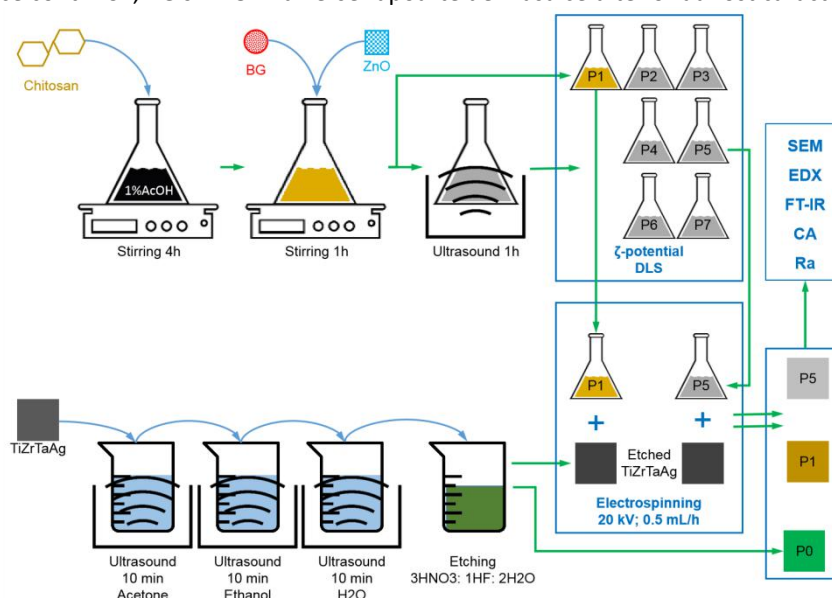


ROMANA

Prima etapa a proiectului PED 605/2022- Depunerea MAPLE a unor nano-acoperiri active pentru aplicatii multifunctionale ale aliajului TiTaZrAg a cuprins trei pachete de activitati.

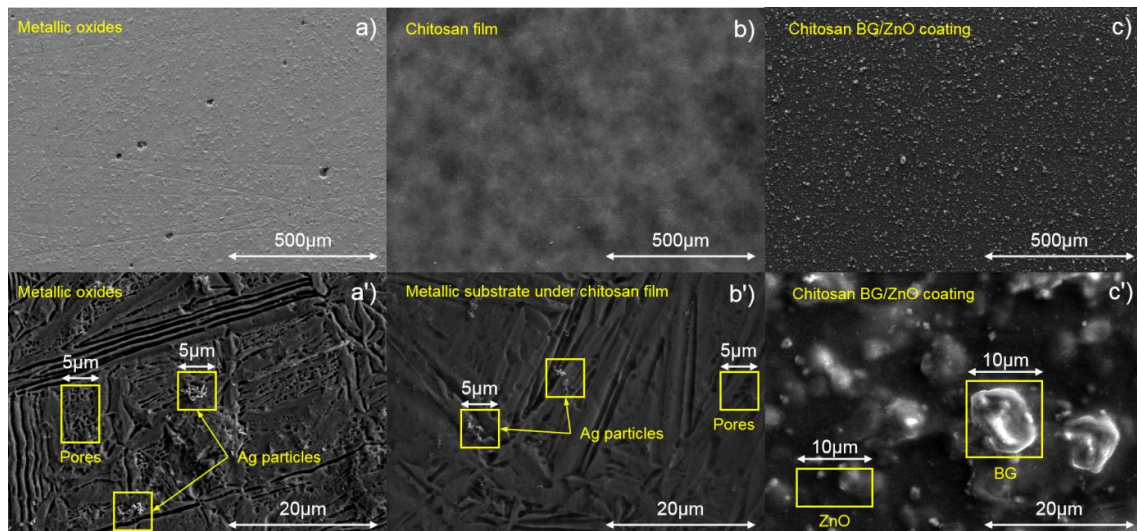
In cadrul primei activitati au fost obtinute noi formulari multifunctionale pe baza de chitosan (Ch) si biosticla (BG) prin Evaporarea Laser Pulsată Asistată Matricial (MAPLE). Depunerile MAPLE sunt compatibile cu diferite tipuri de substraturi: metale, ceramici, polimeri și semiconductori. In acest studiu depunerea a fost realizata pe un suport de 73Ti-20Zr-5Ta-2Ag. Parametrul important care caracterizeaza o suspensie este potentialul Zeta (ζ). Potențialul ζ determină (i) stabilitatea particulei în suspensie, (ii) direcția de mișcare (depunere catodică sau anodică), (iii) mobilitatea particulei și (iv) densitatea filmului. Un potențial ζ scăzut (din punct de vedere al valorii absolute) duce la aglomerarea particulelor și instabilitatea sistemului, în timp ce un potențial ζ prea mare nu permite particulelor să se depună pe substrat. Pentru realizarea suspensiei, folosita la depunere, au fost realizate mai multe esantioane ce contin Ch, BG si ZnO in diverse rapoarte de masa ce ulterior au fost caracterizate.



In cadrul celei de a doua activitati este prezentata tehnica de depunere MAPLE ca metoda pentru producerea filmelor uniforme, compuse din specii cu greutatea moleculara diferita, cu morfologii unice folosind avantajele depunerii din vid. Procesul de depunere a filmelor poliomerice prin MAPLE implică absorbția luminii cu o anumită lungime de undă produsă de un laser de către un amestec diluat și înghețat de polimer (substanța de interes) cu o concentrație mai mică de 5% și solvent relativ volatil (matrice), astfel încât substanța de interes să fie protejată de o cantitate mare de solvent. În timpul procesului de depunere, în mod ideal, cea mai mare parte a energiei laser ar trebui absorbită de moleculele de solvent, reducând astfel la minimum sau evitând în totalitate degradarea fotochimică a polimerului.

S-au efectuat încercări de depunere prin această metodă pe aliajul de 73Ti-20Zr-5Ta-2Ag utilizând discuri de 2 cm diametru, și 1 mm grosime. Depunerea a fost optimizată în funcție de fluanta laserului și de presiunea în interiorul camerei de lucru. Cea mai bună combinație a fost găsită pentru 0,5 J/cm² și 1 Pa. A fost aplicată o serie de 25 000 de impulsuri laser folosind un laser KrF, cu $\lambda=248\text{nm}$.

In cadrul celei de a treia activitati s-a efectuat caracterizarea substraturilor obtinute prin analize de suprafata cuplate cu tehnici compozitionale: SEM și EDX, FT-IR, unghi de contact, masuratori de rugozitate, datele obtinute fiind in buna concordanta cu obiectivele propuse.



A doua etapa a proiectului PED 605/2022- Depunerea MAPLE a unor nano-acoperiri active pentru aplicatii multifunctionale ale aliajului TiTaZrAg a cuprins trei pachete de activitati si anume: 1) Dezvoltarea de nanoacoperiri multifunctionale TiO_2 - ZnO -GO/Ch pe substraturi TiTaZrAg prin MAPLE; 2) Evaluarea proprietăților mecanice prin compararea a trei clase de aliaje: TiTaZrAg/ TiO_2 - ZnO -BG/Ch și TiTaZrAg/ TiO_2 - ZnO -GO/Ch; 3) Monitorizarea comportamentului aliajelor TiTaZrAg acoperite pe termen scurt și mediu.

In pachetul 1) Dezvoltarea de nanoacoperiri multifunctionale TiO_2 - ZnO -GO/Ch pe substraturi TiTaZrAg prin MAPLE au fost cuprinse urmatoarele activitati:

- Proiectarea și prepararea unei noi formulări multifunctionale nanocompozite pe bază de chitosan (Ch), oxid de grafen (GO), titan (TiO_2) și nanoparticule de oxid de zinc (ZnO);

In cadrul acestei activitati, continuand cu rezultatele din etapa precedenta, unde au fost obtinute si analizate acoperiri pe baza de Chi si BG cu diverse adaosuri de ZnO, au fost obtinute si analizate o serie de acoperiri in care s-au introdus nanoparticule de TiO_2 si oxid de grafena redus. Stabilitatea suspensiilor coloidale obtinute a fost analizata si evaluata prin intermediul masuratorilor de potential ζ care a permis alegerea combinatiilor optime de slemente din suspensii si cantitatea acestora necesare pentru depunerile prin MAPLE.

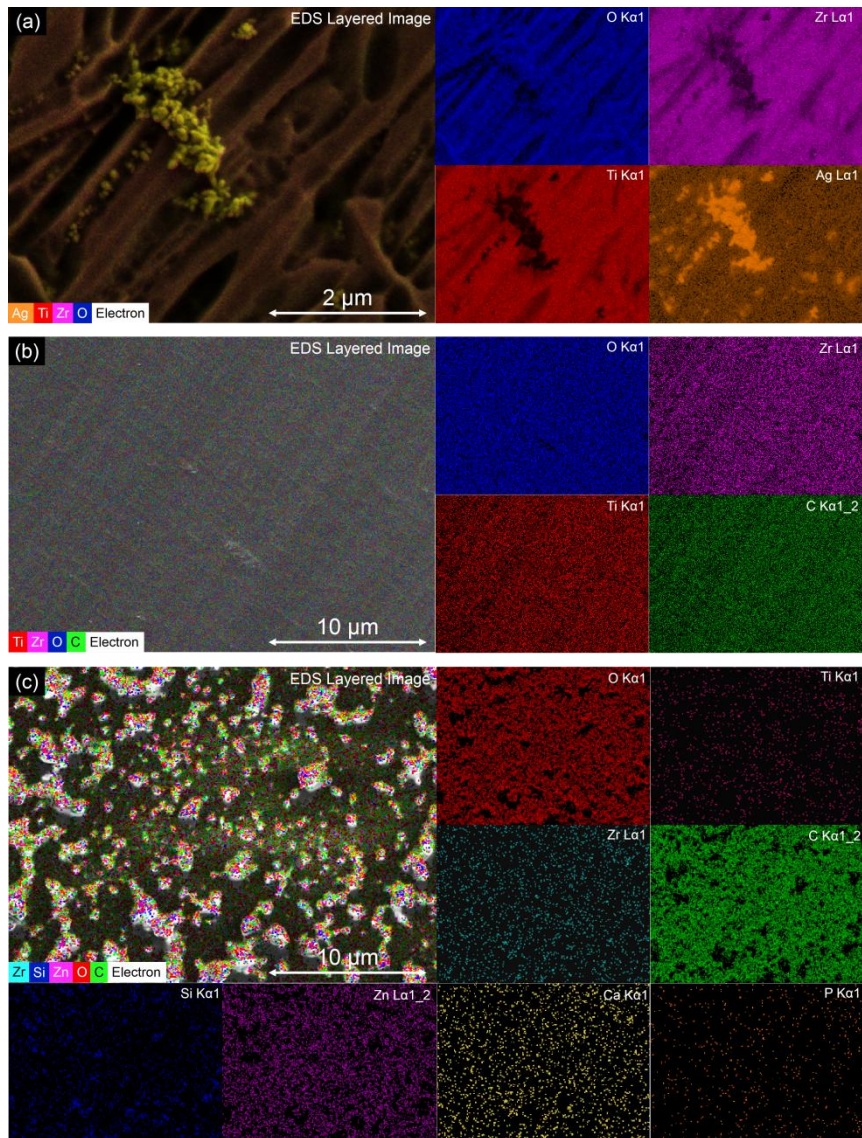
- Determinarea parametrilor optimi de depunere pentru a genera acoperiri omogene si bine atasate; Fabricarea/depunerea acoperirilor multifunctionale TiO_2 - ZnO -GO/Ch pe substraturi TiTaZrAg prin MAPLE;

Folosind informatiile legate de suspensii din activitatea precedenta, cele mai bune suspensii au fost selectate pentru depunerea prin tehnica MAPLE pe substratul 73Ti-20Zr-5Ta-2Ag. Au fost variati mai multi parametri de lucru, combinatia ideala, fiind urmatoarea:

- presiunea in camera de depunere: 10⁻⁶ mbar;
- distanta de lucru tinta - substrat: 3 cm;
- lungimea de undă LASER la iesirea din sistemul OPO: 2700 nm;
- frecventa LASER 10 Hz;
- energie LASER 28 mJ/puls;
- numar de pulsuri LASER: 35000;
- aria spotului LASER pe țintă: 0.9 mm²;

- Evaluarea funcționalității acoperirilor TiO_2 - ZnO -GO/Ch nou dezvoltate prin evaluarea proprietăților lor structurale, morfologice și compoziționale implicând diferite metode de caracterizare.

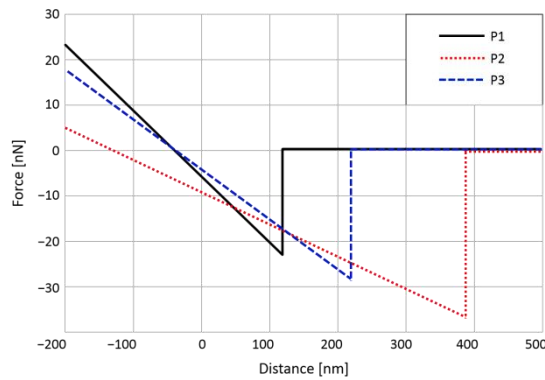
In cadrul acestei activitati filmele compozite depuse pe 73Ti-20Zr-5Ta-2Ag prin tehnica MAPLE au fost evaluate structural, morfologic și compozițional printr-o serie de tehnici: Spectroscopie în infraroșu cu transformata Fourier (FT-IR), microscopie electronica de baleiaj (SEM) cuplata cu spectroscopie cu raze X cu dispersie energetica (EDX), spectroscopie Raman. Testele au aratat ca depunerile sunt uniforme, omogene si contin toate elementele din suspensiile depuse, dovedind fiabilitatea si versatilitatea tehnicii MAPLE.



In pachetul 2) Evaluarea proprietăților mecanice prin compararea a trei clase de aliaje: TiTaZrAg, TiTaZrAg/TiO₂- ZnO-BG/Ch și TiTaZrAg/TiO₂- ZnO-GO/Ch au fost cuprinse următoarele activități:

- Teste de duritate, încovoiere și modulul de elasticitate la scară macro/micro pentru a evalua comportamentul mecanic global al tuturor celor trei clase de aliaje.
- Teste de nano-indentare și nano-zgâriere pentru a evalua proprietățile mecanice locale corelate cu topografie ale tuturor probelor.
- Studii corelate de topografie și forte de adeziune localizate pentru toate probele.

Monitorizarea grosimii depunerilor MAPLE a fost realizată folosind măsurători de elipsometrie, care au precedat măsurătorile mecanice realizate pentru fiecare probă. Grosimile filmelor depuse au variat între 14 și 33 nm. Forțele de aderență și testele de nano-indentare au fost efectuate folosind un microscop de forță atomică (AFM) după ce au fost prelevate imagini topografice. Pentru toate probele, forțele de nano-indentare înregistrate se mențin în intervalul 50±5 nN arătând o duritate a depunerilor similară cu a substratului, datorită grosimii mici a filmului. Forma generală a curbilor înregistrate indică că filmele depuse nu se rup în timpul indentării, având un caracter elastic. Din datele înregistrate s-au putut trage următoarele concluzii: adăugarea de fază ceramică în acoperire duce la o scădere a forțelor de adeziune pe suprafață; adăugarea de TiO₂ în compoziție produce forțele de adeziune similare cu cele înregistrate pentru substrat; cele mai mari forte au fost înregistrate pentru chitosan.

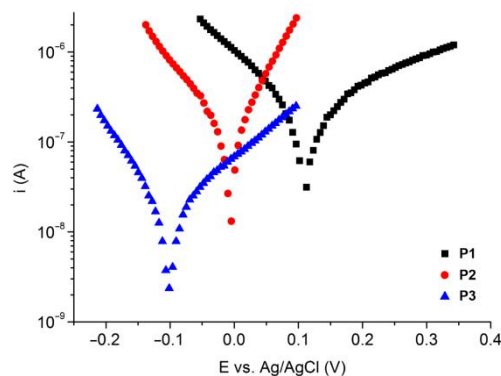


Pachetul 3) Monitorizarea comportamentului aliajelor TiTaZrAg acoperite pe termen scurt și mediu a continut urmatoarele activitati:

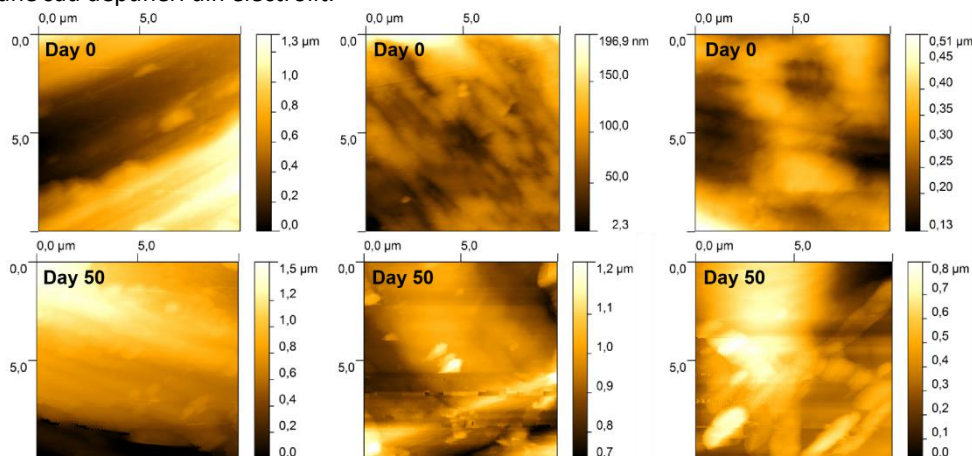
- Teste electrochimice în diferite condiții experimentale (pH, temperatură, NaCl 3,5%), pentru probele obtinute

- Măsurători (EC-AFM) pentru a observa în timp real procesele de coroziune/produții de coroziune care au loc/apar pe cele trei tipuri de suprafețe ale aliajelor;

Determinările electrochimice pentru estimarea vitezei de coroziune și a stabilității probelor au fost efectuate cu un potențostat PGSTAT100N (Metrohm Autolab) în NaCl 3.5% la pH 5 și temperatura de 30 °C folosind celule cu trei electrozi care constau din probe utilizate ca electrozi de lucru, Ag/AgCl ca referință și o placuta de Pt ca contraelectrod. Monitorizarea coroziunii (grafice Tafel) a fost efectuată la ± 200 mV față de OCP timp de 50 de zile de imersie. Datele înregistrate arată o bună stabilitate a probelor și o rezistență mare la coroziune.

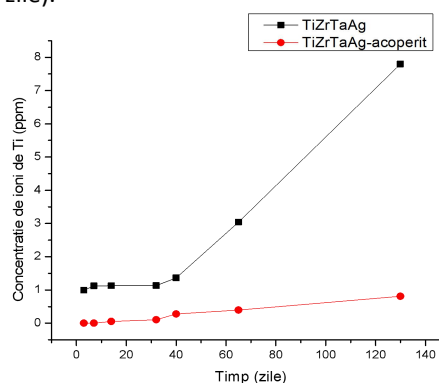


Topografia probelor a fost investigată prin tehnica EC-AFM în modul contact atât înainte cât și după 50 de zile de imersare în soluție NaCl 3,5%. Imaginile obținute au arătat o stabilitate bună a probelor analizate, dar și o tendință a fazelor ceramice de a deveni puncte de nucleație pentru produse de coroziune sau depuneri din electrolit.



- Monitorizarea ICP-MS în timpul eliberării ionilor atât din aliajul gol, cât și din aliajele acoperite; Au fost supuse analizei ICP-MS, probe de aliaj TiZrTaAg neacoperit și acoperit cu Ch-BG-GO, introduse în soluție de fluid fiziologic simulat. Metalele de interes au fost: Ti, Zr, Ta, Ag. S-a observat că prezenta

acoperirii imbunatateste rezistenta la eliberarea de ioni, ionii de Zr nemaifiind detectati de-a lungul perioadei de timp testate (130 zile).

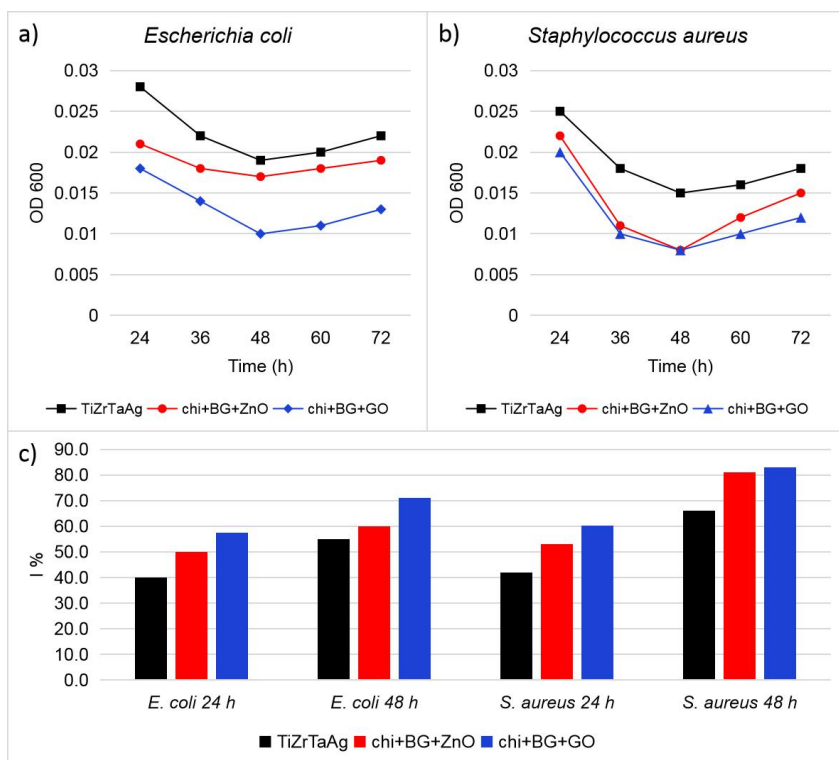


A treia etapa a proiectului PED 605/2022- Depunerea MAPLE a unor nano-acoperiri active pentru aplicatii multifunctionale ale aliajului TiTaZrAg a cuprins Evaluari biologice si multifunctionale ale depunerilor prin mai multe pachete de activitati si anume: Act 3.1 - Evaluarea bioactivitatii probelor prin teste in vitro, Act 3.2 - Teste de viabilitate celulara cu osteosarcoma MG-63 atasata pe depuneri, Act 3.3 - Compararea performantei probelor bio-activate cu aliajul neacoperit, Act 3.4 - Studii de encapsulare si eliberare a cephalosporinei pentru dezvoltarea activitatilor antibacteriene si osteoinductive, Act 3.5 - Propunere de legi de cinetica pentru probele obtinute bazate pe investigarea amanuntita a proceselor de adsorbție si eliberare de ioni, Act 3.6 - Evaluarea eficientei antibacteriene pentru probele obtinute, Act 3.7 - Teste de conductivitate termica in prezenta si absenta de oxid de grafena, Act 3.8 - Evaluare electrochimica in NaCl 3.5% pe diferite perioade de timp in autoclave, Act 3.9 - Evaluarea rezistentei acoperirilor la temperaturi inalte, Act 3.10 - Teste de anduranta efectuate in conditii ambientale extreme (temperatura inalta, umiditate ridicata, salinitate crescuta) pe perioade lungi de timp pentru evaluarea coroziunii probelor, Act 3.11 - Diseminare rezultate. Webinar. Workshop.

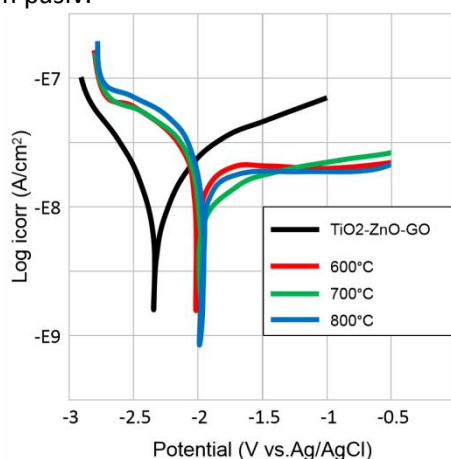
Au fost depuse noi acoperiri prin MAPLE care au fost caracterizate din punct de vedere biologic si electrochimic dupa ce au fost supuse la temperaturi inalte, cuprinse intre 300 si 800 °C.

Doi agenti patogeni comuni implicați în infectiile legate de implant, *Escherichia coli* (bacterie Gram-negativă) și *Staphylococcus aureus* (un coc Gram-pozitiv), au fost utilizați pentru a testa efectul antibacterian al probelor. Au fost utilizate două tulpini standardizate, și anume *S. aureus* ATCC 25923 și *E. coli* ATCC 25922 (American Type Culture Collection).

Pentru fiecare probă, s-a constatat că OD600 scade constant în primele 24 până la 48 de ore înainte de a crește treptat în următoarele 24 de ore. Toate materialele au avut activitate antibacteriană (Figura 9c), dar cea mai mare a fost prezentată de proba care conține GO. După 48 de ore de incubare, activitatea antibacteriană a tuturor materialelor a atins apogeul. La 48 de ore, acoperirea cu ZnO și biosticlă a oprit în mod eficient creșterea bacteriilor *S. aureus* și *E. coli* cu 79%, respectiv 66%. Proba care conține particule de biosticlă și GO a prezentat cel mai înalt nivel de activitate antibacteriană dintre toate materialele, și anume 83% împotriva *S. aureus* și 71% împotriva *E. coli*.

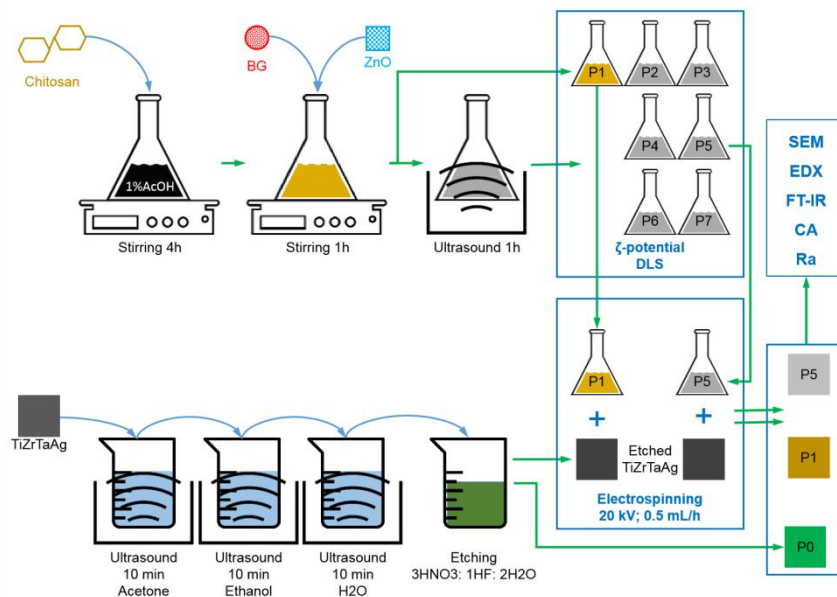


Din punct de vedere electrochimic, toate probele manifesta o rezistenta buna la coroziune care creste odata cu cresterea temperaturii de calcinare. IFigura urmatoare prezintă curbele de polarizare potențiodinamică ale aliajului de titan în diferite stări de calcinare, într-o soluție de 3,5% NaCl. Curbele de polarizare catodică nu prezintă diferențe semnificative, indicând un răspuns catodic similar în toate probele. În regiunea anodică, toate curbele de polarizare intră într-o zonă extinsă de pasivare, caracteristică unui comportament de pasivare spontană, sugerând formarea unui film pasiv.

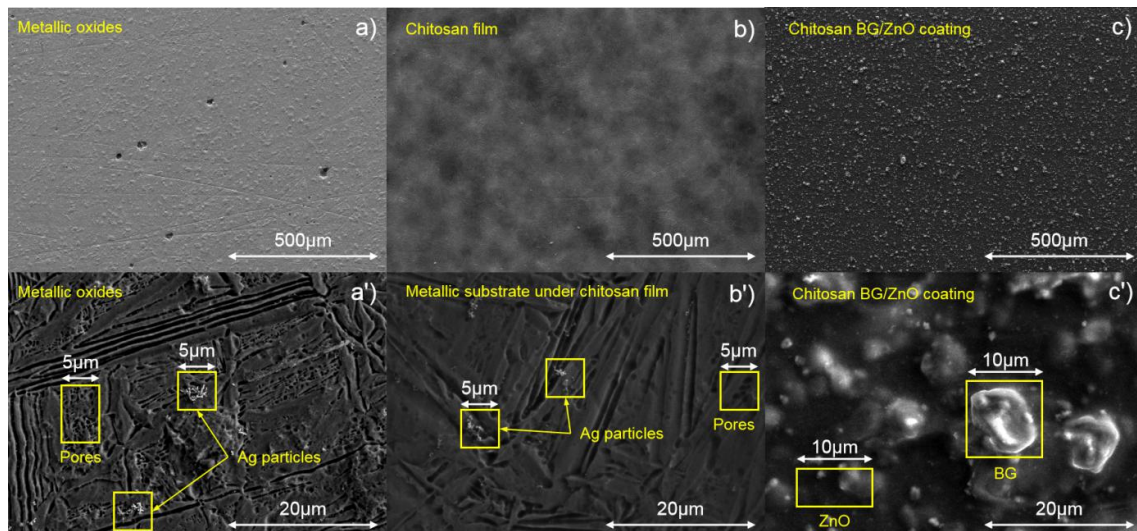


ENGLISH

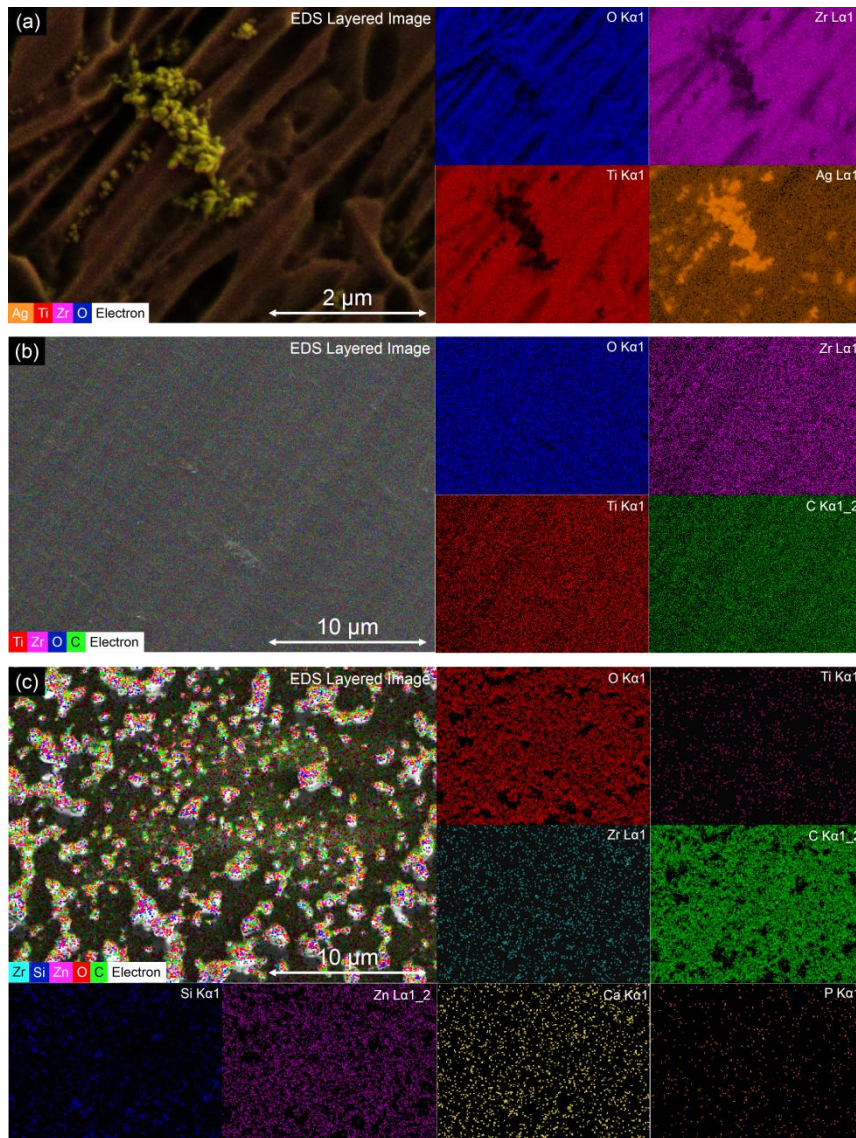
The first stage of the PED 605/2022 project - MAPLE deposition of active nano-coatings for multifunctional applications of the TiTaZrAg alloy included three packages of activities. In the first activity, new multifunctional formulations based on chitosan (Ch) and bioglass (BG) were obtained through Matrix Assisted Pulsed Laser Evaporation (MAPLE). MAPLE deposits are compatible with different types of substrates: metals, ceramics, polymers and semiconductors. In this study, the deposition was carried out on a 73Ti-20Zr-5Ta-2Ag support. The important parameter that characterizes a suspension is the Zeta potential (ζ). The ζ potential determines (i) the stability of the particle in suspension, (ii) the direction of movement (cathodic or anodic deposition), (iii) the mobility of the particle and (iv) the film density. A low ζ potential (in terms of absolute value) leads to particle agglomeration and system instability, while too high a ζ potential does not allow particles to deposit on the substrate. To make the suspension used for deposition, several samples containing Ch, BG and ZnO were made in various mass ratios, which were later characterized.



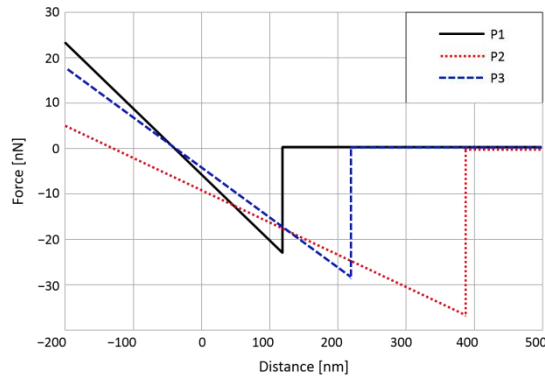
In the second activity, the MAPLE deposition technique is presented as a method for producing uniform films, composed of species with different molecular weights, with unique morphologies using the advantages of vacuum deposition. The process of deposition of polymeric films by MAPLE involves the absorption of light with a certain wavelength produced by a laser by a diluted and frozen mixture of polymer (substance of interest) with a concentration of less than 5% and relatively volatile solvent (matrix), so that the substance of interest is protected by a large amount of solvent. During the deposition process, ideally, most of the laser energy should be absorbed by the solvent molecules, thus minimizing or completely avoiding the photochemical degradation of the polymer. Deposition tests were carried out using this method on the 73Ti-20Zr-5Ta-2Ag alloy using discs of 2 cm diameter and 1 mm thickness. The deposition was optimized depending on the laser fluence and the pressure inside the working chamber. The best combination was found for 0.5 J/cm² and 1 Pa. A series of 25,000 laser pulses was applied using a KrF laser, with $\lambda=248\text{nm}$. In the third activity, the characterization of the substrates obtained through surface analysis coupled with compositional techniques was carried out: SEM and EDX, FT-IR, contact angle, roughness measurements, the data obtained being in good agreement with the proposed objectives.



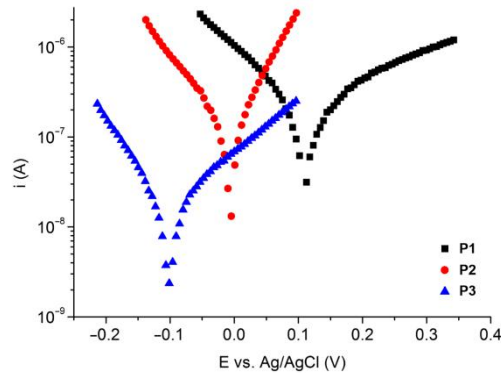
The second stage of the PED 605/2022 project - MAPLE deposition of active nano-coatings for multifunctional applications of the TiTaZrAg alloy included three packages of activities, namely: 1) Development of multifunctional TiO₂-ZnO-GO/Ch nanocoatings on TiTaZrAg substrates through MAPLES; 2) Evaluation of mechanical properties by comparing three classes of alloys: TiTaZrAg, TiTaZrAg/TiO₂- ZnO-BG/Ch and TiTaZrAg/TiO₂- ZnO-GO/Ch; 3) Monitoring the behavior of coated TiTaZrAg alloys in the short and medium term. In package 1) Development of multifunctional TiO₂-ZnO-GO/Ch nanocoatings on TiTaZrAg substrates through MAPLE, the following activities were included: - Design and preparation of a new multifunctional nanocomposite formulation based on chitosan (Ch), graphene oxide (GO), titanium (TiO₂) and zinc oxide nanoparticles (ZnO); Within this activity, continuing with the results from the previous stage, where coatings based on Chi and BG with various additions of ZnO were obtained and analyzed, a series of coatings were obtained and analyzed in which TiO₂ nanoparticles were introduced and reduced graphene oxide. The stability of the obtained colloidal suspensions was analyzed and evaluated by means of ζ potential measurements, which allowed the choice of the optimal combinations of elements from the suspensions and their quantity required for MAPLE deposition. - Determining the optimal deposition parameters to generate homogeneous and well-attached coatings; Fabrication/deposition of multifunctional TiO₂-ZnO-GO/Ch coatings on TiTaZrAg substrates by MAPLE; Using the information related to the suspensions from the previous activity, the best suspensions were selected for the MAPLE deposition on the 73Ti-20Zr-5Ta-2Ag substrate. Several working parameters were varied, the ideal combination being the following: - pressure in the deposition chamber: 10⁻⁶ mbar; - target working distance - substrate: 3 cm; - LASER wavelength at the exit from the OPO system: 2700 nm; - LASER frequency 10 Hz; - LASER energy 28 mJ/pulse; - number of LASER pulses: 35000; - LASER spot area on the target: 0.9 mm²; - Evaluation of the functionality of the newly developed TiO₂-ZnO-GO/Ch coatings by evaluating their structural, morphological and compositional properties involving different characterization methods. Within this activity, the composite films deposited on 73Ti-20Zr-5Ta-2Ag by the MAPLE technique were structurally, morphologically and compositionally evaluated by a series of techniques: Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), scanning electron microscopy (SEM) coupled with energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX), Raman spectroscopy. The tests showed that the deposits are uniform, homogeneous and contain all the elements from the deposited suspensions, proving the reliability and versatility of the MAPLE technique.



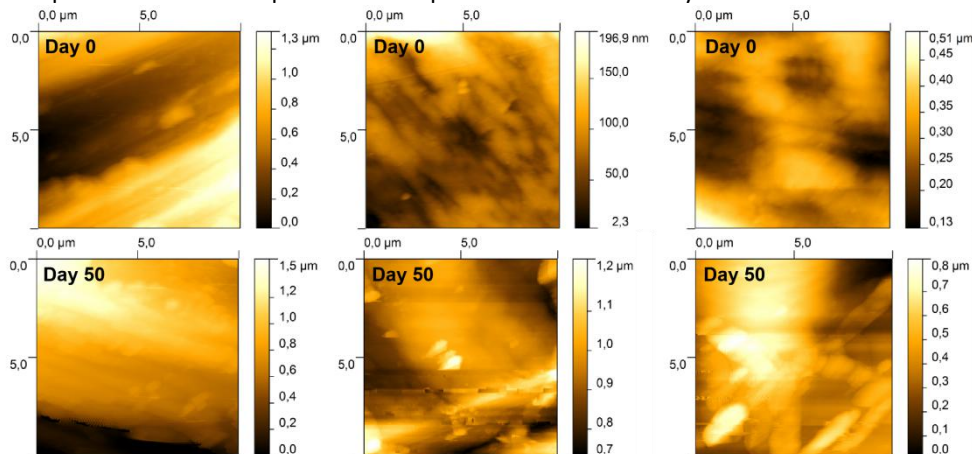
In package 2) Evaluation of mechanical properties by comparing three classes of alloys: TiTaZrAg, TiTaZrAg/TiO₂-ZnO-BG/Ch and TiTaZrAg/TiO₂-ZnO-GO/Ch, the following activities were included: - Macro/micro scale hardness, bending and modulus of elasticity tests to assess the overall mechanical behavior of all three alloy classes. - Nano-indentation and nano-scratch tests to evaluate topography-correlated local mechanical properties of all samples. - Correlated studies of topography and localized adhesion forces for all samples. Monitoring the thickness of the MAPLE deposits was performed using ellipsometry measurements, which preceded the mechanical measurements performed for each sample. The thicknesses of the deposited films varied between 14 and 33 nm. Adhesion forces and nano-indentation tests were performed using an atomic force microscope (AFM) after topographic images were taken. For all samples, the recorded nano-indentation forces are maintained in the range of 50±5 nN, showing a hardness of the deposits similar to that of the substrate, due to the small thickness of the film. The general shape of the recorded curves indicates that the deposited films do not break during identification, having an elastic character. The following conclusions could be drawn from the recorded data: the addition of the ceramic phase in the coating leads to a decrease in the adhesion forces on the surface; the addition of TiO₂ in the composition produces adhesion forces similar to those recorded for the substrate; the highest forces were recorded for chitosan.



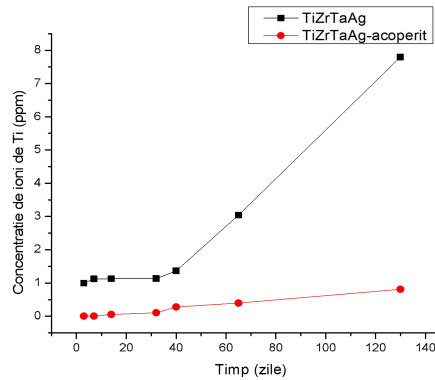
Package 3) Monitoring the behavior of coated TiTaZrAg alloys in the short and medium term included the following activities: - Electrochemical tests in different experimental conditions (pH, temperature, NaCl 3.5%), for the obtained samples - Measurements (EC-AFM) to observe in real time the corrosion processes/corrosion products that take place/appear on the three types of alloy surfaces; The electrochemical determinations to estimate the corrosion rate and stability of the samples were performed with a PGSTAT100N potentiostat (Metrohm Autolab) in NaCl 3.5% at pH 5 and temperature 30 °C using three-electrode cells consisting of samples used as working electrodes, Ag/AgCl as reference and a Pt plate as counter electrode. Corrosion monitoring (Tafel plots) was performed at ± 200 mV vs. OCP for 50 days of immersion. The recorded data show a good stability of the samples and a high resistance to corrosion.



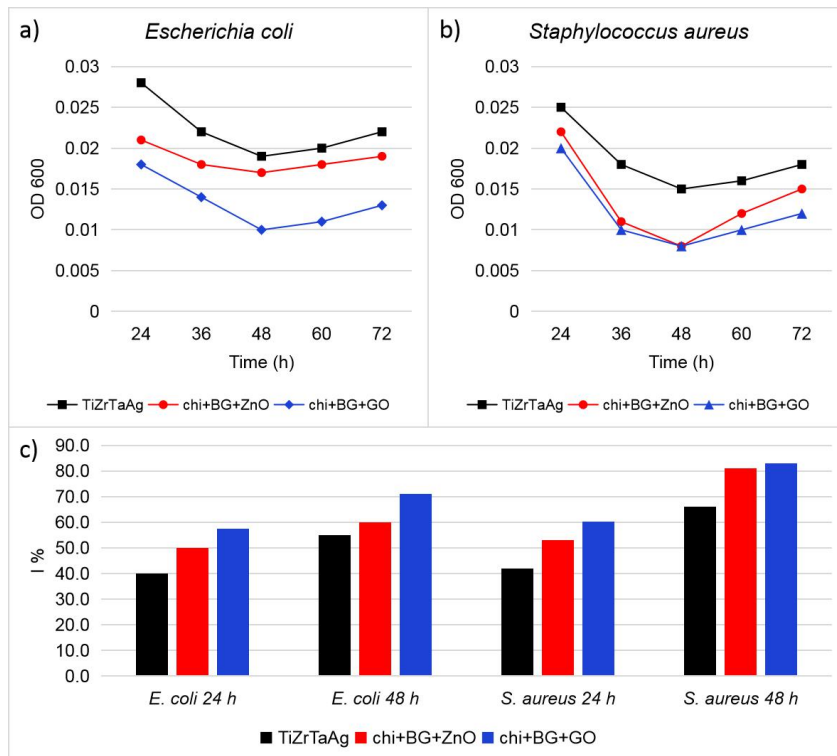
The topography of the samples was investigated by the EC-AFM technique in contact mode both before and after 50 days of immersion in 3.5% NaCl solution. The images obtained showed a good stability of the analyzed samples, but also a tendency of the deposited ceramic phases to become nucleation points for corrosion products or deposits from the electrolyte.



- ICP-MS monitoring during ion release from both bare alloy and coated alloys; Samples of TiZrTaAg alloy uncoated and coated with Ch-BG-GO, introduced into simulated physiological fluid solution, were subjected to ICP-MS analysis. The metals of interest were: Ti, Zr, Ta, Ag. It was observed that the presence of the coating improves the resistance to the release of ions, Zr ions no longer being detected throughout the tested time period (130 days).



The third stage of the PED 605/2022 project - MAPLE deposition of some active nano-coatings for multifunctional applications of the TiTaZrAg alloy included biological and multifunctional evaluations of the depositions through several activity packages, namely: Act 3.1 - Evaluation of the bioactivity of the samples through tests in vitro, Act 3.2 - Cell viability tests with osteosarcoma MG-63 attached to deposits, Act 3.3 - Comparison of the performance of bio-activated samples with the uncoated alloy, Act 3.4 - Encapsulation and release studies of cephalosporin for the development of antibacterial and osteoinductive activities, Act 3.5 - Proposal of kinetic laws for the samples obtained based on the detailed investigation of the processes of adsorption and release of ions, Act 3.6 - Evaluation of the antibacterial efficiency for the samples obtained, Act 3.7 - Thermal conductivity tests in the presence and absence of graphene oxide, Act 3.8 - Electrochemical evaluation in NaCl 3.5% over different periods of time in autoclaves, Act 3.9 - Evaluation of the resistance of coatings at high temperatures, Act 3.10 - Endurance tests performed in extreme environmental conditions (high temperature, high humidity, increased salinity) over long periods of time for corrosion assessment of samples, Act 3.11 - Dissemination of results. Webinar. Workshop. New MAPLE coatings were deposited, which were characterized from a biological and electrochemical point of view after being subjected to high temperatures, between 300 and 800 °C. Two common pathogens involved in implant-related infections, *Escherichia coli* (Gram-negative bacteria) and *Staphylococcus aureus* (a Gram-positive coccus), were used to test the antibacterial effect of the samples. Two standardized strains were used, namely *S. aureus* ATCC 25923 and *E. coli* ATCC 25922 (American Type Culture Collection). For each sample, the OD600 was found to decrease steadily over the first 24 to 48 hours before gradually increasing over the next 24 hours. All materials had antibacterial activity (Figure 9c), but the highest was shown by the sample containing GO. After 48 hours of incubation, the antibacterial activity of all materials peaked. At 48 hours, ZnO and bioglass coating effectively stopped the growth of *S. aureus* and *E. coli* bacteria by 79% and 66%, respectively. The sample containing bioglass particles and GO showed the highest level of antibacterial activity among all materials, namely 83% against *S. aureus* and 71% against *E. coli*.



From an electrochemical point of view, all the samples show a good resistance to corrosion that increases with the increase of the calcination temperature. The following figure shows the potentiodynamic polarization curves of the titanium alloy in different states of calcination, in a 3.5% NaCl solution. The cathodic bias curves show no significant differences, indicating a similar cathodic response in all samples. In the anodic region, all polarization curves enter an extended passivation zone, characteristic of a spontaneous passivation behavior, suggesting the formation of a passive film.

