

بررسی ریزساختاری، الکتروشیمیایی و زیست‌سازگاری پوشش TiO_2 اعمالی بر AZ91D بوسیله

کندوپاش مغناطیسی

محسن سمیعی^۱، زهراسادات سیدرئوفی^{۲*}

۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی مواد و متالورژی، دانشکده فنی و مهندسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

۲ استادیار، گروه مهندسی مواد و متالورژی، دانشکده فنی و مهندسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران



تاریخ دریافت:

۹۸/۰۵/۲۷

تاریخ پذیرش:

۹۸/۰۷/۱۴

چکیده

در این تحقیق با توجه به مقاومت به خوردگی پایین آلیاژهای منیزیم در محیط‌های آبی، از پوشش سرامیکی TiO_2 به روش کندوپاش مغناطیسی برای بهبود مقاومت به خوردگی و زیست‌سازگاری آلیاژ AZ91D استفاده شد. بررسی‌های ساختاری به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM) و تفرق پرتو ایکس (XRD) پیوستگی خوب پوشش با مورفولوژی شبه کروی حاوی TiO_2 و اسپینل‌های Mg_2TiO_4 و $MgTi_2O_5$ را نشان داد؛ به طوری که بخشی از زیرلایه نیز تحت تاثیر نفوذ تیتانیوم قرار گرفت. آزمون خوردگی پلاریزاسیون در محلول شبیه سازی شده بدن (SBF) نشان داد که اعمال پوشش با کاهش حدود ۱۰۰ برابری جریان خوردگی منجر به بهبود مقاومت خوردگی زیرلایه منیزیم می‌گردد. نتایج آزمون زیست‌سازگاری سمیت زایی نشان داد که تراکم و تعداد سلول‌های موجود روی نمونه پوشش داده شده با TiO_2 به دلیل اتصال سلولی محکم‌تر بیشتر از زیرلایه بدون پوشش است. درصد زنده ماندن سلول‌های MG67 نیز روی سطح نمونه‌ها از مقدار ۷۷ درصد در زیرلایه بدون پوشش به مقدار ۸۹ درصد در نمونه پوشش داده شده افزایش یافت.

آلیاژ منیزیم، پوشش TiO_2 ، کندوپاش مغناطیسی، خوردگی، زیست‌سازگاری.

واژگان کلیدی

Microstructural, Electrochemical and Biocompatibility Investigation of TiO₂ Coating on AZ91D by Magnetron Sputtering Method

M. Samice¹, Z. S. Seyedraoufi^{2,*}

1- M.Sc., Department of Metallurgy and Materials Engineering, Karaj Branch, Islamic Azad University Karaj, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Metallurgy and Materials Engineering, Karaj Branch, Islamic Azad University Karaj, Iran.

Abstract

In this study, due to the poor corrosion resistance of Mg alloys, TiO₂ ceramic coating applied by magnetron sputtering technique to enhance the corrosion resistance and biocompatibility of AZ91D. Microstructural studies by field emission scanning electron microscopy (FESEM) and X-Ray diffraction (XRD) showed that coating formed uniformly with semi spherical morphology containing TiO₂, Mg₂TiO₄ and MgTi₂O₅ spinels, so that above of the substrate was Ti diffusion affected. Polarization corrosion test in simulated body fluid (SBF) solution showed that applying the coating increased corrosion resistance by reducing corrosion current so that MTT results show that density and number of cells on coated sample is higher than substrate without coating due to cell joint stronger. The viability of MG67 cells on the samples increased from 77% in the substrate to 89% in the coated sample.

Keywords

Magnesium Alloy, TiO₂ Coating, Magnetron Sputtering, Corrosion, Biocompatibility.

۱- مقدمه

منیزیم و آلیاژهای آن به دلیل خواص مکانیکی مناسب و زیست سازگاری خوب، به عنوان مواد اولیه جهت ساخت ایمپلنت های استخوانی مورد توجه قرار گرفته اند [۹-۱۱]. یون Mg چهارمین کاتیون مهم در سرم انسانی و یکی از عناصری است که برای سوخت و ساز بدن انسان ضروری است و به طور طبیعی می تواند در بافت استخوان یافت شود [۱۰ و ۱۱].

در بدن انسان، تقریباً دو سوم یون های منیزیم در استخوان، یک سوم در بخش های بافت و فقط حدود ۱ تا ۲ درصد در مایعات خارج سلولی هستند [۱۲]. کمبود منیزیم در بدن انسان ممکن است باعث کاهش قدرت استخوان و در نهایت پوکی استخوان شود [۱۳ و ۱۴]. علاوه بر این، منیزیم به عنوان فلز سبک در مهندسی بسیار مورد استفاده قرار می گیرد. چگالی منیزیم (2 g.cm^{-3} - $1/74$) به تراکم استخوان طبیعی ($2/1 \text{ g.cm}^{-3}$ - $1/8$) بسیار نزدیک است. در مقایسه با سایر مواد زیستی فلزی، منیزیم دارای مدول الاستیک کم (45 Gpa) و بسیار پایین تر از تیتانیوم (110 Gpa)، فولاد ضد زنگ (200 Gpa) و کروم کبالت (210 Gpa) است. در نتیجه اثر حفاظت تنشی در حین عمل پیوند استخوان می تواند تا زمانی که منیزیم به عنوان کاشتنی عمل می کند، کاهش یابد یا از آن جلوگیری شود. با این حال، سرعت خوردگی سریع منیزیم و آلیاژهای آن در محیط بدن انسان، استفاده از آنها را به عنوان مواد کاشتنی پزشکی محدود می کند [۱۷-۱۵].

برای برطرف کردن این مشکل می توان از پوشش های بیو سرامیکی استفاده نمود. یکی از پوشش های مناسب بیو سرامیکی پوشش TiO₂ می باشد. استفاده از پوشش های TiO₂ روی کاشتنی های فلزی منجر به افزایش مقاومت به خوردگی، افزایش خونسازی و بهبود خواص مکانیکی می شود و همچنین از آزادسازی یون های مزاحم در حین تماس با بافت زنده جلوگیری می کند [۱۸].

از روش های مختلفی برای پوشش دهی لایه های بیو سرامیکی استفاده می شود که از میان آن ها می توان به پوشش های تبدیلی، سل-ژل، رسوب دهی از فاز بخار شامل PVD و CVD، اسپری سرد و آبکاری اشاره کرد [۲۴-۱۹]. کندوپاش مغناطیسی، روشی مقرون به صرفه است که می تواند پوشش های لایه نازک را با خلوصی بالا و چسبندگی عالی روی سطح های بزرگ لایه نشانی کند و به دلیل توانایی تولید ساختارهایی با پوشش منسجم و یکنواخت، انتخاب مناسبی برای پوشش های TiO₂ است [۲۵ و ۲۶]. در همین راستا مهدیزاده و همکاران [۲۷]، پوشش دهی TiO₂ روی فولاد 316L به روش غوطه وری سل ژل با هدف کاربرد مهندسی پزشکی را در پژوهشی مورد بررسی قرار دادند که نتایج حاصل از آن افزایش خونسازی نمونه پوشش داده شده با TiO₂ می باشد. در پژوهشی دیگر الیزا و همکاران [۲۸]، به بررسی جزئیات پوشش نانو ذرات TiO₂ بر روی Ti-6Al-4V پرداختند که نتایج آن حاکی از تشکیل هیدروکسی آپاتیت، افزایش زیست سازگاری و سطح ضد باکتریایی

آن می باشد سوکوروگلو و همکاران [۲۹]، با اعمال پوشش TiO₂ بر روی آلیاژ NiTi سبب افزایش خوردگی نمونه پوشش داده شده نسبت به نمونه بدون پوشش شدند. بررسی تحقیقات نشان داده است که تاکنون پوشش TiO₂ روی آلیاژ منیزیم AZ91D با روش کند و پاش مغناطیسی ایجاد نشده و بررسی خواص الکتروشیمیایی و زیست سازگاری آن صورت نگرفته است. هدف از این پژوهش، ایجاد پوشش TiO₂ روی آلیاژ منیزیم AZ91D با روش کندوپاش مغناطیسی و بررسی خواص میکروساختاری، مقاومت به خوردگی و زیست سازگاری جهت کاربرد در پزشکی و ارتوپدی می باشد.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد

در این تحقیق از آلیاژ منیزیم AZ91D در ابعاد ۵ cm×۵ cm×۵ cm به عنوان زیر لایه استفاده شد. ترکیب شیمیایی این آلیاژ بر حسب درصد وزنی در جدول (۱)، نشان داده شده است.

۲-۲- روش کار

نمونه ها در ابتدا توسط کاغذ SiC از شماره ۱۰۰ تا ۲۰۰۰ پرداخته شدند و سپس براساس استاندارد ASTM D2651 تحت عملیات چربی گیری و اکسیدزدایی قرار گرفتند [۳۰]. پوشش دهی به روش کندوپاش مغناطیسی با دستگاه رادیوفرکانس RF، انجام شد. فشار پایه در محفظه لایه نشانی حدود ۱۰-۷ میلی بار بود و لایه نشانی پوشش TiO₂ در فشار کاری حدود ۳-۱۰× ۲/۵ میلی بار با شار ۲۵ سانتی متر مکعب بر دقیقه تحت گاز آرگون به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد.

به منظور بررسی میکروساختار نمونه ها از میکروسکوپ الکترونی نشر میدانی (FESEM) مدل MIRA3 ساخت شرکت TESCAN مجهز به شناساگر عناصر به وسیله تفرق انرژی (EDS) استفاده شد. جهت شناسایی فازها و ترکیب شیمیایی، از دستگاه پراش اشعه ایکس (XRD) مدل PW1800، ساخت شرکت PHILIPS با فیلد مان نیکل، پرتو Cu Kα و حداکثر ولتاژ کاری ۳۰Kv استفاده گردید.

رفتار خوردگی الکتروشیمیایی نمونه ها در محلول شبیه ساز بدن SBF توسط دستگاه پتانسیواستات/گالوانواستات EG&G، در دمای

جدول ۱: ترکیب شیمیایی آلیاژ AZ91D مورد استفاده بر حسب درصد وزنی.

Bal	منیزیم
۹/۶	آلومینیوم
۰/۰۳	مس
۰/۰۰۵	آهن
۰/۰۰۲	نیکل
۰/۵	روی
۰/۳۵	منگنز
۰/۰۲	بقیه

دقیقه قرار گرفتند. پس از آگیری، رطوبت سطحی نمونه ها در هوای محیط گرفته شد و نمونه ها در دمای ۴ درجه سانتیگراد تا زمان تست نگه داری شدند [۳۱].

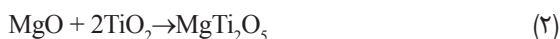
میزان تکثیر و زنده مانی سلولی MG67 روی سطح نمونه ها توسط آزمون MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. به همین منظور ۲۰ میکرو لیتر محلول MTT با غلظت ۵ میلی گرم در میلی لیتر به چاهک های حاوی نمونه ها و کنترل منفی اضافه شد. پس از طی ۴ ساعت زمان انکوباتور، محیط کشت تخلیه شده و ۲۰۰ میکرو لیتر DMSO جایگزین گردید. ۱۰ دقیقه زمان جهت حل شدن کریستال های رنگ تشکیل شده کافی است و پس از گذشت ۱۰ دقیقه، از هر چاهک ۲۰۰ میکرو لیتر محلول برداشته شده و درون ظرف کشت سلولی ۹۶ چاهکی قرار گرفته و جذب نوری چاهک ها توسط دستگاه الیزاریدر (Bio Tek, Elx808, USA) در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. جهت محاسبه میزان زنده ماندن نسبی سلول ها در تماس با نمونه ها کنترل منفی از معادله (۱) استفاده گردید [۳۱]:

$$\% \text{viability} = \text{As} / \text{Ac} \times 100 \quad (1)$$

در این معادله، As میزان جذب نمونه و Ac میزان جذب کنترل منفی می باشد.

۳- نتایج و بحث

در شکل (۱-الف)، الگوی XRD پوشش TiO_2 اعمال شده بر روی زیر لایه منیزی نشان داده شده است. با توجه ضخامت پایین پوشش و شرایط آزمون XRD پیک های مربوط به منیزیم که نشانگر زیر لایه است در میان الگو دیده می شود. نکته قابل ذکر دیگر در این تصویر وجود پیک های مربوط به اسپینل های میان منیزیم و تیتانیم می باشد. با توجه به کینتیک بالای اکسیداسیون منیزیم به نظر می رسد در شروع فرآیند پوشش دهی اسپینل های Mg_2TiO_4 و MgTi_2O_5 در فصل مشترک میان پوشش و زیر لایه تشکیل شده است. با توجه به فرآیند کند و پاش مغناطیسی احتمال اکسید شدن زیر لایه منیزیم و تشکیل MgO وجود دارد و اسپینل های Mg_2TiO_4 و MgTi_2O_5 در اثر واکنش بین دو اکسید TiO_2 و MgO در دماهای بالاتر از ۱۰۰۰ درجه سانتیگراد طی واکنش های زیر تشکیل می شوند:

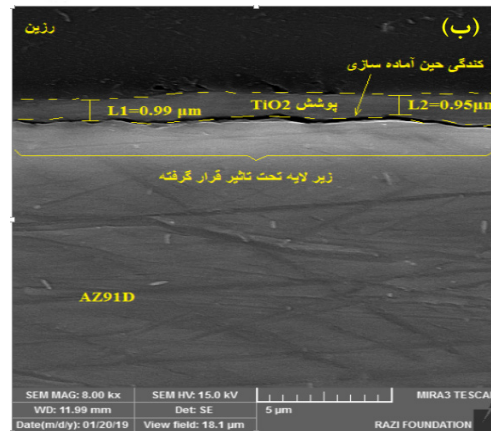
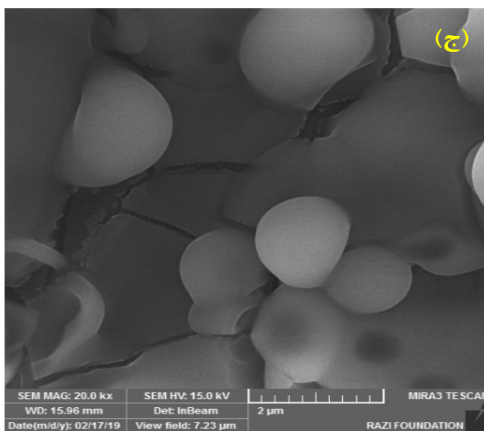
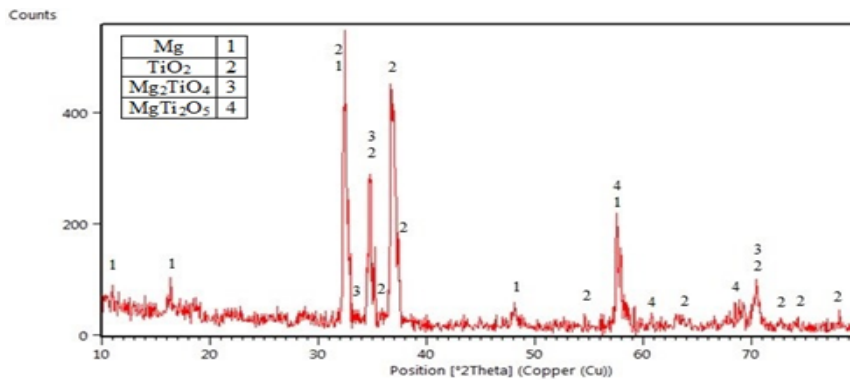


$$2\text{MgO}(s) + \text{TiO}_2(s) \rightarrow \text{Mg}_2\text{TiO}_4 \quad (3)$$
 Mg_2TiO_4 به عنوان یک ماده دیرگداز و سرامیک دی الکتریک مایکروویو مطرح می باشد. در صورتی که MgTi_2O_5 دارای خواص انبساط حرارتی متعادل تر و خواص مکانیکی مطلوب تری می باشد [۳۲ و ۳۳]. پس از تشکیل این لایه بسیار نازک پوشش دهی به روند عادی بازگشته و لایه TiO_2 روی سطح ایجاد گشته است که ضخامت

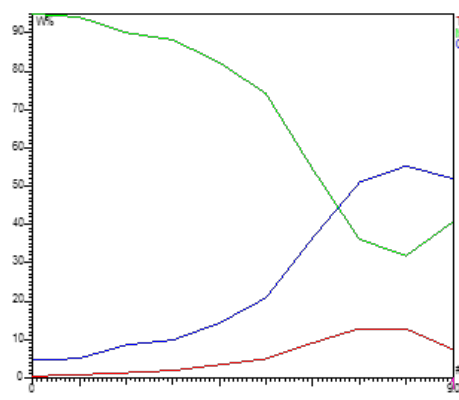
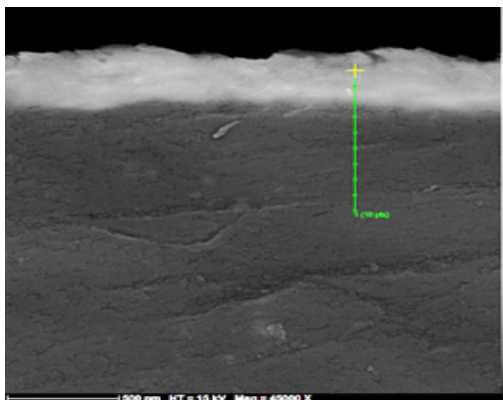
۳۷ °C بررسی گردید. هر یک از نمونه ها پس از آماده سازی (برطرف نمودن چسب های گرافیتی روی نمونه ها که برای عملیات پوشش دهی استفاده شده بود) بر روی سل به عنوان الکترو دکتری بسته شد و الکترو دکالومل اشباع (Ag-AgCl) و الکترو دک پلاتینی به عنوان الکترو دک های مرجع و شمارنده جهت تکمیل موارد انجام آزمایش به کار گرفته شد. مساحت الکترو دک کاری-سطحی از نمونه که در تماس با محلول SBF قرار داشته- ۲۵ cm^2 بود. منحنی پلاریزاسیون پتانسیودینامیک بعد از ۹۰ دقیقه غوطه وری در محدوده ۲۵۰- الی ۲۰۰۰ mv و با سرعت روبش ۱ mv/s مشخص گردید. pH محلول توسط HCl و TRIS در ۷/۴ تنظیم گردید. جهت ساخت محلول SBF از $6/546 \text{ g.l}^{-1}$ کلرید سدیم، $2/268 \text{ g.l}^{-1}$ کربنات هیدروژن سدیم، $0/373 \text{ g.l}^{-1}$ کلرید پتاسیم، $0/142 \text{ g.l}^{-1}$ فسفات هیدروژن سدیم، $0/305 \text{ g.l}^{-1}$ کلرید منیزیم ۲ آبه، $0/367 \text{ g.l}^{-1}$ کلرید کلسیم ۲ آبه، $0/071 \text{ g.l}^{-1}$ سولفات سدیم و $6/057 \text{ g.l}^{-1}$ TRIS استفاده شد. جهت انجام فرآیند تست سمیت سلولی و تعیین تکثیر سلولی، از گروه سلولی MG67 تهیه شده از انستیتو پاستور ایران استفاده شد. با توجه به ابعاد نمونه از ظرف کشت سلول دارای ۲۴ چاهک بود، استفاده گردید. محیط کشت سلول مورد استفاده DMEM بود که ۱۰ درصد سرم جنین گاوی به آن اضافه شد. ابتدا ۱ میلی لیتر کشت حاوی سرم درون چاه های مورد نظر ریخته شد و سپس نمونه پوشش داده شده با TiO_2 و نمونه بدون پوشش که از قبل استریل شده، درون این چاهک ها قرار داده شدند. پس از اطمینان از غوطه وری کامل آنها درون محیط کشت و قرار گرفتن صحیح نمونه ها به نحوی که حداکثر فضای ممکن از کف چاهک را بپوشانند، تعداد ۳۰۰۰ سلول به همراه ۱ میلی لیتر محیط کشت حاوی سرم به چاهک ها اضافه گردید. یک چاهک بدون نمونه و حاوی همین تعداد سلول به عنوان کنترل منفی نیز در نظر گرفته شد. نمونه ها به همراه سلول ها به مدت ۷۲ ساعت درون انکوباتور CO_2 ۵% با رطوبت نسبی ۹۸% و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. سپس با استفاده از میکروسکوپ فلورسانس با لنز DAPI، مورفولوژی سلول ها روی سطح نمونه ها مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام این آزمون، پس از طی زمان ۷۲ ساعت از تماس نمونه ها و سلول ها، محیط کشت خالی شده و نمونه ها تحت شرایط استریل از درون ظرف کشت خارج گردید و به ظرف دیگری جهت انجام فرآیند تثبیت سلول ها منتقل گردید. جهت تثبیت سلول ها از محلول گلو تار آلدهید ۲/۵% استفاده شد. ابتدا نمونه ها با بافر فسفات استریل دو مرتبه شستشو داده شدند. سپس هر نمونه درون ۲ میلی لیتر محلول گلو تار آلدهید به مدت ۱/۵ ساعت قرار داده شد. پس از خروج نمونه از گلو تار آلدهید، مجدداً با بافر فسفات مورد شستشو قرار گرفت و در ادامه فرآیند آگیری از نمونه ها با استفاده از محلول الکل اتانول با غلظت به ترتیب ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد انجام شد. نمونه ها به ترتیب در ۲ میلی لیتر از محلول های الکل به مدت ۵ دقیقه قرار گرفته و در نهایت در الکل ۱۰۰% به مدت ۱۰

بررسی این ترکیبات احتمالی و مکانیزم مد نظر گرفته شده نیازمند بررسی‌های عمیق تر با XRDهای کم زاویه است. در شکل (ج)، مورفولوژی پوشش TiO_2 به وسیله تصویر FES-EM نشان داده شده است. در این تصویر به خوبی می‌توان مورفولوژی شبه کروی پوشش را مشاهده نمود. این مورفولوژی به جهت مکانیزم تشکیل پوشش روی زیرلایه است. این پوشش به صورت قطره چین روی زیرلایه تشکیل می‌گیرد. پس از تشکیل اولین لایه، کنگره‌های قبلی روی لایه اولیه تشکیل شده قرار می‌گیرد [۳۵]. ترک‌های نشان داده شده در شکل (ج-۱) به جهت تفاوت در ضریب انبساط حرارتی، تنش‌های پسماند فشاری درون پوشش و تنش‌های کششی وارده از زیرلایه به هنگام تشکیل شدن باشد. این ترک‌ها با توجه به روی هم

آن در حدود $1 \mu m$ می‌باشد. تصویر FESEM از مقطع عرضی پوشش در شکل (ب-۱)، یکنواختی پوشش ایجاد شده روی آلیاژ AZ91D را به تصویر کشیده است. وجود ناپیوستگی میان پوشش و زیرلایه به خاطر آماده سازی مکانیکی نمونه می‌باشد. خطوط باقیمانده از اثر سنباده که در این تصویر مشخص است نشان دهنده نوع آماده سازی به جهت تصویر برداری است. قسمت فوقانی زیرلایه، درست زیر منطقه پوشش داده شده؛ زیرلایه دچار تغییر رنگ شده است. این امر می‌تواند ناشی از نفوذ ناچیز تیتانیم به زیرلایه باشد. با توجه به پتانسیل منفی تر منیزیم در مقایسه با تیتانیم، فیلم بسیار نازکی از اکسید منیزیم و تیتانیم خالص روی سطح ایجاد می‌گردد. در ادامه تیتانیم به دورن منیزیم نفوذ کرده و تشکیل ترکیبات بین فلزی می‌دهد [۳۴].



شکل ۱: الف) الگوی XRD، ب) تصویر FESEM از سطح مقطع پوشش، ج) تصویر FESEM از مورفولوژی پوشش.

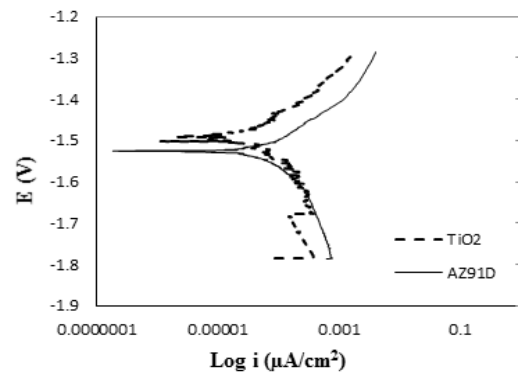


شکل ۲: تصویر FESEM از سطح مقطع نمونه به همراه آنالیز EDS.

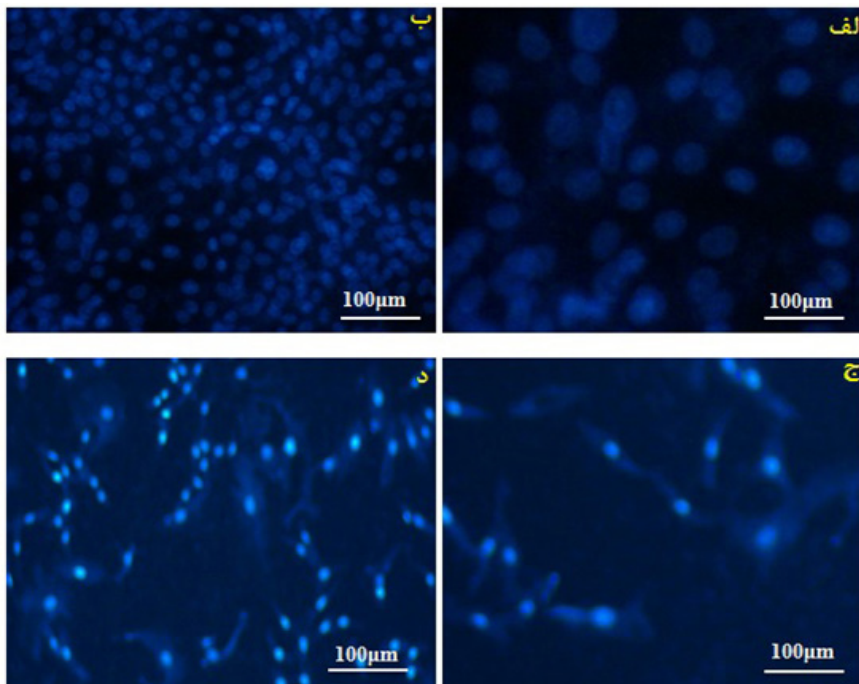
که در حین پوشش نفوذ میان این دو عنصر شکل گرفته است. ایمپلنت ها در محیط بدن تحت تاثیر مایعات بیرون سلولی بدن قرار دارند، بنابراین بررسی رفتار خوردگی این مواد ضروری می باشد. منحنی پلاریزاسیون الکتروشیمیایی نمونه ها در محلول SBF، قبل و پس از پوشش دهی در شکل (۳) نشان داده شده است. مقادیر پتانسیل خوردگی (E_{corr}) و چگالی جریان خوردگی (I_{corr}) از منحنی پلاریزاسیون نمونه ها استخراج و در جدول (۲) نشان داده شده است. با توجه به شکل (۳) و جدول (۲) مشاهده می شود که پوشش دهی زیرلایه منیزیم، تأثیر بسزایی بر مقاومت در برابر خوردگی داشته است؛ به گونه ای که پتانسیل خوردگی آلیاژ AZ91D پس از پوشش دهی با TiO_2 ، افزایش و چگالی جریان خوردگی، کاهش یافته است. مقایسه نتایج نشان می دهد که پس از فرآیند پوشش دهی، چگالی جریان خوردگی، کاهش حدود ۱۰۰ برابر نسبت به چگالی جریان خوردگی زیرلایه پوشش دهی نشده داشته است.

به طور کلی در منحنی های پلاریزاسیون تافل هر چه منحنی به سمت بالا و سمت چپ جابجا شود از نقطه نظر مقاومت به خوردگی حالت بهینه ای دارد [۳۸] و همانطور که شکل (۳) و جدول (۲) نشان می دهد عملیات پوشش دهی سبب بهبود خوردگی آلیاژ AZ91D شده است. افزایش پتانسیل خوردگی و کاهش چگالی جریان خوردگی

قرار داشتن کره ها، به احتمال بسیار زیاد راه به زیرلایه ندارند [۳۶ و ۳۷]. شکل (۲)، سطح مقطع نمونه را بعد از اعمال پوشش توسط روش کندوپاش به همراه آنالیز LINE برای بررسی روند تغییرات عناصر را نشان می دهد. تصویر مورفولوژی سطح نشان داده شده در شکل (۱-ب) یک لایه TiO_2 از دانه هایی با توزیع اندازه یکنواخت و متراکم را به تصویر کشیده است. شکل (۲)، روند تغییرات عناصر از سمت زیرلایه به سمت پوشش را نشان می دهد. روند افزایش تدریجی تیتانیوم و کاهش تدریجی منیزیم در زیر پوشش و قسمت فوقانی پوشش نشان می دهد



شکل ۳: منحنی های پلاریزاسیون زیرلایه قبل و پس از پوشش دهی با TiO_2 .



شکل ۴: تصاویر میکروسکوپ فلورسانس نمونه های کشت داده شده، (الف) نمونه بدون پوشش بعد از ۱ روز، (ب) نمونه پوشش دهی شده با TiO_2 بعد از ۱ روز، (ج) نمونه بدون پوشش بعد از ۸ روز، (د) نمونه پوشش دهی شده با TiO_2 بعد از ۸ روز.

جدول ۲: پارامترهای الکتروشیمیایی بدست آمده از منحنی های پلاریزاسیون.

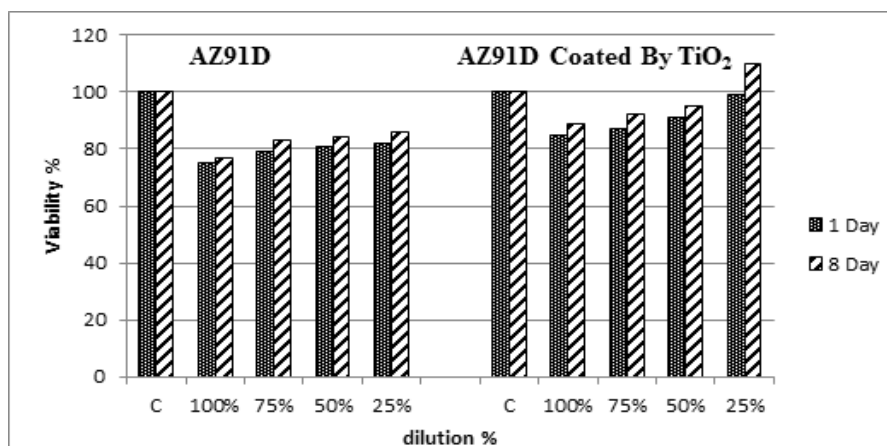
پتانسیل جریان خوردگی E_{corr} (V)	چگالی جریان خوردگی I_{corr} ($\mu A/cm^2$)	نمونه
-۱/۵۳۲	$۴/۷۶۵ \times 10^{-۳}$	AZ91D بدون پوشش
-۱/۴۹۱	$۵/۶۰۴ \times 10^{-۵}$	AZ91D پوشش دهی شده با TiO_2

سلولی به سطح چسبیده اند. با این وجود، سلول ها بر روی سطح نمونه پوشش داده شده بیشتر پهن شده و با کمک فیلوپودیاهایی که به نواحی اطراف سلول کشیده شده بودند بر روی سطح گسترش یافتند. در مجموع وجود فیلوپودیاهای امتداد یافته، مورفولوژی پهن و گسترده و نیز گسترش سلول ها در تمامی جهات بر اتصال سلولی محکم و رشد بهتر آنها بر روی سطح نمونه پوشش داده شده در مقایسه با سطح نمونه بدون پوشش دلالت دارد.

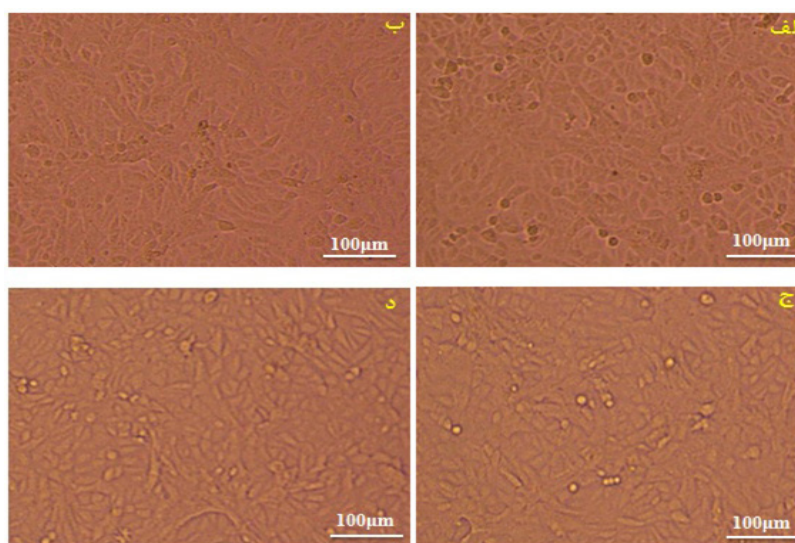
در شکل (۵)، نمودار زیست پذیری سلول های MG63 که به مدت ۱ و ۸ روز در محلول عصاره گیری با رقت ۱۰۰٪ و ۷۵٪ و ۵۰٪ و ۲۵٪ نمونه های بدون پوشش و پوشش دهی شده با TiO_2 را نشان می دهد. مطابق استاندارد ISO 10993-5:2009 کاهش میزان زیست پذیری سلولی از ۷۰٪ به عنوان اثر سمیتی در نظر گرفته می شود [۳۹] با توجه به میزان زیست پذیری بالای ۸۰٪ در تمام نمونه ها در محلول عصاره گیری با رقت ۱۰۰٪ و ۷۵٪ و ۵۰٪ و ۲۵٪ به مدت ۱ و ۸ روز می توان بیان کرد که تمام نمونه ها، زیست

زیرلایه پس از پوشش دهی نشان می دهد که پوشش TiO_2 می تواند حفاظت کننده موثری برای منیزیم باشد و منجر به بهبود مقاومت در برابر خوردگی منیزیم و آلیاژهای آن شود. مکانیزم کاهش سرعت انحلال منیزیم پس از پوشش دهی، کاهش سرعت واکنش آندی همراه با افزایش پتانسیل خوردگی می باشد که به موجب آن، پوشش TiO_2 از آنجا که یک مقاوم خوب در برابر هدایت یونی می باشد، اثر قابل توجهی در به تأخیر انداختن واکنش آندی ایجاد می کند.

شکل (۴)، چسبندگی، رشد، پهن شوندگی و مورفولوژی سلول های MG67 بر روی نمونه ها بعد از ۱ و ۸ روز کشت را نشان می دهد. از یک سو تراکم و تعداد سلول های موجود بر روی سطح نمونه پوشش داده شده در مقایسه با نمونه بدون پوشش بیشتر بوده و از سوی دیگر، سلول ها به صورت بسیار خوبی در تمام جهت بر روی سطح نمونه های پوشش داده شده گسترش یافته اند. همچنین مشاهده می شود که سلول های بنیادی مزانشیمی بر روی سطح نمونه های پوشش داده شده به صورت چند گوشه پهن شده و به وسیله ی امتدادهای



شکل ۵: میزان زیست پذیری سلول های استئوبلاست در محلول عصاره گیری با رقت های ۱۰۰٪ و ۷۵٪ و ۵۰٪ و ۲۵٪.



شکل ۶: تصاویر میکروسکوپ اینورت سلول های زنده، (الف) نمونه بدون پوشش بعد از ۱ روز، (ب) نمونه پوشش دهی شده با TiO_2 بعد از ۱ روز، (ج) نمونه بدون پوشش بعد از ۸ روز، (د) نمونه پوشش دهی شده با TiO_2 بعد از ۸ روز.

استخوانی باشد.

سازگار محسوب می شوند.

همانطور که ملاحظه می گردد، درصد زنده ماندن سلول های MG67 بر روی سطح نمونه ها از مقدار ۷۵ درصد در نمونه ی بدون پوشش پس از گذشت یک روز از کشت سلول ها، به مقدار ۸۵ درصد در نمونه پوشش داده شده با دی اکسید تیتانیوم افزایش یافته است و درصد زنده ماندن سلول ها بر روی سطح نمونه ها از مقدار ۷۷ درصد در نمونه ی بدون پوشش پس از گذشت هشت روز از کشت سلول ها، به مقدار ۸۹ درصد در نمونه پوشش داده شده با دی اکسید تیتانیوم افزایش یافته است. شکل (۶) تصاویر میکروسکوپی سلول های زنده را روی نمونه های بدون پوشش و پوشش دهی شده پس از ۱ و ۸ روز نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود به طور کلی تراکم سلولی روی سطح نمونه های پوشش دهی شده با ذرات TiO_2 بیشتر از نمونه های بدون پوشش می باشد و این به معنای زیست سازگاری بیشتر نمونه های پوشش دهی شده می باشد و همچنین نشان می دهد که با اعمال پوشش TiO_2 میزان تحریک کنندگی سلول ها بیشتر شده، میزان زیست پذیری افزایش یافته و میزان جذب و تکثیر سلول های استئوبلاست به طور قابل ملاحظه ای با بهبود سطح آلیاز منیزیم، افزایش می یابد.

۴- نتیجه گیری

نتایج بدست آمده از این پژوهش به طور مختصر در زیر آورده شده است:

۱. پوشش لایه نازک TiO_2 با ضخامت میانگین ۱ میکرومتر با موفقیت به روش کندوپاش مناطیسی بر سطح آلیاز AZ91D ایجاد گشت.

۲. بررسی نتایج حاصل از آنالیز XRD بعد از پوشش دهی نشان می دهد که غیر از TiO_2 ، پیک های مربوط به فازهای اسپینل $MgTi_2O_5$ و $MgTi_2O_4$ هم در ساختار پوشش، در فصل مشترک پوشش و زیرلایه مشاهده می شود.

۳. نمونه پوشش داده شده، مقاومت به خوردگی بالاتری نسبت به نمونه بدون پوشش دارد که بیانگر پایداری شیمیایی نمونه در محیط فیزیولوژیکی بدن و بهبود خواص سطحی آن می باشد. پوشش TiO_2 ، دانسیته جریان خوردگی را کاهش می دهد.

۴. نتایج آزمون برون تنی نشان داد که سلول ها بر روی سطح نمونه پوشش داده شده بعد از ۸ روز بطور عالی پهن شده اند. بنابراین، بهبود زیست سازگاری، چسبندگی، رشد و تکثیر سلول های استخوانی بر روی سطح نمونه پوشش داده شده نشان داد که پوشش TiO_2 می تواند گزینه مناسبی برای کاربرد کاشتنی های

۵- مراجع

- [1] B. Heublein, R. Rohde, V. Kaese, M. Niemeyer, W. Hartung, A. Haverich, Biocorrosion of magnesium alloys: A new principle in cardiovascular implant technology. *Heart*. 89(2003), 651–656.
- [2] F. Witte, V. Kaese, H. Switzer, A. L. Meyer., C. J. Wirth, H. Windhag, In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response. *Biomaterials*. 26(2005), 3557–3563.
- [3] F. Witte, J. Fischer, J. Nellesen, H. Crostack, V. Kaese, A. Pischd, F. Beckmanne, Windhagen, In vitro and in vivo corrosion measurements of magnesium alloys. *Biomaterials*. 27(2006), 1013–1020.
- [4] J. C. Gao, S. Wu, L. Y. Qiao, Y. Wang, Corrosion behavior of magnesium and its alloy in simulated body fluid. *The Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*. 11(2007), 3584–3586.
- [5] L. Xu, G. Yu, E. Zhang, F. Pan, K. Yang, In vivo corrosion behavior of Mg–Mn–Zn alloy for bone implant application, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 83(2007), 703–711.
- [6] G. L. Song, Control of biodegradation of biocompatible magnesium alloys. *Corrosion Science*. 49(2007), 1696–1701.
- [7] J. C. Gao, S. Wu, L. Y. Qiao, Y. Wang, Corrosion behavior of Mg and Mg-Zn alloys in simulated body fluid. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*. 18(2008), 588–592.
- [8] A. Pietak, P. Mahoney, G. J. Dias, M. P. Staiger, Bone-like matrix formation on magnesium and magnesium alloys. *Journal of Materials Science Materials in Medicine*. 19(2008), 407–415.
- [9] Z. Li, X. Gu, S. Lou, Y. Zheng, The development of binary Mg-Ca alloys for use as biodegradable materials within bone. *Biomaterials*. 29(2008), 1329–1344.
- [10] J. Vormann, Magnesium: Nutrition and metabolism. *Molecular Aspects of Medicine*, 24(2003), 27–37.
- [11] K. Yeong, K. Lee, B. Kim, Effect of Mg ion on formation of bone-like apatite on the plasma modified titanium surface. *Surface and Coatings Technology*. 228(2013), 404–407.
- [12] M. E. Maguire, J. A. Cowan, Magnesium chemistry and biochemistry. *Biometals*, 15(2002), 203–210.
- [13] T. Okuma, Magnesium and bone strength. *Nutrition*, 17(2001), 679–680.
- [14] R. K. Rude, H. E. Gruber, Magnesium deficiency and osteoporosis animal and human observations. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 15(2004), 710–716.
- [15] Y. Shi, M. Qi, Y. Chen, P. Shi, MAO-DCPD composite coating on Mg alloy for degradable implant applications. *Materials Letters*, 65(2011), 2201–2204.
- [16] M. P. Staiger, A. M. Pietak, J. Huadmai, G. Dias, Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review. *Biomaterials*. 27(2006), 1728–1734.
- [17] F. Wu, J. Wei, H. Guo, F. P. Chen, H. Hong, C. Liu, Self-setting bioactive calcium-magnesium phosphate cement with high strength and degradability for bone regeneration. *Acta Biomaterialia*, 4(2008), 1873–1884.
- [18] W. Xu, W. Y. Hu, M. H. Li, Q. Q. Ma, Sol-gel derived Ha/TiO_2 Double coating on titanium scaffolds for orthopaedics applications. *Journal of Trans. Nonferrous. Met. Soc China*. 16(2006), 209–219.
- [19] Q. Zhao, X. Guo, X. Dang, J. Hao, J. Lai, K. Wang, Preparation and properties of composite MAO/ECD coatings on magnesium alloy. *Colloids and Surfaces B. Biointerfaces*. 102 (2013) 321–326.
- [20] H. Wang, R. Akid, M. Gobara, Scratch-resistant anticorrosion sol-gel coating for the protection of AZ31magnesium alloy via a low temperature sol-gel route. *Corrosion. Sci*. 52 (2010) 2565–2570.
- [21] H. Hoche, C. Blawert, E. Broszeit, C. Berger, Galvanic corrosion properties of differently PVD-treated magnesium die cast alloy AZ91. *Surface Coatings Tech*. 193(2005) 223–229.
- [22] Ch. Christoglou, N. Voudouris, G.N. Angelopoulos, M. Pant, W. Dahl, Deposition of aluminium on magnesium by a CVD process. *Surface Coatings Tech*. 184(2004) 149–155.
- [23] Q. Wang, K. Spencer, N. Biribilis, M.-X Zhang, The influence of ceramic particles on bond strength of cold spray composite coatings on AZ91 alloy substrate. *Surface. Coatings Tech*. 205(2010) 50–56.
- [24] L. Zhu, W. Li, D. Shan, Effects of low temperature thermal treatment on zinc and/or tin plated coatings of AZ91D magnesium alloy. *Surface Coatings Tech*. 201(2006) 2768–2775.
- [25] P. J. Kelly & R. D. Arnell, Magnetron sputtering: a review of recent developments and applications. *Vacuum*. 56(2000), 159–172.
- [26] C. Padmaprabu, P. Kuppusami, A.L.E. Terrance, E. Mohandas, V.S.Ragunathan, S. Banerjee, M.K. Sanyal, Microstructural characterisation of TiAl thin films grown by DC magnetron co-sputtering technique. *Mater Lett*. 43(2000) 106–113.
- [27] پ. مهدیزاده، ح. رضایی، س. م. حسینعلی پور، ج. جوادپور، پوشش دهی دی اکسید تیتانیوم بر روی فولاد L 316 به روش غوطه وری سل - ژل با هدف کاربرد در مهندسی پزشکی، نهمین سمینار ملی مهندسی سطح و عملیات حرارتی، تهران، انجمن علوم و تکنولوژی سطح ایران، دانشگاه علم و صنعت ایران، ۱۳۸۷.
- [28] M. Eliza, L. Benea, J. P. Celis, Novel Nano- TiO_2 layer preparation on Ti-6Al-4V support alloy and their characterization. *Nanomaterials. Biostructures*. 7(2012) 933-939.
- [29] E. E. Sukuroglu, S. Sukuroglu, K. Akar, Y. Totik, I. Efeoglu, E. Arslan, The effect of TiO_2 coating on biological NiTi alloys after micro-arc oxidation treatment for corrosion resistance. *Proc. Inst. Mech. Eng. H*. 231(2017) 699-704.
- [30] Standard Guide for Preparation of Metal Surfaces for Adhesive Bonding, ASTM International, West Conshohocken, PA, D2651-01, 2001,
- [31] R. I. Freshney, R. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique. John Wiley & Sons, Inc, 2005.
- [32] Y. Suzuki, Y. Shinoda, Magnesium dititanate ($MgTi_2O_5$) with pseudobrookite structure: a review. *Sci. Technol. Adv. Mater*. 12 (2011) 034301.
- [33] N. Ishiia, Y. Okamoto, Y. Suzuki, Semiconductor $MgTiO_3$,

MgTi₂O₅ and Mg₂TiO₄ double-oxide electrodes for dye-sensitized solar cells. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*. 46 (2015) 9-15.

[34] Y. Y. Lu, R. Kotoka, J. P. Ligda, B. B. Cao, S. N. Yarmolenko, B. E. Schuster, Q. Wei, The microstructure and mechanical behavior of Mg/Ti multilayers as a function of individual layer thickness. *Acta Materialia*. 63(2014), 216-231.

[35] C. Chen, Y. Cheng, Q. Dai, H. Song, Radio Frequency Magnetron Sputtering Deposition of TiO₂ Thin Films and Their Perovskite Solar Cell Applications. *scientific report*. 5(2015) 17684.

[۳۶] س. فیروزآبادی، ک. دهقانی، م. نادری، ف. محبوبی، بررسی چقرمگی شکست و حساسیت به نرخ کرنش لایه نازک نیتريد تانتالوم تولید شده به روش کندوپاش مغناطیسی واکنشی، فرآیندهای نوین در مهندسی مواد، ۳۱ (۸۹)، ۱۰۳-۱۱۳.

[۳۷] م. عیشاهی، ف. محبوبی، س. م. موسوی، بررسی رفتار خوردگی پوشش تانتالم لایه نشانی شده به روش کندوپاش مگنترون، فرآیندهای نوین در مهندسی مواد، ۱۲ (۹۷)، ۱۳۹-۱۵۱.

[۳۸] م. ک. خوبی، ر. سلطانی، م. ح. سهی، محمود، تاثیر فرآیند لیزر بر رفتار خوردگی آلیاژ منیزیم AZ31 پاشش حرارتی شده با پودر WC-Co-Cr، علوم و مهندسی سطح، ۲۹ (۱۳۹۵)، ۴۵-۵۴.

[39] A. BOBY, U. T. S. Pillai, and B. C. PAI, Investigation on Lead and Yttrium Addition on the Microstructure and Mechanical Properties of AZ91 Magnesium Alloy. *Sci. Tech. India*. 7(2013) 273-280.