

تأثیر غلظت اجزاء الکترولیت بر پوشش رسوب الکتروکی - حرارتی نانو ساختار بیوسرامیک هیدروکسی آپاتیت بر روی تیتانیم

مردعلی یوسفپور

دانشگاه سمنان، دانشکده مهندسی مواد - صنایع، مهندسی مواد و متالورژی

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۸۷/۹/۲۳، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۸۸/۱۱/۳، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۸۹/۲/۲۹

چکیده در این تحقیق روش رسوب الکتروکی برای ایجاد پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت بر روی تیتانیوم بررسی شد. ابتدا قبل از اعمال پوشش هیدروکسی آپاتیت عملیات آماده سازی سطح تیتانیم توسط عملیات پولیش صورت گرفت. سپس تأثیر تغییر غلظت نمک های کلسیم و فسفر در شرایط ثابت از دانسیته جریان، زمان و pH محلول و درجه حرارت در اعمال پوشش رسوب الکتروکی هیدروکسی آپاتیت مشخص شد. بعد از انجام مراحل فوق ریز ساختار کریستالی توسط پراش اشعه ایکس (XRD) و طیف سنجی با امواج مادون قرمز (FTIR)، همچنین مورفولوژی پوشش به وسیله آنالیز با میکروسکوپ الکترونی (SEM) و مورفولوژی رشد پوشش توسط آنالیز با میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) و ابعاد کریستال ها با میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتیجه بررسی ها نشان داد که با استفاده از فرآیند رسوب الکتروکی می توان به پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت و در نهایت به نانو پودر آن دست یافت که ذرات فوق دارای قطر کمتر از ۵۰ نانومتر و طول برابر با ۴۰۰ نانومتر هستند. همچنین با افزایش غلظت نمک ها در الکترولیت رشد جهت دار روی داده و کریستال های میله ای شکل به وجود می آیند.

کلمات کلیدی رسوب الکتروکی، بیوسرامیک، هیدروکسی آپاتیت، پوشش، تیتانیم.

The effect of concentration of Calcium phosphate salts on morphology and nanostructure of hydroxyapatite coating on titanium with thermal - electrodeposition method

Mardali Yousefpour

Department of Engineering, Materials Group, Semnan University, Semnan, Iran

Abstract Titanium and titanium alloys are used in medical and dental applications widely. In spite of good mechanical properties, they have a poor ability of bone growth on the surface of themselves. Therefore, it is necessary that the titanium must be coated with a bioceramic layer due to the excellent osteoconductive properties. In this research, thermal - electrochemical deposition method (ELD) was used to apply hydroxyapatite coating on titanium substrate. Before applying hydroxyapatite coating, surface treatment process was achieved on titanium samples by polishing, Then the effect of salts concentration on the morphology and nanostructure under constant conditions. After achieving above steps, micro structural, dimension of crystals, and morphology of hydroxyapatite coating were studied by using XRD, FTIR, TEM, SEM, and AFM. Obtained results showed by increasing the concentration of calcium and phosphate ions, hydroxyapatite crystals have preferred growth on (002) planes with nano scale.

Keywords Electrodeposition, Bioceramics, Hydroxyapatite, Coating, Titanium.

*عهده دار مکاتبات

نشانی: دانشگاه سمنان، دانشکده مهندسی مواد.

تلفن: ۰۲۳۱-۳۳۶۶۳۶۵، دورنگار: -، پیام نگار: myousefpour@semnan.ac.ir

۱- مقدمه

فوق می‌تواند پیشنهاد شود [۱۲]. فرآیند پوشش رسوب الکتروشیمیایی هیدروکسی آپاتیت به دلیل داشتن مزایای نظیر سهولت اجرا، پایین بودن درجه حرارت، قابلیت کاربرد رسوب آن برای اعمال پوشش بر روی سطوح متخلخل و یا بر روی سطح قطعات با اشکال پیچیده، سهولت کنترل ترکیب شیمیایی و ضخامت پوشش در سال‌های اخیر به کار می‌رود. همچنین مورفولوژی پوشش هم با کنترل عوامل مؤثر همانند پتانسیل، دانسیته-جریان، غلظت الکتrolیت، درجه حرارت و غیره در فرآیند رسوب الکتریکی قابل تغییر و اصلاح می‌باشد [۱۷-۱۳]. در این تحقیق تأثیر تغییر غلظت نمک‌های کلسیم و فسفر در شرایط ثابت از اعمال پوشش بر مورفولوژی پوشش و- شکل کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت مطالعه می‌شود. علاوه بر آن، نحوه تولید پودر هیدروکسی آپاتیت با فرآیند رسوب الکتریکی در ابعاد نانومتر بررسی می‌گردد.

۲- نحوه انجام آزمایش

۲-۱- آماده سازی

قطعاتی به ابعاد $3 \times 3 \times 20$ mm توسط عملیات برش از تیتانیم خالص تجاری تهیه گردید که در جدول ۱ ترکیب شیمیایی آن آمده است.

جدول ۱. ترکیب شیمیایی تیتانیم خالص تجاری [۱۸].

عناصر	هیدروژن	کربن	نیتروژن	اکسیژن	آهن	تیتانیوم
در صد وزنی	۰/۰۱۵	۰/۱	۰/۰۳	۰/۱۸	۰/۲	باقی مانده

پس از برش قطعات، چربی‌زدایی در محلول استن انجام شد. سپس با استفاده از سنباده‌های با شماره‌های ۶۰۰، ۵۰۰، ۳۲۰، ۱۸۰ سطح نمونه‌ها، مورد عملیات پولیش قرار گرفت. با پایان عملیات پولیش، سطح آنها به وسیله آب مقطر شستشو

هیدروکسی آپاتیت ترکیب اصلی قسمت معدنی استخوان و دندان را تشکیل می‌دهد. علاوه بر کاربردهای پزشکی هیدروکسی آپاتیت، این سرامیک در روش تشخیص و آنالیز کروماتوگرافی-گازی، تصفیه هوا، کاتالیست، تشخیص پروتئین‌ها و انتقال دارو استفاده می‌شود. به دلیل اهمیت هیدروکسی آپاتیت به عنوان ماده زیست فعال تحقیقات زیادی درباره شناخت آن صورت گرفته است [۴-۱]. بنابراین برای استفاده از هیدروکسی آپاتیت در کاربردهای مختلف نیاز به تهیه پودر آن می‌باشد.

تهیه پودر هیدروکسی آپاتیت به روش‌های گوناگون صورت می‌گیرد. هر کدام از آنها مزایا و محدودیت‌های خاص خود را دارد. به طور کلی سه روش اصلی برای سنتز و تولید پودر هیدروکسی آپاتیت ارائه شده‌اند که مهم‌ترین آنها عبارتند از [۵،۶]:

الف: رسوب از محلول (روش تر)

ب: روش خشک

ج: روش هیدروترمال

خواص پودر هیدروکسی آپاتیت وابسته به نوع روش تهیه آن است [۷]. روش‌های مختلف تهیه پودر هیدروکسی آپاتیت باعث به وجود آمدن تفاوت در خاصیت محصول از قبیل حلالیت، ثوابت شبکه، میزان ناخالصی، درجه بی‌نظمی، نحوه چیدمان اتم‌ها در شبکه بلور و نسبت اتم‌ها می‌گردد [۸،۹].

تولید پودر هیدروکسی آپاتیت توسط روش‌های معمول و مرسوم عموماً دارای هزینه زیادی بوده و به دست آوردن پودر هیدروکسی آپاتیت با ترکیب استوکیومتریکی به راحتی امکان پذیر نمی‌باشد [۵، ۱۰، ۱۱].

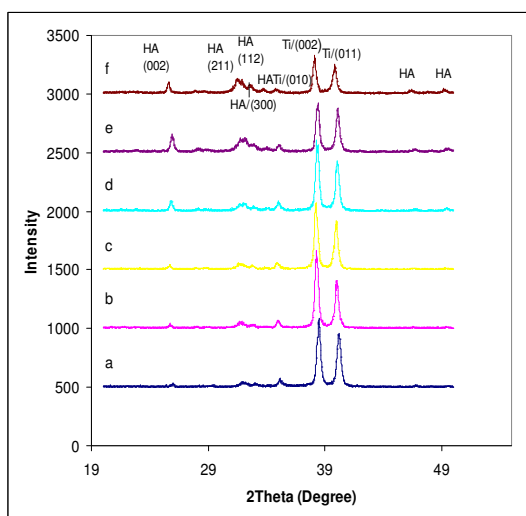
بنابراین فرآیند رسوب الکتریکی برای غلبه بر مشکلات

روش‌های شناخت و مطالعه خواص آن مورد بحث و بررسی قرار گرفت. جهت مطالعه از میکروسکوپ الکترونی عبوری و میکروسکوپ نیروی اتمی و پراش سنجی اشعه ایکس استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج تأثیر عوامل مؤثر در پوشش هیدروکسی آپاتیت

در این بخش نتایج مربوط به نقش پارامترهای مؤثر در ایجاد پوشش، ریزساختار کریستالی و مورفولوژی با استفاده از نتایج آنالیزهای XRD، SEM، FTIR و AFM به صورت زیر ارائه شده است.



شکل ۱. الگوی پراش اشعه ایکس پوشش رسوب الکترونیکی هیدروکسی آپاتیت به دست آمده در شرایط (زمان ۶۰ دقیقه، دانسیته جریان 2 mA/cm^2 ، دمای 80°C) از محلولی با غلظتهای $f: 4/3$ ، $e: 3/2$ ، $d: 2/56$ ، $c: 1/92$ ، $a: 0/64$ ، $b: 1/28$ گرم بر لیتر.

داده شده و بلافاصله با استفاده از استن چربی‌زدایی گردید. پس از پایان آن، دوباره سطح نمونه‌ها با آب مقطر شستشو داده شده و بعد با استفاده از خشک‌کن الکتریکی سطح آنها در هوای معمولی خشک شد.

ب- تهیه الکترولیت

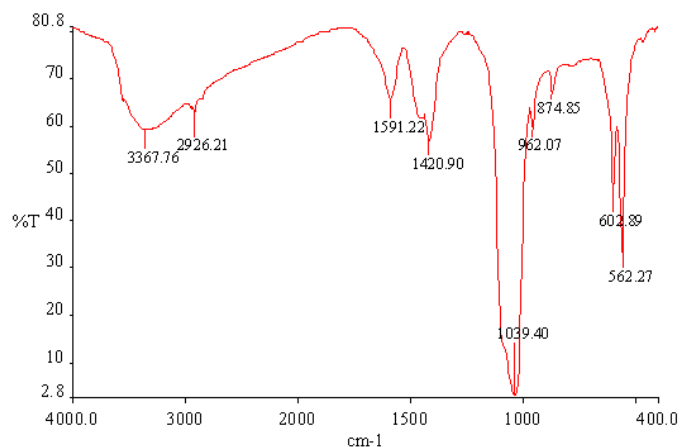
پس از تهیه نمک‌های کلسیم و فسفات (مرک آلمان) به مقدار لازم از هر کدام با فرمول شیمیایی $\text{Ca}_2(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ و $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ در آب مقطر حل نموده و جهت به دست آوردن محلول یکنواخت با استفاده از همزن مکانیکی، هم زده شده و سپس در حجم‌های مشخص مورد استفاده قرار گرفت. در تهیه محلول‌ها نسبت کلسیم به فسفر برابر با $1/67$ رعایت شده است.

ج- سل ایجاد پوشش

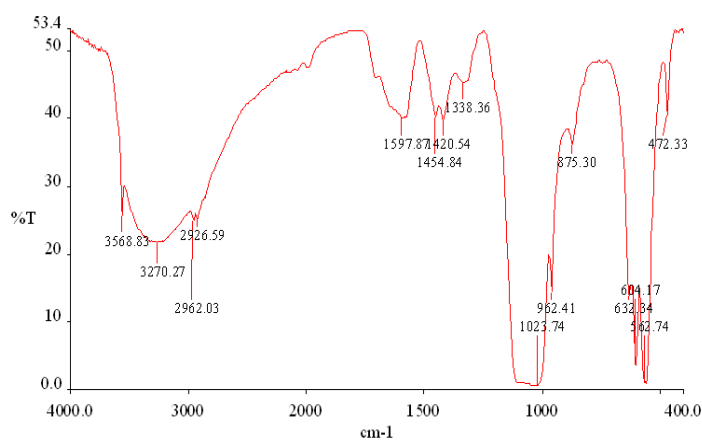
جهت اعمال پوشش، سلی از جنس شیشه مقاوم به حرارت به حجم 150 سی سی ساخته شد. برای کنترل درجه حرارت، دماسنجی با دقت $\pm 1^\circ \text{C}$ در سل نصب گردید. همچنین جهت حرارت دادن محلول تا دمای مورد نیاز، گرمکن برقی مورد استفاده قرار گرفت. برای تنظیم و کنترل pH از pH متر با دقت یک دهم و برای اعمال پوشش، آند پلاتین و کاتد تیتانیم به عنوان الکتروود استفاده شد. همچنین همزن مغناطیسی در سل نصب گردید. دانسیته جریان لازم توسط منبع جریان مستقیم با محدوده جریان ($0-200 \text{ mA}$) تأمین گردید.

۲-۲- مطالعه رسوب الکترونیکی پوشش هیدروکسی آپاتیت

پس از مرحله آماده سازی نمونه‌ها، نحوه ایجاد پوشش،



شکل ۲. نمودار FTIR پوشش رسوب الکتریکی هیدروکسی آپاتیت به دست آمده در شرایط ۰/۶۴ گرم بر لیتر از نمک‌های $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ و $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ، زمان ۶۰ دقیقه، دانسیته جریان 2 mA/cm^2 ، دمای 80°C



شکل ۳. نمودار FTIR پوشش رسوب الکتریکی هیدروکسی آپاتیت به دست آمده در شرایط ۴/۳ گرم بر لیتر از نمک‌های $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ و $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ، زمان ۶۰ دقیقه، دانسیته جریان 2 mA/cm^2 ، دمای 80°C .

مشاهده می‌شود که شدت و ارتفاع صفحات (۰۰۲) در مقایسه با شدت و ارتفاع صفحات کریستالی (۲۱۱)، (۱۱۲) و (۳۰۰) افزایش بیشتری یافته است. بنابراین ملاحظه می‌شود که رشد ترجیحی در جهات صفحات (۰۰۲) روی داده است [۱۹، ۱۲]. در نتیجه شکل کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت به دلیل رشد

در شکل ۱، الگوی پراش اشعه ایکس تأثیر غلظت نمک‌های سازنده محلول الکترولیت بر ریزساختار کریستالی آمده است. با افزایش غلظت نمک‌های اولیه، شدت و تعداد پیک‌های فرعی زیاد شده و ارتفاع پیک‌های اصلی بیشتر گردیده است. با توجه به نمودارهای رسم شده در شکل ۱

کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت به حالت صفحه‌ای شکل ظاهر می‌شود [۲۱].

شکل ۴، تأثیر تغییر مقادیر غلظت نمک کلسیم و فسفر بر مورفولوژی و شکل کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت را نشان می‌دهد.

با توجه به شکل ۲ مشاهده می‌شود که پیک‌های مربوط به بنیان فسفات و کربنات در اعداد موج $(\nu_4) 562 \text{ cm}^{-1}$ ، $(\nu_3) 1040 \text{ cm}^{-1}$ ، $(\nu_1) 962 \text{ cm}^{-1}$ ، $(\nu_2) 875 \text{ cm}^{-1}$ و $(\nu_3) 1420 \text{ cm}^{-1}$ و $(\nu_3) 1454 \text{ cm}^{-1}$ ظاهر شده‌اند. بنیان هیدروکسیل در محدوده عدد موج 3560 cm^{-1} تشکیل شده است [۲۲]. عدد موج 962 cm^{-1} مربوط به بنیان فسفات معروف به پیک متقارن و اعداد موج 1024 cm^{-1} و 1084 cm^{-1} موسوم به پیک نامتقارن است [۲۳، ۲۴].

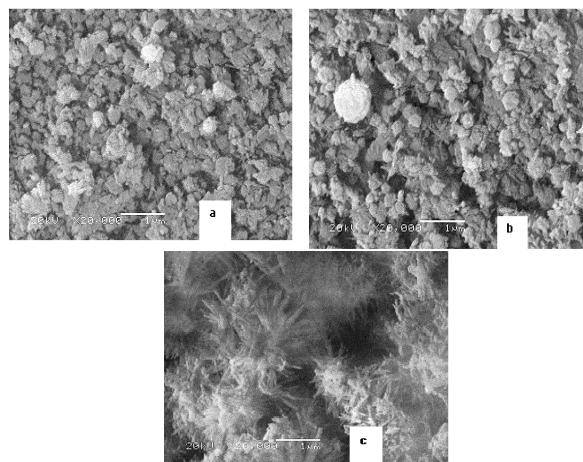
همچنین با بررسی شکل ۳، مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت نمک‌ها، پیک‌های غیر متقارن پهن‌تر و پیک متقارن تیزتر شده‌اند که تیز شدن پیک متقارن نشان‌دهنده افزایش میزان بلورینگی پوشش می‌باشد.

شکل ۵ تصویر میکروسکوپ اتمی از پوشش رسوب الکتریکی هیدروکسی آپاتیت را نشان می‌دهد. با مطالعه آن مشاهده می‌شود که ابعاد کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت در مقیاس نانو بوده و کریستال‌ها به صورت گروهی و ستونی رشد کرده‌اند. در نتیجه پستی و بلندهای پله‌ای روی سطح به وجود آورده‌اند. در نهایت سطح در محدوده نانومتر زبر شده‌اند.

این‌ها از نظر ایجاد باند با بافت‌های مجاور محیط بیولوژیکی مهم بوده و اهمیت ویژه‌ای دارند. زیرا، وجود زبری مطلوب در سطح پوشش، باعث رشد سلول‌ها و بافت‌های زنده بر روی آن می‌گردد. بررسی و اندازه‌گیری زبری سطح پوشش هیدروکسی آپاتیت توسط میکروسکوپی اتمی در مد تماسی، نشان داده که میزان زبری سطح در حدود ۶۸ نانومتر است. قابلیت ایجاد باند بیولوژیکی سطح هیدروکسی آپاتیت با

ترجیحی در جهات صفحات (۰۰۲)، به صورت میله‌ای ظاهر گردیده که شکل ۴ این پدیده را نشان می‌دهد [۱۲]. زیرا با افزایش غلظت نمک‌های کلسیم و فسفر سرعت انجام واکنش‌های کاتدی زیاد شده و در نتیجه پدیده رشد در صفحات (۰۰۲) با سرعت بیشتری صورت می‌گیرد.

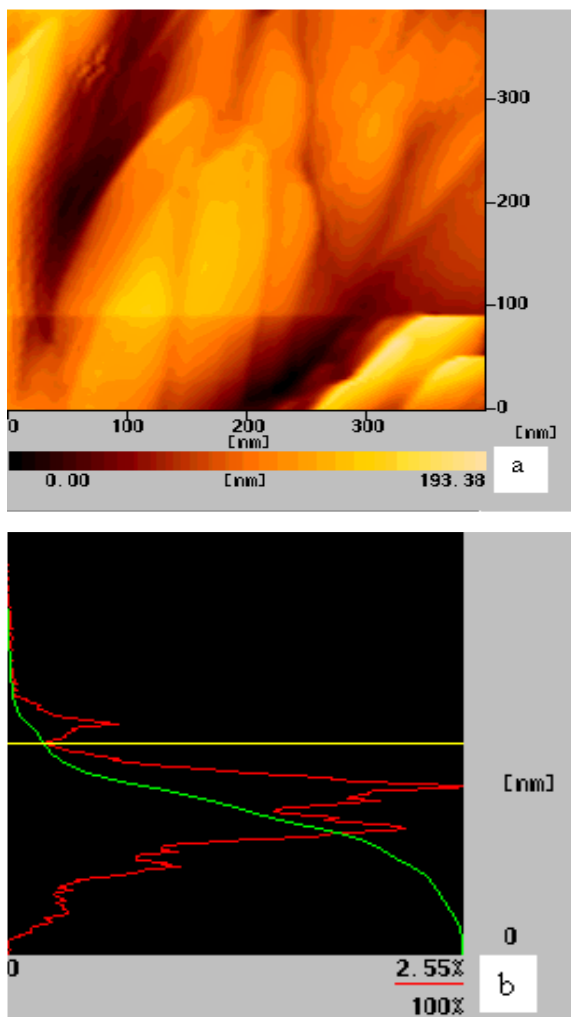
علت آن مربوط به کاهش پدیده پلاریزاسیون غلظتی می‌باشد و شرایط سینتیکی رشد صفحات کریستالی در جهات پر دانسیته (۰۰۱) و یا به عبارت دیگر در جهات محور c شبکه کریستالی هگزاگونال محتمل‌تر می‌گردد و در نتیجه رشد کریستال‌ها در جهات صفحات (۰۰۲) افزایش داشته و کریستال‌های میله‌ای شکل ظاهر می‌گردد [۲۰]. ولی در مقادیر پایین غلظت از نمک‌های کلسیم و فسفر، انجام واکنش‌های کاتدی تحت تأثیر پلاریزاسیون غلظتی بوده و شرایط سینتیکی رشد کریستال‌ها در جهات پر دانسیته به وجود نمی‌آید.



شکل ۴. تصویر میکروسکوپ الکترونی از سطح پوشش رسوب الکتریکی هیدروکسی آپاتیت تحت شرایط (a) ۰/۶۴ (b) ۱/۲۸ (c) ۴/۳ گرم بر لیتر از نمک‌های $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ و $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ، زمان ۶۰ دقیقه، دانسیته جریان 2 mA/cm^2 ، دمای 80°C .

در نتیجه سرعت رشد کریستال‌هایی هیدروکسی آپاتیت در جهت صفحات (۲۱۱) بیشتر خواهد شد. در نتیجه، شکل

کریستال‌ها از حالت صفحه‌ای به حالت میله‌ای تبدیل می‌شوند.



شکل ۵. (a) تصویر میکروسکوپ الکترونی از کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت و (b) نمایش تغییرات میزان زبری سطح پوشش (شرایط اعمال آن، ۱/۲۸ گرم بر لیتر از نمک‌های $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ و $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ، زمان ۶۰ دقیقه، دانسیته جریان 2 mA/cm^2 ، دمای 80°C بوده است).

پروتئین‌ها و سلول‌های استخوانی بر اساس تأثیر متقابل نیروهای الکترواستاتیک بین کریستال‌های سطح پوشش هیدروکسی آپاتیت و مولکول‌های بافت‌های زنده قابل بررسی می‌باشد که در این زمینه مدل‌های مولکولی ارائه گردیده است [۱۲].

در این مدل‌ها، ارتباط انرژی سطحی بافت‌های زنده با خواص سطح پوشش هیدروکسی آپاتیت نظیر میزان بلورینگی، نوع کریستال‌ها، جهات کریستال‌ها در سطح و تعیین اثرات بر هم کنش نیروهای الکترواستاتیک بین آنها مطالعه و بررسی می‌شود. پژوهشگران گزارش کرده‌اند که وجود زنجیره‌های فسفات‌های چندگانه در پروتئین‌ها و پیپتیدها و وجود جهات کریستالی [۱۰] و [۱۰۰] در سطح پوشش هیدروکسی آپاتیت در ایجاد باند بیولوژیکی نقش اصلی را به عهده دارند و تأثیر متقابل پروتئین‌ها و هیدروکسی آپاتیت بر اساس ارتباط فوق قابل بررسی و مطالعه است [۲۵ و ۲۶]. همچنین رشد پایدار بافت‌های استخوانی زنده روی پوشش هیدروکسی آپاتیت توسط برهم‌کنش گروه‌های اسیدی جانبی با اتم‌های کلسیم موجود در سطح پوشش صورت می‌گیرد [۲۷]. بنابراین شیمی سطح پوشش هیدروکسی آپاتیت رفتار بیولوژیکی آن را در برابر بافت‌های زنده و سلول‌ها نشان خواهد داد.

۴- نتیجه گیری

در فرآیند رسوب الکتریکی پوشش هیدروکسی آپاتیت بر روی تیتانیم، متأثر از تغییرات غلظت نمک‌های کلسیم و فسفات است که می‌توان به موارد زیر اشاره داشت:

۱. با افزایش غلظت نمک‌های کلسیم و فسفر رشد ترجیحی در پوشش در جهت صفحات (۰۰۲) پدید می‌آید و شکل

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه سمنان به دلیل حمایت مالی از تحقیق و پژوهش قدردانی می شود.

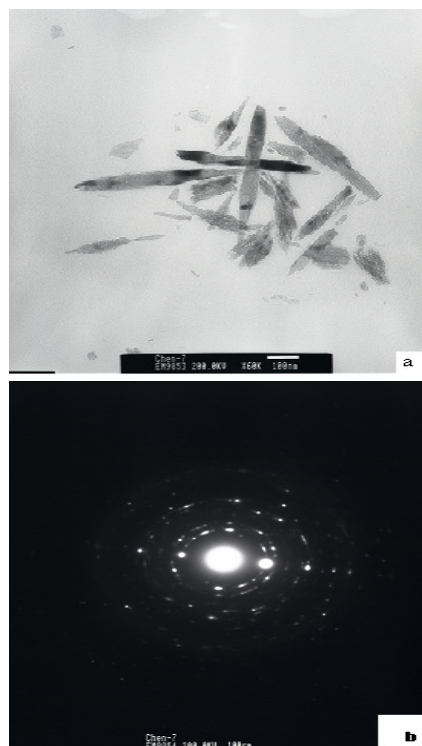
مراجع

1. Ripamonti U., Osteoinduction in porous hydroxyapatite implanted in heterotopic sites of different animal models, *Biomaterials*, 17, (1996), pp: 31-35.
2. Nartita H., Takeda Y., Takagaki K., Nakamura T., Harata S., Endo M., Identification of Glycosaminoglycans using high-performance liquid chromatography on a hydroxyapatite column, *Analytical biochemistry*, 232, (1995), pp: 133-136.
3. Frank C. B., Burkhard W. W., Taco J. B., Peter P., Fred C. B., Healing of segmental bone defects with granular porous hydroxyapatite augmented with recombinant human osteogenic protein-1 or autologous bone marrow, *Journal of orthopaedic research*, 21, pp: 521-528.
4. Nonami T., Hase H., Funakoshi K., Apatite-coated titanium dioxide photocatalyst for air purification, *Catalysis Today*, 96, (2004), pp: 113-118.
5. Hench L. L., Wilson J., An introduction to bioceramics, Advanced series in ceramics, 1, World scientific publication, 1993.
6. Leitao E., Barbosa M. A., de-Groot K., Influence of substrate materials and surface finishing on morphology of the calcium-phosphate coatings, *Journal of biomedical materials research*, 36, 1997, pp. 85-90.
7. Mc-Dowell H., Gregory T. M., Brown W. E., Solubility of $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ in the system, $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ at 5, 15, 25 and 37 °C, *Journal of research national bulletin of standards*, 1. 81A, 1981, pp. 273-281.
8. Nishioka T., New developments in advanced ceramics for the 90's, Today research center, Shinga, Japan, 1992, pp. 132.
9. Futagami T., Okamoto T., Synthetic and characterization of hydroxyapatite powder from calcium acetate, *Journal of the ceramic society of Japan*, 95, 8, 1987, pp. 775-780.
10. Bernd C. C. T., Haddad G. N., Farmer A. J. D., Gross K. A., Thermal spraying for bioceramics applications, *Materials forum*, 14, 1990, pp.161-173.
11. Osaka A., Miura Y., Takeuchi K., Asada M., Takahashi K., Calcium apatite prepared from calcium hydroxide and orthophosphoric acid, *Journal of Materials Science, Materials in medicine*, 2, 1991, pp. 51-55.

۲. در غلظت پایین از نمک‌های اولیه در الکترولیت، شکل کریستال‌ها به صوت صفحه‌ای شکل می‌باشند.

۳. در این فرآیند، پوشش هیدروکسی آپاتیت دارای کریستال‌های با ابعاد نانو بوده و از ابعادی با قطر تقریبی برابر با ۵۰ نانومتر و طول ۴۰۰ نانومتر برخوردار می‌باشند. بنابراین، فرآیند رسوب الکتریکی می‌تواند، روش مناسب جهت تهیه و ایجاد پودر این بیوسرامیک در مقیاس نانومتر باشد.

۴. با افزایش غلظت پیک متقارن مربوط به هیدروکسی آپاتیت تیزتر می‌شود که بیانگر افزایش میزان بلورینگی پوشش است.



شکل ۶. (a) تصویر TEM از کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت رسوب الکتریکی، کریستال هیدروکسی آپاتیت، (b) الگوی پراش پرتو الکترونی از پلی کریستال هیدروکسی آپاتیت.

26. Okazaki M., Yoshida Y., Yamaguchi S., Kaneno M., Elliott J. C., Afinity binding phenomena of DNA onto apatite crystals, *Biomaterials*, 22, 2001, pp:2450-2464.
27. Rhee S. H., Suetsugu Y., Tanaka J., Biomimetic configurational arrays of hydroxyapatite nanocrystals on bio-organics, *Biomaterials*, 22, 2001, pp:2843-2847.
28. Manso M., Jimenez C., Morant C., Herrero P., Martinez-Duart J. M., Electrodeposition of hydroxyapatite coatings in basic conditions, *Biomaterials*, 21, 2000, pp. 1755-1761.
29. Rhee S. H., Suetsugu Y., Tanaka J., Biomimetic configurational arrays of hydroxyapatite nanocrystals on bio-organics, *Biomaterials*, 22, 2001, p. 2843-2847.
12. Yousefpour M., Afshar A., Yang X., Li X., Yang B. C., Wu Y., Cnen J., Zhang X., Nano-crystalline growth of electrochemically deposited apatite coating on pure Titanium, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 589, 2006, pp. 96-105.
13. Stoch A., Brozek A., Blazewicz S., Jastrzebski W., Stoch J., Adamczyk A., Roj I., FTIR study of electrochically deposited hydroxyapatite coatings on carbon materials, *Journal of Molecular structure*, 651-653, 2003, pp:389-396.
14. Zhang J. M., Lin C. J., feng Z. D., Tian Z. W., Mechanistic studies of electrodeposition for bioceramic coatings of calcium phosphates by an in situ pH-microsensor technique, *Journal of electroanalytical chemistry*, 452, 2001, pp: 235-240.
15. Nie X., A., Matthews A., , Deposition of layered bioceramic hydroxyapatite/TiO₂ coatings on titanium alloys using a hybrid technique of micro-arc oxidation and elctrodeporosis, *Surface and coatings Technology*, 125, 2000, pp: 407-414.
16. Park J. H., Lee Y. K., Kim K. M., Kim K. N., Bioactive calcium phosphate coating prepared on H₂O₂-treated titanium substrate by electrodeposition, *Surface and coatings Technology*, 1995, pp: 252-257.
17. Kuo M. C., Yen S. K., The process of electrochemical deposited hydroxyapatite coatins on biomedical titanium at room temperature, *Materials Science and Engineering C*, 20, 200, pp: 153-160.
18. American Society for Testing and materials, F67-89, 1992, p. 39.
19. Manso M., Jimenez C., Morant C., Herrero P., Martinez-Duart J. M., Electrodeposition of hydroxyapatite coatings in basic conditions, *Biomaterials*, 21, 2000, pp. 1755-1761.
20. stoch A., Brozek A., . Kmita G, Stoch J., Gastrzebski W., Rakwska A., Electrophoretic coating of hydroxyapatite on titanium implants, *Journal of molecular structure*, 596, 2001, pp. 191-200.
21. Kaciulis S., Mattogno G., Pandolfi L., Cavalli M., Gnappi G., . Montenero A, XPS study of apatite - based coating by sol - gel technigue, *Applied surface science*, 151, 1999, pp. 1-5.
22. kim T.N., Highly adhesive hydroxyapatite coating on alumina substrates prepared by ion - beam assisted deposition, *Surface Coating Technolgy*, 99, 1998, pp. 20-23.
23. Li H., Khor K.A., Cheang P., Titanium dioxide reinforced hydroxyapatite coatings deposited by high velocity oxy - fuel(HVOF) spray, *Biomaterials*, 23, 2002, pp. 85-91.
24. Thian E.S., Loh N.H., Khor K.A., Tor S.B., Microstructures and mechanical properties of powder injection molded Ti-6Al-4V/HA - Power, *Biomaterials*, 23, 2002, pp. 2927-2938.
25. Luo Q., Andrade J. D., Cooperative adsorption of proteins onto hydroxyapatite, *Journal of colloid and interface science*, 1998, pp: 104-113.