

ارزیابی رفتار الکتروشیمیایی و ضدباکتریایی پوشش کلسیم-فسفاتی تشکیل شده به

روش اکسیداسیون الکترولیتی پلاسمایی روی تیتانیم خالص

مریم مولایی^۱، آرش فتاح‌الحسینی*^۱ و مهشاد جاویدمقدم^۲

^۱ همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده مهندسی، گروه آموزشی مهندسی مواد

^۲ اهواز، دانشگاه شهید چمران، دانشکده دامپزشکی، گروه آموزشی بهداشت مواد غذایی

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۹/۲۴ - پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱/۴)

چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی رفتار الکتروشیمیایی و ضدباکتریایی پوشش کلسیم-فسفاتی تشکیل شده به روش اکسیداسیون الکترولیتی پلاسمایی (PEO) با استفاده از الکترولیت حاوی نمک‌های $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ، KOH و $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ روی تیتانیم خالص است. به این منظور، ساختار سطح پوشش به وسیله تصاویر میکروسکوپی الکترونی رویشی و ساختار شیمیایی آن توسط آنالیز طیف‌سنجی رامان ارزیابی شد. رفتار الکتروشیمیایی پوشش در محلول شبیه‌ساز بدن (SBF) و با استفاده از آزمون‌های طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی و پلاریزاسیون پتانسیودینامیک مطالعه شد. رفتار ضدباکتریایی پوشش‌های PEO تحت دو شرایط بدون تابش و تحت تابش پرتو فرابنفش و در مقابل باکتری گرم-مثبت استافیلوکوکوس اورئوس سنجیده شد. نتایج نشان داد که پوشش PEO تشکیل شده دارای ساختاری متخلخل و شامل فاز بلوری آناز بود. پس از ۷ روز تماس نمونه‌ها با محلول SBF، مقدار مقاومت پلاریزاسیون (R_p) زیرلایه تیتانیم خالص و پوشش PEO به ترتیب ۰/۰۹۷ و ۰/۲۶۳ مگا اهم در سانتی‌متر مربع به دست آمد. بنابراین، با اصلاح سطح تیتانیم خالص به کمک فرایند پوشش‌دهی PEO، مقاومت به خوردگی آن در حدود ۲/۷ برابر افزایش پیدا کرد. پس از قرار دادن پوشش‌های PEO در معرض تابش پرتو فرابنفش، رفتار ضدباکتریایی آن‌ها به دلیل تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) توسط پوشش‌ها و در نتیجه آسیب به Deoxyribonucleic acid (DNA)، پروتئین‌ها و دیگر اجزای درون‌سلولی و در نهایت مرگ باکتری‌ها، بهبود یافت.

کلمات کلیدی: اکسیداسیون الکترولیتی پلاسمایی، پوشش، تیتانیم، خوردگی، ضدباکتریایی.

Evaluation of the electrochemical and antibacterial behavior of calcium-phosphate coating formed by plasma electrolytic oxidation method on pure titanium

Abstract

The purpose of this research is to investigate the electrochemical and antibacterial behavior of calcium-phosphate coating formed by the plasma electrolytic oxidation (PEO) method using an electrolyte containing $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, KOH , and $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ salts on pure titanium. For this purpose, the surface structure of the coating was evaluated by scanning electron microscopic images and its chemical composition by Raman spectroscopic analysis. The electrochemical behavior of the coating was studied in simulating body fluid (SBF) using electrochemical impedance spectroscopy and potentiodynamic polarization tests. The antibacterial behavior of PEO coatings was evaluated under two conditions without irradiation and under ultraviolet radiation and against gram-positive *Staphylococcus aureus* bacteria. The results showed that the formed PEO coating had a porous structure and included the anatase crystalline phase. After 7 days of exposure of the samples to SBF solution, the values of polarization resistance (R_p) of pure titanium substrate and PEO coating were 0.097 and 0.263 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}^2$, respectively. Therefore, by modifying the surface of pure titanium with the help of the PEO coating process, its corrosion resistance increased by about 2.7 times. After exposing the PEO coatings to ultraviolet radiation, their antibacterial behavior was improved due to the production of reactive oxygen species (ROS) by the coatings and as a result damage to Deoxyribonucleic acid (DNA), proteins, and other intracellular components and finally the death of bacteria.

Keywords: Plasma Electrolytic Oxidation, Coating, Titanium, Corrosion, Antibacterial.

E-mail of Corresponding author: arash.fattah@gmail.com

۱. مقدمه

زیستی روی سطح کاشتنی‌ها باعث دشوار و یا حتی غیرممکن ساختن حذف پاتوژن‌ها^۳ می‌شود [۵]. بنابراین، لازم است تا با اصلاح سطح تیتانیم به کمک روش‌های پوشش‌دهی مختلف همانند اکسیداسیون آندی، اکسیداسیون الکترولیتی پلاسمایی^۴ (PEO)، رسوب فیزیکی بخار^۵، رسوب شیمیایی بخار^۶، سل-ژل^۷ و هیدروترمال^۸، مقاومت به خوردگی و خاصیت ضدباکتریایی آن را بهبود بخشید [۶، ۷]. در این میان، فرایند پوشش‌دهی PEO با قابلیت تشکیل پوشش‌های سرامیکی با چسبندگی عالی به سطح زیرلایه، روشی کارآمد، مقرون‌به‌صرفه و سازگار با محیط‌زیست جهت اصلاح سطح تیتانیم و آلیاژهای آن است [۸، ۹]. در فرایند پوشش‌دهی PEO، وقوع ریزتخلیه‌های^۹ الکتریکی در ولتاژهای اعمالی بالاتر از ولتاژ شکست دی‌الکتریک^{۱۰} لایه اکسیدی عامل اصلی تشکیل پوشش‌ها می‌باشد [۱۰].

در این پژوهش، ضمن بررسی ساختار سطح، ترکیب شیمیایی و مقاومت به خوردگی پوشش کلسیم-فسفاتی تشکیل شده به روش PEO روی تیتانیم خالص، خاصیت ضدباکتریایی آن نیز در مقابل باکتری گرم-مثبت^{۱۱} استافیلوکوکوس اورئوس^{۱۲} و تحت دو شرایط متفاوت در عدم معرض و در معرض تابش پرتو فرابنفش ارزیابی شده است.

تیتانیم و آلیاژهای آن به دلیل داشتن نسبت استحکام به وزن بالا، چگالی پایین، خواص مکانیکی خوب و مقاومت به خوردگی و زیست‌سازگاری بالا به‌طور گسترده‌ای در ساخت کاشتنی‌های^۱ دندان‌ی و ارتوپدی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱]. مقاومت به خوردگی و زیست‌سازگاری بالای تیتانیم به علت تشکیل یک لایه اکسیدی روی سطح آن در هنگام قرارگیری در معرض هوا و یا رطوبت است [۲، ۳]. با این وجود، ضخامت چند نانومتری لایه اکسید سطحی تیتانیم و در نتیجه توانایی حفاظتی محدود آن در برابر خوردگی و سایش و علاوه بر آن، خاصیت ضدباکتریایی ضعیف تیتانیم، از جمله مشکلات پیش‌روی استفاده از کاشتنی‌های تیتانیمی است [۴]. بروز عفونت‌های باکتریایی روی سطح کاشتنی‌ها در هنگام عمل جراحی و یا پس از آن، یک عارضه جدی، شایع و مشکل‌آفرین است که در صورت عدم درمان به موقع، این عفونت‌ها تنها با برداشتن عضو کاشتنی از طریق انجام یک عمل جراحی ثانویه، قابل رفع هستند. بروز عفونت روی سطح کاشتنی‌ها طی ۳ مرحله شامل (۱) اتصال اولیه گونه‌های باکتری، (۲) رشد و بلوغ باکتری‌ها از طریق برهمکنش‌های سلولی آن‌ها با یکدیگر به وسیله تولید سیگنال‌های القای خودکار و (۳) تجمع باکتری‌ها در یک محیط پلیمری هیدراته و در نتیجه تشکیل یک لایه زیستی^۲ رخ می‌دهد. حضور لایه

۲. مواد و روش آزمایش‌ها

در این پژوهش، از نمونه‌های مربع‌شکل تیتانیم خالص (گرید ۲) با ابعاد ۲۰ mm در ۲۰ mm و ضخامت ۱ mm به‌عنوان

در این پژوهش، از نمونه‌های مربع‌شکل تیتانیم خالص (گرید ۲) با ابعاد ۲۰ mm در ۲۰ mm و ضخامت ۱ mm به‌عنوان

⁷ Sol-Gel

⁸ Hydrothermal

⁹ Microdischarges

¹⁰ Dielectric breakdown

¹¹ Gram-positive

¹² *Staphylococcus aureus*

¹ Implant

² Biofilm

³ Pathogen

⁴ Plasma Electrolytic Oxidation (PEO)

⁵ Physical Vapor Deposition (PVD)

⁶ Chemical Vapor Deposition (CVD)

کمکی میله‌ای پلاتین و نمونه مورد آزمایش با سطح تماس 0.95 cm^2 به‌عنوان الکتروود کار استفاده شد.

آزمون طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی در پتانسیل مدار باز^۷ مربوط به هر نمونه، دامنه موج ۱۰ mV و در محدوده فرکانس ۱۰ mHz تا ۱۰۰ kHz انجام شد. جهت مدل‌سازی منحنی‌های امپدانس و استخراج داده‌های عددی از آن‌ها از نرم‌افزار NOVA 2.1.3 کمک گرفته شد. آزمون پلاریزاسیون پتانسیودینامیک با نرخ روبش ۱ mV/s در محدوده پتانسیل ۲۵۰- تا ۱۲۰۰+ mV به ترتیب پایین‌تر و بالاتر از پتانسیل مدار باز مربوط به هر نمونه انجام گرفت. داده‌های حاصل از منحنی‌های پلاریزاسیون پتانسیودینامیک شامل مقادیر چگالی جریان خوردگی (i_{corr}) و شیب شاخه‌های آندی و کاتدی (\square_a) و (\square_c) به روش برون‌یابی تافل^۸ و مقادیر مقاومت پلاریزاسیون (R_p) به کمک معادله استرن-گری (معادله ۱) به دست آمدند:

$$R_p = (\square_a \square_c) / (2.303 i_{\text{corr}}) \quad (1) \quad \text{معادله (۱)}$$

رفتار ضدباکتریایی پوشش‌های PEO در مقابل باکتری گرم-مثبت استافیلوکوکوس اورئوس ارزیابی شد. به این منظور، ابتدا یک سوسپانسیون شامل تعداد 1×10^5 CFU/ml باکتری در آبگوشت نوترینت تهیه شد. پس از استریل کردن نمونه‌ها، تعدادی از آن‌ها بدون تابش پرتو فرابنفش و تعدادی در معرض نور فرابنفش (به مدت ۳۰ دقیقه با فاصله ۸ cm از منبع نور) تیمار شدند. سپس، همه نمونه‌ها درون محیط کشت در دمای ۳۷ °C در داخل انکوباتور قرار گرفتند. در نهایت، تفاوت جمعیت باکتری‌های باقیمانده درون محیط‌های کشت از ابتدای تلقیح تا ۴ بازه زمانی مختلف ۳۰ دقیقه و ۱، ۲ و ۴ ساعت ارزیابی شد.

سیلیسیم از شماره ۳۲۰ تا ۱۰۰۰ پرداخت شد. سپس، نمونه‌های پرداخت‌شده با آب مقطر شست‌وشو داده و به دنبال آن، با جریان هوای سرد خشک شدند. فرایند پوشش‌دهی PEO به وسیله منبع تغذیه (IPS) PM700/7 PRC در حالت جریان ثابت در فرکانس ۱۰ Hz، چرخه کاری ۲۰٪، چگالی جریان 5 A/dm^2 و به مدت ۵ دقیقه انجام شد. به این منظور، از الکترولیت کلسیم-فسفاتی حاوی غلظت‌های ۵، ۳ و ۱ g/l به ترتیب از نمک‌های $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ، KOH و $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (تهیه‌شده از شرکت Merck آلمان) استفاده شد. طی فرایند، از نمونه تیتانیوم و محفظه‌ای از جنس فولاد زنگ‌نزن حاوی الکترولیت که اطراف آن یک آبگرد خنک‌کننده نصب شده بود، به ترتیب به‌عنوان آند و کاتد استفاده شد.

مشاهده ساختار و شناسایی عناصر سطح پوشش PEO به کمک یک میکروسکوپ الکترونی روبشی (QUANTA, FEI, 200، ساخت کشور ایالات متحده آمریکا) مجهز به طیف‌سنج پراش انرژی پرتو ایکس^۱ (EDS) انجام شد. همچنین، ساختار شیمیایی پوشش PEO توسط آنالیز طیف‌سنجی رامان^۲ (Teksan, TakRam N1-541، ساخت کشور ایران) بررسی شد. رفتار خوردگی زیرلایه تیتانیوم خالص و پوشش PEO پس از ۷ روز تماس آن‌ها با محلول شبیه‌ساز بدن^۳ (SBF) با pH برابر با ۷/۴ و ترکیب شیمیایی گزارش شده در جدول ۱ [۱۱] و با استفاده از آزمون‌های طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی^۴ و پلاریزاسیون پتانسیودینامیک^۵ مطالعه شد. به این منظور، از یک دستگاه پتانسیواستات^۶ ($\mu\text{Autolab}$, III/FRA2، ساخت کشور هلند) و سل‌های سه‌الکترودی شامل الکتروود مرجع نقره/کلریدنقره اشباع‌شده با محلول ۳ KCl مولار، الکتروود

⁵ Potentiodynamic polarization

⁶ Potentiostat

⁷ Open Circuit Potential (OCP)

⁸ Tafel extrapolation

¹ Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS)

² Raman spectroscopy

³ Simulated Body Fluid (SBF)

⁴ Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS)

جدول ۱. ترکیب شیمیایی محلول SBF [11]

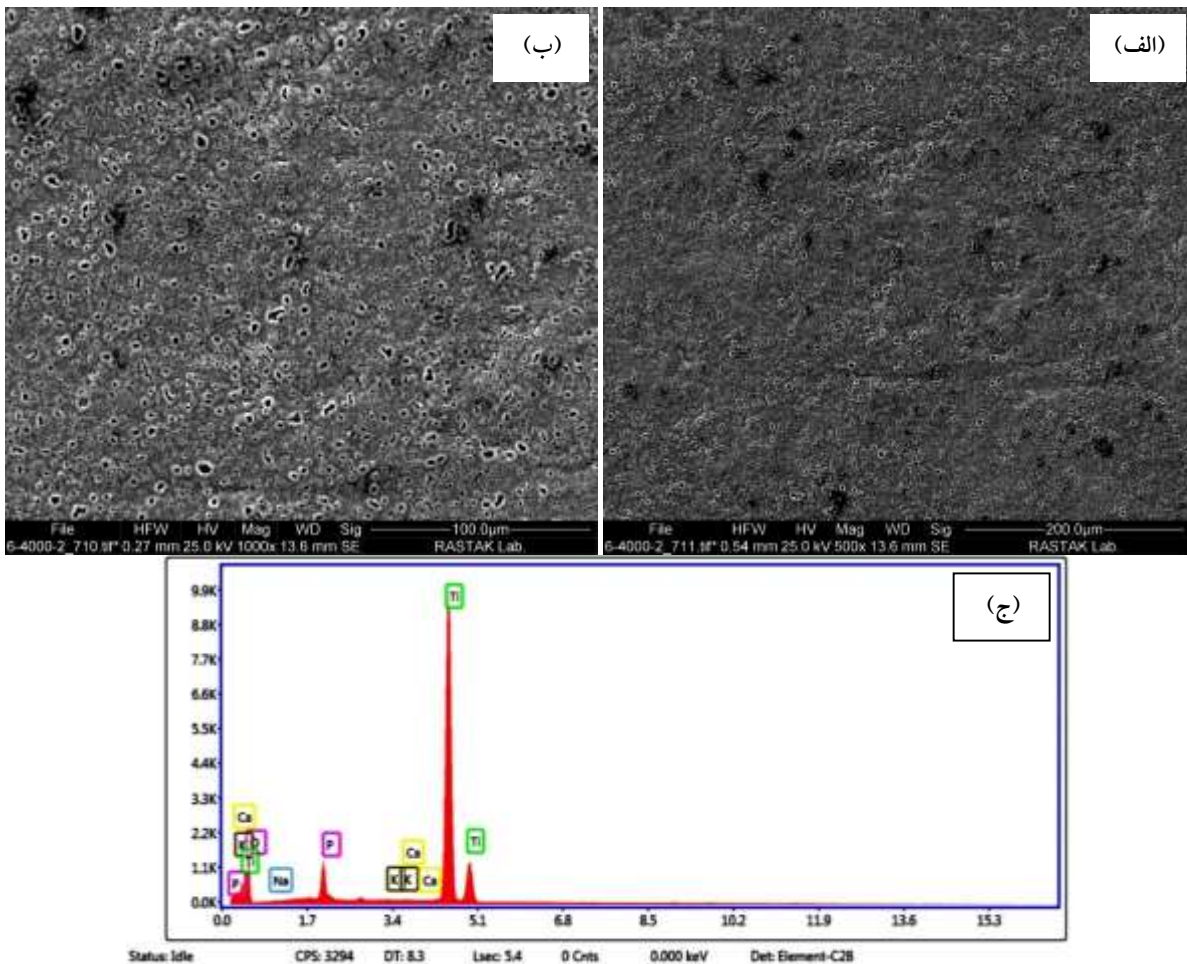
Tris	Na ₂ SO ₄	CaCl ₂	HCl	MgCl ₂ .6H ₂ O	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	KCl	NaHCO ₃	NaCl	ترکیب
۶/۱۱۸	۰/۰۷۲	۰/۲۹۲	۳۹	۰/۳۱۱	۰/۲۳۱	۰/۲۲۵	۰/۳۵۵	۸/۰۳۵	مقدار
g/l	g/l	g/l	ml	g/l	g/l	g/l	g/l	g/l	

۳. نتایج و بحث

۱.۳. مشاهده ساختار و شناسایی عناصر سطح پوشش PEO

گازی از درون کانال‌های تخلیه و در نهایت، انجماد سریع اکسیدهای مذاب توسط الکترولیت با دمای پایین مجاور آن‌ها در حین تشکیل و رشد لایه اکسیدی ایجاد می‌شوند [۱۳-۱۵]. آنالیز نقطه‌ای EDS پوشش در شکل ۱ (ج) نشان داد که با توجه به ترکیب شیمیایی زیرلایه و الکترولیت، پوشش PEO از عناصر O, Na, P, K, Ca و Ti تشکیل شده بود. مطابق با جدول ۲، پوشش PEO به دلیل وجود دی‌اکسید تیتانیم به‌عنوان فاز اصلی در ترکیب شیمیایی آن، به‌طور عمده شامل عناصر O (at. % ۵۸/۳۰) و Ti (at. % ۳۶/۲۰) بود.

تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی در دو بزرگنمایی ۵۰۰X و ۱۰۰۰X از ساختار سطح همراه با طیف نقطه‌ای EDS پوشش PEO کلسیم-فسفاتی تشکیل شده روی زیرلایه تیتانیم خالص در شکل ۱ نشان داده شده است. همچنین، درصد اتمی هریک از عناصر پوشش در جدول ۲ گزارش شده است. با توجه به شکل ۱ (الف، ب)، مشاهده شد که سطح پوشش PEO تشکیل شده دارای یک ساختار متخلخل همراه با تعداد زیادی حفره ریز بود. طی فرایند پوشش‌دهی PEO، حفرات به دلیل دما و فشار بالای درون کانال‌های تخلیه، در اثر تشکیل اکسیدهای مذاب توسط جرقه‌ها و سپس، خروج حباب‌های



شکل ۱. (الف، ب) تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی به ترتیب در دو بزرگنمایی ۵۰۰X و ۱۰۰۰X از ساختار سطح و (ج) طیف نقطه‌ای EDS پوشش PEO کلسیم-فسفاتی تشکیل شده روی زیرلایه تیتانیم خالص.

جدول ۲. درصد اتمی هریک از عناصر پوشش PEO کلسیم-فسفاتی تشکیل شده روی زیرلایه تیتانیم خالص

عنصر	O	Na	P	K	Ca	Ti
مقدار (at. %)	۵۸/۳۰	۱/۲۸	۳/۸۷	۰/۱۵	۰/۱۹	۳۶/۲۰

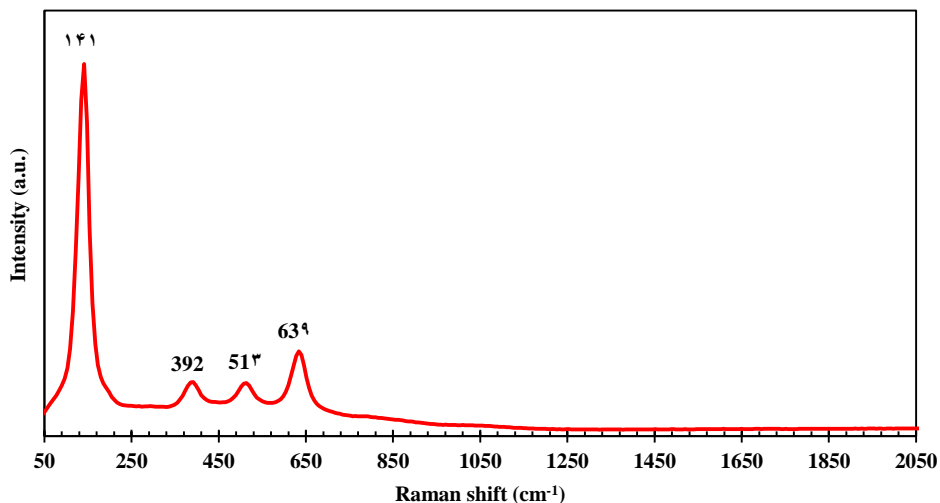
۲.۳. بررسی ساختار شیمیایی پوشش PEO

بین کاتیون‌های Ti^{4+} ناشی از انحلال فلز و یا آلیاژ زیرلایه با آنیون‌های OH^- الکترولیت، به دلیل فشار و دمای بالا درون کانال‌های تخلیه ابتدا منجر به تشکیل فاز آمورف آاناتاز در پوشش‌ها می‌شود [۱۷]. سپس، به دلیل کلسینه شدن مکرر فازهای آمورف در پوشش‌ها به وسیله تخلیه‌های ایجادشده، این فازها ابتدا به فاز بلوری ناپایدار آاناتاز و در محدوده دمایی

طیف رامان پوشش PEO کلسیم-فسفاتی تشکیل شده روی زیرلایه تیتانیم خالص در شکل ۲ نشان داده شده است. مطابق با شکل، پیک‌های ظاهر شده در عدد موج‌های ۱۴۱، ۳۹۲، ۵۱۳ و 639 cm^{-1} مربوط به دی‌اکسید تیتانیم (آاناتاز) است [۱۶]. بنابراین، مشخص است که پوشش PEO تشکیل شده تنها شامل فاز بلوری آاناتاز بود. در حین فرایند پوشش‌دهی PEO، واکنش

زمان و دما است [۲۱-۲۳]، بنابراین، به نظر می‌رسد که مدت زمان فرایند پوشش‌دهی جهت وقوع استحاله تبدیل آناتاز به روتیل کافی نبوده است.

۶۰۰ تا ۹۱۵ °C به فاز بلوری پایدار روتیل تبدیل می‌شوند [۱۸-۲۰]. از آنجا که تبدیل آناتاز به روتیل یک استحاله نفوذی مستلزم جوانه‌زنی و رشد دانه و در نتیجه وابسته به



شکل ۲. طیف رامان پوشش PEO کلسیم-فسفاتی تشکیل‌شده روی زیرلایه تیتانیم خالص.

۳.۳. ارزیابی رفتار الکتروشیمیایی پوشش PEO

امعالمی متوسط تا پایین (۱۰ تا 10^{-2} هرتز) در منحنی پوشش PEO ظاهر شده است نیز مشاهده می‌شود. جهت مدل‌سازی داده‌های تجربی امپدانس نمونه‌ها و استخراج داده‌های عددی از آن‌ها از مدارهای معادل الکتریکی ارائه‌شده در شکل ۴ استفاده شد. مطابق با شکل ۴ (الف)، مدل‌سازی داده‌های امپدانس اندازه‌گیری‌شده زیرلایه تیتانیم خالص به کمک مدار معادل الکتریکی ساده رندلز^۳ که شامل یک مقاومت (R_i) موازی با یک عنصر فازی ثابت^۴ (CPE_i) است، انجام شد. این دو عنصر به ترتیب به مقاومت و رفتار خازنی غیرایده‌آل لایه اکسید سطحی تیتانیم نسبت داده می‌شوند. رفتار خازنی لایه اکسید سطحی تیتانیم به دلیل

منحنی‌های نایکوئیست^۱ و بد^۲ مربوط به زیرلایه تیتانیم خالص و پوشش PEO پس از ۷ روز تماس آن‌ها با محلول SBF در شکل ۳ نشان داده شده است. مطابق با شکل، منحنی‌های نایکوئیست زیرلایه تیتانیم خالص و پوشش PEO به ترتیب شامل یک حلقه خازنی و دو نیم‌حلقه خازنی کوچک و بزرگ بودند. دو نیم‌حلقه کوچک و بزرگ ظاهر شده در فرکانس‌های اعمالی بالا و در محدوده فرکانس‌های اعمالی متوسط تا پایین در منحنی نایکوئیست پوشش PEO به ترتیب مربوط به لایه‌های خارجی و داخلی آن بود. این رفتار متقابلاً در منحنی‌های بد که تنها یک ثابت زمانی در منحنی زیرلایه تیتانیم خالص و دو ثابت زمانی یکی در فرکانس‌های اعمالی بالا (۱۰ تا 10^5 هرتز) و دیگری در محدوده فرکانس‌های

³ Randles

⁴ Constant Phase Element (CPE)

¹ Nyquist

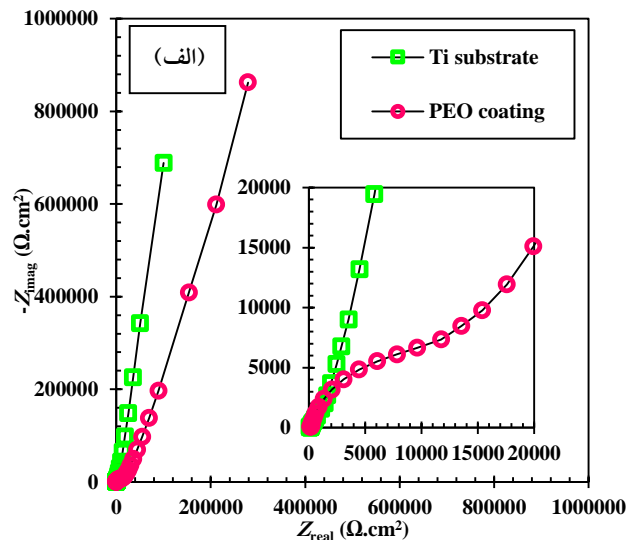
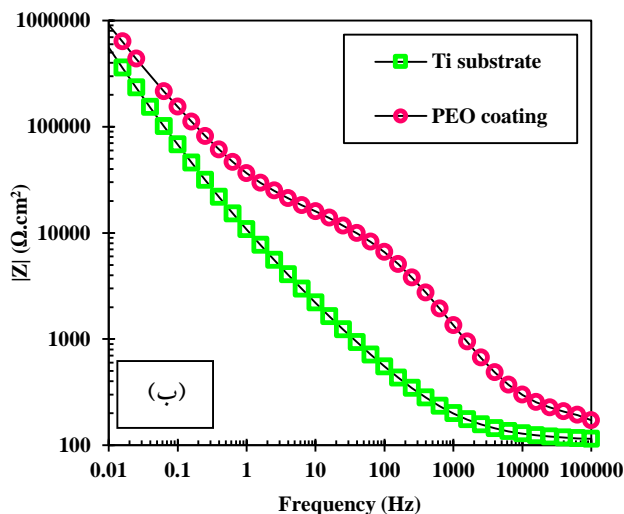
² Bode

در معادله بالا، n درجه رفتار غیرایده‌آل CPE ، Q ثابت CPE ، فرکانس زاویه‌ای و $\omega = \sqrt{1 - z}$ واحد موهومی است. مقدار n بین ۰ و ۱ (۰ برای یک مقاومت خالص و ۱ برای یک خازن ایده‌آل) است و می‌تواند به طور معکوس با زبری سطح نمونه‌ها تغییر کند. به علاوه، مقادیر پایین‌تر Q عموماً به معنای تخلخل و زبری بالاتر سطح است [۲۶]. بنابراین، با توجه به داده‌های استخراج‌شده از منحنی‌های امپدانس پس از مدل‌سازی آن‌ها در جدول ۳، مشاهده شد که لایه داخلی پوشش PEO به دلیل داشتن سطحی هموارتر و صاف‌تر، مقادیر n و Q بالاتری را در مقایسه با لایه خارجی آن نشان داد. پوشش PEO دارای مقاومت به خوردگی (R_i) بیشتری (در حدود ۱/۵ برابر) در مقایسه با زیرلایه تیتانیوم خالص بود. از آن‌جا که لایه داخلی پوشش‌های PEO دارای عیوب ساختاری کم‌تری در مقایسه با لایه خارجی آن‌ها است، لایه داخلی پوشش PEO مقاومت (R_i) بیشتری را در برابر خوردگی در مقایسه با لایه خارجی (R_o) آن نشان داد.

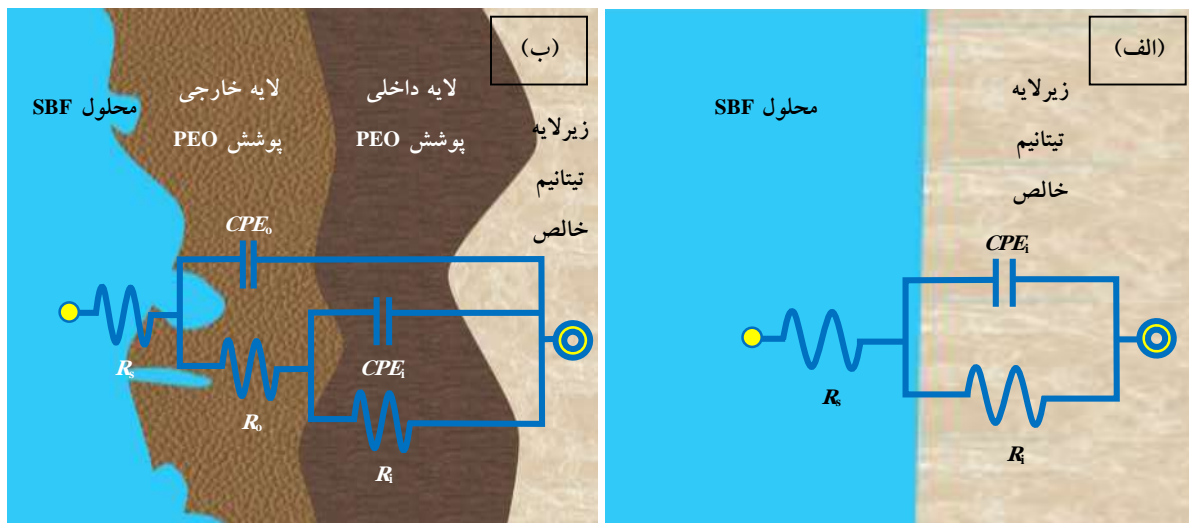
ماهیت دی‌الکتریک آن و وجود یک لایه دوگانه الکتريکی در فصل مشترک فلز و محلول بروز می‌کند [۲۵، ۲۴]. در مقابل، از آن‌جا که دو فصل مشترک الکتروشیمیایی در پوشش‌های PEO در نظر گرفته می‌شود، برای مدل‌سازی داده‌های تجربی امپدانس اندازه‌گیری‌شده مربوط به پوشش PEO از مدار معادل الکتريکی پیچیده‌تری (شکل ۴ (ب)) استفاده شد. این مدار شامل دو جفت عنصر موازی R_o و CPE_o به ترتیب مربوط به مقاومت و رفتار خازنی غیرایده‌آل لایه خارجی پوشش و R_i و CPE_i به ترتیب مربوط به مقاومت و رفتار خازنی غیرایده‌آل لایه داخلی پوشش بود. همچنین، در هر دو مدار معادل الکتريکی رسم‌شده در شکل ۴، R_s مقاومت محلول SBF است.

با توجه به زبر و ناهموار بودن سطح نمونه‌ها، جهت مدل‌سازی منحنی‌های امپدانس به جای خازن از CPE در مدارهای الکتريکی استفاده شد. مقاومت CPE مطابق با معادله ۲ محاسبه می‌شود [۲۶]:

$$Z_{CPE} = 1 / Q (j\omega)^n \quad \text{معادله (۲)}$$



شکل ۳. منحنی‌های (الف) نایکوئیست و (ب) بد زیرلایه تیتانیوم خالص و پوشش PEO پس از ۷ روز تماس آن‌ها با محلول SBF.



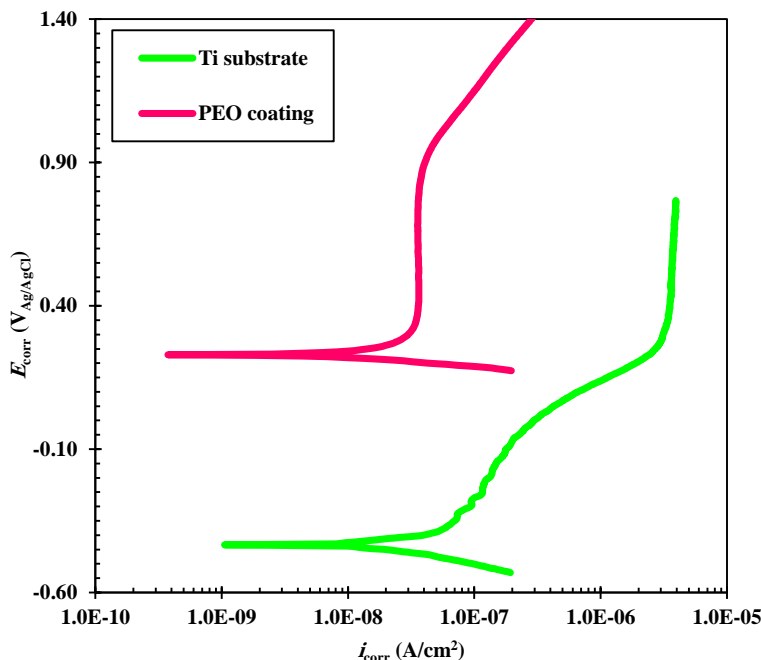
شکل ۴. مدارهای معادل الکتریکی مورد استفاده جهت مدل‌سازی منحنی‌های نایکوئیست (الف) زیرلایه تیتانیوم خالص و (ب) پوشش PEO.

جدول ۳. داده‌های استخراج‌شده پس از مدل‌سازی منحنی‌های امپدانس

R_s ($M\Omega \cdot cm^2$)	CPE_o		R_o ($K\Omega \cdot cm^2$)	CPE_i		R_i ($M\Omega \cdot cm^2$)	نمونه
	Q_o ($\mu F/cm^2$)	n_o		Q_i ($\mu F/cm^2$)	n_i		
۰/۹۹۳	-	-	-	۲۵/۲۴۳	۰/۶۹۱	۰/۹۹۳	زیرلایه تیتانیوم خالص
۱/۵۵۸	۳/۷۸۳	۰/۷۸۴	۱/۳۸۹	۱۲/۷۵۴	۰/۸۹۲	۱/۵۵۸	پوشش PEO

شد. بنابراین، به نظر می‌رسد که اصلاح سطح تیتانیوم خالص با پوشش‌های PEO تشکیل لایه رویین را روی آن در تماس با محلول SBF تسهیل می‌کند. پس از ناحیه رویین، پوشش PEO به احتمال زیاد به دلیل شکست لایه رویین آن و یا واکنش‌های اکسیداسیون آب [۲۷]، وارد منطقه رویین گذرا شد. در این منطقه، چگالی جریان با شیب کم افزایش یافت. مطابق با جدول ۴، پوشش PEO دارای مقدار پتانسیل خوردگی (E_{corr}) نجیب‌تری و در نتیجه پایداری شیمیایی بیش‌تری و تمایل ترمودینامیکی کم‌تری به واکنش با یون‌های خورنده در مقایسه با زیرلایه تیتانیوم خالص بود. هم‌چنین، پوشش PEO در مقایسه با زیرلایه تیتانیوم خالص، مقدار (i_{corr}) کم‌تری و بنابراین، مقدار R_p بیش‌تری (در حدود ۲/۷ برابر) را نشان داد.

منحنی‌های پلاریزاسیون پتانسیودینامیک مربوط به زیرلایه تیتانیوم خالص و پوشش PEO پس از ۷ روز تماس آن‌ها با محلول SBF و داده‌های استخراج‌شده از منحنی‌ها به ترتیب در شکل ۵ و جدول ۴ گزارش شده است. مطابق با شکل، در محدوده پتانسیل اعمالی در شاخه آندی منحنی پوشش PEO، نواحی فعال، رویین و رویین گذرا و در منحنی زیرلایه تیتانیوم خالص مناطق فعال و رویین مشاهده شد. در ناحیه فعال، چگالی جریان با اعمال پتانسیل آندی به سرعت افزایش یافت و در طول منطقه رویین به دلیل مهار واکنش‌های الکتروشیمیایی انحلال به وسیله تشکیل و رشد یک لایه رویین روی سطح نمونه‌ها تقریباً ثابت باقی ماند. در مقایسه با زیرلایه تیتانیوم خالص، پوشش PEO طی مدت زمان کوتاه‌تری از منطقه فعال عبور کرد و وارد ناحیه رویین



شکل ۵. منحنی‌های پلاریزاسیون پتانسیودینامیک زیرلایه تیتانیوم خالص و پوشش PEO پس از ۷ روز تماس آن‌ها با محلول SBF.

جدول ۴. داده‌های استخراج‌شده از منحنی‌های پلاریزاسیون پتانسیودینامیک پس از ۷ روز تماس نمونه‌ها با محلول SBF

نمونه	E_{corr} (mV)	i_{corr} ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)	β_a	β_c	R_p ($\text{M}\Omega.\text{cm}^2$)
زیرلایه تیتانیوم خالص	-۴۳۳	۰/۰۳۱	۰/۰۱۳	۰/۰۱۵	۰/۰۹۷
پوشش PEO	+۲۲۹	۰/۰۰۹	۰/۰۱۲	۰/۰۱۰	۰/۲۶۳

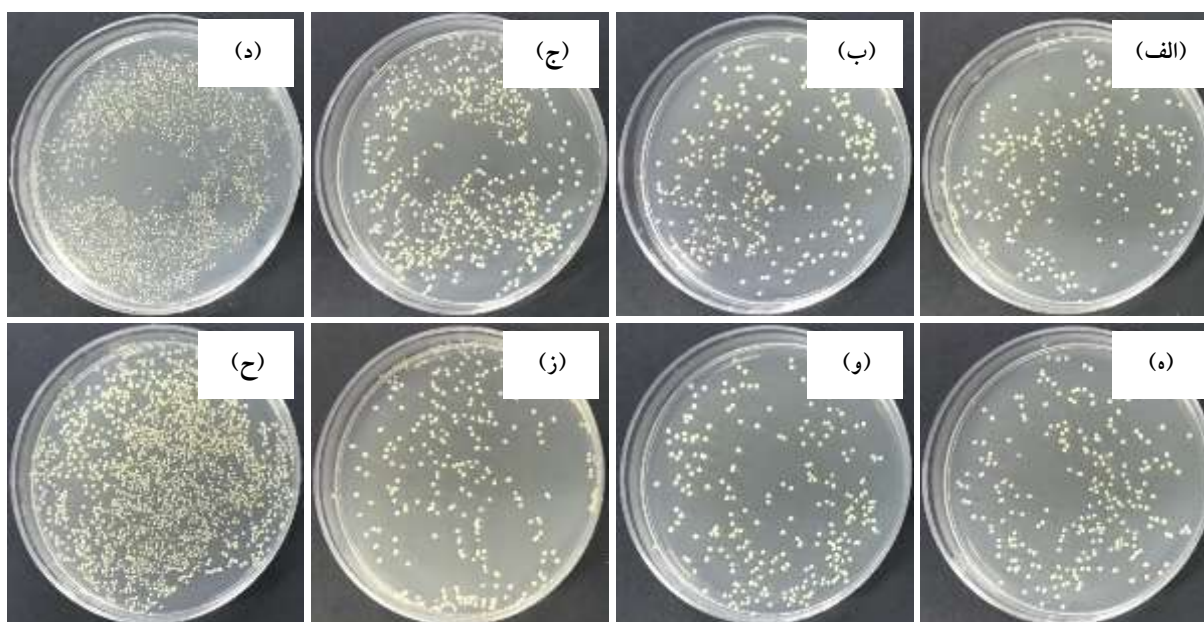
۴.۳. سنجش رفتار ضدباکتریایی پوشش‌های PEO

در مقابل، تعداد کلنی‌های باکتری درون محیط کشت حاوی پوشش PEO تحت تابش پرتو فرابنفش ابتدا با افزایش مدت زمان تلقیح از ۳۰ دقیقه تا ۲ ساعت، از ۵/۲۵ تا ۵/۱۷ \log (CFU/ml) کاهش و پس از آن، با افزایش مدت زمان تلقیح تا ۴ ساعت تا ۶/۳۲ \log (CFU/ml) افزایش یافت. هم‌چنین، طی هر ۴ بازه زمانی تلقیح، تعداد باکتری‌های درون محیط کشت حاوی پوشش تحت تابش پرتو فرابنفش کم‌تر از پوشش بدون تابش پرتو فرابنفش بود. بنابراین، به نظر می‌رسد که با قرار دادن پوشش‌های PEO در معرض تابش پرتو فرابنفش، خاصیت ضدباکتریایی آن‌ها بهبود پیدا می‌کند.

تصاویر ماکروسکوپی از کلنی‌های باکتری رشد کرده و منحنی رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس درون محیط‌های کشت حاوی پوشش‌های PEO بدون تابش و در معرض تابش پرتو فرابنفش طی ۴ زمان تلقیح مختلف ۳۰ دقیقه و ۱، ۲ و ۴ ساعت در دمای ۳۷ °C به ترتیب در شکل‌های ۶ و ۷ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که با گذشت مدت زمان تلقیح از ۳۰ دقیقه تا ۴ ساعت، تعداد کلنی‌های باکتری درون محیط کشت حاوی پوشش PEO بدون تابش پرتو فرابنفش از ۵/۳۲ تا ۶/۶۸ \log (CFU/ml) افزایش یافت. این روند، نشان‌دهنده خاصیت ضدباکتریایی ضعیف پوشش PEO بدون تابش پرتو فرابنفش بود.

الکترونی با اکسیژن محلول و یا آب، گونه‌های اکسیژن فعال^۲ (ROS) همانند O_2^- ، OH^\bullet و H_2O_2 تولید می‌شود. ROS به مولکول‌های زیستی مختلف موجود در باکتری‌ها حمله کرده و باعث از بین رفتن یکپارچگی غشای آن‌ها از طریق تغییر نفوذپذیری آن و در نتیجه آسیب به Deoxyribonucleic acid (DNA)، پروتئین‌ها و دیگر اجزای درون‌سلولی و در نهایت مرگ باکتری‌ها می‌شوند [۲۹،۲۸].

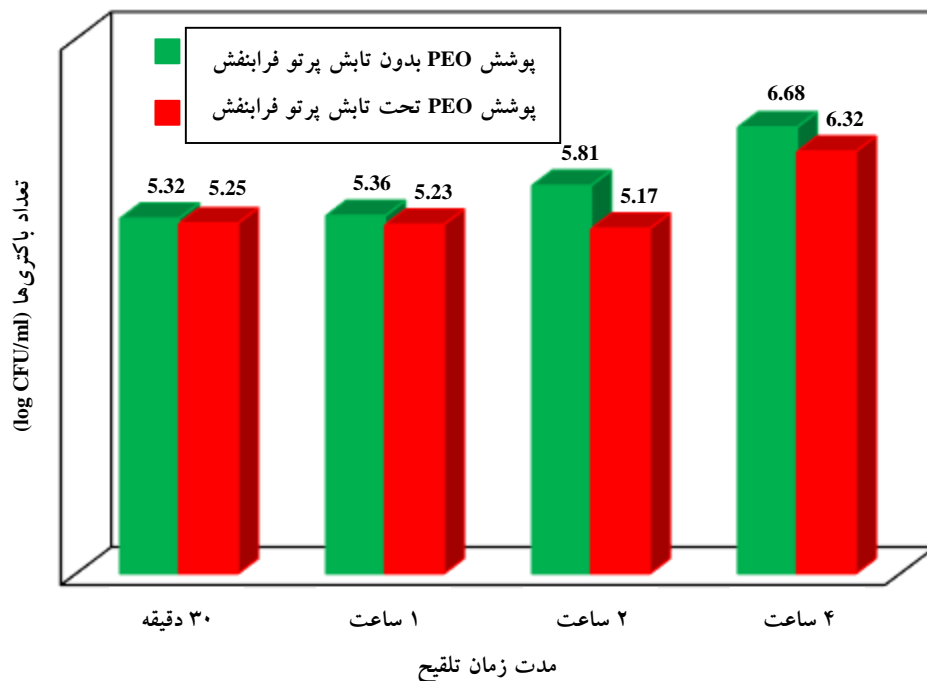
در هنگام قرارگیری دی‌اکسید تیتانیم، به‌عنوان یک نیمه‌هادی فوتوکاتالیست^۱، در معرض فوتون‌های نور با انرژی بیش‌تر از انرژی شکاف نواری آن، الکترون نوار ظرفیت، برانگیخته شده و به نوار هدایت فرستاده می‌شود. وقوع این اتفاق باعث تولید یک حفره الکترونی در نوار ظرفیت می‌شود. الکترون برانگیخته‌شده می‌تواند با حفره الکترونی تولیدشده دوباره ترکیب شود و هر دو به‌طور جداگانه به سمت سطح ماده حرکت کنند. در صورت واکنش ترکیب الکترون و حفره



شکل ۶. تصاویر میکروسکوپی از کلنی‌های باکتری رشد کرده درون محیط کشت حاوی پوشش‌های PEO (الف، ب، ج، د) بدون تابش پرتو فرابنفش (ه، و، ز، ح) تحت تابش پرتو فرابنفش به ترتیب پس از ۴ زمان تلقیح مختلف ۳۰ دقیقه و ۱، ۲ و ۴ ساعت.

^۲ Reactive Oxygen Species (ROS)

^۱ Photocatalyst



شکل ۷. منحنی رشد باکتری‌ها با گذشت مدت زمان تلقیح از ۳۰ دقیقه تا ۴ ساعت.

۴. نتیجه‌گیری

خوردگی زیرلایه تیتانیوم خالص (با R_p برابر با ۰/۰۹۷ مگااهم در سانتی‌مترمربع) را در حدود ۲/۷ برابر افزایش داد. ۳. با قرار دادن پوشش‌های PEO در معرض تابش پرتو فرابنفش، رفتار ضدباکتریایی آن‌ها در برابر باکتری گرم-مثبت استافیلوکوکوس اورئوس پس از ۳۰ دقیقه و ۱، ۲ و ۴ ساعت تلقیح، به دلیل تولید ROS توسط پوشش‌ها و در نتیجه آسیب به Deoxyribonucleic acid (DNA)، پروتئین‌ها و دیگر اجزای درون‌سلولی و در نهایت مرگ باکتری‌ها، بهبود پیدا کرد.

در این پژوهش، ساختار سطح، ترکیب شیمیایی و رفتار الکتروشیمیایی و ضدباکتریایی پوشش کلسیم-فسفاتی تشکیل شده به روش PEO روی تیتانیوم خالص بررسی و نتایج زیر حاصل شد:

۱. پوشش PEO تشکیل شده دارای یک ساختار متخلخل حاوی تعداد زیادی حفره ریز و تنها شامل فاز بلوری آاناتاز بود.
۲. پس از ۷ روز تماس نمونه‌ها با محلول SBF، پوشش PEO با R_p برابر با ۰/۲۶۳ مگااهم در سانتی‌مترمربع، مقاومت به

مراجع

[1] M. Molaei, A. Fattah-Alhosseini and S.O. Gashti, Sodium aluminate concentration effects on microstructure and corrosion behavior of the plasma electrolytic oxidation coatings on pure titanium, Metallurgical and Materials Transactions A: Physical Metallurgy and Materials Science, 49 (2018) 368–375.

[2] A.R. Luz, G.G. de Lima, E. Santos, B.L. Pereira, H.H. Sato, C.M. Lepienski, D.B. Lima, C. Laurindo, C.R. Grandini and N.K. Kuromoto, Tribo-mechanical properties and cellular viability of electrochemically treated Ti-10Nb and Ti-20Nb alloys, Journal of Alloys and Compounds, 779 (2019) 129–139.

- [3] M.J. Hwang, B.J. Kim, Y.H. Song, H.J. Song and Y.J. Park, Osteoconductivity of binary titanium alloys with different micro/nanoporous surfaces, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 17 (2017) 2828–2832.
- [4] S.H. Uhm, J.S. Kwon, D.H. Song, E.J. Lee, W.S. Jeong, S. Oh, K.N. Kim, E.H. Choi and K.M. Kim, Long-term antibacterial performance and bioactivity of plasma-engineered Ag-NPs/TiO₂ nanotubes for bio-implants, *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 12 (2016) 1890–1906.
- [5] A. Fattah-alhosseini, M. Molaei, N. Attarzadeh and K. Babaei, F. Attarzadeh, On the enhanced antibacterial activity of plasma electrolytic oxidation (PEO) coatings that incorporate particles: A review, *Ceramics International*, 46 (2020) 20587–20607.
- [6] H. Khanmohammadi, S.R. Allahkaram, A. Igual Munoz and N. Towhidi, The influence of current density and frequency on the microstructure and corrosion behavior of plasma electrolytic oxidation coatings on Ti6Al4V, *Journal of Materials Engineering and Performance*, 26 (2017) 931–944.
- [7] O.A. Galvis, D. Quintero, J.G. Castaño, H. Liu, G.E. Thompson, P. Skeldon and F. Echeverría, Formation of grooved and porous coatings on titanium by plasma electrolytic oxidation in H₂SO₄/H₃PO₄ electrolytes and effects of coating morphology on adhesive bonding, *Surface and Coatings Technology*, 269 (2015) 238–249.
- [8] A. Fattah-alhosseini, S.O. Gashti and M. Molaie, Effects of disodium phosphate concentration (Na₂HPO₄·2H₂O) on microstructure and corrosion resistance of plasma electrolytic oxidation (PEO) coatings on 2024 Al alloy, *Journal of Materials Engineering and Performance*, 27 (2018) 825–834.
- [9] M. Daroonparvar, M.A.M. Yajid, N.M. Yusof, H.R. Bakhsheshi-Rad, E. Hamzah and T. Mardanikivi, Deposition of duplex MAO layer/nanostructured titanium dioxide composite coatings on Mg-1%Ca alloy using a combined technique of air plasma spraying and micro arc oxidation, *Journal of Alloys and Compounds*, 649 (2015) 591–605.
- [10] M. Fazel, H.R. Salimijazi and M. Shamanian, Improvement of corrosion and tribocorrosion behavior of pure titanium by subzero anodic spark oxidation, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10 (2018) 15281–15287.
- [11] T. Kokubo and H. Takadama, How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials*, 27 (2006) 2907–2915.
- [12] G.T. Burstein, A hundred years of Tafel's Equation: 1905-2005, *Corrosion Science*, 47 (2005) 2858–2870.
- [13] M. Du, L. Huang, M. Peng, F. Hu, Q. Gao, Y. Chen and P. Liu, Preparation of vancomycin-loaded alginate hydrogel coating on magnesium alloy with enhanced anticorrosion and antibacterial properties, *Thin Solid Films*, 693 (2020).
- [14] D. Kajánek, B. Hadzima, J. Buhagiar, J. Wasserbauer and M. Jacková, Corrosion degradation of AZ31 magnesium alloy coated by plasma electrolytic oxidation, *Transportation Research Procedia*, 40 (2019) 51–58.
- [15] S. Fatimah, F. Khoerunnisa, J.H. Kwon, Y.H. Kim and Y.G. Ko, Inorganic-metallic bilayer on Mg alloy via wet and dry plasma treatments, *Surface and Coatings Technology*, 360 (2019) 56–63.
- [16] C.W. Yeh, K.R. Wu, C.H. Hung, H.C. Chang and C.J. Hsu, Preparation of porous F-WO₃/TiO₂ films with visible-light photocatalytic activity by microarc oxidation, *International Journal of Photoenergy*, 2012 (2012).
- [17] M. Molaei, A. Fattah-Alhosseini and M.K. Keshavarz, Influence of different sodium-based additives on corrosion resistance of PEO coatings on pure Ti, *Journal of Asian Ceramic Societies*, 7 (2019) 247–255.
- [18] K. Venkateswarlu, N. Rameshbabu, S. Sreekanth, A.C. Bose, V. Muthupandi, N.K. Babu and S. Subramanian, Role of electrolyte additives on in-vitro electrochemical behavior of micro arc oxidized titania films on Cp Ti, *Applied Surface Science*, 258 (2012) 6853–6863.
- [19] K. Venkateswarlu, S. Suresh, N. Rameshbabu, A.C. Bose and S. Subramanian, Effect of electrolyte chemistry on the structural, morphological and corrosion characteristics of titania films developed on Ti-6Al-4V implant material by plasma electrolytic oxidation, *Key Engineering Materials*, 493–494 (2012) 436–441.
- [20] X. Rao, C.L. Chu, Q. Sun and Y.Y. Zheng, Fabrication and apatite inducing ability of different porous titania structures by PEO treatment, *Materials Science and Engineering C*, 66 (2016) 297–305.
- [21] C.A.H. Laurindo, L.M. Bembem, R.D. Torres, S.A. Mali, J.L. Gilbert and P. Soares, Influence of the annealing treatment on the tribocorrosion properties of Ca and P containing TiO₂ produced by plasma electrolytic oxidation, *Materials Technology*, 31 (2016) 719–725.
- [22] F. Wang, B. Hou, K. Yuan and Y. Wang, Compactness of coatings treated by MAO and LSM on Ti alloy, *Emerging Materials Research*, 4 (2015) 265–272.
- [23] Z. Yan, M. Men, B. Sun, Q. Wang, Y. Han and M. Wen, Effect of electrode oxide film in micro arc oxidation on water treatment, *Journal of Advanced Oxidation Technologies*, 20 (2017).
- [24] F. Reshadi, G. Faraji, M. Baniassadi and M. Tajeddini, Surface modification of severe plastically deformed ultrafine grained pure titanium by plasma electrolytic oxidation, *Surface and Coatings*

Technology, 316 (2017) 113–121.

[25] S. Franz, H. Arab, G.L. Chiarello, M. Bestetti and E. Selli, Single-step preparation of large area TiO₂ photoelectrodes for water splitting, *Advanced Energy Materials*, 10 (2020) 2000652.

[26] M. Molaei, A. Fattah-alhosseini, M. Nouri, P. Mahmoodi and A. Nourian, Incorporating TiO₂ nanoparticles to enhance corrosion resistance, cytocompatibility, and antibacterial properties of PEO ceramic coatings on titanium, *Ceramics International*, 48 (2022) 21005–21024.

[27] H. Fakhri Nabavi and M. Aliofkhaezrai, Morphology, composition and electrochemical properties of bioactive-TiO₂/HA on CP-Ti and Ti6Al4V substrates fabricated by alkali treatment of hybrid plasma electrolytic oxidation process

(estimation of porosity from EIS results), *Surface and Coatings Technology*, 375 (2019) 266–291.

[28] E. Nikoomezari, M. Karbasi, W. C.M.A. Melo, H. Moris, K. Babaei, S. Giannakis and A. Fattah-alhosseini, Impressive strides in antibacterial performance amelioration of Ti-based implants via plasma electrolytic oxidation (PEO): A review of the recent advancements, *Chemical Engineering Journal*, 441 (2022) 136003.

[29] S. Banerjee, D.D. Dionysiou and S.C. Pillai, Self-cleaning applications of TiO₂ by photo-induced hydrophilicity and photocatalysis, *Applied Catalysis B: Environmental*, 176–177 (2015) 396–428.