



POLITECNICO
MILANO 1863

SCUOLA DI INGEGNERIA INDUSTRIALE
E DELL'INFORMAZIONE

Rivestimenti sol-gel di $Mg(OH)_2$ su lega di magnesio AZ31: sintesi, caratterizzazione e studio della cinetica di degradazione.

TESI DI LAUREA MAGISTRALE IN
INGEGNERIA BIOMEDICA

Tesista: **Arianna Camarda**

Matricola: 946269

Relatore: Prof. Roberto Chiesa

Co-relatore: Dott.ssa Agnese D'Agostino

Anno accademico: 2020-2021

Abstract

Metallic materials, such as steel, titanium and its alloys, as well as cobalt chromium molybdenum alloys, are used in many sectors of the biomedical field. Nevertheless, they do not degrade within the organism over time, so implying the need to carry out a further invasive intervention when they need to be removed, with the possibility of infections. For this reason, additional materials with the ability of degrading over time have been sought and in recent years magnesium has proved to be among the best candidates - thanks to its multiple characteristics. However, by corroding too quickly, it generates a significant accumulation of gaseous hydrogen around the system in a very short time, causing an increase in pH and possible tissue necrosis.

The purpose of this thesis project is to create a sol-gel coating of $Mg(OH)_2$ on a magnesium alloy AZ31, that slows down its degradation within the human body. The sol-gel solution chosen for the coating is composed of two solutions: one containing $Mg(OH)_2$ sol and the other containing silane (GLYMO) with a proportion of 1: 2. Two types of coatings were obtained by dipping the samples one or three times in the $Mg(OH)_2$ / GLYMO solution.

To observe the corrosion rate of the treated and untreated samples, an in vitro degradation test was performed in SBF, and samples were evaluated after 7, 14 and 21 days by measuring their mass variation. Optical microscope and SEM observations were carried out in order to study the morphology of the specimens. The study of the crystalline phases of the surface coating was performed by XRD investigations. In addition, elementary analysis were carried out by EDS spectroscopy.

The results obtained show an increase of the degradation times: the treated samples showed good corrosion resistance after 21 days in SBF, with a low degree of corrosion concentrated especially on the edges. The two types of coatings ultimately demonstrated very similar corrosion resistance properties. This circumstance may be due to the high speed of extraction of the sample from the solution, which may have led the coating to thin and drag the excess to the bottom of the sample due to the effect of gravity. Under these conditions the two types of coatings tend to closely resemble each other, and the properties delivered to the sample tend to be similar as well. For these reasons, in the future, attention could be paid to the optimization of the immersion parameters of the sample in solution, particularly to the immersion/extraction speed and the viscosity of the solution itself.

Key-words: $Mg(OH)_2$, AZ31 alloy, sol-gel, degradation slowdown, SBF.

Sommario

I materiali metallici, come l'acciaio, il titanio e le sue leghe e le leghe di cromo, sono usati in molteplici settori del campo biomedico, ma non degradando col tempo all'interno dell'organismo, comportano la necessità di un ulteriore intervento invasivo nel momento in cui debbano essere rimossi, con la possibilità di infezioni.

Per tale motivo, si sono cercati ulteriori materiali con la capacità di degradarsi nel tempo e negli ultimi anni il magnesio si è rivelato tra i migliori candidati grazie alle sue molteplici caratteristiche. Esso, però, corrodendo troppo velocemente genera un notevole accumulo di idrogeno gassoso intorno all'impianto in tempi molto brevi, causando un aumento del pH e possibile necrosi dei tessuti.

Scopo del presente progetto di tesi è realizzare un rivestimento sol-gel di $Mg(OH)_2$ su lega di magnesio AZ31 che ne rallenti la degradazione all'interno dell'organismo umano. La soluzione sol-gel scelta per il coating risulta essere composta da due soluzioni: una contenente sol di $Mg(OH)_2$ e l'altra silano (GLYMO) con una proporzione di 1 : 2. Sono stati ottenuti due tipi di rivestimenti immergendo i campioni una o tre volte nella soluzione di $Mg(OH)_2$ /GLYMO. Per osservare la velocità di corrosione dei campioni trattati e non, è stato eseguito un test di degradazione in vitro in SBF, per poi valutarli dopo 7, 14 e 21 giorni attraverso la misurazione della loro variazione di massa. Sono state effettuate osservazioni al microscopio ottico e al SEM per studiare la morfologia dei campioni. Lo studio delle fasi cristalline del rivestimento superficiale è stato effettuato mediante indagini XRD. Inoltre, l'analisi elementare è stata effettuata mediante spettroscopia EDS. I risultati ottenuti mostrano un allungamento dei tempi di degradazione: i campioni trattati hanno manifestato una buona resistenza alla corrosione dopo 21 giorni in SBF, con un contenuto grado di corrosione concentrato specialmente sugli spigoli. I due tipi di rivestimento hanno in definitiva dimostrato proprietà di resistenza alla corrosione molto simili. Questa circostanza può essere dovuta alla elevata velocità di estrazione del campione dalla soluzione, che può aver portato il coating ad assottigliarsi e a trascinare l'eccesso in fondo al campione per effetto di gravità. In tali condizioni i due tipi di coating tendono ad assomigliarsi molto, così come le proprietà conferite al campione. Per tali motivi, in futuro si potrebbe porre l'attenzione sull'ottimizzazione dei parametri di immersione del campione in soluzione, con particolare attenzione alla velocità di immersione/estrazione e alla viscosità della soluzione stessa.

Parole chiave: $Mg(OH)_2$, lega AZ31, sol-gel, rallentamento della degradazione, SBF.

Indice

Abstract	i
Sommario	ii
1 Introduzione.....	1
1.1. Materiali metallici in campo biomedicale	1
1.2. Il magnesio e la sua storia come biomateriale	3
1.3. Leghe di magnesio	4
1.4. Tecniche di rivestimento	5
1.4.1. Micro- Arc Oxidation	6
1.4.2. Trattamento idrotermico	9
1.4.3. Metodo sol-gel.....	11
2 Finalità e obiettivi.....	24
3 Materiali e metodi	26
3.1 Materiali Utilizzati	26
3.2 Preparazione dei campioni	26
3.3 Preparazione delle soluzioni sol-gel	27
3.3.1 Dip-Coater: apparato sperimentale.....	28
3.3.2 Calibrazione.....	29
3.3.3 Primi rivestimenti su vetrini	29
3.3.4 Immersione dei campioni di lega di magnesio AZ31.....	31
3.3.5 Trattamento termico.....	32
3.4 I campioni di lega di magnesio AZ31	33
3.5 Prove di degradazione	33
3.6 Metodi di caratterizzazione	36
3.6.1 TEM	36
3.6.2 Misure di bagnabilità del coating tramite angoli di contatto.....	37
3.6.3 XRD.....	38
3.6.4 SEM.....	39

3.6.5	EDS.....	39
3.6.6	Analisi della variazione di massa.....	40
4	Risultati.....	41
4.1	Scelta della soluzione sol-gel.....	41
4.1.1	TEM	41
4.1.2	XRD.....	42
4.2	Coating su vetro	45
4.2.1	Metodi di ottimizzazione per l'adesione del coating al substrato.....	46
4.2.2	Ottimizzazione dei parametri.....	47
4.2.3	XRD delle polveri	48
4.2.4	Stabilità dei coating	57
4.2.5	XRD dei vetrini	58
4.2.6	Bagnabilità del coating.....	62
4.3	XRD campioni in lega di magnesio AZ31	66
4.4	Prove di degradazione in SBF	70
4.5	Analisi morfologica elementare tramite SEM-EDS.....	78
4.5.1	SEM.....	78
4.5.2	EDS.....	81
5	Conclusioni e sviluppi futuri.....	85
	Bibliografia.....	89

Indice delle figure

Figure 1: schema generale di un apparato sperimentale MAO.	7
Figure 2: curva tensione-tempo durante il processo MAO [9].....	8
Figure 3: andamento dello spessore del coating in funzione del tempo di trattamento a 160°C in acqua [13]	11
Figure 4: schematizzazione degli steps del trattamento di Dip-Coating [11].....	15
Figure 5: forze che agiscono durante il Dip-Coating [10]	16
Figure 6: regime di capillarità e regime di trascinamento [5]	17
Figure 7: grafico logaritmico spessore film sol-gel/velocità di estrazione e rappresentazione dei regimi di capillarità, trascinamento e intermedio [5].....	18
Figure 8: spessore del film di PLA in funzione della velocità di estrazione. Il grafico riassume i risultati di Fang et al. [12].....	19
Figure 9: micrografie SEM dei campioni (a) 1 e (b) 2 dopo trattamento termico [8]	21
Figure 10: micrografie TEM del campione 4 con morfologia a bastoncino [14]	22
Figure 11: immagini TEM delle nanoparticelle di ossido di magnesio [7].....	23
Figure 12: strisce in lega di magnesio AZ31 di dimensioni (10x0.5)cm.....	26
Figure 13: campione di lega di magnesio AZ31 prima e dopo processo di Decapaggio	27
Figure 14 : apparato sperimentale per il Dip-Coating.....	28
Figure 15 : curve di calibrazione del Dip-Coater	29
Figure 16: set-up per l'immersione dei campioni in soluzione tramite Dip-Coater.....	32
Figure 17: sistema di mantenimento dei campioni nel forno a 160°C	32
Figure 18: set-up per la preapazione di SBF. La sonda a destra monitora la temperatura, mentre quella a sinistra per la misura del pH.	34
Figure 19: falcon contenenti i campioni inseriti nello Shaker Incubator per il test di degradazione	35
Figure 20: immersione dei provini in triossido di cromo CrO ₃	36
Figure 21: superficie idrofilica (L) [6].....	38
Figure 22: analisi TEM delle nanoparticelle di Mg(OH) ₂ ottenute dalla soluzione contenente Mg(NO ₃) ₂ (immagini a-b), MgCl ₂ e NaOH (immagini c-d), MgCl ₂ e NH ₄ OH (immagini e-f).....	42
Figure 23: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 400°C della soluzione a base di Mg(NO ₃) ₂ e NaOH.....	43
Figure 24: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 400°C della soluzione a base di MgCl ₂ e NaOH	44

Figure 25: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 400°C della soluzione a base di MgCl ₂ e NH ₄ OH.....	45
Figure 27: vetrini immersi nella soluzione a base di MgCl ₂ e NH ₄ OH prima e dopo il trattamento con acqua distillata.....	46
Figure 26: vetrini immersi nella soluzione a base di Mg(NO ₃) ₂ e NaOH prima e dopo il trattamento con acqua distillata.....	46
Figure 28: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C della soluzione NI_I.....	49
Figure 29: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C delle soluzioni NI_S e NI_SI.....	50
Figure 30: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C della soluzione CI_I.....	51
Figure 31: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C della soluzione CI_S.....	52
Figure 32: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C della soluzione CI_SI.....	53
Figure 33: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C della soluzione CA_I.....	54
Figure 34: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C della soluzione CA_S.....	55
Figure 35: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C della soluzione CA_SI.....	56
Figure 36: rivestimenti ottenuti tramite un'immersione nella soluzione CA_S prima e dopo 42 giorni all'interno della stufa a 37°C.....	57
Figure 38: rivestimenti ottenuti tramite un'immersione nella soluzione NI_SI prima e dopo 25 giorni all'interno della stufa a 37°C.....	58
Figure 40: rivestimenti ottenuti tramite tre immersioni nella soluzione NI_SI prima e dopo 25 giorni all'interno della stufa a 37°C.....	58
Figure 39: rivestimenti ottenuti tramite tre immersioni nella soluzione NI_S prima e dopo 25 giorni all'interno della stufa a 37°C.....	58
Figure 37: rivestimenti ottenuti tramite tre immersioni nella soluzione NI_I prima e dopo 25 giorni all'interno della stufa a 37°C.....	58
Figure 41: immagini XRD dei vetrini immersi in CA_I.....	59
Figure 42: immagini XRD dei vetrini immersi in CA_S.....	60
Figure 43: immagini XRD dei vetrini immersi in CA_SI.....	61
Figure 44: grafico rappresentante l'andamento dei coating CA_S, CA_I e CA_SI.	62

Figure 45: grafico statistico ottenuto tramite calcoli di media e deviazione standard per i vari coating basati su $Mg(NO_3)_2$ e NaOH e il controllo	63
Figure 46: analisi della varianza (one-way ANOVA test) per il confronto tra i vari coating basati su $Mg(NO_3)_2$ e NaOH e il controllo	63
Figure 47: grafico statistico ottenuto tramite calcoli di media e deviazione standard per i vari coating basati su $MgCl_2$ e NaOH e il controllo.....	64
Figure 48: analisi della varianza (one-way ANOVA test) per il confronto tra i vari coating basati su $MgCl_2$ e NaOH e il controllo.....	64
Figure 49: grafico statistico ottenuto tramite calcoli di media e deviazione standard per i vari coating basati su $MgCl_2$ e NH_4OH e il controllo	65
Figure 50: analisi della varianza (one-way ANOVA test) per il confronto tra i vari coating basati su $MgCl_2$ e NH_4OH e il controllo	65
Figure 51: immagine XRD del campione in lega di magnesio AZ31 non trattato ..	67
Figure 52: immagini XRD dei campioni CA_S rivestiti tramite 1 immersione.....	68
Figure 53: immagini XRD dei campioni CA_S rivestiti tramite 3 immersioni	69
Figure 54: immagini al microscopio ottico dopo 7 giorni di degradazione in SBF per le tre tipologie di campioni utilizzate	71
Figure 55: immagini al microscopio ottico dopo 14 giorni di degradazione in SBF per le tre tipologie di campioni utilizzate	73
Figure 56: immagini al microscopio ottico dopo 21 giorni di degradazione in SBF per le tre tipologie di campioni utilizzate	75
Figure 57: grafico della variazione di massa dei tre campioni durante i 21 giorni di immersione in SBF	77
Figure 58: immagini SEM del campione controllo (a) e dei campioni rivestiti tramite 1 (b) e 3 (c) immersioni nella soluzione CA_S.....	79
Figure 59: immagini SEM dei campioni A3 (a) e B4 (b) estratti dopo 7 giorni dall' SBF	80
Figure 60: immagini SEM dei campioni A8 (c) e B9 (d) estratti dopo 14 giorni dall' SBF	80
Figure 61: immagini SEM dei campioni A5 (a) e B3 (b) estratti dopo 21 giorni dall' SBF	80
Figure 62: immagine EDS di un campione controllo non sottoposto a prova di degradazione	81
Figure 63: immagini EDS dei campioni rivestiti con 1 e 3 strati non sottoposti a prova di degradazione	82
Figure 64: immagini EDS dei campioni rivestiti con 1(A3) e 3 (B4) strati dopo 7 giorni in SBF	82

Figure 65: immagini EDS dei campioni rivestiti con 1(A8) e 3 (B9) strati dopo 14 giorni in SBF	82
Figure 66: immagini EDS dei campioni rivestiti con 1(A5) e 3 (B3) strati dopo 21 giorni in SBF	83
Figure 67: immagini EDS dei campioni B4 e B9 e i loro componenti.....	84

Indice delle tabelle

Table 1: esperimenti eseguiti da C.Henrist et al. per la precipitazione di nanoparticelle di idrossido di magnesio [15]	20
Table 2: esperimenti eseguiti da Jianping Lv et al. per la precipitazione di nanoparticelle di idrossido di magnesio [14]	21
Table 3: riassunto delle varie tipologie di soluzioni ottenute per effettuare i coating.	31
Table 4: campioni utilizzati per la prova di degradazione in SBF.....	33
Table 5: ordine e quantità dei reagenti utilizzati per la preparazione di 1000ml di SBF	33
Table 6: tempo di permanenza dei campioni nell'SBF	40
Table 7: variazione di massa media dopo 7 giorni di degradazione in SBF per i campioni C1, C6, C8, A2, A3, A9, B4, B5 e B6.....	72
Table 8: variazione di massa media dopo 14 giorni di degradazione in SBF per i campioni C2, C5, C3, A8, A4, A1, B2, B9 e B7.....	74
Table 9: variazione di massa media dopo 21 giorni di degradazione in SBF per i campioni C4, C9, C7, A5, A6, A7, B1, B3 e B8.....	76

1 Introduzione

1.1. Materiali metallici in campo biomedicale

I materiali metallici, come l'acciaio, il titanio e le sue leghe e le leghe di cromo, sono usati in molteplici settori del campo biomedico, ad esempio trovano impiego in campo cardiovascolare come supporto per valvole cardiache o in campo odontoiatrico come parti di protesi o fili ortodontici [1,2,3,4].

Nell'ultimo periodo il settore in cui trovano più vasta applicazione è quello ortopedico, in cui i materiali metallici vengono utilizzati per sostituire permanentemente sezioni di tessuto osseo o come mezzi di osteosintesi.

Un biomateriale metallico deve possedere dei requisiti fondamentali per poter assicurare un corretto comportamento all'interno dell'organismo:

- Biocompatibilità, ovvero la capacità di svolgere la propria funzione senza intralciare i normali processi fisiologici dell'organismo;
- Buone proprietà meccaniche, a seconda della funzione che deve svolgere;
- Limitato rilascio di detriti da usura;
- Appropriata resistenza alla corrosione.

Infatti, le condizioni fisiologiche all'interno del corpo umano possono rivelarsi aggressive per alcuni materiali e solo gli elementi nobili, come l'oro, non corrodono al suo interno, tuttavia questi manifestano basse proprietà meccaniche che li rendono non idonei per il loro utilizzo in impianti interni all'organismo [4].

L'acciaio, lega metallica costituita principalmente da ferro, cromo e carbonio, mostra buone proprietà meccaniche e bassa velocità di corrosione nel momento in cui è costituita da una percentuale di cromo maggiore del 12%, inoltre è facile da lavorare e quindi viene usato frequentemente per strumenti chirurgici e impianti temporanei. Tuttavia, presenta una facile corrosione in fessura, ovvero corrosione localizzata che si può presentare nelle fessure [4].

Le leghe di cobalto sono molto dure e resistenti, presentano una moderata biocompatibilità e sono molto resistenti alla corrosione. Questo le rende delle ottime candidate per gli steli delle protesi d'anca e teste femorali. Purtroppo, però, sono difficili da lavorare e il loro costo è abbastanza elevato [4].

Il titanio possiede vari aspetti positivi quali la tenacia, alta biocompatibilità, capacità di passivarsi e alta biocompatibilità. Il suo limite risiede nella difficoltà di lavorazione per getto. Le leghe di titanio invece, risultano essere meno biocompatibili del titanio, ma possiedono migliori proprietà meccaniche, che le rendono talvolta preferibili al titanio puro. Le leghe più diffuse sono:

- Alfa: lega duttile, contenente azoto, ossigeno e alluminio;
- Beta: lega fragile e dura, costituita da niobio, cromo, vanadio e ferro.

Grazie alla loro rigidità non troppo elevata, le leghe di titanio vengono spesso utilizzate in campo ortopedico, ad esempio per protesi d'anca non cementate, per cui un'elevata rigidità fa sì che il peso venga concentrato tutto sulla protesi, portando al riassorbimento del materiale [4].

I materiali metallici vengono preferiti anche a quelli ceramici in campo ortopedico in quanto, i ceramici, nonostante non siano tossici e presentino una buona compatibilità e osteo-conduttività, manifestano basse proprietà meccaniche e un alto grado di corrosione in ambiente fisiologico così che questi materiali non possano essere usati come impianti ossei [4]. Anche i materiali polimerici non sono all'altezza di quelli metallici in quanto, nonostante vengano spesso utilizzati in ambito ortopedico in quanto duttili e lavorabili, anch'essi possiedono povere proprietà meccaniche e inoltre alcuni additivi utilizzati nella sintesi dei polimeri possono essere tossici e danneggiare il tessuto circostante. I materiali metallici invece, possiedono elevata resistenza meccanica e alla frattura e sono specialmente utilizzati per impianti che devono stare nel corpo per un lungo periodo di tempo.

Come descritto precedentemente, i più utilizzati attualmente sono gli acciai inossidabili, il titanio e le leghe a base di cobalto-cromo.

Questi biomateriali però, quando corrodono tendono a rilasciare ioni metallici tossici, causando infiammazioni, necrosi cellulare e altre reazioni tissutali pericolose per l'organismo, con conseguente riduzione della biocompatibilità e perdita di tessuto [3,4,16,17,18].

Inoltre, è importante che il materiale dell'impianto abbia proprietà meccaniche simili a quelle dell'osso, ma i moduli elastici di questi materiali metallici sono notevolmente superiori a quello dell'osso e danno luogo a fenomeni di *stress-shielding*, ovvero una riduzione di densità ossea e conseguente indebolimento dell'osso [19,3]. Essi non degradano naturalmente, quindi in caso di loro utilizzo per *stent*, viti o placche, sarà necessario un secondo intervento invasivo per rimuoverli e questo comporta numerosi rischi e ulteriori costi [3,20].

Per ovviare a queste problematiche, vi è la necessità di utilizzare materiali biodegradabili, capaci di offrire sin da subito buona resistenza, che diminuisca nel tempo fino alla completa dissoluzione del biomateriale. Il magnesio rappresenta un esempio perfetto di materiale biodegradabile in ambiente fisiologico e biocompatibile [1,21,22,23,24] che si distingue per avere il modulo di Young molto simile a quello dell'osso corticale [25,26]. Inoltre, il magnesio è essenziale per il metabolismo umano e si trova naturalmente nel tessuto osseo [3].

1.2. Il magnesio e la sua storia come biomateriale

Il primo utilizzo di magnesio come biomateriale metallico risale al 1878, quando Edward C. Huse usò un filo di legatura in magnesio per bloccare un'emorragia.

Erwin Payr successivamente, utilizzò il magnesio in vari campi medicali e per molteplici utilizzi come chiodi per la fissazione di fratture, impianti per il trattamento degli emangiomi, tubicini per l'anastomosi, placche per l'artroplastica articolare, placche per la sutura di organi ecc.. [27].

Le sue applicazioni non ebbero molto successo in campo ortopedico, a causa della rapida corrosione del magnesio e della notevole quantità di idrogeno prodotta nell'organismo e il conseguente danneggiamento dei tessuti circostanti. Al contrario, furono di rilievo gli impianti per cui era prevista resistenza meccanica solo per brevi periodi e l'idrogeno, così, non ha causato gravi danni ai tessuti circostanti.

Tuttavia, proprio a causa del fatto che il magnesio puro può corrodersi troppo rapidamente a pH fisiologico, riducendo le proprie proprietà meccaniche prima che il tessuto sia completamente guarito e portando ad una eccessiva produzione di idrogeno, il magnesio è stato abbandonato come materiale in ambito biomedicale fino al ventesimo secolo [27].

Albin Lambotte viene ricordato per le sue applicazioni di Mg in ambito muscoloscheletrico. Nel 1907 cercò di riparare le fratture di una tibia e di un perone attraverso una placca di Mg con viti di acciaio, ma l'esperimento fallì, poiché due diversi materiali metallici non potevano essere usati insieme. Successivamente ha proseguito i suoi studi sull'applicazione del magnesio in campo medico prima sugli animali, giungendo a conclusione che i suoi impianti iniziavano a corrodersi dopo 3 mesi per deteriorarsi completamente dopo 7-10 mesi sugli uomini. Usò chiodi e borchie di magnesio per fissare fratture dell'omero sopracondilari in bambini,

ottenendo come risultato il completo riassorbimento delle apparecchiature e la totale guarigione dell'osso dopo un anno dall'intervento [27,3].

Alla fine degli anni '30 Earl McBride studiò il comportamento del magnesio puro e di una lega di magnesio contenente alluminio in ambito ortopedico, giungendo a conclusione che le leghe erano preferibili al magnesio puro e sconsigliò l'utilizzo di impianti a base di magnesio puro in zone ad alto carico meccanico e che comunque questi potevano essere utilizzati solo nel momento in cui il loro uso porta a un numero maggiore di vantaggi che di svantaggi [27].

Intorno agli anni '40 Troitskij e Tsitrin utilizzarono leghe Mg-Cadmio, ottenendo un rallentamento dei tempi di degradazione e infiammazioni meno gravi [3,2,19,28]. Znamenski, invece si servì di una lega di Mg-Al, ottenendo sempre buoni risultati. Nonostante ciò, l'uso del magnesio come materiale metallico per impianti permanenti in ambito ortopedico fu abbandonato fino agli anni '90 a causa della sua rapida velocità di corrosione, il conseguente sviluppo di una notevole quantità di idrogeno gassoso e perdita di proprietà meccaniche [3,27].

Recentemente l'esigenza di materiali meccanici degradabili nel tempo ha fatto sì che il magnesio e le sue leghe fossero nuovamente studiati per la loro applicazione in campo biomedicale, ad esempio per *stent* vascolari e impianti ossei [3,26,29,30].

1.3. Leghe di magnesio

Per rallentare la velocità di corrosione del magnesio e quindi evitare tutte le problematiche derivanti dall'elevata rapidità di corrosione, sono state proposte due soluzioni [24]:

- Creare delle leghe o sviluppare tecniche di produzione e/o lavorazione del metallo.
- Creare dei rivestimenti protettivi.

Queste soluzioni possono anche essere applicate insieme per aumentare la protezione del metallo.

Già dagli anni '30 si era visto che il magnesio in lega con altri elementi è preferibile al magnesio puro, in quanto rallenta il processo di dissoluzione. Inoltre, le leghe contribuiscono a migliorare la duttilità e forza dell'impianto.

C'è da tenere conto, però, che durante la degradazione di una lega di magnesio vengono rilasciati non solo ioni di Mg (Mg^{2+}), ma anche ioni degli elementi

costituenti la lega. È molto importante, quindi, che la lega sia costituita preferibilmente da elementi non tossici e dannosi per l'organismo o che comunque questi siano presenti nelle giuste quantità [26].

Ad esempio, l'alluminio è neurotossico; gli ioni di alluminio rilasciati dall'impianto si combinano con gli ioni fosfato, riducendone il numero all'interno dell'organismo. La presenza di tali ioni in quantità eccessive può portare all'insorgenza di malattie neurodegenerative come l'Alzheimer o la demenza senile [31,32]. Inoltre, l'alluminio potrebbe danneggiare le fibre muscolari e comportare una diminuzione dell'attività degli osteoclasti [28].

Gli elementi di terre rare, invece, possono essere epatotossici.

Nonostante questi possibili effetti tossicologici e nocivi, le leghe a base di alluminio continuano a essere utilizzate per loro miglior resistenza alla corrosione. Una delle leghe maggiormente utilizzate è la AZ, in particolare la AZ31, formata da 96 wt.% Magnesio, 3 wt.% Alluminio ed 1wt.% Zinco. Queste quantità fanno sì che il rilascio di zinco e alluminio non comporti danni al sistema neuronale [24].

1.4. Tecniche di rivestimento

Le tecniche di rivestimento sono metodi effettuati con lo scopo di realizzare *coating* superficiali, che possano ricoprire il metallo per poterne rallentare la degradazione.

Nel caso del magnesio le tecniche di rivestimento hanno prodotto risultati migliori rispetto all'utilizzo di leghe, ma per una protezione più efficace è possibile utilizzare le leghe e le tecniche di rivestimento superficiale insieme.

Esistono due classi di tecniche di rivestimento superficiale:

- Rivestimenti di conversione;
- Rivestimenti di deposizione.

I rivestimenti di conversione avvengono solitamente tramite processi chimici o elettrochimici che generano uno strato di ossido che cresce sia verso l'interno che verso l'esterno della superficie metallica del materiale [24,33]. Il *layer* di ossido si viene a creare tramite reazioni tra il substrato del metallo e l'ambiente circostante, è inorganico e presenta proprietà simili a quelle dei materiali ceramici [24].

Alcuni esempi sono la Micro Arc Oxidation (MAO) ed il trattamento idrotermico.

I rivestimenti ottenuti per deposizione possono essere a base metallica, inorganica e organica.

In particolare, i rivestimenti organici sono molto utilizzati in campo biomedicale non solo poiché migliorano i tempi di degradazione, ma anche grazie alla loro protezione contro la corrosione e la loro capacità di poter essere funzionalizzati con biomolecole organiche e di permettere la somministrazione di farmaci [24].

Solitamente, prima di rivestire il substrato, questo viene trattato con tecniche di conversione, così da far aderire meglio il coating al substrato e ottenere un coating migliore.

Ci sono diverse tecniche di deposizione che possono essere utilizzate per rivestire un substrato, ad esempio Dip-, Spray-, Flow-, Spin e Roll-Coating [24].

1.4.1. Micro- Arc Oxidation

La tecnica Micro-Arc Oxidation (MAO), detta anche Plasma-Electrolytic-Oxidation (PEO) è una tecnica di passivazione, nonché una tecnica che mira alla modifica superficiale del substrato metallico mediante conversione. Essa viene specialmente utilizzata per il rivestimento di leghe di magnesio e alluminio per rallentarne la corrosione, ma anche in quanto i rivestimenti ottenuti mediante questa tecnica risultano essere molto duri, permettono un'eccellente adesione di ulteriori coating [34], possiedono un alto coefficiente d'attrito, stabilità termica e, soprattutto l'utilizzo di questa tecnica prevede un basso dispendio economico [35,36,37].

Il set-up consiste in un circuito elettrico costituito da:

- un generatore di corrente continua, all'interno del quale vengono settate la tensione e la corrente;
- il campione in esame, il quale è collegato al generatore ed è immerso all'interno di un bagno elettrolitico. Esso funge da anodo;
- un materiale inerte fatto in titanio o acciaio inossidabile, collegato anch'esso al generatore e corrispondente al catodo. Esso può coincidere con le pareti del bagno elettrolitico;
- soluzione elettrolitica a contatto con anodo e catodo ed è costituita da anioni inorganici, acidi organici e uno stabilizzatore. Il Sistema è tenuto a 37 °C e in agitazione magnetica [38,39].

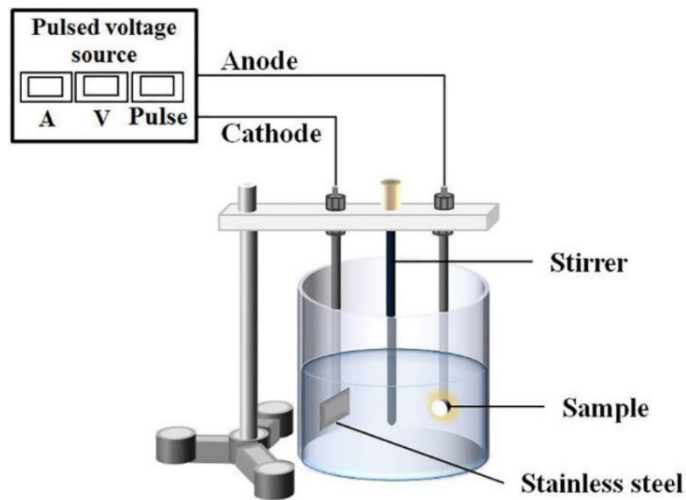


Figure 1: schema generale di un apparato sperimentale MAO [19].

Per quanto riguarda il magnesio e le sue leghe, la soluzione elettrolitica è generalmente alcalina, poiché l'anodo è molto reattivo in soluzioni a pH minore di 7. Gli elettroliti che compongono la soluzione sono nella maggior parte dei casi l'idrossido di sodio e l'idrossido di potassio, utilizzati in diverse concentrazioni e ai quali vengono aggiunti ulteriori elettroliti con lo scopo di cambiare la conduttività della soluzione. Vengono scelti tenendo conto del fatto che essi faranno parte del coating e quindi variano a seconda del campione in esame. Per migliorare l'omogeneità e lo spessore del coating, viene maggiormente usato il silicato di sodio; per ridurre la dimensione dei pori e di difetti superficiali del coating viene, invece, aggiunto alla soluzione elettrolitica il glicerolo, che porta alla formazione di coating più densi.

La tecnica MAO, a differenza della tecnica di anodizzazione, utilizza tensioni di processo molto più alte che generano scariche elettriche molto forti. Queste portano a temperature così elevate che fondono in parte lo strato di ossido in formazione, formando un coating ceramico aderente al substrato iniziale [38,39].

FORMAZIONE DEL COATING

La formazione del rivestimento attorno al substrato metallico avviene attraversando più fasi [38]:

- PRIMA FASE: presenta un rapido aumento quasi lineare della tensione per un determinato lasso di tempo, durante il quale si assiste alla dissoluzione del metallo e alla crescita dell'ossido superficiale con conseguente formazione del rivestimento. Man mano che il coating cresce, l'ossido inizia a comportarsi da isolante e così aumenta anche la resistenza al passaggio

della corrente. Ciò porta ad un aumento della tensione che, una volta raggiunto il valore di breakdown comporta la rottura dielettrica del coating.

- SECONDA FASE: vi è sempre un aumento lineare della tensione, ma meno rapido di quello della prima fase, fino al raggiungimento della tensione critica. La rottura dielettrica si verifica nei punti del coating a resistenza minore, dove avviene un rapido attraversamento di corrente che comporta la distruzione locale dell'ossido e la generazione di *discharge channel*, all'interno dei quali vi è un notevole aumento di temperatura e pressione e si assiste alla creazione di plasma dovuta alla gassificazione del metallo e degli elettroliti presenti nella soluzione. In questo modo una quantità di ossido viene fusa e, giunto in superficie, si solidifica grazie alle basse temperature della soluzione elettrolitica, producendo nuovamente resistenza al passaggio di corrente. Questo stesso processo avviene contemporaneamente e successivamente in altre zone del coating a minor resistenza, portando così, ad un aumento di spessore (non uniforme) del coating. È quindi in questa fase che è possibile osservare le scintille tipiche del processo di conversione e si ha la generazione del coating reale di ossido.
- TERZA FASE: si assiste ad una zona di *plateau* in cui il numero di scintille diminuisce ma la loro intensità aumenta.

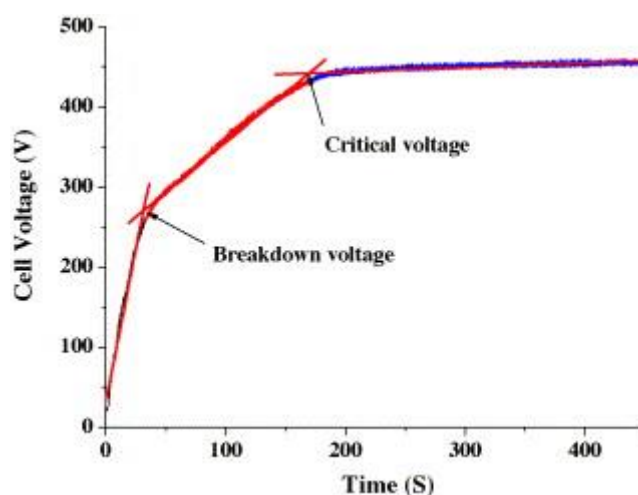


Figure 2: curva tensione-tempo durante il processo MAO [9]

1.4.2. Trattamento idrotermico

Il trattamento idrotermico, così come la tecnica MAO, è una tecnica di rivestimento superficiale per conversione e il suo obiettivo è quello di rallentare la velocità di corrosione del metallo in esame.

Nel caso del magnesio, tale tecnica è ancora in fase sperimentale e prevede la formazione di un coating di idrossido di magnesio $Mg(OH)_2$. Può essere utilizzata successivamente alla tecnica MAO, così da riempire eventuali pori formatasi durante il trattamento MAO [40,41].

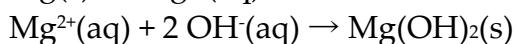
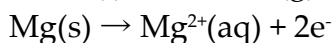
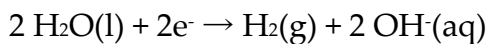
Il coating di idrossido di magnesio che si viene a formare ha numerosi vantaggi:

- alta purezza;
- biocompatibilità;
- non citotossicità;
- elevati spessori: tra i 2,2 ed i 27,2 μm [42];
- buona adesione al substrato;
- denso;
- procedimento eseguito a basse temperature di lavoro;
- può essere effettuato su geometrie tridimensionali complesse.

Il trattamento consiste nell'inserimento del metallo all'interno di un'autoclave o di un reattore, che è stato riempito con una soluzione in condizioni stagne e portato a temperatura costante nel range dei 120°C-160°C per un lasso di tempo (dalle 2 alle 24 ore) in modo da ottenere la modifica superficiale [39].

FORMAZIONE DEL COATING

Il primo rivestimento di idrossido di magnesio che si viene a costituire è dovuto alla formazione di piccole particelle cristalline di $Mg(OH)_2$ che si addensano le une alle altre all'interfaccia solido-liquido sulla superficie del substrato [42,13]. La loro formazione è il risultato di reazioni chimiche quali:



La pressione e la temperatura elevate all'interno del reattore fanno sì che il grado di ionizzazione dell'acqua e quello di ossidazione del magnesio aumentino nel tempo, portando a reazioni metallo-acqua molto veloci. Questo fa sì che il primo *layer*

formato contenga molti pori contenenti canali di accesso tra i vari cristalli di idrossido, attraversati da acqua che resta in contatto con il metallo, ottenendo nuovi cristalli, grazie alla costante produzione di idrogeno che aumenta la pressione all'interno del reattore. Quindi il numero dei cristalli di idrogeno formati cresce nel tempo, portando ad un coating sempre più denso e spesso [13].

PARAMETRI DI PROCESSO

I parametri principali sono:

1. soluzione in cui è immerso il campione;
2. temperatura di lavoro;
3. tempo di trattamento;
4. pressione di trattamento.

La soluzione in cui è immerso il metallo può non essere costituita solo da acqua (Millipore, distillata o ultra-pura), ma può comprendere anche altri componenti che in reazione con l'idrossido di magnesio, generano elementi che si vogliono all'interno del coating. In letteratura le soluzioni maggiormente utilizzate sono quelle a base di NaOH, KOH, Na₂CO₃ [40,43,13,44]. Soluzioni però comprendenti solo acqua fanno sì che il processo sia più semplice ed ecocompatibile [42].

Per quanto riguarda la temperatura invece, più essa aumenta, più spesso sarà il rivestimento e la sua velocità di generazione.

Yu-Kyoung Kim et al. nel 2017, svolgendo diversi trattamenti idrotermici su campioni di lega Mg-3Al-1Zn-1.5Ca a temperature comprese tra i 100°C e i 200°C hanno dichiarato che i valori di temperatura per ottenere una migliore resistenza alla corrosione da parte del campione in esame sono 150°C e 160°C [11].

Un altro parametro da prendere in considerazione è il tempo di trattamento, che solitamente varia da 1 a 24 ore. Esso è importante al fine di ottenere un buon rivestimento uniforme e di spessore ottimale. Infatti, all'aumentare del tempo si ha un aumento lineare dello spessore e dell'uniformità del coating e diminuzione della dimensione dei pori.

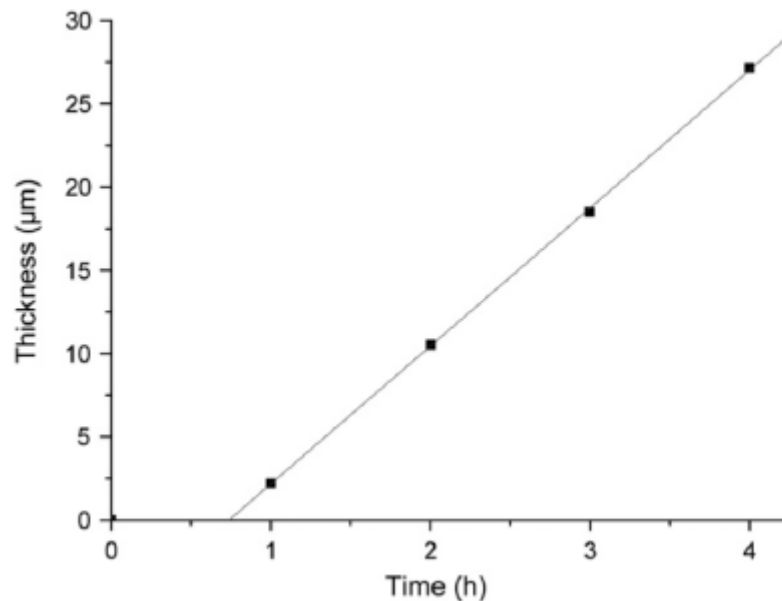


Figure 3: andamento dello spessore del coating in funzione del tempo di trattamento a 160°C in acqua [13]

La pressione del sistema può, invece, essere controllata attraverso l'uso di reattori a tenuta posti in forno o in autoclave. I reattori sono preferibili in quanto poco costosi, resistenti a pressioni di 3Mpa e alte temperature per tempi lunghi [38,39].

1.4.3. Metodo sol-gel

Il processo sol gel è una delle tecniche utilizzate per ottenere materiali ceramici, solitamente ossidi di metalli, a partire da soluzioni colloidali. Le fasi per ottenere tali materiali tramite questo metodo sono tre [45,5]:

1. Preparazione di soluzioni colloidali (sol) costituite da precisi precursori. Il sol è costituito da particelle disperse in una fase liquida ed è ottenuto a partire da precursori quali alcossidi di metalli, metalloidi o sali;
2. Trasformazione del sol e formazione del gel attraverso reazioni di idrolisi e condensazione. Si tratta di un sistema bifasico costituito da una fase liquida interconnessa a dei reticoli generatisi dalla polimerizzazione dei precursori;
3. Processi per eliminare la fase liquida, promuovere ulteriormente la polimerizzazione e ottenere il materiale desiderato, incrementandone le proprietà meccaniche, tramite trattamenti termici di essiccamento e solidificazione.

LE REAZIONI DI IDROLISI E CONDENSAZIONE

Una volta introdotti i precursori all'interno della soluzione, si formano gruppi attivi che danno il via al processo, attraverso reazioni di idrolisi con l'acqua.

Successivamente, tali precursori idrolizzati sono in grado di interagire con altri precursori che non hanno subito alcuna reazione di idrolisi (reazione di alcossilazione) o con altri idrolizzati (ossilazione). E' così che avvengono le reazioni di policondensazione, che portano alla generazione di un reticolo 3D.

Queste reazioni di idrolisi e condensazione avvengono, quindi, contemporaneamente e sono influenzate da fattori interni ed esterni [45]:

- tipologia e concentrazione dei precursori;
- rapporto tra precursore e acqua (nel caso di composti alcossidici);
- tipologia e concentrazione del solvente;
- pH;
- catalizzatore;
- forza ionica degli elettroliti in soluzione;
- temperatura;
- pressione.

APPLICAZIONI

La tecnica sol-gel trova impiego molteplici settori, per la realizzazione di diversi materiali quali polveri e fibre ceramiche, aerogel, membrane inorganiche e rivestimenti [45,5].

Un uso comune dei sol-gel è quello relativo alla formazione di film, che fungono da rivestimento di un substrato. Tuttavia, sono stati prodotti solamente rivestimenti non degradabili, come film di SiO_2 tramite immersione e deposizione elettroforetica (EPD) su leghe di magnesio AZ31. In uno studio di Shi et al. è stato utilizzato un rivestimento di TiO_2 , ottenuto mediante processi sol-gel, per rivestire magnesio puro. Tale processo di rivestimento è stato ripetuto molteplici volte per far sì che il film divenisse abbastanza spesso da occupare i pori nello strato di ossido di magnesio ottenuto precedentemente attraverso la tecnica MAO (Micro Arc Oxidation) e la fase di TiO_2 è rimasta amorfa. Zhong et al. hanno eseguito esperimenti di deposizione di film di Al_2O_3 tramite spin-coating, ma questa tecnica non è consigliata per impianti e scaffold di forma complessa e porosa [24].

In generale, tra i numerosi metodi per ottenere film ultrasottili che fungano da rivestimento di un substrato, le tecniche di deposizione più utilizzate con il metodo sol-gel sono [5]:

- Metodo a spruzzo (spray-coating);
- Per immersione (dip-coating);
- Per rotazione (spin-coating).

1.4.3.1. Spin Coating e Spray Coating

Il processo di Spin-Coating consiste nel rivestire il substrato facendolo ruotare attorno ad un asse perpendicolare al coating. Viene depositata una quantità della soluzione di interesse sul substrato, il quale viene fatto ruotare attraverso un rotore, così da spargere il fluido sul substrato tramite la forza centrifuga.

Questa tecnica differisce dal Dip Coating in quanto il film depositato intorno al substrato si assottiglia grazie alla forza centrifuga e tende ad essere uniforme in quanto vi è equilibrio tra questa e la forza di attrito viscoso [24].

In particolare, il processo può essere suddiviso in quattro fasi principali [24]:

- 1) Deposizione del sol sul substrato, attraverso una pipetta o anche tramite Spray Coating. Il substrato viene ancorato al rotore.
- 2) Il substrato viene messo in rapida rotazione, la cui velocità viene aumentata finché non raggiunge la velocità scelta. In questa fase viene espulsa la soluzione in eccesso dal substrato.
- 3) Rotazione del substrato a velocità costante. Il coating inizia ad assottigliarsi e ad essere più uniforme: le forze di attrito viscoso iniziano ad opporsi alla forza centrifuga.
- 4) Il substrato continua a ruotare a velocità costante e si assiste all'evaporazione del coating. Vi è equilibrio tra la forza centrifuga e le forze di attrito viscoso e il processo termina.

Le tecniche di Spray coating, invece, sono ampiamente utilizzate nell'industria per vernici organiche. La preparazione di nano-rivestimenti mediante spruzzatura offre numerosi vantaggi rispetto alla tecnica di Dip Coating, poiché la velocità di lavorazione finora realizzata di 1 m/min è già 10 volte più veloce, prevede meno spreco di sol di rivestimento, è possibile utilizzare sol di rivestimento con pot life piuttosto brevi e la fase di rivestimento è adatta per stabilire un processo in linea nei layout industriali [46].

1.4.3.2. Dip Coating

Il Dip-Coating è una delle tecniche di deposizione più diffuse, poiché è un processo a basso costo, facile da eseguire e offre un buon controllo dello spessore del rivestimento stesso [1,24,47,48]. Questa tecnica rientra tra i processi “ad umido” per la preparazione di rivestimenti. Essi sono preferibili ai processi a secco in quanto qualsiasi composto non volatile disciolto nella soluzione comporta una distribuzione omogenea dei film finali e un discreto controllo dello spessore [49].

Tuttavia, nonostante questa tecnica sia ampiamente utilizzata nei centri di ricerca e nelle industrie in più ambiti applicativi, vi sono dei problemi associati ad essa [49]:

- L’incapacità di bagnare il substrato omogeneamente, specialmente in relazione all’ utilizzo di solventi ad alta tensione superficiale come l’acqua.
- Nel caso di *layers* molto fini (<20 nm) o molto spessi (>1000 nm) preparati a partire da soluzioni molto viscosi o diluite, risulta difficile il controllo dello spessore.
- Considerando substrati porosi, durante l’immersione, alcuni precursori solubilizzati all’interno della soluzione possono infiltrarsi nei pori del substrato e modificarne le proprietà.
- Possibile formazione di cricche in caso di spessore troppo elevato del substrato.

Gli steps principali per la formazione di un film ultrasottile su substrato partendo da soluzioni sol-gel tramite questa tecnica sono i seguenti [39,5,50]:

- Immersione: il substrato viene immerso a velocità costante all’interno della soluzione da depositare;
- Permanenza: il substrato viene lasciato nella soluzione per un determinato lasso di tempo;
- Deposizione: il substrato viene tirato su a velocità costante, trascinando parte della soluzione, la quale si deposita su di esso. La velocità è controllata e determina lo spessore del film: maggiore è la velocità, più spesso sarà il coating;
- Drenaggio: il substrato non è più a contatto con la soluzione. La forza di gravità agisce sul film, facendo scivolare parte di esso verso il basso e riducendo, così, lo spessore del coating;

- Evaporazione: il solvente evapora dal substrato generando un film solido. Per i solventi volatili, questo processo inizia a partire dalla fase di deposizione.

Dopo la fase di deposizione, bisogna lasciar essiccare il substrato rivestito o eseguire un trattamento termico per stabilizzare il coating.

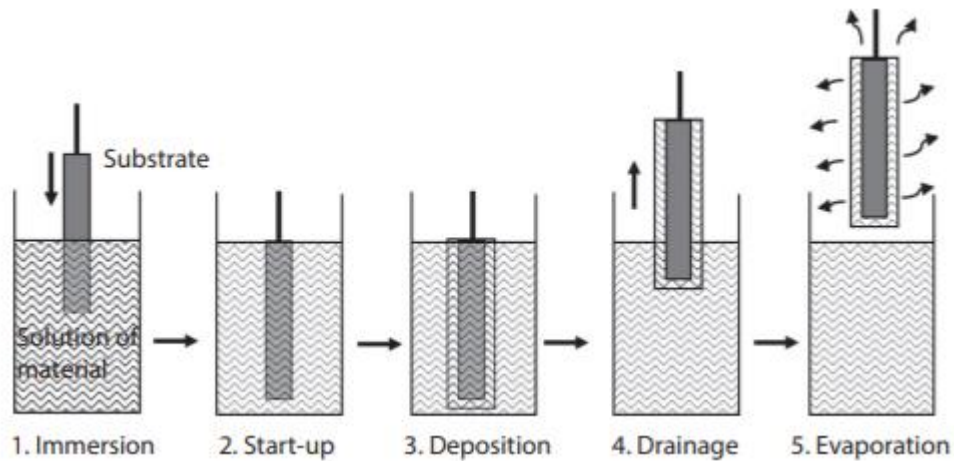


Figure 4: schematizzazione degli steps del trattamento di Dip-Coating [11]

Sul sistema substrato-coating agisce un insieme di forze che, insieme al fenomeno dell'evaporazione, permette la formazione del coating e ne influenza lo spessore [39,5]:

- tensione superficiale: genera una forza opposta alla forza di trascinamento e la sua variazione dipende dall'evaporazione del solvente;
- forza di gravità: trascina il liquido verso il basso;
- attrito viscoso: si oppone al moto del substrato durante la sua immersione nella soluzione ed è proporzionale alla viscosità della soluzione e alla velocità di immersione del substrato stesso.

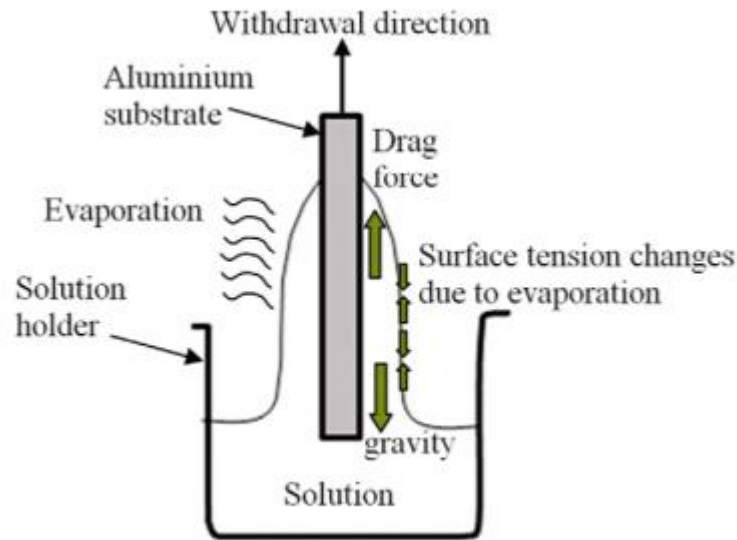


Figure 5: forze che agiscono durante il Dip-Coating [10]

I parametri sui quali si agisce per controllare lo spessore del coating sono principalmente la velocità di immersione e la concentrazione della soluzione, stimabili tramite diversi modelli matematici.

Secondo il modello di Landau-Levich, lo spessore del rivestimento è dovuto all'equilibrio tra due forze: quelle di adesione del film al substrato e quelle di trascinamento viscoso della soluzione secondo la seguente formula [10]:

$$h = 0.946 \frac{(\eta v)^x}{\gamma^{1/6} \sqrt{\rho g}},$$

dove x è una costante e può assumere valori compresi tra 0,4 e 0,6 a seconda della soluzione che si utilizza, η rappresenta la viscosità della soluzione, v è la velocità di estrazione del sistema substrato-coating, ρ è la densità della soluzione, γ è la tensione superficiale e g rappresenta la forza di gravità.

Landau e Levich idealizzarono questo modello teorico, considerando velocità di immersione basse (dell'ordine dei mm/s), una superficie piana immersa in un fluido Newtoniano all'interno di un contenitore abbastanza grande da poter considerare nulli gli effetti di bordo e un solvente non volatile, al fine di trascurare il fenomeno dell'evaporazione; in questo caso, x era uguale a 2/3 [5].

La maggior parte delle soluzioni, però, non sono paragonabili a fluidi Newtoniani, in particolare le soluzioni sol-gel, dove il liquido evapora e allo stesso momento porta dei cambiamenti nella viscosità e densità e quindi anche nella tensione superficiale all'interfaccia menisco della soluzione-substrato.

Questo può portare a delle modifiche nello spessore e microstruttura finale del coating, in quanto le fasi di idrolisi e policondensazione, a causa della notevole velocità di evaporazione del film appena depositato attorno al substrato, può coincidere con la fase di essiccazione [5].

Il modello matematico che tiene conto di ciò e quindi considera fluidi non-Newtoniani è quello di Scherer-Brinker. Questo modello si basa sulla predizione dello spessore del coating, attraverso il controllo della velocità di estrazione del substrato e della concentrazione della soluzione [5].

I solventi utilizzati sono solitamente organici, in quanto fanno sì che i film che si creano attorno al substrato siano omogenei, poiché possiedono una bassa tensione superficiale, che permette alla soluzione di bagnare il substrato molto spontaneamente e sono molto volatili, il che implica una rapida evaporazione.

Prendendo in considerazione il rapporto spessore del film-velocità di estrazione del substrato, si possono distinguere tre scenari differenti [5]:

- Basse velocità di estrazione ($< 3 \text{ mm/s}$) \rightarrow regime di capillarità;
- Alte velocità di estrazione ($> 60 \text{ mm/s}$) \rightarrow regime di trascinamento;
- Velocità di estrazione intermedie ($3 \text{ mm/s} < v < 60 \text{ mm/s}$) \rightarrow regime di trascinamento/capillarità.

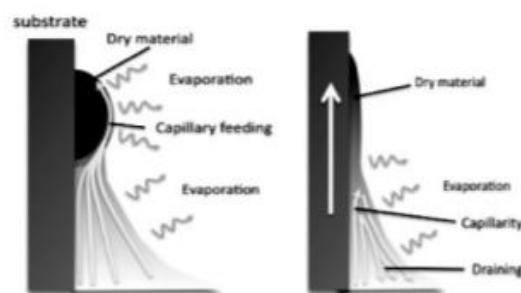


Figure 6: regime di capillarità e regime di trascinamento [5]

Nel caso di regime di capillarità, la velocità di evaporazione del solvente è maggiore rispetto alla velocità di estrazione del substrato e questo fa sì che la parte superiore del menisco venga continuamente alimentata dalla soluzione per capillarità.

In questo caso, tenendo conto della legge di conservazione della massa, si può calcolare lo spessore finale del film con la seguente formula [5]:

$$h_0 = \kappa_i \frac{E}{L u}$$

dove u indica la velocità di estrazione del substrato, k_i è una costante relativa al peso molare, alla concentrazione e alla densità della soluzione, E rappresenta la quantità di soluzione che evapora e L la larghezza del film.

Nel regime di trascinamento, invece, la velocità di evaporazione del solvente è più bassa della velocità di estrazione del substrato, quindi lo spessore del film può essere calcolato seguendo il modello di Landau e Levich [5].

Considerando, infine, velocità di estrazione comprese tra 3 mm/s e 60 mm/s, è possibile misurare lo spessore del film, tenendo conto i contributi dovuti sia al regime di capillarità che a quello di trascinamento [5].

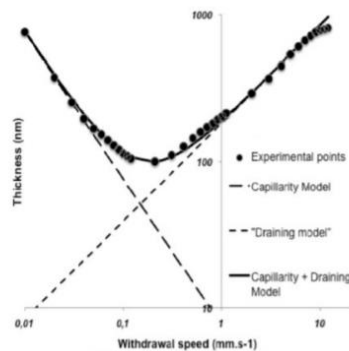


Figure 7: grafico logaritmico spessore film sol-gel/velocità di estrazione e rappresentazione dei regimi di capillarità, trascinamento e intermedio [5]

I parametri quindi sui quali si agisce per controllare lo spessore del coating sono principalmente la velocità di immersione e la concentrazione della soluzione ed è evidente che, utilizzando concentrazioni più alte e quindi soluzioni più viscosi e velocità più elevate, lo spessore del film diventi più spesso [12,8].

Gli esperimenti di Fang et al., basandosi sull'immersione di una lastra di acciaio all'interno di soluzioni con concentrazioni di PLA del 15%, 20% e 30%, hanno dimostrato che aumentando la velocità di estrazione, aumentava lo spessore del coating, poiché una velocità maggiore forza di trascinamento tira su una maggiore quantità di liquido, generando un coating più spesso. Tuttavia, per velocità troppo elevate ciò non accade. Questo perché il solvente non ha il tempo necessario per evaporare e quindi garantire l'asciugatura del coating. In questo modo la forza di gravità trascina verso il basso parte del film, rendendo il coating più sottile [12].

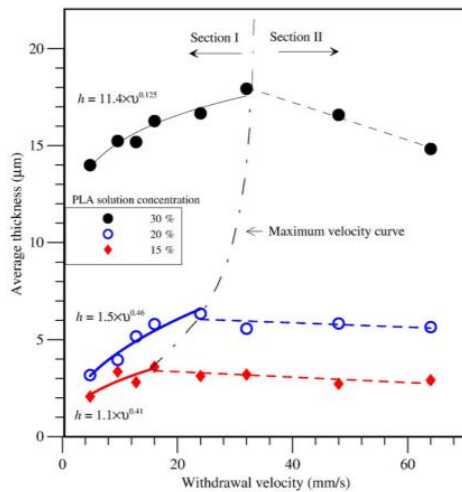


Figure 8: spessore del film di PLA in funzione della velocità di estrazione. Il grafico riassume i risultati di Fang et al. [12]

In figura 8, è possibile osservare come nella Section I lo spessore del film aumenti all'aumentare della velocità di estrazione della lastra di alluminio e come diminuisca nella Section II all'aumentare della stessa. Il valore di velocità per cui lo spessore del film inizia ad assottigliarsi rappresenta il valore per ottenere il massimo spessore possibile del film e varia a seconda della soluzione in cui viene immerso il substrato.

Fang et al. hanno inoltre dimostrato che l'aumento di concentrazione di PLA all'interno della soluzione porta ad un aumento dello spessore, in quanto un aumento di soluto implica un aumento di viscosità della soluzione, la quale tende a trascinare più liquido portando ad un aumento dello spessore del rivestimento. Spesso, però, in presenza di abbondante quantità di soluto, parte di esso viene trascinato giù per gravità, accumulandosi nella parte inferiore del substrato e causando una disomogeneità nello spessore del coating [12].

Il tasso di evaporazione, invece, non ha un effetto incisivo sullo spessore del film, in quanto le dimensioni dello spessore non variano a seconda che l'essiccazione sia lenta o veloce. Un'evaporazione troppo rapida, però, può portare alla formazione di cricche e pori, influenzando la morfologia del coating e gravando sulla resistenza alla corrosione del sistema [8].

1.4.3.3. Soluzioni sol-gel di idrossido di magnesio

Molte delle tecniche di rivestimento di magnesio, come la MAO e il trattamento idrotermico, si basano sulla formazione di un film costituito da nanoparticelle di

idrossido/ossido di magnesio, che si genera attorno al substrato. Tale rivestimento può essere ottenuto anche tramite immersione del campione in una soluzione sol-gel contenente queste nanoparticelle.

C.Henrist et al. hanno ottenuto nanoparticelle di idrossido di magnesio a partire da processi sol-gel generati da una soluzione di sale di magnesio (MgCl_2 , MgSO_4 o $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$) a concentrazione 0,75 mol/l e l'aggiunta di una soluzione alcalina (NaOH o NH_4OH) a concentrazione 1,5 mol/l.

In totale sono stati eseguiti 7 esperimenti tenendo conto del sale e della base scelti e della temperatura alla quale la soluzione finale è stata sottoposta [15].

Sample	Mg source	Base source	Temperature (°C)
1	MgCl_2	NaOH	60
2	MgCl_2	NH_4OH	60
3	MgCl_2	NH_4OH	25
4	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	NH_4OH	25
5	MgSO_4	NH_4OH	25
6	MgCl_2	NH_4OH	10
7	MgCl_2	NH_4OH	47

Table 1: esperimenti eseguiti da C.Henrist et al. per la precipitazione di nanoparticelle di idrossido di magnesio [15]

Questi esperimenti sono stati condotti per studiare gli effetti dovuti a diversi parametri di sintesi sulla morfologia, dimensione e agglomerazione delle nanoparticelle di idrossido di magnesio precipitate in soluzione acquosa alcalina. E' stato dimostrato che l'uso di NaOH conferisce alle nanoparticelle una microstruttura globulare, mentre utilizzando NH_4OH si ottengono nanoparticelle di forma piastrinica. Questa differenza è dovuta principalmente al pH della soluzione.

Inoltre, è stato notato che all'aumentare della temperatura, aumenta la tendenza delle nanoparticelle di formare agglomerati e con essa diminuisce la dimensione del diametro delle singole nanoparticelle. A temperature più basse si ottengono nanoparticelle singole e di forma circolare.

A seconda del sale di magnesio, si ha una diversa natura chimica dei contro-ioni in soluzione. Ad ogni modo, sia il nitrato di magnesio che il cloruro di magnesio, a differenza del solfato di magnesio, danno portano a nanoparticelle aventi la morfologia desiderata [15].

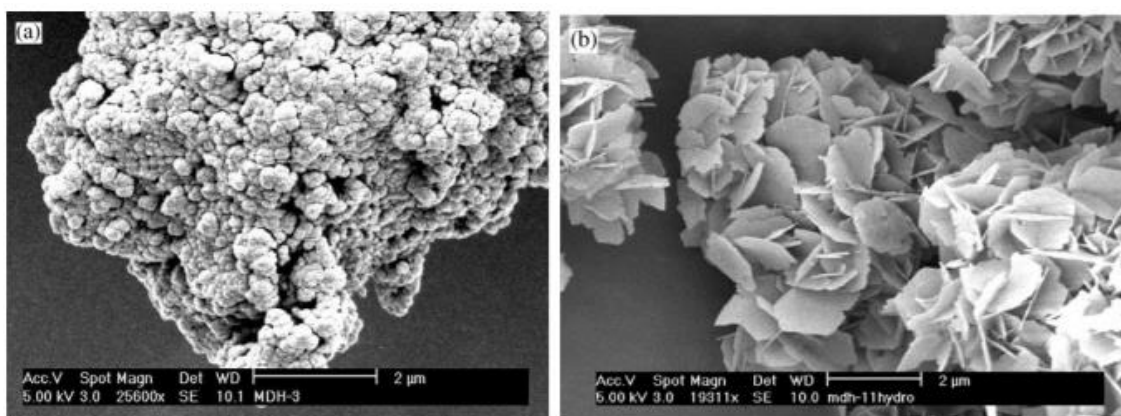


Figure 9: micrografie SEM dei campioni (a) 1 e (b) 2 dopo trattamento termico [8]

Anche Jianping Lv et al. hanno effettuato uno studio sulle nanoparticelle di idrossido di magnesio ottenute da soluzioni sol-gel.

Le nanoparticelle sono state ottenute in diverse condizioni di reazione presenti in Tabella 2 [14].

Sample code	Reactant injected	Initial ammonia concentration (wt%)	Temp(°C)	Injection rate (g/h)/ time (h) ^a	Injection rate (g/h)/ time (h) ^b	Morphology	Size (nm, TEM or FESEM)
1	Alkali	5	2	100/1	29/2	Needle-like	5 × 100
2	Alkali	5	10	100/1	29/2	Needle-like	30 × 140
3	Alkali	5	20	100/1	29/2	Needle-like, lamellar	20–100
4	Alkali	5	10	33/3	15/4	Rod-like	160 × 3000
5	Alkali	25	2	20/1	29/2	Lamellar	50
6	Alkali	25	10	20/1	29/2	Lamellar	150–200
7	Alkali	25	20	20/1	29/2	Lamellar	300–350
8	Salt ^c		2	25/2 ^d		Needle-like	10 × 60
9	Alkali	5	30	20/1	29/2	Lamellar	100–200

^a 5 or 25 wt% ammonia solution.

^b 8 wt% aqueous sodium hydroxide.

^c 50 wt% aqueous magnesium chloride hexahydrate solution.

^d Injection rate (g/h)/time (h) of salt.

Table 2: esperimenti eseguiti da Jianping Lv et al. per la precipitazione di nanoparticelle di idrossido di magnesio [14]

E' stato dimostrato che la concentrazione della soluzione alcalina ha un ruolo cardine nella morfologia delle nanoparticelle. In particolare l'uso di ammoniaca acquosa a basse concentrazioni (5% in peso) conferisce alle nanoparticelle forme ad ago o bastoncino, mentre ammoniaca acquosa a concentrazioni più alte (25% in peso) dà origine a nanoparticelle di forma piastrinica [14].

Inoltre, come già detto precedentemente, anche la temperatura ne influenza la morfologia delle nanoparticelle: temperature più alte (dai 20 °C) portano alla forma lamellare e a dimensioni del diametro medio più elevate, temperature più basse ad aghiforme [14].

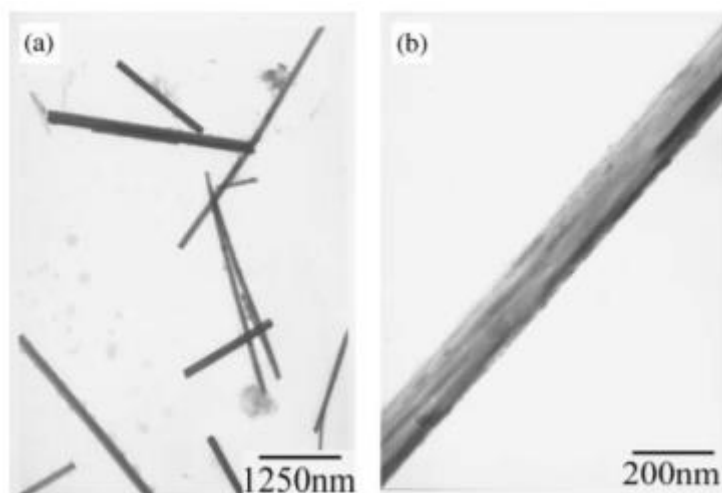
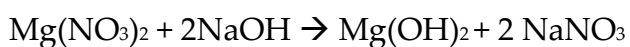


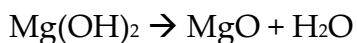
Figure 10: micrografie TEM del campione 4 con morfologia a bastoncino [14]

Mamta Sharma et al. hanno eseguito esperimenti per sintetizzare nanoparticelle di ossido di magnesio attraverso tecniche sol-gel. In particolare, questo è stato fatto usando nitrato di magnesio come precursore ($\text{MgNO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) [7].

Inizialmente nitrato di magnesio 0,2 M è stato aggiunto a 100 mL di acqua deionizzata e successivamente idrossido di sodio 0,5 M è stato aggiunto goccia per goccia alla soluzione precedentemente creata e posta in agitazione magnetica. Il tutto è stato tenuto in agitazione per 30 minuti.



L'idrossido di magnesio si presentava come un precipitato bianco, il quale è stato filtrato, lavato con metanolo per rimuovere le impurità ioniche e lasciato essiccare a temperatura ambiente per 1-2 ore, ottenendo ossido di magnesio [7].



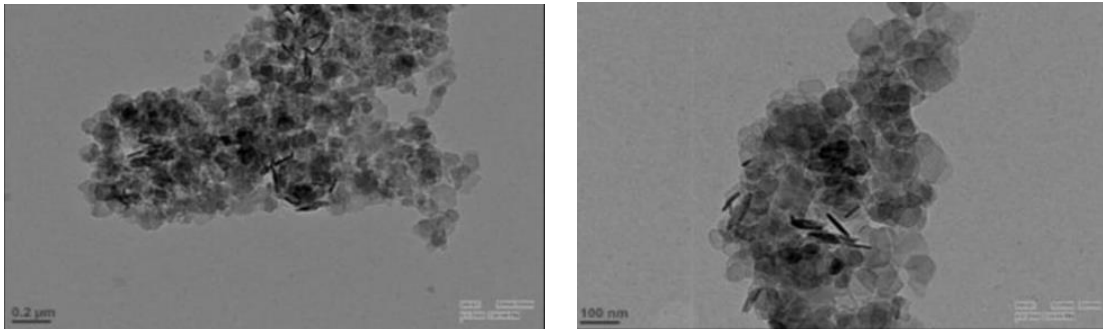


Figure 11: immagini TEM delle nanoparticelle di ossido di magnesio [7]

La sola sintesi di particelle di idrossido/ossido di magnesio non è però sufficiente per generare un film che avvolga la lega di magnesio e resista per un determinato lasso di tempo.

LC Cordova et al. hanno infatti generato rivestimenti a base di silano e biossido di titanio per far sì che le nanoparticelle di ossido aderissero meglio al substrato tramite la notevole forza di adesione del silano [38].

In particolare, una soluzione di isopropossido di titanio, acetilacetone e H_2O con proporzioni di 5:3:1, è stata aggiunta ad una soluzione costituita da (3-glicidossipropil)-trimetossisilano, isopropanolo e H_2O con proporzioni di 8:8:1, con un rapporto di 1:1,5.

In questo modo, è stata preparata un'unica soluzione a base di silano e idrossido di magnesio dalle proprietà di adesione molto più elevate rispetto alla semplice soluzione sol-gel contenente TiO_2 [38].

2 Finalità e obiettivi

Il magnesio e le sue leghe stanno dimostrando di essere di vitale importanza in campo biomedico, grazie alla loro biodegradabilità. Ai giorni d'oggi, infatti, diventa fondamentale trovare materiali capaci di supportare il processo di guarigione del tessuto danneggiato, per poi degradarsi da soli col tempo all'interno dell'organismo una volta terminato il processo di guarigione [3,20].

Questi materiali sembrano rappresentare i candidati perfetti non solo dal punto di vista della biocompatibilità e biodegradabilità, ma anche grazie alla capacità di questo metallo di garantire supporto meccanico, manifestando proprietà meccaniche molto più simili a quelle dell'osso rispetto ai metalli tradizionali [25,3,26,29,30].

Tuttavia, l'utilizzo del magnesio presenta un problema che può essere di notevole importanza, avendo una velocità di corrosione molto alta: ciò porta ad un notevole aumento del pH e alla formazione di una grande quantità di idrogeno gassoso intorno all'impianto, che l'organismo non riesce ad assimilare in tempi brevi. Ciò comporta un ritardo della guarigione del tessuto danneggiato o anche alla sua necrosi [24].

Sono oggi disponibili due strategie utilizzabili per affrontare e cercare di risolvere questo problema [24]:

- Realizzazione di leghe, costituite non solo da magnesio, ma anche da altri elementi in basse percentuali, come ad esempio l'alluminio e lo zinco, che sono in grado di operare nel senso di un rallentamento dei tempi di degradazione;
- Realizzazione dei rivestimenti di conversione o di deposizione. I primi fanno sì che la formazione del coating avvenga attraverso reazioni tra il substrato e l'ambiente esterno; i secondi consistono nella realizzazione di film polimerici, ceramici o metallici depositati sul substrato in esame tramite diverse possibili tecniche.

In questo quadro di riferimento si inseriscono gli obiettivi di ricerca del presente progetto di tesi. L'obiettivo generale, quindi, è rappresentato dalla necessità di rallentare il più possibile il processo di degradazione della lega di magnesio AZ31,

per far sì che la sua corrosione non comporti rischi all'organismo, garantendo comunque la completa dissoluzione del metallo nel corpo.

In termini specifici, l'intento è quello di rallentare la degradazione tramite un rivestimento sol-gel di idrossido di magnesio ottenuto per deposizione sulla stessa lega di magnesio AZ31.

In questo contesto esistono numerose tecniche di deposizione, tra le quali spiccano in particolare Spray Coating o Dip Coating.

La scelta è ricaduta sul Dip-Coating, in quanto tecnica semplice da applicare e permette la formazione di coating uniformi a prescindere dalla complessità della geometria del substrato da rivestire.

Inoltre, il Dip Coating è uno dei metodi meno costosi e permette di ottenere spessori controllati del coating, attraverso modifiche della viscosità della soluzione o della velocità d'immersione del campione in soluzione (modificando la velocità della guida mobile alla quale è collegato il campione).

In questo progetto di tesi, il rivestimento è costituito da nanoparticelle di $Mg(OH)_2$ e MgO , nell'intento di ottenere risultati simili a quelli ottenibili tramite il trattamento idrotermico e la tecnica MAO, senza però l'utilizzo di tali tecniche di conversione.

La scelta della soluzione si è basata sul confronto di risultati di analisi XRD, TEM e analisi sulla bagnabilità di coating ottenuti a partire da tre soluzioni sol-gel che differivano tra loro per i precursori di magnesio utilizzati ($Mg(NO_3)_2$ e $MgCl_2$), concentrazioni di tali precursori e uso di NaOH e NH_4OH per ottenere il pH adatto alla formazione delle nanoparticelle.

Sono, quindi, state eseguite numerose analisi su polveri e su coating ottenuti su substrati vetrosi, prima di passare al rivestimento di campioni in lega di magnesio AZ31.

Sono state effettuate analisi morfologiche mediante microscopia a scansione elettronica (SEM), analizzate le composizioni chimiche superficiali mediante EDS e fasi cristalline tramite XRD.

Infine, i campioni con coating derivante dalla soluzione scelta (in questo caso è stata scelta la soluzione a base di $MgCl_2$ e NH_4OH) sono stati sottoposti ad una prova di degradazione in vitro attraverso immersione in SBF per 21 giorni, al fine di osservare la cinetica di corrosione e poter fare un confronto diretto con campioni in lega AZ31 non trattati.

3 Materiali e metodi

3.1 Materiali Utilizzati

Per questo progetto di tesi sono stati utilizzati campioni di lega di magnesio AZ31 (96% wt. Mg, 3 wt.% Al, 1 wt.% Zn, Goodfellow, England) di dimensioni (1.5x0.5)cm e spessore 0.5 mm ottenuti a partire da strisce 10x0.5cm.

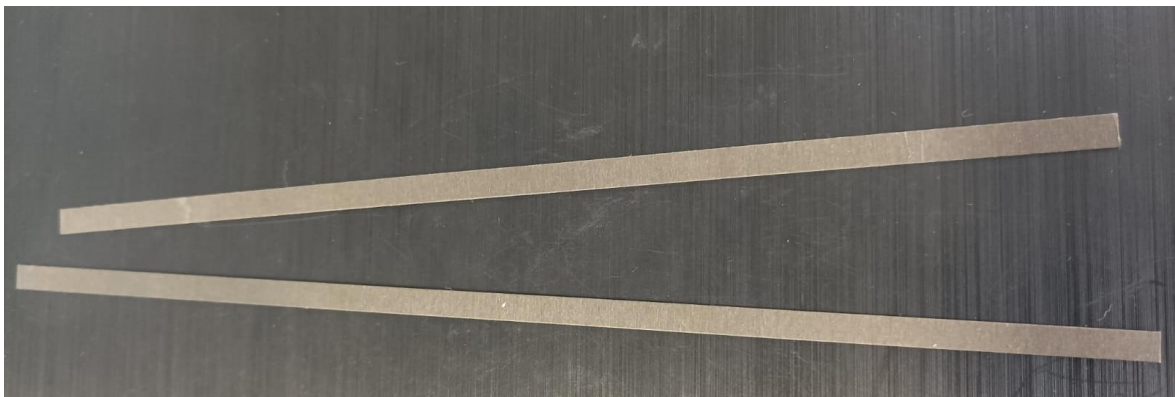


Figure 12: strisce in lega di magnesio AZ31 di dimensioni (10x0.5)cm

3.2 Preparazione dei campioni

Tutti i campioni sono stati sottoposti ad un processo di pulitura per rimuovere le imperfezioni dovute alle lavorazioni. Essi sono, quindi stati trattati con carta abrasiva P120.

Successivamente ogni campione è stato posto all'interno di un becher contenente acetone e riposto in un bagno di ultrasuoni per 5 minuti col fine di eliminare qualsiasi possibile residuo rimanente dal processo di pulitura con carta abrasiva.

Infine i campioni sono stati sottoposti a *Decapaggio*, ovvero ognuno di essi è stato:

- immerso in soluzione contenente HNO_3 (4,2% , 1M) e CH_3COOH (23% , 4M) per 1 minuto e mezzo;
- lavato con abbondante acqua distillata;
- sottoposto ad un bagno in ultrasuoni per 5 minuti.

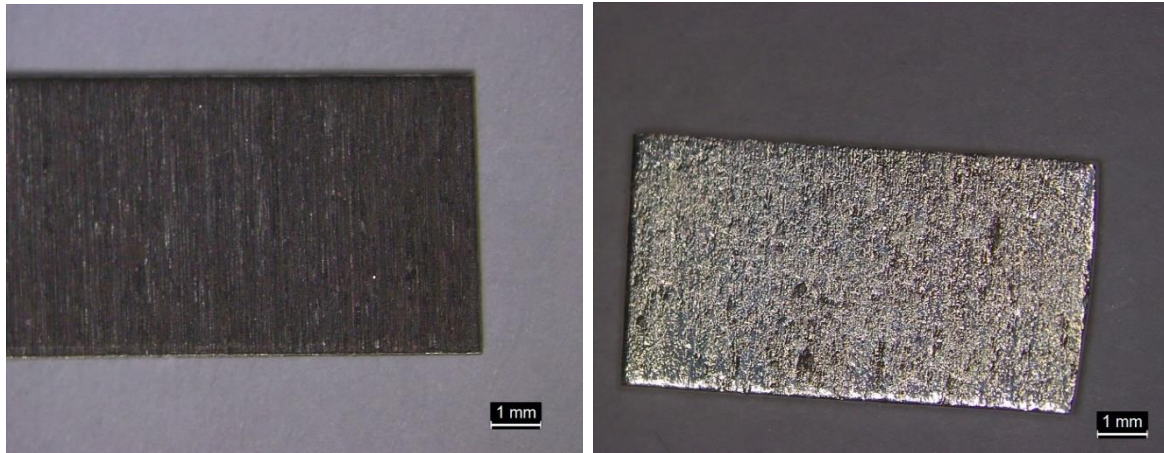


Figure 13: campione di lega di magnesio AZ31 prima e dopo processo di Decapaggio

3.3 Preparazione delle soluzioni sol-gel

Sono state sperimentate diverse procedure, basate su processi sol-gel, per ottenere nanoparticelle di idrossido di magnesio.

Nei primi esperimenti esse sono state sintetizzate a partire da *nitrato di magnesio* come precursore ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). In particolare:

- Una soluzione di nitrato di magnesio 0.2 M è stata posta in agitazione magnetica su piastra magnetica e ad essa è stata aggiunta goccia per goccia una soluzione di idrossido di sodio NaOH 0.5 M. Dopo diverse ore era visibile sul fondo del becher dell'idrossido di magnesio come precipitato bianco.

Ulteriori metodi per ottenere nanoparticelle di idrossido di magnesio comprendevano il *cloruro di magnesio* come sale ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$):

- In questo caso una soluzione di cloruro di magnesio 0.2 M è stata posta in agitazione magnetica su piastra magnetica e ad essa è stata aggiunta goccia per goccia una soluzione di idrossido di sodio NaOH 0.5 M. Dopo diverse ore era visibile sul fondo del becher dell'idrossido di magnesio come precipitato bianco.
- Una soluzione di cloruro di magnesio 0.4 M è stata posta in agitazione magnetica su piastra magnetica e ad essa è stata aggiunta goccia per goccia una soluzione di ammoniaca al 25% 1 M. Il colore dell'intera soluzione

posta in agitazione magnetica è diventato bianco anche solo dopo l'aggiunta di poche gocce di NH_4OH .

3.3.1 Dip-Coater: apparato sperimentale

Per i rivestimenti dei campioni è stato utilizzato un Dip Coater. Così facendo il film depositato dovrebbe presentarsi come un layer il più omogeneo possibile. Questo Dip Coater presenta dimensioni abbastanza ridotte per permettere il suo utilizzo sotto cappa e in modo sicuro.

Il macchinario è raffigurato in Figura 14 ed è costituito da:

- dispositivo di trasmissione ad anelli rotanti Uhing® (Modello KI3-15-6MCR, prodotto da Andatex S.r.l);
- alimentatore a commutazione (modello SS-815 prodotto da Hoxin).



Figure 14 : apparato sperimentale per il Dip-Coating

Esso permette, attraverso l'impostazione manuale del voltaggio (da 0V a 10V) e del passo (da 0 a 10), di far muovere la guida mobile verso il basso e verso l'alto a velocità prestabilite.

3.3.2 Calibrazione

Modificando il voltaggio risulta possibile regolare la velocità del Dip Coater e per fare ciò è stata ideata una curva di calibrazione che permette di stabilire una relazione tra tensione applicata e velocità a partire da passi differenti.

Per ognuno di essi è stato calcolato il tempo impiegato dalla guida mobile per percorrere i 105 mm di distanza dal sostegno in legno dove vi è poggiata la soluzione, in relazione a diversi valori di tensione.

Ognuna di queste misure è stata calcolata tre volte e da esse si sono ottenute le velocità, corrispondenti al valore medio relativo alle tre misurazioni per ogni valore di tensione.

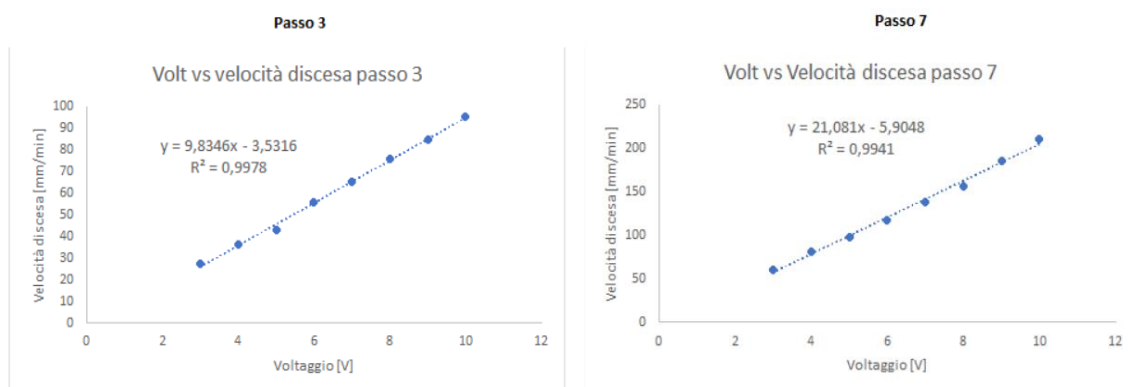


Figure 15 : curve di calibrazione del Dip-Coater

3.3.3 Primi rivestimenti su vetri

I primi rivestimenti sono stati eseguiti su vetri, poiché, essendo questo tipo di rivestimento molto sperimentale, l'utilizzo immediato di campioni di lega di magnesio avrebbe comportato non solo una spesa maggiore dei costi, ma anche tempi di esecuzione più lunghi dovuti al decapaggio di ogni campione prima dell'inizio della procedura.

E' stata preparata una nuova soluzione a partire da (3-glycidaxypropyl) - trimethoxysilane, 2-propanol e acqua distillata con proporzione 8:8:1, per garantire una miglior adesione del coating al substrato.

Questa soluzione, dopo essere stata tenuta in agitazione magnetica per 1 ora, è stata aggiunta alla soluzione iniziale sol di $Mg(OH)_2$ e posta nuovamente in agitazione magnetica per un'ora e mezza.

Sono state preparate, quindi, 3 soluzioni a base di :

- $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, NaOH + GPTMS;
- MgCl_2 , NaOH + GPTMS;
- MgCl_2 , NH_4OH + GPTMS.

Inoltre, ognuna di queste soluzioni è stata preparata tenendo conto della proporzione "Soluzione con silano: Soluzione contenete $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ". Sono state utilizzate le seguenti proporzioni:

1. 1,5 : 1;
2. 1,5 : 2;
3. 2 : 1.

La proporzione **1.** è stata scelta in base alla letteratura [38].

I parametri del Dip-Coater scelti per il rivestimento dei vetri sono stati i seguenti:

- TENSIONE= 9;
- PASSO=7,

e sono stati eseguiti rivestimenti ad 1 e 3 immersione in ogni soluzione.

Tali parametri sono stati scelti in base alla letteratura [38], che suggeriva una velocità di 177mm/min e trovati tramite le curve di calibrazione.

Dopo aver tenuto vetri in stufa per quattro ore alla temperatura di 160 °C, sono state eseguite prove di stabilità in acqua lasciando il vetrino in una falcon contenente acqua distillata per 3 minuti e ponendolo in un bagno di ultrasuoni per 1 minuto. Se il coating reggeva, senza sciogliersi o staccarsi dal substrato, il vetrino a cui apparteneva il coating è stato posto all'interno di falcon (contenente la stessa acqua distillata utilizzata per le prove di stabilità) all'interno di una stufa a 37 °C.

3.3.3.1 Le soluzioni

In tabella 3 è riportato un riassunto delle varie soluzioni ottenute per effettuare i coating:

- nella prima colonna è riportato il nome attribuito ad ogni soluzione;
- nella seconda i precursori utilizzati per la sintesi delle nanoparticelle di $\text{Mg}(\text{OH})_2$;
- nella terza è indicata la proporzione "Soluzione con silano: Soluzione contenente $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ".

NOME SOLUZIONE FINALE	COMPONENTI SOLUZIONE SOL-GEL	PROPORZIONE SILANO : IDROSSIDO DI MAGNESIO
NI_SI	Mg(NO ₃) ₂ , NaOH	1.5 : 1
NI_S	Mg(NO ₃) ₂ , NaOH	2 : 1
NI_I	Mg(NO ₃) ₂ , NaOH	1.5 : 2
CI_SI	MgCl ₂ , NaOH	1.5 : 1
CI_S	MgCl ₂ , NaOH	2 : 1
CI_I	MgCl ₂ , NaOH	1.5 : 2
CA_SI	MgCl ₂ , NH ₃	1.5 : 1
CA_S	MgCl ₂ , NH ₃	2 : 1
CA_I	MgCl ₂ , NH ₃	1.5 : 2

Table 3: riassunto delle varie tipologie di soluzioni ottenute per effettuare i coating.*

3.3.4 Immersione dei campioni di lega di magnesio AZ31

Per la preparazione dei coating su campioni di magnesio è stata scelta la soluzione CA_S (vedi tabella 3); quindi, sono stati preparati 18 campioni, di cui 9 sono stati immersi rivestiti tramite 3 immersioni e 9 tramite 1 sola immersione.

I parametri del Dip-Coater sono stati:

- VOLTAGGIO: 9;
- PASSO: 7;

per ottenere una velocità lineare di circa 177 mm/min, come suggerito in letteratura [38].

Ogni campione è stato sospeso per mezzo di una pinzetta, a sua volta agganciata alla guida mobile del Dip-Coater, come rappresentato in figura 16.

* Ogni nome della prima colonna è costituito da: PRIMA LETTERA: iniziale del nome del precursore; SECONDA LETTERA: iniziale del reagente (idrossido di sodio o ammoniaca); LETTERE DOPO “_”: SI=proporzione “silano : Mg(OH)₂” in accordo con la letteratura; S= maggior quantità di silano rispetto alla letteratura; I= maggior quantità di Mg(OH)₂ rispetto alla letteratura.

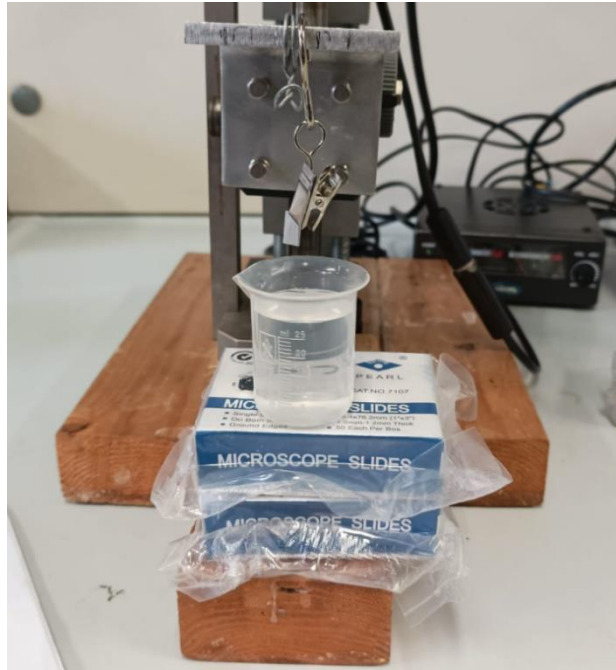


Figure 16: set-up per l'immersione dei campioni in soluzione tramite Dip-Coater

3.3.5 Trattamento termico

Dopo il processo di immersione tramite Dip-Coater, i campioni sono stati posti in stufa per 4 ore alla temperatura di 160 °C (figura 17).

I campioni sono stati posti a distanze adeguate gli uni dagli altri, così da non toccarsi a vicenda e danneggiare i coating.



Figure 17: sistema di mantenimento dei campioni nel forno a 160°C

3.4 I campioni di lega di magnesio AZ31

Nella seguente tabella sono riportati i nomi dei vari campioni e il numero di immersioni da essi effettuate all'interno della soluzione CA_S (vedi tabella 3):

CONTROLLO	UN'IMMERSIONE	TRE IMMERSIONI
C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9.	A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9.	B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9.

Table 4: campioni utilizzati per la prova di degradazione in SBF

La lettera C sta ad indicare il CONTROLLO; infatti sono stati utilizzati per l'esperimento finale anche 9 campioni non rivestiti, che permettessero di avere un'evidenza visibile degli effetti del coating sulla lega di magnesio AZ31.

3.5 Prove di degradazione

Per verificare la resistenza alla corrosione dei campioni trattati e non, sono state eseguite prove di degradazione in vitro. E' stata infatti creata una soluzione secondo le guide di Kokubo [51] che, simulasse il fluido all'interno dell'organismo umano. Tale soluzione prende il nome di *Simulted Body Fluid* (SBF) e la sua composizione è mostrata in tabella 5.

ORDINE	REAGENTE	CONCENTRAZIONE [g]
1	NaCl	8.035
2	NaHCO ₃	0.355
3	KCl	0.225
4	K ₂ HPO ₄ . 3H ₂ O	0.231
5	MgCl ₂ . 6H ₂ O	0.311
6	HCl (1M)	39
7	CaCl ₂	0.292
8	Na ₂ SO ₄	0.072
9	Tris	6.118
10	HCl (1M)	0 – 5

Table 5: ordine e quantità dei reagenti utilizzati per la preparazione di 1000ml di SBF

L'SBF viene preparata a temperatura costante di 37 °C, monitorata tramite apposita sonda per la temperatura.

I reagenti vengono aggiunti in quell'ordine preciso, per evitare la precipitazione di apatite che renderebbe l'SBF inutilizzabile.

L'ultimo reagente viene aggiunto in quantità necessarie affinché il pH della soluzione resti nel range 7.42 – 7.45.

In figura 18 è rappresentato il set-up per la preparazione della soluzione SBF:

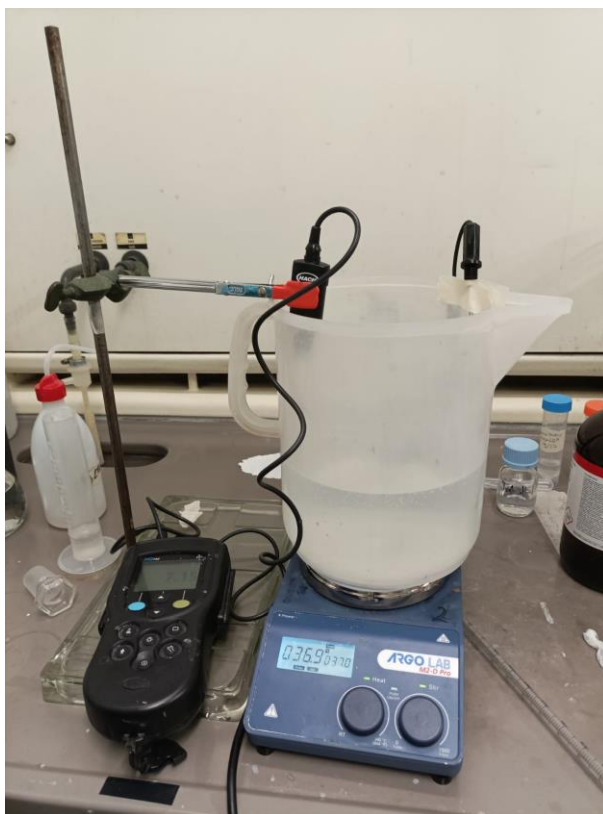


Figure 18: set-up per la preparazione di SBF. La sonda a destra monitora la temperatura, mentre quella a sinistra per la misura del pH.

La cinetica di degradazione è stata osservata per ognuno dei campioni in tabella 4, al fine di valutare l'effetto di ciascuno dei due tipi di rivestimento a confronto con i campioni non trattati.

Ogni provino è stato pesato e poi 1/3 di ognuno non è stato sottoposto alla prova di degradazione, ovvero 0.5 cm di campione sono stati ricoperti con del nastro *Teflon* per evitare, nel peggiore dei casi, che l'intero provino si degradasse in soluzione.

Ogni campione è poi stato immerso in una *Falcon flask* contenente 50 mL di soluzione SBF affinché il rapporto tra la superficie del campione e il volume della soluzione fosse 1:50, come suggerito dalla letteratura. Kirkland et al. hanno lavorato su questo rapporto per far sì che la cinetica di degradazione del provino fosse indipendente dal volume della soluzione in cui si trova.

Successivamente, ogni Falcon è stata posta all'interno di uno *shaker Incubator* a 37 °C.



Figure 19: *falcon* contenenti i campioni inseriti nello *Shaker Incubator* per il test di degradazione

Ogni giorno è stato eseguito un cambio manuale del 50% di soluzione SBF presente in ogni *Falcon* con della nuova SBF per simulare il riciclo del fluido corporeo.

Per monitorare l'avanzamento della degradazione, sono stati stabiliti tre *time-point*: 7, 14 e 21 giorni e ad ognuno di essi, è stato controllato il grado di degradazione su tre campioni per tipologia. Ad ogni *time point*, essi sono stati estratti dalle *falcon* e lavati in triossido di cromo CrO_3 (180g/L) per 20 minuti a temperatura ambiente, così da eliminare possibili residui di degradazione. I campioni sono, quindi, stati posti singolarmente nei pozzetti di una *multi-well dish* e dopo 20 minuti sono stati sciacquati con abbondante acqua distillata e asciugati.



Figure 20: immersione dei provini in triossido di cromo CrO_3

3.6 Metodi di caratterizzazione

3.6.1 TEM

Il microscopio TEM (Transmission Electron Microscope) permette di identificare la composizione atomica dei materiali e di ottenere informazioni riguardanti la cristallinità di aree sub micrometriche del materiale. Nel TEM un fascio accelerato di elettroni attraversa prima una sezione nella quale è stato precedentemente creato il vuoto, per poi attraversare il campione, il quale deve avere uno spessore relativamente ridotto, solitamente inferiore ai 100 nm. Una serie di campi elettrici e magnetici permette di pilotare il fascio di elettroni attraverso lenti magnetiche, il quale colpisce uno schermo fluorescente, proiettando un'immagine ingrandita della porzione di campione precedentemente attraversata. Questo microscopio genera immagini in bianco e nero, però molte volte esse vengono successivamente elaborate digitalmente e quindi migliorate.

3.6.2 Misure di bagnabilità del coating tramite angoli di contatto

Per indagare su eventuali differenze di idrofobicità tra i vetri trattati e quelli non trattati, sono state effettuate misure di angoli di contatto per ogni tipologia di rivestimento.

L'angolo di contatto è una grandezza termodinamica basata sull'equilibrio tra due fasi e viene determinata tramite la misura della bagnabilità di un substrato. Depositata una goccia di un liquido in particolare sul substrato, si calcola l'angolo di contatto formato dall'incontro di un'interfaccia liquido-vapore con un'interfaccia liquido-solido. I substrati aventi angoli di contatto con l'acqua maggiori di 90° si definiscono idrofobiche, le altre idrofiliche [6].

Considerando una goccia di liquido generico depositata sul substrato, le molecole del liquido risentono di una forza di attrazione reciproca detta forza di coesione e lo stesso fanno le molecole del substrato. Ciò porta la goccia ad assumere una forma che massimizzi la superficie di contatto tra liquido e solido.

L'equilibrio di queste forze può essere espresso tramite la relazione di Young che descrive l'equilibrio termodinamico tra le fasi che circondano la goccia e la fase della goccia stessa [6].

Considerando le tre fasi [6]:

- G (aeriforme: aria);
- L (liquido: la goccia d'acqua);
- S (solido: il substrato);

il punto A in Figura 21 rappresenta il punto in cui coesistono le tre fasi e sul quale agiscono le tre seguenti tensioni superficiali:

- γ_{GS} tensione superficiale tra l'aria e il substrato;
- γ_{GL} tensione superficiale tra l'aria e la goccia d'acqua;
- γ_{LS} tensione superficiale tra la goccia d'acqua e il substrato.

Il punto A è in equilibrio nel momento in cui:

$$\gamma_{GS} = \gamma_{LS} + \gamma_{GL} \cdot \cos\theta,$$

dove θ è l'angolo di contatto substrato (S) / goccia [6].

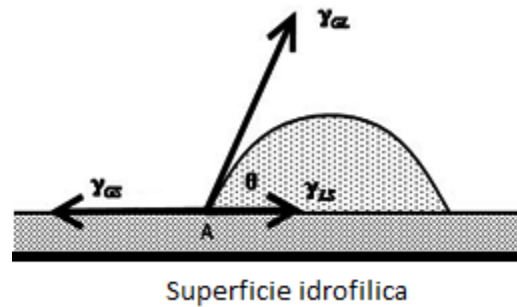


Figure 21: superficie idrofilica (L) [6]

In questo lavoro di tesi sono stati selezionati 3 vetrini per tipologia di rivestimento (tipologie differenti a seconda della soluzione scelta per il coating e il numero di immersioni) e per ognuno di essi sono state effettuate 3 misure di angoli di contatto. Successivamente, sono state calcolate media e deviazione standard per ogni tipologia di rivestimento e eseguiti dei **confronti multipli** one-way ANOVA a cui è seguito in caso di p-value < 0.05 il relativo post hoc con correzione di Bonferroni.

Questi test sono stati eseguiti su software Graphpad, che fornisce per il post hoc il valore di p-value definito "aggiustato", in cui è già considerata la correzione di Bonferroni e per cui allora l'ipotesi nulla viene rifiutata con un valore di p-value < 0.05.

Nella descrizione dei risultati sarà utilizzata la seguente simbologia:

- “ = ” nel caso in cui per le due popolazioni a confronto ci sia un p-value > 0.05;
- “ * ” nel caso si ottenga $0.01 < p < 0.05$;
- “ ** ” nel caso si ottenga $p < 0.01$.

3.6.3 XRD

La tecnica XRD è stata utilizzata per avere informazioni riguardanti la cristallinità del rivestimento dei campioni ottenuto dopo il processo di dip-coating e trattamento termico in stufa. Pertanto, sono state eseguite analisi XRD non solo sui campioni di lega di magnesio AZ31 prima della prova di degradazione, ma anche sui vetrini rivestiti e sulle polveri derivanti dalle soluzioni composte da idrossido di magnesio e silano alle varie concentrazioni.

3.6.4 SEM

Il SEM (Microscopia a Scansione Elettronica) è una tecnica che permette di ottenere immagini con una maggior profondità di campo rispetto alle altre tecniche di microscopia. Questo è possibile grazie ad un fascio di elettroni che incide sul campione da visualizzare e ne sfrutta l'interazione con gli atomi del campione, fornendo immagini notevolmente più ingrandite rispetto a quelle ottenute con la microscopia ottica. Infatti il SEM utilizzando elettroni, che hanno una lunghezza d'onda inferiore rispetto ai fotoni utilizzati nella microscopia ottica, possiede un limite risolutivo decisamente superiore.

Nello specifico, un fascio di elettroni accelerati colpisce il campione, scansionandolo e producendo segnali che vengono rilevati dal detector e convertiti in immagini.

I segnali captati sono:

- **elettroni secondari**, solitamente utilizzati per studiare la morfologia della superficie dei campioni. Nel momento in cui il fascio di elettroni colpisce gli elettroni del campione, quelli tra essi che appartengono ai livelli atomici più esterni, vengono spinti lontano dalla superficie, portando a fenomeni di repulsione. Questi elettroni vengono rilevati e trasformati in impulsi elettrici;
- **elettroni di back-scattering** che permettono di identificare la morfologia e la composizione dei campioni. Vi è un'interazione tra gli elettroni del fascio e i nuclei degli elementi di cui è composto il campione. Più grande è il nucleo, più elevato sarà il numero di elettroni retrodiffusi. Come out-put si ottiene un'immagine in scala di grigi.

L'analisi al microscopio a scansione elettronica è stata eseguita dopo aver rimosso i campioni dalle falcon piene di SBF e dopo il processo di pulitura e pesatura, al fine di valutare la morfologia dei campioni dopo la prova di degradazione e identificare il rivestimento migliore.

3.6.5 EDS

Insieme alle analisi SEM sono state effettuate anche delle analisi EDS eseguite sui campioni trattati e sul campione controllo prima della prova di degradazione e sui campioni rivestiti tramite 1 e 3 immersioni in soluzione ad ogni *time point* durante la prova di degradazione.

La spettroscopia EDS (Energy Dispersive X-ray Spectrometry) è una tecnica che sfrutta i **raggi-X**, formatasi dall'incidenza di un fascio di elettroni accelerati sulla

superficie del campione, che permettono di individuare i componenti del campione e dare a riguardo informazioni qualitative e semi-quantitative.

Solitamente la strumentazione EDS è accoppiata ad un microscopio elettronico a scansione, costituendo un microscopio SEM-EDS.

In questo caso, gli elementi che ci si aspetta principalmente di trovare sono magnesio, ossigeno e silano.

3.6.6 Analisi della variazione di massa

Per identificare il grado di degradazione dei campioni al termine della prova in SBF, sono state effettuate misurazioni di peso dei campioni prima e dopo la prova di degradazione.

In tabella 7 è rappresentato il tempo di permanenza nell' SBF dei vari campioni:

7 GIORNI	14 GIORNI	21 GIORNI
C1, C6, C8, A2, A3, A9, B4, B5, B6	C2, C5, C3, A8,A4, A1, B2, B9, B7	C4, C9, C7, A5, A6, A7, B1, B3, B8

Table 6: tempo di permanenza dei campioni nell' SBF

4 Risultati

4.1 Scelta della soluzione sol-gel

Come descritto nel capitolo 3, per la preparazione del rivestimento sol-gel sono state prese in considerazione varie soluzioni i cui componenti, reagendo, possono dar luogo alla sintesi di nanoparticelle di $\text{Mg}(\text{OH})_2$, essenziali per la preparazione del coating. Punto fondamentale è, infatti, che il rivestimento sia a base di $\text{Mg}(\text{OH})_2$, poiché l'obiettivo del lavoro di tesi prevede la sintesi di un coating a base di $\text{Mg}(\text{OH})_2$ che aumenti la resistenza alla corrosione della lega di magnesio AZ31, ispirato ai rivestimenti a base di $\text{Mg}(\text{OH})_2$ e MgO ottenuti tramite trattamento idrotermico e tecnica MAO.

Sono state prese in considerazione tre soluzioni sol-gel a base di:

- $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e NaOH ;
- MgCl_2 e NaOH ;
- MgCl_2 e NH_4OH ,

e per ognuna di esse sono state effettuate analisi XRD e TEM per verificare la presenza delle nanoparticelle di $\text{Mg}(\text{OH})_2$ e le loro forme e dimensioni. Nello specifico, dopo aver eseguito le analisi TEM, le tre soluzioni sono state poste in stufa a 400°C e fatte calcinare, con lo scopo di ottenere nanoparticelle di MgO .

4.1.1 TEM

Sono, quindi, state effettuate analisi TEM sui vari tipi di soluzione contenenti $\text{Mg}(\text{OH})_2$ per avere un confronto con la letteratura.

Le analisi TEM relative alle nanoparticelle di idrossido di magnesio ottenute dalle soluzioni create a partire da $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{NaOH}$ e $\text{MgCl}_2 + \text{NaOH}$ mostrano principalmente nanoparticelle di forma sferica o ovale e dalle dimensioni di $2\mu\text{m}$ e 200 nm , come in letteratura [7,14] (Figura 22 a-b-c-d). Quelle ottenute dalla soluzione contenente MgCl_2 e NH_4OH , invece, hanno forma a "bacchetta" e dimensioni pari a 100 nm , in accordo con la letteratura [14] (Figura 22 e-f).

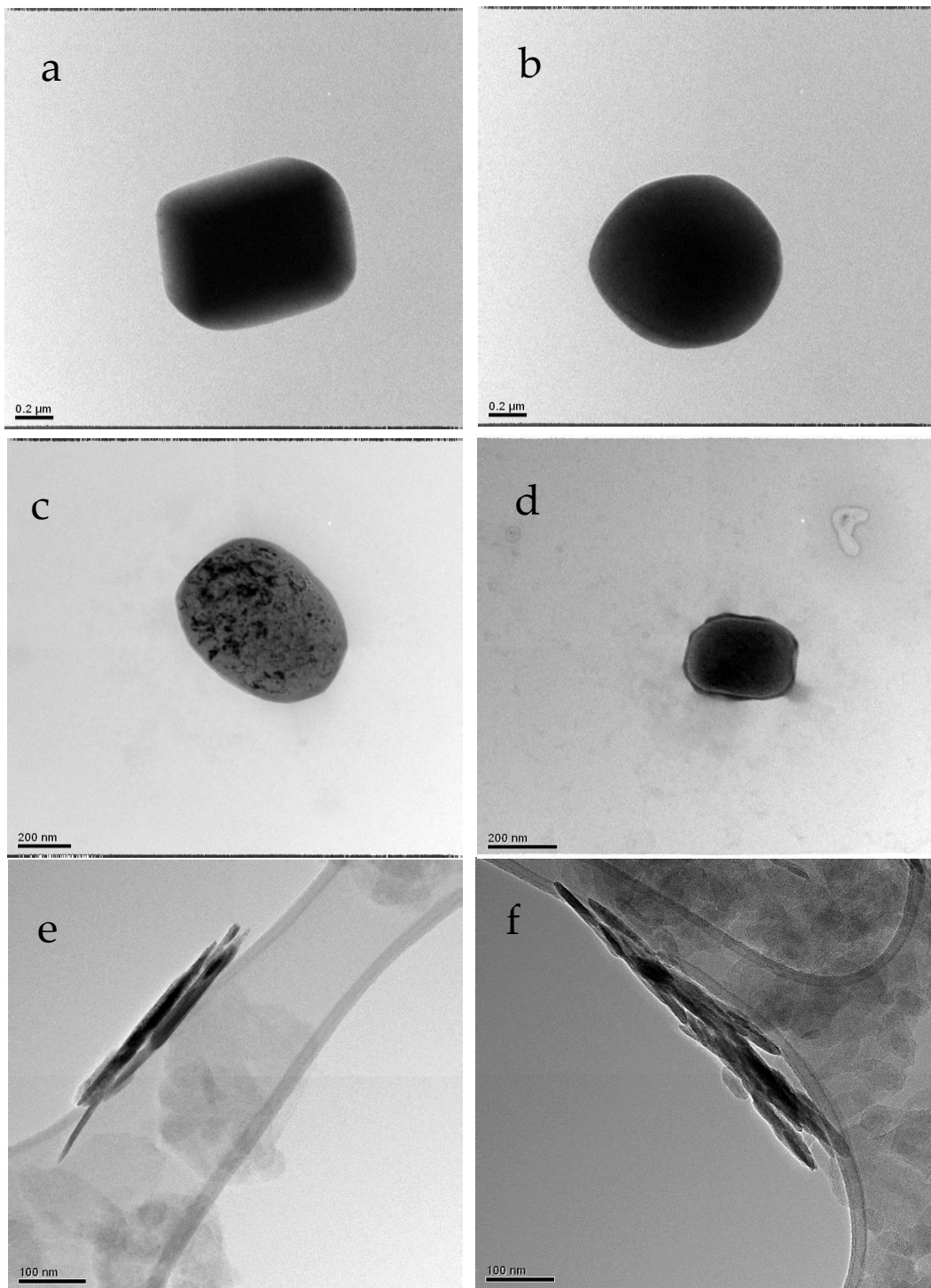


Figure 22: analisi TEM delle nanoparticelle di $Mg(OH)_2$ ottenute dalla soluzione contenente $Mg(NO_3)_2$ (immagini a-b), $MgCl_2$ e $NaOH$ (immagini c-d), $MgCl_2$ e NH_4OH (immagini e-f)

4.1.2 XRD

In particolare, ci si è voluti soffermare sui risultati delle analisi XRD di polveri ottenute tramite trattamenti termici eseguiti per ogni soluzione posta in stufa a

400°C. stata scelta questa temperatura poiché sopra i 350°C l'idrossido di magnesio perde l'acqua generando l'ossido ($\text{Mg(OH)}_2 \rightarrow \text{MgO} + \text{H}_2\text{O}$) e si voleva essere certi di osservare questo prodotto a temperature elevate.

Dalle analisi XRD è infatti emersa la presenza di *Periclase* (MgO) in ognuna delle tre tipologie di soluzioni (Figura 23-24-25).

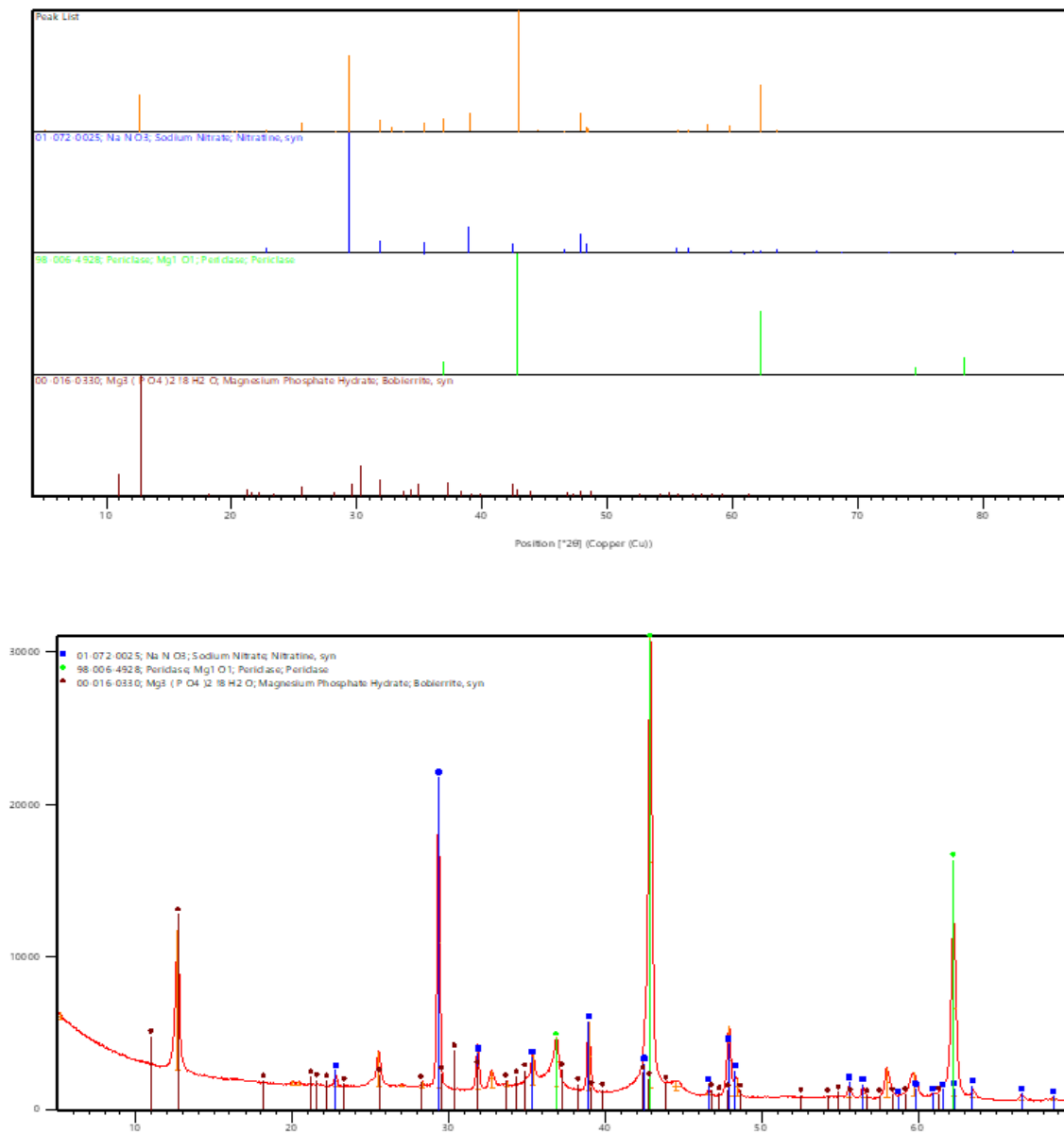


Figure 23: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 400°C della soluzione a base di $\text{Mg(NO}_3)_2$ e NaOH

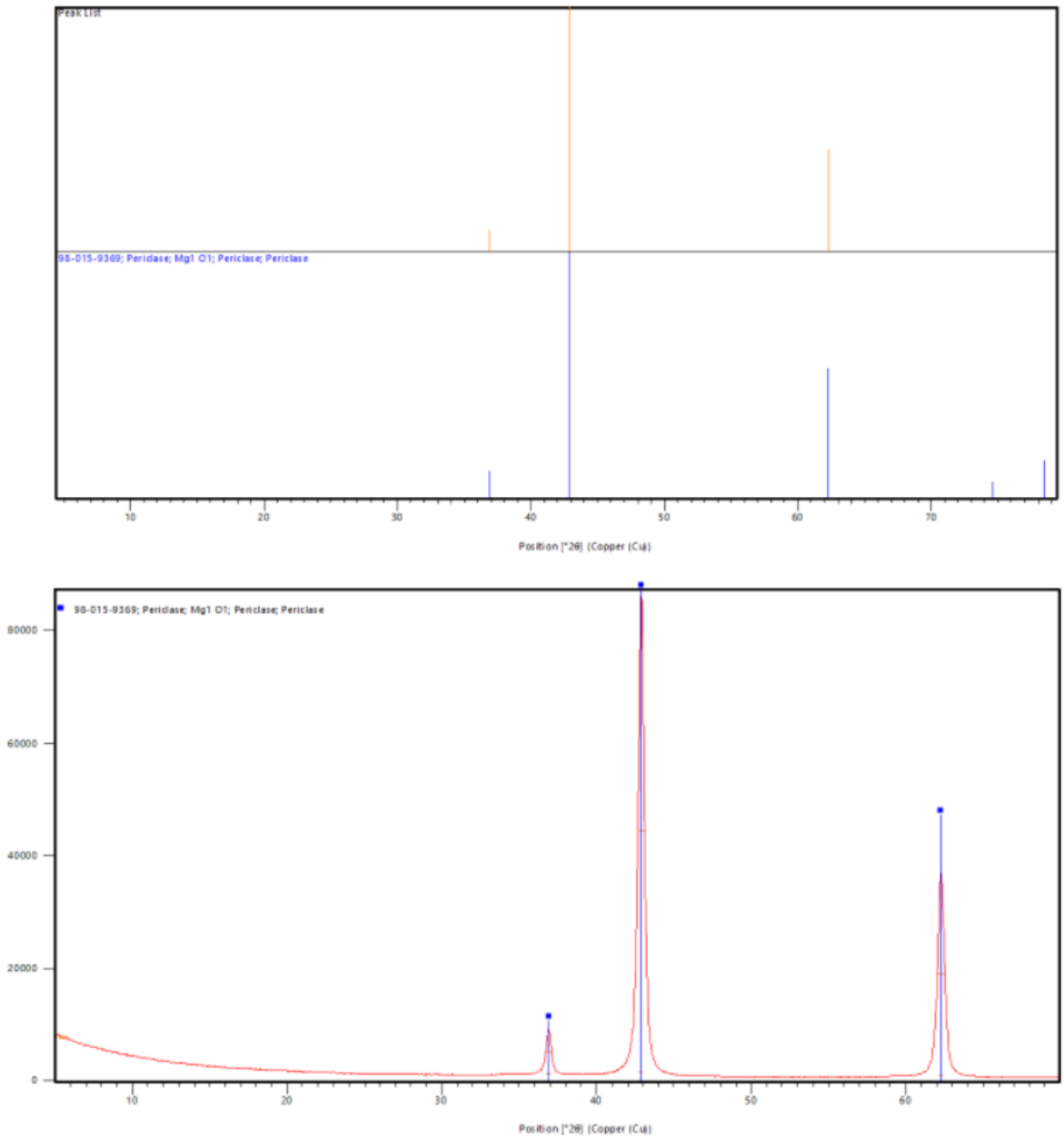


Figure 24: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 400°C della soluzione a base di MgCl₂ e NaOH

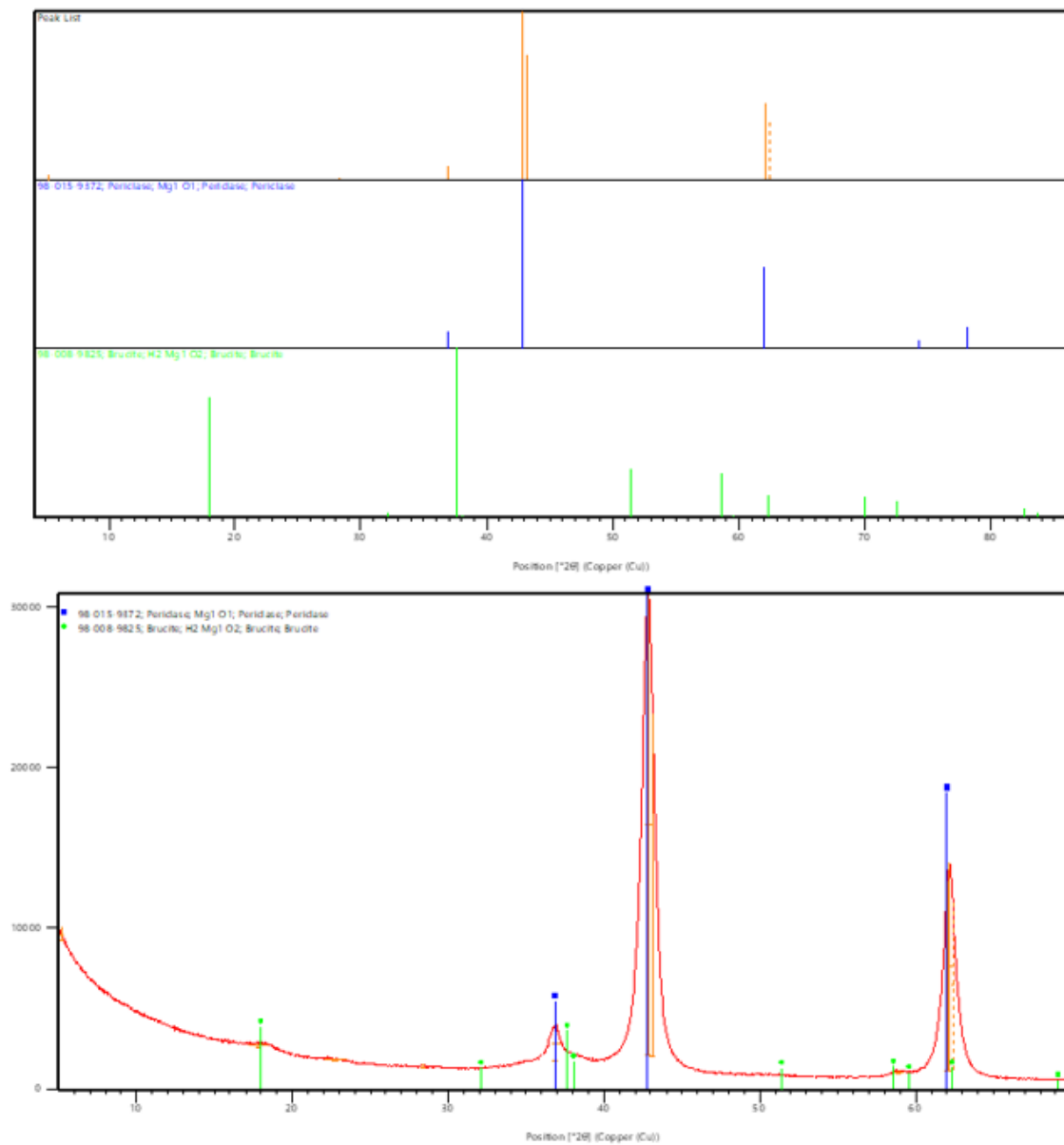


Figure 25: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 400°C della soluzione a base di $MgCl_2$ e NH_4OH

4.2 Coating su vetro

Tramite la tecnica di Dip Coating, sono stati realizzati dei rivestimenti su vetri a partire dalle tre tipologie di soluzione citate nel paragrafo 4.1.1. per osservare l'adesione del film sol-gel al substrato nel tempo.

La scelta di iniziare le prove sperimentali su vetro è dovuta al basso costo dei vetri rispetto ai campioni di lega di magnesio, alla loro facile reperibilità e al fatto che si tratti di un materiale inerte.

I vetrini sono stati posti in stufa per 1.30 h a 120°C e, successivamente, sono state eseguite delle prove di stabilità in acqua distillata (vetrini rivestiti posti per 3 minuti in delle falcon colme di acqua distillata e poste in un bagno di ultrasuoni per 1 minuto) che, però, non hanno condotto a buoni risultati: una volta estratti i vetrini dalle falcon, i coating si sono sciolti quasi completamente in acqua.

La soluzione a base di $MgCl_2$ e NH_4OH (fig.27) ha mostrato risultati migliori rispetto alle altre (fig.26), ma nessuna di queste soluzioni forniva un coating che aderisse correttamente al vetrino.

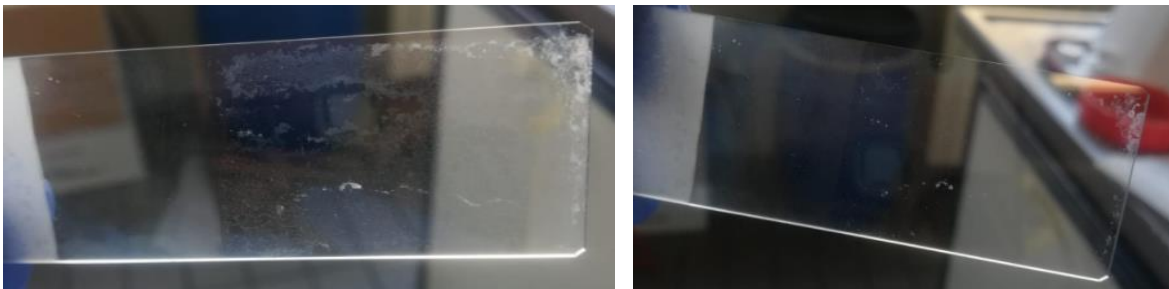


Figure 26: vetrini immersi nella soluzione a base di $Mg(NO_3)_2$ e $NaOH$ prima e dopo il trattamento con acqua distillata

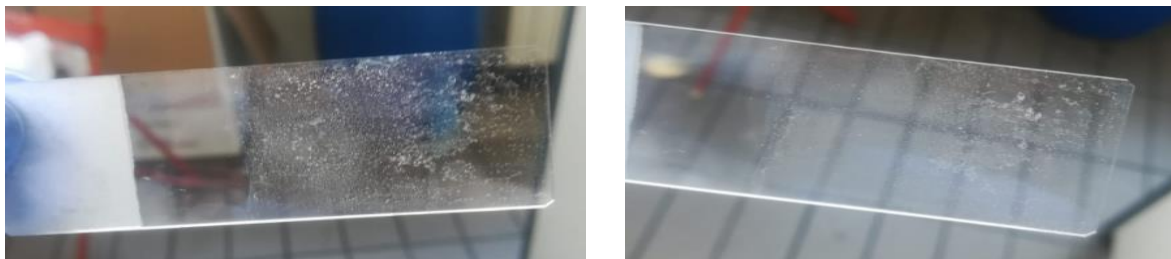


Figure 27: vetrini immersi nella soluzione a base di $MgCl_2$ e NH_4OH prima e dopo il trattamento con acqua distillata

4.2.1 Metodi di ottimizzazione per l'adesione del coating al substrato

Nell'intento di cercare un modo per far sì che il coating aderisse meglio al vetrino, è stato provato un nuovo approccio che prevede l'aggiunta di una soluzione contenente silano (3-glycidaxypropyl – trimethoxysilane, $C_9H_{20}O_5Si$) alle soluzioni sol-gel di partenza, il quale dona al coating funzione di adesione.

Nei primi esperimenti, i vetrini, una volta rivestiti tramite 1 o 3 immersioni in soluzione, sono stati tenuti all'interno della stufa per un'ora e mezza a 120°C e successivamente sono state eseguite delle prove di stabilità in acqua distillata (vetrini rivestiti posti in delle falcon colme di acqua distillata e poste in stufa a 37°C), come prova preliminare per capire se i coating avessero possibilità di restare adesi al campione una volta posti in SBF, preparata proprio in acqua distillata.

Purtroppo, gli esperimenti non sono andati a buon fine: dopo sole 24 ore, alcuni coating si sono staccati dal vetrino e sono precipitati sul fondo delle falcon e altri hanno subito un "rigonfiamento", restando adesi al vetrino solo in punti localizzati.

4.2.2 Ottimizzazione dei parametri

Per trovare una soluzione a questo problema, sono state studiate e modificate delle variabili quali: la **temperatura della stufa e tempo di permanenza** del vetrino al suo interno, il **rapporto delle quantità** della soluzione contenente il silano e di quella contenete $Mg(OH)_2$, il **tempo di permanenza** del vetrino all'interno della soluzione durante l'immersione.

Tutto questo è stato eseguito nel medesimo modo per tutte le soluzioni sol-gel di partenza.

TEMPERATURA E TEMPO DI PERMANENZA IN STUFA

È stato deciso di provare ad aumentare il tempo di permanenza dei vetrini all'interno della stufa da 1 ora e 30 minuti a 2 ore e 30 minuti. I risultati ottenuti dalle prove di stabilità in acqua sono risultati migliori, ma non ancora soddisfacenti. Quindi, sono stati rivestiti ulteriori vetrini tramite una e tre immersioni in soluzione e tenuti in stufa per 4 ore alla temperatura di 160 °C.

In questo caso, le prove di stabilità in acqua hanno portato buoni risultati: a distanza di una settimana i coating erano ancora intatti. Dopo due settimane, i rivestimenti hanno iniziato a sciogliersi, ma solo in parte, la differenza era poco visibile. Durante la terza settimana la quasi totale mancanza di aderenza del coating al substrato era chiaramente visibile.

TEMPO DI PERMANENZA DEL VETRINO ALL'INTERNO DELLA SOLUZIONE DURANTE L'IMMERSIONE

Ulteriori esperimenti sono stati effettuati con modalità di immersione differenti: vetrini rivestiti tramite 1 e 3 immersioni e tenuti in soluzione per 10 o 30 secondi prima di essere estratti. I risultati ottenuti dalla prova di stabilità in acqua sono stati i medesimi di quelli ottenuti senza modificare il tempo di permanenza in soluzione; pertanto, l'idea di cambiare questa variabile è stata scartata.

RAPPORTO DELLE QUANTITÀ "SILANO / $Mg(OH)_2$ "

Ulteriori esperimenti sono stati condotti seguendo tre scenari paralleli in relazione alla proporzione "Soluzione con silano: Soluzione contenete $Mg(OH)_2$ ":

1. 1.5 : 1 ;
2. 1.5 : 2;
3. 2 : 1 .

Sono state così preparate tre soluzioni differenti in base alle concentrazioni di silano e idrossido di magnesio per ognuna delle tre soluzioni sol-gel di partenza e per ognuna di esse sono state eseguite analisi XRD per verificare la presenza di nanoparticelle di $\text{Mg}(\text{OH})_2$.

4.2.3 XRD delle polveri

Le analisi XRD delle polveri delle soluzioni NI_SI e NI_S (*vedi tabella 3*) non hanno mostrato la presenza di $\text{Mg}(\text{OH})_2$ a differenza delle altre polveri in cui è stata individuata la *Brucite* in quantità differente a seconda della soluzione in esame.

La figura 28 mostra i risultati delle analisi delle polveri delle soluzioni NI_SI e NI_S (*vedi tabella 3*), che non hanno mostrato la presenza di alcun composto in fase cristallina.

Nelle figure di questo paragrafo sono riportati i risultati delle analisi XRD relativi alle polveri di ognuna delle soluzioni contenenti silano e $\text{Mg}(\text{OH})_2$.

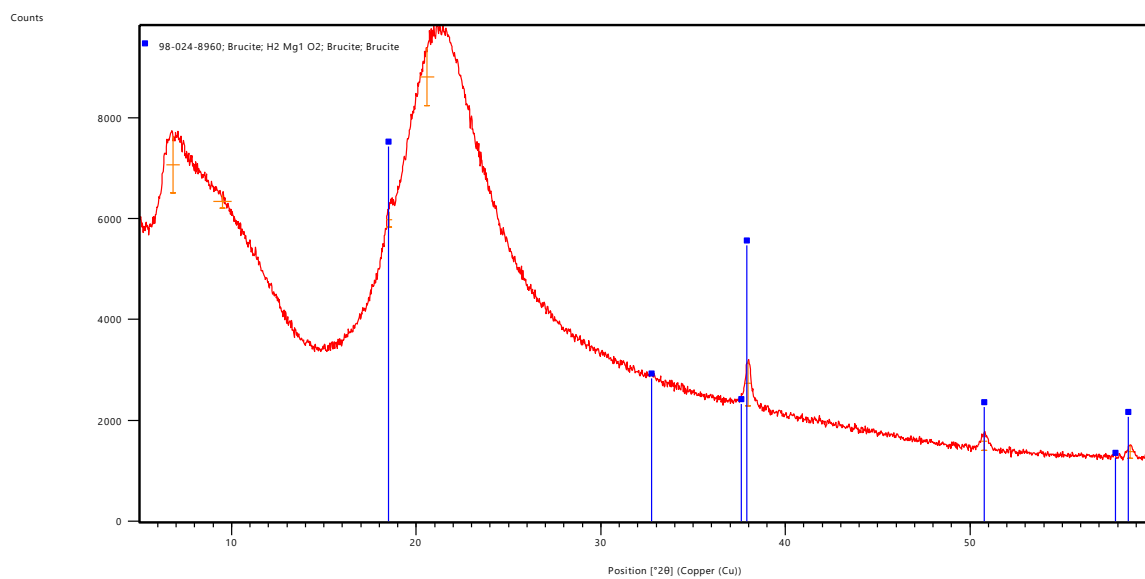
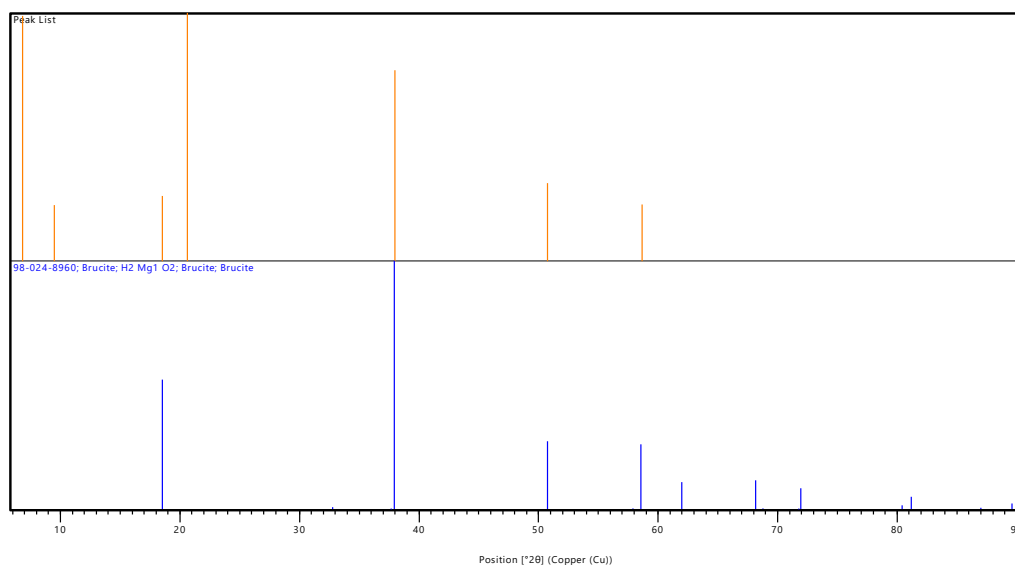


Figure 28: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C della soluzione NI_I

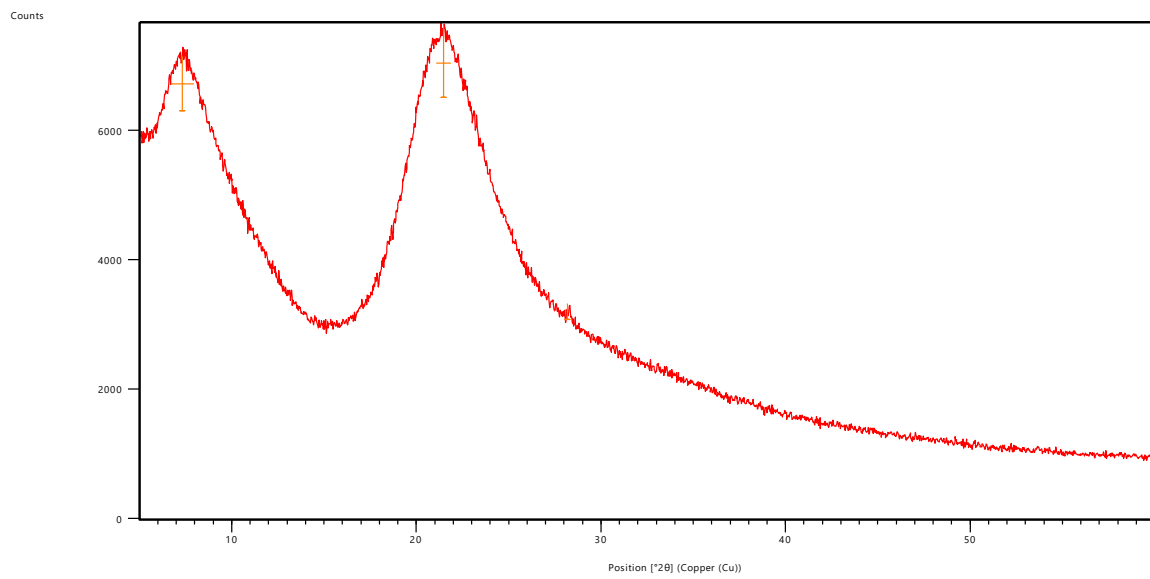
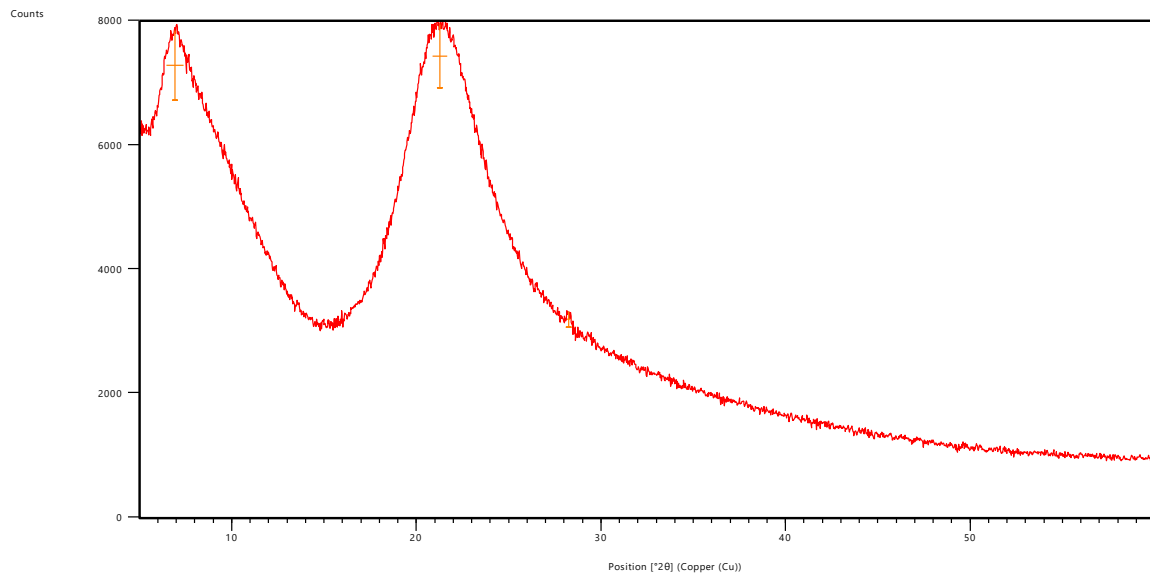


Figure 29: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C delle soluzioni NI_S e NI_SI

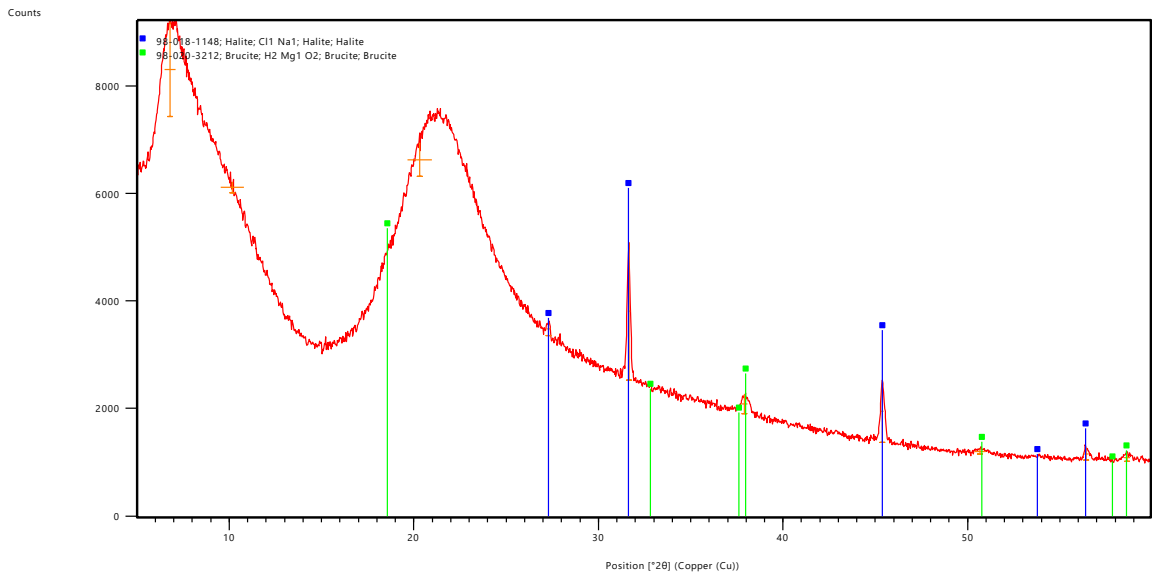
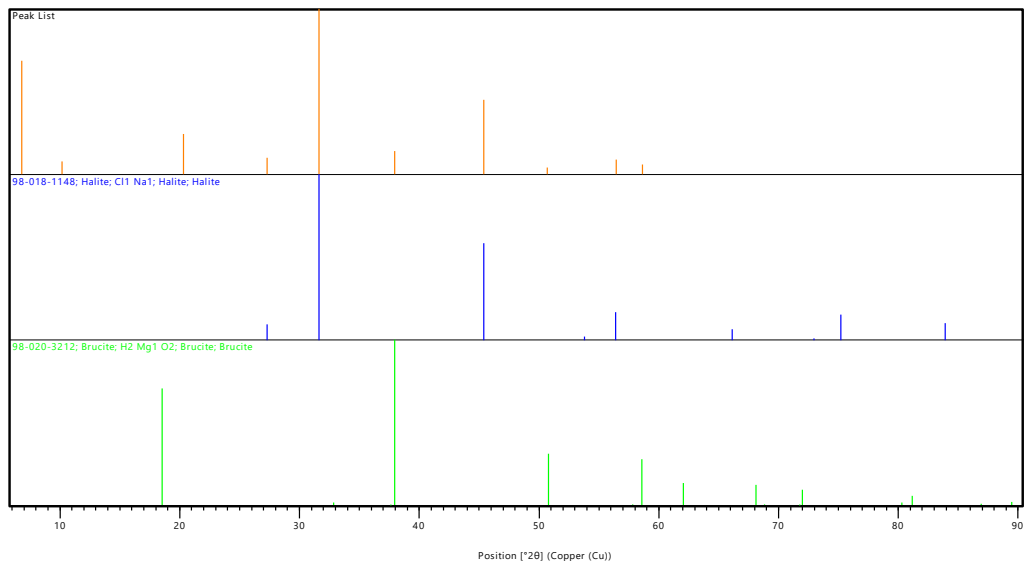


Figure 30: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C della soluzione CI_I

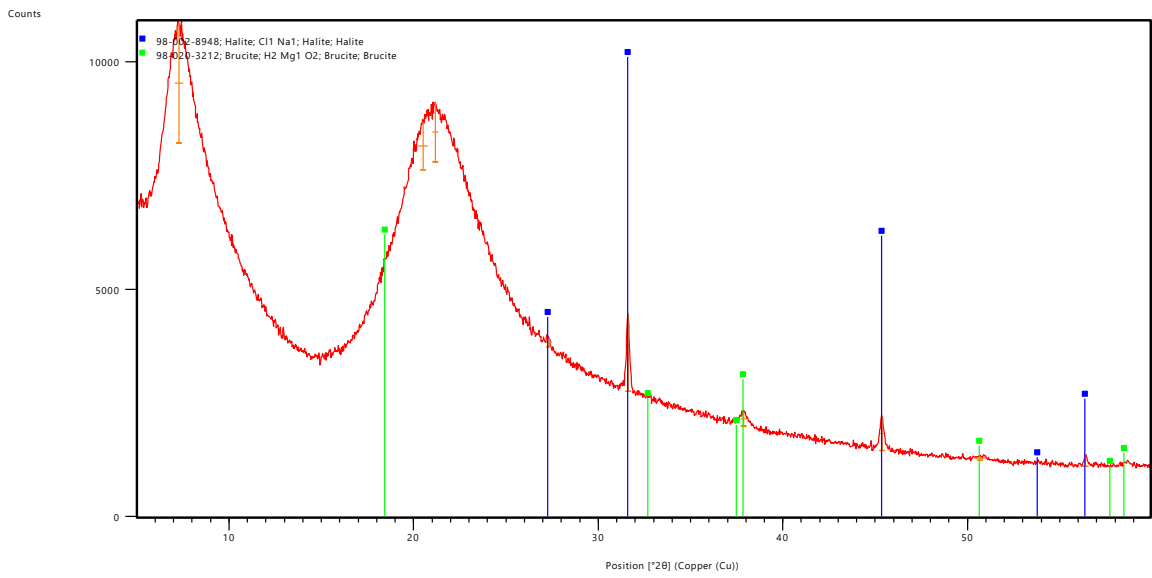
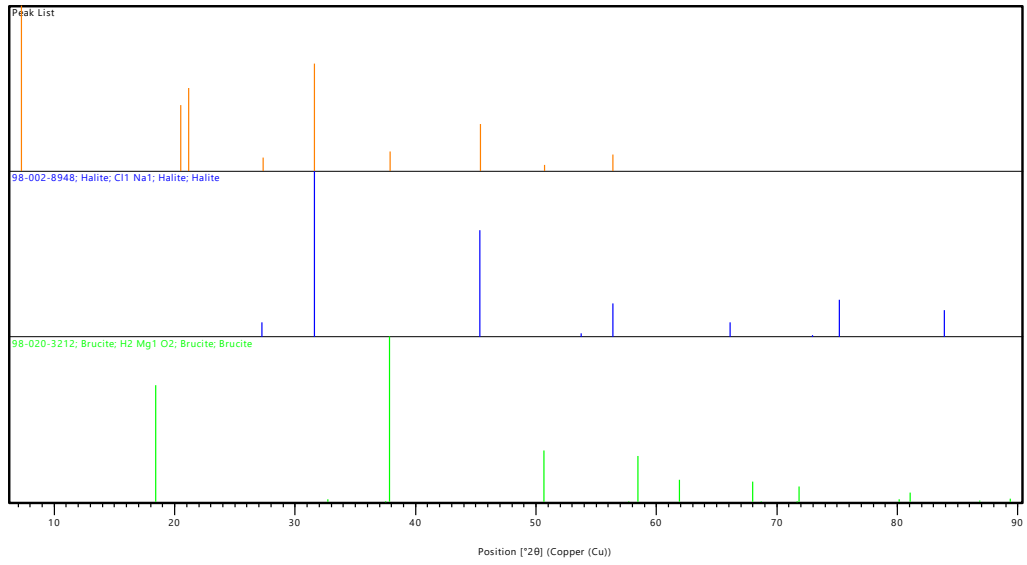


Figure 31: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C della soluzione Cl_1S

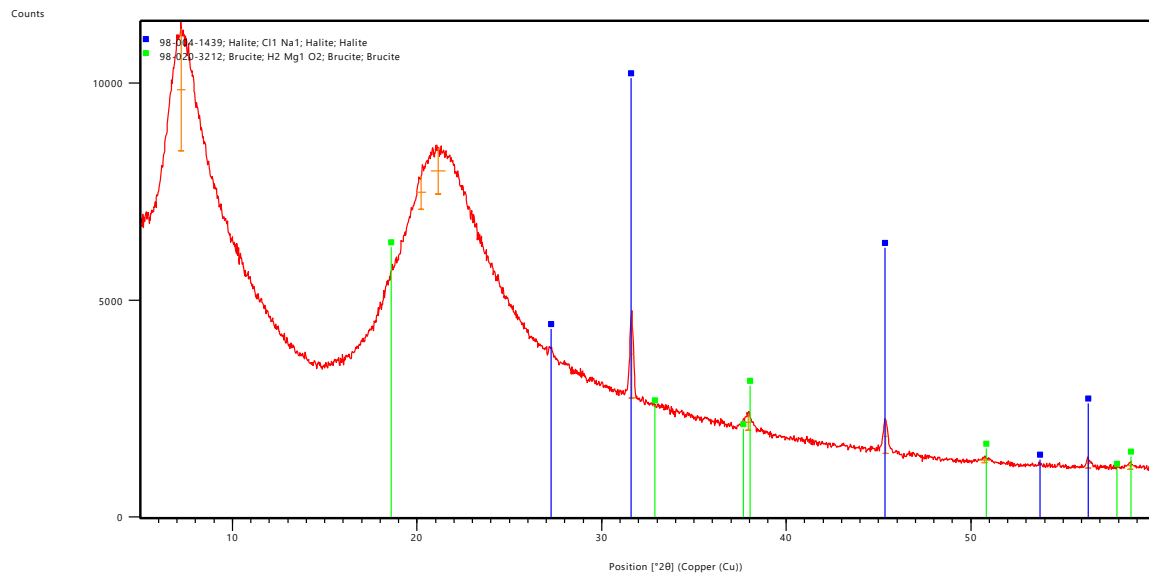
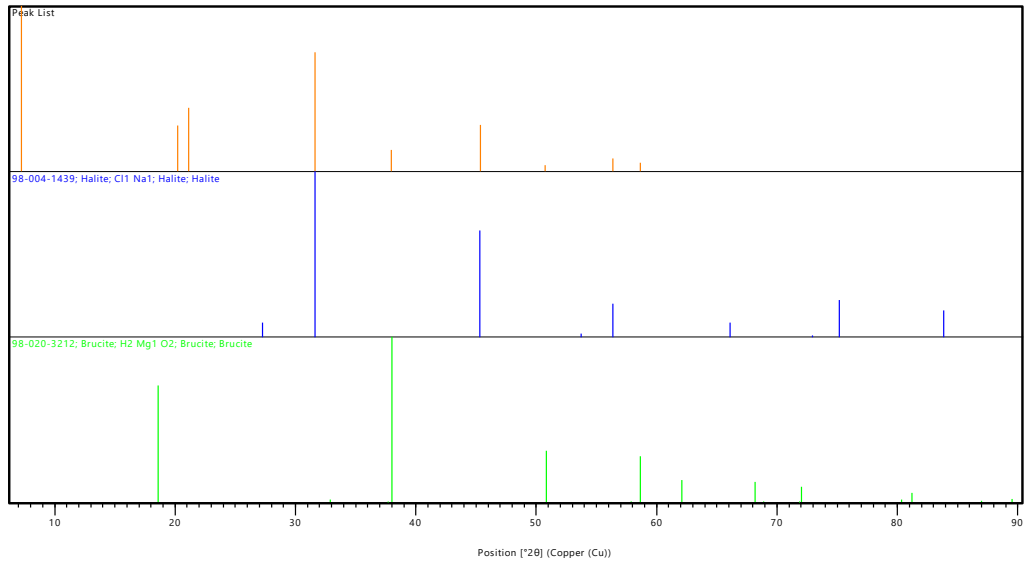


Figure 32: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C della soluzione CI_SI

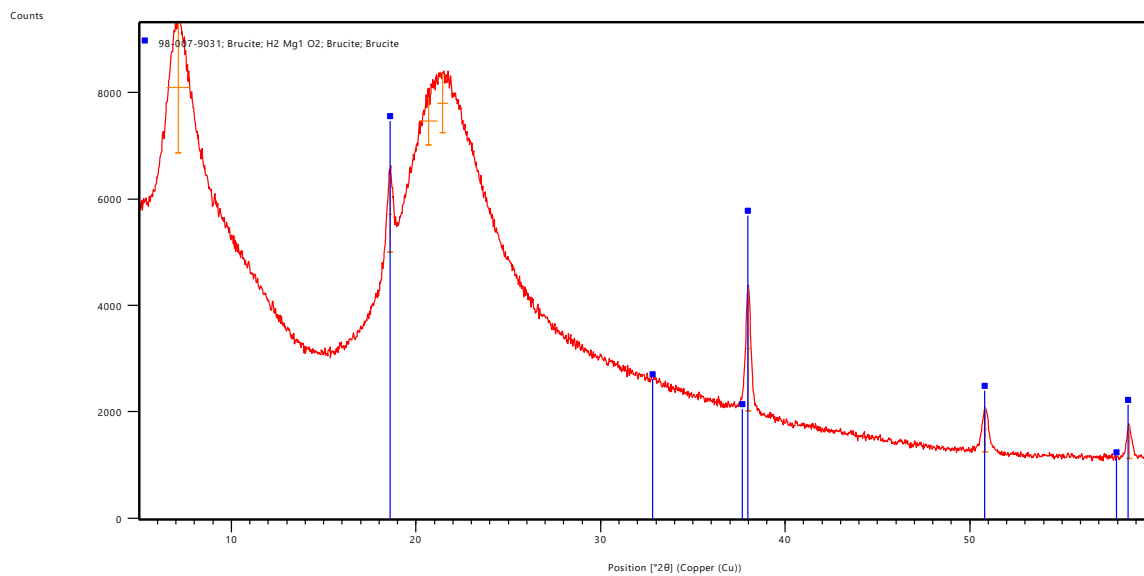
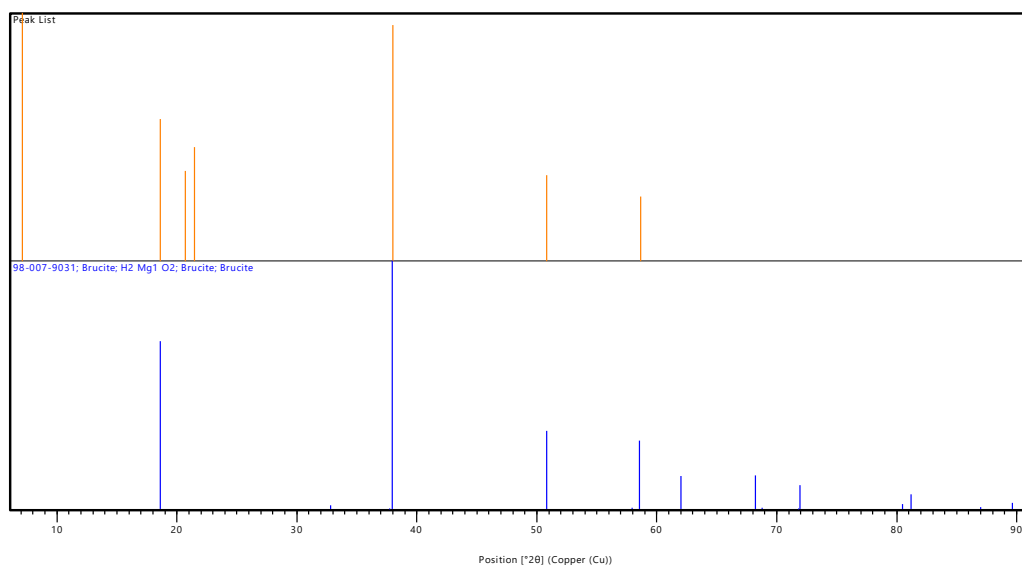


Figure 33: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C della soluzione CA_I

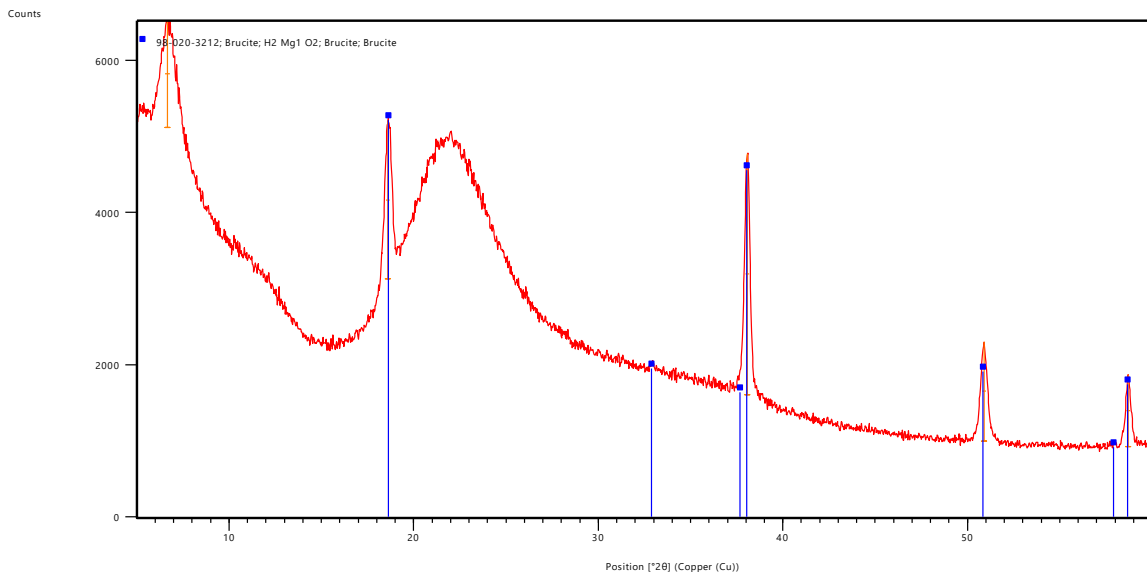
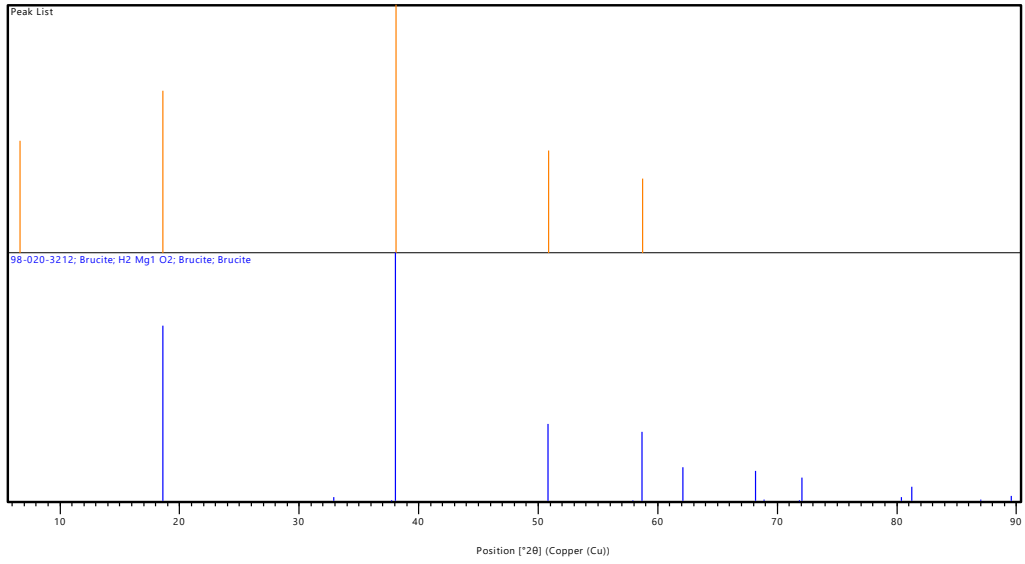


Figure 34: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C della soluzione CA_S

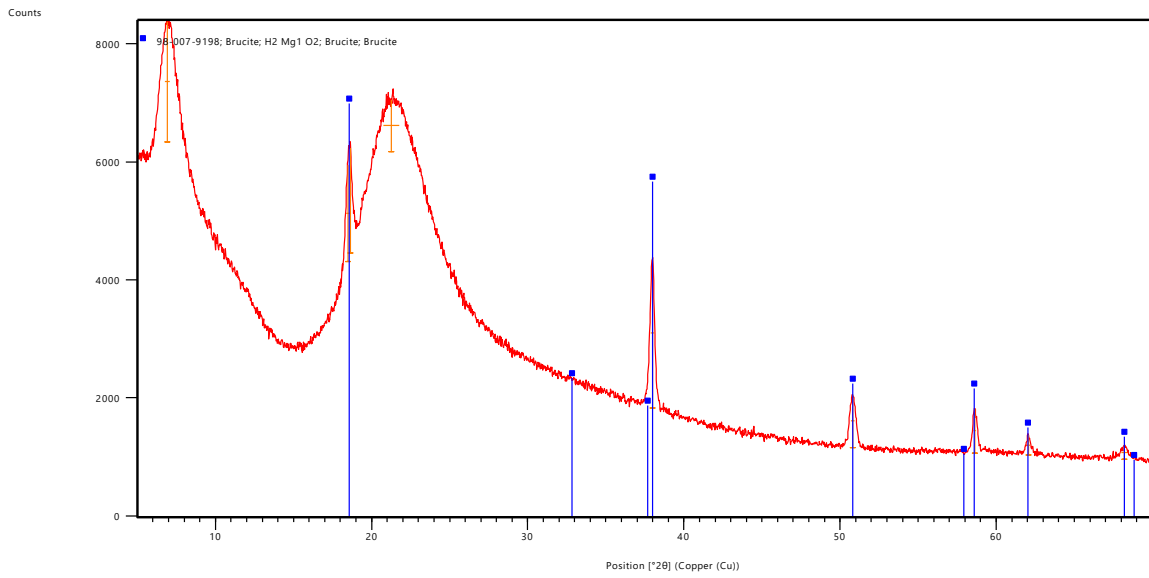
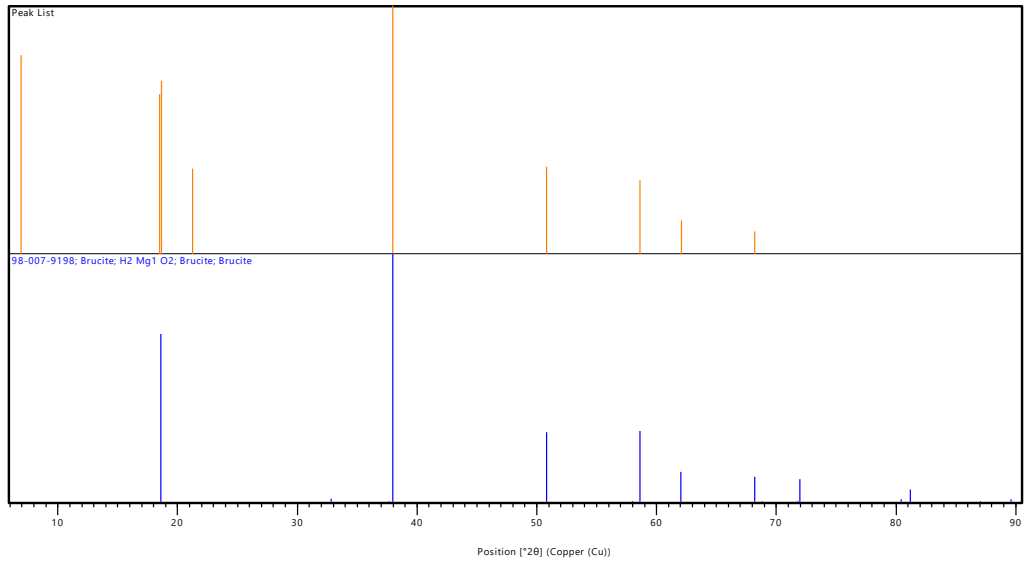


Figure 35: immagini XRD delle polveri ottenute dal trattamento termico a 160°C della soluzione CA_SI

4.2.4 Stabilità dei coating

Ognuna delle soluzioni preparate è stata utilizzata per effettuare Dip Coating su vetro con 1 e 3 immersioni.

Dopo essere stati tenuti in stufa per 4 ore a 160°C, i vetrini sono stati posti all'interno di falcon contenenti acqua distillata a 37°C all'interno della stufa e sottoposti alla prova di stabilità.

A distanza di una settimana tutti i vetrini immersi nella soluzione ottenuta a partire dalla soluzione sol-gel a base di $MgCl_2$ e NH_4OH presentavano ottimo comportamento in acqua, ovvero i coating continuavano a restare adesi al vetrino, ma a distanza di 10 giorni, solo i due vetrini con coating ottenuti tramite 1 e 3 immersioni in soluzione CA_S (vedi tabella 3) presentavano rivestimenti ancora completamente intatti.

Dopo 42 giorni, solo il vetrino rivestito tramite un'unica immersione mostrava ancora un comportamento quasi ottimale, con degradazione minima.

I rivestimenti ottenuti, invece, utilizzando la soluzione sol-gel a base di $Mg(NO_3)_2$ e $NaOH$, hanno dato risultati meno buoni. Infatti, a distanza di 3 giorni il coating ottenuto tramite 3 immersioni del vetrino nella soluzione NI_SI (vedi tabella 3) ha iniziato a degradarsi sui bordi. Lo stesso è accaduto per il vetrino rivestito tramite 3 immersioni nella soluzione NI_S (vedi tabella 3).

A distanza di 25 giorni, tutti i vetrini erano ancora completamente intatti, tranne i due appena citati.

Nelle figure 36-37-38-39-40 sono riportate le immagini di alcuni vetrini prima e dopo la prova di stabilità in acqua. Da un'analisi visiva è possibile notare come il rivestimento del vetrino ottenuto con 1 immersione in soluzione CA_S (vedi tabella 3) presenti solo una minima degradazione sul fondo a distanza di 42 giorni dall'inizio della prova di stabilità.



Figure 36: rivestimenti ottenuti tramite un'immersione nella soluzione CA_S prima e dopo 42 giorni all'interno della stufa a 37°C

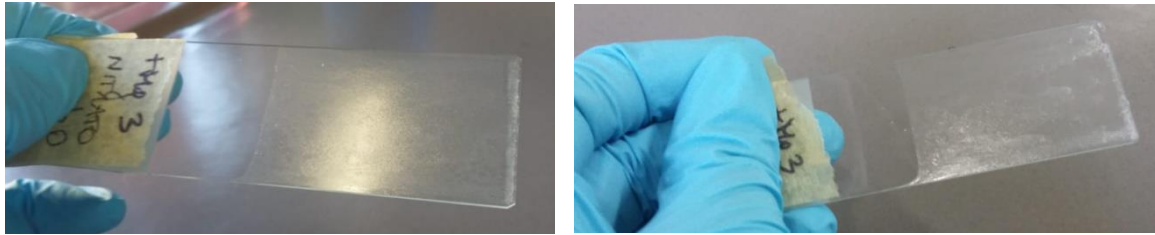


Figure 37: rivestimenti ottenuti tramite tre immersioni nella soluzione NI_I prima e dopo 25 giorni all'interno della stufa a 37°C



Figure 38: rivestimenti ottenuti tramite un'immersione nella soluzione NI_SI prima e dopo 25 giorni all'interno della stufa a 37°C

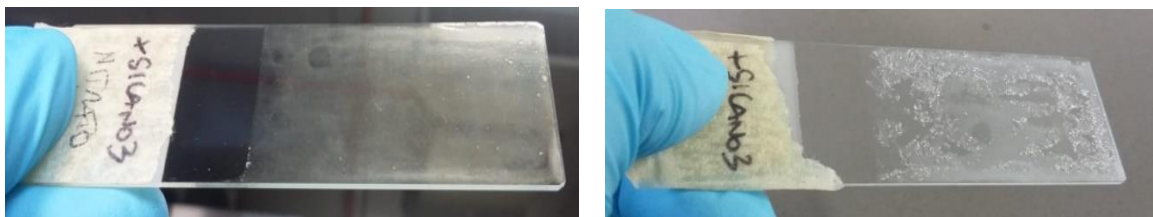


Figure 39: rivestimenti ottenuti tramite tre immersioni nella soluzione NI_S prima e dopo 25 giorni all'interno della stufa a 37°C

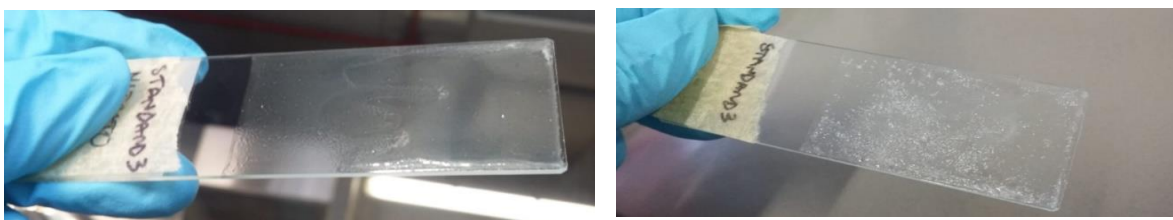


Figure 40: rivestimenti ottenuti tramite tre immersioni nella soluzione NI_SI prima e dopo 25 giorni all'interno della stufa a 37°C

4.2.5 XRD dei vetrini

Per eseguire analisi XRD sui vetrini rivestiti è stato necessario effettuare coating di circa venti immersioni per vetrino, poiché i rivestimenti ottenuti con 1 o 3 immersioni risultavano essere troppo sottili e non visibili dallo strumento di analisi. Le analisi effettuate su vetrini immersi in soluzioni CA_S, CA_SI e CA_I (vedi tabella 3) hanno mostrato la presenza di *Brucite* a differenza di quelle eseguite su vetrini immersi nelle soluzioni NI_SI, NI_S, NI_I, CI_SI, CI_S, e CI_I (vedi tabella 3), come mostrato nelle immagini sotto riportate.

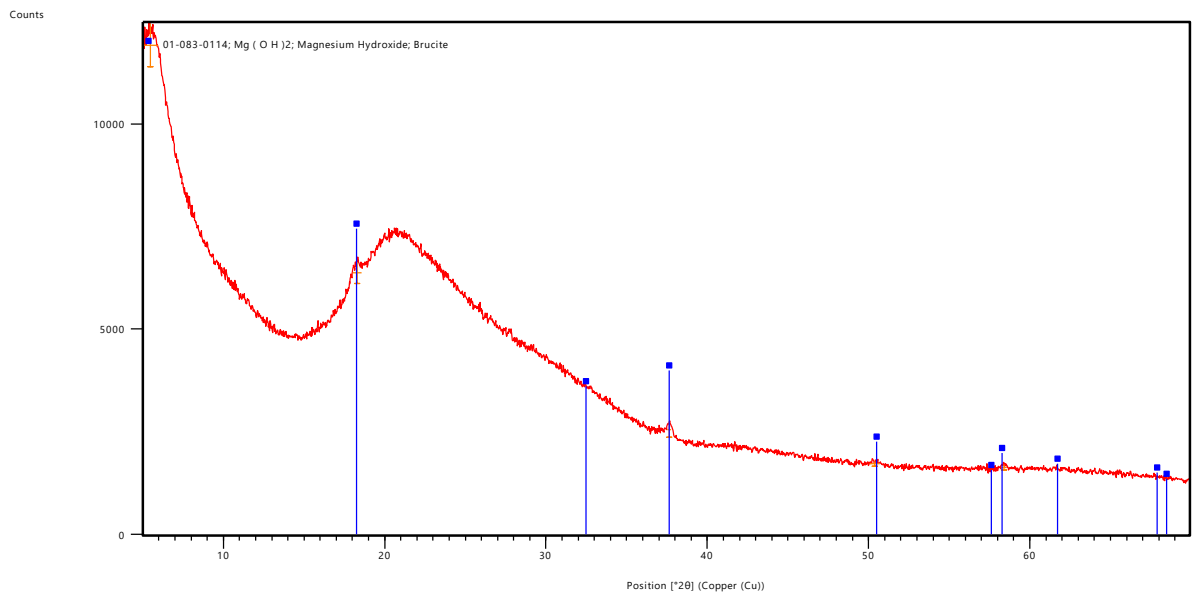
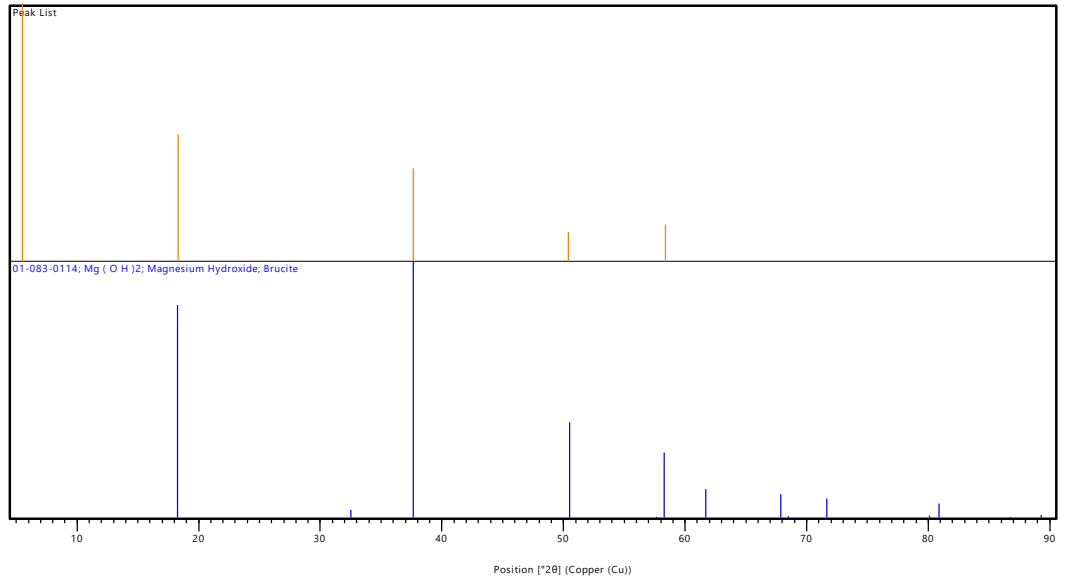


Figure 41: immagini XRD dei vetrini immersi in CA_I

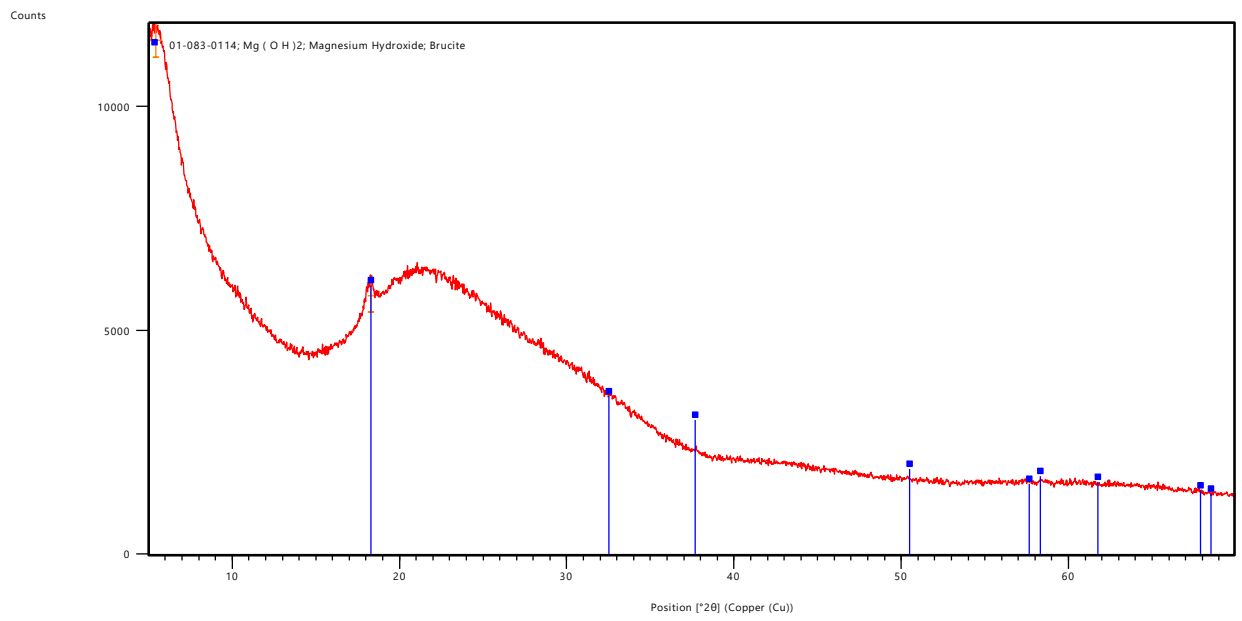
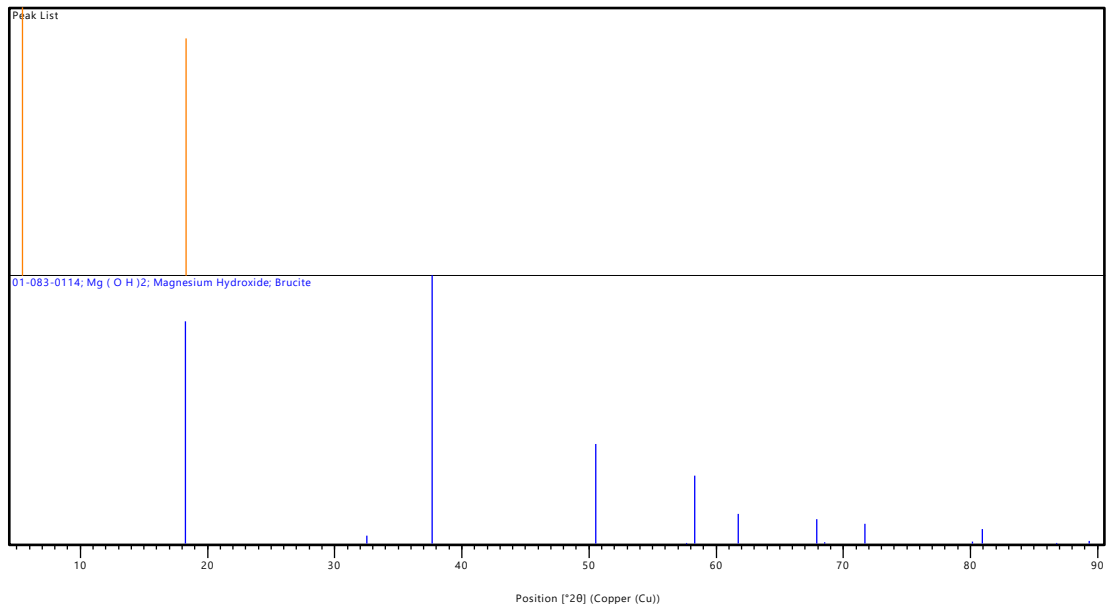


Figure 42: immagini XRD dei vetrini immersi in CA_S

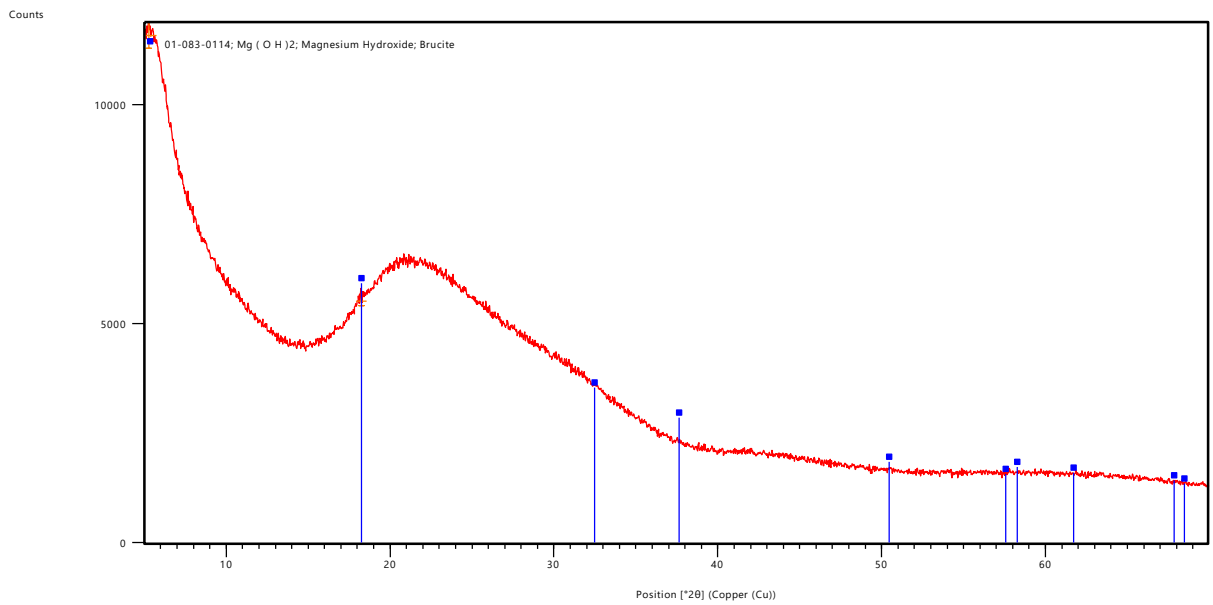
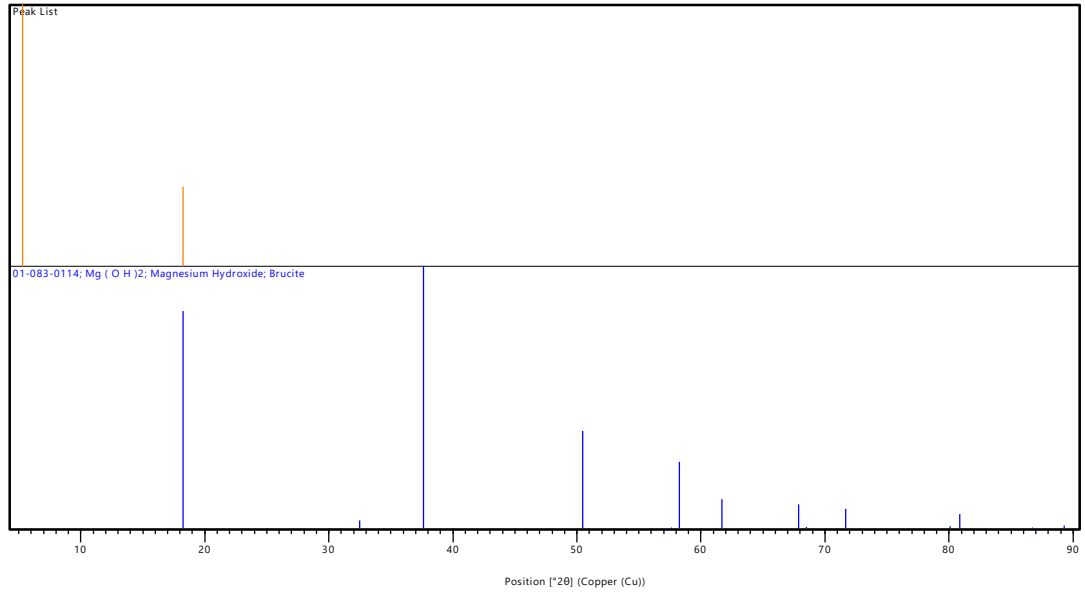


Figure 43: immagini XRD dei vetrini immersi in CA_SI

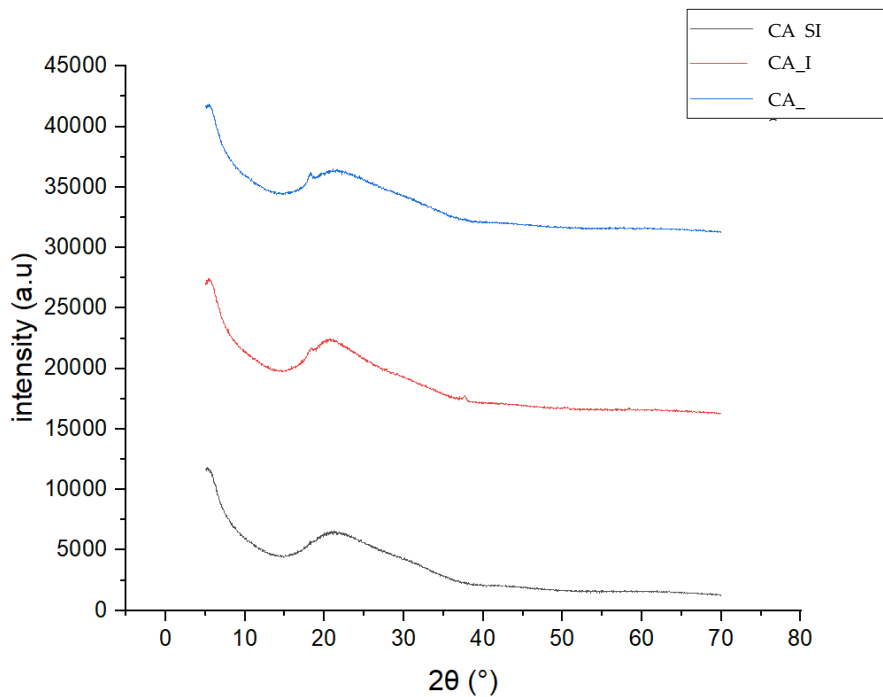


Figure 44: grafico rappresentante l'andamento dei coating CA_S, CA_I e CA_SI

4.2.6 Bagnabilità del coating

Al fine di evidenziare possibili differenze di idrofobicità tra i diversi coating e sottolineare quelle tra i vetri con coating e il vetrino controllo, sono state effettuate misure di "angoli di contatto" su tre vetri per ogni tipologia di rivestimento effettuata, a seconda della soluzione sol-gel utilizzata.

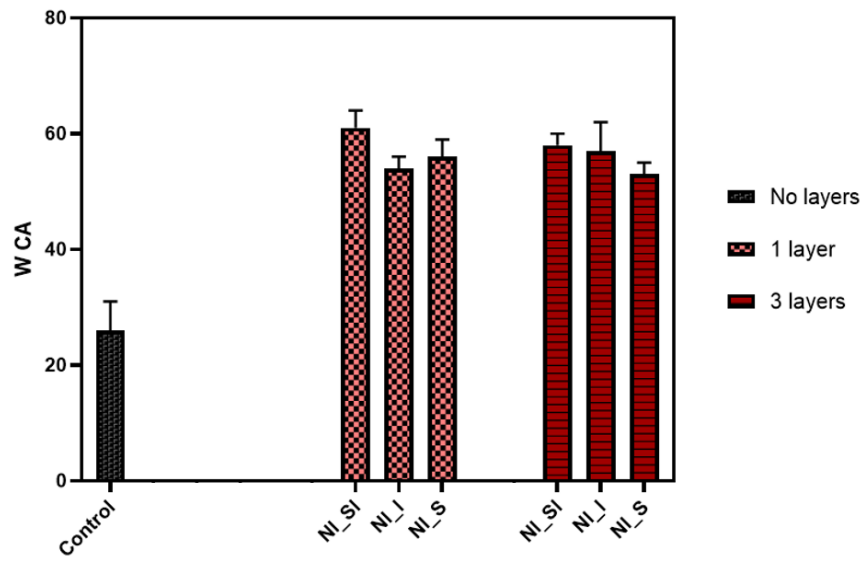


Figure 45: grafico statistico ottenuto tramite calcoli di media e deviazione standard per i vari coating basati su $Mg(NO_3)_2$ e NaOH e il controllo

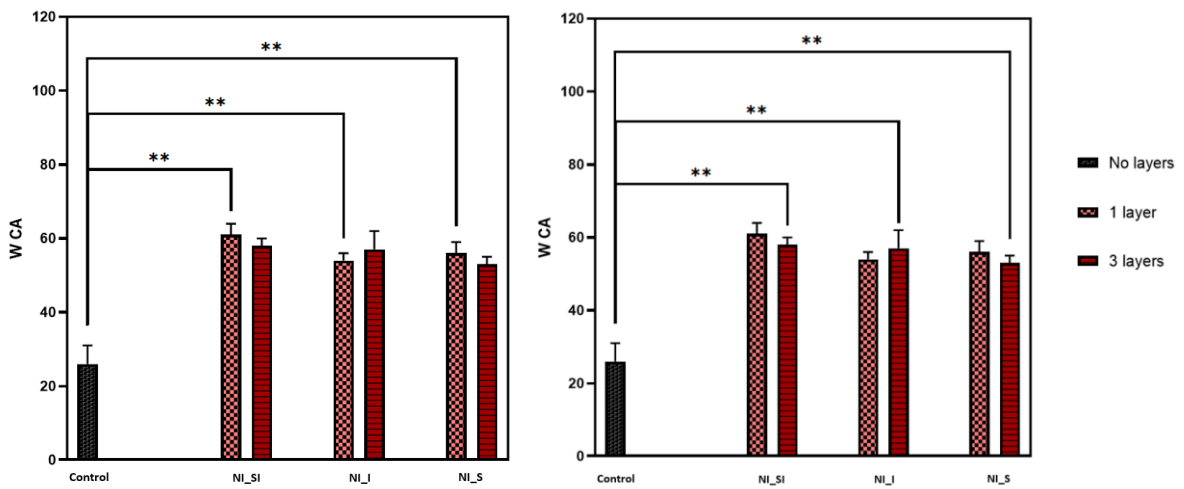


Figure 46: analisi della varianza (one-way ANOVA test) per il confronto tra i vari coating basati su $Mg(NO_3)_2$ e NaOH e il controllo

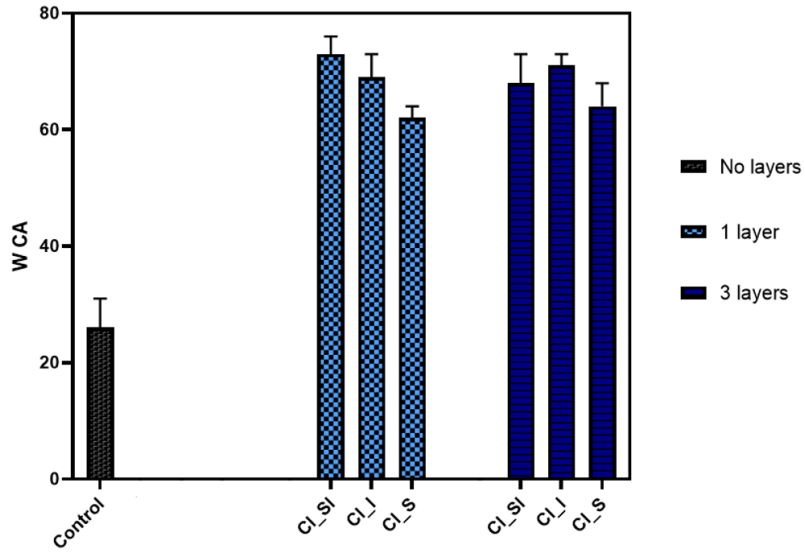


Figure 47: grafico statistico ottenuto tramite calcoli di media e deviazione standard per i vari coating basati su $MgCl_2$ e $NaOH$ e il controllo

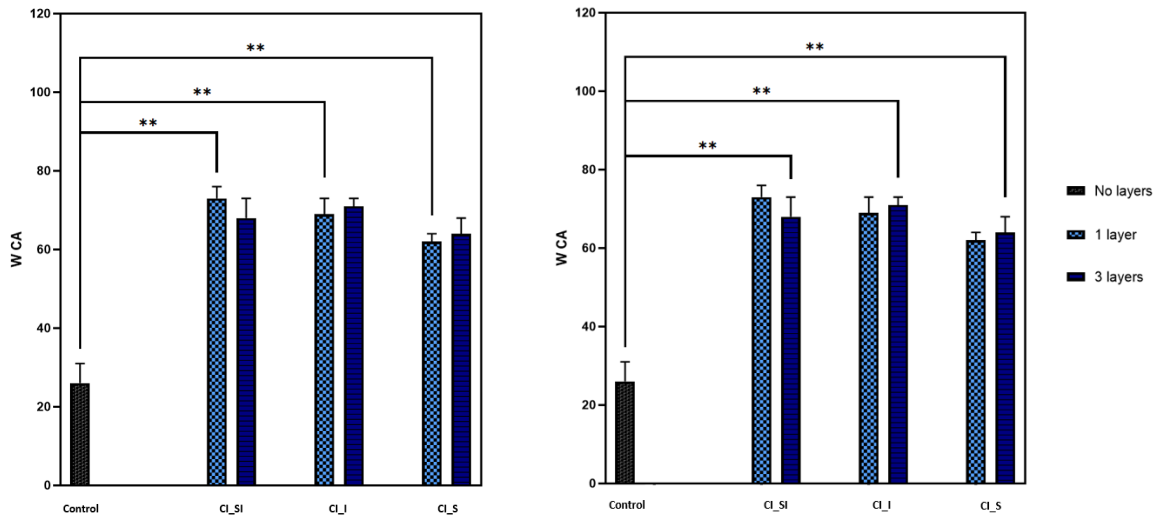


Figure 48: analisi della varianza (one-way ANOVA test) per il confronto tra i vari coating basati su $MgCl_2$ e $NaOH$ e il controllo

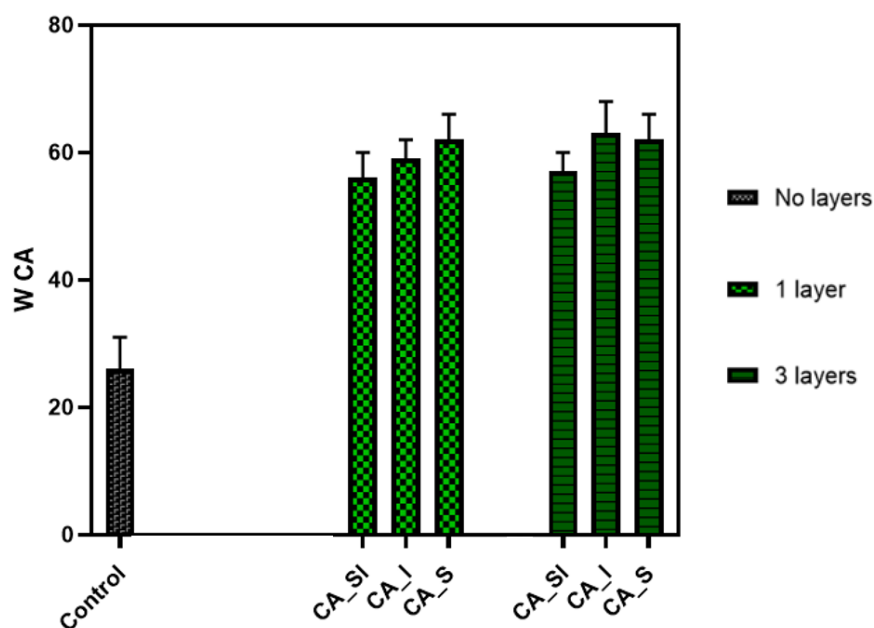


Figure 49: grafico statistico ottenuto tramite calcoli di media e deviazione standard per i vari coating basati su $MgCl_2$ e NH_4OH e il controllo

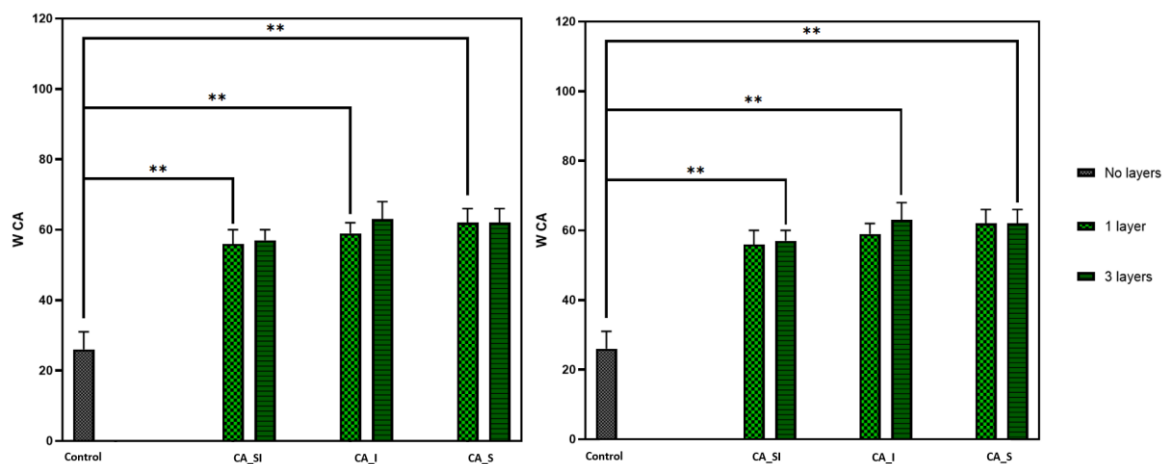


Figure 50: analisi della varianza (one-way ANOVA test) per il confronto tra i vari coating basati su $MgCl_2$ e NH_4OH e il controllo

Quello che si nota dai grafici statistici della varianza (one-way ANOVA test) è che, indipendentemente dal tipo di soluzione utilizzata per il coating e dal numero di immersioni, la presenza di un coating attorno al substrato fornisce al campione un maggior grado di idrofobicità. In particolare, i coating a base di $MgCl_2$ e $NaOH$ forniscono il più alto grado di idrofobicità e quelli a base di $Mg(NO_3)_2$ e $NaOH$ il più basso.

Osservando i risultati relativi alle analisi XRD effettuate su vetrini e polveri, alle prove di stabilità in acqua dei vetrini e tenendo conto dei test statistici, i rivestimenti CA_S (vedi tabella 3) a 1 e 3 immersioni sono risultati essere i coating migliori. Pertanto, si è deciso di proseguire gli esperimenti su campioni di lega di magnesio AZ31, scegliendo come rivestimento sol-gel quello relativo alla soluzione CA_S (vedi tabella 3).

4.3 XRD campioni in lega di magnesio AZ31

Le analisi XRD riportate in questo paragrafo sono relative ai campioni CA_S (vedi tabella 3) con rivestimento ad 1 e 3 strati, che mostrano non solo la presenza di *Brucite* ($\text{Mg}(\text{OH})_2$), ma anche di *Periclase* (MgO), a differenza del campione non trattato che presenta solo Mg (Figura 51).

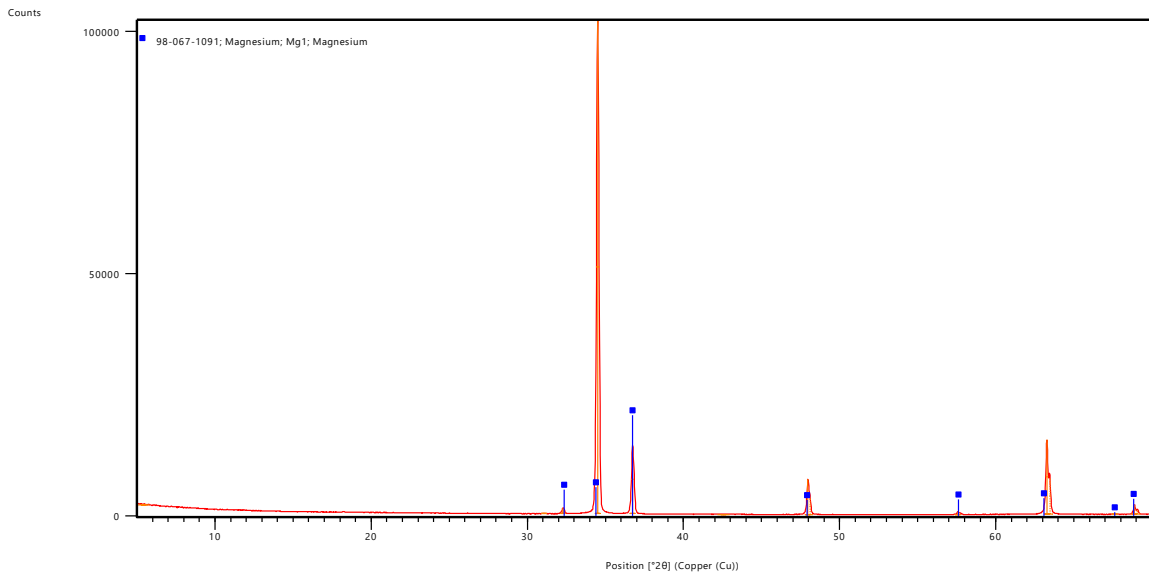
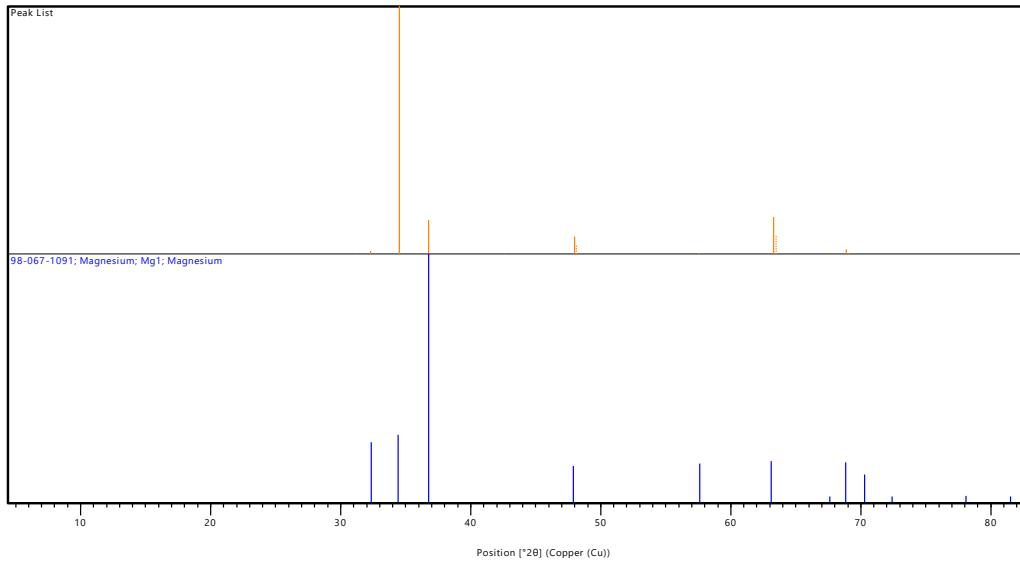


Figure 51: immagine XRD del campione in lega di magnesio AZ31 non trattato

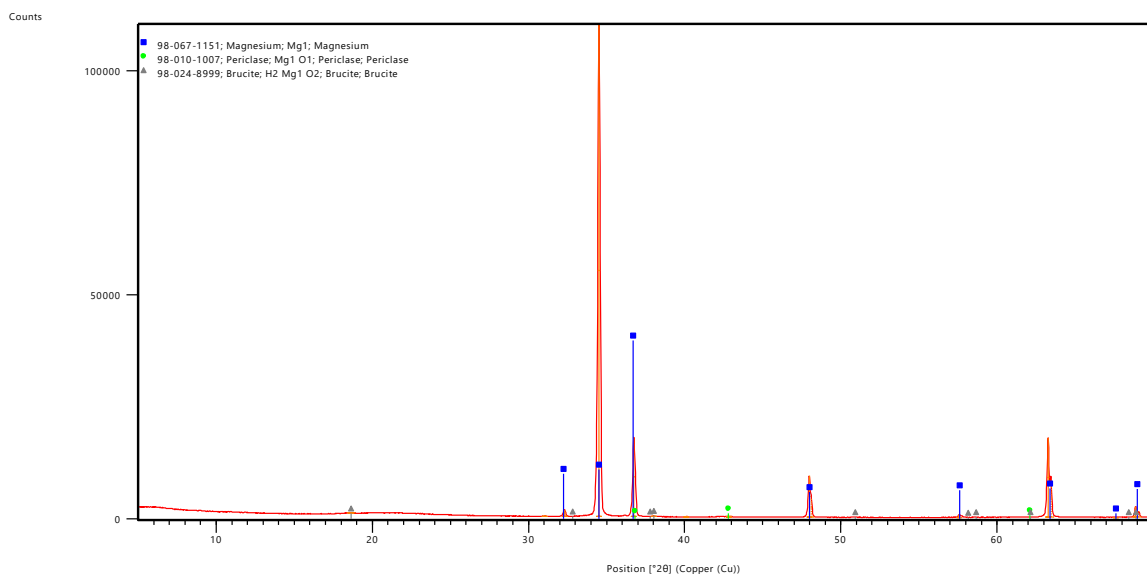
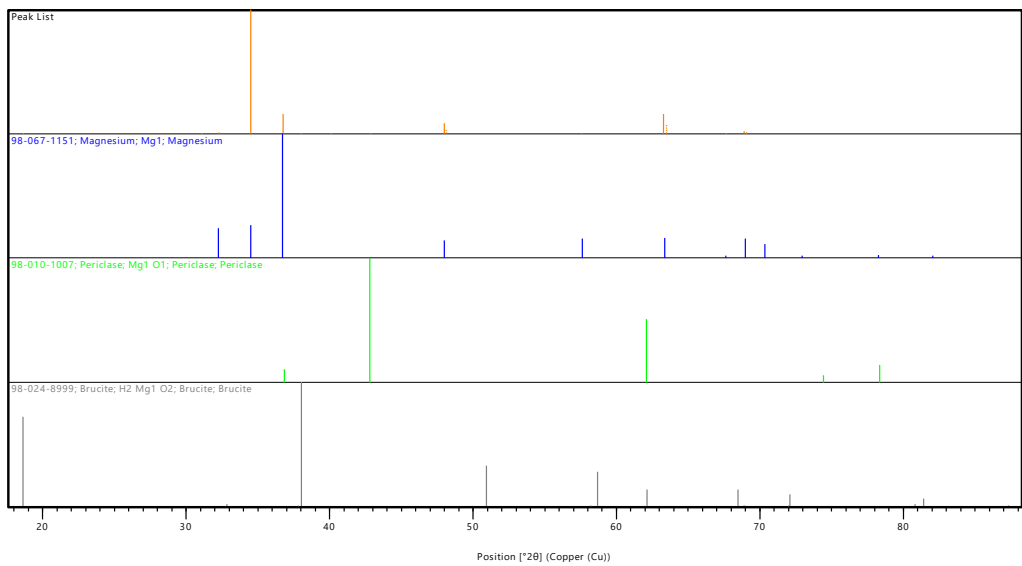


Figure 52: immagini XRD dei campioni CA_S rivestiti tramite 1 immersione

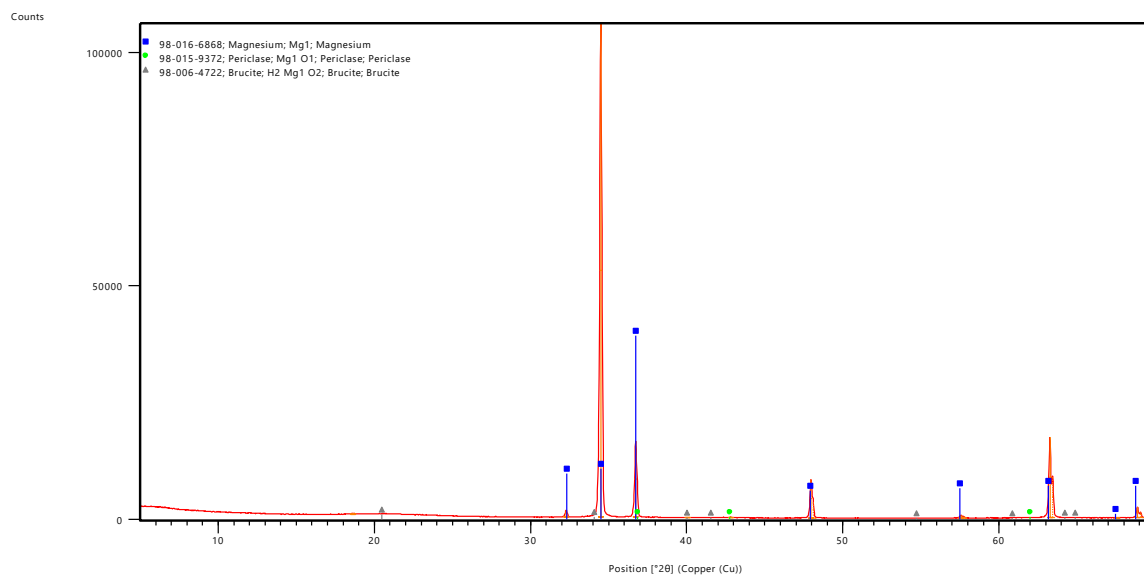
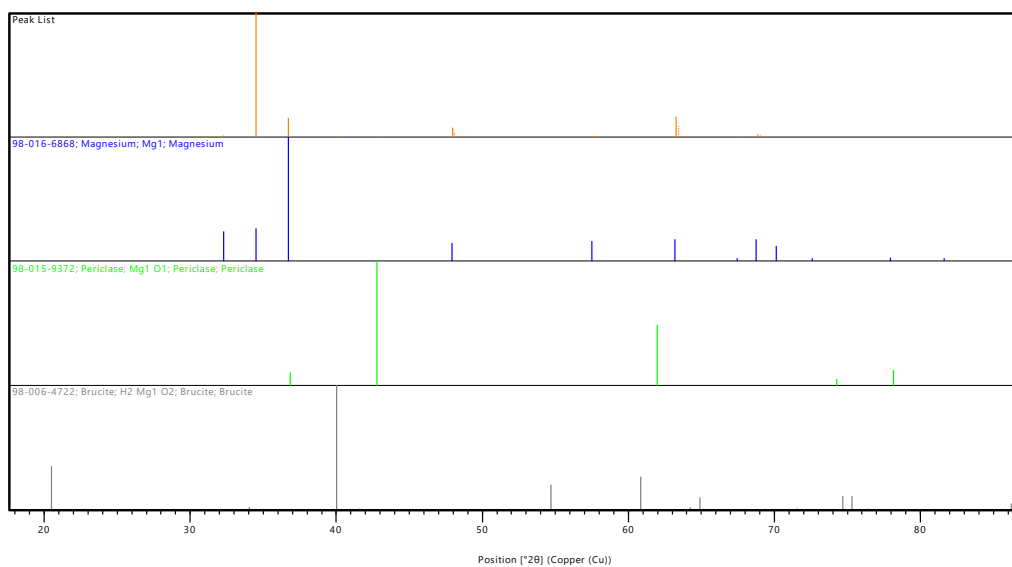


Figure 53: immagini XRD dei campioni CA_S rivestiti tramite 3 immersioni

4.4 Prove di degradazione in SBF

In figura 54 sono mostrate le immagini al microscopio ottico dopo 7 giorni di immersione in SBF per le tre tipologie di campioni testate.

In tabella 7 invece sono rappresentati, per i medesimi campioni, i risultati dei test di degradazione espressi come variazione media di massa e relativa deviazione standard.

In figura 55 e tabella 8 sono riportati gli stessi risultati per i campioni degradatisi a 14 giorni. Lo stesso vale per la figura 56 e la tabella 9 per i campioni degradatisi a 21 giorni.

7 GIORNI

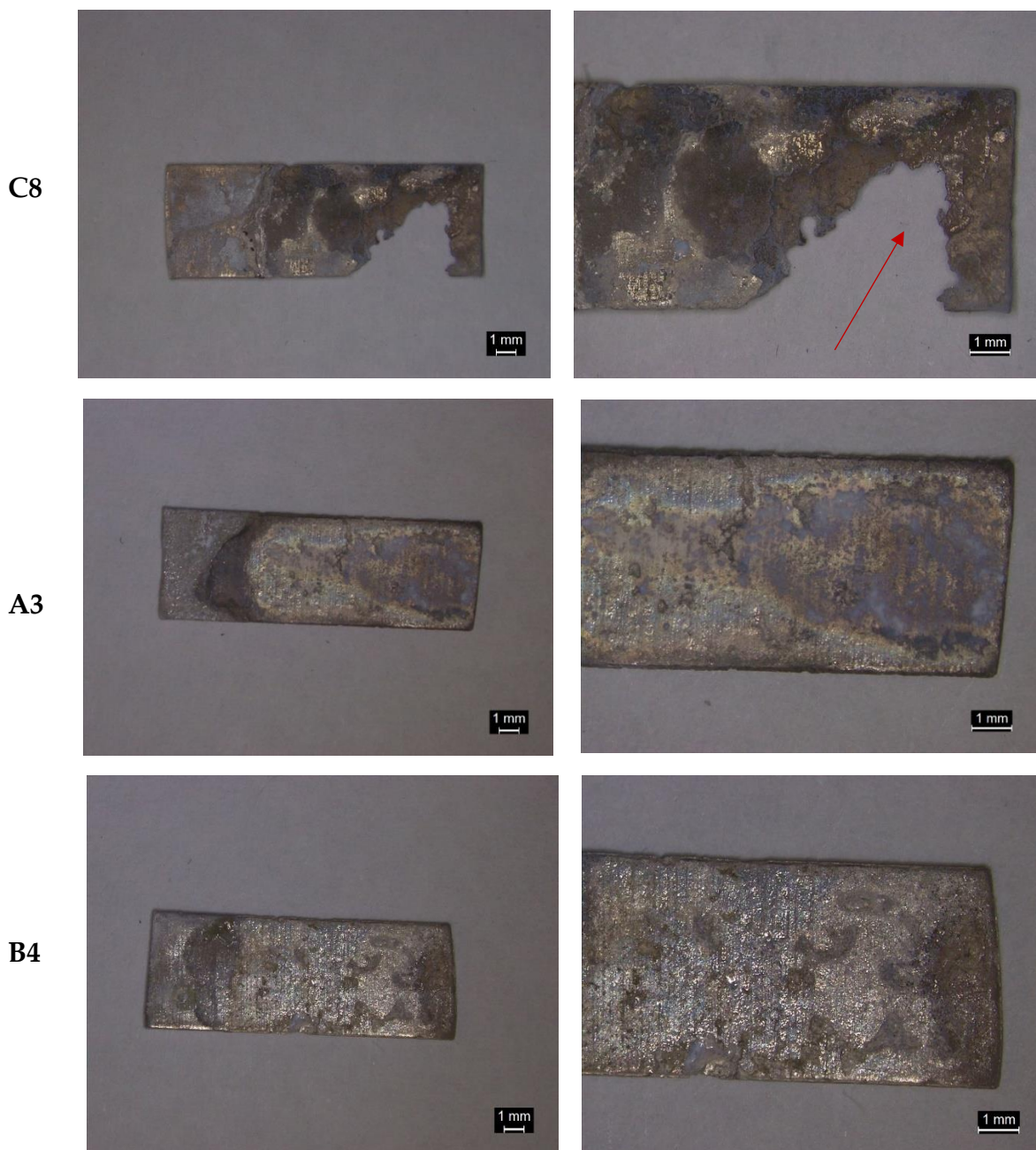


Figure 54: immagini al microscopio ottico dopo 7 giorni di degradazione in SBF per le tre tipologie di campioni utilizzate

Osservando le immagini si nota come il magnesio non trattato mostri un grado di degradazione, mentre i campioni di magnesio funzionalizzati non presentano alcun segno di degradazione.

NOME CAMPIONE	PESO INIZIALE [mg]	PESO DOPO 7 GIORNI IN SBF [mg]	VARIAZIONE MEDIA DI MASSA
C1	65	47	-30,5% ± 0
C6	54	36	
C8	59	41	
A2	66	60	-10,1% ± 0,06%
A3	58	52	
A9	64	57	
B4	64	59	-9,7% ± 0,23%
B5	59	54	
B6	71	62	

Table 7: variazione di massa media dopo 7 giorni di degradazione in SBF per i campioni C1, C6, C8, A2, A3, A9, B4, B5 e B6

14 GIORNI

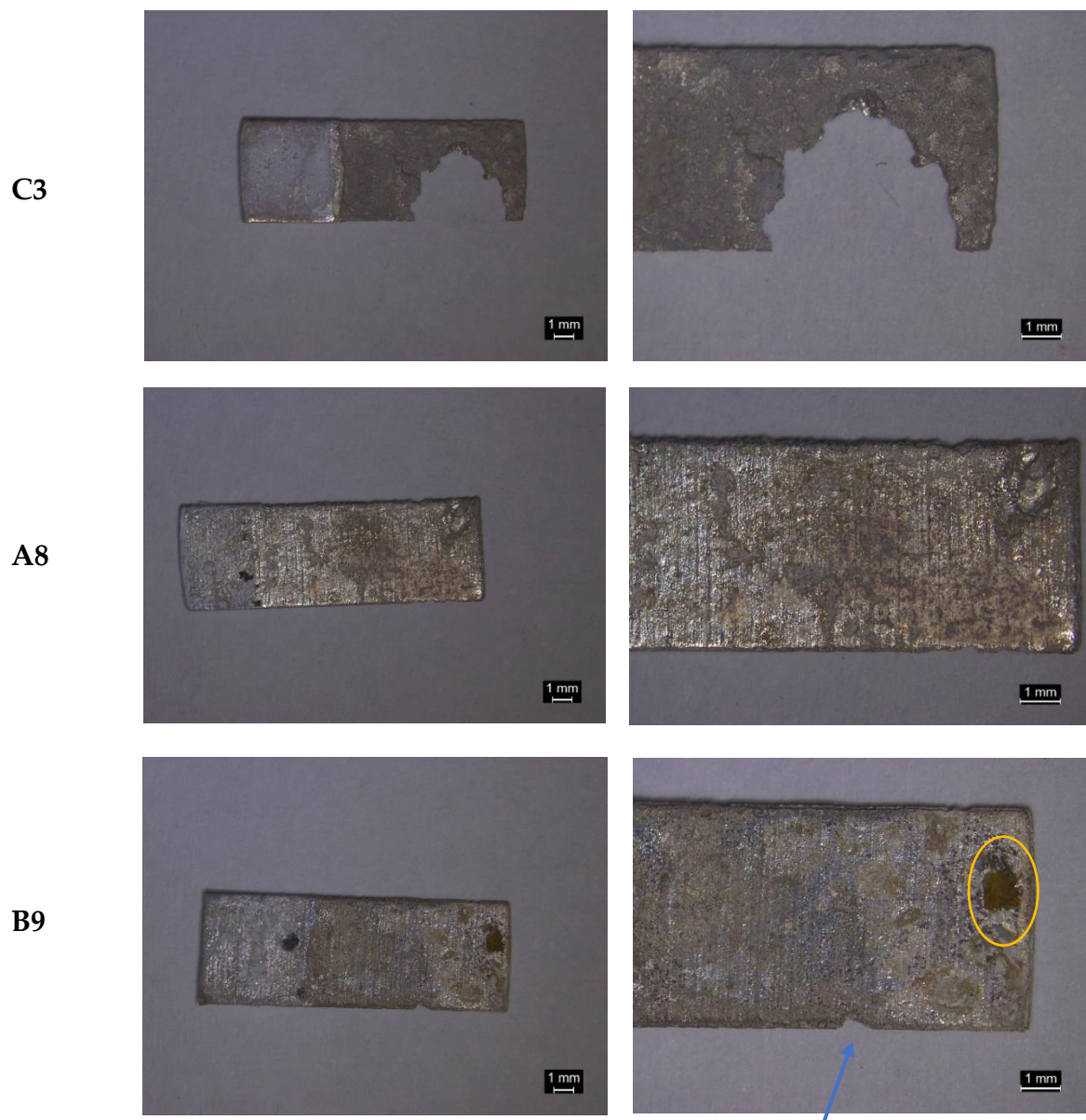


Figure 55: immagini al microscopio ottico dopo 14 giorni di degradazione in SBF per le tre tipologie di campioni utilizzate

Anche dopo 14 giorni in SBF, il campione di controllo continua a presentare una minor resistenza alla corrosione rispetto agli altri campioni trattati. E' infatti possibile notare dalle immagini l'alto grado di corrosione del campione C3.

In questo caso lo stato di corrosione e degradazione dei campioni trattati tramite 1 e 3 immersioni è molto simile: sul campione A8 si nota un maggior numero di pori rispetto al campione B9, che invece presenta segni di degradazione principalmente su uno degli spigoli del campione (freccia blu).

Inoltre, è possibile vedere la disomogeneità del coating del campione B9, osservando un inspessimento del coating sul fondo del campione (cerchio giallo).

NOME CAMPIONE	PESO INIZIALE [mg]	PESO DOPO 14 GIORNI IN SBF [mg]	VARIAZIONE MEDIA DI MASSA
C2	59	50	-21,9% ± 0,4%
C5	65	49	
C3	62	46	
A8	62	58	-6,6% ± 0,06%
A4	71	66	
A1	64	60	
B2	62	57	-9,2% ± 0,17%
B9	69	61	
B7	63	58	

Table 8: variazione di massa media dopo 14 giorni di degradazione in SBF per i campioni C2, C5, C3, A8, A4, A1, B2, B9 e B7

21 GIORNI

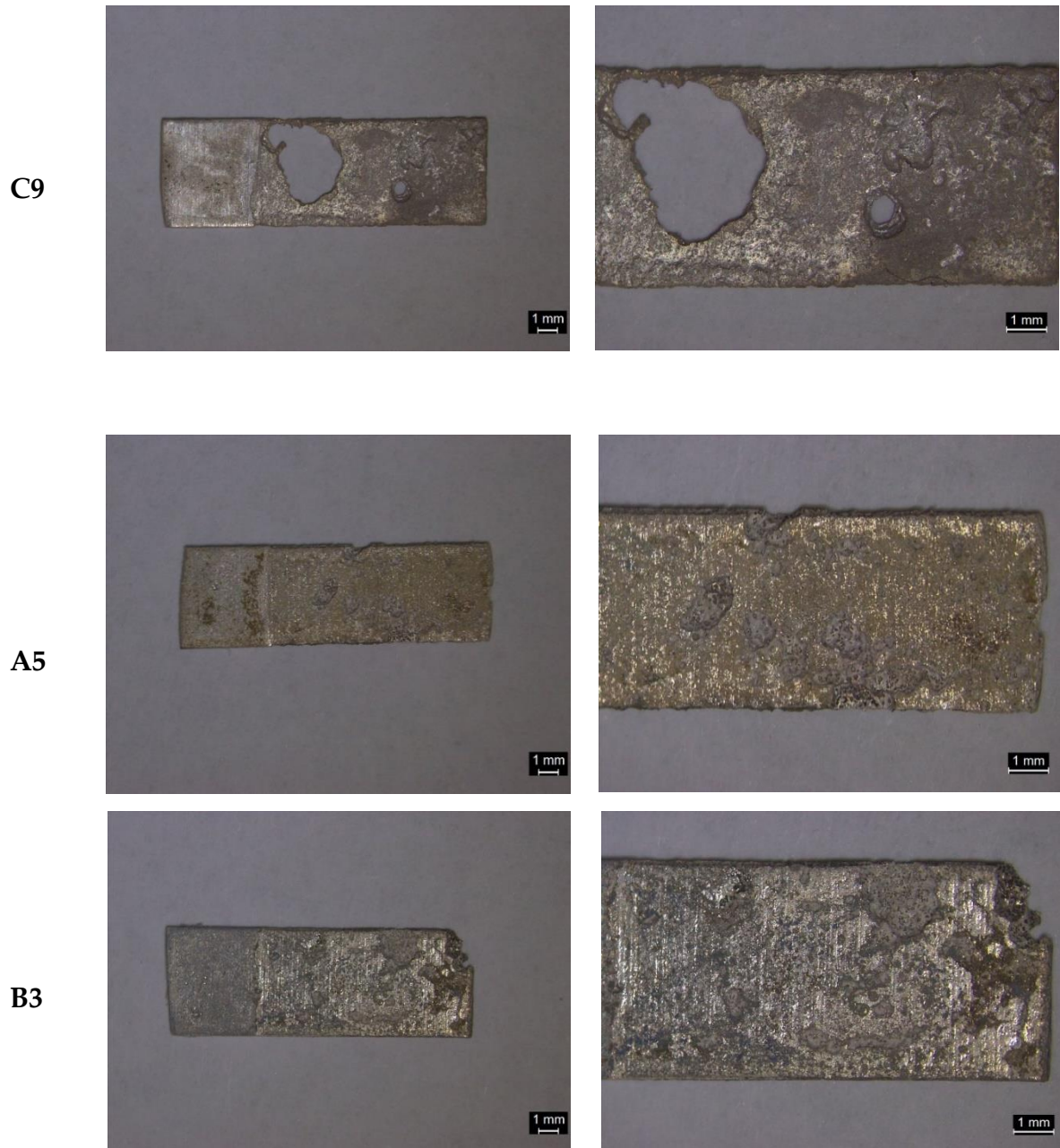


Figure 56: immagini al microscopio ottico dopo 21 giorni di degradazione in SBF per le tre tipologie di campioni utilizzate

Osservando le immagini si può notare un generale deterioramento lungo tutta la superficie esposta a degradazione sia nel campione ad 1 immersione che in quello

a 3. È infatti possibile vedere pori sia nel campione A5 che in quello B3. Il campione A5 mostra comunque una resistenza alla corrosione migliore rispetto al campione B3.

NOME CAMPIONE	PESO INIZIALE [mg]	PESO DOPO 21 GIORNI IN SBF [mg]	VARIAZIONE MEDIA DI MASSA
C4	66	45	-29,7% ± 0,26%
C9	58	41	
C7	57	41	
A5	60	53	-11,8% ± 0,15%
A6	64	55	
A7	62	56	
B1	64	55	-14,75% ± 0,06%
B3	66	56	
B8	67	57	

Table 9: variazione di massa media dopo 21 giorni di degradazione in SBF per i campioni C4, C9, C7, A5, A6, A7, B1, B3 e B8

La soluzione di degradazione è fondamentale nel momento in cui si vogliono eseguire degli esperimenti in vitro, per far sì che la situazione simuli al meglio possibile la condizione in vivo.

Solitamente, nel caso di leghe di magnesio e per sperimentarne la degradazione, le soluzioni utilizzate sono l'Hank's Balanced Salt Solution [40,52] e il Simulated Body Fluid (SBF) [1,25,53] o in generale soluzioni contenenti NaCl [13,22,54].

Il motivo per cui in questo lavoro di tesi si è utilizzato l'SBF è dovuto al suo più ampio utilizzo in letteratura [1,6,25], per un confronto diretto con i lavori di tesi eseguiti precedentemente in quest'ambito e poiché presenta la composizione più simile al plasma [38,39].

La scelta dei campioni da estrarre ad ogni time point si è basata sulle loro condizioni: ad ogni time point sono stati selezionati tre campioni per ogni tipologia, estratti dall'SBF e successivamente analizzati.

Questo mette luce sul fatto che nonostante più campioni siano stati trattati allo stesso modo, le loro condizioni sono risultate apparentemente differenti: alcuni possedevano una resistenza alla degradazione più elevata di altri. Una possibile causa potrebbe essere correlata alla velocità di immersione del Dip-Coater utilizzato per immergere i campioni in soluzione. Come già accennato nel capitolo 1 infatti,

per velocità di estrazione troppo elevate, il coating che si sta venendo a formare intorno al substrato non ha il tempo di evaporare del tutto facendo sì che la forza di gravità trascini verso il basso parte del solvente che il substrato sta tirando su con sé. Inoltre, l'evaporazione troppo rapida del coating può portare alla formazione di cricche e pori, influenzando la morfologia del coating e gravando sulla resistenza alla corrosione del sistema. La velocità di estrazione critica rappresenta il limite di velocità per cui vi è un aumento dello spessore del coating, ma, superato questo, il coating inizia a presentare i problemi appena citati. La velocità critica dipende dalla soluzione in cui viene immerso il campione, pertanto varia da soluzione a soluzione; quindi, è possibile che la velocità della guida mobile del Dip-Coater impostata e utilizzata in questo lavoro di tesi sia troppo elevata e superi la velocità critica. Quest'ipotesi è avvalorata dal fatto che i campioni trattati in questo lavoro di tesi, dopo la loro immersione in soluzione, mostrassero disomogeneità nel coating formatasi sul substrato: sulla parte superiore del substrato era chiaramente visibile uno spessore minore del coating che nella parte inferiore.

Nonostante ciò, i valori di perdita di massa mostrano come il campione in lega di magnesio AZ31 manifesti una perdita di massa percentuale notevolmente più alta rispetto ai campioni rivestiti che presentano valori simili, il che sottolinea una degradazione molto più lenta rispetto a quella del campione di controllo.

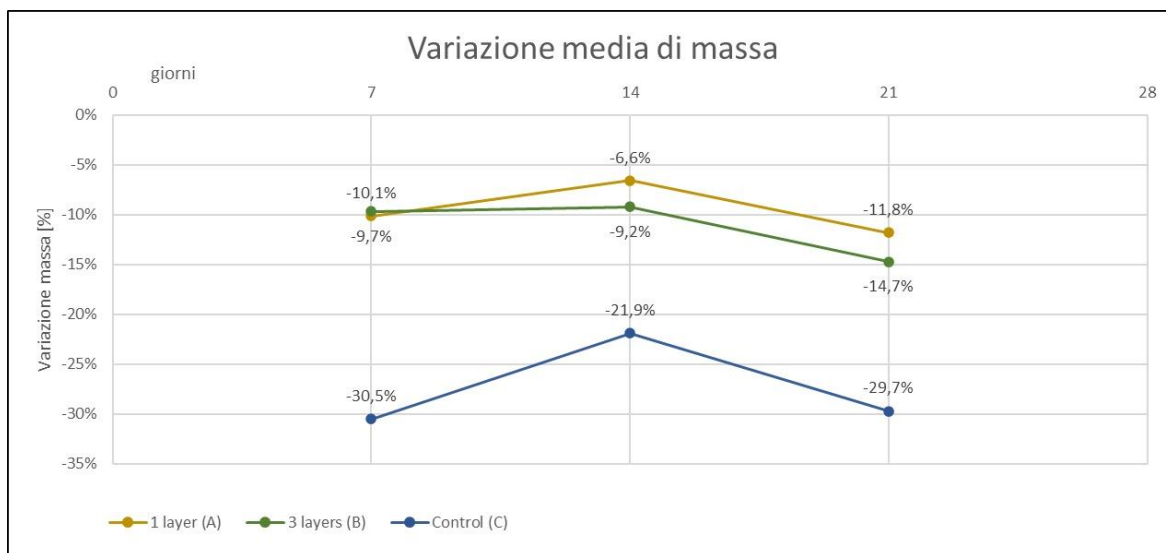


Figure 57: grafico della variazione di massa dei tre campioni durante i 21 giorni di immersione in SBF

È possibile notare come i campioni sui quali sono stati effettuati più rivestimenti mostrino una leggera perdita di massa in più rispetto ai campioni rivestiti tramite

un'unica immersione in soluzione. E' possibile che questo sia dovuto sempre alla velocità di immersione/estrazione del campione in soluzione troppo alta, il che causa maggiori difetti nel substrato. L'ipotesi per cui i campioni a più rivestimenti si degradino più velocemente a causa di un "distacco" e perdita di parti del coating, dovuto all'eccessivo spessore sulla parte inferiore del substrato metallico, è meno probabile, in quanto non in tutti i campioni la degradazione maggiore si è presentata localizzata sul fondo del campione. Nonostante ciò, non è un'ipotesi da scartare, in quanto più campioni a 3 rivestimenti hanno presentato degradazione localizzata sul fondo, mentre i campioni a 1 rivestimento presentavano una degradazione più omogenea.

Un altro elemento che potrebbe aver influito è il peso iniziale del campione: è possibile vedere come i campioni con peso iniziale maggiore perdano più massa rispetto agli altri ai vari time point. Questo potrebbe essere dovuto proprio alla massa iniziale del campione non ancora immerso in soluzione, che varia da campione a campione a seconda del tempo di decapaggio impiegato nel processo di pulitura (può variare anche di 20 secondi e questo comporta una maggiore perdita di massa). Potrebbe darsi che un campione più spesso, durante la fase di estrazione dalla soluzione e formazione del coating, trascini maggiore quantità di solvente verso il fondo del campione a causa della maggiore forza peso complessiva del substrato-solvente, causando maggiori disomogeneità nel coating e quindi portando ad una minor resistenza alla corrosione.

Inoltre, la perdita di massa potrebbe anche dipendere in parte in diversi campioni dalla zona mascherata dal teflon che, sebbene coperta, potrebbe essere stata ugualmente attaccata dall'ambiente corrosivo com'è possibile vedere dalle immagini al microscopio ottico dei campioni A3 e B4 (figura 50).

4.5 Analisi morfologica elementare tramite SEM-EDS

4.5.1 SEM

In questo paragrafo sono riportate le immagini SEM relative ai campioni in lega di magnesio AZ31 rivestiti tramite 1 e 3 immersioni in soluzione CA_S (vedi tabella 3) (Figura 58). Mentre nelle successive figure (59-60-61) vengono mostrate le micrografie SEM dopo la prova di degradazione ad ogni *time-point*.

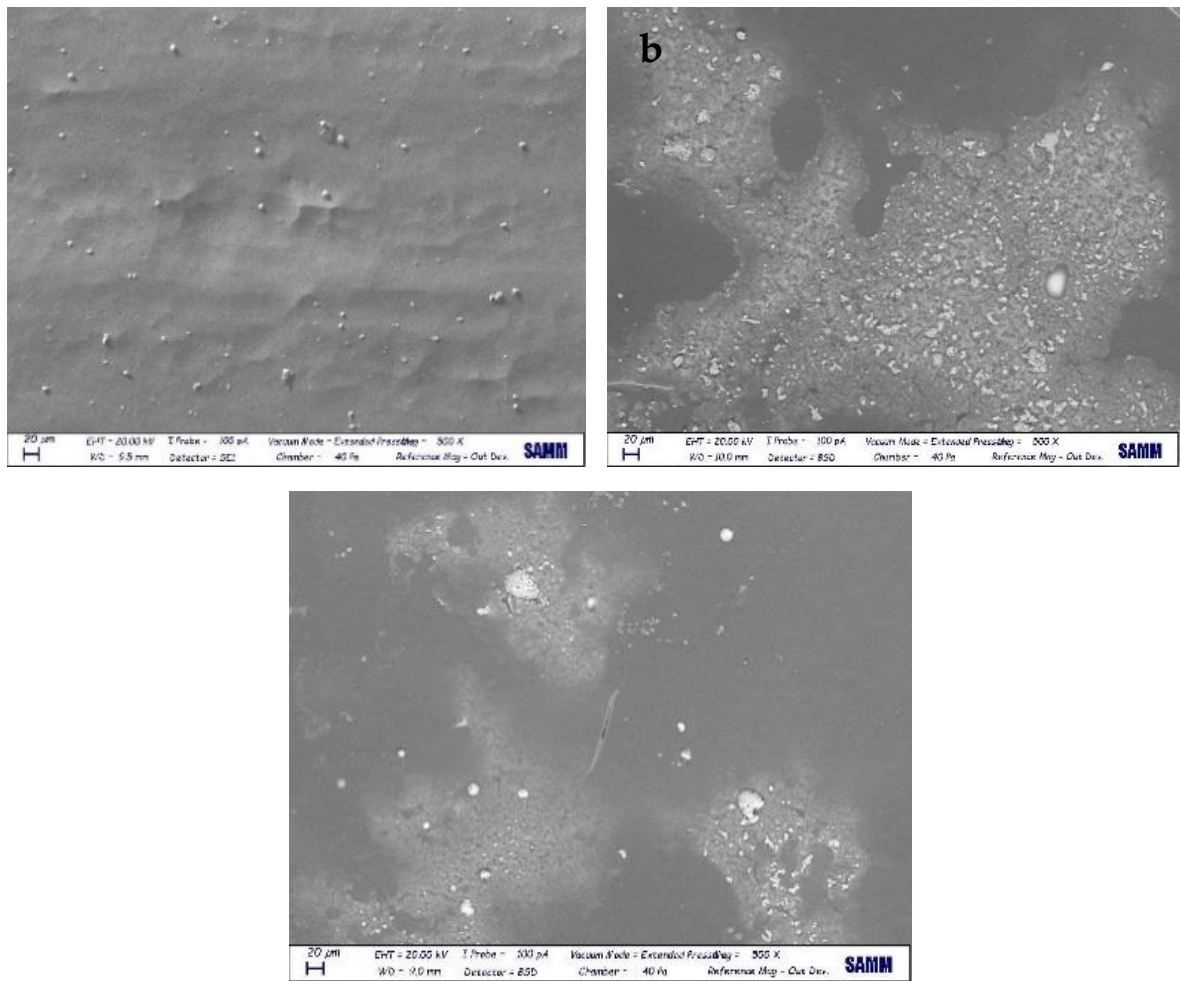


Figure 58: immagini SEM del campione controllo (a) e dei campioni rivestiti tramite 1 (b) e 3 (c) immersioni nella soluzione CA_S

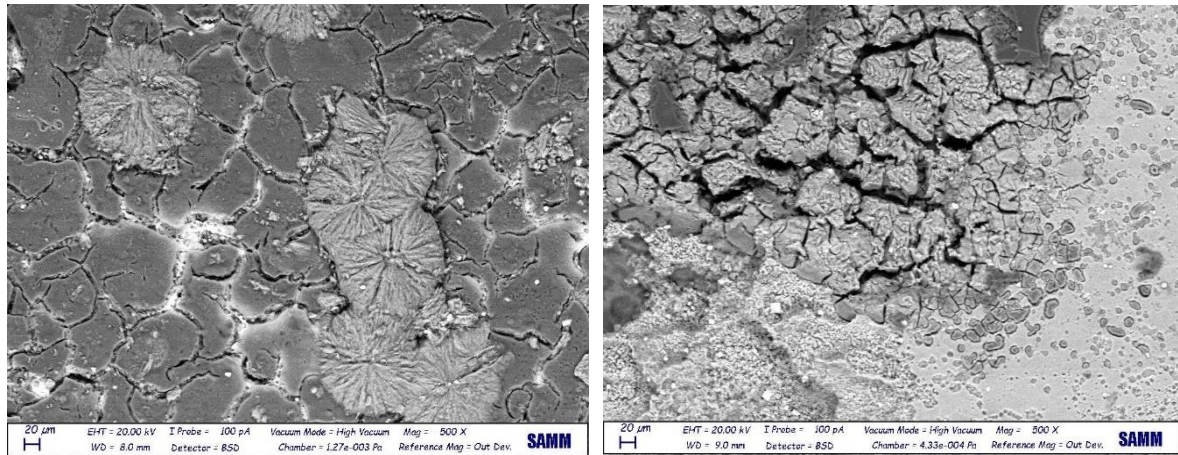


Figure 59: immagini SEM dei campioni A3 (a) e B4 (b) estratti dopo 7 giorni dall' SBF

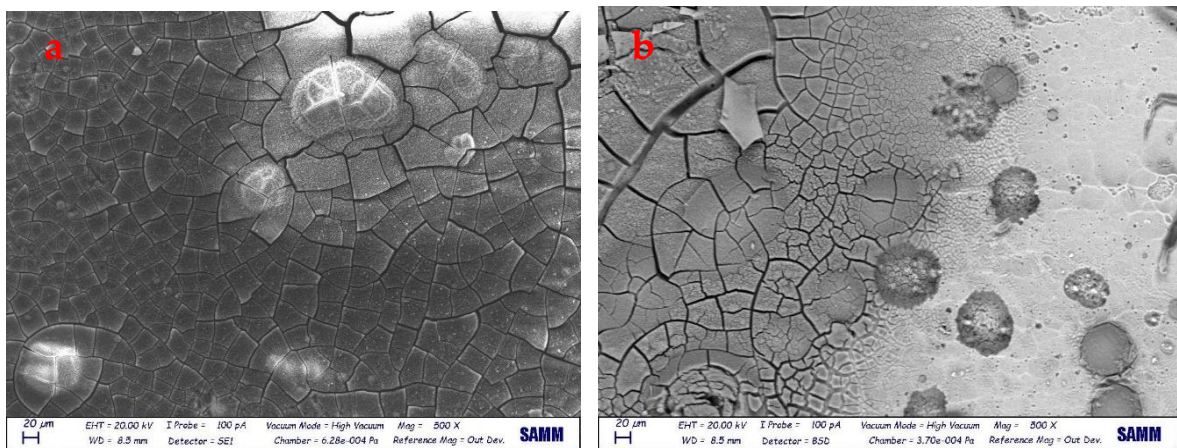


Figure 60: immagini SEM dei campioni A8 (c) e B9 (d) estratti dopo 14 giorni dall' SBF

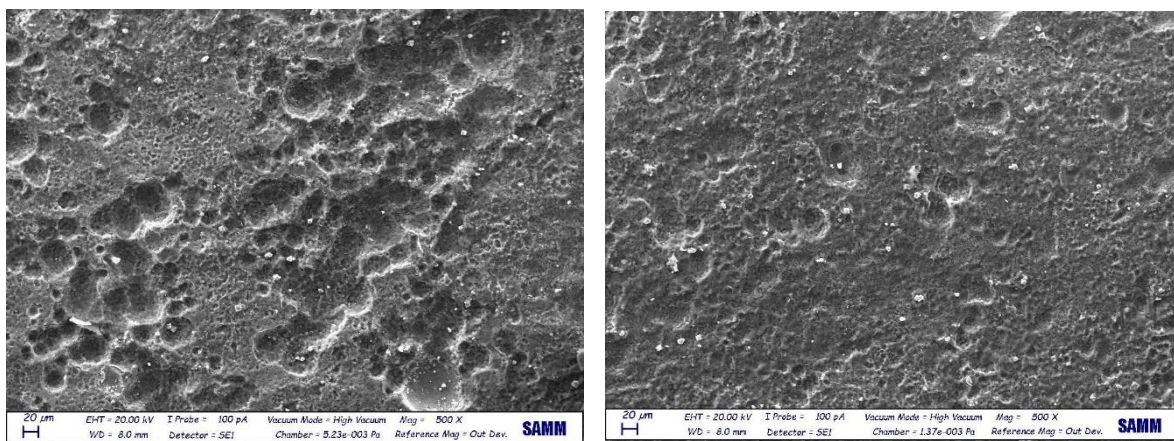


Figure 61: immagini SEM dei campioni A5 (a) e B3 (b) estratti dopo 21 giorni dall' SBF

Dalle queste immagini, è possibile osservare come lo strato protettivo del coating sia presente fino a 14 giorni e che solo dopo 21 giorni in SBF degradi quasi totalmente, lasciando senza protezione il substrato di magnesio.

4.5.2 EDS

I risultati delle immagini EDS relativi al campione controllo non sottoposto alla prova di degradazione hanno mostrato la presenza di *carbonio* e *ossigeno*, oltre che di *magnesio*. Questo probabilmente è dovuto ad una durata troppo breve della fase di *decapaggio*, procedimento finalizzato a rimuovere gli ossidi superficiali, che ha una durata che varia da materiale a materiale e dipendente anche dalle dimensioni del campione.

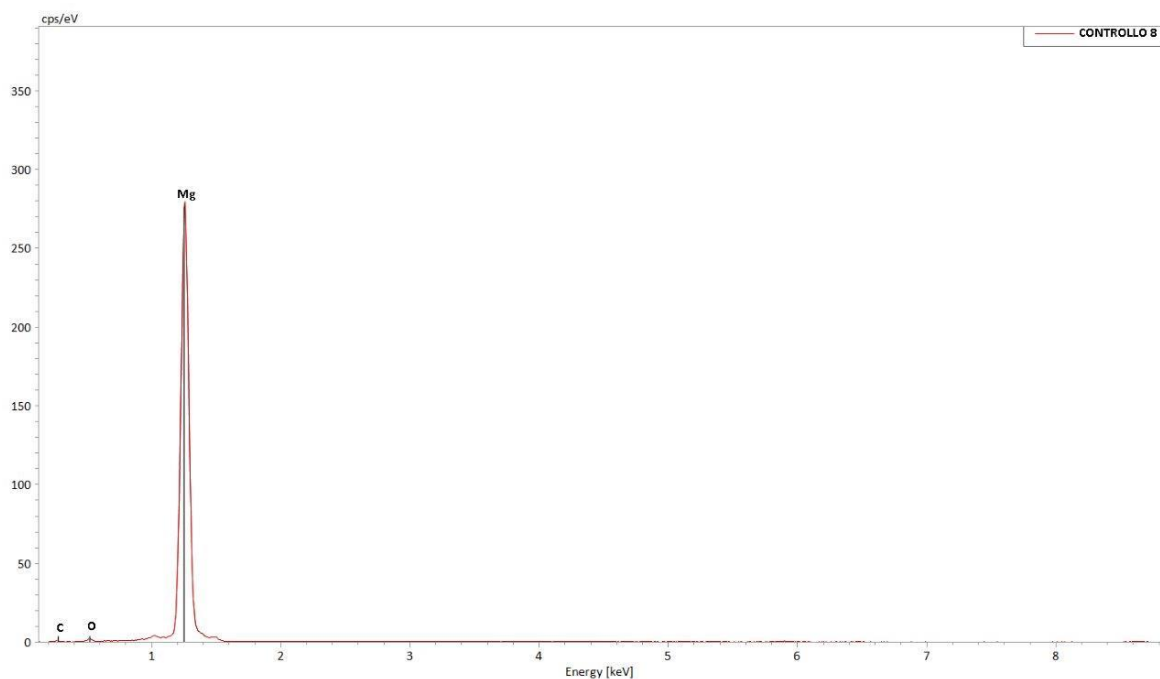


Figure 62: immagine EDS di un campione controllo non sottoposto a prova di degradazione

Nelle immagini EDS precedenti alle prove di degradazione e relative ai campioni trattati con 1 e 3 immersioni in soluzione (Figura 63) si può notare come entrambi i rivestimenti siano formati da *magnesio*, *ossigeno* e *silano* oltre che ovviamente da idrogeno ed altri elementi.

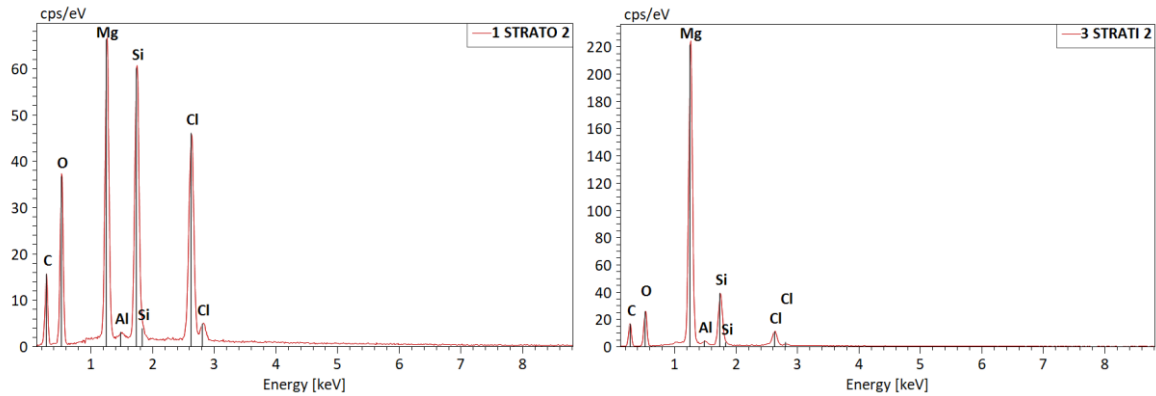


Figure 63: immagini EDS dei campioni rivestiti con 1 e 3 strati non sottoposti a prova di degradazione

Anche nelle immagini EDS relative ai campioni trattati ad ogni *time point* (Figura 64-65-66), è possibile vedere per tutti i campioni la presenza di uno strato superficiale al provino composto principalmente da *magnesio* e *ossigeno* (che diminuisce nel tempo). La quantità di *silano* presente diminuisce col tempo fino a scomparire completamente dopo 21 giorni dal rivestimento a tre strati.

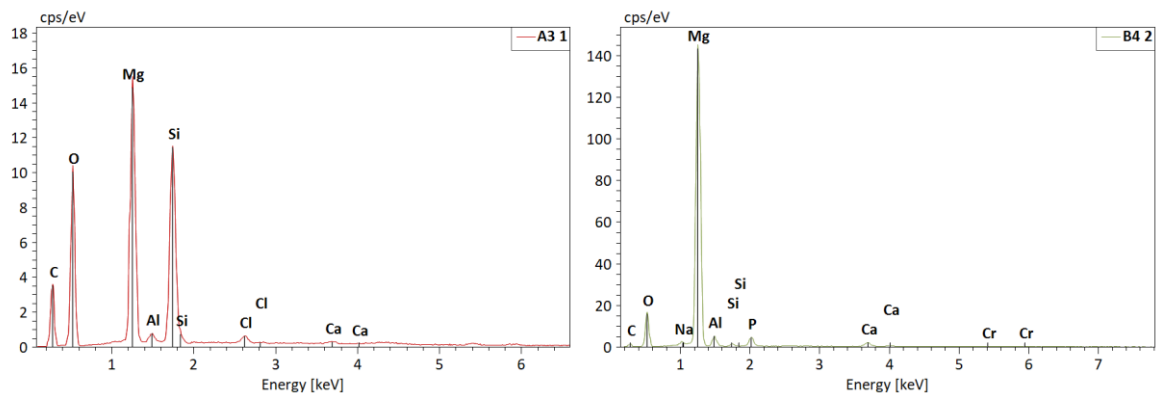


Figure 64: immagini EDS dei campioni rivestiti con 1(A3) e 3 (B4) strati dopo 7 giorni in SBF

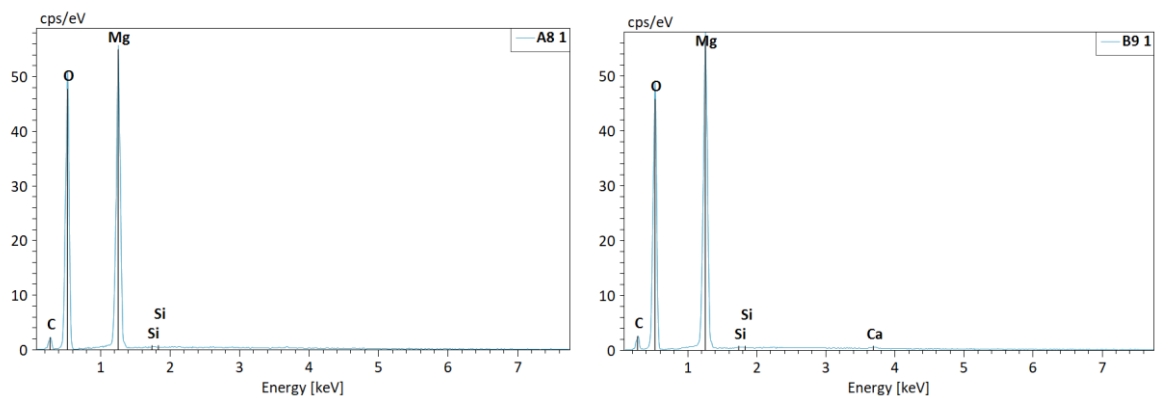


Figure 65: immagini EDS dei campioni rivestiti con 1(A8) e 3 (B9) strati dopo 14 giorni in SBF

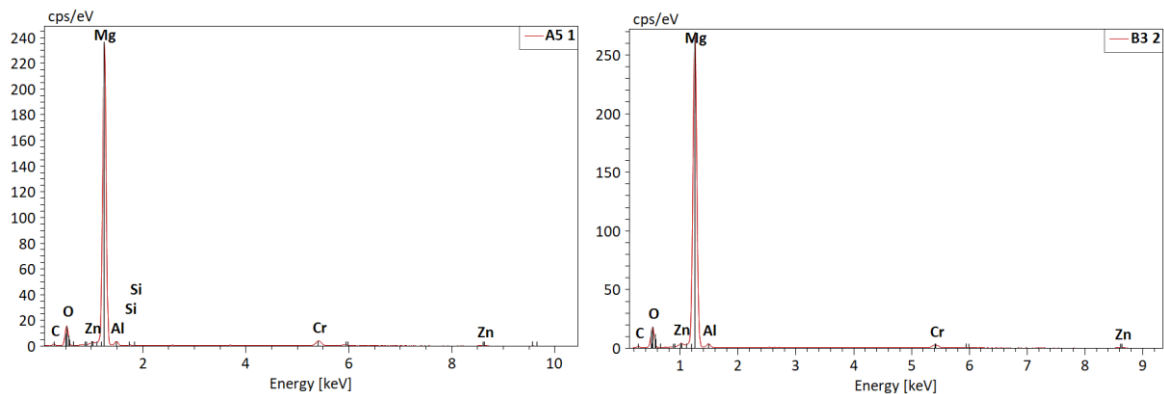


Figure 66: immagini EDS dei campioni rivestiti con 1(A5) e 3 (B3) strati dopo 21 giorni in SBF

Dalle immagini è possibile osservare la presenza di vari elementi, diversi da quelli utilizzati per preparare i coating, quali calcio, potassio, cromo, zinco e alluminio. Il calcio e il potassio derivano probabilmente dalla soluzione SBF: sali utilizzati per la preparazione dell'SBF e non diluiti completamente in soluzione si sono attaccati al coating protettivo dei campioni. Tali elementi sono presenti solo nelle immagini EDS dei campioni rivestiti 3 volte. Probabilmente il processo di pulitura con triossido di cromo avrebbe necessitato più tempo per eliminare ogni residuo di soluzione SBF dai campioni a 3 rivestimenti. Questo potrebbe dare un'ulteriore spiegazione alla leggera differenza di degradazione tra i campioni a 1 e 3 rivestimenti.

La presenza dell'alluminio e dello zinco, invece, potrebbe dipendere dagli elementi della lega AZ31 che, come accennato nel capitolo 3, presenta una piccola percentuale di alluminio e zinco. La presenza di alluminio potrebbe in parte anche dipendere dal metodo di immersione del campione in soluzione durante il processo di dipping: i campioni sono stati appesi al Dip-Coater tramite pinzette in alluminio e successivamente appesi tramite queste alla leccarda (Figura 17, capitolo 3). E' possibile, quindi, che tali pinzette abbiano lasciato dei residui in alluminio sui campioni.

In figura 67 sono rappresentati degli esempi di campione in cui sono stati evidenziati nel coating elementi diversi da quelli caratteristici del rivestimento in sé.

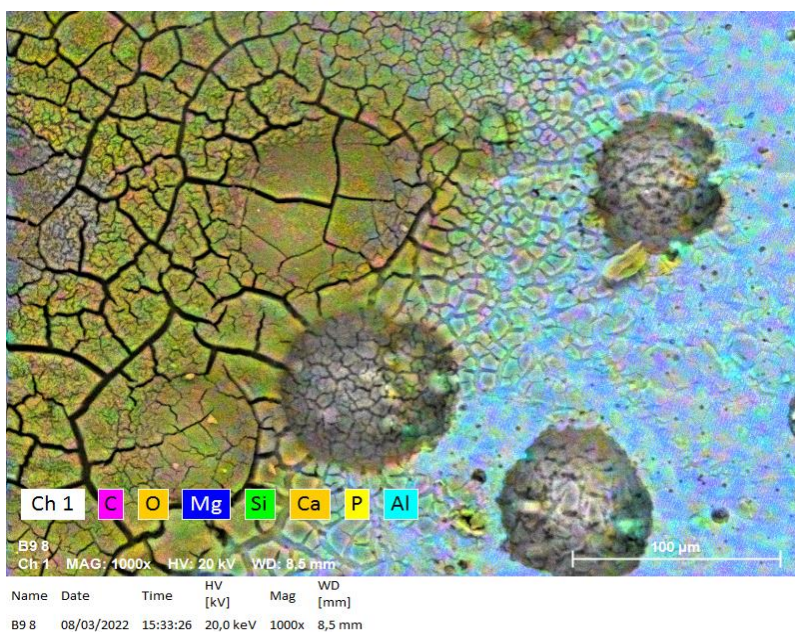
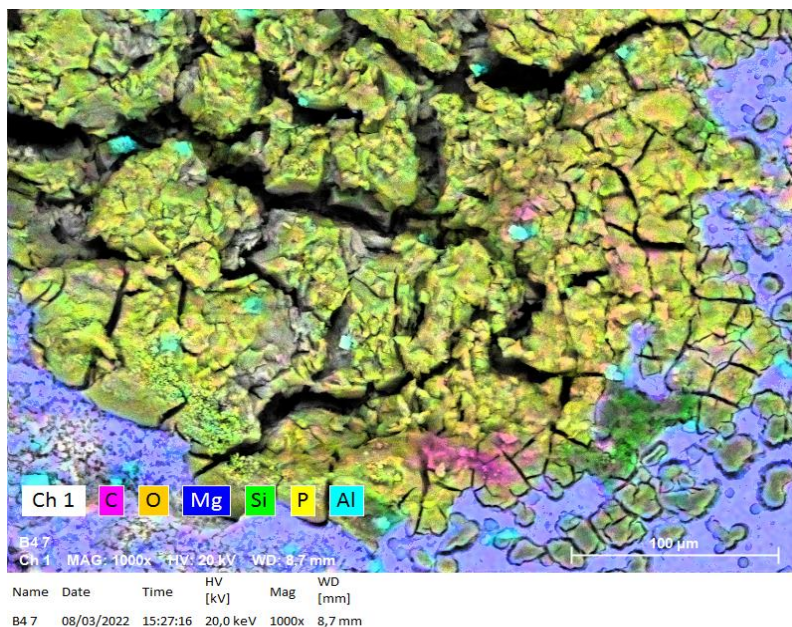


Figure 67: immagini EDS dei campioni B4 e B9 e i loro componenti

5 Conclusioni e sviluppi futuri

Come visto precedentemente, il magnesio sta guadagnando notevole diffusione come materiale metallico in ambito biomedico, con particolare potenzialità di applicazione in campo ortopedico. E' infatti nota la lunga serie di proprietà che ne caratterizzano la funzionalità e rendono il suo utilizzo vantaggioso sotto svariati punti di vista. Al riguardo si può ricordare che:

- È un materiale biocompatibile e non tossico. Si tratta infatti di un materiale presente naturalmente nell'organismo umano, all'interno delle cellule. Per questo motivo, la sua degradazione all'interno del corpo non comporta effetti pericolosi per l'organismo, anzi i prodotti di degradazione sono capaci di integrarsi nel metabolismo cellulare ed essere espulsi sotto forma di urina senza provocare effetti infiammatori [25,26].
Peraltro, è ormai ben noto come la presenza del magnesio sia di beneficio all'organismo in quanto agevola la formazione di tessuto osseo [23]. Attraverso i risultati di alcuni studi, infatti, sembrerebbe che il magnesio sia coinvolto nella formazione dei cristalli di idrossiapatite, che fanno parte della matrice extracellulare dell'osso [26,55].
- È facilmente reperibile, non è un materiale raro e quindi è anche abbastanza disponibile in commercio [56].
- È facilmente lavorabile con le macchine utensili, per via della bassa resistenza al taglio che caratterizza la conformazione strutturale del magnesio [56].
- È un materiale biodegradabile. Esso, infatti, supporta la guarigione dei tessuti, per poi degradarsi col tempo entrando a contatto con i fluidi corporei. Questo permette di evitare che ci sia un eventuale secondo intervento invasivo per rimuovere l'impianto, riducendo così, rischi di infiammazione e costi sanitari annessi [1,21,22,23,24].
- Possiede una bassa densità, molto più simile a quella dell'osso naturale rispetto ai metalli tradizionali [3].
- Le sue proprietà meccaniche si avvicinano molto a quelle dell'osso rispetto ai materiali metallici tradizionali e ai biomateriali ceramici [3].

È quindi evidente che l'insieme di queste favorevoli proprietà e caratteristiche rende il magnesio un candidato importante e molto utile in impianti di sostituzione o riparo del tessuto osseo [25,26].

Tuttavia, nonostante i numerosi vantaggi che il magnesio possiede rendendolo per molti versi materiale quasi ideale nelle applicazioni in campo ortopedico, esso manifesta alcuni problemi rilevanti e di non immediata soluzione.

Il magnesio, infatti, come già esplicitato nei capitoli precedenti, possiede una resistenza molto bassa alla corrosione. Questo fa sì che un impianto in magnesio tipicamente si degradi prima che abbia svolto la sua funzione di sostegno per la rigenerazione del tessuto in esame. La sua rapida velocità di corrosione comporta un'emissione eccessiva e in tempi molto brevi di idrogeno gassoso, che l'organismo non è in grado di assimilare per tempo. Ciò finisce per provocare effetti per l'organismo pericolosi, finanche talvolta devastanti (come la necrosi dei tessuti).

Il presente lavoro si è dunque inserito proprio sulla linea di ricerca di approcci metodologici orientati ad affrontare e possibilmente risolvere questo rilevante problema.

In questo progetto di tesi sono stati applicati dei rivestimenti sol-gel a leghe di magnesio AZ31 con l'intento di rafforzare lo strato protettivo del magnesio e quindi raggiungere l'obiettivo di aumentare la sua resistenza alla corrosione.

Sono stati realizzati tre tipi di rivestimento su vetro differenti a seconda del soluto e del sale di magnesio utilizzati. Tuttavia, le analisi XRD di alcuni rivestimenti non manifestavano nanoparticelle di idrossido di magnesio. Inoltre, osservando ad occhio nudo le tre soluzioni utilizzate per effettuare i coating, solo quella a base di $MgCl_2$ e NH_4OH presentava il classico comportamento sol-gel, mentre le altre manifestavano nanoparticelle come precipitato bianco, quasi completamente assenti nella fase liquida. Pertanto, i rivestimenti effettuati sui campioni in lega AZ31 sono stati realizzati a partire dalla soluzione a base di $MgCl_2$ e NH_4OH , in particolare la soluzione CA_S (vedi tabella 3).

Sono stati effettuati rivestimenti di campioni ad una e tre immersioni in soluzione CA_S (vedi tabella 3) e successivamente sono state eseguite prove di degradazione in SBF.

Un risultato atteso dallo sviluppo di questo esperimento era che il tempo di degradazione della lega diminuisse notevolmente una volta effettuato un rivestimento su di essa. Ed infatti, dopo le prove di degradazione, è facilmente visibile, attraverso la variazione di massa e le immagini al microscopio ottico, la differenza tra un campione in AZ31 non trattato e un campione rivestito tramite 1 e 3 immersioni in soluzione.

Ci si aspettava inoltre che, osservando il comportamento dei rivestimenti sui vetri, ci fosse una differenza di degradazione anche tra le due diverse tipologie di rivestimento ad 1 e 3 immersioni, laddove il rivestimento ad 1 immersione avrebbe presentato una più lenta velocità di corrosione. Tuttavia, non è stato possibile rilevare alcun tipo di riscontro a riguardo: i due tipi di rivestimento hanno in definitiva dimostrato proprietà di resistenza alla corrosione molto simili. Questa circostanza è presumibile che sia dovuta alla velocità di estrazione del campione dalla soluzione: una velocità troppo elevata, infatti, può aver portato il coating ad assottigliarsi e a trascinare l'eccesso in fondo al campione per effetto di gravità. In tali condizioni i due tipi di coating tendono ad assomigliarsi molto, così come le proprietà che essi conferiscono al campione.

Inoltre, è stato possibile verificare che questo meccanismo comporta una disomogeneità nella formazione del coating e un aumento di pori e cricche su di esso.

Per tali motivi, in futuro si potrebbe porre l'attenzione sull'ottimizzazione dei parametri di immersione del campione in soluzione, con particolare attenzione alla velocità di immersione/estrazione e alla viscosità della soluzione stessa.

Inoltre, si potrebbe cercare un silano diverso dal GPTMS, che conferisca al coating un'adesione migliore. Un esempio potrebbe essere l'APTES, con il quale sono stati iniziati degli esperimenti, ma non portati a termine e i risultati ottenuti dalle misure di angoli di contatto su vetro sono risultati essere molto simili a quelli relativi al GPTMS. In più, si potrebbe non unire la soluzione contenente silano a quella sol-gel di partenza, ma effettuare una prima immersione del campione nella soluzione contenente il silano e poi, una volta essiccato il coating, effettuare un ulteriore rivestimento immergendo il campione nella soluzione sol-gel e osservare i risultati ottenuti.

Inoltre, si è visto che i campioni trattati hanno manifestato una buona resistenza alla corrosione dopo 21 giorni in SBF, con un contenuto grado di corrosione concentrato specialmente sugli spigoli (vedi paragrafo 4.4.). In futuro sarebbe quindi piuttosto utile cercare di prolungare il tempo di permanenza dei campioni all'interno dell'SBF per osservare il loro comportamento dopo ulteriori giorni di prove di degradazione.

Un'altra considerazione interessante, soprattutto per gli sviluppi futuri, riguarda la possibilità di anteporre alla tecnica del Dip Coating una tecnica di conversione del substrato. Un esempio potrebbe essere il trattamento idrotermico, che conferirebbe al campione un ulteriore strato protettivo di $Mg(OH)_2$.

In questo quadro, sembra in generale opportuno effettuare sui campioni ulteriori test, in modo da valutarne la citotossicità e garantire la possibilità di proseguire l'esperimento.

Bibliografia

- [1] Jian S.-Y., Ho M.-L., Shih B.-C., Wang Y.-J., Weng L.-W., Wang M.-W., et al. Evaluation of the Corrosion Resistance and Cytocompatibility of a Bioactive Micro-Arc Oxidation Coating on AZ31 Mg Alloy. *Coatings*. 2019;9:396.
- [2] Ratner, B.D.; Hoffman, A.S.; Schoen, F.J.; Lemons, J.E. *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, 3rd ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2012.
- [3] Erne P, Schier M, Resink TJ. The road to bioabsorbable stents: reaching clinical reality? *Cardiovasc Intervent Radiol* 2006; 29:11-6.
- [4] J. Liang, L. Hu, and J. Hao, "Improvement of corrosion properties of microarc oxidation coating on magnesium alloy by optimizing current density parameters," *Appl. Surf. Sci.*, vol. 253, no. 16, pp. 6939–6945, 2007.
- [5] Kuron D. Organischer Metallschutz: Entwicklung und Anwendung von Beschichtungsstoffen. Von Dr. Josef Ruf. 821 Seiten, 256 Abbildungen, 121 Tabellen, Vincentz Verlag, Hannover, 1993, ISBN 3-87870-320-1, DM 169,00. *Materials and Corrosion*. 1996;47:225-.
- [6] Xie J., Zhang J., Liu S., Li Z., Zhang L., Wu R., et al. Hydrothermal Synthesis of Protective Coating on Mg Alloy for Degradable Implant Applications. *Coatings*. 2019;9:160.
- [7] Zhu Y., Zhao Q., Zhang Y.-H., Wu G. Hydrothermal synthesis of protective coating on magnesium alloy using de-ionized water. *Surface and Coatings Technology*. 2012;206:2961-6.
- [8] L. Chang, L. Tian, W. Liu, and X. Duan, Formation of dicalcium phosphate dihydrate on magnesium alloy by micro-arc oxidation coupled with hydrothermal treatment, *Corros. Sci.*, vol. 72, pp. 118–124, 2013.
- [9] Lin, The Effect of Hydrothermal Treatment on the Biocompatibility of Biodegradable Magnesium Alloy, *ORS Annual Meeting*, p. 86991208, 2012.
- [10] Zhu Y., Wu G., Zhang Y.H., Zhao Q., Growth and characterization of Mg(OH)₂ film on magnesium alloy AZ31, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 257, no. 14, pp. 6129–6137, 2011.
- [11] Staiger M.P., Pietak A., Huadmai J., Dias G., Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review, *Biomaterials*. 2006 Mar;27(9):1728-34.

- [12] Xu R. et al., Effects of one-step hydrothermal treatment on the surface morphology and corrosion resistance of ZK60 magnesium alloy, *Surf. Coatings Technol.*, vol. 309, pp. 490– 496, 2017.
- [13] Hussein R.O., Northwood D.O. Production of anti-corrosion coatings on light alloys (Al, Mg, Ti) by plasma-electrolytic oxidation (PEO). *Developments in corrosion protection*. 2014:201-39.
- [14] Muzi E. Il Processo Sol-Gel per la Sintesi del Vetro: Dalle Nanoparticelle al Bulk, Tesi di Laurea, Politecnico di Torino
- [15] Moridi A., Hassani-Gangaraj S.M., Guagliano M., Dao M. Cold spray coating: review of material systems and future perspectives. *Surface Engineering*. 2014;30:369-95.
- [16] Loi F. Sintesi e Caratterizzazione di Vetri Sol-Gel Drogati con Emettitori nell'Infrarosso, Tesi di Laurea, Università di Cagliari
- [17] Zhang L., Zhang J., Chen C., Gu Y., Advances in microarc oxidation coated AZ31 Mg alloys for biomedical applications, *Corros. Sci.*, vol. 91, pp. 7–28, 2015.
- [19] Krishna L.R., Sundararajan G., Aqueous corrosion behavior of micro arc oxidation (MAO)-Coated magnesium alloys: A critical review, *Jom*, vol. 66, no. 6, pp. 1045–1060, 2014.
- [18] Suminov IV, Apelfeld AV, Ludin VB, Krit BL and Borisov AM, Microarc oxidation theory, technology and equipment, Moscow Ecomet, 2005, ISBN 5-89594-110-9.
- [19] Arrabal R, Mota JM, Criado A, Pardo A, Mohedano M, Matykina E. Assessment of duplex coating combining plasma electrolytic oxidation and polymer layer on AZ31 magnesium alloy. *Surf Coat Technol* 2012; 206:4692–703.
- [20] Camtakan Z., Erenturk S., Yusan S. Magnesium oxide nanoparticles: Preparation, characterization, and uranium sorption properties. *Environmental Progress & Sustainable Energy*. 2012;31:536-43.
- [21] Tanzi M.C. *Fondamenti di Bioingegneria Chimica: Non solo Biomateriali*. Bologna: Pitagora; 2010.
- [22] Witte F. The history of biodegradable magnesium implants: A review. *Acta Biomaterialia*. 2010;6:1680-92.

- [23] Jacobsen, N.; Hensten-Pettersen, A. Occupational health problems and adverse patient reactions in orthodontics. *Eur. J. Orthod.* 1989, 11, 254–264.
- [24] Sun Z.L., Wataha J.C., Hanks C.T. Effects of metal ions on osteoblast-like cell metabolism and differentiation. *J. Biomed. Mater. Res.* 1997, 34, 29–37.
- [25] Vahey J.W., Simonian P.T. Carcinogenicity and metallic implants. *Am. J. Orthop.* 1995, 24, 319–324.
- [26] Huiskes R, Weinans H., Van Rietbergen B. The relationship between stress shielding and bone resorption around total hip stems and the effects of flexible materials. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1992, 274, 124–134.
- [27] Zhao D., Witte F., Lu F., Wang J., Li J., Qin L. Current status on clinical applications of magnesium-based orthopaedic implants: A review from clinical translational perspective. *Biomaterials* 2017, 112, 287–302.
- [28] Minkowitz R.B., Bhadsavle S., Walsh M., Egol K.A. Removal of painful orthopedic implants after fracture union. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2007, 89, 1906–1912.
12. Zreiqat, H.; Howlett, C.R.; Zannettino, A.; Evans, P.
- [29] Schulze-Tanzil G., Knabe C., Shakibaei M. Mechanisms of magnesium-stimulated adhesion of osteoblastic cells to commonly used orthopaedic implants. *J. Biomed. Mater. Res.* 2002, 62, 175–184.
- [30] Gu Y., Bandopadhyay S., Chen C.-f., Ning C., Guo Y. Long-term corrosion inhibition mechanism of microarc oxidation coated AZ31 Mg alloys for biomedical applications. *Materials & Design.* 2013;46:66-75.
- [31] A. Zomorodian, M.P. Garcia, T. Moura e Silva, J.C.S. Fernandes, M.H. Fernandes, M.F. Montemor, *a Biofunctional composite coating architectures based on polycaprolactone and nanohydroxyapatite for controlled corrosion activity and enhanced biocompatibility of magnesium AZ31 alloy*, *Materials Science and Engineering C* 48 (2015) 434–443
- [32] Sankara Narayanan T.S.N., Park I.S., Lee M.H. Strategies to improve the corrosion resistance of microarc oxidation (MAO) coated magnesium alloys for degradable implants: Prospects and challenges. *Progress in Materials Science.* 2014;60:1-71.
- [33] H. Hornberger, S. Virtanen, A.R. Boccaccini, Biomedical coatings on magnesium alloys – A review, *Acta Biomaterialia* 8 (2012) 2442–2455.

- [34] M. Yusoff, M. Kadir, N. Iqbal, M. AyuHassan, R. Hussain, Dipcoating of poly (ϵ - caprolactone)/hydroxyapatite composite coating on Ti6Al4V for enhanced corrosion protection, *Surface & Coatings Technology* 245 (2014) 102–107.
- [35] Conceicao T., Scharnagl N., Dietzel W., Kainer K.U. Corrosion protection of magnesium AZ31 alloy using poly(ether imide) [PEI] coatings prepared by the Dip Coating method: Influence of solvent and substrate pre-treatment, *Corrosion Science* 53 (2011) 338– 346.
- [36] Brinker C.J., Scherer G.W. Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing. *Academic Press Incorporation*, 1990.
- [37] Heublein B, Rhode R, Kaese V, Niemeyer M, Hartung W, Haverich A. Biocorrosion of magnesium alloys: a new principle in cardiovascular implant technology? *Heart* 2003; 89:651-6.
- [38] Erne P, Schier M, Resink TJ. The road to bioabsorbable stents: reaching clinical reality? *Cardiovasc Intervent Radiol* 2006; 29:11-6.
- [39] Kim Y.-K., Jang Y.-S., Lee Y.-H., Yi H.-K., Bae T.-S., Lee M.-H. Effect of Ca-P compound formed by hydrothermal treatment on biodegradation and biocompatibility of Mg-3Al-1Zn-1.5 Ca alloy; in vitro and in vivo evaluation. *Scientific Reports*. 2017;7:1-12.
- [40] Lucey TD, Venugopal B. *Metal Toxicity in Mammals*. New York: Plenum Press; 1977.
- [41] C. L. Wong, Y. N. Tan, and A. R. Mohamed, *A review on the formation of titania nanotube photocatalysts by hydrothermal treatment*, *J. Environ. Manage.*, vol. 92, no. 7, pp.1669–1680, 2011.
- [42] Grosso D., How to exploit the full potential of the dip-coating process to better control film formation, *Journal of Dynamic Materials Chemistry* 2011, 21, 17033.
- [43] Gu X, Zheng Y, Cheng Y, Zhong S, Xi T. In vitro corrosion and biocompatibility of binary magnesium alloys. *Biomaterials*, 2009, Vol. 30.
- [44] Wen Z., Wu C., Dai C., Yang F., Corrosion behaviors of Mg and its alloys with different Al contents in a modified simulated body fluid, *J. Alloys Compd.*, vol. 488, no. 1, pp. 392–399, 2009.
- [45] McBride E.D. Absorbable metal in bone surgery, *J Am Med Assoc* 1938; 111:2464-76.

- [46] Córdoba L.C., Montemor M.F., Coradin T. Silane/TiO₂ coating to control the corrosion rate of magnesium alloys in simulated body fluid. *Corrosion Science*. 2016;104:152-61.
- [47] Rizzardi F. *Sistema Multitrattamento di Modifica Superficiale della Lega di Magnesio AZ31 per Rallentare la Corrosione*, Tesi di Laurea, Politecnico di Milano
- [48] Guo H.F., An M.Z., Huo H.B., Xu S., Wu L.J., Microstructure characteristic of ceramic coatings fabricated on magnesium alloys by micro-arc oxidation in alkaline silicate solutions, *Applied Surface Science* 252, 2006 7911–7916.
- [49] E. V. Rebrova, J. Schouten, *Limiting withdrawal rate and maximum film thickness during dip-coating of titania sols onto a Si substrate*, *Chemical Engineering and Processing* 50 (2011) 1063– 1068
- [50] Wu S., Jang Y.-S., Kim Y.-K., Kim S.-Y., Ko S.-O., Lee M.-H. Surface Modification of Pure Magnesium Mesh for Guided Bone Regeneration: In Vivo Evaluation of Rat Calvarial Defect. *Materials*. 2019;12:2684.
- [51] Fang H.-W., Li K.-Y., Su T.-L., Yang T.C.-K., Chang J.-S., Lin P.-L., et al. Dip coating assisted polylactic acid deposition on steel surface: Film thickness affected by drag force and gravity. *Materials Letters*. 2008;62:3739-41.
- [52] Yimsiri P., Mackley M.R. Spin and dip coating of light-emitting polymer solutions: Matching experiment with modelling. *Chemical engineering science*. 2006;61:3496-505.
- [53] Henrist C., Mathieu J.P., Vogels C., Rulmont A., Cloots R. Morphological study of magnesium hydroxide nanoparticles precipitated in dilute aqueous solution. *Journal of Crystal Growth*. 2003;249:321-30.
- [54] Lv J., Qiu L., Qu B. Controlled growth of three morphological structures of magnesium hydroxide nanoparticles by wet precipitation method. *Journal of Crystal Growth*. 2004;267:676-84.
- [55] Sharma M., Gandhi D., Sharma M. Synthesis of nanostructured magnesium oxide by sol gel method and its characterization. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2018; Vol. 9(4): 1576-1581
- [56] Córdoba L.C., Montemor M.F., Coradin T. Silane/TiO₂ coating to control the corrosion rate of magnesium alloys in simulated body fluid. *Corrosion Science*. 2016;104:152-61.

- [57] [1] Kokubo T., Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*. 2006;27:2907-15.
- [58] Setola R., Nacci A., Semeraro G.R., Frallonardo L. Bagnabilità di una Superficie: L'Angolo di Contatto, <https://farelaboratorio.accademiascienze.it/esperimenti/fisica/52>
- [59] Zhao L., Cui C., Wang Q., Bu S. Growth characteristics and corrosion resistance of micro-arc oxidation coating on pure magnesium for biomedical applications. *Corrosion Science*. 2010;52:2228-34.
- [60] Hussein R.O., Northwood D.O., Nie X. The effect of processing parameters and substrate composition on the corrosion resistance of plasma electrolytic oxidation (PEO) coated magnesium alloys. *Surface and Coatings Technology*. 2013;237:357-68.
- [61] Keyvani A., Zamani M., Fattah-Alhosseini A., Nourbakhsh S., Bahamirian M. Microstructure and corrosion resistance of MAO coatings on AZ31 magnesium. *Materials Research Express*. 2018;5:086510.
- [62] Wiesmann H.P., Tkotz T., Joos U., Zierold K., Stratmann U., Szuwart T., et al. Magnesium in newly formed dentin mineral of rat incisor. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1997;12:380-3.
- [63] Tommasi D., Il Magnesio e le sue leghe, *Meccanica News*, <https://www.meccanicanews.com/2013/06/27/il-magnesio-e-le-sue-leghe>, 2013
- [64] Yamamoto A., Hiromoto S. Effect of inorganic salts, amino acids and proteins on the degradation of pure magnesium in vitro. *Materials Science and Engineering: C*. 2009;29:1559-68.
- [65] ASTM G1-3 2017 - Standard Practice for Preparing, Cleaning, and Evaluating Corrosion Test Specimens.
- [66] Oh S.R., Wong T.C., Tan C.Y., Yao K., Tay F.E.-H. Fabrication of piezoelectric polymer multilayers on flexible substrates for energy harvesting. *Smart materials and structures*. 2013;23:015013.