

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA INDUSTRIALE
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN INGEGNERIA DEI MATERIALI

**Tesi di Laurea Magistrale in
Ingegneria dei Materiali**

**SCHIUME VETROCERAMICHE BIOATTIVE DA GEL CASTING
INORGANICO E SINTER-CRISTALLIZZAZIONE**

Relatore: Prof. Enrico Bernardo

Correlatori: Dott. Acacio Rincón Romero

Dott. Hamada Elsayed

Laureando: MATTEO PINTON

ANNO ACCADEMICO 2016 – 2017

*“If you can make a material that will survive exposure to high energy radiation,
can you make a material that will survive exposure to the human body?”*

*Colonel Klinker of the Army Medical Corps
to Larry L. Hench*

Indice

Introduzione	1
Capitolo 1: Biomateriali e loro applicazioni	5
1.1 Definizione e classificazione dei biomateriali	5
1.2 Interazioni tra biomateriale e ambiente biologico	7
1.1.2 Tessuto osseo naturale	9
1.3 I bioceramici	11
1.3.1 Allumina (Al_2O_3).....	13
1.3.2 Fosfati di calcio	14
1.3.3 Biovetri	16
1.3.4 Ceramici silicatici bioattivi.....	19
1.3.5 Biovetroceramiche.....	22
1.3.6 Biosilicate®	27
Capitolo 2: Bioceramici cellulari	29
2.1 Tecnologie per la fabbricazione di ceramici cellulari.....	30
2.2 Polimerizzazione inorganica	34
2.2.1 Attivazione alcalina	34
2.2.2 Geopolimeri	36
2.3 Polimeri inorganici per materiali cellulari	37
2.3.1 Proprietà reologiche della soluzione dopo attivazione alcalina.....	37
2.3.2 Gel casting inorganico	40
Capitolo 3: Estensione alle Meliliti bioattive	43
3.1 La struttura cristallina delle meliliti.....	43
3.2 Åkermanite ($\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$).....	45
3.3 Hardystonite ($\text{Ca}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$)	48
Capitolo 4: Procedura sperimentale	53
4.1 Materiali utilizzati.....	53
4.1.1 Materie prime	53

4.1.2	Soluzione alcalina	55
4.1.3	Tensioattivo.....	55
4.2	Strumentazione	55
4.2.1	Monomulino planetario e setacci	56
4.2.2	Agitatore meccanico.....	56
4.2.3	Forno a muffola.....	57
4.2.4	Picnometro	57
4.2.5	Stereomicroscopio ottico.....	57
4.2.6	Prove di compressione	58
4.2.7	Diffratometro a raggi X.....	59
4.2.8	SEM: Microscopio Elettronico a Scansione.....	59
4.3	Procedura sperimentale.....	61
4.3.1	Preparazione delle polveri.....	61
4.3.2	Dissoluzione (attivazione alcalina)	61
4.3.3	Pre-polimerizzazione.....	62
4.3.4	Schiumatura.....	62
4.3.5	Trattamento termico	63
4.4	Obiettivi.....	64
Capitolo 5: Metodi di Caratterizzazione		65
5.1	Misure di densità e porosità.....	65
5.1.1	Densità geometrica	65
5.1.2	Densità picnometriche.....	66
5.1.3	Misure di porosità.....	67
5.2	Analisi termica differenziale (DTA) e termogravimetrica (TGA)	67
5.3	Diffrattometria a raggi-X.....	69
5.4	Microscopio elettronico a scansione (SEM) e analisi EDS.....	72
5.5	Prove di compressione.....	74
5.6	Spettroscopia ad infrarossi a trasformata di Fourier (FTIR)	78
Capitolo 6: Risultati e Discussione.....		81
6.1	Campioni di Biosilicate®	81

6.1.1	Analisi DTA	84
6.1.2	Analisi FTIR.....	85
6.1.3	Misure di densità e porosità.....	86
6.1.4	Resistenza a compressione	88
6.1.5	Analisi XRD	90
6.1.6	Analisi al SEM	91
6.2	Campioni di hardystonite.....	93
6.2.1	Analisi DTA	96
6.2.2	Analisi FTIR.....	97
6.2.3	Misure di densità e porosità.....	98
6.2.4	Resistenza a compressione	100
6.2.5	Analisi XRD	100
6.2.6	Analisi al SEM	101
Conclusioni.....		105
Bibliografia.....		107

Introduzione

Il presente elaborato di tesi prende ispirazione dalla crescente attenzione che il mondo scientifico sta rivolgendo ai biomateriali, in particolare ai bioceramici, per le loro caratteristiche di elevata biocompatibilità, necessari per le applicazioni di ingegneria tissutale. A partire dagli anni Settanta del secolo scorso, si è sviluppato l'interesse per una particolare famiglia di bioceramici, i biovetri, in quanto si prestano in modo egregio per usi biomedicali; tuttavia le loro limitate proprietà meccaniche ne comportano un utilizzo ristretto a poche applicazioni. Per superare tale limite sono state sviluppate delle composizioni particolari di biovetri che associano ad una elevata bioattività, anche delle caratteristiche meccaniche elevate: questi materiali sono le vetroceramiche, ovvero vetri che sono stati fatti cristallizzare con trattamenti termici controllati.

La composizione da cui hanno avuto origine i principali biovetri è quella del Bioglass® 45S5: questo perché non solo è bioattivo, ma è anche biorisorbibile, proprietà fondamentale per la moderna ricerca in questo campo. La cristallizzazione controllata di questa composizione ha portato alla sintesi del Biosilicate®, una vetroceramica che mantiene le proprietà del Bioglass®, ma accosta una resistenza meccanica molto superiore. Normalmente questi materiali vengono sintetizzati da processi *melt-derived o sol-gel*; in questo lavoro di tesi si è cercato di applicare un metodo rivoluzionario a questa particolare composizione vetrosa, noto come *gel casting* e successiva sinter-cristallizzazione, per ottenere dei componenti cellulari altamente porosi, con porosità interconnessa e di tipo gerarchico, di dimensioni maggiori di 100 nanometri per permettere l'attecchimento cellulare e la vascolarizzazione.

A seguito dell'attivazione alcalina delle polveri vetrose, per *direct foaming* si procede allo schiumaggio della soluzione gelificata per mantenere la struttura porosa; in seguito al trattamento termico di ceramizzazione si ottengono delle schiume vetroceramiche con buone prestazioni.

A partire dagli studi svolti precedentemente all'interno del Dipartimento di Ingegneria Industriale di questa Università, è stato esteso questo nuovo approccio procedurale ad un sistema silicatico di ossidi che aveva dato buoni risultati se sintetizzato con la tecnica PDC (*polymer derived ceramics*): tale sistema è $\text{Ca}_2\text{SrZnMgSi}_2\text{O}_7$, ovvero hardystonite in cui parte di Ca e Zn sono sostituiti da Sr e Mg rispettivamente.

Per quanto esposto, nel primo capitolo di questa tesi sono esposti i principali biomateriali su cui attualmente si basa la ricerca scientifica, concentrando l'attenzione sui bioceramici innovativi quali i biovetri e le biovetroceramiche; vengono descritte le caratteristiche fondamentali che li contraddistinguono, i pregi e i limiti che impongono le varie composizioni, ed anche le possibili applicazioni biomedicali.

Nel secondo capitolo sono descritti nei dettagli i principali processi che attualmente si utilizzano per la produzione di schiume ceramiche, soffermandosi in particolar modo sui passaggi fondamentali della procedura del metodo del *gel casting* seguito in questa tesi per la sintesi dei componenti porosi.

Il terzo capitolo è incentrato sulla possibile estensione di questa procedura innovativa al sistema dell'hardystonite: vengono esposte le principali caratteristiche di composizione e strutturali di questa classe di materiali, evidenziando gli aspetti per cui è stato scelto tra quelli disponibili.

I capitoli seguenti descrivono i materiali utilizzati, la procedura sperimentale seguita e la strumentazione utilizzata; inoltre sono riportate le tecniche di analisi adoperate per la completa caratterizzazione dei campioni sintetizzati.

Infine vengono raccolti e discussi i risultati ottenuti in seguito alla caratterizzazione delle varie schiume vetroceramiche prodotte ed analizzate.

Capitolo 1

Biomateriali e loro applicazioni

In questo capitolo viene presentata una breve panoramica su quelli che sono stati i passaggi fondamentali che hanno portato allo sviluppo dei moderni biomateriali; vengono analizzate le dinamiche di interazione con l'ambiente biologico di esercizio e le principali caratteristiche che deve possedere questa classe di materiali; infine si propone una breve rassegna dei principali biomateriali attualmente disponibili, soffermandosi sulla classe dei bioceramici ed in particolare su biovetri e biovetroceramiche.

1.1 Definizione e classificazione dei biomateriali

Dalle ultime decadi del secolo scorso ad oggi vi è stato un crescente interesse nei confronti dell'applicazione di nuovi materiali in campo biomedico. Tuttavia nel fornire una definizione per i "biomateriali" si riscontrano differenti interpretazioni da un punto di vista di scienza dei materiali o di medicina clinica: Un biomateriale può essere definito come un qualsiasi materiale sintetico utilizzato per creare dispositivi od impianti che possano rimpiazzare una parte od una funzione dell'organismo in maniera sicura, affidabile, economica e fisiologicamente accettabile; biologicamente però un materiale sintetico, sebbene presenti una certa bioattività, risulta comunque differente da un tessuto preesistente [1].

Un'ulteriore definizione, fornita dalla *Clemson University Advisory Board for Biomaterials*, è quella di "una sostanza sistematicamente e farmacologicamente inerte progettata per essere impiantata all'interno o incorporata con un sistema vivente". Vi è dunque una distinzione con i materiali biologici veri e propri, intesi come prodotti da un sistema biologico.

Dato che l'obiettivo dell'impianto di biomateriali in un organismo è quello di migliorare la salute umana o animale, ripristinando le normali funzioni del tessuto vivente e/o dell'organo, è essenziale comprendere a fondo le relazioni tra proprietà, funzioni e strutture dei materiali biologici e le interazioni tra questi ed i biomateriali impiantati all'interno del corpo [2].

I biomateriali si possono classificare in base agli effetti prodotti sul materiale stesso in seguito all'innesto, distinguendo tra biostabili e biodegradabili; oppure in base alla loro interazione con l'organismo si dividono in biotossici, bioattivi, bioinerti e biorisorbibili; infine rispetto alla loro natura chimica, ovvero polimerici, metallici, ceramici, compositi o naturali.

Sono definiti *biostabili* i materiali che, impiantati, non subiscono sostanziali trasformazioni chimiche o fisiche nel tempo; al contrario sono *biodegradabili* i materiali che, impiantati, subiscono trasformazioni.

Sono *biotossici* i materiali che provocano reazioni avverse dell'organismo, poiché contengono elementi quali nichel, cadmio, vanadio, alcuni acciai, carburi, metilmetacrilati. Sono *bioinerti* i materiali stabili dal punto chimico-fisico, non tossici e che presentano interazioni minime con l'ambiente biologico, permettendo una buona coesistenza tra impianto e organismo, pur rivestendosi di tessuto cicatriziale. Infatti nessun materiale è completamente inerte a contatto col corpo umano.

Sono *biorisorbibili* i materiali costituiti solo da sostanze che possono essere metabolizzate dall'organismo, che quindi dissolvono in presenza dei fluidi corporei e i cui prodotti di dissoluzione vengono espulsi. Tra questi si ricordano alcuni bioceramici, come i fosfati di calcio e i biovetri. Vengono utilizzati quando la loro presenza nell'organismo è solo temporaneamente desiderata e poi vengono gradualmente rimpiazzati dal tessuto biologico. I materiali biorisorbibili sono usati anche per il rilascio controllato di farmaci.

Sono infine definiti *bioattivi* i materiali che sollecitano una risposta biologica da parte dell'organismo, favorendo le interazioni dirette di tipo biochimico con il tessuto biologico, il quale può crescere sulla superficie del materiale stesso. Sono riassorbibili, ma al contempo permettono l'instaurazione di legami forti coi tessuti viventi danneggiati e incentivare la produzione di nuovo tessuto [3][4].

Tabella 1.1: Classi di biomateriali sintetici utilizzati, divisi a seconda della loro natura chimica (Copyright © 2007, Springer).

Materials	Advantages	Disadvantages	Examples
Polymers (nylon, silicone rubber, polyester, polytetrafluoroethylene, etc)	Resilient Easy to fabricate	Not strong Deforms with time May degrade	Sutures, blood vessels other soft tissues, sutures, hip socket, ear, nose
Metals (Ti and its alloys, Co-Cr alloys, Au, Ag stainless steels, etc.)	Strong, tough ductile	May corrode Dense Difficult to make	Joint replacements, dental root implants, pacer and suture wires, bone plates and screws
Ceramics (alumina zirconia, calcium phosphates including hydroxyapatite, carbon)	Very bio- compatible	Brittle Not resilient Weak in tension	Dental and orthopedic implants
Composites (carbon-carbon, wire- or fiber- reinforced bone cement)	Strong, tailor- made	Difficult to make	Bone cement, Dental resin

Dato che i materiali artificiali sono limitati nelle funzioni che possono assolvere e che i trapianti risentono della scarsa disponibilità di organi e da problemi di rigetto da parte dell'organismo, la ricerca biomedica è sempre più indirizzata verso la rigenerazione o la ricrescita dei tessuti malati e danneggiati. La bioingegneria tissutale si riconduce dunque alla

ricrescita di nuovo tessuto da parte di cellule viventi stimolate dalla struttura del substrato artificiale impiantato. Quest'ultimo viene definito *scaffold* e deve necessariamente essere biocompatibile con le cellule con cui sarà a contatto, preferibilmente bioattivo e/o riassorbibile, ed essere in grado di guidarne attivamente la ricrescita e la proliferazione. Ad oggi la maggioranza degli *scaffolds* sono in materiale polimerico o naturale, ma l'esigenza di impianto in sostituzione di tessuti duri come ossa e denti, sta favorendo lo sviluppo del tipo ceramico, data la loro elevata biocompatibilità [2].

1.2 Interazioni tra biomateriale e ambiente biologico

Per poter sfruttare in modo opportuno ed efficace le proprietà dei biomateriali è doveroso innanzitutto conoscerne le caratteristiche intrinseche, ma è necessario anche indagare il comportamento e la reazione che questi scatenano nell'ambiente in cui saranno posti in esercizio, ovvero organi e tessuti biologici.

Nell'arco di tempo successivo all'impianto di un biomateriale, si verificano le tipiche dinamiche che si ripetono ogni qualvolta un corpo estraneo viene inserito nell'organismo: l'ambiente biologico è infatti attivo e aggressivo nei confronti dei corpi riconosciuti come *non-self*. I meccanismi che avvengono all'interfaccia tra biomateriale ed ambiente biologico sono dunque critici per il successo o il fallimento dell'impiantazione dei dispositivi biomedicali. L'innesto comporta sempre la produzione di una ferita in sede chirurgica, il cui processo di guarigione influenza le interazioni tra le due parti: tale processo comporta sempre le seguenti fasi: coagulazione, infiammazione, proliferazione cellulare, rimodellamento tessutale e in alcuni casi anche infezione.

Tabella 1.2: Definizione della terminologia utilizzata per le interazioni tra impianto ed organismo.

TERMINE	DEFINIZIONE
OSTEOINDUTTIVO	Materiale capace di promuovere la differenziazione delle cellule progenitrici dal tessuto circostante e di stimolare il processo di osteogenesi.
OSTEOCONDUTTIVO	Materiale che consenta alle cellule l'adesione, la proliferazione, la formazione di matrice extracellulare sulla sua superficie o all'interno dei suoi pori.
OSTEOINTEGRAZIONE	Interazione di legame del materiale con il tessuto osseo circostante senza formazione di tessuto fibroso all'interfaccia.

La risposta dell'organismo dipende da diverse variabili: le caratteristiche dell'impianto (materiale, superficie, localizzazione ed estensione), ma anche dalle condizioni del paziente (età, salute, etc.).

Le prestazioni di un biomateriale impiantato all'interno di un organismo possono essere considerate in termini di affidabilità: i principali problemi connessi all'uso di dispositivi e impianti biomedici, che possono portare al fallimento dell'innesto, sono i seguenti:

- la biocompatibilità, cioè la capacità di ripristinare una funzione biologica compromessa senza scatenare reazioni avverse;
- l'usura progressiva del materiale utilizzato, che può portare alla formazione di frammenti microscopici liberi, quindi a infezioni e formazione di capsule fibrotiche;
- il tempo di vita in esercizio, che spesso è limitato e richiede un secondo intervento di revisione o sostituzione;
- la crescita di colonie batteriche sulla superficie del materiale, causa di infezioni acute e/o croniche e che obbligano alla rimozione dell'impianto;
- la mobilitazione asettica dell'impianto, derivata da fenomeni di *stress shielding* ma anche da fenomeni di usura [3].

Si attribuisce ad una variabile f_i , relativa all' i -esimo fattore riportato, la probabilità che questo si verifichi; l'affidabilità r_i legata all' i -esimo fattore sarà dunque espressa come:

$$r = 1 - f \quad (1.1)$$

L'affidabilità totale r_t sarà espressa come affidabilità per ciascuno dei fattori contribuenti al fallimento:

$$r_t = r_1, r_2, \dots, r_n \quad (1.2)$$

I fattori da valutare per analizzare il comportamento dell'impianto dipendono dal singolo materiale e dal singolo caso clinico; i principali vengono riportati in Tabella 1.3:

Tabella 1.3: Fattori principali che possono influenzare l'affidabilità del biomateriale [6].

Bulk material composition, micro- (or nano)-structure, morphology
Crystallinity and crystallography
Elastic constants
Water content, hydrophobic–hydrophilic balance
Macro-, micro-, nano-porosity
Surface chemical composition, chemical gradients, surface molecular mobility
Surface topography
Surface energy
Surface electrical/electronic properties
Corrosion parameters, ion release profile, metal ion toxicity (for metallic materials)
Degradation profile, degradation product form and toxicity (for polymeric materials)
Leachables, additives, catalysts, contaminants and their toxicity (for polymeric materials)
Dissolution/degradation profile, degradation product toxicity (for ceramic materials)
Wear debris release profile

Al fine di evitare o limitare i fenomeni precedentemente descritti e le loro conseguenze negative per la salute di un paziente, si rende necessario lo studio delle proprietà del

biomateriale testandolo in un ambiente che sia quanto più simile possibile a quello con cui interagirà una volta posto in esercizio. Si rende quindi necessaria, per i componenti che dovranno essere utilizzati *in-vivo*, una sperimentazione che avviene per step successivi: si parte con la caratterizzazione chimico-fisica e la valutazione di altre proprietà (elettriche, meccaniche, di trasporto, etc.) del materiale di partenza; in seguito si esegue una serie di test *in vitro* con cellule e tessuti prelevati da donatori mammiferi; si passa poi ai test *in vivo* su modello animale; ultimo step è la sperimentazione clinica, solo per materiali/dispositivi/farmaci che siano stati promossi a tutti i test precedenti e solo per risultati positivi si ottiene l'approvazione e la certificazione dagli enti deputati (FDA, CE, EMA, standard EN ISO etc.), che permettono la commercializzazione del prodotto.

1.1.2 Tessuto osseo naturale

Si rende necessario un approfondimento sulla struttura e le proprietà del tessuto osseo naturale, al fine di comprendere meglio l'azione dei materiali bioceramici su di esso e le possibili interazioni all'interfaccia tra le due parti a contatto.

Il tessuto osseo fa parte, insieme alla cartilagine, dei tessuti connettivi specializzati ed è il principale costituente dello scheletro, l'impalcatura di sostegno dell'organismo. È un tessuto connettivo mineralizzato, altamente specializzato, con importanti funzioni strutturali e metaboliche. Le funzioni strutturali consistono nel fornire rigidità, sostegno e resistenza a sopportare i carichi fisiologici e accidentali che agiscono sul corpo, nel sostenere i tessuti molli dell'organismo e nel proteggere importanti distretti del corpo, mentre le funzioni metaboliche nel fungere da principale deposito di ioni calcio e nel mantenere un corretto equilibrio omeostatico dei minerali all'interno del corpo, oltre allo svolgere un ruolo importante nel fenomeno dell'ematopoiesi [16] [17]. L'osso è un biomateriale composito eterogeneo e anisotropo a struttura gerarchica. Nel tessuto osseo la matrice extracellulare, che costituisce circa il 90% del peso, è mineralizzata, mentre il restante 10% è rappresentato da acqua. La matrice è costituita per il 60% da componenti inorganici, soprattutto da fosfato di calcio sotto forma di microcristalli di idrossiapatite. La componente organica è essenzialmente costituita da collagene di tipo I, organizzato in fibre in cui si trovano immersi cristalli minerali di idrossiapatite. La presenza di minerali, come pure l'abbondanza e la particolare distribuzione delle componenti organiche della sostanza intercellulare, conferisce a questo tessuto spiccate proprietà meccaniche di durezza e di resistenza alla compressione e alla torsione [15]. Il tessuto osseo è formato da cellule caratteristiche, denominate osteociti, che si distinguono in osteoblasti, deputati alla sintesi della matrice intercellulare ed alla sua mineralizzazione, e gli osteoclasti che invece distruggono la sostanza fondamentale sostituendola con un leggero trabecolato osseo. La matrice extracellulare mineralizzata viene organizzata dagli osteoblasti sotto forma di sottilissime lamine che poggiano le une sulle altre, ottenendo delle lamelle di spessore variabile al cui interno le fibrille mineralizzate di

collagene sono disposte parallelamente tra loro, in maniera da sopportare al meglio le sollecitazioni da carico. Generalmente tali fibrille sono organizzate in fasci o gruppi allineati che possono essere disposti in modi diversi a seconda del tipo di tessuto osseo e sede anatomica.

A livello strutturale, l'osso può essere classificato come corticale (o compatto) oppure spongioso (o trabecolare). In uno scheletro circa l'80% della massa scheletrica è rappresentata da tessuto compatto, il quale forma intorno a tutte le ossa un rivestimento solido ed è responsabile delle funzioni principali svolte dallo scheletro, quali funzione protettiva e di sostegno, mentre il rimanente 20% della massa dell'osso è data da tessuto spongioso [15]. Entrambi i tipi possono essere facilmente distinti per il loro grado di porosità e di densità, sebbene una differenziazione più precisa si può ottenere dalla valutazione istologica della microstruttura dei tessuti. Il tessuto osseo compatto appare come una massa solida, densa, con la presenza esclusivamente di microscopici canali, priva di cavità macroscopicamente evidenti e con una bassa porosità (5-10%). Il tessuto osseo spongioso invece ha questo nome in quanto appare conformato come una spugna dalla porosità che varia tra 45-95%, dotato di travate ossee, dette trabecole, orientate in varie direzioni e intersecate tra loro, e delimitanti cavità, le cavità midollari, che in vivo sono ripiene di midollo osseo ematopoietico. L'osso spongioso è molto più attivo metabolicamente ed è sottoposto a processi di rimodellamento più frequenti, risultando così in media più giovane rispetto all'osso corticale [15]. L'osso corticale è formato da diversi fasci di lamelle di collagene mineralizzate affiancate e allineate tra loro, mentre l'osso spongioso è formato da una rete di trabecole interconnesse tra loro a formare una struttura tridimensionale.

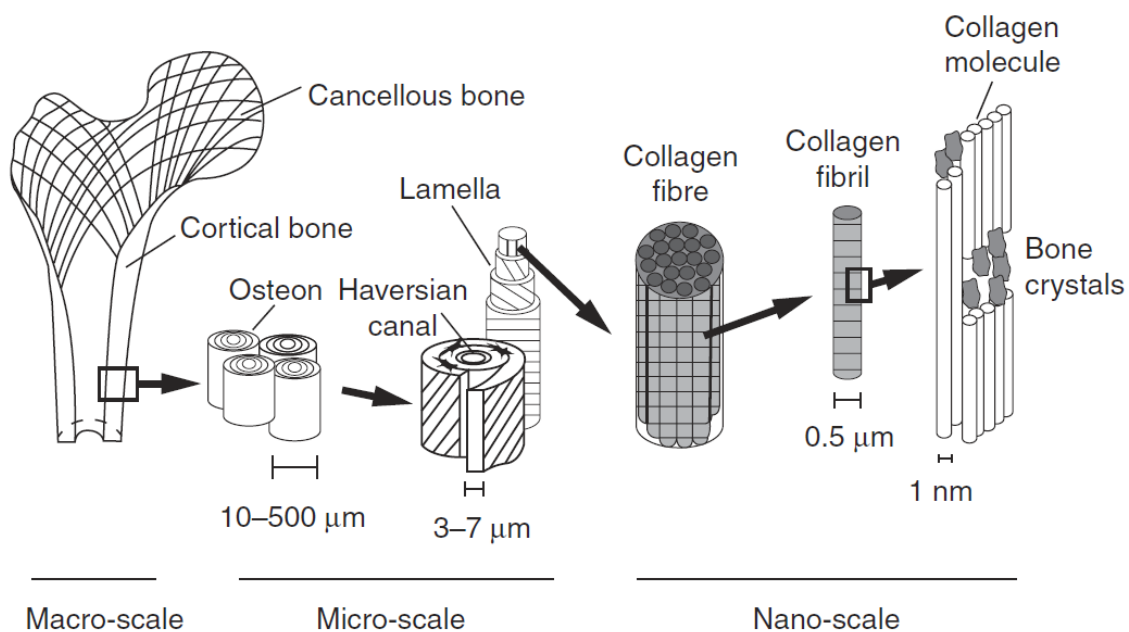


Figura 1.1: Struttura ossea a diverse scale di ingrandimento. Le lamelle si dispongono tipicamente in modo concentrico attorno ad un canale centrale (Haversian canal) nel quale è contenuto un vaso sanguigno. Questa tipologia di lamelle è conosciuta come tessuto lamellare osteonico (osteon) ed è il più comune dei tessuti lamellari ossei. (Copyright © 1998, Elsevier) [18].

I costituenti inorganici dell'osso sono quindi i responsabili della sua durezza e rigidità mentre la resistenza alla trazione e alla pressione è legata alla matrice organica e principalmente alle fibre collagene. Le proprietà di resistenza dell'osso dipendono in larga misura dalla sua mirabile organizzazione lamellare e dalla disposizione ordinata, ma con orientamento diverso, delle fibre collagene nelle lamelle contigue. La combinazione delle due componenti della matrice e la superba architettura interna dell'osso assicurano la massima resistenza e durezza associate al minimo peso, rendendolo adatto ad adempiere alle sue imprescindibili funzioni meccaniche [14].

1.3 I bioceramici

I materiali ceramici sono materiali inorganici non metallici, costituiti da elementi metallici e non metallici legati fra loro prevalentemente da legami ionici e/o covalenti che si formano ad elevate temperature. Le composizioni chimiche variano notevolmente: si passa da composti semplici a miscele costituite da molte fasi complesse legate fra loro [7]. I ceramici stanno ricevendo un'attenzione sempre maggiore come candidati per applicazioni biomedicali, come mostrato in Figura 1.2: vengono largamente usati per il rilascio controllato dei farmaci, per l'ingegneria tissutale, in odontoiatria e come impianti e cementi ossei [13]. Il loro principale vantaggio è rappresentato dall'inerzia all'interno di soluzioni acquose, dunque una elevata biocompatibilità. Un'ulteriore caratteristica che li contraddistingue è la fragilità, che comporta una scarsa resistenza a rottura. Dunque il loro impiego è limitato prevalentemente ad applicazioni soggette a sforzi di compressione (capsula acetabolare o testa del femore nella sostituzione dell'articolazione dell'anca) o che non richiedano la resistenza ad un carico elevato [8]. Un metodo efficace per superare tali svantaggi consiste nell'utilizzare i materiali bioceramici per ricoprire impianti metallici, combinando in tal modo la resistenza al carico di rottura tipica dei metalli con gli specifici vantaggi offerti dai ceramici.

I vantaggi offerti dai bioceramici rispetto ai ceramici tradizionali e ai metalli, inerti dal punto di vista biologico, hanno permesso lo sviluppo di una seconda generazione di materiali per la sostituzione di tessuti biologici duri, con caratteristiche di bioattività elevata e modulo elastico paragonabile a quello del tessuto osseo naturale, evitando problemi di *stress shielding*.

Recentemente la ricerca si sta orientando sulla produzione di materiali bioceramici microporosi e mesoporosi sottoforma di sciume o *scaffolds*, che fungono da substrato consistente e riassorbibile in grado di favorire l'attecchimento cellulare e la rigenerazione del tessuto danneggiato [9]: il biomateriale deve degradarsi progressivamente nel tempo in maniera controllata, permettendo al tessuto biologico naturale di ristabilire la sua funzione portante.

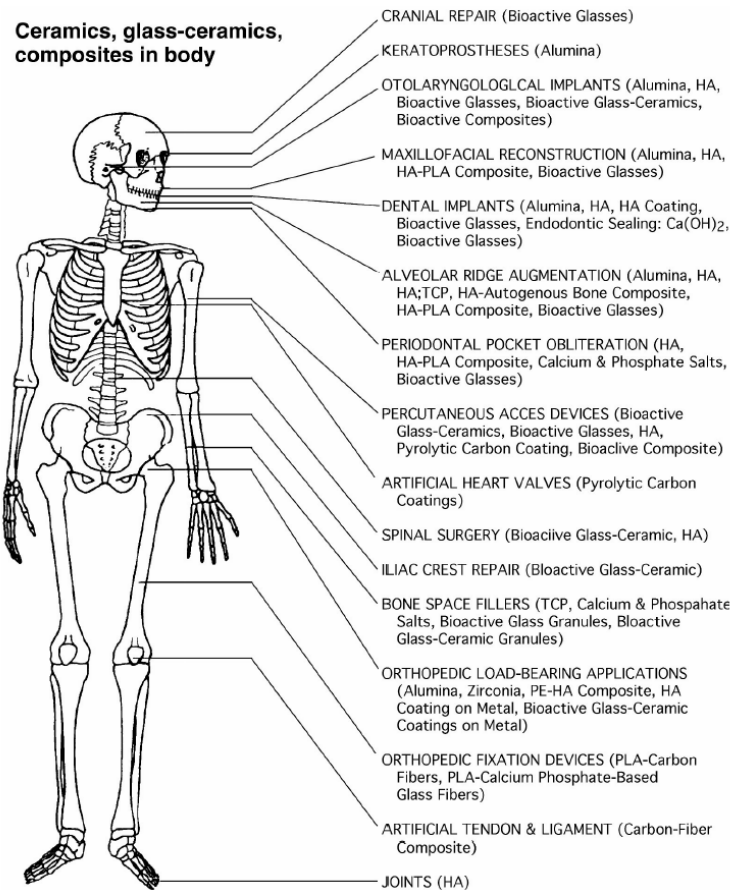


Figura 1.2: Diversi usi di materiali ceramici, vetri e compositi nel corpo umano (Copyright © 1993, World Scientific).

Idrossiapatite, biovetri e biovetro-ceramici sono utilizzati quali ceramici bioattivi. La bioattività viene valutata sulla base di un parametro IB che la relaziona al tempo ($t_{0.5}$ nell'Equazione 1.3) impiegato dal 50% della superficie del materiale per creare un legame stabile all'interfaccia con il tessuto osseo naturale (tessuto biologico di prevalente interesse per i bioceramici) [8].

$$IB = 100 / t_{0.5} \quad (1.3)$$

In tale categoria rientrano due diversi tipi di materiali: materiali di classe A e di classe B.

- Materiali di CLASSE B ($0 < IB < 8$): si legano all'osso e sono osteoconduttivi, cioè permettono la crescita ossea sulla superficie del biomateriale stesso. Tra questi si hanno l'idrossiapatite sintetica ed il tricalcio fosfato. Essi danno luogo a reazioni all'interfaccia non molto veloci e minimo rilascio di ioni.
- Materiali di CLASSE A ($IB > 8$): oltre ad essere osteoconduttivi sono anche osteoproduttivi, vale a dire che sono in grado di stimolare la ricrescita ossea in seguito a elevate velocità di dissoluzione e inoltre possono formare legami coi tessuti molli. I vetri bioattivi come il 45S5 e il 58S fanno parte di tale sottocategoria [10] [11].

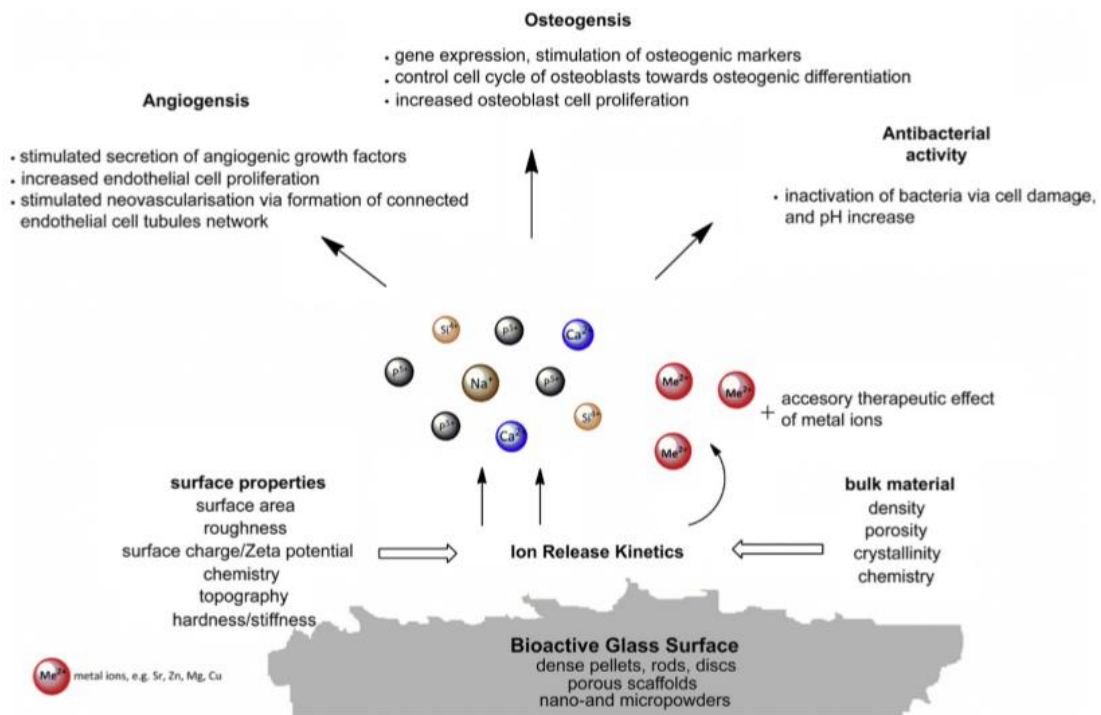


Figura 1.3: Interazioni biologiche dovute ai prodotti dello scambio ionico tra biovetro e organismo [12].

Il successo di questi materiali bioattivi dipende quindi dalla loro abilità di indurre la rigenerazione e ricrescita ossea all'interfaccia tessuto-impianto sfavorendo lo sviluppo del tessuto fibroso cicatriziale.

Tra i bioceramici inerti si ricordano l'allumina e la zirconia, tra quelli biorisorbibili il tricalcio fosfato, tra i bioattivi l'idrossiapatite, i biovetri e i biovetroceramici.

1.3.1 Allumina (Al_2O_3)

L'allumina è senz'altro il più diffuso fra i materiali ceramici bioinerti. La bauxite (ossido di alluminio idrato) ed il corindone (α -allumina) sono le principali fonti di allumina ad elevata purezza, purificata comunemente attraverso il processo Bayer od attraverso altri processi a seconda della materia prima di partenza. La struttura cristallina dell' α -allumina è di tipo esagonale compatto ($a = 0.4758$ e $c = 1.299$ nm) con gruppo spaziale D_3^6d .

Le proprietà meccaniche dell'allumina policristallina dipendono in gran parte dalla dimensione dei grani, dalla loro distribuzione e dalla porosità. Quasi tutti gli impianti bio fabbricati oggi sono composti o dal solido in forma policristallina a grana fine con elevata densità e purezza, o da cristalli singoli cresciuti artificialmente simili al zaffiro od al rubino.

L'allumina ha generalmente una durezza di $\sim 20\div 30$ GPa o 9 nella scala Mohs. L'elevata durezza è accompagnata a bassi coefficiente d'attrito ed usura, vantaggi che portano questo materiale ad essere la prima scelta per protesi articolari sebbene sia fragile.

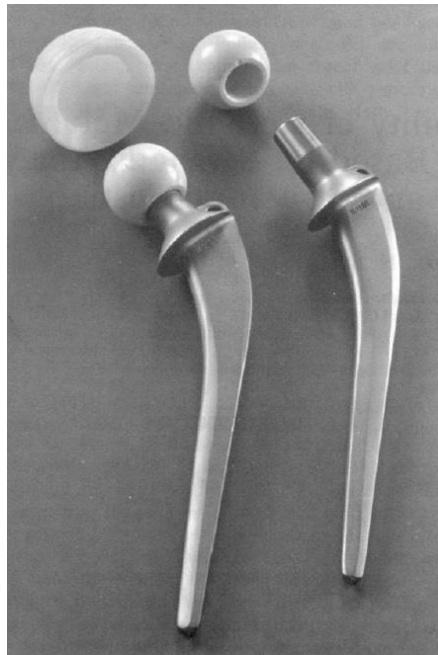


Figura 1.4: *Protesi completa dell'articolazione dell'anca con testa femorale in allumina (Copyright © 1980, Wiley).*

Quanto esposto insieme alla sua inerzia chimica, biocompatibilità, non-sensibilizzazione dei tessuti, elevata resistenza a compressione e buona resistenza a trazione fanno dell'allumina un'ottima scelta anche per articolazioni artificiali o protesi dentarie.

Un esempio comune di protesi in allumina sono le protesi dell'articolazione dell'anca, composte di tre parti: la testa femorale in allumina, il gambo o asta solitamente in leghe CoCrMo, e la coppa cotile in polietilene ad altissimo peso molecolare (UHMWPE). I problemi che possono sorgere con questo tipo di bio impianto sono la lussazione dello stesso, la mobilizzazione asettica, la lisi dell'osso a contatto con le particelle di usura, infezioni, produzione ectopica di osso e, in conseguenza a quanto elencato, dolore.

L'uso di bioceramici di allumina in altre articolazioni (come l'articolazione del ginocchio) è stato testato ma rimane meno popolare per il numero elevato di movimenti, e quindi stress meccanici, che dovrebbe sopportare l'impianto assieme alla minore area di contatto che ne compromette il fissaggio. Anche negli impianti dentari e nelle corone dentarie in allumina il fissaggio rimane un problema, risolvibile aumentando l'area di contatto rendendo la superficie della protesi porosa.

1.3.2 Fosfati di calcio

I fosfati di calcio sono i costituenti maggioritari del tessuto osseo e dentinale nei vertebrati. Negli ultimi 20-30 anni è aumentato l'interesse nell'uso dei fosfati di calcio come biomateriali, ma solamente alcuni composti risultano validi candidati per l'inserimento come impianti all'interno di un organismo, dal momento che la loro solubilità e la velocità di idrolisi aumentano al diminuire del rapporto tra calcio e fosforo. I fosfati di calcio mostrano

differenti risposte ad attacchi microbici, ai cambiamenti di pH e ai solventi utilizzati; in particolare, a seconda del solvente, della temperatura, della pressione e delle impurezze possono svilupparsi differenti tipologie di fosfati di calcio a seguito di una sintesi. I più comuni CaP sono elencati in Tabella 1.4.

Tabella 1.4: Principali fosfati di calcio, con formula chimica e Ca/P ratio [19].

Name	Symbol(s)	Formula	Ca/P
Monocalcium phosphate monohydrate	(MCPM) and (MCPH)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.5
Monocalcium phosphate anhydrous	(MCPA) and (MCP)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0.5
Dicalcium phosphate dihydrate (Brushite)	(DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.0
Dicalcium phosphate anhydrous (Monetite)	(DCPA) and (DCP)	CaHPO_4	1.0
Octacalcium phosphate	(OCP)	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.33
α -Tricalcium phosphate	(α -TCP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5
β -Tricalcium phosphate	(β -TCP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5
Amorphous calcium phosphate	(ACP)	$\text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1.2–2.2
Hydroxyapatite	(HA) and (HAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1.67

Tra i fosfati di calcio, quello più stabile termodinamicamente ed il meno solubile nei fluidi corporei risulta essere l'idrossiapatite (HA). È ben documentata la possibilità di utilizzo di idrossiapatite sintetica per promuovere la ricrescita ossea senza causare tossicità locale o sistemica, infiammazioni o rigetti. Correntemente l'idrossiapatite risulta quindi il fosfato di calcio scelto per varie applicazioni biomediche, come ad esempio la correzione di difetti ossei o periodontali, per applicazioni nella cresta alveolare, come impianti dell'orecchio medio ed agente di trasporto per il rilascio di farmaci, per l'ingegneria tissutale e come rivestimento nei bioimpianti metallici.

L'idrossiapatite può essere sintetizzata con diversi metodi: sol-gel, precipitazione chimica, idrolisi, reazioni allo stato solido, pirolisi, sintesi biogenica da materiali naturali (scarti ossei, gusci d'uovo, scheletri di organismi marini), etc. Differenti metodi portano ad un prodotto finale che differisce in purezza, rapporto tra fase amorfa e cristallina, Ca/P ratio, dimensione delle particelle e loro distribuzione [13].

Tuttavia l'HA prodotta da un organismo differisce da quella sintetica da un punto di vista stechiometrico, di composizione, per proprietà fisiche e meccaniche, dal momento che contiene ioni sostituiti chimicamente nel reticolo cristallino a causa del contatto con i fluidi corporei. L'HA naturale infatti risulta deficitaria in calcio (rapporto molare Ca/P è minore di quello stechiometrico di 1.67) e si riscontrano sempre dei carbonati sostituiti. Ioni come HPO_4^{2-} , CO_3^{2-} and F^- possono sostituire parzialmente il PO_3^- e OH^- , mentre Mg^{2+} e Sr^{2+} sostituiscono il Ca^{2+} .

Le proprietà meccaniche dell'HA sintetica la rendono un ottimo materiale per le applicazioni biomediche: il modulo di Young (35-120 GPa), il modulo a flessione (44-115 GPa) e la resistenza a compressione (120-900 MPa) sono prossimi a quelli dei tessuti duri naturali presenti nell'organismo. Tuttavia, come gli altri ceramici, ha un comportamento fragile ($KIC = 0.8-1.2 \text{ MPa}\cdot\text{m}^{0.5}$) e tali proprietà meccaniche non sono sufficienti per sopportare carichi di lavoro elevati.

L'idrossiapatite sintetica può essere considerata un materiale bioattivo e biostabile, in quanto, come esposto, la sua velocità di dissoluzione risulta minima. Per questo sono stati studiati altri bioceramici che fossero non solo bioattivi, ma anche biodegradabili: questi sono il tricalcio fosfato (TCP) e il calcio fosfato bifasico (BCP), come combinazione di HA e TCP. Nei BCP la bioattività può essere controllata variando il rapporto HA/TCP e la possibilità di realizzare compositi polimerici o con collagene permette di superare il problema della fragilità intrinseca dell'HA, rendendo più facile la produzione di componenti *bulk*.

La velocità di biodegradazione dei fosfati di calcio, per esempio, aumenta congiuntamente al:

- Aumento dell'area superficiale (polveri > solidi porosi > solidi densi);
- Diminuzione del grado di cristallinità;
- Diminuzione della dimensione dei grani e dei cristalli;
- Possibile sostituzione ionica di CO_3^{2-} , Mg^{2+} , and Sr^{2+} in HA;

Diminuisce invece con la sostituzione di F^- in HA, di Mg^{2+} in β -TCP e con il diminuire del rapporto β -TCP/HA nei BCP [1].

1.3.3 Biovetri

I *biovetri* sono materiali a base silicatica con struttura amorfa, compatibili con l'organismo, in grado di legarsi al tessuto osseo naturale e stimolare la ricrescita degli osteociti dissolvendosi nel tempo. Vetri insolubili a struttura porosa sono stati utilizzati come vettori per enzimi, anticorpi ed antigeni, con il vantaggio di resistere ad attacco microbico, alle variazioni di pH, alla temperatura e a pressioni elevate necessarie per avere un flusso rapido. I vetri bioattivi mostrano proprietà osteoconduttive e osteoinduttive e per questo possono essere usati in varie applicazioni come innesti ossei (craniofacciali, maxillofacciali, periodontali), rilascio controllato di farmaci, rivestimenti, ingegneria dei tessuti molli [13]. La caratteristica principale che li rende adatti per applicazioni biomedicali è la capacità della loro superficie, quando viene a contatto con i fluidi corporei, di formare uno strato biologicamente attivo di idrossiapatite carbonata (HCA) che assicura l'interfaccia bioceramica al tessuto naturale. In assenza di contatto con una soluzione il vetro bioattivo risulta inerte; in presenza di una soluzione fisiologica, reazioni veloci sulla superficie del biovetro portano alla creazione di uno strato *gel-like* ricco in silice. Rapidi scambi ionici

avvengono tra Na^+ e Ca^{2+} del biovetro e H^+ o H_3O^+ della soluzione. Si verifica una perdita di silice, solubile nella forma di $\text{Si}(\text{OH})_4$, verso la soluzione, per la rottura dei legami Si-O-Si e la creazione di gruppi Si-OH all'interfaccia. Questo gel ricco in silice favorisce la rapida nucleazione, formazione e crescita di un *layer* di apatite. Ioni calcio e gruppi fosfato migrano verso la superficie attraverso il *silica gel* causando la formazione di un film amorfo di $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$. La cristallizzazione di questo film infine occorre incorporando anioni OH^- , CO_3^{2-} o F^- dalla soluzione per formare un *layer* misto ossidrilico, carbonato e di fluorapatite. L'HCA formata è chimicamente e strutturalmente equivalente alla fase minerale che costituisce il tessuto osseo naturale: è questa analogia tra le due fasi a rendere possibile il legame tra le due interfacce, sufficiente a resistere alle sollecitazioni meccaniche a cui il sistema è sottoposto. Il legame con i tessuti molli invece può avvenire grazie al chemioadsorbimento delle fibrille di collagene sullo strato di silice porosa.

Tabella 1.5: Composizione dei principali biovetri e biovetroceramiche [4].

Component	45S5 Bioglass®	45S5.4F Bioglass®	45B15S5 Bioglass®	52S4.6 Bioglass®	55S4.3 Bioglass®	KGC Ceravital®	KGS Ceravital®	KGy213 Ceravital®	A/W glass-ceramic	MB glass-ceramic	S45P7
SiO_2	45	45	30	52	55	46.2	46	38	34.2	19-52	45
P_2O_5	6	6	6	6	6				16.3	4-24	7
CaO	24.5	14.7	24.5	21	19.5	20.2	33	31	44.9	9-3	22
$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$						25.5	16	13.5			
CaF_2		9.8							0.5		
MgO						2.9			4.6	5-15	
MgF_2											
Na_2O	24.5	24.5	24.5	21	19.5	4.8	5	4		3-5	24
K_2O						0.4				3-5	
Al_2O_3								7		12-33	
B_2O_3			15								2
$\text{Ta}_2\text{O}_5/\text{TiO}_2$								6.5			
Structure	Glass and glass- ceramic	Glass	Glass	Glass		Glass- ceramic	Glass- ceramic	Glass- ceramic	Glass- ceramic	Glass- ceramic	
Reference	14	14, 56	57, 58	44	44	5	5	5	36	32	54

La formazione del legame tra impianto artificiale e tessuto naturale è stato riscontrato solamente per determinati intervalli di composizioni del biovetro, contenente SiO_2 , Na_2O , CaO e P_2O_5 . In particolare, rispetto ai tradizionali vetri, ci sono 3 aspetti distintivi: è presente una percentuale molare inferiore al 60% di SiO_2 , un notevole contenuto di Na_2O e CaO ed un elevato rapporto molare $\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$. Molti biovetri silicatici si basano sulla composizione del 45S5 Bioglass® (45% SiO_2 , S come formatore del legame, $\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$ ratio=5), formulato da Larry L. Hench, professore presso l'Università della Florida, nel 1969.

Il diagramma seguente vale per vetri aventi tutti il 6% in peso di P_2O_5 e quantità variabili di SiO_2 , CaO e Na_2O : solo per composizioni contenute nella regione A si ottiene un legame con il tessuto osseo, mentre all'interno della regione S è possibile ottenere oltre al legame coi tessuti duri, anche quello coi tessuti molli. Si osserva inoltre che spingendosi a tenori di SiO_2 superiori al 60% il vetro non interagisce con il tessuto osseo naturale ed è bioinerte (regione B) [4].

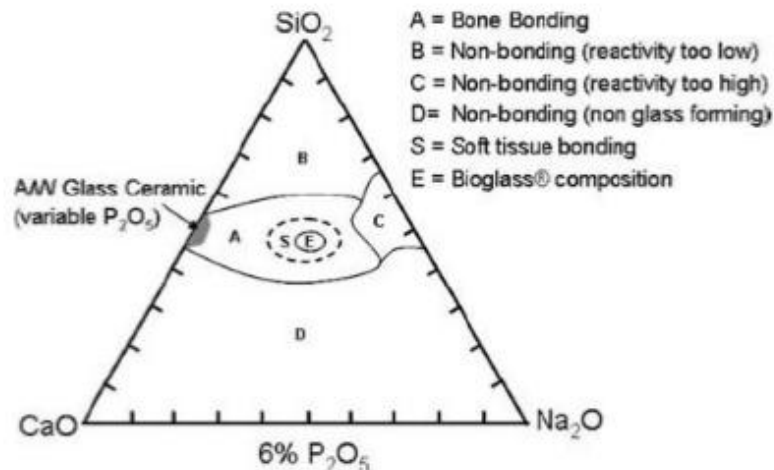


Fig. 1.5: Diagramma composizionale per la formazione del legame del vetro con osso e tessuti molli [20].

I vetri possono essere ottenuti attraverso due processi: la tradizionale fusione e tempra ed il metodo *sol-gel*. Principalmente i biovetri attualmente disponibili vengono sintetizzati col metodo fusorio, per cui una miscela di ossidi viene portata a fusione ad elevata temperatura (>1300°C) in un crogiolo di platino e successivamente raffreddata in uno stampo in grafite (per barre o monoliti) o in acqua (fritta). La tecnica *sol-gel* comporta la sintesi di un reticolo inorganico attraverso la miscelazione di opportuni precursori metallici alcoxidi in soluzione, seguita da idrolisi, da una fase di gelificazione e da opportuni trattamenti termici a relativamente bassa temperatura per ottenere un vetro. I precursori vanno incontro ad idrolisi, che porta allo sviluppo di una sospensione colloidale (sol); le reazioni di policondensazione dei gruppi Si-OH continua anche terminata l'idrolisi, permettendo la formazione di un reticolo tra silicati, con conseguente aumento della viscosità della soluzione (gel). Successivamente il gel è sottoposto a dei trattamenti termici di *curing* per incrementarne la resistenza, di essiccazione per far evaporare la fase liquida e di sinterizzazione per rimuovere completamente la componente organica ed ottenere il vetro [25].

La principale differenza tra i due metodi è che i vetri ottenuti dal processo *sol-gel* sviluppano una struttura microporosa gerarchica interconnessa, mentre quelli di tipo fusorio risultano per lo più densi; inoltre, l'elevata area superficiale che ne consegue comporta una maggiore velocità di dissoluzione del vetro. Questi due aspetti risulteranno fondamentali per applicazioni biomedicali, come verrà esposto nei successivi paragrafi. Infine è da ricordare la notevole versatilità del metodo *sol-gel*, poiché possono essere prodotti vetri sotto forma di polveri nanoporose, monoliti o nanoparticelle semplicemente variando il pH della soluzione iniziale [35].

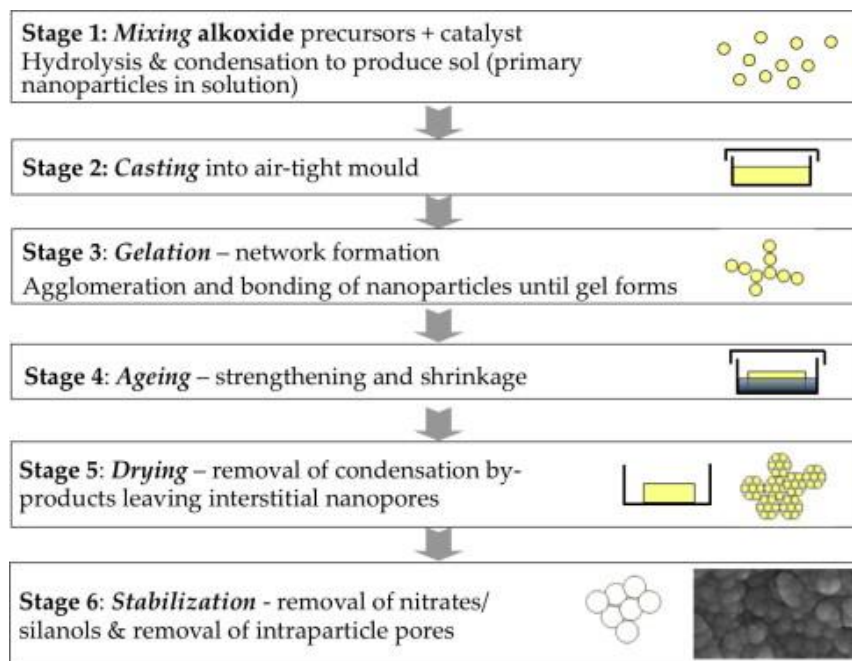


Figura 1.6: Schema del processo sol-gel con catalisi acida per la sintesi di biovetro con evoluzione dello stato di gel e della nanoporosità [35].

Nonostante le loro eccellenti proprietà di bioattività, il limite principale è rappresentato dalla loro scarsa resistenza meccanica e tenacità a frattura (resistenza a flessione=70 MPa e $KIC=0.5 \text{ MPa}\cdot\text{m}^{0.5}$). Per migliorare la loro resistenza meccanica, sono stati sviluppati diversi tipi di vetro, denominati *vetroc ceramiche*, nella cui struttura si ritrovano differenti fasi cristalline precipitate in seguito ad un trattamento termico opportuno [21].

1.3.4 Ceramiche silicatiche bioattive

I bioceramici silicatici cristallini stanno ottenendo una significativa attenzione per le loro applicazioni di rigenerazione di tessuti ossei. Il silicio (Si) è uno dei più importanti elementi nel corpo umano. Si è presente ad un livello di 100 ppm nel tessuto osseo e 200÷550 ppm legato ai composti della matrice extracellulare ed è riportato come elemento attivo nei processi di mineralizzazione del tessuto osseo, nella la sintesi del collagene, nel cross-linking del tessuto connettivo e nella lo sviluppo dell'apparato scheletrico e vascolare.

Gli sviluppi nel campo dei vetri e delle vetroceramiche bioattivi hanno ispirato la ricerca di una nuova famiglia di bioceramici cristallini silicatici (Tabella 1.6). Tra i più studiati si trovano:

- gli ossidi binari silicatici (CaO-SiO_2 , MgO-SiO_2 , SrO-SiO_2 , ZnO-SiO_2);
- gli ossidi ternari (MgO-CaO-SiO_2 , ZnO-CaO-SiO_2 , SrO-CaO-SiO_2 , $\text{TiO}_2\text{-CaO-SiO}_2$, $\text{ZrO}_2\text{-CaO-SiO}_2$, $\text{P}_2\text{O}_5\text{-CaO-SiO}_2$, SrO-MgO-SiO_2 , SrO-ZnO-SiO_2 e $\text{Na}_2\text{O-CaO-SiO}_2$);
- gli ossidi quaternari (SrO-ZnO-CaO-SiO_2).

Confrontati con i convenzionali bioceramici a base di fosfati di calcio, i ceramici silicati hanno una più varia composizione che può contribuire ad aggiustare le proprietà fisico-chimiche come resistenza meccanica, bioattività e degradazione.

I principali metodi di produzione di questa categoria di bioceramici sono il metodo sol-gel, la precipitazione chimica, il processo idrotermale, reazioni allo stato solido e tecnica PDCs (*polymer-derived ceramics*). La preparazione di ossidi ternari e quaternari silicatici risulta più difficoltosa ed è necessario selezionare adeguate materie prime di partenza e metodi di sintesi, controllando altresì le condizioni di reazione. Il sol-gel risulta quindi essere il metodo più diffuso per i ternari e quaternari, anche per le inferiori temperature necessarie.

Tabella 1.6: Composizione e principali forme dei ceramici silicatici bioattivi correntemente studiati [36].

System	Names	Compositions	Main forms
Binary oxides	Wollastonite	CaSiO ₃	Powders
	Dicalcium silicate	Ca ₂ SiO ₄	Ceramics
	Tricalcium silicate	Ca ₃ SiO ₅	Scaffolds Coatings
	Dimagnesium silicate	Mg ₂ SiO ₄	Powders
	Magnesium silicate	MgSiO ₃	Ceramics
	Zinc silicate	Zn ₂ SiO ₄	Ceramics
	Strontium silicate	SrSiO ₃	Powders
	Ternary oxides	Akermanite	Ca ₂ MgSi ₂ O ₇
Bredigite		Ca ₇ MgSi ₄ O ₁₆	Ceramics
Diopside		CaMgSi ₂ O ₆	Spheres
Monticellite		CaMgSiO ₄	Scaffolds
Merwinite		Ca ₃ MgSi ₂ O ₈	
Hardystonite		Ca ₂ ZnSi ₂ O ₇	Powders
		Zn _(x) CaSiO(3+x)	Ceramics
		(Sr, Ca)SiO ₃	Ceramics
Sphene		CaTiSiO ₅	Ceramics, coatings
Baghdadite		Ca ₃ ZrSi ₂ O ₉	Ceramics, spheres
Silicocarnotite Nagelschmidite		Ca ₅ P ₂ SiO ₁₂ Ca ₇ Si ₂ P ₂ O ₁₆	Powders, ceramics
Strontium-hardystonite		Sr ₂ ZnSi ₂ O ₇	Ceramics
		CaNa ₂ SiO ₄ Ca ₂ Na ₂ Si ₃ O ₉	Ceramics
Quaternary oxides		(Sr,Ca) ₂ ZnSi ₂ O ₇	Scaffolds

Le proprietà meccaniche dei materiali bioattivi sono di grande importanza nell'influenzare l'osteogenesi. È dimostrato che la resistenza meccanica di certi bioceramici silicatici, specialmente la resistenza a frattura in condizioni di test a secco, è generalmente più elevata di quella dell'HA sintetica e comparabile rispetto al tessuto osseo corticale. Sempre in condizioni di test a secco gran parte dei monoliti silicatici possiedono una resistenza a flessione ed un modulo elastico comparabile con quella dell'osso compatto umano (50÷150 MPa e 7÷30 GPa rispettivamente) (Tabella 1.7).

Tabella 1.7: Proprietà meccaniche di alcuni bioceramici silicatici [36].

	Names	Bending strength (MPa)	Fracture toughness (Mpa m ^{1/2})	Elastic modulus (GPa)	Compressive strength (MPa)
Dense ceramic monoliths	Hydroxyapatite	80–195	0.7–1.30	75–103	
	Wollastonite	95			
		294 ^a	2.0 ^a	46.5 ^a	
	Dicalcium silicate	26–97	1.1–1.8	10–40	
		293 ^a	3.0 ^a		
	Tricalcium silicate	93.4	1.93	36.7	
	Calcium-silicate/Zirconia	395 ^a	4.08 ^a	81 ^a	
	Dimagnesium silicate	203	2.4		
	Magnesium silicate	32		8.5	
	Zinc silicate	91		37.5	
	Akermanite	176	1.83	42	
	Bredigite	156	1.57	43	
	Diopside	300	3.50		
	Merwinite	151	1.72	31	
Monticellite	159	1.63	51		
Hardystonite	136	1.37	37		
Silicocarnotite	65		80		
Porous scaffolds	Wollastonite				60 ^b 0.4 ^c 3.6 ^d
	Akermanite				0.53–1.13 ^c
	Diopside				0.2–1.36 ^c
	Bredigite				0.233 ^c

^a SPS sintering technique.

^b Porogen method; ^c Polyurethane foam templating method; ^d 3D plotting technique.

La risposta di questa categoria di bioceramici nei fluidi corporei è del tutto simile a quanto esposto per i biovetri e viene schematizzata in Figura 1.7.

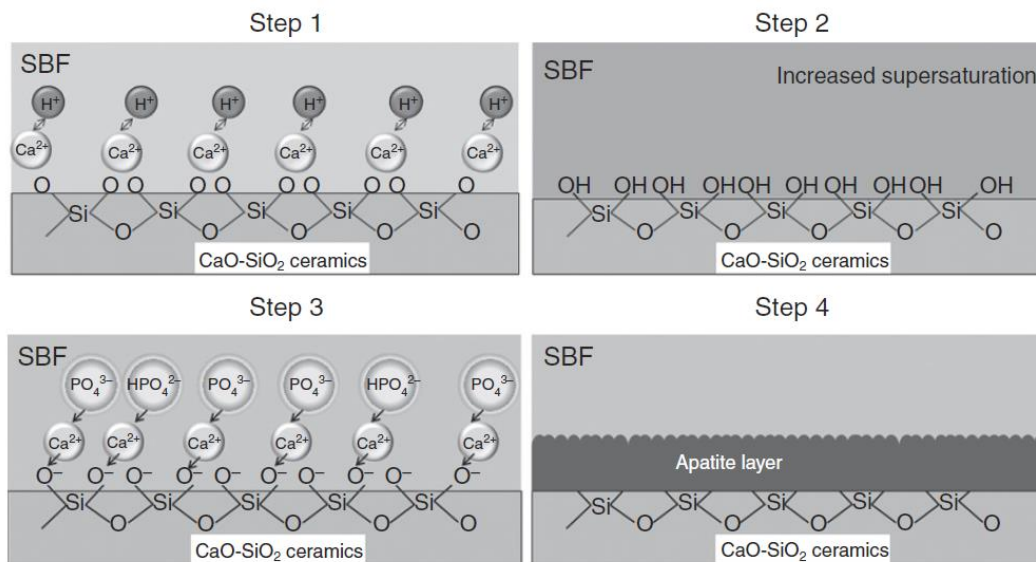


Figura 1.7. Illustrazione schematica del processo di formazione del layer di apatite nei ceramici silicatici in simulated body fluid (SBF) [37].

L'apatite che si forma nei diversi bioceramici silicatici risulta significativamente differente come morfologia a seconda della composizione chimica del ceramico; generalmente bioceramici silicatici con alti contenuti di Ca possiedono le più elevate proprietà di mineralizzazione, mentre l'incorporazione di altri ioni metallici quali Mg, Zn e Sr le

diminuisce. La diversa composizione chimica, la quantità di Ca rispetto agli altri ioni metallici e la velocità di degradazione dei bioceramici influenzano l'interazione con i tessuti biologici. Si è scoperto dai test *in vitro*, che gran parte dei bioceramici silicatici come åkermanite, hardystonite, diopside, bredigite, supportano l'attacco degli osteoblasti, delle cellule stromali del midollo osseo e delle cellule staminali del legamento parodontale, e questo ne ha permesso anche la sperimentazione *in vivo* [23].

1.3.5 Biovetroceramiche

Le *vetroceramiche* (GCs) sono materiali policristallini costituiti da una o più fasi cristalline immerse in una matrice amorfa vetrosa, prodotti principalmente per *nucleazione ed accrescimento* della fase cristallina o tramite *sinter-cristallizzazione*, attraverso opportuni trattamenti termici che inducano la cristallizzazione a partire dalla componente amorfa.

La produzione di vetroceramiche, secondo il processo tradizionale, consiste nel sottoporre un vetro di particolare composizione, precedentemente elaborato e formato, ad un particolare trattamento termico che permetta la nucleazione ed in seguito l'accrescimento di germi cristallini nella massa amorfa del materiale. Il trattamento termico da realizzare è generalmente bistadio: nel primo dei due stadi si riscalda il materiale vetroso alla temperatura di massima nucleazione T_N (prossima a quella di transizione vetrosa della miscela di partenza) e lo si mantiene per il tempo necessario a tale temperatura per favorire la formazione di nuclei, che diventeranno i centri di cristallizzazione. Il numero di germi cristallini formati è direttamente proporzionale al tempo di mantenimento, che è funzione del tipo di vetroceramica impiegata; in seguito si riscalda il materiale alla temperatura a cui corrisponde il massimo accrescimento dei nuclei, T_A . I nuclei formati nel primo stadio del trattamento richiedono un ulteriore tempo di mantenimento a tale temperatura, per favorire la loro crescita e permettere così la cristallizzazione del materiale. Le condizioni di cristallizzazione devono inoltre essere attentamente controllate per ottenere adeguati gradi di cristallinità ed una dimensione ottimale dei cristalli. In Figura 1.8 viene riassunto l'intero *annealing treatment* compiuto per la realizzazione di una vetroceramica: dalla fusione e formatura per l'ottenimento del vetro di partenza si procede poi alla fase di nucleazione ed accrescimento dei germi cristallini per ottenere il materiale composito finale. Tuttavia i tempi di trattamento richiesti sono molto lunghi (da 10 a 20 ore per la cristallizzazione controllata). Per ridurre la scala temporale è possibile ricorrere ad una nucleazione di tipo eterogeneo, con l'aggiunta di cristalli insolubili quali oro, argento, ossidi di titanio, che fungono da siti di nucleazione; tuttavia i tempi restano elevati ed il costo delle materie prime aumenta, anche perché si deve ricorrere a vetri di partenza particolarmente affinati.

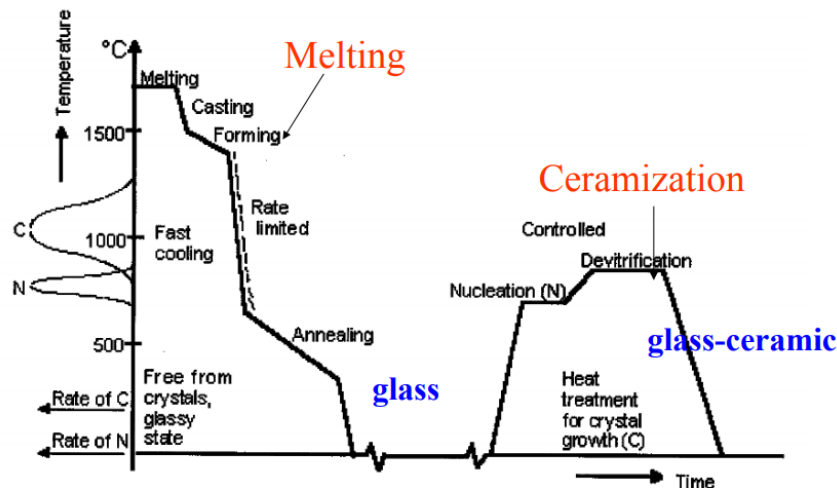


Figura 1.8: schematizzazione del trattamento termico necessario per ottenere vetroceramiche per nucleazione ed accrescimento [22].

Per limitare le problematiche insorte nel processo tradizionale è stato introdotto il processo di sinter-cristallizzazione. Il vantaggio più significativo è quello di ottenere una vetroceramica a temperature inferiori rispetto a quelle di una normale sinterizzazione di polveri ceramiche, dunque è economicamente più vantaggioso, dal momento che sfrutta un meccanismo di nucleazione superficiale, che presenta una cinetica molto più breve rispetto alla nucleazione in *bulk*. Si è potuto notare come nella fase di nucleazione omogenea vi siano dei siti di nucleazione preferenziale per la formazione di nuclei cristallini sulla superficie dell'interfaccia vetro-aria. La nucleazione all'interfaccia è favorita rispetto a quella in *bulk* poiché in quest'ultima i cristalli in formazione vengono ostacolati nella loro crescita dalla spinta idrostatica del fuso circostante. Nella nucleazione superficiale al contrario c'è una parte del fuso che non risente della forza idrostatica e che quindi presenta una maggiore mobilità, sufficiente a garantire la riorganizzazione atomica necessaria per la devetrificazione, come si vede dalla Figura 1.9.

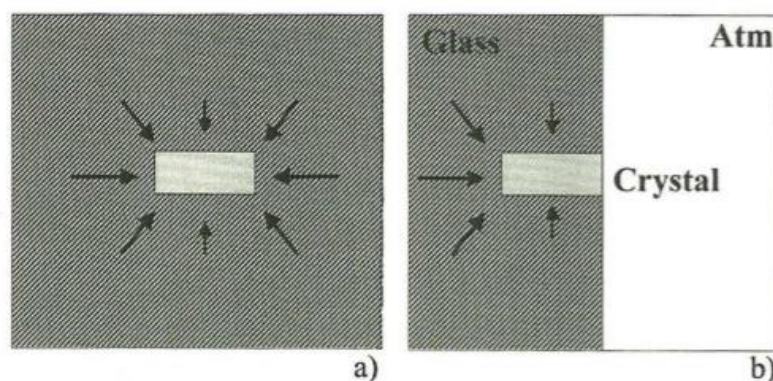


Figura 1.9: Confronto fra nucleazione in *bulk* (a) e nucleazione superficiale (b).

Appare fondamentale dunque per la buona riuscita di questa tecnologia produttiva, un bilanciamento ottimale tra i processi di sinterizzazione e cristallizzazione. Infatti la sinterizzazione inibisce il procedere della cristallizzazione poiché limita l'attività nucleante

dei grani di dimensione maggiore, formati per coalescenza di quelli più piccoli. D'altro canto la cristallizzazione impedisce la completa sinterizzazione, causando la permanenza della porosità all'interno del prodotto finale, poiché la crescita dei cristalli rende il flusso viscoso molto difficile.

La produzione di vetroceramiche tramite la tecnica di sinter-cristallizzazione prevede dunque la macinazione del vetro di partenza in polveri molto fini, poi pressate per ottenere un compatto. Si esegue quindi il trattamento termico alla temperatura ottimale per permettere la sinterizzazione e cristallizzazione contemporanea del materiale. La sinterizzazione può essere descritta come il passaggio da un compatto polverulento ad un materiale coerente per azione del calore (Figura 1.10); il consolidamento del compatto si realizza grazie alla formazione di legami forti tra grani adiacenti. Durante questa trasformazione la forma del pezzo viene conservata, mentre il suo volume generalmente diminuisce, a causa del ritiro dimensionale, che può essere molto elevato e comportare stress di natura termica sul prodotto finito.

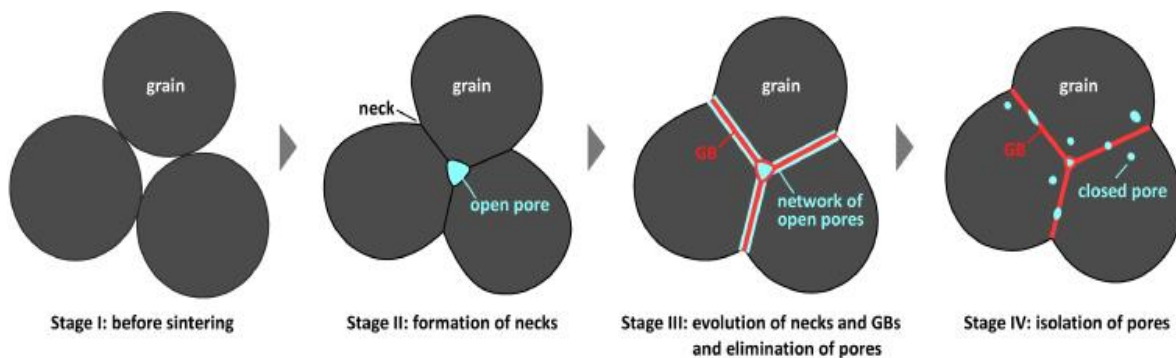


Figura 1.10: Schematizzazione del processo di sinterizzazione di un materiale ceramico.

Il processo di sinterizzazione si sviluppa in tre stadi:

1. Nello stadio iniziale due particelle a contatto danno luogo ad un collo di giunzione per la diffusione di atomi attraverso la superficie di contatto. In questo stadio si ha solo un modesto aumento della densità.
2. Nello stadio intermedio si verifica una contrazione della porosità aperta ed un lento accrescimento dei grani; in questa fase la densità aumenta considerevolmente.
3. Nello stadio finale, gli ultimi pori non saturati vengono inizialmente isolati e poi eventualmente eliminati in caso di accrescimento dei grani.

La sinterizzazione, come tutti i fenomeni chimico-fisici, deve sottostare alla condizione termodinamica legata alla diminuzione di energia superficiale: un sistema massivo infatti è più stabile di uno disperso. Durante la sinterizzazione il sistema tende a soddisfare questa condizione attraverso il meccanismo della densificazione, che determina un processo di coesione tra i grani cristallini ed un complessivo abbassamento dell'energia superficiale. Anche se hanno la stessa origine fisico-chimica, densificazione ed ingrossamento dei grani

appaiono come due processi concorrenziali nella sintesi di un componente ceramico, ma è preferibile favorire un buon livello di densificazione per garantire ottime caratteristiche al prodotto finito.

Da un punto di vista chimico-fisico si distinguono tre tipi di sinterizzazione, a seconda dei fenomeni che avvengono all'interno del compatto: sinterizzazione per flusso viscoso, sinterizzazione in fase liquida, sinterizzazione in fase solida.

Nella produzione di vetroceramiche viene realizzata una sinterizzazione per flusso viscoso durante la quale la composizione chimica del sistema e la temperatura di trattamento portano alla formazione di una certa quantità di fuso viscoso, sufficiente ad innescare la diffusione atomica sulle superficie delle particelle, che conduce all'eliminazione della fase gassosa inizialmente presente tra le particelle.

La quantità della fase cristallina varia tra 0.5 e 99.5%, ma più frequentemente tra il 30 e il 70%. Il controllo della cristallizzazione porta all'ottenimento di materiali con interessanti proprietà biologiche, elettriche, termiche e meccaniche. I vetroceramici presentano anche altre importanti caratteristiche: una resistenza all'abrasione molto elevata, la possibilità di essere formati e lavorati facilmente attraverso la tecnica PDCs e una porosità che può essere regolata in funzione dell'applicazione finale. Data la natura composita delle vetroceramiche è possibile ottenere materiali che presentano caratteristiche superiori sia al vetro di partenza che ai ceramici tradizionali.

Tabella 1.8: Composizione, inventore e fasi cristalline delle biovetroceramiche commerciali.

Bioactive glass-ceramic	Inventors	Glass composition (wt%)										Crystalline phases	Ref.
		SiO ₂	P ₂ O ₅	CaO	MgO	Na ₂ O	K ₂ O	Al ₂ O ₃	F	TiO ₂ /ZrO ₂ etc.			
Ceravital	Brömer <i>et al.</i>	40-50	10-15	30-35	2.5-5	5-10	0.5-3	—	—	—	—	Apatite (Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂)	9
Cerabone	Kokubo <i>et al.</i>	34.2	6.2	44.7	4.6	—	—	—	1	—	—	Apatite (Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂) and wollastonite (CaSiO ₃)	19
Biosilicate	Zanotto <i>et al.</i>	48.5	4	23.75	—	23.75	—	—	—	—	—	Na ₂ CaSi ₂ O ₆ and NaCaPO ₄	24
Bioverit I	Höland <i>et al.</i>	29-50	8-18	13-28	6-28	Na ₂ O/K ₂ O 5.5-9.5	—	0-19.5	2-7	Minor	—	Mica (KMg ₃ AlSi ₃ O ₁₀ F ₂), and fluorapatite (Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (F) ₂)	3
Bioverit II	Höland <i>et al.</i>	43-50	0.1-5	0.1-3	11-15	Na ₂ O/K ₂ O 7-10.5	—	26-30	3.3-4.8	—	—	Mica ((K,Na)Mg ₃ AlSi ₃ O ₁₀ F ₂)	3
Bioverit III	Höland <i>et al.</i>	—	45-55	13-19	—	11-18	—	6-18	—	1.5-10	—	Apatite, AlPO ₄ , and complex phosphates like Na ₅ Ca ₂ Al(PO ₄) ₄ and Na ₂₇ Ca ₃ Al ₅ (P ₂ O ₇) ₁₂	3

Il vetro infatti è caratterizzato da elevata durezza, buona stabilità termica ed ottima resistenza agli attacchi chimici, però presenta fragilità e sensibilità alle cricche che ne inficiano così le caratteristiche positive. Con le vetroceramiche si cerca quindi di eliminare o comunque limitare i problemi dovuti alla scarsa tenacità, pur mantenendo le proprietà positive del materiale di partenza. I materiali vetroceramici inoltre, rispetto ai vetri e ai ceramici tradizionali, presentano condizioni di lavoro a temperature più elevate poiché non risentono del rammollimento tipico dei sistemi amorfi, e vedono migliorate le proprietà meccaniche con un incremento del modulo di Young, della durezza e della resistenza all'usura, grazie

alla porosità residua limitata che permette un incremento della resistenza. Il principale inconveniente è invece costituito dalla riduzione di solubilità e di bioattività, indotte dalla fase cristallina: in particolare, rispetto al biovetro, si riscontra un rallentamento della ricrescita dei tessuti biologici ed un legame più debole con il tessuto osseo, dovuto all'inibizione parziale dello scambio ionico tra il componente ceramico e i fluidi corporei. Inoltre la tenacità dei vetroceramici, seppur maggiore rispetto a quella dei vetri, risulta comunque non molto elevata. A causa di queste limitazioni sono poche le composizioni vetroceramiche che possono essere utilizzate in ambito clinico.

Tabella 1.9: Proprietà meccaniche e indice di bioattività delle biovetroceramiche commerciali e dell'osso corticale.

Bioactive glass-ceramics	Compressive strength (MPa)	Bending strength (MPa)	Fracture toughness (MPa m ^{1/2})	Young's modulus (GPa)	Vickers hardness (HV GPa)	Bioactivity index (I_B)
Ceravital	500	100–150	—	150	—	5.6
Cerabone	1080	215	2.0	118	680 (HV)	6
Biosilicate	—	210	1.0	60–80	—	>8
Bioverit I	500	140–180	1.2–2.1	70–88	5 (GPa)	<8
Bioverit II	450	90–140	1.2–1.8	70	8 (GPa)	—
Bioverit III	—	60–90	0.6	45	—	—
Cortical bone	100–200	50–150	2–12	5–20	—	—

Come per i biovetri, vengono definite bioattive le vetroceramiche che inducono una risposta da parte dell'organismo, stimolando la proliferazione cellulare e permettendo la formazione di un legame con i tessuti biologici naturali. Una caratteristica riscontrata anche nelle biovetroceramiche è la capacità della loro superficie di sviluppare uno strato di idrossiapatite carbonata (HCA) che si comporta attivamente e crea un legame con il tessuto osseo naturale. Le più famose biovetroceramiche commercialmente disponibili sono:

- Ceravital® (1973), costituita da una fase cristallina di apatite (CaO-P₂O₅) in una matrice vetrosa di Na₂O-K₂O-MgO-CaO-SiO₂-P₂O₅;
- Cerabone® (1980s), in cui apatite e wollastonite cristallizzano in una matrice vetrosa di MgO-CaO-SiO₂-P₂O₅;
- Bioverit® (1985), in cui apatite e mica sono disperse in una matrice vetrosa di Na₂O-MgO-CaO-Al₂O₃-SiO₂-P₂O₅-F;

Inoltre è opportuno citare il Biosilicate®, particolare composizione del Bioglass® ingegnerizzata per dare luogo a una o due fasi cristalline silicatiche o fosfatiche calcio-sodiche.

1.3.6 Biosilicate®

Negli anni '90 una grande sfida è stata lo sviluppo di un materiale che combinasse una elevata biattività, come mostrato per il Bioglass® 45S5, e delle buone caratteristiche meccaniche come resistenza a rottura e tenacità, come riscontrato per le vetroceramiche vetroceramiche A/W, come il Cerabone®. A tale scopo, si è pensato di migliorare la resistenza meccanica dei biovetri attraverso un processo di cristallizzazione controllata. Innanzitutto era opportuno valutare se effettivamente la fase cristallina prevista nel nuovo materiale influenzasse negativamente la bioattività dei biovetri o conducesse a proprietà meccaniche significativamente migliori.

Nel 1996 Peitl et al. pubblicarono un report che evidenziava come la cristallizzazione controllata del Bioglass® 45S5 affliggeva leggermente la cinetica del processo di formazione dell'HCA, ma solo nel caso di completa cristallizzazione questa era inibita. Successivi studi confermarono questo comportamento, concludendo che effettivamente la cristallizzazione controllata di un sistema $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$ non ostacola la formazione di HCA. Inoltre la resistenza a flessione (210 MPa) risulta incrementata di un fattore 2.8 rispetto al Bioglass® 45S5 e comparabile a quello delle vetroceramiche apatite/wollastonite, le più prestanti in commercio. Il modulo elastico aumenta leggermente fino ad 80 GPa, restando comunque il più simile a quello del tessuto osseo corticale (20 GPa); questo è significativo per ridurre il fenomeno dello *stress-shielding*.

Ulteriori ricerche hanno portato alla formulazione di un nuovo tipo di vetroceramica completamente cristallina, chiamata Biosilicate®: Questa è la designazione per la particolare composizione $23.75\text{Na}_2\text{O}-23.75\text{CaO}-48.5\text{SiO}_2-24\text{P}_2\text{O}_5$ (wt %). Attraverso un trattamento termico bistadio, la microstruttura del materiale può essere ingegnerizzata per essere costituita da una o due fasi cristalline: una sodio-calcio-silicatica ($\text{Na}_2\text{CaSi}_2\text{O}_6$) e una sodio-calcio-fosfatica (NaCaPO_4).

Per quanto concerne la bioattività, Biosilicate® possiede il più alto valore dell'indice IB, essendo questo >8 , tra le biovetroceramiche disponibili. Infine, è facilmente lavorabile e ciò permette la fabbricazione di impianti complessi dal punto di vista geometrico [24].

Capitolo 2

Bioceramici cellulari

I ceramici cellulari sono una classe di materiali ad elevata porosità (maggiore del 60%) che comprende un gran numero di architetture come schiume, *honeycomb*, tralicci, fibre o sfere interconnessi, che originano strutture a celle aperte o chiuse. La struttura dei ceramici porosi consiste di celle poliedriche arrangiate tridimensionalmente per riempire efficientemente lo spazio orientate in modo casuale (schiume) o parallelamente (*honeycomb*). Le proprietà macroscopiche di una schiuma dipendono fortemente dalla sua densità e dalle caratteristiche morfologiche della struttura cellulare: dalla dimensione media delle celle, dalla loro distribuzione dimensionale, dallo spessore delle pareti e dall'eventuale grado di interconnessione tra le celle. Attraverso una opportuna combinazione tra il materiale che costituisce il bulk e l'architettura cellulare è possibile ingegnerizzare sia le proprietà strutturali come rigidità, resistenza e capacità di assorbire elevate energie da impatto, che quelle funzionali come l'isolamento termico e l'assorbimento acustico. L'accoppiamento di una fase solida ad una fase gassosa dà origine a strutture con elevate prestazioni specifiche in termini di rapporto tra proprietà e peso. A causa della loro particolare morfologia infatti, questa classe di materiali presenta caratteristiche molto interessanti dal punto di vista ingegneristico: bassissima densità, conducibilità termica e costante dielettrica, elevata resistenza specifica, agli shock termici e all'usura; inoltre possiedono una notevole area superficiale specifica, permeabilità e resistenza in ambiente corrosivo. Recentemente la ricerca si sta orientando sullo sviluppo di questa tipologia di materiali in quando risultano adatti ad applicazioni ingegneristiche avanzate, che includono filtraggio di particelle in liquidi e gas, bruciatori porosi, componenti leggeri resistenti a carichi non troppo elevati, dispositivi biomedicali, etc [25].

I biomateriali devono essere progettati in modo tale da assicurare le caratteristiche strutturali necessarie per le loro varie applicazioni, senza comportare alcun effetto negativo sui tessuti biologici con cui entrano in contatto. Le proprietà principali dei biovetri e delle biovetroceramiche sono la loro capacità di promuovere la vascolarizzazione, l'adesione delle cellule del tessuto osseo, l'attività enzimatica e la differenziazione delle cellule staminali mesenchimali. Inoltre possono fungere da materiale di rivestimento o *filler* per strutture polimeriche, abilitandole ad applicazioni di ingegneria tissutale ossea. Vengono riportate in Figura 2.1 le caratteristiche fondamentali che devono essere considerate nella progettazione di ceramici bioattivi.

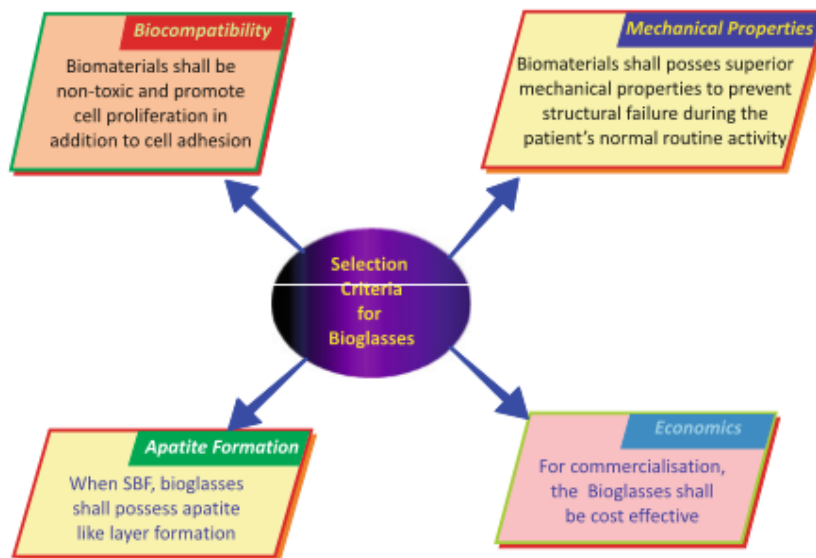


Figura 2.1: caratteristiche fondamentali che devono essere considerate nella progettazione di ceramiche bioattive.

Uno *scaffold* progettato per la ricrescita ossea deve necessariamente possedere una struttura porosa gerarchica ed interconnessa fino a valori superiori al 90%, che richiami quella del tessuto osseo spugnoso naturale, per favorire la rivascularizzazione dell'area e la ricrescita cellulare. La microporosità (2–10, <50 micron) è essenziale per l'adesione immediata delle catene proteiche e successivamente delle cellule, oltre che per la loro migrazione e per l'osteointegrazione. Una dimensione maggiore dei pori (>300 micron) è richiesta per la ricrescita del tessuto osseo e la sua vascolarizzazione capillare. Proprio a causa della vascolarizzazione, è stato riscontrato che la dimensione dei pori influenza significativamente il progredire dell'osteogenesi: porosità di piccolo diametro favoriscono condizioni ipossiche e inducono la formazione osteocondrale prima dell'osteogenesi, mentre quelle di diametro maggiore, che sono ben vascolarizzate, portano ad una osteogenesi diretta senza lo sviluppo iniziale di cartilagine.

Tuttavia una elevata porosità conduce a proprietà meccaniche inferiori rispetto al materiale *bulk*; nella progettazione del biomateriale si dovrà tenere in considerazione la necessità di una struttura porosa che assolva alle funzioni biologiche sopracitate, ma che possieda anche una rigidità e resistenza appropriate per sostenere gli sforzi agenti sul componente in esercizio e fornire l'impalcatura per il tessuto neo-formato [24].

2.1 Tecnologie per la fabbricazione di ceramiche cellulari

Come precedentemente esposto, le proprietà dei materiali porosi dipendono fortemente dalla tipologia (aperta o chiusa) e morfologia della fase cellulare che le compone. Per questo è necessario utilizzare la tecnologia di produzione più adatta per ottenere le caratteristiche strutturali consone all'impiego cui è destinato il materiale.

Per la produzione di una schiuma in materiale ceramico possono essere seguiti tre approcci: replica di un substrato poroso polimerico, *direct-foaming* di una miscela di polveri ceramiche in soluzione (*slurry*), *burn-out* di sostanze porogene.

La maggior parte delle schiume ceramiche viene prodotta industrialmente usando il metodo della *replica*, con cui si ottengono i cosiddetti “ceramici reticolati”, ovvero materiali cellulari a porosità aperta caratterizzati da vuoti interconnessi circondati da pareti di materiale ceramico (*struts*). Questa tecnica consiste nell’impregnazione di una spugna polimerica flessibile con una *slurry* di polveri ceramiche, la rimozione di quella in eccesso per centrifugazione o strizzatura della spugna, seguite dall’essiccazione, da una fase di *burn-out* (200-300°C) per eliminare il substrato polimerico e dalla sinterizzazione ad elevata temperatura (1300°C). La spugna polimerica è comunemente fatta di poliuretano, ma altri polimeri come polivinilcloruro, polistirene, cellulosa e latex sono stati testati con successo. La *slurry* ceramica, che può essere composta da una grande varietà di ossidi e non-ossidi, spesso contiene additivi che agiscono come leganti, agenti reologici o modificatori composizionali, che facilitano il processo di ricoprimento del substrato polimerico. Le principali criticità di questo metodo consistono nella realizzazione di un rivestimento di materiale allo stato di “verde”, ovvero prima della cottura, completamente aderente alla spugna polimerica e alla completa eliminazione dell’eccesso di materiale dalla struttura, per evitare la formazione di celle chiuse nella schiuma ceramica dopo cottura, che ne altererebbero le proprietà meccaniche e la permeabilità. Le schiume prodotte con questo metodo risultano avere una struttura trabecolare con *struts* cavi, perché durante la sinterizzazione il polimero viene bruciato o si decompone completamente. La presenza di pareti cave in genere non riduce le proprietà della struttura, tuttavia durante la fase di riscaldamento lo sviluppo di gas può comportare l’insorgenza di tensioni sulle pareti della schiuma che possono portare a delle microfessurazioni. Per questo si registra una resistenza a compressione tipica nell’intervallo 0.5-2.0 MPa per densità relative minori di 0.3. La dimensione delle celle, a causa della non eccellente impregnazione ed eliminazione del substrato polimerico, varia tra i 150 micron e i millimetri ed è direttamente collegata a quella della preforma polimerica. È possibile ottenere strutture trabecolari piene applicando delle varianti al processo descritto in precedenza, aumentando le proprietà meccaniche della struttura: pirolizzando il substrato polimerico invece di eliminarlo e conducendo una deposizione con tecniche di *chemical vapour deposition* della fase ceramica, o tramite immersione della schiuma ceramica in una sospensione colloidale di ossidi refrattari come il silicio, e loro risalita capillare attraverso gli *struts* della schiuma.

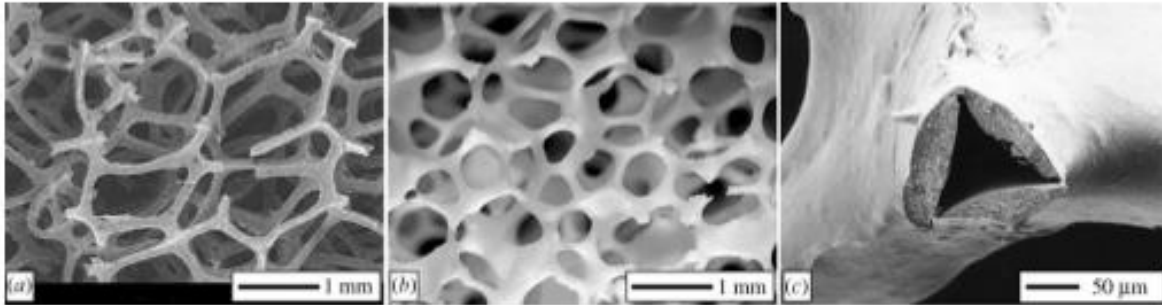


Figura 2.2: a) micrografia al SEM di un substrato in PU; b) micrografia al microscopio ottico di una schiuma ceramica reticolata di Al_2O_3 ; c) micrografia al SEM di uno struts cavo in una schiuma ceramica reticolata di SiC.

Il *direct foaming* consiste nella generazione di bolle all'interno di una *slurry* liquida contenente polveri ceramiche o un precursore ceramico, per ottenere una schiuma che deve essere controllata per mantenere la morfologia porosa sia durante la fase di essiccazione che nella successiva sinterizzazione ad elevata temperatura. L'agente schiumante può essere un liquido volatile, un solido o un gas sviluppato *in situ* attraverso decomposizione chimica o aggiunto alla soluzione liquida per agitazione meccanica o iniezione dall'esterno. La nucleazione delle bolle è influenzata dalla presenza delle particelle in sospensione ed hanno inizialmente forma sferica, poi ne assumono una poliedrica. La morfologia della schiuma dipende dai processi che controllano lo sviluppo e la stabilità delle bolle nella fase liquida: si verifica infatti un drenaggio del liquido attraverso i bordi delle celle fino a che non viene raggiunto uno stato di equilibrio. Ciò comporta l'ingrandimento delle celle dovuto alla diffusione della fase gassosa attraverso di esse, che comporta la crescita di alcune e la scomparsa di altre (ciò porta ad un aumento della dispersione dimensionale delle celle e della loro dimensione media); infine può avvenire la rottura del film liquido (pareti cellulari) se questo diviene troppo sottile e debole. La schiuma in fase liquida può eventualmente collassare e svanire perché il drenaggio e l'ingrossamento portano alla rottura del film liquido. Per evitare ciò e mantenere la morfologia cellulare, vengono aggiunti particolari additivi alla sospensione per rafforzare la struttura una volta che è stata stabilizzata. Si può ricorrere al *gel casting*, che implica la polimerizzazione di un monomero organico per stabilizzare schiume prodotte da sospensioni di particelle ceramiche, all'uso di coagulanti, enzimi, derivati di cellulosa, etc. che rafforzino la fase gelificata. Precursori preceramici che conducono ad una transizione *sol-gel* e polimeri preceramici in grado di legarsi durante lo schiumaggio, permettono la formazione di una schiuma stabile senza il controllo di ulteriori parametri, che può essere successivamente essiccata e sinterizzata ad alta temperatura per produrre una schiuma ceramica. Alcune delle tecniche di rafforzamento della schiuma sopracitati, presentano il vantaggio di migliorare la resistenza del "verde", rendendole più facilmente lavorabili e maneggiabili dopo l'essiccazione. La scelta di un surfattante adatto, che agisce sulla tensione superficiale e sulla stabilità dell'interfaccia gas-liquido, apporta un ulteriore grado di controllo della struttura cellulare.

Diversamente dalle schiume ottenute col metodo della replica, il *direct foaming* consente di ottenere schiume con celle aperte o chiuse, con una maggiore dispersione dimensionale; tuttavia ci sono delle limitazioni per l'ottenimento di celle di grandi dimensioni dovute alla stabilità della schiuma in fase liquida. Inoltre si possono raggiungere intervalli di densità relative più ampi, con una diminuzione della dimensione media delle celle ed una maggiore densità. I materiali così prodotti possiedono pareti cellulari con porosità interconnessa, mostrando una differente permeabilità rispetto alle schiume reticolate e permettendo un maggiore controllo del trasporto di fluidi all'interno della struttura. Molto importante è anche il fatto che gli *struts* ceramici risultano densi e possiedono un limitato numero di difetti e tensioni migliorandone la resistenza meccanica (la resistenza a compressione può raggiungere i 30 MPa per densità relative di 0.3). In Figura 2.3 sono riportate le immagini di una schiuma ceramica ottenuta per *direct foaming*, usando la tecnica del *gel casting* per controllarne la struttura.

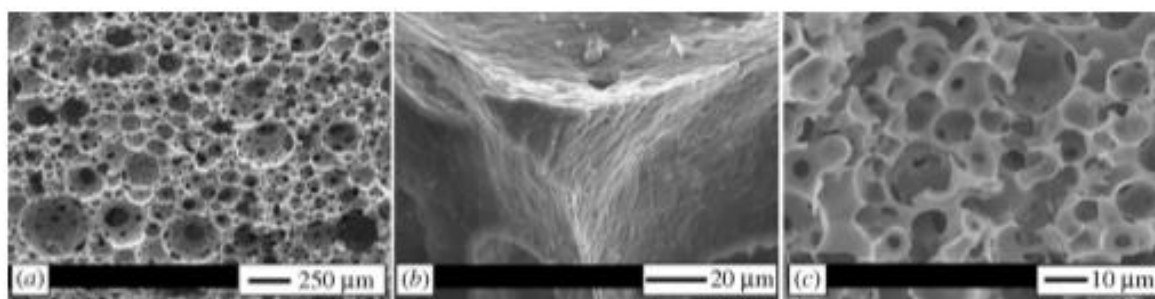


Figura 2.3: micrografia al SEM di: a) schiuma ceramica di idrossiapatite ottenuta per *direct foaming* (*gel casting*); b) dettaglio degli *struts* densi del ceramico (P. Sepulveda & J. Bressiani, IPEN, Brasile); c) schiuma microcellulare di SiOC ottenuta per *burn-out* di un polimero di diametro 25 micrometri.

Con questo processo si possono realizzare facilmente prodotti con porosità gerarchica orientata preferenzialmente in determinate direzioni e consente una buona versatilità, in quanto è possibile produrre qualsiasi forma semplicemente colando la soluzione all'interno di uno stampo, senza ulteriori processi. Appare più difficoltosa però la sintesi di materiali con dispersione dimensionale delle celle ristretta ed un completo controllo della morfologia aperta o chiusa delle stesse.

Le schiume di vetro vengono generalmente prodotte attraverso la miscelazione di *agenti schiumogeni* solidi come idrossidi, carbonati, solfati, carburi o polveri di carbonio con la miscela vetrosa in polvere. Durante il riscaldamento progressivo della miscela, la polvere di vetro assume le caratteristiche di un liquido viscoso e la decomposizione o l'ossidazione degli agenti schiumanti porta alla formazione di bolle, le quali restano intrappolate all'interno del fuso. Il vetro viene dunque raffreddato prima che la schiuma possa collassare: per l'elevata viscosità del flusso viscoso vetroso le schiume ottenute con questo metodo sono generalmente a celle chiuse. Il metodo si basa sull'eliminazione tramite calore o decomposizione di agenti porogeni. Si ottengono schiume a celle aperte se il materiale solido che occupa gli spazi all'interno del volume del componente è eliminato durante la fase di

riscaldamento ad elevate temperature. Amido, cera, sfere polimeriche e *carbon black* sono stati tutti adoperati a questo scopo con diversi gradi di successo. Inoltre, un approccio di miscelazione bifasico può essere adottato per ottenere una struttura con porosità interconnessa. La dimensione e la forma della porosità è ovviamente dipendente dalle caratteristiche dell'additivo sacrificale adoperato ed è possibile formare strutture a porosità gerarchica utilizzando semplicemente additivi di dimensioni differenti. Per ottenere un ceramico cellulare completamente poroso è necessaria una grande massa di agente porogeno nella miscela vetrosa di partenza; ciò implica la formazione di elevate quantità di gas durante la sinterizzazione, che dovrà dunque essere mantenuta sotto controllo per evitare l'insorgenza di tensioni e difetti nel componente finito. Questo potrà avere morfologia cellulare aperta o chiusa, dipendente dalla natura chimico-fisica e dal volume degli agenti porogeni miscelati.

Come già esposto, il metodo della replica è comunemente utilizzato nei processi industriali, mentre gli altri si trovano ancora in una fase di sviluppo sperimentale, seppure offrano grandi potenzialità per migliorare le proprietà dei componenti finali [26].

2.2 Polimerizzazione inorganica

2.2.1 Attivazione alcalina

I polimeri sono materiali costituiti da macromolecole ad alto peso molecolare, formate da una serie ripetitiva di unita strutturali dette monomeri, che possono essere uguali o diverse tra di loro. I polimeri organici si basano su uno scheletro di tipo carbonioso, mentre i polimeri inorganici sono composti costruiti principalmente sul silicio.

L'*attivazione alcalina* sta gradualmente diffondendosi nell'ambito dei materiali ceramici. I materiali solitamente attivati alcalinamente, noti come *geopolimeri*, vengono prodotti attraverso la reazione di una soluzione di polveri allumino-silicatiche con un composto alcalino, che è tipicamente una soluzione acquosa concentrata di idrossidi alcalini, silicati, carbonati e solfati. La dissoluzione dei componenti allumino-silicatici determina il rilascio di monomeri inorganici (molecole con pochi ioni Si^{4+} e Al^{3+} legati insieme attraverso ossigeni pontanti, con gruppi terminali idrossilici) nella soluzione, che in seguito sono soggetti a reazioni di policondensazione che liberano molecole d'acqua e alla formazione di un gel a basse temperature ($<100^\circ\text{C}$). I materiali di partenza per le polveri allumino-silicatiche, come il metacaolino, sono noti per sviluppare una struttura gelificata di tipo "zeolitico", formata da un reticolo tridimensionale continuo di atomi di silicio e alluminio, che può essere amorfo o cristallino. La caratteristica del legame tra i tetraedri di $[\text{SiO}_4]$ e $[\text{AlO}_4]$ è che il reticolo è formato a causa della presenza di ioni alcalini nell'ambiente circostante, per la necessità di compensare le cariche elettriche. Questi ioni rimangono

sostanzialmente intrappolati nel reticolo allumino-silicatico per opportuni rapporti $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ nelle polveri di partenza, per l'ottenimento di prodotti chimicamente stabili.

È stato dimostrato che il gel si forma anche per rapporti $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2$ diversi da quello standard: per esempio l'attivazione alcalina può essere utilizzata su diversi materiali ricchi in silice e calcio ottenendo comunque un gel. Il prodotto finale non può essere definito geopolimero, poiché il rapporto molare silice/allumina non rientra nei parametri standard e non presenta la struttura della zeolite. La natura di questo gel è "tobermoritica", ampiamente comparabile con quella che risulta dall'idratazione del cemento Portland. Con il termine polimeri inorganici si identificano dunque svariati prodotti, indipendentemente dalla loro struttura [27].

I silicati idrati derivano dalla ben nota reazione pozzolanica tra silice ed allumina amorfe o poco cristallizzate, che prende il nome dalla pozzolana, già utilizzata come legante dagli antichi romani. La reazione può essere così schematizzata (P sta per pozzolana):



dove CSH e CAH sono rispettivamente i silicati di calcio e gli alluminati di calcio idrati, derivanti dalla nomenclatura per i cementi, come riportato qui di seguito:

- Ossido di calcio, $\text{CaO} = \text{C}$;
- Silice, $\text{SiO}_2 = \text{S}$;
- Allumina, $\text{Al}_2\text{O}_3 = \text{A}$;
- Acqua, $\text{H}_2\text{O} = \text{H}$.

Il gel "tobermoritico" non è caratterizzato da una struttura di tipo reticolare continua, ma da strutture a foglio, dello spessore di due o tre strati molecolari, con interposti strati monomolecolari di acqua, e presentano proprietà cementanti che formano legami internamente forti, ma deboli tra di loro. Questi fogli, nei processi di idratazione del cemento, si aggregano sotto forma di filamenti, permettendo così un incatenamento che attiva l'azione legante. L'alluminio nel gel deve essere contenuto in quantità moderate, circa uno ogni 6 – 10 siti delle catene, altrimenti il *cross-linking* tenderà a diminuire. In generale, la struttura del gel risulta maggiormente ordinata nel caso si abbia attivazione alcalina con idrossidi, rispetto ai silicati o carbonati [28]. Dopo la fase di completa polimerizzazione del gel "tobermoritico" il materiale non ha caratteristiche meccaniche elevate come succede per i gel "zeolitici", ma a seguito di un trattamento termico è possibile indurre delle trasformazioni microstrutturali.

I concetti di attivazione alcalina e polimerizzazione inorganica possono essere applicati anche ai materiali vetrosi, usati come materie prime. Infatti vetri con composizione chimica ingegnerizzata (allumino-silicati) possono essere usati come precursori per ottenere materiali simili ai geopolimeri, per essere usati come leganti nell'industria edilizia, poiché

si verifica la formazione di gel di sodio-allumino-silicati-idrati (N-A-S-H) e calcio-allumino-silicati-idrati (C-A-S-H). Con un opportuno bilanciamento composizionale tra i diversi ossidi possono essere massimizzate la resistenza meccanica e la stabilità chimica del gel.

I polimeri inorganici possono sostituire dunque la complessa miscela di composti organici, tipicamente utilizzata per la stabilizzazione della *slurry* nel processo tradizionale del *gel casting* (applicato anche a polveri di vetro per la sintesi di schiume vetroceramiche bioattive) [27].

2.2.2 Geopolimeri

Il termine *geopolimeri* è stato introdotto da Davidovits nel 1978 per definire una classe di materiali di natura minerale con una composizione chimica simile a quella delle zeoliti, ma con struttura variabile da amorfa a semicristallina: in generale, il materiale risulta essere amorfo a temperatura ambiente, ma cristallizza se trattato termicamente ad alte temperature. Il silicio (SiO_2) e l'allumina (Al_2O_3) presenti nella miscela di polveri iniziale reagiscono in un ambiente fortemente alcalino organizzandosi, attraverso reazioni di policondensazione, in un reticolo tridimensionale continuo, condividendo gli atomi di ossigeno e creando legami del tipo Si-O-Al-O , Si-O-Al-O-Si-O or $\text{Si-O-Al-O-Si-O-Si-O}$. Il silicio (Si^{4+}) infatti è posto al centro di un tetraedro formato da quattro atomi di ossigeno (O^{2-}) quindi, per bilanciare l'eccesso nella distribuzione di carica negativa sui quattro atomi di ossigeno, si creano dei legami con altri tetraedri.

I geopolimeri sono noti anche con il termine *polisialati* (*silicon-aluminate*) a causa delle loro lunghe catene molecolari costituite da silicio, ossigeno ed alluminio: si possono classificare in:

- poly(sialate): (Si-O-Al-O);
- poly(sialate-siloxo): (Si-O-Al-O-Si-O);
- poly(sialate-disiloxo): ($\text{Si-O-Al-O-Si-O-Si-O}$).

I polisialati hanno quindi la seguente formula empirica:

$$M_n(-(\text{SiO}_2)_z - \text{AlO}_2)_n, w_{\text{H}_2\text{O}} \quad (2.2)$$

dove M è uno dei cationi presenti nel composto, n è il grado di policondensazione, mentre z vale 1,2 o 3.

Questa classe di materiali ha trovato applicazione in svariati ambiti industriali, per merito in particolare del rapporto molare $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$, che comporta tra le proprietà una elevata resistenza meccanica e ai cicli termici, notevole inerzia chimica ed eccellente resistenza al fuoco e per questo motivo possono essere considerati dei sostituti per i tradizionali componenti a base cementizia, oltre che per quelli resistenti alle medio-alte temperature (minori di 1200°C). Inoltre questi materiali possono considerarsi sostenibili considerando la

quantità di energia necessaria per la loro produzione, in quanto raggiungono le loro proprietà finali in seguito a trattamenti a temperature solitamente inferiori ai 100°C attraverso reazioni di geopolimerizzazione [29].

2.3 Polimeri inorganici per materiali cellulari

In letteratura si ritrovano numerosi studi riguardo la produzione di componenti porosi geopolimerici. L'approccio classico segue la procedura utilizzata nell'industria del cemento, che consiste nell'aggiunta ad una *slurry* di polveri geopolimeriche di componenti in grado di sviluppare idrogeno gassoso in seguito alla loro ossidazione con silicio e alluminio metallici in ambiente fortemente alcalino; questo metodo porta tuttavia a delle schiume con bassa porosità, alta densità e conducibilità termica, dal momento che non vi è alcun controllo sulla formazione delle bolle. A queste problematiche si aggiunge il costo delle materie prime utilizzate come agenti schiumanti: la polvere di alluminio metallico è infatti un materiale costoso e difficilmente reperibile, oltre al fatto che necessita di un elevato controllo durante il maneggiamento e lo stoccaggio. Un'altra procedura che è stata proposta consiste nell'aggiunta di perossidi alla miscela liquida iniziale, che si decompongono in vapore acqueo a causa dell'elevato pH della soluzione. Questo metodo risulta particolarmente adatto per la sintesi di componenti altamente porosi, ma si ottiene una morfologia cellulare prevalentemente a celle chiuse, non interconnesse e ciò ne limita la permeabilità ai liquidi e ai gas.

Geopolimeri con alta percentuale di porosità possono essere ottenuti durante i primi istanti di gelificazione mediante elevata agitazione meccanica e con l'aiuto di un tensioattivo, che permette il "congelamento" della struttura dopo la miscelazione. Questo processo, denominato "gel casting", può essere applicato anche per i gel di tipo "tobermoritico", derivati da composti vetrosi, in modo da ottenere dei materiali cellulari ad elevata porosità, a temperatura ambiente [29] [30] [31].

2.3.1 Proprietà reologiche della soluzione dopo attivazione alcalina

Per studiare il processo di gelificazione e la possibilità di schiumaggio a temperatura ambiente è necessario esaminare il comportamento reologico della soluzione dopo il processo di attivazione alcalina della polvere ceramica.

A tale riguardo viene riportato uno studio effettuato nel 2016 presso il dipartimento di Ingegneria Industriale dell'Università degli studi di Padova (Prof. Enrico Bernardo, PhD student Acacio Rincòn) [32].

In Figura 2.4 sono riportate le curve di flusso per un vetro soda lime ricavate dopo attivazione alcalina, a seguito di una miscelazione di 3 ore e per diversi tempi di mantenimento dei

campioni in stufa alla temperatura di 75°C, che favoriscono la fase di gelificazione (o pre-polimerizzazione, *curing*).

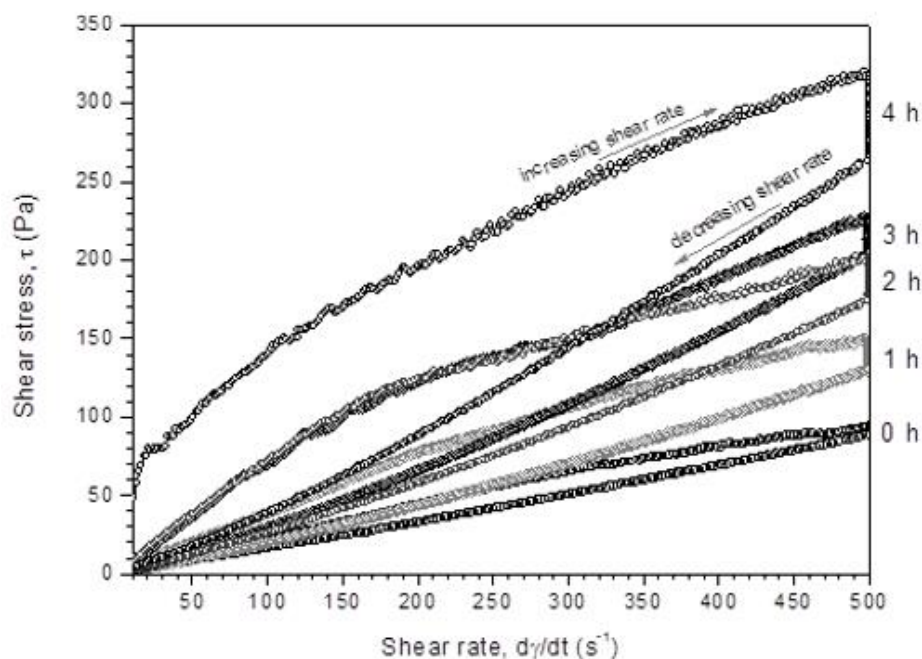


Figura 2.4: Curve di flusso per una sospensione di vetro soda lime (65 wt % di fase solida) dopo diverse ore di gelificazione.

Le curve di flusso sono state analizzate con diversi modelli matematici, ma quello che offriva migliore aderenza con i dati sperimentali risulta quello di Herschel-Bulkley, secondo cui:

$$\tau = \tau_0 + K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (2.3)$$

dove τ è lo sforzo di taglio ottenuto come somma di τ_0 , tensione di snervamento a taglio, e $\dot{\gamma}$, un fattore che dipende dalla velocità di deformazione. I parametri K ed n sono costanti che prendono il nome rispettivamente di fattore di consistenza e indice del comportamento di flusso [33]. Il valore di n è 1 per i fluidi newtoniani, mentre è minore di 1 per i fluidi non newtoniani pseudoplastici.

La sospensione che non ha subito il trattamento di pre-polimerizzazione (curva 0h), ma solamente l'agitazione per 3 ore, presenta un ciclo tixotropico limitato ed una bassa viscosità, che possono essere interpretate come un segnale della buona dispersione delle particelle. Con il progredire della gelificazione il ciclo tixotropico diviene gradualmente più marcato e la viscosità tende ad aumentare; l'interazione tra i componenti della sospensione causa una resistenza di tipo viscoso, con conseguente diminuzione del flusso.

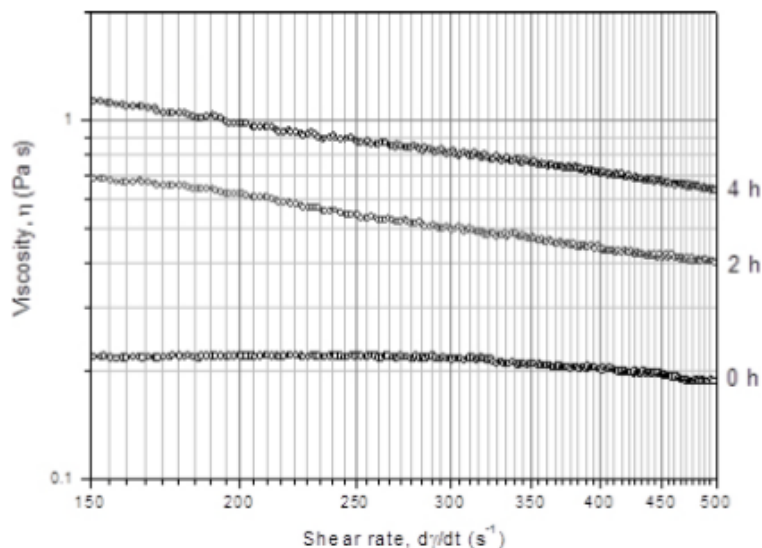


Figura 2.5: Misura di viscosità per determinati tempi di pre-polimerizzazione.

Non è possibile procedere allo schiumaggio della soluzione che ha subito un trattamento di gelificazione solamente per 1 ora, dato che la struttura schiumosa collassa su se stessa in un breve arco di tempo dopo l'interruzione dell'agitazione meccanica, a causa della coalescenza delle bolle. È necessario dunque un tempo di pre-polimerizzazione minimo di 2 ore, poiché il passaggio da alte velocità di deformazione per l'agitazione meccanica, a basse velocità di deformazione per la sua interruzione, comporta un aumento di viscosità tale da prevenire la coalescenza delle bolle, mantenendo la struttura schiumosa. La schiuma evidenzia un comportamento pseudoplastico, riportato in Figura 2.4. Questo comportamento può essere descritto se viene considerata la viscosità (η) come rapporto tra sforzo di taglio e velocità di deformazione, secondo l'equazione:

$$\eta = \tau / \dot{\gamma} = K \cdot \dot{\gamma}^{n-1} \quad (2.4)$$

che può essere riscritta in forma logaritmica:

$$\text{Log}(\eta) = \text{Log}K + (n - 1) \cdot \text{Log} \dot{\gamma} \quad (2.5)$$

Nella Figura 2.5 è mostrato il comportamento lineare tra viscosità e velocità di deformazione e si può notare come vi siano sostanziali differenze tra i vari gel. Senza la fase di pre-polimerizzazione il comportamento è praticamente newtoniano ($n \approx 1$), mentre con un adeguato tempo di gelificazione il comportamento risulta essere marcatamente pseudoplastico ($n \approx 0.4$ dopo 2h, $n \approx 1$ dopo 4h). Dopo un prolungato tempo di *curing* la miscela mostra un comportamento tipico di un fluido pseudoplastico di Bingham (Figura 2.4): infatti l'interazione tra le particelle all'interno del gel formatosi è tale da dover superare una tensione di snervamento prima che il fluido inizi a scorrere per flusso viscoso.

Le differenze nel comportamento reologico della soluzione in base al tempo di *curing* prima dello schiumaggio possono essere viste come un parametro fondamentale per la microstruttura che assumerà il campione allo stadio di "verde".

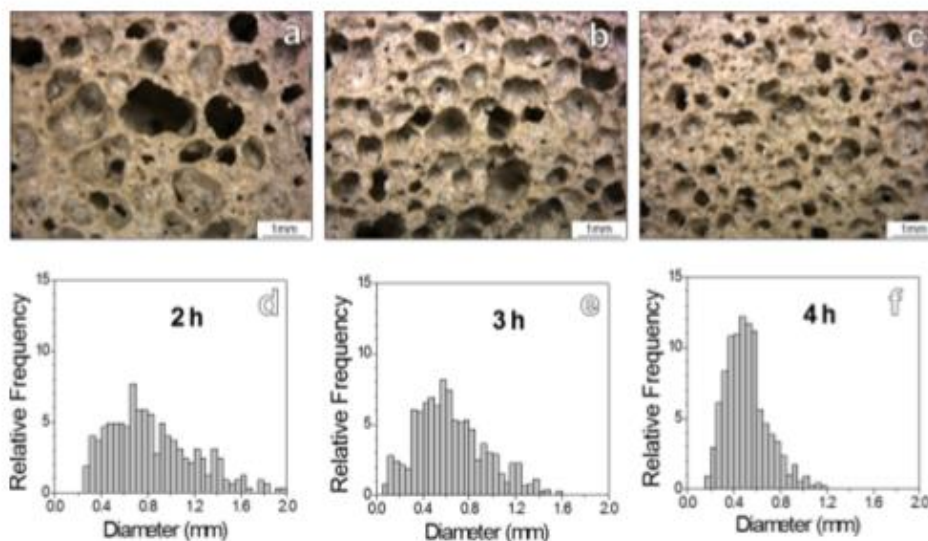


Figura 2.6: Dettaglio della microstruttura e distribuzione media dei pori per un gel schiumato indurito.

La Figura 2.6 mostra come dopo 2h di pre-polimerizzazione sia presente una microstruttura piuttosto grossolana, con pori interconnessi di grandi dimensioni, circondati dai più piccoli (Figura 2.6 a). All'aumentare del comportamento pseudoplastico, dovuto a maggior tempo di gelificazione, si riduce anche la coalescenza delle bolle (Figura 2.6 b), ed in particolare per 4h di pre-polimerizzazione è stato riscontrato un miglioramento nell'uniformità della schiuma (Figura 2.6 c) [32].

2.3.2 Gel casting inorganico

Una tecnologia che consente di ottenere *scaffolds* altamente porosi (>90%), con porosità interconnessa e *struts* generalmente densi è il *gel casting*. Si riescono a sintetizzare componenti con struttura macro e microporosa: come già esposto ad inizio di questo capitolo, la macroporosità è fondamentale per la vascolarizzazione dell'impianto e la ricrescita cellulare, mentre la microporosità favorisce l'attecchimento delle cellule al componente. A partire dagli anni duemila il *gel casting* è stato largamente applicato a formulazioni di tipo *sol-gel*: bolle d'aria possono essere incorporate per agitazione meccanica (*direct foaming*) di una soluzione di monomeri organici idrofilici durante i primi stadi del processo di gelificazione (sol), con l'intervento di un surfattante opportuno, e mantenute dal progressivo indurimento del reticolo (gel) [27]. La reazione di polimerizzazione che avviene tra i monomeri in soluzione comporta la rapida stabilizzazione della schiuma umida; le particelle ceramiche sono infatti un sistema termodinamicamente instabile, in cui il drenaggio della fase liquida e l'accrescimento incontrollato delle bolle portano ad un aumento nella dimensione delle celle ed infine al collasso della schiuma per la rottura del film di liquido. La diffusione dei gas avviene tra bolle di differente diametro e dunque di differente concentrazione gassosa, a causa della differenza di pressione di Laplace tra di esse (*Ostwald ripening*), con conseguente degradazione della struttura schiumosa

governata dalla riduzione dell'energia libera di Gibbs del sistema. Per evitare ciò, possono essere usati dei surfattanti che agiscono come agenti tensioattivi che aumentano la stabilità della schiuma umida, poiché stabilizzano l'interfaccia liquido-gas diminuendo la tensione superficiale del sistema.

Queste molecole sono lunghe catene anfifiliche assorbite sulla superficie delle bolle grazie alla loro estremità idrofilica a contatto con la fase acquosa. L'abilità schiumante di un surfattante è legata alla sua effettiva capacità di diminuire l'energia interfacciale o la tensione superficiale all'interfaccia liquido-gas. I tensioattivi vengono classificati in base alla natura del loro gruppo idrofilico in anionici, cationici, non-ionici e anfoteri. Nel caso di una *slurry* contenente precursori geopolimerici, i surfattanti non-ionici hanno un effetto più pronunciato dato che possiedono gruppi idrofilici elettricamente neutri. Il tipo di surfattante può influenzare la dimensione e la distribuzione dimensionale delle celle, oltre al grado di interconnessione tra celle adiacenti (rapporto tra celle aperte e chiuse). La schiuma in fase liquida può gelificare rapidamente semplicemente lasciando avvenire la reazione di geopolimerizzazione, senza ulteriore bisogno di monomeri o altri additivi stabilizzanti o gelificanti [29].

La densità finale della schiuma può essere facilmente controllata variando il rapporto tra fase solida e liquida in soluzione: un aumento delle polveri ceramiche comporterà un aumento nella densità della struttura una volta sinterizzata. Inoltre un maggiore apporto di componente solida può far diminuire il ritiro volumetrico del "verde" nella fase di essiccazione e cottura, comportando una minore insorgenza di tensioni sul pezzo. Tuttavia un'eccessiva presenza di fase solida aumenta di molto la viscosità della soluzione; per ottenere una *slurry* ceramica fluida con elevate percentuali di solido è necessario aggiungere un opportuno disperdente.

Rispetto alle tradizionali tecniche di produzione di ceramici cellulari, il *gel casting* permette la sintesi di prodotti di geometria complessa senza eccessivi costi; inoltre lo stadio del "verde" risulta avere buona resistenza meccanica, facilitando la maneggiabilità e la lavorabilità, ed i prodotti ottenuti posseggono una migliore qualità a causa della presenza di pochi difetti nel processo di formatura [34].

Questa tecnica può essere applicata anche a sospensioni di polveri di vetro, soggette a gelificazione in seguito all'aggiunta di specifici agenti organici (monomeri, reticolanti, catalizzatori). Sospensioni gelificate altamente porose vengono convertite in *scaffolds* vetroso con la sinterizzazione in seguito a meccanismi di flusso viscoso, competitivo nei confronti della cristallizzazione durante la fase di cottura (900-1000°C), che causa anche la completa eliminazione della componente organica. La cristallizzazione, sebbene aumenti le proprietà meccaniche, impedisce uno scorrimento viscoso eccessivo, che potrebbe portare al collasso della struttura cellulare.

Capitolo 3

Estensione alle Meliliti bioattive

Le meliliti sono un gruppo di ceramici silicatici, di cui alcuni componenti risultano molto promettenti per le applicazioni biomediche. Vengono qui riassunte le principali caratteristiche strutturali, le proprietà meccaniche e di biocompatibilità dei membri di maggiore interesse per l'applicazione oggetto di questo lavoro di tesi.

3.1 La struttura cristallina delle meliliti

In natura il gruppo dei minerali melilitici è costituito prevalentemente da soluzioni solide tra l'åkermanite ($\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$) e la gehlenite ($\text{Ca}_2\text{Al}_2\text{SiO}_7$); tuttavia gran parte delle meliliti contiene una quantità apprezzabile di sodio e ferro, potendo generalizzare la formula della melilite allo stato naturale come $(\text{Ca},\text{Na})_2(\text{Al},\text{Mg},\text{Fe}^{2+})[(\text{Al},\text{Si})\text{SiO}_7]$. Scoperta nel 1793 nei pressi di Roma, questo minerale ha un colore bruno-verdastro-giallastro ed il nome deriva dalle parole greche *meli* "miele" e *lithos* "pietra".

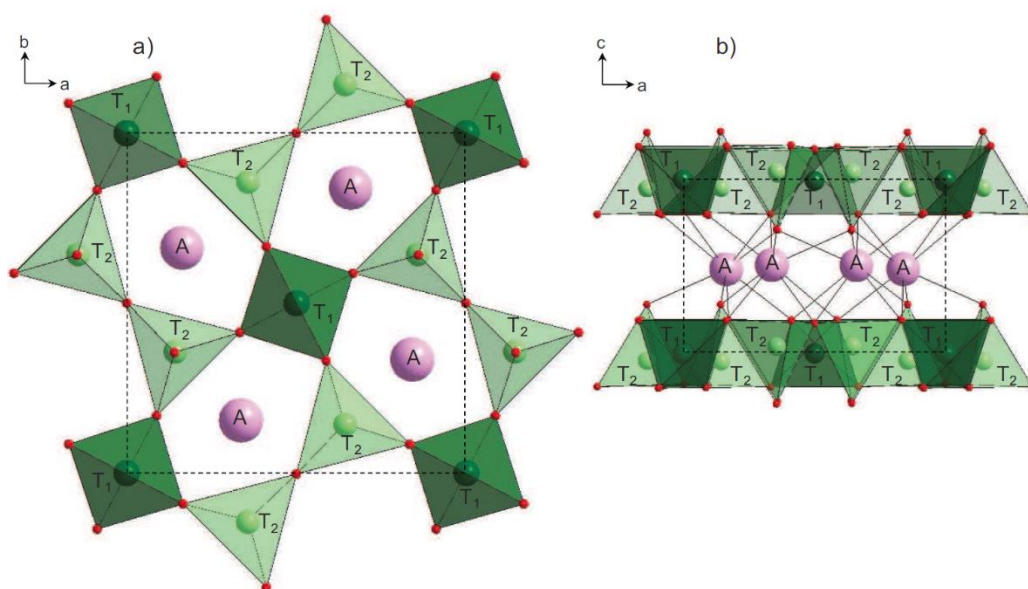
I minerali melilitici cristallizzano da magma alcalini ricchi in calcio, sono spesso trovati in rocce carbonatiche metamorfizzate termicamente e nelle scorie di altoforni. Questi minerali si trovano anche nelle condriti meteoritiche e sarebbero tra i primi silicati che hanno condensato nella nebulosa solare. Molti composti a struttura cristallina melilitica sono stati inoltre sintetizzati artificialmente.

Il gruppo appartiene alla sottoclasse dei silicati di nome *sorosilicati*: questi composti sono formati da due tetraedri $[\text{SiO}_4]$ interconnessi da un ossigeno pontante e questa coppia costituisce la struttura di base del gruppo anione $(\text{Si}_2\text{O}_7)^{6-}$. La formula generale delle meliliti è quindi $\text{A}_2[\text{T1}][\text{T2}]_2\text{O}_7$: i siti A a più alto numero di coordinazione sono occupati in genere da elementi terrosi o alcalino-terrosi ed i siti tetraedrici T1 e T2 sono occupati da cationi più piccoli. Nello specifico, T1 indica un catione di piccole o medie dimensioni, bivalente o trivalente e T2 è solitamente Si, Al o B. L'Al o il B possono sostituire un atomo di Si quando T1 è uno ione trivalente, ma la carica può anche essere bilanciata dalla sostituzione accoppiata Ca^{2+} con uno ione monovalente e T1^{3+} con T2^{2+} . Infine alcune strutture si formano sostituendo un ossigeno con un gruppo OH o F.

Tabella 3.1: Alcuni esempi di membri del gruppo delle meliliti [38].

Minéral	Formule	$A_2[T_1][T_2]_2O_7$		
		A	T ₁	T ₂
Gehlénite	$Ca_2Al_2SiO_7$	Ca	Al	Al, Si
Akermanite	$Ca_2MgSi_2O_7$	Ca	Mg	Si
Gugiaite	$Ca_2BeSi_2O_7$	Ca	Be	Si
Hardystonite	$Ca_2ZnSi_2O_7$	Ca	Zn	Si
Sodamelilite	$CaNaAlSi_2O_7$	Ca, Na	Al	Si

La struttura cristallina della melilitite è stata descritta per la prima volta nel 1930 da B. E. Warren. La struttura tetragonale, di tipo $P\bar{4}2_1m$, è formata lungo l'asse c di una successione di fogli composti da tetraedri $[(T_1)O_4]$ e $[(T_2)O_4]$. Questi fogli sono interconnessi dai cationi A in numero di coordinazione 8, formando un poliedro di Thomson irregolare. I tetraedri T₂ condividono uno dei loro atomi di ossigeno formando coppie $[T_2O_7]$ (il gruppo anione) collegate a quattro tetraedri T₁. Nel piano (001) la struttura dei fogli può anche essere descritta come un insieme di anelli composti da cinque tetraedri, formanti così dei canali dove si collocano i cationi A (Figura 3.1). A causa di questo arrangiamento atomico, le meliliti possono mostrare un clivaggio nelle direzioni cristallografiche $\{001\}$ e, perpendicolarmente a queste, un clivaggio più debole nelle direzioni $\{110\}$.

**Figura 3.1:** Proiezioni della struttura cristallina delle meliliti nei piani a) (001) e b) (010) [38].

M. Kimata [39] si è interessato all'evoluzione cristallografica di questi minerali nella loro forma più diffusa, cioè la soluzione solida gehlénite($Ca_2Al_2SiO_7$)-åkermanite($Ca_2MgSi_2O_7$). Nella struttura di un composto vi sono tre tipi di controllo cristallografico: l'elettrovalenza,

il raggio ionico e il legame chimico. Alla luce di questi vincoli, la sostituzione cationica di una fase può portare ad ottenere un composto isostrutturale o una struttura completamente diversa, in determinate condizioni di pressione e temperatura. Questo principio sarebbe dunque la causa della coesistenza di melilite, olivina e magnetite con struttura a spinello in rocce magmatiche o altresì l'associazione di åkermanite, monticellite e grossularia nei calcari metamorfici. I parametri proposti da Kimata si accorpano alle regole empiriche introdotto da V. M. Goldschmidt [40] per specificare le sostituzioni ioniche che possono verificarsi in una struttura cristallina. Tali norme prevedono che è difficile sostituire due ioni con elettronegatività e carica molto diverse o con raggi ionici che differiscono di oltre il 30 %.

Da quanto esposto, e vista la capacità di questa struttura cristallina di essere relativamente facile da modificare per formare diversi composti sintetici isostrutturali, non stupisce che ad oggi la struttura melilitica sia ampiamente studiata e siano stati pubblicati diversi *refinements* su questi silicati: $\text{Sr}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$; $\text{Sr}_2\text{Al}_2\text{SiO}_7$; $\text{Sr}_2\text{MnSi}_2\text{O}_7$; $\text{Ba}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$; $\text{Ca}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$; etc.

Molte possibili applicazioni dei minerali melilitici sono state proposte e analizzate: la capacità di incorporare per sostituzione un certo numero di elementi tossici (Zn, Pb, Sr, etc.) può portare al loro futuro uso su filtri di inceneritori; allo stesso modo l'incorporazione di diversi ioni e la stabilità chimica di questi ceramici anche ad elevate temperature li pone come candidati per la produzioni di speciali pigmenti; inoltre la loro struttura cristallina a strati, favorevole alla incorporazione di ioni lantanidi, rende questi materiali possibili scelte per molte applicazioni nel campo dell'ottica. Infine, sempre più membri di questo gruppo di silicati sono studiati per applicazioni biomedicali, quali åkermanite ($\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$), hardystonite ($\text{Ca}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$) e okayamalite ($\text{Ca}_2\text{SiB}_2\text{O}_7$), poiché è possibile aggiustare le proprietà fisico-chimiche come resistenza meccanica, bioattività e degradazione controllata modificando la struttura cristallina melilitica ed i suoi cationi, nell'ottica di ottenere biomateriali silicatici più efficaci per applicazioni cliniche.

3.2 Åkermanite ($\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$)

L'åkermanite ($\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$) è una melilite contenente calcio nel sito A, magnesio nel sito T1, silicio nel sito T2 e ovviamente ossigeno. È stata descritta per la prima volta come campioni risultato di scorie degli altoforni per la produzione del ferro trovati in Svezia (Vogt 1884); il nome deriva dal geologo norvegese Prof. Johan Herman Lie Vogt (1858÷1932) in onore di Richard Anders Åkerman (1837÷1922), metallurgista svedese.

La struttura cristallina dell'åkermanite è bidimensionale e stabile su un vasto *range* di temperature ($T_m = 1454$ °C, Figura 3.2), con parametri di cella $a = 7.835$ Å e $c = 5.01$ Å. L'åkermanite ha una densità di 2.944 g/cm³, un coefficiente di espansione termica volumetrica pari a 32.1×10^{-6} K⁻¹ tra 298÷1400 K [41] [42] e si colloca tra 5 e 6 della scala di

Mohs per la durezza; si trova in colorazione grigia, verde, marrone o incolore ed ha comunemente una lucentezza vitrea o resinosa.

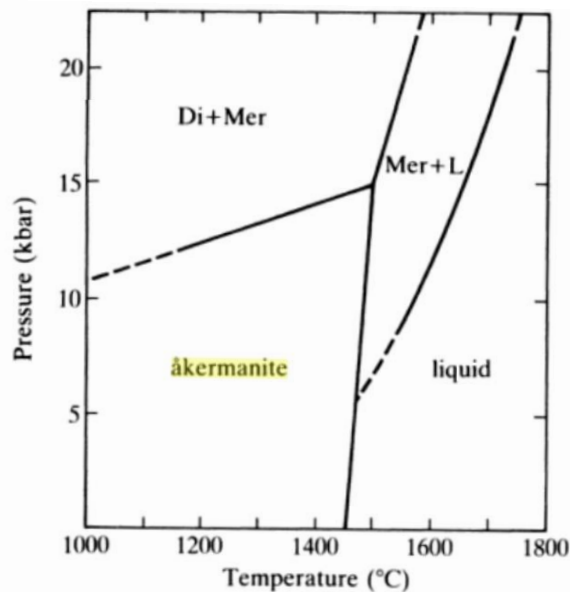


Figura 3.2: Diagramma P-T del campo di stabilità dell'åkermanite ad elevate temperature; Di = diopside ($\text{CaMgSi}_2\text{O}_6$), Mer = merwinite ($\text{Ca}_3\text{Mg}(\text{SiO}_4)_2$) (H. S. Yoder Jr., 1973) [43].

È presente in natura nella soluzione solida melilitica standard, o raramente in piccoli campioni quasi puri. A livello di laboratorio l'åkermanite è solitamente sinterizzata a partire da polveri di ossidi a temperature prossime ai 1400 °C. Tuttavia è possibile produrla a temperature inferiori attraverso processo sol-gel. Harker, Tuttle e Yoder hanno determinato la stabilità a bassa temperatura dell'åkermanite partendo dalla reazione all'equilibrio wollastonite (CaSiO_3) + monticellite (CaMgSiO_4) = åkermanite con 0.8÷6 kbar di pressione totale. L'extrapolazione di questi dati fino a pressione ambiente suggerisce che l'åkermanite sia prona a dissociarsi in wollastonite e in monticellite al di sotto di circa 701 °C. L'analisi della decomposizione di questa melilite è utile a comprendere le impurezze presenti talvolta nei prodotti åkermanitici sintetici. Ad ogni modo in atmosfera anidra ed in condizioni di reazione veloce (processo ad alta temperatura seguito da un raffreddamento abbastanza rapido ma non tale da produrre vetro) l'åkermanite si forma dai precursori ed è stabile fino a temperatura ambiente.

Tra i bioceramici silicatici l'åkermanite è il più citato assieme al diopside e possiede generalmente proprietà meccaniche più elevate sia in *bulk* che in *scaffolds*, se confrontato con i silicati binari, oltre ad avere velocità di degradazione più basse. L'ossido di magnesio MgO inoltre è stato sempre riconosciuto come un ossido secondario chiave nello sviluppo di bioceramici, essendo già presente nelle formulazioni per vetroceramiche basate sulla wollastonite e per alcuni biovetri.

Il magnesio è uno dei più importanti elementi nella biologia dei mammiferi. È più abbondante, pari a circa il 6 mol%, nella cartilagine e tessuto osseo durante le fasi iniziali di osteogenesi mentre tende a scomparire nell'osso maturo. È stato indagato che una deficienza di Mg influisca negativamente tutte le fasi del metabolismo scheletrico, causando la cessazione della crescita ossea e la diminuzione dell'attività osteoblastica e osteoclastica. I suoi effetti sul rafforzamento osteoconduttivo e osteoinduttivo su ceramiche Ca-P sono state confermate e l'aggiunta di Mg può quindi migliorare le proprietà biologiche anche delle ceramiche silicatiche.

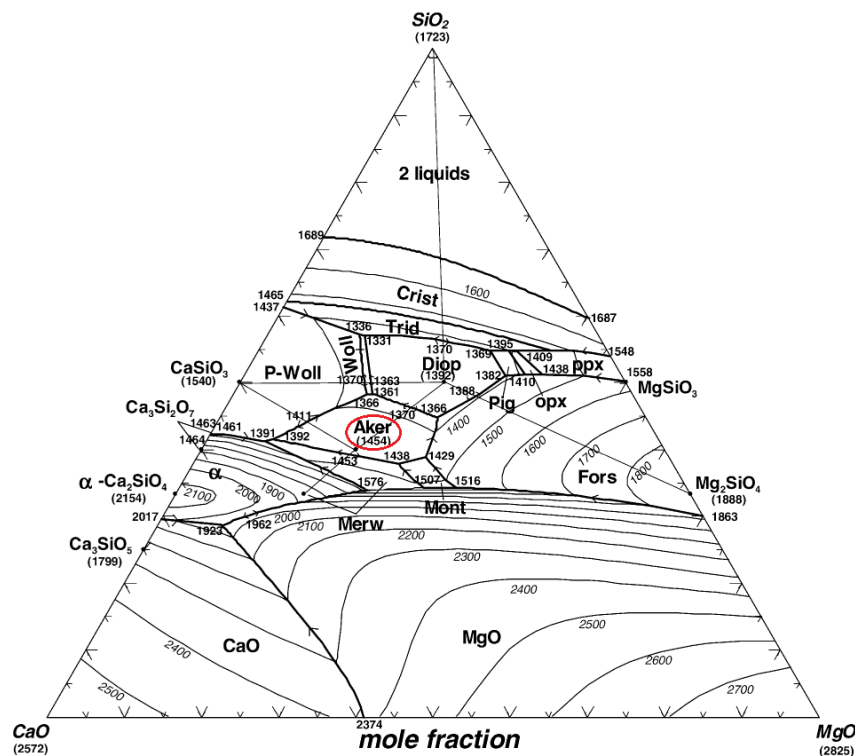


Figura 3.3: Diagramma ternario con linee di liquidus per il sistema CaO–MgO–SiO₂ ad 1 bar di pressione, temperature in °C [44].

Grazie alle sue proprietà fisico-chimiche, l'åkermanite mostra una buona mineralizzazione dell'apatite e velocità di dissoluzione moderata. Supporta l'attacco degli osteoblasti, delle cellule del midollo osseo stromali e delle cellule del legamento parodontale. Questo bioceramico silicatico ha mostrato la migliore bioattività nel migliorare la proliferazione e differenziazione osteogenica di varie cellule staminali mediante i prodotti ionici rilasciati: ioni Ca, Mg e Si dalla dissoluzione dell'åkermanite, a determinati intervalli di concentrazione, hanno notevolmente migliorato la proliferazione degli osteoblasti ed ulteriori studi hanno dimostrato che ne viene promossa significativamente anche la proliferazione rispetto ai tradizionali bioceramici a base β -TCP. L'attività di fosfatasi alcalina e l'espressione dei geni marcatori osteogenici come osteopontina, osteocalcina e sialoproteina ossea sono decisamente migliorate con l'åkermanite rispetto ai β -TCP. Infine *scaffolds* porosi in wollastonite e åkermanite hanno

dimostrato su tessuto osseo animale una maggiore velocità di degradazione e una maggiore formazione di nuovo tessuto in confronto ai β -TCP *scaffolds* di riferimento.

L'åkermanite possiede proprietà meccaniche migliorate rispetto al HA e la sua resistenza alla flessione e modulo di Young sono vicine a quella dell'osso compatto umano, mentre la resistenza a frattura è più bassa (Tabella 1.7). Ciò è diretta conseguenza della maggiore complessità della struttura cristallina melilitica, in particolare dei legami Mg-O più forti dei legami Ca-O. Recentemente schiume cellulari di åkermanite sono state prodotte da processo PDCs [45]: ceramiche åkermanitiche possono essere facilmente ottenute da trattamento termico ad alta temperatura (1100 °C) di siliconi che incorporano precursori di CaO e MgO come *fillers*; la purezza della fase cristallina è ottimizzata con *fillers* di dimensioni nanometriche ma raggiunge la completa assenza di fasi secondarie (wollastonite, monticellite e MgO) solo con l'aggiunta di borace ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), utile al processo di schiumatura a bassa temperatura ed a fornire una fase liquida durante la ceramizzazione favorendo l'interdiffusione ionica.

Tabella 3.2: Proprietà fisiche e meccaniche delle schiume cellulari sviluppate da E. Bernardo et al. [45]; HA è stata aggiunta come filler nel primo batch.

Type	Density, ρ (g/cm ³)	Total porosity (%)	Strength, σ (MPa)	Notes
25 Åkermanite 75 HAp monolith (1100 °C)	2.53 ± 0.01	27	10.6 ± 1.5 (bending)	$E = 24.0 \pm 4.0$ GPa
Åkermanite foams (CaCO ₃ nano-particles)	0.86 ± 0.03	71	3.4 ± 0.2 (crushing)	No borax
	0.90 ± 0.02	69	5.1 ± 0.4 (crushing)	5% Borax
	0.85 ± 0.01	72	3.4 ± 0.4 (crushing)	15% Borax

Le schiume così prodotte hanno resistenza a compressione notevolmente maggiore degli *scaffolds* precedentemente citati in letteratura ($0.53 \div 1.13$ MPa a compressione, Tabella 1.7), con picchi di 5.1 MPa associati ad una porosità totale del 69 %.

3.3 Hardystonite ($\text{Ca}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$)

L'*hardystonite* ($\text{Ca}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$) è una melilite contenente calcio nel sito A, zinco nel sito T1, silicio nel sito T2 e ovviamente ossigeno. È un raro silicato di zinco descritto per la prima volta nel 1899 da J. E. Wolff nei depositi di zinco Franklin, New Jersey, US, e fu chiamato così da Hardyston Township che prima del 1913 incorporava le miniere Franklin. Questo minerale nella sua forma naturale contiene spesso piombo, dannoso per il processo di fusione dello zinco, e quindi non è utile come materia prima. L'*hardystonite* risponde agli ultravioletti (in particolare alla lunghezza di 254 nm) ed emette una fluorescenza dal viola scuro al blu-viola brillante. Alla luce del giorno è invece di colore chiaro che va da bianco al grigio al rosa, a volte con una lucentezza vitrea. È molto raro trovare cristalli ben formati, che si presentano di solito come prismi rettangolari imprigionati nella roccia.

La struttura melilitica dell'hardystonite può essere riassunta come composta da fogli $[\text{ZnSi}_2\text{O}_7]^{4-}$ in cui il legame covalente è dominante, ed i fogli adiacenti sono tenuti assieme da ioni Ca^{2+} intercalati con legame prevalentemente ionico. La struttura prevede parametri di cella $a = 7.829 \text{ \AA}$ e $c = 5.014 \text{ \AA}$, con una densità di 3.4 g/cm^3 , un coefficiente di espansione termica del secondo ordine, una $T_f = 1425 \text{ }^\circ\text{C}$ e si colloca tra 3 e 4 della scala di Mohs per la durezza [46]. Al contrario dell'åkermanite, l'hardystonite è molto stabile se sintetizzata da precursori nelle corrette proporzioni molari e non si decompone in altri silicati di calcio. Viene spesso trovata naturalmente insieme con la willemite (Zn_2SiO_4), zincite (ZnO), calcite (CaCO_3), e clinoedrite ($\text{CaZnSiO}_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})$). Non stupisce la compresenza di willemite, zincite ed hardystonite poiché questi tre composti esistono in equilibrio all'eutettico D nel sistema ternario (Figura 3.4) e possono presentarsi a basse concentrazioni come impurezze nelle sintesi artificiali di questo ceramico. L'hardystonite può essere inoltre alterata a clinoedrite attraverso processi idrotermali. A livello di laboratorio l'hardystonite può essere prodotta con la tecnica Czochralski o con la tecnica *floating zone*, o sinterizzata a partire da polveri di ossidi o attraverso processo sol-gel o PDCs. Non sono riportate in letteratura sintesi di questo composto a temperature inferiori di $1200 \text{ }^\circ\text{C}$.

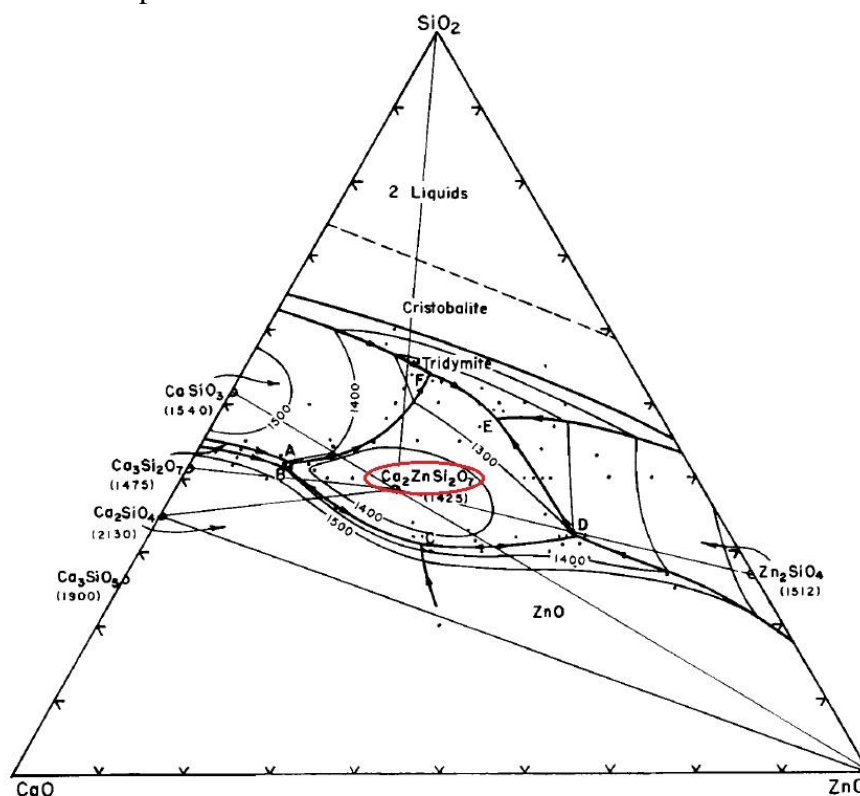


Figura 3.4: Il sistema ternario CaO-ZnO-SiO_2 [47].

L'interesse per le bio-applicazioni dell'hardystonite stanno crescendo negli ultimi anni, seppur questo materiale sia meno studiato dell'åkermanite. L'inclusione dello zinco ha effetti diretti sull'ambiente biologico, poiché Zn è un elemento essenziale nel corpo umano con effetti significativi sulla formazione ossea. A livello cellulare, Zn svolge un ruolo

significativo nel migliorare la proliferazione degli osteoblasti, nell'aumentare la fosfatasi alcalina e il contenuto di DNA nei tessuti ossei come pure nell'inibire selettivamente la funzione degli osteoclasti. Lo Zn ha anche un effetto antinfiammatorio ed una sua carenza può ritardare la riparazione delle ferite e/o portare ad una disfunzione immunitaria. Lo zinco influenza la membrana esterna dei batteri attraverso modifiche strutturali della stessa e può causare la loro morte cellulare. Altresì il rallentamento del rilascio degli ioni Ca e Si, rispetto ad esempio alla wollastonite, è un diretto effetto della struttura cristallina melilitica e dei suoi legami risultanti dall'incorporazione dello zinco, facendo sì che l'hardystonite non porti ad un microambiente alcalino quando è a contatto con i fluidi corporei, evitando di danneggiare di conseguenza i tessuti.

I bioceramici hardystonitici sono stati quindi considerati materiali promettenti per l'ingegneria tissutale applicata specialmente al tessuto osseo. Questi materiali hanno dimostrato di poter aumentare il tasso di proliferazione delle cellule staminali mesenchimali del midollo osseo e di indurre il differenziamento osteogenico. Inoltre l'hardystonite ha dimostrato di sostenere l'adesione cellulare e di aumentare la proliferazione e differenziazione cellulare degli osteoblasti rispetto a CaSiO_3 . Può stimolare altresì l'espressione della fosfatasi alcalina, di osteocalcina e di collagene di tipo I a contatto con gli osteoblasti.

Lo svantaggio principale dell'hardystonite rimane la sua limitata velocità di degradazione, per cui gli effetti biologici degli ioni non vengono pienamente utilizzati. CaSiO_3 e hardystonite hanno entrambi benefici e vantaggi e pertanto recentemente sono stati incorporati insieme per produrre un materiale composito in cui degradazione e proprietà meccaniche possono essere adattate regolando la percentuale dei due componenti. I primi studi *in vitro* hanno dimostrato una maggiore adesione cellulare e differenziazione delle cellule quando coltivate sul composito, rispetto agli *end-members* puri [48]. Sempre al fine di migliorare la bioattività dell'hardystonite si è recentemente sviluppato un bioceramico hardystonitico sottoforma di *scaffolds*, che incorpora Sr (Sr-HT) e questo materiale è degradabile ed in grado di rilasciare quattro ioni bioattivi (Zn, Ca, Sr, Si), risultando complessivamente migliore di tutti i precedenti materiali *hardystonite-based* nella formazione del tessuto osseo *in vivo* [49]. Per la sua analogia chimica con il calcio (stesso gruppo, simile raggio atomico), lo stronzio può sostituire le posizioni reticolari occupate dal calcio nei cristalli di apatite che si formano. Lo stronzio è uno degli elementi presenti nel tessuto osseo e i suoi effetti benefici si evidenziano sia nelle ossa sane che in quelle malate: il potenziale terapeutico di questo elemento sul metabolismo osseo è stato largamente indagato, evidenziando come favorisca la crescita cellulare per la riparazione del tessuto danneggiato e riduca il rischio di fratture vertebrali e dell'anca in pazienti affetti da osteoporosi, per la quale si è dimostrato un agente efficace nel trattamento della malattia; inoltre farmaci a base di stronzio favoriscono la guarigione del tessuto osseo a seguito di una

frattura. Infine, silicati contenenti stronzio, come ad esempio CaSiO_3 dopato Sr, silicato di stronzio (SrSiO_3) e biovetri sostituiti con Sr, hanno dimostrato un effetto di stimolazione del processo osteogenetico. È dunque possibile ipotizzare che la Sr-hardystonite ($\text{Sr}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$), sistema ternario di Si–Sr–Zn, abbia un effetto positivo nella formazione di tessuto osseo e funga da supporto per l'ancoraggio degli osteoblasti in vivo.

Quest'ultimo bioceramico hardystonitico è anche il solo, a quanto riporta la letteratura, che verrà a breve introdotto nel mercato come prodotto commerciale in una sua versione modificata *strontium-hardystonite-gahnite* (Sr-HT-gahnite), con una resistenza a compressione competitiva di ~4.1 MPa, associata all'85 % di porosità totale, adatta anche a *scaffolds* sotto carico [50].

Le ceramiche hardystonitiche, riassumendo, sembrano possedere una migliore biocompatibilità, resistenza alla flessione e alla frattura rispetto ad HA e CaSiO_3 (Tabella 1.7). Nei laboratori dell'Università degli Studi di Padova gli ultimi sviluppi della tecnica PDCs hanno portato alla produzione di schiume cellulari e *scaffolds 3D* in HT [51]. Purtroppo, benché il processo PDCs sia indubbiamente vantaggioso, tali tentativi hanno prodotto schiume e *scaffolds 3D* con una resistenza a compressione rispettivamente di ~2.13 MPa, con porosità totale del ~67.7%, e di 0.6 MPa, con porosità totale del ~77%. Le proprietà meccaniche risultanti sono ancora troppo basse rispetto ad altri prodotti hardystonitici presenti in letteratura.

Polveri di $\text{Sr}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$ pura sono state sintetizzate tramite metodo *sol-gel* e la ceramizzazione del composto è stata effettuata per sinterizzazione del compatto polverulento ottenuto.

Capitolo 4

Procedura sperimentale

Nella prima parte di questo capitolo vengono presentati i materiali che sono stati utilizzati per l'ottenimento dei campioni vetroceramici oggetto di studio in questo lavoro; successivamente si procede alla descrizione della strumentazione adoperata per la loro realizzazione; infine, si conclude con la definizione della procedura sperimentale seguita, che è una diretta conseguenza di precedenti ricerche sviluppate nel laboratorio [27][32].

4.1 Materiali utilizzati

4.1.1 Materie prime

Per la sintesi delle schiume vetroceramiche è stata utilizzata come materia prima, la polvere di vetro di composizione nota come Biosilicate® (Tabella 4.1), fornita dal team di ricerca del Prof. E. D. Zanotto (*Vitreous Materials Laboratory, Department of Materials Engineering, Center for Research, Education and Technology in Vitreous Materials (CeRTEV), Federal University of São Carlos (UFSCar), SP, Brazil*). La polvere presenta una granulometria di 5 micrometri, dunque è necessario mantenerla all'interno di un essiccatore e lavorarla sotto cappa ventilata. All'interno di questo lavoro di tesi si identificheranno i campioni sintetizzati a partire da questa polvere vetrosa come "BioBra".

Tabella 4.1: composizione chimica del Biosilicate®.

Biosilicate® Brasile	Quantità (g)
Na ₂ O	23.75
CaO	23.75
P ₂ O ₅	24
SiO ₂	48.5

Si è cercato in seguito di riprodurre tale composizione del Biosilicate® a partire dai composti presenti in laboratorio: in Tabella 4.2 vengono riportate le quantità utilizzate a tale scopo. La natura cristallina del Biosilicate® inibisce il processo di sinterizzazione, rendendolo particolarmente difficoltoso; è stato dunque necessario ottenere una fritta vetrosa di composizione "replicata" che contenesse la maggior percentuale di fase amorfa possibile. A tale riguardo, si è provveduto a raffreddare la fritta con l'ausilio di acqua nebulizzata, per

aumentare la velocità di raffreddamento ed impedire la cristallizzazione. I campioni ricavati a partire dalla polvere così ottenuta vengono identificati all'interno di questo lavoro di tesi come "BioAmo".

Tabella 4.2: composti utilizzati per la sintesi di BioAmo.

Biosilicate® Amorfo	Quantità (g)
Na₂P₂O₆	9.6
Na₂CO₃	43.4
CaCO₃	53.5
SiO₂	60.8



Figura 4.1: particolare della fritta prodotta a partire dalla composizione di BioAmo. La trasparenza è simbolo della mancata cristallizzazione del vetro, che ha mantenuto una struttura amorfa.

Per quel che riguarda le meliliti, è stata prodotta una fritta vetrosa di composizione $\text{Ca}_2\text{SrZnMgSi}_2\text{O}_7$, ovvero hardystonite drogata con Mg e Sr, che occupa in parte i siti reticolari del Ca. Procedendo nel raffreddamento come esposto per il BioAmo, si è cercato di raggiungere una morfologia che fosse il più possibile amorfa, ottenuta a partire dai composti illustrati in Tabella 4.3. in questa tesi i campioni realizzati a partire da questa composizione saranno identificati come "Hardy1".

È stata inoltre utilizzata una fritta di hardystonite della medesima composizione, realizzata presso un laboratorio slovacco.

Tabella 4.3: frazioni molare e ponderale necessarie per ottenere la composizione desiderata dell'Hardystonite.

Hardystonite	Frazione molare	Quantità (g)
CaO	1.4	27.4
SrO	0.6	21.7
ZnO	0.85	24.2
MgO	0.15	2.1
SiO₂	2	42.1

Infine, con lo stesso procedimento, è stata prodotta una fritta melilitica priva di Sr e con frazione molare di Ca pari a 2. I campioni di tale composizione saranno identificati come “Hardy2”.

4.1.2 Soluzione alcalina

La fase di dissoluzione prevede il processo di attivazione alcalina delle polveri solide di Biosilicate® e hardystonite grazie ad una soluzione basica. Differentemente da quanto avviene per i geopolimeri tradizionali, dove la molarità della soluzione è molto elevata (>10M), in questo caso si utilizza una soluzione di idrossido di sodio (NaOH) in acqua distillata di concentrazione molare pari a 1. La base è fornita sotto forma di *pellets* prodotti dall’azienda “Sigma-Aldrich Corporation©”.

4.1.3 Tensioattivo

Il tensioattivo di natura non ionica usato, Triton™ X-100 (4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)-phenyl-polyethylene glycol) prodotto dall’azienda “Sigma-Aldrich Corporation©”, presenta un gruppo idrofilico di ossido di polietilene e la sua formula molecolare e la seguente: $(C_2H_4O)_n C_{14}H_{22}O$. La scelta di questo tensioattivo è derivata da studi precedenti [29], che hanno dimostrato come sia più efficace nell’incorporare quantità maggiori di gas all’interno del liquido, ottenendo un quantitativo di porosità maggiore.

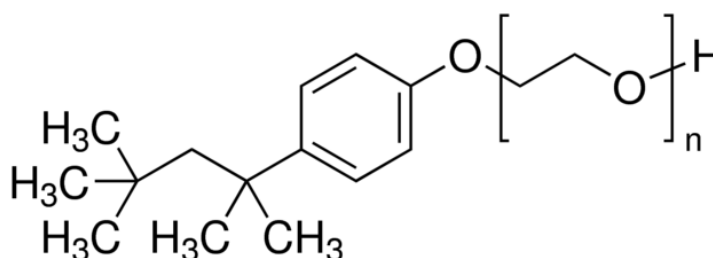


Figura 4.2: struttura chimica del tensioattivo Triton™ X-100.

4.2 Strumentazione

Vengono riportati i principali strumenti adoperati per la preparazione, la caratterizzazione e la verifica delle proprietà meccaniche dei campioni di schiuma vetroceramica oggetto di questo lavoro di tesi.

4.2.1 Monomulino planetario e setacci

Per la fase di macinazione delle materie prime si è adoperato un monomulino planetario *Pulverisette 6 classic line* (in Figura 4.3), prodotti dall'azienda FRITSCH; viene inserita la



Figura 4.3: monomulino planetario.

giara, contenente il materiale da macinare e delle sfere che favoriscono il processo, nell'apposito alloggiamento sul piatto alla base dello strumento, che si muove in senso orario, mentre la giara ruota su se stessa in senso antiorario. La combinazione dei due moti genera un violento spostamento delle sfere all'interno della giara, che polverizzano ed omogeneizzano il campione. Un contrappeso regolabile simula una seconda stazione di lavoro, che però è assente, per mantenere l'equilibrio del sistema di trasmissione planetaria. Questo strumento presenta dei vantaggi notevoli, come l'altissima resa di macinazione nonostante le piccole dimensioni, nessuna perdita di macinato, la possibilità del controllo elettronico della velocità e del tempo di macinazione. La giara utilizzata è di agata 99,9% SiO_2 con densità di $2,65 \text{ g/cm}^3$, ha una buona resistenza all'abrasione e viene utilizzata per campioni da morbidi a medio-duri. È sempre raccomandabile utilizzare giare e sfere dello stesso materiale; poche sfere di grande diametro (30-40 mm) sono utili per ridurre campioni con grandi pezzature iniziali, mentre tante sfere piccole (>5 mm) sono utili a raffinare campioni con dimensioni iniziali contenute od omogeneizzare miscele di più polveri.

Per la fase di setacciatura sono stati utilizzati dei setacci *Filtra Vibracions S.L.* in acciaio inossidabile prodotti dall'azienda Filtra[®], posti in colonna con apertura decrescente a partire da 300 micron fino a 75 micron. La colonna di setacci è stata inserita su un apposito macchinario che con la vibrazione favorisce la setacciatura.

4.2.2 Agitatore meccanico

Lo strumento utilizzato per la dissoluzione e miscelazione delle polveri con la soluzione alcalina e per la schiumatura è un miscelatore ad asta *ARGO-LAB[®] modello AM20D* (Figura 4.4 a), che assicura velocità di rotazione costante anche ad alte viscosità. Un controllo della velocità (nel range 0-2200 rpm) ne permette la regolazione in base all'esigenza di miscelazione (300 rpm) o schiumaggio (2200 rpm). Questo strumento è formato da un mandrino ad asse verticale in cui è inserita un'apposita asta rotante intercambiabile, così da poter scegliere la testa più idonea per la fase di lavorazione. In Figura 4.4 b sono mostrate le aste utilizzate per la dissoluzione (sinistra) e per lo schiumaggio (destra).

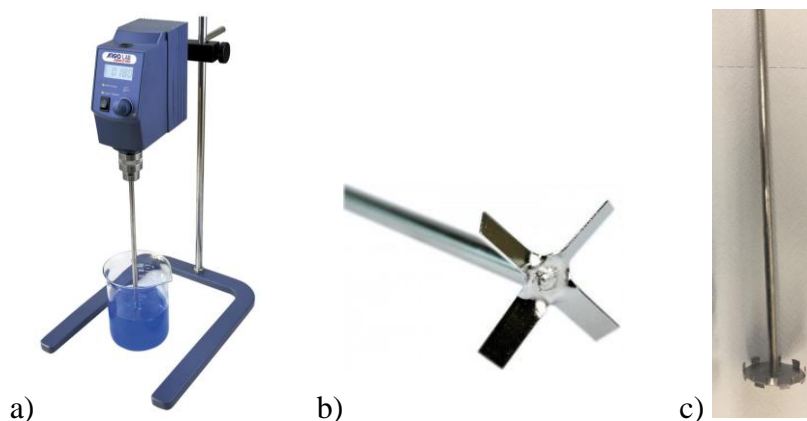


Figura 4.4: Agitatore meccanico e aste per miscelazione e schiumatura.

4.2.3 Forno a muffola



Figura 4.5: Forno a muffola.

Per i trattamenti termici necessari è stato utilizzato un forno a muffola *TERSID[®] elite BRF 16/5* (Figura 4.5), capace di raggiungere e mantenere alte temperature. Il forno è equipaggiato con un sistema di controllo *PID Eurotherm 2416 CG* a doppio display, programmabile con 8 segmenti a formato libero. Ogni segmento può essere programmato impostando la velocità di riscaldamento, come rampa di temperatura crescente o decrescente, il mantenimento di una temperatura costante o la fine del programma. Il sistema di riscaldamento consiste in elementi riscaldanti in carburo di silicio, posti ai lati della camera centrale, che possono portare il forno fino a 1600°C.

4.2.4 Picnometro

Per effettuare le misure di densità su campioni e polveri è stato utilizzato un picnometro ad elio *Micromeritics AccuPyc 1330* (Norcross, GA, USA). Lo strumento si basa su principi fisici che legano la pressione di un gas con il suo volume (legge di Boyle). Pertanto il volume del campione viene misurato come variazione di pressione dell'elio in una camera standard. La densità viene poi calcolata automaticamente dallo strumento dividendo la massa del campione per il volume trovato. Il gas utilizzato è elio, scelto per le sue ridotte dimensioni molecolari, la sua inerzia chimica e perché presenta un comportamento che si avvicina a quello di un gas ideale.

4.2.5 Stereomicroscopio ottico

Per poter ottenere una visuale ad elevata risoluzione delle superfici e delle porosità dei materiali è stato utilizzato uno stereomicroscopio ottico *Zeiss Stemi 2000C* (Figura 4.6 a).

Lo strumento consente di osservare ad occhio nudo l'immagine del campione con ingrandimenti fino a 5X. La possibilità di associare alla strumentazione ottica l'apparecchiatura digitale *AxioCam ERc 5s Microscope Camera* (*Carl Zeiss Microscopy, Thornwood, NY, USA*) (Figura 4.6 b) permette di digitalizzare le immagini delle zone di interesse del campione, visualizzarle e modificarle su computer.

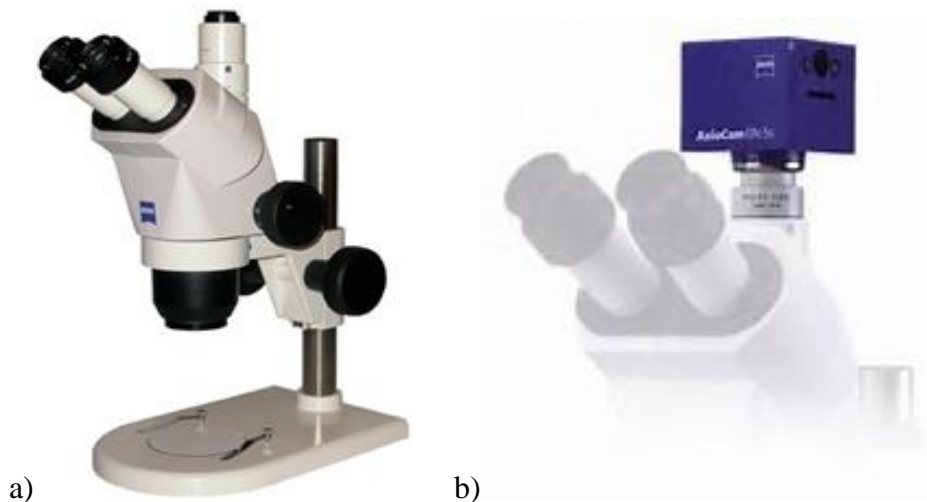


Figura 4.6: a) stereomicroscopio ottico; b) sistema di acquisizione di immagini AxioCam.

4.2.6 Prove di compressione

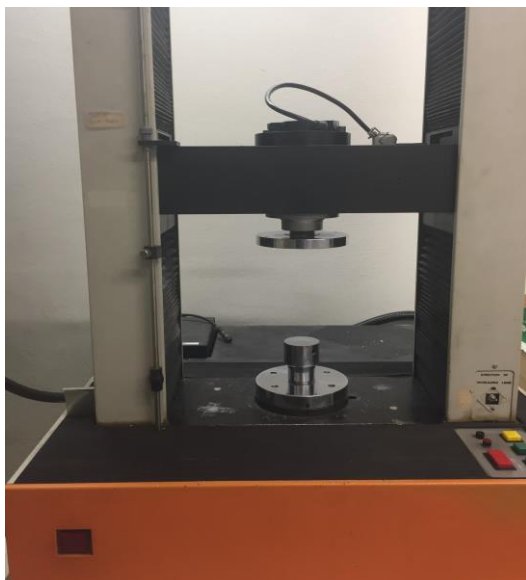


Figura 4.7: macchina per le prove di trazione/compressione.

Il macchinario utilizzato per le prove di compressione sui campioni è un *INSTRON® Tensile Testing Machine model 1121 UMT* (*Instron, Danvers, MA*) (Figura 4.7). Lo strumento è formato da una colonna verticale con strumentazione di controllo della forza e della velocità di discesa o salita della cella di carico. Al sistema di acquisizioni dati originale è stato affiancato un sistema digitale collegato ad un elaboratore elettronico, così da ricevere in tempo reale i valori forniti dalla cella di carico. Si ottiene, tramite il software apposito, l'output della forza applicata al provino durante il test in tempo reale, attraverso un grafico forza/tempo generato dal computer. In questo caso il

macchinario è stato utilizzato nella configurazione di test a compressione, ma presenta anche la possibilità di effettuare prove di trazione o di flessione se opportunamente programmato.

4.2.7 Diffrattometro a raggi X



Figura 4.8: diffrattometro a raggi X (analisi XRD).

Per la diffrazione a raggi-X è stato utilizzato lo strumento *Bruker D8 Advance* (*Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Germany*) (Figura 4.8) per diffrazione di polveri. Questa tecnica risulta essere molto importante per lo studio di campioni allo stato solido, poiché consente di riconoscere e quantificare le varie fasi cristalline che costituiscono un materiale. Lo strumento sfrutta il fenomeno della diffrazione, associato alla deviazione della traiettoria di propagazione delle onde quando queste incontrano un ostacolo sul loro cammino. Gli effetti dovuti alla diffrazione si verificano quando la lunghezza d'onda incidente è comparabile con le dimensioni dell'ostacolo. Dunque un'onda elettromagnetica ad una precisa frequenza viene fatta incidere sul campione e, sfruttando le leggi della diffrazione, si possono ricavare informazioni riguardanti la spaziatura tra gli atomi. La sorgente del diffrattometro consiste in un fascio di raggi-X di potenza 2 kW (40 kV, 40mA) ed emette delle onde a frequenza nota, in modo tale che l'interazione con la materia produca calore, emissione di fotoni, fluorescenza, assorbimento e *scattering* (coerente o incoerente). È il fenomeno dello *scattering* coerente che è responsabile degli effetti di diffrazione: infatti gli elettroni diffratti diventano sorgenti secondarie di radiazione X, avente la medesima lunghezza d'onda della radiazione incidente. L'interazione con un materiale cristallino ha come conseguenza che i fasci diffusi si ricombinano costruttivamente solo in talune direzioni. In diffrattometria vengono sfruttati i raggi X in quanto la loro lunghezza d'onda è paragonabile alla spaziatura tra gli atomi in un cristallo, quindi risultano essere la sorgente adatta alla diffrazione su scala interatomica. Nel momento in cui queste onde interagiscono con gli atomi del campione, questi si comportano come un reticolo di diffrazione, producendo raggi deviati solo per particolari angoli. Si possono misurare questi angoli attraverso il rivelatore e ricavare il valore di spaziatura del reticolo di diffrazione, ovvero la distanza tra i nuclei degli atomi nel materiale. Nel *pattern* ottenuto il picco rappresenta l'evento di diffrazione e la sua altezza è direttamente proporzionale all'intensità dell'evento stesso.

4.2.8 SEM: Microscopio Elettronico a Scansione

Il SEM (*Scanning Electron Microscope*) è un tipo di microscopio elettronico che come sorgente di radiazione non sfrutta la luce, ma un fascio elettronico ad elevata energia che colpisce il provino. Il fascio è focalizzato da un sistema di lenti elettromagnetiche e

indirizzato su un'area ristretta della superficie del campione per analizzarla. L'interazione fascio-campione genera vari segnali che sono acquisiti da opportuni *detectors* e poi elaborati per formare un'immagine 3D su scala di grigi.

La versatilità del SEM consiste nella possibilità di acquisire immagini studiando le diverse radiazioni emesse dal campione quando è esplorato dal fascio di elettroni primari: tramite l'analisi degli elettroni secondari e retrodiffusi può essere studiata la morfologia, mentre la composizione chimica è indagata attraverso l'analisi dei raggi X emessi, le cui energie dipendono direttamente dal peso atomico degli atomi da cui provengono e possono quindi essere utilizzati per ottenere informazioni sulla natura chimica del campione. Lo strumento possiede una altissima risoluzione (limite 2nm), ingrandimenti fino a 100000X, un'ottima profondità di campo e la preparazione del campione da analizzare non è difficoltosa.

Per lo scopo di questo lavoro viene utilizzato per evidenziare a livello microscopico la struttura micro e macro porosa dei campioni, eventuali fratture e difetti del materiale.



Figura 4.9: *microscopio elettronico a scansione FEI Quanta 200 ESEM, FEI, Hillsboro, OR, USA.*

4.3 Procedura sperimentale

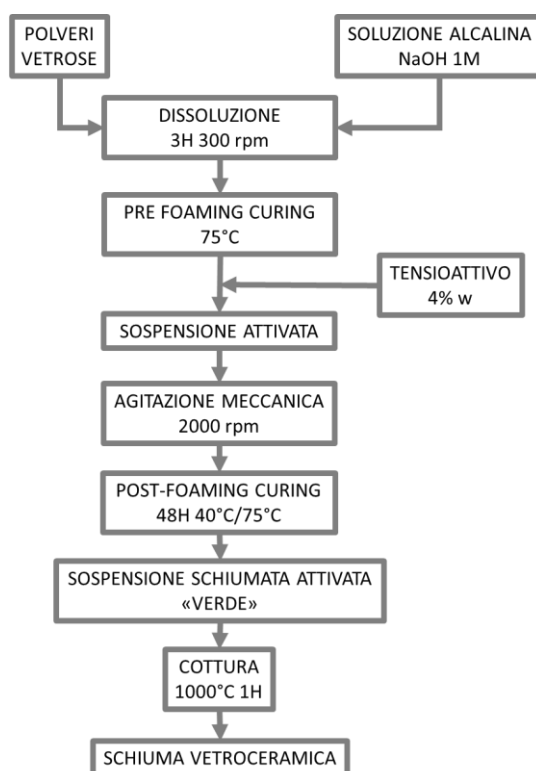


Figura 4.10: schematizzazione della procedura sperimentale seguita per la realizzazione dei campioni di schiume vetroceramiche.

4.3.1 Preparazione delle polveri

Dal momento che la realizzazione delle schiume vetroceramiche avviene secondo il processo di attivazione alcalina e sinter-cristallizzazione, la granulometria della polvere di vetro iniziale risulta di fondamentale importanza; dunque si rende necessaria la macinazione e la setacciatura della stessa. Per la fase di macinazione si utilizza una giara di agata, all'interno della quale vengono posti il materiale di partenza e delle sfere di diversa dimensione dello stesso materiale del contenitore, che con il loro movimento frantumano il vetro. La giara viene inserita all'interno di un monomulino planetario in centrifugazione a 360 rpm, che esegue 4 cicli di macinazione di 25 minuti intervallati da una pausa di 5 minuti per evitare il surriscaldamento della stessa. Al termine dei cicli del mulino, la polvere di vetro macinata viene trasferita in una colonna di setacci con apertura progressivamente decrescente, a partire da 300 micron fino a 75 micron, per avere una granulometria che favorisca l'attivazione alcalina. Infine la colonna di setacci è posta in un apposito macchinario che, tramite vibrazioni, permette la setacciatura della polvere.

4.3.2 Dissoluzione (attivazione alcalina)

Si procede con la preparazione della soluzione alcalina di idrossido di sodio 1 M, ottenuta aggiungendo acqua distillata ai granuli di idrossido in quantità opportuna e lasciata riposare

qualche minuto per permetterne la dissoluzione. La soluzione è posta in un contenitore di polistirene trasparente e messa in agitazione dall'elica di un agitatore meccanico, mantenuto a 300 rpm. La polvere di vetro viene aggiunta progressivamente nella soluzione per evitare la formazione di agglomerati e favorire l'omogeneizzazione, in base al rapporto solido/liquido desiderato: in questo lavoro di tesi si sono adoperati rapporti variabili dal 50 % al 65% di solido, composizioni studiate per l'ottenimento di proprietà e dimensione della porosità adeguate. Il contenitore contenente la soluzione in agitazione viene coperto con del parafilm per l'intera durata della miscelazione (3 ore), per evitare l'evaporazione della fase liquida. Trascorso il tempo stabilito, il parafilm viene rimosso e l'agitatore meccanico viene spento.

4.3.3 Pre-polimerizzazione

Al termine della dissoluzione delle polveri ad opera della soluzione alcalina, il contenitore contenente la sospensione viene posto, chiuso con il suo coperchio per evitare l'evaporazione della fase liquida, in una stufa mantenuta alla temperatura di 75°C, in modo da favorire il processo di gelificazione. L'obiettivo della pre-polimerizzazione è di ottenere una sospensione con viscosità maggiore rispetto a quella ottenuta da sola dissoluzione, per procedere poi al *gel casting*. Il tempo di permanenza in stufa, ottimizzato analizzando campioni ottenuti in una precedente fase sperimentale, varia a seconda del materiale di partenza in base alla loro diversa capacità di gelificare; non si superano comunque le due ore di mantenimento in stufa e si rende necessario un controllo visivo per evitare un'eccessiva solidificazione della sospensione, che ne impedirebbe la trasformazione in schiuma.

4.3.4 Schiumatura

La fase di schiumatura prevede l'agitazione sostenuta della sospensione in seguito all'aggiunta di un tensioattivo (pari al 4% in peso della soluzione), che permette l'inglobamento di aria nella miscela gelificata. La soluzione è stata mantenuta in agitazione forte (2200 rpm), utilizzando l'apposita testa montata sull'agitatore, per il tempo necessario affinché la soluzione gelificata sia in grado di sostenere la struttura schiumosa e non collassi. A questo punto la schiuma viene colata in stampi più piccoli in polipropilene, per ottenere dei campioni più facilmente lavorabili ai fini della caratterizzazione e delle prove meccaniche. Infine il campione schiumato è riposto in stufa per 48h a 75°C (hardystonite) o 40°C (Biosilicate®), questa volta senza alcuna copertura, affinché si possa completare il processo di polimerizzazione. Il solido ottenuto, definito "verde", è successivamente preparato per subire la fase di trattamento termico.



Figura 4.11: particolare dei campioni di BioAmo allo stadio di “verde”.

4.3.5 Trattamento termico

La superficie dei campioni allo stato di “verde”, densa, viene delicatamente lappata tramite strofinamento del pezzo su carta vetrata di granulometria fine, per esporre la porosità sottostante all’aria; in questo modo in fase di cottura vi è una maggiore uniformità di temperatura nel campione e non insorgono tensioni di origine termica dovute alla differente densità della superficie del pezzo rispetto al cuore. I trattamenti termici sono stati effettuati in forno elettrico programmabile a muffola, in cui è stato possibile programmare la rampa di riscaldamento e la fase di mantenimento. In particolare, i campioni hanno subito dei trattamenti multistadio:

- Velocità di riscaldamento di 10°C/min fino a 350°C, per eliminare la componente organica data dal tensioattivo; mantenimento a tale temperatura per 2 ore.
- Velocità di riscaldamento di 5°C/min fino a 700°C, per eliminare i composti idrati all’interno del pezzo; mantenimento a tale temperatura per 1 ora.
- Velocità di riscaldamento di 5°C/min fino a 1000°C, per arrivare a temperatura tale da innescare i meccanismi diffusivi alla base della sinter-cristallizzazione; mantenimento a tale temperatura per 1 ora.
- Raffreddamento fino a temperatura ambiente con velocità di raffreddamento di 15°C/min.

Al termine del trattamento termico i campioni sinterizzati sono pronti per la fase di caratterizzazione.

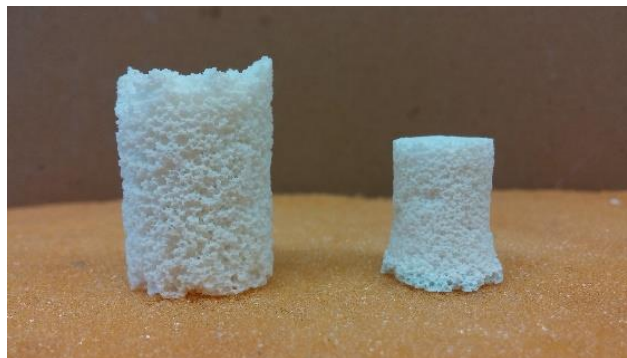


Figura 4.12: particolare di campioni di BioAmo dopo trattamento di ceramizzazione.

4.4 Obiettivi

In base alle premesse esposte nei capitoli precedenti, le caratteristiche che si sono cercate di riprodurre nei campioni realizzati durante l'attività di tesi presentata sono:

- porosità aperta superiore all'75% e di tipo gerarchico, a partire da una dimensione su scala nanometrica fino a quella micrometrica, per garantire il ripopolamento da parte delle cellule e la rivascolarizzazione;
- mantenimento di una certa frazione amorfa per non ostacolare la solubilità degli ioni capaci di stimolare il reclutamento e l'adesione cellulare, oltre che l'osteogenesi;
- resistenza meccanica a compressione dell'ordine dei MPa, per permettere al costruito di sostenere i carichi fisiologici dell'organismo umano.

Capitolo 5

Metodi di Caratterizzazione

In questo capitolo si vuole fornire una panoramica delle tecniche di caratterizzazione utilizzate per l'analisi dei campioni ottenuti durante questo lavoro di tesi. Si procede ad illustrare i principi basilari su cui si basano le misure di densità e di porosità, le analisi DTA e TGA, la diffrazione a raggi X, le micrografie al SEM, le prove a compressione e la spettroscopia infrarossa, per poter comprendere più facilmente i dati sperimentali ricavati.

5.1 Misure di densità e porosità

Per ogni campione sono state indagate tre differenti tipologie di densità: geometrica, apparente e reale. La misura di densità geometrica è stata ottenuta dividendo la massa del campione per il suo volume geometrico, ottenuto mediante un calibro. Le misure di densità apparente e densità reale sono state effettuate servendosi di un picnometro.

5.1.1 Densità geometrica

I campioni, a seguito del trattamento termico, vengono porzionati in piccoli parallelepipedi grazie ad un seghetto manuale e sono sottoposti ad una leggera lappatura a secco su carta abrasiva per un più preciso controllo dimensionale. Il volume di ogni campione è stato ricavato dopo averne misurato altezza, larghezza e profondità con un calibro elettronico, ricavando un valore medio tra due misurazioni per ogni dimensione, così da minimizzare l'errore su ognuno. I campioni sono stati in seguito pesati con una bilancia analitica elettronica di precisione, con risoluzione SI 0.1 mg. Per ottenere il valore di densità geometrica è stato calcolato il rapporto tra massa e volume di ogni campione. Il valore di densità geometrica che si ottiene è il quindi:

$$\rho_g = m / V_G \quad (5.1)$$

dove ρ_g rappresenta la densità geometrica, m la massa del campione, V_G il volume geometrico.

5.1.2 Densità picnometriche

Il picnometro ad elio utilizzato consente di misurare il volume di un campione facendo espandere dell'elio in una cella contenente il campione stesso. La Figura 5.1 riporta lo schema del funzionamento di tale apparato, costituito da due celle calibrate: in particolare una cella di riferimento, di volume V_1 , e una cella porta campione, di volume V_2 , collegate fra loro tramite una valvola. Inizialmente, la cella di riferimento contiene elio a pressione e volume noti (P_1 , V_1), mentre la cella porta campione è depressurizzata grazie ad una pompa a vuoto. Successivamente, si fa espandere l'elio contenuto nella cella di riferimento verso la cella di misura; in questo modo, il sistema delle due celle collegate raggiunge un nuovo equilibrio termodinamico, caratterizzato dalla pressione P_2 .

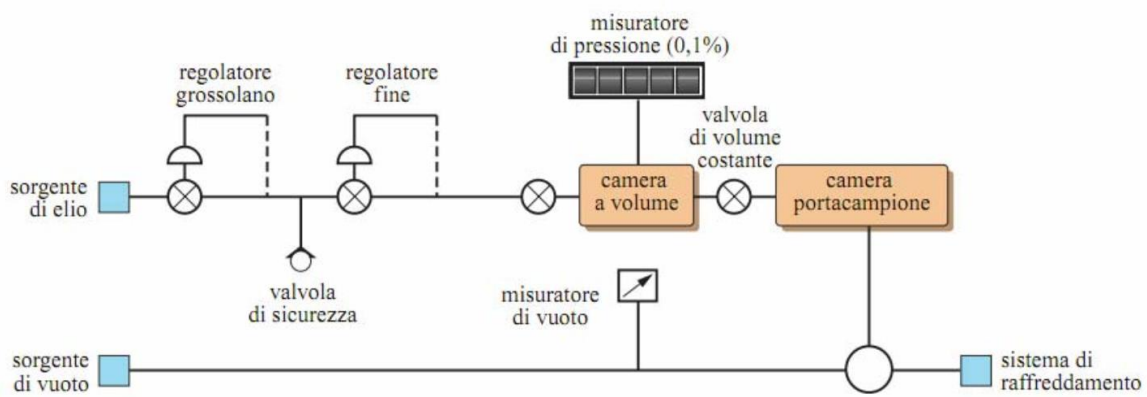


Figura 5.1: struttura interna e schema di funzionamento di un picnometro ad elio.

Per tale equilibrio, il volume occupato dall'elio è pari a $V_1 + V_2 - V_g$; applicando la legge di Boyle ai due stati si ottiene la seguente espressione:

$$P_1 V_1 = P_2 (V_1 + V_2 - V_g) \quad (5.2)$$

da cui si ricava il volume del campione:

$$V_g = V_1 + V_2 - P_1 V_1 / P_2 \quad (5.3)$$

La densità del campione viene ricavata dal rapporto massa/volume; il campione viene infatti pesato prima della prova ed il suo peso è inserito tra gli input della misura.

È possibile ricavare due tipi di densità:

- Densità apparente, *apparent density*, calcolata non considerando la porosità aperta e quindi valutando solo il volume occupato dal materiale stesso e dalla porosità chiusa;
- Densità reale, *true density*, calcolata considerando solo il volume effettivamente occupato dal materiale, senza quindi alcun tipo di porosità.

La densità apparente si ottiene inserendo nello strumento i campioni porosi integri, di qualsiasi geometria. In questo modo gli atomi di elio, essendo di piccole dimensioni,

riescono a diffondere e penetrare nei pori aperti presenti nel campione. Il valore di densità apparente che si ottiene è quindi:

$$\rho_a = m / (VG - V_{PA}) \quad (5.4)$$

dove ρ_a rappresenta la densità apparente, mentre V_{PA} è il volume occupato dalla porosità aperta.

Per misurare la densità reale occorre invece un trattamento di macinazione del campione a polvere fine, in modo da eliminare ogni traccia di porosità chiusa. Gli atomi di elio sono in grado di diffondere in tutti gli spazi liberi possibili, occupando anche il volume che prima era associato alla porosità chiusa. Il valore della densità vera che si ottiene è:

$$\rho_t = \frac{m}{V_g - V_{pa} - V_{pc}} \quad (5.5)$$

dove ρ_t rappresenta la densità vera, mentre V_{pc} è il volume occupato dalla porosità chiusa.

5.1.3 Misure di porosità

Dalle due misure di densità picnometrica si ricavano la porosità aperta e totale in % e la porosità chiusa, che sarà la differenza tra le due, tramite le seguenti formule:

$$\phi_{aperta} = 1 - \frac{\rho_g}{\rho_a} \quad (5.6)$$

$$\phi_{chiusa} = 1 - \phi_{aperta} - \frac{\rho_g}{\rho_t} \quad (5.7)$$

$$\phi_{totale} = \frac{\rho_t - \rho_g}{\rho_t} = \phi_{aperta} + \phi_{chiusa} \quad (5.8)$$

In cui con ϕ_{aperta} si indica la porosità aperta; con ϕ_{chiusa} si indica la porosità chiusa; con ϕ_{totale} si indica la porosità totale.

I valori delle varie porosità permettono di evidenziare le proprietà del campione in esame: la porosità aperta (o efficace) comporta l'interconnessione fisica tra le celle, aumentando la permeabilità del campione al passaggio di gas o fluidi, ed è preferibile per le applicazioni biomedicali oggetto di questa tesi; un indice di porosità chiusa elevato invece è richiesto per applicazioni di isolamento termico e acustico.

5.2 Analisi termica differenziale (DTA) e termogravimetrica (TGA)

Le analisi termiche comprendono un gruppo di tecniche in cui una proprietà fisica di una sostanza viene misurata come una funzione della temperatura, mentre il materiale da

investigare viene sottoposto ad una rampa termica controllata. Nell'analisi termica differenziale (DTA, *differential thermal analysis*) si misura la differenza tra la temperatura del campione e quella di un materiale di riferimento sottoposto allo stesso programma di riscaldamento (o raffreddamento). Il riferimento deve essere termicamente inerte, cioè non subire trasformazioni nell'intervallo di temperatura esplorato. Le due sostanze sono poste in un forno a resistenza elettrica e le temperature sono misurate mediante termocoppie. Quando la temperatura raggiunge un valore per cui il campione subisce una trasformazione con scambio termico, il temporaneo sbilanciamento tra le temperature del campione e del riferimento è registrato nel termogramma come picco (negativo se il processo è endotermico, positivo se esotermico). Si studiano così transizioni di stato o reazioni chimiche con scambi termici con l'ambiente. Prima di effettuare la misura su un campione è necessario effettuare una baseline dello standard.

L'apparecchiatura per l'analisi termica differenziale è composta da:

- Un contenitore per il campione e uno per lo standard, normalmente in allumina, che poggiano su alcune termocoppie, il cui compito è quello di rilevare differenze di temperatura durante il trattamento;
- Gli elementi riscaldanti;
- Un sistema per il controllo della temperatura;
- Un sistema per la registrazione dei dati, che converte il segnale elettrico inviato dalle termocoppie in un database.

È di fondamentale importanza che gli elementi riscaldanti siano in grado di mantenere la temperatura omogenea in tutta la camera, in modo che i due crogioli si trovino effettivamente alla stessa temperatura; inoltre devono essere in grado di modificare repentinamente tale valore in risposta alle indicazioni fornite dal programma di controllo. Dall'altra parte il sistema di registrazione dei dati deve avere un livello di acquisizione molto elevato (nell'ordine dei KHz) per riprodurre variazioni rapide del *set-up*.

I dati forniti da un'analisi DTA restituiscono dei valori indicativi sulle temperature di trasformazione, indicati con picchi endo- o eso-termici, ma non devono essere presi come riferimenti assoluti. Infatti i trattamenti effettuati su polveri normalmente non sono rappresentativi per campioni massivi, in quanto l'ambiente esterno, la composizione e la superficie specifica delle polveri sono tutti parametri che influenzano la temperatura a cui avvengono le transizioni osservabili in una curva DTA. Anche la velocità di riscaldamento ha una rilevanza importante ai fini del risultato perché da questa dipendono le trasformazioni durante il riscaldamento del campione.

Normalmente una curva DTA è composta da una serie di picchi esotermici o endotermici a seconda che si osservino delle emissioni o degli assorbimenti di calore diversi rispetto allo standard utilizzato (Figura 5.2). Poiché la termocoppia non è posta in contatto con il provino,

bisogna considerare un certo ritardo tra la temperatura a cui si osserva il picco ed il valore reale a cui la trasformazione avviene.

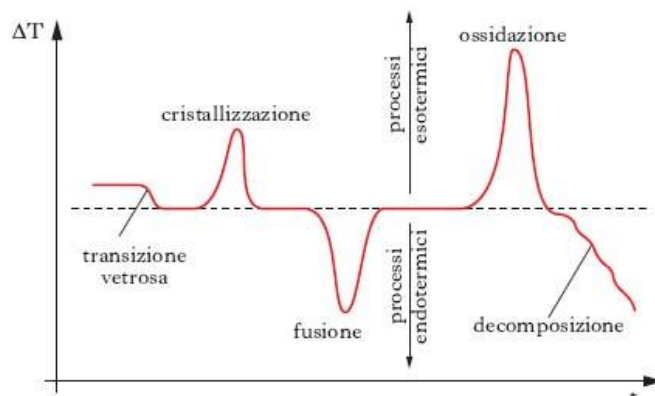


Figura 5.2: principali fenomeni rilevati in seguito ad analisi DTA eseguita su campioni polimerici.

L'analisi termo-gravimetrica (TGA) consiste invece nella misura continua della massa del campione durante il suo riscaldamento. Questa analisi permette di valutare la stabilità termica del campione analizzato e la temperatura alla quale avvengono eventuali decomposizioni: il limite della misura è ovviamente quello di poter analizzare solo trasformazioni che coinvolgono variazioni nella massa del campione.

Risulta sempre conveniente accoppiare nello stesso riscaldamento le analisi DTA e TGA, in modo da rendere complementari i risultati delle due misure. Nello svolgimento di questo lavoro di tesi sono state condotte analisi in aria con uno strumento DTA/TGA STA409 (Netzsch GmbH, Selb, Germania).

5.3 Diffrazione a raggi-X

La diffrazione ai raggi X è attualmente una delle tecniche più efficaci per lo studio dei materiali cristallini. Essa si basa sull'indagine delle interazioni tra radiazioni elettromagnetiche ad alta energia (raggi X) ed il reticolo atomico del materiale in esame.

I raggi X hanno lunghezze d'onda ($\lambda = 0.5 \div 2.5 \text{ \AA}$) molto inferiori alla luce visibile ($\lambda = 6000 \text{ \AA}$) e vengono prodotti in un tubo radiogeno sotto vuoto, in seguito al passaggio di corrente in un filamento di tungsteno, che per effetto termoionico emette elettroni. Il filamento è posto tra due elettrodi ad alta differenza di potenziale con conseguente accelerazione degli elettroni dal catodo (elettrodo) all'anodo (bersaglio). Questi colpiscono l'anodo con elevata energia cinetica e all'impatto vengono prodotti raggi X che si irradiano in tutte le direzioni. Quasi tutta l'energia cinetica viene convertita in calore mentre circa l'1 % viene trasformata in radiazione contenente diverse lunghezze d'onda differenti.

Per bassi valori di tensione applicata la radiazione X viene prodotta in uno spettro di frequenze continuo (radiazione bianca); per tensioni superiori ad un valore critico tipico del bersaglio, appaiono dei picchi ristretti per determinati valori della lunghezza d'onda,

sovrapposti allo spettro continuo. L'origine di queste linee è dovuta agli atomi del bersaglio: se uno degli elettroni bombardanti ha energia sufficiente per espellere un elettrone del livello energetico K, uno degli elettroni più esterni cade immediatamente nello spazio rimasto disponibile e l'atomo emette un quanto di energia di lunghezza d'onda definita. In base al materiale usato come bersaglio, quindi, si avrà un fascio di raggi X con una certa lunghezza d'onda.

I raggi X possono interagire con la materia in due modi:

- La materia può assorbire i raggi X in seguito alla loro interazione con gli atomi, che determinano transizioni allo stato eccitato ed un aumento di temperatura del materiale. Nel caso dei raggi X, l'elevata energia con cui colpiscono la materia provoca l'espulsione di un elettrone per effetto fotoelettrico da parte dell'atomo con cui interagiscono;
- La radiazione viene diffusa dalla materia (*scattering*) e le onde ad essa associate variano la loro direzione di propagazione. Tale variazione può avvenire con uno scambio di energia tra fotoni e materia (*scattering* anelastico) o senza scambio di energia (*scattering* elastico).

La tecnica di diffrazione di raggi X si basa sullo *scattering* elastico coerente, in quanto la diffusione nasce dalla somma coerente di tutte le onde elettromagnetiche diffuse dagli atomi che si trovano su vari piani atomici. Per manifestarsi richiede la presenza di un ordine a lungo raggio nella struttura del materiale analizzato.

Quando il fascio di raggi X incontra il reticolo cristallino, le onde diffratte possiedono un'intensità che è variabile a seconda dell'interferenza che avviene lungo la direzione percorsa dal fascio. L'interferenza è un fenomeno legato alla natura ondulatoria delle onde che vengono a coincidere nel tempo e nello spazio e può essere di tre tipi:

- Interferenza costruttiva: l'onda risultante avrà un'intensità doppia grazie all'assenza di sfasatura che porta a sommare l'intensità delle due onde;
- Interferenza intermedia: la sfasatura è compresa tra 0 e $\lambda/2$ e da questa dipenderà il calo di intensità;
- Interferenza distruttiva: le onde si trovano in opposizione di fase e l'onda risultante sarà nulla.

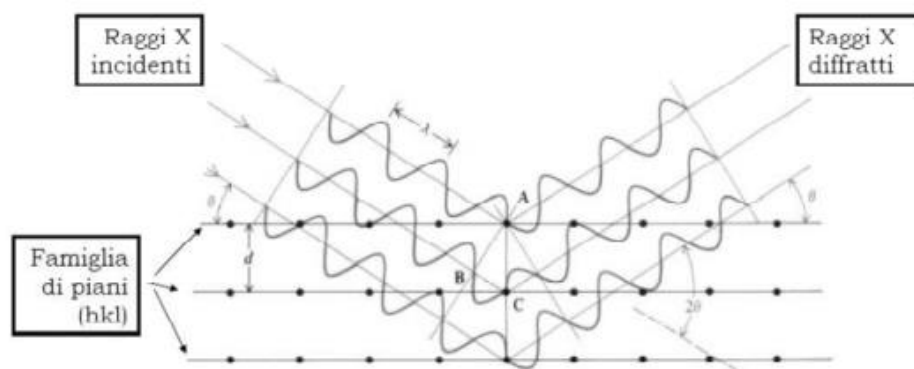


Figura 5.3: Riflessione alla Bragg dei raggi incidenti un reticolo cristallino.

Nel reticolo cristallino, gli atomi fungono da sorgenti secondarie di radiazione, la quale darà interferenza costruttiva se è verificata la relazione (legge di Bragg):

$$n \lambda = 2 d_{hkl} \sin\theta \quad (5.9)$$

dove n è l'ordine della diffrazione (tipicamente solo quello per $n = 1$ è apprezzabile), λ la lunghezza d'onda della radiazione monocromatica incidente, d la spaziatura dei piani cristallografici, θ l'angolo di incidenza. Una famiglia di piani reticolari, quindi, sarà in grado di produrre una riflessione costruttiva dei raggi X lungo le direzioni dettate da tale legge.

Per la caratterizzazione dei campioni in laboratorio, nel corso dell'attività sperimentale, si è utilizzato un diffrattometro *Bruker AXS D8 Advance* (*Bruker, Germania*). La geometria del dispositivo non è quella classica di Bragg-Brentano, detta configurazione $\theta/2\theta$, nel quale ad ogni spostamento del porta campioni di uno *step* angolare $\Delta\theta$ corrisponde uno *step* angolare del contatore di $2\Delta\theta$, ma viene utilizzata un'apparecchiatura con configurazione Bragg-Brentano θ/θ , nella quale il porta campioni con la polvere del materiale da indagare rimane fisso al centro, mentre il tubo radiogeno e il rivelatore sono in movimento contemporaneo e con lo stesso incremento angolare $\Delta\theta$ rispetto all'orizzontale.

La sorgente utilizzata dallo strumento presenta un anodo in rame: la radiazione utilizzata è la $\text{CuK}\alpha$, ovvero quella relativa alla transizione $\text{K}\alpha$ del rame ($\lambda = 1.541874 \text{ \AA}$). La tensione viene impostata ad un valore di 40 kV, con un'intensità di corrente elettrica di 40 mA.

Per effettuare le analisi, le polveri finemente macinate vengono distribuite sull'apposito porta campioni in alluminio, cercando di rendere la superficie omogenea e quanto più piana possibile; se così non fosse si potrebbe incorrere nei tipici errori metodologici dell'analisi XRD di disomogeneità delle particelle e/o orientazione preferenziale delle particelle.

Nelle analisi sperimentali sono state eseguite misurazioni nell'intervallo 2θ compreso fra 10° e 70° con un incremento di 0.05° ogni 2 secondi. Il diffrattogramma che si ottiene è dato dall'intensità dei raggi riflessi rispetto all'angolo di diffrazione 2θ e si presenta come una serie di picchi: in generale, dalla posizione dei picchi è possibile risalire alle fasi presenti, e con un'analisi più approfondita di intensità e forma degli stessi si ricavano la composizione

quantitativa, la dimensione dei cristalli, etc. L'identificazione delle fasi cristalline è stata effettuata con il supporto del database di *patterns* cristallografici *PDF-2* (*ICDD-International Centre for Diffraction Data, Newtown Square, PA*) e del programma *Match!* (*Crystal Impact GbR, Bonn, Germania*).

5.4 Microscopio elettronico a scansione (SEM) e analisi EDS

SEM è l'acronimo di "*Scanning Electron Microscope*", che è un tipo di microscopio elettronico; esso non sfrutta la luce come sorgente di radiazione, ma un fascio elettronico che colpisce il provino. Dal campione vengono emesse numerose particelle fra le quali gli elettroni secondari, i quali vanno a collidere su di un particolare rivelatore che li trasforma in impulsi elettrici.

Il segnale creato dagli elettroni secondari viene inviato ad uno schermo dove viene eseguita una scansione della superficie del provino: il risultato è un'immagine in scala di grigi con caratteristiche simili a quelle di una normale immagine fotografica.

La struttura di un microscopio elettronico è piuttosto complessa e presenta una serie di elementi fondamentali:

- Una sorgente di elettroni ed una colonna in alto vuoto attraverso cui il fascio elettronico è accelerato (cannone elettronico);
- Una serie di lenti elettromagnetiche a condensatore che regolano il diametro del fascio per focalizzarlo sul campione;
- Una serie di aperture, costituite da microfori su un film metallico, attraverso le quali passa il fascio prima di colpire il campione;
- Controllo sulla posizione del campione lungo i tre assi principali e sull'asse di rotazione del provino stesso;
- Un'area di interazione tra fascio e campione che genera numerosi tipi di segnale e che viene processata per restituire immagini o spettri.

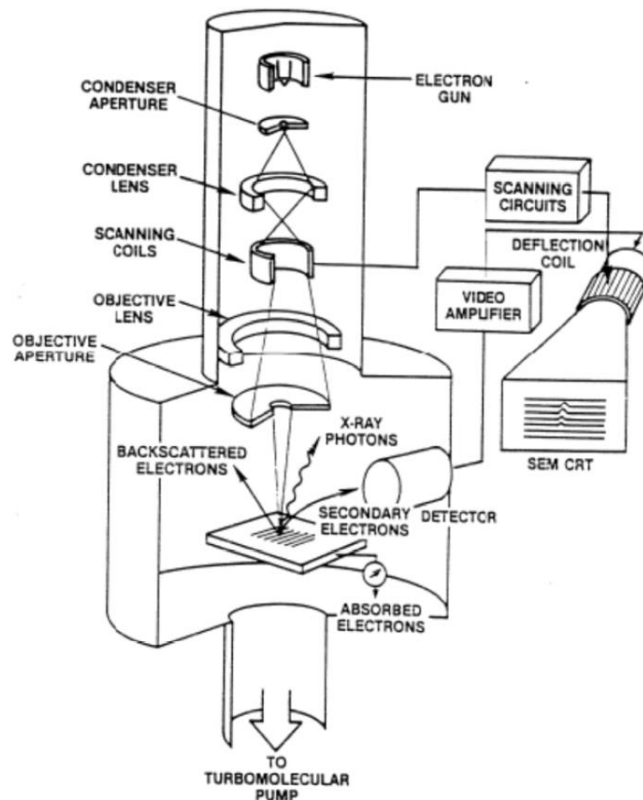


Figura 5.4: Schematizzazione di un microscopio elettronico a scansione (SEM).

I microscopi di questo genere possono avere diverse tipologie di cannone elettronico, il cui requisito è quello di garantire un fascio stabile con energia regolabile. Esistono tre sorgenti principali: la sorgente in tungsteno (W), in esaboruro di lantanio (LaB_6) oppure quelle ad emissione di campo FEG (*Field Emission Gun*).

Lo strumento utilizzato monta un cannone a sorgente FEG (*FEI Quanta 200 ESEM, Eindhoven, Paesi Bassi*). Questo tipo di cannone sfrutta il fenomeno quantistico dell'effetto tunnel, scoperto nel 1920 da Fowler e Nordheim. Un catodo FEM consiste in una punta di tungsteno con un diametro inferiore ai 100 nm che consente di instaurare una differenza di potenziale con un primo anodo: si sviluppa un campo elettrico, concentrato sulla punta metallica, che permette l'estrazione di elettroni generando corrente. La differenza di tensione tra la punta ed un secondo anodo determina l'accelerazione degli elettroni; più gli elettroni vengono accelerati lungo la colonna, maggiore è la loro energia cinetica e il loro potere penetrante nel materiale.

Le immagini ottenute con una sorgente FEG sono di qualità superiore rispetto alle sorgenti tradizionali, poiché riescono a garantire un segnale con meno rumore e maggiore luminosità (10^8 A/cm^2), sebbene necessitino di un maggiore grado di vuoto (10^{-11} Torr).

Lo stesso strumento *FEI Quanta 200 ESEM* può effettuare altresì spettroscopia EDS (*Energy Dispersive X-ray Spectrometry*): indica una metodica analitica strumentale che sfrutta l'emissione di raggi X generati da un fascio elettronico accelerato incidente sul campione. Il rilevatore EDS è caratteristicamente rappresentato da un monocristallo di silicio drogato con

litio, rivestito alle due estremità con uno strato conduttivo in oro, mantenuto in alto vuoto e alla temperatura di $-192\text{ }^{\circ}\text{C}$ con azoto liquido. Il cristallo di germanio ad elevata purezza rappresenta una moderna evoluzione più efficiente. Il principio di funzionamento sfrutta la produzione di corrente elettrica, che viene sensibilmente amplificata, generata per interazione tra fotoni e cristallo.

Quando un fascio elettronico incide su un campione gli elettroni degli strati K o L vengono espulsi e il sistema assume una configurazione ad alta energia. A seguito del rilassamento elettronico, si verifica la caduta di un elettrone L in un orbitale libero dello strato K o il ritorno di un elettrone M nel guscio L, occupando un orbitale vuoto; l'emissione di energia può essere di duplice natura: può essere emesso un fotone X alla lunghezza d'onda corrispondente alla transizione elettronica effettuata, oppure può essere emesso un elettrone per effetto Auger.

I rivelatori EDS sono i rivelatori attualmente più utilizzati per la caratterizzazione qualitativa di sostanze solide e l'analisi elementare, con la possibilità di rilevare anche la presenza di elementi in tracce.

5.5 Prove di compressione

Per la valutazione delle caratteristiche meccaniche dei campioni realizzati, si è utilizzato una macchina modello *Instron 1121 UTM* (*Instron, Danvers, MA*) per prove di compressione/trazione.

Si tratta di una macchina dotata di una cella di carico da 10000 N, e nella configurazione per la prova di compressione la macchina si equipaggia con due piatti di acciaio, uno semovibile e l'altro fisso dove si dispone il campione, come si osserva nel dettaglio di Figura 5.5.

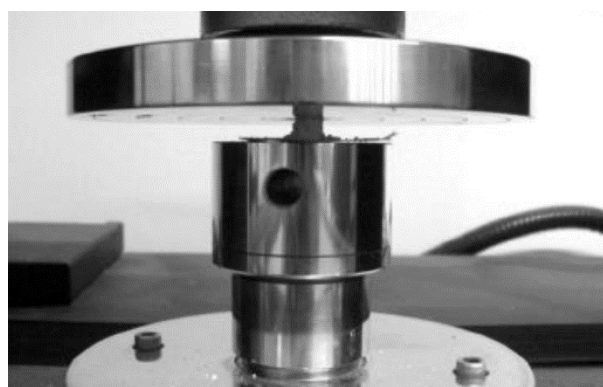


Figura 5.5: Ingrandimento dei piatti circolari fra i quali avviene la compressione nella macchina Instron 1121 UTM.

Essendo i materiali ceramici generalmente di natura fragile, non è possibile ottenere parametri attendibili riguardo la loro resistenza meccanica a trazione come nel caso dei metalli; inoltre, a causa della notevole dispersione di valori ottenibile, risulterebbe poco

affidabile l'analisi di un numero limitato di campioni. La prova in compressione invece corrisponde maggiormente al reale sforzo a cui vengono sottoposti componenti protesici presi in esame in questo lavoro, i quali una volta innestati nell'osso umano devono sorreggere il peso del corpo.

Impostata la velocità di avanzamento della testa, la macchina registra uno sforzo proporzionale allo spostamento imposto. Una cella di carico, posta sulla testa, produce un segnale elettrico di intensità direttamente proporzionale alla forza esercitata sul campione; il segnale viene elaborato e visualizzato sul monitor di un computer in tempo reale.

La deformazione relativa (ε) e lo sforzo di compressione ($\sigma_{comp.}$) a cui vengono sottoposti i provini si possono calcolare conoscendo l'area A della faccia del campione sulla quale agisce il carico, tramite le seguenti equazioni:

$$\sigma_{comp.} = F/A \quad (5.10)$$

$$\varepsilon = (l - l_0)/l_0 = (v \cdot t \cdot 100)/l_0 \quad (5.11)$$

in cui F è la forza misurata dalla macchina, l_0 è l'altezza del campione, v è la velocità di discesa impostata per la traversa, t è il tempo registrato dalla macchina. Esprimendo la forza in N e l'area in mm^2 si ottiene un valore dello sforzo in MPa, mentre esprimendo l'altezza del campione in mm, la velocità di discesa della traversa in mm/min e il tempo in min si ottiene un valore della deformazione adimensionale.

In generale, la resistenza a compressione di un materiale cellulare deriva dalla resistenza a flessione del solido, con un fattore di scala associato alla densità relativa (ρ_r , ovvero il rapporto tra densità della fase porosa e la densità del solido o densità "vera"), in accordo con l'equazione derivata dal modello di Ashby:

- per porosità chiusa: $\sigma_{compr} \approx \sigma_{flex} * [0.2 * (\varphi \cdot \rho_r)^{3/2} + (1 - \varphi) * \rho_r]$ (5.12)

- per porosità aperta: $\sigma_{compr} \approx \sigma_{flex} * [0.2 * (\rho_r)^{3/2}]$ (5.13)

φ rappresenta il fattore di forma, ovvero la frazione di solido sulle pareti della cella ($1-\varphi$ è la frazione di solido sulle facce della cella), σ_{compr} è la resistenza a compressione del materiale poroso, σ_{flex} la resistenza a flessione. Una morfologia a celle chiuse si traduce in un significativo contributo del termine lineare, assente per le schiume a celle aperte o "spugne" ($\varphi = 1$). In ogni caso, nessun materiale cellulare vetroso può essere considerato come situazione ideale a celle chiuse nel suo comportamento meccanico: se le pareti tra due celle chiuse sono esse stesse porose il loro contributo alla resistenza del materiale risulta infatti essere scarso. Inoltre, i materiali porosi di vetro, essendo fragili, sono soggetti ad un effetto dimensionale dovuto a differenze nella distribuzione di fase solida tra celle e facce (inserito nel fattore di forma φ), che permette di avere un incremento della resistenza nel caso di pori piccoli. Infine una porosità non uniforme, sia nella forma che nella distribuzione

all'interno del materiale, porta ad avere un effetto di tensione disomogenea, con fenomeni di intensificazione locale delle tensioni.

Anche una parziale cristallizzazione nelle schiume vetroceramiche fa sì che l'effetto della resistenza a compressione non sia lineare. Se da una parte aumenta la resistenza a flessione della fase solida, dall'altra la cristallizzazione aumenta fortemente la viscosità apparente del vetro, limitando così lo schiumaggio ed ostacolando la formazione di pareti solide e ben definite.

Per una più chiara comprensione del comportamento meccanico dei campioni oggetto di questo studio, si considera la rappresentazione proposta dagli autori Gibson e Ashby per quanto riguarda la deformazione e il cedimento delle schiume cellulari o *scaffolds*.

Il modello offerto dai due autori prevede l'idealizzazione delle schiume a celle aperte come uno sviluppo spaziale continuo di unità cellulari separate da travicelle, le quali possono essere formate da materiale solido o a loro volta da materiale poroso e sono possono subire, a seconda dello sforzo di cui risentono e della natura del materiale, flessione (*bending*), instabilità al carico di punta (*buckling*), rottura fragile (*crushing*), snervamento (*yielding*).

Nel caso di schiume a celle chiuse, il modello rimane valido, con la differenza che le celle adiacenti sono separate l'una dall'altra da pareti di materiale e al loro interno possono esserci gas e/o porzioni di materiale solido. I due casi sono visualizzati in Figura 5.6.

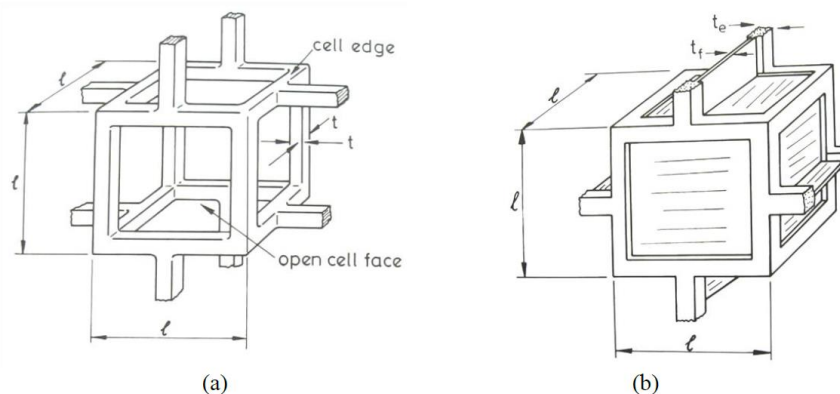


Figura 5.6: Modello Gibson-Ashby per materiali cellulari: a) a celle aperte; b) a celle chiuse.

Gli stessi autori hanno prodotto un modello anche per le curve sforzo-deformazione di queste strutture, riferite a materiali fragili quali sono le schiume e gli *scaffolds* ceramici. Queste curve presentano un andamento caratteristico suddiviso in tre componenti distinte.

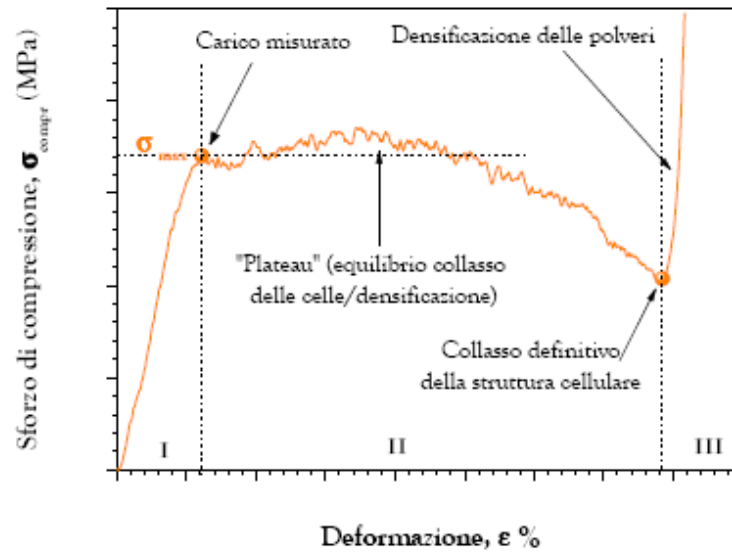


Figura 5.7: Schematizzazione del grafico σ - ϵ in compressione per schiume di tipo elastico-fragile.

Il grafico in Figura 5.7 mostra tre diverse porzioni:

- 1) *Regime lineare elastico:* per bassi valori dello sforzo, il comportamento lineare elastico delle schiume è controllato dalle pareti delle celle. Se la porosità è aperta, le travicelle che nel modello di Ashby collegano una cella all'altra si flettono (*bending*) senza rompersi; se la porosità è chiusa si ha anche uno stiramento delle pareti che separano le celle l'una dall'altra;
- 2) *Plateau:* nel caso in esame delle schiume ceramiche, questa regione a sforzo pressoché costante è associata al collasso delle celle in seguito a fenomeni di frattura fragile (*brittle crushing*), ma si ricorda per completezza che il plateau potrebbe anche essere associato a fenomeni di *buckling* elastico nelle schiume elastomeriche o a fenomeni di snervamento plastico nelle schiume metalliche;
- 3) *Densificazione strutturale:* la regione finale mostra un improvviso e rapido aumento dello sforzo dovuto al quasi completo collasso di tutte le celle; le pareti e i tratti di collegamento tra le celle sono a contatto e quella che viene misurata è la resistenza dei residui di materiale solido, non più la resistenza della schiuma.

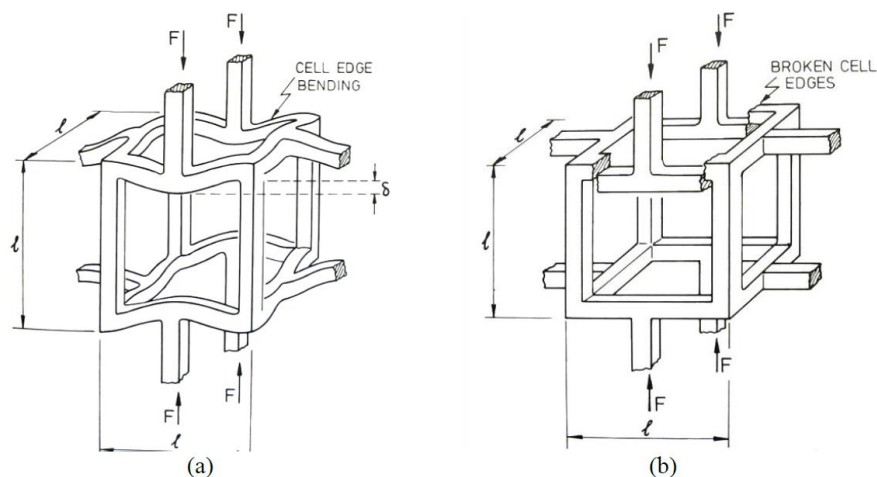


Figura 5.8: Modello di Gibson-Ashby per meccanismi di deformazione-cedimento per schiume a celle aperte: a) bending; b) brittle crushing.

I meccanismi di deformazione e cedimento nominati sono stati visualizzati da Gibson e Ashby come in Figura 5.8: si può vedere la flessione delle celle durante la fase elastica lineare del grafico σ - ϵ e la frattura fragile che avviene durante la fase di plateau.

Nelle prove a compressione di questa tesi, per valutare adeguatamente la resistenza, è stato considerato il valore di stress o F del primo picco della deformazione elastica (*bending*); la cella di carico è stata impostata a 5000N e la sua velocità di avanzamento a 0,5 mm/min.

5.6 Spettroscopia ad infrarossi a trasformata di Fourier (FTIR)

La spettroscopia infrarossa o spettroscopia IR è una tecnica spettroscopica di assorbimento normalmente utilizzata nel campo della caratterizzazione dei materiali per lo studio dei legami chimici. Quando un fotone infrarosso viene assorbito da una molecola, questa passa dal suo stato vibrazionale fondamentale ad uno stato vibrazionale eccitato. L'assorbimento della radiazione infrarossa genera nelle molecole dei moti vibrazionali caratteristici definiti come *stretching* (stiramento) e *bending* (piegamento): il primo dipende dalla variazione delle distanze di legame tra due atomi e può essere simmetrico o antisimmetrico, mentre il secondo si riferisce alla modifica dell'angolo di legame sullo stesso piano o fuori dal piano su cui sono situati gli atomi considerati. Per l'insorgenza di questi moti è necessario un apporto di energia che è fortemente dipendente dalla forza e dalla polarità dei legami tra gli atomi della molecola analizzata, e ciò ne consente l'individuazione.

Nello spettro IR si distinguono due zone: quella dei gruppi funzionali, che si estende da 3800 a 1300 cm^{-1} e comprende bande dovute sia a stiramenti che a deformazioni di gruppi funzionali (es. legami N-H, O-H, C-H, C=C, C=O, ecc.) e la zona delle impronte digitali (*fingerprint*), da 1300 a 650 cm^{-1} , che deve il suo nome alla presenza di bande caratteristiche di ciascuna molecola perché originate da vibrazioni dell'intero scheletro molecolare. Questi

ultimi sono segnali propri, tipici e caratteristici della molecola in questione, ma non utilizzabili analiticamente: permettono infatti che non sia possibile che molecole diverse abbiano lo stesso spettro IR. I picchi caratteristici di gruppi funzionali cadono sempre alle stesse frequenze, a prescindere dalla struttura della molecola in cui il gruppo stesso è presente. L'analisi dello spettro IR è condotta in modo seriale, ovvero prima si osserva se sono presenti nello spettro le bande tipiche dei gruppi funzionali e, con informazioni provenienti dalle altre tecniche spettroscopiche, si cerca di individuare la molecola confrontando i segnali di *fingerprint* della molecola ipotizzata con quelli registrati nello spettro; tale corrispondenza stabilisce la correttezza dell'analisi fatta. In un tipico spettro infrarosso si trova in ascissa una scala di frequenze normalmente espresse in numero d'onda o in lunghezze d'onda con unità di misura il cm^{-1} e in ordinata la percentuale radiale trasmessa, ovvero la trasmittanza.

La spettroscopia IR a trasformata di Fourier o FT-IR si è sviluppata grazie alla computerizzazione del laboratorio strumentale. Il suo principio di base è rappresentato dalla possibilità di cogliere contemporaneamente tutte le frequenze dello spettro IR nel rivelatore, il che rende superflua la scansione della lunghezza d'onda. Questo è possibile trasformando, per mezzo di un interferometro, la radiazione IR policromatica emessa dalla sorgente (istante per istante con la medesima intensità) in un interferogramma, dove l'assorbimento non è più funzione della frequenza, ma del tempo (si passa da dominio delle frequenze a dominio dei tempi). Contrariamente agli spettrofotometri tradizionali quindi, in questa apparecchiatura non si ha un monocromatore a dispersione, ma viene utilizzato l'interferometro di Michelson (Figura 5.9), il quale produce nel corso di una speciale scansione l'interferogramma della sostanza in esame. Dopo il passaggio della radiazione così "trattata" attraverso il campione, l'interferogramma viene trasformato dal calcolatore collegato allo strumento in un tradizionale spettro infrarosso mediante un'operazione matematica, la cosiddetta Trasformata di Fourier. In questa maniera si passa perciò dall'interferogramma, un grafico dello spazio o del tempo, a uno spettro comune, che rappresenta però la variazione dell'intensità del segnale in funzione del numero d'onda (o della lunghezza d'onda) della radiazione. Una sorgente luminosa ad incandescenza emette un raggio luminoso nel campo dell'IR; tale raggio giunge ad uno specchio semiriflettente (*beamsplitter*, un cristallo di KBr rivestito di Germanio) che lo divide in 50% ad uno specchio fisso e 50% allo specchio mobile. I raggi riflessi da questi specchi sono inviati un'altra volta allo specchio semiriflettente il quale ricongiunge i due raggi e li invia al rivelatore. Anche se i due raggi hanno raggiunto il rivelatore congiunti, essi hanno compiuto un diverso cammino ottico: a seconda della differenza del cammino ottico dei due raggi si creano delle interferenze costruttive o distruttive che creano un segnale al rivelatore proporzionale alla differenza di cammino ottico dei due raggi e quindi alla posizione dello specchio mobile in quell'istante. In base al movimento del suddetto specchio tutte le radiazioni monocromatiche contenute

nella luce emessa dalla lampada danno luogo ad un segnale complessivo di interferenza (interferogramma) che contiene in sé le informazioni riguardanti la frequenza e l'intensità della radiazione emessa.

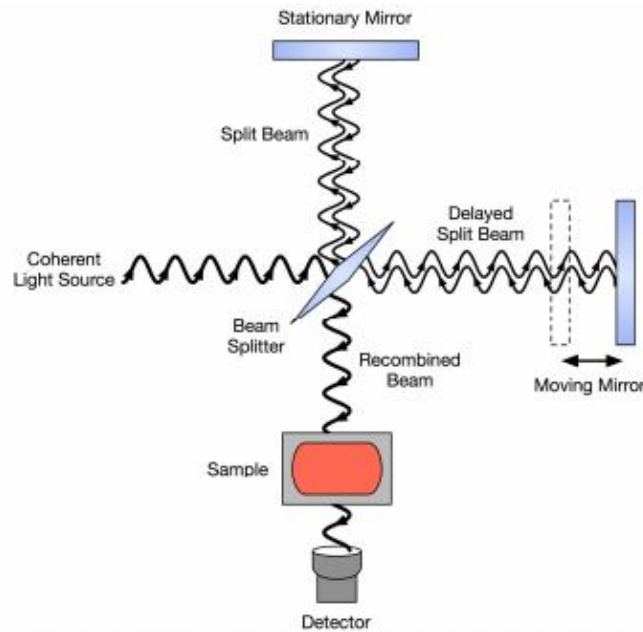


Figura 5.9: struttura interna e schema di funzionamento di un interferometro di Michelson
[<https://biomateriali.files.wordpress.com/2012/12/ftir.pdf>].

Tra i principali vantaggi della FT-IR, che garantisce prestazioni più elevate, vi è l'elevata disponibilità di potenza della sorgente, che si traduce in un rapporto segnale/rumore nettamente migliore rispetto alla classica spettroscopia infrarossa; inoltre i tempi di analisi risultano sensibilmente ridotti, poiché sono necessari solamente alcuni secondi rispetto ai minuti delle tecniche a dispersione.

Capitolo 6

Risultati e Discussione

Vengono riportati i risultati ottenuti in seguito alle misure di caratterizzazione sui campioni realizzati, cercando di ricondurli a particolari caratteristiche chimiche, composizionali, morfologiche e strutturali delle schiume sintetizzate. Si discuteranno per prima cosa i risultati acquisiti dalle analisi dei campioni di Biosilicate®, poi quelli dei campioni di hardystonite, rendendo noti gli aspetti rilevanti emersi in fase sperimentale.

6.1 Campioni di Biosilicate®

Per la realizzazione dei campioni in Biosilicate® si è seguita la procedura sperimentale esposta al paragrafo §4.3. Per indagare l'influenza dei vari parametri di processo sulla dimensione della porosità, sulla morfologia cellulare e sulle proprietà meccaniche, è stato variato:

- il rapporto di fase solida all'interno della soluzione di partenza, ovvero 55% o 60%;
- il tempo di pre-polimerizzazione in stufa prima della schiumatura, fino ad 1 ora;
- il tempo e la temperatura di *curing*, da 24 a 48 ore e dai 40°C ai 75°C;
- la velocità di riscaldamento durante il trattamento termico.

La densità finale della schiuma infatti può essere facilmente controllata variando il rapporto tra fase solida e liquida in soluzione: un aumento delle polveri ceramiche comporterà un aumento nella densità della struttura una volta sinterizzata (Figura 6.1). Inoltre un maggiore apporto di componente solida può far diminuire il ritiro volumetrico del “verde” nella fase di essiccazione e cottura, comportando una minore insorgenza di tensioni sul pezzo. La percentuale di fase solida è direttamente proporzionale alla capacità di gelificazione delle miscele; infatti il conseguente aumento della viscosità della sospensione è coerente con una diminuzione del diametro dei pori, passando da un contenuto solido in peso minore ad uno maggiore. Tuttavia un'eccessiva presenza di solido aumenta di molto la viscosità della soluzione; per ottenere una *slurry* ceramica fluida con elevate percentuali di solido è necessario aggiungere un opportuno disperdente.

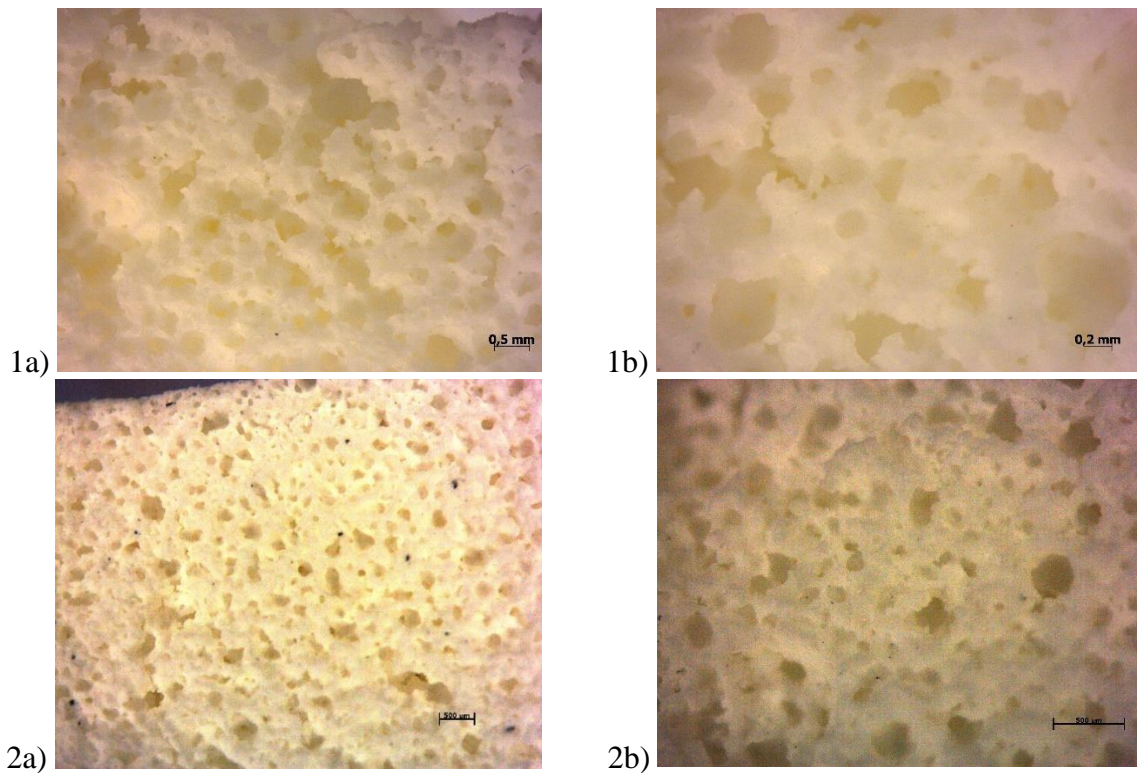


Figura 6.1: immagini allo stereomicroscopio ottico di campioni di BioBra: 1) 55%w, pre-pol. 1h, 2)60%w, pre-pol 1h, ceramizzati con trattamento termico 0-10-300-5-700-5-1000°C.a) ingrandimento 1X; b) ingrandimento 2X.

Aumentando il tempo di pre-polimerizzazione è stata favorita la gelificazione della sospensione ed il rafforzamento dei legami molecolari costituenti il gel: ciò si ripercuote inevitabilmente sulla morfologia cellulare, che vede una diminuzione dimensionale delle celle ed una maggiore densità della schiuma, ma anche migliore resistenza meccanica (Figura 6.2).

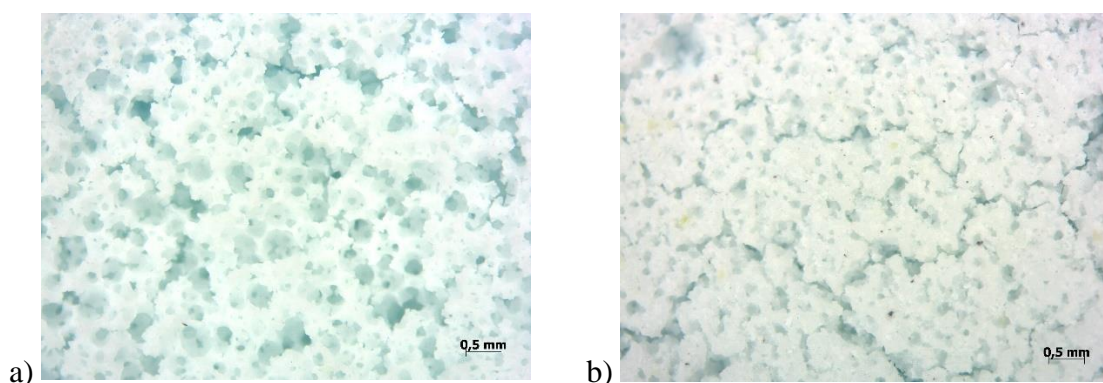


Figura 6.2: immagini allo stereomicroscopio ottico di due campioni di BioAmo 55%w, ceramizzati con trattamento termico 0-10-300-5-700-10-1000°C, mantenuti in stufa a 75°C per la pre-polimerizzazione per tempi diversi: a)0 min, b) 30 min. Ingrandimento 1X.

La temperatura di *curing post-foaming* risulta fondamentale nel conferire al campione allo stato di “verde” buona resistenza, per permetterne la lavorabilità e la maneggiabilità. Per il Biosilicate® la temperatura iniziale di 75°C comportava un progressivo indurimento

stratificato nella schiuma gelificata, che ne comprometteva la coesione; i campioni risultavano così poco coesi e particolarmente friabili. Si è osservato che trattando i campioni ad una temperatura inferiore (40°C), tale fenomeno non persisteva ed il “verde” possedeva buona resistenza, probabilmente a causa del minor stress termico imposto al provino. Tuttavia, affinché avvenisse la completa solidificazione della schiuma, è stato necessario aumentare il tempo di mantenimento a tale temperatura da 24 a 48 ore.

Infine si è deciso di sottoporre i campioni al trattamento termico di ceramizzazione con velocità di riscaldamento diverse, da $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ a $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$, per indagare come interagiscono reciprocamente i processi di sinterizzazione e cristallizzazione al variare di tale parametro e ricercare la velocità ottimale per la sintesi delle schiume. Si è potuto osservare (Figura 6.3) che fino a rampe di temperatura di $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ i prodotti finali apparivano coesi, resistenti e con ritiro dimensionale poco marcato, sintomo che il processo di sinterizzazione risultava predominante. Per velocità di riscaldamento superiori ai $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ invece, i componenti si mostravano criccati, deformati e friabili, poiché la cristallizzazione spinta indotta dal rapido trattamento termico aveva inibito i meccanismi di flusso viscoso necessari per la sinterizzazione. Per tale motivo si è deciso di procedere con un trattamento termico che ricadesse nel primo intervallo di velocità, privilegiando la sinterizzazione rispetto alla cristallizzazione, anche perché quest’ultima riduce lo scambio ionico coi tessuti dell’organismo e di conseguenza la bioattività del materiale.

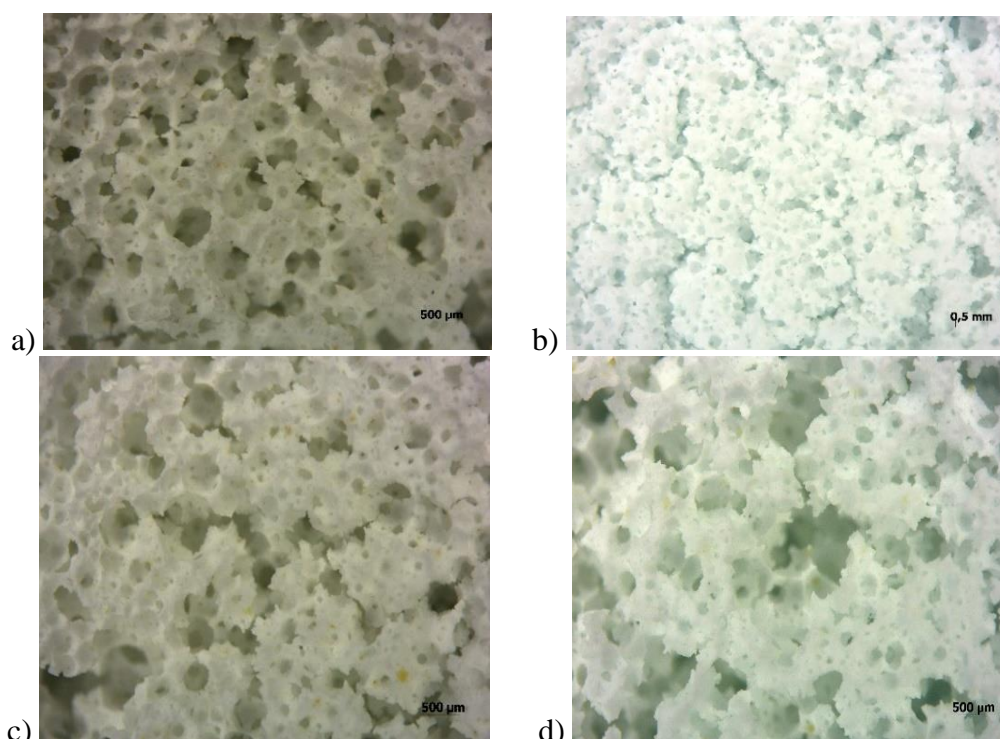


Figura 6.3: immagini allo stereomicroscopio ottico di campioni di BioAmo 60%w, 0h pre-pol., sottoposti a differenti trattamenti termici: a) 0-10-300-5-700-5-1000°C, b) 0-10-300-5-700-10-1000°C, c) 0-10-300-5-700-15-1000°C, d) 0-10-300-5-700-20-1000°C. Ingrandimento 1X.

Come accennato nel paragrafo §4.1, la natura cristallina del BioBra risultava ostacolare i processi di attivazione alcalina e la conseguente gelificazione, e di sinterizzazione per flusso viscoso durante la fase di ceramizzazione, condizionando negativamente le proprietà meccaniche; inoltre la morfologia cellulare appariva sì interconnessa e mesoporosa, ma non gerarchica, e dunque poco utile per gli utilizzi previsti. Si è dunque deciso di sintetizzare un vetro che avesse una componente amorfa molto rilevante, a partire dalla composizione nota del Biosilicate®, che potesse superare i limiti evidenziati dal materiale precedente. Come era possibile attendersi, le schiume ottenute a partire dal BioAmo (Figura 6.4) hanno condotto ad una migliore gelificazione della soluzione, a uno stadio “verde” resistente e, dopo la ceramizzazione, a schiume ceramiche con porosità gerarchica ed interconnessa, con proprietà meccaniche maggiori e minori difetti dovuti al ritiro dimensionale.

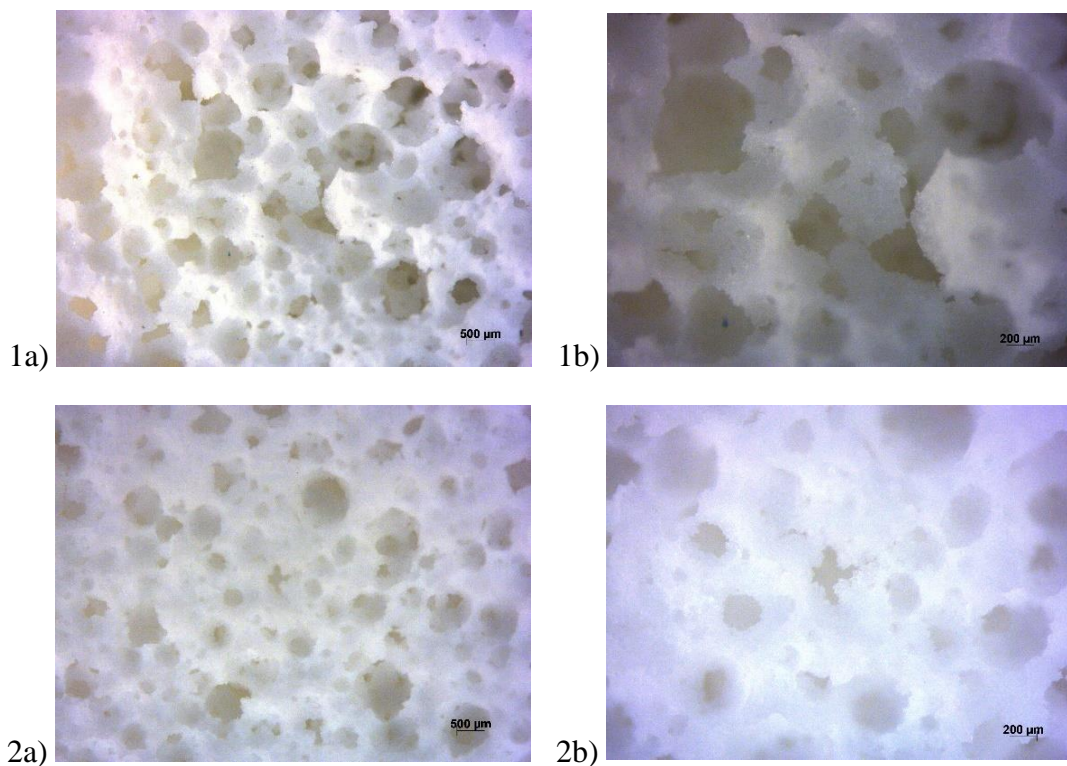


Figura 6.4: immagini allo stereomicroscopio ottico di campioni di BioAmo: 1) 60%w, pre-pol. 0h, 2) 55%, pre-pol. 0h, ceramizzati con trattamento termico 0-10-300-5-700-5-1000°C. a) ingrandimento 1X; b) ingrandimento 2X.

6.1.1 Analisi DTA

Si riportano in Figura 6.5 le curve di analisi termica differenziale (DTA) eseguite su campioni di BioBra allo stato di polvere di vetro di partenza e in quello di “verde” attivato.

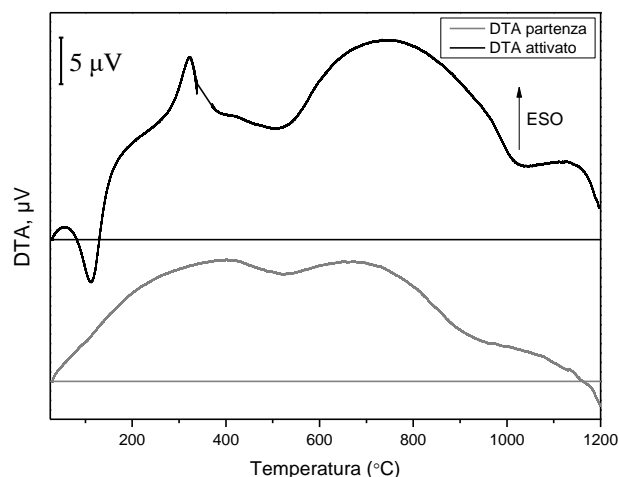


Figura 6.5: analisi DTA per campioni di BioBra allo stato di polveri vetrose di partenza e di "verde" attivato.

Si nota come sia presente nella curva del campione attivato un primo picco endotermico che si sviluppa per temperature comprese tra i 100 e i 150°C, dovuto al rilascio di molecole d'acqua assorbite fisicamente sulla superficie delle particelle. Si ritrova un picco esotermico attorno tra i 250 ed i 500°C, causato dalla bruciatura del tensioattivo aggiunto alla sospensione gelificata nella fase di schiumaggio, cui ne segue uno endotermico generato dalla liberazione di molecole d'acqua da parte dei composti idrati presenti, osservabile fino ai 600°C. Infine è evidente il picco di cristallizzazione del materiale, la quale è massima attorno agli 850°C.

6.1.2 Analisi FTIR

Per ottenere una conferma alle ipotesi fatte per cercare di spiegare le differenze di comportamento e di proprietà tra BioBra e BioAmo, viene proposta l'analisi degli spettri di assorbimento infrarosso, eseguita utilizzando uno spettroscopio infrarosso in trasformata di Fourier (FTIR).

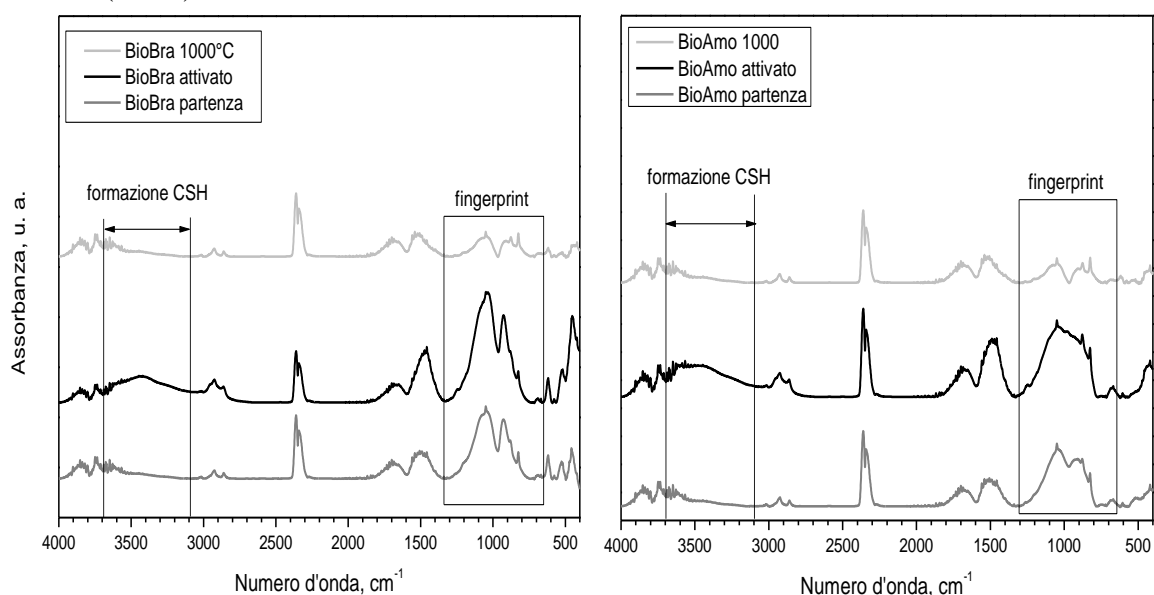


Figura 6.6: confronto tra gli spettri FTIR dei campioni di BioBra a sinistra e BioAmo a destra.

Come emerge da Figura 6.6, vi sono due sostanziali differenze tra i due materiali:

- La presenza di una componente cristallina predominante nel BioBra, che non è presente nel BioAmo: nella zona di *fingerprint* sono molto evidenti dei picchi ben definiti nei campioni di BioBra in polvere iniziale e in quelli attivati, mentre i rispettivi picchi che compaiono nello spettro del BioAmo appaiono smussati e poco delineati a causa della sua natura prevalentemente amorfa. Lo spettro dei campioni dopo il trattamento termico risulta molto simile per i due materiali, sintomo che la componente amorfa del BioAmo è cristallizzata; nel BioBra si osserva una diminuzione dell'intensità dei picchi, a causa di una ricristallizzazione che ha condotto ad una dimensione dei domini cristallini mediamente minore di quella di partenza.
- Una banda relativa al rilascio di ioni Ca, che porta alla formazione di composti idrati insolubili (CSH) responsabili del rafforzamento del gel tobermoritico nella soluzione dopo attivazione alcalina, che appare più evidente nei campioni attivati di BioAmo, proprio per la sua struttura amorfa; ciò conferisce alla sospensione gelificata un maggior grado di resistenza, che si ritrova anche nel “verde” e nel ceramizzato, portando alla sintesi di schiume con migliori proprietà meccaniche.

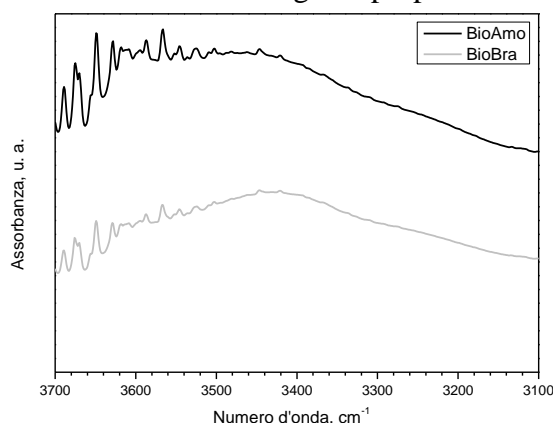


Figura 6.7: sovrapposizione degli spettri FTIR dei campioni di BioBra e BioAmo nell'intervallo 3700-3100 cm^{-1} .

6.1.3 Misure di densità e porosità

I risultati ottenuti a seguito dell'analisi della densità dei campioni, ricavati come esplicitato al paragrafo §5.1, vengono riportati di seguito.

Come si può notare vi è una notevole influenza del tempo di mantenimento in stufa alla temperatura di 75°C, per la fase di pre-polimerizzazione, sulla densità geometrica della schiuma ceramizzata. Infatti il progressivo rafforzamento della soluzione gelificata comporta un considerevole aumento di densità a parità di volume.

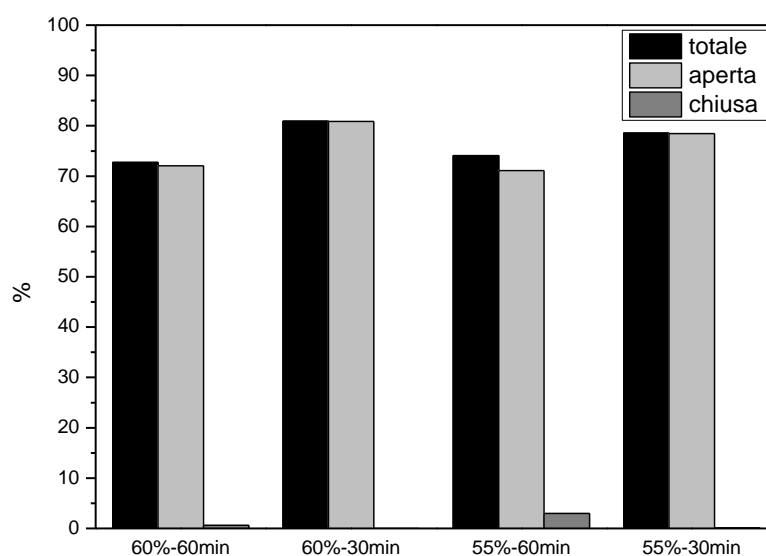
Tabella 6.1: analisi della densità per campioni di BioBra.

BioBra					
% w	Pre-pol. [min]	TT [°C/min]	ρ geom. [g/cm ³]	ρ app. [g/cm ³]	ρ true [g/cm ³]
60	60	0-10-300-5-700-5-1000	0.769±0.010	2.754±0.059	2.818±0.002
60	30	0-10-300-5-700-5-1000	0.554±0.008	2.895±0.038	2.898±0.004
55	30	0-10-300-5-700-5-1000	0.601±0.032	2.784±0.041	2.7986±0.003
55	60	0-10-300-5-700-5-1000	0.671±0.018	2.328±0.076	2.594±0.008

Tabella 6.2: analisi della densità per campioni di BioAmo.

BioAmo					
% w	Pre-pol. [min]	TT [°C/min]	ρ geom. [g/cm ³]	ρ app. [g/cm ³]	ρ true [g/cm ³]
60	0	0-10-300-5-700-5-1000	0.546±0.008	2.828±0.026	2.853±0.007
60	30	0-10-300-5-700-5-1000	0.725±0.004	2.774±0.003	2.812±0.002
55	0	0-10-300-5-700-5-1000	0.534±0.006	2.727±0.011	2.895±0.004
55	30	0-10-300-5-700-5-1000	0.613±0.004	2.733±0.002	2.754±0.002

Dalle analisi della porosità, la cui procedura è stata esplicitata al paragrafo §5.1, si può identificare la morfologia cellulare delle schiume sintetizzate, distinguendo tra porosità interconnessa (aperta) e chiusa, oltre a calcolare la porosità totale del campione. I valori ricavati dalle analisi vengono riportati di seguito sotto forma di istogrammi.

**Figura 6.8:** istogramma relativo alla porosità dei campioni di BioBra analizzati.

Dalla Figura 6.8 si nota come tutti i campioni di BioBra presentano un grado di porosità superiore al 70%, indipendentemente dalla frazione iniziale di solido e dal tempo di pre-polymerizzazione. Si osserva inoltre come la porosità sia quasi completamente interconnessa,

sintomo che il trattamento termico non ha alterato la morfologia cellulare presente nel campione allo stato di “verde”. La Figura 6.9 evidenzia come in tutti i campioni di BioAmo analizzati sia stata rilevata una porosità superiore al 75%, anche in questo caso quasi completamente aperta; vi è una differenza della percentuale di fase porosa di circa il 10% se si considera il diverso tempo di pre-polimerizzazione. Si è dunque dimostrato come il trattamento prolungato *pre-foaming* influenzi la fase cellulare della schiuma; questa variabilità può risultare di grande importanza per modificare la struttura del componente, in corrispondenza alle diverse applicazioni possibili.

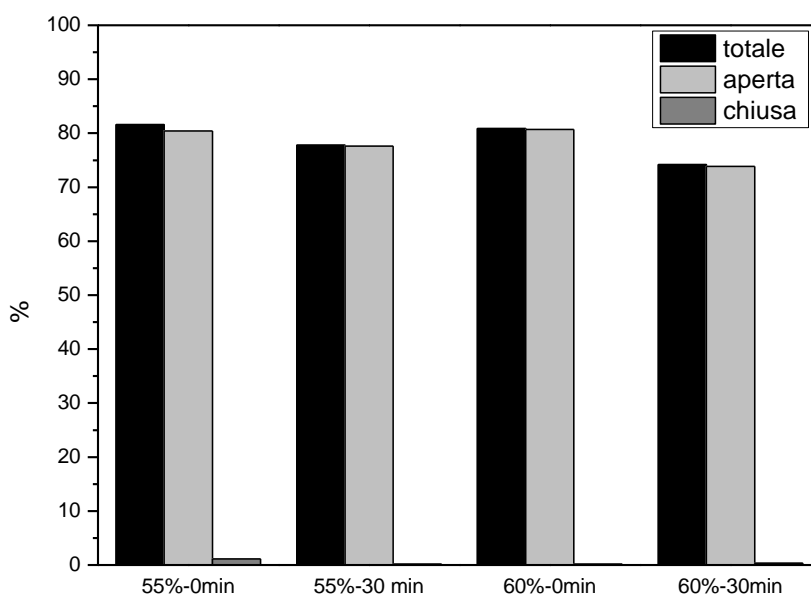


Figura 6.9: istogramma relativo alla porosità dei campioni di BioAmo analizzati.

Si può dunque affermare che è stata raggiunta la percentuale di fase cellulare richiesta per le applicazioni biomedicali per cui sono state sintetizzate le schiume oggetto di questo lavoro di tesi. In seguito verrà valutata in modo più approfondito la dimensione delle celle, per verificare l'effettiva riuscita del processo di sintesi.

6.1.4 Resistenza a compressione

I materiali cellulari presentano un andamento peculiare della curva di resistenza a compressione nel grafico sforzo-deformazione, del tipo riportato in Figura 5.7. Dopo un primo picco principale che definisce la frattura, si susseguono in serie altri picchi minori dovuti all'impaccamento delle celle che consentono al componente di resistere anche per carichi superiori prima del cedimento definitivo.

I valori ricavati dalle analisi di resistenza a compressione eseguite vengono riportati di seguito.

Tabella 6.3: proprietà meccaniche dei campioni di BioBra dopo trattamento termico 0-10-300-5-700-5-1000.

BioBra				
% w	Pre-pol. [min]	ρ_{relativa} [g/cm ³]	σ_{compr} [MPa]	σ_{flex} [MPa]
55	30	0.191	0.764	45.762
55	60	0.246	1.008	33.745
60	30	0.215	1.210	60.388
60	60	0.258	1.411	45.436

La Tabella 6.3 evidenzia le criticità rilevate per la sintesi delle schiume vetroceramiche a partire dal Biosilicate®: la presenza di una fase cristallina non consente al compatto polverulento allo stato di “verde” di sintetizzare in maniera soddisfacente e solamente per lunghe durate della fase di pre-polimerizzazione le schiume raggiungono la resistenza a compressione necessaria per le applicazioni *low-bearing* proposte in questa tesi, aumentandone tuttavia la quantità di porosità chiusa e la densità.

Tabella 6.4: proprietà meccaniche dei campioni di BioAmo dopo trattamento termico 0-10-300-5-700-5-1000.

BioAmo				
% w	Pre-pol. [min]	ρ_{relativa} [g/cm ³]	σ_{compr} [MPa]	σ_{flex} [MPa]
55	0	0.184	1.653	95.319
55	30	0.222	2.502	117.826
60	0	0.191	1.702	96.134
60	30	0.262	2.774	109.743

Nel caso del BioAmo si può osservare come i valori di densità relativa siano decisamente bassi, segno di una notevole percentuale di fase porosa. Inoltre si riscontrano valori di resistenza a compressione superiori al valore di 1MPa, che era stato posto come limite inferiore per le applicazioni biomedicali delle schiume. Infatti, per percentuali di porosità superiori all’80%, si ritrovano in letteratura valori di resistenza a compressione che non superano i 2.5 MPa per schiume vetroceramiche realizzate con metodo *sol-gel* e processo fusorio. In particolare, i campioni che hanno subito una prolungata fase di pre-polimerizzazione sembrano condurre a ceramici con resistenza maggiore rispetto a quelli che non hanno subito questo step procedurale, per la superiore densità e capacità di gelificazione della sospensione iniziale; al contrario, la differente concentrazione di fase solida nella miscela di partenza non sembra influire particolarmente, dato che la frazione solida utilizzata era già stata ottimizzata in studi precedenti. È interessante notare i valori

della resistenza a flessione delle schiume ceramizzate: solitamente i materiali vetrosi *bulk* di buona qualità hanno una resistenza a flessione dell'ordine dei 100 MPa, mentre composizioni ottimizzate di vetroceramiche raggiungono i 200 MPa. Nel caso dei campioni esaminati, le schiume prodotte a partire dal BioBra posseggono una resistenza a flessione inferiore rispetto a quelle di BioAmo, che non raggiunge comunque i valori presenti in letteratura per i materiali in *bulk*: ciò può ricondursi alla presenza di porosità anche all'interno degli *struts* delle celle, che ne limitano le caratteristiche meccaniche, ma sono da ricercare per le bio-applicazioni a cui sono destinati i componenti porosi. La differenza di comportamento tra le due tipologie di schiume sintetizzate, è dovuta alla natura cristallina del BioBra, che ostacola la formazione di un flusso viscoso nel processo di sinterizzazione; dunque i difetti dovuti al ritiro volumetrico indotto dalla solidificazione prima e dal trattamento termico di ceramizzazione poi, oltre che al *burn-out* dei composti organici e di quelli idrati presenti nel campione "verde", persistono nel prodotto finale, comportandone la diminuzione delle proprietà meccaniche; la prevalente quantità di fase amorfa presente nel BioAmo infatti permette di microsaldare i possibili difetti che possono insorgere durante il *gel casting* e la sinter-cristallizzazione.

6.1.5 Analisi XRD

Per identificare le fasi cristalline che si sono formate dopo il trattamento termico di sinter-cristallizzazione sono state eseguite delle analisi al diffrattometro a raggi X sulle polveri vetrose iniziali e sul campione ceramizzato.

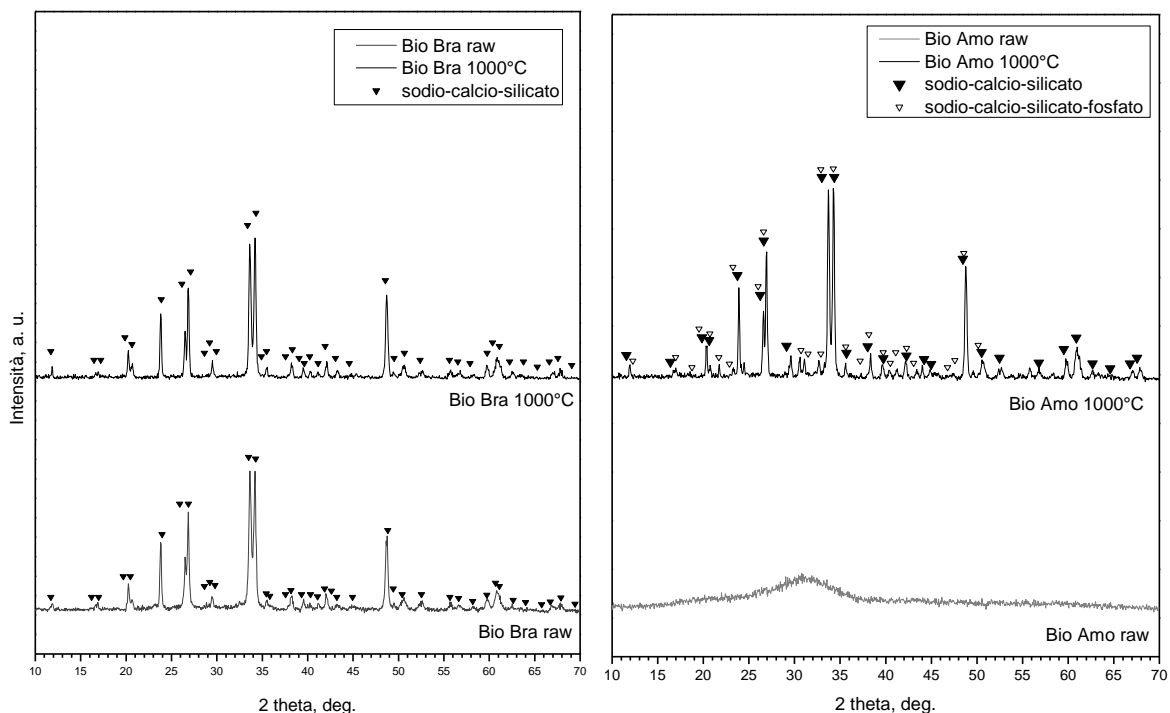


Figura 6.10: confronto tra i patterns cristallografici XRD dei campioni di BioBra e BioAmo allo stato di polveri iniziali e dopo trattamento termico.

Un confronto tra i *patterns* cristallografici dei provini in BioBra e in BioAmo è illustrato in Figura 6.10. Innanzitutto si può concludere che la sintesi di una frittta con la medesima composizione del Biosilicate® brasiliano, ma di struttura amorfa, sia ottimamente riuscita: non risultano infatti picchi evidenti nel diffrattogramma delle polveri di BioAmo, che appare piatto. Inoltre, si è dimostrato come il processo di attivazione alcalina favorisca la cristallizzazione durante il trattamento termico di ceramizzazione della schiuma.

Dopo il trattamento termico, in entrambi i materiali si riscontra una fase cristallina di tipo sodio-calcio-silicatica, di stechiometria differente nei due casi: mentre nel BioBra è stata identificata una composizione del tipo $\text{Na}_6\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{18}$ (*pattern 00-077-2189*), nel BioAmo invece è del tipo $\text{Na}_{15.78}\text{Ca}_3(\text{Si}_6\text{O}_{12})$ (*pattern 00-078-1650*). Inoltre in quest'ultimo è stata rilevata una seconda fase cristallina di tipo sodio-calcio-silico-fosfatica, identificata come $\text{Na}_3\text{Ca}(\text{SiO}_3)(\text{PO}_4)$ (*pattern 00-084-0151*).

Osservando l'intensità dei picchi diffrattometrici si può intuire come la natura amorfa del BioAmo consente a questo materiale di avere una maggiore tendenza alla cristallizzazione (picco più intenso) rispetto alle polveri di partenza già cristallizzate del BioBra, in cui non vi è sostanziale differenza rispetto al materiale ceramizzato.

6.1.6 Analisi al SEM

Attraverso l'analisi al microscopio elettronico a scansione è possibile indagare la morfologia, la dimensione e la struttura della fase cellulare presente nelle schiume sintetizzate.

Come si può osservare in Figura 6.11.1 i campioni di BioBra manifestano una struttura porosa interconnessa su scala macrometrica, ma non hanno sviluppato sufficiente fase cellulare su scala micro e nanometrica, necessaria per le applicazioni di biorigenerazione in fase di studio; ciò è dovuto alla prevalenza della componente cristallina nelle polveri, che ha prevalso sul flusso viscoso, non permettendo il processo di *secondary foaming* durante il trattamento termico.

I campioni di BioAmo (Figura 6.11.2) invece soddisfano i requisiti di porosità esposti nei capitoli precedenti, dato che presentano una fase cellulare interconnessa e di tipo gerarchico: la dimensione delle celle è maggiore di 100 micron, favorendo la ripopolazione e la proliferazione cellulare sul tessuto artificiale, ma anche superiore ai 300 micron necessari per una buona vascolarizzazione dell'area impiantata. In particolare, un aumento del tempo di pre-polimerizzazione, conduce a schiume con porosità di dimensione inferiore, a causa dell'aumento di viscosità della sospensione e della sua maggiore densificazione (Figura 6.11.3).

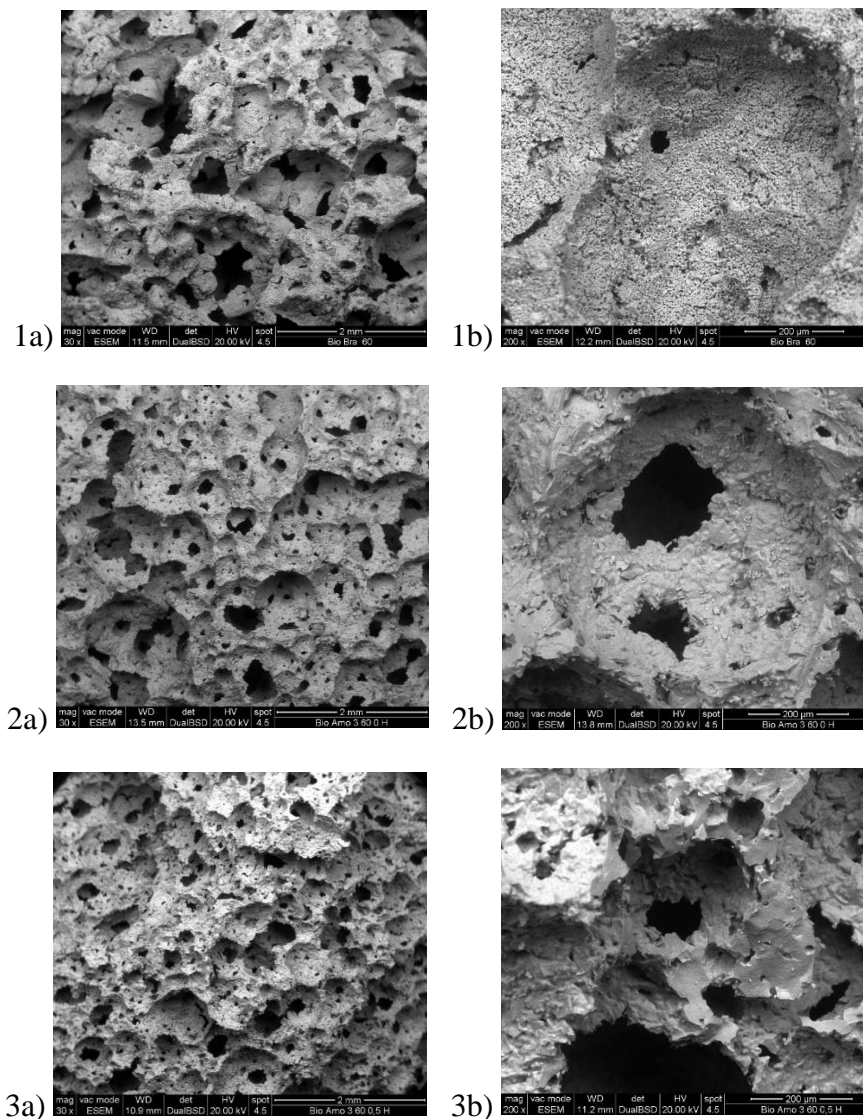


Figura 6.11: immagini al SEM di campioni di Biosilicate®: 1) BioBra 60%-30min; 2) BioAmo 60%-0min; 3) BioAmo 60%-30min. Ingrandimento: a) 30X; b) 200X.

Ad ingrandimenti maggiori (Figura 6.12) è possibile osservare la microstruttura delle pareti cellulari e dei cristalli che si formano in seguito al trattamento termico. La componente cristallina del BioBra non permette la coesione dei grani in una struttura densificata, dunque le superfici appaiono granulose e sono visibili delle microcriccature dovute all'impossibilità di limitare le tensioni termiche durante il riscaldamento. Si notano due differenti strutture cristalline, una più allungata presente in alcuni punti della superficie ed un'altra che costituisce gli *struts* delle celle. Nel caso del BioAmo si osserva una porosità interconnessa di dimensione nanometrica sulle pareti cellulari, che ne limita la resistenza a flessione; la struttura appare come un continuo di cristalli ben densificati tra loro e ciò conferisce le maggiori proprietà meccaniche già dimostrate precedentemente.

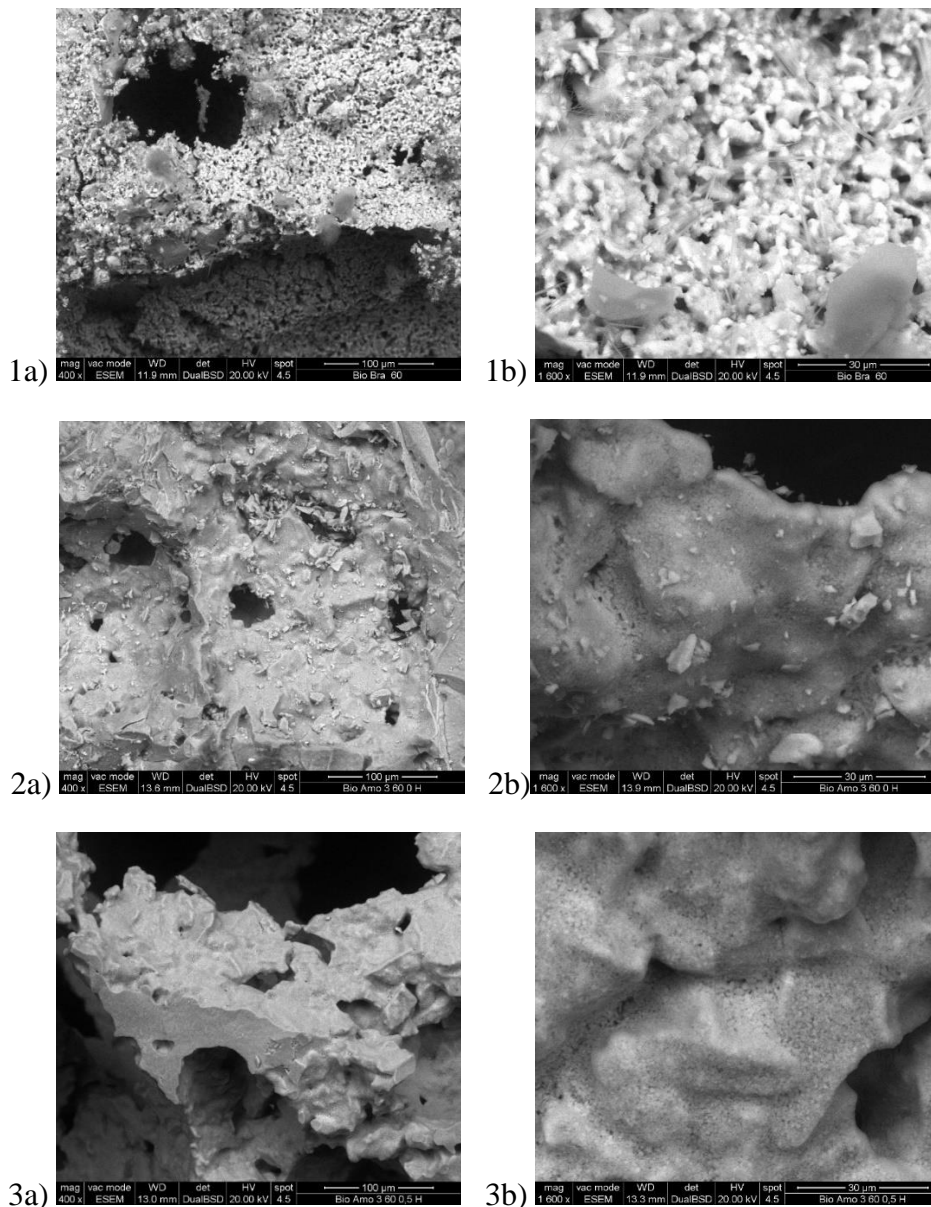


Figura 6.12: immagini al SEM di campioni di Biosilicate®: 1) BioBra 60%-30min; 2) BioAmo 60%-0min; 3) BioAmo 60%-30min. Ingrandimento: a) 400X; b) 1600X.

6.2 Campioni di hardystonite

Anche per la realizzazione dei campioni in Hardystonite si è seguita la procedura sperimentale esposta al paragrafo §4.3, sebbene siano stati adoperati degli accorgimenti per ottenere una morfologia cellulare opportuna:

- il rapporto di fase solida all'interno della soluzione di partenza pari al 60% o al 65%;
- il tempo di pre-polymerizzazione in stufa prima della schiumatura, fino a 2 ore;
- il tempo di *curing*, da 24 a 48 ore, mentre la temperatura è stata mantenuta a 75°C;
- la rampa di riscaldamento durante il trattamento termico di sinter-cristallizzazione è stata 0-10-300-5-700-5-1000°C.

In particolare è stato necessario aumentare la durata della pre-polimerizzazione perché, data la sostituzione parziale di Ca con Sr all'interno della composizione del vetro di partenza, si venivano a formare dei composti idrati solubili nel processo di attivazione alcalina che, a differenza di quelli insolubili di Ca (nel Biosilicate® per esempio), impedivano la formazione ed il rafforzamento del gel durante la fase di gelificazione della sospensione. Il mantenimento prolungato ad una temperatura superiore a quella ambientale ha così permesso al reticolo molecolare all'interno della soluzione di gelificare in misura maggiore, conducendo non solo ad un "verde" risultato coeso e maneggiabile, ma anche ad un ceramico resistente dopo il trattamento termico.

Per lo stesso motivo, per rafforzare ulteriormente la struttura del "verde", il trattamento di *curing post-foaming* è stato condotto ad una temperatura di 75°C, dato che a temperature inferiori il campione non raggiungeva un grado di resistenza che ne permettesse quantomeno la lavorabilità ai fini della preparazione per la caratterizzazione.

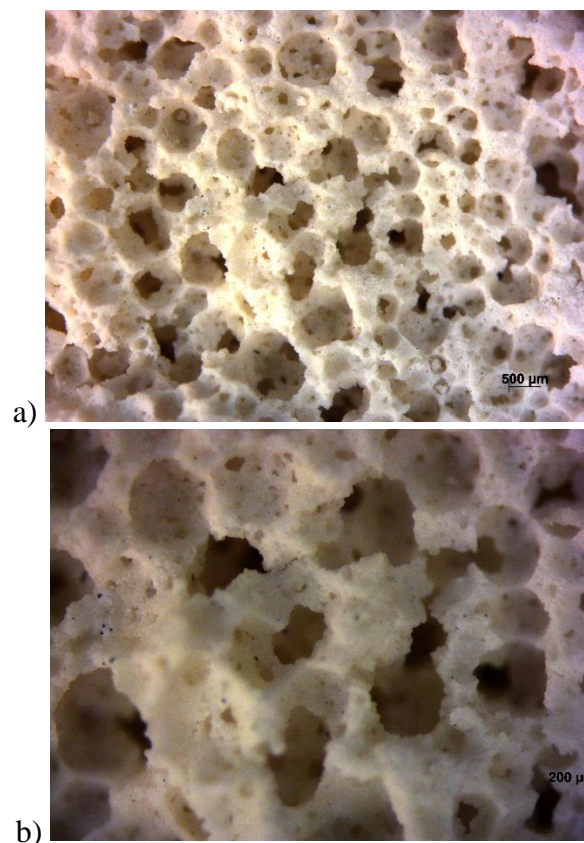


Figura 6.13: immagini allo stereomicroscopio ottico di un campione di HardyI 65%w, pre-pol. 90 min, trattamento termico eseguito 0-10-300-5-700-5-1000. Ingrandimento: a) 1X; b) 2X.

Si è provato a riproporre la stessa procedura sperimentale per la realizzazione di campioni a partire da polveri ceramiche sintetizzate da un laboratorio in Slovacchia; la composizione della miscela vetrosa di partenza è quella riportata al paragrafo §4.1. Tuttavia, la preparazione della schiuma vetroceramica è risultata particolarmente difficoltosa a causa della minima tendenza della soluzione attivata alcalinamente a gelificare in modo

soddisfacente per permettere il *gel casting*, a causa della presenza dei composti idrati di Sr solubili. Inoltre durante il trattamento di ceramizzazione il fenomeno della cristallizzazione sovrasta nettamente quello della sinterizzazione, impedendo al “verde” di raggiungere una sufficiente coesione tra i cristalli; ciò comporta l’ottenimento di un campione privo di sufficiente resistenza meccanica e dunque difficile da caratterizzare. Viene riportata in Figura 6.14 un’immagine relativa al “verde” ottenuto a partire dalle polveri di vetro hardystonitico, dato che le pessime proprietà del componente ceramizzato non ne hanno permesso la caratterizzazione.

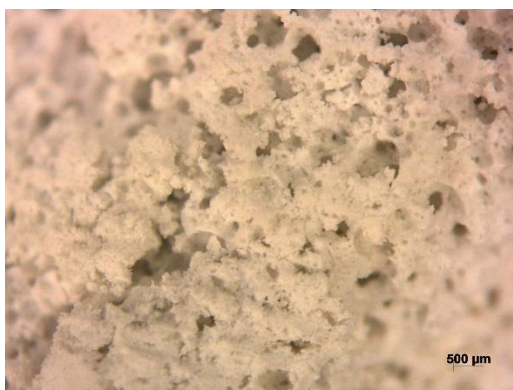


Figura 6.14: immagine allo stereomicroscopio ottico di un campione allo stadio di “verde” di Hardystonite sintetizzata a partire dalle polveri vetrose prodotte in Slovacchia, 65%w, pre-pol.90 min. Ingrandimento 1X.

Per superare i limiti dovuti alla presenza di Sr nella composizione delle polveri di partenza, si è proceduto nella sintesi di una frittta vetrosa in cui non fosse possibile la sostituzione di Ca con Sr, di composizione riportata in Tabella 6.5:

Tabella 6.5: frazioni molare e ponderale necessarie per ottenere la composizione desiderata dell’Hardy2, priva di Sr.

Hardystonite	Frazione molare	Quantità (g)
CaO	2	39.1
SrO	0	0
ZnO	0.85	24.2
MgO	0.15	2.1
SiO ₂	2	42.1

Ripetendo la medesima procedura sperimentale, la composizione Hardy2, come era possibile attendersi, ha permesso la sintesi di schiume vetroceramiche di porosità gerarchica ed interconnessa, oltre che di sufficienti caratteristiche meccaniche di resistenza a compressione. È stata dunque confermata l’azione antagonista dei composti idrati solubili di Sr sulla formazione del reticolo molecolare geopolimerico nella soluzione gelificata.

Come si evince da Figura 6.15.1, il rapporto di fase solida migliore per la formazione di porosità di dimensione ottimale è quello di 60%w con un tempo di pre-polimerizzazione di 90 minuti. Nelle Figure 6.15.2 e 6.15.3, rispettivamente, si può notare come una diminuzione del tempo di pre-polimerizzazione conduce a campioni meno densi e con porosità di dimensione maggiore, mentre con un trattamento di maggiore durata si perviene a schiume più dense e con porosità di dimensione minore.

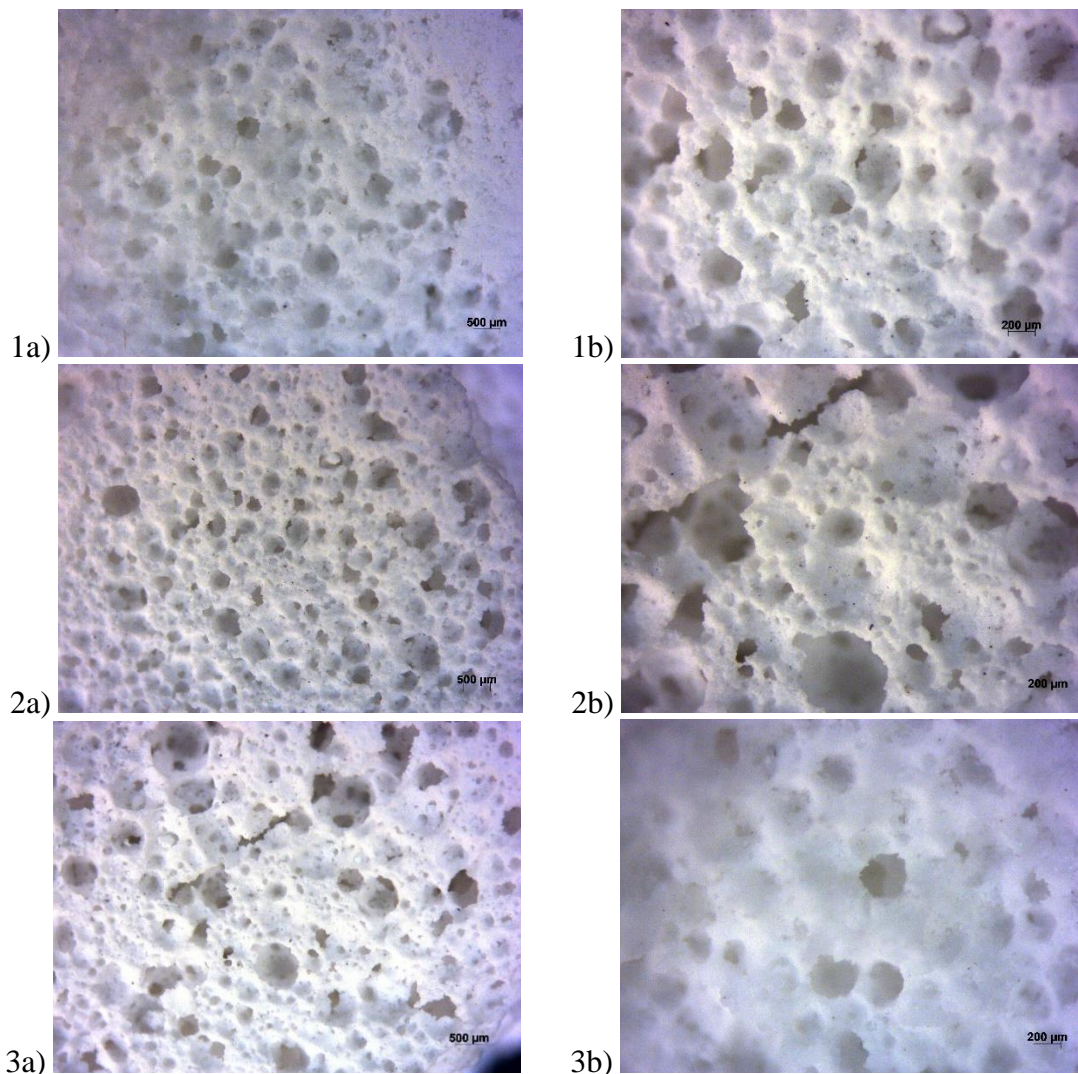


Figura 6.15: immagini allo stereomicroscopio ottico di campioni di Hardy2 ottenuti per trattamento termico 0-10-300-5-700-5-1000°C: 1) 60%w, pre-pol. 90 min, 2) 60%w, pre-pol. 60 min, 3) 60%w, pre-pol. 120 min. Ingrandimento: a) 1X, b) 2X.

6.2.1 Analisi DTA

Osservando in Figura 6.16 le curve relative all'analisi DTA eseguita su campioni di Hardy1 allo stato di polveri iniziali e di "verde" attivato, si può notare come il picco esotermico dovuto alla cristallizzazione del materiale, rilevabile tra gli 850 e i 950°C nella polvere di vetro, in seguito al processo di attivazione alcalina, si sposti verso temperature inferiori,

nell'intervallo 750-850°C; tale picco appare inoltre ben definito nel *raw material*, mentre diventa più dolce e smussato nel campione attivato, proprio in seguito all'attivazione alcalina.

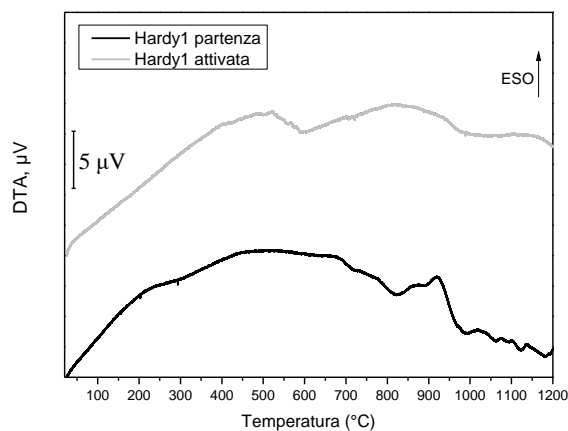


Figura 6.16: curve di analisi termica differenziale per campioni di Hardy1 allo stato di polvere vetro da iniziale e quello di “verde” attivato.

6.2.2 Analisi FTIR

Si riportano in Figura 6.17 gli spettri di assorbimento infrarosso dei campioni di Hardystonite analizzati.

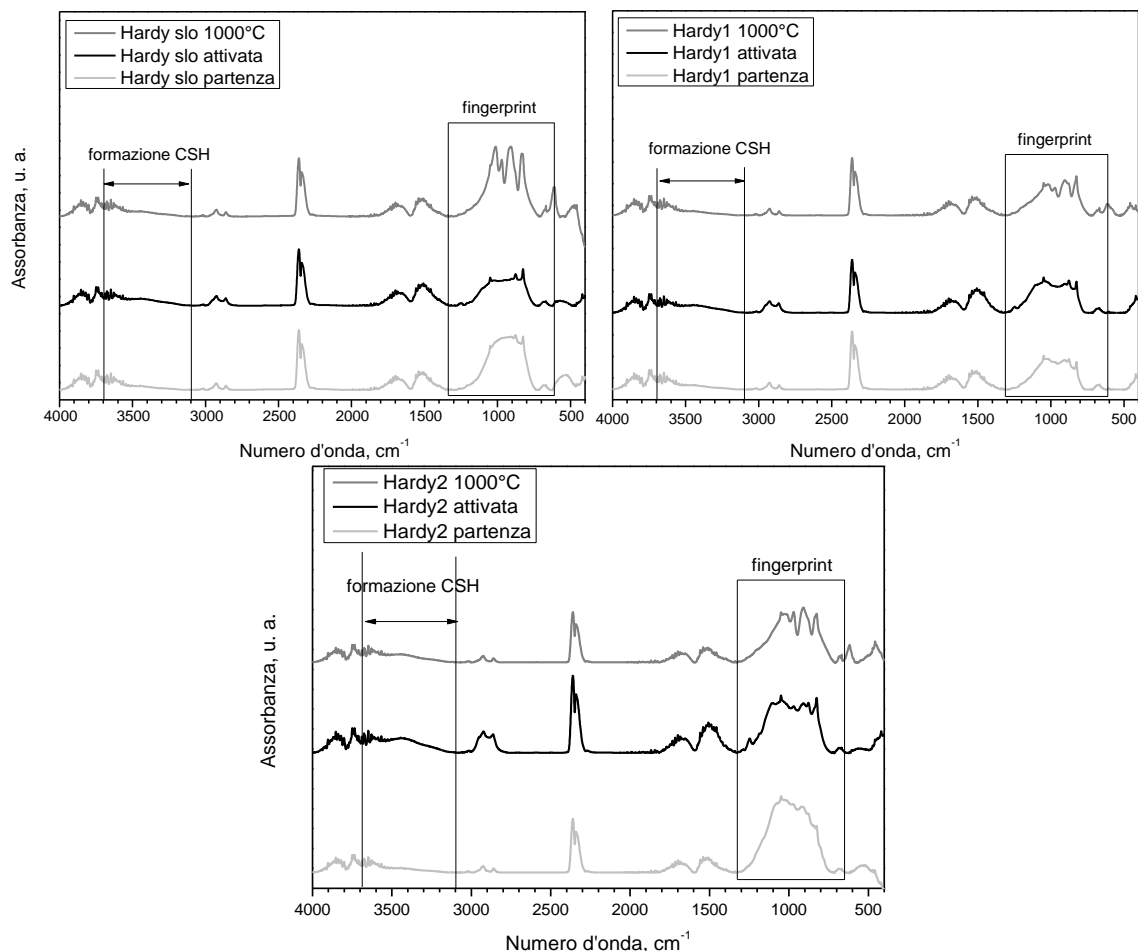


Figura 6.17: confronto tra gli spettri FTIR dei campioni di Hardy slo, Hardy2 e Hardy1.

Come si può notare nella zona di *fingerprint*, tutti i campioni allo stato di polvere iniziale e di “verde” attivato presentano una prevalente componente amorfa nella loro struttura; i picchi di cristallizzazione appaiono infatti poco delineati. Considerando i campioni dopo trattamento termico si osserva una lieve divergenza di comportamento nella fase di cristallizzazione: nel caso di Hardy slo i picchi sono molto evidenti e pronunciati, segno che la cristallizzazione è avvenuta in maniera molto spinta, mentre in Hardy1 e Hardy2 sono meno intensi e definiti, per la minore propensione del materiale a cristallizzare.

Inoltre in Figura 6.18 è proposto un confronto tra le bande relative alla formazione dei composti idrati di CSH, a seguito del rilascio di ioni Ca in soluzione, nell'intervallo caratteristico $3700-3100\text{ cm}^{-1}$: tali bande risultano pressoché assenti in Hardy slo e Hardy1, poiché nella loro composizione il Ca è presente in rapporto molare minore rispetto a Hardy2, per la sostituzione parziale di Sr nel reticolo.

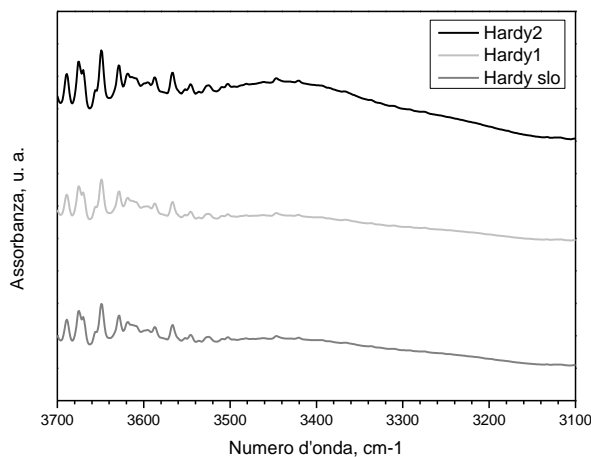


Figura 6.18: sovrapposizione degli spettri FTIR dei campioni di Hardy slo, Hardy1 e Hardy2 nell'intervallo $3700-3100\text{ cm}^{-1}$.

Tali aspetti confermano quanto già esposto in seguito ai dati ottenuti dalle prove di compressione: la formazione di composti idrati solubili di Sr, al contrario di quelli insolubili del Ca, non permettono un ottimale rafforzamento del gel tobermoritico all'interno della soluzione attivata alcalinamente, generando campioni allo stato di “verde” scarsamente coesi e resistenti i quali, dopo trattamento di ceramizzazione, conducono a componenti che non possiedono proprietà meccaniche soddisfacenti, a differenza di quanto avvenuto per le schiume a base Hardy2.

6.2.3 Misure di densità e porosità

Si riportano in Tabella 6.6 i risultati ottenuti dalle analisi di densità sui campioni di hardystonite.

Anche in questo caso si può notare come un aumento della frazione solida nella soluzione di partenza comporti un cospicuo accrescimento della densità dei componenti cellulari finiti; l'effetto risulta quanto più marcato se si considera una fase di pre-polimerizzazione prolungata.

Tabella 6.6: analisi della densità per campioni di Hardystonite.

Materiale	% w	Pre-pol. [min]	TT [°C/min]	ρ geom. [g/cm ³]	ρ app. [g/cm ³]	ρ true [g/cm ³]
Hardy1	65	90	0-10-300-5-700-5-1000	0.611±0.012	3.075±0.064	3.273±0.002
Hardy1	60	90	0-10-300-5-700-5-1000	0.490±0.053	2.980±0.009	3.279±0.005
Hardy2	60	90	0-10-300-5-700-5-1000	0.663±0.019	1.694±0.032	3.360±0.001
Hardy2	60	120	0-10-300-5-700-5-1000	0.745±0.026	1.681±0.058	3.507±0.002
Hardy2	65	60	0-10-300-5-700-5-1000	0.697±0.141	1.681±0.095	3.339±0.029

Per quello che concerne la porosità delle schiume, si può osservare da Figura 6.19 come sia in percentuale superiore all'80%; tuttavia, emerge una sostanziale differenza nella morfologia della fase cellulare tra i vari materiali di partenza: mentre nel caso di campioni di Hardy1 si ritrova una quasi totalità di celle interconnesse, per quelli di Hardy2 si riscontra una maggiore componente di porosità chiusa, che si attesta a circa il 20% del totale. Tale diversità è da attribuire alla minore capacità del materiale di cristallizzare: l'intervallo di temperatura tra la temperatura di transizione vetrosa e quella di cristallizzazione è maggiore rispetto alle altre due composizioni di hardystonite, dunque la cristallizzazione procede in modo più graduale, favorendo il processo di flusso viscoso durante la sinterizzazione che, aumentando la diffusione atomica, conduce ad una maggiore percentuale di porosità chiusa.

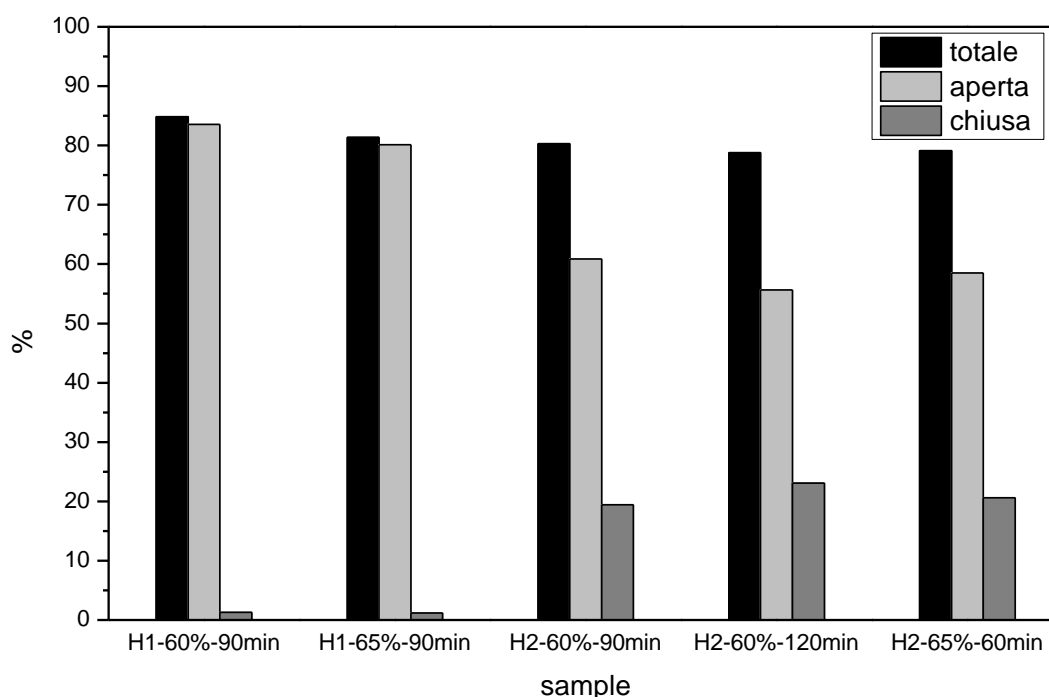


Figura 6.19: istogramma relativo alla porosità dei campioni di Hardystonite analizzati: H1 indica i campioni di Hardy1, H2 quelli di Hardy2.

6.2.4 Resistenza a compressione

I dati ricavati dalle analisi di resistenza a compressione eseguite vengono riportati di seguito.

Tabella 6.7: proprietà meccaniche dei campioni di *Hardystonite* dopo trattamento termico 0-10-300-5-700-5-1000.

Materiale	% w	Pre-pol. [min]	ρ_{relativa} [g/cm ³]	σ_{compr} [MPa]	σ_{flex} [MPa]
Hardy1	65	90	0.154	0.305	22.751
Hardy1	60	90	0.187	0.502	28.359
Hardy2	60	90	0.197	1.158	23.648
Hardy2	60	120	0.212	2.084	35.296
Hardy2	65	60	0.209	1.616	39.452

In Tabella 6.7 trovano conferma le differenze di comportamento rilevate al paragrafo §6.2.3: a fronte di densità relative piuttosto contenute, data la grande percentuale di fase porosa presente, i campioni a base Hardy1 non hanno dimostrato una sufficiente resistenza a compressione, mentre quelli a base Hardy2 soddisfano i requisiti minimi richiesti per gli utilizzi indicati. Questa marcata disomogeneità di comportamento è da attribuire alla presenza di Sr nel reticolo cristallino dell'Hardy1 che, come già esposto precedentemente, non ha permesso una ottimale gelificazione della sospensione geopolimerica iniziale a causa della formazione di composti idrati solubili, conducendo a componenti porosi di scarse proprietà meccaniche. L'assenza di questo elemento antagonista dalla polvere di vetro iniziale d'altro canto, ha portato alla sintesi di schiume vetroceramiche che risultano un buon compromesso tra l'elevata percentuale di fase cellulare, sebbene una parte non interconnessa, ed una sufficiente resistenza a compressione.

6.2.5 Analisi XRD

L'identificazione delle fasi cristalline è stata effettuata tramite diffrattometro a raggi X, considerando la polvere vetrosa iniziale, il "verde" attivato e il ceramico dopo trattamento termico. È doverosa una precisazione sulle fasi cristalline identificate: data la particolare struttura a "fogli" dell'*hardystonite*, tra i quali trovano posto gli atomi di Ca e Sr, se presente, e la minima quantità di Mg, l'analisi è stata condotta considerando solo le strutture riconducibili a Ca, Zn, Si.

In figura 6.20 vengono riportati i *pattern* cristallografici di Hardy slo, Hardy1 e Hardy2, per permettere un confronto in modo efficace. Le fasi cristalline presenti sono le stesse per i tre materiali: è presente una prima fase di *hardystonite* nella forma $\text{Ca}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$ (*pattern* 00-035-0745) ed una seconda fase di tipo calcio-silicatica nella forma di *wollastonite* CaSiO_3 (*pattern* 00-084-0655), originata dal rilascio di ioni Ca e la formazione di CSH nella

soluzione attivata, che durante il trattamento termico sono stati decomposti ed hanno cristallizzato sotto forma di silicato di calcio.

È interessante notare come vi sia una diversa tendenza alla cristallizzazione per i tre materiali:

- Nei campioni a base di Hardy slo la cristallizzazione avviene in maniera molto spinta, sovrastando quasi completamente la sinterizzazione per flusso viscoso durante la cottura; ciò porta ad un congelamento della struttura granulosa del “verde”, a cui non è consentito addensarsi per formare un componente coeso e resistente, come testimonia la scarsa resistenza a compressione.
- Nei campioni a base Hardy1 la cristallizzazione risulta meno prevalente, ma la presenza di composti idrati solubili di Sr ostacola la formazione di una schiuma sufficientemente resistente.
- Nei campioni a base Hardy2, l'assenza di Sr in favore di Ca consente al gel tobermoritico di rafforzarsi maggiormente rispetto agli altri due materiali; inoltre, la cristallizzazione e il flusso viscoso sembrano ben bilanciati durante il trattamento termico e ciò conduce alla sintesi di prodotti di media resistenza meccanica.

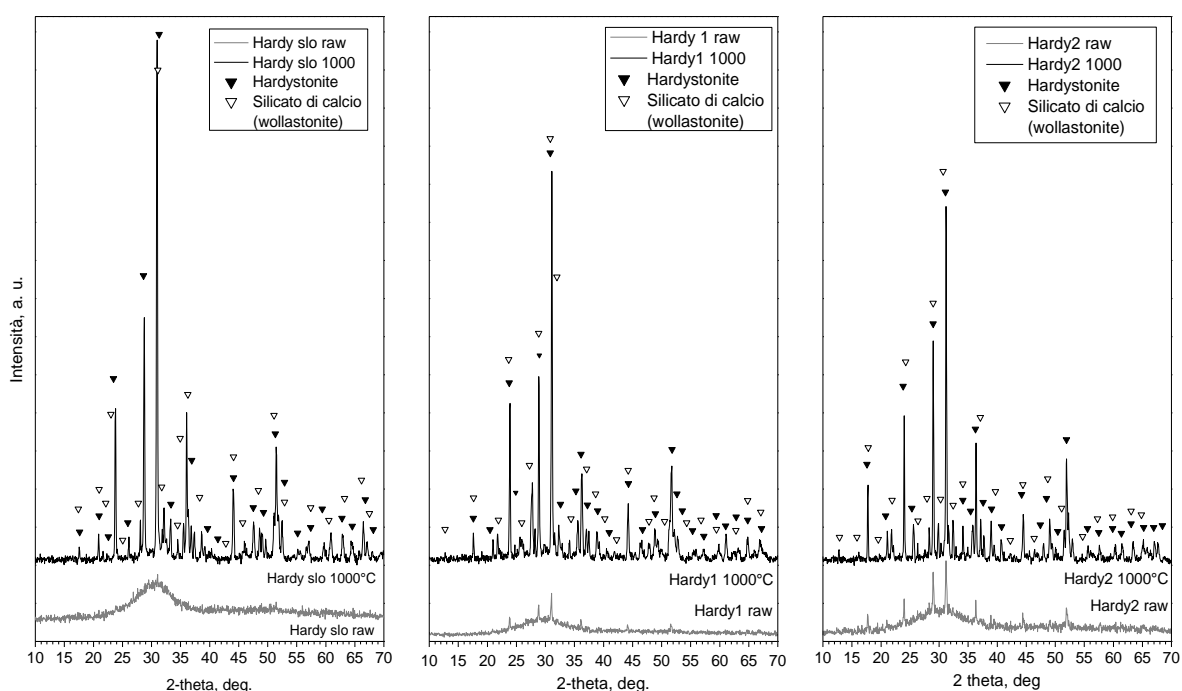


Figura 6.20: confronto tra i patterns cristallografici XRD dei campioni di Hardy slo, Hardy1 e Hardy2 allo stato di polveri iniziali e dopo trattamento termico.

6.2.6 Analisi al SEM

Si riportano le immagini ottenute dall'analisi al SEM dei campioni di Hardy slo e Hardy1, per indagare la morfologia e la dimensione della fase cellulare presente nelle schiume sintetizzate.

Come emerge da Figura 6.21 le schiume sintetizzate presentano una porosità interconnessa di tipo gerarchico, di dimensione ottimale per i parametri richiesti in questo lavoro di tesi, segno che il processo di *gel casting* può essere applicato con ottimi risultati anche a questo tipo di biomateriali di grande prospettiva.

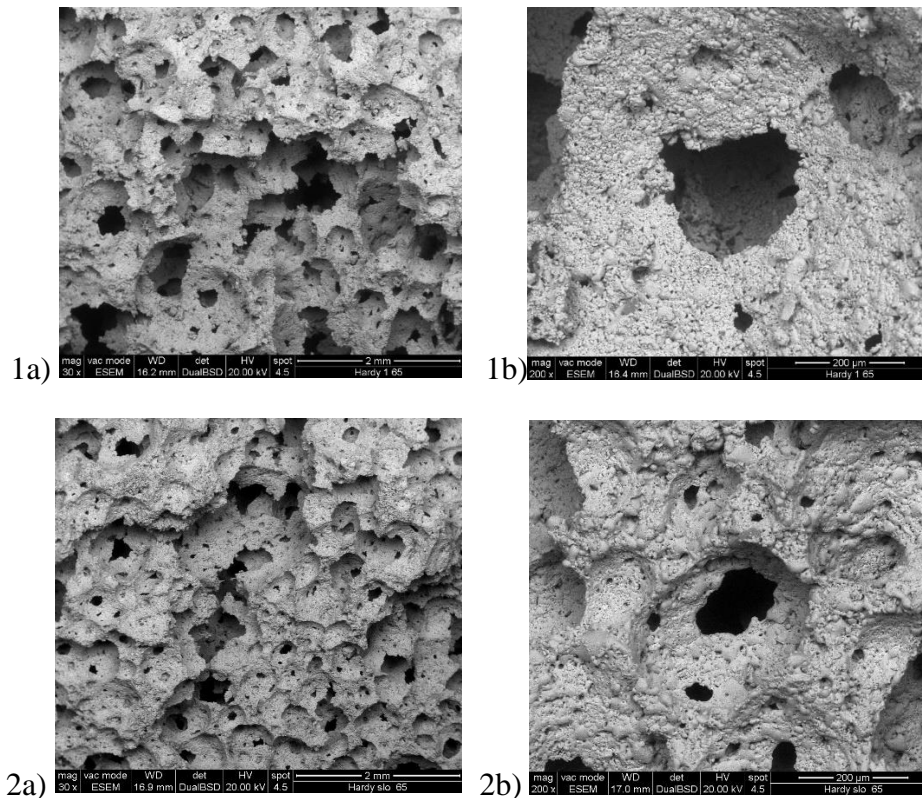


Figura 6.21: immagini al SEM di campioni di Hardystonite: 1) Hardy1 65%-90min; 2) Hardy slo 65%-90min; Ingrandimento: a) 30X; b) 200X.

Ad ingrandimenti maggiori (Figura 6.22) è possibile osservare come la porosità si presenti anche a livello nanometrico, ma la superficie delle celle risulta un insieme non densificato di grani cristallini incoerenti. Questo aspetto è dovuto alla forte tendenza a cristallizzare del materiale, che inibisce il processo di flusso viscoso e la densificazione. Si nota inoltre come siano presenti delle bolle sulla superficie cellulare, dovute alla decomposizione dei composti idrati CSH che non sono stati completamente eliminati dalla struttura a causa della sinterizzazione e sono rimasti al suo interno. Questo è il motivo per cui tali schiume mostrano una percentuale di porosità chiusa, a differenza delle altre sintetizzate.

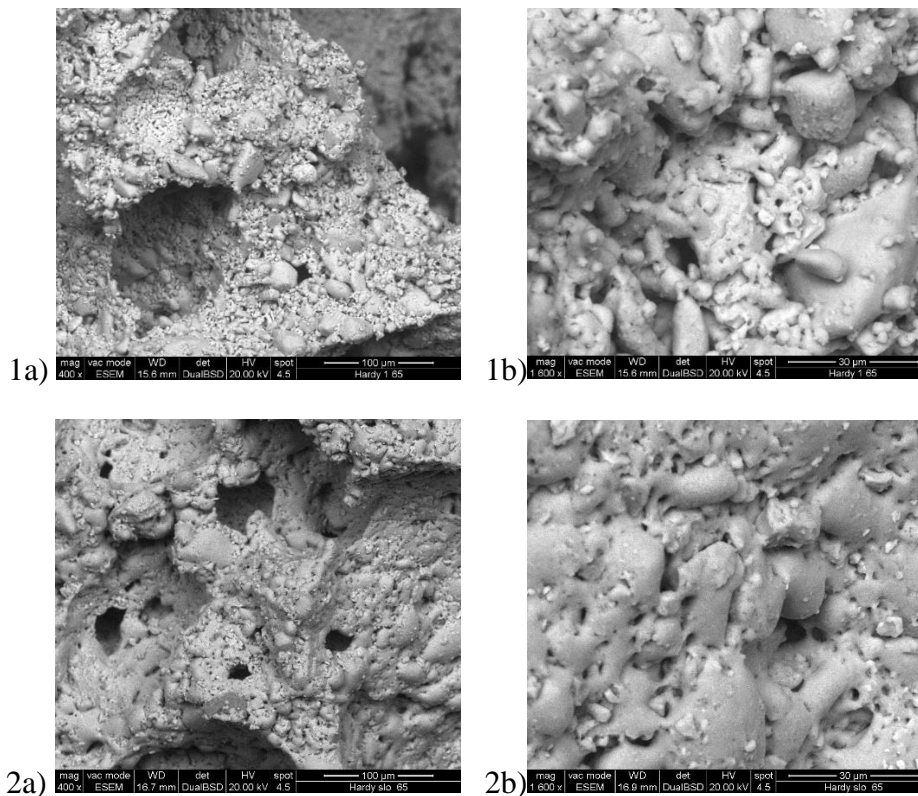


Figura 6.22: immagini al SEM di campioni di Hardystonite: 1) Hardy1 65%-90min; 2) Hardy slo 65%-90min. Ingrandimento: a) 400X; b) 1600X.

Entrambi questi fenomeni influiscono negativamente sulle proprietà meccaniche del componente, come è stato evidenziato al paragrafo §6.2.4. Queste problematiche sono state superate con la sintesi di schiume a base Hardy2 con resistenza a compressione decisamente superiore.

Conclusioni

Questo lavoro di tesi si prefiggeva l'obiettivo di sintetizzare componenti cellulari altamente porosi in materiale vetroceramico di terza generazione attraverso una tecnologia innovativa di *gel casting* e successiva sinter-cristallizzazione tipicamente adoperati per materiali geopolimerici. In particolare era necessario che le schiume prodotte soddisfacessero i requisiti minimi di resistenza meccanica stabiliti per le applicazioni biomedicali *low bearing* proposte, senza influire negativamente sulle caratteristiche di bioattività.

La procedura sperimentale consisteva nella preparazione delle polveri vetrose, che poi subivano una attivazione alcalina che permetteva la formazione di un gel di tipo tobermoritico in soluzione acquosa. Dopo una fase di pre-polimerizzazione in stufa, di diversa durata, la soluzione gelificata veniva additivata con un tensioattivo che ne permettesse lo schiumaggio. La schiuma attivata veniva lasciata riposare in stufa per un tempo prolungato per permettere la completa solidificazione della fase solida, per mantenere la morfologia cellulare. Infine si eseguiva il trattamento termico di sinter-cristallizzazione che portava alla sintesi della schiuma vetroceramica finita.

Come primo passo si è proceduto con la sintesi di una schiuma a partire dalla composizione del Biosilicate® commerciale: la natura cristallina di questo materiale non ha permesso la produzione di componenti con le caratteristiche di porosità gerarchica richieste; anche la resistenza a compressione non è stata ritenuta sufficiente poiché la mancata formazione di CSH nella soluzione attivata non consentiva il rafforzamento del gel.

Per superare i limiti imposti dal Biosilicate®, è stato necessario creare una polvere vetrosa della medesima composizione, ma con una microstruttura amorfa: tale accorgimento ha condotto alla sintesi di schiume vetroceramiche aventi una fase cellulare ottimale per dimensione, forma e grado di interconnessione, oltre a resistenze meccaniche in linea con i risultati presenti in letteratura.

Infine si è deciso di trasportare la procedura sperimentale ottimizzata per il Biosilicate® ad un altro sistema che si era già rivelato di promettenti prospettive per applicazioni biomedicali di ingegneria tissutale, ovvero l'hardystonite. Si è partiti da una hardystonite drogata con Sr e Mg in sostituzione di parte di Ca per incrementarne la bioattività, ma di fronte ai limiti dovuti alla formazione di composti idrati solubili di Sr ed alla eccessiva tendenza a cristallizzare durante il trattamento termico, che non hanno condotto a risultati soddisfacenti dal punto di vista meccanico, è stata studiata una nuova composizione priva di Sr; le schiume sintetizzate a partire da questa composizione hanno evidenziato buone proprietà meccaniche di resistenza a compressione ed una fase cellulare con le caratteristiche desiderate, sebbene fosse presente una piccola percentuale di porosità chiusa.

Bibliografia

- [1] D. Shi, *“Introduction to Biomaterials”*; Tsinghua University Press Co., Ltd., (2006).
- [2] J. Park, R. S. Lakes, *“Biomaterials: An Introduction”* III Ed.; Springer Science & Business Media, (2007).
- [3] A. Bagno, Slides del corso *“Biomateriali e tessuti biologici”* (2011-2012).
- [4] L. L. Hench, *“Bioceramics: From Concept to Clinic”*, J. Am. Ceram. Soc., 74 [7] 1487-1510 (1991).
- [5] Kaur G., Waldrop S.G., Kumar V., Pandey O.P., Sriranganathan N., *“An Introduction and History of the Bioactive Glasses”*. In: Marchi J. (eds) *Biocompatible Glasses. Advanced Structured Materials*, vol 53. Springer, Cham. (2016).
- [6] D. F. Williams. *“On the mechanisms of biocompatibility”*. *Biomaterials*, **29**, 2941-2953. (2008).
- [7] Dispense del corso *“Materiali non metallici per l'ingegneria”*, prof. M. Pasquali, uniroma1.
- [8] Park J., *“Bioceramics: Properties, Characterizations, and Applications”*; Springer Science & Business Media, (2009).
- [9] M. Siniko, *“Bioceramici porosi con struttura cristallina melilitica da polimeri preceramici e fillers”*; Tesi di Laurea Magistrale in Ingegneria dei Materiali, Università degli Studi di Padova, (2015-2016).
- [10] P. Colombo, M. Scheffler, *“Cellular Ceramics: Structure, Manufacturing, Properties and Applications”*, 550-573; WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim (2005).
- [11] J. R. Jones, L. L. Hench, *“Biomedical Materials for new millennium: perspective on the future”*, *Materials Science and Technology*, vol.17 (2001).
- [12] A. Hoppe, N. S. Güldal, A. R. Boccaccini, *“A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics”*; *Biomaterials*, 32, 11, 2757-2774, (2011).
- [13] H. Reza Rezaie, L. Bakhtiari, A. Öchsner, *“Biomaterials and Their Applications”*; Springer Science & Business Media, (2015).
- [14] C. Di Bello, *“Biomateriali - Introduzione allo studio dei materiali per uso biomedico”*. Pàtron Editore, Bologna (IT), (2004).
- [15] Bedini, R., Ioppolo, P., Pecci, R., Marinozzi, F., Bini, F., Pepe, E. and Marinozzi, A., *“Misura delle caratteristiche di tessuto osseo umano in condizioni patologiche tramite analisi microtomografica: primi risultati”*. Roma: Istituto Superiore di Sanità. (Rapporti ISTISAN 09/7), (2009).
- [16] Cowin, S. C. and Doty, S. B., *“Tissue mechanics”*. Springer. (2007).

- [17] Cowin, S., “*Bone Mechanics*”. CRC, Boca Raton, Florida, (1989).
- [18] Rho, J. Y., Kuhn-Spearing, L., and Zioupos, P., “*Mechanical properties and the hierarchical structure of bone*”. *Med. Eng. Phys.*, 18:1325–1330. (1998).
- [19] M. Sadat-Shojai, M.-T. Khorasani, E. Dinpanah-Khoshdargi e A. Jamshidi, “*Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite of diverse structures*”. *Acta Biomaterialia*, **9**, 7591-7621. (2013).
- [20] L. L. Hench, “The story of Bioglass®”; *J Mater Sci: Mater Med*, 17:967–978, (2006).
- [21] A. R. Boccaccini, D. S. Brauer, L. Hupa, “*Bioactive Glasses: Fundamentals, Technology and Applications*”; Royal Society of Chemistry, (2016).
- [22] http://www.antonio.licciulli.unisalento.it/didattica_2005/vetroceramici.pdf
- [23] C. Wu, J. Chang, “*A review of bioactive silicate ceramics*”; *Biomedical Materials*, 8, 3, (2013).
- [24] M. C. Crovace, M. T. Souza, C. R. Chinaglia, O. Peitl, E. D. Zanotto, “*Biosilicate® — A multipurpose, highly bioactive glass-ceramic. In vitro, in vivo and clinical trials*”; *Journal of Non-Crystalline Solids*, (2015).
- [25] J. Will, L. C. Gerhardt and A. R. Boccaccini, “*Bioactive Glass-Based Scaffolds for Bone Tissue Engineering*”; *Adv Biochem Engin/Biotechnol*, 126: 195–226, (2012).
- [26] P. Colombo, “*Conventional and novel processing methods for cellular ceramics*”; *Phil. Trans. R. Soc. A* **364**, 109-124, (2005).
- [27] H. Elsayed, A. R. Romero, L. Ferroni, C. Gardin, B. Zavan, E. Bernardo, “*Bioactive Glass-Ceramic Scaffolds from Novel ‘Inorganic Gel Casting’ and Sinter-Crystallization*”; *Materials*, 10(2), 171, (2017).
- [28] F. Puertas, A. Fernandez-Jimenez, M. T. Blanco-Varela, “*Pore solution in alkali activated slag cement pastes. Relation to the composition and structure of calcium silicate hydrate*”. *Cement and Concrete Research*, 34(1):139–148, (2004).
- [29] M. Strozi Cilla, P. Colombo, M. R. Morelli, “*Geopolymer foams by gelcasting*”; *Ceramics International* 40, 5723–5730, (2014).
- [30] M. Jacobson, A. R. Cooper, J. Nagy, “*Explosibility of metal powders*”. Technical report, DTIC Document, (1964).
- [31] Z. Y Wu, R.G. Hill, S. Yue, D. Nightingale, P.D. Lee, and J.R. Jones. “*Melt derived bioactive glass scaffolds produced by a gel-cast foaming technique*”. *Acta Biomaterialia*, 7(4):1807–1816, (2011).
- [32] A. Rincòn, G. Giacomello, M. Pasetto, E. Bernardo, “*Novel ‘inorganic gel casting’ process for the manufacturing of glass foams*”; *Journal of the European Ceramic Society*, 37 2227–2234, (2017).
- [33] L. Bergstrom, “*Rheology of concentrated suspensions*”. *Surfactant Science Series*, 51:193–244, (1993).

- [34] G. Xu, “*Gel casting of high strength ceramics*”; Department of Materials and Manufacturing Technology, Chalmers University of Technology, Goteborg, (2011).
- [35] J. R. Jones, “*Review of bioactive glass: From Hence to hybrids*”; Acta Biomaterialia, **9** 4457–4486, (2013).
- [36] C. Wu e J. Chang. “*Silicate bioceramics for bone tissue regeneration*”. J. Inorg. Mater., **28**, 29-39. (2013).
- [37] G. C. Wang, Z. F. Lu e H. Zreiqat, “*Bioceramics for skeletal bone regeneration*”. In: Bone Substitute Biomaterials (K. Mallick, Ed.), Woodhead Publishing Limited, Cambridge (UK). (2014).
- [38] E. Véron, “*Synthèse et étude structurale de la gehlénite au bore $Ca_2Al_{2-x}B_xSiO_7$: mécanisme de substitution B/Al et ordre local*”. Ph.D. Thesis, Université d'Orléans (FR). (2011).
- [39] M. Kimata, “*Crystallo-chemical evolution of a crystal structure due to cationic substitution after the example of melilite*”. Naturwissenschaften, **72**, 372-373. (1985).
- [40] V. M. Goldschmidt, “*Die Gesetze der Krystallochemie*”. Naturwissenschaften, **14**, 477-485. (1926).
- [41] S. L. Webb, C. R. Ross II e J. Liebertz, “*Thermal Expansion and Spontaneous Strain Associated with the Normal-Incommensurate Phase Transition in Melilites*”. Physics and Chemistry of Minerals, **18**, 522-525. (1991).
- [42] M. Merlini, M. Gemmi e G. Artioli, “*Thermal expansion and phase transitions in akermanite and gehlenite*”. Physics and Chemistry of Minerals, **32**, 189-196. (2005).
- [43] W. A. Deer, R. A. Howie e J. Zussman, “*Rock-Forming Minerals, Volume 1B: Disilicates and Ring Silicates (2nd ed.)*”. Geological Society of London, London (UK). (1986).
- [44] IH. Jung, S. A. Decterov e A. D. Pelton, “*Critical thermodynamic evaluation and optimization of the CaO–MgO–SiO₂ system*”. Journal of the European Ceramic Society, **25**, 313-333. (2005).
- [45] E. Bernardo, JF. Carlotti, P. M. Dias, L. Fiocco, P. Colombo, L. Treccani, U. Hess e K. Rezwani, “*Novel akermanite-based bioceramics from preceramic polymers and oxide fillers*”. Ceramics International, **40**, 1029-1035. (2013).
- [46] P. Becker, E. Libowitzky, L. Bohatý, J. Liebertz, H. Rhee, HJ. Eichler e A. A. Kaminskii, “*Temperature-dependent thermo-mechanical and Raman spectroscopy study of the SRS-active melilite-type crystal $Ca_2ZnSi_2O_7$ (hardystonite) at its incommensurate–commensurate phase transition*”. Phys. Status Solidi A, **209**, 327-334. (2011).
- [47] E. R. Segnit, “*The System CaO-ZnO-SiO₂*”. Journal of The American Ceramic Society, **37**, 273-277. (1954).

- [48] G. Wang, Z. Lu, D. Dwarte e H. Zreiqat, “*Porous scaffolds with tailored reactivity modulate in-vitro osteoblast responses*”. *Materials Science and Engineering C*, **32**, 1818-1826, (2012).
- [49] H. Zreiqat, Y. Ramaswamy, C. Wu, A. Paschalidis, Z. Lu, B. James, O. Birke, M. McDonald, D. Little e C. R. Dunstan, “*The incorporation of strontium and zinc into a calcium–silicon ceramic for bone tissue engineering*”. *Biomaterials*, **31**, 3175-3184, (2010).
- [50] S. I. Roohani-Esfahani, C. R. Dunstan, J. J. Li, Z. Lu, B. Davies, S. Pearce, J. Field, R. Williams e H. Zreiqat, “*Unique microstructural design of ceramic scaffolds for bone regeneration under load*”. *Acta Biomaterialia*, **9**, 7014-7024, (2013).
- [51] A. Zocca, G. Franchin, H. Elsayed, E. Giuffredi, E. Bernardo e P. Colombo, “*Direct ink writing of a preceramic polymer and fillers to produce hardystonite ($Ca_2ZnSi_2O_7$) bioceramic scaffolds*”. *J. Am. Ceram. Soc.*, 1-8., (2016).