

**LABORATORIA
APARATURA
BADANIA**

ISSN-1427-5619

LAB

5 / 2018

DWUMIESIĘCZNIK



**Wpływ ciśnienia hydrostatycznego
na składniki i mikroorganizmy w mleku**

Metody badania odporności korozyjnej stopów magnezu do zastosowań w implantologii medycznej

Katarzyna Cesarz-Andraczka, Ryszard Nowosielski, Piotr Sakiewicz, Rafał Babilas*

W pracy przedstawiono obszar zastosowań stopów magnezu w implantologii medycznej. Opisano metody badania procesu korozji wybranych stopów magnezu, które są kluczowe do oceny przydatności badanego materiału w implantologii ortopedycznej. Różne metody badawcze odporności korozyjnej stopów magnezu mają swoje unikalne zalety, ale również ograniczenia. W pierwszej kolejności badania odporności korozyjnej ze względu na potencjalne zastosowanie stopów magnezu w implantologii medycznej należy wykonać tzw. badania *in vitro*. Są to badania przeprowadzane w warunkach laboratoryjnych, polegające na zbadaniu zachowania się ludzkich lub zwierzęcych komórek, tkanek albo symulowanych płynów ustrojowych w obecności badanego biomateriału. Niewłaściwa konfiguracja testu lub interpretacja wyników *in vitro* stwarza pole do błędnego uzasadnienia kolejnych eksperymentów *in vivo*, tj. badań wykonywanych na zwierzętach doświadczalnych, polegających na badaniu zachowania się żywego organizmu w kontakcie z biomateriałem (ciałem obcym). W pracy zawarto również wyniki badań własnych odporności korozyjnej amorficznych stopów magnezu.

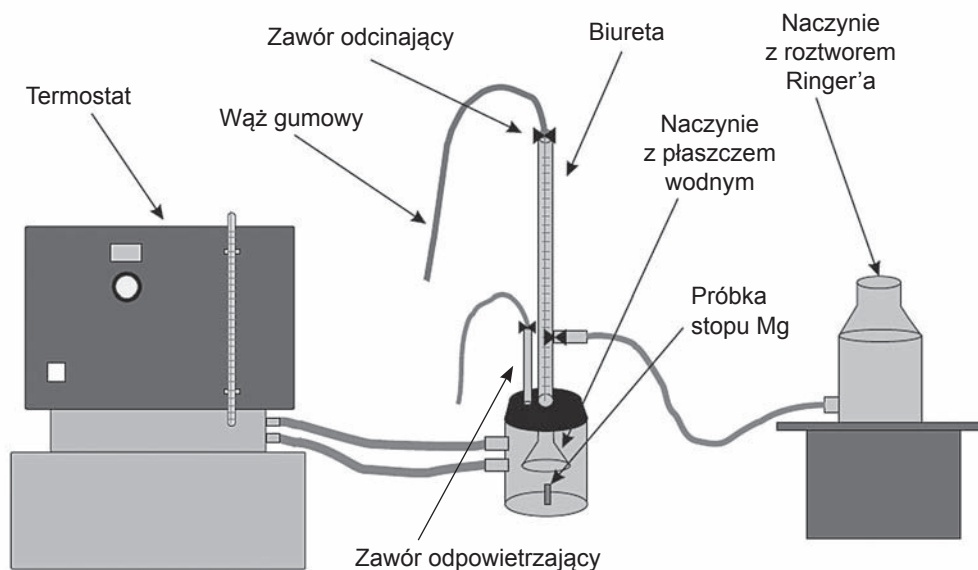
Stopy magnezu ze względu na niską gęstość ($\approx 2\text{g/m}^3$) [1] mają potencjał umożliwiający zastosowanie ich do konstrukcji lekkich i znajdują szerokie zastosowanie w sektorze motoryzacyjnym. Ponadto stopy magnezu rozpatrywane są jako biomateriał ulegający degradacji w ludzkim organizmie [2]. Magnez i jego stopy badano już w 1878 r. pod kątem ich potencjalnego wykorzystania jako materiałów biomedycznych. Stopy magnezu o biozgodnym składzie chemicznym jako resorbowalne materiały implantacyjne mogłyby bezpiecznie ulegać degradacji w ludzkim organizmie. Chociaż większość praktycznych zastosowań do tej pory koncentrowała się na

stentach [3-5], to własności użytkowe stopów magnezu są szczególnie korzystne w przypadku zastosowań ortopedycznych, gdzie dotychczasowe biomateriały na implanty z reguły mają własności nieodpasowane mechanicznie z kośćmi, co prowadzi w konsekwencji do szybszego zużycia wszczepu i konieczności jego natychmiastowej wymiany [6]. Resorbowalny implant ze stopu magnezu miałby stopniowo degradować w ludzkim organizmie z szybkością zapewniającą utrzymanie własności mechanicznych zdolnych przenosić obciążenia podczas ruchu pacjenta, do czasu zrostu kości. Produkty degradacji (korozji) resorbowalnego implantu by-

łyby przetwarzane, przyswajane lub wydalane przez organizm pacjenta. Stosowanie implantów zaprojektowanych według tej koncepcji nie wymagałoby ponownej operacji i pozwalałoby na pozostawianie ciała obcego w organizmie człowieka [7]. Chociaż potencjał stopów magnezu do zastosowań medycznych jest oczywisty, opracowanie implantu wymaga dokładnych testów *in vivo*, początkowo przy użyciu organizmów zwierzęcych, a ostatecznie ludzi. Jednak kilka czynników znacząco utrudnia efektywne stosowanie testów *in vivo*, w tym czas i koszty, ale przede wszystkim potencjalne zagrożenie zdrowia i dyskomfort, jakie takie badania mogą wy-

wołać u badanych. Dlatego niezbędne jest zastosowanie odpowiednich testów *in vitro* do wstępnej selekcji stopów magnezu w celu określenia ich przydatności do dalszych badań *in vivo* [8].

Istnieje kilka powszechnie stosowanych testów *in vitro*, od prostych metod grawimetrycznych do bardziej złożonych metod elektrochemicznych, które dostarczają informacji na temat szybkości i mechanizmów korozji. Korozja stopów magnezu w środowisku wodnym przebiega dynamicznie, ponieważ reakcją katodową jest redukcja wody (wytwarzanie gazowego wodoru) stąd też powszechne jest stosowanie metod grawimetrycznych i badań immersyjnych



Rys. 1. Schemat opracowanego stanowiska do wykonywania pomiaru uwolnionego wodoru w czasie zanurzenia próbki stopu magnezu [7]

z pomiarem objętości uwolnionego wodoru [1,6].

Testy immersyjne to jedna z metod oceny własności korozyjnych biodegradowalnych materiałów metalicznych. Zgodnie z normą ISO 10993-15 (*Biologiczna ocena urządzeń medycznych, Część 15: Identyfikacja i oznaczenie ilościowe produktów degradacji metali i stopów*) oraz ASTM G31-72: *Standard Practice for Laboratory Immersion Corrosion Testing of Metals* analizie poddaje się materiał ulegający stopniowej degradacji pod wpływem zanurzenia w roztworze chemicznym oraz produkty jego korozyj. Norma ISO 10993-15 wskazuje, że naczynie, w którym przeprowadzane jest badanie powinno być szczelnie zamknięte, aby zapobiec parowaniu, a temperatura roztworu powinna być utrzymywana na poziomie 37°C przez 7 dni, a następnie roztwór jest poddawany anali-

zie. Czynniki, które wpływają na wyniki obejmują [8]:

- stosunek objętości roztworu do powierzchni próbki (V/S),
- szybkość przepływu roztworu, w którym badane są próbki stopów,
- czas zanurzenia próbki w roztworze,
- sposób oceny szybkości korozyj.

Ze względu na fakt, że w przypadku stopów magnezu szybkość korozyj zmienia się z czasem zanurzenia, wyróżnia się cztery podstawowe metody do oceny szybkości korozyj:

- ubytek masy próbki,
- ilość uwolnionego wodoru,
- stężenie uwolnionych jonów podczas zanurzenia,
- prąd podczas korozyj elektrochemicznej.

Ubytek masy to metoda polegająca na pomiarze masy próbki przed i po teście zanurzeniowym. Wyznaczenie szybkości korozyj polega na podstawie-

niu uzyskanych danych do następującego wzoru:

$$R = W/A \cdot t, \text{ g/m}^2 \cdot \text{doba}$$

gdzie:

R – szybkość korozyj,

$\text{g/m}^2 \cdot \text{doba}$

W – zmiana masy próbki, g

A – powierzchnia próbki, m^2

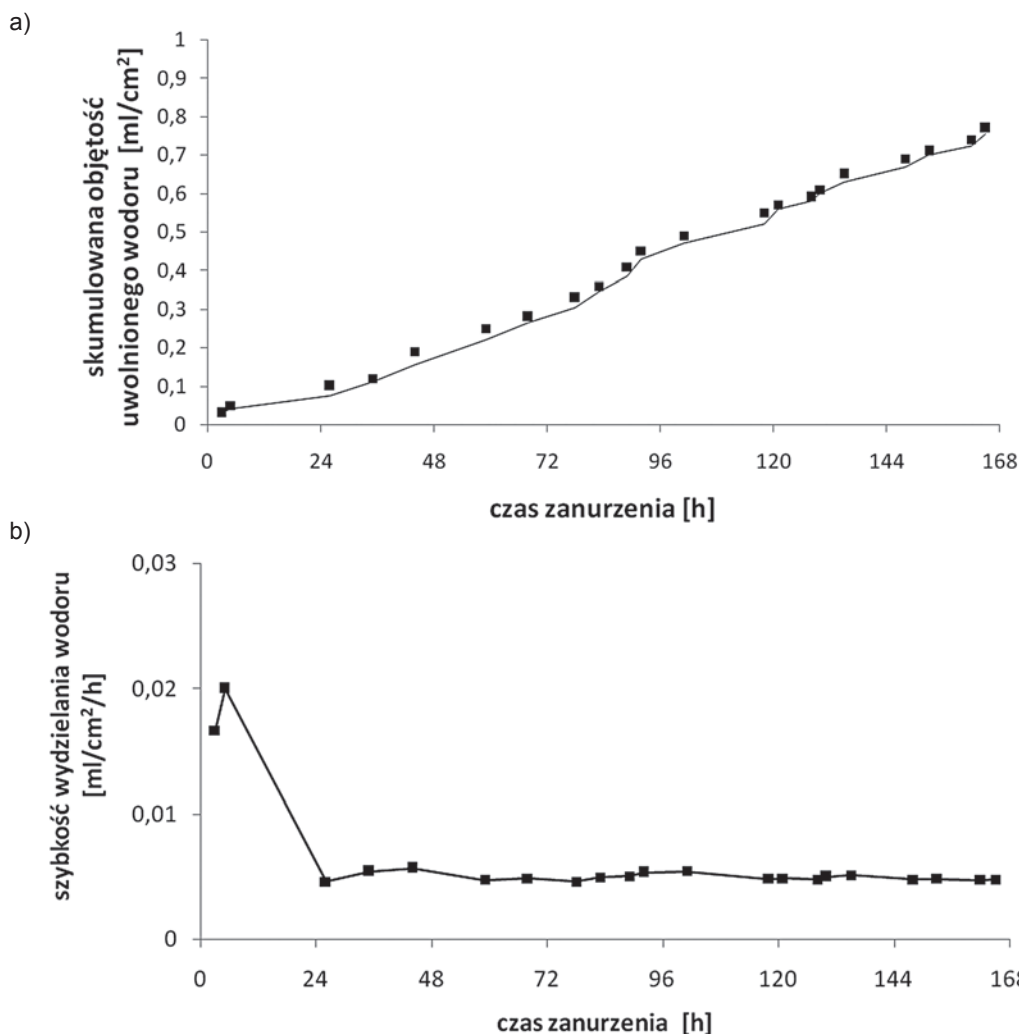
t – czas ekspozycji, doba.

Kluczowe znaczenie dla tej metody ma operacja usuwania produktów korozyj z powierzchni próbki: niektórzy naukowcy [9,10] usuwają je przemywając powierzchnię wodą destylowaną. Z kolei inni [11,12] oczyszczają powierzchnię próbki przez zanurzenie jej w 180 g/l kwasu chromowego. Każda z tych metod obarczona jest błędem, ponieważ woda destylowana nie usuwa wszystkich produktów korozyj, natomiast zanurzenie w nieodpowiednim czasie próbki w kwasie chromowym może spowodować nieodwracalne zmiany

na powierzchni próbki, wpływając jednocześnie na ubytek masy.

Pomiar objętości uwolnionego wodoru może służyć do oceny korozyj tylko w odniesieniu do metali, takich jak stopy magnezu tj. wydzielających gaz po zanurzeniu w symulowanym płynie ustrojowym. Do tego celu konieczne jest opracowanie niezbędnego oprzyrządowania: na rysunku 1 przedstawiono schemat stanowiska do wykonywania pomiaru wydzielanego wodoru w czasie zanurzenia próbki stopu magnezu [7].

Należy nadmienić, że opracowane stanowisko służy do wyznaczenia objętości tylko uwolnionego wodoru. Część gazowego wodoru jest pochłaniana przez stop magnezu i ta część pochłoniętego wodoru nie może być wyznaczona na tym stanowisku [13]. W szczelnie zamkniętym naczyniu z płaszczem wodnym umieszcza się próbkę badanego materiału. Uwolniony gazowy wodór kierowany jest do biurety przez lejek, co z kolei powoduje obniżenie poziomu roztworu w biurecie. Odczytu zmian poziomu cieczy w biurecie po zrównaniu z poziomem cieczy w naczyniu z tubusem dokonuje się w jednogodzinnych odstępach czasowych. Na tej podstawie opracowuje się wyniki badań np. w formie wykresu (rys. 2.) Wyznaczona skumulowana objętość uwolnionego wodoru (rys. 2a) dla badanego stopu $\text{Mg}_{67}\text{Zn}_{29}\text{Ca}_4$ wyniosła $0,79 \text{ ml/cm}^2$ przez 168 godzin zanurzenia w roztworze Ringer'a w temperaturze 37°C.



Rys. 2. Wyniki badań immersyjnych amorficznego stop magnezu Mg₆₇Zn₂₉Ca₄: a) ilość wydzielonego wodoru, b) szybkość uwalniania wodoru w funkcji czasu zanurzenia w roztworze Ringer’a w temperaturze 37°C

Z kolei szybkość uwalniania wodoru (rys. 2b) jest zmienna w czasie: początkowa szybkość uwalniania wodoru jest najwyższa i wynosi ok. 0,02 ml/cm²/h. Po pierwszych 24h zanurzenia znacznie zmniejsza się i stabilizuje na poziomie około 0,005 ml/cm²/h. Należy nadmienić, że duże znaczenie w tym badaniu ma również dobór roztworu symulującego płyny ustrojowe człowieka. Przykładowo, obecność fosforanów czy octanów w składzie chemicznym roztworu do badań może wpłynąć na mechanizmy korozyjne bada-

nych stopów magnezu [14,15]. Roztwór Ringer’a to wodny roztwór zawierający głównie chlorki, przez co jego skład chemiczny jest zbliżony do składu chemicznego osocza ludzkiej krwi pod względem związków nieorganicznych. Roztwór Ringer’a nie zawiera związków organicznych typu białka, glukoza, aminokwasy, witaminy itp., a obecność chlorków powoduje, że roztwór ten stanowi agresywne środowisko, umożliwiające prowadzenie badań w warunkach przyspieszających mechanizmy korozyjne, co po-

zwala z kolei ocenić w krótkim czasie przydatność materiału do badań. Degradacja magnezu w środowiskach wodnych generalnie odbywa się przez elektrochemiczną reakcję z wodą, czego efektem jest wytworzenie Mg(OH)₂ i wodoru [8]:

$$\text{Mg} + 2 \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{Mg}(\text{OH})_2 + \text{H}_2$$

Powyższa reakcja oznacza, że uwolnienie jednego atomu magnezu wytwarza jedną cząsteczkę gazowego wodoru. Zatem zmierzona objętość wodoru może być przekształ-

cona w liczbę moli uwolnionego magnezu z zastosowaniem stanu gazu idealnego:

$$PV = nRT$$

gdzie:
 P – ciśnienie, 1atm=101325Pa
 V – objętość, l
 R – stała gazowa, R=0,082l·atm/mol·K
 T – temperatura, K
 n – liczba moli.

Równanie stanu gazu doskonałego można zastosować do obliczania objętości dla znanej ilości gazu w różnych temperaturach. W związku z tym zastosowano to równanie dla wyznaczenia ilości wydzielonego wodoru podczas badań immersyjnych stopów magnezu (rys. 2) [7]:

$$V_H = \frac{p \cdot T_n}{p_n \cdot T} \cdot V_{\text{odczyt}}$$

gdzie:
 V_H – ilość uwolnionego wodoru, cm³
 p – ciśnienie panujące podczas badań immersyjnych, Pa
 p_n – ciśnienie dla warunków normalnych, p_n=101325Pa
 T – temperatura panująca w pomieszczeniu, gdzie wykonywano badanie, K
 T_n – temperatura dla warunków normalnych, T_n=273,15 K
 V_{odczyt} – odczytana ilość wydzielonego wodoru z biurety, cm³.

Pomiar ilości uwolnionego wodoru odzwierciedla jednak tylko reakcję katodową magnezu pomijając inne mechanizmy korozji. Stężenie uwolnionych jonów w płynie użytym do testów zanurzeniowych to kolejny sposób



Rys. 3 Stanowisko do badań elektrochemicznych znajdujące się w Pracowni badań korozyjnych Instytutu Materiałów Inżynierskich i Biomedycznych na Wydziale Mechanicznym Technologicznym Politechniki Śląskiej

wyznaczenia szybkości korozji metali. Roztwór po badaniach zanurzeniowych zostaje rozcieńczony przed dodaniem kwasu, a następnie zbadany na indukcyjnie sprzężonym plazmowym atomowym spektrometrze emisyjnym, który wykorzystuje się do pomiaru stężenia jonowego. Szybkość korozji wyznacza się zgodnie ze wzorem [8]:

$$R = c \cdot V / S \cdot t$$

gdzie:

R – szybkość korozji,
c – stężenie uwolnionych jonów,
V – objętość roztworu,
S – powierzchnia ekspozycji na medium korozyjne,
t – czas ekspozycji.

Metoda ta ma te same ograniczenia co metoda pomiaru ubytku masy, ponieważ nie wszystkie produkty korozji są uwalniane do roztworu. Najpowszechniej stosowaną metodą wyznaczenia szybkości korozji w warunkach in vitro są badania elektrochemiczne (polaryzacja liniowa, spektroskopia impedancji elektrochemicznej). Zwłaszcza testy elektrochemiczne są przydatne do wyznaczenia szybkości korozji zależnej od czasu, którą oblicza się w następujący sposób [8]:

$$R = K \cdot (J_{\text{kor}} / \rho) \cdot m_e, \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$$

gdzie:

R – szybkość korozji,
K – stała, $K = 3,273 \cdot 10^{-3} \text{ mm/g} / (\mu\text{A} \cdot \text{cm} \cdot \text{a})$
 J_{kor} – gęstość prądu,
 ρ – gęstość materiału próbki,
 m_e – równoważnik masowy.

Stanowisko do badań elektrochemicznych (rys. 3) złożone jest zazwyczaj z potencjostatu, elektrolizera wraz z elektrodą pomocniczą, elektrodą roboczą (próbka stopu magnezu). Pomiędzy **elektrodą pomocniczą** a elektrodą roboczą płynie prąd, powodujący zmiany potencjału elektrody badanej. Do pomiaru zmian potencjału próbki badanego stopu służy **elektroda odniesienia**.

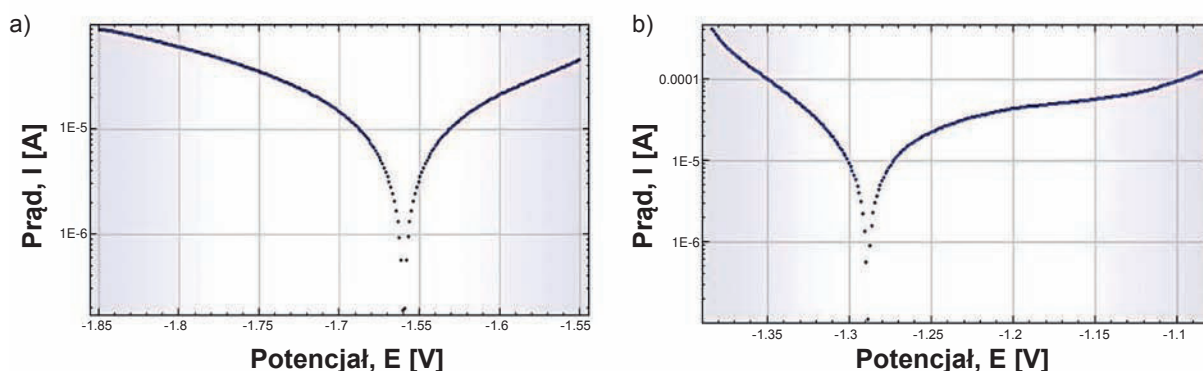
Na rysunku 4 przedstawiono wyniki elektrochemicznych badań potencjodynamicznych dla amorficznego stopu $\text{Mg}_{67}\text{Zn}_{29}\text{Ca}_4$ w roztworze Ringer'a w temperaturze 37°C. Badania potencjodynamiczne polegają na rejestracji krzywych polaryzacji. Celem badań jest zarejestrowanie zmian gęstości prądu na elektrodzie roboczej (próbce) i odniesienie ich do zmian potencjału tej elektrody. Uzyskane wyniki mają postać krzywych, które przedstawia się w skali logarytmicznej (rys. 4). Potencjał korozyjny (rys. 4) dla próbki Mg wyniósł -1,66V, a dla stopu $\text{Mg}_{67}\text{Zn}_{29}\text{Ca}_4$: 1,29V, co wskazuje na większą odporność korozyjną stopu magnezu w porównaniu do próbki

czystego Mg. Ponadto krzywa w części katodowej (lewa strona) zlokalizowana jest w wyższym zakresie prądowym niż część anodowa krzywej (prawa strona), co wskazuje na większą aktywność katodową niż anodową. W przypadku stopów magnezu aktywność katodowa wiąże się z intensywnym uwalnianiem wodoru. Za pomocą oprogramowania NOVA 11.1 **metodą ekstrapolacji Tafela** wyznaczono również **potencjał korozyjny**, E_{corr} [V], **szybkość korozji** V_{corr} [mm/rok] **opór polaryzacyjny**, R_p [Ω], **gęstość prądu korozji**, j_{corr} [mA/cm^2]. **Ekstrapolację Tafela** wykonano na podstawie **równania Sterna-Geary'ego**, którego postać jest następująca:

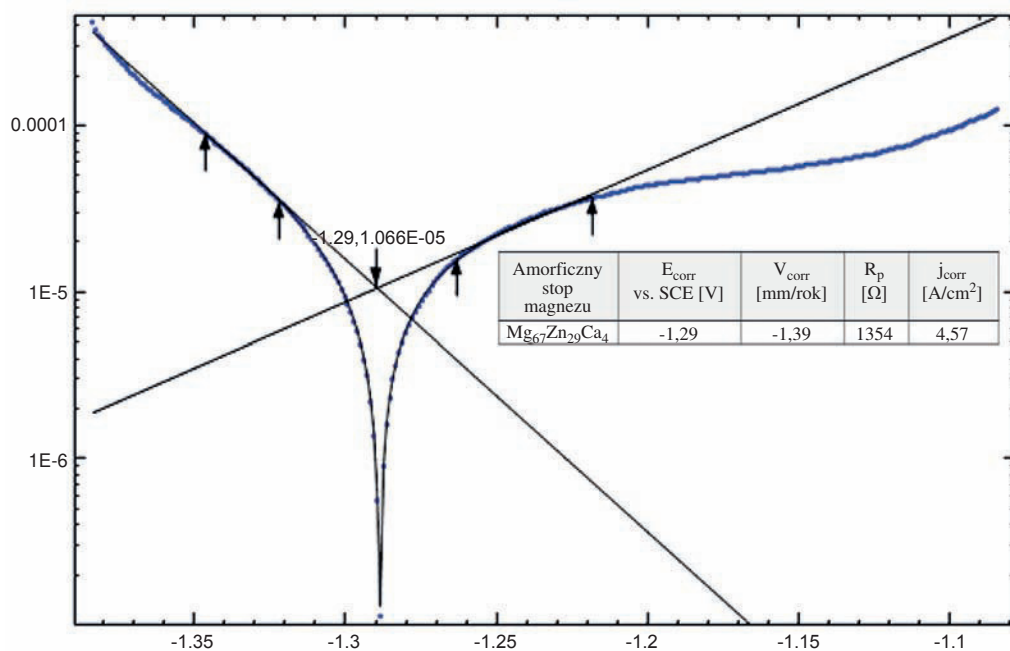
$$R_p = \frac{b_a \cdot b_k}{2,3(b_a + b_k) \cdot j_{\text{corr}}} \quad [\Omega \cdot \text{cm}^2]$$

gdzie:

R_p – opór polaryzacyjny, Ωcm^2 ,
 b_a – współczynnik nachylenia prostej Tafela dla procesu anodowego,
 b_k – współczynnik nachylenia prostej Tafela dla procesu katodowego,
 j_{corr} – gęstość prądu korozji, mA/cm^2 .



Rys. 4. Wyniki badań potencjodynamicznych dla: a) Mg (czystość 99,95%), b) amorficznego stopu $\text{Mg}_{67}\text{Zn}_{29}\text{Ca}_4$ po 1 godzinie zanurzenia w roztworze Ringer'a w temperaturze 37°C



Rys. 5. Wyniki ekstrapolacji Tafela dla krzywej polaryzacyjnej amorficznego stopu $\text{Mg}_{67}\text{Zn}_{29}\text{Ca}_4$ po 1 godzinie zanurzenia w roztworze Ringer'a w temperaturze 37°C

Na rysunku 5 przedstawiono krzywą potencjodynamiczną dla amorficznego stopu $\text{Mg}_{67}\text{Zn}_{29}\text{Ca}_4$ z wykonaną ekstrapolacją Tafela, która pozwoliła na wyznaczenie E_{corr} [V], V_{corr} [mm/rok], R_p [Ω], j_{corr} [mA/cm^2].

Każda z przedstawionych metod wyznaczania szybkości korozji jest obarczona błędem, w związku z tym należy traktować je jako metody komplementarne. Do wyznaczenia szybkości korozji oraz oceny odporności korozyjnej stopów magnezu konieczne jest zastosowanie wszystkich przedstawionych metod badawczych. Przykładowo elektrochemiczne badania korozyjne to sposób przyspieszania postępu korozji, która nie może symulować rzeczywistej odporności na korozję w warunkach in vivo, ale może być wykorzystywana jako podstawa do wyznaczenia odporności na korozję materiału.

Wiele metod badania korozji – w przypadku stopów magnezu – ma na celu wyjaśnienie mechanizmów oraz przebiegu tego procesu, co z kolei jest pomocne w opracowaniu modeli prognozowania i kontroli korozji danego stopu magnezu. Należy nadmienić, że przebieg procesu korozji stopów magnezu jest uzależniony od struktury stopu, składu chemicznego i warstw powierzchniowych badanego układu. Istotnym jest również określenie składu chemicznego i fazowego produktów korozji. Aby to osiągnąć, powszechną praktyką jest stosowanie zestawu konwencjonalnych metod, w tym kontroli wzrokowej, mikroskopii optycznej i elektronowej oraz pomiarów elektrochemicznych.

W ostatnim dziesięcioleciu badania nad korozją zyskały na szybkim rozwoju wielu technik analitycznych. Na przykład współczesne mikro-

skopy elektronowe nie tylko zapewniają znacznie lepszą czułość i wyższą rozdzielczość, ale także oferują wiele nowych możliwości badawczych. Nowe metody przygotowywania próbek do mikroskopii również w znacznym stopniu przyczyniły się do badania morfologii i składu chemicznego warstw powierzchniowych. Niezwykle przydatne są inne liczne metody badawcze, w tym dyfrakcja elektronów wstecznie rozproszonych (EBSD), spektrometria mas jonowych wtórnych (SIMS) i mikroskop interferencyjny (IM) w połączeniu z obróbką statystyczną, umożliwiające naukowcom dokładniejsze poznanie mechanizmów korozji stopów magnezu.

Literatura

[1] W. Jingfeng, H. Song, L. Yang, W. Yiyun, X. Xingfeng, C. Kaiyong, Microstructure, mechanical and bio-corro-

sion properties of Mn-doped Mg–Zn–Ca bulk metallic glass composites Materials Science and Engineering C 33 (2013) 3832–3838

[2] M. Esmaily, J.E. Svensson, S. Fajardo, N. Birbilis, G.S. Frankel, S. Virtanen, R. Arrabal, S. Thomas, L.G. Johansson, Fundamentals and advances in magnesium alloy corrosion, Progress in Materials Science 89 (2017) 92–193

[3] S. Suave Lobodzinski, Bioabsorbable stenty wieńcowe, Folia Cardiologica Excerpta, 4, (2009) 247–250

[4] P. Barlis, J. Tanigawa, C. Di Mario, Coronary bioabsorbable magnesium stent: 15-month intravascular ultrasound and optical coherence tomography findings. European Heart Journal, 28 (2007) 2319–2325

[5] M. Ilnicka, M. Wawrzyńska, D. Biały, Biodegradowalne stenty wieńcowe – przegląd, Acta BioOptica et Informatica Medica, 15 (2009) 369–372

[6] N.T. Kirkland, N. Birbilis, M.P. Staiger, Assessing the corrosion of biodegradable magnesium implants: A critical review of current methodologies and their limitations, Acta Biomaterialia 8 (2012) 925–936

[7] K. Cesarz-Andraczke, Resorbowalne szkła metaliczne na osnowie magnezu, Rozprawa doktorska, Gliwice, Politechnika Śląska, 2016

[8] Z. Zhen, X. Ting-fei, Z. Yu-feng, A review on in vitro corrosion performance test of biodegradable metallic materials, Transactions of Nonferrous Metals Society of China 23 (2013) 2283–2293

Dokończenie na str. 55.

Dokończenie ze str. 38.

[9] Y. Wang, M. Wei, J. Gao, Improve corrosion resistance of magnesium in simulated body fluid by dicalcium phosphate dihydrate coating. *Materials Science and Engineering C*, 29(4) (2009) 1311–1316.

[10] F. Witte, J. Fischer, J. Nellesen, H. A. Crostack, V. A. Kaese, Pisch, F. Beckmann, H. Windhagen, In vitro and in vivo corrosion measurements of magnesium alloys, *Biomaterials*, 27(7) (2006) 1013–1018.

[11] L. Xu, E. Zhang, D. Yin, S. Zeng, K. Yang, In vitro corrosion behaviour of Mg alloys in a phosphate buffered solution for bone implant application, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 19(3) (2008) 1017–1025.

[12] E. Zhang, W. He, H. Du, K. Yang, Microstructure, mechanical properties and corrosion properties of Mg–Zn–Y alloys with low Zn content. *Materials Science and Engineering A* 488(1) (2008) 102–111.

[13] N. Abidin, A. D. Atrens, D.

Martin, A. Atrens, Corrosion of high purity Mg, Mg₂Zn_{0.2}Mn, ZE41 and AZ91 in Hank's solution at 37C, *Corrosion Science* 53 (2011) 3542–3556

[14] D. Cao, L. Wu, Y. Sun, G. Wang, Y. Lv, Electrochemical behavior Mg-Li, Mg-Li-Al and Mg-Li-Al-Ce in sodium chloride solution, *Journal of Power Sources* 177 (2008), 624–630

[15] G. Song, A. Song, A possible biodegradable magnesium implant material, *Advanced Engineering Materials* 9 (2007) 221-327

* *Politechnika Śląska, Wydział Mechaniczny Technologiczny, Instytut Materiałów Inżynierskich i Biomedycznych, Zakład Materiałów Nanokrystalicznych i Funkcjonalnych oraz Zrównoważonych Technologii Proekologicznych;*

^a *Katarzyna.Cesarz-Andraczke@polsl.pl;*

^b *ryszard.nowosielski@polsl.pl;*

^c *piotr.sakiewicz@polsl.pl;*

^d *rafal.babilas@polsl.pl*