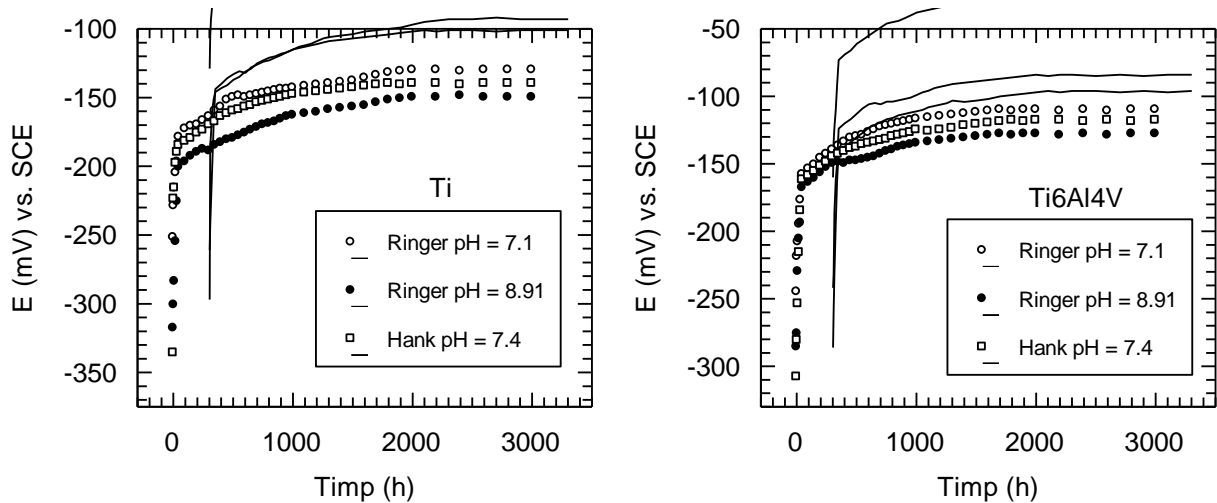


Fig. 3. Variația în timp a potențialelor în circuit deschis pentru suportii de Ti și Ti6Al4V după imersia în soluții fiziologice

Gradienții de potențial (Tabelul 5) datorati neuniformității pH-ului ΔE_{oc1} și neuniformității compoziției ΔE_{oc2} și ΔE_{oc3} soluțiilor fiziologice au valori foarte mici care nu pot genera coroziune galvanică sau locală [8,9].

Tabelul 5. Gradienții de potențial determinați pentru suportii de Ti și aliaj Ti6Al4V ELI

Material	Timp (h)	ΔE_{oc1} (mV)	ΔE_{oc2} (mV)	ΔE_{oc3} (mV)
Ti	2000	+20	+10	-10
	3000	+20	+10	-10
Ti6Al4V	2000	+18	+18	-10
	3000	+18	+8	-10

1.5.g. Caracterizarea morfologică pe termen lung cu metoda SEM a suprafețelor activate pe suporturi Ti și TiAlV

Caracterizarea morfologică pe termen lung a suprafețelor activate pe suporturi Ti prin SEM

Studiul SEM a relevat îngroșarea acoperiri de HA de pe suprafața titanului după imersie timp de 3000 ore în soluțiile fiziologice. Un exemplu este prezentat în Figura 4. Acoperirea s-a compactizat, are un aspect omogen relevând un strat gros bidimensional cu particule rotunde și pori cu diametre de circa 250 nm; aceste caracteristici sunt foarte favorabile pentru aderarea, proliferarea și multiplicarea celulelor osteoblaste.

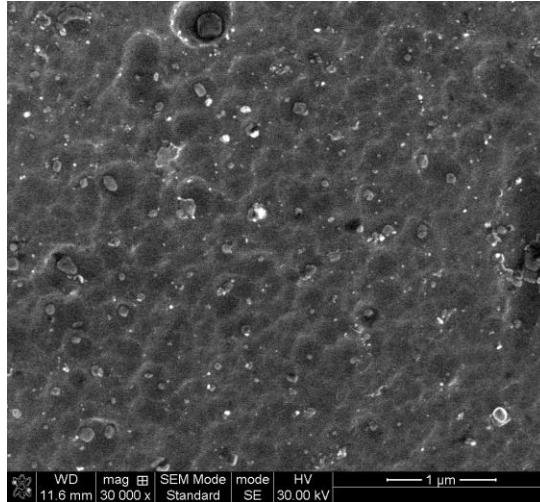


Fig. 4. Micrografie SEM pentru suprafața activată a suportului de Ti, imersat în soluție Ringer de pH = 7,1 timp de 3000 h

Caracterizarea morfologică pe termen lung a suprafețelor activate pe suporturi de aliaj Ti6Al4V prin SEM

Micrografiile SEM (Fig. 5) au evidențiat prezența unei acoperiri mai groase pe suprafața aliajului Ti6Al4V după imersie timp de 3000 ore în soluțiile fiziologice. Aspectul acoperirii s-a modificat, observându-se depuneri groase întinzându-se plat pe suprafață și la colțuri sub formă grăunțe rotunde (cu diametrul de 100-250 nm) cu nuclee goale tipice pentru cristale bidimensionale și potrivite pentru aderarea celulelor osoase.

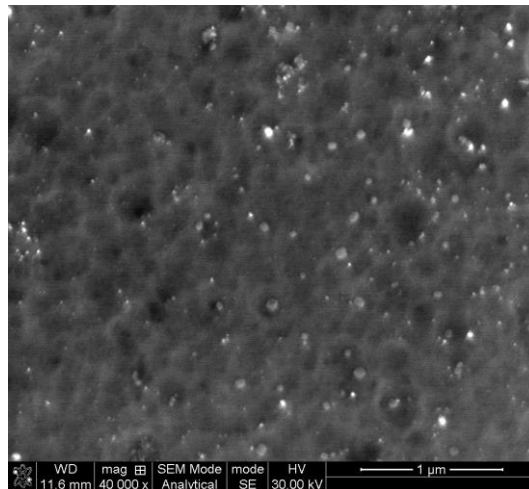


Fig. 5. Micrografie SEM pentru suprafața activată a suportului de aliaj Ti6Al4V, imersat în soluție Ringer de pH = 7,1 timp de 3000 h

1.5.j. Comportarea pe termen mediu prin metode electrochimice (voltametrie ciclică, polarizare Tafel, EIS, monitorizare potențial în circuit deschis și gradientii de potențial corespunzători) a filmelor obținute pe suporturi de TiNbZrTa

Soluțiile fiziologice folosite

S-au folosit soluție Ringer de pH = 7,58 (pH-ul normal), pH = 8,91 (obținut prin adăugare de KOH) și soluție Ringer-Brown de pH = 7,2.

Compoziția soluției Ringer a fost: (g/l): NaCl - 6,8; KCl - 0,4; CaCl₂ - 0,2; MgSO₄·7H₂O - 0,2048; NaH₂PO₄·H₂O - 0,1438; NaHCO₃ - 1,1; glucoză - 1.

Compoziția soluției Ringer-Brown a fost: (g/l): NaCl - 6; KCl - 0,4; CaCl₂·2H₂O - 0,2; natrium lactate - 3,05; pH = 7,2.

S-a lucrat la temperatura de 37⁰ ± 1⁰C.

Tehnicile experimentale

S-au utilizat aceleași tehnici experimentale ca la capitolul 1.5.d.

S-au monitorizat timp de 2000 h gradientii de potențial ΔE_{oc} ce ar putea apărea datorită neuniformității pH-ului soluției Ringer ΔE_{oc1}(pH) și neuniformității compoziției soluțiilor fiziologice ΔE_{oc2}(c) și anume:

$$\Delta E_{oc1}(pH) = E_{oc}^{RpH=7.58} - E_{oc}^{RpH=8.91} \quad (5)$$

$$\Delta E_{oc2}(c) = E_{oc}^{RpH=7.58} - E_{oc}^{RBpH=7.2} \quad (6)$$

Comportarea pe termen mediu a filmelor obținute pe suporturi de TiNbZrTa prin metoda polarizării potențiodinamice și lineare

Rezistența la coroziune a acoperirilor de hidroxiapatită (HA) obținute a fost estimată prin monitorizarea pe termen mediu a curbelor ciclice și lineare de polarizare.

Curbele ciclice de polarizare în soluții Ringer-Brown și Ringer (Fig. 6) pentru aliajul Ti-20Nb-10Zr-5Ta acoperit cu HA au arătat potențiale de coroziune (E_{cor}) și de pasivare (E_p) mai electropozitive și densități de curent pasiv (i_p) mai scăzute, adică o comportare mai nobilă în comparație cu aliajul neacoperit (Fig. 6) datorită efectului de pasivare al acoperirii. Pentru aliajul acoperit, toți parametrii electrochimici (Tabelul 6) au devenit mai favorabili în timp ca rezultat al depunerii de noi straturi protectoare de HA din soluțiile fiziologice; înobilarea potențialelor de coroziune (E_{cor}) și descreșterea densităților curentului pasiv (i_p) corelate cu observațiile SEM (Fig. 9) susțin aceste afirmații.

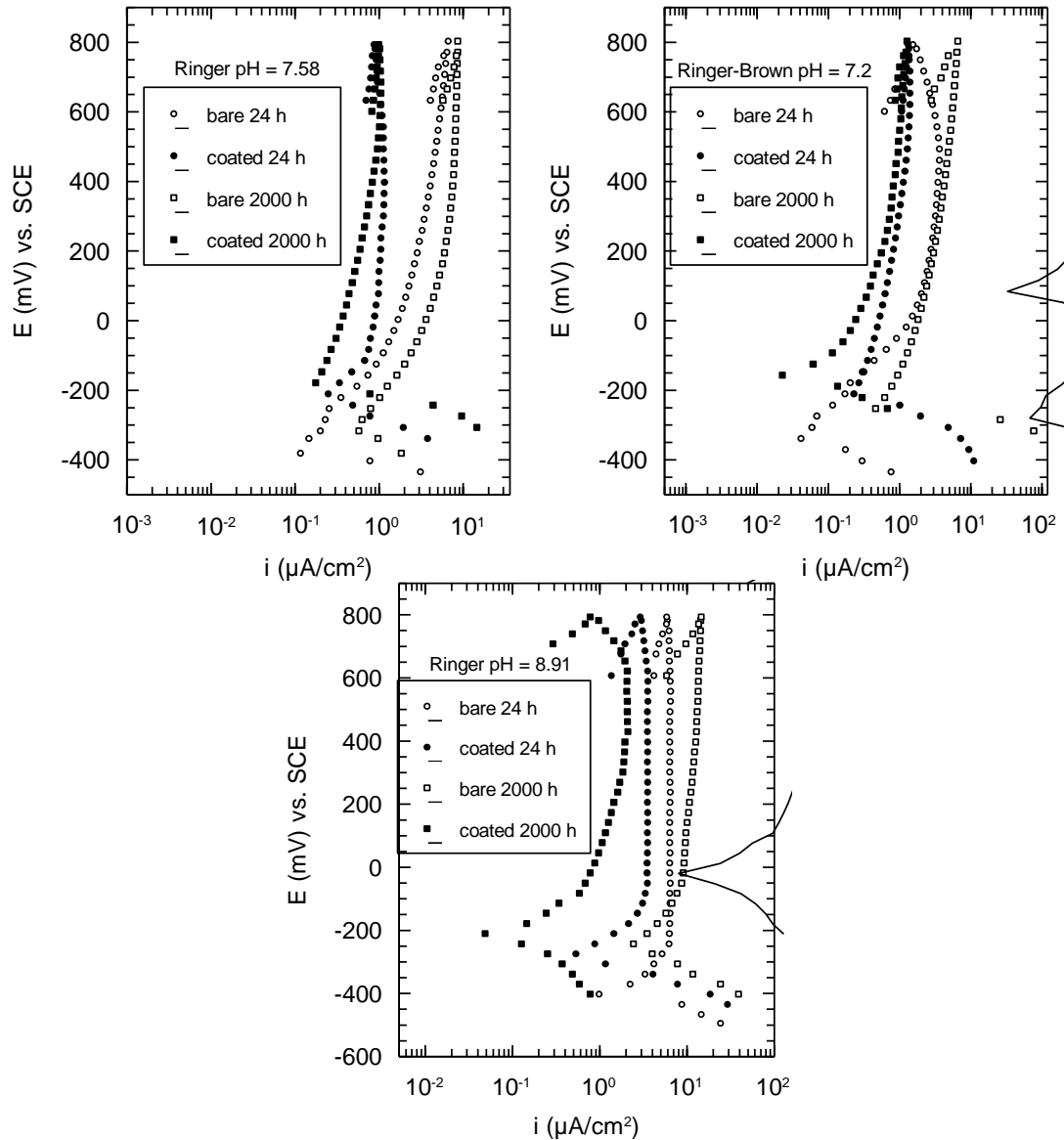


Fig. 6. Curbele ciclice de polarizare pentru aliajul Ti-20Nb-10Zr-5Ta neacoperit și acoperit cu HA după imersia în soluții fiziologice

Densitățile curenților de coroziune (i_{cor}) (Tabelul 7) determinate prin metoda polarizării lineare au relevat valori mai scăzute pentru aliajul acoperit decât pentru cel neacoperit, dovedind proprietățile protectoare, de barieră ale acoperirii de HA. În timp, densitățile curenților de coroziune (i_{cor}) pentru aliajul acoperit cu HA au scăzut iar rezistențele de polarizare (R_p) au crescut; pentru aliajul neacoperit, din contră, densitățile curenților de coroziune au crescut și rezistențele de polarizare au scăzut; aceste fapte arată că acoperirea de HA s-a îngroșat prin noi depuneri din soluțiile fiziologice și astfel, și-a îmbunătățit calitățile de bioactivitate, osteoinducție și osteointegrare.

Tabelul 6. Principalii parametri electrochimici pentru aliajul Ti-20Nb-10Zr-5Ta acoperit cu HA obținuți după imersia în soluții fiziologice

Timp (h)	E_{cor} (mV)	E_p (mV)	ΔE_p (mV)	i_p ($\mu A/cm^2$)
Ringer-Brown pH = 7.2				
1000	-185	-170	>970	0.64
2000	-160	-100	>900	0.55
Ringer pH = 7.58				
1000	-200	-190	>990	0.59
2000	-185	-170	>970	0.47
Ringer pH = 8.91				
1000	-238	-170	>970	2.50
2000	-214	-120	>920	1.80

Tabelul 7. Principalii parametri de coroziune pentru aliajul Ti-20Nb-10Zr-5Ta neacoperit și acoperit cu HA obținuți după imersia în soluții fiziologice

Material	Timp (h)	i_{cor} ($\mu A/cm^2$)	Ion release (ng/cm^2)	R_p ($k\Omega \cdot cm^2$)
Ringer-Brown pH = 7.2				
Aliaj neacoperit	1000	0.062	73.86	218
	2000	0.077	92.25	174
Aliaj acoperit cu HA	1000	0.012	17.47	822
	2000	0.011	9.96	990
Ringer pH = 7.58				
Aliaj neacoperit	1000	0.085	101.29	219
	2000	0.118	141.43	165
Aliaj acoperit cu HA	1000	0.027	23.46	593
	2000	0.016	14.63	706
Ringer pH = 8.91				
Aliaj neacoperit	1000	0.121	144.37	173
	2000	0.133	159.82	125
Aliaj acoperit cu HA	1000	0.073	65.33	300
	2000	0.038	34.44	396

Comportarea pe termen mediu a filmelor obținute pe suporturi de TiNbZrTa prin metoda EIS

Spectrele de impedanță Nyquist (Fig. 7) pentru aliajul acoperit cu HA au prezentat semicercuri incomplete cu diametre foarte largi care reprezintă o comportare capacitivă, un strat protector; valorile impedanței au crescut în timp, arătând o creștere a grosimii acoperirii [10,11] ca rezultat al depunerii continue de HA din soluțiile fiziologice; din contră, valorile impedanței pentru aliajul neacoperit sunt mai mici decât cele ale aliajului acoperit și au scăzut în timp datorită scăderii proprietăților protectoare a stratului pasiv [12]. Prin urmare această abilitate de a forma hidroxiapatită conduce la o bioactivitate, osteoconductivitate și osteoinducție ridicate ale acoperirii de HA. Aceste fapte vor fi demonstrate de micrografiile SEM (Fig. 9).

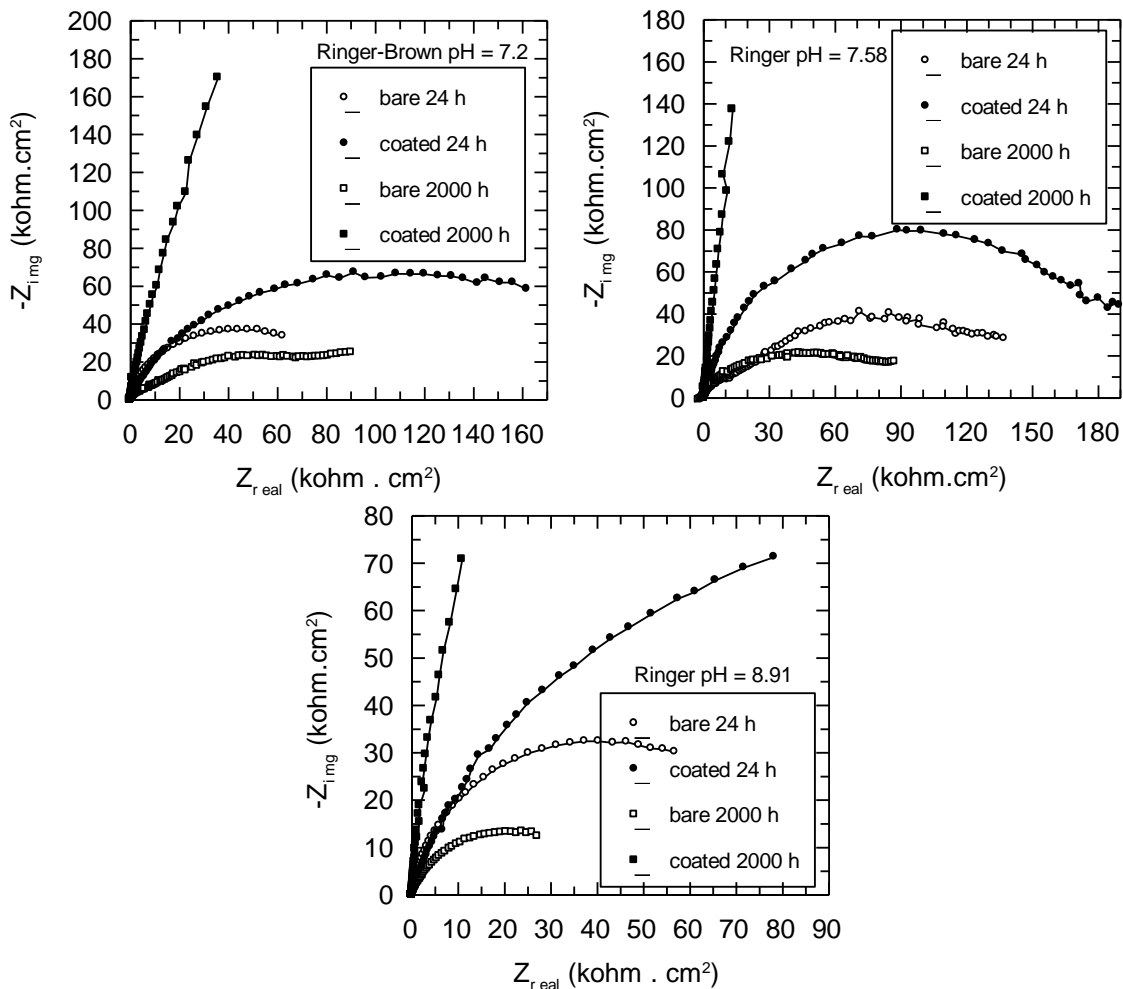


Fig. 7. Spectrele Nyquist pentru aliajul Ti-20Nb-10Zr-5Ta neacoperit și acoperit cu HA după imersia în soluții fiziologice

1.5.l. Caracterizarea morfologică pe termen mediu cu metoda SEM a suprafețelor activate pe suporturi de TiNbZrTa

Micrografiile SEM ale suprafeței aliajului acoperit cu HA după 2000 ore de imersie în soluțiile fiziologice sunt similare (un exemplu este prezentat în Fig. 8) și evidențiază modificări importante ale morfologiei acoperirii. Nanocristalele inițiale, aciculare de HA au căpătat formă rotundă, sferică (Fig. 8a) cu morfologie spongioasă (Fig. 8b). Formele sferice mai mici au diametre de ≈ 60 nm (Fig. 8c), care corespund cu un perimetru de aceeași mărime ca lungimea nanocristalelor inițiale aciculare de HA, indicând că un proces de creștere graduală a avut loc în timpul expunerii prelungite, conducând la o reducere drastică a lungimii cu formarea de morfologie sferică. Modificările observate sunt explicate de minimizarea energiei superficiale a HA și indică procese locale de difuzie și/sau redepunere din soluțiile fiziologice.

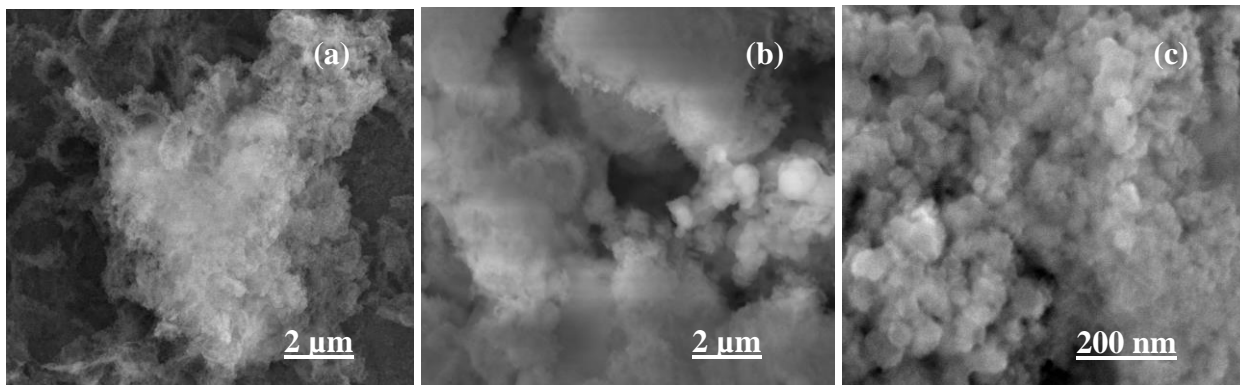


Fig. 8. Micrografiile SEM pentru aliajul Ti-20Nb-10Zr-5Ta acoperit cu HA după 2000 h de imersie în soluție Ringer de pH = 7.58

Toate rezultatele experimentale ale testelor pe termen mediu (2000 h) au arătat depunere continuă de ioni de calciu și fosfor (principalele componente ale osului, care indică abilități de bioactivitate și oseointegrare a acoperirii studiate.

1.5.m. Achiziție detector MCT cu ieșire analogică de semnal și vas Dewar, computer cu softurile aferente, soft-uri specializate

S-a achiziționat un detector MCT cu ieșire analogică de semnal și vas Dewar, 2 laptop-uri și soft-uri antivirus Kaspersky.

Bibliografie

1. J. Black, Biological performance of materials: Fundamentals of biocompatibility. M. Decker Inc. NY, 1992.
2. M. V. Popa, J. M. Calderon Moreno, M. Popa, E. Vasilescu, P. Drob, C. Vasilescu, S. I. Drob, Surf. Coat. Technol., 205 (2011) 4776-4783.
3. D.J. Blackwood, A.W.C. Chua, K.H.W. Seah, R. Thampuran, Corros. Sci., 42 (2000) 481-503.
4. J. C. Mirza Rosca, E. Vasilescu, P. Drob, C. Vasilescu, S. I. Drob, Mater. Corros., 63 (2012) 527-533.
5. E. Eisenbarth, D. Velten, M. Muller, R. Thull, Biomaterials, 25 (2004) 5705-5713.
6. S. L. Assis, I. Costa, Mater. Corros., 58 (2007) 329-333.
7. I. C. Lavos-Valereto, S. Wolyneec, I. Ramires, A. C. Guastaldi, I. Costa, J. Mater. Sci. Mater. Med., 15 (2004) 55-59.
8. G. Sheela, M. Ramasany, C.R.K. Rao, M. Pushpavanam, Bull. Electrochem., 17 (2001) 347-350.
9. E. Blasco-Tamarit, A. Igual-Munoz, J. Garcia-Anton, D.M. Garcia-Garcia, Corros. Sci. 51 (2009) 1095-1102.
10. V. Raman, S. Tamilselvi, and N. Rajendran, Electrochim. Acta, 52 (2007) 7418-7424.
11. A. K. Shukla, and R. Balasubramaniam, Corros. Sci., 48 (2006) 1696-1720.
12. M. Cabrini, A. Cigada, G. Rondelli, and B. Vicentini, Biomaterials, 18 (1997) 783-787.