UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

DIPARTIMENTO
DI INGEGNERIA
DELL'INFORMAZIONE

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN BIOINGEGNERIA INDUSTRIALE

"STUDIO SULLA RESISTENZA ALL'OSSIDAZIONE DI LEGHE DI MAGNESIO BIODEGRADABILI PER APPLICAZIONI PROTESICHE"

Relatore: Prof. Manuele Dabala'

Laureando: Forti Elia
Matricola: 2021802

Correlatore: Ing. Luca Pezzato

ANNO ACCADEMICO 2021 - 2022

Abstract

Il presente lavoro di tesi riporta dei rivestimenti PEO che possono essere potenzialmente utilizzati per il controllo della corrosione di protesi implantari a base di magnesio. Sono stati sviluppati quattro rivestimenti sulla lega magnesio - calcio (1% di Ca): due in un elettrolita con la presenza di calcio utilizzando parametri di trattamento diversi e due in un elettrolita privo di calcio. Inoltre, sono stati sviluppati due rivestimenti sulla lega di magnesio puro in un elettrolita contenente calcio in soluzione. I materiali non rivestiti e rivestiti sono stati esaminati in termini di struttura e morfologia utilizzando il SEM, le composizioni dei rivestimenti superficiali sono state valutate attraverso l'XRD e l'EDS. Le indagini sulla corrosione dei campioni sono state eseguite utilizzando test potenziodinamici (PDP) ed EIS. Tutti i campioni rivestiti con trattamento PEO hanno migliorato la resistenza alla corrosione rispetto al materiale non trattato ed il comportamento migliore è stato riscontrato per il rivestimento PEO, sulla lega di magnesio calcio, che non conteneva calcio all'interno dell'elettrolita .

Introduzione

In questo lavoro è stata selezionata e ottimizzata la composizione di un elettrolita per favorire la formazione di idrossiapatite durante il trattamento di ossidazione al plasma (PEO) su una lega magnesio – calcio (MgCa) all' 1% per l'applicazione in impianti bioriassorbibili. Essendo nota la scarsa resistenza a corrosione del magnesio puro, questo lavoro di tesi tenta, mediante l'utilizzo del rivestimento PEO e della lega magnesio – calcio all'1%, di incrementare tale proprietà. Nel dettaglio, il processo PEO (Plasma Electrolytic Oxidation), è stato eseguito utilizzando un elettrolita a base di silicato-fosfato con aggiunta di ossido di calcio e potassio idrossido, è stato poi preparato un elettrolita senza la presenza di calcio in soluzione, sono quindi stati prodotti dei campioni sia con la lega magnesio – calcio sia con il magnesio puro in modo da consentire un confronto. L'elettrolita è stato scelto e ottimizzato per indurre la formazione di idrossiapatite durante il trattamento. Per il trattamento PEO è stata utilizzata la modalità a Modulazione di larghezza d'impulso detta PWM (Pulse Width Modulation). I rivestimenti sono stati ottenuti lavorando così con densità di corrente relativamente elevate per un breve lasso di tempo. I risultati sono stati confrontati con dei campioni di magnesio e magnesio – calcio non trattati per verificare il miglioramento delle proprietà di resistenza all'ossidazione. I rivestimenti sono stati caratterizzati mediante analisi di microscopia elettronica a scansione (SEM) e diffrazione di raggi X (XRD). Le prestazioni di corrosione sono state valutate in fluido corporeo simulato (SBF) mediante prove di polarizzazione anodica e spettroscopia d'impedenza.

Indice

ABSTRACT **3**

INTRODUZIONE **4**

INDICE **6**

INDICE DELLE FIGURE **7**

1. GENERALITÀ **10**

1.1 DISPOSITIVI PROTESICI **10**
1.2 LEGHE DI MAGNESIO **13**
1.2.1 Leghe Magnesio-Calcio *16*
1.3 PEO – PLASMA ELECTROLYTIC OXIDATION **17**
1.3.1 Meccanismo di rivestimento PEO *20*
1.3.2 Il PEO sul magnesio *22*
1.3.3 Modulazione di larghezza d'impulso *23*
1.3 IDROSSIAPATITE **24**
1.4 SEM – SCANNING ELECTRON MICROSCOPY **26**
1.5 XRD - X-RAY DIFFRACTION **28**
1.6 CORROSION TEST **31**
1.6.1 Spettroscopia di impedenza elettrochimica (EIS) *31*
1.6.2 Polarizzazione potenziodinamica (PDP) *32*

2. PROCEDURE SPERIMENTALI **33**

2.1 MATERIALI UTILIZZATI **33**
2.2 OSSIDAZIONE ELETTROLITICA AL PLASMA – PEO **34**
2.3 MICROSCOPIO ELETTRONICO A SCANSIONE - SEM **38**
2.4 DIFFRAZIONE A RAGGI X – XRD **39**
2.5 PROVE A CORROSIONE **39**

3. RISULTATI E DISCUSSIONE **43**

3.1 CARATTERIZZAZIONE DELLA LEGA MAGNESIO CALCIO (MGCA) **43**
3.2 CARATTERIZZAZIONE DELLA SUPERFICIE **45**
3.3 ANALISI DELLA COMPOSIZIONE **56**
3.4 RESISTENZA A CORROSIONE **63**
3.4.1. Curve di polarizzazione anodica *63*
3.4.2. Electrochemical Impedance Spectroscopy *67*

4. CONCLUSIONI **72**

BIBLIOGRAFIA **74**

Indice delle figure

Figura 1 Impianti biomedicali fabbricati tramite stampa 3D [6] 11
Figura 2 Corrosione di un impianto ortopedico [8] 12
Figura 3 Possibili applicazioni delle leghe di magnesio in medicina [12] 14
Figura 4 Alcune proprietà meccaniche dei materiali [15] 15
Figura 5 Possibili trattamenti superficiali per il magnesio [18] 16
Figura 6 Confronto tra anodizzazione convenzionale e processo PEO [24] 18
Figura 7 Confronto tra rivestimenti prodotti con ossidazione elettrolitica plasma e anodizzazione [26] 19
Figura 8 Setup generico del trattamento PEO [29] 20
Figura 9 Interno di una camera PEO [30] 21
Figura 10 Equazioni generali del processo PEO [31] 22
Figura 11 Un esempio di segnale PWM mostrato a diversi duty cycle e una tensione costante di 5 volt [37] 24
Figura 12 Possibili utilizzi dell'idrossiapatite [41] 25
Figura 13 Schema del microscopio a scansione elettronica (SEM) [46] 26
Figura 14 Schema di un rivelatore a dispersione di energia [47] 27
Figura 15 Fenomeno della diffrazione [53] 29
Figura 16 La legge di Bragg [54] 29
Figura 17 Diffrazione a raggi X [58] 30
Figura 18 Schema del potenziostato con configurazione a 3 elettrodi [60] 31
Figura 19 Provino rettangolare Magnesio 33
Figura 20 Fusione della lega Magnesio Calcio 34
Figura 21 Microscariche anodiche e apparecchiatura PEO 35
Figura 22 Microscopio a scansione elettronica 39
Figura 23 Configurazione test di corrosione e potenziostato AMEL 41
Figura 24 Schematizzazione di un potenziostato a tre elettrodi 42
Figura 25 Analisi SEM sulla lega magnesio – calcio non trattata 43
Figura 26 Spettro EDS, rappresenta la composizione della nuova lega magnesio – calcio 44
Figura 27 Mappatura elementare della lega magnesio – calcio prodotta 44
Figura 28 Superfice e sezione viste al SEM campione A 46
Figura 29 Superfice e sezione viste al SEM campione B 47
Figura 30 Superfice e sezione viste al SEM campione C 48
Figura 31 Superfice e sezione viste al SEM campione D 49
Figura 32 Superfice e sezione viste al SEM campione E 50
Figura 33 Superfice e sezione viste al SEM campione F 51
Figura 34 Superfice campione A con maggior ingrandimento 53
Figura 35 Superfice campione B con maggior ingrandimento 53
Figura 36 Superfice campione C con maggior ingrandimento 54
Figura 37 Superfice campione D con maggior ingrandimento 54
Figura 38 Superfice campione E con maggior ingrandimento 55
Figura 39 Superfice campione F con maggior ingrandimento 55
Figura 40 Composizione dello strato superficiale rilevata con spettro EDS sul campione A. 57
Figura 41 Composizione dello strato superficiale rilevata con spettro EDS sul campione B. 57
Figura 42 Composizione dello strato superficiale rilevata con spettro EDS sul campione C. 58
Figura 43 Composizione dello strato superficiale rilevata con spettro EDS sul campione D. 58
Figura 44 Composizione dello strato superficiale rilevata con spettro EDS sul campione E. 59
Figura 45 Composizione dello strato superficiale rilevata con spettro EDS sul campione F. 59
Figura 46 Elaborazione dati XRD del campione A 60
Figura 47 Elaborazione dati XRD del campione B 61

Figura 48 Elaborazione dati XRD del campione C 61
Figura 49 Elaborazione dati XRD del campione D 62
Figura 50 Elaborazione dati XRD del campione E..... 62
Figura 51 Elaborazione dati XRD del campione F..... 63
Figura 52 Diagrammi di polarizzazione anodica con i campioni separati (per un più chiara visualizzazione)..... 65
Figura 53 Diagramma complessivo di polarizzazione anodica 66
Figura 54 Diagramma della fase di Bode 68
Figura 55 Diagramma del modulo di Bode..... 68
Figura 56 Diagramma di Nyquist 69
Figura 57 Circuito elettrico equivalente per EIS campioni trattati 69
Figura 58 Circuito elettrico equivalente per EIS campioni non trattati 70

INDICE DELLE TABELLE

Tabella 1 Composizione chimica del primo elettrolita....36
Tabella 2 Composizione chimica del secondo elettrolita....36
Tabella 3 Parametri PEO utilizzati....37
Tabella 4 Composizione fluido corporeo simulato (SBF)....40
Tabella 3 Composizione elementare rilevata con l'EDS....56
Tabella 5 Valori della densità di corrente di corrosione e del potenziale di corrosione....66
Tabella 6 Dati circuito equivalente....70

1. Generalità

Il sistema scheletrico del corpo umano è una complessa struttura tridimensionale importante per due motivi principali. Il primo deriva dalla necessità di sostenere strutturalmente i numerosi organi del corpo e altri tessuti correlati. Il secondo è il fissaggio dei numerosi gruppi muscolari necessari per il movimento e la locomozione del corpo. Lo scheletro è costituito da due tipi di tessuto: il primo è un tessuto duro chiamato osso e il secondo è un tessuto più morbido composto da materiali cartilaginei. Il calcio è un elemento importante coinvolto nell'azione muscolare e nella conduzione nervosa e il suo livello nell'organismo è strettamente monitorato [1]. Un altro elemento molto importante per il nostro organismo è il magnesio, esso infatti è coinvolto in una serie di processi fisiologici molto importanti. Il magnesio è il secondo catione più abbondante nelle cellule e il quarto negli organismi viventi. I biomateriali a base di magnesio sono quindi considerati biocompatibili e biodegradabili e sono promettenti per l'applicazione in biomedicina.

1.1 Dispositivi protesici

Ogni anno, solo negli Stati Uniti, diversi milioni di persone subiscono fratture ossee causate da incidenti o malattie. Inoltre, il numero di fratture ossee causate da malattie legate all'età, come l'osteoporosi, aumenterà rapidamente nei prossimi anni a causa dell'aumento dell'aspettativa di vita. Molte di queste fratture sono troppo complesse per un trattamento medico esterno, ma devono essere fissate chirurgicamente con impianti ossei interni, come l'impianto ortopedico. I materiali biomedici svolgono un ruolo importante e critico nella produzione di una varietà di dispositivi protesici nel mondo moderno. I dispositivi protesici sono sostituti artificiali che vengono utilizzati in un sistema biologico, come il corpo umano, nel tentativo di fornire la funzione della parte originale. Questi dispositivi sono generalmente realizzati in materiali polimerici, metallici e ceramici, o in combinazioni di questi materiali, a seconda dell'uso previsto. I metalli e le leghe sono utilizzati come impianti chirurgici nel corpo umano principalmente per scopi ortopedici. I metodi tradizionali di osteosintesi o osteotomia utilizzano impianti metallici permanenti, ad esempio viti e placche ossee in acciaio inossidabile, titanio e leghe di cobalto [2] [3]. Gli impianti metallici convenzionali sono troppo rigidi rispetto al modulo delle ossa. Il disallineamento del modulo tra impianti permanenti e ossa protegge l'osso in via di guarigione dall'esposizione a carichi meccanici.

Questa però comporta problemi clinici critici come:

- la mobilizzazione precoce dell'impianto
- il danneggiamento del processo di guarigione e delle strutture anatomiche adiacenti
- l'ispessimento dello scheletro
- l'infiammazione cronica [4]

Un altro problema per gli impianti permanenti è che sono necessari interventi di revisione quando l'osso guarisce. Quindi si devono affrontare rischi (possibili fratture e giorni di convalescenza aggiuntivi di post-trattamento) e costi personali aggiuntivi. Di solito, gli impianti metallici devono essere rimossi da 1 a 2 anni dopo il primo intervento. In questo contesto, le leghe a base di magnesio, in particolare le leghe magnesio - calcio, hanno ricevuto molta attenzione a causa della vicinanza di modulo tra leghe a base di magnesio e ossa. Il primo requisito per qualsiasi materiale da inserire nel corpo umano è che sia biocompatibile e non provochi alcuna reazione avversa nell'organismo. Il materiale deve resistere all'ambiente corporeo e non degradarsi al punto da non poter funzionare nel corpo come previsto. La progettazione e la selezione dei biomateriali dipendono fortemente dalla specifica applicazione medica [5].

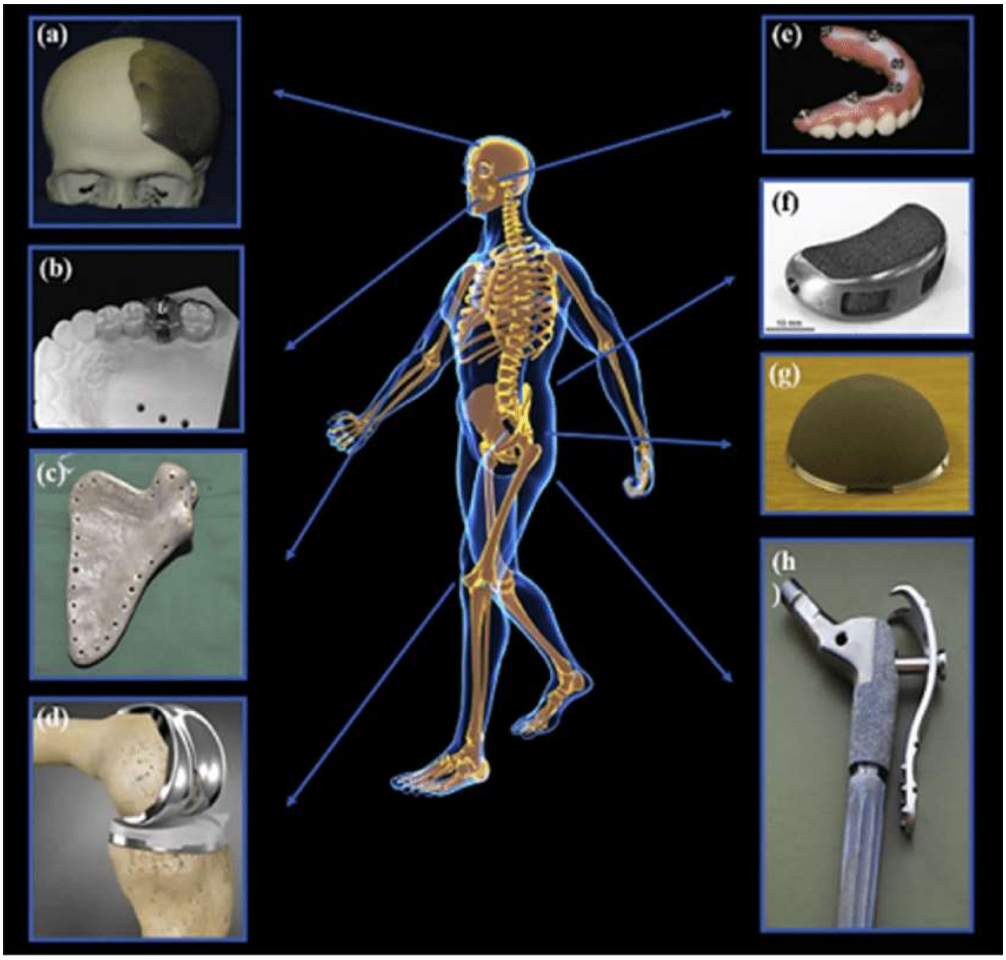


Figura 1 Impianti biomedicali fabbricati tramite stampa 3D [6]

La corrosione degli impianti metallici è di fondamentale importanza poiché' può influire negativamente sulla biocompatibilità e sull'integrità meccanica dell'impianto stesso. Molti impianti sono infatti necessari per la sopravvivenza degli esseri umani affetti da diversi tipi di malattie (artrite, osteoporosi, problemi articolari, malattie cardiache acute) [7] .

La corrosione e la dissoluzione del film di ossido superficiale sono i due meccanismi di introduzione di ioni aggiuntivi nell'organismo. Un rilascio estensivo di ioni dalla protesi può provocare reazioni biologiche avverse e può portare al cedimento meccanico del dispositivo [9].

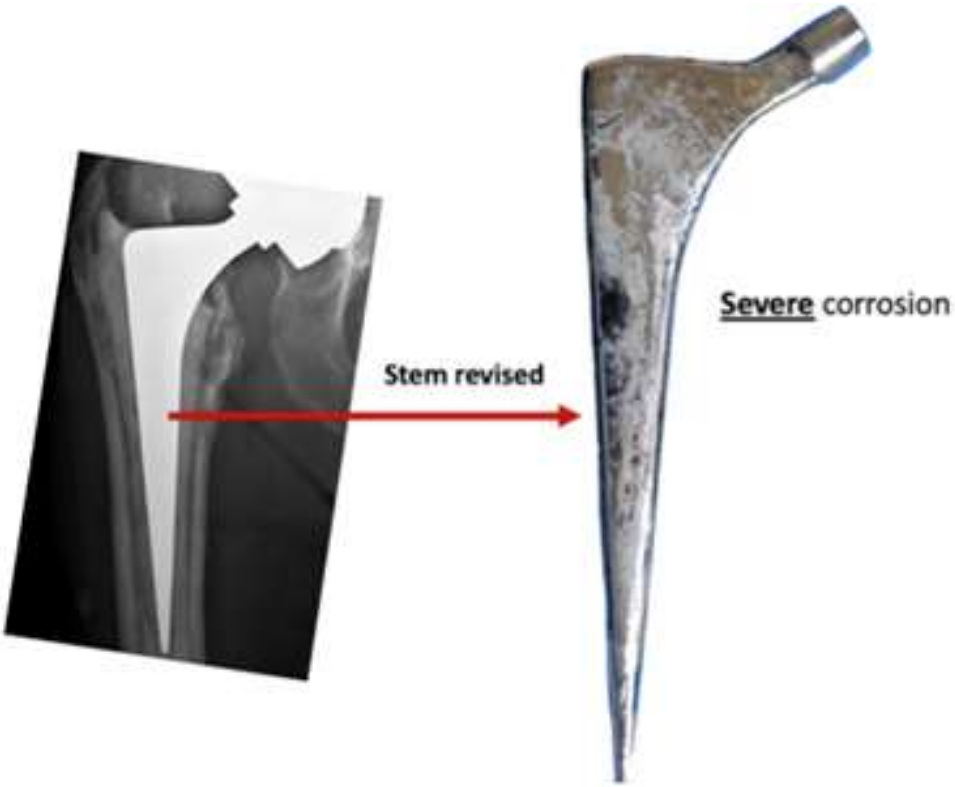


Figura 2 Corrosione di un impianto ortopedico [8]

Gli effetti citotossici dei metalli rilasciati dagli impianti sono dovuti anche alla necrosi o all'apoptosi cellulare. Le leghe di magnesio hanno attirato la maggior parte dell'attenzione grazie alla loro natura biocompatibile e biodegradabile. Tuttavia, il loro comportamento alla corrosione in ambienti fisiologici in vivo è ancora oggi un problema importante per la ricerca, non solo ne deteriora rapidamente la resistenza meccanica, ma porta anche a un grave cambiamento del microambiente intorno agli impianti, che può causare il fallimento finale degli impianti a base di magnesio [10]. Nel caso degli impianti, il controllo della velocità di corrosione è un punto chiave. In particolare, è necessario per due motivi: in primo luogo, l'impianto deve possedere una resistenza sufficiente per il tempo necessario a consentire il processo di guarigione; in secondo luogo, la velocità di corrosione deve essere sufficientemente lenta da non influenzare il processo di guarigione. Infatti, se è vero che i sottoprodotti della

corrosione del magnesio non sono tossici, con la corrosione del metallo il pH dell'area localizzata aumenta e questo ambiente basico può ostacolare il processo di guarigione [11]. Per le applicazioni biomediche, la composizione del materiale in esame è quindi un fattore cruciale, poiché molti degli elementi che compongono i materiali disponibili in commercio per le applicazioni industriali sono estremamente tossici per il corpo umano. Pertanto, oltre a soddisfare le proprietà meccaniche necessarie per una particolare applicazione biomedica, il materiale deve essere, come detto in precedenza, anche biocompatibile. Idealmente, un dispositivo biomedico biodegradabile dovrebbe essere composto da materiali o leghe non tossici o cancerogeni. Sarebbe inoltre molto vantaggioso se il materiale fosse composto da elementi e minerali già presenti e compatibili all'interno dell'organismo, come il magnesio, il calcio e lo zinco.

1.2 Leghe di magnesio

I biomateriali metallici sono stati utilizzati fin dai primi anni del 1900 per sostituire tessuti duri danneggiati o malati, essi sono generalmente utilizzati in applicazioni portanti, dove la loro elevata resistenza meccanica e tenacità alla frattura li rende superiori alle ceramiche, ai materiali polimerici e ai compositi polimero-ceramici. Attualmente esistono due problemi principali associati all'uso degli impianti metallici. Il primo riguarda la mancata corrispondenza tra le proprietà meccaniche della lega metallica e il tessuto osseo naturale circostante. Il secondo problema è stato precedentemente descritto e riguarda l'usura meccanica e la corrosione dell'impianto con conseguente rilascio nell'organismo di ioni metallici tossici come cromo, cobalto e nichel. Le leghe a base di magnesio invece presentano proprietà biodegradabili, biocompatibili e meccaniche eccellenti, ciò le rende ideali come materiali biomedici candidati. In particolare, la loro biodegradabilità aiuta i pazienti ad evitare un secondo intervento chirurgico. Per questo motivo l'interesse per le leghe di magnesio come metalli biodegradabili è cresciuto notevolmente negli ultimi decenni. L'importanza del magnesio per l'organismo deriva dal fatto che si tratta di uno ione bivalente che viene utilizzato per formare l'apatite nella matrice ossea ed è anche utilizzato in una serie di processi metabolici all'interno del corpo.

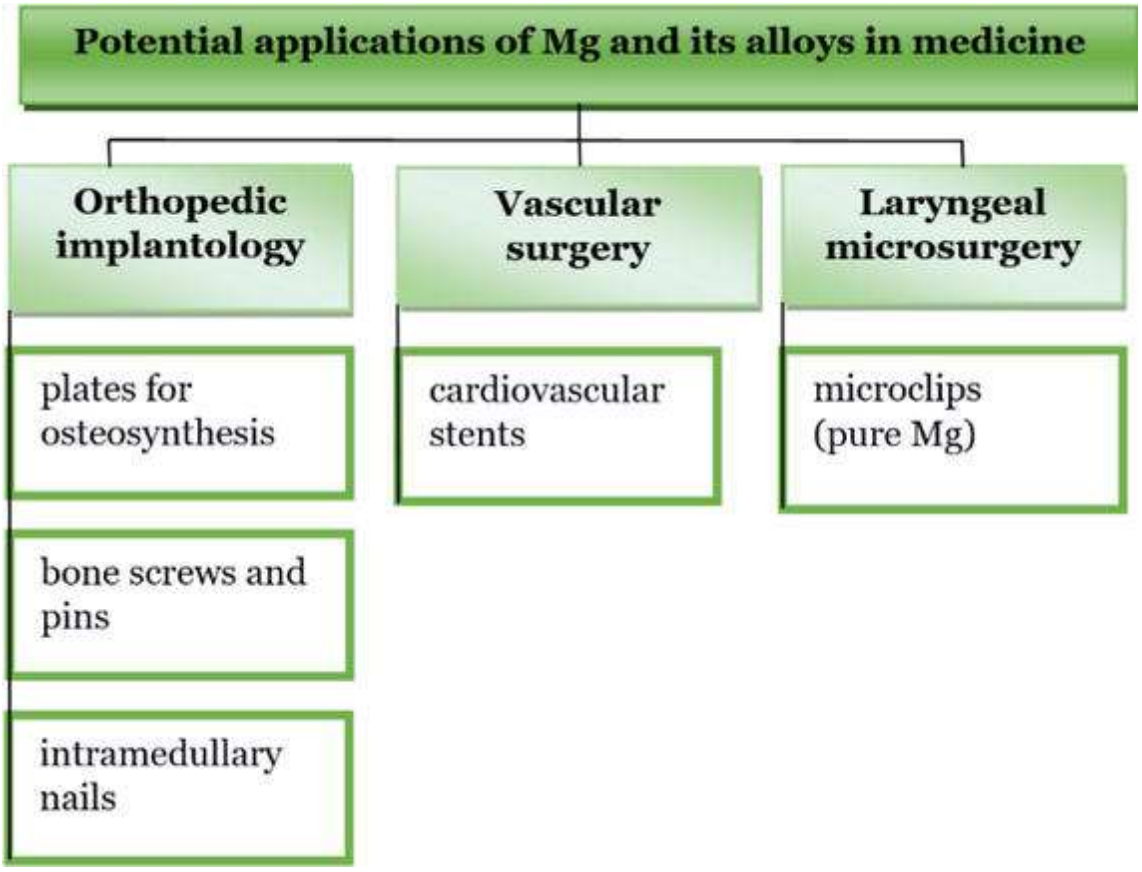


Figura 3 Possibili applicazioni delle leghe di magnesio in medicina [12]

L'assunzione di 300-400 mg di magnesio è normalmente richiesta ogni giorno [13]. Il magnesio è un metallo leggero, bianco-argenteo, relativamente debole allo stato puro e generalmente utilizzato come lega in applicazioni ingegneristiche. La densità del magnesio e delle sue leghe è di circa 1,74 g/cm3, ovvero 1,6 e 4,5 volte meno densa dell'alluminio e dell'acciaio. È interessante notare come la densità del magnesio sia leggermente inferiore a quella dell'osso naturale, che varia da 1,8 a 2,1 g/cm3, mentre il modulo elastico del magnesio puro è di 45 GPa e quello dell'osso umano varia tra 40 e 57 GPa. Pertanto, il magnesio, con le sue proprietà meccaniche simili a quelle dell'osso naturale e la sua biocompatibilità, è un materiale promettente per lo sviluppo di impianti ortopedici biodegradabili [14]. Confrontando le proprietà del magnesio e delle sue leghe con quelle di metalli, polimeri, ceramiche e compositi, si può dimostrare che il magnesio e le sue leghe hanno molte proprietà paragonabili, se non addirittura superiori. Le potenziali applicazioni delle leghe di magnesio sono rappresentate dai materiali strutturali per l'ortopedia e dai dispositivi cardiovascolari temporanei. La comunità sta discutendo molto sulla relazione tra le proprietà delle leghe di magnesio in vitro e in vivo, che aiuterebbe a ridurre i test sugli animali e a supportare le simulazioni per la preselezione delle leghe.

Tissue/Material	Density ($g\ cm^{-3}$)	Compressive Strength (MPa)	Tensile Strength (MPa)	Elastic Modulus (GPa)
Natural Materials				
Arterial wall	-	-	0.50 -1.72	0.001
Collagen	-	-	60	1.0
Collagen(Rat tail tendon)	-	-	-	3.75 – 11.5
Cancellous bone	1.0 – 1.4	1.5 – 9.3	1.5 – 38	0.01 – 1.57
Cortical bone	1.8 – 2.0	160 Trans. 240 Long.	35 Trans. 283 Long.	5 - 23
Magnesium Alloys				
Pure magnesium	1.74	20 - 115	90 - 190	45
AZ31 (Extruded)	1.78	83 - 97	241 - 260	45
AZ91D (Die cast)	1.81	160	230	45
Other metal alloys				
Cobalt-Chrome Alloys	7.8	-	450 - 960	195 - 230
Stainless Steel	7.9	-	480 – 620	193 – 200
Titanium Alloys	4.4	-	550 – 985	100 – 125
Ceramics				
Synthetic- Hydroxyapatite	3.05 – 3.15	100 - 900	40 – 200	70 – 120
Alumina Ceramics (Al_2O_3 80% - 99%)	3.30 – 3.99	2000 – 4000	-	260 – 410
Polymers				
Polymethylmethacrylate (PMMA)	1.12 – 1.20	45 – 107	38 – 80	1.8 – 3.3
Polyethylene-terephthalate (PET)	1.31 – 1.38	65 – 90	42 – 80	2.2 – 3.5

Figura 4 Alcune proprietà meccaniche dei materiali [15]

Questi impianti dovrebbero essere assorbiti dall'organismo dopo aver completato le loro funzioni temporanee, come supporto meccanico ed impalcatura per il legame con i tessuti viventi. Tuttavia, nonostante i suoi numerosi vantaggi, il magnesio possiede lo svantaggio di avere un elevato tasso di corrosione nell'organismo. Di conseguenza, l'applicazione medica degli impianti a base di magnesio è stata fortemente limitata a causa dell'ambiente elettrolitico acquoso del fluido corporeo ricco di cloruri (il pH varia tra 7,4 e 7,6). Inoltre, la rapida corrosione degli impianti in magnesio comporta due gravi conseguenze. La prima è la produzione di bolle di idrogeno gassoso sottocutanee, prodotte a una velocità troppo elevata perché i tessuti circostanti possano gestirle. Queste bolle compaiono di solito nella prima settimana dopo l'intervento e possono essere successivamente trattate aspirando il gas con un ago sottocutaneo [16]. La seconda conseguenza dell'elevato tasso di corrosione è la perdita dell'integrità meccanica dell'impianto di magnesio utilizzato nell'applicazione portante. La rapida diminuzione delle proprietà meccaniche derivante dall'esposizione all'ambiente dei fluidi corporei significa che l'impianto non è in grado di fornire il supporto necessario al tessuto osseo in via di guarigione. In genere, si prevede che l'impianto mantenga la sua integrità meccanica tra le 12 e le 18 settimane durante il processo di guarigione, per poi degradarsi lentamente

mentre i tessuti ossei naturali sostituiscono l'impianto. Pertanto, affinché il magnesio e le sue leghe possano essere utilizzati come un efficace impianto biodegradabile, è necessario controllare il loro comportamento di corrosione nell'ambiente dei fluidi corporei [17]. Ad oggi, sono state sviluppate numerose tecniche di modifica della superficie per cambiare le caratteristiche superficiali dei biomateriali. Molti di questi metodi sono stati applicati per modificare le proprietà superficiali delle leghe di magnesio. Nei capitoli seguenti sarà discusso un particolare tipo di trattamento superficiale: l'ossidazione elettrolitica al plasma (PEO)

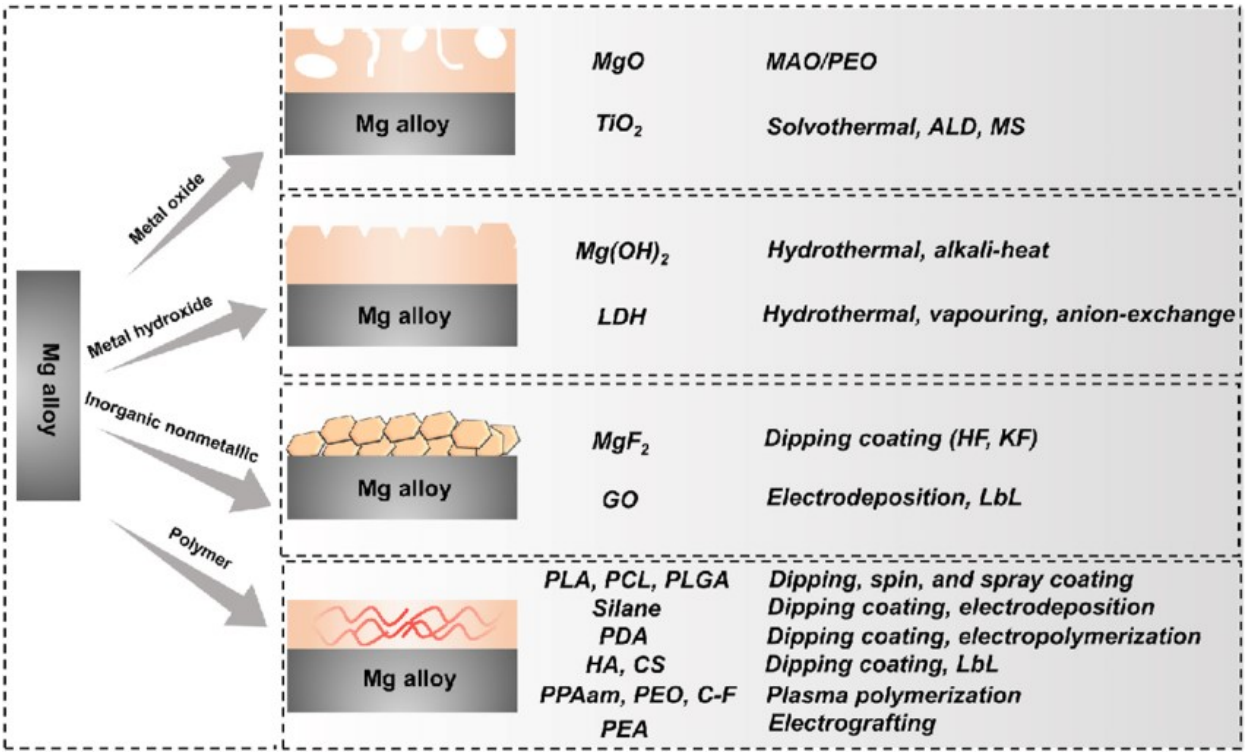


Figura 5 Possibili trattamenti superficiali per il magnesio [18]

Per citare un altro esempio di leghe di magnesio con ottime proprietà ci si può riferire ai fosfati di magnesio, essi hanno suscitato un crescente interesse in campo biomedico negli ultimi anni, poiché sia il magnesio, come descritto in precedenza, che il fosforo sono elementi comuni nel corpo umano. I fosfati di magnesio sono già utilizzati nella nanomedicina sotto forma di particelle mono disperse o nell'ingegneria tissutale sotto forma di cementi, ceramiche, scaffold, rivestimenti e così via.

1.2.1 Leghe Magnesio-Calcio

Il calcio (simbolo atomico: Ca) è stato scoperto e isolato per la prima volta da Sir Humphrey Davy nel 1808 ed è il quinto elemento più abbondante nella crosta terrestre. Nella sua forma elementare, il calcio ha un aspetto grigio-argento opaco, è un metallo tenero e reattivo che fa parte degli elementi alcalino-terrosi. Esso è anche una sostanza biologicamente essenziale che si trova nei denti, nelle ossa e nelle conchiglie. La creazione di una lega è una delle possibili

soluzioni per ridurre il tasso di corrosione del magnesio nel corpo umano. Un problema dell'approccio alla lega è la biocompatibilità degli elementi di lega. Il sistema di leghe binarie magnesio – calcio ha attirato una notevole attenzione negli ultimi anni per essere utilizzato come materiale da impianto. In letteratura [19] è stata studiata l'influenza delle leghe magnesio – calcio degradabili con 0,6, 0,8, 1,0 e 1,2 % in peso di calcio sulla funzione delle cellule dendritiche. Queste cellule sono il principale antigene che rappresenta le cellule del corpo. Hanno concluso che le leghe di magnesio-calcio hanno un'eccellente biocompatibilità e che i cationi Mg2+ e Ca2+, prodotti come risultato della degradazione in vitro, non interferiscono significativamente con le funzioni delle cellule dendritiche. Ulteriori studi [20] hanno realizzato leghe binarie magnesio – calcio con vari contenuti di calcio (dall'1 al 3%) da utilizzare come materiali biodegradabili all'interno dell'osso. La valutazione della citotossicità utilizzando cellule L-929 ha rivelato che la lega magnesio – calcio all'1% non induceva tossicità per le cellule. Sono stati impiantati perni in lega magnesio – calcio 1% negli alberi femorali di coniglio destro e sinistro ed è stato osservato il processo di degradazione per 1, 2 e 3 mesi. I perni in lega magnesio – calcio 1% si sono degradati gradualmente durante l'intero periodo dell'esperimento, come è stato dimostrato dalla riduzione del diametro dei perni. Al terzo mese, il perno in lega magnesio – calcio 1% è stato completamente assorbito e nella posizione dell'impianto è rimasto un foro di forma irregolare. Inoltre, intorno al perno in lega magnesio – calcio 1% si è formato nuovo osso. L'aggiunta di una piccola quantità di calcio ha due effetti distinti sulle leghe magnesio – calcio. In primo luogo, aumenta la resistenza alla corrosione e, in secondo luogo, riduce al minimo la crescita dei grani e porta a grani più piccoli nelle fusioni. Un possibile svantaggio di questo affinamento dei grani è la maggiore sensibilità alla creazione di cricche a caldo durante il processo di deformazione [21]. Le leghe biodegradabili di magnesio calcio evitano quindi problemi come la schermatura delle sollecitazioni e la chirurgia secondaria, tipiche dei materiali implantari metallici permanenti. Inoltre, rispetto ai biopolimeri, offrono una resistenza meccanica sufficiente nelle applicazioni di carico.

1.3 PEO – Plasma electrolytic oxidation

La protezione dalla corrosione delle leghe di magnesio è conseguibile con diverse tipologie di trattamenti superficiali come l'anodizzazione, la placcatura, deposizione di vapore, rivestimenti polimerici, ecc. Anche se ogni trattamento ha i suoi vantaggi, i trattamenti di anodizzazione al plasma sono diventati sempre più popolari per le leghe di magnesio grazie all'ecocompatibilità ambientale ed alla flessibilità consentita dal processo. I trattamenti di rivestimento che utilizzano metalli pesanti come il nichel, il cobalto ed il cromo comportano spesso l'uso di sostanze chimiche ad alto rischio. L'uso di queste sostanze è soggetto a severe normative.

L'anodizzazione convenzionale utilizza acidi forti, sollevando problemi di sicurezza nell'uso, nel trasporto e nello smaltimento. Il PEO (Plasma electrolytic oxidation) è un'opzione sicura per l'ambiente. I bagni elettrolitici sono in genere soluzioni acquose a bassa concentrazione, chimicamente benigne [22]. L'ossidazione elettrolitica al plasma (PEO) è un promettente processo per realizzare rivestimenti superficiali di ossido su metalli leggeri come magnesio, alluminio, titanio, con l'incorporazione di specie provenienti dal substrato e dall'elettrolita, questo per ottenere una protezione della corrosione ed una maggiore resistenza all'usura per applicazioni biomediche. Si applica anche ad altri metalli come lo zirconio, il tantalio, il niobio e l'afnio e il cobalto [23]. Rispetto all'anodizzazione convenzionale, il PEO è più versatile in termini di composizione della lega e fornisce una maggiore durezza e resistenza alla corrosione.

Property	Convectional Anodizing	PEO Technology
Current density, A dm^{-2}	<10	<30
Cell voltage, V	20-80	100-800
Substrate pretreatment	Critical	Less critical
Electrolytes	acid	Neutral/alkaline
Oxide thickness, µm	<10	<200
Maximum scale	Can be >1000 m^2day^{-1}	Usually <10 m^2day^{-1}
Alloys coatings	Relatively poor	Improved
Temperature control	Critical	Not too important
Micro hardness (HV)	≤ 500	≤ 1400-1700
Adhesion to substrate	Moderate	Very high
Fatigue limit (10^7 cycles)/MPa	100-210	160-270
Energy consumption/($KWhm^{-2}µm^{-1}$)	0.1-0.5	3-26.7
Corrosion resistance (relative)	Good (1)	Excellent (5)
Wear Resistance (relative)	Fair (2)	Excellent (30)

Figura 6 Confronto tra anodizzazione convenzionale e processo PEO [24]

Il processo PEO utilizza, come base dell'elettrolita, una soluzione acquosa, con reagenti aggiuntivi a seconda delle proprietà del rivestimento superficiale desiderato. L'elettrolita viene attraversato da un'alta tensione, in genere 200 V o superiore. I rivestimenti si formano quindi in seguito ad un gran numero di microscariche di breve durata che si verificano sotto un forte campo elettrico in un sistema costituito dal substrato, lo strato di ossido, un involucro di gas e l'elettrolita [25], vi sarà la formazione di rivestimenti con elevata porosità il cui spessore può variare da pochi micron a diverse centinaia di micron, a seconda delle condizioni in cui viene eseguito il processo PEO [23].

Questo è un aspetto è molto importante per le applicazioni biomediche principalmente per due motivi:

- La superficie porosa formatasi durante il trattamento PEO è ideale per la crescita cellulare ed è possibile riempire i pori con composti che promuovono la crescita di nuovi tessuti utilizzando opportuni post-trattamenti [66]
- Nonostante attraverso il rivestimento venga ridotta la velocità del processo di corrosione, la presenza dei pori implica che essa procederà comunque, ma più lentamente rispetto alla stessa lega non trattata, permettendo la degradazione dell'impianto nei tempi richiesti

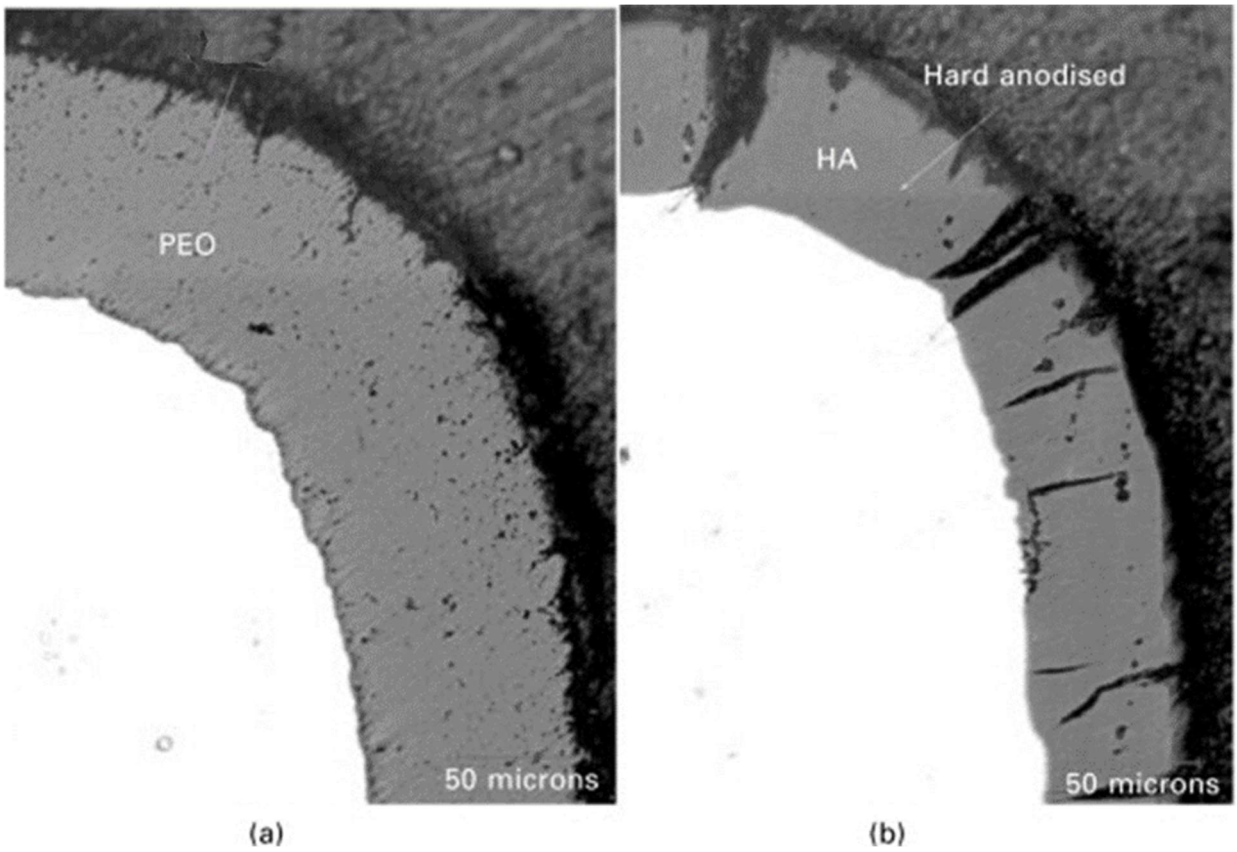


Figura 7 Confronto tra rivestimenti prodotti con ossidazione elettrolitica plasma e anodizzazione [26]

I rivestimenti possono essere prodotti in regimi elettrici DC, AC o bipolari. Nella moderna tecnologia PEO, AC, DC pulsata e regimi elettrici bipolari offrono un migliore controllo sui processi chimici del plasma rispetto al regime DC, riducendo gli effetti negativi e producendo rivestimenti più uniformi e meno porosi [27]. Pertanto, la regolazione dei parametri elettrici, compresa la modalità di corrente e le sue caratteristiche specifiche, la densità di corrente, ciclo di lavoro degli impulsi e frequenza, appare estremamente per il controllo attivo della crescita del rivestimento [28].

1.3.1 Meccanismo di rivestimento PEO

I processi coinvolti nel PEO sono molto flessibili, ciò consente di ottenere un'ampia gamma di potenziali proprietà del rivestimento superficiale, che possono essere adattate e personalizzate per soddisfare al meglio l'applicazione finale di un componente. La PEO richiede attrezzature meno complesse rispetto a molte altre tecnologie di rivestimento. Non richiede forni ad alta temperatura o pistole al plasma, non necessita di vuoto e non utilizza sostanze pericolose nella sua forma di base. Il pretrattamento dei campioni è più semplice per il PEO. In molti casi, i componenti possono richiedere solo una leggera lucidatura prima del trattamento. Al contrario, la maggior parte dei processi di anodizzazione e placcatura richiede una superficie più pulita per garantire un rivestimento di alta qualità.

Il processo segue generalmente tre fasi:

- *Ossidazione del substrato*

  Il campione viene posto in un bagno elettrolitico, il substrato metallico funge da elettrodo di lavoro (anodo) insieme a un controelettrodo (catodo, generalmente formato da acciaio inossidabile o grafite). Entrambi gli elettrodi sono immersi in un elettrolita alcalino debole. Gli elettrodi vengono poi collegati a un'alimentazione elettrica esterna per avviare il processo di rivestimento. La composizione del bagno varia a seconda delle caratteristiche del rivestimento PEO. È priva di cromo e di altri metalli pesanti. La soluzione è monouso, a differenza di altre tecnologie di rivestimento.

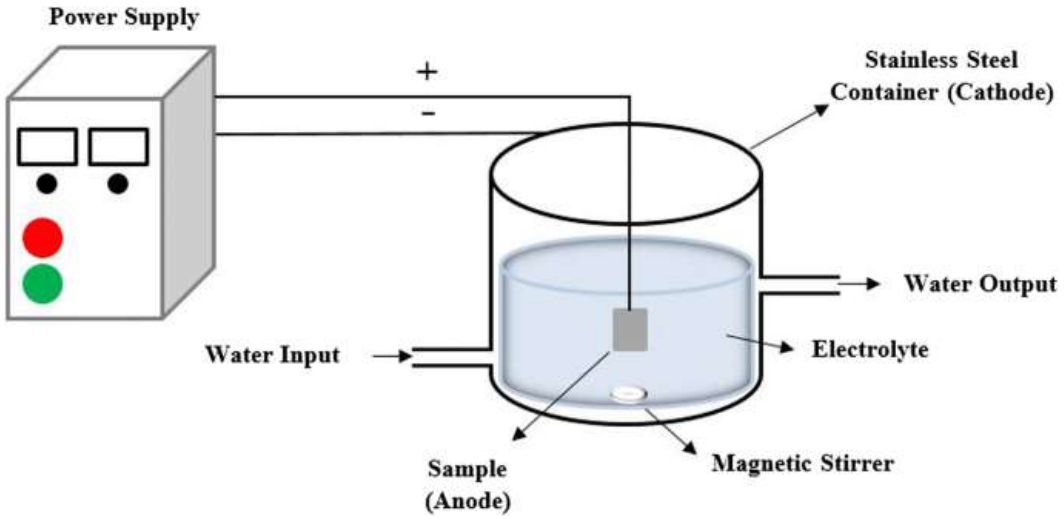


Figura 8 Setup generico del trattamento PEO [29]

- *Modifica al plasma*

  L'aumento delle temperature sulla superficie del campione, causato dagli alti potenziali creati dalla corrente all'interno dell'elettrolita, genera una scarica di plasma sulla superficie del substrato. Il plasma, a sua volta, fornisce le condizioni ideali per la formazione del rivestimento. Con il PEO, il plasma viene utilizzato per modificare il rivestimento durante il processo di

crescita. In questo modo si altera la microstruttura e non si formano cricche. Ciò comporta vantaggi in termini di resistenza alla corrosione e alla fatica. Gli strati PEO sono caratterizzati da una microstruttura complessa. La presenza di microcristalli di forma irregolare e di altre caratteristiche offre una protezione più completa.

- *Incorporazione degli elementi elettrolitici nel rivestimento*

  Il processo di modifica al plasma consente di incorporare elementi dell'elettrolita nel rivestimento appena creato. Questo perché, a causa delle scariche provocate dal plasma, la superficie esterna del rivestimento risulta porosa. Possono quindi inserirsi nei pori degli elementi che migliorano le prestazioni .

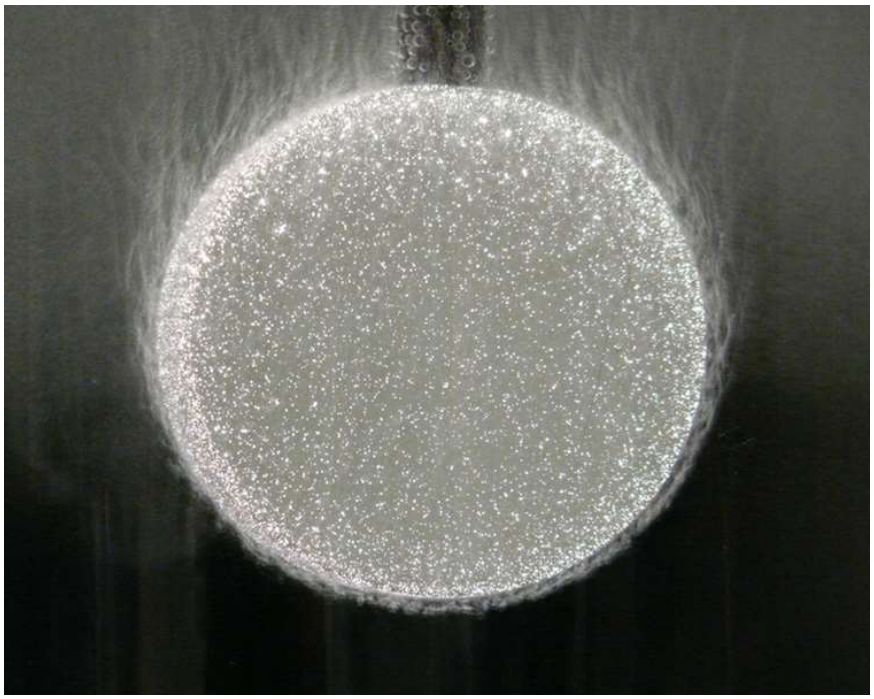


Figura 9 Interno di una camera PEO [30]

Le reazioni elettrochimiche di evoluzione dell'ossigeno e di ossidazione del metallo avvengono all'anodo durante il trattamento PEO (equazioni (1) e (2)). Nel processo, la generazione anodica di ossigeno avviene a causa dell'elevato campo elettrico , gli anioni di ossigeno (O_2^-) migrano verso l'anodo formando un ossido metallico con il substrato. A seconda del substrato, della composizione dell'elettrolita e dell'attività chimica, ciò può portare alla dissoluzione della superficie o alla formazione di un film di ossido anodico (equazione (3)). Allo stesso tempo, sulla superficie del catodo, si verifica un'intensa evoluzione di idrogeno gassoso (equazione (4)) e una riduzione dei cationi (equazione (5)). A causa della liberazione di gas e della reazione di scarica, il rivestimento ottenuto può essere più poroso rispetto al film di ossido ottenuto con un processo di anodizzazione dura [31].

Le equazioni generali coinvolte in un processo PEO sono:

$$2\,H_2O - 4\,e^- \rightarrow O_2\uparrow + 4\,H^+ \quad (1)$$

$$Me - ne^- \rightarrow Me^{n+} \quad (2)$$

$$x\,Me^{n+} + 3/2\,x\,n{\cdot}H_2O \rightarrow Me_xO_n\downarrow + x\,n\,H_3O^+ \quad (3)$$

$$2\,H^+ + 2\,e^- \rightarrow H_2\uparrow \quad (4)$$

$$Cat^{n+} + n\,e^- \rightarrow Cat^0\downarrow \quad (5)$$

Figura 10 Equazioni generali del processo PEO [31]

Dove M rappresenta il materiale metallico su cui deve essere eseguita la PEO, " n " è il numero di elettroni trasferiti, " e^- " è l'elettrone e " Cat " è il catione.
L'uso del plasma introduce molteplici vantaggi, tra cui:

- Sviluppo di fasi ceramiche più dure
- Passività chimica: la maggior parte delle ceramiche PEO sono chimicamente inerti
- Alcuni elementi provenienti dall'elettrolita possono inserirsi nello strato esterno poroso, ciò può conferire diverse proprietà al materiale
- La ridotta rigidità offre un'elevata adesione in presenza di sollecitazioni meccaniche o cicli termici
- Bordi privi di crepe

I principali svantaggi del PEO sono lo strato esterno poroso relativamente spesso che si forma di solito durante il processo e la bassa efficienza energetica. Un approccio promettente per ridurre questi problemi è l'applicazione di correnti pulsate bipolari, questo tipo di regime può modificare le scariche che avvengono durante il trattamento con un maggior controllo sui processi chimici del plasma all'interfaccia metallo/elettrolita [32] [33].

1.3.2 Il PEO sul magnesio

I sali comuni per la PEO di alluminio, magnesio, titanio e le loro leghe in mezzi alcalini sono, tra gli altri, silicati, fosfati, alluminati, fluoruri, borati e stannati. Specialmente per la PEO del magnesio e delle sue leghe, vengono usate composizioni elettrolitiche acide o a pH neutro invece di elettroliti alcalini [34]. Il magnesio e le sue leghe hanno eccellenti proprietà fisiche e

chimiche come una bassa densità relativa, buone prestazioni di smorzamento, biocompatibilità e riciclabilità, pertanto, sono altamente desiderabili per applicazioni nell'ambito automotive, aerospaziale, elettronico e soprattutto biomedicale [35]. Tuttavia, presentano un'alta suscettibilità alla corrosione e scarso comportamento tribologico, che si traduce in un rapido fallimento del componente. L'applicazione di rivestimenti è una strategia relativamente e promettente per adattare le proprietà di superficie a scopi diversi preservando le ottime proprietà meccaniche dei substrati metallici [36]. La PEO delle leghe di magnesio viene normalmente eseguita in elettroliti alcalini contenenti silicato, fosfato e/o alluminato con il rivestimento contenente fasi amorfe e/o cristalline come MgO, Mg2SiO4, Mg3(PO4)2 e Mg2AlO4. Lo spessore del rivestimento può facilmente raggiungere 50–100 μm, con un tasso di crescita medio di 1–5 $\frac{\mu m}{min}$. Si osserva tipicamente una struttura a due o tre strati con un caratteristico strato barriera sottile, di poche centinaia di nanometri di spessore, all'interfaccia substrato/rivestimento.

1.3.3 Modulazione di larghezza d'impulso

I dispositivi di carico sono progettati per funzionare in modo efficiente ed eseguire i rispettivi compiti se forniti con una certa tensione, consumando una particolare quantità di corrente. Per modificare i parametri del carico, è possibile abbassare la tensione, ma ciò avrà spesso effetti negativi, come la diminuzione della coppia di un motore o l'abbassamento della tensione al di sotto del livello di polarizzazione diretta di un transistor o di una serie di LED. Per fornire un controllo variabile senza sacrificare la capacità operativa, era necessario un metodo diverso. La modulazione di larghezza d'impulso (o PWM, acronimo del corrispettivo inglese Pulse Width Modulation) è un tipo di modulazione digitale che permette di ottenere una tensione media variabile dipendente dal rapporto tra la durata dell'impulso positivo e dell'intero periodo (duty cycle). Questa tensione media fornisce una potenza equivalente inferiore, pur mantenendo la massima tensione per la durata dello stato di attivazione dell'impulso (On mode). Essendo una modulazione digitale prevede la presenza di due soli stati : acceso e spento (che corrispondono a 1 e 0 nel contesto binario). I segnali PWM sono in genere onde quadre, come quella nell'illustrazione seguente.

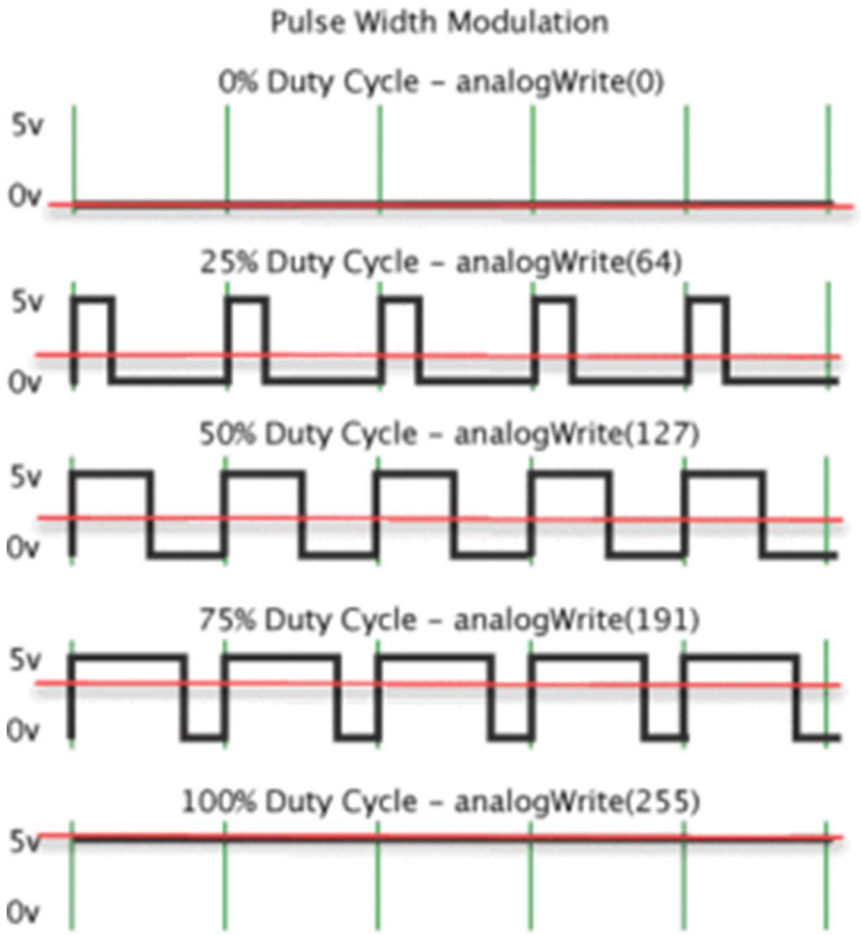


Figura 11 Un esempio di segnale PWM mostrato a diversi duty cycle e una tensione costante di 5 volt [37]

La durata di ciascun impulso può essere espressa in rapporto al periodo tra due impulsi successivi, implicando il concetto di ciclo di lavoro (duty cycle) . Un ciclo di lavoro utile pari a 0% indica un impulso di durata nulla, in pratica assenza di segnale, mentre un valore del 100% indica che l'impulso termina nel momento in cui ha inizio il successivo. Se il duty cycle di un alimentatore PWM è impostato al 70%, l'impulso è attivo per il 70% delle volte ed è disattivato per il 30% delle volte. Il duty cycle si riferisce alla quantità di tempo in cui è acceso. Il motivo principale per cui i circuiti PWM sono così efficienti è che non cercano di limitare parzialmente il flusso di corrente usando la resistenza. Attivano e disattivano completamente la corrente, quindi variano semplicemente la quantità di tempo in cui è acceso [38].

1.3 Idrossiapatite

Una forma biocompatibile di rivestimento può essere derivata da una varietà di composti di fosfato di calcio. In particolare, l'HAP [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$], è stata ampiamente utilizzata come sostituto e rimpiazzo osseo in diverse applicazioni biomediche [39].

L'utilizzo dell'idrossiapatite (HAP) nelle applicazioni di ingegneria dei tessuti duri presenta tre vantaggi principali:

- Ha buone proprietà di biocompatibilità e bioattività nei confronti delle cellule ossee e di altri tessuti corporei
- Ha una lenta biodegradabilità in situ
- Offre buone capacità di osteoconduttività e osteoinduttività

Queste proprietà sono molto importanti perché il tessuto osseo è costantemente sottoposto a rimodellamento, un processo in cui il tessuto osseo viene contemporaneamente sostituito e rimosso dalle cellule ossee (rispettivamente osteoblasti e osteoclasti). Questi vantaggi rendono l'HAP interessante per il rivestimento di impianti ortopedici metallici. Queste risposte biologiche positive all'interno del corpo umano hanno reso il rivestimento di fosfato di calcio un'opzione interessante per ridurre potenzialmente il tasso di biodegradazione degli impianti ortopedici in magnesio. Per depositare rivestimenti di fosfato di calcio su substrati di magnesio possono essere utilizzate diverse tecniche, che vanno dall'anodizzazione, all'ossidazione elettrolitica al plasma, ai rivestimenti bio-mimetici, ai metodi idrotermici [40].

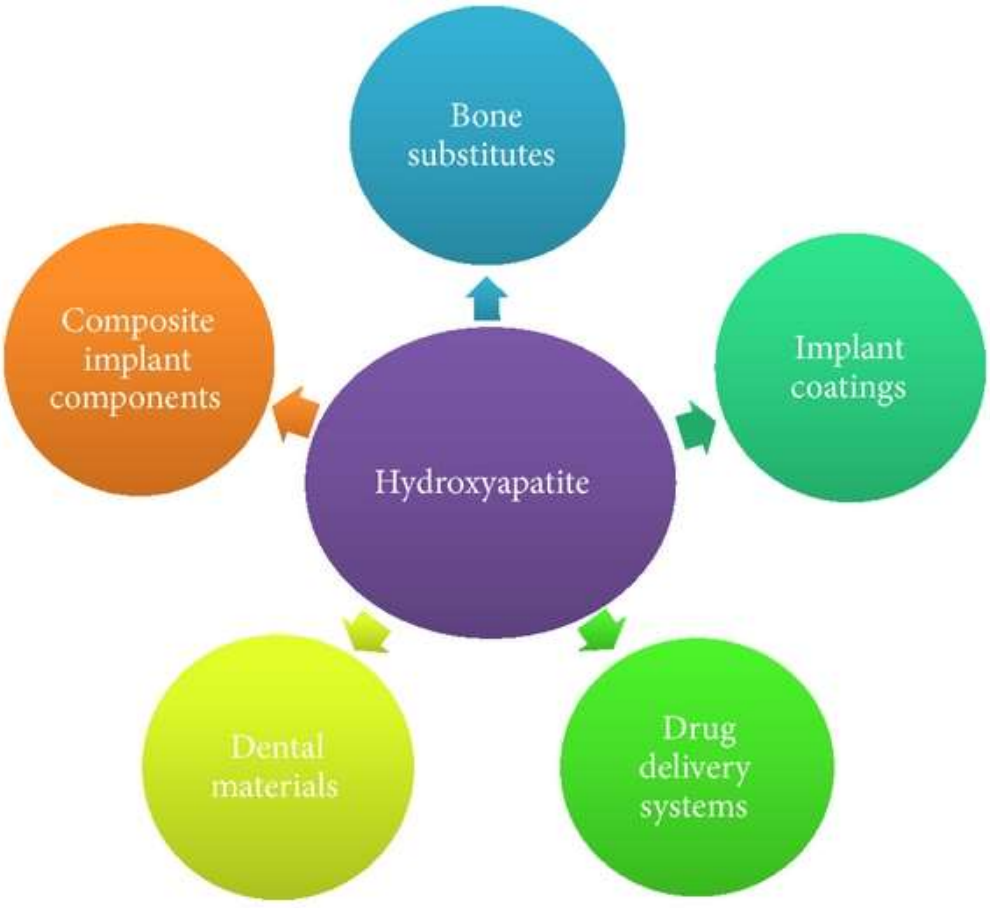


Figura 12 Possibili utilizzi dell'idrossiapatite [41]

1.4 SEM – Scanning electron microscopy

Successivamente all'ossidazione elettrolitica al plasma esistono delle analisi che permettono di caratterizzare lo spessore, la morfologia, la composizione e la microstruttura del rivestimento prodotto [42]. In generale, sono disponibili due tipi di microscopia: microscopia ottica (OM) e microscopia elettronica a scansione (SEM). Il primo è il più antico, che è stato utilizzato dagli ultimi due secoli sotto forma di semplice dispositivo con capacità limitate. L'OM differisce dal SEM per le seguenti proprietà e caratteristiche:

- Il principio di funzionamento nell' OM è la luce, a differenza del SEM, che dipende dall'emissione di elettroni [43].

Il microscopio a scansione elettronica (SEM) è considerato un metodo efficace nell'analisi di materiali organici e inorganici su una scala da nanometrica a micrometrica (μm), le immagini sono prodotte dalla scansione di un fascio di elettroni focalizzato attraverso un punto molto piccolo della superficie di un campione [44]. Gli elettroni sono accelerati da una fonte di elettroni e diretti attraverso lenti e aperture elettromagnetiche multiple prima di colpire il campione. Essi interagiscono con la superficie del campione e producono segnali diversi quando deviano dalla loro direzione originale [45].

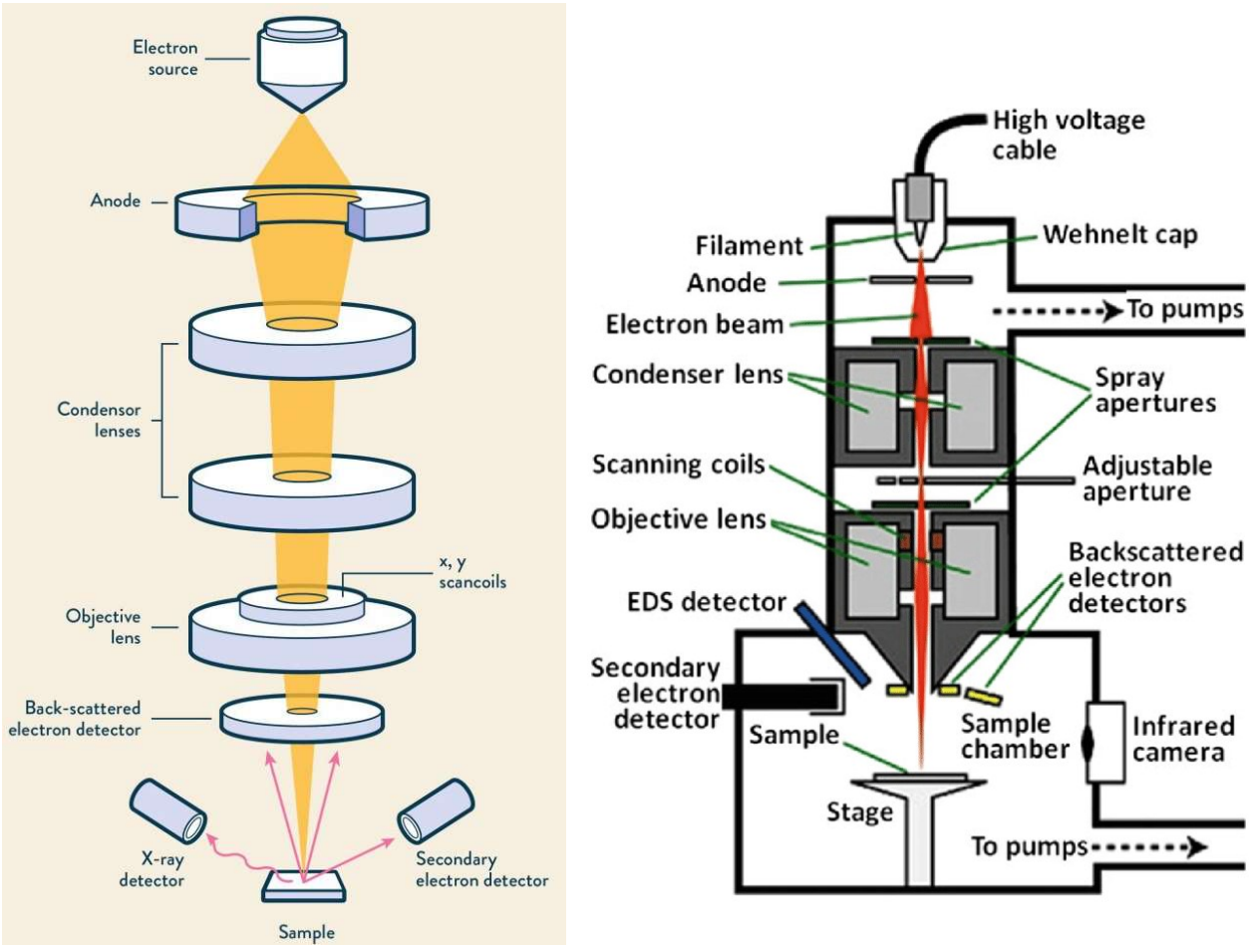


Figura 13 Schema del microscopio a scansione elettronica (SEM) [46]

Il fascio di elettroni rilascia anche elettroni secondari (SE) dal campione che si staccano e si disperdono dalla sua superficie, essi sono preziosi per mostrare la morfologia e la topografia dei campioni. Solo questi elettroni secondari che sono molto vicini alla superficie possono liberarsi ed essere rilevati da un rivelatore SE. Il segnale degli elettroni sparsi è più forte e più luminoso quando il campione si trova vicino al rivelatore. Quindi le differenze nella topografia della superficie appaiono chiaramente nell'immagine finale del campione. Il rivelatore è collegato a un computer che trasforma le informazioni in un'immagine. Oltre agli elettroni, alcune macchine SEM possono rilevare anche la luce. Quando gli elettroni interagiscono con la superficie del campione, fanno sì che il campione produca catodoluminescenza. La catodoluminescenza avviene quando gli elettroni interagiscono con un materiale luminescente, per esempio il fosforo, e fanno sì che il materiale emetta fotoni che possono essere visti a occhio nudo come luce se hanno lunghezze d'onda nello spettro visibile. L'analisi chimica (microanalisi) nel microscopio elettronico a scansione (SEM) viene realizzata misurando l'energia e la distribuzione delle intensità dei raggi X generati dal fascio elettronico sul campione. Il numero e l'energia dei raggi X emessi da un campione possono essere misurati da uno spettrometro a dispersione di energia.

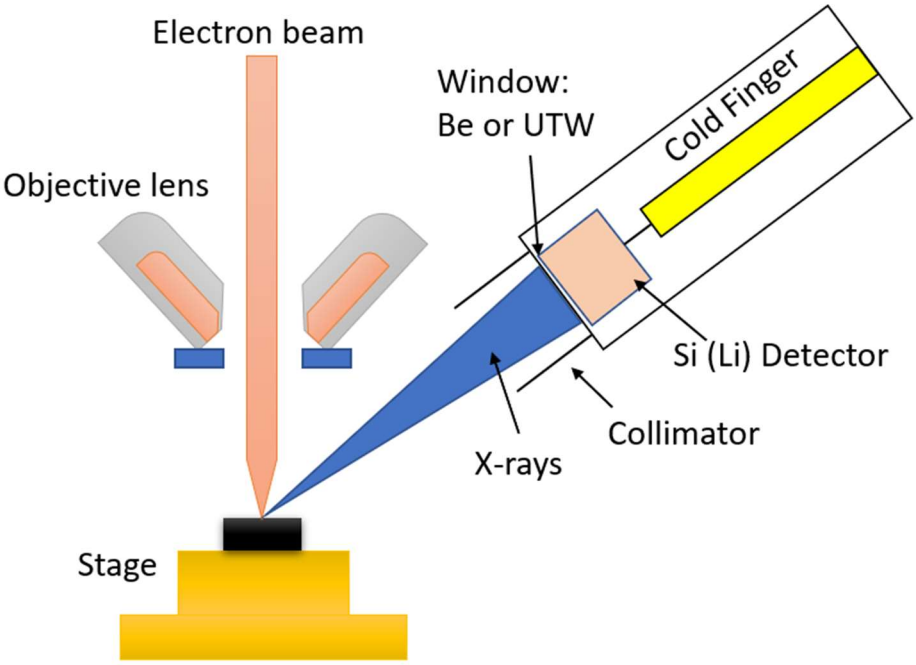


Figura 14 Schema di un rivelatore a dispersione di energia [47]

I quattro componenti principali della configurazione EDS sono:

- La sorgente di eccitazione (raggio di elettroni o raggio di raggi X)
- Il rivelatore di raggi X
- Il processore di impulsi
- L'analizzatore

L’analisi che viene prodotta può essere sia dell’area che in quel momento viene ingrandita, oppure, fermando la scansione del fascio elettronico, di un punto di interesse sulla superficie del campione (microanalisi). Dato che la porzione di spazio eccitata dal fascio elettronico, che produce lo spettro X, è un intorno del punto di pochi micron, il SEM+EDS è un potente mezzo di indagine su solidi chimicamente disomogenei a scala microscopica [48].
I vantaggi dell'EDS comprendono:

- Tecnica di analisi elementare relativamente rapida
- Mappatura elementare bidimensionale
- La possibilità di scansionare aree o singoli spot
- Gli spettri elementari sono collegati ai dati di immagine generati dal microscopio elettronico
- I dati generati provengono solo dalla parte superiore del paio di micron del materiale in esame

L'analisi al SEM è considerata "non distruttiva", cioè, i raggi X generati dalle interazioni degli elettroni non portano alla perdita di volume del campione, quindi è possibile analizzare gli stessi materiali ripetutamente. I campioni usati al SEM devono essere asciutti e le loro superfici devono essere conduttrici di elettricità. In caso contrario (per esempio nel caso di campioni biologici), devono essere pretrattati prima del SEM. Di solito, i campioni che non conducono elettricità devono essere rivestiti con un materiale conduttore prima dell'analisi. Rivestimenti adatti sono per esempio platino, oro, palladio e carbonio [49] [50]. Il SEM lavora ad un alto ingrandimento che arriva fino a 300.000x riesce in questo modo a produrre immagini molto precise di una vasta gamma di materiali [51].

1.5 XRD - X-ray diffraction

La diffrazione a raggi X (XRD) è una tecnica analitica rapida utilizzata principalmente per l'identificazione della struttura atomica e delle fasi di un materiale cristallino, può fornire anche informazioni sulle dimensioni delle celle unitarie. Tutti i metodi di diffrazione si basano sulla generazione di raggi X in un tubo radiogeno. I raggi X vengono diretti sul campione e i raggi, diffratti, vengono raccolti. Una componente chiave di tutte le diffrazioni è l'angolo tra i raggi incidenti e quelli diffratti [52]. La diffrazione è un fenomeno caratteristico di ogni tipo di onda (elettromagnetica, meccanica, elettronica), si verifica quando una impulso ondulatorio attraversa delle fenditure di dimensioni confrontabili con la sua lunghezza d’onda consiste quindi nella modifica della direzione di propagazione dell’onda incidente sulla fenditura.

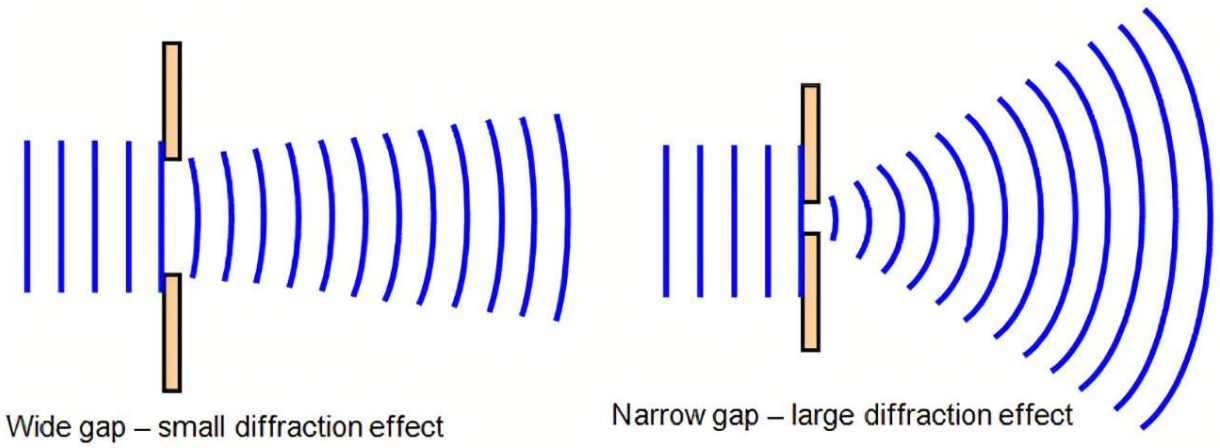


Figura 15 Fenomeno della diffrazione [53]

Le estremità della fenditura agiscono come sorgenti di radiazioni sferiche, il cui inviluppo produce fenomeni di interferenza, avrò quindi generazione delle frange di diffrazione sullo schermo ricevitore. L'XRD è quindi una tecnica di caratterizzazione superficiale non distruttiva che permette un'analisi strutturale dei materiali, essa si basa sull'interferenza costruttiva di raggi X monocromatici con un campione cristallino. I raggi X sono radiazioni elettromagnetiche ad alta energia, aventi una lunghezza d'onda compresa approssimativamente fra 10^{-9} e 10^{-12} m, vengono generati da un tubo catodico riscaldando un filamento, filtrati per produrre radiazioni monocromatiche, collimati per concentrarli ed infine diretti verso il campione. L'interazione dei raggi incidenti con il campione produce un'interferenza costruttiva, o diffrazione, quando le condizioni soddisfano la legge di Bragg ($n\lambda=2dsin\theta$).

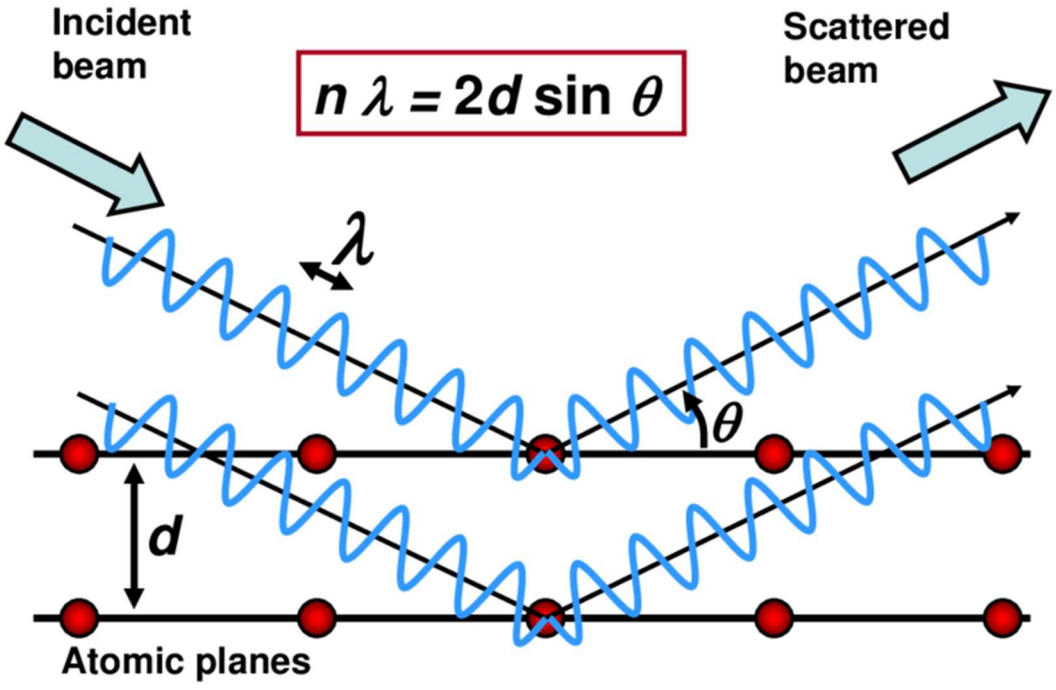


Figura 16 La legge di Bragg [54]

Questa legge mette in relazione la lunghezza d'onda della radiazione elettromagnetica (λ) con l'angolo di diffrazione (θ) e la spaziatura del reticolo in un campione cristallino [55] [56]. Le lunghezze d'onda specifiche sono caratteristiche del materiale di destinazione (Cu, Fe, Mo, Cr). Un rivelatore registra ed elabora questo segnale a raggi X e lo converte in un tasso di conteggio che viene poi inviato a un dispositivo come una stampante o il monitor di un computer. Per convenzione, l'angolo compreso tra le direzioni dei fasci in ingresso e in uscita viene denominato 2θ, o 2-theta, scansionando il campione attraverso questa gamma di angoli, si ottengono tutte le possibili direzioni di diffrazione del reticolo [57].

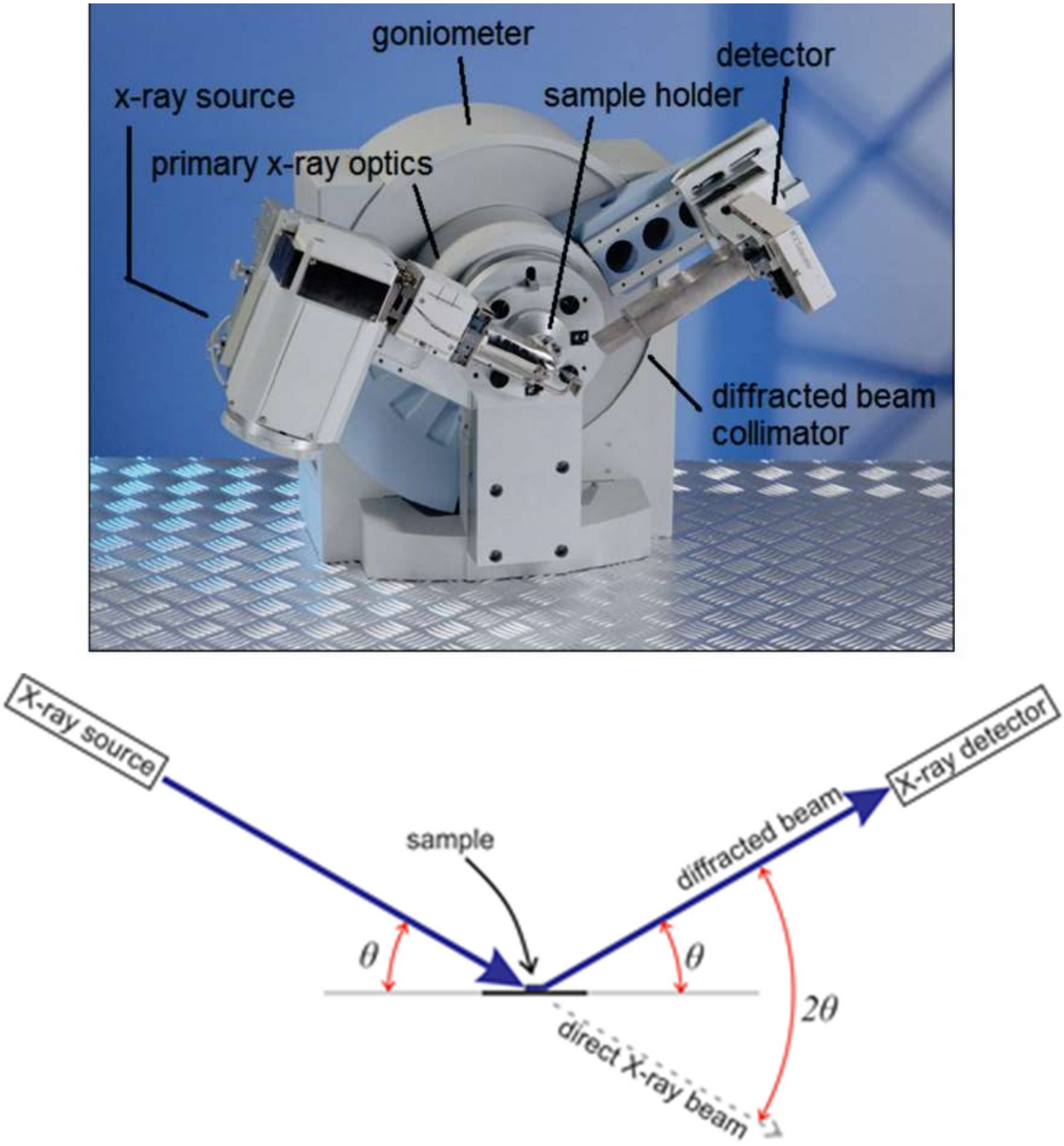


Figura 17 Diffrazione a raggi X [58]

1.6 Corrosion test

1.6.1 Spettroscopia di impedenza elettrochimica (EIS)

La spettroscopia di impedenza elettrochimica (EIS) è stata ampiamente utilizzata negli ultimi anni come strumento, insieme all'analisi superficiale, per studiare le proprietà protettive dei rivestimenti organici per i metalli. Due fattori rendono l'EIS particolarmente interessante. In primo luogo, i dati EIS possono essere utilizzati per ottenere proprietà fisiche, come i coefficienti di diffusione, la velocità di reazione chimica e le caratteristiche microstrutturali del sistema elettrochimico. In secondo luogo, l'implementazione di un esperimento EIS è relativamente semplice. L'EIS (electrochemical impedance spectroscopy) è unica tra tutte le tecniche elettrochimiche classiche perché misura la relazione tra la corrente e la differenza di potenziale applicata nel dominio della frequenza. In particolare, la tecnica EIS stima la funzione di trasferimento tra corrente e potenziale. Per misurare l'EIS, si sottopone un sistema elettrochimico ad una piccola (idealmente infinitesimale) perturbazione sinusoidale di tensione (modalità potenziostatica) o di corrente (modalità galvanostatica) per un determinato insieme di frequenze e, contemporaneamente, si registra la risposta sinusoidale risultante di corrente o tensione. Dal rapporto tra l'ampiezza tensione-corrente e dallo sfasamento tra l'ingresso e l'uscita, si ottiene una funzione a valore complesso, che dipende dalla frequenza. Va notato che, affinché l'EIS sia significativo, è necessario che siano soddisfatte le condizioni di stabilità, linearità e causalità. L'interpretazione dei dati EIS può essere impegnativa [59].

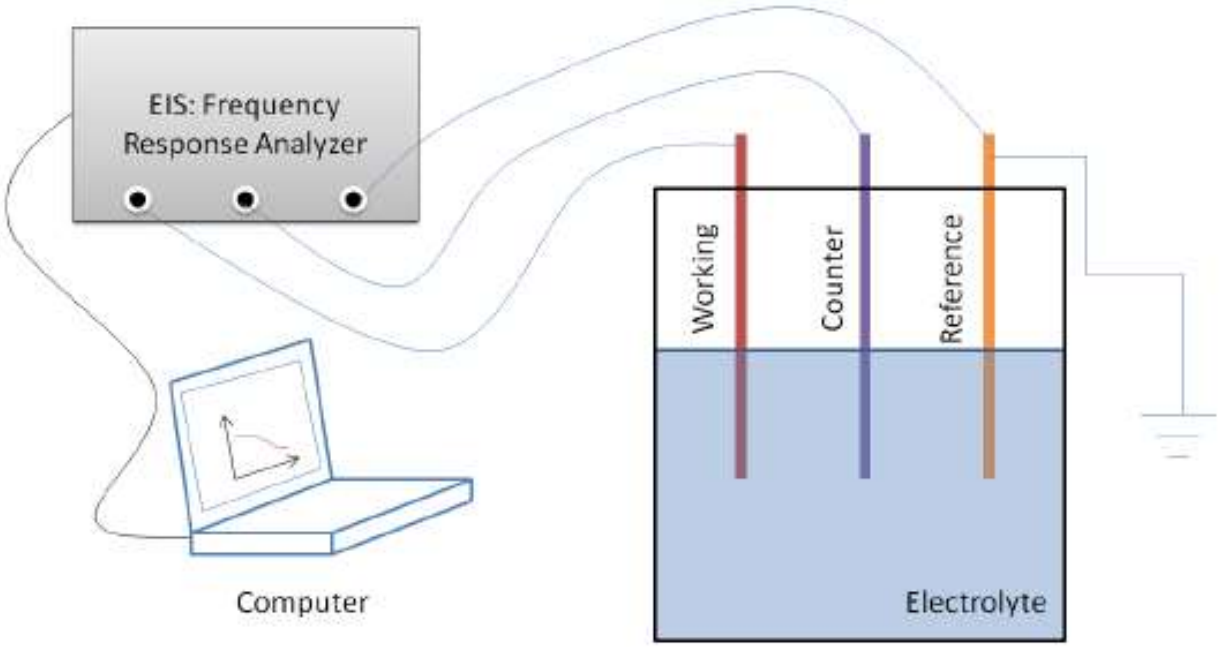


Figura 18 Schema del potenziostato con configurazione a 3 elettrodi [60]

1.6.2 Polarizzazione potenziodinamica (PDP)

La polarizzazione potenziodinamica (PDP) è una tecnica elettrochimica comunemente utilizzata per caratterizzare le proprietà di corrosione delle superfici metalliche con o senza rivestimento protettivo in ambienti come l'acqua di diversa salinità (ambiente marino), il suolo o gli elettroliti delle batterie. È una tecnica rapida, spesso utilizzata come misura iniziale della velocità di corrosione e della stabilità di rivestimenti e film protettivi. Potenziodinamica è un termine che descrive la variazione misurata del potenziale elettrico (tensione) di un sistema. In elettrochimica, questo termine viene utilizzato per descrivere i metodi di polarizzazione nel settore della corrosione [61]. La polarizzazione potenziodinamica (PDP) è quindi una tecnica di polarizzazione in cui il potenziale dell'elettrodo viene variato su un dominio relativamente ampio e ad a una velocità selezionata mediante l'applicazione di una corrente attraverso l'elettrolita. Le variazioni di corrente consentono di determinare il potenziale di corrosione, la corrente di corrosione, la corrente di passivazione e il potenziale di rottura di un rivestimento. La PDP può fornire anche informazioni utili e significative sui meccanismi di corrosione, sulla velocità di corrosione e sulla suscettibilità di specifici materiali alla corrosione in determinati ambienti, per questo motivo è spesso utilizzata per i test di corrosione in laboratorio. È una tecnica rapida e relativamente economica per ottenere le proprietà elettrochimiche di un materiale [62]. La corrosione degli impianti metallici all'interno di un ambiente corporeo è critica a causa delle implicazioni negative sulla biocompatibilità e sull'integrità del materiale. Il principale fattore che contribuisce alla corrosione degli impianti all'interno del corpo è la dissoluzione dell'ossido di superficie che porta a un maggiore rilascio di ioni metallici. Ne conseguono reazioni biologiche avverse, che possono essere riscontrate localmente, ma con effetti potenzialmente sistemici che portano al fallimento prematuro dell'impianto [63] [64]. Le leghe di magnesio presentano delle scarse proprietà di resistenza alla corrosione. Il magnesio è infatti uno degli elementi più attivi e si corrode rapidamente in mezzi ionici, come l'ambiente del corpo umano. La resistenza alla corrosione viene migliorata aggiungendo rivestimenti PEO con proprietà chimiche inerti e regolando il processo PEO per fornire il livello di resistenza desiderato.

2. PROCEDURE SPERIMENTALI

2.1 Materiali utilizzati

In questo studio è stato inizialmente utilizzato il magnesio puro come substrato per ottenere il rivestimento attraverso il processo PEO, i lingotti di magnesio puro sono stati tagliati in provini rettangolari la cui area di lavoro è $\sim 3.5 cm^2$ (Figura 19).

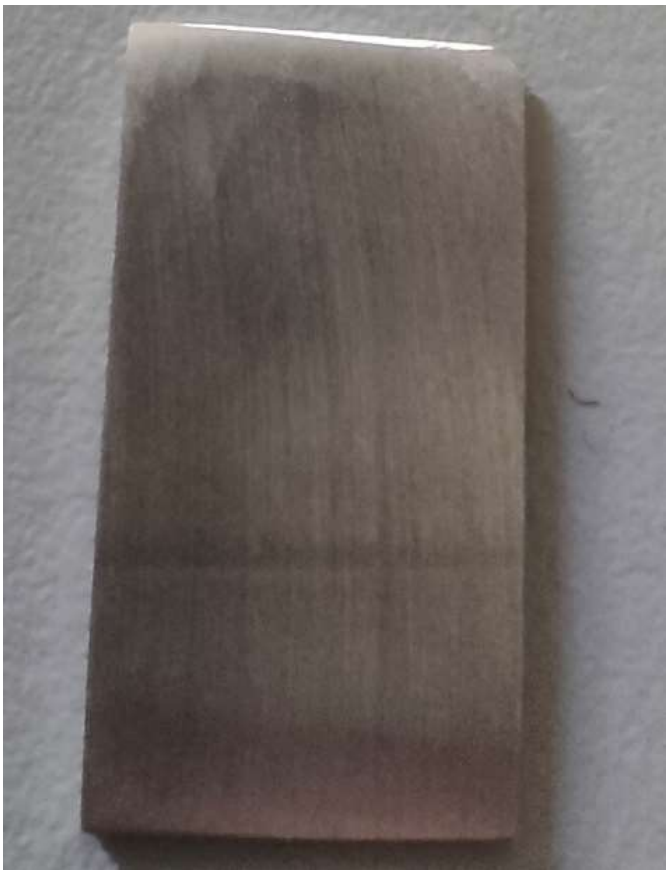


Figura 19 Provino rettangolare Magnesio

Prima del trattamento PEO i campioni (contrassegnati come A, B) sono stati preparati adeguatamente, in particolare sono stati lucidati secondo le tecniche metallografiche standard (smerigliatura con carte abrasive di grana 320, 500, 800, 1200 e 4000 seguita da lucidatura con panni con 0,3 μm e 0,1 μm di silice colloidale) ed infine puliti con acqua distillata ed etanolo.
Come ulteriore studio è stata prodotta una lega di magnesio calcio la cui composizione chimica risulta essere:

- 99% Magnesio
- 1% Calcio

Essa è stata prodotta mediante un processo di fusione (Figura 20). Per raggiungere la corretta concentrazione di calcio e per consentire una miglior uniformità nella microstruttura è stata inizialmente fuso il magnesio assieme al calcio per formare una lega madre al 10% di Calcio.

In seguito, è stata eseguita una nuova fusione aggiungendo ulteriore magnesio, così da ottenere la lega finale al 1% di Calcio. Per valutare se la composizione della lega fosse corretta sono state eseguite delle analisi EDS al SEM, tali analisi hanno dimostrato che la lega appena prodotta conteneva ~ 1% di calcio al suo interno.

Figura 20 Fusione della lega Magnesio Calcio

È stata così prodotta una lega con una distribuzione uniforme del calcio all'interno. Tale lingotto è infine stato tagliato anch'esso in provini rettangolari la cui area di lavoro è $\sim 2.8\text{cm}^2$. Anche in questo caso, prima del trattamento PEO i campioni (contrassegnati come C, D, E, F) sono stati lucidati secondo le tecniche metallografiche standard (smerigliatura con carte abrasive di grana 320, 500, 800, 1200 e 4000 seguita da lucidatura con panni con 0,3 μm e 0,1 μm di silice colloidale) ed infine puliti con acqua distillata ed etanolo.

2.2 Ossidazione elettrolitica al plasma – PEO

L'importanza dei trattamenti superficiali sugli impianti in lega di magnesio, per ridurne la velocità di corrosione, è stata analizzata in questo studio, infatti è stato applicato il trattamento di lavorazione superficiale PEO alla lega magnesio - calcio (1% in peso di calcio), tale trattamento è stato prodotto anche su una lega di magnesio puro, utilizzata come confronto assieme ai campioni non trattati sia di magnesio che di magnesio - calcio.

L'apparecchiatura PEO è composta da:

- un generatore di corrente (TDK-Lambda)
- una gabbia in acciaio inossidabile (catodo)
- sistema di raffreddamento
- sistema di miscelazione magnetico
- campione da trattare (anodo)
- cappa di aspirazione fumi
- oscilloscopio

Su tutti i campioni il trattamento PEO è stato effettuato ad una densità di corrente costante di 0.5 $\frac{A}{cm^2}$ per un tempo di 2 min, lavorando così con densità di corrente relativamente elevate per un breve lasso di tempo.

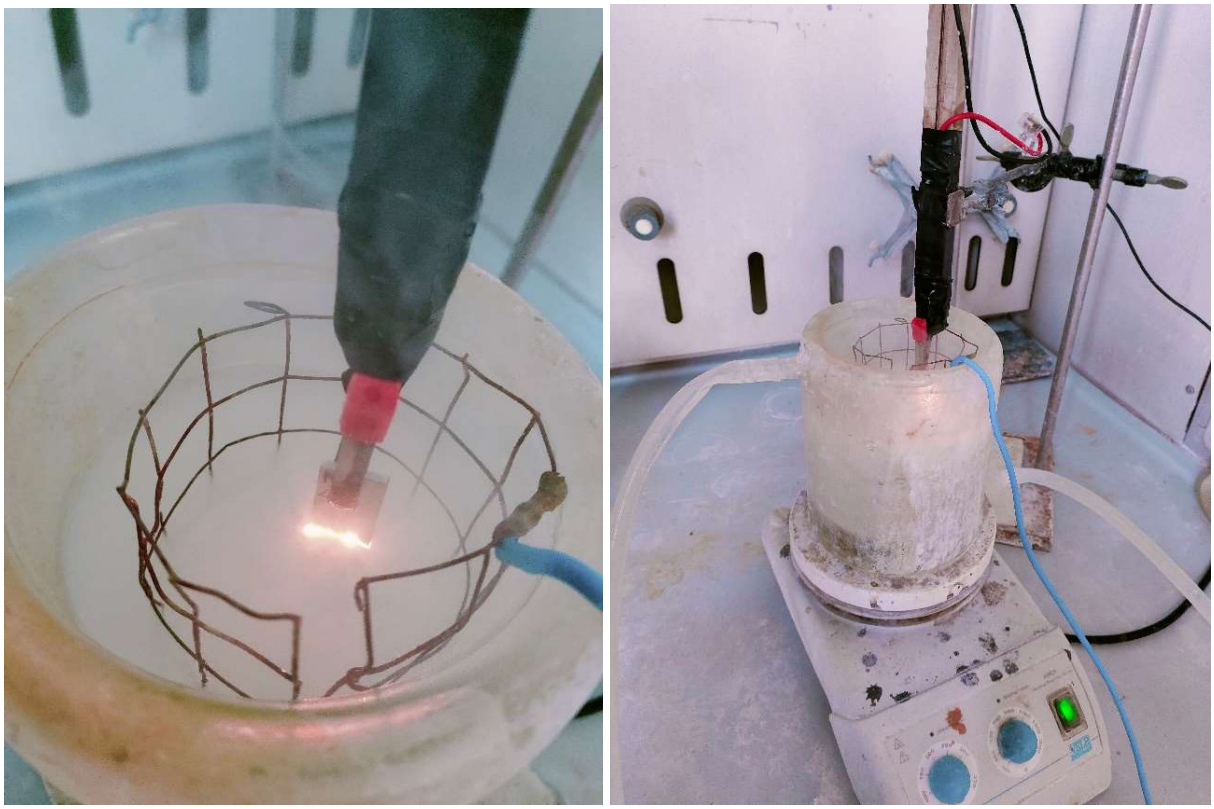


Figura 21 Microscariche anodiche e apparecchiatura PEO

Il potenziale, per tutti i campioni, è stato lasciato libero di variare, fino ad una valore massimo di 315 V, al fine di ridurre il consumo energetico del processo PEO. A causa dell'alta tensione si sono generate delle microscariche anodiche sulla superficie, visibili in Figura 21, esse sono fondamentali per il processo perché' provocano la crescita del rivestimento ceramico di ossido. L'elettrolita, composto da una soluzione acquosa di silicato di sodio (Na_2SiO_3), sodio trifosfato ($Na_5P_3O_{10}$), potassio idrossido (KOH) e ossido di calcio (CaO), è stato mantenuto a temperatura

ambiente con un bagno termostatico. Le concentrazioni specifiche sono riportate nella Tabella 1. Il trattamento PEO sui campioni A, B, C e D è stato eseguito utilizzando questo primo elettrolita.

Tabella 1 Composizione chimica del primo elettrolita

Composto chimico	Concentrazione (g/L)
Na_2SiO_3	8
Na5P3O10	10
KOH	1
CaO	3

Nel trattamento PEO dei campioni E ed F è stato preparato lo stesso elettrolita (Tabella 1) non aggiungendo però l'ossido di calcio (CaO) (Tabella 2). In questo modo è stato possibile fare un confronto per vedere se nella lega magnesio calcio è possibile sviluppare idrossiapatite anche con l'assenza di calcio in soluzione. Inoltre, è stato così verificato se la presenza di calcio sia nella lega che nell'elettrolita peggiorasse la resistenza a corrosione.

Tabella 2 Composizione chimica del secondo elettrolita

Composto chimico	Concentrazione (g/L)
Na_2SiO_3	8
Na5P3O10	10
KOH	1

L'elettrolita è stato continuamente agitato mediante un magnete durante l'intera durata del trattamento. Per la generazione di un segnale pulsato PWM (Pulse Width Modulation) è stata utilizzata un alimentatore basato su una tecnologia a relè, che apre e chiude un contatto elettrico. Il substrato di magnesio è stato utilizzato come anodo, mentre la gabbia in acciaio inossidabile è stata utilizzata come catodo. I campioni sopracitati sono stati prodotti utilizzando i parametri presentati nella Tabella 3. Il trattamento è stato eseguito con corrente unipolare pulsata con una

frequenza di 200 Hz e un duty cycle del 50% nei campioni A, C, E, mentre nei campioni B, D, F è stato eseguito con corrente unipolare pulsata con una frequenza di 500 Hz e un duty cycle del 15%

Tabella 3 Parametri PEO utilizzati

Campione	Materiale	Elettrolita	Frequenza (Hz)	Duty Cycle (%)	Time (s)	Densità di corrente (A/cm2)
A	Mg puro	Na_2SiO_3 Na5P3O10 KOH CaO	200	50	120	0.5
B	Mg puro	Na_2SiO_3 Na5P3O10 KOH CaO	500	15	120	0.5
C	MgCa	Na_2SiO_3 Na5P3O10 KOH CaO	200	50	120	0.5
D	MgCa	Na_2SiO_3 Na5P3O10 KOH CaO	500	15	120	0.5
E	MgCa	Na_2SiO_3 Na5P3O10 KOH	200	50	120	0.5
F	MgCa	Na_2SiO_3 Na5P3O10 KOH	500	15	120	0.5
G	Mg	No Coating				
H	MgCa	No Coating				

Dalla Tabella 3 si può notare che i campioni A, C, E sono stati trattati con gli stessi parametri elettrici, come anche i campioni B, D, F. I campioni A e B sono prodotti dal magnesio puro, i campioni C e D sono prodotti dal magnesio - calcio, i campioni E ed F sono prodotti dal magnesio - calcio modificando la composizione dell'elettrolita. I campioni G ed H non sono

stati trattati per essere usati come riferimenti rispettivamente per il magnesio ed il magnesio – calcio rispettivamente. Dopo il trattamento con PEO i campioni sono stati lavati con acqua distillata ed asciugati mediante aria compressa. La scelta dei parametri elettrici è stata effettuata sulla base di prove preliminari e con l'obiettivo di lavorare con densità di corrente relativamente elevate e brevi tempi di trattamento. Dalle prove preliminari è stato verificato che un tempo di trattamento superiore ai due minuti non apporta vantaggi significativi allo strato superficiale prodotto. Per tempi di trattamento inferiori a 2 min, al rivestimento non viene dato il tempo di formarsi correttamente. Pertanto, in questo lavoro è stata riportata una combinazione di densità di corrente e tempi di trattamento. Ogni campione è stato riprodotto più volte al fine di permettere la riproducibilità.

2.3 Microscopio elettronico a scansione - SEM

Per analizzare quindi la superficie e la sezione trasversale dei rivestimenti bioattivi è stato utilizzato un microscopio elettronico a scansione (SEM) Zeiss Evo Ma 10 (Milano, Italia), dotato di un EDS Oxford Inca (Oxford Instrument, UK). Sono state eseguite analisi SEM sulle superfici per vedere la morfologia e la distribuzione sia degli ossidi che dei rivestimenti di idrossiapatite e sulle sezioni trasversali per analizzare lo spessore e l'uniformità dello strato protettivo. Prima dell'inserimento nel SEM i campioni sono stati sottoposti a doratura. Per osservare le sezioni trasversali (cross-section), i campioni sono stati tagliati lungo la sezione trasversale, montati in resina epossidica e lucidati con una tecnica metallografica standard (levigatura con carte abrasive da grana 320 a 4000 con successiva lucidatura mediante panni e sospensione diamantata di 3 μm e 1 μm). Inoltre, sia nelle analisi cross-section che in quelle di superficie, sono state prodotte delle mappe EDS (spettroscopia a raggi X), per vedere meglio la distribuzione degli elementi nel rivestimento PEO. Nell'EDS, gli elettroni vengono eliminati dagli atomi, producendo raggi X di lunghezza d'onda caratteristica. Questi raggi X vengono poi rilevati per identificare l'elemento da cui sono stati prodotti.

Figura 22 Microscopio a scansione elettronica

2.4 Diffrazione a raggi X – XRD

L'XRD cerca di caratterizzare il materiale analizzando la struttura cristallina e confrontandola con un database di strutture note, può fornire molte informazioni sul materiale, come fase, dimensione dei grani, struttura, % di cristallinità e stress. Le misure di diffrazione dei raggi X (XRD) sono state eseguite sulla faccia superiore dei campioni, al fine di caratterizzare le fasi presenti nel rivestimento, con un diffrattometro a raggi X Broker D8 Advance. È stato utilizzato un range di angoli tra 10 e 90 con step di avanzamento di 0.05° e tempo di acquisizione 1s, l'angolo tra il tubo ed il campione è stato impostato a 3°. Nei casi in esame le analisi XRD sono state utilizzate per ricavare la composizione dello strato PEO formato e verificare le differenze tra i diversi campioni prodotti.

2.5 Prove a corrosione

I diversi materiali metallici hanno caratteristiche di polarizzazione diverse, dettate dal potenziale di circuito aperto, dal potenziale di rottura e dal potenziale di passivazione del materiale. Il rilevamento di questi parametri elettrochimici identifica i fattori di corrosione di un materiale. Le tecniche elettrochimiche forniscono un metodo rapido e relativamente economico per ottenere le proprietà elettrochimiche di un materiale. Pertanto, disporre di un sistema che produca una scansione di polarizzazione affidabile e ripetibile su più cicli è di grande importanza [65].

La resistenza alla corrosione è stata analizzata mediante:

- Misure OCP
- Test di polarizzazione potenziodinamica (PDP)
- Test di spettroscopia di impedenza elettrochimica (EIS)

Tutte queste prove sono state svolte a temperatura ambiente ed utilizzando come elettrolita una soluzione di fluido corporeo simulato (SBF), la cui composizione sarà descritta nella Tabella 4. In letteratura, è descritto come l'SBF sia stato spesso utilizzato come elettrolita per le misure elettrochimiche in cui sono testati materiali per applicazioni biomediche. L'SBF viene utilizzato perché' presenta una composizione ionica molto simile a quella del plasma sanguigno.

Tabella 4 Composizione fluido corporeo simulato (SBF)

Elettrolita	Concentrazione (g/L)
NaCl	1,5881
NaHCO3	0,0709
Na2HPO4·7H2O	0,0492
MgCl2·6H2O	0,0617
CaSO4·H2O	0,0171
KCl	0,0746
CaCl2	0,0403

I due test potenziodinamici sono stati svolti dopo aver rilevato il potenziale a circuito aperto (OCV), per fare ciò è stato posto un campione per volta in soluzione SBF per 30 minuti ciascuno. Questo potenziale sarà utilizzato come potenziale di partenza per il test EIS (spettroscopia di impedenza elettrochimica) e per il test PDP (polarizzazione potenziodinamica). Per le misure EIS è stato utilizzato uno spettrometro Materials Instrument accoppiato al potenziostato AMEL 2549 funzionante, come detto precedentemente, alla tensione di circuito aperto (OCV) dopo 30 minuti di stabilizzazione OCV. I dati sperimentali sono stati adattati con il software Z-View, utilizzando un apposito circuito equivalente per determinare l'adattamento degli spettri d'impedenza. Per ottenere una corretta curva di polarizzazione non deve esser presente alcun tipo di ''rumore'' che possa deformare il grafico, la curva di polarizzazione è stata ottenuta con il potenziale in funzione della densità di corrente. Il potenziale di corrosione e la velocità di corrosione di ognuno dei sei campioni sono dedotti analizzando rispettiva la curva di polarizzazione. Per caratterizzare le proprietà di resistenza a

corrosione è stato utilizzato un Potenziostato AMEL 2549 con configurazione a tre elettrodi, visibile in figura, ognuno di essi con funzione differente.

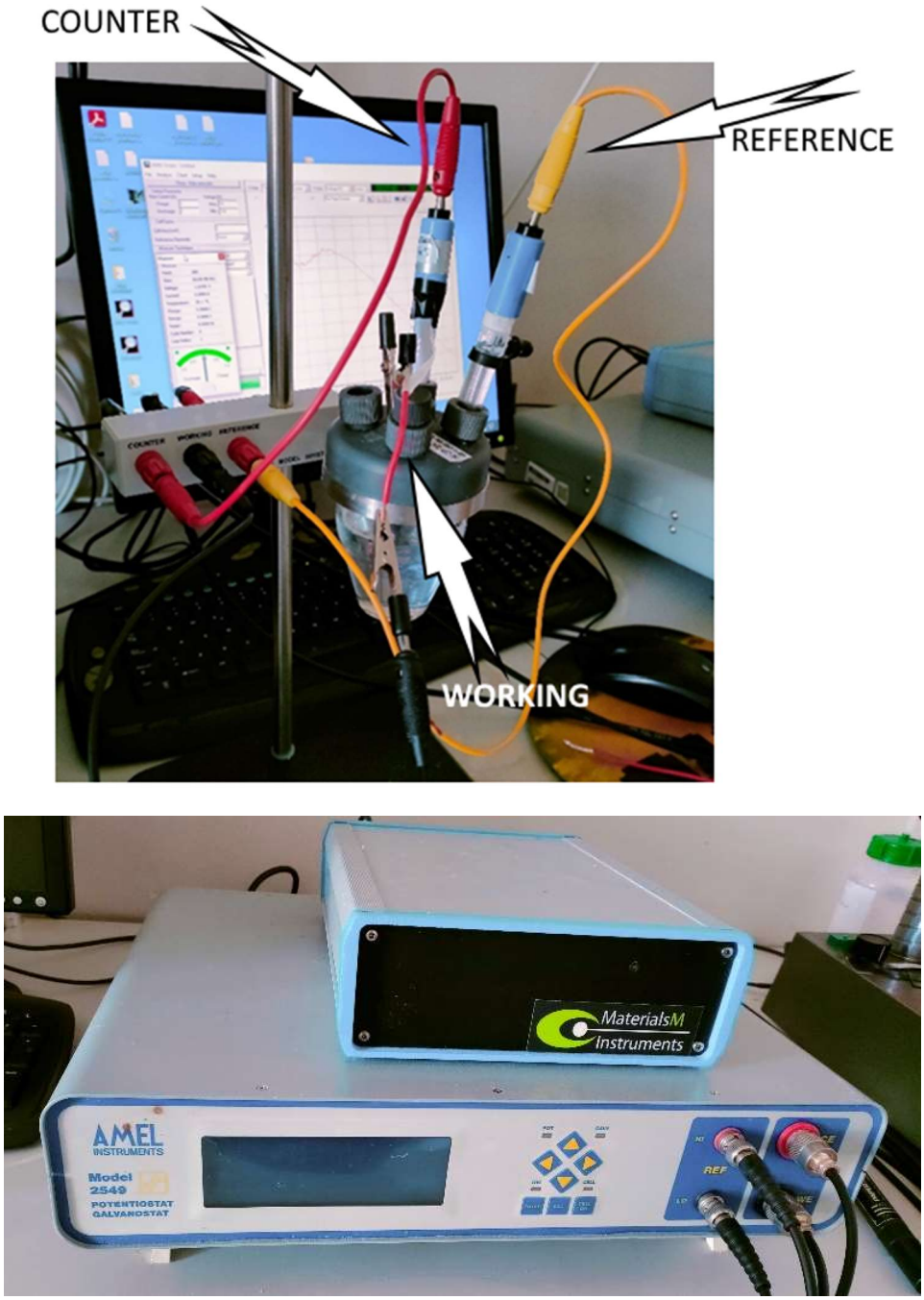


Figura 23 Configurazione test di corrosione e potenziostato AMEL

- Il Working electrode (WE, elettrodo di lavoro) è l'elettrodo dove è controllato il potenziale e dove è misurata la corrente. Il campione è posto in soluzione lasciando esposta un'area di $1 cm^2$
- Il Counter electrode (CE, contro elettrodo) è composto da un elettrodo al platino, è un conduttore che completa il circuito della cella, la corrente che fluisce nella soluzione attraverso il working electrode lascia la soluzione tramite il counter

electrode. Quest'ultimo oscillerà spesso a potenziali estremi per svolgere questo compito

- Il ruolo del Reference electrode (RE, elettrodo di riferimento) è fungere da riferimento nella misurazione e nel controllo del potenziale dell'elettrodo di lavoro. Un elettrodo di riferimento dovrebbe avere un potenziale elettrochimico costante fintanto che nessuna corrente lo attraversa. A tale scopo è stato impiegato un elettrodo al calomelano saturo (SCE)

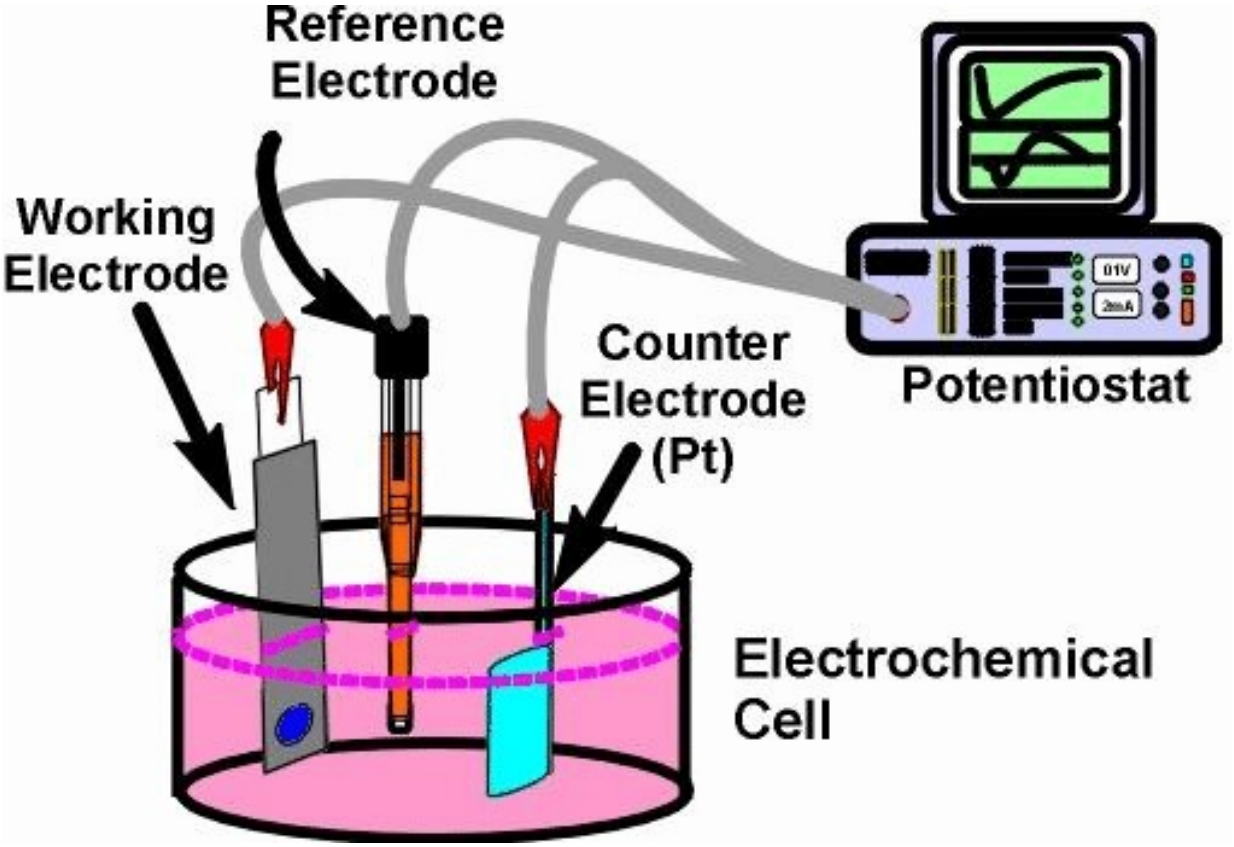


Figura 24 Schematizzazione di un potenziostato a tre elettrodi

3. RISULTATI E DISCUSSIONE

Come descritto in precedenza, i trattamenti sono stati eseguiti lavorando a densità di corrente costante e monitorando il potenziale: è stata osservata una stabilità al raggiungimento dei 315V. A causa dell'alta tensione (che deve essere superiore al potenziale di rottura dielettrica dello strato di ossido), durante il trattamento PEO si sono formate microscariche anodiche persistenti sulla superficie. Queste microscariche di breve durata sono i fattori chiave del processo, infatti muovendosi in maniera casuale sulla superficie provocano la crescita dello strato di ossido. Inizialmente si è vista una crescita lineare della tensione nel tempo che, al superamento del valore critico, provoca lo sviluppo di cariche disperse ed il rilascio di ossigeno.

3.1 Caratterizzazione della lega magnesio calcio (MgCa)

Dopo il processo di fusione dalla lega appena prodotta è stato tagliato un campione, lucidato secondo le tecniche metallografiche standard (smerigliatura con carte abrasive di grana 320, 500, 800, 1200 e 4000 seguita da lucidatura con panni con 0,3 µm e 0,1 µm di silice colloidale) dopodiché è stato pulito con acqua distillata ed etanolo. Successivamente sono state scattate delle immagini al SEM per vedere se il calcio si fosse uniformemente distribuito (Figura 25). Infine, per valutare che la composizione di calcio fosse quella richiesta, è stata fatta sulla superficie una mappatura elementare EDS in diverse zone.

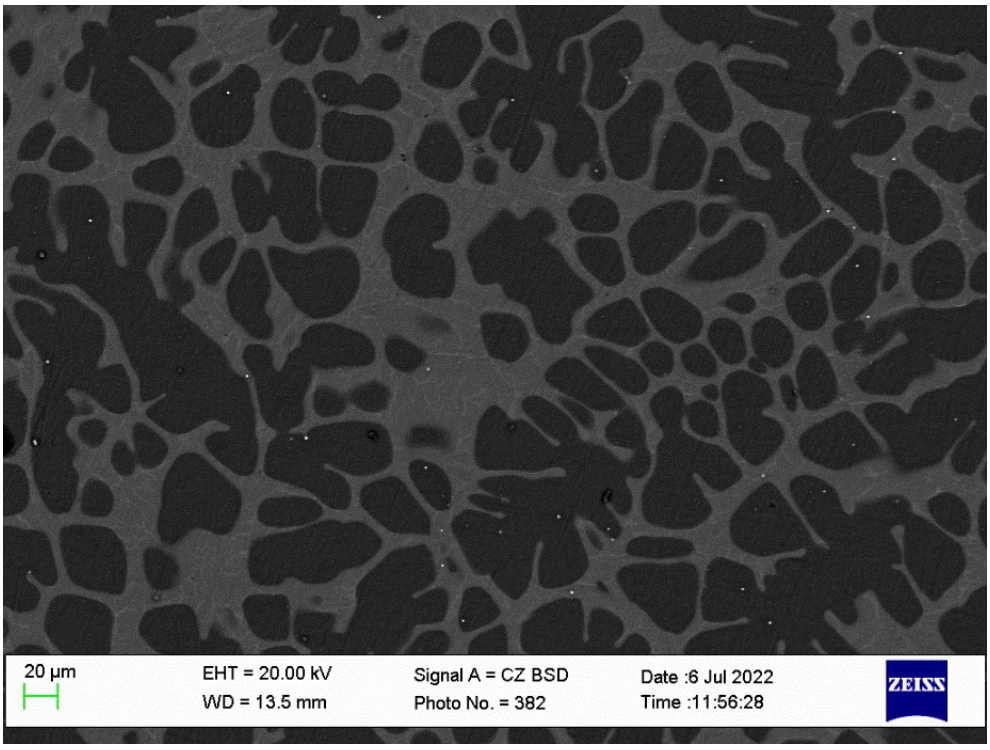


Figura 25 Analisi SEM sulla lega magnesio – calcio non trattata

In Figura 26 è possibile vedere lo spettro EDS del campione di magnesio - calcio non trattato, la lega appena prodotta, come possiamo vedere in figura, è composta quasi totalmente da magnesio, infatti contiene, come previsto, solo l'1% di calcio.

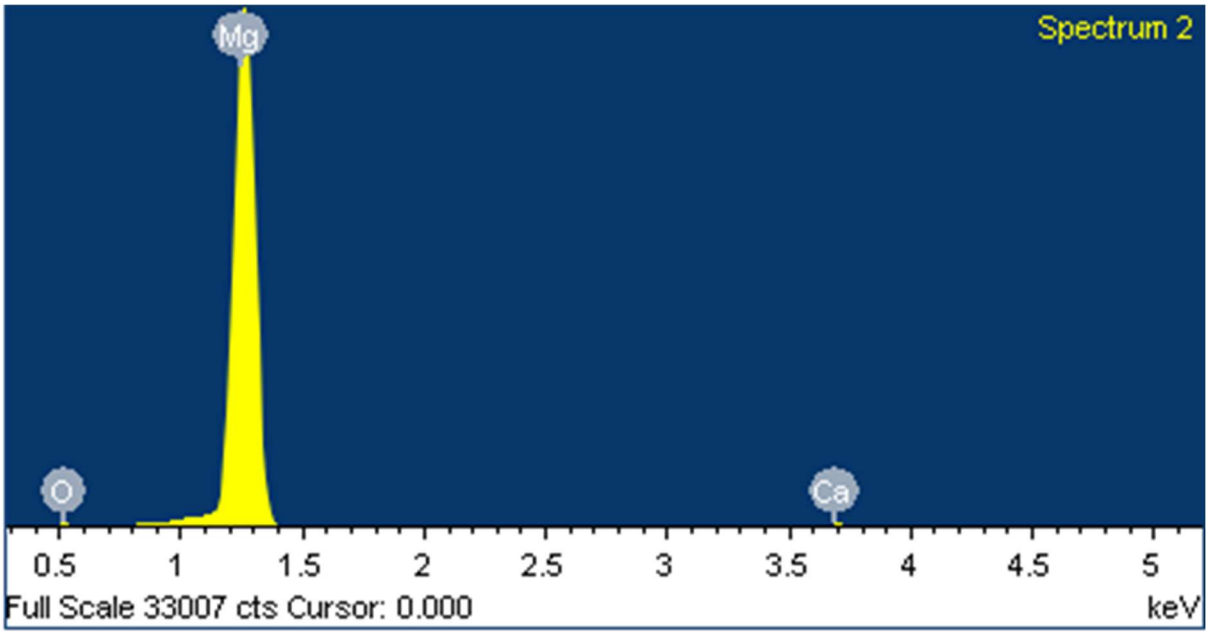


Figura 26 Spettro EDS, rappresenta la composizione della nuova lega magnesio – calcio

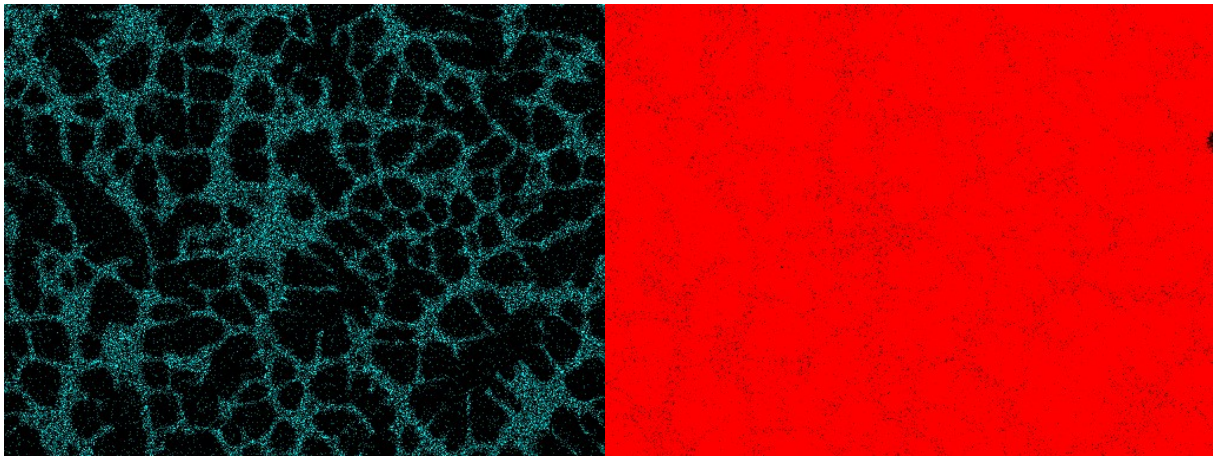


Figura 27 Mappatura elementare della lega magnesio – calcio prodotta

In Figura 27 si puo' vedere la mappatura elementare eseguita sulle immagini ad alto ingrandimento delle superfici dei campioni rivestiti, il colore rosso corrisponde al magnesio mentre il colore azzurro corrisponde al calcio. E' possibile notare come il calcio sia distribuito in modo abbastanza uniforme all'interno della lega, cio' è conseguenza del doppio processo di fusione che permette lo sviluppo di una lega piu' omogenea.

3.2 Caratterizzazione della superficie

Le superfici e le sezioni trasversali di tutti i campioni sono state osservate al SEM con elettroni retrodiffusi (BSE) e secondari (SE). Le analisi al SEM sono state eseguite innanzitutto per caratterizzare la morfologia del rivestimento bioattivo sui diversi campioni, in questo modo è stato possibile valutare quale di questi presentasse il substrato migliore. Nelle figure seguenti è possibile osservare le micrografie SEM a basso ingrandimento delle superfici dei campioni trattati con PEO, si nota lo strato poroso caratteristico di questo specifico trattamento, presente su ogni campione. Nello specifico, la struttura dei pori è caratteristica dello strato di ossido formato dal trattamento PEO. I pori superficiali sono causati dalla scarica di plasma, la cui intensità dipende dai parametri di trattamento del PEO. Con l'aumentare della densità di corrente, del potenziale applicato e della concentrazione dell'elettrolita si produrrà un incremento del diametro dei pori e della rugosità di quest'ultimi. La microstruttura risultante si presenta ruvida per tutti e i campioni trattati, ciò può essere vantaggioso in quanto può promuovere la crescita delle ossa naturali e accelerare il legame interfacciale tra gli impianti e le ossa naturali. Una superficie con livello di rugosità superiore ad impianti lisci induce sicuramente una risposta ossea più forte ed incoraggia positivamente i fenomeni, sia a livello cellulare che molecolare, di guarigione dei tessuti.

- Campione A

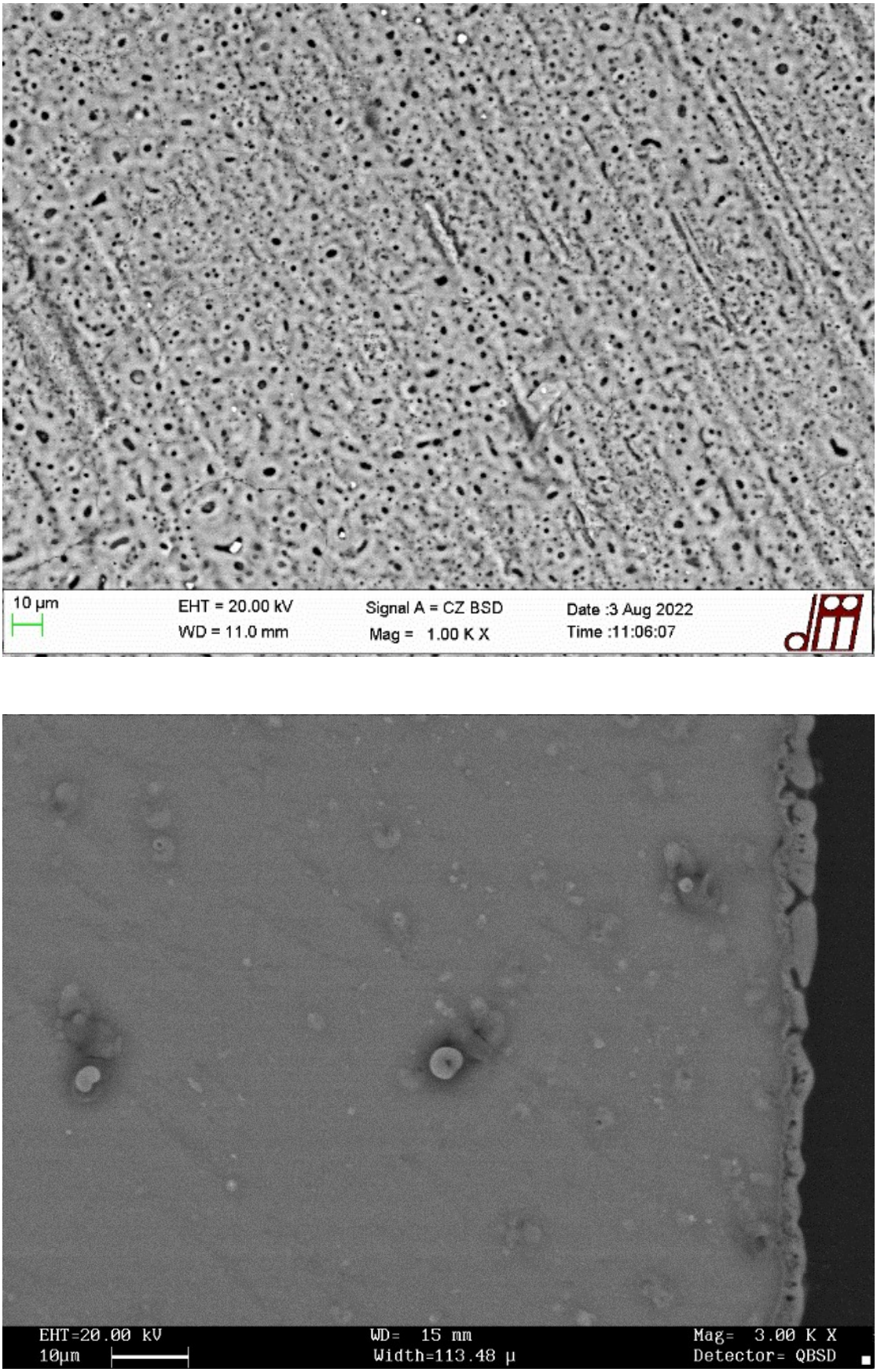
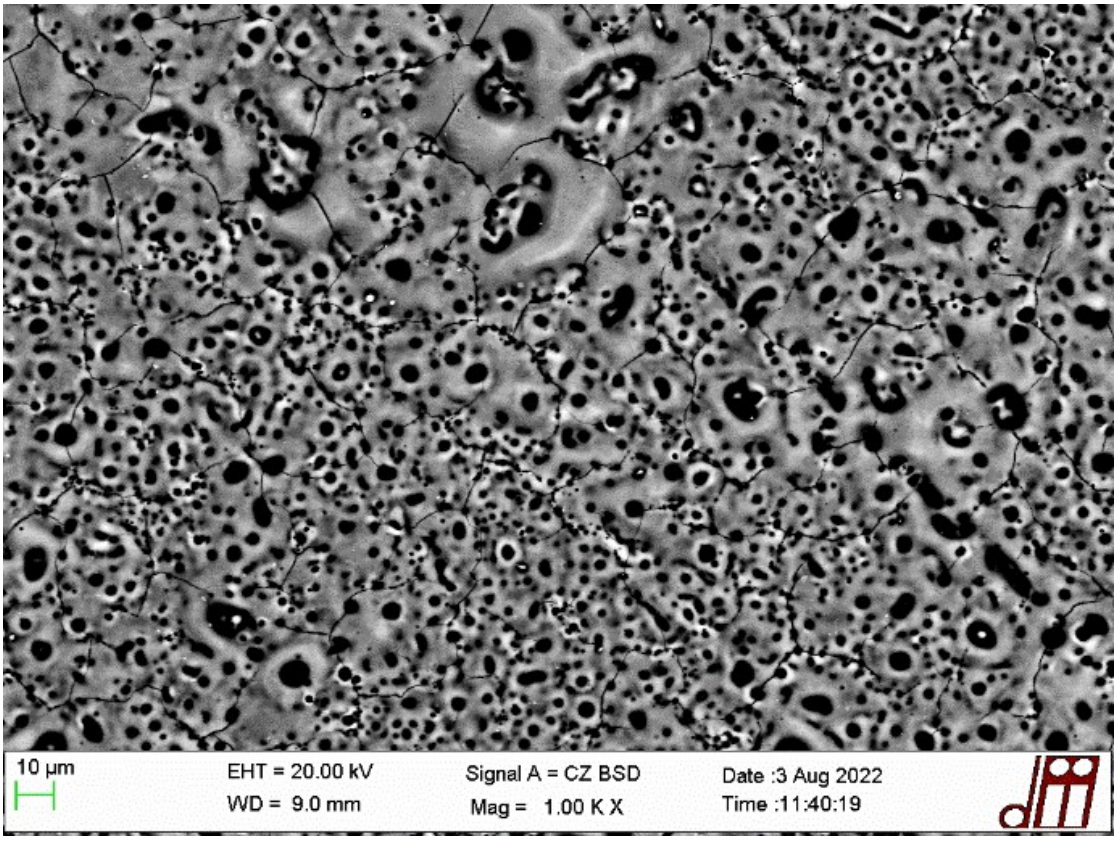


Figura 28 Superfice e sezione viste al SEM campione A

- Campione B



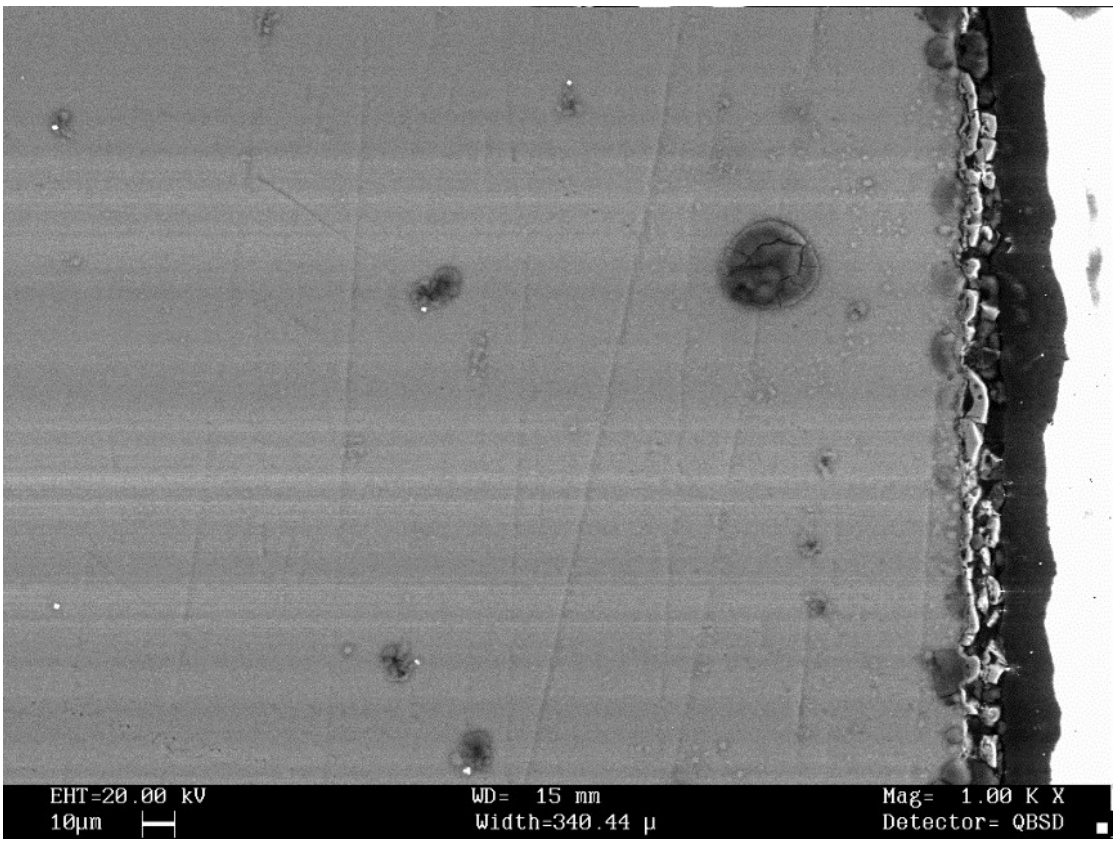
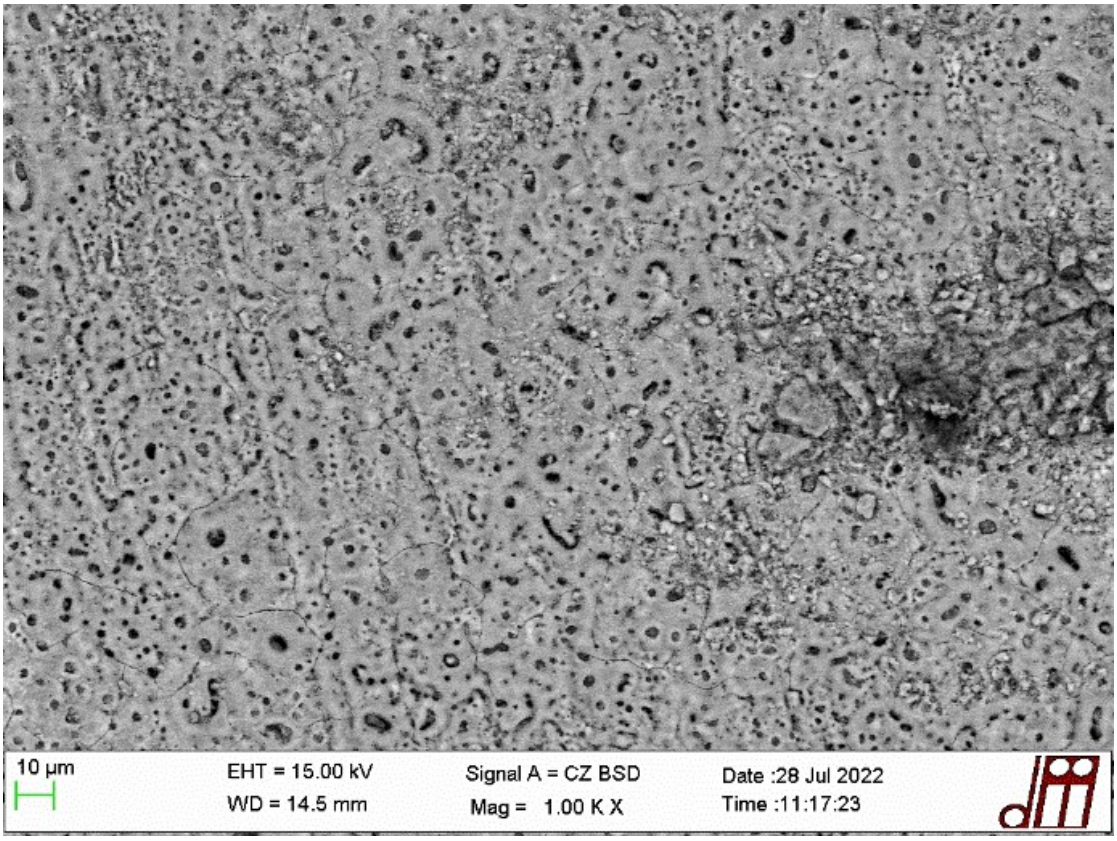


Figura 29 Superfice e sezione viste al SEM campione B

- Campione C



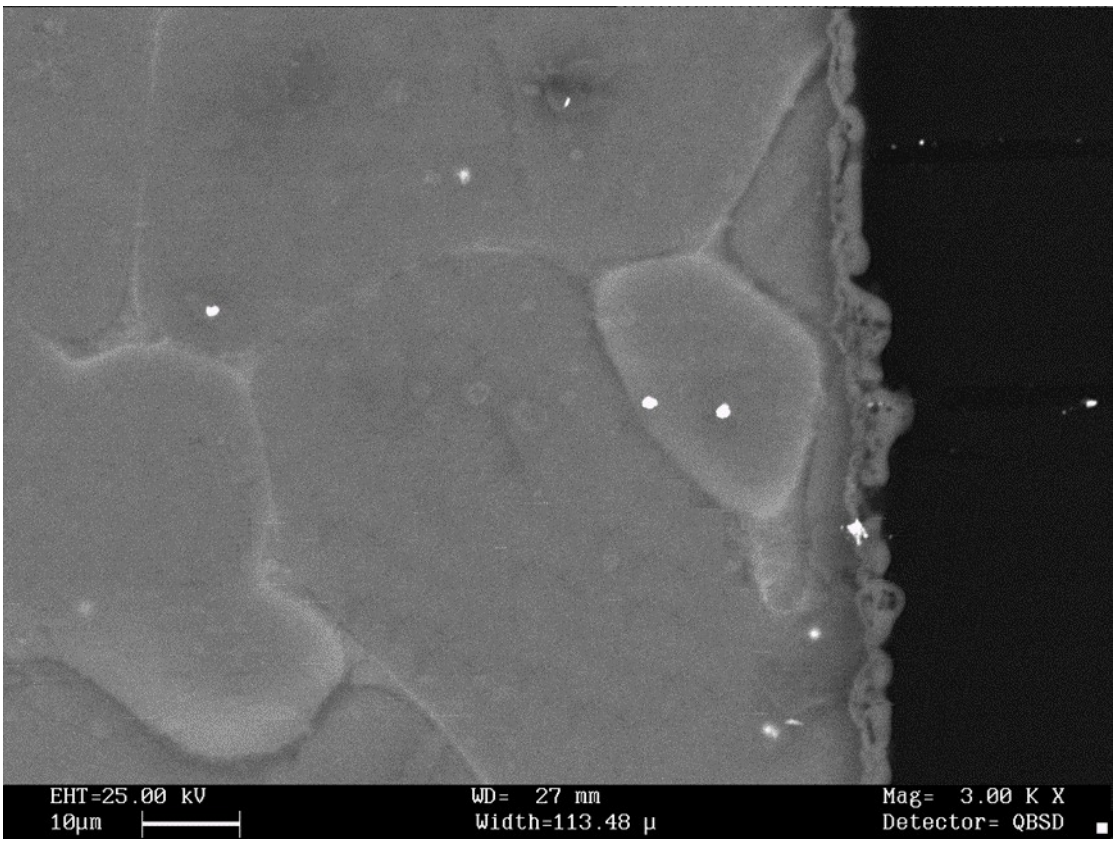


Figura 30 Superfice e sezione viste al SEM campione C

- Campione D

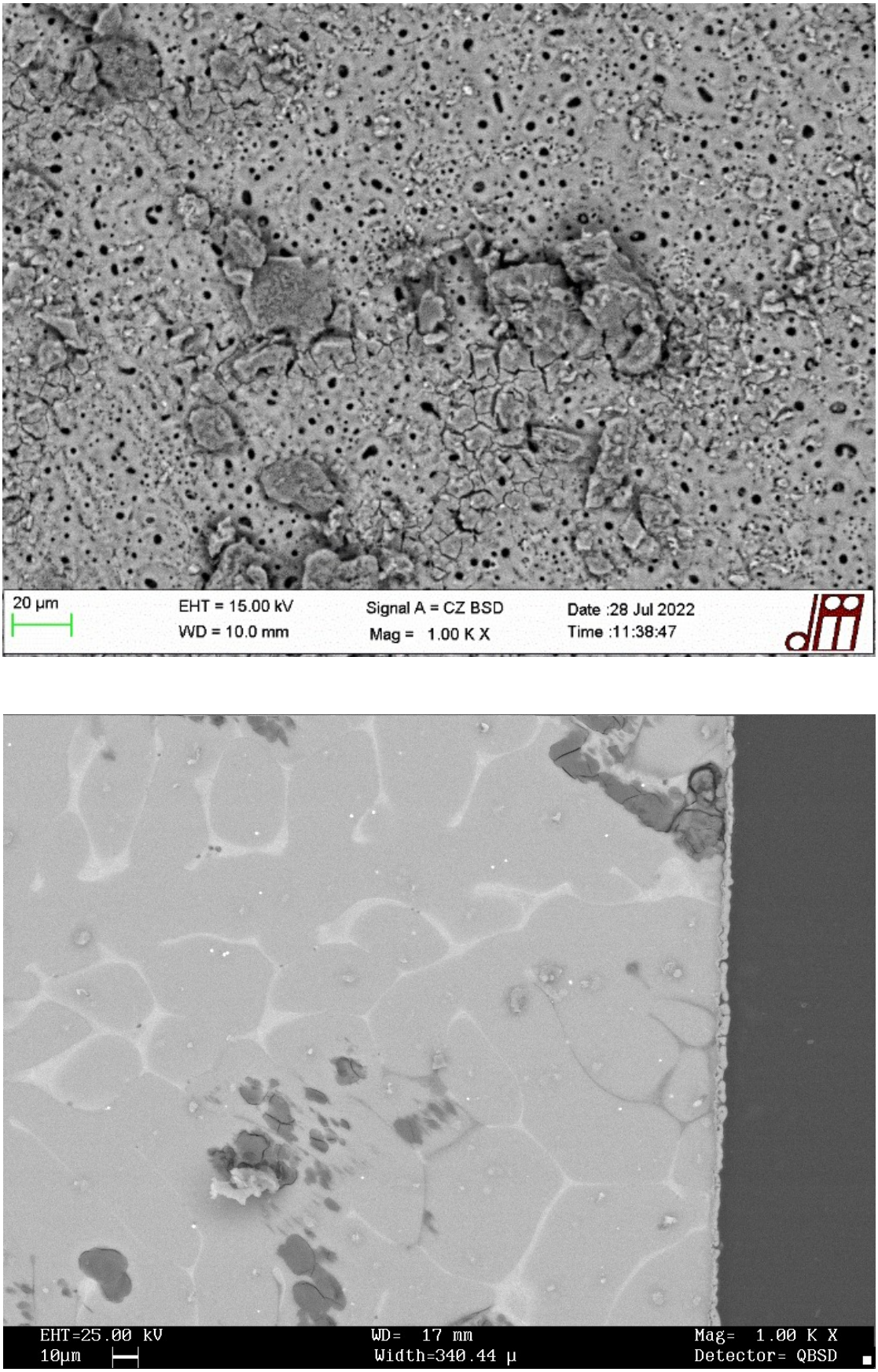
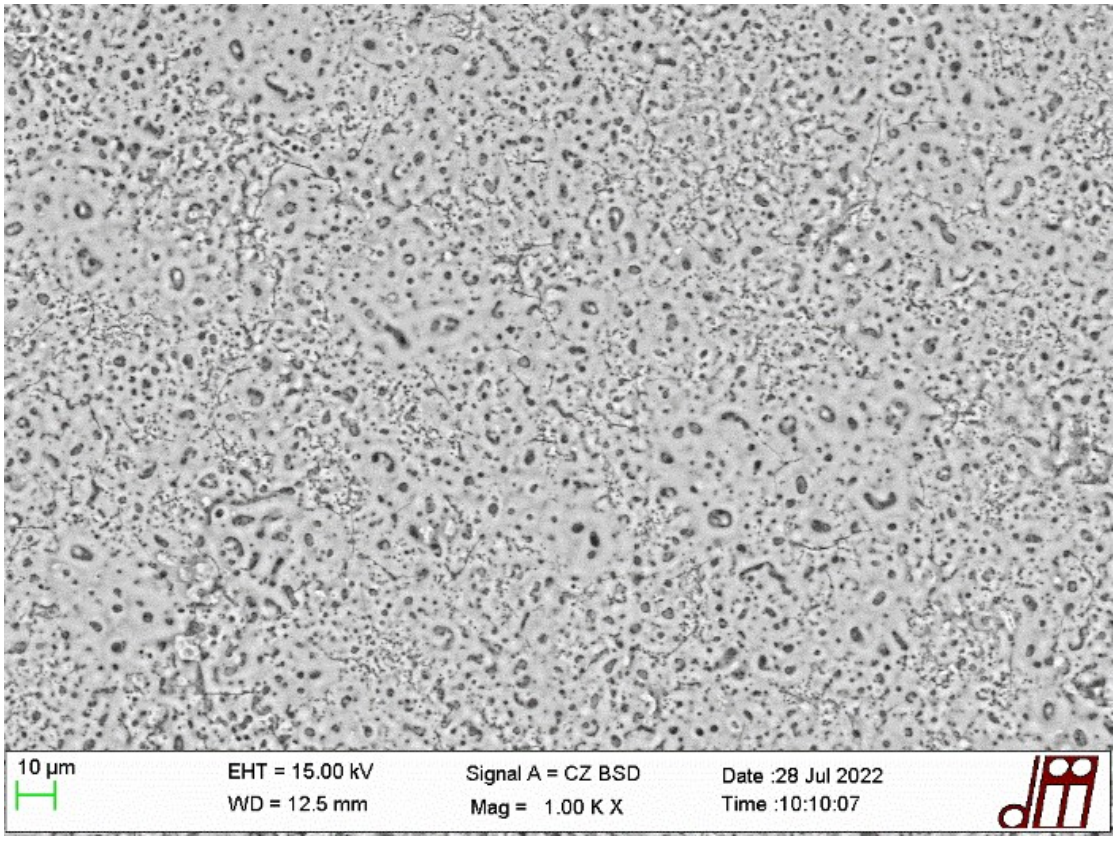


Figura 31 Superfice e sezione viste al SEM campione D

- Campione E



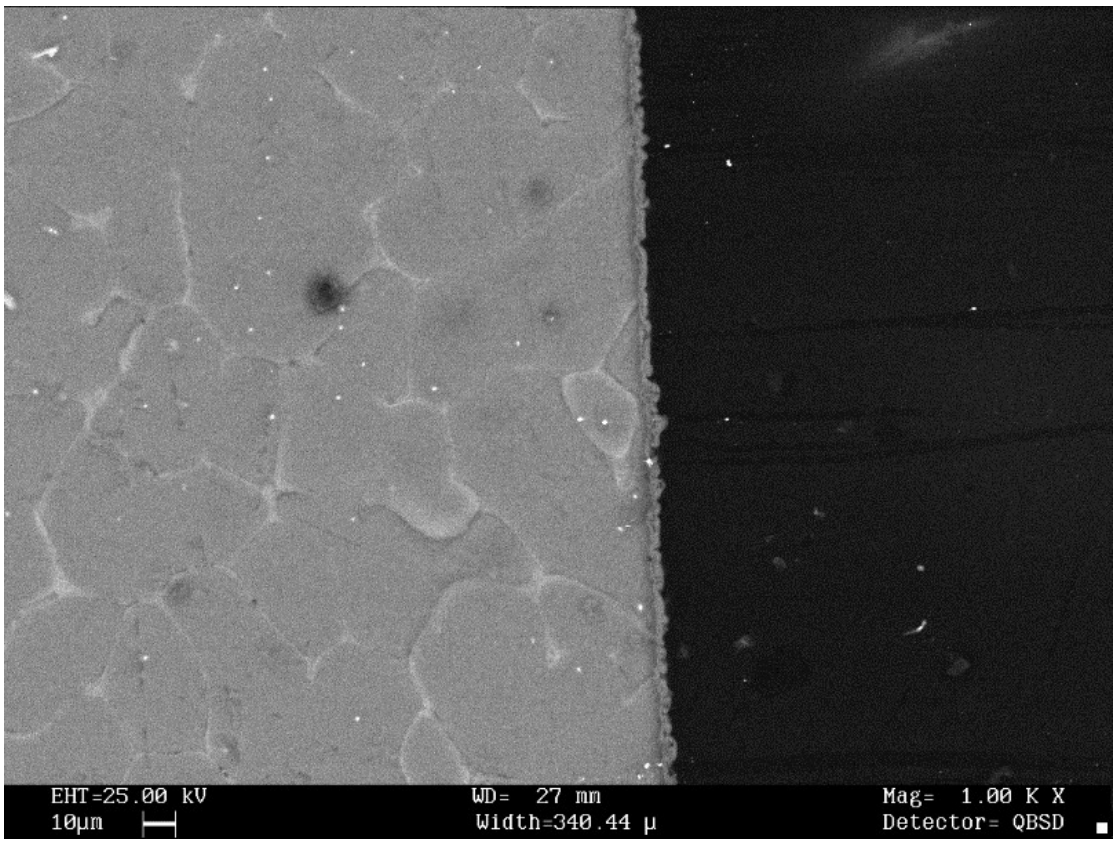


Figura 32 Superfice e sezione viste al SEM campione E

- Campione F

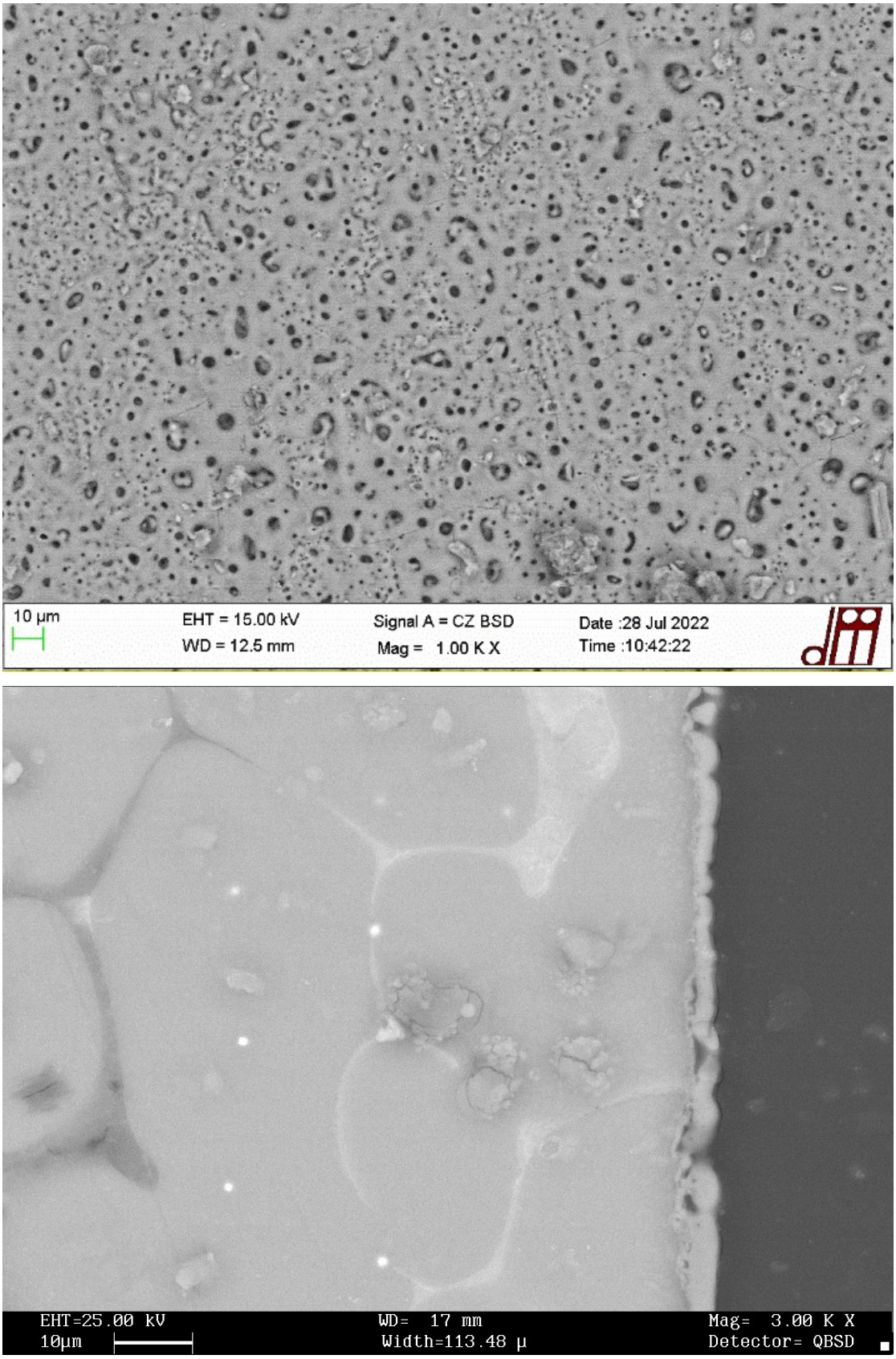


Figura 33 Superfice e sezione viste al SEM campione F

Dalle immagini delle sezioni è possibile notare che lo strato superficiale risulta molto sottile, questo è dovuto sia al poco tempo di trattamento, sia alla modalità pulsata (PWM) utilizzata per il trattamento, essa permette la produzione di uno strato più compatto ed uniforme ma la sua completa formazione richiede un tempo maggiore [67]. Osservando le sezioni dei campioni E ed F si può vedere una buona uniformità superficiale, soprattutto nel campione E. È possibile notare come i campioni trattati con frequenza di 500Hz e duty cycle del 15% (B, D, F) presentino pori meno uniformi rispetto ai campioni trattati con frequenza di 200Hz e duty cycle del 50% (A, C, E), questo può comportare una diminuzione delle proprietà di resistenza alla corrosione. Il campione D sembra avere una superfice non molto uniforme, anche questo può comportare una perdita di proprietà di resistenza alla corrosione. Altri aspetti importanti sono la quantità di pori presenti e la loro dimensione, infatti numero elevato di pori porta ad una diminuzione della resistenza alla corrosione. Ciò è conseguenza dell'ingresso dell'elettrolita nei pori, in questo caso i campioni A, B ed E sono quelli con la maggior quantità di pori, anche se, come descritto in precedenza, nel campione E si presentano uniformi e di dimensioni ridotte. Sulla superficie dei campioni C e D si osservano numerosi pori con microstruttura a cratere, forma e distribuzione irregolare, i pori di questi due campioni sono più grossolani rispetto a quelli dei campioni E ed F. Nelle figure seguenti sono mostrate le immagini SEM scattate ad un maggiore ingrandimento.

- Campione A

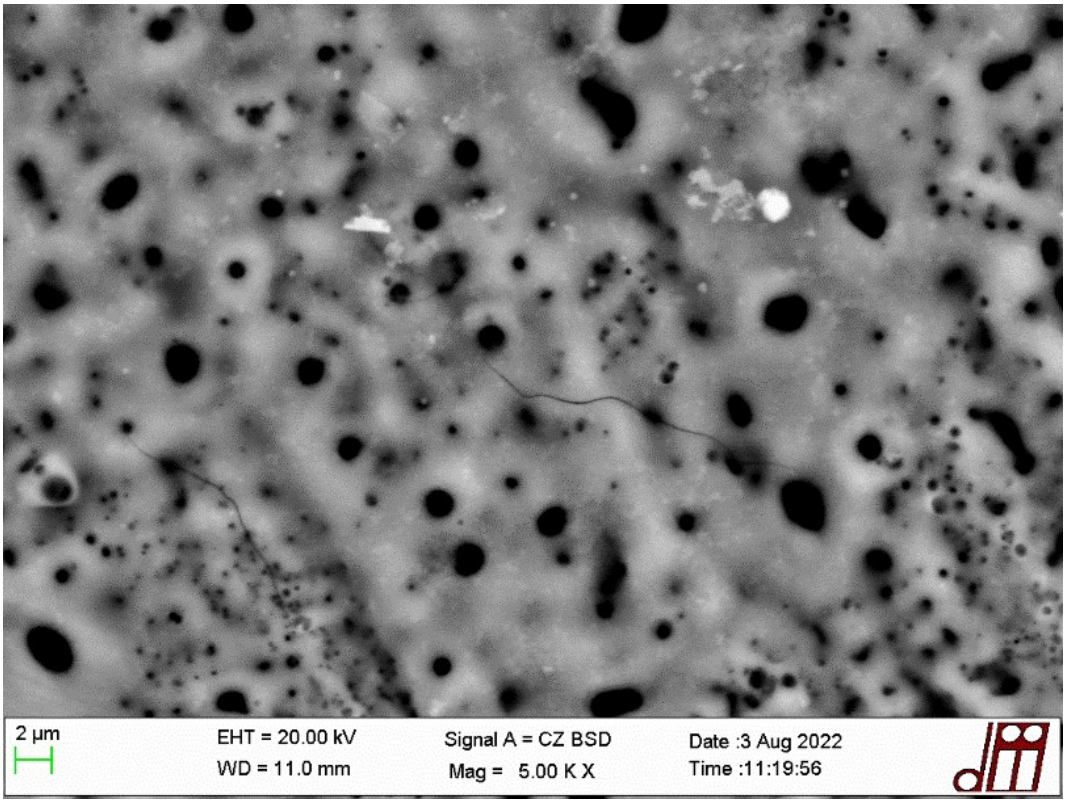


Figura 34 Superfice campione A con maggior ingrandimento

- Campione B

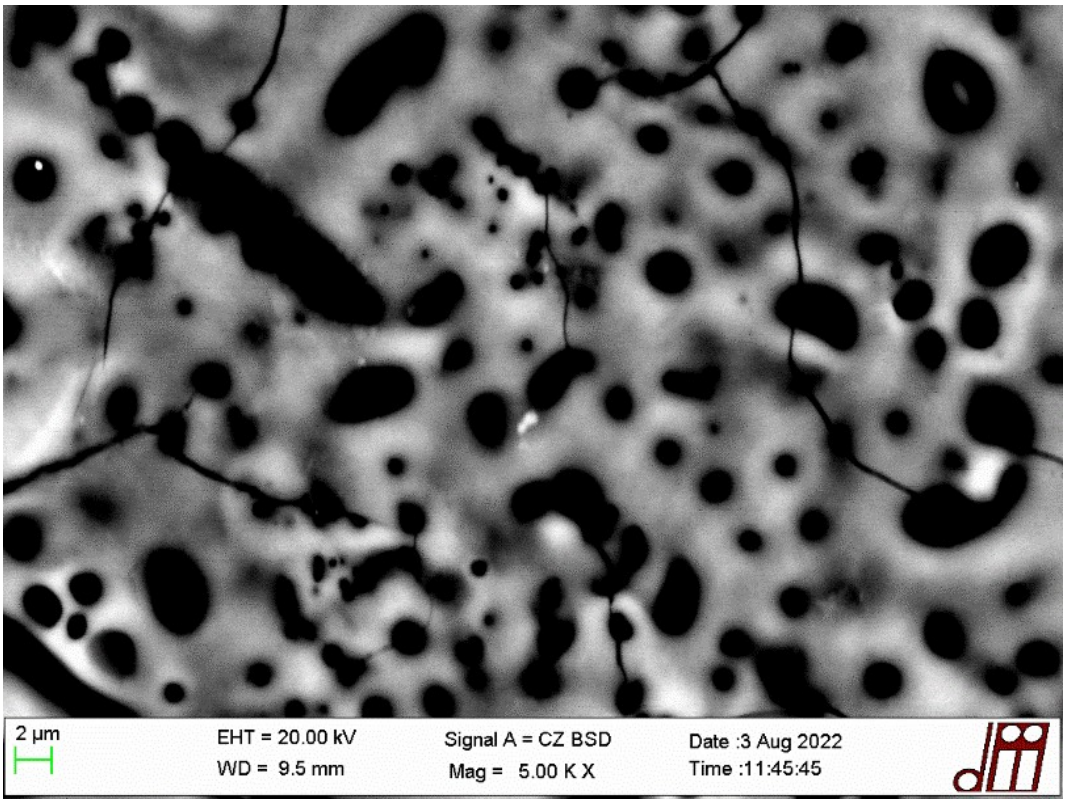


Figura 35 Superfice campione B con maggior ingrandimento

- Campione C

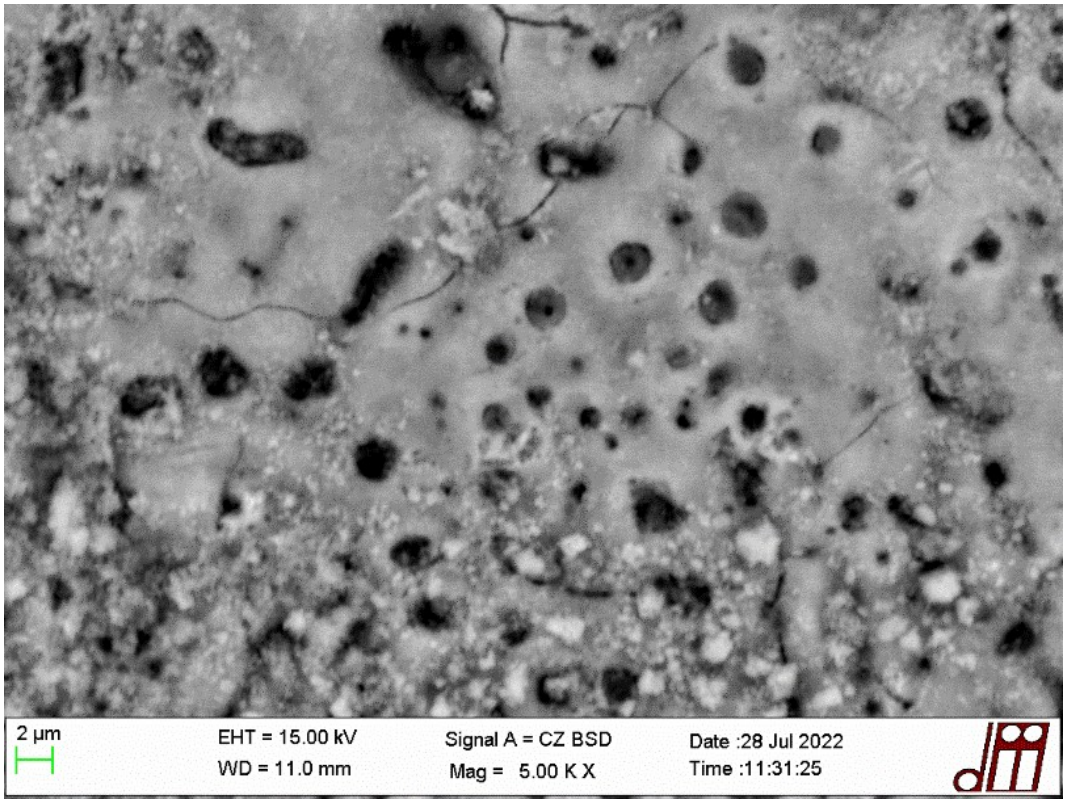


Figura 36 Superfice campione C con maggior ingrandimento

- Campione D

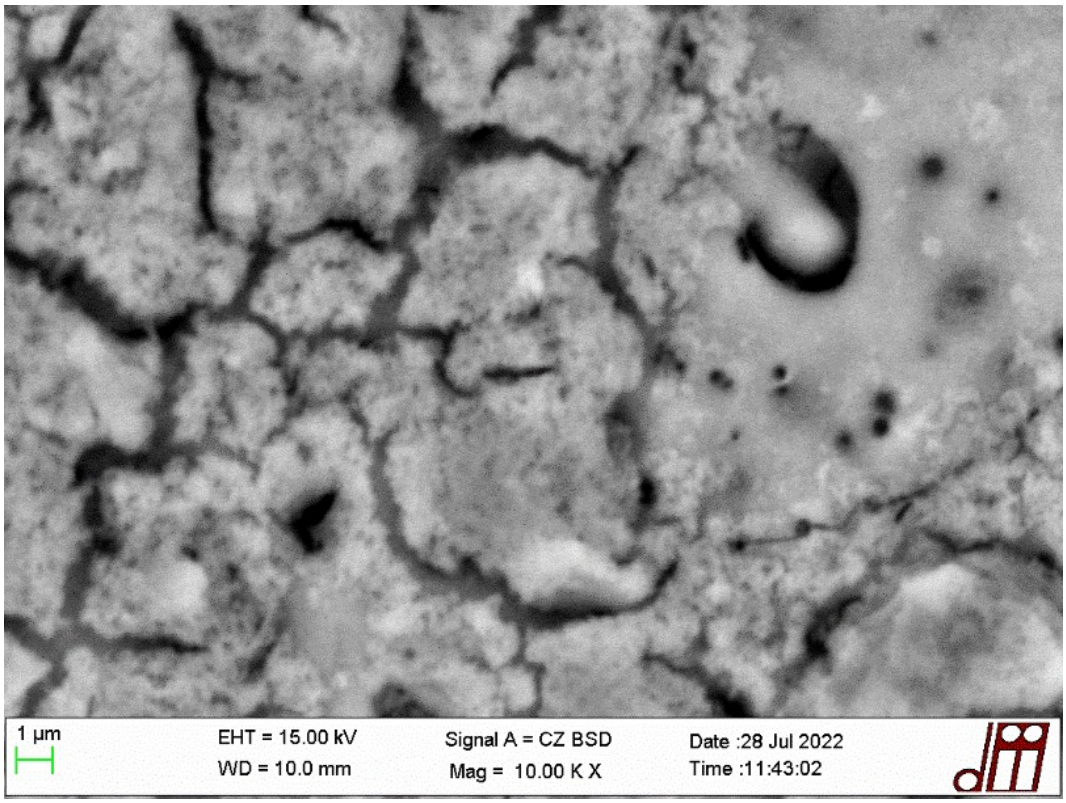


Figura 37 Superfice campione D con maggior ingrandimento

- Campione E

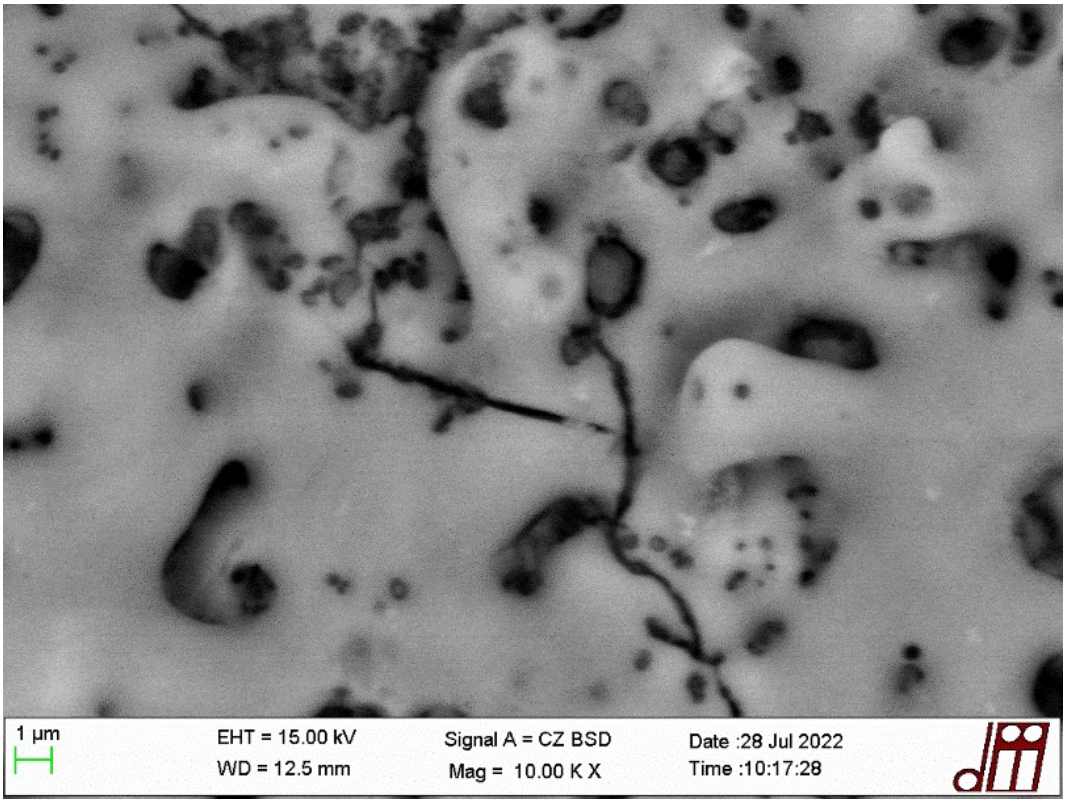


Figura 38 Superfice campione E con maggior ingrandimento

- Campione F

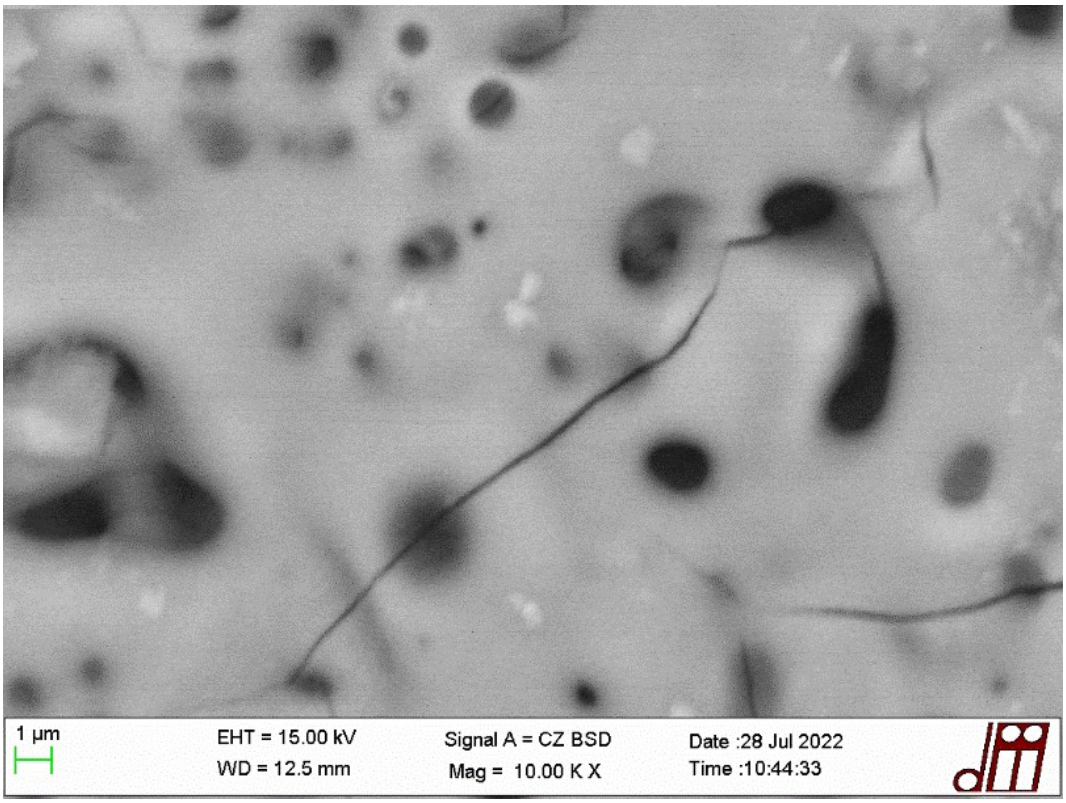


Figura 39 Superfice campione F con maggior ingrandimento

Le immagini a maggior ingrandimento confermano quanto detto in precedenza, si può notare meglio l'irregolarità dei pori del campione B, essi hanno conformazioni differenti. Inoltre, è stato eseguito un EDS sulle superfici dei campioni con immagini a maggiore ingrandimento, gli spettri prodotti sono riportati nel capitolo seguente. Gli spettri EDS ha confermato che i cristalli erano composti principalmente da Ca, P e O, indicando che la loro composizione è compatibile con quella dell'Hap.

3.3 Analisi della composizione

In Tabella 4 è riportata la composizione elementare dei diversi campioni, questa analisi preliminare sulla composizione è stata svolta attraverso l'EDS. Tuttavia, è attraverso l'XRD che si ottiene una corretta e più precisa caratterizzazione superficiale del rivestimento.

Tabella 3 Composizione elementare rilevata con l'EDS

	O%	Na%	Mg%	Si%	P%	Ca%
A	27.81	3	42.26	11.18	10.86	4.11
B	23.73	4.06	41.86	10.52	13.88	5.84
C	27.92	8.35	37.48	12.42	9.33	4.93
D	31.82	3.36	42.61	9.64	8.34	4.23
E	12.21	5.01	57.8	9.77	8.23	6.99
F	29.67	5.26	37.92	12.36	10.26	4.52
G	-	-	100	-	-	-
H	8.75	-	90.28	-	-	0.97

- Lo strato superficiale dei campioni di magnesio e magnesio – calcio trattati con PEO risulta essere costituito principalmente da O, Na, Si, Mg, P e Ca.

Tali composizioni sono in accordo con la composizione della lega e con la composizione dell'elettrolita utilizzato. In seguito, sono stati riportati gli spettri rilevati attraverso l'EDS per i diversi campioni, questa analisi preliminare è stata utile per avere una prima valutazione rapida della composizione dello strato superficiale.

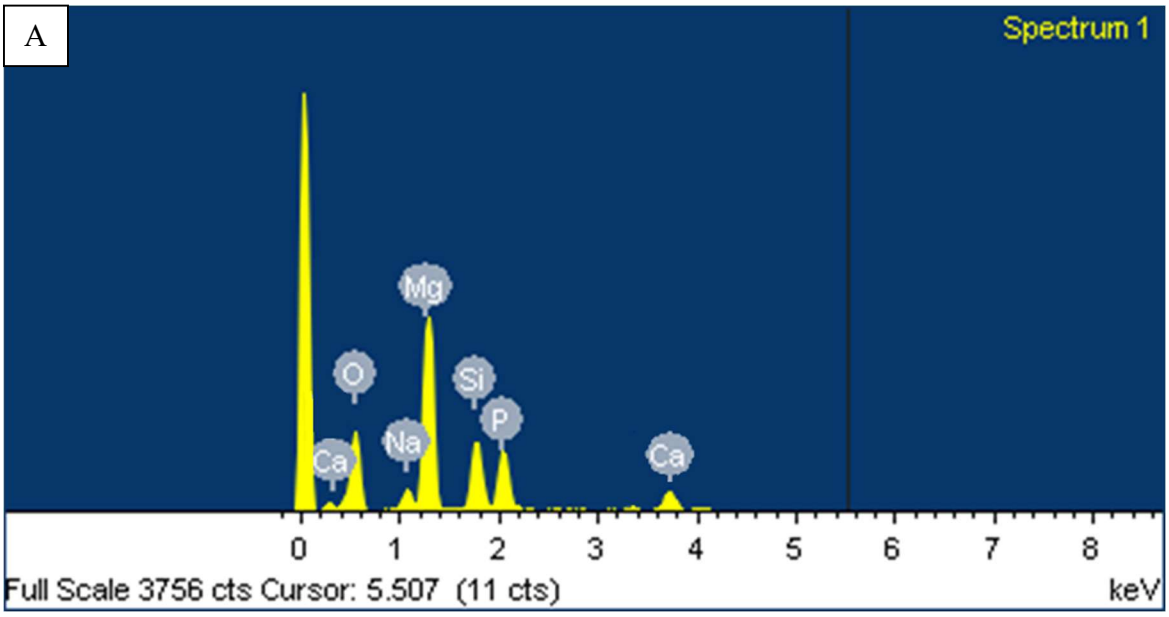


Figura 40 Composizione dello strato superficiale rilevata con spettro EDS sul campione A

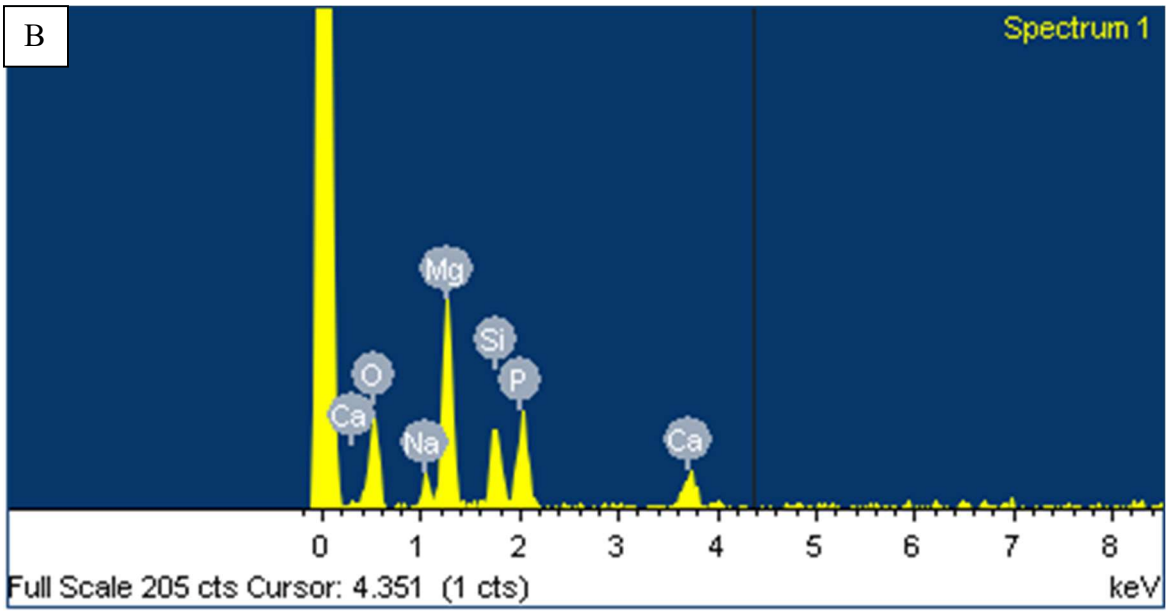


Figura 41 Composizione dello strato superficiale rilevata con spettro EDS sul campione B

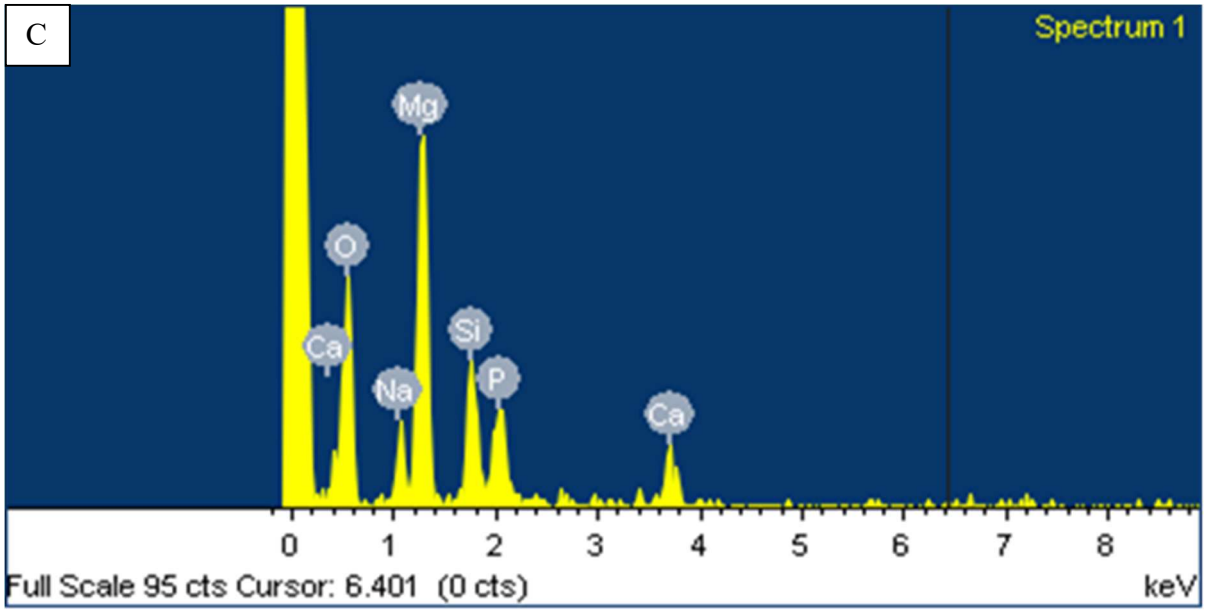


Figura 42 Composizione dello strato superficiale rilevata con spettro EDS sul campione C

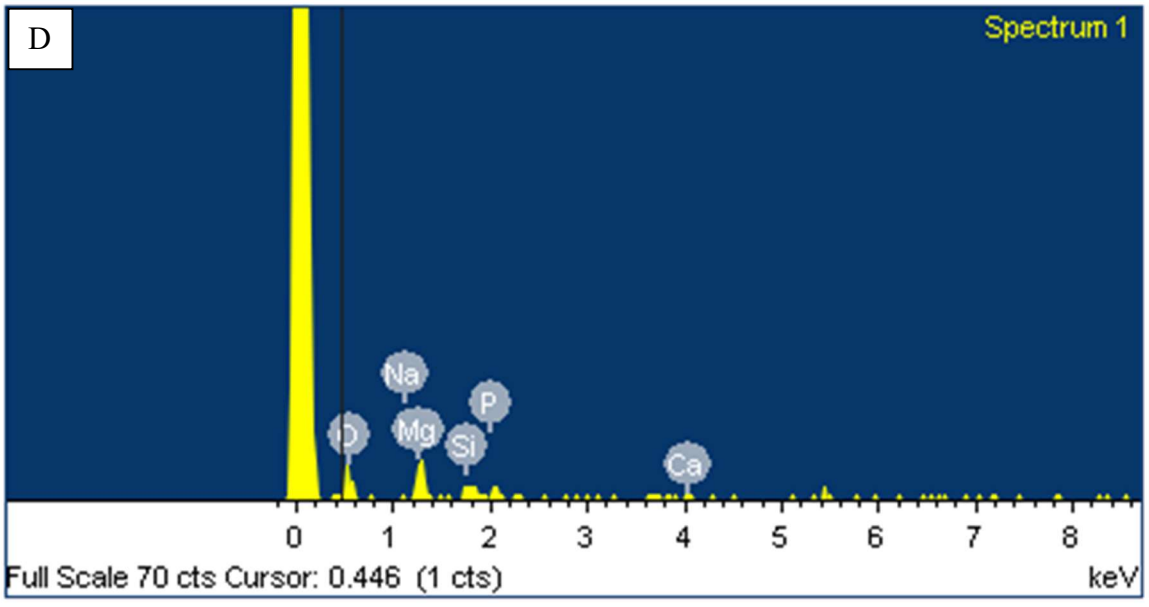


Figura 43 Composizione dello strato superficiale rilevata con spettro EDS sul campione D

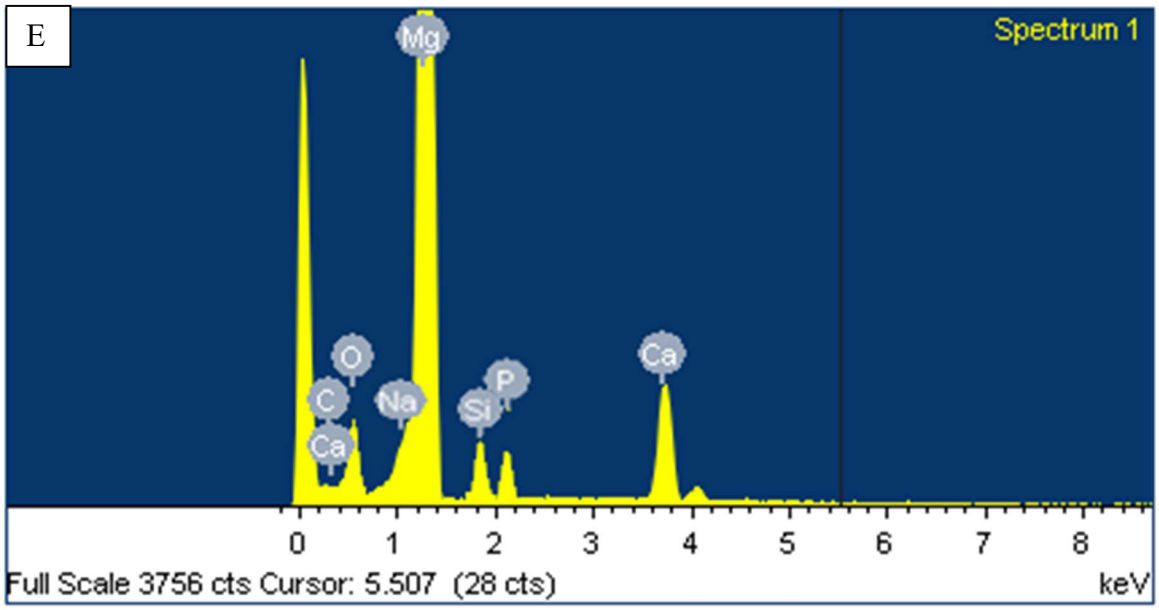


Figura 44 Composizione dello strato superficiale rilevata con spettro EDS sul campione E

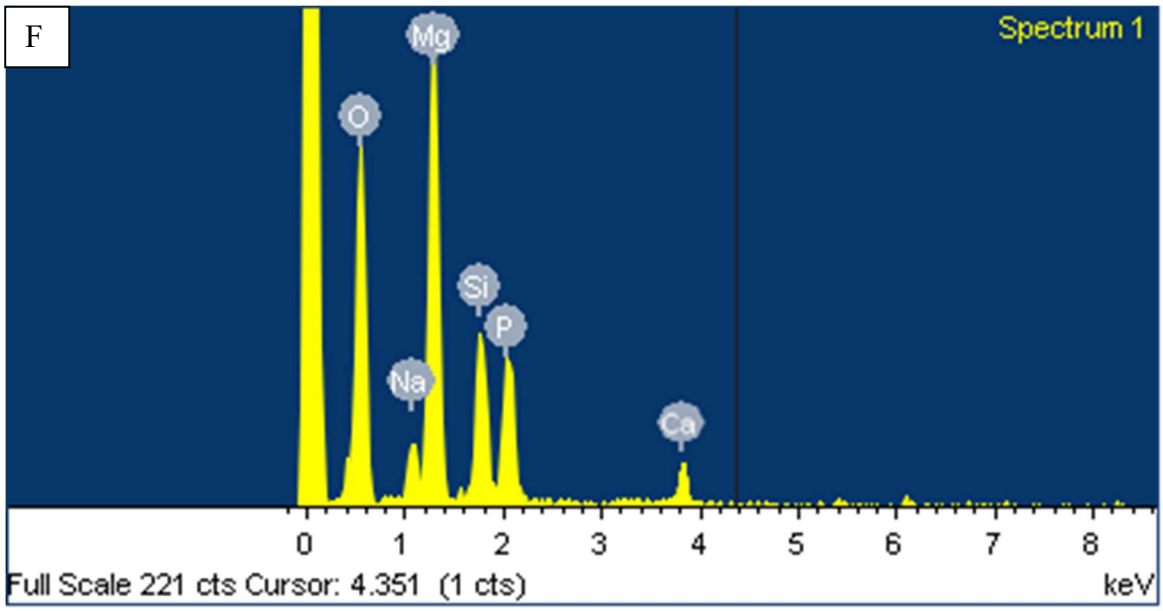


Figura 45 Composizione dello strato superficiale rilevata con spettro EDS sul campione F

È stata successivamente svolta un'analisi XRD per verificare la composizione del sottile strato PEO formatosi con il trattamento. Dall'analisi XRD è emerso che i campioni A e B non presentano idrossiapatite (Hap) sul rivestimento, nonostante la presenza del calcio all'interno dell'elettrolita. I campioni C, D, E ed F presentano tutti idrossiapatite anche se in quantità differenti tra loro. Il campione A presenta invece una piccola concentrazione di idrossiapatite sulla superficie, a differenza del campione B. La presenza di Hap è molto importante per il miglioramento delle proprietà a corrosione perché' permette la chiusura dei pori, in questo modo l'elettrolita non penetra al loro interno corrodendo il substrato. Nelle figure seguenti sono rappresentati i grafici XRD nei diversi campioni trattati, per l'elaborazione dei dati è stato utilizzato il programma High Score Plus.

- Campione A

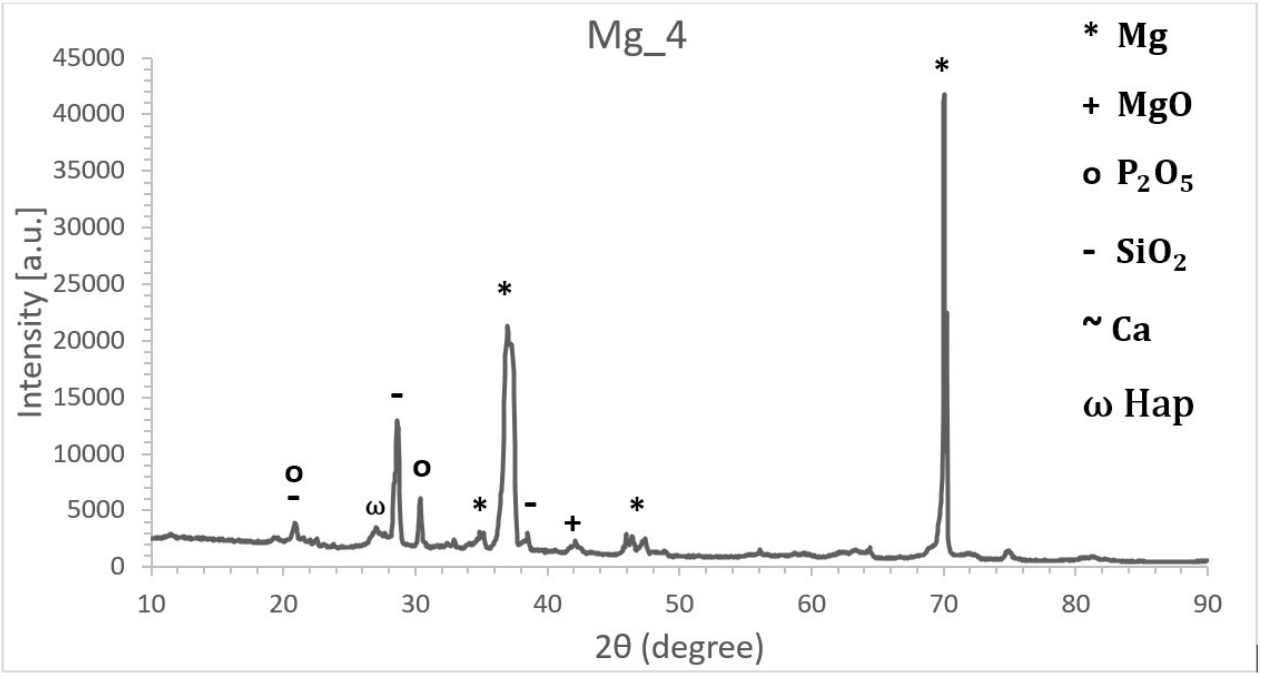


Figura 46 Elaborazione dati XRD del campione A

- Campione B

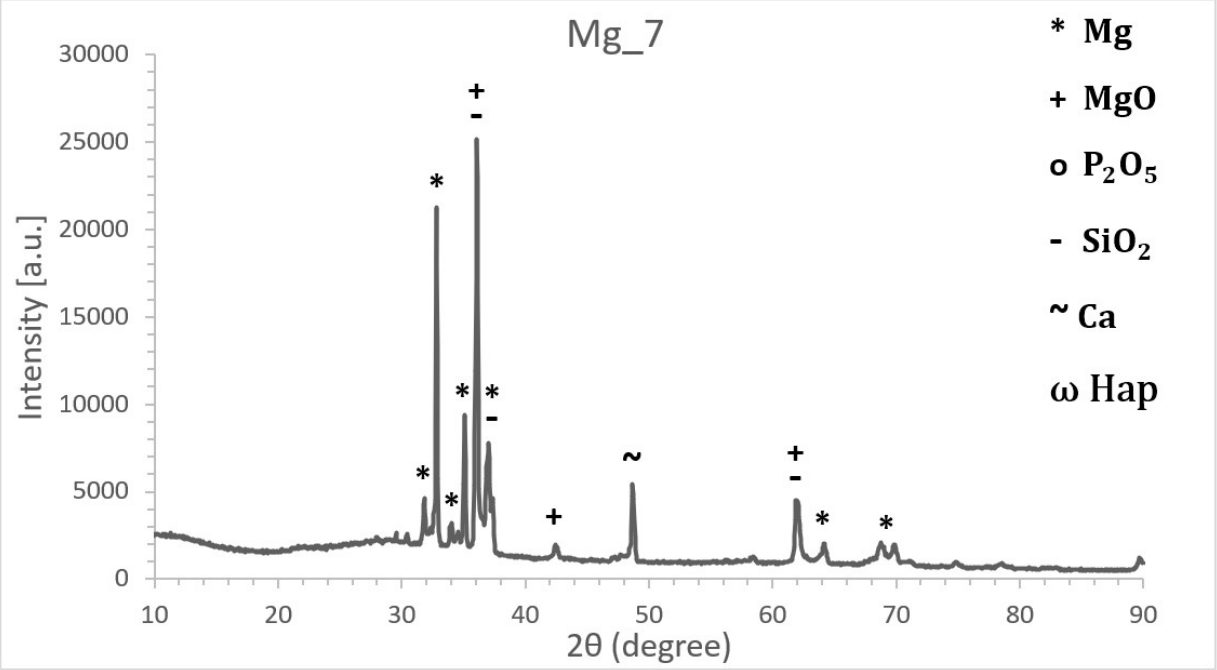


Figura 47 Elaborazione dati XRD del campione B

- Campione C

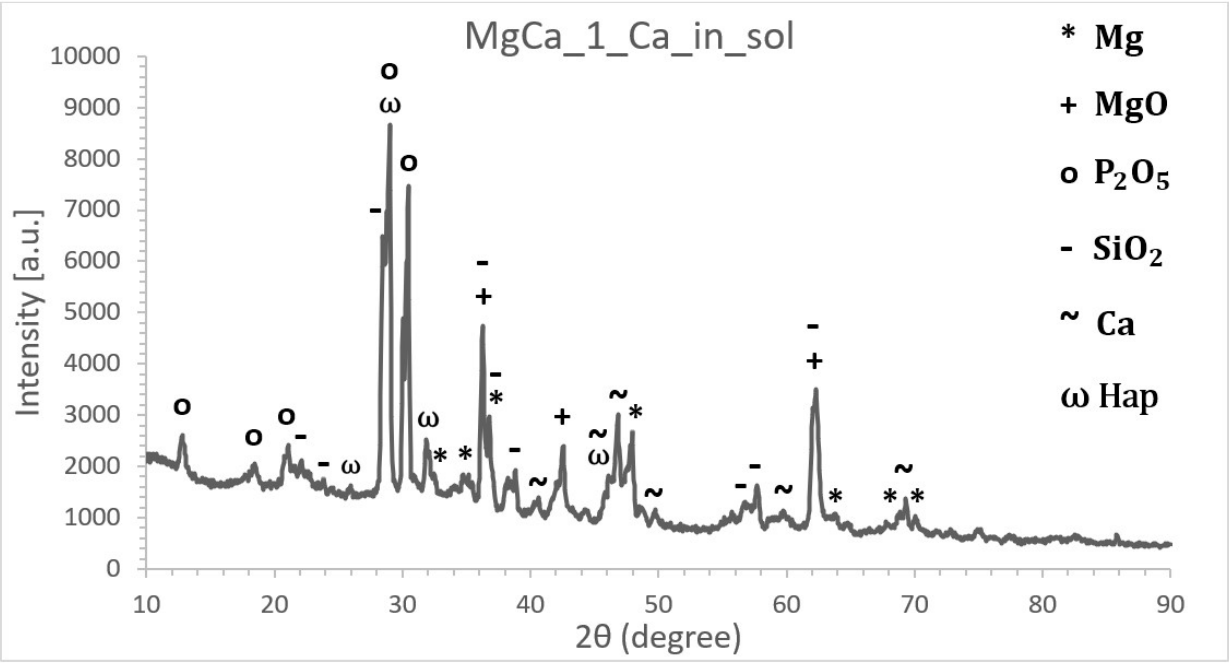


Figura 48 Elaborazione dati XRD del campione C

- Campione D

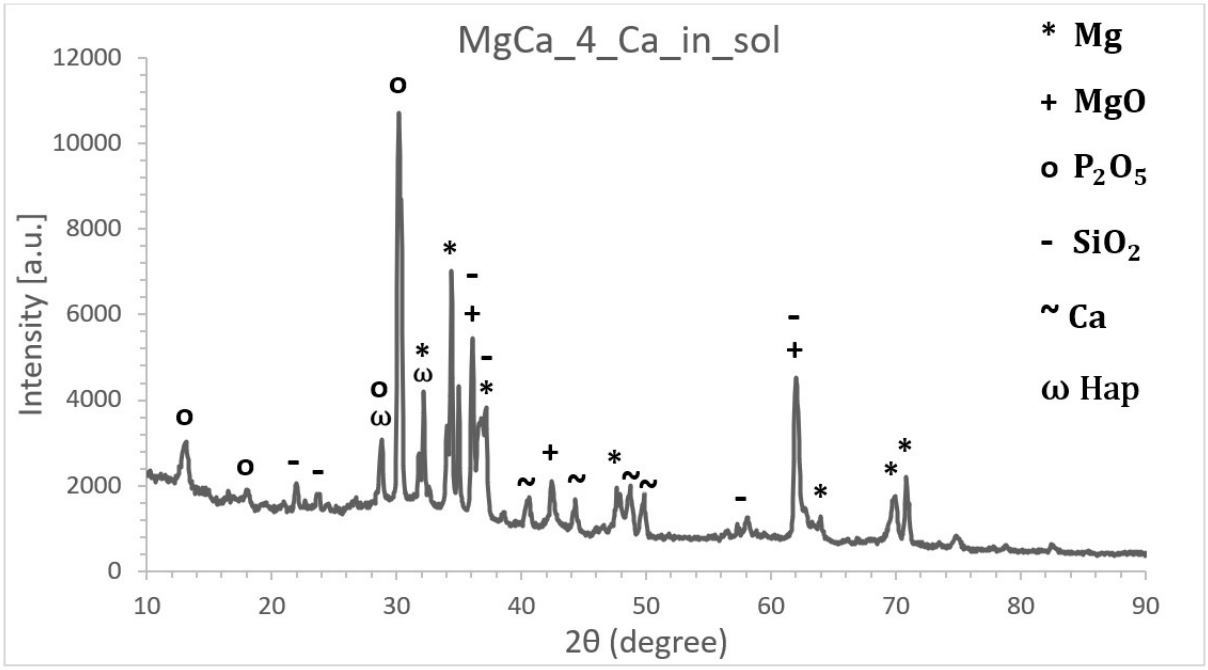


Figura 49 Elaborazione dati XRD del campione D

- Campione E

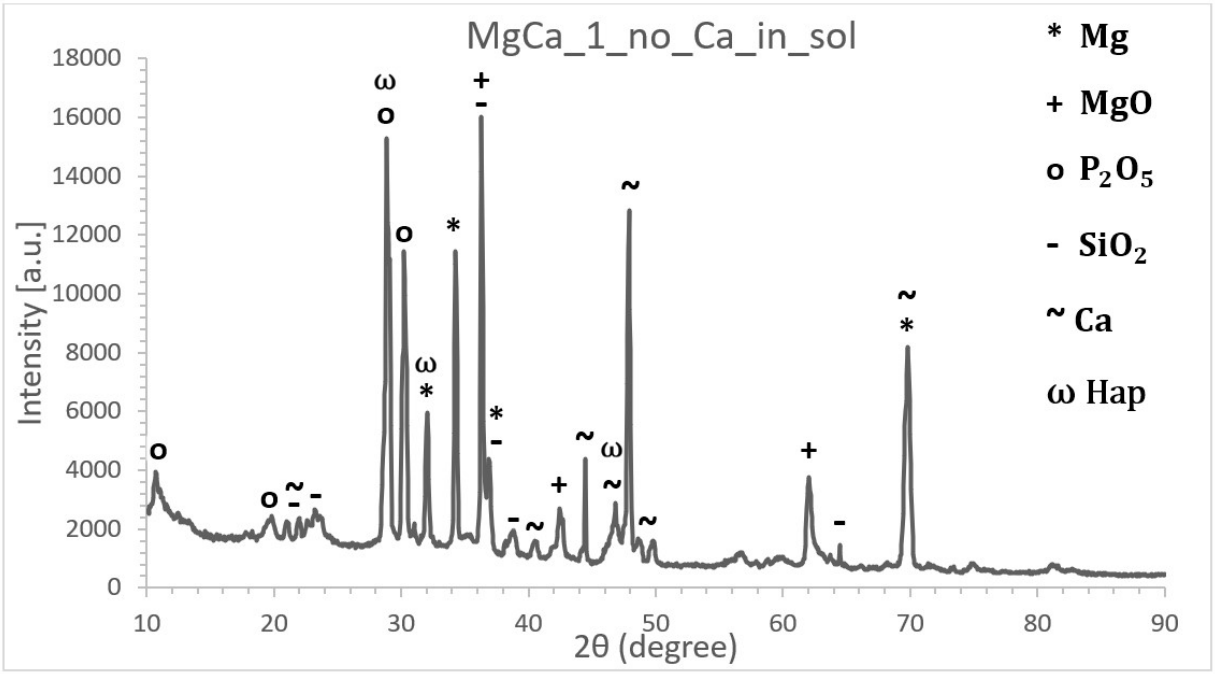


Figura 50 Elaborazione dati XRD del campione E

- Campione F

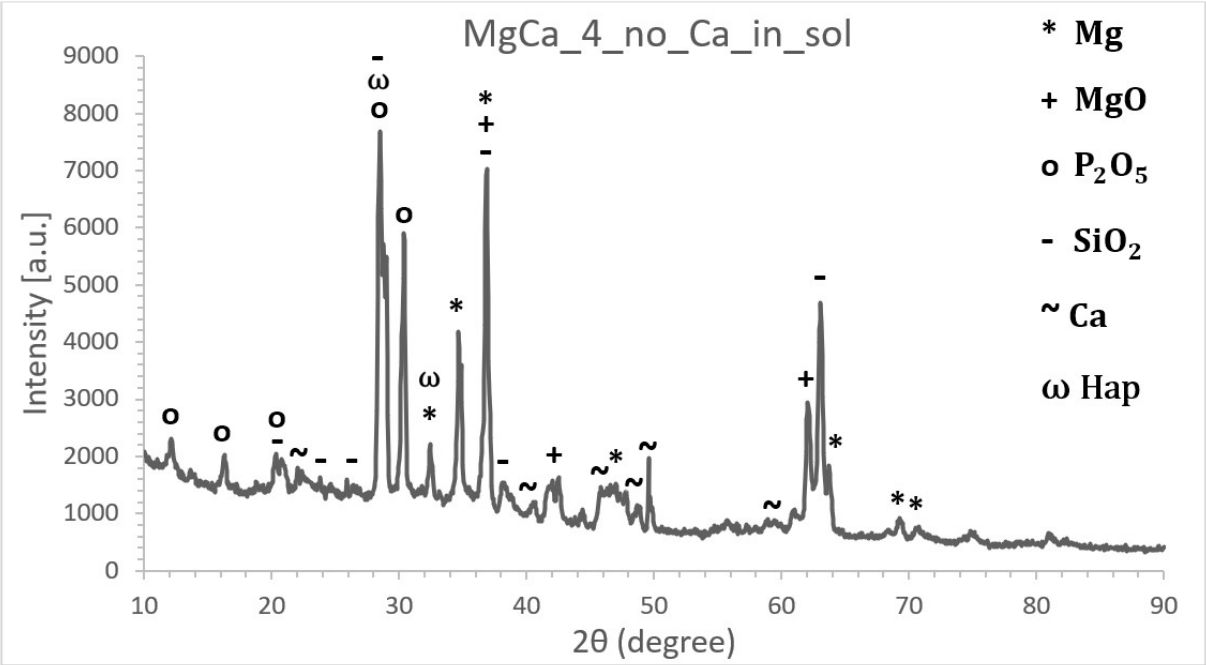


Figura 51 Elaborazione dati XRD del campione F

Possiamo notare come i grafici dei campioni C, D, E, F si presentino molto simili, hanno infatti picchi di intensità simili.

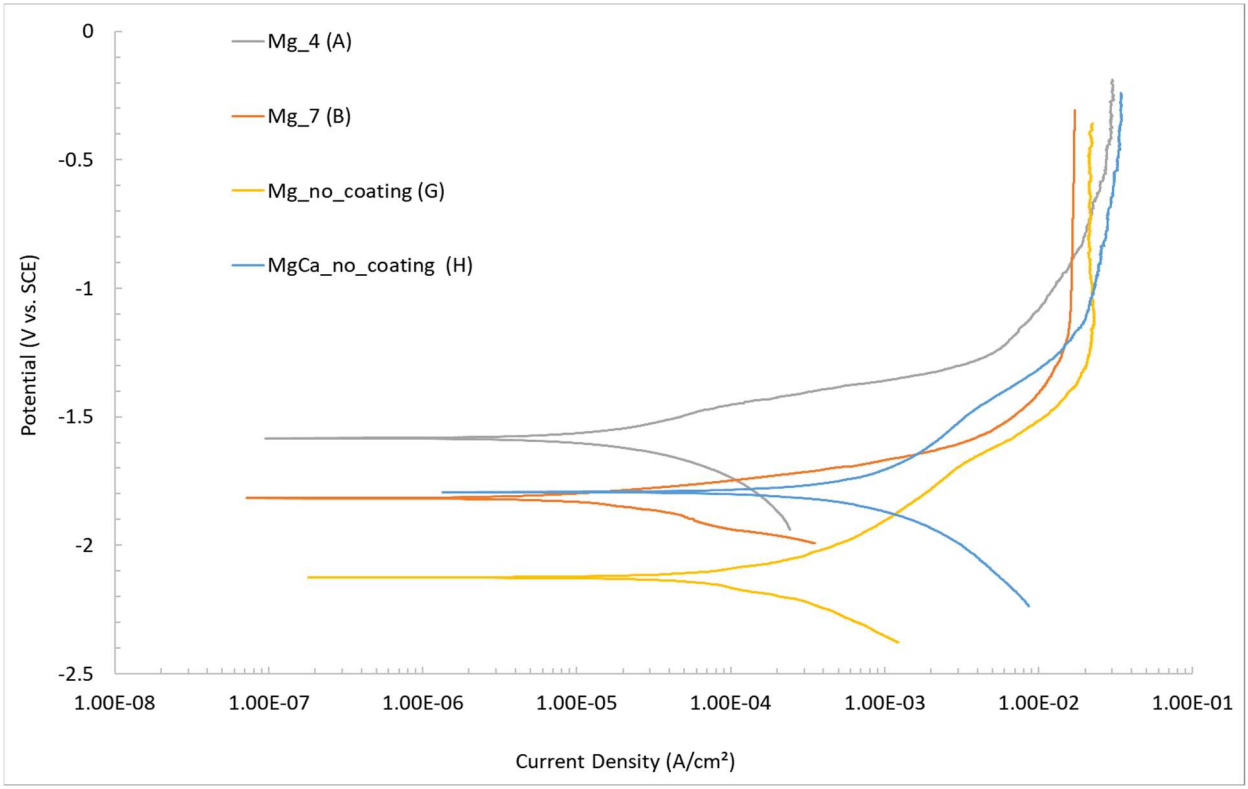
3.4 Resistenza a corrosione

La resistenza alla corrosione dei sei campioni rivestiti, del magnesio non rivestito e del magnesio - calcio non rivestito (usati come riferimenti) è stata valutata con misure OCP, PDP e test EIS.

3.4.1. Curve di polarizzazione anodica

La resistenza alla corrosione dei campioni è stata preliminarmente valutata mediante prove di polarizzazione potenziodinamica. I diagrammi di polarizzazione anodica del magnesio puro, del magnesio calcio e dei campioni rivestiti, ottenute in soluzione SBF a 37 ◦C, sono riportati nella Figura 44, i valori E_{corr} e I_0, estrapolati graficamente dalle curve, sono riportati in Tabella 5. Si può chiaramente osservare che, come previsto, tutti i campioni rivestiti hanno mostrato migliori prestazioni di corrosione (sia in termini di correnti di corrosione che di potenziali) rispetto ai due campioni di magnesio non rivestiti. Infatti, come si può osservare nella Tabella 5, il potenziale di corrosione aumenta e la densità di corrente di corrosione diminuisce fino a un ordine di grandezza nei campioni rivestiti (nell'ordine di $10^{-5}\ \frac{A}{cm^2}$) rispetto a quello non

rivestito (nell'ordine di $10^{-4}\ \frac{A}{cm^2}$). Considerando che i rivestimenti in PEO sono rivestimenti ceramici isolanti ad alto spessore, la PDP è stata utilizzata solo per l'osservazione qualitativa tra campioni rivestiti ed i campioni senza rivestimento e non può essere utilizzata per eseguire un'analisi quantitativa tra i diversi campioni rivestiti. Tuttavia, da una prima osservazione semi-quantitativa dei dati, sembra che i campioni più promettenti in termini di potenziale di corrosione siano i campioni E, F a causa dei valori più bassi delle densità di corrente di corrosione. Anche il campione A presenta delle ottime proprietà di resistenza alla corrosione e risulta avere la migliore densità di corrente di corrosione. Per una più chiara visualizzazione dei dati, i grafici delle curve di polarizzazione anodica sono stati separati in due nella Figura 52, successivamente verrà presentato il grafico complessivo (Figura 53).



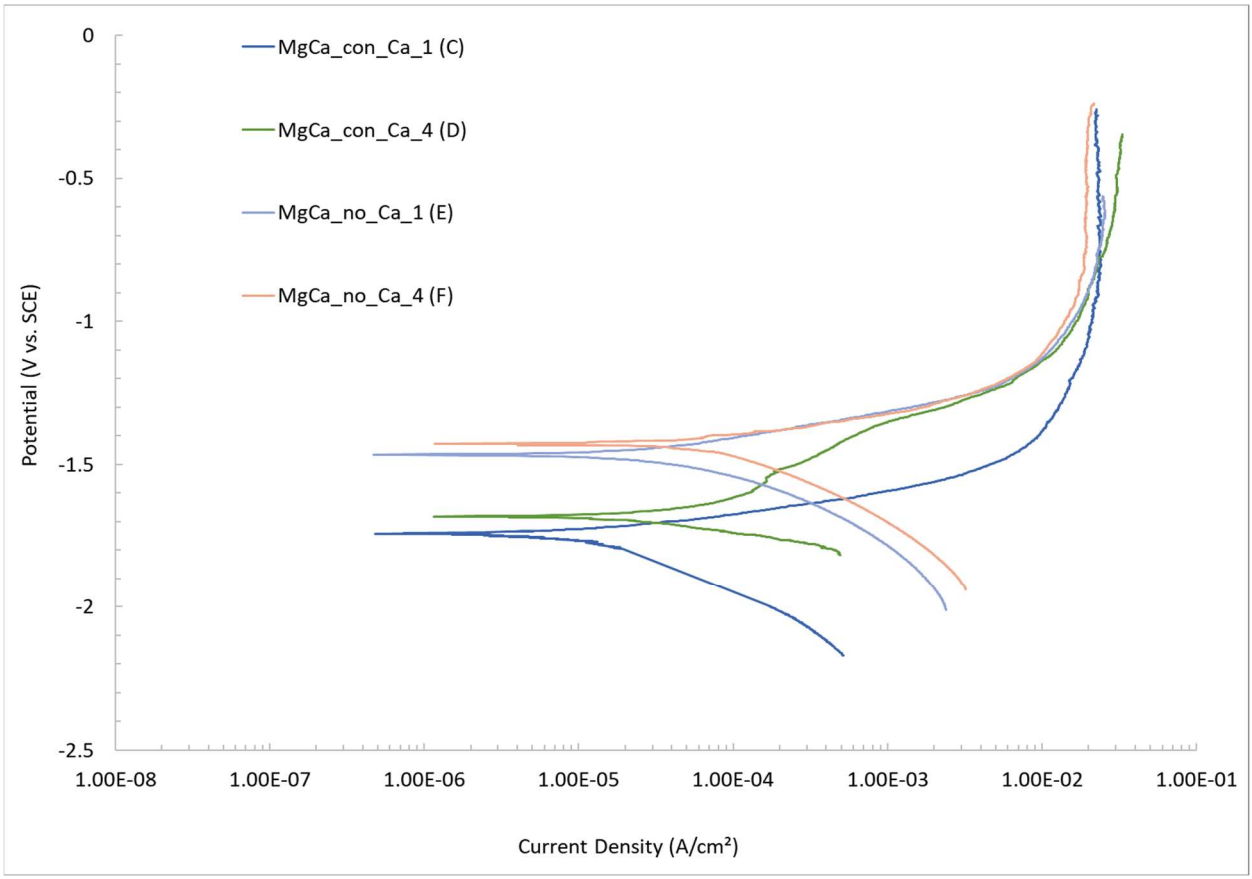


Figura 52 Diagrammi di polarizzazione anodica con i campioni separati (per un più chiara visualizzazione)

In Figura 53 sono presenti i grafici complessivi delle curve di polarizzazione anodica.

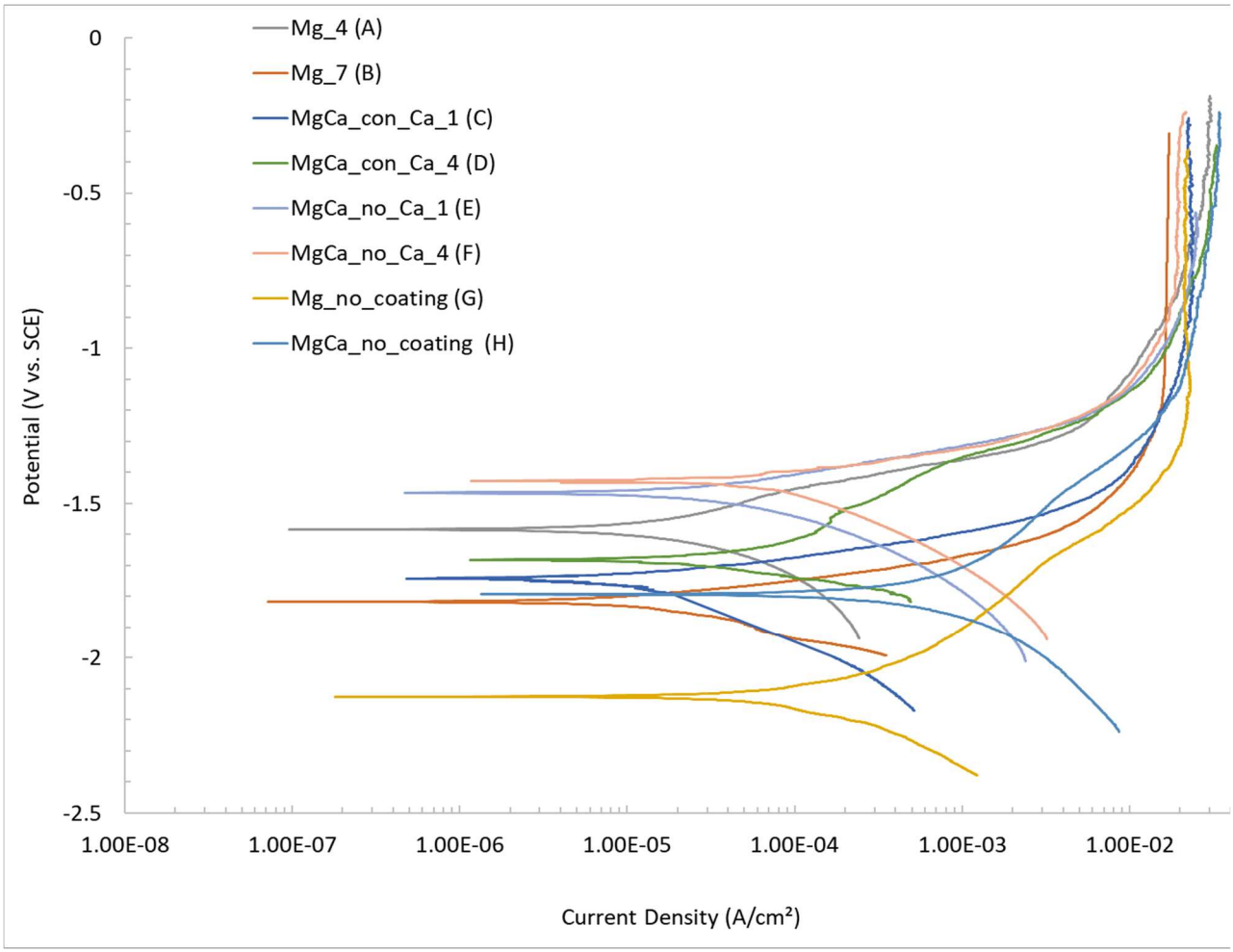


Figura 53 Diagramma complessivo di polarizzazione anodica

Tabella 5 Valori della densità di corrente di corrosione e del potenziale di corrosione

Campione	I_0	E_{corr}
A	$1.4*10^{-5}$	-1.56
B	$2.84*10^{-5}$	-1.82
C	$5.69*10^{-5}$	-1.76
D	$6.07*10^{-5}$	-1.64
E	$6.48*10^{-5}$	-1.47
F	$6.71*10^{-5}$	-1.42
G	$2.39*10^{-4}$	-2.155
H	$7.67*10^{-4}$	-1.87

Osservando solo i campioni con il substrato di magnesio-calcio ed il rivestimento PEO, si può evincere come la presenza di calcio in soluzione provochi un peggioramento delle proprietà di resistenza alla corrosione, ciò potrebbe essere dovuto all'effetto degli ioni calcio sulle caratteristiche della scarica, l'alta presenza di calcio nella soluzione elettrolitica causa lo sviluppo di scintille di dimensioni maggiori sui campioni A, B, C e D. Le alte temperature provocate dalle scintille portano alla fusione di una regione più ampia dello strato di ossido, con conseguente formazione di pori più grossolani [68] , è possibile che l'idrossiapatite abbia ricoperto più facilmente i pori dei campioni E ed F rispetto ai campioni C e D, questo perché' essi presentavano pori più uniformi e di dimensioni ridotte. Il campione H presenta caratteristiche a corrosione migliori del campione G, la presenza dell'1% di calcio all'interno della lega ha comportato un miglioramento delle proprietà' di resistenza a corrosione.

3.4.2. Electrochemical Impedance Spectroscopy

Per approfondire le proprietà di corrosione dei campioni in esame, sono state eseguite anche prove EIS (Spettroscopia di impedenza elettrochimica) in soluzione SBF a 37 ◦C. I risultati dei test EIS sono presentati sotto forma di diagramma di Nyquist (Figura 56), diagramma del modulo di Bode (Figura 55) e diagramma della fase di Bode (Figura 54). Il diagramma di Nyquist è una rappresentazione grafica dei dati raccolti nell'EIS, esso mostra la parte immaginaria dell'impedenza rispetto alla parte reale, più grande è la curva ottenuta migliori sono le proprietà di resistenza alla corrosione. Il diagramma del modulo di Bode mostra la parte immaginaria rispetto alla frequenza, da esso è possibile ricavare delle informazioni, maggiore è il valore dell'impedenza a basse frequenze migliori potrebbero essere le proprietà di resistenza alla corrosione. Dai grafici di Nyquist e del modulo di Bode, i campioni E ed F presentano il valore di impedenza più alto a bassa frequenza (10^{-2} Hz), un ordine di grandezza superiore rispetto agli altri campioni. Ciò indica una migliore resistenza alla corrosione dei campioni E ed F rispetto agli altri campioni. Questi risultati sono in accordo con le analisi svolte sulle curve di polarizzazione anodica e riportate in precedenza.

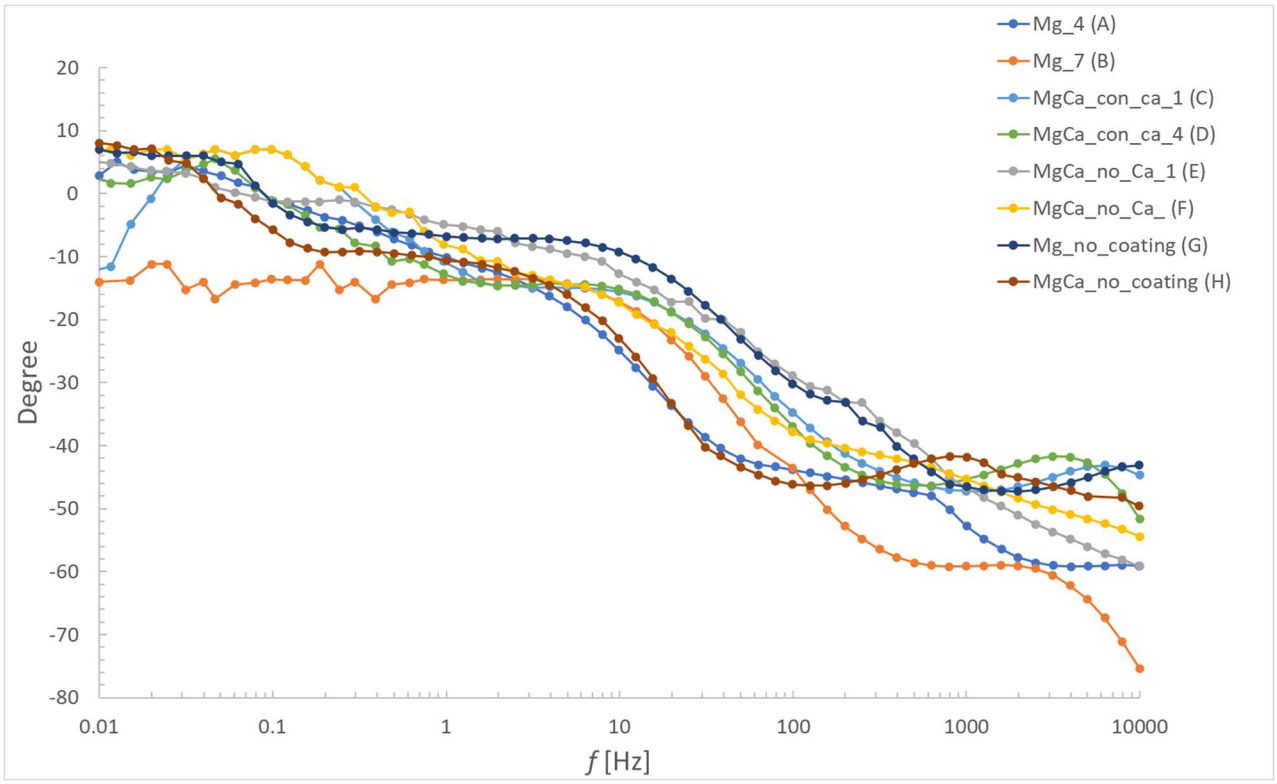


Figura 54 Diagramma della fase di Bode

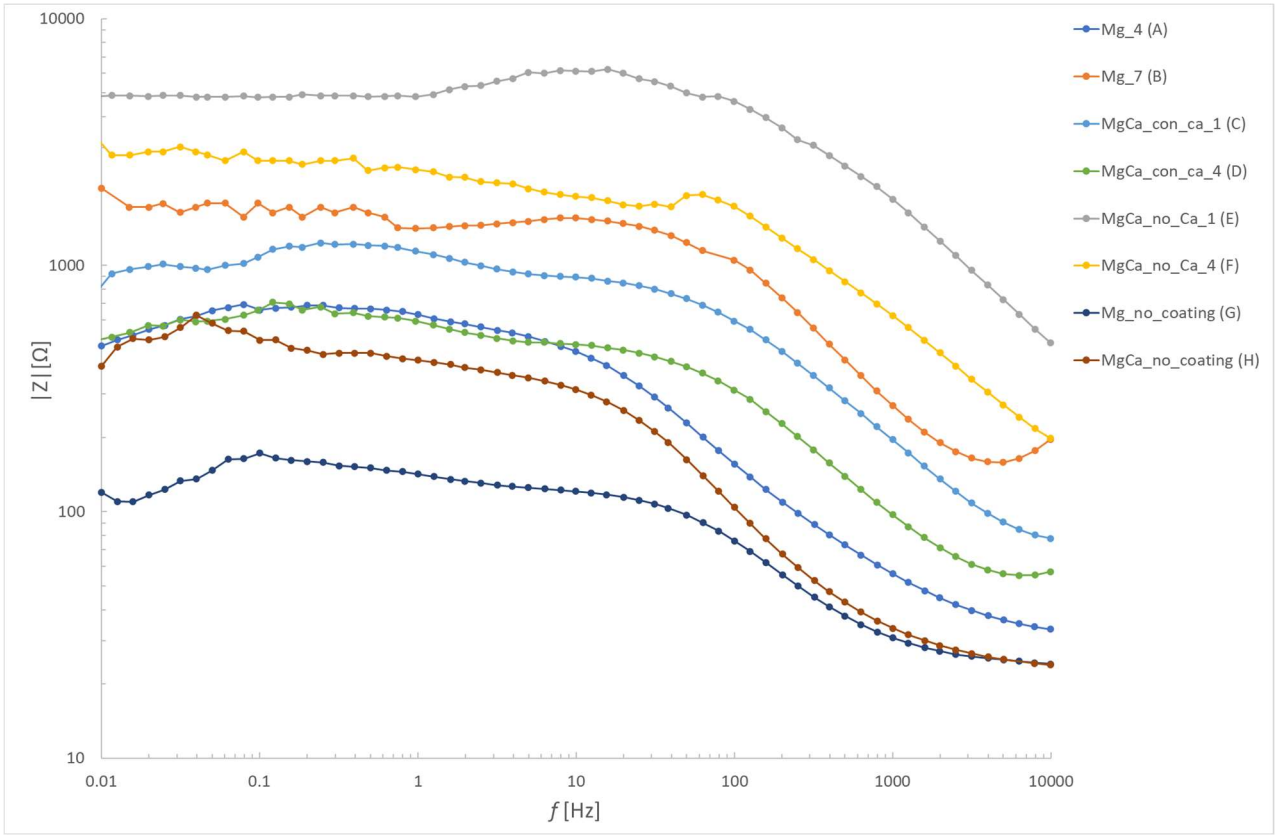


Figura 55 Diagramma del modulo di Bode

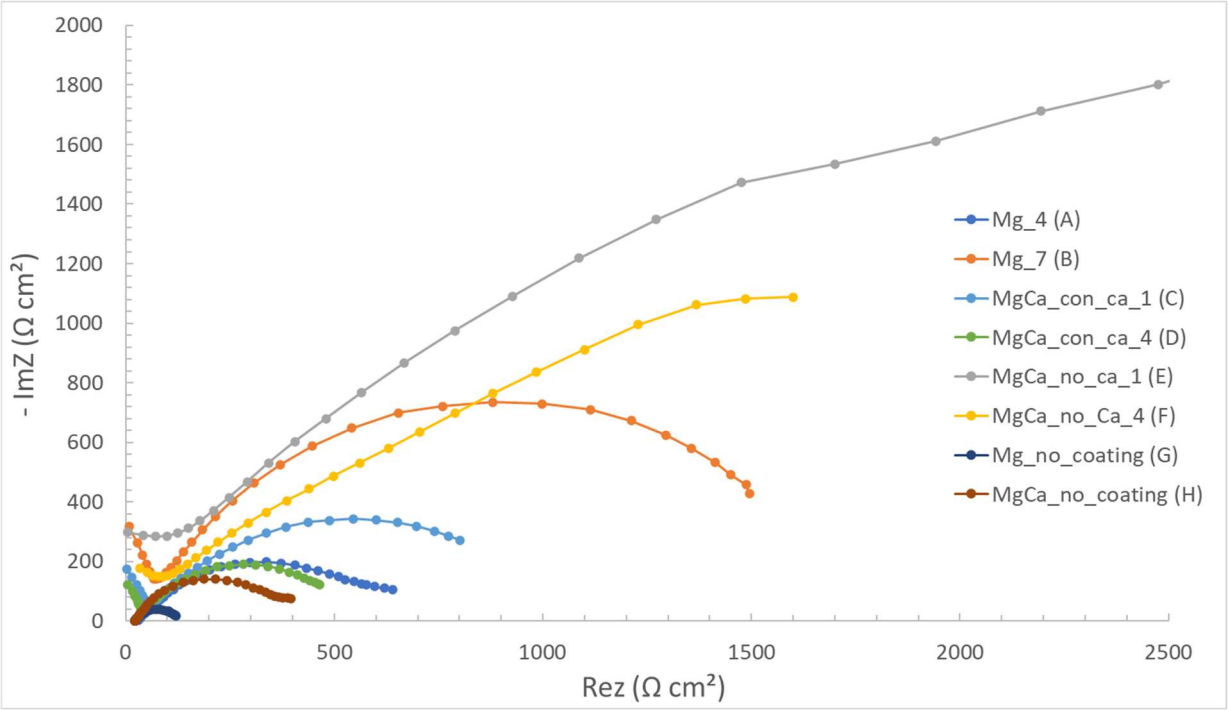


Figura 56 Diagramma di Nyquist

I risultati EIS dei campioni trattati sono stati adattati al circuito equivalente mostrato in Figura 57 utilizzando il software Z-view. La scelta del circuito è stata effettuata in base alla letteratura, in particolare, è stato scelto questo circuito per il rivestimento PEO perché permette di considerare la presenza di due diversi strati: uno strato poroso esterno e uno strato barriera interno. Questo circuito equivalente produce lo stesso spettro di impedenza del sistema elettrochimico reale. Per un'analisi più precisa è possibile quindi creare un circuito equivalente in cui ogni componente elettrico rappresenta una parte del sistema elettrochimico.

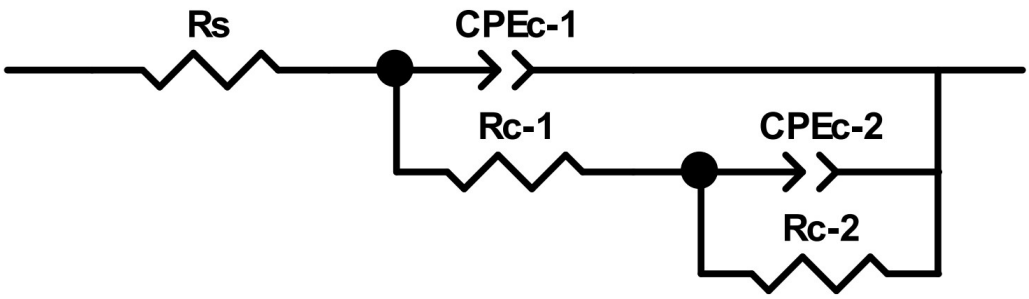


Figura 57 Circuito elettrico equivalente per EIS campioni trattati

I risultati EIS dei campioni non trattati sono stati invece adattati al circuito equivalente mostrato in Figura 58 (circuito R/CPE) utilizzando il software Z-view. Si è optato per un cambiamento del circuito equivalente data la presenza del solo strato di ossido naturale nei campioni senza trattamento superficiale.

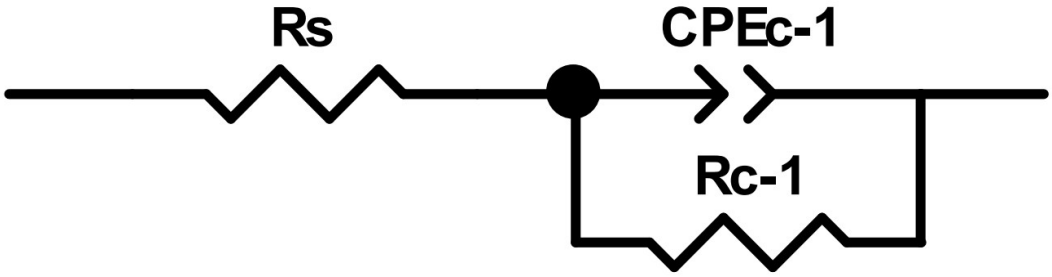


Figura 58 Circuito elettrico equivalente per EIS campioni non trattati

Il circuito elettrico in Figura 57 è costituito da due R-CPE paralleli, ognuno dei quali rappresenta uno strato del rivestimento PEO (strato compatto interno e strato di ossido). Poiché la misura della capacità spesso non è ideale, è stato utilizzato il CPE (elemento a fase costante). Considerando in dettaglio il significato fisico di ciascun elemento, la catena Rc-1 / CPEc-1 rappresenta l'interfaccia tra l'elettrolita e lo strato poroso esterno, mentre Rc-2 / CPEc-2 l'interfaccia tra l'elettrolita nei pori e lo strato barriera interno del rivestimento PEO. Rs rappresenta invece la resistenza della soluzione. I parametri calcolati degli elementi del circuito per tutti i campioni con il circuito elettrico corrispondente sono riportati nella Tabella 6. I bassi valori del chi-quadro (χ^2) indicano una buona qualità di adattamento ed una buona corrispondenza tra punti e linee nei diagrammi di Nyquist e Bode.

Tabella 6 Dati circuito equivalente

Materiale	Rs [Ω*cm2]	Rc-1 [Ω*cm2]	Rc-2 [Ω*cm2]	CPEc-1 T	CPEc-1 P	CPEc-2 T	CPEc-2 P	X^2 (chi squared)
A	28,52	108,6	4824,0	3,798E-5	0,7324	1,999E-5	0,8074	0,0054123
B	8,064	2173	4274,0	5,09E-6	0,7574	2,2429E-7	1,8	0,0013320
C	25,5	1147	$3{,}22*10^{8}$	1,5786E-5	0,66136	8,3054E-6	1,601	0.0009192
D	14,5	781,5	$1{,}5*10^{7}$	4,8636E-5	0,60987	6,2355E-7	1,965	0.0013647
E	5	5970	$1{,}05*10^{7}$	1,2078E-6	0,67366	1,113E-17	3,773	0.0012383
F	3	4466	$1{,}5*10$	9,6478E-6	0,57455	7,822E-18	4,04	0.0010588
G	22,76	388,5	-	6,242E-6	0,7836	-	-	0,0049910
H	23	100,9	-	6,671E-5	0,80560	-	-	0,0031880

Dai dati calcolati si può notare che nei campioni trattati (a parte il campione A e B), il valore di Rc-2 è di diverse grandezze superiore al valore di Rc-1. Ciò è dovuto ai pori dello strato di PEO che sono stati riempiti e sigillati dai cristalli di idrossiapatite. Ciò ha prodotto un notevole aumento dell'effetto barriera dello strato poroso, poiché l'elettrolita non può penetrare facilmente nei pori, aumentando di conseguenza il valore corrispondente di Rc-2. I valori di Rc-2 dei campioni C, D, E ed F e sono quelli maggiori, inoltre, il valore di Rc-2 dei campioni D ed E risulta essere uguale. Il valore di Rc-2 dei campioni A e B molto più basso rispetto a tutti gli altri campioni e questo concorda con l'osservazione all'XRD che ha evidenziato l'assenza di Hap. Possiamo affermare che i campioni trattati di maggior rilievo sono i campioni E ed F, essi infatti presentano le migliori caratteristiche di resistenza a corrosione, verificate mediante i test EIS e PDP, tale miglioramento è correlato alla forma omogenea ed alla distribuzione irregolare dei pori superficiali di questi due campioni, come visto dalle immagini SEM. I campioni C e D presentato una resistenza a corrosione inferiore, dovuta probabilmente all'alta concentrazione di calcio che ha provocato lo sviluppo di scintille di dimensioni maggiori con conseguente formazione di pori con microstruttura a cratere, forma e distribuzione irregolare. Nonostante l'assenza di calcio all'interno della lega, il campione A presenta buone caratteristiche di resistenza a corrosione, ciò conferma quanto detto in precedenza, cioè che esso presenta una superficie con pori omogenei e uniformi, inoltre la presenza di idrossiapatite comporta proprietà migliori rispetto al secondo campione prodotto sulla lega di magnesio puro. Dai grafici di Nyquist e del modulo di Bode, anche il campione B presenta buone caratteristiche di resistenza a corrosione, il campione A invece ha prodotto ottimi risultati sui test potenziodinamici. Nonostante i buoni risultati però, lo strato superficiale risulta molto sottile, questo è conseguenza, come descritto in precedenza, sia al poco tempo di trattamento, sia alla modalità pulsata (PWM) utilizzata per il trattamento, questo ha probabilmente comportato una diminuzione generale delle proprietà a corrosione perché' l'elettrolita può raggiungere il substrato con maggiore semplicità.

4. CONCLUSIONI

In questo lavoro di tesi sono stati prodotti con successo rivestimenti bioattivi sul magnesio puro e su una lega di magnesio-calcio mediante ossidazione elettrolitica al plasma (PEO), lavorando a bassa tensione (315 V) e con densità di corrente costante (0.5 $\frac{A}{cm^2}$). È stato rivelato che l'uso del Ca, non tossico e poco invasivo, all'interno della lega trattata in seguito mediante PEO ha portato a notevoli miglioramenti nella resistenza alla corrosione. L'aumento della resistenza alla corrosione è dovuto sia alla diminuzione della porosità superficiale, rilevata attraverso delle analisi SEM, sia alla presenza di Hap nei campioni di magnesio-calcio, verificata mediante analisi XRD. L'utilizzo di un elettrolita contenente Ca ha portato miglioramenti irrisori alle proprietà superficiali dei campioni di magnesio - calcio trattati con PEO rispetto ai campioni trattati senza il calcio in soluzione, ciò è probabilmente dovuto all'alta concentrazione di calcio che ha provocato lo sviluppo di scintille di dimensioni maggiori con conseguente formazione di pori con microstruttura a cratere, forma e distribuzione irregolare. Considerando le proprietà di corrosione dei campioni trattati, i campioni E ed F sembrano essere i più promettenti per una possibile applicazione come impianto biomedico, essi infatti sono stati prodotti dalla lega di magnesio-calcio, entrambi materiali biocompatibili e bioriassorbibili, inoltre, grazie al miglioramento del comportamento a corrosione possono resistere all'ambiente biologico per il tempo necessario alla durata del trattamento di guarigione. Nel complesso, in tutti i campioni, la produzione di un substrato PEO sul magnesio e sul magnesio-calcio ha dimostrato un miglioramento delle resistenze a corrosione rispetto ai rispettivi campioni non trattati. I rivestimenti superficiali sono un aspetto molto importante per lo sviluppo di nuovi biomateriali e protesi, il magnesio presenta ottime caratteristiche di biocompatibilità ma scarsa resistenza alla corrosione in ambiente fisiologico, in particolare la tecnica di rivestimento PEO permette, come visto in questo studio, di migliorarne le resistenze a corrosione, ciò potrebbe portare in futuro allo sviluppo di protesi sempre migliori, capaci di resistere il tempo necessario in un ambiente altamente aggressivo come il corpo umano.

BIBLIOGRAFIA

[1] Rodan GA (1998) Bone homeostasis. Proceedings of the National Academy of Sciences 95:13361–13362.
https://doi.org/10.1073/pnas.95.23.13361

[2] Denkena B, Witte F, Podolsky C, Lucas A (2005) Degradable implants made of magnesium alloys. 5

[3] Denkena B, Lucas A (2007) Biocompatible Magnesium Alloys as Absorbable Implant Materials – Adjusted Surface and Subsurface Properties by Machining Processes. CIRP Annals 56:113–116.
https://doi.org/10.1016/j.cirp.2007.05.029

[4] Navarro M, Michiardi A, Castaño O, Planell JA (2008) Biomaterials in orthopaedics. J R Soc Interface 5:1137–1158.
https://doi.org/10.1098/rsif.2008.0151

[5] Wang K (1996) The use of titanium for medical applications in the USA. Materials Science and Engineering: A 213:134–137.
https://doi.org/10.1016/0921-5093(96)10243-4

[6] Vignesh M, Ranjith Kumar G, Sathishkumar M, et al (2021) Development of Biomedical Implants through Additive Manufacturing: A Review. Journal of Materials Engineering and Performance 30:4735–4744.
https://doi.org/10.1007/s11665-021-05578-7

[7] Manivasagam G, Dhinasekaran D, Rajamanickam A (2010) Biomedical Implants: Corrosion and its Prevention -A Review. Recent Patents on Corrosion Science 2:40–54.
https://doi.org/10.2174/1877610801002010040

[8] Wang, Qiong and Eltit, Felipe and Wang, Rizhi (2017) Corrosion of Orthopedic Implants
https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.99863-5

[9] Gurappa I (2002) Characterization of different materials for corrosion resistance under simulated body fluid conditions. Materials Characterization 49:73–79.
https://doi.org/10.1016/S1044-5803(02)00320-0

[10] Tian P, Xu D, Liu X (2016) Mussel-inspired functionalization of PEO/PCL composite coating on a biodegradable AZ31 magnesium alloy. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 141:327–337.
https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.02.004

[11] Pezzato L, Brunelli K, Diodati S, et al (2021) Microstructural and Corrosion Properties of Hydroxyapatite Containing PEO Coating Produced on AZ31 Mg Alloy. Materials 14:. https://doi.org/10.3390/ma14061531

[12] Kolmas J, Groszyk E, Kwiatkowska-Różycka D (2014) Substituted Hydroxyapatites with Antibacterial Properties. BioMed Research International 2014:178123. https://doi.org/10.1155/2014/178123

[13] Kim SR, Lee JH, Kim YT, et al (2003) Synthesis of Si,Mg substituted hydroxyapatites and their sintering behaviors. Biomaterials 24:1389–1398. https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00523-9

[14] Staiger MP, Pietak AM, Huadmai J, Dias G (2006) Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review. Biomaterials 27:1728–1734. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.10.003

[15] American Journal of Biomedical Engineering (2012) Biomedical Magnesium Alloys: A Review of Material Properties, Surface Modifications and Potential as a Biodegradable Orthopaedic Implant https://doi.org/10.5923/j.ajbe.20120206.02

[16] Mccord CP, Prendergast JJ, Meek SF, Harrold GC (1942) Chemical gas gangrene from metallic magnesium

[17] Witte F, Kaese V, Haferkamp H, et al (2005) In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response. Biomaterials 26:3557–3563. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.09.049

[18] Cesarz-Andraczke K, Kania A, Młynarek K, Babilas R (2020) Amorphous and Crystalline Magnesium Alloys for Biomedical Applications. In: Tański T, Jarka P (eds) Magnesium Alloys Structure and Properties. IntechOpen, Rijeka https://doi.org/10.5772/intechopen.94914

[19] Feser, K., Kietzmann, M., Bäumer, W., Krause, C., & Bach, F. W. (2011) Effects of degradable Mg-Ca alloys on dendritic cell function. Journal of biomaterials applications. 25(7):685–697. https://doi.org/10.1177/0885328209360424

[20] Li Z, Gu X, Lou S, Zheng Y (2008) The development of binary Mg–Ca alloys for use as biodegradable materials within bone. Biomaterials 29:1329–1344. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.12.021

[21] Tkacz J, Slouková K, Minda J, et al (2017) Influence of the Composition of the Hank's Balanced Salt Solution on the Corrosion Behavior of AZ31 and AZ61 Magnesium Alloys. Metals 7. https://doi.org/10.3390/met7110465

[22] Srinivasan PB, Liang J, Blawert C, et al (2009) Effect of current density on the microstructure and corrosion behaviour of plasma electrolytic oxidation treated AM50 magnesium alloy. Applied Surface Science 255:4212–4218. https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2008.11.008

[23] Arrabal R, Matykina E, Hashimoto T, et al (2009) Characterization of AC PEO coatings on magnesium alloys. Surface and Coatings Technology 203:2207–2220. https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2009.02.011

[24] Famiyeh, Lord, Huang X (2019) Plasma Electrolytic Oxidation Coatings on Aluminum Alloys: Microstructures, Properties, and Applications. https://doi.org/10.33552/MCMS.2019.02.000526

[25] Simchen F, Sieber M, Kopp A, Lampke T (2020) Introduction to Plasma Electrolytic Oxidation—An Overview of the Process and Applications. Coatings 10:. https://doi.org/10.3390/coatings10070628

[26] https://blog.keronite.comwhat-is-plasma-electrolytic-oxidation-article

[27] Arrabal R, Matykina E, Hashimoto T, et al (2009) Characterization of AC PEO coatings on magnesium alloys. Surface and Coatings Technology 203:2207–2220. https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2009.02.011

[28] Guo Y, Rogov A, Hird A, et al (2022) Plasma electrolytic oxidation of magnesium by sawtooth pulse current. Surface and Coatings Technology 429:127938. https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2021.127938

[29] Fattah-Alhosseini A, Keshavarz MK, Molaei M, Gashti SO (2018) Plasma Electrolytic Oxidation (PEO) Process on Commercially Pure Ti Surface: Effects of Electrolyte on the Microstructure and Corrosion Behavior of Coatings. Metallurgical and Materials Transactions A 49:4966–4979. https://doi.org/10.1007/s11661-018-4824-8

[30] https://www.ibccoatings.com/plasma-electrolytic-oxidation-peo-ceratough/

[31] Fattah-Alhosseini A, Keshavarz MK, Molaei M, Gashti SO (2018) Plasma Electrolytic Oxidation (PEO) Process on Commercially Pure Ti Surface: Effects of Electrolyte on the Microstructure and Corrosion Behavior of Coatings. Metallurgical and Materials Transactions A 49:4966–4979. https://doi.org/10.1007/s11661-018-4824-8

[32] Hakimizad A, Raeissi K, Santamaria M, Asghari M (2018) Effects of pulse current mode on plasma electrolytic oxidation of 7075 Al in Na 2 WO 4 containing solution: From unipolar to soft-sparking regime. Electrochimica Acta 284:. https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.07.200

[33] Yerokhin AL, Shatrov A, Samsonov V, et al (2005) Oxide ceramic coatings on aluminium alloys produced by a pulsed bipolar plasma electrolytic oxidation process. Surface and Coatings Technology 199:150–157. https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2004.10.147

[34] Simchen F, Sieber M, Kopp A, Lampke T (2020) Introduction to Plasma Electrolytic Oxidation—An Overview of the Process and Applications. Coatings 10:. https://doi.org/10.3390/coatings10070628

[35] Song J, She J, Chen D, Pan F (2020) Latest research advances on magnesium and magnesium alloys worldwide. Journal of Magnesium and Alloys 8:1–41. https://doi.org/10.1016/j.jma.2020.02.003

[36] Guo Y, Rogov A, Hird A, et al (2022) Plasma electrolytic oxidation of magnesium by sawtooth pulse current. Surface and Coatings Technology 429:127938. https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2021.127938

[37] https://www.analogictips.com/pulse-width-modulation-pwm/

[38] Bitar SJ, Crowley IF, Leung HF (2011) PWM Techniques: A Pure Sine Wave Inverter https://pdf4pro.com/view/pwm-techniques-a-pure-sine-wave-inverter-5bb374.html

[39] Narayanan TSNS, Park I-S, Lee M-H (2015) 2 - Surface modification of magnesium and its alloys for biomedical applications: Opportunities and challenges. In: Narayanan TSNS, Park I-S, Lee M-H (eds) Surface Modification of Magnesium and its Alloys for Biomedical Applications. Woodhead Publishing, Oxford, pp 29–87 https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-077-4.00002-4

[40] Habibovic P, Groot K (2007) Osteoinductive Biomaterials – Properties and Relevance in Bone Repair. Journal of tissue engineering and regenerative medicine 1:25–32. https://doi.org/10.1002/term.5

[41] Kolmas J, Groszyk E, Kwiatkowska-Różycka D (2014) Substituted Hydroxyapatites with Antibacterial Properties. BioMed Research International 2014:178123. https://doi.org/10.1155/2014/178123

[42] Pezzato L, Brunelli K, Diodati S, et al (2021) Microstructural and Corrosion Properties of Hydroxyapatite Containing PEO Coating Produced on AZ31 Mg Alloy. Materials 14:. https://doi.org/10.3390/ma14061531

[43] Abdullah A, Mohammed A (2019) Scanning Electron Microscopy (SEM): A Review

[44] Leamy HJ (1982) Charge collection scanning electron microscopy. Journal of Applied Physics 53: R51–R80.
https://doi.org/10.1063/1.331667

[45] Smith KCA, Oatley CW (1955) The scanning electron microscope and its fields of application. British Journal of Applied Physics 6:391–399.
https://doi.org/10.1088/0508-3443/6/11/304

[46] Nicole Gleichmann (2020) SEM vs TEM.
https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/sem-vs-tem-331262

[47] Jihong Yim (2021) Energy-dispersive X-ray spectroscopy.
https://wiki.aalto.fi/display/SSC/Energy-dispersive+X-ray+spectroscopy

[48] Kosec T, Novak Ž, Fabjan EŠ, et al (2021) Corrosion protection of brown and green patinated bronze. Progress in Organic Coatings 161:106510.
https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2021.106510

[49] Egerton R (2005) Physical principles of electron microscopy: An introduction to TEM, SEM, and AEM.
https://doi.org/10.1007/b136495

[50] Kazmiruk V (2012) Scanning Electron Microscopy. IntechOpen, Rijeka.
https://doi.org/10.5772/1973

[51] Sutter LL, Peterson KR, Van Dam TJ, et al (2002) Guidelines for detection, analysis, and treatment of materials-related distress in concrete pavements, volume 3: case studies using the guidelines. dot:25303
https://rosap.ntl.bts.gov/view/dot/25303

[52] Cullity B. D. 1978. Elements of X-Ray Diffraction. Second ed. Reading MA: Addison-Wesley Publishing Company.

[53] Dhirendra Yadav (2014) What is Diffraction of light for Engineering Physics B.tech 1st Year
https://semesters.in/diffraction/

[54] Nasir, S., Hussein, M. Z., Zainal, Z., Yusof, N. A., Mohd Zobir, S. A., and Alibe, I. M. (2019) Potential valorization of by-product materials from oil palm: A review of alternative and sustainable carbon sources for carbon-based nanomaterials synthesis.
https://doi.org/10.15376/biores.14.1.Nasir

[55] Whittig LD, Allardice WR (1986) X-Ray Diffraction Techniques. In: Methods of Soil Analysis. John Wiley & Sons, Ltd, pp 331–362

[56] Warren Bertram Eugene. 1969. X-Ray Diffraction. Reading Mass: Addison-Wesley.

[57] Harris W, Norman White G (2008) X-ray Diffraction Techniques for Soil Mineral Identification. In: Methods of Soil Analysis Part 5—Mineralogical Methods. John Wiley & Sons, Ltd, pp 81–115

[58] Ali A, Chiang YW, Santos RM (2022) X-ray Diffraction Techniques for Mineral Characterization: A Review for Engineers of the Fundamentals, Applications, and Research Directions. Minerals 12.
https://doi.org/10.3390/min12020205

[59] Ciucci F (2019) Modeling electrochemical impedance spectroscopy. Current Opinion in Electrochemistry 13:132–139.
https://doi.org/10.1016/j.coelec.2018.12.003

[60] Mansfeld F (2005) Electrochemical Impedance Spectroscopy
https://doi.org/10.1201/9781420028331.CH13

[61] Srinivasan S (2011) Uhlig's Corrosion Handbook, Third Edition. pp 1033–1044
https://doi.org/10.1002/9780470872864.ch72

[62] Munir S, Pelletier M, Walsh W (2016) Potentiodynamic Corrosion Testing. Journal of Visualized Experiments 2016.
https://doi.org/10.3791/54351

[63] Bradberry, S. M., Wilkinson, J. M., & Ferner, R. E. (2014). Systemic toxicity related to metal hip prostheses. Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.), 52(8), 837–847.
https://doi.org/10.3109/15563650.2014.944977

[64] Davda, K., Lali, F. V., Sampson, B., Skinner, J. A., & Hart, A. J. (2011). An analysis of metal ion levels in the joint fluid of symptomatic patients with metal-on-metal hip replacements. The Journal of bone and joint surgery. British volume, 93(6), 738–745.
https://doi.org/10.1302

[65] Munir, S., Pelletier, M. H., & Walsh, W. R. (2016). Potentiodynamic Corrosion Testing. Journal of visualized experiments: JoVE, (115), 54351.
https://doi.org/10.3791/54351

[66] Robinson HJ, Markaki AE, Collier CA, Clyne TW (2011) Cell adhesion to plasma electrolytic oxidation (PEO) titania coatings, assessed using a centrifuging technique. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials 4:2103–2112.
https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.07.009

[67] Frank Simchen, Maximilian Sieber, Alexander Kopp and Thomas Lampke (2020) Introduction to Plasma Electrolytic Oxidation—An Overview of the Process and Applications.

[68] Khiabani AB, Ghanbari A, Yarmand B, et al (2018) Improving corrosion behavior and in vitro bioactivity of plasma electrolytic oxidized AZ91 magnesium alloy using calcium fluoride containing electrolyte. Materials Letters 212:98–102. https://doi.org/10.1016/j.matlet.2017.10.072