

ZrO₂ vrstvy pro bioaplikace

ZrO₂ coatings for bioapplication

Fojt J.¹⁾, Joska L.¹⁾, Cvrček L.²⁾, Březina V.³⁾

¹⁾ Ústav kovových materiálů a korozního inženýrství, VŠCHT Praha

²⁾ Fakulta elektrotechnická, ČVUT Praha

³⁾ Lékařská fakulta, MU Brno

E-mail: fojtj@vscht.cz

Pro odstínění povrchu potenciálně škodlivých kovových biomateriálů (například kobaltové slitiny) lze s úspěchem využít jejich povlakování inertní vrstvou. Biologicky bezproblémovým materiálem je oxid zirkoničitý, který lze na povrch materiálu deponovat v tenkých vrstvách. V práci byl studován vliv ZrO₂ povlaku z hlediska jeho bariérových vlastností na různě upravených površích a z hlediska bioaktivity. Experimenty probíhaly ve fyziologickém roztoku o dvou úrovních pH a ve fyziologickém roztoku s přidávkou fluoridových iontů. Složení povlaků bylo hodnoceno metodou XPS, interakce s prostředím pak elektrochemickou impedanční spektroskopií a potenciodynamickými křivkami. Biologické testy byly realizovány s buněčnou linií MG 63. Elektrochemická měření ukázala na dobré bariérové vlastnosti povlaku na leštěných i tryskaných vzorcích v prostředí fyziologického roztoku. V přítomnosti fluoridových iontů se již negativně projevila porozita vrstev. U tryskaného vzorku byl bariérový efekt minimální. Leštěný vzorek vykazoval výrazně lepší vlastnosti. Z hlediska buněčné interakce se vzorky chovaly srovnatelně s titanem.

To shield the surface of potentially harmful metallic biomaterials (e.g. cobalt compounds), application of an inert coating is very successful. Zircon dioxide, which can be deposited on the surface in thin layers is a biologically inert material. The paper studies the impact of the ZrO₂ coating in terms of its barrier properties on various surfaces and in terms of bioactivity. The experiments were carried out in physiological solution with two levels of pH and in physiological solution with the addition of fluoride ions. The composition of coatings was assessed by the XPS method, the interaction with environment was studied using the electrochemical impedance spectroscopy and potentiodynamic curves. Biological tests were performed with MG 63 cell line. Electrochemical measurements indicated good barrier properties of the coating on polished and blasted specimens in the physiological solution environment. Porosity of layers has already shown negative impacts in the presence of fluoride ions. The barrier effect was minimal on the blasted specimen. The polished specimen showed much better properties. The specimens were comparable with titanium in terms of cell interaction.

ÚVOD

Kovy a jejich slitiny jsou hojně využívány v humánní medicíně, a to zejména v oblasti implantologie. Mezi dlouhou praxí ověřené materiály patří zejména ocel AISI 316L, slitina CoCrMo a Ti–6Al–4V. Z těchto slitin jsou vyráběny například náhrady velkých kloubů, dentální implantáty a fixátory zlomenin. Přestože se jedná o klinicky prověřené materiály, může u nich docházet k negativní imunologické reakci pacientů. Doba do projevu alergické reakce může být v řádu let a může se projevit i u pacientů, u kterých nebyla kontaktní metodou žádná alergie zjištěna. Příkladem může být negativní reakce na kobalt, která se projevila rok po implantaci kolenního kloubu ze slitiny CoCrMo [1]. Silná alergická reakce na nikl a chrom v řádu dní se projevila u pacienta po operaci zlomeniny čelisti ocelovými fixátory [2]. Přestože je titan považován za bezproblémový bioinertní materiál, i zde existují případy alergických reakcí [3]. Z tohoto důvodu je nutné výzkum směřovat nejen k vývoji nových materiálů, ale i k zlepšení povrchu slitin stávajících. Možným řešením eliminujícím negativní imunitní reakci

je stínění základního materiálu inertní vrstvou. V praxi se využívají DLC vrstvy [4-6], i když hlavním účelem aplikací je zlepšení tribologických vlastností [7-9]. Další možností je použití vrstev na bázi keramiky, např. ZrO₂. Zirkoniová keramika je v medicíně běžně využívána a dosud nebyly zveřejněny žádné negativní imunologické studie. Vrstvy se vyznačují dobrými mechanickými vlastnostmi a bioinertností [10-12]. Povlaky lze dále upravovat hydroxyapatitem nebo chemicko-tepelně bioaktivovat [13-16].

Cílem práce bylo popsat chování vrstev oxidu zirkoničitého připravených na komerčně čistém titanu z hlediska korozní odolnosti, respektive bariérového chování, a biologického chování.

EXPERIMENT

Pro měření byly použity ploché vzorky průměru 16 mm a tloušťky 3 mm vyrobené z komerčně čistého (Ti grade 2). Povrch byl upraven na dvě úrovně drsnosti - leštěný (dále označován „L“, $R_a = 0,05 \pm 0,03 \mu\text{m}$) a trys-

kaný korundem s následným očištěním leptáním (dále označován „120“, $R_a = 0,47 \pm 0,06 \mu\text{m}$). Tento povrch odpovídá jedné z možných úprav povrchu dentálních implantátů.

Povlaky Ti/Zr/ZrO₂ byly připraveny metodou CVD, kdy zirkoniový terč byl odprašován v atmosféře obsahující kyslík. Tloušťka vrstev byla určována metodou kalotest, adheze k povlakovanému substrátu byla měřena metodou scratch test (CSEM Revetest) a dále hodnocena na základě Mercedes testu (Rockwell HRC, hodnotící stupnice 1 až 6).

Elektrochemická impedanční měření byla realizována standardním způsobem po šestnáctihodinové stabilizaci samovolného korozního potenciálu (měření při samovolném korozním potenciálu E_{kor} , frekvenční rozmezí 60 kHz - 1 mHz, 7 bodů na dekádu, excitační AC signál 10 mV) za pomoci potenciostatu Reference 600 (Gamry). Impedanční spektra byla vyhodnocena za pomoci ekvivalentních obvodů na Obr. 1. V obvodech je použit symbol R pro odpor a CPE pro prvek s konstantní fází, který nahrazuje kondenzátor. Impedance členu s konstantní fází je definována jako $Z = [C \cdot (j\omega)^\alpha]^{-1}$, kde $\alpha \in \langle 0;1 \rangle$, přičemž $\alpha=1$ odpovídá čisté kapacitanci a $\alpha=0$ rezistanci [17-20]. Náhradní schéma na Obr. 1a popisuje vrstevnatou strukturu, člen CPE1 a R1 odpovídá kapacitanci, resp. odporu vnější vrstvy. Obvod na Obr. 1b a Obr. 1c je používán pro vyhodnocování impedančních spekter porézních povrchů. R1 a CPE1 popisuje odpor pórového roztoku, respektive kapacitanci vnějšího povrchu. R2 a CPE2 odpovídá, stejně jako v předchozím schématu, odporu přenosu náboje (koroznímu ději) a kapacitanci dvojvrstvy. Člen R3-CPE3 zohledňuje geometrii povrchu [21-25] a ve spektrech prokládá vysokofrekvenční část.

Po změření impedančního spektra byla naměřena potenciodynamická křivka ($-0,05 \text{ V}/E_{\text{kor}}$ až $0,85 \text{ V}/\text{ACLE}$, 1 mV s^{-1}). Veškerá potenciálová data jsou v textu vztažena k použité referenční chloridostříbrné (koncentrace chloridových iontů 3 mol l^{-1}) elektrodě. Expozičním prostředím byl provzdušněný fyziologický roztok ($9 \text{ g l}^{-1} \text{ NaCl}$), dále stejný roztok s pH upraveným na hodnotu 4,2 a fyziologický roztok s přídavkem 2000 ppm fluo-

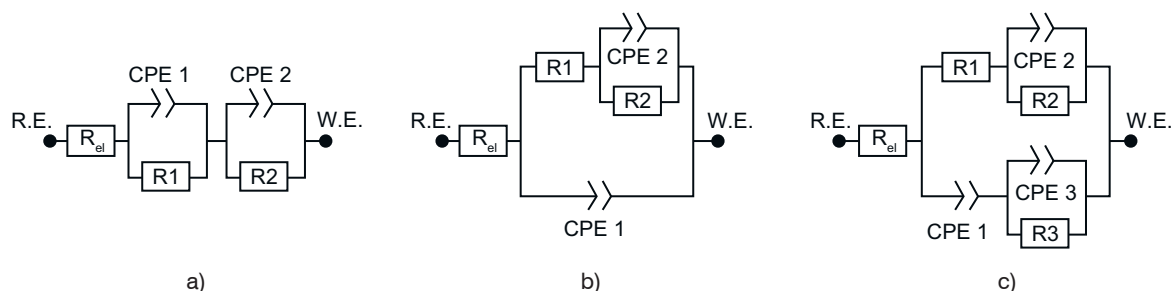
ridových iontů. Vzorky byly před expozicí sterilizovány ($120^\circ\text{C}/20 \text{ minut}$), měření probíhala v PTFE celách při teplotě 37°C .

XPS spektra byla měřena na spektrometru Esca Probe P (Omicron) s excitačním monochromatickým AlK _{α} ($E = 1486,6 \text{ eV}$) zdrojem. Vazebné energie byly korigovány na C 1s pík kontaminačního uhlíku (285 eV).

Vzorky studovaných materiálů povlakovaných ZrO₂ vrstvou na zirkoniové adhezni mezivrstvě byly před biologickými testy sterilizovány. K testům kolonizace povrchu byla použita buněčná linie MG 63 (původ z lidského osteosarkomu), kultivovaná v MEM médiu s přídavkem 5% bovinního fetálního séra. Při testu kolonizace, kdy jsou buňky přímo inokulovány na povrch studovaného materiálu, byla hodnocena plocha obsazená buňkami po 72 hodinách kultivace. Po skončení expozice byly buňky na povrchu materiálu fixovány a barveny Giemsovým barvivem $10\times$ ředěným destilovanou vodou. Plocha, kterou buňky zaujímaly na povrchu vzorku, byla hodnocena minimálně na deseti obrazových polích. Jako kontrola byla použita plocha stejně kultivovaných buněk na komerčně čistém titanu (Ti grade 2).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Pro měření byly použity vzorky s vrstvou oxidu zirkoničitého o tloušťce $0,92 \text{ mm}$. Tloušťka zirkoniové mezivrstvy byla 200 nm . Vzhledem k tomu, že vrstva má plnit především roli bariéry, nebylo třeba její tloušťku zvyšovat. Aplikace tlustších vrstev je běžná například u tribologických DLC povlaků [8, 26-28]. V námi studovaném případě vykazovaly vrstvy dobré mechanické vlastnosti. Dosažené kritické zatížení při scratch testu bylo 25 N (kritické zatížení, při kterém dojde ke ztrátě adheze povlaku), výsledek Mercedes testu byl hodnocen nejlepším stupněm 1. Složení povrchu vzorků určené XPS spektrometrií je uvedeno v Tab. 1. Z hlediska chemického složení se vrstvy připravené na obou površích neliší, proto byl analyzován pouze leštěný vzorek. Analýza dílčího spektra Zr 3d prokázala přítomnost zirkonia ve formě ZrO₂ a ZrO respektive v jeho hydratované formě Zr(OH)₂ (viz Obr. 2) [29].



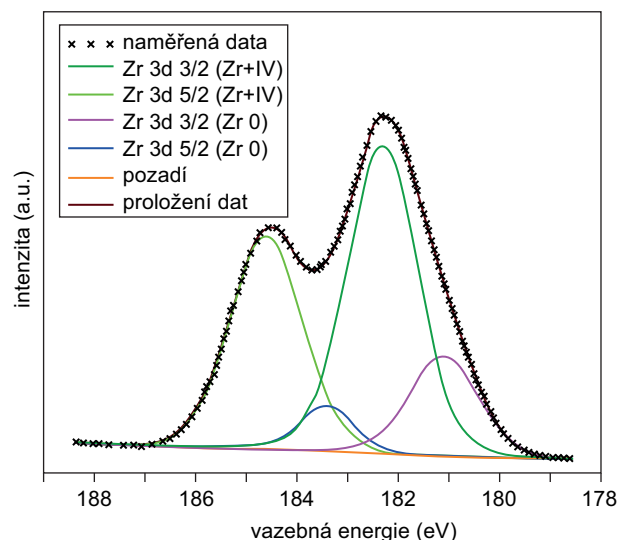
Obr. 1. Ekvivalentní obvody pro vyhodnocení impedančních spekter materiálů
Fig. 1. EIS equivalent circuits

Z poměru ploch jednotlivých píků Zr 3d bylo určeno, že je vrstva tvořena z 80 % ZrO₂. Detekovaný uhlík byl kontaminační.

Korozní měření byla realizována ve fyziologickém roztoku, který je nejjednodušším modelem tělního prostředí používaný při studiu korozní odolnosti biomateriálů. Jedinou jeho agresivní složkou jsou chloridové ionty. Materiál tak není ovlivněn přítomností dalších látek, které by mohly ztěžovat interpretaci korozního děje (např. precipitace fosfátů, biologicky aktivní sloučeniny...), jako je tomu u složitějších modelů tělních tekutin. Impedanční spektra jednotlivých vzorků ve fyziologickém roztoku jsou uvedena na Obr. 3a. Spektrum leštěného vzorku bylo vyhodnoceno pomocí

Tab. 1. Složení povrchu vzorku zjištěné metodou XPS / *Surface composition estimated by XPS*

Prvek	Zr	O	C
(% at.)	21	44	35



Obr. 2. Analýza Zr 3d piku

Fig. 2. Zr 3d peak analysis

ekvivalentního obvodu na Obr. 1a, který odpovídá vrstevnaté struktuře [30, 31]. V případě tryskaného povrchu bylo k regresi dat použito funkce vytvořené na základě obvodu na Obr. 1c. Toto schéma popisuje porézní vrstvu a obsahuje RC člen, který zohledňuje vysokou hrubost povrchu. U obou úprav povrchu byly naměřeny vysoké hodnoty odporu přenosu náboje (R2) (viz Tab. 2), které svědčí o nízké korozní rychlosti. Nicméně vyhodnocení naměřených dat je v tomto případě značně problematické. Vzhledem k silně kapacitnímu charakteru obou vrstev dochází ke vzniku velkých chyb při výpočtu hodnot impedancí v oblasti nízkých frekvencí, kde je závislost lineární. Vypočtené hodnoty jsou tedy spíše orientační, nicméně řádově odpovídající. Na Obr. 3b jsou uvedena impedanční spektra ve fyziologickém roztoku o pH 4,2. Toto prostředí simuluje vznik zánětu. Jak z průběhu impedančních dat, tak z hodnot jednotlivých prvků ekvivalentního obvodu je patrné, že snížení pH nevedlo k významným změnám v korozním chování.

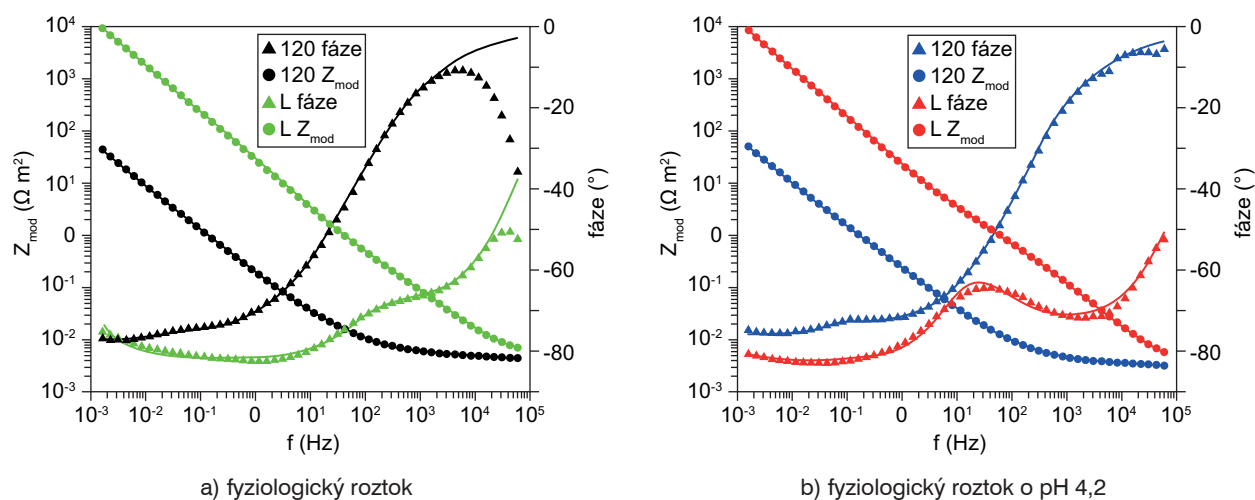
Vzhledem k možné aplikaci tohoto povlaku v oblasti dentální medicíny, kde se využívá řada preparátů s fluoridovými ionty, bylo realizováno i měření v jejich přítomnosti. Množství fluoridových iontů a pH fyziologického roztoku (neupravené) odpovídá v případě této studie běžným profylaktickým přípravkům pro péči o chrup (například zubní pasty). Nejedná se tedy z hlediska korozní agresivity o agresivní léčebné preparáty. V jejich případě je pH posunuto do kyselé oblasti a obsah fluoridů dosahuje hodnot až 15 000 ppm. Přítomnost fluoridových iontů se významně projevila u obou úprav povrchu. Spektrum tryskaného vzorku bylo vyhodnoceno ekvivalentním obvodem na Obr. 1c, tedy stejným jako v prostředí bez fluoridových iontů. Nicméně v tomto případě se již výrazně projevovat korozní děj. Je to patrné jak z poklesu hodnoty odporu přenosu náboje a odporu pórového roztoku (R1) (Tab. 2), tak z nárůstu fázového úhlu v oblasti nízkých frekvencí (Obr. 4a). Spektrum odpovídá aktivně korodujícímu kovu, překrytému inertní vrstvou. Hodnoty kapacitance vrstvy byly stejné jako v případě fyziologického roztoku. Vzhledem k nepo-

Tab. 2. Hodnoty jednotlivých prvků ekvivalentních obvodů / *Values of equivalent circuit elements*

		R1 (Ω m ²)	CPE1 (S s ^a m ⁻²)	α1	R2 (Ω m ²)	CPE2 (S s ^a m ⁻²)	α2
FR	L	0,16	6,06.10 ⁻²	0,68	5,97×10 ⁴	6,79×10 ⁻³	0,91
	120	56,9	1,19	0,87	1,67×10 ³	8,46×10 ⁻²	1
FR/4,2	L	1,45	1,49.10 ⁻²	0,77	3,01×10 ⁵	8,14×10 ⁻³	0,92
	120	21,8	0,92	0,84	1,64×10 ³	8,66×10 ⁻²	1
FR/2000 ppm F	L	446	6,16.10 ⁻³	0,93	7,07×10 ³	1,40×10 ⁻³	1
	120	0,023	1,38	0,77	1,86	0,76	0,83
	Ti	0,82	0,84	0,83	0,942	27,1	1

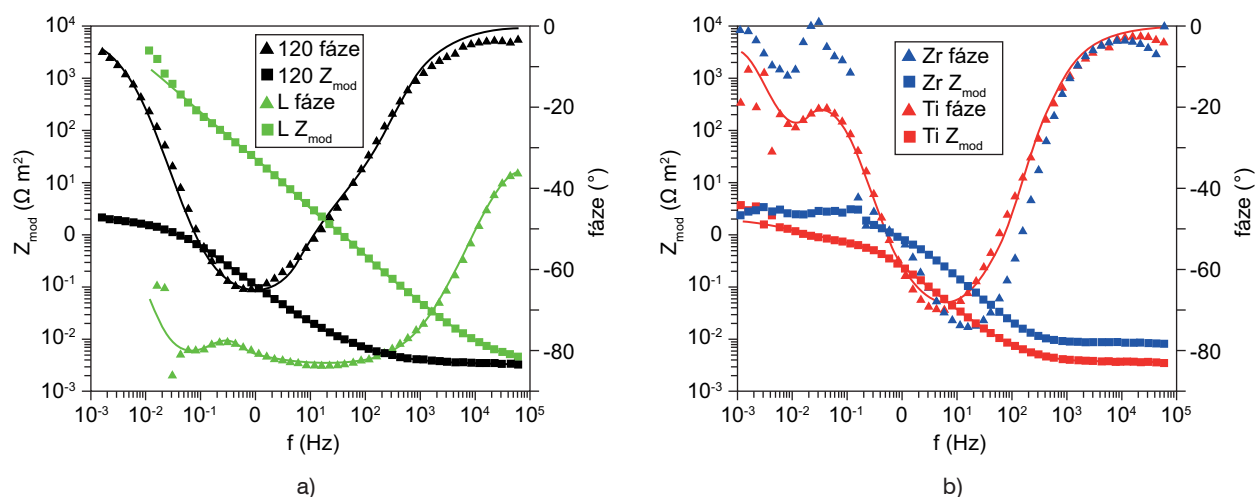
rušení vrstvy ZrO₂ lze předpokládat, že i přes zřejmou interakci prostředí se základním materiálem, respektive s mezivrstvou, bude alespoň do jisté míry plnit funkci bariéry a omezí uvolňování iontů kovu do organismu. Zásadní změna korozního mechanismu nastala u vzorku s leštěným povrchem. Zatímco při expozici ve fyziologickém roztoku vzorek vykazoval chování vrstevnaté struktury, v prostředí fluoridových iontů se již projevila mikroporozita povlaku. Spektrum bylo vyhodnoceno náhradním schématem na Obr. 1b, které popisuje odezvu porézního systému. Přestože zde již docházelo k významné interakci mezivrstvy s prostředím, odpor přenosu

náboje byl řádově vyšší než u tryskaného vzorku, i než v případě čistých kovů. Pro porovnání byla naměřena impedanční spektra čistého titanu a zirkonia (Obr. 4b). U čistých kovů došlo k významnému koroznímu napadení povrchu, spektra byla fitována pomocí ekvivalentního obvodu na Obr. 1a, tedy vrstevnatou strukturou. To je v souladu s předchozím výzkumem, kdy bylo zjištěno, že v přítomnosti fluoridových iontů dochází k precipitaci pevně lpící vrstvy korozních produktů, která významně ovlivňuje korozní chování [32]. Nízká kvalita spekter v oblasti nízkých frekvencí byla způsobena nestabilitou systému v důsledku probíhajících chemických reakcí.



Obr. 3. Impedanční spektra ZrO₂ vrstev ve fyziologickém roztoku (a) a fyziologickém roztoku o pH 4,2 (b), plná čára odpovídá proložení naměřených dat pomocí daného ekvivalentního obvodu

Fig. 3. Impedance spectra of ZrO₂ coatings in physiological solution (a) and physiological solution at pH 4.2 (b); full line = data fit

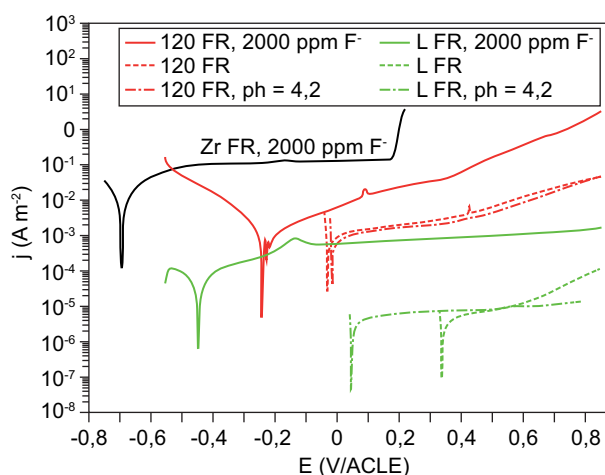


Obr. 4. Impedanční spektra ve fyziologickém roztoku s 2000 ppm F⁻ ZrO₂ vrstev (a), Ti a Zr (b), plná čára odpovídá proložení naměřených dat pomocí daného ekvivalentního obvodu

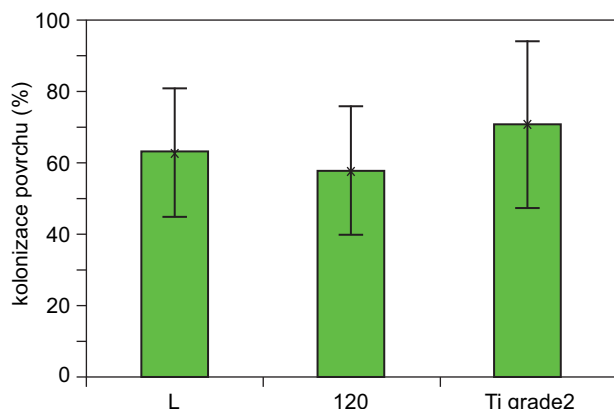
Fig. 4. Impedance spectra of ZrO₂ coating (a) and Ti and Zr (b) in physiological solution containing 2000 ppm F⁻; full line = data fit

Potenciodynamické křivky studovaných materiálů jsou uvedeny na Obr. 5. Z průběhu křivek je patrné, že v případě leštěných vzorků exponovaných ve fyziologickém roztoku byl základní materiál účinně stíněn. U tryskaných vzorků docházelo k reakci zirkoniové mezivrstvy s prostředím, to se projevilo rostoucí proudovou hustotou s narůstající mírou polarizace. Vliv fluoridových iontů se projevil nárůstem proudových hustot jak u leštěného, tak tryskaného povrchu. Proudové hustoty se ale i tak pohybovaly na řádově nižších hladinách, než u čistého zirkonia, u kterého navíc došlo při potenciálu 0,18 V/ACLE k průrazu pasivní vrstvy. Tento potenciál se pohybuje v oblasti oxidačně-redukčního potenciálu lidského těla [33].

Míra kolonizace povrchu buňkami je uvedena na Obr. 6. Z výsledků je jasné patrné, že kolonizace povrchu s vrstvou oxidu zirkoničitého byla na stejné úrovni, jako u komerčně čistého titanu. Ten je obecně uznávaným standardem biomateriálů.



Obr. 5. Potenciodynamické křivky studovaných materiálů
Fig. 5. Potentiodynamic curves of studied coatings



Obr. 6. Míra kolonizace povrchu buňkami linie MG 63
Fig. 6. Cell (MG 63) colonization rate

ZÁVĚR

V práci byly zkoumány vlastnosti ZrO₂ vrstev připravených na dvou odlišně upravených površích komerčně čistého titanu. Vrstvy vykazovaly mechanické vlastnosti splňující podmínky pro aplikaci v oblasti implantologie. Z korozního hlediska plnily bariérovou funkci. Vrstvy připravené na leštěném povrchu byly kompaktní, na vzorcích s tryskaným povrchem se již projevila jejich porozita. V prostředí obsahujícím fluoridové ionty se bariérový efekt projevil pouze u vrstev deponovaných na leštěném povrchu. Z hlediska interakce s buňkami se povlaky chovaly srovnatelně s komerčně čistým titanem.

Poděkování

Studie byla vypracována v rámci řešení grantového projektu P108-10-1782 (Grantová Agentura ČR).

LITERATURA

1. Frigerio, E., et al., Metal sensitivity in patients with orthopaedic implants: a prospective study. *Contact Dermatitis* **2011**, 64 (Copyright (C) 2012 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.), 273-279.
2. Hashitani, S., et al., Allergy to metal caused by materials used for intermaxillary fixation: Case report. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **2008**, 46 (4), 315-316.
3. Egusa, H., et al., Suspected association of an allergic reaction with titanium dental implants: A clinical report. *The Journal of Prosthetic Dentistry* **2008**, 100 (5), 344-347.
4. Manhabosco, T. M., et al., Cell response and corrosion behavior of electrodeposited diamond-like carbon films on nanostructured titanium. *Corrosion Science* **2013**, 66, 169-176.
5. Yetim, A. F., et al., Corrosion behaviour of Ti DLC deposition on prenitrided 316L stainless steel and Ti-6Al-4V alloy. *Corros. Eng., Sci. Technol.* **2011**, 46 (4), 439-444.
6. Nitta, Y., et al., Development of novel DLC film using plasma technique for medical material. *Journal of Photopolymer Science and Technology* **2010**, 23 (2), 245-250.
7. Wang, L., et al., Corrosion and tribological properties and impact fatigue behaviors of TiN- and DLC-coated stainless steels in a simulated body fluid environment. *Surface and Coatings Technology* **2010**, 205 (5), 1599-1605.
8. Azzi, M., et al., Tribocorrosion behaviour of DLC-coated 316L stainless steel. *Wear* **2009**, 267 (Pt. 2), 860-866.
9. Vitu, T., et al., Structure and tribology of biocompatible Ti-C:H coatings. *Surface and Coatings Technology* **2008**, 202 (22-23), 5790-5793.
10. Cristache, C. M., et al., Zirconia and Its Biomedical Applications. *Metal Int* **2011**, 16 (7), 18-23.
11. Hisbergues, M., et al., Zirconia: Established facts and perspectives for a biomaterial in dental implantology. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* **2009**, 88 (2), 519-29.

12. Liu, X. Y., et al., Bioactivity and cytocompatibility of zirconia (ZrO₂) films fabricated by cathodic arc deposition. *Biomaterials* **2006**, 27 (21), 3904-3911.
13. Sandhyarani, M., et al., Surface morphology, corrosion resistance and in vitro bioactivity of P containing ZrO₂ films formed on Zr by plasma electrolytic oxidation. *Journal of Alloys and Compounds* **2013**, 553, 324-332.
14. Tsutsumi, Y., et al., Cathodic alkaline treatment of zirconium to give the ability to form calcium phosphate. *Acta Biomater* **2010**, 6 (10), 4161-6.
15. Yen, S. K., et al., Characterization of electrolytic HA/ZrO₂ double layers coatings on Ti-6Al-4V implant alloy. *Materials Science and Engineering: C* **2006**, 26 (1), 65-77.
16. Uchida, M., et al., Apatite formation on zirconium metal treated with aqueous NaOH. *Biomaterials (UK)* **2002**, 23 (1), 313-317.
17. Oliveira, N. T. C.; Guastaldi, A. C., Electrochemical behavior of Ti-Mo alloys applied as biomaterial. *Corrosion Science* **2008**, 50 (4), 938-945.
18. Raman, V., et al., Electrochemical impedance spectroscopic characterization of passive film formed over beta Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr alloy. *Electrochem. Commun.* **2006**, 8 (8), 1309-1314.
19. Shukla, A. K., et al., Properties of passive film formed on CP titanium, Ti-6Al-4V and Ti-13.4Al-29Nb alloys in simulated human body conditions. *Intermetallics. Vol. 13, no. 6, pp. 631-637. June 2005* **2005**.
20. Barsoukov, E.; MacDonald, R., *Impedance Spectroscopy: Theory, Experiment, and Applications, 2nd Edition*. 2005; p 608 pp.
21. Lasia, A., Modern Aspects of Electrochemistry. In *Modeling of Impedance of Porous Electrodes* [Online] Schlesinger, M., Ed. 2009.
22. Jurczakowski, R., et al., Impedance of porous Au based electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2004**, 572 (2), 355-366.
23. Jurczakowski, R., et al., Impedance of porous gold electrodes in the presence of electroactive species. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2005**, 582 (1-2), 85-96.
24. Hitz, C.; Lasia, A., Experimental study and modeling of impedance of the her on porous Ni electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2001**, 500 (1-2), 213-222.
25. Nurk, G., et al., Electrochemical properties of diamond-like carbon electrodes prepared by the pulsed laser deposition method. *J. Solid State Electrochem.* **2003**, 7 (7), 421-434.
26. Barriga, J., et al., Tribological performance of titanium doped and pure DLC coatings combined with a synthetic bio-lubricant. *Wear* **2006**, 261 (1), 9-14.
27. Dearnaley, G.; Arps, J. H., Biomedical applications of diamond-like carbon (DLC) coatings: A review. *Surface and Coatings Technology* **2005**, 200 (7), 2518-2524.
28. Dorner, A., et al., Diamond-like carbon-coated Ti6Al4V: influence of the coating thickness on the structure and the abrasive wear resistance. *Wear* **2001**, 249 (5-6), 489-497.
29. NIST X-ray Photoelectron Spectroscopy Database, Version 4.0; <http://srdata.nist.gov/xps2>. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg: 2008.
30. Liu, C., et al., EIS comparison on corrosion performance of PVD TiN and CrN coated mild steel in 0.5 N NaCl aqueous solution. *Corrosion Science* **2001**, 43 (10), 1953-1961.
31. Liu, E.; Kwek, H. W., Electrochemical performance of diamond-like carbon thin films. *Thin Solid Films* **2008**, 516 (16), 5201-5205.
32. Joska, L.; Fojt, J., Corrosion behaviour of titanium after short-term exposure to an acidic environment containing fluoride ions. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* **2009**.
33. D.J. B., 2.27 - Corrosion in Body Fluids. In *Shreir's Corrosion*, Editor-in-Chief: Tony, J. A. R., Ed. Elsevier: Oxford, 2010; pp 1308-1322.