

[文章编号] 1671-587X(2025)06-1571-13

DOI:10.13481/j.1671-587X.20250613

新型可见光活化的钒硅共掺杂TiO₂涂层的合成及其抗菌性评价

陈 铎^{1,2}, 段佩佩³, 亢雪萍⁴, 陈诗曼^{1,2}, 何佳玥^{1,2}, 刘钰昕^{1,2}, 李跃鑫^{1,2}, 沈玉凤⁵, 周 政¹

(1. 石河子大学第一附属医院兵团口腔医院修复科, 新疆 石河子 832000; 2. 石河子大学医学院, 新疆 石河子 832000; 3. 武汉大学口腔医院修复科, 湖北 武汉 430079; 4. 西安交通大学口腔医院正畸科, 陕西 西安 710004; 5. 石河子大学第一附属医院兵团口腔医院正畸科, 新疆 石河子 832000)

[摘要] **目的:** 探讨钛表面电化学处理形成钒(V)和硅(Si)共掺杂TiO₂涂层(V-Si TiO₂)的最佳掺杂浓度, 并评估其在可见光照射下的抗菌作用, 阐明其可见光响应机制。**方法:** 将医用纯钛片采用微弧氧化后进行高温煅烧, 通过调整电解液中V和Si比例制备不同掺杂浓度的V-Si TiO₂涂层, 实验分为1V:10Si(V5Si50)组、2V:10Si(V10Si50)组和3V:10Si(V15Si50)组, 另设对照组(仅包含细胞培养基), 结合表面形态表现、离子释放、光催化能力及生物相容性等评估筛选出最佳掺杂浓度, 细胞计数试剂盒8(CCK-8)检测各组细胞增殖活性和细胞存活率。通过扫描电子显微镜(SEM)、原子力显微镜(AFM)、数字涡流涂层测厚仪、X射线衍射(XRD)、X射线光电子能谱(XPS)和紫外-可见光吸收光谱(UV-vis)对优化涂层进行表征分析比较, 实验分为PT组(空白对照)、PEO组(无元素掺杂)、V10组(V掺杂)、Si50组(Si掺杂)和V10Si50组(2V:10Si), 检测可见光下涂层材料降解亚甲基蓝(MB)的能力及活性氧(ROS)生成情况。抗菌实验选用金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)和大肠杆菌(*E. coli*), 分别对各组涂层样品进行可见光照2h和黑暗处理2h后记录各组平板菌落数, 2', 7'-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)ROS探针检测ROS水平, ROS清除实验选用最佳掺杂浓度V10Si50组。将2种细菌分为PT组、N-乙酰半胱氨酸(NAC)组、V10Si50组和NAC+V10Si50组, 可见光照射2h后记录各组平板菌落数。**结果:** 电解质溶液中V浓度0.01 mol·L⁻¹和Si浓度0.05 mol·L⁻¹为V-Si TiO₂涂层的最佳掺杂浓度。SEM观察, 与V5Si50组和V15Si50组比较, V10Si50组涂层材料表面孔径明显减小($P<0.05$), 涂层厚度明显增加($P<0.05$), 其晶体结构主要为锐钛矿型, 且可见光催化9h后V10Si50组涂层材料MB降解率明显升高($P<0.05$)。与对照组比较, 细胞培养1、2和4d时V10Si50组细胞增殖活性和细胞存活率均明显升高($P<0.05$); 细胞培养2和4d时, V5Si50组和V15Si50组细胞增殖活性和细胞存活率均明显降低($P<0.05$)。与PT、PEO和Si50组比较, 经过可见光照射2h后V10组和V10Si50组2种细菌菌落数均明显降低($P<0.05$)。与PT组和PEO组比较, 光照2h后V10Si50组2种细菌中ROS水平明显升高($P<0.05$)。与V10Si50组比较, NAC+V10Si50组2种细菌菌落数明显增加($P<0.05$)。**结论:** 筛选出合理负载化的V-Si TiO₂涂层材料(V10Si50), 其可以保持良好生物活性且在可见光照射下显著增强抗菌效果。

[关键词] 钛植入物; 抗菌性涂层; 光动力; 活性氧; 钒; 硅

[中图分类号] R783.1 **[文献标志码]** A

[收稿日期] 2025-01-12 **[录用日期]** 2025-02-17

[基金项目] 兵团科技局指导性科技计划项目(2023ZD062); 新疆维吾尔自治区卫健委“天山英才”医药卫生高层次人才培养计划中青年骨干项目(CZ001224); 兵团党委组织部兵团英才支持计划青年项目(CZ001247); 西安交通大学口腔医院陕西省牙颌疾病临床医学研究中心开放课题项目(2021YHJB10); 石河子大学自主资助支持校级科研项目(ZZZC202185)

[作者简介] 陈 铎(1999—), 男, 山西省长治市人, 在读硕士研究生, 主要从事口腔生物材料方面的研究。

[通信作者] 沈玉凤, 讲师, 主治医师(E-mail: shenyf1016@163.com);

周 政, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师(E-mail: shzuzheng0526@163.com)

©《吉林大学学报(医学版)》编辑部, 开放获取遵循CC BY-NC-ND协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

Synthesis of novel visible-light-activated vanadium and silicon co-doped TiO₂ coating and its antibacterial property evaluation

CHEN Duo^{1,2}, DUAN Peipei³, KANG Xueping⁴, CHEN Shiman^{1,2}, HE Jiayue^{1,2}, LIU Yuxin^{1,2}, LI Luoxin^{1,2}, SHEN Yufeng⁵, ZHOU Zheng¹

(1. Department of Prosthodontics, First Affiliated Hospital, Corps Stomatology Hospital, Shihezi University, Shihezi 832000, China; 2. School of Medical Sciences, Shihezi University, Shihezi 832000, China; 3. Department of Prosthodontics, Stomatology Hospital, Wuhan University, Wuhan 430079, China; 4. Department of Orthodontics, Stomatology Hospital, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China; 5. Department of Orthodontics, First Affiliated Hospital, Corps Stomatology Hospital, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

ABSTRACT **Objective:** To discuss the optimal doping concentration of vanadium (V) and silicon (Si) co-doped TiO₂ coating (V-Si TiO₂) formed on titanium surface by electrochemical treatment, to evaluate its antibacterial effect under visible light irradiation, and to clarify its visible light response mechanism. **Methods:** The medical pure titanium sheets were subjected to micro-arc oxidation followed by high-temperature calcination, and V-Si TiO₂ coatings with different doping concentrations were prepared by adjusting the ratio of V to Si in the electrolyte. The experiment was divided into 1V:10Si (V5Si50) group, 2V:10Si (V10Si50) group, and 3V:10Si (V15Si50) group; control group was set up (contains only bacterial culture medium). The optimal doping concentration was screened based on comprehensive evaluation of surface morphology, ion release, photocatalytic ability, and biocompatibility; cell counting kit-8 (CCK-8) method was used to detect the proliferation activities and the survival rates of the cells in various group. Subsequently, the optimized coating was characterized and compared by scanning electron microscope (SEM), atomic force microscopy (AFM), digital eddy current coating thickness gauge, X-ray diffraction (XRD), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), and ultraviolet-visible absorption spectroscopy (UV-vis). The experiment was divided into PT group (blank control), PEO group (no element doping), V10 group (V doping), Si50 group (Si doping), and V10Si50 group (2V : 10Si). The ability of the coating materials to degrade methylene blue (MB) and generation of reactive oxygen species (ROS) under visible light were detected. For antibacterial experiments, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E. coli*) were used. The colony counts on plates in various groups were recorded after visible light irradiation for 2 h and dark treatment for 2 h, respectively. The ROS levels were detected using 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) ROS probe. ROS scavenging experiment was performed using the optimal doping concentration V10Si50 group, and the two kinds of bacteria were divided into blank control group, N-acetylcysteine (NAC) group, V10Si50 group, and NAC+V10Si50 group. The colony counts on plates in various groups were recorded after visible light irradiation for 2 h. **Results:** The V concentration of 0.01 mol·L⁻¹ and Si concentration of 0.05 mol·L⁻¹ in the electrolyte solution were the optimal doping concentrations for the V-Si TiO₂ coating. The SEM observation results showed that compared with V5Si50 group and V15Si50 group, the surface pore size of the coating material in V10Si50 group was significantly decreased ($P < 0.05$), and the coating thickness was significantly increased ($P < 0.05$); its crystal structure was mainly anatase type, and the MB degradation rate of the coating material in V10Si50 group after 9 h of visible light catalysis was significantly increased ($P < 0.05$). Compared with control group, the cell proliferation activity and cell survival rate in V10Si50 group were significantly increased at 1, 2, and 4 d of cell culture ($P < 0.05$); at 2 and 4 d of cell culture, the cell proliferation activity and cell survival rate in V5Si50 group and V15Si50 group were significantly decreased ($P < 0.05$).

Compared with PT, PEO, and Si50 groups, the colony counts of two kinds of the bacteria in V10 group and V10Si50 group after visible light irradiation for 2 h were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with PT group and PEO group, the ROS levels in two kinds of the bacteria in V10Si50 group after 2 h of irradiation were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with V10Si50 group, the colony counts of two kinds of the bacteria in NAC+V10Si50 group were significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** A reasonably loaded V-Si TiO₂ coating material (V10Si50) was screened out, which maintained good biological activity and significantly enhanced the antibacterial effect under visible light irradiation.

KEYWORDS Titanium implant; Antibacterial coating; Photodynamic; Reactive oxygen species; Vanadium; Silicon

近年来, 种植修复已成为牙齿缺失后的重要修复方式。研究^[1-2]显示: 种植体周围炎的平均患病率为22%, 其致病因素之一是种植体周围菌斑微生物感染。传统的机械、药物和手术治疗无法完全清除基台-修复体连接处的菌斑生物膜, 光动力疗法 (photodynamic therapy, PDT) 作为种植体周围炎的非手术辅助治疗手段, 其采用光敏剂 (photosensitizers, PS) 和适当的激发源产生活性氧 (reactive oxygen species, ROS), 破坏周围的生物分子^[3-4]。随着新型光敏剂和光学技术的不断发展, 抗菌光动力疗法 (antibacterial photodynamic therapy, APDT) 已成为治疗细菌感染最具前景的方法之一^[5]。

随着钛 (titanium, Ti) 表面涂层改性技术的不断创新, 二氧化钛 (titanium dioxide, TiO₂) 因其安全无毒和优越的光化学反应性被认为是钛表面可以直接进行负载涂覆的最有应用潜力的光催化剂^[6]。TiO₂作为一种N型半导体, 当吸收的光子能量大于或等于禁带宽度时, 低能价带 (valence band, VB) 中的电子将被激发到高能导带 (conduction band, CB), 从而在VB中形成空穴^[7]。约90%的光生电子-空穴对在分离后迅速复合, 只有不到10%的分离电子或空穴能参与半导体材料的光催化反应, 因此有必要提升半导体电荷分离效率^[8]; 同时, TiO₂的光催化效率受到其可见光吸收能力的限制。由于TiO₂具有宽禁带, 其只能吸收紫外光, 无法充分利用可见光。因此, 研究的重点是通过调节TiO₂的光学响应, 使其从紫外光区域扩展到可见光区域, 从而增强其可见光催化活性。为解决这一问题, 亟待对TiO₂进行掺杂改性。DEEPA等^[9]采用等离子体电解氧化技术优化并制备出钒 (vanadium, V) 添加的TiO₂活性涂层, 结果表明活性涂层中V⁴⁺取代了TiO₂中Ti⁴⁺的位置形成缺陷, 可以在TiO₂宽带隙中形成新的杂质能级, 使

禁带宽度减小, 有效扩展光响应区域至可见光; ŠULIGOJ等^[8]采用溶胶-凝胶路线制备V₂O₅与TiO₂复合涂层, 半导体复合掺杂改性可以创建电子和空穴的捕获中心, 从而减少光生电子与空穴的复合, 提高涂层材料的光催化性能。但高剂量的V暴露在生物体中具有一定的细胞毒性和神经毒性, 造成了其在生物材料方面的应用大幅度降低, 因此需要调控其浓度同时引入一种新元素促进其生物相容性的提高^[10]。硅 (silicon, Si) 作为人体内丰富的微量元素之一, 可以与体液中的单键羟基结合, 从而触发蛋白质生长因子或形态发生蛋白的吸附和分泌, 增强钛种植体表面生物活性^[11]。ZHANG等^[12]通过微弧氧化法成功制备了含Si掺杂的钛表面微孔涂层, 其可以促进相关细胞的黏附、扩散、增殖和分化, 能够改善由于V掺杂而造成的细胞毒性作用, 提高钛植入物表面的生物活性。

本研究结合微弧氧化制备工艺将材料高温煅烧, 探讨不同钒盐浓度对新型TiO₂涂层可见光催化性能及生物相容性的影响, 优化出兼具优异生物相容性和可见光催化活性的V及S共掺杂TiO₂涂层 (V10Si50), 同时分析该涂层的表面特性、化学组成、光学性能及可见光下的抗菌作用, 并对其抗菌机制进行了初步研究, 旨在为材料表面涂层改性预防钛植入物相关炎症方面的探讨提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 细胞、主要试剂和仪器

小鼠成纤维细胞L929购自中国科学院上海细胞库。金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) 与大肠杆菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*) 均购自北京北纳创联生物科技有限公司。医用纯钛片 (型号: TA2) 购自宝鸡鑫诺钛材有限公司, 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer saline, PBS) 和细

胞计数试剂盒8 (cell counting kit-8, CCK-8) 检测试剂盒均购自武汉赛维尔生物科技有限公司, 无水磷酸三钠、偏钒酸钠和 N-乙酰-L-半胱氨酸 (N-acetyl-L-cysteine, NAC) 均购自上海麦克林生化科技有限公司, 氢氧化钠、九水偏硅酸钠和亚甲基蓝 (methylene blue, MB) 均购自上海阿拉丁生化科技有限公司, 营养肉汤培养液 (nutrient broth, NB) 与平板计数琼脂培养基 (plate count agar, PCA) 均购自青岛海博生物技术有限公司, 2', 7'-二氯荧光黄双乙酸盐 (2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA) 购自大连美仑生物科技有限公司。高功率脉冲发生器 (型号: SMDF-II-50KW/750V) 购自成都金创力科技有限公司, 马弗炉 (型号: KSL-1200X-H) 购自合肥科晶材料技术有限公司, 扫描电子显微镜 (型号: JSM-6701F) 购自美国 FEI 公司, 原子力显微镜 (型号: Bruker Dimension Icon) 购自美国 Bruker 公司, 数字涡流涂层测厚仪 (型号: 1100 Elctrophysic Cologne) 购自深圳市林上科技有限公司, X 射线衍射仪 (型号: Rigaku Smart Lab SE) 购自荷兰 PANalytical 公司, X 射线光电子能谱仪 (型号: Thermo Scientific K-Alpha) 购自日本岛津公司, 电感耦合等离子体原子发射光谱仪 (型号: Agilent 5110) 购自德国耶拿分析仪器股份有限公司, 紫外-可见光分光光度计 (型号: Shimadzu UV-3600i Plus) 购自瑞士梅特勒-托利多集团公司, 顺磁共振波谱仪 (型号: Bruker EMX plus) 购自美国 Bruker 公司。

1.2 涂层材料的制备和实验分组

将医用纯钛片用砂纸打磨至镜面, 超声清洗后干燥; 微弧氧化反应采用高功率脉冲发生器的恒定脉冲电压模式进行。工作正向电压为 380 V, 负向电压为 50 V, 脉冲频率为 700 Hz, 占空比为 30%, 级数比为 4:1, 制备时间 10 min; 再次洗涤干燥后将样品放入马弗炉中, 在空气环境下以 $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的升温速率加热至 500°C 保持 1 h, 随即自然冷却至室温, 洗涤烘干备用。

通过调整电化学处理过程中电解液钒盐的浓度制备出 3 种不同的 V-Si TiO_2 涂层材料, 并分为 V5Si50 组 (1V: 10Si)、V10Si50 组 (2V: 10Si) 和 V15Si50 组 (3V: 10Si), 并通过 3 种涂层材料表面形貌结构、离子释放浓度、光催化能力及生物学性能最终优化出具有良好的生物活性且能被可见

光催化响应的 V-Si TiO_2 涂层材料, 另设对照组 (仅包含细胞培养基)。同时设置 PT 组 (空白对照)、PEO 组 (无元素掺杂)、V10 组 (V 掺杂)、Si50 组 (Si 掺杂) 和 V10Si50 组 (2V: 10Si), 对各组材料进行理化性能表征和可见光催化活性实验分析, 并进一步评价涂层材料的可见光催化抗菌作用, 分析可见光催化抗菌的初步机制。整个实验过程中涂层材料分组及溶液电解质物质含量见表 1。

表 1 微弧氧化过程中制备不同涂层材料的电解液物质组成
Tab. 1 Compositions of electrolyte of coating materials during micro-arc oxidation process $[\text{c}_i/(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})]$

Group	Solution electrolyte concentration			
	Na_3PO_4	NaOH	$\text{Na}_2\text{SiO}_3\cdot 9\text{H}_2\text{O}$	NaVO_3
PT	0.00	0.00	0.00	0.000
PEO	0.05	0.05	0.00	0.000
V10	0.05	0.05	0.00	0.010
Si50	0.05	0.05	0.05	0.000
V5Si50	0.05	0.05	0.05	0.005
V10Si50	0.05	0.05	0.05	0.010
V15Si50	0.05	0.05	0.05	0.015

1.3 涂层材料的理化性能表征

1.3.1 扫描电子显微镜扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM) 观察 3 组涂层材料表面形态表现并计算表面孔径。实验中采用 SEM 在加速电压为 15 000 V 时观察涂层材料的表面形态表现。观察时需要将涂层材料用导电胶粘在样品盘上, 每组涂层材料随机选取 3 个视野观察并拍照记录数据。采用 Image J 软件分析 3 组涂层材料表面 SEM 结果的孔径大小并进行比较。

1.3.2 原子力显微镜原子力显微镜 (atomic force microscope, AFM) 观察涂层材料表面并计算表面粗糙度。实验采用 AFM 以接触模式在空气像观察涂层材料的表面微纳形态表现和粗糙度。选定涂层材料表面扫描范围 $20\ \mu\text{m}\times 20\ \mu\text{m}$ 的局部区域进行分析和 AFM 成像, 分析测量涂层材料表面粗糙度值 (roughness average, Ra)。

1.3.3 数字涡流涂层测厚仪测量涂层材料厚度

将实验涂层材料采用数字涡流测厚仪测量其涂层厚度。具体操作: 打开开关, 取空白对照作为检测涂层材料厚度的空白参照, 于空白对照表面反复调零至 $0\ \mu\text{m}$, 分别取其余的涂层材料表面不同位点, 测量涂层材料正反两面各 3 个测量点进行厚度检测。

1.3.4 X射线衍射仪 (X-ray diffraction, XRD) 检测涂层材料物相组成 本实验使用XRD对涂层材料中的物相组成进行检测, 确定涂层的晶体晶相结构, 并且进行物象的定性分析。

1.3.5 X射线光电子能谱仪 (X-ray photoelectron spectroscopy, XPS) 检测涂层材料化学组成 本实验使用XPS对涂层材料的表面化学组成进行分析, 并进一步确认涂层材料表面的元素组成和原子离子状态。检测的所有元素结合能用C1s 284.6eV进行校正。实验初始采用广域能谱分析 (结合能窗口0~1200 eV, 能量步长值1.0 eV) 检测涂层所含的全部元素组成; 随后转入高分辨窄域能谱扫描, 通过0.1 eV步长的精细模式获取各元素的化学态特征峰; 最终数据经Avantage 4.0系统进行分峰拟合和分析计算。各组涂层材料均对以下元素进行全谱分析: C、Na、Ti、P、O、Si和V; 同时根据不同涂层材料微弧氧化过程中电解液成分不同选择性的对以下元素进行精细谱分析: Ti、V、Si和O。

1.3.6 电感耦合等离子体原子发射光谱法检测涂层材料V离子累计释放量 将涂层材料放置于培养皿中并加入25 mL PBS缓冲液浸没, 将培养皿静置于37℃恒温箱中, 适当的时间点更新PBS缓冲液。基于PBS缓冲液中V离子的浓度, 在1、4、7、14和28 d检测并计算涂层材料释放的V离子量, V离子浓度使用电感耦合等离子体原子发射光谱 (inductively coupled plasma optical emission spectrometer, ICP-OES) 仪器检测。

1.3.7 紫外-可见光吸收光谱法检测涂层材料禁带宽度 实验采用紫外-可见分光光度计设置扫描波长范围200~800 nm, 扫描速度300 nm·min⁻¹, 采用漫反射谱测量模式检测涂层材料的紫外-可见光的吸光度 (A) 值。推算涂层材料光吸收截止波长并采用 Kubelka-Munk 公式计算其禁带宽度 (band gap, E_g)。Kubelka-Munk 公式: $(ahv)^{\frac{1}{2}} = A_i(hv - E_g)$ 。

由于涂层材料中TiO₂属于间接带隙半导体, 因此使用间接跃迁模式计算TiO₂的 E_g , α 与涂层材料A值成正比, hv 为光子的能量, A_i 为用于跃迁的光子能量的独立系数, E_g 为禁带宽度。绘制 $(ahv)^{\frac{1}{2}}$ 和 hv 的关系图, 延长关系图的直线部分并与x轴相交, 即可得到涂层材料的 E_g ^[13]。

1.4 CCK-8法检测涂层材料的生物学性能

按照细胞培养基量与试件表面积比为3 cm²·mL⁻¹的比例制备涂层材料的无菌浸提液。然后将L929细胞接种于24孔细胞培养板中, 每孔接种含有1×10⁴个细胞的细胞悬液, 隔天细胞贴壁后更换浸提液。在细胞与涂层材料浸提液共培养的1、2和4 d向每孔培养物中加入80 μL CCK-8溶液, 再次孵育2 h后使用酶标仪检测各组细胞培养上清液于波长450 nm处的A值, 以A值代表细胞增殖活性, 并计算细胞存活率。细胞存活率=(涂层材料组细胞A值-空白组细胞A值)/(对照组组细胞A值-空白组细胞A值)×100%。

1.5 涂层材料的可见光催化活性

1.5.1 MB法检测涂层材料的可见光催化活性

将每个样品置于5 ppm MB溶液中并完全浸没, 采用光功率为300 W的管状长弧氙气灯($\lambda \geq 400$ nm)模拟可见光源照射不同时间, 通过吸收光谱法测定每个时间点溶液在波长664 nm处的A值, 根据Beer-Lambert定律, 反应物浓度与A值成正比^[14], 计算涂层材料对MB溶液的光催化降解率, 以MB降解率代表涂层材料的光催化性能, 温度控制在18℃~28℃。 $\beta = (C_0 - C_t)C_0 = [(A_0 - A_t)A_0 \times 100\%]$ 。 β 为MB溶液的光催化降解率; C_0 为MB溶液的初始浓度(mg·L⁻¹), C_t 为t时刻溶液中MB浓度(mg·L⁻¹), A_0 为初始时刻MB溶液A值, A_t 为t时刻MB溶液A值。

1.5.2 自旋捕获电子顺磁共振(electron paramagnetic resonance, EPR)检测涂层材料中ROS的产生

采用5, 5-二甲基-1-吡咯啉-N-氧化物 (5, 5-dimethyl-1-pyrroline n-oxide, DMPO) 和2, 2, 6, 6-四甲基哌啶 (2, 2, 6, 6-tetramethylpiperidin, TEMP) 自旋捕获EPR技术探测涂层材料在可见光照射下ROS的产生。将涂层材料分别浸泡在去离子水和甲醇中, 使用上述氙气灯分别在照射0、5、10 min各时间点向浸泡溶液中加入不同的捕获剂, 然后取适量液体置于核磁管中, 使用光谱仪对3个时间点溶液中的超氧阴离子及羟基自由基进行分析, 获取EPR谱并进行比较。

1.6 涂层材料的可见光催化抗菌性能

1.6.1 平板菌落计数法检测涂层材料的平板菌落数

使用灭菌环挑取单个*S. aureus*和*E. coli*菌落接种至NB培养液中, 37℃恒温箱孵育24 h后得到菌悬液, 调整配置浓度为5×10⁷~4×10⁸ CFU·mL⁻¹

S. aureus 实验菌液及 $2 \times 10^7 \sim 3 \times 10^8$ CFU·mL⁻¹ *E. coli* 实验菌液待用。每种细菌实验分组均为 PT 组、PEO 组、V10 组、Si50 组和 V10Si50 组。将已配好的实验菌悬液 200 μL 接种滴加到涂层材料表面, 灭菌医用 PE 膜覆盖菌液。打开模拟可见光源 300 W 氙气灯, 控制涂层表面与光源的垂直距离为 15~20 cm, 表面辐射照度为 $(500 \pm 10) \text{W} \cdot \text{mL}^{-2}$, 这些照射参数是根据临床牙科治疗期间可见光源与牙种植体基台间的预期距离所定义。照射/黑暗 2 h [控制温度为 $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$, 相对湿度不低于 85%] 后用无菌 PBS 缓冲液洗涤回收黏附在涂层表面和 PE 膜上的细菌, 倍比稀释后吸取 100 μL 涂布在 PCA 上, 37 °C 孵育 48 h 后计数细菌菌落数。

1.6.2 采用 DCFH-DA 探针检测细菌中 ROS 水平 将 DCFH-DA 粉末溶于 DMSO, 制备成浓度为 $10 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液备用, 后加入 NB 培养液稀释成浓度为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液备用, 向溶液中加入菌悬液使其达到适宜细菌浓度。*S. aureus* 和 *E. coli* 实验分组均为 PT 组、PEO 组和 V10Si50 组。按照上述实验步骤在涂层表面接种 100 μL DCFH-DA 的菌悬液 (控制最终的细菌数量为 1×10^8 个), 按照前述实验条件及可见光照射情况进行培养后, 吸取菌悬液到比色皿, 37 °C 孵育 20 min 后使用荧光分光光度计检测菌液中 2', 7'-二氯荧光素 (2', 7'-dichlorofluorescein, DCF) 荧光 A 值, 以其代表细菌内 ROS 水平。

1.6.3 采用平板菌落计数法检测各组细菌菌落数 选用最佳掺杂浓度 V10Si50 组, 调整配置浓度为 3×10^8 CFU·mL⁻¹ 的 2 种实验菌液, 实验分为 PT 组 (空白对照组)、NAC 组、V10Si50 组和 NAC+V10Si50 组。PT 组材料表面滴加菌悬液 200 μL, NAC 组为对照组同样材料表面滴加含 $5 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NAC 的菌悬液 200 μL, V10Si50 组涂层材料表面滴加菌悬液 200 μL, NAC+V10Si50 组涂层材料表面滴加含 $5 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NAC 的菌悬液 200 μL。可见光照射 2 h 后 PBS 缓冲液洗涤回收, 倍比稀释后吸取 100 μL 涂布于 PCA 上, 37 °C 孵育 48 h 后计数细菌菌落数。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析, Origin 2022 软件绘制图像。涂层材料表面孔径、涂层厚度、细胞增殖活性、可见光催化 MB 降解率、平板菌落数和细菌内 ROS 水平均符合正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$

表示, 多组间样本均数比较采用单因素方差分析, 组间样本均数两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 V-Si TiO₂ 涂层表面孔径和 V 释放情况

V5Si50 组、V10Si50 组和 V15Si50 组涂层表面孔径大小分别为 (2.93 ± 1.18) 、 (1.43 ± 0.53) 和 $(4.36 \pm 1.40) \mu\text{m}$, 涂层材料表面粗糙度分别为 308、337 和 298 nm。与 V5Si50 组和 V15Si50 组比较, V10Si50 组涂层表面孔径减小 ($P < 0.05$), 单位面积孔数多, 材料的比表面积大, 粗糙度大。3 组涂层材料中 V 累计释放量见图 1, 在前 14 d 释放速度较快, 后 14 d 释放速度逐渐下降趋于稳定, 3 组涂层材料 28 d 内 V 累计释放总量分别为 0.076、0.111 和 0.304 ppm。

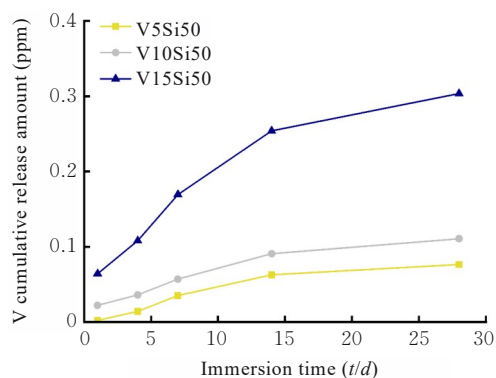


图1 各组涂层材料 28 d 内 V 累积释放量

Fig. 1 Cumulative release amounts of V in coating materials in various groups during 28 d

2.2 各组 V-Si TiO₂ 涂层细胞增殖活性和细胞存活率

与对照组比较, 细胞培养 1、2 和 4 d 时 V10Si50 组细胞增殖活性和细胞存活率均明显升高 ($P < 0.05$); 细胞培养 2 和 4 d 时, V5Si50 组和 V15Si50 组细胞增殖活性和细胞存活率均明显降低 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 涂层材料的表面形态表现和厚度

PT、PEO、V10、Si50 和 V10Si50 组涂层材料表面形态表现见图 2。PT 组涂层材料表面相对光滑。除 PT 组外, 其余各组涂层材料表面均有明显不规则形状的火山口状孔。与 PEO 组、V10 组和 Si50 组比较, V10Si50 组涂层厚度明显增加 ($P < 0.05$), 提示 V10Si50 组涂层与钛基材的结合能力最强。见表 3。

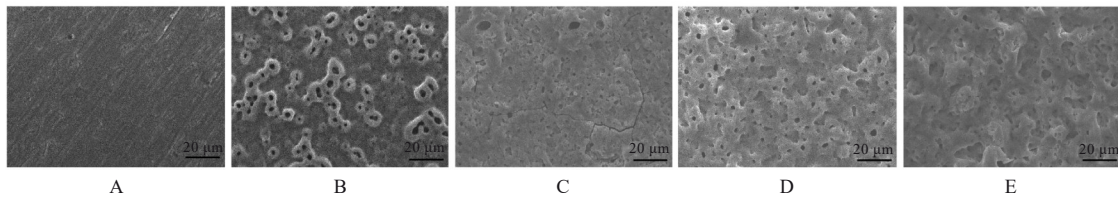
表2 各组细胞增殖活性和细胞存活率

Tab. 2 Cell proliferation activities and cell survival rates in various groups

(n=3, $\bar{x} \pm s$)

Group	Cell proliferation activity			Cell survival rate ($\eta/\%$)			
	(t/d)	1	2	4	1	2	4
Control		0.251±0.008	0.328±0.005	1.122±0.009	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
V5Si50		0.258±0.008	0.321±0.005*	1.099±0.005*	107.40±9.29	94.80±1.24*	97.54±1.44*
V10Si50		0.261±0.004*	0.359±0.009*	1.232±0.002*	110.00±6.42*	122.36±7.62*	111.66±1.25*
V15Si50		0.252±0.001	0.286±0.004*	0.702±0.002*	100.88±10.36	69.57±1.30*	55.45±0.52*

*P<0.05 compared with control group.



A:PT group; B:PEO group; C:V10 group; D:Si50 group; E:V10Si50 group.

图2 SEM观察各组涂层材料表面形态表现

Fig. 2 Surface morphology of coating materials observed by SEM

表3 各组涂层材料厚度

Tab. 3 Thickness of coating materials

(n=3, $\bar{x} \pm s$, l/μm)

Group	Thickness
PEO	9.717±0.500
V10	11.827±1.024
Si50	12.500±0.712
V10Si50	14.153±0.702* ^{△#}

*P<0.05 compared with PEO group; [△]P<0.05 compared with V10 group; [#]P<0.05 compared with Si50 group.

2.4 各组涂层材料的物相和化学组成

XRD谱显示:所有涂层材料的物相组成主要为锐钛矿,并未检测出V和Si的物相,提示含相关元素的晶相含量较少,超出了XRD的检测下限。见图3。PEO组和V10Si50组完整的XPS光谱见图4A和4B。全谱中Ti来源于基材本身,O元素是微弧氧化过程中基材本身被电解氧化形成,而P、Si和V元素的存在是微弧氧化电解液中的离子通过电泳及吸附等方式掺入其中。PEO组和V10Si50组的Ti2p光谱见图4C和4D。位于458.6和464.4 eV处的峰分别对应Ti⁴⁺的Ti2p_{3/2}和Ti2p_{1/2}的结合能,提示Ti元素以TiO₂的形式存在于涂层表面。V10组V2p_{3/2}有3个谱峰,结合能分别为516.18、516.69和515.18 eV,对应的是V⁴⁺、V⁵⁺及V³⁺; V10Si50组V2p_{3/2}有2个谱峰,结合能分别为

517.4 eV和516.3 eV,对应的是V⁴⁺及V⁵⁺。见图4E和4F。Si50组和V10Si50组中Si2p峰的结合能为103.0 eV,表明Si元素主要以SiO₂的形式存在。见图4G和4H。

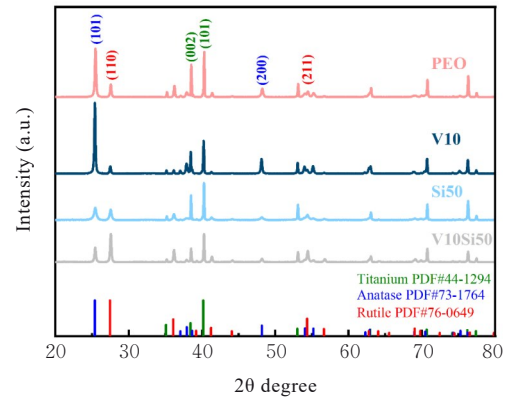
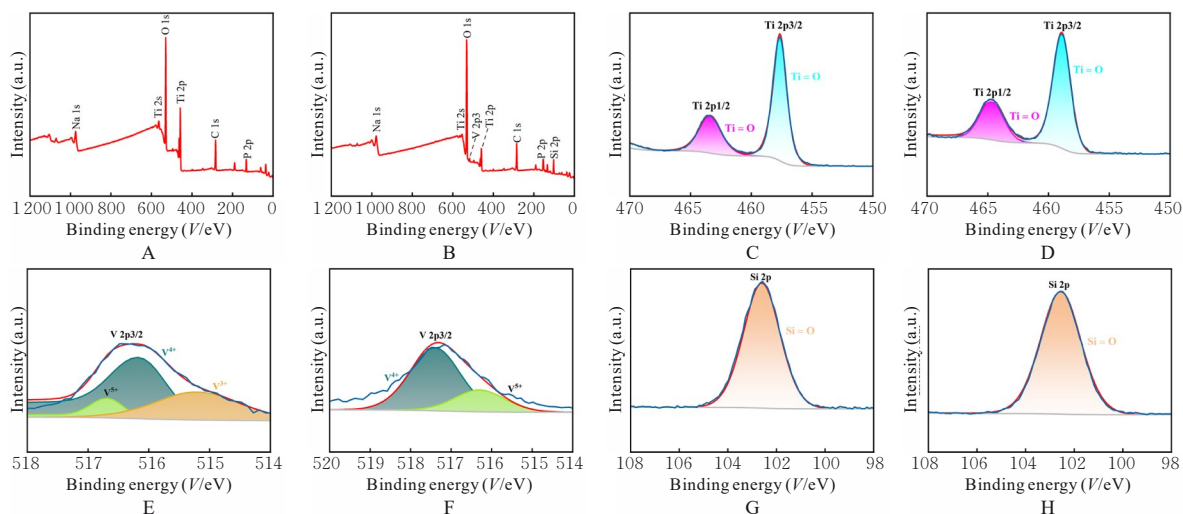


图3 各组涂层材料XRD谱

Fig. 3 XRD spectra of coating materials in various groups

2.5 各组涂层材料的光学性能表征

TiO₂的标准带隙能为3.2 eV,PEO组和Si50组的带隙能与其接近;与PEO组比较,V10组和V10Si50组的光吸收截止波长明显增大(P<0.05),带隙能明显减小(P<0.05);Si50组涂层材料光吸收截止波长和带隙能与PEO组比较差异无统计学意义(P>0.05)。见表4。



A: Full spectrum of PEO; B: Full spectrum of V10Si50; C: PEO Ti2p spectrum; D: V10Si50 Ti2p spectrum; E: V10 V2p spectrum; F: V10Si50 V2p spectrum; G: Si50 Si2p spectrum; H: V10Si50 Si2p spectrum.

图4 各组涂层材料的XPS光谱

Fig. 4 XPS spectra of coating materials in various groups

表4 各组涂层材料光吸收截止波长和带隙能

Tab. 4 Light absorption cutoff wavelengths and band gap energies of coating materials in various groups

Group	Light absorption cutoff wavelength (λ /nm)	Band gap energy (V/eV)
PEO	415	2.86
V10	780*	1.05*
Si50	410	2.93
V10Si50	625*	1.22*

* $P < 0.05$ compared with PEO group.

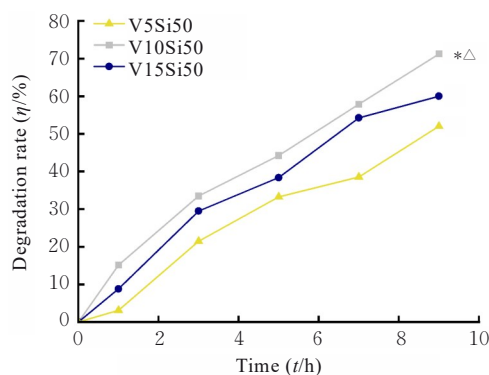
2.6 各组涂层材料的可见光催化活性

可见光催化9 h内,与V5Si50组和V15Si50组比较,V10Si50组MB降解率明显升高($P < 0.05$),均大于50%,且V10Si50组NB降解率最高达72%。见图5。

与PT组比较,V10组和V10Si50组涂层材料MB降解率均明显升高($P < 0.05$),可见光催化9 h后,MB降解率接近80%;PEO组和Si50组涂层材料MB降解率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图6。V10Si50组涂层材料在可见光氙气灯照射下ROS的EPR信号谱见图7,可清晰地观察到强度比约为1:2:2:1和1:1:1:1的EPR信号谱,分别为超氧阴离子和羟基自由基加合物的特征,且EPR信号的强度随照射时间的延长而增加。

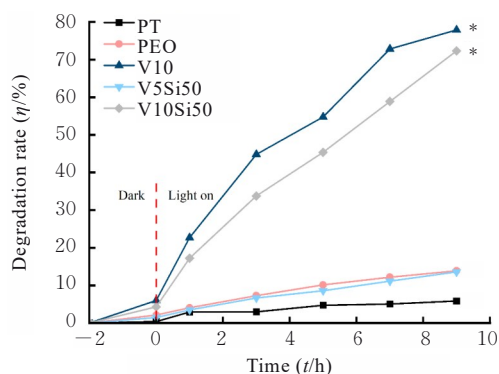
2.7 各组涂层材料的可见光催化抗菌性能

*S. aureus*与涂层材料共培养的实验结果显示:



* $P < 0.05$ compared with V5Si50 group; $\Delta P < 0.05$ compared with V15Si50 group.

图5 可见光催化后3组V-Si TiO₂涂层材料MB降解率
Fig. 5 MB degradation rates of V-Si TiO₂ coating materials in three groups catalyzed by visible light



* $P < 0.05$ compared with PT group.

图6 可见光催化后各组涂层材料MB降解率
Fig. 6 MB degradation rates of coating materials in various groups after catalyzed by visible light

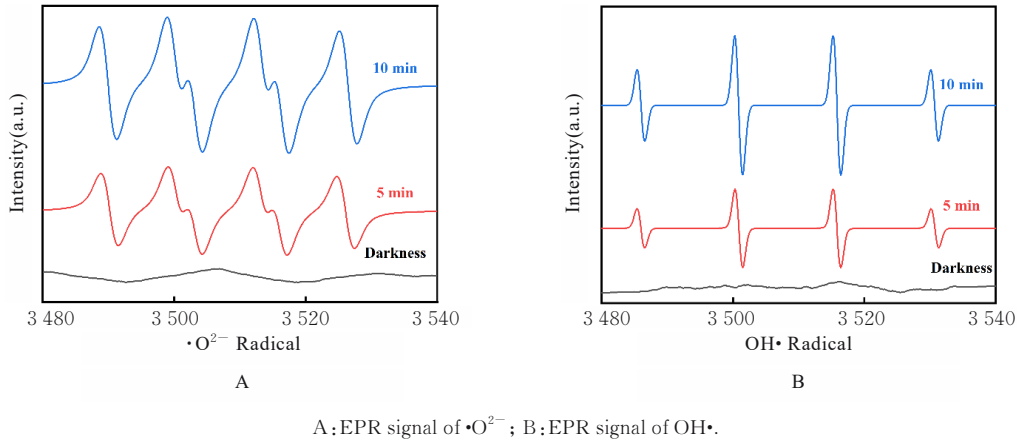


图7 可见光照射后涂层材料表面ROS的EPR信号谱

Fig. 7 EPR signal spectra of ROS on surface of coating material after visible light irradiation

不论是否有可见光照射, PT组、PEO组和Si50组细菌菌落数比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 提示3组涂层材料在无论是否有可见光照射的情况下均不具有抗菌效果; 与PEO组、Si50组和PT组比较, V10组和V10Si50组在无可见光照射的情况下与细菌共培养2h后, 细菌菌落数降低 ($P < 0.05$)。与PEO组、Si50组和PT组比较, 经过可见光照射后V10组和V10Si50组细菌菌落数明显降低 ($P < 0.05$)。见表5。*E. coli*与涂层材料共培养的实验结果基本上与*S. aureus*与涂层材料共培养的实验结果趋势保持一致。提示涂层材料的抗菌能力不受革兰阳性菌或革兰阴性菌结构差异的影响。见表6。经过2h的可见光照射后, PT、PEO和V10Si50组涂层材料表面2种细菌中ROS水平明显升高 ($P < 0.05$)。与PT组和PEO组比较, 光照2h V10Si50组2种细菌中ROS水平明显升高 ($P < 0.05$)。见表7和8。与V10Si50组比较, NAC+V10Si50组2种细菌菌落数明显增加 ($P < 0.05$)。见图8。

3 讨论

通过表面改性使Ti植入物在发挥优良力学性能的同时, 使其具有特定的生物学性能如成骨和抗菌等, 是目前植入物领域的研究热点^[15]。基于APDT的基本原理和TiO₂半导体光敏剂的特殊性能^[16], 本研究利用微弧氧化技术开发出Ti表面V-Si硅共掺杂的新型TiO₂涂层。

微弧氧化技术产生电火花放电可在Ti表面产生大小和形状不规则的多孔结构, 可为细胞向孔内的迁移和生长提供有利空间^[17]。本研究结果显示: 不同浓度梯度的涂层材料表面微孔孔径均 $< 5 \mu\text{m}$,

表5 涂层材料联合可见光照射下各组*S. aureus*菌落数
Tab. 5 Numbers of *S. aureus* colonies in various groups under visible light irradiation combined with coating materials
($n=3, \bar{x} \pm s$)

Group	Number of <i>S. aureus</i> colonies	
	Dark 2 h	Light 2 h
PT	603.67 ± 17.47	603.67 ± 13.20
PEO	598.67 ± 26.58	606.67 ± 9.71
V10	301.00 ± 22.11 ^{*△#}	20.00 ± 7.00 ^{*△#}
Si50	602.67 ± 12.86	593.33 ± 21.08
V10Si50	413.00 ± 6.56 ^{*△#}	40.67 ± 2.52 ^{*△#}

^{*} $P < 0.05$ compared with PT group; [△] $P < 0.05$ compared with PEO group; [#] $P < 0.05$ compared with Si50 group.

表6 涂层材料联合可见光照射后各组*E. coli*菌落数
Tab. 6 Numbers of *E. coli* colonies in various groups after visible light irradiation combined with coating materials
($n=3, \bar{x} \pm s$)

Group	Number of <i>E. coli</i> colonies	
	Dark 2 h	Light 2 h
PT	57.33 ± 1.53	59.33 ± 8.62
PEO	59.00 ± 4.58	59.33 ± 9.29
V10	32.00 ± 3.61 ^{*△#}	1.67 ± 0.58 ^{*△#}
Si50	57.67 ± 6.43	55.67 ± 4.93
V10Si50	39.33 ± 1.16 ^{*△#}	5.33 ± 0.58 ^{*△#}

^{*} $P < 0.05$ compared with PT group; [△] $P < 0.05$ compared with PEO group; [#] $P < 0.05$ compared with Si50 group.

成纤维细胞的直径一般 $> 10 \mu\text{m}$, 因此3组涂层材料的表面形态结构并不影响细胞生命活动的正常进行。而V10Si50的粗糙度在三者中最大, 更有利于促进细胞的初期黏附, 且V10Si50组涂层表面孔径

表7 涂层材料联合可见光照射后各组 *S. aureus* 菌液中 ROS 水平

Tab. 7 ROS levels in *S. aureus* bacteria solution in various groups after visible light irradiation combined with coating materials ($n=3, \bar{x} \pm s$)

Group	ROS level	
	Dark 2 h	Light 2 h
PT	7 213.67 ± 272.07	11 237.33 ± 164.32
PEO	7 386.67 ± 228.17	11 740.67 ± 285.39
V10Si50	10 274.00 ± 497.14 ^{*△}	16 666.67 ± 156.67 ^{*△}

* $P < 0.05$ compared with PT group; $\Delta P < 0.05$ compared with PEO group.

表8 涂层材料联合可见光照射后各组 *E. coli* 菌液中 ROS 水平

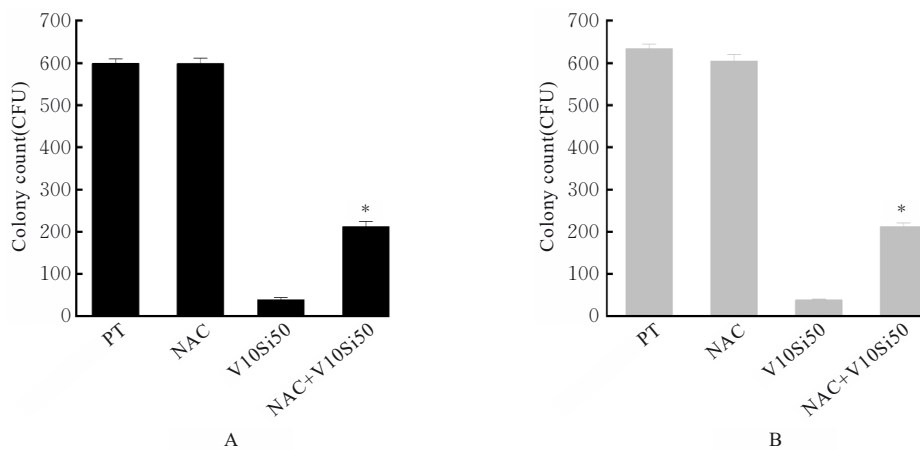
Tab. 8 ROS levels in *E. coli* bacteria solution in various groups after visible light irradiation combined with coating materials ($n=3, \bar{x} \pm s$)

Group	ROS level	
	Dark 2 h	Light 2 h
PT	6 190.00 ± 84.66	8 950.33 ± 103.97
PEO	6 435.33 ± 52.81	10 224.00 ± 353.61
V10Si50	10 099.33 ± 170.66 ^{*△}	18 842.00 ± 191.79 ^{*△}

* $P < 0.05$ compared with PT group; $\Delta P < 0.05$ compared with PEO group.

最小, 孔数相对较多, 具有较高的表面能, 这可能有助于涂层表面吸附更多的蛋白质配体并与整合素结合, 从而激活相关信号通路, 促进细胞的黏附和

增殖^[18]。PAPADIAMANTIS等^[19]研究表明: 氯化钒的半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC_{50}) 为 $2.82 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (约为 0.15 ppm 的 V^{3+} 浓度)。本研究结果显示: V15Si50 组 28 d 时 V 累积释放总量超出 IC_{50} , 而 V10Si50 组和 V5Si50 组 28 d 时 V 累积释放总量在实验允许的范围内。结合细胞实验结果分析, V5Si50 组和 V10Si50 组细胞增殖良好, 无明显的细胞毒性, 而 V15Si50 组的细胞毒性最大, 主要是由涂层材料中 V 和 Si 的比例所决定。研究^[10]显示: V 被认为是一种有毒元素, 会导致线粒体呼吸链和 DNA 结构损伤而产生氧化应激从而导致细胞毒性。HANNIBAL 等^[20]研究发现: 含有 Si 涂层的培养基能够释放 Si 离子激活相关信号通路, 并改变细胞跨膜蛋白的结构, 使细胞更易与涂层表面吸附的蛋白质发生结合, 对后续细胞的增殖、分化等具有重要意义。本研究表明: 涂层材料对小鼠成纤维细胞的生物活性无影响, 但后期仍需要进一步的体内动物实验来验证。本研究结果显示: V10Si50 组在可见光催化 9 h 内 MB 降解率最大, 可能主要因为其涂层材料的粗糙度最大。研究^[21]表明: 当粗糙度大时, TiO_2 表面可以吸附更多的反应污染物进行光催化, 且经过多次的折射使更多的光能留在 TiO_2 表面, 导致 V10Si50 的可见光催化效率明显增强。因此, 结合 3 组不同浓度梯度的涂层材料本身的理化特性、可见光催化活性及生物相容性, 最终将 V10Si50 作为钛表面钒硅共掺杂 TiO_2 涂层的制备选择。



A: Number of *S. aureus* colonies after added with NAC; B: Number of *E. coli* colonies after added with NAC. * $P < 0.05$ compared with V10Si50 group.

图8 加入NAC后各组菌落数

Fig. 8 Numbers of colonies in various groups after added with NAC

本研究结果显示: 不同涂层参数相同, 具有相似的表面性质, 但由于掺杂的元素及含量有所差别, 因此涂层的表面理化性质也发生了部分改变。同时掺杂 2 种元素的材料涂层厚度达到最大, 推测其涂层和基底材料的结合强度达到最佳, 涂层材料不容易发生碎裂和剥脱。XRD 结果显示: 实验组和对照组的物相组成主要为锐钛矿型 TiO₂, 但同时出现了大量的金红石型 TiO₂, 推测可能是由于后期煅烧过程中温度达到 500 °C, 一部分锐钛矿型 TiO₂ 转变为金红石型 TiO₂, 从而形成具有高比表面积的混晶结构 TiO₂, 而金红石比锐钛矿的禁带宽度窄, 可见光响应的光能多, 且混晶结构的比表面积大, 这也是涂层材料光催化效率提高的一个重要原因。XPS 的结果进一步验证涂层材料的化学物质组成。结合光学性能实验结果中涂层材料 V10 组和 V10Si50 组带隙能明显减小, 推测 V 的掺杂明显拓宽了材料的光响应范围。研究^[22]表明: V⁴⁺ 的半径为 0.077 nm, Ti⁴⁺ 的半径 0.074 nm, 满足置换固溶体的条件, 因此 V 添加的 TiO₂ 涂层材料形成过程中, V⁴⁺ 进入 TiO₂ 晶格中置换了 Ti⁴⁺ 的位置, 导致 TiO₂ 带正电荷, 为了保持电中性与 V⁴⁺ 邻近的首个 Ti⁴⁺ 会吸引 TiO₂ VB 的电子从 O2p 轨道跃迁到 V3d 的 CB 上, 形成杂质能级, 减小 TiO₂ 的价带位置, 导致 TiO₂ 对可见光的全吸收, 同时 O²⁻ 失去电子变为氧气离开 TiO₂ 体系, 形成氧空位, 这也是解释氧空位使 TiO₂ 显黑色的原因^[23]。因此, V 添加导致 TiO₂ 禁带宽度减小, 提高对太阳光的利用率。此外, 研究^[24]发现: 涂层材料中 V⁵⁺ 以 V₂O₅ 形式复合在 TiO₂ 涂层材料当中, 形成 TiO₂/V₂O₅ 复合半导体, 太阳光照射其激发出光生电子-空穴对, 带正电荷的光生空穴由 V₂O₅ 高 VB 迁移至 V-TiO₂ 低 VB 使光生空穴留在 V-TiO₂ 低 VB 上; 带负电荷的光生电子从 V-TiO₂ 低 CB 迁移到 V₂O₅ 高 CB 使光生电子留在 V₂O₅ 高 CB 上, 这样光生电子-空穴处于不同半导体上, 有效降低了光生电子-空穴的复合, 提高了材料的光催化效率。

涂层材料 V10Si50 组在受到可见光照射时, 激发产生光生电子-空穴对, 大部分强氧化性的光生空穴可直接与涂层表面的水分子反应, 生成具有强氧化性的羟基自由基 (OH·)^[25]; 吸附于涂层表面的 O₂ 则与具有强还原性的电子反应生成超氧阴离子 (·O²⁻)^[26]; 其在可见光照射下表面生成的过氧化物就可以将有机污染物分解为 H₂O 和 CO₂, 这便是

新型涂层材料在可见光照射下降解 MB 的重要原因。

涂层材料 V10 组和 V10Si50 组产生抗菌性能的关键在于可见光照射下产生了 ROS。ROS 攻击微生物膜上的不饱和磷脂后, 进一步导致蛋白质和电子介质的变性, 最终造成细胞膜破裂、胞质外泄, 导致菌体死亡^[27]。根据光催化原理, 涂层材料 V10 组和 V10Si50 组需要在合适的可见光条件下才能表现出有效的抗菌活性。然而, 含有 V 元素的材料样品也具备一定的抗菌效果。KOTHANDAN 等^[28]研究显示: 在黑暗环境下 V 元素同样对细菌具有毒性作用。首先 V 元素主要通过疏水效应和电荷相互作用, 附着在细菌表面改变胞膜的通透性, 使细菌表面的结构重新排列, 导致胞内遗传物质聚集, 从而引发细菌生长延缓和失活; 其次 V 被认为是一种有毒元素, 会导致细菌自身能量异常和 DNA 结构损伤^[29]。同时本研究采用细菌内 ROS 检测探针 DCFH-DA 检测 ROS 水平, 结果显示: 可见光照射下 V10Si50 组表现出比 PT 组与 PEO 组更强的抗菌作用, 原因为可见光催化 V10Si50 组表面产生了更多 ROS。NAC 能够干扰 ROS 生成和清除 ROS^[30]。本研究结果显示: 加入 NAC 后平板菌落数计数明显增加, 进一步验证了涂层材料 V10Si50 组可见光照射下是由于产生 ROS 从而达到良好抗菌效果的抗菌机制。

综上所述, 本研究采用微弧氧化工艺制备了合理浓度 2V : 10Si 负载化的 V-Si TiO₂ 可见光催化涂层材料 (V10Si50), 其具有良好的生物相容性且联合可见光催化作用具有优越的抗菌性能, 在钛植入物相关炎症防治方面具有潜在的应用前景。

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:

陈铎参与研究设计和论文撰写, 段佩佩和亢雪萍参与数据收集和分析, 陈诗曼和何佳玥参与论文结果分析和讨论, 刘钰昕和李跃鑫参与实验操作和文献检索, 沈玉凤和周政参与论文撰写指导和审核。

[参考文献]

- [1] TING M, SUZUKI J B. Peri-implantitis [J]. Dent J, 2024, 12(8): 251.
- [2] MEYLE J, FISCHER-WASELS L. Non-surgical treatment of peri-implantitis [J]. Br Dent J, 2024, 237(10): 780-785.
- [3] YIN W W, YANG Y M, BAO R, et al. Necessity of

- removing implant-supported prostheses when conducting supportive peri-implant therapy: A clinical study[J]. *J Prosthet Dent*, 2024; S0022-S3913(24)00653-X.
- [4] IONESCU C, KAMAL F Z, CIOBICA A, et al. Oxidative stress in the pathogenesis of oral cancer[J]. *Biomedicines*, 2024, 12(6): 1150.
- [5] CHEN T, YANG D, LEI S X, et al. Photodynamic therapy-a promising treatment of oral mucosal infections [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2022, 39: 103010.
- [6] AZZAWI Z G M, HAMAD T I, KADHIM S A, et al. Osseointegration evaluation of laser-deposited titanium dioxide nanoparticles on commercially pure titanium dental implants[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2018, 29(7): 96.
- [7] ZOU X S, VADELL R B, LIU Y W, et al. Photophysical study of electron and hole trapping in TiO₂ and TiO₂/Au nanoparticles through a selective electron injection[J]. *J Phys Chem C*, 2022, 126(50): 21467-21475.
- [8] ŠULIGOJ A, POVIRK N, MAVER K, et al. Transparent vanadium doped titania-silica films: Structural characterization and self-cleaning properties[J]. *J Environ Chem Eng*, 2024, 12(5): 113904.
- [9] DEEPA M J, ARUNIMA S R, ELIAS L, et al. Development of antibacterial V/TiO₂-based galvanic coatings for combating biocorrosion[J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2021, 4(4): 3332-3349.
- [10] NGWA H A, AY M, JIN H J, et al. Neurotoxicity of vanadium [A]. *Neurotoxicity of Metals [M]*. Cham: Springer International Publishing, 2017: 287-301.
- [11] MIGUEZ-PACHECO V, HENCH L L, BOCCACCINI A R. Bioactive glasses beyond bone and teeth: Emerging applications in contact with soft tissues[J]. *Acta Biomater*, 2015, 13: 1-15.
- [12] ZHANG X E, ZHANG X, ZHOU W C, et al. Modified multilayered porous titanium scaffolds with silicon-doped coating surface-loaded BMP-2 prepared by microarc oxidation for bone defect repair [J]. *Surf Coat Technol*, 2025, 495: 131570.
- [13] RASHAD M M, MOSTAFA A G, RAYAN D A. Structural and optical properties of nanocrystalline mayenite Ca₁₂Al₁₄O₃₃ powders synthesized using a novel route[J]. *J Mater Sci Mater Electron*, 2016, 27(3): 2614-2623.
- [14] LI L Y, ZHAO H, NI N, et al. Study on the origin of linear deviation with the Beer-Lambert law in absorption spectroscopy by measuring sulfur dioxide[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2022, 275: 121192.
- [15] LIU W B, ZHANG K, SUN Y, et al. Multidimensional treatment of periprosthetic joint infection using fusion peptide-grafted chitosan coated porous tantalum scaffold[J]. *Bioact Mater*, 2025, 44: 15-33.
- [16] MORALES-VALENZUELA A A, SCOUGALL-VILCHIS R J, LARA-CARRILLO E, et al. Enhancement of fluoride release in glass ionomer cements modified with titanium dioxide nanoparticles[J]. *Medicine*, 2022, 101(44): e31434.
- [17] ZHANG Y J, ZHANG Y L, KONG T T, et al. Effects of titanium nano-foveolae surfaces on human gingival fibroblasts[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2020, 20(2): 673-679.
- [18] WANG S Y, ZHAO X, HSU Y, et al. Surface modification of titanium implants with Mg-containing coatings to promote osseointegration[J]. *Acta Biomater*, 2023, 169: 19-44.
- [19] PAPADIAMANTIS A G, JÄNES J, VOYIATZIS E, et al. Predicting cytotoxicity of metal oxide nanoparticles using isalos analytics platform[J]. *Nanomaterials*, 2020, 10(10): 2017.
- [20] HANNIBAL V D, GREB L. Tetra-amido macrocyclic ligand (TAML) at silicon (IV): a structurally constrained, water-soluble silicon lewis superacid[J]. *J Am Chem Soc*, 2024, 146(37): 25727-25737.
- [21] RASUL M G, AHMED S, SATTAR M A, et al. Hydrodynamic performance assessment of photocatalytic reactor with baffles and roughness in the flow path: a modelling approach with experimental validation [J]. *Heliyon*, 2023, 9(9): e19623.
- [22] XUE Y, WANG Z, KANG J T, et al. The effect of doping donor ions in the dielectric properties of (In_{0.5}B_{0.5})_{0.1}Ti_{0.9}O₂ (BV, Nb, Ta) ceramics [J]. *Ceram Int*, 2024, 50(23): 51848-51857.
- [23] HU H Y, LIN Y, HU Y H. Phase role of white TiO₂ precursor in its reduction to black TiO₂[J]. *Phys Lett A*, 2019, 383(24): 2978-2982.
- [24] ZAHID SHAFIQ M, SHAHID W, SHAHID S, et al. Enhancing photocatalytic efficiency of type II V₂O₅/TiO₂ heterojunctions for malachite green dye using solar simulator irradiation[J]. *J Saudi Chem Soc*, 2024, 28(3): 101869.
- [25] MA E H, SUN G L, DUAN F L, et al. Visible-light-responsive Z-scheme heterojunction MoS₂ NTs/CuInS₂ QDs photoanode for enhanced photoelectrocatalytic

- degradation of tetracycline [J]. *Appl Mater Today*, 2022, 28: 101504.
- [26] CHEN Q F, WANG K Y, GAO G M, et al. Singlet oxygen generation boosted by Ag - Pt nanoalloy combined with disordered surface layer over TiO₂ nanosheet for improving the photocatalytic activity [J]. *Appl Surf Sci*, 2021, 538: 147944.
- [27] ZOU X R, WEI Y Y, JIANG S, et al. ROS stress and cell membrane disruption are the main antifungal mechanisms of 2-phenylethanol against *botrytis cinerea*[J]. *J Agric Food Chem*, 2022, 70(45): 14468-14479.
- [28] KOTHANDAN S, SHEELA A. DNA Interaction and Cytotoxic studies on Mono/Di-Oxo and Peroxo-Vanadium (V) complexes - A Review [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2021, 21(14): 1909-1924.
- [29] DOBSON N L, KLEEBERGER S R, BURKHOLDER A B, et al. Vanadium pentoxide exposure causes strain-dependent changes in mitochondrial DNA heteroplasmy, copy number, and lesions, but not nuclear DNA lesions[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(19): 14507.
- [30] LIU X C, HOU Y B, YANG M X, et al. N-acetyl-l-cysteine-derived carbonized polymer dots with ROS scavenging *via* Keap1-Nrf2 pathway regulate alveolar bone homeostasis in periodontitis [J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(26): e2300890.