



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Ingegneria Industriale DII

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria dei Materiali

**SVILUPPO E CARATTERIZZAZIONE DI RIVESTIMENTI
PEO BIOCOMPATIBILI PER PROTESI BIORIASSORBIBILI IN
LEGA DI MAGNESIO**

Relatore: Prof. Manuele Dabalà

Correlatore: Ing. Luca Pezzato

Laureando: Andrea Zamberlan

Anno Accademico 2019/2020

Abstract

In questo studio è stato analizzato uno strato protettivo biodegradabile su leghe di magnesio AZ31 attraverso un processo di trattamento superficiale elettrochimico chiamato PEO (plasma electrolytic oxidation). L'operazione è stata condotta attraverso una soluzione elettrolitica di fosfati e silicati usando alte intensità di corrente continua per brevi periodi di tempo. Per ottenere i risultati migliori sono state provate diverse configurazioni di intensità di corrente, tempo e temperatura del bagno. Una volta ottenuto uno strato omogeneo e sufficientemente resistente si è passati a studiarlo sia da un punto di vista microstrutturale, che da un punto di vista della resistenza a corrosione. La prima parte si è svolta attraverso le tecniche dell'XRD e del SEM dove si è andato anche a controllare la composizione chimica per osservare la presenza di idrossiapatite, mentre, per valutare la resistenza a corrosione, si è ricorsi alla polarizzazione anodica e alla spettroscopia d'impedenza le quali hanno evidenziato l'aumento di prestazione dello strato protettivo.

Indice

1. Introduzione

1.1 Plasma Electrolytic Oxidation

1.2 Biocompatibilità e Biodegradabilità

2. Materiali e Parametri di Processo

2.1 Lega di magnesio AZ31

2.2 Attrezzatura di Processo

2.3 Parametri di Processo

2.4 XRD

2.5 SEM

2.6 Polarizzazione Anodica

2.7 Spettroscopia d'Impedenza

3. Risultati

3.1 Analisi Microstrutturale

3.1.1 XRD

3.1.2 SEM

3.2 Curve di Polarizzazione

3.3 Spettroscopia d'Impedenza

3.4 Perdita in Peso

4. Conclusioni

1. INTRODUZIONE

1.1 Plasma Electrolytic Oxidation (PEO)

Il *plasma electrolytic oxidation* (PEO), denominato anche *micro-arc oxidation* (MAO), è un processo elettrochimico superficiale per leghe leggere che permette di ottenere un rivestimento fatto da ossido, resistente e poco poroso. Attraverso la dissoluzione del metallo e la successiva formazione dell'ossido avviene la conversione da superficie metallica a ceramica, che migliora la barriera termica, la resistenza ad usura e la resistenza a corrosione. Il PEO, inoltre, è processo molto flessibile che consente un'ampia variazione di composizione, microstruttura, porosità e rugosità dei rivestimenti mediante modifica dell'elettrolita e dei parametri di processo.

La configurazione del processo PEO è simile a quella del processo di anodizzazione, in entrambi i casi infatti vengono collocati un anodo (il nostro campione) e un catodo all'interno di una soluzione elettrolitica; la differenza principale risiede nei parametri utilizzati, dato che nel PEO intervengono correnti più elevate, tali da consentire il superamento del potenziale di *breakdown*. Così facendo si verifica la generazione di numerose micro-scariche all'interfaccia tra elettrolita e superficie campione, con conseguente fusione del substrato e formazione del film ceramico protettivo. Una peculiarità di questo trattamento è la possibilità di poter inglobare le particelle presenti nell'elettrolita nel substrato, dando così la possibilità di poter avere differenti composizioni del film.

Per comprendere i meccanismi base sottesi a questo processo si devono riprendere i fondamentali e già conosciuti concetti dell'elettrolisi, essendo noto a tutti come quest'ultima, nelle soluzioni acquose, sia accompagnata da una serie di processi agli elettrodi: la liberazione di ossigeno gassoso e/o l'ossidazione metallica che avvengono sulla superficie anodica (a seconda dell'attività chimica dell'elettrolita rispetto al metallo, il processo di ossidazione può portare alla dissoluzione superficiale o alla formazione di un film di ossido) e la liberazione di idrogeno gassoso e/o la riduzione del catione che avvengono al catodo.

Il tipico set up per il PEO è costituito da un'unità di alimentazione ad alta tensione e da una cella elettrolitica. Quest'ultima di solito è composta da un bagno elettrolitico, normalmente raffreddato ad acqua, un elettrodo di lavoro (anodo), costituito dal nostro campione da trattare elettricamente collegato, e un contro elettrodo (catodo) che di solito è realizzato in acciaio.

Come elettrolita sono utilizzate nella maggior parte dei casi delle soluzioni acquose di sali, acidi o alcali a bassa concentrazione. Il layout di base e le reazioni degli elettrodi di un tipico processo PEO sono mostrati in Fig.1.1.

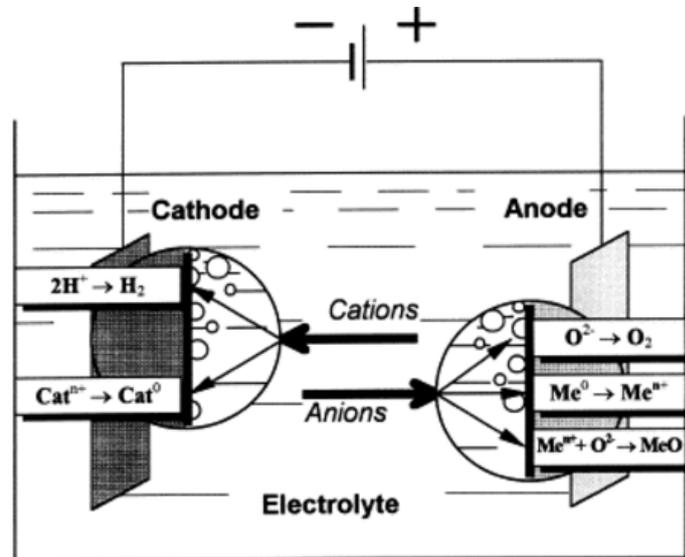


Fig. 1.1 Layout di base e reazioni degli elettrodi di un tipico sistema PEO

L'elettrolisi di soluzioni acquose nel caso di PEO presenta diversi processi agli elettrodi.

I comuni processi anodici comprendono: l'evoluzione dell'ossigeno (Eq. 1.1), l'ossidazione dei metalli (Eq. 1.2) e la dissoluzione della superficie o la formazione di un film di ossido anodico (che si verificano alternativamente a seconda dell'attività chimica dell'elettrolita) (Eq. 1.3). Si verificano invece sulla superficie del catodo: l'evoluzione dell'idrogeno (Eq. 1.4) e/o la riduzione dei cationi (Eq. 1.5).



L'osservazione dell'andamento della tensione nelle celle elettrochimiche nel corso del tempo, con mantenimento nelle stesse di una corrente costante, ci può fornire informazioni utili e misurabili sui diversi stadi che si verificano durante il PEO, come mostrato in Fig. 1.2. Generalmente, un processo PEO con corrente costante può essere diviso in quattro fasi distinte per la risposta tensione-tempo e le loro corrispondenti caratteristiche di scarica. Le analisi dello spettro possono essere utilizzate per ottenere informazioni su temperatura, densità e composizione chimica del plasma. Quando viene applicata la tensione, nella fase iniziale si ha la rapida formazione di un film iniziale di ossido isolante, accompagnata da un rapido aumento del potenziale fino a quando non si ottiene il *breakdown potential*. Durante questo periodo, non si ottiene alcun segno di scarica. Il PEO entra, quindi, nel secondo stadio quando viene superata la tensione di rottura, che porta alla formazione di numerose scintille che si spostano rapidamente sull'intera superficie del campione. Il segnale dell'OES (*optical emission spectroscopy*), utilizzato per studiare le scariche che avvengono durante il PEO, ha un aumento significativo dell'intensità che indica l'inizio di rottura dello strato di ossido, aumento della temperatura e successiva fusione locale del metallo del substrato nei punti di scarica. Nel frattempo, la velocità della variazione di tensione diminuisce. Il terzo stadio è caratterizzato da scariche mobili più grandi ma più lente e dalla crescita dello strato di ossido. Nella quarta fase, le scariche sono meno frequenti e appaiono come scintille relativamente grandi e di lunga durata a causa del rivestimento più spesso che causa più difficoltà nell'avvio di tali scariche.

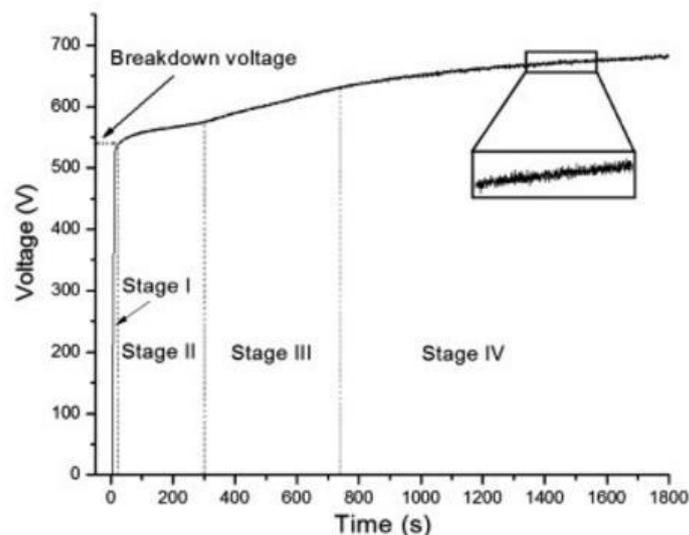


Fig. 1.2 Un tipico grafico tensione-tempo di un campione in lega di alluminio 6061 rivestito con il PEO

I fenomeni e i meccanismi che si verificano durante ogni fase del PEO e gli effetti risultanti sul comportamento di crescita dello strato di ossido sono diversi. I parametri di processo applicati possono modificare la durata e il rapporto di queste fasi che a loro volta potrebbero comportare rivestimenti con morfologia, microstruttura e composizione di fasi diverse. I principali fattori che influenzano la qualità del rivestimento PEO e quindi la resistenza alla corrosione sono: il potenziale applicato, la densità di corrente, il tempo, le proprietà del substrato, la geometria dell'elettrodo e la natura degli additivi dell'elettrolita (Fig. 1.3). La porosità influisce notevolmente sulla resistenza alla corrosione del rivestimento PEO. Il post-trattamento per sigillare i pori è un modo efficace per migliorare la sua resistenza alla corrosione. D'altra parte, questa proprietà può anche essere desiderabile, ad esempio in alcune applicazioni biomedicali di titanio e magnesio, quest'ultimi vengono rivestiti utilizzando il PEO con l'aggiunta di opportuni additivi all'interno dell'elettrolita migliorandone notevolmente la *biocompatibilità*.

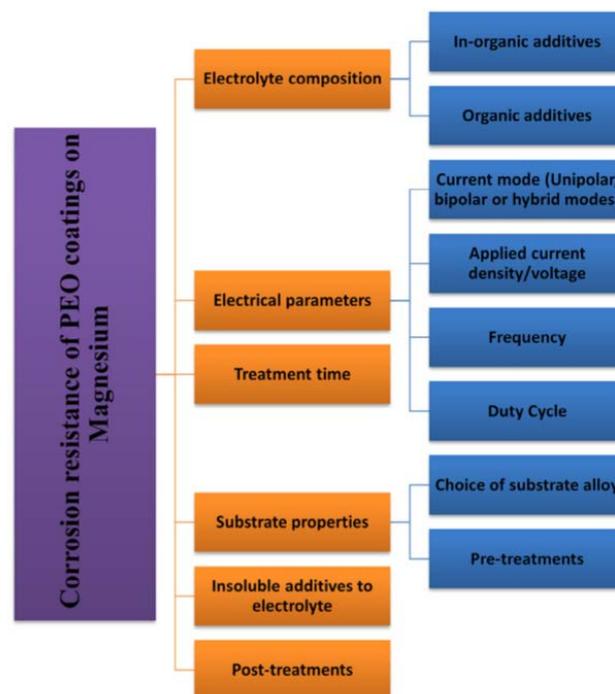


Fig. 1.3 Parametri efficaci nella resistenza alla corrosione dei rivestimenti PEO

Un altro fattore importante è la temperatura che deve essere calibrata in un range tra i 20° e 40°C in modo da evitare una riduzione eccessiva della durezza e dello spessore. [1,5,13]

1.2 Biocompatibilità e Biodegradabilità

La biocompatibilità di un materiale consiste nella caratteristica di stabilire interazioni non sfavorevoli con i sistemi viventi con i quali viene in contatto. La biocompatibilità è un requisito fondamentale, legato alla necessità di migliorare e/o ripristinare una determinata funzione biologica, senza interferire in modo dannoso con le normali attività fisiologiche. In particolare, la biocompatibilità dei metalli è legata alla loro possibile corrosione in ambiente biologico: i fluidi biologici hanno infatti un elevato potere corrosivo nei confronti dei metalli che, durante la corrosione, rilasciano ioni metallici con due possibili conseguenze:

- la perdita di funzionalità dell'impianto, dovuta al peggioramento delle proprietà meccaniche
- la contaminazione sia dei tessuti circostanti che dell'intero organismo, con ioni metallici spesso tossici, con danno anche grave per la salute del paziente



Fig. 1.4 Radiografia di un'anca di una donna di 80 anni con una protesi con una significativa dissoluzione e corrosione

La corrosione dei dispositivi metallici può essere evitata, o comunque limitata, impiegando opportune tecnologie di fabbricazione, soprattutto nella fase di finitura delle superfici: è così possibile ottenere impianti metallici dotati di ottima biocompatibilità e di elevata affidabilità nel tempo. I biomateriali metallici possono essere costituiti sia da metalli elementari che da leghe formate dalla combinazione, in diversa proporzione, di due o più elementi. Piccole quantità di metalli sono, generalmente, ben tollerate dall'organismo ed alcuni metalli come il ferro ed il cobalto risultano addirittura indispensabili per il funzionamento di fondamentali biomolecole, come le proteine dotate di gruppi eme e la vitamina B12. Tuttavia, tutti gli elementi metallici risultano dannosi per l'organismo quando sono presenti in quantità eccessiva.

I materiali metallici più usati sono:

- gl'acciai inossidabili
- le leghe di cobalto
- il titanio e le sue leghe

Alcuni di questi materiali hanno la capacità di passivarsi creando uno sottile strato di ossido protettivo che riduce, o addirittura impedisce, il rilascio di ioni potenzialmente tossici; tale rilascio può tuttavia avere luogo per effetto della rimozione degli strati superficiali di ossido.

Di recente però, si è cominciato a esaminare la possibilità di creare dei materiali biodegradabili. Attualmente, nella chirurgia muscolo-scheletrica, le piccole ossa fratturate o osteotomizzate sono stabilizzate usando il metodo dell'osteosintesi interna con viti, fili o placche in miniatura. La maggior parte di questi impianti interni sono realizzati con leghe metalliche permanenti o con polimeri degradabili. I materiali degradabili per impianti offrono possibili vantaggi come la necessità di non rimuovere l'impianto con un intervento chirurgico concomitante. Tuttavia, nonostante questi vantaggi, l'uso clinico di questi materiali polimerici è limitato a causa delle loro proprietà meccaniche limitate. Un nuovo approccio ai materiali temporanei per impianti può essere presentato da materiali metallici per impianti realizzati con leghe di magnesio. Quest'ultime, infatti, offrono un notevole vantaggio rispetto alle protesi tradizionali, infatti, si sono cominciate a studiare attivamente come materiali altamente biocompatibili per placche per ricostruzione ossea e stent cardiovascolari. I vantaggi dell'utilizzo delle leghe di magnesio sono numerosi: non è necessario un secondo intervento chirurgico per la rimozione dell'impianto, i periodi di degradazione sono più brevi e hanno migliori proprietà meccaniche rispetto alle alternative polimeriche. I materiali biodegradabili a base di magnesio inoltre sono utili per situazioni di crescita ossea, come ad esempio nel processo di sviluppo dei bambini, compreso il trattamento pediatrico di fratture o difetti congeniti.

Sono stati valutati anche impianti in lega di magnesio per le applicazioni muscoloscheletriche le quali hanno dato una risposta interessante da parte del tessuto osseo. Di contro, la loro scarsa resistenza alla corrosione può portare a due problemi:

1. La formazione di idrogeno gassoso come prodotto di degradazione che può interferire con il processo di guarigione
2. L'eccessiva velocità di perdita di peso della protesi che può influire sulla meccanica della stabilità delle placche per la ricostruzione ossea.

La velocità di degradazione delle leghe di magnesio può essere controllata selezionando una lega opportuna: una grande varietà di elementi in lega è stata studiata per migliorare il comportamento degli impianti al magnesio per applicazioni biomediche. Questi elementi forniscono rinforzo meccanico e/o migliorano la velocità di degradazione senza causare citotossicità. Ad esempio, Ca e Zn sono altamente biocompatibili e migliorano le proprietà meccaniche (duttilità e indurimento per invecchiamento) mentre l'Ag, pur essendo relativamente inerte alla corrosione se usato in concentrazioni inferiori all'1% in peso, migliora la resistenza a trazione e fornisce un ulteriore effetto antibatterico. Come strategia aggiuntiva per ridurre la velocità di degradazione, è possibile fare dei trattamenti superficiali quali:

- *plasma electrolytic oxidation*
- anodizzazione
- impianto di ioni
- rivestimenti sol-gel
- spruzzatura al plasma

Il PEO è una tecnica di anodizzazione avanzata che genera facilmente rivestimenti ceramici con composizione, microstruttura, porosità e rugosità controllato dai parametri elettrici del processo e della composizione dell'elettrolita. I rivestimenti PEO consentono anche un eccellente controllo della velocità di corrosione del magnesio, oltre ad un'ottima riduzione di costi di produzione rispetto ad altri trattamenti superficiali. Di conseguenza, si ottiene una superficie spessa e stabile sull'impianto, una caratteristica che provoca un aumento della risposta cellulare. D'altra parte, la progettazione di elettroliti è la chiave per incorporare elementi bioattivi nel rivestimento con i quali si è in grado di modulare la risposta biologica dell'osso, come la crescita delle ossa (osteoblasti) e il riassorbimento delle cellule ossee(osteoclasti). Un esempio sono i fosfati, i quali favoriscono l'integrazione di vari composti

nel rivestimento migliorando la resistenza alla corrosione. I silicati invece hanno un'importanza biologica per le caratteristiche di adesione, proliferazione, adesione cellulare e favoriscono la sintesi di mineralizzazione del collagene e della matrice. Alcuni studi hanno evidenziato l'importanza della presenza di Ca, P e Si mediante tecnica PEO e quindi della formazione del composto Mg_2SiO_4 che favorisce non solo l'adesione e la proliferazione delle BMSC (cellule stromali del midollo osseo) ma anche la osteoblastogenesi. Inoltre, la presenza di Si nell'elettrolita ha mostrato un aumento del rapporto Ca/P nel rivestimento.

La dissoluzione dello strato protettivo permette il rilascio di molecole utili sia alle cellule che aderiscono all'impianto, sia alle cellule presenti lì vicino nel microambiente. Il rilascio stesso di magnesio aumenta l'attività degli osteoblasti e la formazione di elementi quali fluorapatite (FA), idrossiapatite (HA) o altre apatiti che promuovono il processo di omeostasi nell'area della protesi. Precedenti studi, hanno dimostrato che l'incorporazione di Ca, P e F nell'elettrolita ha favorito la formazione di fluorapatite (FA) e idrossiapatite (HA) nel rivestimento e, al tempo stesso, ne ha aumentato lo spessore del rivestimento, favorendo la resistenza alla corrosione e i processi di adesione e proliferazione dell'osteoblasto umano.

Di notevole importanza è quindi la composizione chimica dell'elettrolita, con la quale si vuole ottenere un rivestimento contenente elementi bioattivi come le apatiti (nello specifico idrossiapatite). L'idrossiapatite è il componente più importante della matrice ossea arrivando a circa l'85% di quest'ultima. Consiste in cristalli aghiformi di lunghezza pari a 20-40 nm e spessore di 1,5-3 nm (Fig. 1.5).

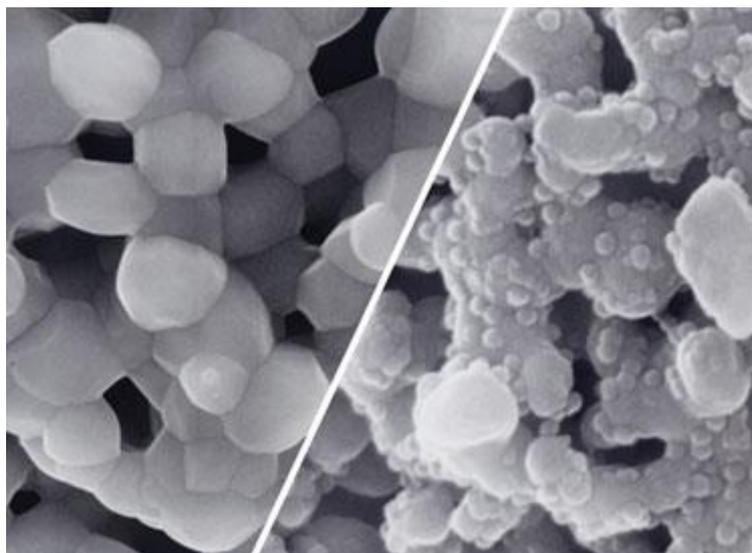


Fig. 1.5 Cristalli di idrossiapatite

La formula chimica è: $[Ca_{10}(PO_4)(OH)_2]$. L'Idrossiapatite ha un elevato modulo elastico (40÷117 GPa) rispetto ai tessuti biologici duri (caratterizzati dalla presenza di sostanze quali proteine e acqua), possiede un'eccellente biocompatibilità in quanto è capace di formare legami con i tessuti duri e, nel caso in cui all'interno dell'osso si inserisca un corpo la cui superficie è costituita da idrossiapatite artificiale, l'osso "riconosce" tale materiale avviando un processo di penetrazione di sostanze organiche.

Sono state provate varie tipologie di elettrolita per l'ottenimento di idrossiapatite utilizzando in aggiunta ai fosfati i silicati o i fluoruri. Si è rilevato che i fluoruri portano ad un rivestimento con un quantitativo di idrossiapatite elevato e sterilizzano l'area dai batteri; di contro, tuttavia, lo ione fluoruro risulta tossico qualora sia superata una certa soglia di concentrazione. Si è quindi optato per un elettrolita contenente silicati, i quali, come detto in precedenza, promuovono la vascolarizzazione e la rigenerazione ossea. [2,9,10,11,15]

2. MATERIALI E PARAMETRI DI PROCESSO

2.1 Lega di Magnesio AZ31

La caratteristica più importante del magnesio è probabilmente la sua densità, pari a $1,738 \text{ g/cm}^3$, che è la più bassa tra tutti i metalli strutturali; per tale motivo le sue leghe sono utilizzate laddove il peso assume un significato molto importante. La struttura cristallina del magnesio puro è esagonale compatta, è relativamente duttile e ha un basso modulo elastico (45GPa). A temperatura ambiente il magnesio e le sue leghe sono difficili da deformare e, in assenza di ricottura, si possono produrre solo piccole deformazioni a freddo. Di conseguenza, la produzione avviene per getto o per lavorazione a caldo a temperature comprese tra i 200° e 350°C (473 e 623K). Il magnesio, come l'alluminio, ha una modesta temperatura di fusione (651°C , 924K). Chimicamente, le leghe di magnesio sono relativamente instabili e soprattutto suscettibili alla corrosione.

Queste leghe si suddividono in leghe da fonderia e leghe da lavorazione plastica e alcune di esse possono essere trattate termicamente. I maggiori elementi di lega sono l'alluminio, lo zinco, il manganese e altri elementi delle terre rare. In particolare, la composizione della lega AZ31 utilizzata in questo studio è:

Elemento	Al	Zn	Cu	Ca	Mn	Si
%M	3,0	1,0	0,05	0,04	0,02	0,01

Tabella 2.1 Composizione lega AZ31

Per diverse applicazioni, le leghe di magnesio hanno sostituito i polimeri, dal momento che i materiali a base di magnesio risultano più rigidi e meno costosi.

Le leghe di magnesio sono potenzialmente un ottimo materiale biodegradabile per le sue proprietà meccaniche simili all'osso umano. Tuttavia, il principale svantaggio delle leghe di magnesio in questo campo è la bassa resistenza a corrosione, specialmente negli ambienti

elettrolitici. Oltretutto, il deterioramento delle leghe di magnesio porta sempre alla formazione dell'idrogeno e quindi all'alcalinizzazione della soluzione. La strategia migliore per risolvere il problema è utilizzare un trattamento superficiale che ne migliora le caratteristiche sia da un punto di vista meccanico sia da un punto di vista biologico, aumentandone la compatibilità e l'attività biologica. [8]

2.2 Attrezzatura di processo

Il processo PEO è stato effettuato utilizzando un alimentatore a corrente continua TDK-Lambda con capacità di 300V/8A.



Fig. 2.1 Attrezzatura per il processo PEO

La temperatura dell'elettrolita è stata mantenuta costante attraverso un bagno termostato come mostrato in Fig. 2.1.

I campioni di forma rettangolare o triangolare sono stati preparati lucidandoli con carte di SiC fino ad una grana di 1200P, successivamente sono stati puliti utilizzando acqua e sgrassati con acetone (Fig. 2.2).

La cella elettrolitica è costituita da un catodo a forma di gabbia in acciaio e come anodo si usa il provino in esame.



Fig.2.2 Campione lucidato e sgrassato

2.3 Parametri di Processo

Le composizioni degli elettroliti prese in esame in questo studio sono riassunte nelle tre tabelle 2.2, 2.3 e 2.4:

Composto	Concentrazione [g/L]
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	50,0
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	50,0
NaOH	40,0

Tabella 2.2 Composizione chimica dell'elettrolita per rivestimento PEO normale [1N]

Composto	Concentrazione [g/L]
NaF	5,0
Na ₂ SiO ₃ *5H ₂ O	5,0
C ₃ H ₉ O ₆ P	25,0

Tabella 2.3 Composizione chimica dell'elettrolita per rivestimento PEO biodegradabile

Composto	Concentrazione [g/L]
KOH	1,0
Na ₃ PO ₄ *12H ₂ O	10,0
CaO	2,9
Na ₂ SiO ₃ *5H ₂ O	8,0

Tabella 2.4 Composizione chimica dell'elettrolita per rivestimento PEO biodegradabile

La composizione della Tabella 2.2 è stata utilizzata per ottenere un rivestimento PEO normale [1N] e quindi non bioattivo. Si sono quindi prodotti campioni con questo elettrolita per avere dei provini di riferimento.

Le composizioni delle Tabella 2.3 e 2.4 riportano invece gli elettroliti utilizzati per produrre campioni con un rivestimento PEO biodegradabile [2B, 3B].

Gl'altri parametri di processo utilizzati per le tre diverse composizioni sono stati:

Elettrolita N°	Temperatura [°C]	Intensità di corrente [A/cm ²]	Tensione [V]	Tempo [min]
1N	15	0,50	120-140	1:15
2B	20	0,40	80-90	1:30
3B	37	0,50	180-220	1:30

Tabella 2.5 Parametri di temperatura, corrente, tensione e tempo per i diversi elettroliti

Alla fine del processo PEO i campioni sono stati lavati ed asciugati per prepararli alle successive analisi. [2,5,7]

2.4 XRD

La diffrazione ai raggi X (X Ray Diffraction, XRD) è una metodologia per l'analisi mineralogica di campioni di diversa natura. Negli ultimi decenni, grazie a strumentazioni di elevata precisione ma di semplice utilizzo cui si interfacciano software sempre più sofisticati, la diffrazione a raggi X ha trovato un enorme utilizzo in diversi campi scientifici e tecnologico-applicativi. Attualmente, il diffrattometro a raggi X è considerato uno strumento di base per l'identificazione e lo studio di materiali solidi. Ciò è dimostrato dalla grandissima diffusione di tale strumentazione nei laboratori di molti istituti di ricerca, delle università e dell'industria. Quando un fascio di raggi X colpisce un materiale solido a struttura cristallina (ovvero formato da atomi disposti in maniera ordinata secondo un reticolo), provoca la vibrazione degli elettroni che circondano un singolo atomo e comportandosi da dipoli oscillanti, emettono radiazione elettromagnetica di lunghezza d'onda λ in tutte le direzioni. Le onde diffuse possono interferire sia in modo distruttivo che costruttivo; l'interferenza costruttiva avviene in direzioni specifiche, ossia quando i raggi X sono riflessi da una famiglia di piani atomici reticolari paralleli ed equidistanti e consiste nel fatto che i raggi X si rinforzano reciprocamente (Fig. 2.3). Ciò si verifica solo quando la differenza di cammino ottico della radiazione tra piani cristallini adiacenti è pari ad un numero intero di lunghezze d'onda. Tale condizione è stabilita e descritta dalla legge di Bragg:

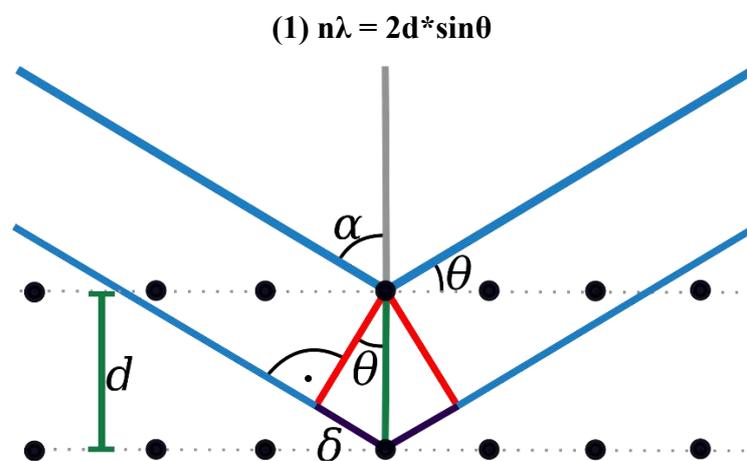


Fig. 2.3 Rappresentazione grafica della Legge di Bragg

dove:

- n è un numero intero che indica l'ordine della riflessione;
- λ è la lunghezza d'onda dei raggi X incidenti;
- d è la distanza tra i piani cristallini paralleli;
- θ è l'angolo di incidenza dei raggi X rispetto ai piani considerati;

Quando i raggi X sono quindi in concordanza di fase, perché diffratti da famiglie di piani reticolari secondo la legge di Bragg (1), si genera uno spettro caratteristico di macchie di diffrazione (Fig. 2.4) che possono essere registrate da un rivelatore, e commutate in un diffrattogramma o spettro di diffrazione; questo è un diagramma bidimensionale, con una serie di picchi o riflessi relativi a differenti intensità I (riportati in ordinata) e posizioni angolari 2θ (riportati in ascissa) caratteristici di ogni singola fase.

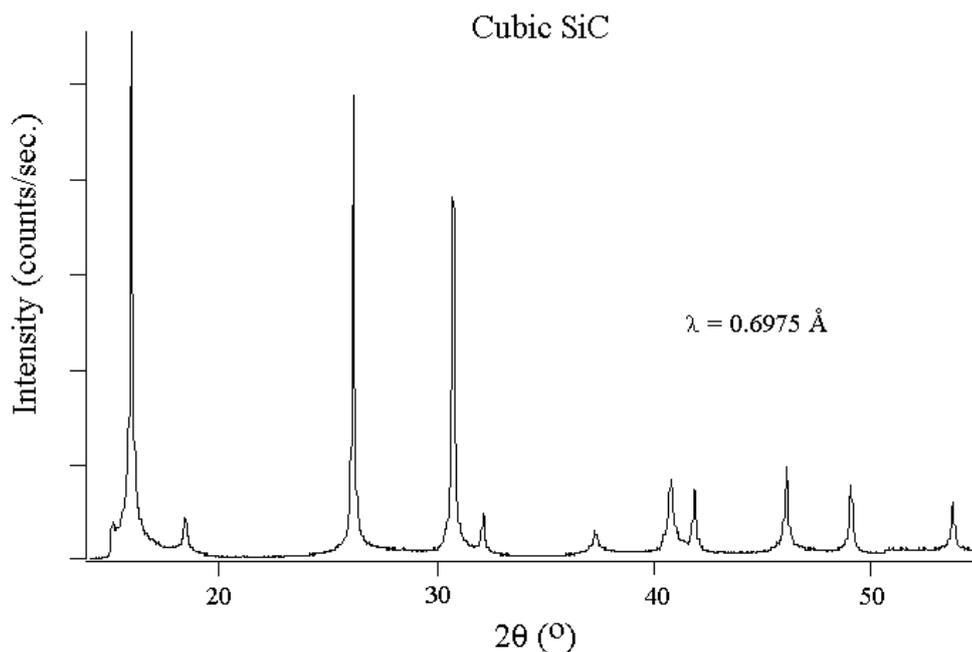


Fig. 2.4 Esempio di diffrazione raggi X ottenuti su SiC cubico (carburo di silicio)

Conoscendo la lunghezza d'onda (λ) della radiazione utilizzata (legata al tipo di anodo metallico presente nel tubo a raggi X) e il valore angolare (2θ) dei raggi emessi, è possibile risalire alle distanze dei piani reticolari d che hanno dato luogo al fenomeno di diffrazione e quindi alla natura delle fasi presenti. Ogni spettro diffrattometrico è specifico per ogni fase cristallina e definisce in maniera univoca la specie analizzata. [3,4,6,10]

2.5 SEM

La Microscopia Elettronica a Scansione (SEM) non sfrutta i fotoni della luce come la microscopia ottica ma un fascio di elettroni che colpisce il campione. Grazie alla lunghezza d'onda degli elettroni, di molto inferiore rispetto a quella dei fotoni, il potere di risoluzione di un microscopio elettronico a scansione è nettamente superiore rispetto a quella di un microscopio ottico. Inoltre anche la profondità di campo di un SEM è molto più elevata consentendo immagini perfette anche per campioni tridimensionali (con uno spessore elevato). Le componenti fondamentali di un microscopio elettronico a scansione sono:

- sistema di vuoto;
- sorgente e sistema di accelerazione per la produzione di elettroni liberi ad alta energia;
- insieme di lenti elettromagnetiche per la focalizzazione del fascio elettronico sulla superficie del campione;
- sistema di bobine per imporre la scansione del fascio elettronico sulla superficie del campione;
- rivelatori per i cari effetti prodotti dall'interazione fra l'elettrone e la materia;
- sistema elettronico di trattamento e conversione del segnale rivelato in segnale televisivo.

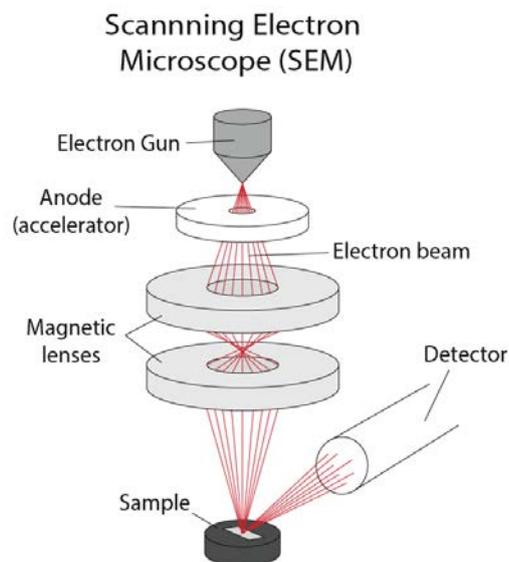


Fig. 2.5 Rappresentazione schematica del SEM

La sorgente di elettroni di un microscopio elettronico a scansione può essere un filamento di tungsteno, oppure nei SEM da banco più sensibili e performanti un filamento di Esaboruro di Lantanio (LaB_6) o di Cerio (CeB_6). Il campione viene mantenuto sotto vuoto per evitare che l'aria disturbi la creazione del fascio di elettroni. Il campione deve essere conduttivo, altrimenti produrrebbe cariche elettrostatiche che disturberebbero la rivelazione del segnale. Nel caso di campioni non conduttivi, essi possono essere metallizzati con degli apparecchi specifici (Sputter Coater) o più semplicemente, nei microscopi elettronici SEM che lo consentono, analizzati in basso vuoto con dei portacampioni adatti, con il metodo chiamato “*charge reduction*”.

Gli elettroni partono dal cannone, dove sono prodotti dalla sorgente elettronica, vengono accelerati da un anodo posto a potenziale positivo rispetto la sorgente, e giungono sulla superficie del campione posto nella camera. Nella camera sono situati, generalmente, i cari rivelatori che raccolgono i diversi segnali generati dall'interazione fra gli elettroni primari e la materia. Il vuoto deve essere tale affinché la probabilità di urto fra gli elettroni del fascio e le molecole residue all'interno della colonna e della camera sia trascurabile.



Fig. 2.6 SEM utilizzato per le analisi

I vantaggi del SEM sono:

- alta risoluzione;
- alti ingrandimenti;
- alta profondità di campo;
- facile preparazione del campione;

Inoltre, è possibile effettuare delle analisi EDX che permettono di quantificare in maniera precisa gli elementi presenti nella zona studiata. Le micrografie analizzate per questo studio sono state ricavate attraverso elettroni retrodiffusi che forniscono informazioni sulla composizione dei domini a diversa natura chimica ed elettroni secondari che permettono di ricavare informazioni topografiche ad alta risoluzione. Gli ingrandimenti utilizzati sono stati 200 500 X. [3,4,6,10]

2.6 Polarizzazione anodica

Dopo aver eseguito le varie analisi microstrutturali si è passati all'analisi della resistenza a corrosione dei campioni. La polarizzazione anodica è uno dei tre metodi utilizzati in questo lavoro per verificare la velocità di degradazione di un metallo.

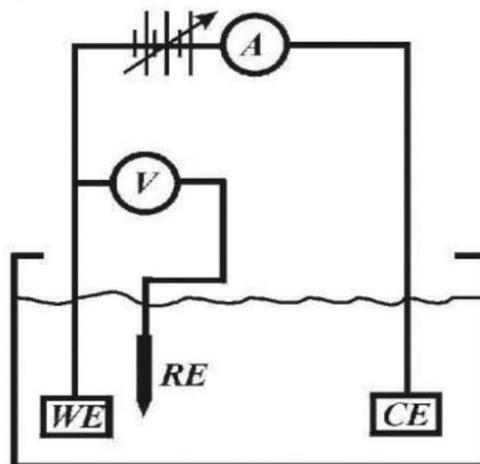


Fig. 2.7 Schema a tre elettrodi per polarizzazione anodica e spettroscopia

Il modello utilizzato è composto, come mostrato in Fig. 2.7, da una soluzione elettrochimica nella quale vengono immersi tre elettrodi diversi. La soluzione utilizzata è una soluzione acquosa con 0,1M di Na_2SO_4 e 0,05 M di NaCl

I tre elettrodi adoperati invece sono:

- il *contro elettrodo* ha il segno opposto al l'elettrodo del campione e non se ne misura né il potenziale né la corrente, in questo studio è stata utilizzata una gabbia di platino. Ha

il compito di chiudere il circuito e di fornire un potenziale di riferimento rispetto al quale è possibile misurare il potenziale dei campioni. Esso ha un potenziale di +1,190 V vs SHE

- il *working electrode* è il campione stesso posto frontalmente al contro elettrodo e se ne misura potenziale e corrente. Per comodità di misura il provino viene smaltato per lasciare 1 cm².
- l'*elettrodo di riferimento* ha un potenziale elettrodico fissato e stabile e quello utilizzato è un elettrodo a Calomelano saturo (SCE). Il calomelano è il cloruro mercurioso Hg₂Cl₂ che ha un valore di potenziale rispetto a SHE di +0,24 V e contiene una soluzione saturata di KCl. La reazione che avviene è: $\text{Hg}_2\text{Cl}_2 + 2\text{e}^- = 2\text{Hg} + 2\text{Cl}^-$

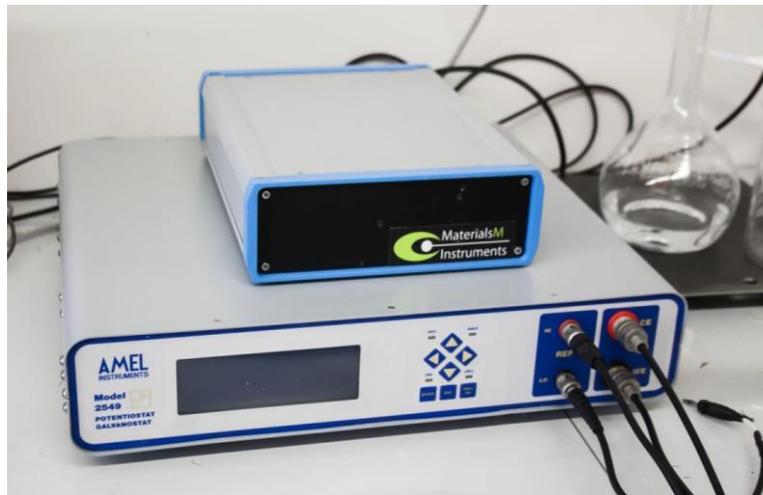


Fig. 2.8 Il potenziostato Amel Model 2049

Prima di cominciare la prova vera e propria si inizia col misurare il potenziale a circuito aperto cioè l'OCV che sarà il potenziale di partenza della prova. Per calcolare il potenziale di fine test si utilizza la seguente formula: $1,5\text{V} - |\text{OCV}|$.

Ad inizio prova il potenziale aumenta in modo lineare con il tempo e in un grafico si registrano i valori di tensione e quello di risposta della corrente. Il potenziostato mantiene la d.d.p. costante durante tutta la durata del test. Infine, con i dati ottenuti si possono costruire delle curve di polarizzazione come quella di Fig. 2.9. La peculiarità di queste curve è di avere un ramo catodico (per $E < E_{\text{rev}}$) e quello anodico (per $E > E_{\text{rev}}$) i due rami coincidono rispettivamente con il tratto catodico della curva di polarizzazione del processo catodico e con quello anodico della curva del processo anodico. [5]

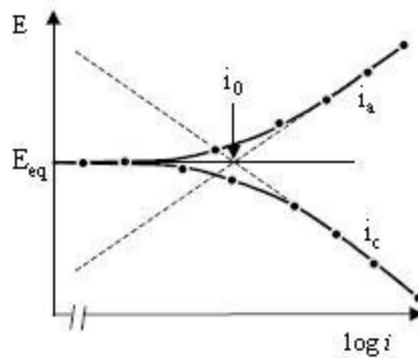


Fig. 2.9 Curve di polarizzazione

2.7 Spettroscopia d'Impedenza

La prova di impedenza viene svolta principalmente per due motivi:

- nel caso di rivestimenti che isolano totalmente da un punto di vista elettrico, come ad esempio i campioni verniciati, attraverso la prova di polarizzazione anodica non è possibile ottenere la curva potenziodinamica e quindi capire il comportamento del rivestimento
- permette di ottenere informazioni quantitative, oltre che qualitative

Il test viene svolto in configurazione a tre elettrodi come per la polarizzazione anodica e con la stessa soluzione (0,1M di Na_2SO_4 e 0,05 M di NaCl).

Il procedimento della prova prevede di andare a determinare, attraverso il potenziostato collegato agli elettrodi, il potenziale a circuito aperto e, successivamente, andare a oscillare intorno a questo potenziale con una certa ampiezza, variando la frequenza di oscillazione. Il valore che viene registrato è l'impedenza, che è una grandezza elettrica. Per svolgere la misurazione viene utilizzato uno strumento apposito, a cui deve essere precedentemente fornito il potenziale a circuito aperto, l'ampiezza di oscillazione voluta e l'intervallo di frequenze da scansionare.

Essendo l'impedenza un numero complesso, i dati ottenuti possono essere riportati in un grafico, detto di Nyquist, dove l'ordinata è rappresentata dal modulo della parte immaginaria dell'impedenza e l'ascissa dalla parte reale. La curva risultante è un semicerchio posto nel primo quadrante. Il valore dell'intersezione del semicerchio con l'asse delle x, ovvero la parte reale

dell'impedenza corrispondente, è una misura della resistenza a corrosione opposta dallo strato di ossido o dal rivestimento. Quindi, maggiore è il raggio del semicerchio e maggiore è la resistenza alla corrosione.

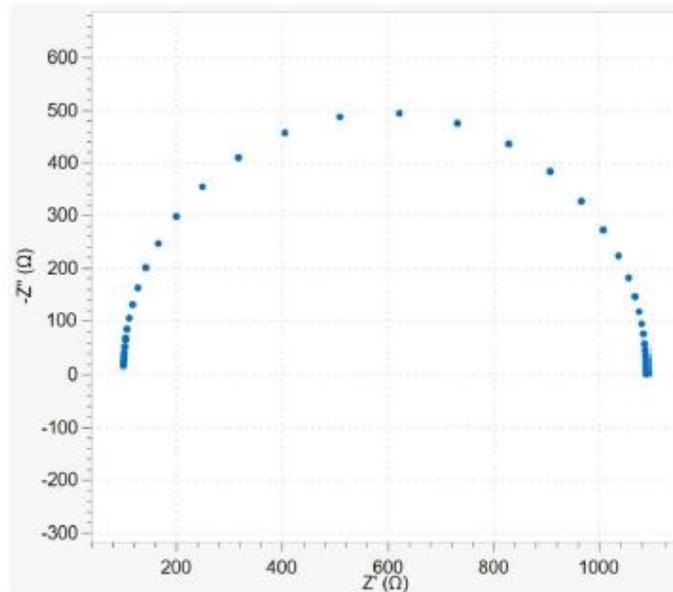


Fig.2.10 Tipico diagramma Nyquist

I dati possono essere visualizzati anche in un diagramma dove viene visualizzato il modulo dell'impedenza rispetto la frequenza di oscillazione, detto diagramma di Bode. In questo caso, la resistenza che il materiale oppone alla corrosione è indicata dall'intersezione della curva con l'asse y.

Come già detto, la prova permette di ricavare informazioni quantitative, che si ottengono andando a fittare i dati sperimentali con degli opportuni circuiti equivalenti. Questa operazione viene fatta utilizzando il programma Zview.

I circuiti equivalenti sono dei circuiti elettrici che vanno a simulare il comportamento elettrochimico della cella che viene testata. Nel caso di rivestimenti monostrato, si può utilizzare un circuito semplice, già presente nella funzione *autofit* del programma, formato da una resistenza posta in serie ad un'altra resistenza e a un *constant phase element* messi in parallelo. Quest'ultimo tenderà a comportarsi come un condensatore o come una resistenza a seconda del valore assunto da un esponente che lo caratterizza.

All'interno del circuito la resistenza in serie indica la resistenza dell'elettrolita, mentre i due elementi posti in parallelo esprimono la resistenza dello strato di ossido, il cui valore numerico esprime la resistenza del materiale alla corrosione. [5]

3. RISULTATI

3.1 Analisi Microstrutturale

3.1.1 XRD

La prima analisi effettuata sui diversi campioni è la diffrazione ai raggi X. In tutti i campioni sono stati individuati i picchi del magnesio, causati dal riflesso del substrato, nonché i picchi dell'ossido di magnesio (MgO) e della forsterite (Mg_2SiO_4); questo è dovuto alla conversione da superficie metallica a ceramica durante il processo PEO.

Il provino 1N presenta anche il trifosfato pentasodico $Na_5P_3O_{10}$, essendo quest'ultimo presente all'interno dell'elettrolita (Fig. 3.1).

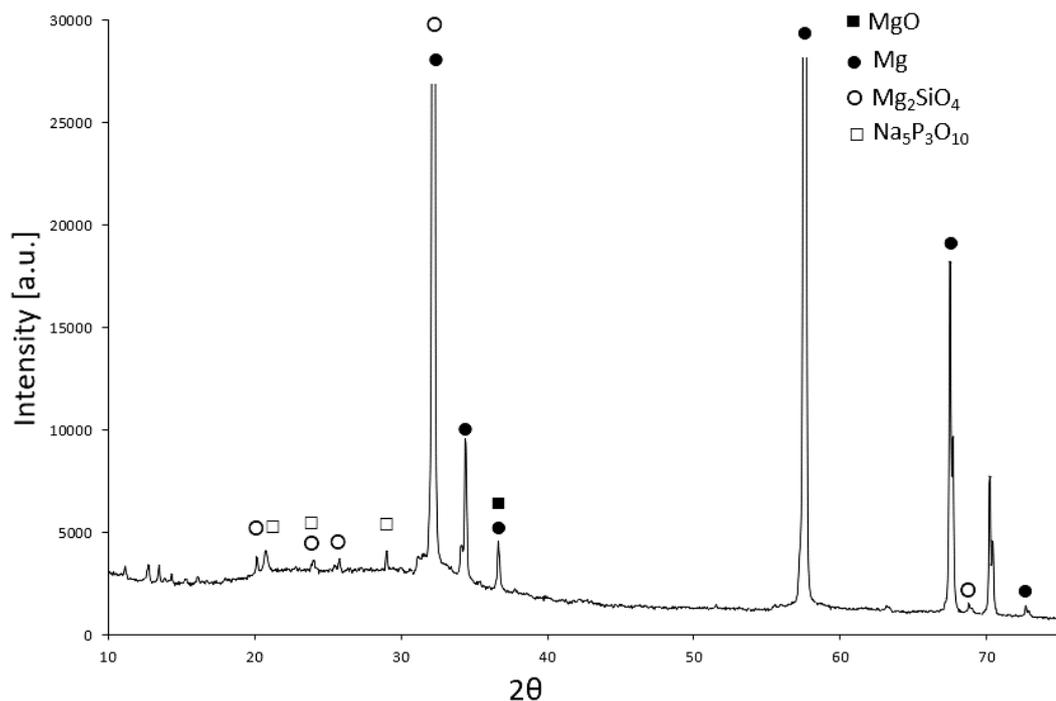


Fig. 3.1 XRD PEO Normale [1N]

Il campione 2B è il primo campione su cui è stato utilizzato un elettrolita contenente additivi per migliorare la biocompatibilità del provino. Dall'esame dei picchi raccolti dall'XRD si può

notare la presenza, in aggiunta ai composti di magnesio trovati per il provino 1N, anche dell'idrossiapatite.

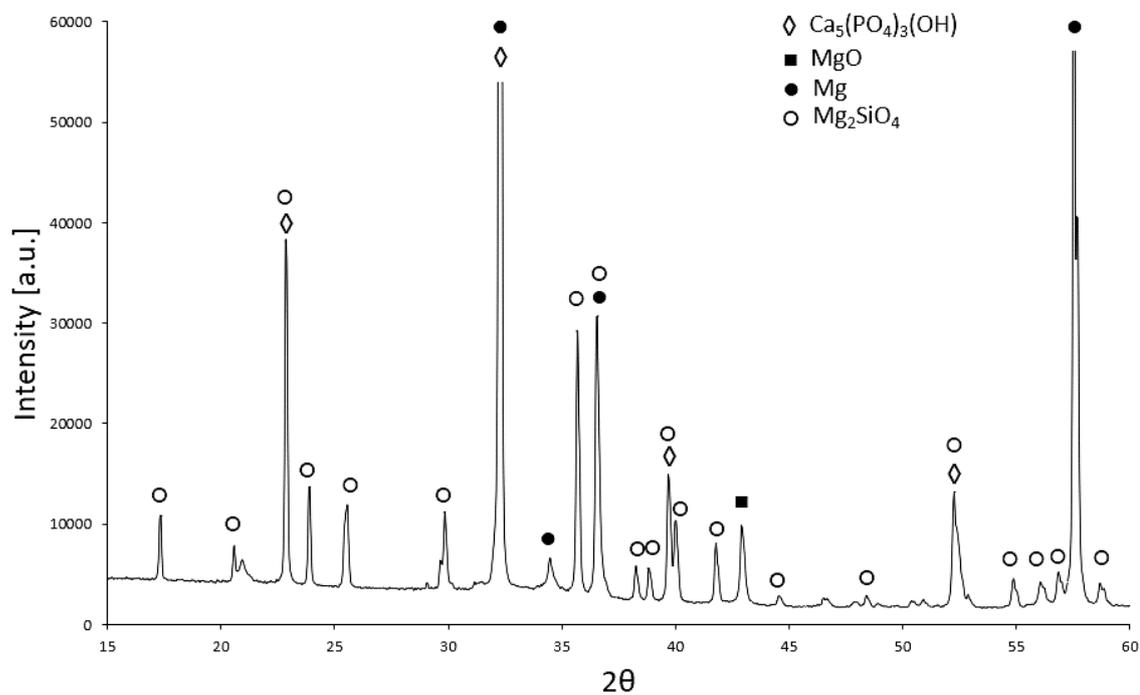


Fig. 3.2 XRD PEO Glicerolo [2B]

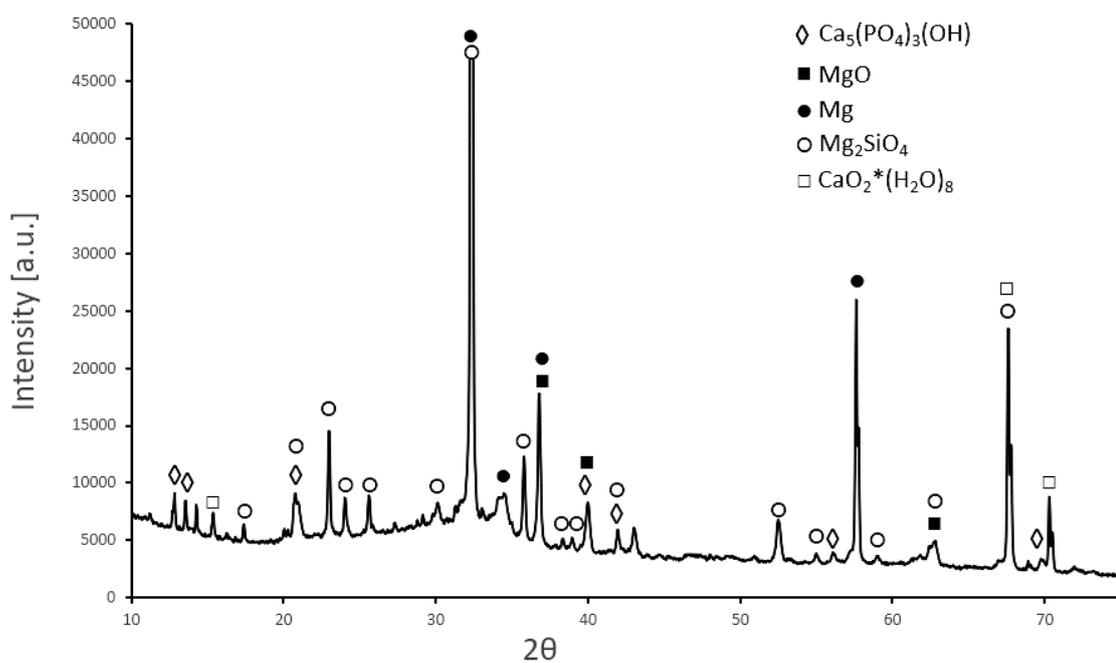


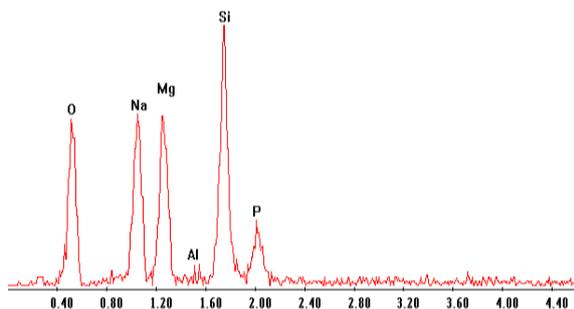
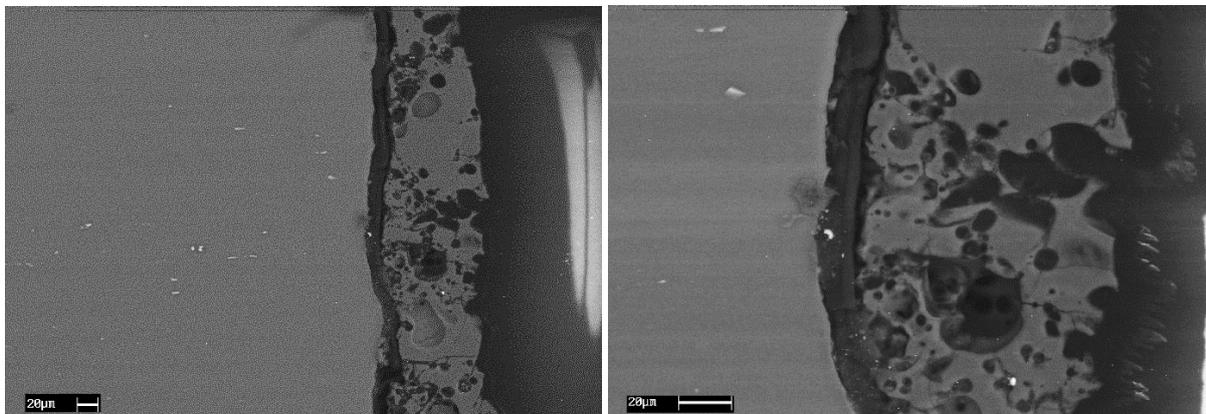
Fig. 3.3 XRD PEO Biodegradabile [3B]

Come per il campione precedente anche per il campione 3B si riscontrano i picchi dell'idrossiapatite. Di notevole importanza, poi, sono i picchi dei silicati, che promuovono la biocompatibilità e la osteogenesi. Si riscontra inoltre la presenza del picco di ossido di calcio sempre importante nella osteointegrazione.

Da questa analisi il campione PEO biodegradabile risulta il più promettente per applicazioni per protesi biorisorbibili e di conseguenza sarà quello su cui ci si concentrerà la caratterizzazione dei campioni. [2,5]

3.1.2 SEM

Per caratterizzare meglio le superfici si è passati successivamente all'analisi tramite microscopio elettronico a scansione (SEM) sia delle sezioni trasversali che delle superfici dei campioni:



Elemento	Wt %
O	38,71
Na	17,12
Mg	17,71
Al	0,59
Si	20,16
P	5,71

Fig. 3.4 Micrografia ed analisi composizionale della sezione del PEO normale [1N]

Dalle immagini ottenute al SEM del campione 1N, possiamo vedere come il PEO sia caratterizzato da due strati: uno più denso e compatto a contatto con il provino e uno poroso e meno denso sopra quello precedente. Come mostra la Fig. 3.4, l'analisi ottenuta su un campione di PEO normale evidenzia la presenza nel substrato di elementi quali magnesio, ossigeno, sodio, silicio e fosforo; la presenza del magnesio deriva dal provino stesso, mentre l'ossigeno è presente a causa della formazione dello strato ceramico. Il resto degli elementi deriva dalla soluzione elettrolitica e dai composti che si formano a causa delle interazioni tra la soluzione e il substrato.

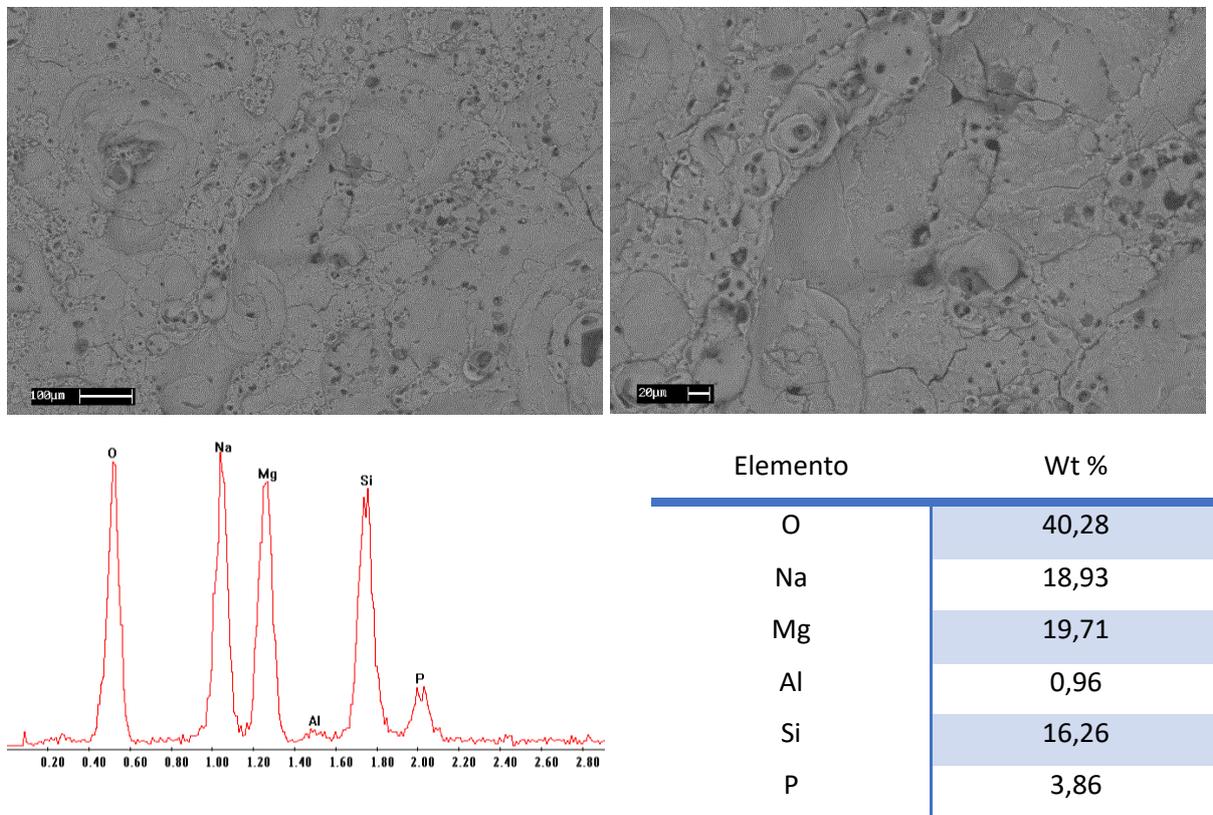


Fig. 3.5 Micrografia ed analisi composizionale superficie del PEO normale [1N]

L'analisi della superficie del campione 1N conferma i risultati visti in sezione in termini di composizione. La presenza dell'alluminio, seppur in piccola quantità, è determinata dalla composizione della lega del provino, che presenta una percentuale di alluminio pari al 3%.

Dalle foto con i diversi ingrandimenti si può notare la caratteristica porosità del rivestimento PEO, che riveste una notevole utilità in caso di adesione cellulare.

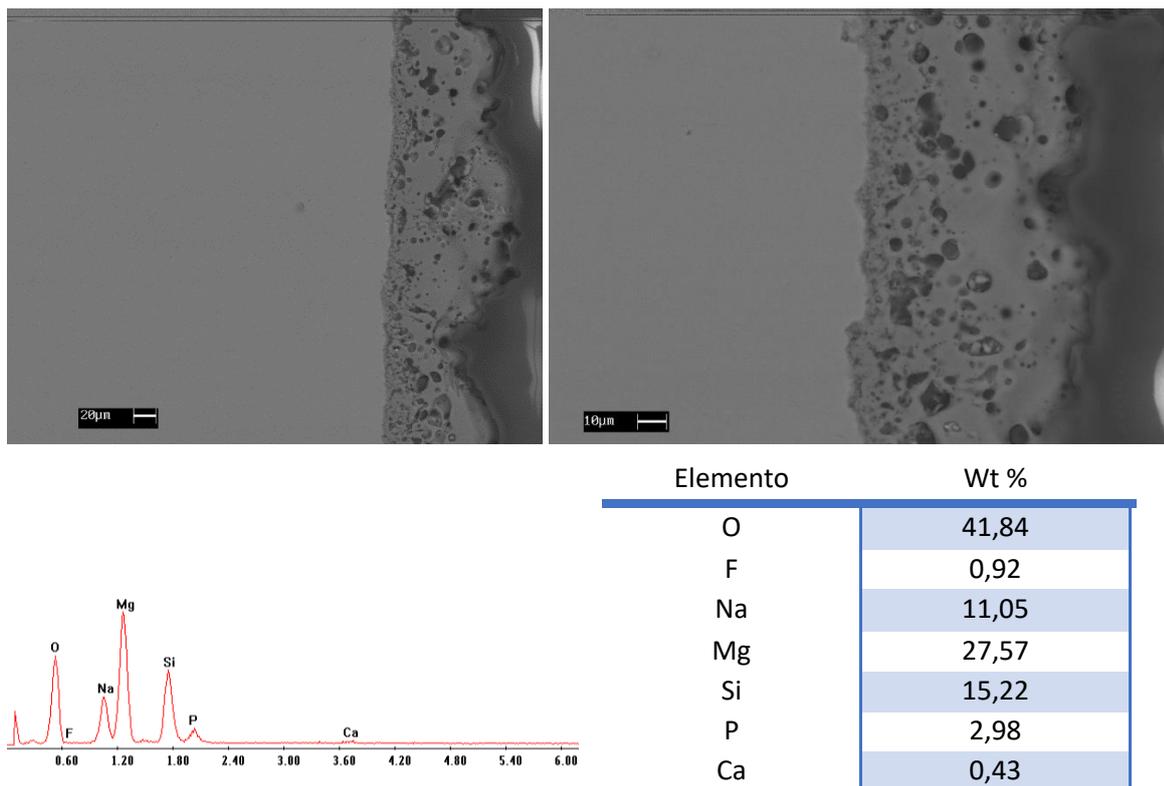


Fig. 3.6 Micrografia ed analisi composizionale della sezione del PEO con glicerolo [2B]

La micrografia di Fig. 3.6 mostra la sezione del provino 2B preparato con una soluzione contenente glicerolo. Osservando le immagini possiamo riscontrare anche qua il doppio strato tipico del PEO che risultano essere però più compattoti e regolari del provino 1N.

La presenza di fluoruro e di calcio nel substrato di tale provino costituisce la principale differenza rispetto al precedente campione. Il calcio, in particolare, seppur presente in piccole quantità, consente comunque la formazione di un discreto quantitativo di idrossiapatite ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$), che aiuta la biointegrazione del materiale; quanto ai fluoruri, essi possono risultare importanti per la loro funzione antibatterica e la loro capacità di favorire il processo di osteogenesi, sebbene in concentrazioni più alte risultino tossici. La presenza di fosfati favorisce poi l'adesione e la proliferazione cellulare. I silicati, invece, promuovono la vascolarizzazione e la rigenerazione delle ossa, come nel caso della molecola Mg_2SiO_4 . Lo ione calcio una volta degradato dalla superficie del campione può creare migliaia di legami con diverse proteine favorendone le funzioni. Per facilitare la formazione di idrossiapatite si è osservato che il rapporto Ca/P deve essere il più alto possibile (circa 1 nei casi migliori); nel caso del provino 2B abbiamo Ca/P uguale a 0,14.

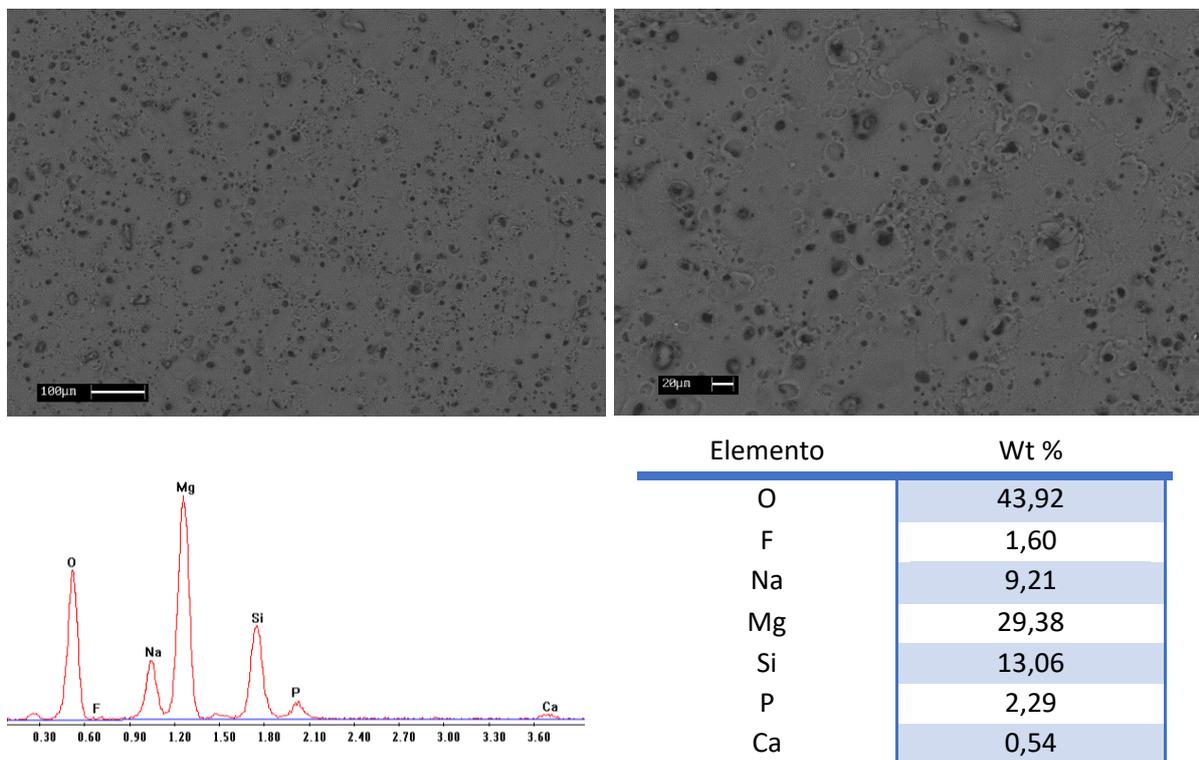


Fig. 3.7 Micrografia ed analisi composizionale della superficie del PEO con glicerolo [2B]

Dalle immagini si può notare la tipica porosità del rivestimento PEO più regolare del provino 1N. La micrografia superficiale invece, vede un piccolo aumento del quantitativo di calcio, essenziale nella formazione di idrossiapatite. Il rapporto Ca/p è pari a 0,24.

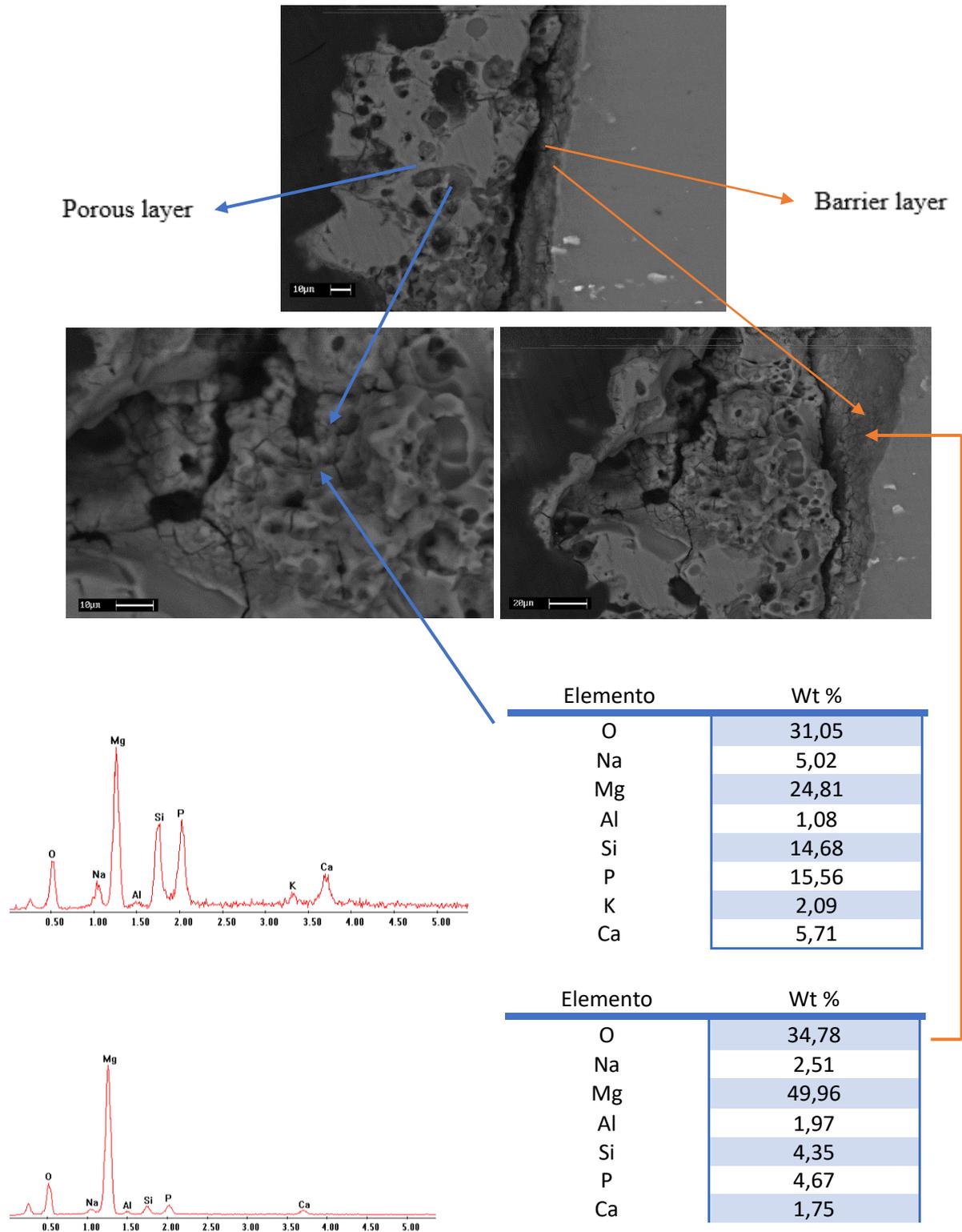


Fig. 3.8 Micrografia ed analisi composizionale del *porous layer* e del *barrier layer* del PEO

Bio [3B]

Come mostrato in Fig. 3.8, per il provino 3B, sono state svolte delle analisi puntuali del *porous layer* e del *barrier layer*. Oltre ad evidenziare la presenza di entrambi gli strati caratteristici del processo PEO, attraverso queste analisi composizionali, si è potuto notare come il contenuto di calcio vari di molto tra le due zone mentre il rapporto Ca/P rimane pressochè uguale. Nella zona più vicino al provino cioè il *barrier layer*, abbiamo un quantitativo di calcio pari al 1,75% in peso e un rapporto Ca/P di circa 0,37, mentre per il *porous layer* arriviamo a ben 5,71% in peso di calcio con un rapporto di Ca/P sempre di 0,37.

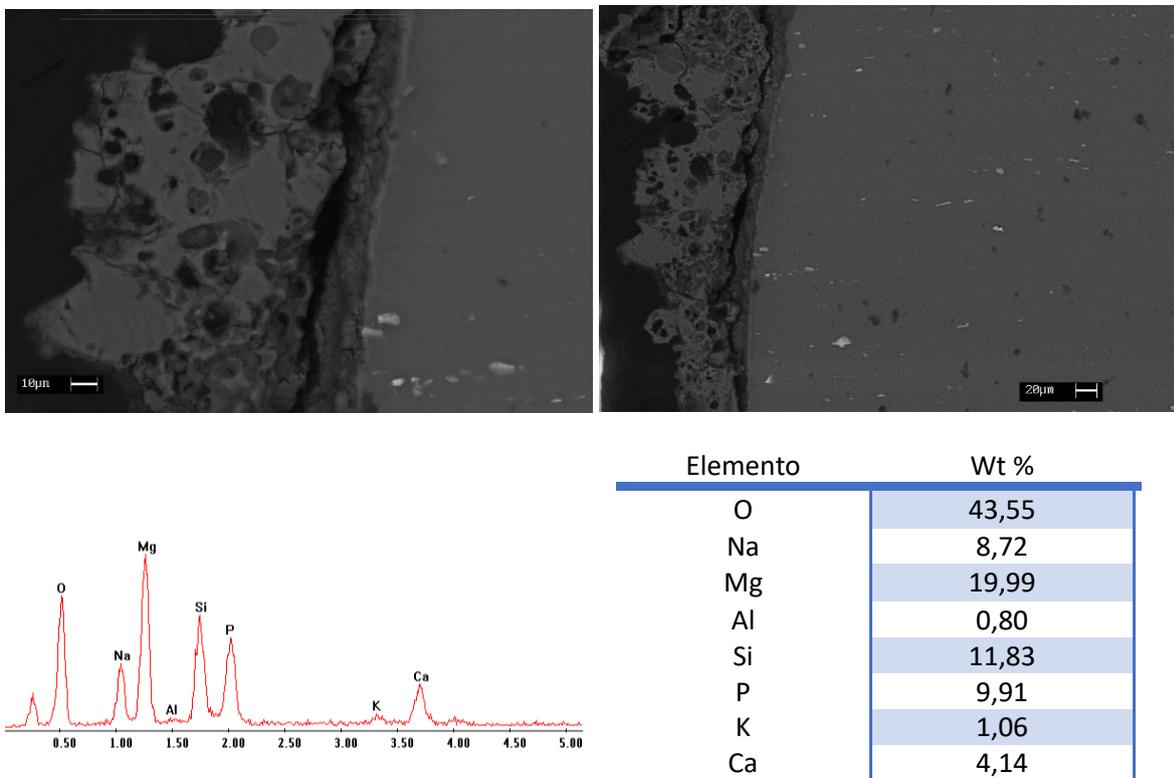


Fig. 3.9 Micrografia ed analisi composizionale della sezione estesa del PEO Bio [3B]

L'analisi del campione 3B (Fig. 3.9), se si confronta con il provino 2B, rivela un quantitativo maggiore di calcio rispetto, con conseguente aumento dell'idrossiapatite nel substrato. Come il provino 2B, anche questo campione contiene gli importantissimi silicati e fosfati, preziosi per la biocompatibilità.

Il rapporto Ca/P è di circa 0,42. Più è alto questo rapporto, più aumenta le probabilità di avere la formazione di idrossiapatite. [2]

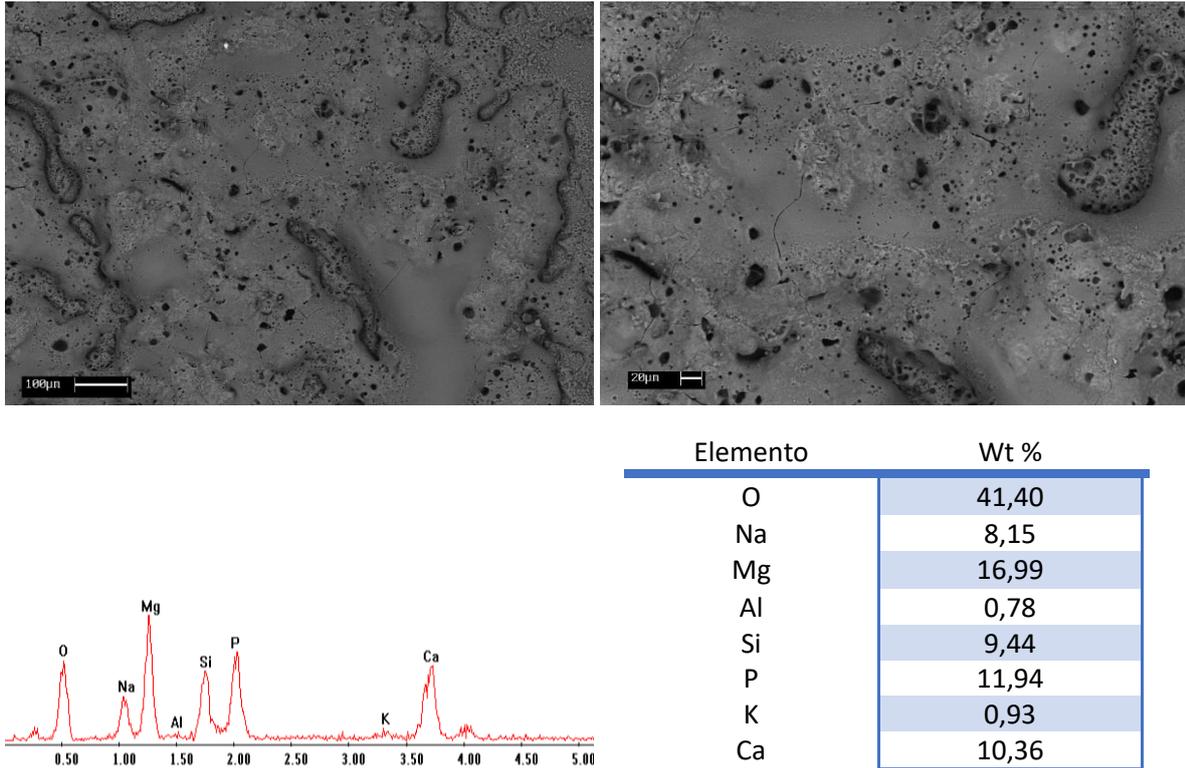


Fig. 3.10 Micrografia ed analisi composizionale della superficie del PEO Bio [3B]

Dalla micrografia superficiale del campione 3B si può notare l'elevata quantità di calcio presente sulla superficie del substrato. Anche il rapporto Ca/P risulta maggiore (circa 0,87) non solo rispetto al campione 2B, ma anche rispetto a tutte le altre micrografie fatte sul campione 3B stesso. Tutte queste evidenze sottolineano l'esistenza, nel nostro film protettivo, di un gradiente di idrossiapatite, che, più alto negli strati più esterni, diminuisce gradualmente spostandosi verso l'interfaccia provino-substrato. Questa caratteristica può aumentare notevolmente la biocompatibilità del campione, infatti, le cellule rimarranno in contatto principalmente con gli strati più esterni del rivestimento, cioè quelli più ricchi di idrossiapatite che inoltre, presentano la peculiarità di essere porosi e quindi di favorire ulteriormente l'adesione cellulare al substrato.

Rispetto al campione 2B, il campione 3B si è dimostrato migliore sotto diversi punti di vista :

- ha un quantitativo di Ca superiore di un ordine di grandezza;
- il rapporto Ca/P è superiore (di circa 1 nel caso della micrografia superficiale), il che facilita la formazione di idrossiapatite nel campione 3B;
- la finitura superficiale risulta più compatta e omogenea.

A seguito di tali constatazioni si quindi è proceduto con la sola caratterizzazione dei provini 3B, in quanto più idonei allo scopo di questo studio. Per proseguire la caratterizzazione di quest'ultimi, si è utilizzato come riferimento dei provini non rivestiti o rivestiti con PEO standard. [2,5,11,14]

3.2 Polarizzazione Anodica

Una volta conclusa l'analisi microstrutturale si è passati alla polarizzazione anodica per caratterizzare la resistenza a corrosione di tre provini diversi:

- il *tal quale* campione di riferimento senza nessun tipo di rivestimento;
- il *PEO* campione con un rivestimento PEO standard;
- il *PEOBIO* campione con il rivestimento PEO biocompatibile;

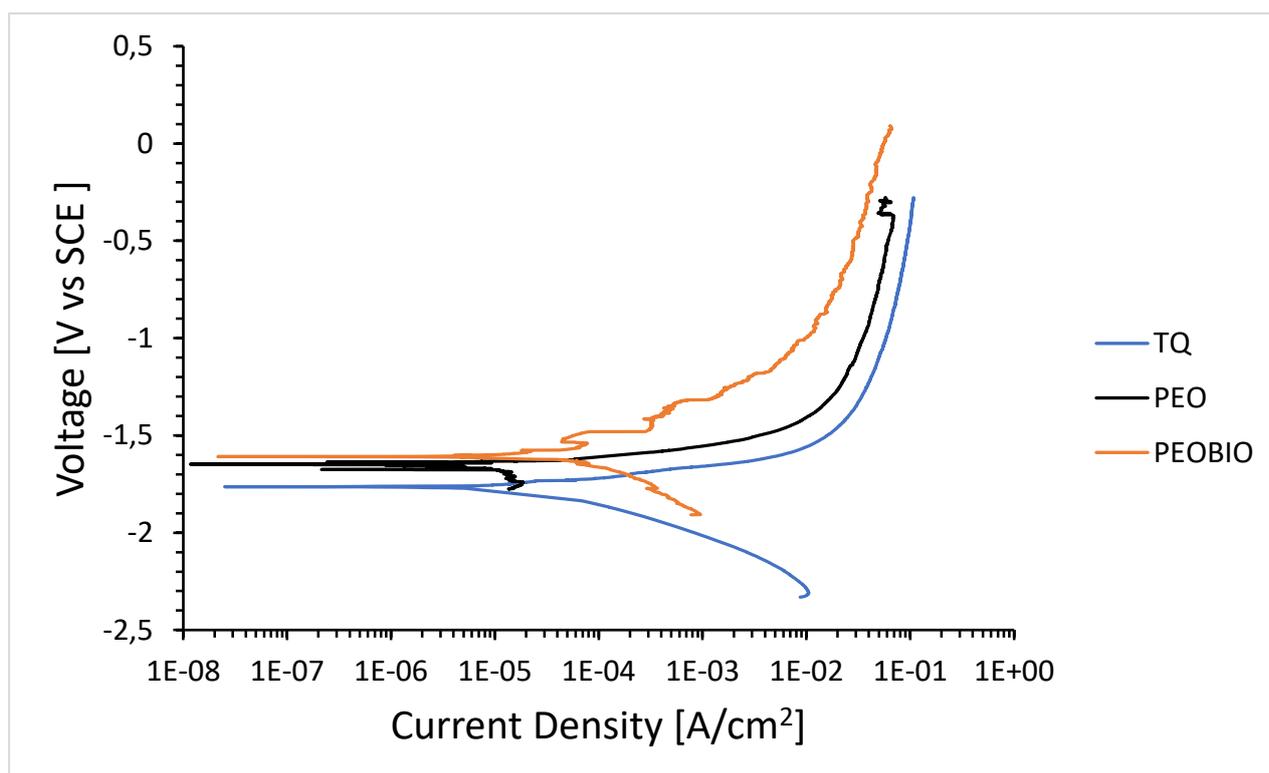


Fig. 3.11 Curva di polarizzazione anodica

Dai grafici possiamo notare come abbiamo un miglioramento minimo nel potenziale di corrosione per i provini con un rivestimento rispetto al provino *tal quale*. Lo stesso vale per le correnti di corrosione, essendo quella del PEO standard persino inferiore a quella del PEOBIO

(Tabella 3.1). Del resto tale risultato era prevedibile considerando la superficie porosa e l'assenza di trattamenti di sealing dei pori, in questo caso indesiderati visto lo scopo del lavoro. Il fatto che il nostro provino con rivestimento biocompatibile abbia una resistenza a corrosione inferiore rispetto a quella del provino prodotto con il PEO standard si presenta come un vantaggio per lo scopo di questo lavoro; l'obiettivo del rivestimento studiato, infatti, è quello di rallentare la degradazione della lega ma non di impedirla, in modo tale che le protesi si possano riassorbire in un lasso di tempo accettabile una volta finito il loro scopo. Il rilascio di molecole bioattive, a causa della degradazione del nostro substrato, è una parte fondamentale del lavoro. [10,11]

	E_{corr} [V]	i_{corr} [A/cm ²]
TQ	-1,76	$3,97 \cdot 10^{-5}$
PEO	-1,65	$1,18 \cdot 10^{-5}$
PEOBIO	-1,61	$2,94 \cdot 10^{-5}$

Tabella 3.1 Potenziali di corrosione e correnti di corrosione dei provini

3.3 Spettroscopia d'Impedenza

Per approfondire l'analisi sulla resistenza alla corrosione dei campioni si è svolta una prova di spettroscopia d'impedenza elettrochimica. Il sistema utilizzato è analogo a quello della polarizzazione anodica, lo stesso vale per la soluzione in cui si è svolta la prova.

Il diagramma di Nyquist di Fig. 3.12 mostra come le curve dei campioni sottoposti al processo PEO siano notevolmente superiori a quella del provino *tal quale*. Entrambe le curve esibiscono curve più grandi di almeno un ordine di grandezza.

Sono state utilizzate due tipi di configurazioni di circuito per fittare i dati: un circuito semplice per il provino non trattato e uno più complesso per i provini sottoposti al processo PEO come si riscontra in letteratura a causa della presenza del doppio strato superficiale composto dal: *porous layer* e del *barrier layer* (Fig. 3.13, Fig. 3.14) [5].

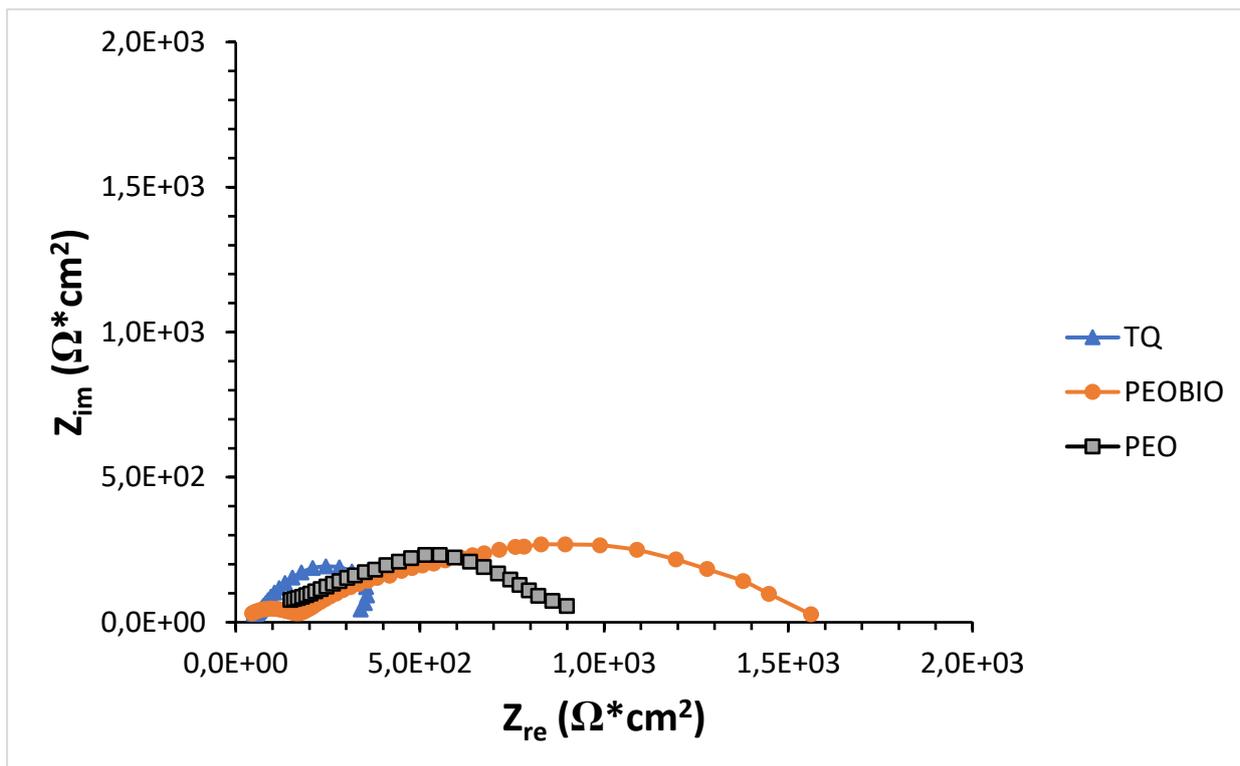


Fig. 3.12 Prove di impedenza per i tre campioni: tal quale, con rivestimento PEO e PEO biodegradabile

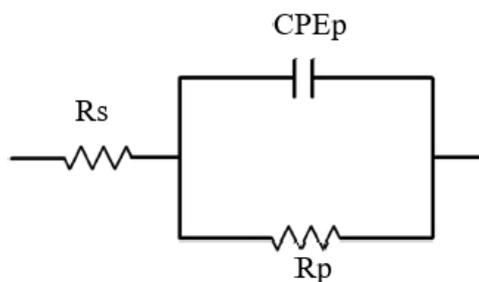


Fig. 3.13 Circuito utilizzato per il campione non trattato

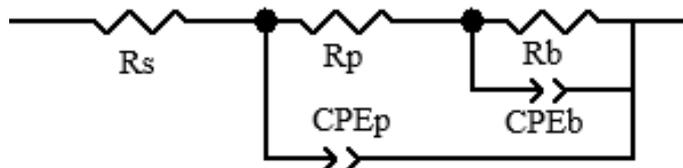


Fig. 3.14 Circuito utilizzato per i due campioni con rivestimento

	Tal Quale	PEO	PEOBIO
Rs (Ω/cm^2)	44	45	45
Rp (Ω/cm^2)	462	257	103
Rb (Ω/cm^2)		480	877
CPE1-T	$2,05 \cdot 10^{-5}$	$1,56 \cdot 10^{-6}$	$1,56 \cdot 10^{-6}$
CPE1-P	0,70	0,74	0,93
CPE2-T		$3,91 \cdot 10^{-6}$	$9,10 \cdot 10^{-4}$
CPE2-P		0,86	0,55
χ^2		0,0034	0,0058

Tabella 3.3 Dati fitting dei campioni

Anche dalla tabella 3.3 possiamo confermare la miglior resistenza a corrosione da parte dei provini PEO e PEOBIO rispetto al provino *tal quale*, infatti, le resistenze dei due campioni con rivestimento sono superiori al campione non trattato. Il PEOBIO risulta avere una resistenza doppia del PEO standard, a causa di uno spessore maggiore del *coating*. In entrambi i casi abbiamo un ordine di grandezza superiore al provino non trattato. [5,10,12]

3.4 Perdita in Peso

Per osservare la velocità di degradazione dei campioni in condizioni più simili a quella reale e non accelerata in modo elettrochimico, si sono svolte delle prove di perdita in peso. Lo svolgimento prevede l'immersione dei campioni all'interno di una soluzione SBF (*simulated body fluid*) per un determinato periodo di tempo a temperatura costante e la misurazione del peso dei campioni stessi con determinate scadenze. La prova di riferimento è consistita nella misurazione della perdita di peso di un campione di lega di magnesio senza rivestimento e di quella di un diverso campione con rivestimento PEO.

Sono state scattate delle foto al microscopio con il passare del tempo per verificare a livello visivo lo stato di andamento della corrosione nei due provini (Fig. 3.16, Fig.3.17, Fig. 3.18, Fig. 3.19). Tali immagini possono essere confrontate con quelle dei campioni prima dell'immersione riportate in Fig. 3.15.

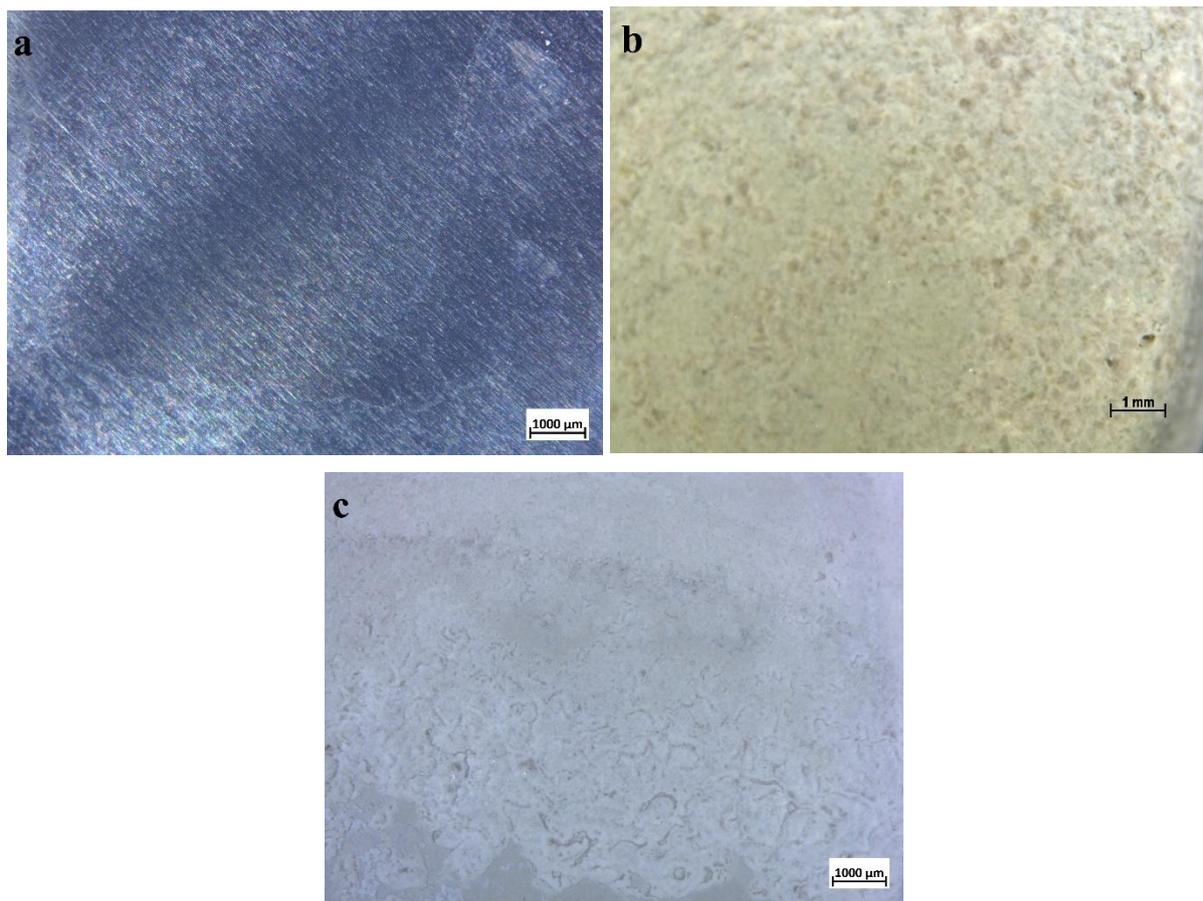


Fig. 3.15 Fotografie dei campioni a 0 ore di: **a** provino senza rivestimento, **b** rivestimento PEO, **c** rivestimento PEOBIO

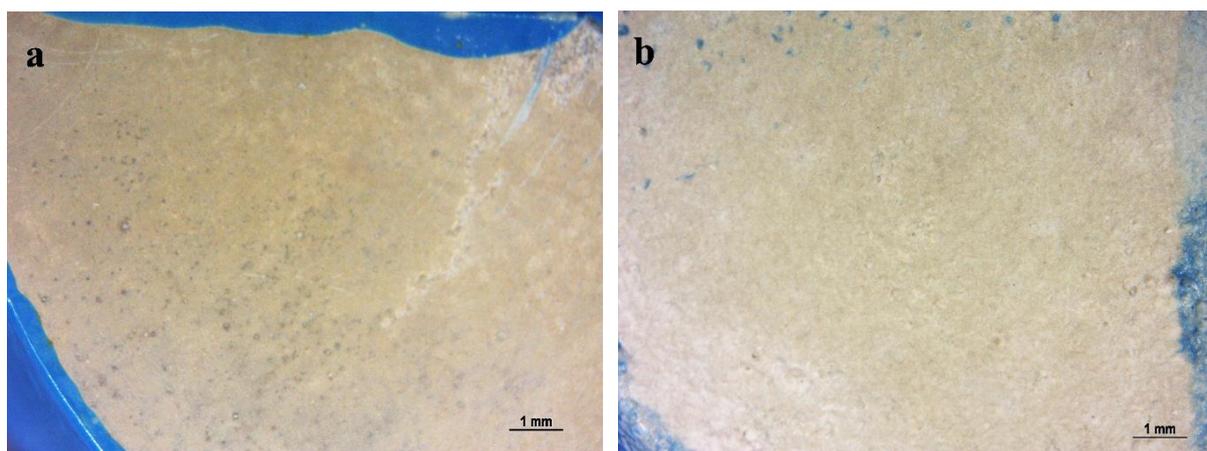


Fig. 3.16 Fotografie campioni dopo 48 ore di immersione (**a** senza rivestimento, **b** rivestimento PEO)

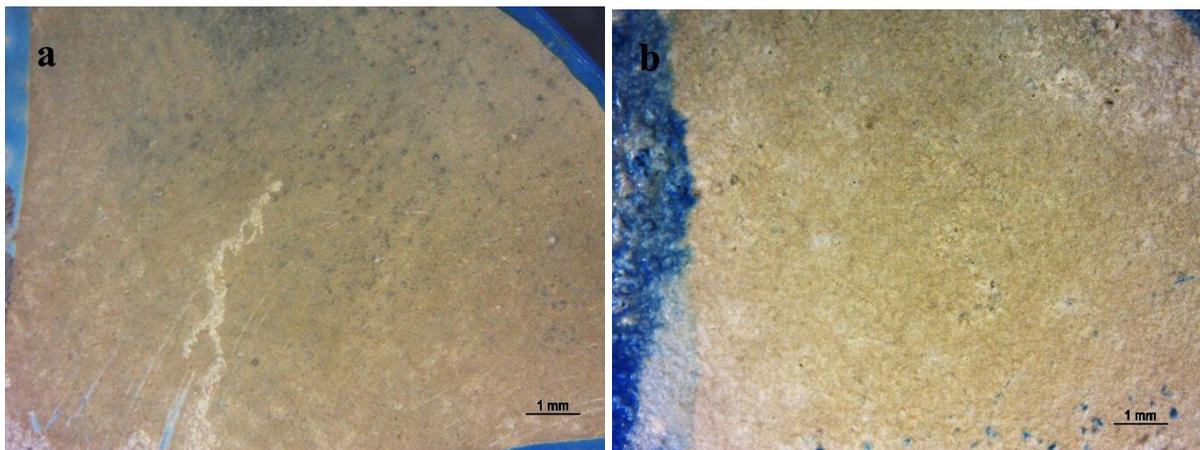


Fig. 3.17 Fotografie campioni dopo una settimana di immersione
(**a** senza rivestimento, **b** rivestimento PEO)

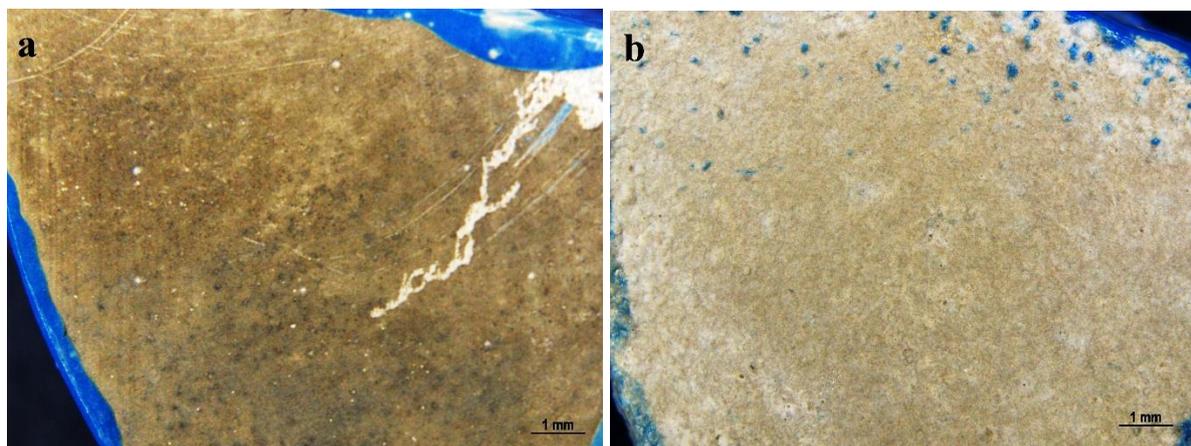


Fig. 3.18 Fotografie campioni dopo due settimane di immersione
(**a** senza rivestimento, **b** rivestimento PEO)

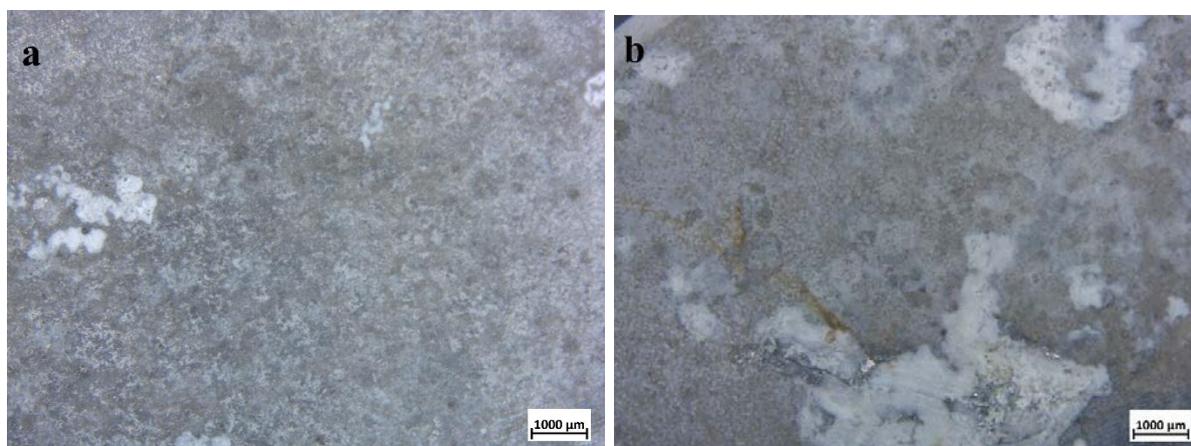


Fig. 3.19a Fotografie campioni dopo due settimane di immersione
(**a** senza rivestimento, **b** rivestimento PEO)

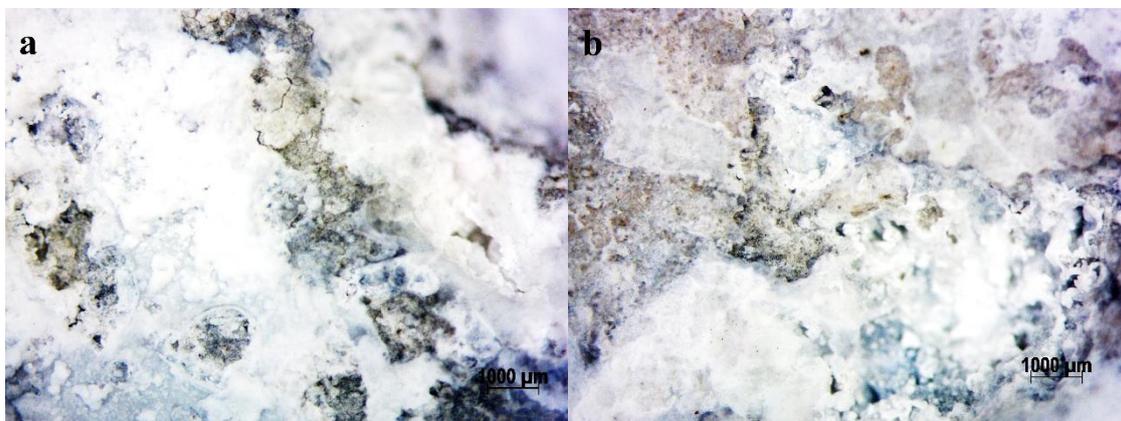


Fig. 3.19b Fotografie campioni dopo due mesi di immersione
(**a** senza rivestimento, **b** rivestimento PEO)

	MgSR [g]	Perdita di Peso [g/cm ²]	Perdita di Peso [%]	MgPEO[g]	Perdita di Peso [g/cm ²]	Perdita di Peso [%]
0 ore	4,32892	/	/	4,36683	/	/
1 settimana	4,32645	0,00247	0,06	4,36601	0,00082	0,02
2 settimane	4,32335	0,00557	0,13	4,36537	0,00146	0,03
1 mese	4,32051	0,00841	0,22	4,36317	0,00366	0,08
2 mesi	4,31174	0,01718	0,40	4,35865	0,00818	0,19

Tabella 3.3 Valori di perdita di peso di un campione senza rivestimento (MgSR) e uno con rivestimento PEO (Mg PEO)

Come evidenziato dalla tabella 3.2 il provino senza rivestimento si è degradato molto più velocemente del provino PEO, confermando i dati raccolti dalle prove di polarizzazione anodica e di spettroscopia d'impedenza.

Si è svolta questa prova per una seconda volta mettendo a confronto sempre un campione privo di rivestimento con uno avente un rivestimento PEO biodegradabile nelle stesse condizioni della precedente prova (Fig. 3.20, Fig.3.21, Fig. 3.22, Fig. 3.23).

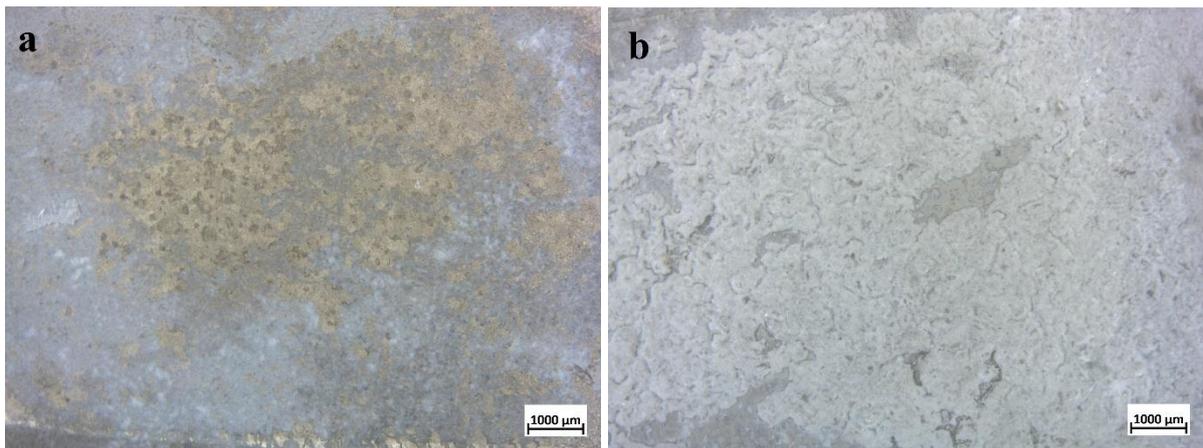


Fig. 3.20 Fotografie campioni dopo 48 ore di immersione
(**a** senza rivestimento, **b** rivestimento PEO biodegradabile)

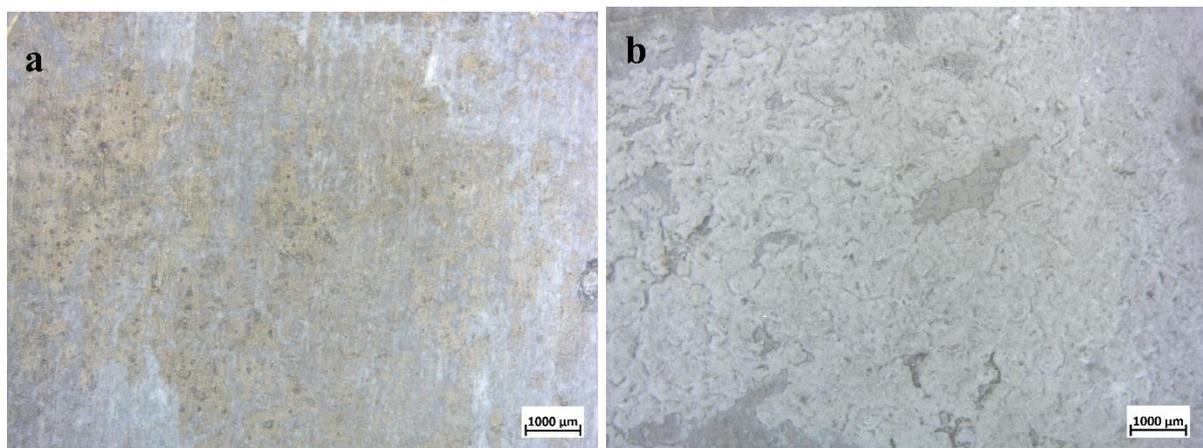


Fig. 3.21 Fotografie campioni dopo una settimana di immersione
(**a** senza rivestimento, **b** rivestimento PEO biodegradabile)

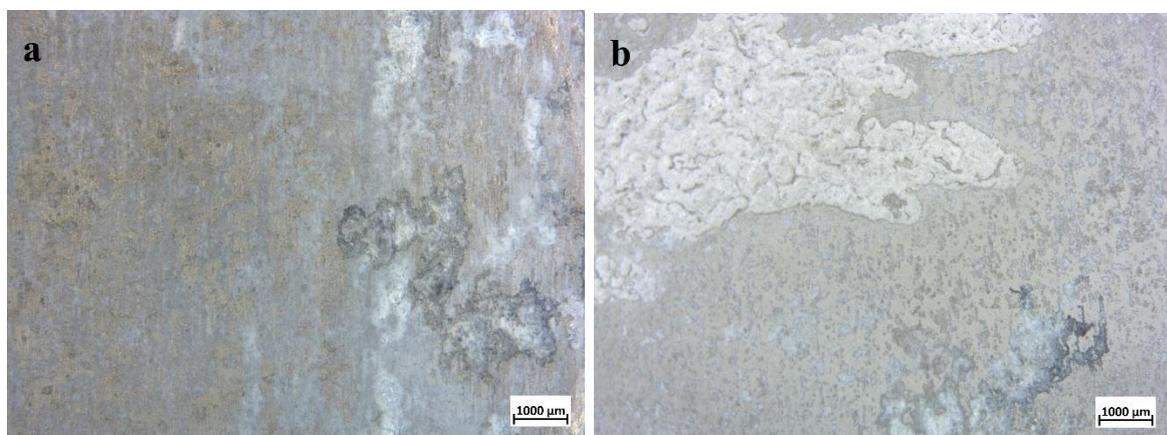


Fig. 3.22 Fotografie campioni dopo due settimane di immersione
(**a** senza rivestimento, **b** rivestimento PEO biodegradabile)

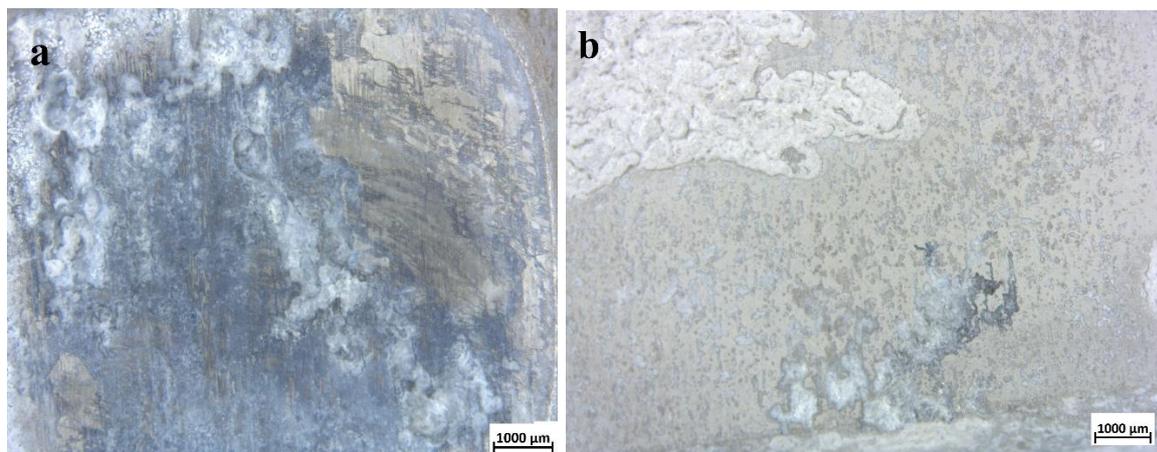


Fig. 3.23 Fotografie campioni dopo due mesi di immersione (a senza rivestimento, b rivestimento PEO biodegradabile)

	MgSR [g]	Perdita di Peso [g/cm ²]	Perdita di Peso [%]	MgPEOBIO[g]	Perdita di Peso [g/cm ²]	Perdita di Peso [%]
0 ore	3,11965	/	/	4,11096	/	/
1 settimana	3,11710	0,00255	0,08	4,11030	0,00066	0,02
2 settimane	3,11556	0,00409	0,13	4,10963	0,00133	0,03
1 mese	3,11139	0,00826	0,26	4,10679	0,00417	0,10
2 mesi	3,10402	0,01563	0,50	4,10143	0,00953	0,23

Tabella 3.4 Valori di perdita di peso di un campione senza rivestimento (MgSR) e uno con rivestimento PEO biocompatibile (Mg PEOBIO)

Anche il campione con il rivestimento biocompatibile si degrada più lentamente di quello senza rivestimento. Mentre nelle prime due settimane la perdita di peso del campione MgPEOBIO è equiparabile a quella del MgPEO, con il passare del tempo il rivestimento biocompatibile degrada più velocemente del provino MgPEO. Ancora una volta questo fattore è una caratteristica apprezzata per questo lavoro in quanto è richiesto l'ottenimento di superfici che nel tempo rilascino ioni e molecole che favoriscano la guarigione e che in un tempo non troppo esteso si degradino completamente.

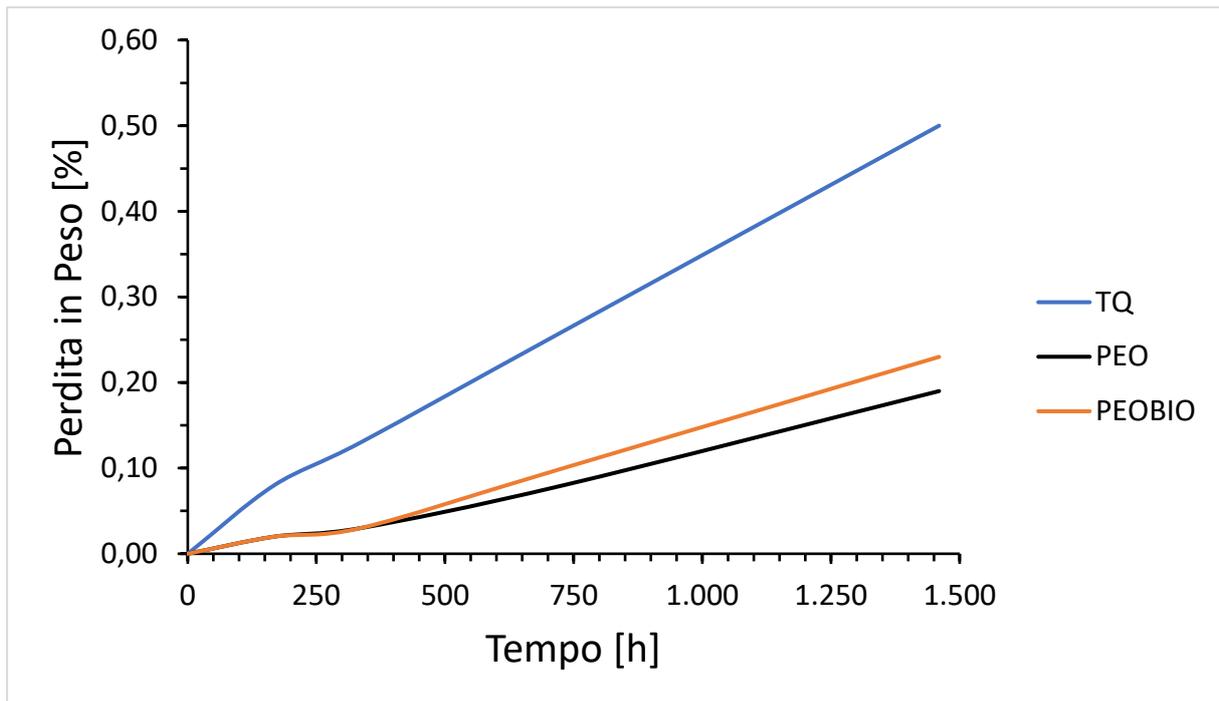


Fig. 3.24 Grafico Perdita in Peso vs Tempo

Attraverso i dati delle tabelle 3.3 e 3.4 si è costruito il grafico di Fig. 3.24, nel quale viene messo in evidenza, attraverso un grafico perdita in peso vs tempo, l'andamento della degradazione che hanno i diversi strati superficiali ribadendo i risultati ottenuti dalle prove precedenti. I due campioni trattati hanno un andamento sostanzialmente sovrapposto e una pendenza della curva decisamente più bassa rispetto al campione non trattato.

Tale prova inoltre si può considerare più rappresentativa delle reali condizioni in quanto non è "velocizzata" in modo elettrochimico.

4. CONCLUSIONI

Il presente lavoro di tesi ha portato con successo all'ottenimento di un rivestimento biodegradabile e capace di rilasciare molecole bioattive, come le apatiti, mediante processo PEO. Tale rivestimento può essere molto utile per migliorare l'integrazione con l'organismo e ridurre leggermente la velocità di corrosione di impianti bio-riassorbibili in lega di magnesio. Sono state testate diverse tipologie di elettroliti a base di calcio, ma quella che ha permesso di ottenere i risultati migliori, sia in termini di composizione, sia per l'omogeneità superficiale ottenuta, è risultata essere quella contenete silicati. È da sottolineare come molte delle composizioni utilizzate non riuscivano a creare un passaggio di corrente sufficientemente elevato per arrivare alla rottura dielettrica, necessaria per la formazione di un rivestimento PEO. La presenza di silicati, oltre ad aumentare la biocompatibilità del magnesio, ha migliorato la conduttività dell'elettrolita migliorando notevolmente la qualità del rivestimento ottenuto rispetto ai tentativi effettuati in soluzioni prive di tali composti.

Dalle analisi microstrutturali si è risaliti alla composizione del rivestimento ottenuto, evidenziando la presenza di idrossiapatite, essenziale in caso di biointegrazione di impianti a contatto con il tessuto osseo.

Le prove di corrosione hanno verificato un leggero miglioramento della resistenza a corrosione dei campioni. Tale risultato è da considerarsi soddisfacente in quanto si voleva sì migliorare il comportamento rispetto alla lega di magnesio ma mantenendo comunque le caratteristiche di impianto biodegradabile. Il paragone svolto con campioni di riferimento aventi rivestimenti PEO normali ha denotato come i provini interessati da questo studio mantengano una buona, ma non eccessiva, resistenza alla corrosione, in modo tale da non precludere la capacità di degradazione della protesi. Quest'ultima permette la liberazione di molecole bioattive, che favoriscono la ricrescita ossea, e consente di evitare un secondo intervento chirurgico di rimozione.

Si è quindi dimostrata la validità del processo PEO nell'ottenere rivestimenti con molteplici funzioni, attraverso l'inserimento all'interno dell'elettrolita di opportuni composti.

Per i provini ottenuti con l'elettrolita contenete glicerolo non sono state svolte analisi di corrosione, poiché era emersa dalle analisi composizionali la scarsa presenza di calcio, e quindi di idrossiapatite, che rendeva i campioni non utili ai fini dello studio.

Un eventuale proseguimento di questo lavoro dovrà essere incentrato sulla verifica *in vitro* della biocompatibilità dei materiali partendo da una semplice misurazione della rugosità superficiale, per poi passare ad un'analisi dell'adesione e della proliferazione di cellule ossee a contatto con i campioni.

BIBLIOGRAFIA

Articoli, libri e siti web

- [1] Simulation of Plasma Electrolytic Oxidation (PEO) of AM50 Mg Alloys and its Experimental Validation, 2018. Xun Ma, Mikhail Zheludkevich.
- [2] PEO coatings design for Mg-Ca alloy for cardiovascular stent and bone regeneration applications, 2019. A. Santos-Coquillata, M. Esteban-Lucia, E. Martinez-Campos, M. Mohedano, R. Arrabal, C. Blawert, M.L. Zheludkevich, E. Matykina.
- [3] Tecniche sperimentali per la caratterizzazione dei materiali, 2005. Roberto Montanari.
- [4] Rapporti tecnici: il laboratorio di Diffrazione a raggi X dell'Osservatorio Vesuviano (Istituto Nazionale di Geofisica e Vulcanologia, Napoli): identificazione e stima quantitativa delle fasi in campioni polverizzati, 2014. Angela Mormone, Monica Piochi, Claudia Troise, Giuseppe De Natale.
- [5] Effect of process parameters of plasma electrolytic oxidation on microstructure and corrosion properties of magnesium alloys, 2014. L. Pezzato, K. Brunelli, S. Gross, M. Magrini, M. Dabalà.
- [6] Deposition and evaluation of duplex hydroxyapatite and plasma electrolytic oxidation coatings on magnesium, 2015. Yonghao Gao, Aleksey Yerokhin, Allan Matthews.
- [7] DC plasma electrolytic oxidation of biodegradable cp-Mg: In-vitro corrosion studies, 2013. Y. Gao, A. Yerokhin, A. Matthews.
- [8] Scienze e Ingegneria dei Materiali, 2012. William D. Callister, David G. Rethwisch.
- [9] Biomateriali dalla scienza dei materiali alle applicazioni cliniche, 2016. Carlo Di Bello, Andrea Bagno.
- [10] Bioactive plasma electrolytic oxidation coatings on Mg-Ca alloy to control degradation behaviour, 2017. M. Mohedano, B.J.C. Luthringer, B. Mingo, F. Feyerabend, R. Arrabal, P.J. Sanchez-Egido, C. Blawert, R. Willumeit-Römer, M.L. Zheludkevich, E. Matykina.
- [11] Characterization of calcium containing plasma electrolytic oxidation coatings on AM50 magnesium alloy, 2010. P. Bala Srinivasan, J. Liang, C. Blawert, M. Stormer, W. Dietzel.
- [12] Impedance monitoring of corrosion degradation of plasma electrolytic oxidation coatings (PEO) on magnesium alloy, 2017. L. Gawel, L. Nieuzyła, G. Nawrat, K. Darowicki, P. Slepiski.

- [13] Plasma electrolysis for surface engineering, 1999. A.L. Yerokhin, X. Nie, A. Leyland, A. Matthews, S.J. Dowey.
- [14] Adjustment of the ratio of Ca/P in the ceramic coating on Mg alloy by plasma electrolytic oxidation, 2009. Zhongping Yao, Liangliang Li, Zhaohua Jiang.
- [15] Evaluation of the skin sensitizing potential of biodegradable magnesium alloys, 2007. Frank Witte, Inken Abeln, Elinor Switzer, Volker Kaese, Andrea Meyer-Lindenberg, Henning Windhagen.

RINGRAZIAMENTI

Desidero ringraziare il Prof Manuele Dabalà ed il correlatore del progetto l'Ing. Luca Pezzato per la disponibilità e l'interesse con cui mi hanno seguito nella stesura del presente elaborato.

Si ringraziano inoltre gli ingegneri Alessio Settimi, Pietro Cerchier e Claudio Gennari per il prezioso aiuto nell'utilizzare le apparecchiature di lavoro.

Un grazie speciale alla mia ragazza Valeria, che mi ha sempre sostenuto durante tutto questo percorso.

Ringrazio con affetto i miei genitori e mia sorella Jessica per il sostegno economico e morale in questi anni.