



اعمال پوشش نانوساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره اعمال شده بر روی سطح آلیاژ منیزیمی AZ31 با روش رسوبدهی الکتروشیمیایی و بررسی خواص نانومکانیکی و ضد باکتری آن

علی شانقی^{۱*}، علیرضا سوری^{۱*}، کیانوش حیدری^۱، سعیده قیاسوند^۲

^۱ دانشگاه ملایر، دانشکده فنی و مهندسی، گروه مهندسی مواد

^۲ دانشگاه ملایر، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

چکیده: پوشش‌های نانوساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره به دلیل دارا بودن خواصی همانند سختی و مدول الاستیک خوب، مقاومت به خوردگی و خاصیت ضد باکتری و زیست‌سازگاری قابل قبول دارای کاربرد وسیعی در مهندسی پزشکی می‌باشند. در این تحقیق پوشش‌های نانوساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره به کمک فرآیند رسوب الکتروشیمیایی بر روی سطح آلیاژ منیزیم AZ31 اعمال شد، سپس خواص فازی و ساختاری، ریخت‌شناسی، نوع پیوندها، نوع و درصد عناصر موجود در پوشش به ترتیب با آنالیزهای FTIR، GIXRD، FESEM و EDAX مورد بررسی قرار گرفته، همچنین خواص نانومکانیکی پوشش به وسیله روش‌های نانودندانه‌گذاری در بارهای مختلف ۵۰ و ۵۰۰ میکرونیوتن ارزیابی شده است. نتایج بیانگر تشکیل پوشش نانو ساختار همگن و یکنواخت هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره با ضخامت تقریباً ۰/۶ میکرومتر است، که منجر به کاهش سختی سطح نمونه از ۰/۷۲ گیگا پاسکال به ۰/۱۱ گیگا پاسکال در بار اعمالی ۵۰ میکرونیوتن و ۱/۳۴ گیگا پاسکال به ۰/۲۲ گیگا پاسکال در بار اعمالی ۵۰۰ میکرونیوتن گردیده، دلیل این کاهش سختی ناشی از ماهیت متخلخل و ورقه‌ای شکل فاز هیدروکسی آپاتیت در پوشش است، که با افزایش نیروی نانودندانه‌گذاری، عمق نفوذ افزایش و مقاومت پوشش نیز در برابر نفوذ فرورونده افزایش یافته که در نهایت منجر به تغییر مدول الاستیک نمونه از ۵۲ گیگا پاسکال به ۳/۵ گیگا پاسکال در بار اعمالی ۵۰ میکرونیوتن و از ۴۴/۶ گیگا پاسکال به ۱۰ گیگا پاسکال در بار اعمالی ۵۰۰ میکرونیوتن گردیده است. نتایج نشان می‌دهند، اثر مهاري بر رشد باکتری E.Coli پوشش نانوساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره به دلیل خاصیت ضد باکتری در اثر حضور عنصر نقره در پوشش کامپوزیتی در مقایسه با زیرلایه آلیاژ منیزیم AZ31 به عنوان کنترل است.

کلمات کلیدی: پوشش هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره، رسوبدهی الکتروشیمیایی، خواص نانومکانیکی، خاصیت ضد باکتری.

نویسندگان مسئول:

دکتر علی شانقی،

دکتر علیرضا سوری

دانشگاه ملایر

نوع مقاله: پژوهشی

صفحه‌های: ۲۵ تا ۳۴

شاپا چاپی: ۱۷۳۵-۳۳۵۱

شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۳۰۹۷

زبان نشریه: فارسی

دسترس پذیر در نشانی:

www.JICERS.ir

تاریخ دریافت:

۱۴۰۰/۰۳/۰۵

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۰/۰۴/۱۷

aroursi@gmail.com & alishanaghi@gmail.com

DOR: 20.1001.1.17353351.1400.17.1.2.3

۱- مقدمه

امروزه آلیاژهای منیزیم به عنوان مواد کاشتنی‌های زیست‌تخریب‌پذیر، به دلیل خواص عالی همانند خواص مکانیکی و پتانسیل ساختاری نزدیک به استخوان بدن، چگالی کم، استحکام ویژه بالا، پایداری شیمیایی و قابلیت ماشین‌کاری خوب به طور قابل توجهی مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۱]. در میان آلیاژهای منیزیم، آلیاژ منیزیم AZ31 حاوی ۳ درصد وزنی آلومینیوم و ۱ درصد وزنی روی است که آلومینیوم منجر به بهبود سختی، استحکام، مقاومت سایش، پایداری شیمیایی در محیط‌های مختلف اسیدی و بازی، کارسختی و انعطاف‌پذیری خواص مکانیکی می‌گردد، و عنصر روی علاوه بر بهبود خواص مکانیکی، منجر به افزایش



زیست‌سازگاری آن در بدن می‌گردد [۲]. منیزیم نقش اساسی در متابولیسم‌های سلولی به عهده دارد و می‌تواند به‌طور کامل در محیط بدن حل گردد. منیزیم چهارمین کاتیون فراوان در بدن انسان است و در بیشتر متابولیسم‌ها و مکانیزم‌های بیولوژیکی بدن شرکت دارد. پتانسیل الکتروشیمیایی منیزیم ۲٫۳۷- ولت است که سبب ذاتا فعال بودن فلز منیزیم، رخ دادن اکسیداسیون شدید و کاهش مقاومت به خوردگی در این فلز می‌گردد [۳]. در اثر خوردگی منیزیم، یون‌های آزاد شده می‌توانند در بافت‌های بدن جذب شده یا در طول زمان حذف شوند. بنابراین، نیاز به یک جراحی ثانویه پس از بهبود استخوان برای حذف ایمپلنت از بین می‌رود [۴]. نرخ تخریب آلیاژهای منیزیم، دلیل اصلی محدودیت یا جلوگیری از استفاده از آن‌ها در مقیاس زیاد است که منجر به افت نسبتا سریع پیوستگی مکانیکی در محیط بدن انسان می‌گردد. بنابراین، افزایش مقاومت به خوردگی آلیاژهای منیزیم و جلوگیری از افت سریع استحکام آن‌ها از اهمیت بسزایی برخوردار است. روش‌های متفاوتی برای افزایش مقاومت به خوردگی و خواص مکانیکی آلیاژهای منیزیم مورد استفاده قرار می‌گیرد، همانند فرایندهای آنودایزینگ، پوشش‌دهی و کاشت یونی [۵]، در این میان پوشش‌های زیست‌سازگار و مقاوم در برابر خوردگی از اهمیت بسزایی برخوردار هستند [۴-۶]. در میان پوشش‌های اعمالی، پوشش هیدروکسی آپاتیت، $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ حاوی عناصر کلسیم، فسفات و یون‌های هیدروکسید، برای تشکیل ساختارهای استخوانی مورد استفاده قرار می‌گیرد، این پوشش دارای زیست‌سازگاری عالی، استخوان‌سازی خوب، سمیت کم، حلالیت پراکنده، جذب آهسته و پایداری حرارتی است که می‌تواند درون بدن جذب گردد. بنابراین یک پوشش مناسب برای کاشتنی‌های زیست‌تخریب‌پذیر منیزیم است. اما ساختار شکننده سرامیکی هیدروکسی آپاتیت مانع استفاده از آن در کاربردهای حامل بار، به‌صورت تک فاز گردیده است. استفاده از ساختارهای چند فازی در کنار پوشش هیدروکسی آپاتیت، می‌تواند راهکار مناسبی جهت بهبود رفتار مکانیکی و افزایش عملکرد آن باشد [۷-۱۰] در این میان ترکیبات سرامیکی، آلومینا به‌عنوان یک بیوسرامیک خنثی با زیست‌سازگاری خوب و پایداری عالی در محیط‌های فیزیولوژیکی خورنده همراه با خواص مکانیکی خوب، می‌تواند به‌عنوان گزینه‌ای مناسب جهت ایجاد کامپوزیت هیدروکسی آپاتیت-آلومینا و استفاده از آن در کاربردهای حامل بار باشد. پایداری و کارایی کاشتنی‌های ارتوپدی به واکنش بین بافت با کاشتنی و همچنین وجود یک محیط استریل برای کاهش خطر عفونت‌های باکتریایی بستگی دارد [۱۱] و جلوگیری از چسبندگی اولیه باکتری برای مهار تشکیل بیوفیلم بسیار مهم است [۱۲]، زیرا که سطوح اصلاح نشده کاشتنی‌ها مستعد ابتلا به عفونت‌های باکتریایی است که در نهایت ممکن است منجر به التهاب و تخریب کاشتنی شود. عفونت‌های باکتریایی ناشی از پاتوژن‌های گرم مثبت و گرم منفی [۱۳-۱۴]، که منجر به تشکیل بیوفیلم‌ها گردیده، با ایجاد عفونت‌های استخوانی که باعث دو مرحله جراحی‌های تجدید نظر به عنوان درمان اولیه [۱۵] همراه با مصرف آنتی‌بیوتیک را گردیده است [۱۶-۱۸]. یکی از فرایندهای موثر در کاهش عفونت‌های باکتریایی، استفاده از عناصر ضد باکتری در سطوح کاشتنی‌ها است، که در این میان نقره در بسیاری از ابزارهای پزشکی مانند سیمان استخوان، پین‌های ثابت‌کننده ارتوپدی، کاشت دندان و پروتزهای قلبی مورد استفاده قرار گرفته است [۱۹]. خواص ضد میکروبی نقره وابستگی زیادی به آزاد سازی یون نقره Ag^+ [۱۱ و ۱۷] و واکنش آن با DNA باکتری دارد، که مانع از تکثیر باکتری و غیرفعال شدن باکتری می‌گردد [۱]. پوشش‌های هیدروکسی آپاتیت حاوی نقره، خاصیت ضد میکروبی از خود نشان داده‌اند [۱۸-۲۰]. روش‌های متعددی برای لایه نشانی پوشش‌های هیدروکسی آپاتیت بر روی کاشتنی‌های فلزی مورد استفاده قرار می‌گیرند، که عبارتند از: رسوب‌دهی الکتروشیمیایی [۲۱-۲۲]، فرایند سل-ژل [۲۳]، و روش‌های زیست‌تقلیدی^۱ [۲۴]. در این میان، بررسی خواص نانو مکانیکی پوشش کامپوزیتی-آلومینا-نقره به‌وسیله فرایند رسوب‌دهی الکتروشیمیایی که دارای مزایایی همانند اعمال پوشش با خلوص بالا، کنترل دقیق ضخامت پوشش، کنترل نسبتا ساده پارامترهای پوشش‌دهی است، کمتر مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین، در این تحقیق پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره به کمک فرایند رسوب الکتروشیمیایی بر روی سطح آلیاژ منیزیم AZ31 اعمال گردیده، سپس خواص فازی و ساختاری، ریخت‌شناسی، نوع پیوندها، نوع و درصد عناصر موجود در پوشش به ترتیب به‌وسیله آنالیزهای GIXRD، FTIR، FESEM و EDAX مورد بررسی قرار گرفته، همچنین خواص نانو مکانیکی پوشش به‌وسیله روش‌های نانودندانه‌گذاری در بارهای مختلف ۵۰ و ۵۰۰ میکرو نیوتن ارزیابی شده است. سپس خاصیت ضد باکتری آلیاژهای سنتز شده بر روی باکتری گرم منفی اشرشیاکلی که از مهمترین باکتری‌های خانواده‌ی انتروباکتریاسه و عامل شایع در

¹Biomimetic



عفونت‌های بسیاری از جمله سپسیس، گاستروانتریت، مننژیت نوزادان، عفونت کیسه صفرا و مجاری صفراوی، عفونت زخم، پنومونی، پریتونیت و به ویژه عفونت‌های ادراری و نارسایی‌های کلیوی می‌باشد بررسی شد. هدف از این تحقیق اعمال پوشش نانوساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره بر روی سطح آلیاژ منیزیمی AZ31 با روش رسوب‌دهی الکتروشیمیایی در دمای پایین به منظور بهبود همزمان قابلیت زیست سازگاری و خاصیت ضد باکتری در ایمپلنت‌های پزشکی است.

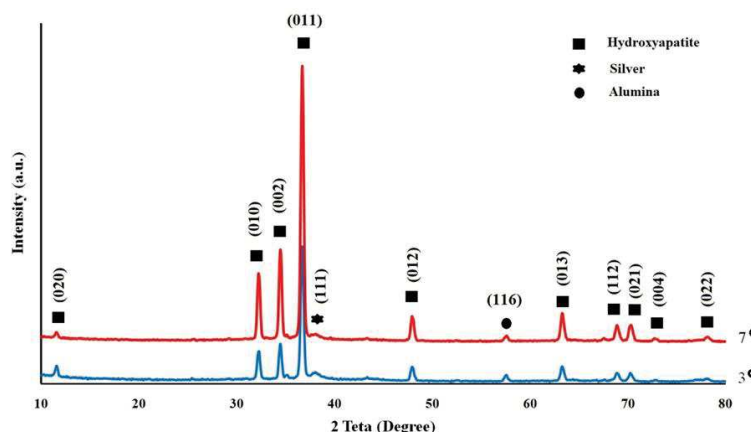
۲- فعالیت‌های تجربی

ابتدا ورقه‌ی آلیاژ منیزیم AZ31 با دستگاه لیزر به ابعاد $1\text{ cm} \times 2\text{ cm}$ با ضخامت 2 mm برش داده شد، سپس آماده‌سازی سطحی نمونه‌ها به‌وسیله سمباده‌هایی از شماره‌ی ۸۰۰ تا ۳۰۰۰ مش و پولیش به‌وسیله سوسپانسیون آلومینایی حاوی ذرات ۱ تا ۳ میکرون انجام شده است. در ادامه با استفاده از حمام آلتراسونیک به ترتیب در محلول‌های استون (ساسول، آفریقای جنوبی)، الکل و آب مقطر به مدت ۱۰ دقیقه عملیات چربی‌زدایی انجام شده است. در تهیه سوسپانسیون پوشش‌دهی، کلسیم نترات چهار آبه (مرک، $>99\%$)، آمونیوم دی‌هیدروژن فسفات (مرک، $>99\%$)، نترات سدیم (مرک، $>99\%$)، سدیم هیدروکسید (مرک، $>99\%$)، هیدروژن پراکسید ۳۰ درصد (مرک، $>99\%$)، نترات نقره و پودر آلومینا (مرک، $>99\%$)، و آب دی یونیزه با نسبت‌های مناسب مورد استفاده قرار گرفته و pH نهایی محلول سوسپانسیون ۴/۵ است و تمام مواد اولیه مرک و با خلوص آزمایشگاهی هستند. همانطور که سوسپانسیون پوشش‌دهی بر روی همزن مغناطیسی قرار دارد و نمونه جهت اعمال پوشش به عنوان کاتد و فولاد زنگ نزن ۳۱۶ به‌عنوان آند در آن قرار دارد، پوشش‌دهی به‌وسیله فرایند رسوب‌دهی الکتروشیمیایی در جریان ۲ میلی آمپر، ولتاژ ۳ ولت، دمای ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۰ دقیقه انجام شده است. دستگاه مورد استفاده ما در این پروژه دستگاه رسوب‌دهی الکتروشیمیایی ۲۰ آمپر ۱۲ ولتی نوسانی دو قطبی مدل (SL20PRC) ساخت شرکت سیلیکون تبدیل توان بین الملل ایران با برند IPC می‌باشد. ساختار فازی پوشش لایه نازک به‌وسیله GIXRD (Philips PW1730) به‌وسیله اشعه ایکس $\text{Cu K}\alpha$ با طول موج 0.154056 ، آنکسترم در ولتاژ ۴۰ کیلو ولت و جریان ۳۰ میلی آمپر در زوایای تفرق ۱۰ تا ۸۰ درجه و زاویه ورودی ۳ و ۷ درجه ارزیابی شده است، همچنین پیوندهای شیمیایی و گروه‌های عاملی پوشش به‌وسیله روش سنجش مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) با دستگاه مدل AVATAR ارزیابی شده است. خواص ساختاری، ریخت‌شناسی، سطح مقطع پوشش تک لایه هیدروکسی آپاتیت آلومینا-نقره به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM) و توپوگرافی سطحی لایه‌ها به وسیله میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) در مقیاس ۵ میکرومتر مورد بررسی قرار گرفت. خواص نانو مکانیکی نمونه‌ها همانند نانو سختی، مدول الاستیک و مکانیزم عمق نفوذ بوسیله AFM و فرورونده برکوویچ (منشوری با زاویه رأس $142/3$ درجه) و نرم افزارهای IINanoscope (بررسی تصاویر) و Triboscope (رسم و بررسی نمودارها) تحت بارهای مختلف اعمالی در جهت ثابت بر روی سطح نمونه‌ها همانند ۵۰ و ۵۰۰ میکرونیوتن مورد ارزیابی قرار گرفت. خاصیت ضد باکتری پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره در برابر باکتری گرم منفی اشرشیا کلی با روش سنجش میزان کدورت که بیانگر رشد باکتری در محیط کشت، برای آلیاژهای کنترل و نمونه‌ی سنتز شده انجام شد به این صورت که از کشت ۱۶ تا ۱۸ ساعته باکتری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور پیش کشت در محیط نوترینت براث تهیه شد. سپس از پیش کشت، ۰.۵ مک فارلند تهیه شد و ۵ میلی لیتر از کشت تهیه شده در لوله‌های استریل مجزا، لوله‌ی اول حاوی پوشش هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره به عنوان نمونه مورد بررسی، لوله‌ی دوم حاوی آلیاژ منیزیم بدون پوشش به عنوان کنترل ریخته شد. به یک لوله هم ۵ میلی لیتر محیط کشت خالی به عنوان کنترل منفی اضافه شد. بعد از ۶ و ۱۸ ساعت کشت در انکوباتور شیکردار سنجش اثر نمونه‌ها بر روی روند رشد باکتری مورد نظر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Biotek) در ۶۳۰ نانومتر بررسی شد، همچنین از نمونه‌های به‌دست آمده با کشت روی محیط کشت حاوی نوتریت آگار تست شمارش کلونی (CFU) انجام شد. جهت افزایش قابلیت تکرارپذیری و اطمینان از داده‌ها آزمایش‌ها سه مرتبه تکرار شده‌اند.

۳- نتایج و بحث

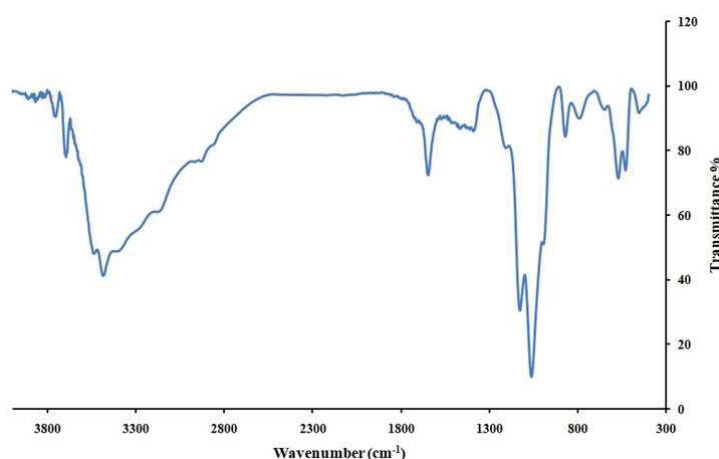
در شکل ۱ الگوی پراش اشعه x با زاویه‌های ورودی ۳ و ۷ درجه برای نمونه $\text{HA-Al}_2\text{O}_3\text{-Ag}$ نشان دهنده ساختار کاملاً کریستالی

پوشش کامپوزیتی با متوسط اندازه بلورک ۳۵ نانومتر است، که با توجه به کارت استاندارد شماره ۷۳۰۸-۹۰۰-۹۶ پوشش هیدروکسی آپاتیت دارای ساختار بلوری هگزاگونال با سه پیک اصلی در زوایای تفرق برابر با $32/95^\circ$ ، $35/56^\circ$ ، $36/93^\circ$ درجه به ترتیب مربوط به صفحات بلوری (۰۱۱) و (۰۰۲) و (۰۱۰) است. همچنین فاز آلومینا پوشش با توجه به کارت استاندارد شماره ۸۰۸۲-۹۰۰-۹۶ دارای ساختار کوراندوم با سه پیک $43/5^\circ$ ، $36/4^\circ$ ، $25/5^\circ$ درجه به ترتیب مربوط به صفحات (۰۱۲) و (۰۱۴) و (۱۱۳) می‌باشد. افزایش زاویه ورودی اشعه ایکس از ۳ به ۷ درجه، نشان دهنده افزایش شدت فازهای آلومینا و نقره در ساختار پوشش هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره است، که این می‌تواند ناشی از ساختار لایه‌ای و متخلخل هیدروکسی آپاتیت باشد که با افزایش عمق نفوذ اشعه ایکس، شدت فازها افزایش یافته است [۹-۱۱].



شکل ۱- الگوی پراش اشعه X نمونه HA-Al₂O₃-Ag در زاویه‌های ورودی، الف) ۳ درجه، و ب) ۷ درجه.

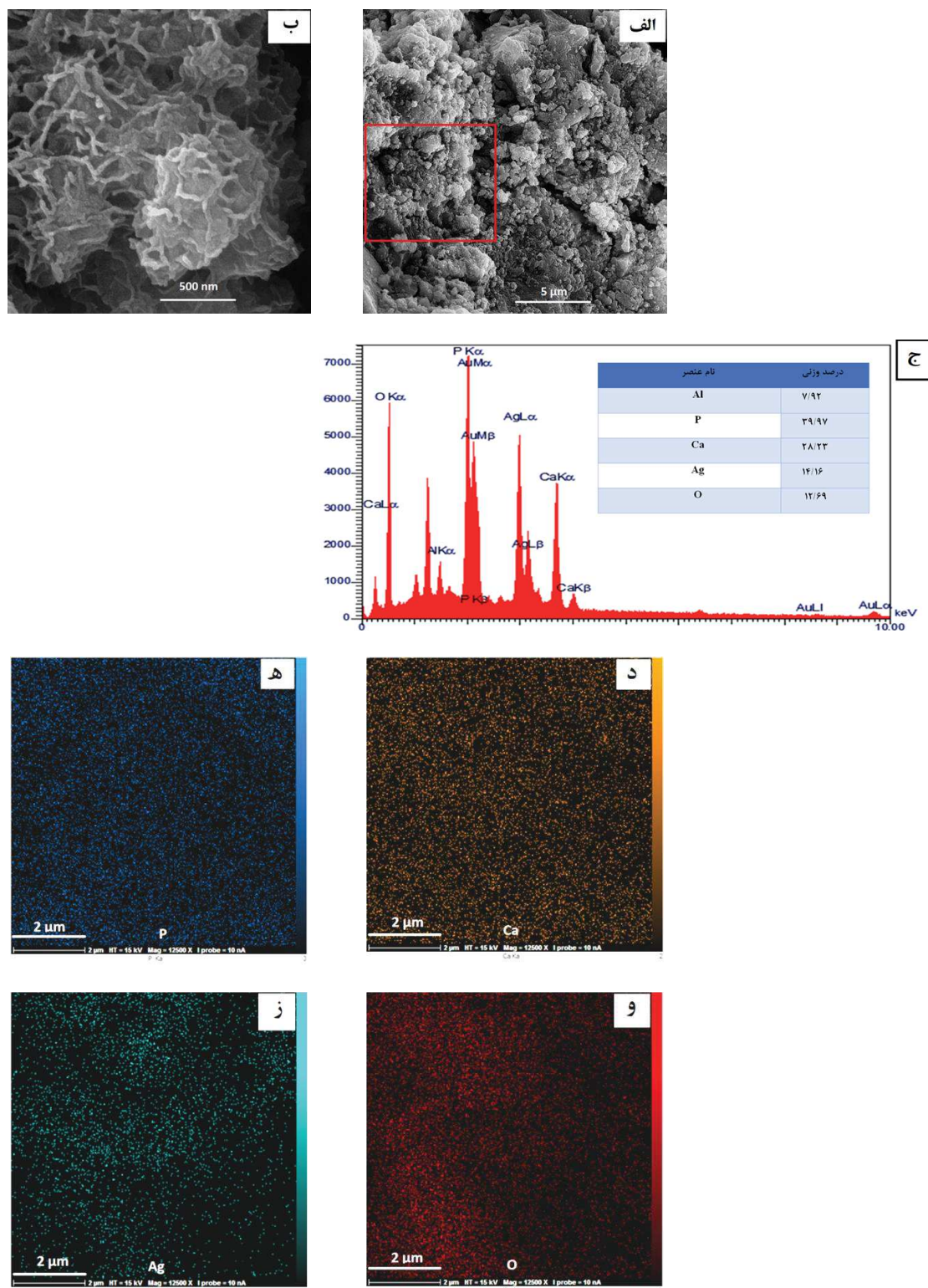
در شکل ۲ منحنی FTIR پوشش نانوساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره، نشان دهنده حضور پیک‌ها در محدوده $500-1100\text{ cm}^{-1}$ مربوط به باندهای فسفاتی PO_4^{3-} ، در واقع پیک‌های در محدوده $1000-1129\text{ cm}^{-1}$ مربوط به پیوندهای فسفاتی P-O، پیک‌های 792 cm^{-1} و 872 cm^{-1} نشان دهنده وجود پیوند N-H، و پیک 3486 cm^{-1} نشان دهنده وجود آب در ترکیب می‌باشد. همچنین پیک‌های 3695 cm^{-1} و 3753 cm^{-1} به ترتیب مربوط به پیوندهای هیدروژنی OH و گروه هیدروکسیل در ساختار هیدروکسی آپاتیت است که مطابق با مقالات [۲۵-۲۶] پهن بود پیک‌های آن‌ها بیانگر پایداری پوشش هیدروکسی آپاتیت است. لازم به ذکر است که وجود پیک‌های تیز در نمودار طیف سنجی FTIR نشان از کریستالی بودن بالای پوشش دارد [۲۵].



شکل ۲- منحنی FTIR پوشش نانوساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره.

در شکل ۳ تصاویر FESEM و منحنی EDAX و نقشه عناصر اکسیژن، آلومینیوم، فسفر، کلسیم و نقره در پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره نشان داده شده که بیانگر ساختار آگلومره شکل، متخلخل و لایه‌ای شکل مربوط به هیدروکسی آپاتیت است که پیرامون آن‌ها را رشته‌های نازک فرا گرفته است، که در بزرگنمایی ۱۰۰ هزار برابر ساختار گلی شکل

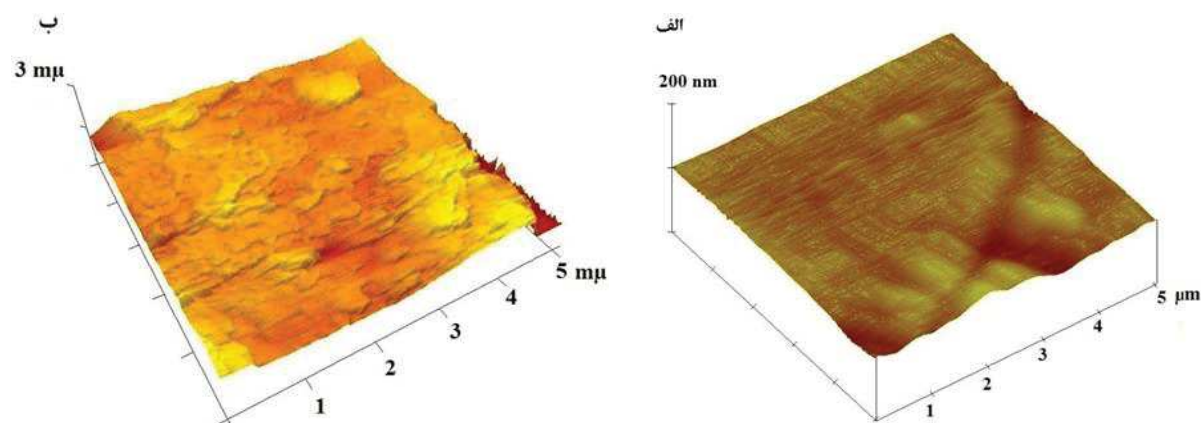
هیدروکسی آپاتیت به خوبی مشاهده شده است. همچنین در شکل ۳-ج منحنی EDAX حضور عناصر اکسیژن، آلومینیوم، نقره، کلسیم و فسفر در پوشش نانوساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره و همچنین نقشه‌های عنصری در شکل ۳ نشان دهنده توزیع یکنواخت عناصر و نسبت غلظت کلسیم به فسفر حدود ۱/۴ است.



شکل ۳- تصاویر FESEM پوشش نانوساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره در بزرگنمایی‌های (الف) ۱۰ هزار برابر و (ب) ۱۰۰ هزار برابر، (ج) منحنی EDAX، نقشه عناصر منطقه قرمز رنگ شکل الف، (د) کلسیم، (ه) فسفر، (و) اکسیژن، (ز) نقره.



مطابق مقالات پوشش هیدروکسی آپاتیت خالص بافتی غیریکنواخت داشته و در نواحی مختلف سطح فرورفتگی‌ها و ترک‌هایی وجود دارد و حضور عناصر نقره در پوشش منجر به ایجاد پوشش پیوسته و تقریباً یکنواختی همراه با حذف تدریجی ترک‌ها شده است [۱۹-۲۰]. در شکل ۴ تصاویر AFM زیرلایه منیزیم AZ31 و پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره نشان داده شده، که به خوبی بیانگر افزایش زبری سطح پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره با توجه به ماهیت ورقه‌ای شکل پوشش هیدروکسی آپاتیت (مطابق تصاویر FESEM نشان داده شده در شکل ۳) در مقیاس $5 \times 5 \mu m^2$ است. تصویر AFM به خوبی تایید کننده نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی است.

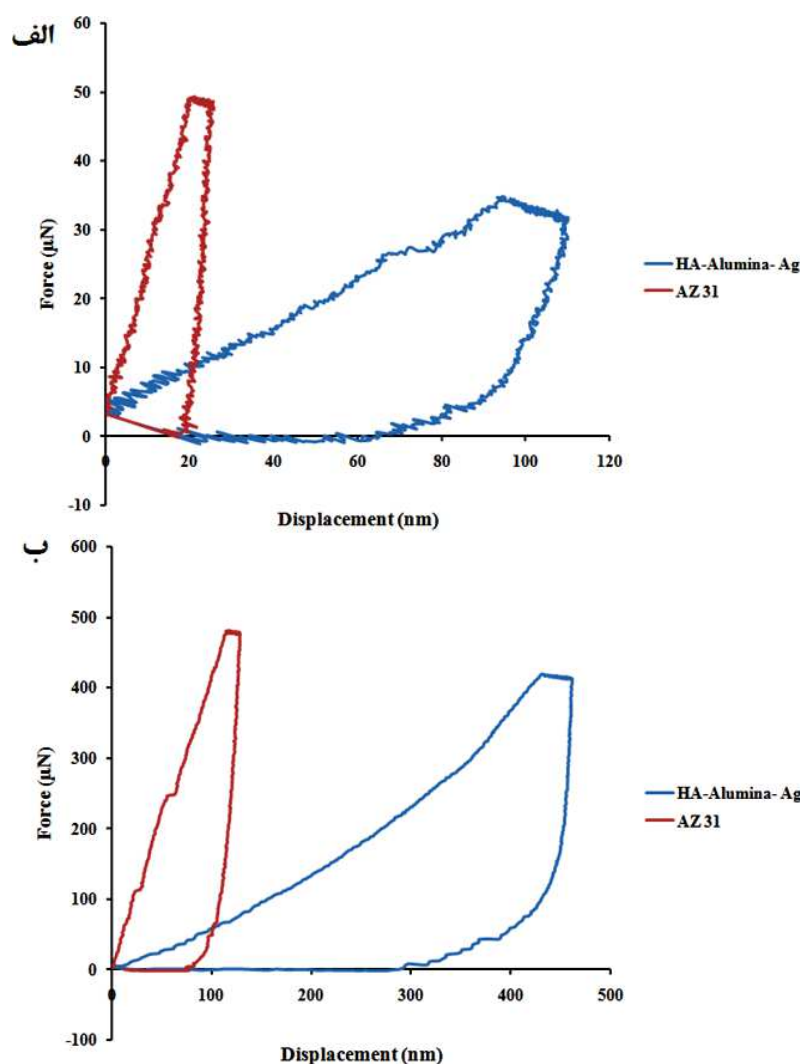


شکل ۴- تصویر AFM، الف) زیرلایه منیزیم AZ31 و ب) پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره.

در شکل ۵ خواص نانو مکانیکی زیرلایه منیزیم AZ31 و پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره به وسیله روش نانو دندانگذاری جهت بررسی خواص نانو مکانیکی همانند سختی و مدول الاستیک در بارهای مختلف ۵۰ و ۵۰۰ میکرونیوتن، متناسب با قانون یک دهم ضخامت مورد بررسی قرار گرفته و نتایج آن بطور خلاصه در جدول ۱ ارائه شده است. پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره منجر به کاهش سختی سطح نمونه از 0.72 گیگا پاسکال به 0.11 گیگا پاسکال در بار اعمالی ۵۰ میکرو نیوتن و $1/34$ گیگاپاسکال به 0.22 گیگا پاسکال در بار اعمالی ۵۰۰ میکرونیوتن گردیده است. دلیل این کاهش سختی ناشی از ماهیت متخلخل و ورقه‌ای شکل فاز هیدروکسی آپاتیت در پوشش است، که حال با افزایش نیروی نانو دندانگذاری، عمق نفوذ افزایش و مقاومت پوشش نیز در برابر نفوذ فرورونده افزایش یافته که در نهایت منجر به تغییر مدول الاستیک نمونه از 52 گیگاپاسکال به $3/5$ گیگا پاسکال در بار اعمالی ۵۰ میکرونیوتن و از $44/6$ گیگا پاسکال به 10 در بار اعمالی ۵۰۰ میکرو نیوتن گردیده است. البته قابل ذکر است که در مقایسه با پوشش هیدروکسی آپاتیت، حضور آلومینا به دلیل سختی بسیار بالایی که دارد و ضریب اصطکاک پایین آن باعث افزایش سختی پوشش و بهبود خصوصیت سایشی پوشش هیدروکسی آپاتیت-آلومینا گردیده و افزایش درصد آلومینا به جهت سختی بالاتر نمونه، منجر بهبود مقاومت در برابر سایش گردیده است [۲۶-۲۷].

جدول ۱- نتایج خلاصه شده آزمایش دندانگذاری زیرلایه منیزیم AZ31 و پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره تحت بار گذاری‌های مختلف ۵۰ و ۵۰۰ میکرونیوتن.

بار اعمالی (μN)	نمونه	مدول الاستیک (GPa)	سختی (GPa)	ماکزیمم عمق نفوذ (nm)
۵۰	AZ31 زیر لایه	۵۲	0.72	۲۶
	HA-alumina- Ag	$3/5$	0.11	۱۱۰
۵۰۰	AZ31 زیر لایه	$44/6$	$1/34$	۱۲۸
	HA-alumina- Ag	۱۰	0.22	۴۶۲



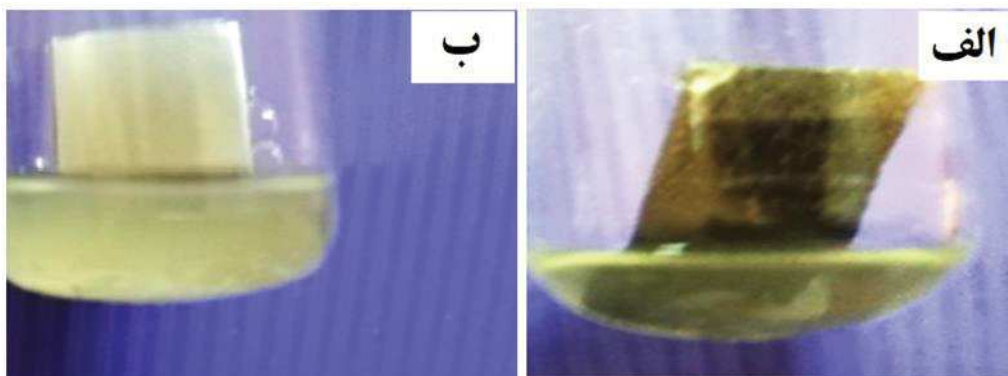
شکل ۵- الف) منحنی نانودندانه گذاری زیرلایه منیزیم AZ31 و پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت- آلومینا- نقره تحت بارگذاری های مختلف الف) ۵۰ میکرونیوتن و ب) ۵۰۰ میکرونیوتن.

همچنین قابل ذکر است که با اعمال پوشش هیدروکسی آپاتیت- آلومینا- نقره، میزان جابجایی در اثر اعمال بار ثابت در هنگام تغییر نحوه بارگذاری (قسمت افقی نمونه) افزایش یافته که می تواند بیانگر افزایش قابلیت ازدیاد طول سطح نمونه پوشش داده شده در مقایسه با زیرلایه منیزیم AZ31 باشد.

به طور کلی چندین ویژگی مهم در تمایل اولیه و چسبندگی سلول ها بر سطح ایمپلنت وجود دارد که شامل ریخت شناسی سطح ایمپلنت، بار سطحی، رطوبت سطح، آب دوستی ایمپلنت و انرژی آزاد سطحی هستند و ایمپلنت هایی که دارای سطح ناهموار و زبرتری هستند توانایی زیادی در جذب سلول های استخوانی و به عبارتی دیگر توانایی بالایی در اتصال به استخوان دارند [۲۸]، بنابراین رفتار ضد باکتری پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت- آلومینا- نقره در برابر باکتری گرم منفی E.Coli بوسیله آزمون شمارش کلونی و کدورت سنجی مورد بررسی قرار گرفته است. عفونت های ناشی از باکتری های گرم منفی به اندازه باکتری های گرم مثبت شایع نیستند، اما اگر این عفونت ها رشد یابد و اجازه تشکیل بیوفیلم ها را بدهد، می تواند عفونت های استخوانی را ایجاد نموده و بسیار خطرناک هستند و در نهایت باعث جراحی مجدد می گردند [۱۱]. داده های آزمون شمارش کلونی بیانگر کاهش تعداد کلونی های باکتری E.Coli از ۳۴۰ عدد کلونی برای نمونه کنترل به ۵۳ عدد کلونی برای پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت- آلومینا- نقره است. خواص ضد میکروبی نقره وابستگی زیادی به آزاد سازی یون نقره Ag^+ و واکنش آن با DNA باکتری دارد، که مانع از تکثیر باکتری و غیرفعال شدن باکتری می گردد [۱۱].

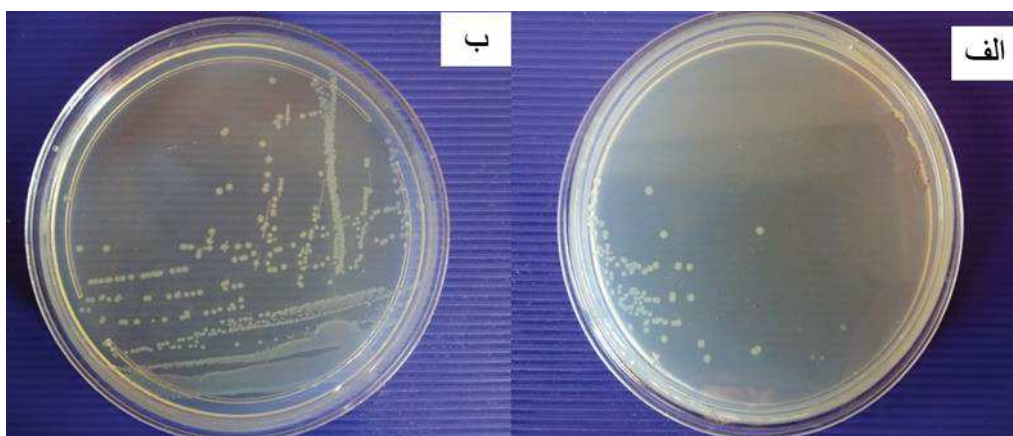
مطابق شکل ۶، میزان درجه رشد باکتری اشرشیاکلی در هنگام آزمایش کدورت سنجی در محیط کشت نوترینت برات انجام شد،

که همانطور که در شکل ۶ مشخص است رشد باکتری باعث کدر شدن محیط کشت شده است. در تصویر ۶-الف محیط کشت شفاف و نشان دهندهی اثر مهاري پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره بر رشد باکتری بوده که نسبت به نمونه ی کنترل به صورت کدر بودن محلول و رشد باکتری قابل مشاهده است.



شکل ۶- آزمایش کدورت سنجی درون لوله آزمایش در محیط کشت نوترینت برآث. (الف) پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره، (ب) منیزیم بدون پوشش.

همانطور که در شکل ۷ دیده شده، تعداد کلونی ها در نمونه ی کنترل به شکل معناداری بیشتر از نمونه ی حاصل از کشت پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره است که بیانگر اثر ضد باکتری پوشش های سنتز شده است.



شکل ۷- نتایج تست شمارش کلونی (الف) پوشش نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره (ب) نمونه ی کنترل.

۴- نتیجه گیری

پوشش نانو ساختار همگن و یکنواخت هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره با ضخامت تقریباً $0.6 \mu\text{m}$ میکرومتر بر روی سطح آلیاژ منیزیم AZ31 با استفاده از فرایند رسوب دهی الکتروشیمیایی در ولتاژ ۳ ولت، شدت جریان ۲ میلی آمپر در دمای 70°C درجه سانتیگراد و مدت زمان ۴۰ دقیقه اعمال شده است. نتایج بیانگر تشکیل پوشش همگن و یکنواخت نانو ساختار هیدروکسی آپاتیت-آلومینا-نقره در دمای 70°C درجه سانتیگراد است، که منجر به کاهش سختی سطح نمونه از 0.72 گیگا پاسکال به 0.11 گیگا پاسکال در بار اعمالی ۵۰ میکرو نیوتن و $1/34$ گیگا پاسکال به 0.22 گیگا پاسکال در بار اعمالی ۵۰۰ میکرو نیوتن گردیده، دلیل این کاهش سختی ناشی از ماهیت متخلخل و ورقه ای شکل فاز هیدروکسی آپاتیت در پوشش است، که با افزایش نیروی نانودندانه گذاری، عمق نفوذ افزایش و مقاومت پوشش نیز در برابر نفوذ فرورونده افزایش یافته که در نهایت منجر به تغییر مدول الاستیک نمونه از ۵۲ گیگا پاسکال به $3/5$ گیگا پاسکال در بار اعمالی ۵۰ میکرو نیوتن و از $44/6$ گیگا پاسکال به ۱۰ گیگا پاسکال در بار اعمالی ۵۰۰ میکرو نیوتن گردیده است. به طور کلی مطابق با نتایج مقالات مختلف پوشش کامپوزیتی هیدروکسی آپاتیت-تیتانیا حاوی نقره، با توجه به تاثیر این عوامل در کاهش اندازه کریستالیت و حضور به عنوان فاز تقویت



کننده، سختی و مدول یانگ پوشش افزایش و خواص الاستیکی آن نیز بهبود یافته است. همچنین نقره در پوشش، علاوه بر بهبود سختی پوشش، باعث شد خواص ضد باکتری گردیده است.

نقره اثر ضد میکروبی قوی در برابر گونه‌های خاصی از میکروارگانیسم‌ها دارد و به صورت انتخاب‌گر عمل می‌کند لذا تأثیر سمی کمی در برابر سایر میکروارگانیسم‌ها از خود نشان می‌دهد. مکانیزم‌های متفاوتی برای عملکرد ضد میکروبی نقره گزارش شده است. سه مکانیزم اصلی که بیشتر مورد استناد قرار گرفته‌اند عبارتند از تخریب غشای سلول، واکنش با گروه‌های SH موجود در آنزیم‌ها و ایجاد اختلال در متابولیسم‌های سلولی و تولید گونه‌های اکسیژن فعال. بنابراین نتایج این تحقیق که شامل کاهش حدود ۸۴ درصدی رشد کلونی‌های باکتری E.Coli به دلیل حضور عنصر نقره در پوشش کامپوزیتی در مقایسه با زیر لایه آلیاژ منیزیم AZ31 قابل توجیه است. در نهایت با توجه به هزینه‌ی کم ساخت این نوع پوشش پیشنهاد می‌شود که در سنتز ایمپلنت‌ها استفاده شود.

مراجع

- [1] K. Munir, J. Lin, C. Wen, P. F. A. Wright, Y. Li, Mechanical, corrosion, and biocompatibility properties of Mg-Zr-Sr-Sc alloys for biodegradable implant applications, *Acta Biomaterialia*, vol. 102, pp. 493-507, 2020.
- [2] A. Mohamed, A.M.El-Aziz, H.G. Breiteringer, Study of the degradation behavior and the biocompatibility of Mg-0.8Ca alloy for orthopedic implant applications, *Journal of Magnesium and Alloys*, vol. 7, pp. 249-257, 2019.
- [3] S. Virtanen, "Biodegradable Mg Alloys: Corrosion, Surface Modification, and Biocompatibility," Springer, Boston, MA, pp. 101-125, 2012.
- [4] M. Rahimi, R. Mehdiavaz Aghdam, M. HeydarzadehSohi, A. Hossein Rezayan, M. Ettelaie, Improving biocompatibility and corrosion resistance of anodized AZ31 Mg alloy by electrospun chitosan/mineralized bone allograft (MBA) nanocoatings, *Surface and Coatings Technology*, vol. 405, 126627, 2020.
- [5] Z. Geng, X. Li, Y. Zhang, E. Lin, S.Z. Kure-Chu, X. Li, X. Xiao, Corrosion resistance and degradation behavior of anodized Mg-Gd alloys: A comparative study, *Surface and Coatings Technology*, vol. 412, 127042, 2021.
- [6] W. Zai, X. Zhang, Y. Su, H.C.Man, G. Li, J.Lian, Comparison of corrosion resistance and biocompatibility of magnesium phosphate (MgP), zinc phosphate (ZnP) and calcium phosphate (CaP) conversion coatings on Mg alloy, *Surface and Coatings Technology*, vol. 397, 125919, 2020.
- [7] M. Afifi, M.K. Ahmed, A.M. Fathi, VukUskoković, Physical, electrochemical and biological evaluations of spin-coated ϵ -polycaprolactone thin films containing alumina/graphene/carbonated hydroxyapatite/titania for tissue engineering applications, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 585, 119502, 2020.
- [8] C. Piconi, *Alumina Comprehensive Biomaterials*, vol. 1, pp. 73-94, 2011.
- [9] N.S. Shahabudin, Z.A. Ahmad, N.S. Abdullah, Alumina Foam (AF) Fabrication Optimization and SBF Immersion Studies for AF, Hydroxyapatite (HA) Coated AF (HACAF) and HA-bentonite Coated AF (HABCAF) Bone Tissue Scaffolds *Procedia Chem.*, vol. 19 pp. 884-890, 2016.
- [10] M. Sattary, M. Rafienia, M.T. Khorasani, H. Salehi, The effect of collector type on the physical, chemical, and biological properties of polycaprolactone/gelatin/nano-hydroxyapatite electrospun scaffold, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, vol.107 pp. 933-950, 2018.
- [11] Nathan A. Trujillo, Rachael A. Oldinski, Hongyan Ma, James D. Bryers, John D. Williams, Ketul C. Popat, Antibacterial effects of silver-doped hydroxyapatite thin films sputter deposited on titanium, *Materials Science and Engineering: C*, vol.32, pp. 2135-2144, 2012.
- [12] P. H. Chua, K.G. Neoh, Z. Shi, E.T. Kang, Structural stability and bioapplicability assessment of hyaluronic acid-chitosan polyelectrolyte multilayers on titanium substrates, *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 87A, pp. 1061-1074, 2008.
- [13] J.H. Lee, H.J. Wang, J.B. Kaplan, W.Y. Lee, Microfluidic Approach to Create Three-Dimensional Tissue Models for Biofilm-Related Infection of Orthopaedic Implants, *Tissue Eng. C Meth.* Vol. 17, pp.39-48, 2011.
- [14] D. Campoccia, L. Montanaro, C.R. Arciola, The significance of infection related to orthopedic devices and issues of antibiotic resistance, *Biomaterials*, vol. 27 pp. 2331-2339, 2006.
- [15] L. Bernard, P. Hoffmeyer, M. Assal, P. Vaudaux, J. Schrenzel, D. Lew, Trends in the treatment of orthopaedic prosthetic infections, *J. Antimicrob. Chemother.* vol. 53 pp. 127-129, 2004.
- [16] V.H. Chu, D.R. Crosslin, J.Y. Friedman, S.D. Reed, C.H. Cabell, R.I. Griffiths, L.E. Masselink, K.S. Kaye, G.R. Corey, L.B. Reller, M.E. Stryjewski, K.A. Schulman, V.G. Fowler Jr. Staphylococcus aureus bacteremia in patients with prosthetic devices: Costs and outcomes, *Am. J. Med.* Vol. 118, pp.1416, 2005.
- [17] A.B. Lansdown, Critical Observations on the Neurotoxicity of Silver, *Critical Reviews in Toxicology*, Vol. 37, pp. 237-250, 2007.



- [18] A. Ewald, S.K. Gluckermann, R. Thull, U. Gbureck, Antimicrobial titanium/silver PVD coatings on titanium, *Biomed. Engineering*, vol. 5, pp. 22, 2006.
- [19] X. Zheng, Y. Chen, Y. Xie, H. Ji, L. Huang, C. Ding, Antibacterial property and biocompatibility of plasma sprayed hydroxyapatite/silver composite coatings, *J. Therm. Spray Technol*, vol. 18, pp. 463-463, 2009.
- [20] W. Chen, S. Oh, A.P. Ong, N. Oh, Y. Liu, H.S. Courtney, M. Appleford, J.L. Ong, Antibacterial and osteogenic properties of silver-containing hydroxyapatite coatings produced using a sol gel process, *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 82A, pp.899-906, 2007.
- [21] Alexandra Ioana Bucur, Emanoil Linul, Bogdan-Ovidiu Taranu, Hydroxyapatite coatings on Ti substrates by simultaneous precipitation and electrodeposition, *Applied Surface Science*, vol.527, 146820, 2020.
- [22] Ting-Ting Li, Lei Ling, Mei-Chen Lin, Qian Jiang, Qi Lin, Ching-Wen Lou, Jia-Horng Lin, Effects of ultrasonic treatment and current density on the properties of hydroxyapatite coating via electrodeposition and its in vitro biomineralization behavior, *Materials Science and Engineering: C*, vol.105, 110062, 2019.
- [23] N.F. Mohammad, R.N. Ahmad, N.L. MohdRosli, M.S.Abdul Manan, M. Marzuki, A. Wahi, Sol gel deposited hydroxyapatite-based coating technique on porous titanium niobium for biomedical applications: A mini review, *Materials Today: Proceedings*, vol. 41, pp.127-135, 2021.
- [24] Changmin Hu, Le Yu, Mei Wei, Sectioning studies of biomimetic collagen-hydroxyapatite coatings on Ti-6Al-4V substrates using focused ion beam, *Applied Surface Science*, vol.444, pp.590-597, 2018.
- [25] A. Stoch, A. Broz'ek, S. Błaz'ewicz, W. Jastrze'bski, J. Stoch, A. Adamczyk, I. Ro'j, FTIR study of electrochemically deposited hydroxyapatite coatings on carbon materials, *Journal of Molecular Structure* vol. 651-653, pp.389-396, 2003.
- [26] M. Nabil Salimi, R.H. Bridson, L.M. Grover, G.A. Leeke, Effect of processing conditions on the formation of hydroxyapatite nanoparticles, *Powder Technology*, vol.218, pp. 109-118, 2012.
- [27] Z. Evis, R. H.Doremus, Coatings of hydroxyapatite — nanosize alpha alumina composites on Ti-6Al-4V, *Materials Letters*, vol.59, pp.3824-3827, 2015.
- [28] M. Scharin-Mehlmann, A. Häring, M. Rommel, T. Dirnecker, O. Friedrich, L. Frey, D. F. Gilbert, Nano- and Micro-Patterned S-, H-, and X-PDMS for Cell-Based Applications: Comparison of Wettability, Roughness, and Cell-Derived Parameters, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* vol. 6, pp.1-13, 2018.