

## تأثیر عنصر مس بر نرخ تخریب و خواص بیولوژیکی آلیاژ منیزیم- آلومینیوم- مس ساخته شده به روش پلاسمای جرقه‌ای

نرگس صفری<sup>۱\*</sup>، محمدرضا طرقي نژاد<sup>۱</sup>، مهشيد خرازيها<sup>۱</sup> و وحیده سعیدی<sup>۲</sup>

۱. دانشکده مهندسی مواد، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. دانشکده مهندسی کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۳/۲۹ - دریافت نسخه نهایی: ۱۳۹۸/۶/۶)

**چکیده-** هدف از انجام این پژوهش، ساخت آلیاژهای Mg-Al-Cu حاوی مقادیر مختلف مس (۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد وزنی) به کمک روش تفجوشی جرقه‌ای و ارزیابی نرخ تخریب و خواص بیولوژیکی آنها است. نتایج نشان داد که با افزودن ۰/۲۵ درصد مس نرخ تخریب از ۰/۰۳۹ سانتی‌متر بر ساعت در منیزیم خالص به ۰/۰۵۸ سانتی‌متر بر ساعت کاهش یافت. به علاوه درصد زیست‌پذیری سلول های MG63 در تماس با آلیاژ Mg-1Al-0.25Cu به‌طور قابل توجهی بالاتر (۱/۲۵ برابر) از آن در تماس با منیزیم خالص بود که به دلیل نرخ مناسب رهایش یون عناصر بود. همچنین، آلیاژ Mg-1Al-0.25Cu مس رفتار ضدباکتریایی قابل توجهی از خود نشان داد. بنابراین آلیاژ Mg-1Al-0.25Cu با نرخ تخریب مناسب، زیست‌سازگاری مطلوب و خواص ضدباکتریایی می‌تواند به عنوان کاشتنی ارتوپدی زیست‌تخریب‌پذیر معرفی شود.

واژه‌های کلیدی: آلیاژهای منیزیم، نرخ تخریب، سمیت سلولی، خواص آنتی‌باکتریال.

## Influence of Cu Element on Degradation Rate and Biological Properties of Mg-Al-Cu Alloy Prepared by Spark Plasma Sintering

N. Safari<sup>1\*</sup>, M. Toroghinejad<sup>1</sup>, M. Kharaziha<sup>1</sup> and V. Saeedi<sup>2</sup>

1. Department of Materials Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

2. Department of Agricultural Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

**Abstract:** The aim of this study was to fabricate the Mg-1Al-Cu alloys with various amounts of Cu content (0, 0.25, 0.5 and 1 wt.%) using spark plasma sintering (SPS) approach and evaluation of their degradation rate and biological properties. The results indicated that Cu incorporation (0.25 wt.%) significantly diminish degradation rate from 0.039 cm/h in pure Mg to 0.00584 cm/h in Mg-1Al-0.25Cu alloy. In addition, Mg-1Al-0.25Cu alloy could noticeably (1.25 times) promote viability of MG63 cells compared to pure Mg, owing to the optimized ion release. Moreover, the antibacterial activity of Mg-1Al-0.25Cu was considerable. In summary, Mg-1Al-0.25Cu alloy with appropriate degradation rate, good biocompatibility and antibacterial properties can be introduced as a biodegradable orthopedic implant.

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Ngs.Safari1991@gmail.com

**Keywords:** *Magnesium alloy, Degradation rate, Cytotoxicity, Antibacterial properties.*

## ۱- مقدمه

اسکلت بدن انسان از تعداد زیادی استخوان تشکیل شده است. حرکت اعضای مختلف بدن، حفاظت از اعضای داخلی، شکل‌دهی به بدن و حفظ ایستایی آن، از جمله وظایف استخوان در بدن انسان است. در حال حاضر میلیون‌ها بیمار از انواع مختلف عیوب استخوانی مانند تومور، شکستگی و پوکی استخوان در دنیا رنج می‌برند که منجر به محدودیت در حرکت انسان و عدم توانایی در انجام فعالیت‌های طبیعی آنها می‌شود [۱]. در میان این آسیب‌ها، شکستگی استخوان، از جمله شایع‌ترین اختلالات اسکلتی است که به علت تصادفات ماشینی، صدمات در فعالیت‌های ورزشی و پیری رخ می‌دهد [۲]. به منظور ارائه درمان موفق برای استخوان شکسته، در سال‌های اخیر کاشتنی‌های پایه فلزی به دلیل قابلیت تحمل بار بالا، مقاومت مکانیکی و چقرمگی شکست بالا مورد توجه قرار گرفته است. در نتیجه این کاشتنی‌ها در پروتزهایی که تحت بار مکانیکی قرار دارند و نیاز به استحکام بالاتری دارند، استفاده می‌شوند [۳]. در بین گسترده وسیعی از فلزات، تنها گروه محدودی از آنها شامل فولادهای ضدزنگ، آلیاژ کروم-کبالت و تیتانیم و آلیاژهای آن کاربرد گسترده‌ای برای توسعه کاشتنی‌های فلزی دارند. استحکام بالا، مقاومت در برابر شکستگی و انعطاف‌پذیری خوب فلزات منجر به استفاده از آنها در کاشتنی‌های ارتوپدی تحت بار شده است [۴]. مهم‌ترین نگرانی موجود در خصوص استفاده از فلزات برای کاربردهای ارتوپدی، بالا بودن سرعت خوردگی در محیط بدن است. مقاومت به خوردگی برای این کاشتنی‌ها به توانایی تشکیل لایه اکسیدی محافظ بر سطح کاشتنی فلزی در زمان قرارگیری در بدن بستگی دارد [۵]. همچنین خوردگی شدن اغلب کاشتنی فلزی در بدن منجر به ایجاد محصولات خوردگی سمی و آسیب به بافت‌های مجاور می‌شود. در نتیجه، کاشتنی فلزی بایستی بعد از بهبود بافت آسیب دیده از بدن خارج شود. پس دیگر محدودیت این کاشتنی‌ها نیاز به عمل

جراحی ثانویه به منظور خروج کاشتنی است. بنابراین گروه جدیدی از مواد که نیازی به خروج از بدن بعد از بهبودی بافت ندارند، معرفی شد [۶].

به تازگی منیزیم و آلیاژهای آن با خواص منحصر به فرد مانند چگالی پایین (۱/۷۴-۲/۰ گرم بر سانتی‌متر مکعب) و مدول الاستیک نزدیک به استخوان انسان (۴۵-۴۱ گیگاپاسگال) به عنوان کاشتنی‌های ارتوپدی موقت برای درمان شکستگی استخوان استفاده می‌شود [۷-۹]. به علاوه منیزیم از عناصر ضروری در بدن انسان است و در بافت استخوانی ذخیره می‌شود. محصولات خوردگی منیزیم و آلیاژهای آن نه تنها سمی نبوده، بلکه می‌تواند منجر به تهییج رشد استخوان جدید شود [۱۰]. با این حال خواص خوردگی ضعیف منیزیم خالص منجر به توسعه آلیاژهای پایه منیزیم شد. از آنجا که آلومینیوم نقش بسزایی در خواص خوردگی منیزیم خالص دارد، آلیاژ منیزیم-آلومینیوم که حاوی مقادیر محدود آلومینیوم (به دلیل سمیت سلولی یون‌های آلومینیوم آزاد شده) است، به عنوان مواد کاشتنی‌های ارتوپدی مورد توجه قرار گرفت [۱۱]. یکی از چالش‌های فعلی برای استفاده از کاشتنی‌های فلزی در بدن، تجمع باکتری‌ها در سطح کاشتنی و تشکیل زیست‌لایه<sup>۱</sup> و ایجاد عفونت ناشی از آن است. زیست‌لایه می‌تواند منجر به تخریب استخوان و بافت نرم اطراف آن شود [۱۲]. یکی از راه‌های غلبه بر عفونت‌های ناشی از تشکیل زیست‌لایه، ساخت کاشتنی‌ها با خاصیت ضد میکروبی است. از جمله مواد با خاصیت آنتی‌باکتریال ذاتی می‌توان به نقره، روی و مس اشاره کرد [۱۳]. مس یکی از فلزات با خاصیت آنتی‌باکتری ذاتی است که می‌تواند با طیف وسیعی از میکروب‌ها مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها مقابله کند [۱۴]. لیو و همکاران [۱۵] خاصیت ضدباکتری و تأثیر افزودن مس به آلیاژ پایه منیزیم را ارزیابی کردند. نتایج در این پژوهش نشان داد که با افزودن ۰/۰۳ درصد وزنی مس به منیزیم خالص استحکام فشاری در مقایسه با منیزیم خالص تا

از فرایند پلاسمای جرقه‌ای، پودرهای آلومینیوم و مس حاوی مقادیر مختلف مس (صفر، ۲۰، ۳۳ و ۵۰ درصد وزنی) در محفظه و گلوله‌های فولادی به کمک دستگاه آسیای مکانیکی آسیا شد. نسبت وزن پودر به گلوله ۱:۱۲ و به منظور جلوگیری از چسبیدن پودر به محفظه یک درصد وزنی اسید استتاریک به پودر اضافه شد. قطر گلوله‌ها ۱۰ میلی‌متر، زمان آسیاکاری ۲۰ ساعت و سرعت چرخش ۲۰۰ دور بر دقیقه انتخاب شد. بعد از آسیای پودرهای آلومینیوم و مس، پودرها به کمک همزن مغناطیسی و به مدت ۶۰ دقیقه در اتانول توزیع شد. در نهایت سوسپانسیون آلومینیوم و مس و پودر منیزیم خالص به کمک همزن مکانیکی به مدت سه ساعت و با سرعت ۲۰۰۰ دور بر دقیقه مخلوط شد. مخلوط به دست آمده در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت دو ساعت در آن خلأ خشک شد. به منظور تهیه نمونه حجمی از پودر آماده شده Mg-1Al-xCu (x= صفر، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱)، از دستگاه تف‌جوشی پلاسمای جرقه‌ای استفاده شد. در ابتدا، برای ارزیابی و تعیین دمای بهینه، آلیاژ Mg-1Al-0.5Cu در دماهای مختلف ۴۵۰، ۵۵۰ و ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد تف‌جوشی شد و در ادامه، دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد به عنوان دمای بهینه انتخاب شد. همچنین برای انتخاب شرایط بهینه فشار، نمونه Mg-1Al-0.5Cu در فشارهای مختلف ۳۰ و ۴۰ مگاپاسگال ساخته شد و فشار ۴۰ مگاپاسگال به عنوان فشار بهینه انتخاب شد. بنابراین شرایط بهینه فرایند پلاسمای جرقه‌ای برای کلیه نمونه‌ها، دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۴۰ مگاپاسگال انتخاب شد. قطر قالب در این پژوهش ۱۵ میلی‌متر و جنس قالب از گرافیت خالص انتخاب شد. همچنین زمان انجام فرایند پلاسمای جرقه‌ای، ۱۰ دقیقه و پالس ۲۰۰-۴۰ میلی‌ثانیه انتخاب شد. پیش از شروع فرایند پلاسمای جرقه‌ای، ابتدا کاغذ گرافیتی به اندازه سطح و اطراف قالب بریده شد. سپس پودرهای آماده شده داخل قالب قرار داده شد. به علاوه به منظور جلوگیری از اکسید شدن نمونه‌ها فرایند پلاسمای جرقه‌ای در شرایط خلأ انجام شد.

۱۹۹/۶۷ مگاپاسگال افزایش یافت. به علاوه زنده‌مانی سلول‌های MC3T3-E1 و HUVECs در تماس با آلیاژ منیزیم-مس حاوی ۰/۰۳ و ۰/۵۷ درصد وزنی مس افزایش یافت.

روش‌های مختلفی به منظور توسعه آلیاژهای پایه منیزیم، ارائه شده است. این روش‌ها شامل ریخته‌گری [۱۶]، آلیاژسازی مکانیکی [۱۷] و روش‌های متالورژی پودر [۱۸] است. یکی از روش‌های پیشرفته متالورژی پودر، فرایند پلاسمای جرقه‌ای<sup>۲</sup> (SPS) است. در فرایند پلاسمای جرقه‌ای، از قطع و وصل پالس‌های جریان و یک فشار تک‌محوری استفاده می‌شود. در این روش پودرهای فلزی را می‌توان در دمای پایین‌تر از دمای ذوب و در زمان بسیار کوتاه می‌توان سیتر کرد. با توجه به سرعت بالا و اعمال همزمان فشار و جریان (افزایش دما) در این فرایند، استفاده از آن برای آلیاژهای پایه منیزیم، به دلیل ممانعت از اکسیداسیون، عدم نفوذ ناخالصی در دماهای بالا، مقرون به صرفه بودن و تولید سریع بسیار مطلوب است [۱۹]. با وجود تحقیقات انجام شده در این زمینه، ساخت آلیاژ Mg-Al-Cu با استفاده از فرایند پلاسمای جرقه‌ای هنوز مورد بررسی قرار نگرفته است.

بر این اساس، در پژوهش حاضر، از روش پلاسمای جرقه‌ای برای ساخت Mg-1Al-xCu حاوی مقادیر مختلف مس (۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد وزنی) با نرخ تخریب مناسب، زیست‌سازگاری بالا و خواص آنتی‌باکتریال مطلوب، برای کاربرد به عنوان کاشتنی ارتوپدی استفاده شد.

## ۲- مواد و روش تحقیق

### ۲-۱- مواد و ساخت آلیاژ Mg-Al-Cu

پودر منیزیم (با خلوص ۹۹/۸ درصد و اندازه ذرات کمتر از ۷۰ میکرومتر)، پودر آلومینیوم (با خلوص ۹۹/۸ درصد و اندازه ذرات کمتر از ۶۰ میکرومتر) و پودر مس (با خلوص ۹۹/۸ درصد و اندازه ذرات کمتر از ۶۳ میکرومتر) تهیه شد. ساخت آلیاژ Mg-Al-Cu طی دو مرحله انجام شد. در مرحله اول و قبل

## ۲-۲- مشخصه‌یابی آلیاژ Mg-Al-Cu

سازی بدن<sup>۶</sup> (SBF) مورد بررسی قرار گرفت. در این راستا نمونه‌ها در محلول شبیه‌سازی بدن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و نسبت ثابت سطح به حجم محلول شبیه‌سازی بدن قرار گرفت. تغییرات pH، میزان گاز هیدروژن رها شده و وزن کاسته شده از نمونه‌ها هر دو ساعت یک بار اندازه‌گیری شد. نرخ تخریب به کمک معادله زیر محاسبه شد [۲۰]:

$$\text{سرعت تخریب} = \frac{W}{A \times T \times D} \quad (1)$$

که در آن W وزن بر حسب گرم، A سطح نمونه در تماس با محلول شبیه‌سازی بدن بر حسب سانتی‌متر مربع، T زمان قرار گرفتن در محلول بر حسب ساعت و D چگالی نمونه بر حسب گرم بر سانتی‌متر مکعب است. همچنین، وزن از دست رفته از فرمول زیر محاسبه شد [۲۱]:

$$\text{وزن از دست رفته} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \quad (2)$$

در این فرمول W<sub>1</sub> وزن نمونه قبل از غوطه‌وری و W<sub>2</sub> وزن نمونه بعد از غوطه‌وری است.

## ۲-۴- ارزیابی زیست‌سازگاری آلیاژ Mg-Al-Cu

آزمون کشت سلولی برای ارزیابی سمیت و زنده‌مانی سلول MG63 بر اساس آزمون MTT انجام شد. در این پژوهش، محیط کشت مورد استفاده برای سلول‌های MG63 شامل DMEM غنی شده با ۱۰ درصد حجمی سرم گاوی، و یک درصد حجمی پنی‌سیلین/استرپتومایسین بود که بر مبنای تحقیقات انجام شده روی این سلول انتخاب شد [۲۲]. درون انکوباتور تحت شرایط پنج درصد CO<sub>2</sub> و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت شد تا به تعداد مورد نظر برسند. به منظور ارزیابی سمیت آلیاژهای پایه منیزیم از روش عصاره‌گیری استفاده شد. پیش از ریختن عصاره‌های تهیه شده از نمونه‌ها در سطح سلول‌ها، پلیت حاوی سلول به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور تحت شرایط پنج درصد CO<sub>2</sub> و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا سلول‌ها به کف پلیت بچسبند. بعد از آن، عصاره‌های تهیه شده ابتدا به غلظت ۰/۱۲ میلی‌گرم بر

به منظور فازیابی ذرات پودر تهیه شده با روش آسیاکاری، آزمون پراش پرتو ایکس انجام شد. به این منظور، نمونه‌ها درون نگهدارنده دستگاه پراش پرتو ایکس<sup>۳</sup> (XRD) قرار داده شد و سپس طیف پرتو ایکس روی آنها تابانده شد. الگوهای پراش با استفاده از لامپ CuKα، در بازه ۲۰ < θ < ۸۰ درجه به دست آمد. پس از به دست آوردن الگوی پراش پرتو ایکس، هر یک از فازها و اجزای سازنده آن از طریق مقایسه زاویه و شدت پیک‌های پراش با اطلاعات موجود در کارت‌های استاندارد با استفاده از نرم‌افزار X-Pert تعیین شد. به منظور مطالعه و ارزیابی خواص حرارتی پودرهای ساخته شده با آسیای گلوله‌ای، تعیین دمای تشکیل فازهای یوتکتیک و ترکیبات بین فلزی از آنالیز حرارتی افتراقی<sup>۴</sup> (DTA) در اتمسفر گاز آرگون استفاده شد. به این منظور پودر آسیا شده، تحت آزمون آنالیز حرارتی قرار گرفت. در این آزمون، حدود ۲۰-۱۰ میلی‌گرم از پودر مورد بررسی در یک بوتله و آلومینا به عنوان نمونه مرجع در بوتله دیگر به طور همزمان در داخل محفظه قرار گرفت و سپس تا دمای ۹۰۰ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه گرم شد. در حین فرایند، اگر در پودر واکنشی رخ دهد (گرمازا و یا گرماگیر)، دستگاه میزان گرمای داده شده و یا گرفته شده را در مقایسه با ماده مرجع، که واکنشی در طول حرارت‌دهی در آن رخ نمی‌دهد، بر حسب دما و زمان رسم می‌کند. به منظور بررسی و ارزیابی ریزساختار نمونه‌ها، از میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۵</sup> (SEM) استفاده شد. ابتدا نمونه‌ها توسط وایرکات بریده و سپس با سنباده‌های ۸۰، ۱۲۰، ۲۴۰، ۳۲۰، ۶۰۰، ۱۲۰۰، ۲۴۰۰ و ۴۰۰۰ سنباده زده شد. بعد از آن نمونه‌ها توسط نم‌د و ذرات آلومینا با اندازه ذرات ۰/۰۵ میکرون پولیش شد. نمونه‌ها با اتانول شسته و در دمای محیط خشک شدند.

## ۲-۳- ارزیابی تخریب‌پذیری آلیاژ Mg-Al-Cu

میزان تخریب آلیاژهای پایه منیزیم ساخته شده در محلول شبیه

۲-۵- ارزیابی خاصیت آنتی باکتریال آلیاژ Mg-Al-Cu

آزمون آنتی باکتریال در این پژوهش به روش بررسی هاله عدم رشد با استفاده از باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس<sup>۱۰</sup> و اشرشیاکلا<sup>۱۱</sup> بر عصاره آلیاژ منیزیم با غلظت ۰/۲۵ میلی گرم در میلی لیتر صورت گرفت. ۵۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون میکروبی مورد نظر روی پلیت حاوی محیط کشت BHI<sup>۱۲</sup> منتقل شده و توسط یک میله روی سطح پلیت پخش شدند. در مرحله بعد، یک حفره وسط پلیت ایجاد کرده و توسط میکروتیوپ، ۵۰ میکرو لیتر از عصاره نمونه‌ها در چاهک‌ها ریخته شده و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، تا باکتری‌ها رشد کنند. بعد از سپری شدن این زمان، محدوده‌ای که میکروارگانیسم‌ها رشد نکرده، از لبه چاهک تا لبه رشد میکروارگانیسم‌ها، میزان فعالیت ضد میکروبی نمونه را نشان می‌دهد. در نهایت قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد.

۲-۶- آنالیز آماری

کلیه نتایج در آزمون‌های کمی به صورت میانگین نمونه‌ها به همراه انحراف معیار گزارش شد. همچنین به منظور مقایسه نتایج، آنالیز یک طرفه ANOVA و مقایسه چندگانه Tukey با استفاده از نرم‌افزار Prism GraphPad (v.5)، روی نتایج انجام شد مقادیر  $P < 0/05$  به صورت معنی‌دار گزارش شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مشخصه‌یابی پودر آلومینیوم-مس

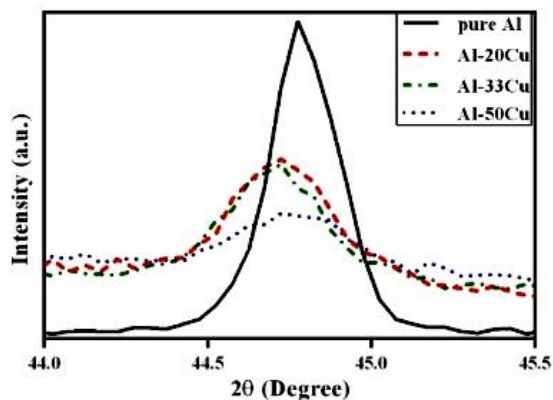
قبل از ساخت آلیاژ Mg-Al-Cu با روش پلاسمای جرقه‌ای، پودر آلومینیوم-مس آسیا شده ارزیابی شد. الگوی پراش پرتو ایکس این پودرها بعد از ۲۰ ساعت آسیاکاری در شکل (۱-الف) آورده شده است. مطابق با این شکل، در طول آسیاکاری هیچ فاز جدیدی تشکیل نشده و تمام پیک‌های تشکیل شده،

میلی لیتر رسیده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه ورتکس شده و جایگزین محیط کشت رویی در سطح سلول‌های پلیت شدند. لازم به ذکر است که غلظت انتخاب شده بر اساس آزمون‌های اولیه روی غلظت‌های مختلف از آلیاژ Mg-1Al-xCu (۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲ و ۰/۰۵ میلی گرم بر میلی لیتر) انتخاب شد. بعد از عصاره‌گیری از نمونه‌ها، آنها را از محیط کشت خارج کرده و غلظت یون‌های منیزیم و مس موجود در عصاره با آزمون پلاسمای جفت شده القایی<sup>۱۳</sup> (ICP) ارزیابی شد.

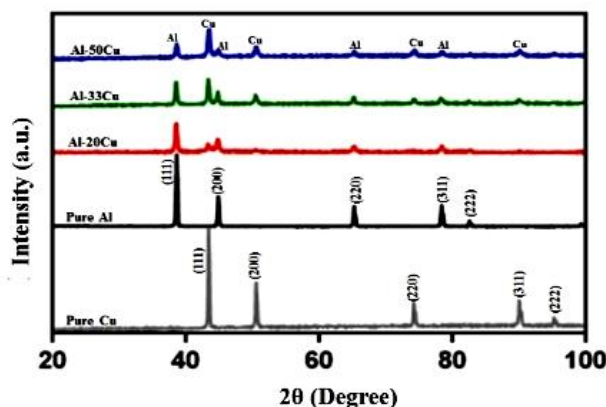
برای ارزیابی فعالیت متابولیسی سلول‌های MG63، از آزمون MTT استفاده شد. بدین منظور، بعد از ۲۴ ساعت کشت سلول‌ها در تماس با عصاره نمونه‌ها و بعد از خارج‌سازی محیط کشت رویی، ۲۰۰ میکرو لیتر از محلول حاوی ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر MTT در محلول بافر فسفات در هر چاهک ریخته و به مدت چهار ساعت در انکوباتور قرار داده شد. سلول‌های زنده چسبیده در سطح نمونه‌ها در اثر واکنش با MTT، بلورهای بنفش رنگ فورمازان تشکیل می‌دهند. به منظور حل کردن فورمازان‌های تشکیل شده از دی‌متیل سولفوکساید<sup>۱۴</sup> (DMSO) استفاده شد. به این ترتیب بعد از خارج کردن محیط کشت رویی از سطح نمونه‌ها، ۲۰۰ میکرو لیتر محلول دی‌کتیل سیلوکسان به هر چاهک اضافه شد و نمونه‌ها بر صفحه لغزان در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد تا کریستال‌های فورمازان حل شود. پس از حل شدن فورمازان‌ها، محلول بنفشی حاصل شده که در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای قرار داده شد. در نهایت، میزان جذب محلول‌ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر توسط دستگاه الیزا خوانده شد. در پایان، درصد نسبی بقای سلولی<sup>۱۵</sup> توسط رابطه زیر در روزهای مختلف محاسبه شد [۲۳]:

$$\text{درصد بقای سلولی} = \frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{Blank}}}{A_{\text{Control}} - A_{\text{Blank}}} \times 100 \quad (1)$$

که در این رابطه  $A_{\text{sample}}$  جذب نمونه تحت آزمایش،  $A_{\text{Blank}}$  جذب محلول DMSO و  $A_{\text{control}}$  جذب نمونه‌های کنترل (سلول کاشته شده در سطح پلیت سلولی) است.

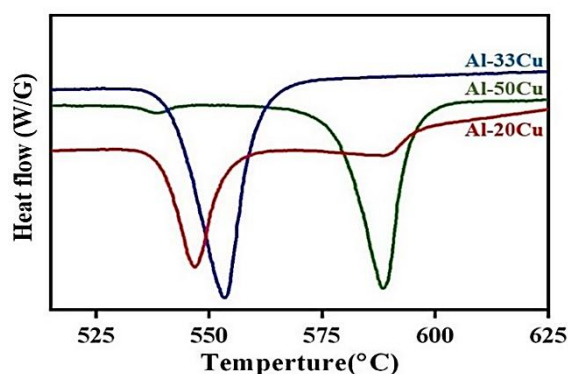


(ب)



(الف)

شکل ۱- الگوی پراش پرتو ایکس: الف) پودرهای Al-Cu بعد از ۲۰ ساعت آسیاکاری و ب) صفحه (۲۰۰) در شبکه کریستالی آلومینیوم



شکل ۲- نمودار آنالیز حرارتی افتراقی پودرهای آلومینیوم و مس آسیا شده به مدت ۲۰ ساعت

آنالیز حرارتی افتراقی پودرهای آلومینیوم-مس حاوی درصدهای مختلف مس (۲۰، ۳۳ و ۵۰ درصد) را نشان می‌دهد. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود، در زمان فرایند پلاسمای جرقه‌ای، یک یا چند واکنش گرماگیر (پیک‌های منفی در نمودار) متناسب با ترکیب‌های مختلف پودر رخ می‌دهد. بر اساس نمودار تعادلی آلیاژ آلومینیوم-مس، پودرهای حاوی ۲۰ درصد مس (Al-20Cu)، ۳۳ درصد مس (Al-33Cu) و ۵۰ درصد مس (Al-50Cu) به ترتیب آلیاژهای هیپوئوتکتیک، یوتکتیک و هایپریوتکتیک هستند. در نمودار آنالیز حرارتی افتراقی آلیاژ Al-20Cu، دو پیک گرماگیر به ترتیب در دمای ۵۴۶ و ۵۸۰ درجه سانتی‌گراد دیده می‌شود. پیک اول (۵۴۶ درجه سانتی‌گراد) مربوط به واکنش پروتکتوئید Al(Cu) و پیک دومی

پیک‌های آلومینیوم و مس است. از طرفی مطابق با این الگو دیده می‌شود که با افزایش مقدار مس، شدت پیک مس افزایش می‌یابد. به‌علاوه با بررسی پیک مربوط به صفحه (۲۰۰) از آلومینیوم (شکل ۱-ب)، دیده می‌شود که پیک‌ها به زوایای پایین‌تر جابه‌جا شده است که به دلیل نفوذ مس در شبکه آلومینیوم است. همچنین شدت پیک مربوط به صفحه کریستالی (۱۱۱) شبکه مس نیز کاهش یافته که تأییدی بر نفوذ این عنصر در ساختار آلومینیوم است.

به‌منظور تأیید عدم تشکیل فازهای میانی در حین فرایند آسیاکاری و پیش‌بینی ترکیب شیمیایی پودر آلومینیوم-مس حاوی مقادیر مختلف مس در طول فرایند پلاسمای جرقه‌ای، از آنالیز حرارتی افتراقی (DTA) استفاده شد. شکل (۲) نمودار

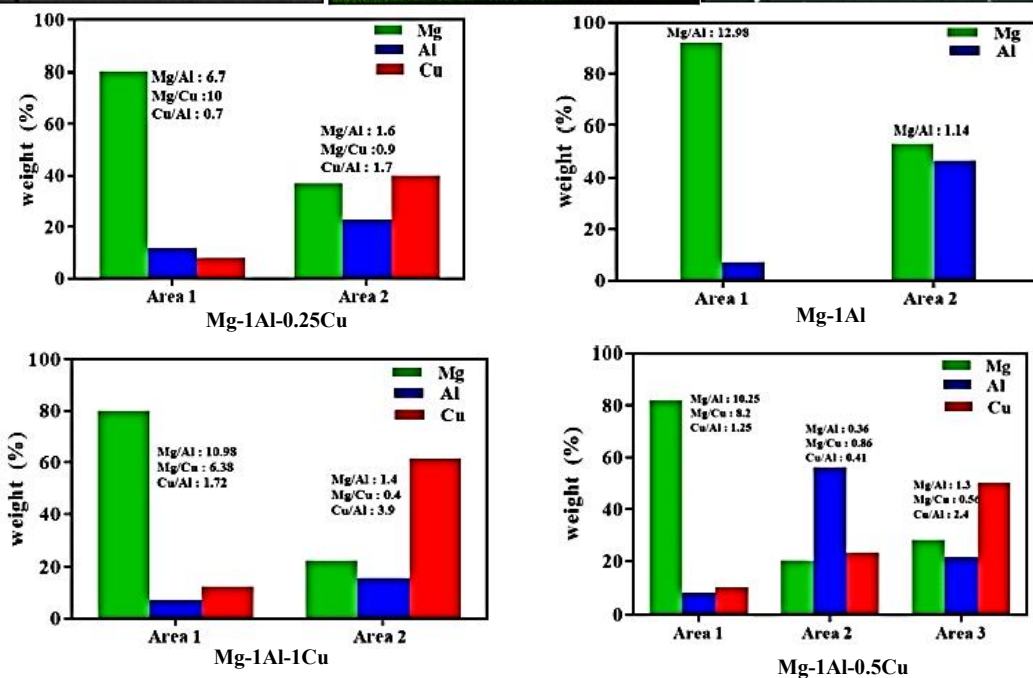
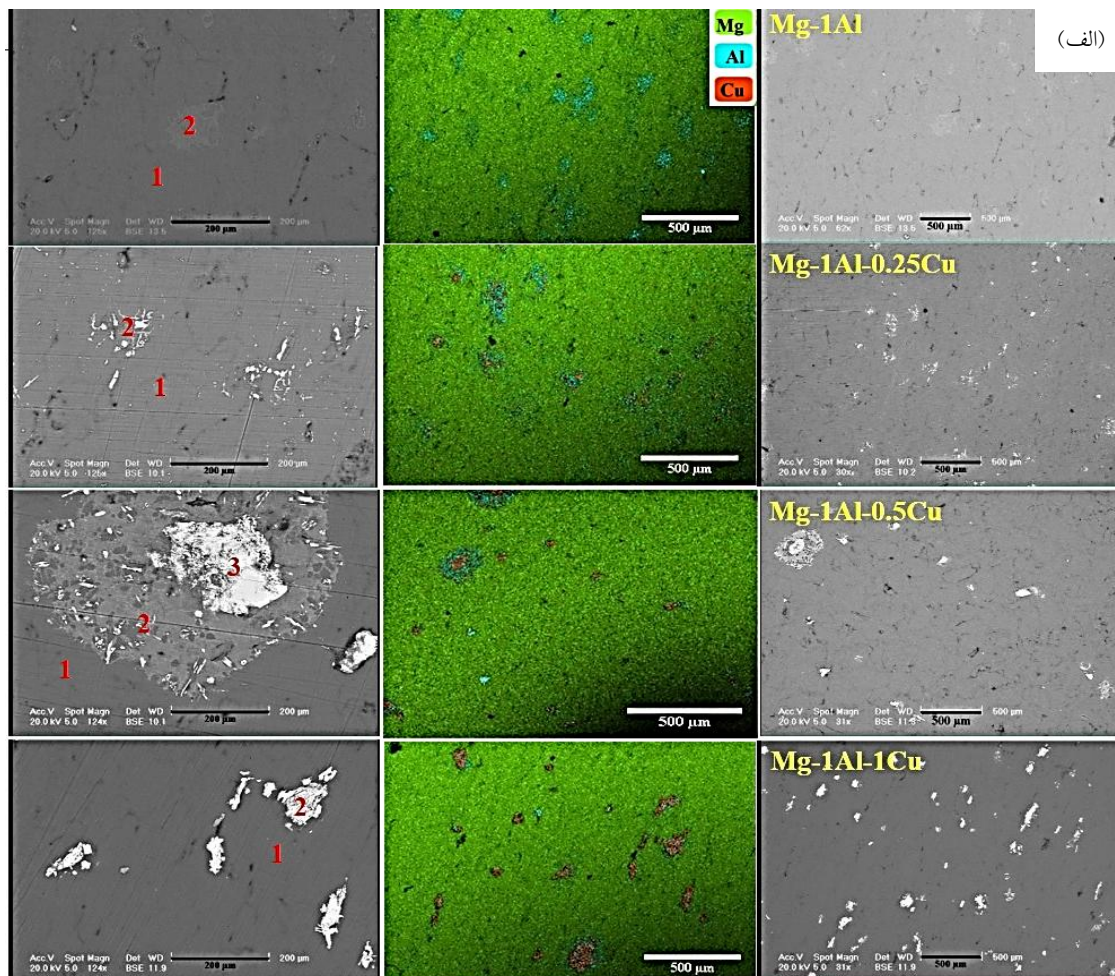
$(\alpha\text{-Al}_2\text{Cu})$  است. نتایج آنالیز عنصری و نقشه توزیع در آلیاژ  $\text{Mg-1Al-0.5Cu}$  نیز حضور لایه غنی از مس در مرکز و لایه غنی از آلومینیوم در اطراف آن را نشان می‌دهد.

تشکیل فاز ثانویه تأثیر بسزایی در خواص نرخ تخریب آلیاژ  $\text{Mg-Al-xCu}$  دارد. مطابق با شکل (۴-الف)، میانگین میزان هیدروژن رها شده نسبت به سطح هر نمونه بعد از ۱۰ ساعت غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی بدن برابر با  $1/61$  میلی‌لیتر بر سانتی‌متر مربع در منیزیم خالص و  $0/32$  میلی‌لیتر بر سانتی‌متر مربع در آلیاژ  $\text{Mg-Al-0.25Cu}$  است. هرچه هیدروژن رها شده نسبت به سطح نمونه بیشتر باشد، سرعت تخریب در منیزیم و آلیاژهای آن نیز تسریع می‌شود [۴]. مطابق با این نتایج، با افزایش درصد وزنی مس میزان هیدروژن آزاد شده افزایش می‌یابد و کمترین میزان هیدروژن آزاد شده در آلیاژ  $\text{Mg-Al-0.25Cu}$  مشاهده می‌شود. در نتیجه می‌توان گفت کمترین میزان تخریب در این آلیاژ رخ داده است و با افزایش درصد مس میزان هیدروژن آزاد شده و همچنین میزان تخریب آلیاژ  $\text{Mg-Al-xCu}$  افزایش می‌یابد. بر اساس شکل (۴-ب) نیز دیده می‌شود که کمترین وزن از دست رفته و نرخ خوردگی و به ترتیب برابر با  $4/9$  درصد و  $0/063$  سانتی‌متر بر ساعت در آلیاژ  $\text{Mg-Al-0.25Cu}$  است. همچنین مطابق با شکل (۴-ج) روند افزایش pH در آلیاژهای  $\text{Mg-Al-xCu}$  نیز شکل‌های (۴-الف) و (۴-ب) را برای آلیاژ  $\text{Mg-Al-0.25Cu}$  تأیید می‌کند. به طوری که دیده می‌شود با افزایش زمان غوطه‌وری pH برای هر سه آلیاژ  $\text{Mg-Al-xCu}$  افزایش می‌یابد. اما هرچه مقدار مس در آلیاژ بیشتر می‌شود مقدار pH نیز افزایش می‌یابد (به طوری - که پس از چهار ساعت غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی بدن، pH آلیاژ حاوی  $0/25$  و  $1$  درصد وزنی مس به ترتیب برابر با  $8/4$  و  $9$  است) که نشان‌دهنده افزایش سرعت تخریب با افزایش مقدار مس در این آلیاژهاست. همان‌طور که نتایج آنالیز حرارتی نشان داد، در حین فرایند پلاسمای جرقه‌ای در آلیاژهای  $\text{Mg-Al-xCu}$  رسوبات  $\text{Al}_2\text{Cu}$  و یوتکتیک  $\alpha\text{-Al}_2\text{Cu}$  تشکیل می‌شود. حضور فاز ثانویه در ساختار آلیاژ تأثیر زیادی

( $580^\circ$  درجه سانتی‌گراد) مربوط به واکنش تشکیل ذرات ثانویه  $\text{Al}_2\text{Cu}$  است. به علاوه در منحنی آنالیز حرارتی افتراقی آلیاژ یوتکتیک آلومینیوم-مس ( $\text{Al-50Cu}$ ) تنها یک پیک گرم‌گیر در دمای  $550^\circ$  درجه سانتی‌گراد مشاهده می‌شود، که با واکنش یوتکتیک آلومینیوم-مس مطابقت دارد. در نهایت نمودار آنالیز حرارتی آلیاژ هایپر یوتکتیک ( $\text{Al-50Cu}$ ) حاوی دو پیک گرم‌گیر در دماهای  $541^\circ$  و  $590^\circ$  درجه سانتی‌گراد است. پیک‌ها به ترتیب مربوط به واکنش پریکتوئید و واکنش تشکیل فاز ثانویه  $\text{Al}_2\text{Cu}$  است [۲۴].

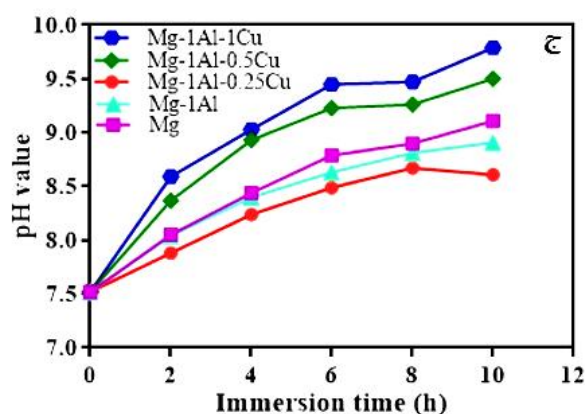
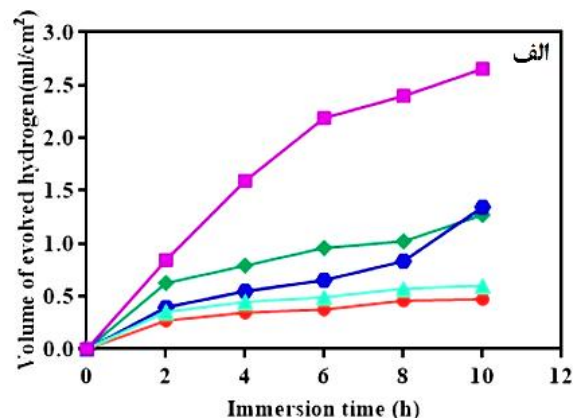
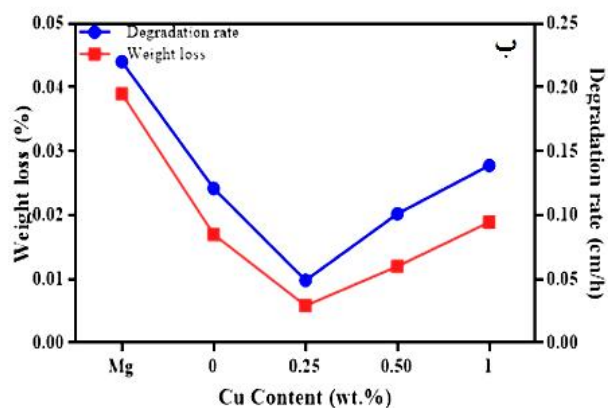
### ۳-۲- مشخصه‌یابی آلیاژ $\text{Mg-Al-Cu}$

پس از ارزیابی پودر آلومینیوم-مس، آلیاژ  $\text{Mg-1Al-xCu}$  ( $x$  برابر  $0$ ،  $0/25$ ،  $0/5$  و یک درصد وزنی) با روش پلاسمای جرقه‌ای تهیه شد. شکل (۳)، تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی، آنالیز تفکیک انرژی پرتو ایکس و نقشه توزیع عناصر آلیاژهای  $\text{Mg-1Al-xCu}$  را نشان می‌دهد. مطابق با تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی، فاز ثانویه‌ای در زمینه همه نمونه‌ها توزیع شده است. ترکیب شیمیایی و سایز این فاز ثانویه در نمونه‌های مختلف متفاوت است. به طوری که، در آلیاژ  $\text{Mg-Al}$ ، با توجه به تشکیل فاز یوتکتیک  $\text{Mg(Al)}$  در دمای  $450^\circ$  درجه سانتی‌گراد [۲۵] رسوبات سفید در این آلیاژ همان فاز یوتکتیک  $\text{Mg(Al)}$  است. به علاوه مطابق نتایج به دست آمده از نمودار آنالیز احتراقی، رسوبات تشکیل شده در طی فرایند پلاسمای جرقه‌ای در آلیاژهای  $\text{Mg-1Al-0.25Cu}$  و  $\text{Mg-1Al-1Cu}$  فاز ثانویه  $\text{Al}_2\text{Cu}$  است. همچنین نتایج حاصل از آنالیز تفکیک عنصری و نقشه توزیع عناصر نیز نشان می‌دهد رسوبات در این دو آلیاژ غنی از عناصر آلومینیوم و مس است (ناحیه دوم). اما رسوبات در آلیاژ  $\text{Mg-1Al-0.5Cu}$ ، اول اینکه به نسبت دو نمونه دیگر درشت‌تر و دوم اینکه دارای ساختار لایه‌ای شکل که گواه از متفاوت بودن ترکیب شیمیایی این آلیاژ است. مطابق با نتایج حاصل از نمودار آنالیز احتراقی برای آلیاژ  $\text{Mg-1Al-0.5Cu}$ ، این رسوبات ترکیب یوتکتیک آلومینیوم و مس



شکل ۳- الف) تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی و نقشه توزیع عناصر از آلیاژ Mg-1Al-xCu و ب) آنالیز عنصری با تفکیک انرژی پرتو ایکس آلیاژ Mg-1Al-xCu





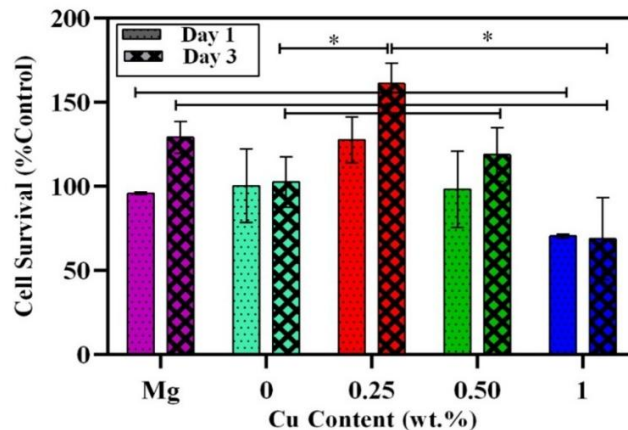
شکل ۴- الف) حجم هیدروژن رها شده، ب) درصد وزن کاسته شده و سرعت تخریب و ج) تغییرات pH محلول غوطه‌وری برای آلیاژهای Mg-Al-Cu حاوی مقادیر مختلف مس (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد وزنی) بعد از ۱۰ ساعت غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی بدن

آلیاژ Mg-Al-0.25Cu فاز ثانویه  $Al_2Cu$  به‌خوبی در ساختار توزیع شده است پس انتظار می‌رود که رفتار تخریبی مناسب تری نسبت به آلیاژهای Mg-Al-0.5Cu و Mg-Al-1Cu داشته باشد.

### ۳-۳- خواص بیولوژیکی آلیاژ Mg-Al-Cu

برای ارزیابی فعالیت متابولیکی سلول‌های استخوانی MG63 کشت شده بر عصاره آلیاژهای Mg-1Al-xCu (x برابر ۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و یک درصد وزنی)، آزمون MTT انجام شد. شکل (۵- الف) درصد زنده‌مانی سلول‌های استخوانی را بعد از یک و سه روز از کشت را نشان می‌دهد. همچنین، نتایج ارزیابی غلظت یون‌های آزاد شده با استفاده از آزمون ICP نشان داد که با افزایش مقدار مس در آلیاژ، غلظت یون مس و منیزیم افزایش

بر عملکرد تخریب آلیاژ دارد. ذرات ثانویه در ساختار آلیاژ می‌تواند مانعی در برابر تخریب و یا به‌عنوان کاتد در خوردگی گالوانیکی عمل کند و منجر به تسریع خوردگی شود [۲۶]. در محیط آبی، به‌علت اختلاف پتانسیل میان رسوبات  $Al_2Cu$  و زمینه منیزیم، یک جفت گالوانیزه شکل می‌گیرد که در آزمون غوطه‌وری، با افزایش میزان مس مقاومت به خوردگی کاهش می‌یابد. این کاهش به این دلیل است که رسوبات  $Al_2Cu$  به‌صورت کاتد در زمینه عمل کرده و نرخ تخریب را افزایش می‌دهد [۲۷]. به‌علاوه توزیع رسوبات در زمینه نیز نقش مؤثری در روند خوردگی آلیاژ دارد. به‌طوری‌که اگر فاز ثانویه در ساختار آلیاژ به‌صورت همگن توزیع شده باشد، می‌تواند به‌طور مؤثر خوردگی را کاهش دهد، در غیر این‌صورت حضور فاز ثانویه باعث تسریع خوردگی می‌شود [۲۸]. بنابراین آنجا که در

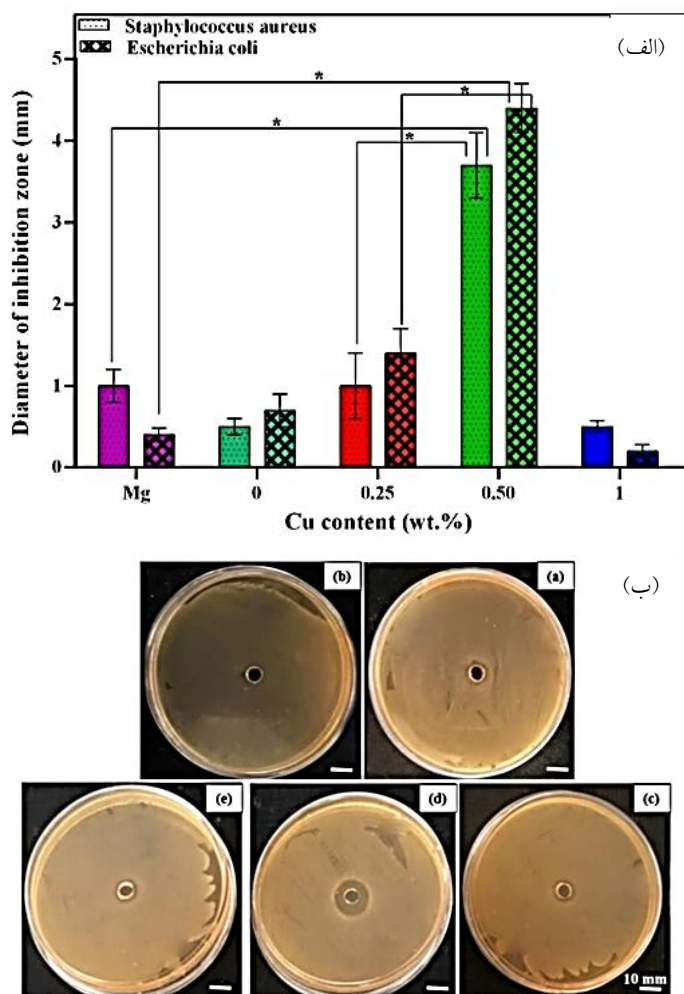


شکل ۵- درصد زیست پذیری سلول‌های MG63 کشت شده بر عصاره‌های آلیاژهای Mg-Al-Cu حاوی مقادیر مختلف مس (\*: اختلاف معنادار بین گروه‌ها ( $P < 0.05$ ))

(x برابر ۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و یک درصد وزنی)، از روش اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد باکتری استفاده شد. شکل (۶- الف) و (۶- ب) نمودار تغییرات قطر هاله رشد و تصاویری از هاله عدم رشد باکتری آلیاژهای Mg-Al-xCu را نشان می‌دهد. مطابق با این شکل‌ها دیده می‌شود که هم منیزیم خالص و هم آلیاژهای Mg-Al-xCu تا حدودی دارای خاصیت آنتی‌باکتریال است. از آنجا که باکتری‌ها می‌توانند در pH بین ۸-۶ زنده بمانند [۲۹]، پس انتظار می‌رود با تخریب آلیاژهای پایه منیزیم و افزایش pH، خاصیت آنتی باکتری در این آلیاژها افزوده شود. اما با گذشت زمان و تثبیت pH محیط، عفونت‌های طولانی‌مدت اجتناب‌ناپذیر است. نتایج ما نشان می‌دهد بیشترین فعالیت آنتی‌باکتری مربوط به آلیاژ Mg-1Al-0.5Cu است. به طوری که قطر هاله عدم رشد در مقابل باکتری گرم منفی و مثبت به ترتیب از  $0.4 \pm 0.1$  میلی‌متر و  $1.0 \pm 0.1$  میلی‌متر در منیزیم خالص به  $0.3 \pm 0.3$  میلی‌متر و  $0.4 \pm 0.3$  میلی‌متر افزایش یافت که به دلیل غلظت بالای یون مس در عصاره آلیاژ است. زیرا یون مس به دیواره سلولی باکتری می‌چسبد و منجر به تخریب آن می‌شود و مرگ سلولی را به همراه دارد [۳۰]. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت از بین آلیاژهای پایه منیزیم با درصدهای مختلف مس، آلیاژ حاوی ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد وزنی مس خواص زیست سازگاری و ضدباکتری مناسبی را فراهم می‌سازد و برای

می‌یابد. همچنین نتایج حاصل از کشت سلول‌های MG63 نشان می‌دهد که با افزایش زمان کشت سلولی درصد زنده‌مانی سلول‌ها افزایش می‌یابد که نشان می‌دهد که هیچ‌کدام از نمونه‌ها سمی نبوده است. به علاوه، با توجه به شکل (۵- الف) اختلاف معناداری میان درصد زیست‌پذیری سلول‌های MG63 بعد از یک و سه روز کاشت سلول، در آلیاژ Mg-Al-0.25Cu مشاهده می‌شود. به طوری که درصد زنده‌مانی سلول در این آلیاژ از  $127.8 \pm 13.6$  درصد کنترل در روز اول به  $161.3 \pm 11.8$  درصد کنترل در روز سوم افزایش یافته است ( $p < 0.05$ ). نتایج ارزیابی غلظت یون‌های رهاش یافته نشان داد که در عصاره آلیاژ Mg-Al-0.25Cu در مقایسه با منیزیم خالص، علاوه بر یون منیزیم، یون مس نیز آزاد شده است که رفتار زیست‌پذیری سلولی مناسب این آلیاژ نیز به علت حضور یون مس است. اما مطابق با شکل (۵- الف) دیده می‌شود که با افزایش مقدار مس از ۰/۲۵ درصد وزنی تا ۰/۵ و یک درصد وزنی، زیست‌پذیری سلولی کاهش می‌یابد که به علت رهاش بیش از حد یون‌های منیزیم (به ترتیب ۱۰۵ و ۱۲۷ میلی‌گرم بر لیتر) است که به غشای سلول استخوانی آسیب وارد کرده و اختلالاتی در روند عملکرد سلول‌های استخوانی دارند. به طوری که از ساخت کلاژن جلوگیری می‌کند [۲۲].

برای ارزیابی خواص آنتی‌باکتری آلیاژهای Mg-1Al-xCu



شکل ۶- خاصیت آنتی‌باکتریال منیزیم و آلایزهای Mg-1Al-Cu حاوی مقادیر مختلف مس (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد وزنی)، (الف) نمودار تغییرات قطر هاله عدم رشد و (ب) هاله رشد تشکیل شده در اطراف نمونه‌ها (\*: اختلاف معنادار بین گروه‌ها (P < ۰/۰۵))

#### ۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، آلایزهای Mg-1Al-xCu (x برابر ۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و یک درصدوزنی) به‌کمک روش پلاسمای جرقه‌ای ساخته شد. نتایج حاصل از ارزیابی خواص فیزیکی و بیولوژیکی این آلایزها نشان داد:

- افزودن ۰/۲۵ درصد وزنی مس به آلایز منیزیم- آلومینیوم منجر به کاهش قابل توجه نرخ تخریب (از ۰/۰۳۹ سانتی‌متر بر ساعت در منیزیم خالص به ۰/۰۵۸۴ سانتی‌متر بر ساعت در آلایز Mg-Al-0.25Cu)، میزان هیدروژن رها شده (از ۱/۶۱ میلی‌لیتر بر سانتی‌متر مربع به ۰/۳۲ میلی‌لیتر بر سانتی‌متر مربع

کاشتنی‌های ارتوپدی است. در پژوهشی، لیو وهمکاران [۱۵] به بررسی خاصیت ضدباکتری در آلایز Mg-Cu با درصد‌های وزنی مختلف ۰/۰۳، ۰/۱۹ و ۰/۵۷ مس پرداختند. مطابق با این پژوهش نیز دیده شد افزودن مس تا ۰/۱۹ درصد وزنی به‌علت افزایش pH و عملکرد یون‌های مس آزاد شده منجر به بهبود خاصیت ضدباکتری به‌نسبت منیزیم خالص می‌شود. اما با افزایش میزان مس تا ۰/۵۷ درصد وزنی و افزایش غلظت یون مس عملکرد معکوس داشته و باعث افت خاصیت ضدباکتری می‌شود.

درصد کنترل در آلیاژ (Mg-Al-0.25Cu) شد.

۳. افزودن ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد وزنی مس به منیزیم خالص با ایجاد محیط قلیایی مناسب و حضور یون‌های منیزیم و مس منجر به افزایش قطر هاله عدم رشد باکتری و بهبود خاصیت آنتی‌باکتریال این آلیاژها شد.

در آلیاژ (Mg-Al-0.25Cu) و وزن از دست رفته (از ۲۲ درصد در منیزیم خالص به ۴/۹ درصد در آلیاژ (Mg-Al-0.25Cu) در حین غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی بدن شد.

۲. افزودن ۰/۲۵ درصد وزنی مس به آلیاژ منیزیم-آلومینیوم سبب بهبود قابل توجه زنده‌مانی سلول‌های MG63 (از ۱۶۱/۳±۱۱/۸ درصد کنترل در منیزیم خالص به ۱۲۹/۲±۹/۵

## واژه‌نامه

1. biofilm
2. spark plasma sintering (SPS)
3. X-Ray diffraction
4. differential thermal analysis
5. scanning electron microscope
6. simulated body fluid solution

7. inductively coupled plasma
8. Dimethyl sulfoxide
9. cell survival rate
10. Staphylococcus
11. Escherichia coli
12. brain-heart-infusion agar (BHI)

## مراجع

1. Bose, S., and Tarafder, S., "Calcium Phosphate Ceramic Systems in Growth Factor and Drug Delivery for Bone Tissue Engineering: A Review", *Acta Biomaterialia*, Vol. 8, No. 4, pp. 1401-1421, 2012.
2. Doblaré, M., Garcia, J., and Gómez, M., "Modelling Bone Tissue Fracture and Healing: A Review", *Engineering Fracture Mechanics*, Vol. 71, No. 13-14, pp. 1809-1840, 2004.
3. Minagar, S., Berndt, C., and Wang, J., "A Review of the Application of Anodization for the Fabrication of Nanotubes on Metal Implant Surfaces", *Acta Biomaterialia*, Vol. 8, No. 8, pp. 2875-2888, 2012.
4. Niinomi, M., "Metallic Biomaterials", *Journal of Artificial Organs*, Vol. 11, No. 3, p. 105, 2008.
5. Pietak, A., Mahoney, P., Dias, G. J., and Staiger, M. P., "Bone-Like Matrix Formation on Magnesium and Magnesium Alloys", *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, Vol. 19, No. 1, p. 407-415, 2008.
6. Uddin, M. H., Matsumoto, T., and Okazaki M., "Biomimetic Fabrication of Apatite Related Biomaterials", *Biomimetics Learning from Nature*. 2010, InTech.
7. Brar, H. S., Wong, J., and Manuel, M. V. "Investigation of the Mechanical and Degradation Properties of Mg-Sr and Mg-Zn-Sr Alloys for use as Potential Biodegradable Implant Materials", *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, Vol. 7, pp. 87-95, 2012.
8. Zhang, X. -b., Wang, Z., Xue, Y., and Qiang, W., "Microstructure and Biocorrosion Behaviors of Solution Treated and As-Extruded Mg-2.2Nd-xSr-0.3Zr Alloys", *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, Vol. 24, No. 12, pp. 3797-3803, 2014.
9. Xin, Y., Hu, T., and Chu, P., "In Vitro Studies of Biomedical Magnesium Alloys in a Simulated Physiological Environment: A Review", *Acta Biomaterialia*, Vol. 7, No. 4, pp. 1452-1459, 2011.
10. Choudhary, L., and Raman, R. S., "Magnesium Alloys as Body Implants: Fracture Mechanism under Dynamic and Static Loadings in a Physiological Environment", *Acta Biomaterialia*, Vol. 8, No. 2, pp. 916-923, 2012.
11. Rashad, M., Pan, F., Tang, A., and Asif, M., "Improved Strength and Ductility of Magnesium with Addition of Aluminum and Graphene Nanoplatelets (Al+ GNPs) using Semi Powder Metallurgy Method", *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, Vol. 23, pp. 243-250, 2015.
12. Charyeva, O., Neilands, J., and Svensäter, G., "Bacterial Biofilm Formation on Resorbing Magnesium Implants", *Open Journal of Medical Microbiology*, Vol. 5, No. 01, p. 1, 2015.
13. Li, Y., Liu, L., Wan, P., Zhai, Z., Mao, Z., and Ouyang, Z., "Biodegradable Mg-Cu Alloy Implants with Antibacterial Activity for the Treatment of Osteomyelitis: In Vitro and in Vivo Evaluations", *Biomaterials*, Vol. 106, pp. 250-263, 2016.
14. Borkow, G., and J. Gabbay. "Copper, an Ancient Remedy Returning to Fight Microbial, Fungal and Viral Infections", *Current Chemical Biology*, Vol. 3, No. 3, pp. 272-278, 2009.
15. Liu, C., Fu, X., Pan, H., Wan, P., Wang, L., Tan, L., and Wang, K., "Biodegradable Mg-Cu Alloys with Enhanced Osteogenesis, Angiogenesis, and Long-Lasting Antibacterial Effects", *Scientific Reports*,

- Vol. 6, p. 27374, 2016.
16. Zhang, J., Zhang, J., Leng, Z., Zhang, M., Meng, J., and Wu, R., "Effect of Ce on Microstructure, Mechanical Properties and Corrosion Behavior of High-Pressure Die-Cast Mg-4Al-Based Alloy", *Journal of Alloys and Compounds*, Vol. 509, No. 3, pp. 1069-1078, 2011.
  17. Asano, K., Enoki, H., and Akiba, E., Synthesis of HCP, FCC and BCC Structure Alloys in the Mg-Ti Binary System by Means of Ball Milling, *Journal of Alloys and Compounds*, Vol. 480, No. 2, pp. 558-563, 2009.
  18. Asgharzadeh, H., Yoon, E. Y., Chae, H. J., and Kim, T. S., "Microstructure and Mechanical Properties of a Mg-Zn-Y Alloy Produced by a Powder Metallurgy Route", *Journal of Alloys and Compounds*, Vol. 586, pp. S95-S100, 2014.
  19. Saheb, N., Iqbal, Z., Khalil, A., and Hakeem, A. S., "Spark Plasma Sintering of Metals and Metal Matrix Nanocomposites: A Review" *Journal of Nanomaterials*, p. 18, 2012.
  20. Bakhsheshi-Rad, H., Abdul-Kadir, M. R., and Idris, M. H., "Relationship Between the Corrosion Behavior and the Thermal Characteristics and Microstructure of Mg-0.5 Ca-xZn Alloys", *Corrosion Science*, Vol. 64, pp. 184-197, 2012.
  21. Zhang, S., Zhang, X., Zhao, C., Li, J., and Song, Y., "Research on an Mg-Zn Alloy as a Degradable Biomaterial", *Acta Biomaterialia*, Vol. 6, No. 2, pp. 626-640, 2010.
  22. Hallab, N. J., Vermes, C., and Messina, C., "Concentration and Composition-Dependent Effects of Metal Ions on Human MG-63 Osteoblasts", *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol. 60, No. 3, pp. 420-433, 2002.
  23. Golafshan, N., Kharaziha, M., and Fathi, M., "Tough and Conductive Hybrid Graphene-PVA: Alginate Fibrous Scaffolds for Engineering Neural Construct", *Carbon*, Vol. 111, pp. 752-763, 2017.
  24. Aravind, M., Yu, P., and Yau, M., "Formation of Al<sub>2</sub>Cu and AlCu Intermetallics in Al (Cu) Alloy Matrix Composites by Reaction Sintering", *Materials Science and Engineering: A*, Vol. 380, No. 1-2, pp. 384-393, 2004.
  25. Lathabai, S., and Lloyd, P., "The Effect of Scandium on the Microstructure, Mechanical Properties and Weldability of a Cast Al-Mg Alloy", *Acta Materialia*, Vol. 50, No. 17, pp. 4275-4292, 2002.
  26. Selvam, M., Saminathan, K., Siva, P., and Saha, P., "Corrosion Behavior of Mg/graphene Composite in Aqueous Electrolyte", *Materials Chemistry and Physics*, Vol. 172, pp. 129-136, 2016.
  27. Kirkland, N., Birbilis, N., and Staiger, M., "Assessing the Corrosion of Biodegradable Magnesium Implants: a Critical Review of Current Methodologies and Their Limitations", *Acta Biomaterialia*, Vol. 8, No. 3, pp. 925-936, 2012.
  28. Cao, F., Song, G. -L., and Atrens, A., "Corrosion and Passivation of Magnesium Alloys", *Corrosion Science*, Vol. 111, pp. 835-845, 2016.
  29. Padan, E., Bibi, E., and Krulwich, T. A., "Alkaline pH Homeostasis in Bacteria: New Insights", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, Vol. 1717, No. 2, pp. 67-88, 2005.
  30. Ren, L., Yang, K., Guo, L., and Chai, H., "Preliminary Study of Anti-Infective Function of a Copper-Bearing Stainless Steel", *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 32, No. 5, pp. 1204-1209, 2012.