



UNIVERSITÁ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Ingegneria Industriale

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria dei Materiali

Tesi di Laurea

SVILUPPO DI BIOCERAMICI CELLULARI DA POLIMERI
PRECERAMICI CON MICRO E NANO FILLERS

*Development of cellular bioceramics from preceramic polymers with micro-
and nano-sized fillers*

Relatore: Prof. Paolo Colombo

Correlatore: Prof. Enrico Bernardo

Laureando: Marco Pace

Matr. n. 1015131

Anno Accademico 2011/2012

Indice

Introduzione	7
Capitolo 1	11
1.1 Caratteristiche del processo PDCs	15
1.2 Materiali coinvolti nel processo PDCs	22
1.3 Ottenimento dei materiali di interesse tramite il processo PDCs.....	27
Capitolo 2.....	31
2.1 Tissue engineering.....	37
2.2 Ideal scaffold.....	40
2.3 Bioceramici	44
2.3.1 Silicati amorfi 13-93 e 13-93B1	45
2.3.2 Silicati cristallini :Akermanite	50
2.3.3 Silicati cristallini : Forsterite.....	53
Capitolo 3.....	55
3.1 Ottenimento di silicati amorfi o cristallini con la tecnica PDCs: procedura sperimentale.....	56
3.2 Silicati amorfi: schiumaggio diretto o con espandenti.....	61
3.2.1 Procedura sperimentale e campioni ottenuti con Silres [®] MK.....	61
3.2.2 Procedura sperimentale e campioni ottenuti con Silres [®] H44	66
3.2.3 Procedura sperimentale e campioni ottenuti con Silres [®] H62C.....	69
3.3 Silicati amorfi: tecnica degli elementi sacrificali (<i>templates</i>)	73
3.4 Silicati cristallini: ottenimento di pastiglie per prove di biocompatibilità	77

3.5 Silicati cristallini: ottenimento di strutture cellulari in Akermanite	79
Capitolo 4.....	83
4.1 Metodi di caratterizzazione.....	83
4.1.1 Misura di densità.....	83
4.1.2 Analisi allo stereomicroscopio.....	84
4.1.3 Resistenza a compressione.....	85
4.1.4 Diffrazione a raggi X	90
4.1.5 Microscopio elettronico a scansione (SEM).....	91
4.2 Caratterizzazione dei silicati amorfi	93
4.2.1 Caratterizzazione dei campioni ottenuti con Silres [®] MK.....	93
4.2.2 Caratterizzazione dei campioni ottenuti con Silres [®] H44.....	99
4.2.3 Caratterizzazione dei campioni ottenuti con Silres [®] H62C	102
4.2.4 Caratterizzazione dei campioni ottenuti con tecnica degli elementi sacrificali....	105
4.3 Caratterizzazione dei silicati cristallini.....	111
4.3.1 Caratterizzazione delle pastiglie per prove di biocompatibilità.....	111
4.3.2 Caratterizzazione delle strutture cellulari in Akermanite	119
Appendice A	134
Bibliografia	140
<i>Ringraziamenti</i>	144

Introduzione

“ Se puoi creare un materiale che sopravvive all’esposizione a radiazioni ad alta energia, puoi ottenere un materiale che sopravviva al corpo umano?”. Questa è la domanda che nell’estate del 1967 il Colonnello Klinker pose ad L.L. Hence durante un trasferimento in pullman verso la U.S. Army Materials Research Conference di New York.

La domanda fu dettata dalla consapevolezza, acquisita dal Colonnello durante la guerra del Vietnam, che le tecnologie mediche del tempo non riuscivano a fornire materiali, sfruttabili come protesi, che non venissero rigettati dal corpo. Questa conversazione fu lo spunto per il tentativo di sviluppare qualcosa di nuovo, cioè scoprire un materiale che non formasse tessuto cicatriziale all’interfaccia, ma desse luogo ad un legame vivo con i tessuti danneggiati. Il materiale Bioglass® fu la risposta a quella domanda.

Una categoria di materiali proposti come biomateriali adatti alla funzione di sostituire i tessuti danneggiati o malati, è quella dei materiali ceramici. Esistono ceramici inerti o bioattivi; questi ultimi favoriscono nell’organismo l’attività biologica, consentendo così la formazione di legami ed interazioni dirette con il tessuto biologico, al quale è consentita la libera crescita sulla superficie del materiale.

I materiali bioattivi si basano su di una semplice ipotesi: “il corpo umano rigetta i materiali metallici e polimerici formando tessuto cicatriziale dato che i tessuti vivi non sono costituiti da tali materiali. Le ossa contengono idrossiapatite (HA) e quindi, se un materiale è in grado di formare uno strato di HA *in vivo*, potrà non essere rigettato dal corpo”.

I vetri bioattivi furono scoperti nel 1969 e costituirono inizialmente solo un’alternativa; poi subirono degli sviluppi permettendo che si creasse un legame interfacciale tra l’impianto e i tessuti circostanti.

Inoltre, sebbene siano fragili, gli *scaffolds* costituiti da vetri bioattivi, sono in grado di assicurare una resistenza meccanica maggiore rispetto ai polimeri.

Questa attività di tesi si articola in due rami distinti ma fortemente collegati allo stesso tempo. Una prima parte riguarda l'ottenimento di materiali amorfi a morfologia cellulare con elevata porosità e interconnessione, mentre l'altra prevede lo sviluppo di silicati cristallini, anch'essi a struttura cellulare.

È stato scelto questo tipo di struttura poiché gli impianti realizzati con materiali porosi favoriscono la crescita di tessuti biologici al loro interno, permettendo così l'ancoraggio dell'impianto ai tessuti circostanti.

Per quanto riguarda i materiali amorfi si è cercato di esplorare delle composizioni di biovetro diverse dal classico Bioglass® (45S5), spostando l'attenzione su formulazioni come la 13-93 o la 13-93B1 che, secondo precedenti studi, dovrebbero fornire delle strutture con un elevato contenuto amorfo.

Per i silicati cristallini invece le composizioni dell'Akermanite e della Forsterite, con alcune varianti, sono state il focus della ricerca. Tra i bioceramici, quelli contenenti fosfato di calcio, hanno eccellenti osteoconduttività, bioattività e capacità di formare una forte interfaccia tra osso e fosfato di calcio. Ma quelli come l'Akermanite, cioè silicati di calcio e magnesio, possiedono, oltre a queste caratteristiche, anche elevate proprietà meccaniche come tenacità a frattura, resistenza a flessione e modulo di Young. Inoltre hanno anche la capacità di formare apatite simile a quella che compone le ossa e possono rilasciare ioni solubili che aumentano la bioattività.

I due tipi di materiali trattati, anche se diversi, sono accumulati dall'utilizzo delle stesse tecnologie per l'ottenimento; nello specifico ci si è avvalsi della tecnologia *Polymer Derived Ceramics* (PDCs).

Tale tecnica consiste nella decomposizione di polimeri preceramici per generare un composto ceramico tramite opportuni trattamenti termici. I vantaggi di questa tecnologia sono quelli di poter operare a bassa temperatura, sfruttare le tecnologie di stampaggio tipiche dei materiali polimerici e modulare le fasi finali attraverso il controllo dei parametri relativi ai trattamenti termici. I polimeri preceramici sono polimeri organici-inorganici la cui ossatura contiene solitamente atomi di silicio che forniscono il residuo ceramico attraverso l'eliminazione delle frazioni organiche.

Per quanto riguarda le composizioni di biovetro investigate, sono state usate diverse miscele di polimeri preceramici e *fillers* sia micrometrici che nanometrici come precursori per gli ioni necessari all'ottenimento della composizione voluta, in modo da trovare la combinazione migliore che desse la struttura desiderata. Le materie prime sono state disperse in un opportuno solvente, il composto è stato poi essiccato e sottoposto al trattamento di ceramizzazione.

Per i silicati cristallini il procedimento utilizzato è stato lo stesso, così come i polimeri preceramici. Le differenze consistono nei *fillers* utilizzati, dato che la composizione che si voleva ottenere era ovviamente diversa, e nei parametri tecnologici utilizzati per i trattamenti a cui sono state sottoposte le polveri.

Per ottenere una struttura cellulare sono state utilizzate varie tecniche specialmente per i biovetri; in particolare il risultato che si è cercato di perseguire più a lungo è stato quello dello schiumaggio del composto sfruttando i prodotti di condensazione che si formavano in situ durante il *cross-linking* del polimero. Questi prodotti potevano derivare o direttamente dal polimero o dalla presenza di alcuni *fillers* che, oltre a fornire il corretto apporto di ioni per giungere alla composizione desiderata, rilasciavano delle molecole in grado di agevolare lo schiumaggio. Quest'ultimo aspetto è stato sfruttato per esempio anche per la produzione dei silicati cristallini a struttura cellulare.

Un'altra tecnica sfruttata è stata per esempio l'utilizzo di un polimero sacrificale che fornisce un *template* per la struttura.

Infatti è possibile ottenere strutture cellulari inserendo all'interno della soluzione polimerica degli elementi sacrificali come ad esempio *microbeads* di PE: questo, decomponendosi, genera delle cavità nella struttura del ceramico. Variando la dimensione e la percentuale dell'elemento sacrificale variano anche le caratteristiche dei composti porosi.

Sia per i silicati cristallini che per quelli amorfi, l'eventuale formatura delle polveri ottenute prima del trattamento di ceramizzazione, è stata effettuata per *cold pressing*.

La caratterizzazione dei campioni ottenuti è avvenuta mediante analisi allo stereomicroscopio, misure di densità, XRD, prove di resistenza a compressione e analisi al SEM.

Capitolo 1

Tecnologia PDCs (Polymer Derived Ceramics)

Nell'attività svolta ci si è concentrati sullo sviluppo di silicati amorfi con composizione 13-93 o 13-93B1 (tabella 1.1) e silicati cristallini basati sull'Akermanite ($\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$) e sulla Forsterite (Mg_2SiO_4).

Tabella 1.1- Composizioni silicati amorfi

Composition (wt%)	13-93	13-93B1
Na_2O	6.0	5.8
K_2O	12.0	11.7
MgO	5.0	4.9
CaO	20.0	19.5
SiO_2	53	34.4
P_2O_5	4.0	3.8
B_2O_3	0	19.9

Tutti i materiali sono stati prodotti sfruttando la tecnologia PDCs.

Questo metodo si basa sulla produzione di ceramici silicei sfruttando la termolisi di polimeri preceramici. I materiali ottenuti vengono appunto chiamati Polymer Derived Ceramics (PDCs). La composizione e la microstruttura dei materiali ottenuti dipendono dalla struttura molecolare del precursore polimerico.

Questa tecnica offre opportunità uniche, specialmente dal punto di vista della formabilità; infatti, usando polimeri preceramici, è possibile applicare le classiche tecnologie di formatura plastica (injection molding, extrusion, resin transfer molding, melt spinning, etc.) garantendo quindi bassi costi di produzione per i manufatti ceramici, grazie anche alle basse temperature di processo applicabili (inferiori a 1200 °C). I polimeri contenenti azoto, carbonio e boro sono considerati precursori di vari ceramici come SiC, SiOC, SiCN e SiBN.

Nella tabella 1.2 sono elencati alcuni fra i polimeri preceramici attualmente utilizzati.

Tabella 1.2- Polimeri preceramici

Preceramic Polymers	Polymeric unit	Ceramic	Ceramic yield (%)
Polycarbosilane	$(-R_2SiCH_2-)_n$	SiC	65
Polysiloxane	$(-R_2SiO-)_n$	Si-O-C	30-60
Polysilazane	$(-R_2SiNR-)_n$	Si ₃ N ₄	20-90
Aluminum amide	$(-AlNR-)_n$	AlN	20-50
Polyborazine	$(-B_3N_3H_x-)_n$	BN	85
Polytitanium imide	$(Ti(NR)_2-)_n$	TiN	50-70

I polimeri preceramici sono polimeri organico-inorganici la cui ossatura contiene solitamente atomi di Si che forniscono un residuo ceramico grazie ad un trattamento termico, attraverso l'eliminazione di frazioni organiche (dovuta alla rottura dei legami C-H nel range di temperature tra 600 e 800 °C e al rilascio di H₂, CH₄ ed altri composti volatili).

Le fasi di ottenimento dei ceramici a partire dai polimeri, con particolare riferimento alla realizzazione di ceramici porosi che sono quelli di nostro interesse, sono riassunte nella figura 1.1

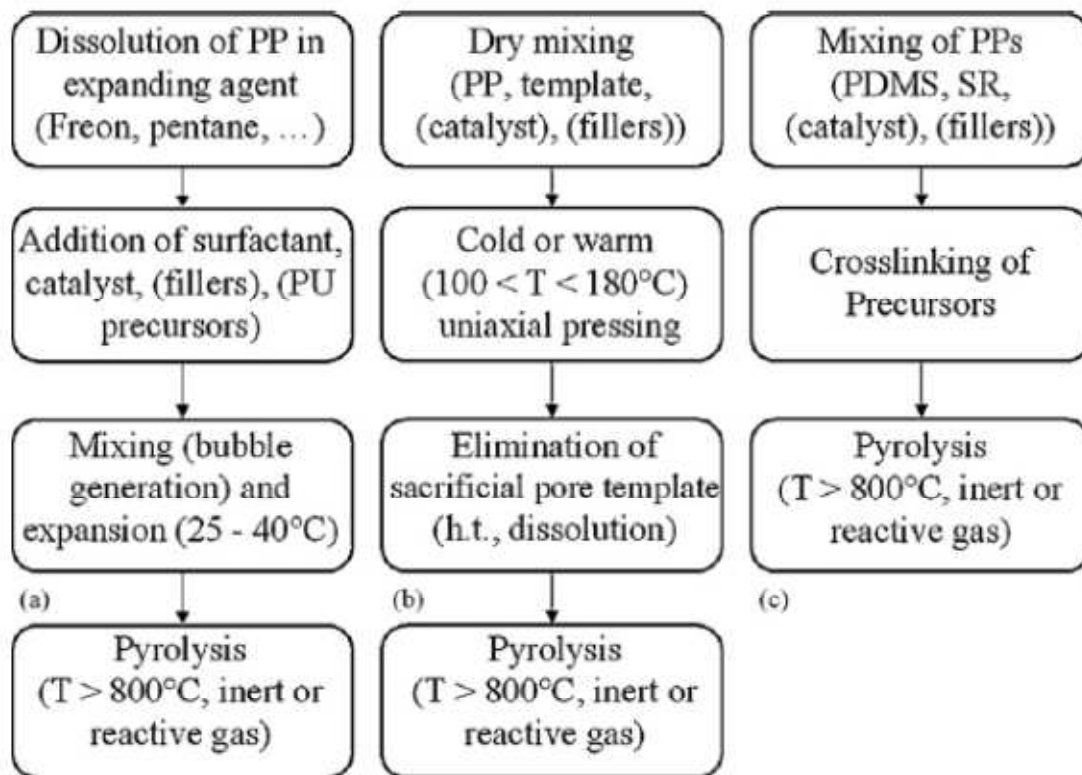


Figura 1.1- Procedure per la fabbricazione di componenti ceramici porosi a partire da polimeri preceramici

La conversione da polimero a ceramico, ultimo step del processo, può essere eseguita o termicamente (pirolisi, attraverso un convenzionale forno di cottura, microonde o riscaldamento laser) o non termicamente (per esempio con irradiazione di ioni), effettuando il processo solitamente in atmosfera inerte.

Così possono essere prodotti ceramici nano strutturati costituiti per esempio dai sistemi Si-O-C, Si-N-C, Si-C, Si-E-N-C (con E = B, Al, Ti, etc.); l'introduzione di fillers adatti permette anche l'ottenimento di ceramici ingegneristici come la cordierite, la mullite o i SiAlON.

I polimeri preceramici vengono usati con successo da almeno 40 anni per fabbricare avanzati componenti *Polymer Derived Ceramics* con alcuni vantaggi peculiari rispetto alle procedure convenzionali di sintesi delle polveri, come la possibilità di produrre materiali ceramici con una composizione non ottenibile sfruttando altri procedimenti.

I ceramici ottenuti con tale tecnica hanno numerose applicazioni, le prime delle quali risalgono agli anni sessanta. Tra queste si possono elencare:

- Fibre : costituiscono il campo di applicazione più antico e di maggior successo per i polimeri preceramici. Esempi sono le fibre di SiC o le fibre di SiBCN.
- Compositi a matrice ceramica: l'utilizzo di polimeri preceramici permette vantaggi per quanto riguarda la semplicità, i costi, le temperature di processo, i tempi dei cicli e la capacità di produrre componenti grandi e complessi.
- Componenti ad elevata porosità: si possono ottenere strutture con dimensione dei pori nel range compreso dai nanometri ad alcuni millimetri. Questa è l'applicazione che riguarda i biomateriali investigati in questa attività.
- Rivestimenti: i polimeri preceramici possono essere depositati su substrati di diversa natura usando diverse tecniche basate o su di una fase liquida (fusa o soluzione) o su di una fase vapore. Questo metodo costituisce un'alternativa ai classici processi CVD e PVD e permette di ottenere, per esempio, rivestimenti in SiCN e SiCO.
- Microcomponenti: con i polimeri preceramici è possibile realizzare componenti con dimensioni minori di 1 μm . Inoltre l'eccellente resistenza termo-meccanica, all'ossidazione e alla corrosione permette l'applicazione nei componenti MEMS (Micro-Electro Mechanical Systems).
- Resistori in materiale ceramico: sono caratterizzati da elevata resistenza alle alte temperature e agli shock termici.

1.1 Caratteristiche del processo PDCs

Un vantaggio chiave della tecnica PDCs è la possibilità di combinare insieme la sintesi chimica e i passaggi di formatura. Infatti i componenti ceramici possono essere formati facilmente applicando ai precursori polimerici le tecniche convenzionali di formatura plastica e sottoponendoli poi alla conversione da polimero a ceramico utilizzando un trattamento termico (usualmente condotto in atmosfera inerte e chiamato quindi pirolisi).

Una caratteristica peculiare dei polimeri preceramici è che possiedono una natura polimerica alla temperatura alla quale vengono sottoposti ai processi di formatura. Inoltre questi polimeri possono essere liquidi o solidi, a seconda della loro architettura e peso molecolare; se sono solidi, possono essere dissolti in vari solventi organici o possono venire fusi a basse temperature ($< 150\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Descrivendo dettagliatamente il procedimento previsto dalla tecnologia considerata, si può notare che sono presenti diverse fasi. In particolare, inizialmente, dopo pesatura dei reagenti, la quantità richiesta di polimero precursore viene disciolta in un solvente adeguato (come isopropanolo o acetone); in questa soluzione vengono inserite le polveri del *filler* in modo da ottenere una sospensione diluita. In quasi tutti i casi, l'uso del solvente risulta necessario sia per dissolvere il polimero che per fornire un mezzo disperdente per i *fillers*.

Le miscele vengono poi mescolate magneticamente e sottoposte ad ultrasuoni in modo da produrre una sospensione stabile; quest'ultima viene poi essiccata in aria per produrre delle polveri composte da polimero preceramico e *fillers*, a meno che la procedura di formatura non preveda l'uso di paste fluide.

La creazione della soluzione con solvente e polimero in modo da ottenere una miscela omogenea con i *fillers*, non risulta necessaria purchè venga utilizzato, alle temperature in cui il polimero è sufficientemente fluido, un efficiente metodo di miscelazione.

Le polveri ottenute sono poi soggette alla formatura utilizzando diverse tecniche come la pressatura a freddo o a caldo, l'estrusione, l'injection molding etc..

Dopo la formatura, i materiali preceramici vengono trattati con calore in differenti condizioni (diverse atmosfere, range di temperature compreso tra 800 e 1550°C , velocità di

riscaldamento che varia in un grande intervallo e diversi tempi di mantenimento), in modo da ottenere i materiali ceramici con la composizione desiderata. In figura 1.2 sono riassunte le fasi della trasformazione da polimero a ceramico.

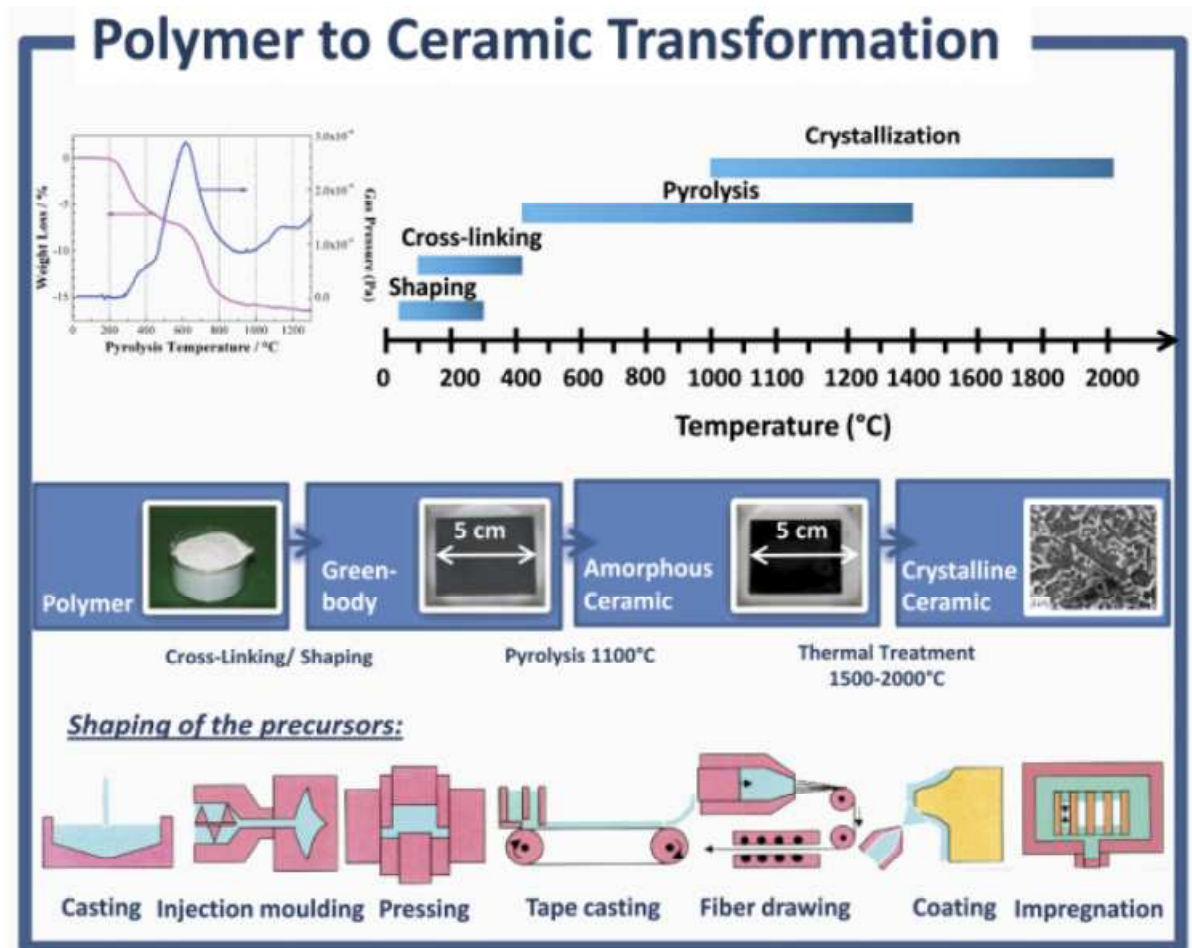


Figura 1.2- Fasi del processo di trasformazione da polimero a ceramico

Uno specifico requisito per processare componenti usando i polimeri preceramici è che, dopo la formatura, le parti devono essere trasformate in una struttura termoindurente in grado di mantenere la forma durante la ceramizzazione.

L'incorporazione di gruppi funzionali adatti (come Si-H, Si-OH, etc.) consente la formazione di una struttura termoindurente attraverso una condensazione che solitamente avviene spontaneamente sotto i 200°C (*thermal cross-linking*). L'entità del *cross-linking* influenza molto il comportamento reologico del polimero preceramico e quindi deve essere controllato accuratamente specialmente quando vengono usate le tecnologie di formatura plastica. Altro fattore da considerare è che, quando viene aggiunta una grande quantità di *filler*, la fase di

cross-linking può non essere necessaria dato che gli additivi solidi solitamente offrono un supporto sufficiente alla matrice polimerica e quindi le permettono di mantenere la forma durante il riscaldamento.

Dopo la formatura e il *cross-linking*, la fase preceramica deve essere convertita in materiale ceramico.

Per l'analisi quantitativa e lo studio dettagliato del comportamento durante la decomposizione dei polimeri preceramici, così come per l'ottimizzazione della trasformazione da polimero a ceramico, il metodo migliore è l'analisi TGA (*thermal gravimetric analysis*).

La conversione porta alla decomposizione o all'eliminazione delle frazioni organiche e dei gruppi Si-H, Si-OH o Si-NH_x. A questo scopo possono essere applicati vari processi, termici o meno. Naturalmente il più utilizzato è il processo di pirolisi.

La velocità di riscaldamento impostata per il trattamento influenza la resa ceramica (se viene lasciato un tempo insufficiente per il *cross-linking* durante il riscaldamento, possono essere rilasciati oligomeri con una conseguente diminuzione della resa ceramica), così come la composizione. I parametri di processo legati alla temperatura come la velocità di riscaldamento, la temperatura e il tempo di mantenimento influenzano la composizione e la microstruttura del ceramico. Vengono influenzate anche l'estensione della cristallizzazione, le reazioni di riduzione carbotermica e le reazioni del *filler* che avvengono nel materiale.

La pirolisi comporta la formazione di un composto amorfo e poco cristallizzato per decomposizione del polimero precursore. Per ottenere un composto cristallino è necessario effettuare un ulteriore trattamento termico che favorisca la cristallizzazione del residuo ceramico ottenuto dalla pirolisi.

Solitamente sono realizzabili esclusivamente strutture a pareti sottili dato che la ceramizzazione comporta uno scarso controllo del ritiro (a causa del passaggio dalla densità del polimero cioè circa 0.8-1.2 g/cm³ a quella di un ceramico siliceo amorfo che è di circa 2.2 g/cm³) ed un elevato rilascio di gas che causano la formazione di crepe e pori, dannosi per le proprietà meccaniche dei componenti monolitici.

Questi limiti possono essere superati inserendo *fillers* attivi o passivi nei polimeri preceramici come riportato nel lavoro pionieristico di Greil. Grazie all'aggiunta di *fillers* attivi come particelle metalliche o intermetalliche si raggiunge un controllo del ritiro e si possono così ottenere monoliti relativamente densi e privi di cricche. Le particelle metalliche o intermetalliche, durante la pirolisi in atmosfera inerte, possono reagire con i prodotti gassosi

della decomposizione del polimero preceramico o con i gas di pirolisi, in modo da fornire principalmente ceramici a base di carburi o nitruri. L'espansione volumetrica che si ha dopo la conversione delle particelle metalliche in materiali ceramici, limita sia la formazione di difetti che il notevole ritiro che avverrebbe altrimenti durante la pirolisi.

Come alternativa, possono essere aggiunte polveri di *filler* inerti o "passivi" che non reagiscono con i prodotti di decomposizione del polimero preceramico. In questo caso i *fillers* riducono semplicemente il ritiro del componente diluendo la massa che reagisce.

Oltre ad usare *fillers* inerti o attivi per puri effetti volumetrici o geometrici, essi possono essere anche utilizzati per modificare la composizione del materiale ceramico prodotto introducendo quindi un altro livello di ottimizzazione nel processo.

La forma dei *fillers* influenza l'isotropia del ritiro durante la ceramizzazione; questo è vero specialmente per quelli in cui una dimensione prevale sulle altre.

Le dimensioni dei *fillers* variano dal range dei micrometri a quello dei nanometri. Nel caso dei *fillers* nanometrici, la loro elevata superficie specifica favorisce una notevole reattività chimica, mentre la loro dimensione permette l'ottenimento di sospensioni stabili in soluzione (omogeneizzazione a livello quasi molecolare).

Inoltre, l'ossidazione delle frazioni organiche nel polimero preceramico, che avviene conducendo il processo in aria sopra ai 400°C, porta alla formazione di silice molto reattiva che può facilmente formare silicati insieme con le polveri del filler.

Va anche osservato che, quando viene trattato un componente formato da polimero preceramico e *fillers* nanometrici, c'è una forte tendenza a formare fasi di equilibrio che sono cristalline e quindi questo approccio è meno sfruttato per la produzione di vetri. Tuttavia, se la temperatura di processo è sufficientemente bassa, in presenza di *fillers* multipli (come carbonati alcalini, fosfati di calcio ecc.), è possibile ottenere un materiale principalmente amorfo con possibili applicazioni nel campo dei biomateriali.

Recentemente sono stati condotti vari esperimenti con l'intento di produrre materiali ceramici avanzati contenenti ossigeno a partire da polimeri preceramici e ossidi nanometrici come *fillers*. Questi ultimi reagiscono con i prodotti di decomposizione del polimero preceramico (silice pura, se processati in aria) producendo le nuove fasi desiderate, e la loro dimensione ridotta consente delle cinetiche di reazione molto favorevoli portando alla formazione, in determinate condizioni, di fasi ceramiche pure a bassa temperatura. Questa può quindi essere considerata una nuova direzione per i componenti costituiti da polimeri preceramici e *fillers*; i *fillers* reagiscono per dare un materiale ceramico con una singola fase e allo stesso tempo

permettono la produzione di componenti privi di cricche, pur mantenendo le caratteristiche di processabilità tipiche dei polimeri preceramici.

Rispetto al metodo sol-gel, che permette anch'esso delle cinetiche di reazioni favorevoli e la creazione di fasi ceramiche pure, l'approccio descritto non richiede uno stretto controllo delle condizioni di sintesi, l'uso di solventi o precursori infiammabili e permette l'utilizzo delle tecnologie di formatura plastica per il componente.

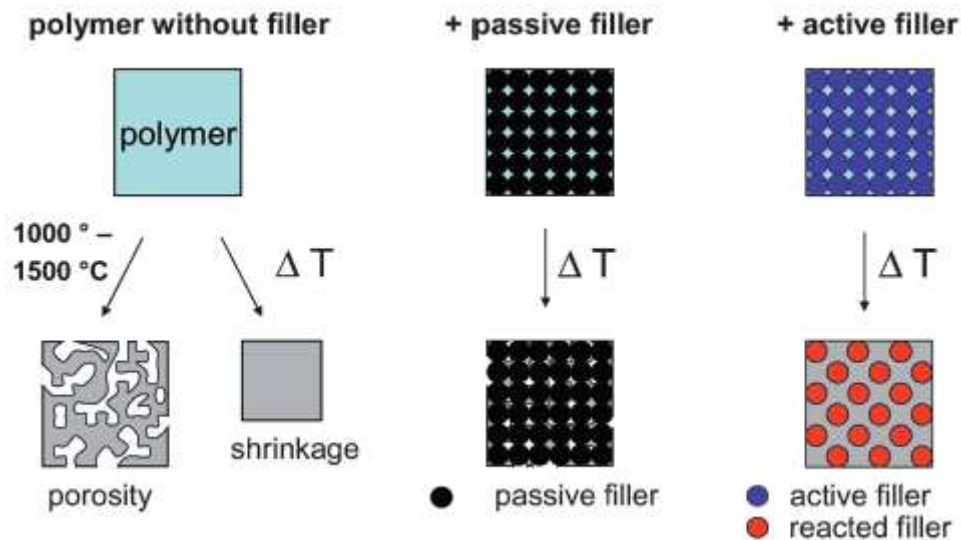


Figura 1.3 – Confronto fra ceramiche derivanti da polimeri preceramici caricati da filler attivi o passivi e ceramiche ottenute da polimeri non caricati

La quantità e la natura dei *fillers* utilizzati influisce su alcune delle proprietà dei ceramiche prodotti:

- Porosità e distribuzione dei pori
- Modulo elastico
- Conducibilità elettrica
- Conducibilità termica
- Resistenza alla corrosione ed al creep

Tutto ciò permette quindi di realizzare componenti *near net-shape*.

Le resine a base di silicio, che sono uno dei più importanti tipi di polimeri preceramici, possono essere usate per la formazione di silicati. Il legame parzialmente covalente che caratterizza i silicati, fa sì che si abbia una lenta interdifferenza dei componenti. Per questo si

riscontra un'elevata stabilità termica e chimica ma una bassa possibilità di sinterizzazione allo stato solido.

I siliceni, insieme ai *fillers* scelti, forniscono la possibilità per la sintesi e la formatura di monoliti di ossidi ceramici. In atmosfera ossidativa le resine costituiscono la sorgente per della silice molto reattiva e hanno la peculiarità di fornire un mescolamento quasi a livello molecolare a causa della natura stessa dei polimeri preceramici. Infatti, la miscelazione con *fillers* nanometrici è fortemente favorita dal fatto che i siliceni, come altri polimeri preceramici, sono facilmente solubili in solventi comuni come l'acetone, l'alcool isopropilico o il toluene, fornendo una soluzione in cui le nano particelle riescono ad essere poste in sospensione. L'essiccazione di tale sospensione fornisce un residuo solido, facilmente macinabile sotto forma di polvere fine che può essere usata per la formatura finale del componente grazie per esempio alle tecniche di pressatura a caldo o a freddo.

Con il metodo PDCs possono essere ottenuti *ceramici porosi* ad elevata porosità con dimensioni dei pori che variano nel range dei micro- , meso- e macro-pori.

Esistono varie strategie, come lo schiumaggio utilizzando degli additivi che si decompongono tra gli 80 e i 250°C rilasciando un grande volume di gas, l'aggiunta di microsferiche espandibili, la miscelazione con microsferiche di polimero sacrificali, seguita da pressatura a freddo e dall'eliminazione delle microsferiche grazie ad un trattamento di cottura che fa sì che si formino dei pori della dimensione desiderata.

La figura 1.4 mostra un campione di schiuma di Cordierite ottenuta usando il *sacrificial template method* (aggiunta di microsferiche di PMMA).

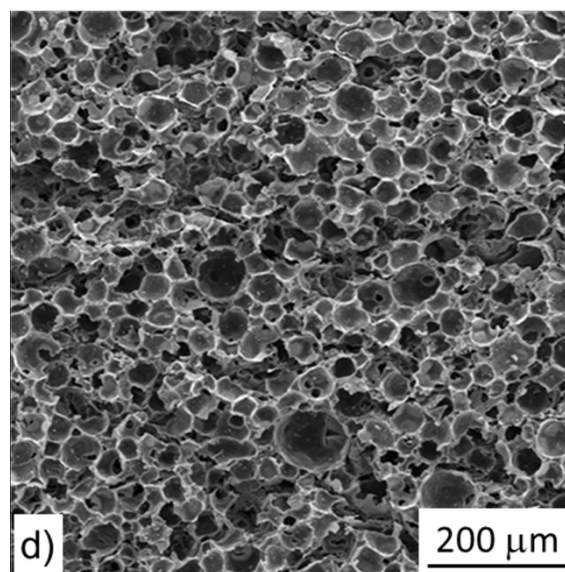


Figura 1.4- Schiuma di cordierite ottenuta usando il *sacrificial template method*

Con questo metodo quindi si ottengono ceramici porosi, con dimensione dei pori controllata, utilizzando *microbeads*, per esempio di PE come nell'attività sperimentale svolta, direttamente miscelati con il polimero preceramico. La decomposizione dei *microbeads* infatti genera delle micro-cavità nella struttura del ceramico. Modulando la dimensione dei *microbeads* e la percentuale di elemento sacrificale aggiunto in soluzione, variano le caratteristiche dei composti porosi realizzati. Tale tecnica, detta *tecnica degli elementi sacrificali*, è stata utilizzata per realizzare alcuni campioni con composizione 13-93.

Si possono realizzare ceramici porosi anche utilizzando metodi diversi come il processo sol-gel o l'impregnazione di una schiuma polimerica.

Quest'ultima tecnica, ad esempio, consiste nell'impregnazione di una schiuma polimerica, in genere di poliuretano, con un polimero preceramico (polisilossano). Tale tecnica prevede, a seguito dell'impregnazione della schiuma, la rimozione del polimero in eccesso mediante compressione, l'eliminazione della schiuma polimerica mediante riscaldamento e infine la conversione del polimero preceramico poroso in ceramico mediante pirolisi. Il ceramico risultante presenta una struttura a porosità aperta interconnessa, data dalla morfologia della schiuma polimerica.

La descrizione delle tecniche utilizzate per la realizzazione delle strutture è riportata nel Capitolo 3, mentre le caratteristiche morfologiche e le proprietà dei campioni ottenuti sono elencate nel Capitolo 4.

1.2 Materiali coinvolti nel processo PDCs

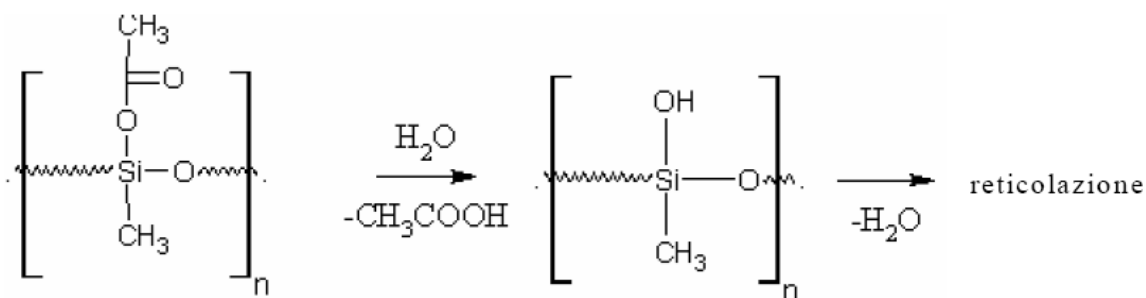
In commercio esistono diverse tipologie di polimeri preceramici con caratteristiche diverse in termini di composizione (ossigeno, azoto e contenuto di carbonio), di reologia (liquidi/solidi, temperatura di transizione vetrosa) e resa ceramica. La scelta del tipo di polimero preceramico viene condotta sulla base della composizione desiderata per il residuo ceramico, sulla quantità di carbonio presente e sul comportamento reologico.

Un tipico esempio di polimeri preceramici sono i convenzionali siliconi che vengono utilizzati per realizzare fibre, rivestimenti superficiali, prodotti porosi e oggetti in *near net-shape*.

I siliconi vengono classificati in funzione del loro stato fisico e, quindi, del loro grado di reticolazione:

- *Fluidi siliconici*: hanno catene lineari terminanti con un gruppo trimetilico e una viscosità che dipende dal grado di reticolazione delle catene; sono insolubili in acqua.
- *Gel siliconici*: sono leggermente reticolati grazie all'introduzione di molecole trifunzionali, quali CH_3SiCl_3 , in grado di reagire con i gruppi vinilici, sfruttando il doppio legame.
- *Siliconi elastomerici*: sono fluidi con un *cross-linking* molto superiore rispetto ai gel siliconici.
- *Resine siliconiche*: nelle quali i monomeri tetraedrici sono predominanti e determinano una reticolazione spinta.

La classificazione dei siliconi, quindi, viene fatta in funzione dei loro parametri caratteristici, quali la lunghezza della catena silossanica e la ramificazione dei gruppi funzionali (grado di reticolazione). La reazione di reticolazione dei siliconi può avvenire tramite sistema monocomponente o bicomponente. I sistemi monocomponenti presentano già il polimero e l'agente reticolante mescolati fra loro, a differenza dei sistemi bicomponenti che necessitano di una miscelazione in situ dei due componenti. I sistemi monocomponente, in genere, presentano tempi di reticolazione superiori rispetto ai bicomponenti. La reazione di reticolazione può essere così esemplificata:



Il metodo più comune per reticolare i siliconi è il metodo via perossidi (es. radicale generato dal dibenzoilperossido).

Dal 1960 sono stati sintetizzati ceramici a partire da polimeri preceramici direttamente dalla pirolisi di polimeri organosiliconici.

Infatti nei primi anni '60, Ainger e Herbert, Chantrell e Popper, riuscirono a produrre ceramici non ossidi a partire da precursori molecolari. Pochi anni più tardi, Verbeek e i suoi colleghi presentarono per la prima volta la trasformazione da polimero a ceramico dei polisilazani, dei polisilossani e dei policarbosilani.

Le temperature relativamente basse necessarie per la sintesi dei PDCs fanno sì che questa tecnologia abbia un elevato interesse economico se paragonata con il classico procedimento di ottenimento dei ceramici che richiede temperature molto più alte. Inoltre i sistemi binari come Si_3N_4 e SiC non possono dissolvere carbonio o azoto per formare le composizioni ternarie di SiCN . Similmente, SiO_2 e SiC non possono dissolvere carbonio o ossigeno per formare ceramici con composizione SiCO .

La capacità di sintetizzare PDCs come carbonitruri di silicio e ossicarburi (SiCN e SiCO) può essere attribuita al forte legame esistente tra il silicio e il carbonio nel composto polimerico che impedisce la volatilizzazione del carbonio durante la pirolisi.

La struttura molecolare e il tipo di polimero preceramico influenzano non solo la composizione ma anche il numero di fasi, così come la loro distribuzione, e la microstruttura del ceramico prodotto. Quindi le proprietà macroscopiche chimico-fisiche dei PDCs possono essere variate in un ampio range progettando accuratamente il precursore molecolare. Perciò la sintesi dei polimeri preceramici risulta di fondamentale importanza nel campo dei *Polymer Derived Ceramics*.

In figura 1.5 viene riportata una formula generale semplificata di un polimero organosiliconico che può essere sfruttato per la sintesi di materiali ceramici.

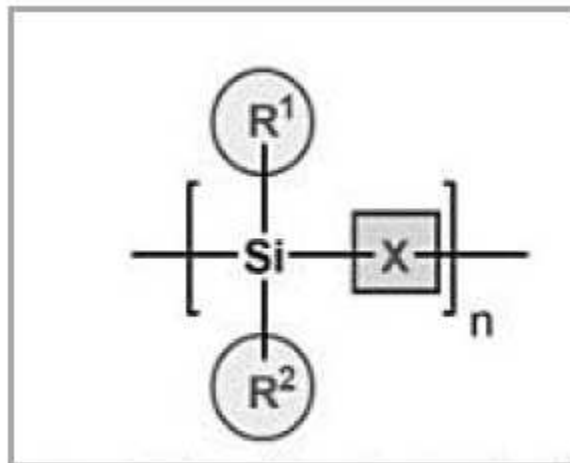


Figura 1.5-Rappresentazione di una unità strutturale di un polimero a base siliconica

Esistono due importanti parametri per modificare il polimero preceramico a livello molecolare: il primo è rappresentato dal gruppo (X) dell'ossatura del polimero e il secondo dai gruppi sostituenti R¹ e R² legati al silicio.

Una variazione del gruppo (X) comporta la creazione di diverse classi di polimeri basati sul silicio come i polisilani (con X = Si), i policarbosilani (con X= CH₂), i polisilossani (con X=O), i polisilazani (con X=NH) e i policarbosilildiimmidi (con X= [N=C=N]).

Una schematizzazione di questo è riportata in figura 1.6.

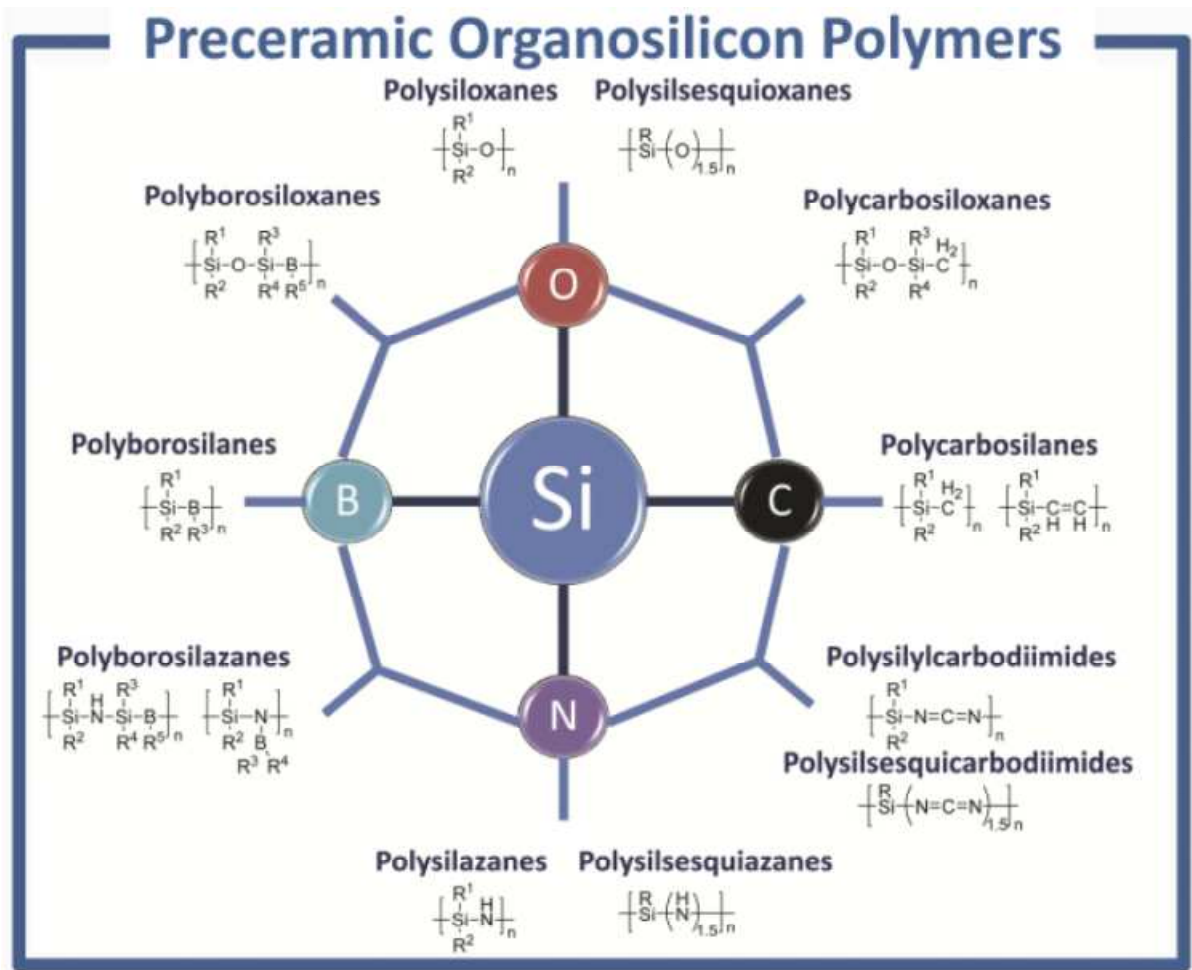


Figura 1.6- Polimeri preceramici

Cambiando invece i gruppi funzionali R^1 e R^2 , vengono influenzate la stabilità termica, quella chimica, la solubilità del polimero e le sue proprietà elettriche, ottiche e reologiche. Solitamente vengono utilizzati idrogeno o gruppi aromatici o alifatici come gruppi R.

Per essere competitivo con i ceramici tradizionali, il polimero preceramico deve essere economico o deve permettere la produzione di componenti con composizioni nuove o proprietà particolari.

La sintesi delle più rappresentative classi di polimeri contenenti Si creati a partire da clorosilani è rappresentata nella figura 1.7.

Synthesis of Organosilicon Polymers

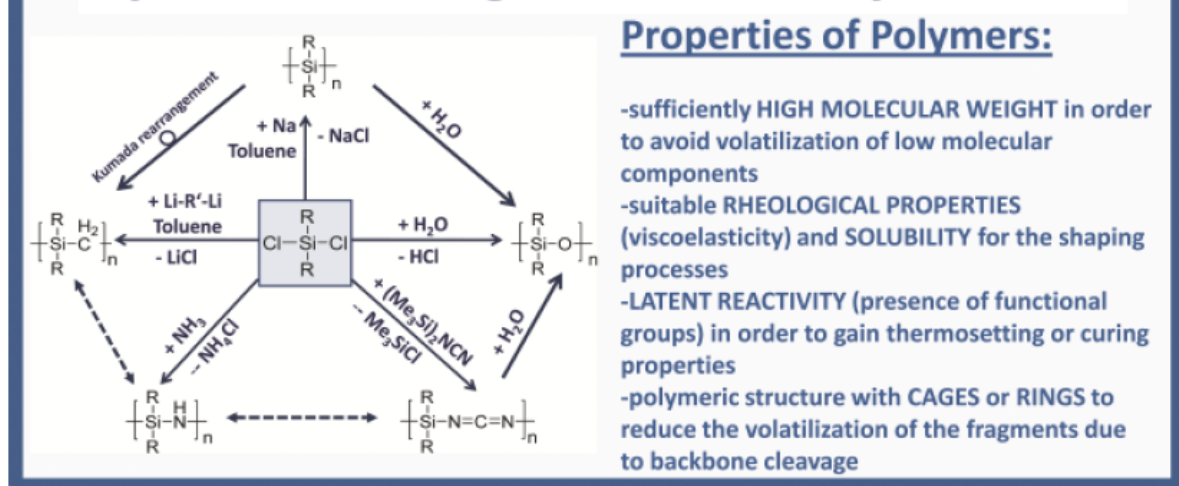


Figura 1.7- Sintesi dei polimeri precursori più diffusi

I clorosilani R_xSiCl_{4-x} sono i composti di partenza più usati a causa della loro elevata disponibilità commerciale e del loro basso costo. Esistono alcune richieste affinché i polimeri preceramici possano essere efficaci per il processo di decomposizione termica. I polimeri dovrebbero possedere un peso molecolare sufficiente in modo da evitare la volatilizzazione dei componenti a basso peso molecolare; dovrebbero, inoltre, avere proprietà reologiche e solubilità adatte per i processi di formatura. È richiesta anche una reattività latente per il processo di *cross-linking*.

1.3 Ottenimento dei materiali di interesse tramite il processo

PDCs

Sia per la realizzazione dei silicati cristallini (Akermanite o Forsterite) che per i silicati amorfi (13-93 o 13-93B1), la tecnologia utilizzata è stata la PDCs.

Come polimeri preceramici in entrambi i casi sono stati utilizzati tre tipi di polisilossani caricati con diversi *fillers* di dimensione sia micro che nanometrica. La descrizione dettagliata e le quantità dei *fillers* utilizzati verranno riportate nella sezione di descrizione dell'attività sperimentale di laboratorio in modo da poter distinguere caso per caso le peculiarità e le procedure caratteristiche.

Per quanto riguarda i precursori polimerici sono stati usati precisamente Silres[®] MK, Silres[®] H44 e Silres[®] H62C, tutti della Wacker-Chemie GmbH, München, Germany. Questi polimeri possono subire il processo di *cross-linking* o termicamente ($T > 150^{\circ}\text{C}$) o in presenza di adeguati catalizzatori.

Nella tabella 1.3 sono riportate le principali caratteristiche di questi materiali.

Preceramic polymer	Main ceramic phase (processing in inert atmosphere at 1000°C)	Physical form	Glass transition temperature, °C	Ceramic yield (at 1000°C in N ₂ /Air), wt%	Class	Composition (1000°C in N ₂), at%
MK	SiOC	Powder	35-55	84/84	Methyl-polysilsesquioxane	SiO _{1.52} C _{0.64}
H44	SiOC	Powder	45-60	84/84	Methylphenyl-polysilsesquioxane	SiO _{1.53} C _{2.82}
H62C	SiOC	Liquid	-	n.a./58	Methylphenylvinyl-hydrogen-polysiloxane	n.a.

Tabella 1.3- Caratteristiche dei polimeri utilizzati

Il Silres[®] MK è un silicone solido con alto grado di reticolazione, distribuito sotto forma di polvere; il Silres[®] H62C invece, è un silicone liquido, avente quindi un basso grado di reticolazione. Si è rilevato che i due polimeri hanno una diversa resa in silice.

L'utilizzo di un'atmosfera ossidante favorisce la formazione di SiO₂, poiché aumenta la resa in silice del polimero rispetto a quella relativa ad un'atmosfera inerte: ad esempio, il silicone Silres[®] MK trattato in atmosfera di azoto ha una resa in SiO₂ pari al 64% in peso, di molto inferiore a quella dello stesso polimero trattato in aria, pari all'84% in peso.

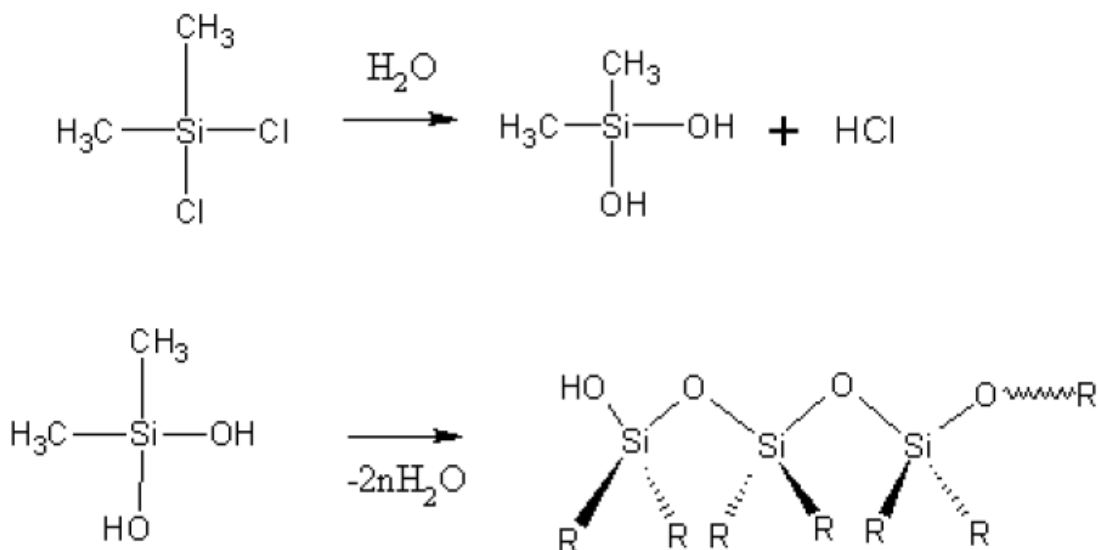
Polisilossani

I polisilossani sono materiali molto importanti e molto utilizzati per le applicazioni di sigillatura; questi vengono generalmente chiamati siliconi, sono poco costosi ed esistono molti derivati in commercio. Molti di questi, hanno eccellenti proprietà chimiche, fisiche ed elettriche.

Il metodo generale di sintesi per la preparazione dei polisilossani comprende la reazione di clorosilani con l'acqua.

In tempi recenti sono stati sintetizzati dei nuovi polisilossani ricchi in silicio chiamati polisilil-eteri, grazie alla policondensazione di silani lineari α , ω -funzionalizzati e grazie al processo ROP (*ring opening polymerisation*) di silil-eteri ciclici. Questi materiali ibridi combinano le proprietà dei polisilani con quelle dei polisilossani.

La sintesi di questi polimeri prevede una reazione di idrolisi controllata del diclorometilsilano e una successiva reazione di condensazione:



La reazione di condensazione definisce il grado di reticolazione del polimero siliconico e, quindi, determina le caratteristiche del componente finale stampato: tanto più il polimero è pre-reticolato tanto minore sarà il grado di reticolazione dello stesso nella fase di trattamento termico.

Interessanti polimeri preceramici “nanoblock” sono i polisilesquiossani ramificati $-\text{[RSi-O}_{1.5}]_n-$. Come mostrato in figura 1.8 i polisilesquiossani possono avere diverse configurazioni.

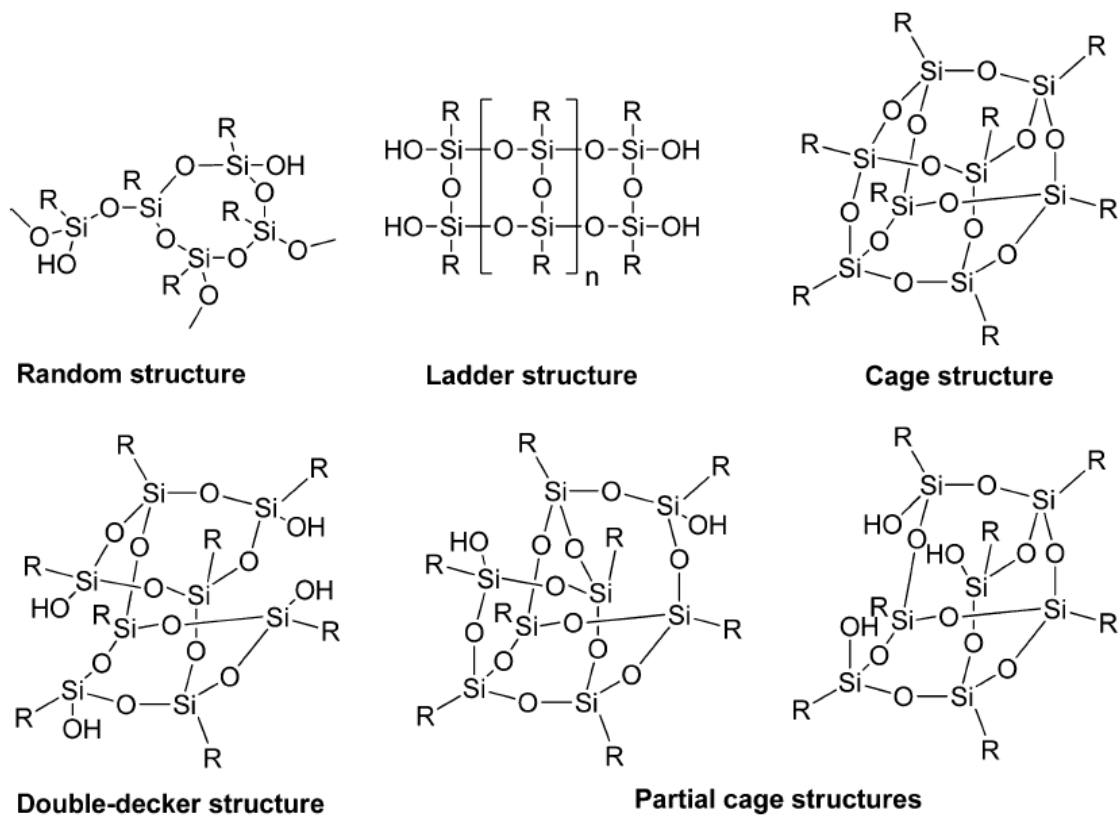


Figura 1.8- Polissilossani

Recentemente, vari studi condotti sui ceramici SiCO, derivati da polisilossani, ad alto contenuto di carbonio, hanno evidenziato che questi materiali hanno una maggiore stabilità nel contrastare la cristallizzazione e un'elevata resistenza alle alte temperature.

Biomateriali Ceramici

Si ha notizia dell'utilizzo di diversi materiali per costruire componenti di impianti chirurgici sino dai tempi più remoti. Medici Egiziani, Greci, e poi Romani, usavano spesso fibre vegetali e materiali di derivazione animale per cucire le ferite; le prime protesi artificiali erano modellate in legno, con risultati sorprendenti. Dagli inizi del secolo scorso, i metalli hanno cominciato ad essere usati comunemente in odontoiatria; in seguito, la disponibilità degli acciai inossidabili e delle leghe, resistenti alla corrosione, ha reso possibile la fabbricazione di protesi di tutti i tipi; in cascata, sono stati usati i materiali plastici più diversi, i ceramici ed i compositi.

La prima definizione ufficiale di biomateriale, venne proposta al *6th Annual International Biomaterial Symposium, 1974*:

“Biomateriale è una sostanza inerte, sia nei confronti dell'organismo che dal punto di vista farmacologico, progettata per essere impiantata o incorporata in un sistema vivente”

In pratica sono indicati come biomateriali quei particolari materiali che, per una serie di importanti proprietà, vengono comunemente utilizzati per la costruzione di dispositivi medici (ad esempio, protesi, impianti endossei, tessuti ed organi artificiali). Questi materiali operano in intimo contatto con i tessuti viventi, minimizzando le eventuali reazioni avverse o di rigetto da parte dell'organismo.

La medicina e la chirurgia, infatti, fanno ricorso in maniera crescente a materiali estranei all'organismo al fine di porre rimedio, in via provvisoria o definitiva, al deficit di una funzione fisiologica.

I requisiti indispensabili che condizionano l'uso di un biomateriale sono:

- la biofunzionalità: l'abilità del materiale impiantato nel corpo di offrire prestazioni meccaniche soddisfacenti;
- la sterilizzabilità, il materiale deve poter essere sterilizzato senza che le sue caratteristiche biofunzionali ne risultino compromesse;
- la biocompatibilità, ossia la capacità del materiale di determinare, da parte del sistema vivente, una reazione favorevole alla sua presenza in una specifica applicazione;
- il fatto che un impianto ideale si comporti in modo equivalente al tessuto ospitante; questo vuol dire che il tessuto all'interfaccia deve essere uguale a quello che l'impianto sostituisce così come la risposta agli stimoli del fisico.

I biomateriali, se classificati in base agli effetti prodotti sul materiale, si suddividono in:

- Biostabili
- Biodegradabili

Vengono definiti biostabili i materiali che, una volta impiantati, non subiscono sostanziali trasformazioni chimiche e/o fisiche nel tempo. Invece, i materiali biodegradabili, sono quelli che, una volta impiantati, subiscono trasformazioni chimiche e/o fisiche che li portano a scomparire nel tempo.

Se classificati invece in base all'interazione materiale/organismo, si distinguono in:

- Biotossici
- Bioinerti
- Bioassorbibili
- Bioattivi

I materiali **biotossici** provocano una reazione avversa da parte del tessuto biologico a causa di processi di tipo chimico e/o galvanico. Appartengono a questa classe alcune leghe a base di nichel,

cadmio, vanadio e altri elementi tossici, alcuni acciai, carburi e metilmetacrilati.

I materiali **bioinerti** sono stabili dal punto di vista chimico-fisico e presentano interazioni minime con i tessuti circostanti; consentono inoltre una buona coesistenza tra organismo e impianto.

Appartengono a questa classe gli ossidi di tantalio, di titanio, di alluminio e zirconio e il polietilene ad altissimo peso molecolare (UHMWPE). L'integrazione tra il biomateriale inerte e il tessuto circostante può essere mediata attraverso l'uso di particolari colle e cementi; questa fissazione, di tipo morfologico, non permette la formazione di legami diretti tra l'impianto e i tessuti. La fissazione morfologica non è ideale per la stabilità degli impianti e causa problemi nelle applicazioni in campo ortopedico ed odontoiatrico.

I materiali **bioassorbibili** subiscono una progressiva degradazione all'interno del sistema biologico, senza che questo provochi reazioni di rigetto o effetti tossici; questi materiali possono essere anche **bioattivi** (es. i copolimeri acido lattico/acido glicolico) e vengono gradualmente rimpiazzati dal tessuto biologico

Per queste loro caratteristiche, sono particolarmente utili nel caso in cui la protesi sostitutiva debba occupare uno spazio limitato; appartengono a questa classe i fosfati di calcio come il fosfato tricalcico e l'idrossiapatite porosa e alcuni biovetri.

I materiali bioattivi favoriscono le interazioni dirette di tipo biochimico con il tessuto biologico, che può crescere sulla superficie del materiale stesso: ciò permette l'instaurarsi di un solido legame dal punto di vista meccanico tra il tessuto naturale e l'impianto protesico.

Il concetto di *bioattività* è stato definito come:

“un materiale bioattivo è un materiale che suscita una specifica risposta biologica all'interfaccia, che comporta la formazione di un legame tra i tessuti e il materiale”.

Un materiale bioattivo crea un ambiente compatibile con l'osteogenesi (crescita ossea), grazie alla mineralizzazione dell'interfaccia che permette lo sviluppo di una giunzione naturale tra i materiali viventi e non viventi.

I materiali bioattivi usati sia per la sostituzione dei tessuti che per la rigenerazione degli stessi, devono possedere una cinetica di rilascio chimico controllata che si sincronizzi con la sequenza dei cambiamenti cellulari che avvengono durante la guarigione delle ferite. Infatti, se la velocità di dissoluzione è troppo alta, la concentrazione di ioni è troppo elevata per

essere efficace. Se la velocità è troppo bassa invece, la concentrazione è troppo scarsa per stimolare la proliferazione e la differenziazione delle cellule.

Hence ha introdotto un indice di bioattività secondo il quale il livello di bioattività di un certo materiale può essere collegato al tempo necessario affinché più del 50% dell'interfaccia si leghi all'osso ($t_{0.5bb}$):

$$\text{Indice di bioattività, } I_B = 100 / t_{0.5bb}$$

I materiali che possiedono un indice maggiore di 8 (classe A), come il Bioglass[®] 45S5, si legano sia a tessuti molli che rigidi; quelli con un valore di I_B minore di 8 ma maggiore di 0 (classe B), come l'idrossiapatite sintetica, si legano solo ai tessuti rigidi.

Nel 1994, è stata proposta un'ulteriore suddivisione dei biomateriali in due categorie:

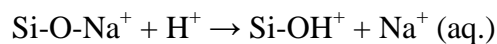
- Classe A: materiali osteoproduttivi. L'osteoproduzione è stata definita da Wilson come "il processo per cui una superficie bioattiva è colonizzata da cellule staminali osteogeniche libere". La bioattività di classe A si verifica quando un materiale suscita sulla sua interfaccia una risposta sia intracellulare che extracellulare. I vetri bioattivi di classe A possono legarsi sia con tessuti rigidi che molli.
- Classe B: materiali osteoconduttivi. Un impianto osteoconduttivo fornisce semplicemente una superficie biocompatibile lungo la quale migra l'osso. La bioattività osteoconduttiva si ha quando un materiale suscita solo un responso extracellulare all'interfaccia.

Un vetro bioattivo subisce la dissoluzione della superficie in ambiente fisiologico in modo da formare uno strato di idrossiapatite carbonata (HCA). Maggiore è la solubilità del vetro bioattivo, più pronunciato è l'effetto sulla crescita del tessuto osseo.

Quando un vetro reagisce con una soluzione acquosa, sulla superficie avvengono dei cambiamenti sia chimici che strutturali in funzione del tempo. L'accumulo dei prodotti di dissoluzione causa poi una variazione sia della composizione chimica che del pH della soluzione. La formazione dello strato di idrossiapatite carbonata, il rilascio di silice solubile e ioni calcio nei tessuti circostanti, sono fattori chiave per la velocità con cui si viene a formare il legame di questi vetri con i tessuti, per lo stimolo alla crescita dei tessuti e per l'uso come *scaffolds* per l'ingegneria tissutale.

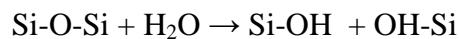
Dato che lo strato di HCA che si forma è molto simile ai minerali costituenti le ossa, lo *scaffold* si lega fermamente con le ossa e i tessuti viventi. Si ritiene che questo strato si formi come risultato di una sequenza di reazioni che avvengono sulla superficie dell'impianto in vetro bioattivo, come è stato descritto da Hench:

Stadio 1: Rapide reazioni di scambio di ioni tra i modificatori del reticolo (Na^+ e Ca^{2+}) e ioni H^+ (o H_3O^+) che provengono dalla soluzione; queste reazioni portano all'idrolisi dei gruppi silicei e alla creazione di gruppi (Si-OH) sulla superficie del vetro:



Il pH della soluzione cresce a causa del consumo degli ioni H^+ .

Stadio 2: La crescita del pH (o della concentrazione di OH^-) porta all'attacco del reticolo della SiO_2 , alla dissoluzione della silice in forma di acido silicico che va in soluzione e alla continua formazione di gruppi Si-OH sulla superficie del vetro:



Anche se la solubilità della silice è bassa, i prodotti di dissoluzione del vetro bioattivo o della vetro-ceramica nella soluzione acquosa dimostrano una crescita nella concentrazione di Si, il che indica che la dissoluzione della silice è un meccanismo significativo. Tuttavia, anche altri meccanismi possono contribuire alla crescita della concentrazione di Si.

Stadio 3: Condensazione e polimerizzazione di uno strato amorfo ricco in SiO_2 (tipicamente 1-2 μm di spessore) sulla superficie del vetro impoverito in Na^+ e Ca^{2+} .

Stadio 4: Un'ulteriore dissoluzione del vetro, accoppiata alla migrazione di ioni Ca^{2+} e $(\text{PO}_4)^{3-}$ dal vetro attraverso lo strato ricco in SiO_2 e dalla soluzione; ciò porta alla formazione di uno strato amorfo di fosfato di calcio (ACP) sulla superficie dello strato ricco in SiO_2 .

Stadio 5: Il vetro continua a sciogliersi e lo strato ACP incorpora $(\text{OH})^-$ e $(\text{CO}_3)^{2-}$ dalla soluzione e cristallizza come strato HCA.

Con la formazione dello strato HCA, si crede che i meccanismi biologici successivi che portano al legame con le ossa, coinvolgono l'assorbimento di fattori di crescita, seguito dall'aggancio, dalla proliferazione e dalla differenziazione delle cellule osteoprogenitrici.

Possono avvenire due tipi di interazioni tra l'impianto e il tessuto:

- Interazione extracellulare che è determinata dalle caratteristiche della superficie del materiale. Una porosità nanometrica in superficie e la presenza di gruppi Si-OH giocano un ruolo importante sull'assorbimento di proteine e collagene da parte del materiale.

L'assorbimento delle proteine è seguito dalla coagulazione e dall'attivazione del sistema di adesione cellulare. Le interazioni tra i recettori degli osteoblasti e i corrispondenti leganti per le proteine contribuiscono all'adesione cellulare. Un'altra conseguenza importante dell'assorbimento delle proteine è la trasformazione degli zimogeni in enzimi attivi. Tutte le sostanze presenti sulla superficie dell'impianto hanno un effetto diretto sulla differenziazione delle cellule e sulla loro proliferazione. Sulla superficie dei ceramici bioattivi è favorita la proliferazione degli osteoblasti rispetto a quella dei fibroblasti (cellule tipiche del tessuto connettivo).

- Interazione intracellulare che può essere causata dal rilascio di silicio solubile dalla superficie dei vetri con alti valori di I_B . Studi hanno dimostrato che il silicio solubile è un potente mitogeno per le cellule umane simili agli osteoblasti, aumentando la sintesi del DNA e favorendo il rilascio dell'osteocalcina.

È stato dimostrato anche che gli osteoblasti si dividono più rapidamente sui substrati dei vetri bioattivi rispetto a quello che fanno sull'HA sintetica. Inoltre l'osso cresce più velocemente in presenza di silicio. Quindi la presenza di silicio solubile gioca un ruolo fondamentale nella riparazione dei tessuti e nell'osteogenesi.

Gli osteoblasti (cellule che formano le ossa), creano una matrice extracellulare (collagene) che mineralizza in forma di minerale nano-cristallino e collagene sulla superficie dell'impianto di vetro mentre la degradazione e la conversione del vetro continua nel tempo.

Per gli *scaffolds* bioattivi è necessario essere in grado di controllare la solubilità (velocità di dissoluzione) del materiale.

È necessaria una bassa solubilità se lo *scaffold* è progettato per avere una vita molto lunga. È richiesta invece una solubilità controllata se è progettato per aiutare la formazione delle ossa, come il Bioglass® 45S5 sviluppato per gli innesti ossei, o per la creazione rapida di ossa *in*

vitro. Quindi è necessaria un'approfondita conoscenza dei fattori che influenzano la solubilità e la bioreattività, al fine di sviluppare nuovi materiali per la rigenerazione dei tessuti *in situ* e per la *tissue engineering*.

2.1 Tissue engineering

La *tissue engineering* è emersa come un approccio promettente per la riparazione e la rigenerazione dei tessuti e organi persi o danneggiati in conseguenza di traumi, lesioni, malattie o dell'invecchiamento. Ha inoltre la potenzialità di superare il problema della carenza di tessuti ed organi disponibili per i trapianti. Nell'approccio più comune uno *scaffold* con un'architettura ben definita serve come struttura temporanea per le cellule e per la loro proliferazione e differenziazione nei tessuti e organi desiderati.

Attualmente lo standard migliore nella chirurgia ricostruttiva consiste nell'autotrapianto, cioè nell'asportazione del tessuto del paziente da un sito donatore e nel trapianto nel sito danneggiato. Alternative sono gli omoinnesti (trapianto da un altro paziente) e gli eterotrapianti (tessuti provenienti da specie diverse).

Tutti gli impianti ortopedici attuali sono carenti nelle tre caratteristiche più importanti dei tessuti viventi: la capacità di auto-ripararsi, l'abilità di mantenere un corretto apporto di sangue e la capacità di modificare la loro struttura e le loro proprietà in risposta ai fattori ambientali come un carico meccanico. Hanno inoltre una durata limitata e, dato che l'aspettativa di vita cresce continuamente, è richiesto uno spostamento dell'attenzione dalla sostituzione dei tessuti alla loro rigenerazione, in modo da soddisfare la richiesta crescente di riparazioni ortopediche a lungo termine.

Una strada per ripristinare i tessuti malati o danneggiati al loro stato originale sarebbe applicare la *tissue engineering* ai tessuti in laboratorio. In una tipica applicazione, le cellule dovrebbero essere prelevate dal paziente (per esempio le cellule osteogeniche nel caso dell'osso) e seminate su di uno *scaffold* sintetico che funge da guida e da stimolo per la crescita del tessuto in tre dimensioni creando un biocomposito vivente; questo può poi essere impiantato di nuovo nel paziente. Con il passare del tempo, lo *scaffold* dovrebbe riassorbirsi nel corpo creando prodotti di decomposizione non tossici, alla stessa velocità con cui le cellule producono la loro matrice extracellulare.

Per essere in grado di rigenerare un osso trabecolare, è richiesta una costruzione che simuli la struttura dello stesso e che stimoli la crescita di nuovo osso se coltivata con cellule osteogeniche (osteoblasti).

La figura 2.1 mostra i cambiamenti che avvengono nella popolazione delle cellule progenitrici degli osteoblasti in presenza di prodotti ionici di dissoluzione biologicamente attivi.

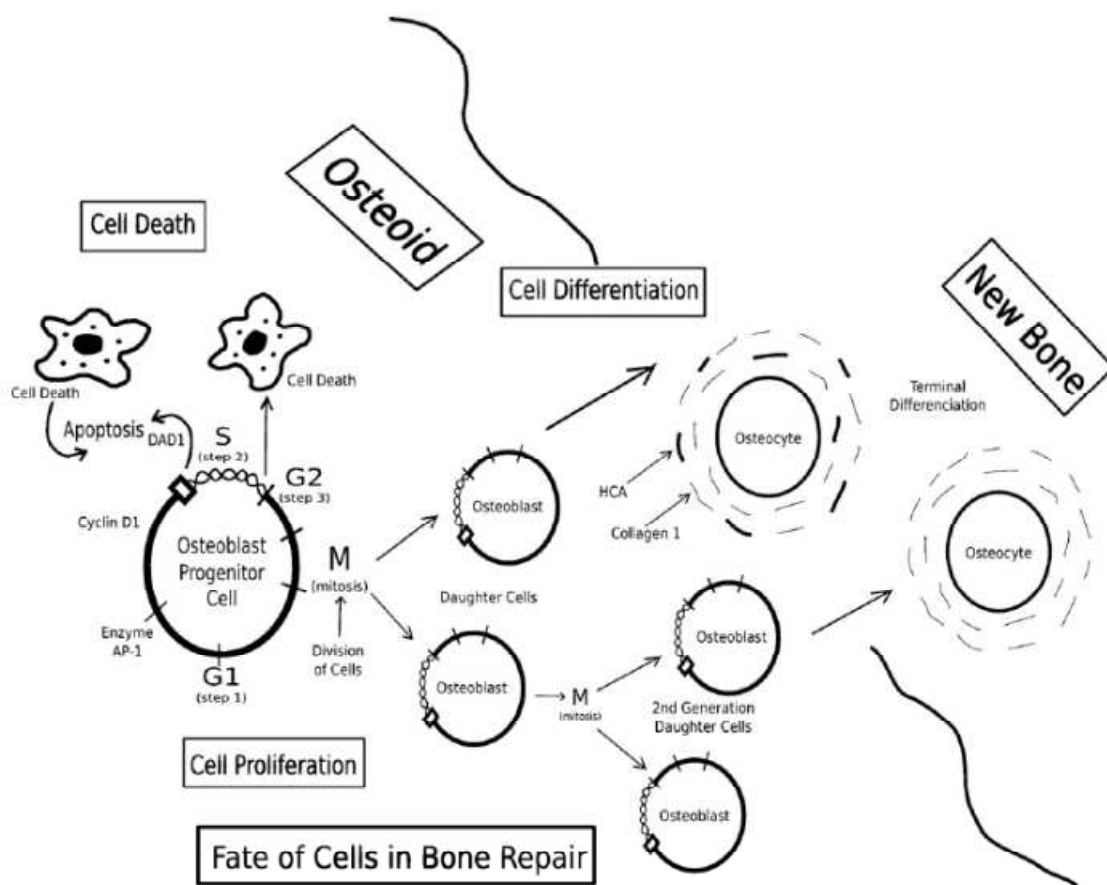


Figura 2.1- Schematizzazione del ciclo delle cellule osteogeniche

Al fine di formare nuove ossa è essenziale che le cellule progenitrici subiscano la mitosi. Le cellule osteoprogenitrici presenti devono ricevere gli stimoli chimici corretti dall'ambiente che le circonda in modo da permettere l'inizio delle parti attive del ciclo cellulare. Le cellule a riposo sono nella fase G0. Ogni nuovo ciclo cellulare comincia dopo che una cellula ha completato la mitosi precedente. Se l'ambiente chimico circostante è adatto e, dopo un periodo critico di crescita nella fase G1, la cellula entra nella fase S in cui comincia la sintesi del DNA. La fase S porta eventualmente alla duplicazione di tutti i cromosomi nel nucleo.

Ora la cellula è pronta per subire la mitosi in una seconda fase chiamata G2. Durante questa fase la cellula si prepara a dividersi e controlla l'accuratezza della duplicazione usando gli enzimi riparatori del DNA. Per la transizione G2-M è necessario un aumento critico della massa e la sintesi e attivazione di diversi fattori di crescita.

Se l'ambiente non permette il completamento della fase G1 o della G2, le cellule procedono ad una uccisione programmata chiamata apoptosi. I materiali bioinerti o quelli bioattivi di classe B non producono le condizioni che permettono alle poche cellule osteoprogenitrici presenti di superare i checkpoints del ciclo. Solo i materiali di classe A sono in grado di consentire una rapida formazione dell'osso *in vivo* con un processo chiamato osteoproduzione.

L'architettura 3D dell'osso mineralizzato è creata dagli osteoblasti quando le cellule vengono esposte a concentrazioni critiche di elementi insolubili rilasciati dai vetri bioattivi. Il ruolo del vetro bioattivo è principalmente quello di rilasciare le concentrazioni critiche di ioni biologicamente attivi alla velocità necessaria per la proliferazione e la differenziazione delle cellule. I marcatori cellulari suggeriscono che la crescita delle cellule su materiali inerti o di classe B, come substrati di HA densa, non è in grado di formare nuovo osso mineralizzato ma fornisce una struttura più simile a quelle che si trovano nei tessuti cicatriziali.

Il ciclo delle cellule non fornisce solo la struttura per la proliferazione delle stesse ma determina anche la funzione e la differenziazione di alcune cellule esistenti. Le cellule dell'osso coprono un largo intervallo di fenotipi che include principalmente gli osteoblasti, cellule in grado di sintetizzare prodotti specifici per le cellule dell'osso come il collagene Type1. Tuttavia una popolazione fondamentale di cellule nell'osso è data dagli osteociti; questi sono in grado di sintetizzare e mantenere la matrice mineralizzata dell'osso in cui risiedono. Così, gli osteociti rappresentano la popolazione di cellule responsabile della produzione della matrice extracellulare e della mineralizzazione che è lo step finale nello sviluppo dell'osso e probabilmente anche il più cruciale data l'importanza del legame tra collagene e HCA che determina le funzionalità meccaniche dell'osso.

Quindi, la formazione del tessuto osseo avviene in varie fasi:

- attivazione e migrazione di cellule mesenchimali indifferenziate, mediante chemiotassi;
- ancoraggio cellulare alla matrice, grazie alla fibronectina;
- mitosi e proliferazione delle cellule mesenchimali (guidata dai fattori di crescita);
- mineralizzazione della cartilagine;

- iniziazione vascolare e condrolisi;
- differenziazione di osteoblasti e deposizione di matrice ossea;
- mineralizzazione del nuovo tessuto.

Inoltre, la formazione di tessuto osseo richiede necessariamente la presenza di:

- un segnale osteoconduttivo;
- un substrato in grado di ricevere il segnale e in grado di fare da supporto per la neoformazione dell'osso (*delivery-system*);
- cellule rispondenti: cellule indifferenziate in grado di differenziarsi in cellule ossee, fibroblasti e cementoblasti.

2.2 Ideal scaffold

La maggior parte dei bioceramici, è a contatto con le ossa. È importante perciò conoscere la struttura dei vari tipi di ossa presenti nel corpo.

Le ossa sono costituite da un tessuto connettivo altamente specializzato in cui si distinguono delle cellule (osteociti) ed una sostanza intercellulare resa particolarmente dura dalla presenza di minerali. La maggior parte della fase minerale dell'osso, responsabile della caratteristica rigidità e durezza di questo tessuto, è costituita da microscopici cristalli di fosfato di calcio, carbonato di calcio e, in quantità minore da fosfato di magnesio e fluoruro di calcio. L'osso è costituito principalmente da cristalli aghiformi di idrossiapatite $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ di lunghezza pari a 20-40 nm e spessore di 1.5-3 nm (85%); si possono trovare anche piccole quantità di altre apatiti come la fluoroapatite. Tali cristalli sono immersi in una matrice di collagene e formano dei fogli lamellari ad elica rispetto all'asse degli osteoni (unità strutturali dell'osso).

Dal punto di vista strutturale si possono distinguere due tipi di tessuto osseo: l'osso compatto, che appare come una massa solida continua e l'osso spugnoso, che possiede un aspetto alveolare. Le dimensioni e la disposizione delle fibre di collagene individuano due varietà di tessuto osseo: fibroso e lamellare. Il tessuto osseo fibroso è caratterizzato dalla presenza di fibre di collagene di rilevanti dimensioni che si intrecciano in tutte le direzioni. Il tessuto osseo lamellare è la forma più diffusa di tessuto osseo e costituisce la quasi totalità dell'osso compatto e buona parte dell'osso spugnoso; nel tessuto osseo lamellare le fibre di collagene e gli osteociti sono organizzati in strati ordinati e sovrapposti (lamelle ossee) che, a seconda

della disposizione danno luogo al tessuto lamellare semplice caratterizzato da lamelle disposte in modo concentrico attorno ad un canale centrale detto canale di Havers, nel quale è contenuto un vaso sanguigno (Figura 2.2). Le ossa sono provviste di propri vasi sanguigni e di propri nervi. La parte cellulare (osteociti) è contenuta in piccole cavità dette lacune ossee. Dalle lacune ossee si diramano, in tutte le direzioni, i canalicoli ossei. Le lacune e i canalicoli costituiscono un sistema continuo di cavità ramificate all'interno dell'osso che permette gli scambi metabolici e gassosi tra il sangue che scorre nei vasi contenuti nel tessuto e nelle cellule.

Fra gli osteociti si riconoscono gli osteoblasti che producono la sostanza ossea fondamentale priva di minerali e gli osteoclasti che invece distruggono la sostanza fondamentale sostituendola con un leggero trabecolato osseo.

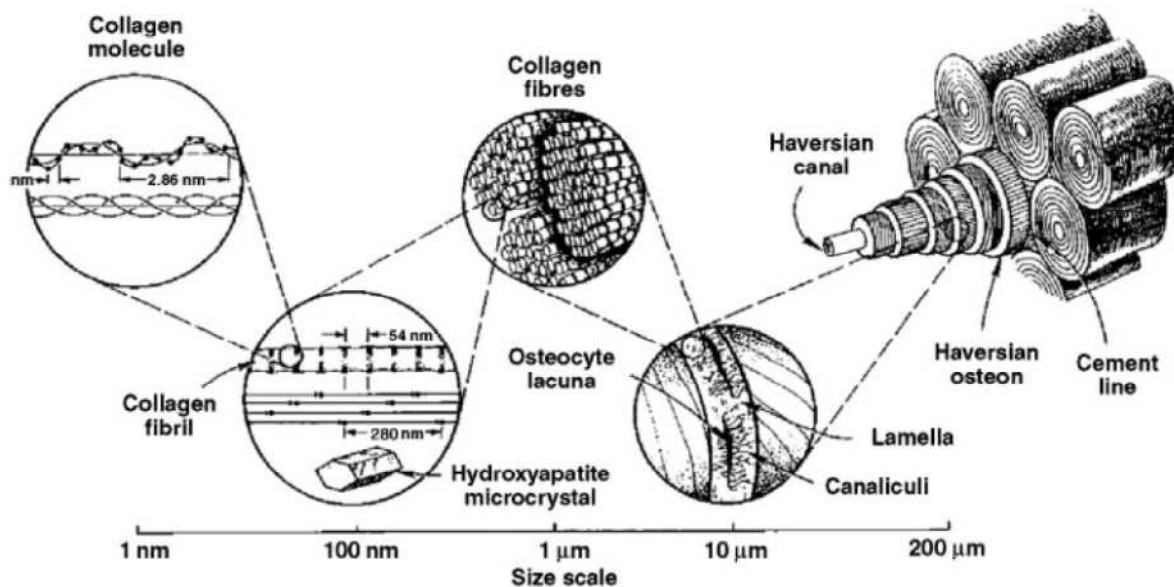


Figura 2.2-Struttura gerarchica delle ossa

La travi delle ossa trabecolari sono molto soggette all'osteoporosi. Lo scopo della medicina rigenerativa è di stimolare il corpo a riattivare le cellule osteogeniche in modo da ricreare l'architettura 3D naturale dell'osso. Quindi l'uso di uno *scaffold* rigenerativo potrebbe guidare e stimolare la crescita dell'osso.

La progettazione di una protesi artificiale ha come obiettivo la realizzazione di un dispositivo che replichi un organo o un tessuto naturale sia dal punto di vista funzionale sia da quello morfologico. È necessaria, quindi, la conoscenza dell'organo/tessuto naturale che si vuole riprodurre e saper conoscere sommariamente i vincoli (prestazioni, forma,...) e le possibili interazioni fra protesi artificiale e tessuto, a seguito dell'impianto nel corpo.

Quando un dispositivo biomedico viene impiantato in un organismo vivente, il tessuto interessato reagisce alla presenza di questo corpo estraneo con una serie di fenomeni che vengono definiti come *host response*. Il primo evento che si verifica al contatto materiale-ambiente biologico è l'adsorbimento proteico sulla superficie dell'impianto. Tale fenomeno influenza il successo dell'impianto, permettendo l'instaurazione di interazione tra materiale e tessuto biologico. L'adsorbimento delle proteine è influenzato sia dall'adesione cellulare che dalla coagulazione del sangue. La modalità e la forma con cui le proteine interagiscono con la superficie estranea sono fondamentali per le fasi successive, fra le quali l'instaurarsi di interazioni cellula-superficie e cellula-cellula. La superficie del materiale risulta, quindi, importantissima nelle prime fasi dell'impianto, poiché guida il tipo e la morfologia delle cellule che vanno ad accrescersi su di essa. L'interazione fra la superficie e il tessuto in formazione dipende dalla biocompatibilità, dalla bioattività e dalla morfologia superficiale del materiale che costituisce la protesi. La bioattività e la biocompatibilità di un materiale possono essere valutate mediante prove in vitro di coltura cellulare e incubazione proteica.

Uno *scaffold* ideale è quello che replica la matrice extracellulare del tessuto che deve essere rimpiazzato e quindi può funzionare come *template* in tre dimensioni sul quale le cellule possono legarsi, moltiplicarsi e migrare. I criteri che uno *scaffold* per la rigenerazione ossea ideale deve rispettare sono i seguenti:

- essere costituito da un materiale biocompatibile e quindi non citotossico;
- fungere da *template* per la crescita dei tessuti in tre dimensioni;
- avere un network di macro pori interconnessi con pori del diametro maggiore di 100 μm per la penetrazione delle cellule, la crescita dei tessuti, la vascolarizzazione e il trasporto dei nutrienti verso il centro del tessuto che si sta rigenerando sull'impianto. Inoltre deve possedere mesopori ($2 \text{ nm} < \text{misura pori} < 50 \text{ nm}$) che promuovono l'adesione delle cellule;
- legarsi al tessuto ospitante senza la formazione di tessuto cicatriziale. È quindi costituito di un materiale osteoconduttivo;
- possedere una morfologia superficiale che promuove l'adesione delle cellule e l'assorbimento dei metaboliti biologici;
- influenzare i geni nelle cellule che rigenerano l'osso in modo da permettere una differenziazione e una proliferazione cellulare efficiente;

- riassorbirsi alla stessa velocità con cui viene riparato il tessuto creando prodotti di degradazione non tossici e che possono essere espulsi facilmente dal corpo, per esempio grazie all'apparato respiratorio o a quello urinario;
- deve poter essere creato con dei processi che forniscono dei componenti dalla forma irregolare che deve combaciare perfettamente con quella del difetto nell'osso del paziente;
- possedere proprietà meccaniche sufficienti a permettere la rigenerazione dei tessuti in applicazioni particolari come quelle delle ossa in siti portanti;
- avere la potenzialità di essere producibile commercialmente e sterilizzabile rispettando gli standards richiesti a livello internazionale per l'utilizzo clinico.

Gli *scaffolds* per la *tissue engineering* sono solitamente costituiti da materiali polimerici biodegradabili, sintetici o naturali. Tuttavia l'uso di questi materiali è difficoltoso per la rigenerazione di ossa portanti dato che possiedono una bassa resistenza meccanica. Invece, sebbene siano fragili, gli *scaffolds* costituiti a partire da materiali inorganici come i bioceramici basati sul calcio fosfato e i vetri bioattivi, sono in grado di fornire una resistenza meccanica maggiore.

2.3 Bioceramici

I materiali ceramici usati per la riparazione e la ricostruzione delle parti danneggiate o malate del sistema muscolo-scheletrale, sono detti bioceramici. Le applicazioni includono la sostituzione di fianchi, ginocchia, denti, tendini, legamenti e la riparazione di danni conseguenti a malattie parodontali, ricostruzioni maxillo-facciali e riempitivi per le ossa dopo la chirurgia dovuta ai tumori.

I bioceramici sono materiali inorganici, non metallici caratterizzati da legami interatomici ionici a parziale carattere covalente. Possono essere monocristallini, policristallini (allumina e idrossiapatite), vetrosi, vetroceramici o compositi.

I vetri bioattivi e le vetroceramiche sono usati anche per la riparazione delle ossa e sono stati sviluppati per le applicazioni della *tissue engineering*. I vetri bioattivi hanno una struttura amorfa basata sulla silice e sono biocompatibili, bioattivi, osteoconduttivi e anche osteoproduttivi, mentre le vetroceramiche sono vetri cristallizzati costituiti da una composizione di una fase cristallina e una fase vetrosa residua.

Una caratteristica comune dei vetri e delle ceramiche bioattivi è la modificazione della loro superficie che avviene successivamente all'impianto. La superficie forma uno strato biologicamente attivo di HCA che fornisce l'interfaccia di legame con i tessuti. La fase HCA che si forma è chimicamente e strutturalmente equivalente alla fase minerale dell'osso. La formazione dello strato di apatite sulla superficie dei ceramici che si ha *in vivo* può essere riprodotta in un *simulated body fluid* (SBF) privo di proteine e acellulare che è preparato in modo da avere una concentrazione di ioni circa uguale a quella del plasma sanguigno.

2.3.1 Silicati amorfi 13-93 e 13-93B1

I vetri bioattivi sono basati su un reticolo casuale di tetraedri di silice che contengono legami Si-O-Si. Il reticolo può essere modificato con l'aggiunta di modificatori come Ca, Na e P, che formano dei legami grazie agli ossigeni non pontanti.

Nonostante la sua fragilità, il vetro bioattivo ha molte caratteristiche attraenti per essere usato come scaffold per la tissue engineering.

Gli impianti costituiti da silicati amorfi risultano particolarmente adatti per protesi a bassa durata dato che vengono riassorbiti molto velocemente e forniscono gli elementi corretti in breve tempo.

Gli scaffold costituiti da schiume di vetro bioattivo, in particolare hanno il potenziale per soddisfare tutti i criteri richiesti dato che possiedono una struttura porosa gerarchica simile a quella delle ossa spugnose, possono legarsi sia all'osso che a tessuti non rigidi e rilasciano silicio e ioni calcio che è stato dimostrato essere in grado di regolare molti geni nelle cellule osteogeniche.

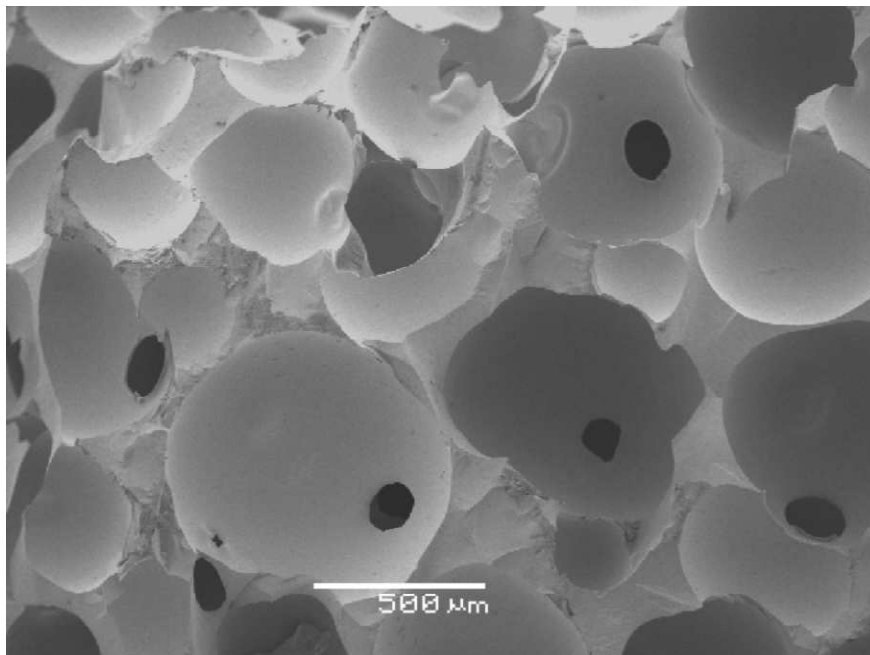


Figura 2.3-Immagine al SEM di una tipica schiuma di vetro bioattivo

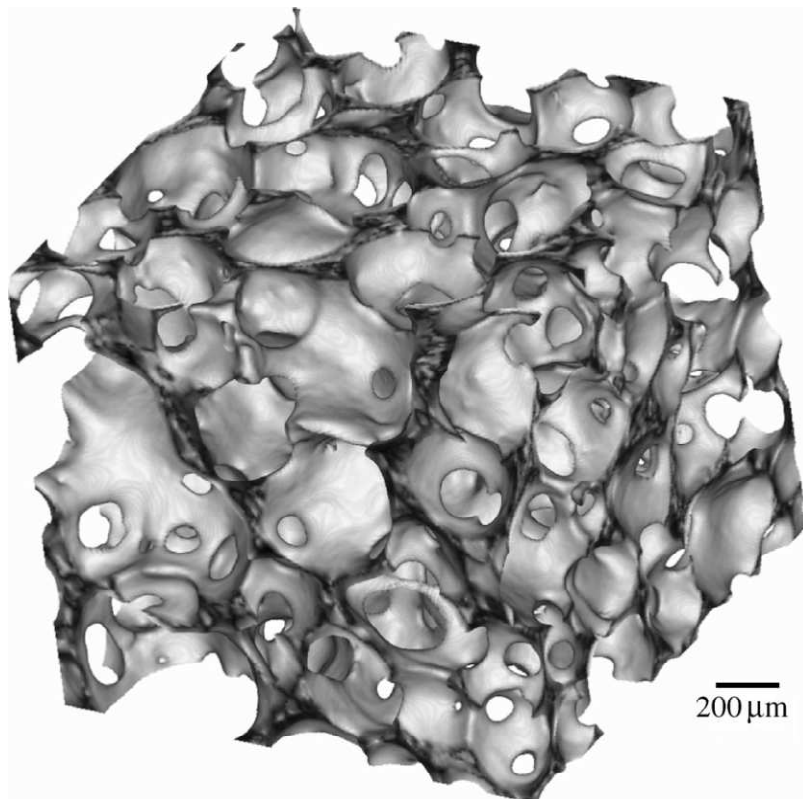


Figura 2.4-Immagine XTM di una tipica schiuma di vetro bioattivo

Il Bioglass® 45S5 rappresenta lo standard per i vetri bioattivi ma, come materiale per costruire *scaffolds*, ha molti limiti. Il primo è la difficoltà di costituire *scaffolds* 3D porosi a causa della scarsa capacità del 45S5 di sinterizzare per flusso viscoso sopra alla sua temperatura di transizione vetrosa (T_g) e a causa della stretta finestra tra la T_g e l'inizio della cristallizzazione.

Un altro limite è la bassa velocità di degradazione e di conversione in un materiale HA-like, il che rende difficile la sincronizzazione della velocità di degradazione con quella della formazione di nuovo tessuto. Inoltre la conversione dello *scaffold* risulta a volte incompleta.

Il vetro bioattivo silicatico chiamato 13-93 è basato sulla composizione del 45S5 ma ha un contenuto di SiO_2 maggiore e dei modificatori del reticolo aggiuntivi come K_2O e MgO . La composizione precisa è Na_2O 6.0% wt, K_2O 12.0 % wt, MgO 5.0 % wt, CaO 20.0 % wt, SiO_2 53.0 % wt, P_2O_5 4.0 % wt.

I prodotti costituiti da questa composizione sono stati approvati per l'uso in vivo un Europa. Dato che il 13-93 ha migliori caratteristiche di processabilità per la sinterizzazione per flusso viscoso (finestra tra T_g e inizio della cristallizzazione più ampia), la fase vetrosa negli *scaffold* 3D porosi può essere sinterizzata evitando la cristallizzazione. Le colture di cellule in

vitro hanno dimostrato che non ci sono differenze notevoli nella proliferazione e differenziazione degli osteoblasti tra il vetro 45S5 e il 13-93.

Varie pubblicazioni recenti hanno dimostrato che anche altre composizioni, come il vetro boro silicatico, sono bioattive.

È stata verificata la capacità di controllare la velocità di degradazione del vetro bioattivo manipolando la sua composizione. Per esempio, sostituendo parzialmente la SiO_2 nel vetro silicatico 13-93 con B_2O_3 , si ottiene un vetro boro silicatico chiamato 13-93B1 (Na_2O 5.8%wt, K_2O 11.7%wt, MgO 4.9%wt, CaO 19.5%wt, SiO_2 34.4%wt, P_2O_5 3.8%wt, B_2O_3 19.9%wt) la cui velocità di degradazione può essere variata in una finestra molto ampia. La facilità di fabbricazione e la capacità di controllo della degradazione, rendono questi vetri boro silicatici particolarmente sfruttabili per promuovere la rigenerazione delle ossa. Controllando la composizione, può essere possibile far combaciare la velocità di degradazione di questi vetri bioattivi con quella di formazione del nuovo tessuto osseo.

Tipicamente le cinetiche di degradazione del vetro e di conversione nel materiale simile all'idrossapatite *in vitro* sono valutate immergendo il vetro sotto forma di dischi densi, particelle o *scaffolds* porosi, in una soluzione acquosa di fosfati come l'SBF (*simulate body fluid*) a 37°C e misurando la perdita di peso in funzione del tempo. La conversione di un vetro silicatico come il 13-93 è controllata inizialmente dalle reazioni all'interfaccia e successivamente dalla diffusione di ioni verso la superficie di reazione.

In figura 2.5 sono riportati dei grafici riguardanti la degradazione di *scaffolds* a struttura trabecolare con le composizioni di interesse.

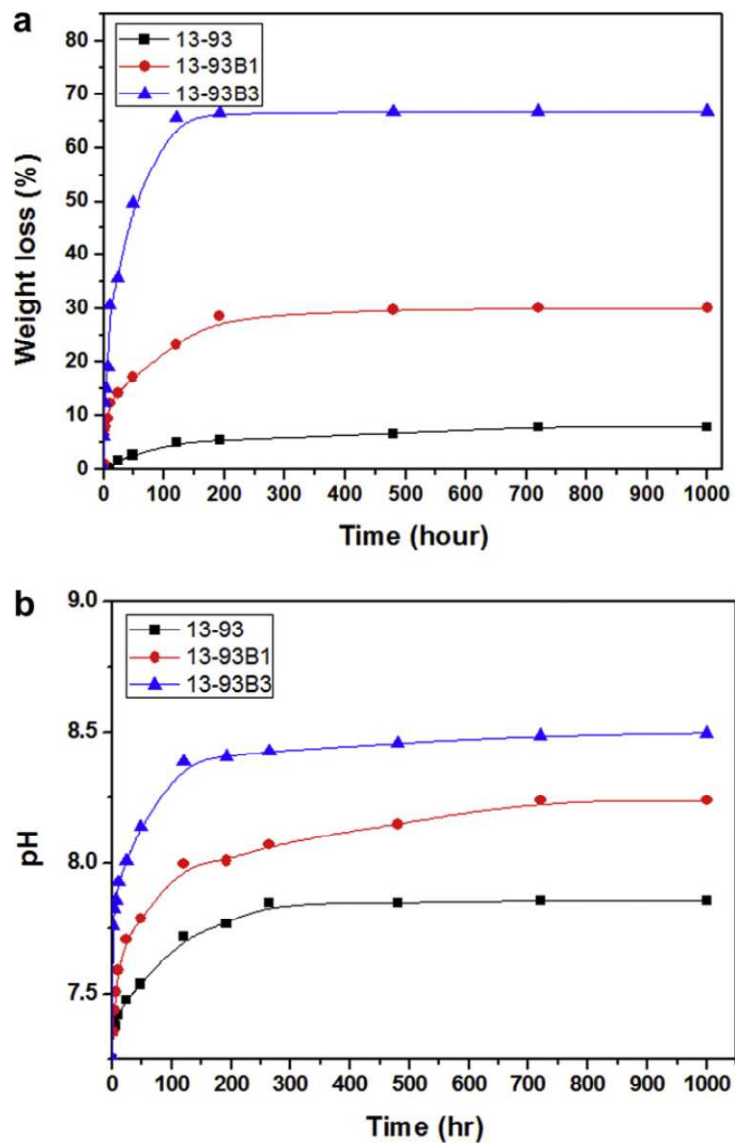


Figura 2.5-Degradazione di scaffolds con struttura trabecolare e diverse composizioni: 13-93, 13-93B1 e 13-93B3. Sono riportati in funzione del tempo la perdita in peso dello scaffold (a), che fornisce una misura della degradazione degli scaffolds e della loro conversione in un materiale simile all'idrossiapatite, e il pH della soluzione (b).

La composizione del vetro bioattivo ha un effetto marcato sulla sua abilità di sostenere la proliferazione e la funzionalità delle cellule *in vitro* come evidenziato in figura 2.6.

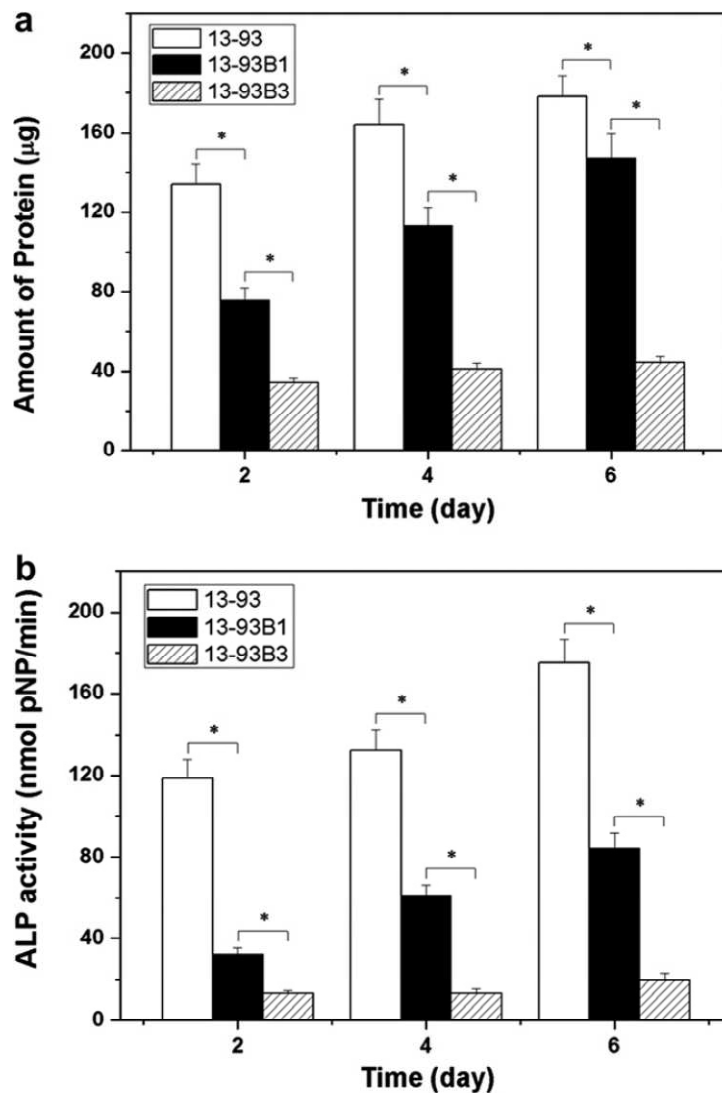


Figura 2.6- Capacità degli scaffolds di vetro bioattivo 13-93, 13-93B1 e 13-93B3 di supportare la proliferazione(a) e le differenti funzioni (b) delle cellule osteogeniche.

Un'ultima nota riguardante queste composizioni di vetro bioattivo consiste nel fatto che ricerche recenti hanno dimostrato che i prodotti solubili della degradazione possono promuovere anche la formazione di nuova cartilagine *in vitro*, oltre ad avere la capacità di incentivare l'osteogenesi.

2.3.2 Silicati cristallini :Akermanite

I silicati cristallini in generale sono indicati per impianti a lunga durata in quanto, data la loro natura cristallina appunto, hanno una resistenza meccanica più elevata rispetto alle protesi in materiale amorfo.

L'Akermanite ($\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$) è un minerale melilite del gruppo dei sorosilicati contenente calcio, magnesio, silicio e ossigeno come si può vedere in figura 2.7. Si tratta di un prodotto di metamorfismo di contatto di calcari silicei, dolomie e rocce con le facies della sanidinite. Queste, rappresentano le più alte condizioni di temperatura di metamorfismo di contatto e sono caratterizzate dall'assenza di minerali idrati.

Melilite è il nome di una serie isomorfa con due elementi di estremità, il gehlenite e akermanite ($\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$ o 2CaO.MgO.2SiO_2) che formano soluzioni solide tra loro con una composizione intermedia. Pertanto si può dire che il borosilicato Akermanite ha una struttura complessa.

Le meliliti normalmente si possono trovare in meteoriti e rocce metamorfiche ma anche in scorie d'altoforno, il che può essere considerato come una prova della loro elevata stabilità chimica alle alte temperature.

Sono una specie che cristallizza nel sistema tetragonale, formando prismi di sezione generalmente quadrata o ottagonale, ma si possono trovare anche lamelle con simmetria tetragonale. Il sistema tetragonale è caratterizzato dal fatto che due dei tre parametri reticolari (a, b, c) sono uguali, mentre tutti gli angoli interni (α , γ , β) sono 90° . In particolare, nell'Akermanite, $a = b = 7,84 \text{ \AA}$ e $c = 5,01 \text{ \AA}$.

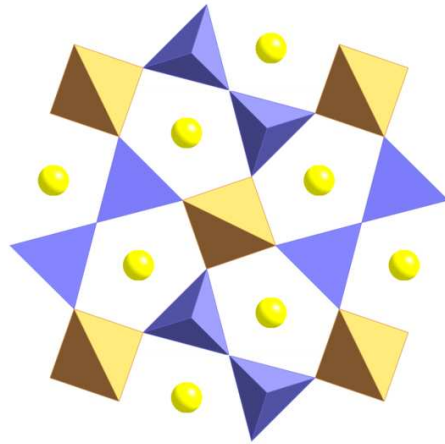


Figura 2.7- Rappresentazione della struttura dell' Akermanite su scala atomica.

Le sfere gialle rappresentano gli atomi di calcio e il magnesio è rappresentato dai tetraedri marroni. I tetraedri blu si riferiscono al silicio, mentre gli atomi di ossigeno che si trovano negli angoli dei tetraedri non sono rappresentati.

L'Akermanite ha una densità di $2,944 \text{ g/cm}^3$ e si colloca tra 5 e 6 della scala di Mohs per la durezza; si trova in colorazione grigia, verde, marrone o incolore. Ha una lucentezza vitrea o resinosa.

Il minerale prende il nome da Richard Anders Åkerman, un esperto di metallurgia svedese. È stato rilevato a Monte Somma, sul Vesuvio e a Monte Cavalluccio nei pressi di Roma.

A livello di laboratorio l'Akermanite è solitamente sinterizzata a partire da polveri di ossidi a temperature prossime ai 1400°C . Tuttavia è anche possibile produrre Akermanite a temperature inferiori attraverso processo sol-gel.

Molti studi hanno dimostrato che i ceramici di Akermanite sono bioattivi, biodegradabili e supportano l'adesione e la proliferazione degli osteoblasti. Inoltre è stato verificato che l'Akermanite, essendo un ceramico che contiene Si, Mg e Ca, possiede ottime proprietà meccaniche come la resistenza alla frattura, la resistenza a flessione e il modulo di Young.

Varie ricerche hanno anche evidenziato che i ceramici di Akermanite possiedono la capacità di formare uno strato di apatite e i prodotti di dissoluzione ionica sono in grado di promuovere la proliferazione delle cellule. Per questo *scaffolds* porosi costituiti di Akermanite dovrebbero essere buoni candidati per la *tissue engineering*.

In molteplici studi è stato dimostrato che gli *scaffolds* di Akermanite hanno la potenzialità di formare HAp quando immersi in un SBF. L'HAp svolge un ruolo fondamentale per la formazione, crescita e per il mantenimento dell'interfaccia tra il tessuto e il biomateriale. Quindi lo strato di HAp che si forma sugli *scaffolds* porosi di Akermanite ha un effetto

positivo sull'adesione, la proliferazione e la differenziazione delle cellule e sulla deposizione della matrice extracellulare che ricopre un ruolo molto importante.

Sono state analizzate inoltre la proliferazione delle cellule e l'attività ALP; quest'ultima è solitamente utilizzata come marcatore per la differenziazione degli osteoblasti negli esperimenti *in vitro*.

I risultati hanno dimostrato che le cellule possedevano un'alta velocità di proliferazione e che gli osteoblasti si differenziavano in modo normale sugli *scaffolds* di Akermanite.

Gli ioni calcio e silicio, giocano un ruolo fondamentale sulla nucleazione e sulla crescita dello strato di HAp e influenzano il metabolismo biologico degli osteoblasti. Il magnesio inoltre è sicuramente uno dei più importanti elementi presenti nel corpo umano; esso è strettamente associato alla mineralizzazione dei tessuti calcificati e influenza indirettamente il metabolismo dei minerali. Una mancanza di Mg fa diminuire significativamente e progressivamente la formazione dell'osso, portando all'osteoporosi.

Il silicio invece è un elemento molto importante nel metabolismo, per la sintesi del collagene, la mineralizzazione delle ossa, per il *cross-linking* del tessuto connettivo e per lo sviluppo dell'apparato scheletrico e vascolare.

Sono stati eseguiti anche dei test *in vivo* su *scaffolds* di Akermanite ed è stato dimostrato che la crescita del nuovo tessuto osseo avveniva esattamente al centro dell'impianto, il che indica che il materiale utilizzato ha delle caratteristiche di biocompatibilità e di biodegradazione molto valide.

2.3.3 Silicati cristallini : Forsterite

La Forsterite (Mg_2SiO_4 o $2\text{MgO}\cdot\text{SiO}_2$) è un minerale ricco di magnesio, che appartiene al gruppo delle olivine. Cristallizza nel sistema ortorombico con i seguenti parametri reticolari: $a = 4,75 \text{ \AA}$, $b = 10,20 \text{ \AA}$ e $c = 5,98 \text{ \AA}$.

Questo minerale è composto principalmente dall'anione SiO_4^{4-} e dal catione Mg^{2+} con un rapporto molare di 1:2.

Il silicio è l'atomo centrale nell'anione SiO_4^{4-} , e ciascun atomo di ossigeno è legato al silicio da un legame covalente semplice. I quattro atomi di ossigeno hanno una parziale carica negativa dovuta al legame covalente con l'atomo di silicio. Di conseguenza gli atomi di ossigeno devono essere distanti in modo da ridurre le forze repulsive tra loro. La geometria che meglio riduce le forze repulsive è il tetraedro. In questo caso i cationi occuperanno due facce diverse di un ottaedro, M1 e M2, e formeranno legami ionici con gli anioni silicato. Si osserva che M1 e M2 sono leggermente differenti, poiché M2 è maggiore e più regolare di M1, come si può vedere in figura 2.8.

L'impaccamento della struttura della Forsterite è molto denso, e come già detto, ha una struttura cristallina ortorombica.

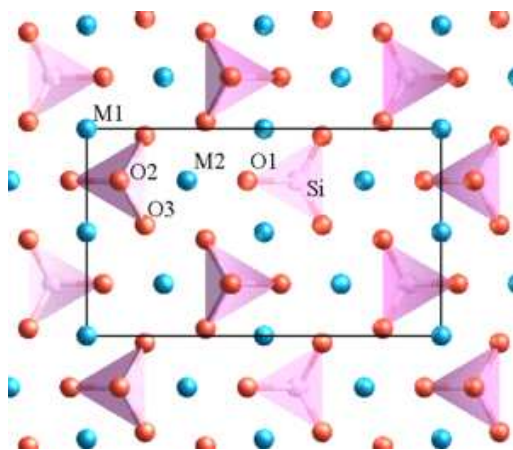


Figura 2.8- Rappresentazione della struttura della Forsterite su scala atomica.

Gli ossigeni sono indicati in rosso, il silicio in rosa e il magnesio in blu. Il rettangolo nero rappresenta la proiezione di una cella unitaria.

La Forsterite a livello di laboratorio è sinterizzata da polveri di ossidi a temperature vicine a $1000 \text{ }^\circ\text{C}$; è associata a rocce ignee e metamorfiche ed è stata trovata nei meteoriti. Nel 2005 è stata trovata anche in polvere cometaria restituita dalla sonda Stardust. Nel 2011 si è

osservata sotto forma di piccoli cristalli nelle nuvole polverose di gas intorno ad una stella in formazione.

Sono noti due polimorfi di Forsterite: la Wadsleyite (anch'essa ortorombica) e la Ringwoodite (isometrica).

La Forsterite è stata descritta per la prima volta nel 1824 a causa di un evento occorso sul Monte Somma, Vesuvio, Italia.

Vari studi hanno dimostrato che questo materiale ha proprietà che consentono di classificarlo come importante materiale bioattivo.

Si è potuto verificare che la Forsterite promuove la proliferazione degli osteoblasti e favorisce l'adesione e il movimento delle cellule sulla propria superficie. Inoltre le proprietà meccaniche risultano di molto migliori rispetto a quelle dell'idrossiapatite. Si può quindi concludere che la Forsterite è un ceramico bioattivo con una buona biocompatibilità e può essere usata come materiale per la *tissue engineering*.

Procedura sperimentale

Sia per la realizzazione dei silicati amorfi che di quelli cristallini, la tecnica utilizzata è stata la PDCs. Tale tecnica permette di realizzare componenti ceramici dalla decomposizione di un polimero fillerizzato.

I precursori polimerici e i vari *fillers* sono stati utilizzati con diversi rapporti e percentuali ponderali al fine di ottenere la “ricetta” adatta ad ottenere il composto d’ interesse.

Nei casi in cui era richiesto lo sviluppo di una struttura cellulare, sono state utilizzate varie tecniche, alcune con successo ed altre no. Le varie opzioni sono state lo schiumaggio diretto dovuto alla decomposizione dei precursori polimerici, l’ utilizzo di *fillers* che rilasciavano componenti che favorivano la creazione della struttura cellulare, l’ incorporazione nelle miscele di opportuni agenti espandenti e la miscelazione con microsfere di PE che fungessero da *template* per la struttura.

I campioni ottenuti sono stati sottoposti in tutti i casi a diversi trattamenti termici.

3.1 Ottenimento di silicati amorfi o cristallini con la tecnica PDCs: procedura sperimentale

In linea generale questa tecnica prevede innanzitutto di formulare la ricetta corretta con le percentuali in peso precise dei precursori da utilizzare, tenendo conto della loro resa, per ottenere la composizione voluta.

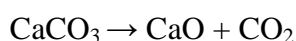
Prendendo ad esempio la composizione 13-93 (Na₂O 6.0 wt%, K₂O 12.0 wt%, MgO 5.0 wt%, CaO 20.0 wt%, SiO₂ 53.0 wt%, P₂O₅ 4.0 wt%) e considerando di utilizzare come precursori il polimero preceramico Silres[®] MK per la silice, il carbonato di sodio per l'Na₂O, il carbonato di potassio per il K₂O, la magnesia per l'MgO, il carbonato di calcio per il CaO e l'idrossiapatite per il P₂O₅ e per il CaO, si devono calcolare le rese dei vari composti e poi procedere alla formulazione della ricetta come segue.

Mediante un'analisi DTA è stato possibile ricavare la resa in silice del silicone: il polimero commerciale Silres[®] MK trattato in aria a 1200°C, decomponendosi, genera una quantità di silice pari all'84% del suo peso (resa), oltre ad una serie di altri composti volatili. Quindi, dato che in questo caso si ricerca una percentuale in peso del 53.0% di SiO₂, la quantità di polimero preceramico da utilizzare è:

$$\frac{SiO_2[\% wt]}{Re sa[MK]} = \frac{53}{0,84} = MK[g]$$

perciò, in questo caso, 63 g di polimero MK per ottenere 53g su 100 totali di SiO₂.

Lo stesso procedimento si applica per gli altri precursori, analizzando la loro reazione di decomposizione e calcolando la resa dei vari composti sfruttando i pesi molecolari. Prendendo ad esempio il carbonato di calcio CaCO₃, e osservando la sua reazione quando viene trattato in aria, si ha:



Dove CaCO₃ ha un peso molecolare di 100.09 g/mole, il CaO 56.08 g/mole e la CO₂ 44.01 g/mole.

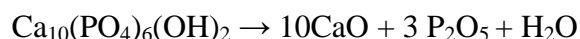
Per calcolare la resa in CaO del CaCO₃ si ha:

$$Re sa[CaO] = \frac{PM[CaO]}{PM[CaCO_3]} = \frac{56.08}{100.09} = 56\%$$

Quindi, per avere il 20 %wt di CaO si ha:

$$CaCO_3[g] = \frac{CaO[\%wt]}{Re\ sa[CaO]} = \frac{20.0}{0.56} = 35,71g$$

In realtà, però, esiste una piccola complicazione dato che il precursore utilizzato in questo caso per il P₂O₅ è l'idrossiapatite, la cui reazione di decomposizione è:



Da cui si può notare che anche la decomposizione dell'idrossiapatite fornisce una certa quantità di CaO oltre al P₂O₅. Calcolando le varie rese con lo stesso procedimento di prima, si trova che l'idrossiapatite ha una resa dello 58.8% wt in CaO e del 42.4% wt in P₂O₅.

Considerando che si vuole il 4.0 wt% di P₂O₅ si avrà:

$$HAp[g] = \frac{P_2O_5[\%wt]}{Re\ sa[P_2O_5]} = \frac{4.0}{0.424} = 9.43g$$

Va notato però che questa quantità di HAp fornisce anche del CaO:

$$CaO[g] = HAp[g] \cdot Re\ sa[CaO] = 9.43 \cdot 0.558 = 5.26g$$

Quindi, dei 20.0g totali di CaO necessari per la composizione 13-93, 5.26g vengono necessariamente forniti dalla decomposizione dell'idrossiapatite mentre i restanti 14.74g devono essere generati dalla reazione del CaCO₃. Perciò va ricalcolata la quantità di CaCO₃ necessaria e precisamente si ottiene:

$$CaCO_3[g] = \frac{CaO[\%wt]}{Re\ sa[CaO]} = \frac{14.7}{0.56} = 26.25g$$

Nel caso dell'MgO invece dato che il precursore disponibile è proprio l'MgO, la quantità di reagente da utilizzare, corrisponde a quella richiesta nella composizione finale ipotizzando una resa del 100%.

Lo stesso procedimento si applica agli altri precursori e riassumendo si ottengono le quantità riportate in tabella 3.1.

Precursore	Grammi
Silres® MK	63.00
CaCO ₃	26.25
HAp	9.43
MgO	5.00
K ₂ CO ₃	17.60
Na ₂ CO ₃	10.30

Tabella 3.1-Quantità totali di precursori per 13-93

Ora il procedimento prevede di riportare le singole quantità in percentuali in peso in modo da ricavare la ricetta generale (tabella 3.2) per la composizione ricercata.

Precursore	%wt
Silres® MK	47.8
CaCO ₃	20.0
HAp	7.2
MgO	3.8
K ₂ CO ₃	13.4
Na ₂ CO ₃	7.8

Tabella 3.2- Percentuali in peso dei precursori per 13-93

Il procedimento descritto va ripetuto ogni volta che si vuole ottenere una nuova composizione oppure si cambiano i precursori utilizzati.

Successivamente la procedura in generale prevede di sciogliere i precursori in un solvente idoneo. I solventi con carattere apolare sono poco adatti per disciogliere silicani, dato che non essendovi gruppi polari questi tendono ad aggregarsi precipitando all'interno della soluzione. I solventi fortemente polari, invece, generano un'iniziale buona dispersione, ma la presenza di gruppi idrossilici può determinare reazioni di sostituzione dei gruppi laterali nei silicani

con successiva reticolazione o reazioni di riduzione da parte del solvente (es. etanolo). I candidati favoriti sono i solventi a leggero carattere polare e di conseguenza l'acetone o l'alcool isopropilico.

La soluzione iniziale viene preparata in vari *steps*. Inizialmente si inserisce la quantità corretta di solvente all'interno del *beaker*, dove è già stata posizionata l'ancoretta (magnete) necessaria per mantenere in agitazione la soluzione. Il *beaker* viene posto sopra ad un agitatore che, generando un campo magnetico alternato, permette di far ruotare il magnete. Successivamente si discioglie il silicone nel solvente. La soluzione che si ottiene è limpida, indice dell'ottima solubilità del silicone nel solvente scelto. Dopo alcuni minuti di agitazione si aggiungono anche gli altri precursori avendo cura, nel caso in cui la quantità da aggiungere sia cospicua, di non versare il reagente tutto in una volta ma intervallando piccole quantità, lasciando il tempo allo stesso di disperdersi. La soluzione, non più trasparente dato che i reagenti non sono completamente solubili nell'alcool isopropilico, viene lasciata in agitazione per alcuni minuti.

Dopo l'aggiunta del primo precursore, si esegue un trattamento ad ultrasuoni. Gli effetti degli ultrasuoni possono essere molteplici:

- eliminare l'eventuale presenza di gas disciolti all'interno;
- conferire l'energia necessaria per disgregare eventuali aggregati che si sono formati durante il processo di miscelazione;
- avere un effetto negativo, in alcuni casi, fornendo l'energia necessaria per la nucleazione e precipitazione di piccoli aggregati.

A questo punto si riposiziona il *beaker* sull'agitatore magnetico e si inserisce nella soluzione il secondo reagente, ripetendo poi il trattamento con gli ultrasuoni.

Una volta che sono stati aggiunti tutti i precursori, è necessario sottoporre nuovamente la soluzione al trattamento ad ultrasuoni e all'agitazione magnetica per altri 10 minuti ciascuna.

Prima di realizzare i campioni, va eliminato il solvente dalla soluzione: se si trattano termicamente i campioni senza aver estratto il solvente, durante il trattamento si potrebbero verificare processi di esplosione dovuta alla presenza del solvente stesso e fenomeni di segregazione a bassa temperatura; inoltre sarebbe tecnologicamente complesso formare dei campioni. La soluzione viene quindi posta in un ampio recipiente (cristallizzatore) e sottoposta ad un trattamento di essiccazione in una stufa, posta sotto una cappa aspirante, per 12h a 60°C oppure in aria, sempre sotto cappa, a seconda dei casi. L'uso del cristallizzatore permette alla soluzione di disporsi nella maggior area superficiale possibile e di evitare la

formazione di strati a diversa altezza che potrebbero indurre a segregazioni o aggregazioni preferenziali. Al momento dell'estrazione si evidenzia la formazione di uno strato omogeneo sul fondo del cristallizzatore, indice dell'assenza di fenomeni di segregazione.

Le fasi del procedimento fino ad ora descritte sono riassunte nella figura 3.1.



Figura 3.1- Descrizione fasi del processo

A questo punto, le procedure sperimentali si differenziano a seconda del tipo di polimero preceramico utilizzato, della tecnica che si vuole utilizzare, del metodo di formatura dei campioni e dei trattamenti termici che si vogliono eseguire.

Infatti questo procedimento generale e standard può per esempio subire delle modifiche nel momento in cui vengono utilizzati precursori polimerici diversi, come effettivamente è stato fatto in questa ricerca, che possiedono caratteristiche fisiche differenti (solidi o liquidi a seconda del loro peso molecolare) e che assumono comportamenti diversi una volta che vengono processati.

In particolare sono stati utilizzati il Silres[®] MK, Silres[®] H44 e Silres[®] H62C, tutti della Wacker-Chemie GmbH, München, Germany.

3.2 Silicati amorfi: schiumaggio diretto o con espandenti

Per quanto riguarda i silicati amorfi, lo scopo è stato quello di ottenere dei campioni con la composizione 13-93 o la 13-93B1 con morfologia cellulare che permettesse di utilizzarli come *scaffolds*.

Le tecniche usate principalmente in questa ricerca sono state quella dello schiumaggio diretto in cui si sfrutta la decomposizione in aria del polimero preceramico che, rilasciando varie frazioni, permette di creare la struttura cellulare voluta e quella dello schiumaggio con agenti espandenti in cui, oltre all'eventuale decomposizione del polimero che comunque avviene, si inseriscono nella miscela dei fillers che decomponendosi forniranno in parte i composti di interesse e in parte delle molecole che possono favorire la formazione di pori nel campione.

Un tipico esempio è dato dal CaCO_3 che genera CaO e CO_2 ; il CaO va a costituire una delle fasi ricercate nel campione mentre la CO_2 , uscendo dallo stesso e migrando al suo interno, contribuisce alla formazione della struttura cellulare.

Una variante di quest'ultima tecnica è quella di usare come espandenti degli appositi composti che non contribuiranno a formare delle fasi volute nel campione, ma si decomporranno dopo un certo trattamento termico rilasciando delle frazioni che, abbandonando la struttura, dovrebbero favorire la formazione dei pori.

3.2.1 Procedura sperimentale e campioni ottenuti con Silres[®] MK

Il Silres[®] MK (Wacker-Chemie GmbH, München, Germania) è un metil- polisilsequiossano solido (formula chimica generale $[\text{RSi-O}_{1.5}]_n$) in polvere caratterizzato da una resa in SiO_2 dell'84% in peso. Il Silres[®] MK può essere termicamente reticolato attraverso reazioni di condensazione grazie alle funzionalità dei gruppi idrossilici e etossilici presenti all'interno della sua struttura molecolare, con il conseguente rilascio di acqua e di altre specie volatili.

La prima fase della ricerca è stata incentrata sull'ottimizzazione del processo e sulla scelta dei precursori più adatti per la produzione di polvere che, una volta ceramizzata, fornisca la composizione 13-93.

Si è partiti utilizzando l'alcool isopropilico come solvente, il Silres[®] MK come polimero preceramico e l'idrossido di potassio (KOH), il carbonato di calcio (CaCO_3 micro o nano), il

carbonato di sodio (Na_2CO_3), la magnesia (MgO nano) e l'idrossiapatite ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) come *fillers*.

È stato riscontrato subito un problema con questa formulazione in quanto, pochi secondi dopo l'aggiunta del KOH durante l'omogeneizzazione, la soluzione diventava un gel e l'agitazione veniva bloccata. Sfruttando questa caratteristica, si è provato ad aggiungere una soluzione di H_2O con 1% di tensioattivo al gel e mettere in agitazione meccanica per tentare uno schiumaggio meccanico ma la prova non ha dato i risultati sperati.

Si è anche provato a sostituire il solvente con acetone ma il problema persisteva quindi la soluzione è stata quella di cambiare il precursore per il K_2O e utilizzare carbonato di potassio (K_2CO_3) al posto dell'idrossido, avendo però cura di mantenere una velocità abbastanza elevata dell'agitazione per evitare qualsiasi tipo di problema. La ricetta per questa formulazione è riportata nel paragrafo 3.1.

Altro punto critico con questa formulazione è il trattamento con gli ultrasuoni; infatti si è notato che un trattamento di durata troppo elevata favoriva una certa nucleazione e precipitazione di piccoli aggregati. Questa tendenza era più accentuata usando carbonato di calcio microcrometrico al posto di quello nanometrico.

La sospensione ottenuta con la procedura ottimizzata è stata versata in un cristallizzatore grande e messa ad essiccare per 12 h a 60°C . Dopo questo trattamento, a causa della natura solida (polvere) del polimero preceramico utilizzato, il composto si presentava sotto forma di polvere che è stata macinata con l'ausilio di un mulino a palle (modello Frish) dotato di una giara in monocristallo d'agata. L'operazione è stata effettuata ad una velocità di 300 rpm per mezz'ora.

Una volta ottenuta la polvere macinata, sono stati preparati due campioni con l'aggiunta di appositi agenti espandenti e precisamente l'Azodicarbonamide ($\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_2$) e il Dicarbamoylhydrazine ($\text{C}_2\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_2$).

È stata usata questa tecnica in quanto il polimero preceramico utilizzato, durante la conversione a materiale ceramico, non ha la capacità di rilasciare molecole che possano favorire lo sviluppo di una struttura porosa in quantità adeguata.

Il principio del funzionamento degli agenti espandenti è che, decomponendosi ad una certa temperatura, producono delle molecole di gas che rimangono intrappolate nella struttura in cui sono inseriti e provocano la formazione di porosità.

In particolare l'Azodicarbonamide, a causa della decomposizione termica che avviene circa a 200°C , produce gas di azoto, di monossido di carbonio, di biossido di carbonio e di ammoniaca che rimangono intrappolati sotto forma di bolle e generano la struttura porosa.

Le composizioni e i trattamenti a cui sono stati sottoposti i campioni preparati sono riportati in tabella 3.3.

Campione	Quantità polvere	Espandente	Trattamento termico
13-93_MK_1	4g	5% wt Azodicarbonamide	200° C 1h - 5° C/min
13-93_MK_2	4g	5% wt Dicarbamoylhydrazine	280° C 1h - 5° C/min

Tabella 3.3- Campioni con agenti espandenti

In particolare, per questi prodotti, è stato utilizzato il carbonato di calcio micrometrico. Entrambi i campioni dopo il trattamento termico, non evidenziavano alcun tipo di porosità e si presentavano sotto forma di polvere. Dato che tutto l'agente espandente è stato rimosso con il trattamento termico, i provini sono stati suddivisi in due parti e sono stati sottoposti ad ulteriori trattamenti termici di ceramizzazione in aria (atmosfera ossidante) riassunti in tabella 3.4.

Campione	Trattamento termico
13-93_MK_3	200° C 1h - 5° C/min + 900° C 1h - 10° C/min
13-93_MK_4	200° C 1h - 5° C/min + 1100° C 15min - 40° C/min
13-93_MK_5	280° C 1h - 5° C/min + 900° C 1h - 10° C/min
13-93_MK_6	280° C 1h - 5° C/min + 1100° C 15min - 40° C/min

Tabella 3.4- Trattamenti termici

Una nota tecnica importante riguardante i trattamenti termici con velocità della rampa di salita molto alta, è che vanno effettuati utilizzando un crogiolo in platino altrimenti, usufruendo di quelli in allumina, a causa di una parziale fusione del campione durante lo schiumaggio, non risulta più possibile separare facilmente crogiolo e campione.

Il trattamento a 900°C ha permesso di ottenere delle fasi inaspettate a quella temperatura, mentre quello a 1100°C, a causa dell'alta velocità della rampa utilizzata, ha fornito dei campioni schiumati con, però, una porosità chiusa, non sfruttabile per la produzione di *scaffolds*. La morfologia e la composizione dei campioni che sono stati sottoposti allo stesso trattamento di ceramizzazione è risultata essere la stessa, a prescindere dal fatto che fossero

stati precedentemente trattati a 250°C o 280°C. Le caratteristiche dettagliate e la caratterizzazione di questi campioni sono riportati nel capitolo 4.

Sono stati poi creati altri campioni con la formulazione 13-93_MK senza aggiunta di agenti espandenti e sono stati sottoposti a diversi trattamenti termici. Un riassunto è riportato in tabella 3.5.

Campione	Trattamento termico
13-93_MK_7	1100° C 1h - 40° C/min
13-93_MK_8	900° C 15min - 40° C/min
13-93_MK_9	20-700° C - 2° C/min + stazionamento 700° C 1h + 700-900° C - 2° C/min + 900° C 1h
13-93_MK_10	900° C 1h - 40° C/min
13-93_MK_11	900° C 1h - 10° C/min
13-93_MK_12	1100° C 15min - 40° C/min
13-93_MK_13	280° C 1h - 5° C/min + 900° C 1h - 10° C/min + trattamento successivo 1100° C 15 min - 40° C/min
13-93_MK_14	20-700° C - 2° C/min + stazionamento 700° C 1h + 700-900° C - 2° C/min + 900° C 1h + 1100° C 15min - 40° C/min

Tabella 3.5- Campioni 13-93_MK

Nessuno di questi però è risultato significativo, in quanto 13-93_MK_7, a causa della lunga permanenza ad alta temperatura e dell'elevata velocità di salita, non presentava una struttura definita ma solo delle macro porosità che lo rendevano molto fragile e inadatto agli scopi della ricerca.

Inoltre a causa della rampa di salita molto ripida, l'ossidazione dei campioni non sembrava ottimale anche ad un semplice esame visivo in quanto la colorazione variava dal grigio chiaro al grigio scuro (figura 3.2)



Figura 3.2- Campioni 13-93_MK

Un'ossidazione pressoché completa si è ottenuta con il campione 13-93_MK_9; questo è dovuto allo stazionamento effettuato a 700°C che ha permesso l'ossidazione. Il problema però risiedeva nella struttura in quanto, avendo adottato una rampa molto lenta, non è stato possibile sfruttare l'effetto della velocità di salita della temperatura che, come si è visto, consente di ottenere una struttura cellulare, anche se a porosità chiusa. Il campione si presentava quindi sotto forma di polvere poco o non aggregata.

Il provino 13-93_MK_11, invece, si presentava come un aggregato grigio-nero con porosità chiusa abbastanza regolare anche se non era stata utilizzata una velocità di salita di 40°C al minuto ma di 10°C/min.

Il 13-93_MK_13, ha subito un trattamento termico complesso e non sfruttabile per una eventuale produzione industriale al solo fine di indagarne la struttura. La stessa cosa vale anche per il campione 13-93_MK_14.

La caratterizzazione del 13-93_MK_11, del 13-93_MK_13 e del 13-93_MK_14 viene riportata nel capitolo 4.

In ogni caso la formulazione 13-93_MK è stata abbandonata per quanto riguarda l'ipotesi di uno schiumaggio diretto o con agenti espandenti e si è passati all'utilizzo del polimero preceramico H44.

3.2.2 Procedura sperimentale e campioni ottenuti con Silres[®] H44

Il Silres[®] H44 (Wacker-Chemie GmbH, München, Germany) è un metil-fenil polisilesquiossano solido. Analogamente al Silres[®] MK, l'H44 può essere reticolato termicamente utilizzando le funzionalità dei gruppi idrossilici ed etossilici presenti all'interno della sua struttura molecolare. La reticolazione comporta un rilascio di acqua ed altre specie volatili in grande quantità che possono essere sfruttate per la creazione di una struttura porosa. Grazie ad un'analisi DTA si è ricavata la resa in silice del polimero che è risultata pari a circa l'80%.

La procedura sperimentale da utilizzare è la stessa di quella prevista per il Silres[®] MK in quanto anche il Silres[®] H44 si presenta sotto forma di polvere.

La reticolazione dell'H44 deve essere eseguita a 350°C per un'ora e dovrebbe permettere, a causa delle varie molecole rilasciate, uno schiumaggio diretto, senza aggiunta di agenti espandenti.

I *fillers* utilizzati (tutti micrometrici tranne la magnesia nanometrica) sono gli stessi di quelli usati per la produzione della composizione formulata con l'MK. Ovviamente nella formulazione della ricetta va tenuto conto della minore resa in silice di questo polimero preceramico rispetto all'MK.

I primi campioni trattati sono stati quelli in cui il composto che funge da "precursore" del biovetro 13-93 è stato prodotto semplicemente sostituendo il polimero Silres[®] H44 al Silres[®] MK. I provini ottenuti e i trattamenti a cui sono stati sottoposti, sono riportati in tabella 3.6.

Campione	Reticolazione	Trattamento termico
13-93_H44_1	350°C 1h -5° C/min	900° C 1h - 10° C/min
13-93_H44_2	350°C 1h-5° C/min	20-700° C - 2° C/min + stazionamento 700° C 1h + 700-900° C - 2° C/min + 900° C 1h
13-93_H44_3	350°C 1h-5° C/min	900° C 1h - 40° C/min

Tabella 3.6- Campioni 13-93_H44

Tutti e 3 i campioni dopo la reticolazione non sono risultati schiumati a differenza di quello che ci si aspettava. La spiegazione di ciò verrà data nel capitolo 4.

Tuttavia, anche se non schiumati, sono stati sottoposti ugualmente ai successivi trattamenti termici.

L'unico che dopo il trattamento termico è risultato poroso è il 13-93_H44_3 a causa della elevata velocità di salita della temperatura. La caratterizzazione effettuata è riportata nel capitolo 4.

È stato prodotto anche il 13-93_H44_4 utilizzando il 5% wt dell'agente espandente Dicarbamoylhydrazine con conseguente trattamento a 280°C per un'ora per tentare di favorire lo schiumaggio ma non si sono ottenuti risultati validi.

Un'altra composizione indagata in questa ricerca, oltre alla 13-93 è stata la 13-93B1 che contiene il 19.9%wt di B₂O₃.

Come precursore per il B₂O₃, si è deciso di utilizzare il borace (Na₂B₄O₇·10H₂O, sodio borato o sodio tetraborato decaidrato) in quanto, oltre a fornire appunto gli ossidi B₂O₃ e Na₂O, durante la decomposizione, che avviene circa a 300-350°C, rilascia molte molecole di acqua che favoriscono sicuramente l'ottenimento di una struttura cellulare. La resa in B₂O₃ del borace, dopo gli opportuni calcoli, risulta essere pari al 36.5%wt mentre quella in Na₂O al 16,3%wt. Una nota va fatta sul fatto che utilizzando il borace e volendo effettivamente ottenere la composizione 13-93B1 con la percentuale in peso di B₂O₃ corretta, pari al 19.9%, la percentuale in peso di Na₂O risulterebbe maggiore di quella stechiometrica a causa delle rese del borace a favore di questi due ossidi. Allora si è deciso di utilizzare la quantità di borace che permette di ottenere la percentuale di Na₂O stechiometrica prevista dalla 13-93B1, anche se questo significa, in realtà, ottenere una quantità di B₂O₃ leggermente inferiore.

Questa strategia è stata utilizzata sempre in questa ricerca per la composizione 13-93B1.

I trattamenti a cui sono stati successivamente sottoposti i campioni con questa composizione hanno lo scopo di riprodurre i risultati riportati nell'articolo "*Novel Open-Cellular Glass Foams for Optical Applications*" di C.Ohl, M.Kappa, V.Wilker, S.Bhattacharjee, F.Scheffler, M.Scheffler, in cui, aggiungendo particelle di un vetro ottenuto dal polimero preceramico Silres[®] H44 e fillers con una certa quantità di borace tale da ottenere una composizione finale con il 13%wt di B₂O₃, quindi addirittura minore di quella di nostro interesse e trattando il tutto ad una temperatura compresa tra 270 e 300°C in aria in un forno preriscaldato, si otteneva una struttura a porosità aperta e molto regolare, perfetta per gli scopi di questo lavoro.

A tal fine sono state seguite due vie: la prima è stata quella di prendere la polvere 13-93_H44 e mescolarla a secco con la quantità corretta di borace (per ottenere la composizione 13-93B1) con l'ausilio del mulino a palle come fatto effettivamente nell'articolo citato; la

seconda invece ha previsto la creazione di una sospensione con isopropanolo, Silres[®] H44 e tutti i *fillers* necessari tra cui il borace, la sua essiccazione in stufa e la macinazione finale. Sono stati creati vari campioni sottoposti successivamente a diversi trattamenti termici come riassunto in tabella 3.7.

Campione	Reticolazione	Trattamento termico
13-93B1_H44_4	300°C 2h	900° C 1h - 10° C/min
13-93B1_H44_5	300°C 2h	20-700° C - 2° C/min + stazionamento 700° C 1h + 700-900° C - 2° C/min + 900° C 1h
13-93B1_H44_6	300°C 2h	900° C 1h - 40° C/min

Tabella 3.7- Campioni 13-93B1_H44

Tutti i prodotti dopo la reticolazione non sono risultati schiumati a differenza di quello che ci si aspettava e dei risultati ottenuti nell'articolo citato. La spiegazione di ciò, insieme alle caratteristiche dei campioni dopo i trattamenti termici successivi, che sono stati eseguiti comunque per poterne valutare gli effetti, verrà data nel capitolo 4 come nel caso precedente.

Un'ultima strategia utilizzata con le formulazioni che coinvolgono il polimero Silres[®] H44 è quella di formulare il composto 13-93B1 con l'utilizzo dell'H44, del borace e del precursore Mg(OH)₂ micrometrico al posto della magnesia. Questo è stato fatto in quanto l'Mg(OH)₂, decomponendosi circa alla stessa temperatura del borace, libera molecole d'acqua che dovrebbero favorire ulteriormente lo schiumaggio del campione.

La resa dell' Mg(OH)₂ in MgO è pari al 69.1%.

In questo caso c'è un'ulteriore differenza rispetto alle ricette precedenti in quanto sono stati prodotti campioni con precursori tutti micrometrici ed altri con alcuni precursori nanometrici (CaCO₃, HAp) al posto degli equivalenti micrometrici. Le formulazioni e i trattamenti sono riassunti in tabella 3.8.

Campione	Reticolazione	Trattamento termico
13-93B1_H44_7	350°C 1h - 5° C/min	-
13-93B1_H44_8_nano	350°C 1h - 5° C/min	-
13-93B1_H44_9	350°C 1h - 5° C/min	-
13-93B1_H44_10_nano	350°C 1h - 5° C/min	-

Tabella 3.8- Campioni 13-93B1_H44_Mg(OH)₂

Neppure questa strategia però ha dato validi risultati, per gli stessi motivi dei campioni descritti precedentemente.

3.2.3 Procedura sperimentale e campioni ottenuti con Silres[®] H62C

Il Silres[®] H62C (Wacker-Chemie GmbH, München, Germany) è un metil-fenil-vinil-idrogenopolisilossano.

Rispetto al Silres[®] MK e al Silres[®] H44 è caratterizzato da una resa ceramica minore pari a circa il 56%.

La procedura sperimentale, utilizzando l'H62C, varia leggermente rispetto al caso in cui si usi uno degli altri 2 polimeri, a causa della natura liquida di questo preceramico.

Infatti va prelevato con l'ausilio di una pipetta dal contenitore e inserito in un *beaker*, contenente già il solvente, avendo cura di effettuare una pesata molto precisa.

Successivamente il tutto viene messo in agitazione magnetica per formare una soluzione e vengono aggiunti via via i vari reagenti. La sospensione va versata anche in questo caso in un grande cristallizzatore e fatta essiccare a 60°C per massimo 12h, osservando scrupolosamente questo tempo indicato in quanto, se viene superato, si rischia di iniziare la reticolazione del polimero. Questo provocherebbe una reticolazione solo parziale dopo la formatura del campione e quindi uno scarso rilascio di molecole adatte alla formazione di porosità.

La reticolazione dell'H62C deve essere eseguita a 350°C per 15-30 minuti dopo la formatura del campione e dovrebbe permettere, a causa delle varie molecole rilasciate, uno schiumaggio molto accentuato.

Un'altra fase critica riguardante l'utilizzo del Silres® H62C riguarda appunto la formatura del campione in quanto, dopo l'essiccazione, il composto non si presenta sotto forma di polvere ma di pasta collosa; dopo averla rimossa dal fondo del cristallizzatore va omogeneizzata manualmente il più possibile e poi sempre manualmente, con delle rotazioni delle mani, vanno formati i campioni sotto forma di "palline" che possono essere poi schiacciate al fine di formare delle pastiglie. Ulteriore accorgimento è quello di assicurarsi che la quantità di composto utilizzata sia adeguata alla grandezza del crogiolo scelto e non ci sia troppa superficie del crogiolo libera. Un esempio di campioni processati correttamente è visibile in figura 3.3.



Figura 3.3- Procedura sperimentale corretta

Le composizioni analizzate utilizzando il Silres® H62C sono state la 13-93B1 utilizzando borace per il B_2O_3 e $Mg(OH)_2$ per l'MgO e la 13-93 utilizzando sempre $Mg(OH)_2$ per l'MgO e un precursore mai utilizzato fino ad ora consistente nel Sodio Idrogeno Fosfato epta-idrato ($HNa_2PO_4 \cdot 7H_2O$) che ha una resa del 23.1%wt in Na_2O e del 26.5% in P_2O_5 ; l'utilizzo di questo precursore, a causa della sua resa in P_2O_5 , fa sì che non venga più utilizzata l'HAp.

La temperatura di decomposizione di questo composto corrisponde a quella di reticolazione del polimero e di decomposizione dell' $Mg(OH)_2$ quindi, in linea teorica, grazie al rilascio di molecole di acqua dovrebbe accentuare la porosità del campione.

Entrambe le ricette, come nel caso dell'H44, sono state create sia con precursori micrometrici che nanometrici ($CaCO_3$).

I campioni realizzati e i trattamenti a cui sono stati sottoposti sono riassunti in tabella 3.9.

Campione	Reticolazione	Trattamento termico
13-93B1_H62C_1	350°C 30min - 5° C/min	700° C 1h - 2° C/min
13-93B1_H62C_2	350°C 30min - 5° C/min	700° C 3h - 40° C/min
13-93B1_H62C_3	350°C 30min - 5° C/min	700° C 3h - 1° C/min
13-93B1_H62C_4nano	350°C 30min - 5° C/min	700° C 1h - 2° C/min
13-93B1_H62C_5nano	350°C 30min - 5° C/min	700° C 3h - 40° C/min
13-93B1_H62C_6nano	350°C 30min - 5° C/min	700° C 3h - 1° C/min
13-93_H62C_7	350°C 30min - 5° C/min	700° C 1h - 2° C/min
13-93_H62C_8	350°C 30min - 5° C/min	700° C 1h - 40° C/min
13-93_H62C_9	350°C 30min - 5° C/min	700° C 3h - 1° C/min
13-93_H62C_10nano	350°C 30min - 5° C/min	700° C 1h - 2° C/min
13-93_H62C_11nano	350°C 30min - 5° C/min	700° C 3h - 40° C/min
13-93_H62C_12nano	350°C 30min - 5° C/min	700° C 3h - 1° C/min

Tabella 3.9- Campioni 13-93_H62C

Dopo reticolazione sia i campioni 13-93B1_H62C che quelli 13-93_H62C presentavano delle strutture abbastanza buone anche se non ottimali. In figura 3.4 è visibile un prodotto dopo reticolazione con una struttura porosa all'interno e una corteccia densa all'esterno.



Figura 3.4- Campione 13-93_H62C dopo reticolazione

Sicuramente, rispetto ai risultati ottenuti con il Silres[®] MK e il Silres[®] H44, le formulazioni con il Silres[®] H62C sono quelle che forniscono le strutture migliori e più promettenti anche per eventuali sviluppi futuri.

La caratterizzazione completa dei campioni effettuata dopo i trattamenti termici è riportata nel capitolo 4.

3.3 Silicati amorfi: tecnica degli elementi sacrificali (*templates*)

Questa tecnica prevede l'utilizzo di *microbeads* PE da miscelare con la polvere che funge da precursore per la composizione 13-93 formulata con il Silres[®] MK. Questo procedimento quindi utilizza un *template* che fornisce una struttura in negativo e il PE assolve a questo scopo. La rimozione della fase sacrificale non lascia difetti nelle pareti delle celle come succede invece nel caso di metodi di replica in positivo. Quindi, solitamente, la resistenza meccanica delle strutture create con il metodo degli elementi sacrificali in negativo è maggiore rispetto a quelle create con la replica in positivo.

Sperimentalmente, la polvere priva di solvente viene miscelata, nella giusta proporzione, con *microbeads* di PE. Le sfere usate hanno dimensioni superiori ai 400 µm (Polietilene Licowax 520P Frazione >0,420mm), poiché si vogliono ottenere campioni con pori di dimensioni tali da permettere al liquido biologico di entrare nei pori stessi e permettere così la formazione di nuovo tessuto e un miglior ancoraggio della protesi ai tessuti circostanti. La miscelazione viene effettuata in un mulino a palle (modello Frish) dotato di una giara in monocristallo d'agata. L'operazione viene effettuata ad una velocità di 300 rpm per mezz'ora. La polvere miscelata viene successivamente versata in uno stampo cilindrico e pressata mediante l'ausilio di una pressa. Per ottenere i campioni da trattare termicamente è stata utilizzata la tecnica del *Cold Pressing* (temperatura ambiente); questa opera con elevate pressioni attraverso una formatura a freddo. Nella pressatura a freddo è sufficiente applicare un carico pari ad una pressione di 40 MPa, una ventina di secondi, per ottenere un buon impaccamento. La pressatura semplice uni-assiale porta alla formazione di componenti con geometria controllata, elevata resistenza del verde e ridotta porosità dello stesso. Questi possono essere trasformati in parti ceramiche dense, prive di difetti e con un ritiro uniforme. Inoltre, data l'elevata quantità di *fillers* presenti che aiuta a ridurre la propagazione delle cricche durante la lavorazione meccanica, i componenti possono essere sottoposti a lavorazioni meccaniche anche quando sono sotto forma di "verdi".

I campioni creati in questa ricerca, dopo pressatura, risultano relativamente resistenti e ben definiti.

Tali provini sono stati sottoposti ad un trattamento a 370°C per 2 ore con una velocità di riscaldamento pari a 1°C/min, per eliminare le *microbeads*. Tale velocità è stata scelta in base a studi precedenti, nei quali si era riscontrata la necessità di imporre gradienti termici

estremamente bassi, per permettere sia ai polimeri siliconici di reticolare sia al PE di decomporsi lentamente, evitando così una violenta fuoriuscita dei composti gassosi dalla struttura.

Durante il lento riscaldamento la resina fluisce parzialmente (sopra alla sua temperatura di transizione vetrosa e prima del *cross-linking*) e riempie completamente, sfruttando la capillarità, i vuoti tra le *microbeads* di PE.

Successivamente i campioni sono stati sottoposti al trattamento di ceramizzazione in atmosfera ossidante (aria). Durante questo trattamento la dimensione della porosità diminuisce leggermente a causa di un ritiro isotropico lineare.

Come supporto, sia per la decomposizione del PE che per la ceramizzazione, va utilizzato un piattino in platino per permettere la separazione del campione dallo stesso dopo i vari trattamenti.

Inizialmente è stato sviluppato un campione con 2g di polvere “preceramica” e 2g di *microbeads* di PE. La pastiglia è stata sottoposta prima a reticolazione e si presentava con una colorazione grigiastra e una patina nera dovuta alla decomposizione del PE facilmente removibile (figura 3.5). Successivamente la pastiglia ha subito il trattamento di ceramizzazione a 900°C 1h con rampa di 40°C al minuto.



Figura 3.5- Reticolazione 13-93_PE_1

Campione	Quantità polvere	Quantità PE	Reticolazione	Trattamento termico
13-93_PE_1	2g	2g	370°C 2h - 1° C/min	900°C 1h -40° C/min

Tabella 3.10- Campione 13-93_PE_1

La porosità ottenuta alla fine del trattamento non risultava però sufficiente in quanto per avere porosità aperta, è necessario avere una quantità di PE superiore alla soglia della percolazione.

La connessione tra la porosità è dovuta sia alla fuoriuscita dei gas durante la decomposizione sia al fatto che dopo la pressatura, la maggior parte delle *microbeads* è a contatto.

Si è deciso allora di aumentare la quantità di PE fino a 3g per cercare di ottenere una struttura a celle aperte che non fosse però troppo fragile. Infatti, aumentando troppo la quantità di polietilene, si otterrebbe una struttura troppo porosa e quindi poco resistente.

Un ulteriore accorgimento utilizzato è stato quello di lappare leggermente le superfici della pastiglia dopo la pressatura in modo da eliminare eventuali disomogeneità create dal contatto con lo stampo.

Le pastiglie prodotte e i relativi trattamenti termici sono riportati in tabella 3.11.

Campione	Quantità polvere	Quantità PE	Reticolazione	Trattamento termico
13-93_PE_2	2g	3g	370°C 2h - 1° C/min	20-700° C - 2° C/min + stazionamento 700° C 1h + 700- 900° C - 2° C/min + 900° C 1h
13-93_PE_3	2g	3g	370°C 2h - 1° C/min	20-700° C - 2° C/min + stazionamento 700° C 1h + 700- 900° C - 2° C/min + 900° C 3h
13-93_PE_4	2g	3g	370°C 2h - 1° C/min	20-200° C - 2° C/min + stazionamento 200° C 2h + 200- 500° C - 2° C/min + stazionamento 500° C 2h + 500- 700° C - 0.5° C/min + 700- 900° C - 2° C/min + 900°C 1h

Tabella 3.11- Campioni con 3g PE

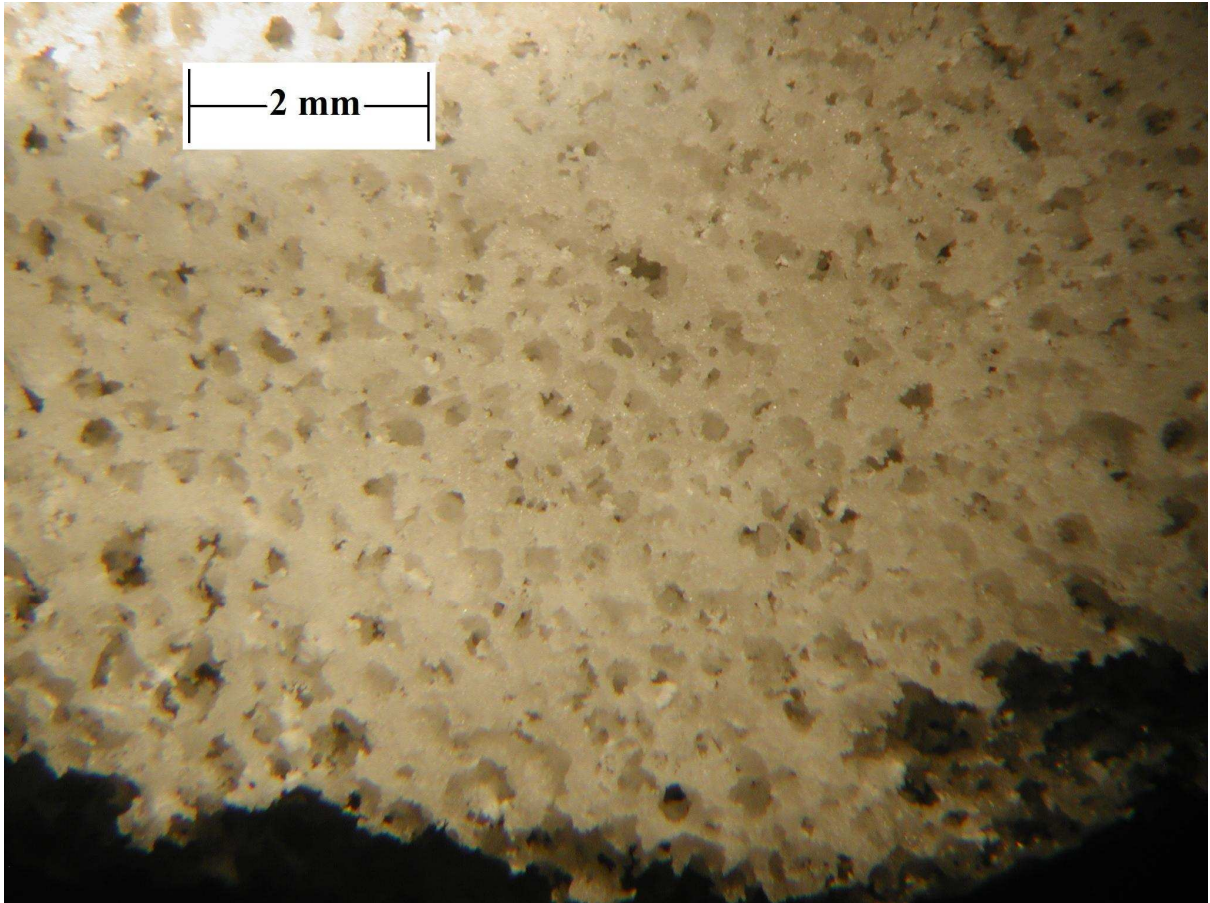


Figura 3.5- 13-93_PE_2 allo stereomicroscopio.

La caratterizzazione di tutti i campioni 13-93_PE è riportata nel capitolo 4.

3.4 Silicati cristallini: ottenimento di pastiglie per prove di biocompatibilità

Per quanto riguarda i silicati cristallini, le composizioni esplorate durante la ricerca sono state quelle della Forsterite e dell'Akermanite.

Inizialmente sono state sviluppate delle pastiglie grazie alla tecnica del *cold pressing* in modo da poterle sottoporre alla diffrazione di raggi x per indagare la presenza di fasi che potessero comprometterne la biocompatibilità e successivamente ai test di biocompatibilità veri e propri presso l'Universität Bremen (Germania).

I primi campioni sono stati sviluppati cercando di ottenere delle pastiglie che contenessero, in un caso il 25%wt di Forsterite come fase silicatica e il 75%wt di tricalcio fosfato $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ come *filler* e nell'altro caso il 25%wt di Akermanite come fase silicatica e il 75%wt di tricalcio fosfato $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ come *filler*.

Per quanto riguarda la Forsterite (Mg_2SiO_4) come reagenti si sono utilizzati la magnesia (MgO) nanometrica e una miscela al 50%wt di polimero preceramico Silres[®] MK e 50%wt di Silres[®] H62C per ottenere la corretta quantità di silice.

Per l'Akermanite (Mg_2SiO_4) invece, ($\text{Ca}_2\text{Mg}[\text{Si}_2\text{O}_7]$) come reagenti si sono utilizzati la magnesia (MgO) nanometrica, il CaCO_3 sempre nanometrico e una miscela al 50%wt di polimero preceramico Silres[®] MK e 50%wt di Silres[®] H62C per ottenere la silice richiesta.

La procedura sperimentale è esattamente la stessa di quella descritta per l'ottenimento dei silicati amorfi.

Una volta ottenute le pastiglie (da circa 1grammo l'una), le stesse sono state sottoposte a vari trattamenti termici riassunti nella tabella 3.12

Campione	Trattamento termico
Forst_TCP_900	900° C 1h - 10° C/min
Forst_TCP_1100	1100° C 1h - 10° C/min
Aker_TCP_900	900° C 1h - 10° C/min
Aker_TCP_1100	1100° C 1h - 10° C/min

Tabella 3.12- Campioni Forsterite e Akermanite con TCP

Le stesse procedure, con gli stessi precursori, sono poi state ripetute per la formulazione di campioni sempre di Forsterite e Akermanite al 25%wt utilizzando come filler per il restante 75%wt l'idrossiapatite nanometrica al posto del tricalcio fosfato.

Una nota riguardante la procedura sperimentale per queste ultime composizioni in particolare, è che per ottenere una buona sospensione è necessario utilizzare una miscela di solventi composta dal 50% di isopropanolo e dal 50% di acetone.

Campione	Trattamento termico
Forst_HAp-nano_900	900° C 1h - 10° C/min
Forst_HAp-nano_1100	1100° C 1h - 10° C/min
Aker_HAp-nano_900	900° C 1h - 10° C/min
Aker_HAp-nano_1100	1100° C 1h - 10° C/min

Tabella 3.13- Campioni Forsterite e Akermanite con HAp nanometrica

Per ogni formulazione sono state prodotte 5 pastiglie da 1 grammo cadauna visibili in figura 3.6.



Figura 3.6- Pastiglie dense in Akermanite

I campioni sono stati poi sottoposti a diversi metodi di caratterizzazione descritti nel capitolo 4.

3.5 Silicati cristallini: ottenimento di strutture cellulari in Akermanite

Una parte importante della ricerca riguardante i silicati policristallini è quella relativa alla realizzazione di strutture cellulari a porosità aperta in Akermanite.

Lo scopo è stato quello di realizzare campioni da qualche grammo l'uno totalmente in Akermanite utilizzando come polimero preceramico il Silres[®] H62C e come precursori per il CaO e l'MgO, il CaCO₃ nanometrico e l'Mg(OH)₂ rispettivamente. La scelta è ricaduta su tali reagenti per cercare di ottenere il massimo potere schiumante e contemporaneamente una buona dispersione. Quest'ultimo aspetto è stato facilitato anche dal fatto che la combinazione di CaCO₃ nanometrico e dell'utilizzo degli ultrasuoni, consentiva di evitare la formazione di aggregati, ed eventualmente la loro distruzione nel caso in cui si fossero formati.

Il proposito iniziale era quello di aggiungere le composizioni ottenute con i reagenti prima descritti con delle quantità di agenti espandenti: in particolare il 5% o il 15%wt di borace e sempre il 5% o il 15%wt di Sodio Idrogeno Fosfato epta-idrato. In realtà poi la strategia seguita è stata differente a causa dei risultati sperimentali ottenuti in corso d'opera.

Infatti, dopo aver prodotto e reticolato i campioni di Akermanite e 5%wt di borace, osservando la loro struttura già molto porosa ed espansa, si è deciso di non tentare neppure la via del 15%wt di borace perché avrebbe sicuramente portato alla formazione di macroporosità non utili per gli scopi della ricerca. Per quanto riguarda l'Akermanite addizionata con il sodio fosfato, sono stati prodotti campioni sia con il 5%wt che con il 15%wt anche se già quelli al 5% presentavano una porosità corretta. Inoltre la dispersione ottenuta con il 15%wt non risultava ottimale, il che impediva anche l'ottenimento di una pasta omogenea dopo essiccazione.

Tutte le composizioni descritte finora sono state ottenute più volte assicurando quindi una certa ripetibilità dei risultati. Inoltre si è provato ad utilizzare il CaCO₃ micrometrico al posto di quello nanometrico e, sia in termini di qualità della dispersione che di morfologia dei campioni finali, i risultati rimangono invariati.

La procedura sperimentale e la parte di formatura corrispondono a quelle descritte per l'ottenimento di silicati amorfi con il polimero Silres[®] H62C anche se, in questa fase della

ricerca, sono state riscontrate alcune complicazioni risolte, con un procedimento per tentativi ed errori, scoprendo degli accorgimenti da utilizzare, la cui inosservanza non permette di ottenere validi risultati.

In particolare l'essiccazione va effettuata sfruttando un cristallizzatore molto grande e rispettando scrupolosamente il tempo massimo di 12h a 60°C.

Successivamente risulta di fondamentale importanza la scelta del crogiolo adatto per il trattamento di reticolazione. Infatti la quantità di "pasta" collosa che si inserisce nel crogiolo deve essere tale da toccare le pareti dello stesso in tutti i punti e non deve lasciare libero alcun punto della superficie; il crogiolo va quindi riempito bene, avendo cura di lasciare dello spazio libero in direzione verticale in previsione della successiva espansione.

Prima di giungere a tali conclusioni, sono state effettuate delle prove in cui il campione non riempiva del tutto il crogiolo ma non si è ottenuto nessuno schiumaggio e i prodotti sono rimasti completamente densi, anche dopo reticolazione,

In questo lavoro, in particolare, sono stati utilizzati crogioli in alluminio auto-costruiti con diametro di 1cm circa e altezza di 3-4cm.

Dopo la formatura dei campioni, gli stessi sono stati sottoposti a diversi trattamenti di reticolazione, per osservare eventuali differenze strutturali, e allo stesso trattamento di ceramizzazione.

Un ultima nota relativa alla procedura sperimentale riguarda il fatto che i provini dopo reticolazione vanno lappati leggermente per eliminare un sottile strato di corteccia densa che si forma ai lati; questo permette di "liberare" la porosità ed effettuare un corretto trattamento di ceramizzazione.

I campioni ottenuti e i trattamenti effettuati sono riportati in tabella 3.14

Campione	Reticolazione	Trattamento termico
Aker_5%fosf_nano	350°C 30min - 5° C/min	1100° C 1h - 2° C/min
Aker_15%fosf_nano	350°C 30min - 5° C/min	1100° C 1h - 2° C/min
Aker_5%bor_nano	350°C 30min - 5° C/min	1100° C 1h - 2° C/min
Aker_5%bor_micro	350°C 30min - 5° C/min	1100° C 1h - 2° C/min
Aker_5%bor_micro_15	350°C 15min - 5° C/min	1100° C 1h - 2° C/min
Aker_5%bor_micro_325	325°C 15min - 5° C/min	-

Tabella 3.13- Campioni Akermanite porosa



Figura 3.7- Campione Akermanite porosa dopo lappatura

È stato sviluppato anche un ultimo campione con una composizione leggermente modificata rispetto a quella dell'Akermanite e precisamente si è cercato di produrre un'Akermanite (caricata con lo 0,5% wt di borace) con un contenuto di silice aumentato del 50%. Questo al fine di effettuare delle prove di biocompatibilità su campioni porosi e vedere gli effetti che questo aumento nella presenza di silice produce sul pH.

I trattamenti termici a cui è stato sottoposto sono evidenziati in tabella 3.14.

Campione	Reticolazione	Trattamento termico
Aker_5%bor_+50%SiO ₂	350°C 30min - 5° C/min	1100° C 1h - 2° C/min

Tabella 3.14- Campione Akermanite modificata

La caratterizzazione dei campioni significativi è riportata nel capitolo 4.

Caratterizzazione dei materiali ottenuti

La tecnica utilizzata inizialmente per la caratterizzazione dei campioni ottenuti è stata l'utilizzo dello stereomicroscopio per selezionare i campioni più significativi.

Le metodologie successive sono state le misure di densità, le prove di compressione per valutare la resistenza meccanica e l'analisi XRD per l'individuazione delle fasi presenti.

Solo un numero molto limitato di campioni è stato analizzato con il microscopio elettronico a scansione (SEM).

4.1 Metodi di caratterizzazione

4.1.1 Misura di densità

La densità dei campioni è stata calcolata con due metodologie diverse.

La prima prevede di realizzare una sezione con forma regolare precisa e ben definita del provino. Poi si misura la massa dello stesso utilizzando una bilancia elettronica di precisione e si ricavano le dimensioni che lo caratterizzano, utilizzando un calibro elettronico, al fine di poterne calcolare il volume.

Si ricava quindi un dato di densità geometrica mediante la relazione:

$$\rho = \frac{m}{V}$$

Il dato così ricavato prende in considerazione il volume totale occupato dal solido (quindi il suo ingombro esterno), compresi pertanto gli spazi vuoti (solidi con cavità chiuse, con cavità aperte o a struttura spugnosa).

La seconda invece è la misura della densità apparente con il metodo di Archimede. Questa misura, effettuata secondo la ASTM C 373-88, tiene conto della presenza della porosità aperta, non considerando invece quella chiusa. Il metodo prevede di posizionare sulla bilancia elettronica di precisione un apparato apposito rappresentato in figura 4.1



Figura 4.1- Misura densità con metodo di Archimede

La densità viene calcolata usando la formula:

$$\rho_{app} = \frac{m}{m - m'}$$

Dove m è la massa misurata a secco mentre m' è quella misurata dopo immersione in acqua. Confrontando la misura di densità geometrica con quella apparente, si può avere un'informazione riguardante la presenza o meno di porosità aperta nel campione.

4.1.2 Analisi allo stereomicroscopio

La struttura dei campioni realizzati è stata osservata grazie all'ausilio di uno stereomicroscopio; esso è un particolare microscopio che permette una visione

tridimensionale degli oggetti osservati. Produce infatti una visione stereoscopica del campione in esame.

Lo stereomicroscopio utilizza due percorsi ottici separati diversamente allineati, con due obiettivi e due oculari per fornire immagini diversamente angolate agli occhi destro e sinistro e osserva gli oggetti principalmente per mezzo della luce riflessa da due lampade laterali posizionate ad angoli molto inclinati rispetto al piano di osservazione (figura 4.2).

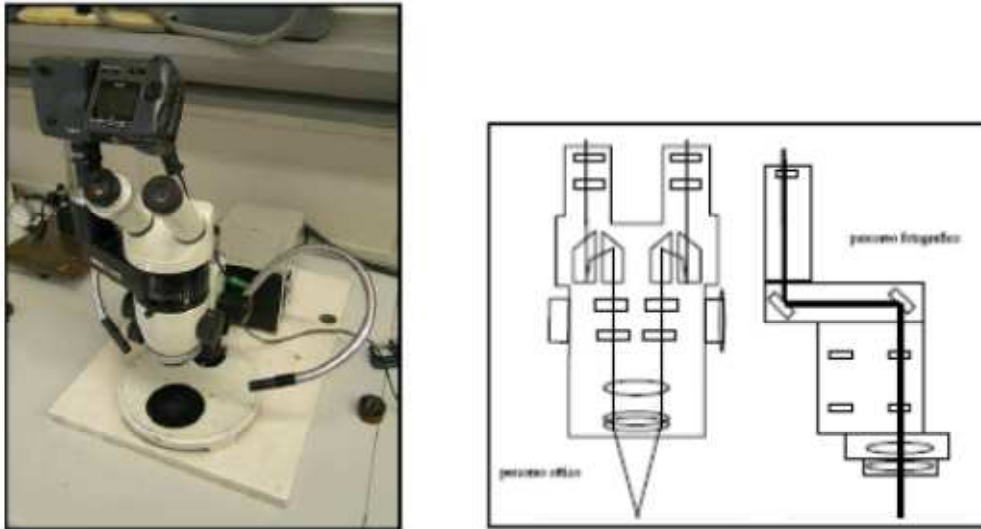


Figura 4.2- Stereomicroscopio e schema di funzionamento

Lo strumento possiede ingrandimenti che variano da 6,4X a 40X.

Le micrografie realizzate, digitalizzate con l'ausilio di una macchina fotografica digitale applicata ad un obiettivo speciale, sono servite a valutare attentamente la struttura dei materiali e, in particolare, l'omogeneità dimensionale dei pori e la loro distribuzione all'interno della struttura.

4.1.3 Resistenza a compressione

Le misure di resistenza a compressione, effettuate sulle sezioni ottenute dai diversi campioni, sono state effettuate utilizzando la macchina universale Instron 1121, a spostamento controllato (Figura 4.3).



Figura 4.3- Macchina Instron 1121 per le prove meccaniche

L'apparecchiatura è costituita da due piattaforme circolari: una fissa, su cui viene poggiato il blocchetto, e una mobile che si abbassa, con spostamento controllato, per comprimere il campione.

Impostata la velocità di avanzamento della testa, la macchina registra uno sforzo proporzionale allo spostamento imposto. Una cella di carico, posta nella testa, produce un segnale elettrico di intensità direttamente proporzionale alla forza esercitata sul campione, istante per istante. Il segnale viene opportunamente elaborato e visualizzato sul monitor di un computer.

La deformazione relativa (ε) e lo sforzo di compressione (σ_{compr}), a cui è sottoposto ogni singolo campione, si possono calcolare conoscendo l'area A della faccia del campione sulla quale agisce il carico tramite le due equazioni:

$$\varepsilon = \frac{v \cdot t}{60 \cdot h} \cdot 100 \quad (1)$$

$$\sigma_{compr} = \frac{F}{A} \quad (2)$$

Dove v è la velocità di abbassamento della macchina e h è lo spessore del campione.

Il diagramma fornito dalla macchina riporta in ascissa il tempo (t) e in ordinata la forza (F); il programma poi elabora i dati forniti dalla macchina in modo da ottenere le curve sforzo-deformazione del campione in esame.

I diagrammi σ - ϵ ottenuti dalle prove di compressione, presentano un andamento simile a quello del grafico sottostante, nel quale si osserva un picco iniziale (I) fino allo sforzo massimo di compressione σ_{max} , un successivo plateau (II) e una zona finale (III), in cui il carico cresce molto rapidamente.

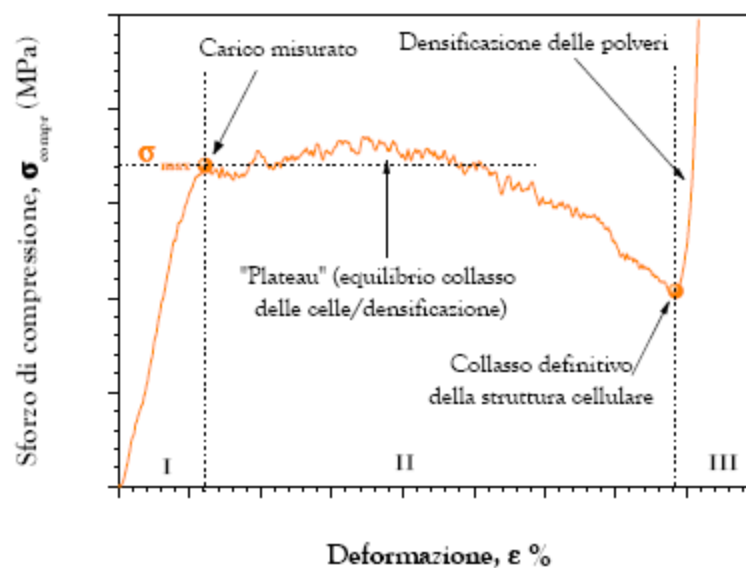


Figura 4.4- Carico di rottura (MPa) in funzione della deformazione (%) di un generico campione

Nella zona I, il composto poroso si deforma in modo elastico lineare fino a raggiungere il picco di sforzo massimo (σ_{max}). In tale zona le pareti delle celle, che costituiscono la struttura porosa del campione, si flettono sotto lo sforzo di compressione, senza rompersi: il campione offre una resistenza strutturale alla compressione.

Nella zona II lo sforzo rimane pressoché costante: il carico diminuisce a causa della rottura delle celle per frattura fragile (Figura 4.6b), ma contemporaneamente aumenta l'attrito che si crea fra i frammenti delle pareti già rotte. In questa zona vi è un equilibrio fra il collasso delle celle e la densificazione.

Dopo questa fase si giunge al collasso completo delle celle (zona III), causato dalla frattura fragile delle pareti e alla "densificazione" della struttura cellulare: le pareti opposte di ogni

cella si toccano e lo sforzo inizia a crescere rapidamente a causa del forte attrito che si genera tra le polveri. In questa fase non vi è più alcuna struttura cellulare riconoscibile.

Il comportamento dei materiali analizzati è un comportamento elasto-plastico (Figura 4.5b), tipico dei materiali ceramici a struttura porosa.

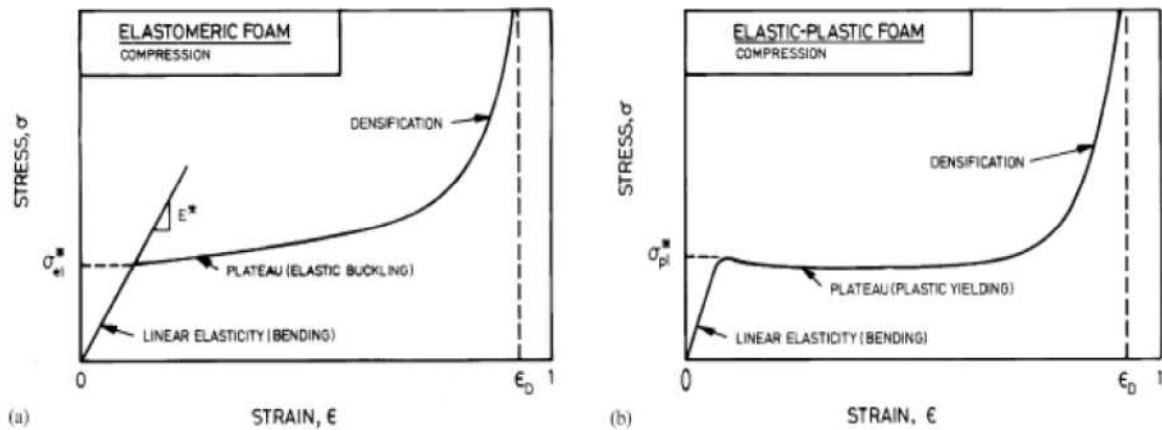


Figura 4.5-Modello elastomerico (a) ed elasto-plastico (b) di un materiale cellulare

Nel caso sia presente una struttura porosa a celle aperte, essa può essere pensata come composta da una serie di unità cellulari come quella schematizzata in Figura 4.6a, ossia da celle poliedriche costituite da *struts* solidi (spigoli della cella poliedrica caratterizzati da un proprio spessore e da una propria morfologia) circondati da spazi vuoti contenenti aria.

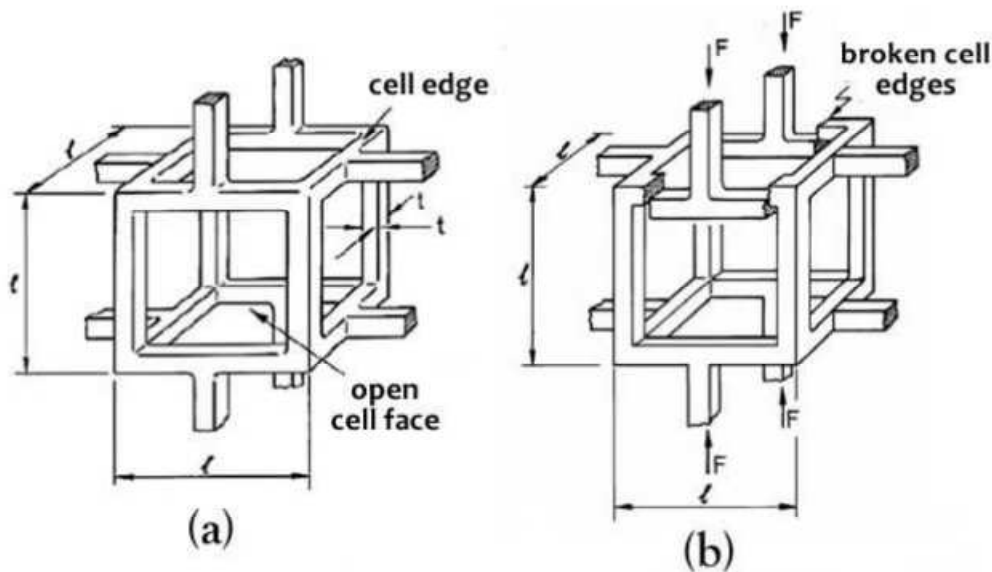


Figura 4-6- (a) Modello di Gibson-Ashby di un materiale poroso a celle aperte;
 (b) Modello di rottura delle celle per frattura fragile

Le prove di compressione effettuate sono servite per caratterizzare le schiume dal punto di vista meccanico e valutare di quanto la loro resistenza si discosta da quella di un osso poroso:

Caratteristiche meccaniche	Osso corticale	Osso poroso
Resistenza a compressione (MPa)	100-230	2-12
Resistenza a flessione (MPa)	50-150	10-20
Tenacità a frattura (MPa·m ^{1/2})	2-12	Non individuata

Tabella 4.1-Caratteristiche meccaniche degli ossi corticali e degli ossi porosi.

Un dato importante per valutare la resistenza dei campioni, dato che le analisi sono condotte su strutture porose, è quello della resistenza specifica. Questo valore è facilmente calcolabile dividendo la resistenza meccanica a compressione per la densità calcolata; in questo modo si trovano dei valori correttamente confrontabili con quelli degli altri materiali.

Nel SI l'unità di misura della resistenza specifica è data da (N·m)/Kg.

4.1.4 Diffrazione a raggi X

I materiali prodotti sono stati sottoposti ad analisi XRD per identificare le fasi in essi presenti. La tecnica utilizzata, definita XRPD (*X-ray powder diffraction*), si basa sullo scattering elasticocoerente: il fenomeno macroscopico della diffrazione nasce dalla somma coerente di tutte le onde elettromagnetiche diffuse dagli atomi che sono disposti lungo la stessa famiglia di piani reticolari (Figura 4.7); si ha interferenza costruttiva e quindi segnale sullo spettro quando è soddisfatta la legge di Bragg (4).

$$n\lambda = 2d_{(hkl)} \sin(\theta) \quad (4)$$

Dove θ è l'angolo d'incidenza, d è la distanza fra piani cristallografici adiacenti, λ è la lunghezza d'onda della radiazione monocromatica incidente ed n è un numero intero.

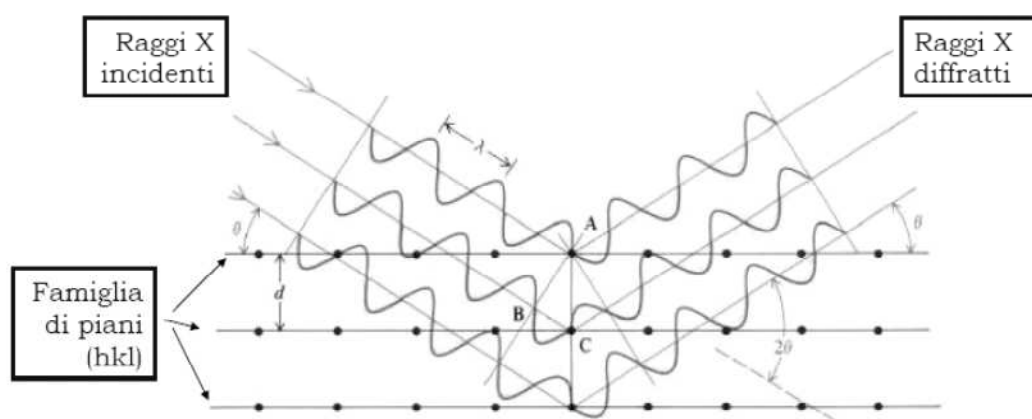


Figura 4.6-Geometria della diffrazione ai raggi X su di un reticolo cristallino

La larghezza e l'intensità delle radiazioni diffratte dipendono dalla posizione degli atomi nella cella elementare: più un campione è cristallino più intensi e stretti risultano i segnali sullo spettro.

Il diffrattogramma del campione in esame si ottiene diagrammando l'intensità del raggio diffratto di ritorno rispetto all'angolo di diffrazione 2θ .

I campioni analizzati sono stati ridotti in polvere e successivamente posizionati su un vetrino, in modo da ottenere uno strato sottile e uniforme: la polvere così sistemata si comporta come un reticolo di diffrazione per la radiazione incidente.

Grazie al software *Match!* è stato possibile confrontare i diffrattogrammi dei campioni con i dati presenti nel *database*, per individuare la natura dei cristalli presenti.

L'analisi qualitativa dello spettro XRD consiste nell'individuazione delle fasi cristalline che costituiscono il diffrattogramma in esame. Tale analisi viene effettuata in varie fasi:

- selezione degli elementi che dovrebbero costituire le fasi: il software opera una prima selezione escludendo le fasi che non contengono gli elementi indicati;
- classificazione delle fasi selezionate secondo due parametri: l'indice che valuta la percentuale di picchi del diffrattogramma del *database* che corrispondono a quelli sperimentali, oppure quello che definisce il rapporto tra l'intensità dei picchi sperimentali e quelli correlabili al diffrattogramma del *database*;
- scelta manuale delle strutture, fra quelle ordinate, che meglio fittano lo spettro.

Grazie all'analisi qualitativa dei diffrattogrammi è stato possibile stabilire le fasi che compongono i bioceramici sviluppati.

4.1.5 Microscopio elettronico a scansione (SEM)

Alcuni campioni sono stati analizzati con un microscopio elettronico a scansione (SEM) per avere informazioni relative alla morfologia degli stessi (dimensione e distribuzione dei pori) e all'eventuale presenza di fase amorfa. Prima di effettuare l'analisi è stato necessario rendere conduttrice la superficie dei campioni, depositando su di essa uno strato sottile di particelle d'oro, per evitare che i campioni si caricassero elettricamente durante l'analisi, causando distorsioni o contrasti anomali nell'immagine.

Il microscopio elettronico a scansione è un microscopio a visione indiretta che opera in condizioni di vuoto.

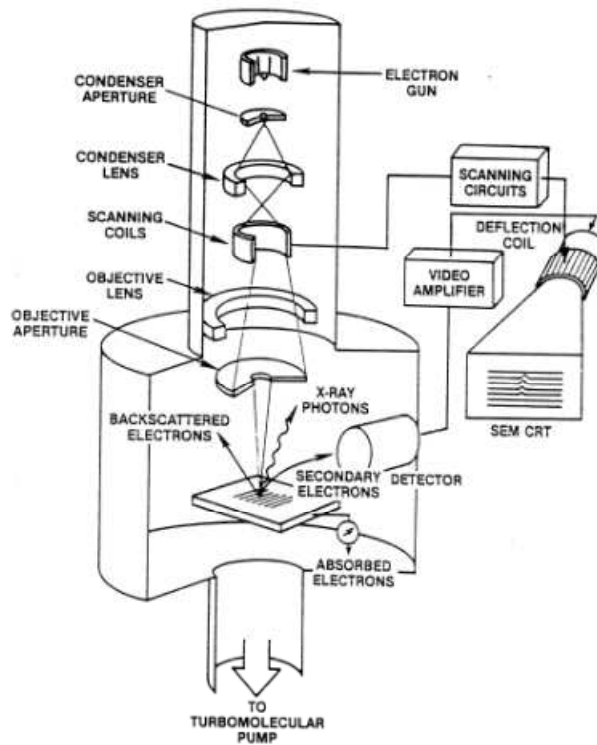


Figura 4.7-Schema di funzionamento del SEM

La Microscopia Elettronica a Scansione (SEM) permette di ottenere immagini tridimensionali ad alta risoluzione (100 \AA), mediante la scansione di un fascio di elettroni in una piccola area del campione in esame.

I campioni porosi scelti sono stati analizzati a vari ingrandimenti, compresi fra 35X e 1500X.

4.2 Caratterizzazione dei silicati amorfi

4.2.1 Caratterizzazione dei campioni ottenuti con Silres[®] MK

I campioni della serie 13-93_MK sono stati sottoposti ad analisi allo stereomicroscopio per valutarne la morfologia ed a diffrattometria ai raggi X per la determinazione delle fasi presenti.

Il 13-93_MK_3 ha subito dapprima un trattamento termico con l'aggiunta di un agente espandente e, anche se non ha fornito risultati interessanti, è stato sottoposto ad un ulteriore trattamento a 900°C per 1h con rampa di salita a 10°C/min.

Il materiale ottenuto è stato poi polverizzato e analizzato con XRD. Il diffrattogramma ottenuto con l'individuazione delle fasi presenti è riportato in figura 4.8.

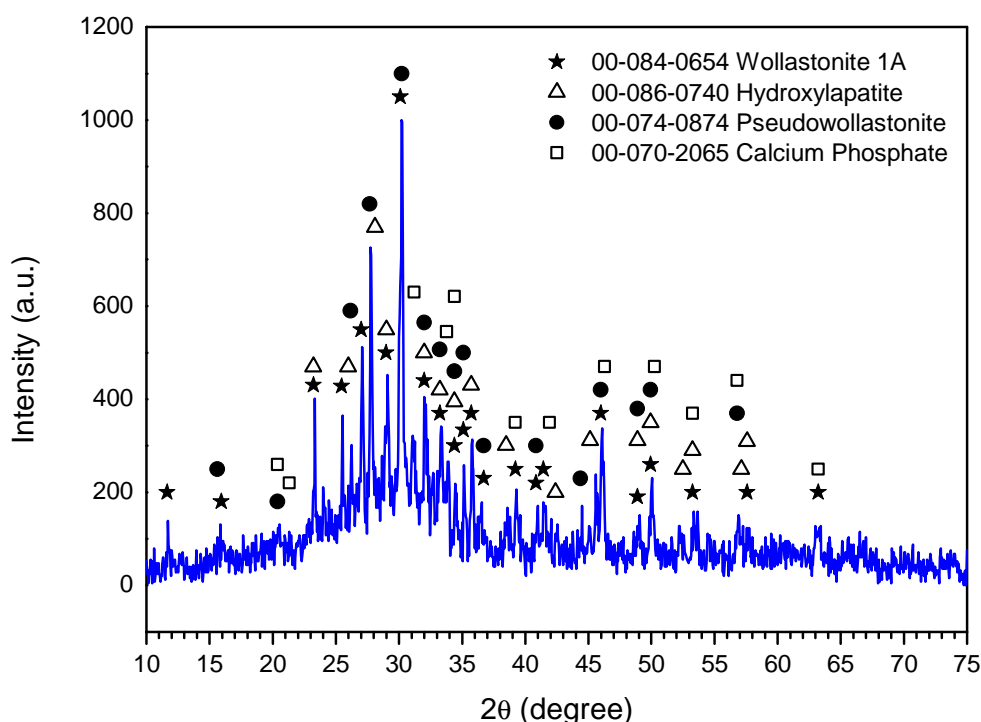


Figura 4.8-Spettro XRD del campione 13-93_MK_3

Dall'analisi dello spettro emerge che sono presenti sia fasi cristalline rappresentate dai vari picchi, che una fase amorfa rappresentata dalla "pancia" del diffrattogramma presente tra 25° e 35°.

Inoltre, cosa molto importante, si nota che il campione contiene la fase Pseudowollastonite o Wollastonite α nonostante la bassa temperatura di trattamento. La Pseudowollastonite è un metasilicato ad anello con presenza di legami covalenti e, all'esterno, vicino agli atomi di ossigeno non pontanti, ci sono ioni calcio che possono formare legami ionici.

La Wollastonite β invece possiede una struttura ad elica con ossigeni non pontanti con cariche negative che avvolgono gli ioni calcio.

Solitamente la Pseudowollastonite si ottiene a temperature di trattamento molto più alte e in presenza di fluoro; il fatto di ottenerla anche a bassa temperatura come quella utilizzata in questo caso, può probabilmente essere causato dalla presenza di alcali che depolimerizzano il reticolo silossanico rompendo così la catena che andrebbe a formare la struttura ad elica della Wollastonite β . Questa rottura permette allora la formazione della Wollastonite α ciclica.

Per quanto riguarda il 13-93_MK_4, esso ha subito un trattamento termico con rampa di salita molto ripida, pari a 40°C al minuto. Questa velocità, come visibile in figura 4.9, ha permesso la formazione di un flusso viscoso e lo sviluppo di una certa quantità di gas che hanno creato una porosità nel campione. Tale porosità, analizzata anche allo stereomicroscopio, risulta essere di tipo chiuso e quindi non sfruttabile per gli scopi della ricerca. Nonostante tutto, questo trattamento è stato utile per capire che a parità di composizione, parametri sperimentali diversi come la velocità di salita della temperatura appunto, possono fornire strutture completamente diverse.

In figura 4.10 viene riportato anche il diffrattogramma di questo campione.

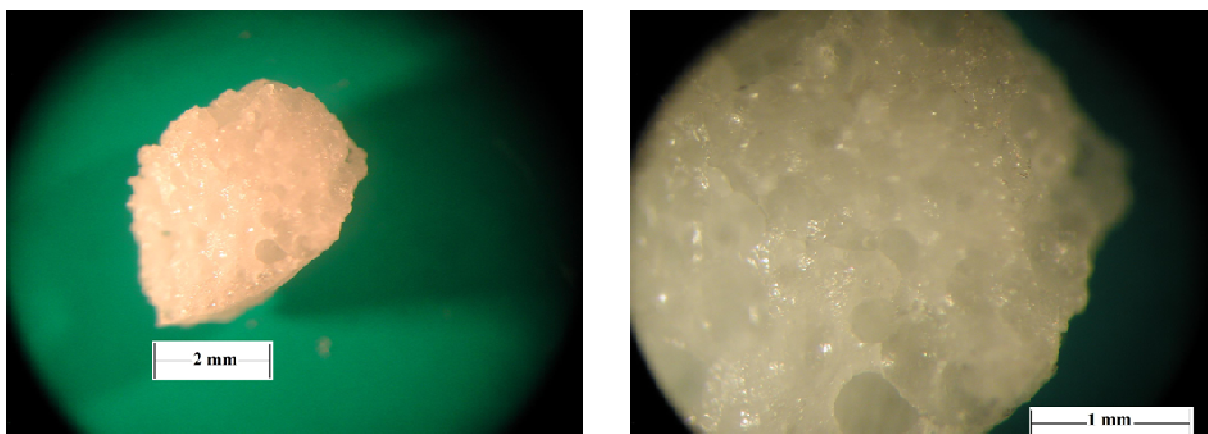


Figura 4.9- Immagine stereomicroscopio 16x e 40x del campione 13-93_MK_4

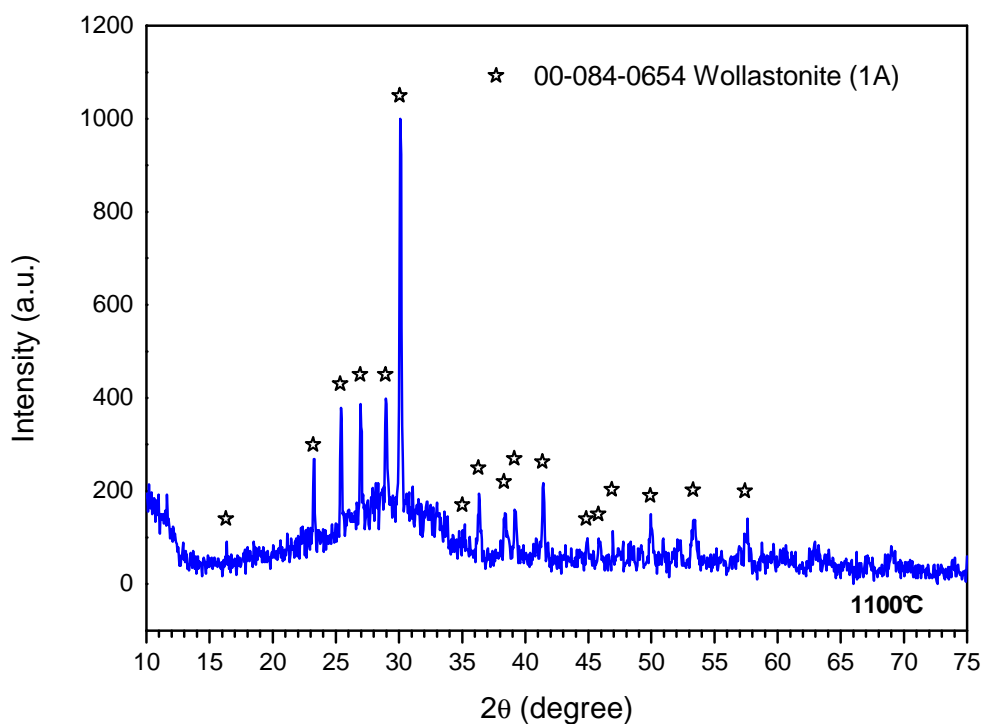


Figura 4.10-Spettro XRD del campione 13-93_MK_4

Dal diffrattogramma si nota la presenza di una certa quantità di fase amorfa affiancata ad un'unica fase cristallina rappresentata dalla Wollastonite β . Tutto ciò indica che si è ottenuta una fase fosfatica sciolta in una fase silicatica cristallina.

Il campione 13-93_MK_8, ad un'osservazione allo stereo microscopio, risulta poroso con porosità chiusa e quindi non sfruttabile per gli obiettivi previsti da questa ricerca. Lo sviluppo dei pori è stato permesso dall'utilizzo di una rampa ripida per la salita di temperatura durante il trattamento termico. Inoltre presenta un colore nero. Questo è dovuto al fatto che il campione non è completamente ossidato; infatti, la colorazione nera indica la presenza di carbonio non ossidato (figura 4.11).

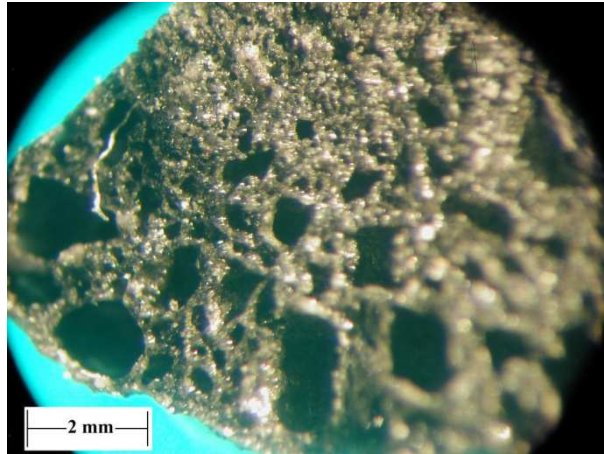


Figura 4.11- Immagine allo stereomicroscopio 16x del campione 13-93_MK_8

La presenza di carbonio residuo dopo il trattamento di ceramizzazione (pyrolytic carbon) non rappresenta necessariamente un problema. Infatti, secondo vari studi effettuati, la presenza di questo elemento non influenza negativamente la biocompatibilità del materiale, anzi può anche migliorare alcune proprietà. Ad esempio nel lavoro di Larry L. Hence “Bioceramics: From Concept to Clinic” è stata studiata l’influenza che può avere la presenza di *coatings* in carbonio pirolitico sulle proprietà dei materiali. Ne risulta che, rispetto agli impianti senza questo rivestimento, vengono incrementate le caratteristiche meccaniche, quelle di resistenza a fatica e la resistenza ad usura; la biocompatibilità degli impianti, inoltre, non risulta assolutamente alterata, anzi, si riscontrano alcuni benefici per la circolazione sanguigna.

In figura 4.12 viene riportato invece il diffrattogramma dello stesso campione con individuazione delle fasi in cui si può notare la quasi totale assenza di fase amorfa, cosa che non permette di soddisfare uno dei requisiti più importanti richiesti per i materiali che si è cercato di produrre.

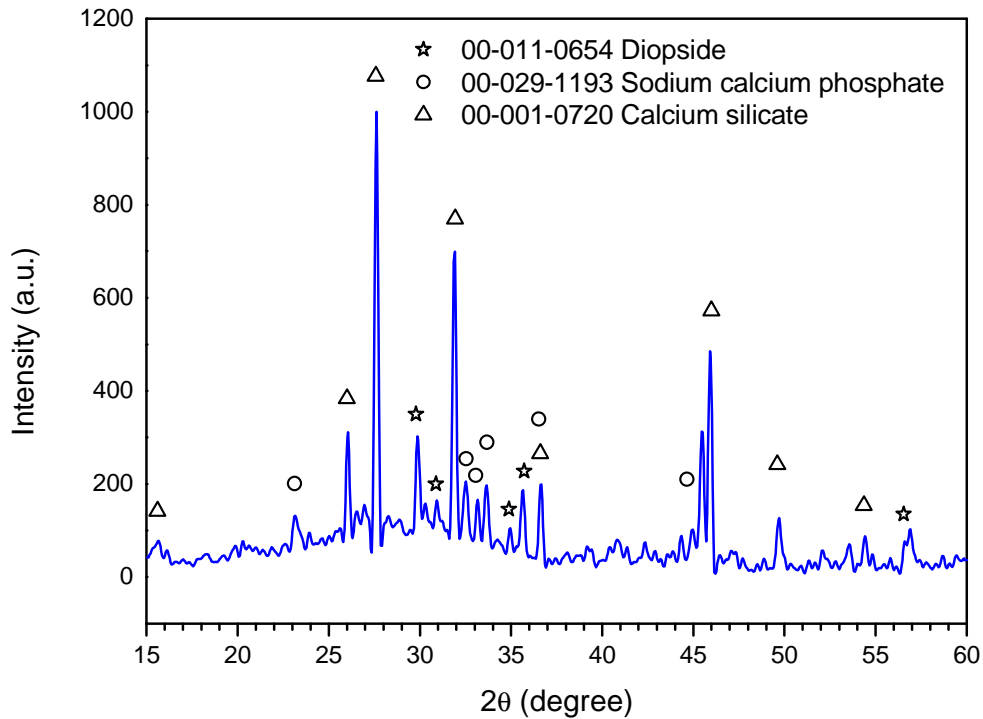


Figura 4.12-Spettro XRD del campione 13-93_MK_8

Il 13-93_MK_10 presenta le stesse fasi del 13-93_MK_8 affiancate però ad una fase amorfa e ad una porosità più pronunciata. Questo è dovuto, dato che la velocità di salita della temperatura è uguale, al maggior tempo di permanenza a 900°C pari ad 1h rispetto ai 15 minuti del 13-93_MK_8. Infatti si ha scorrimento viscoso della fase vetrosa e le tensioni superficiali tra vetro e aria fanno sì che si formi una bolla grande con porosità chiusa. La fase vetrosa viene evidenziata anche dall'analisi allo stereomicroscopio infatti il campione presenta delle zone lucide che indicano la presenza di questa fase (figura 4.13).

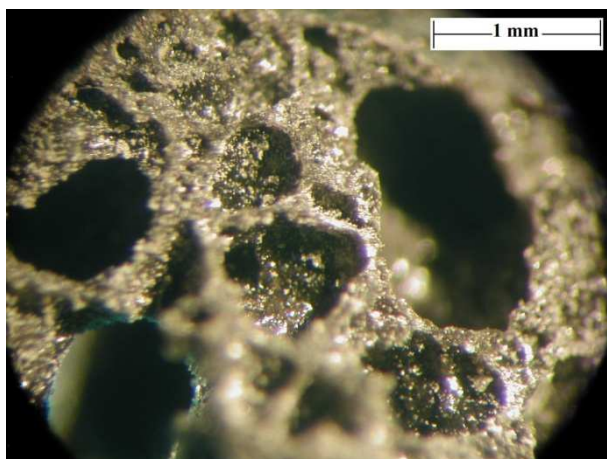


Figura 4.13- Immagine allo stereomicroscopio 40x del campione 13-93_MK_10

Il 13-93_MK_13 è stato l'unico della serie MK a possedere una struttura con porosità tendenzialmente aperta anche se non completamente. Inoltre presenta una colorazione tendente al bianco, il che indica che il processo di ossidazione del carbonio è andato praticamente a completamento (figura 4.14). Va notato però che il trattamento termico a cui è stato sottoposto è molto complesso e di scarso interesse industriale visti i costi necessari per il suo completamento.

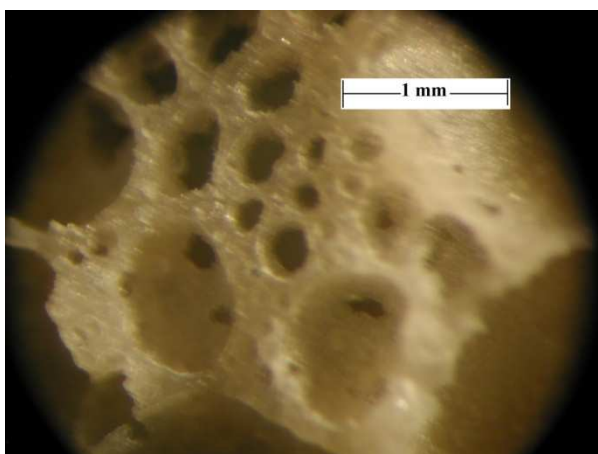


Figura 4.14- Immagine allo stereomicroscopio 40x del campione 13-93_MK_13

L'analisi XRD di questo campione evidenzia la presenza di un'unica fase rappresentata dalla Parawollastonite (figura 4.15).

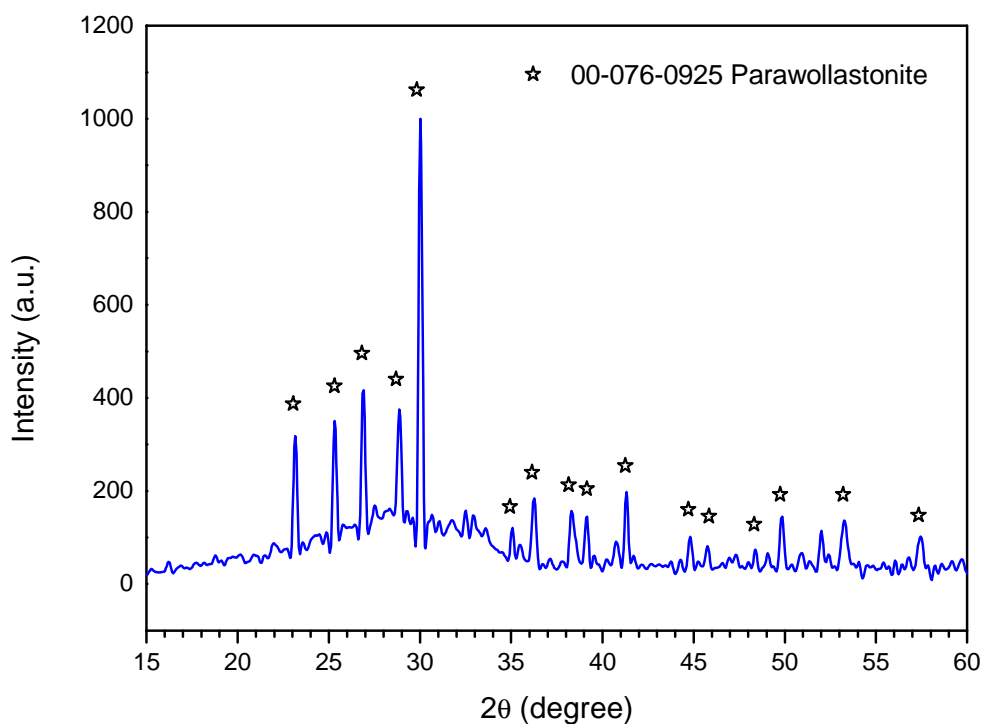


Figura 4.15-Spettro XRD del campione 13-93_MK_13

4.2.2 Caratterizzazione dei campioni ottenuti con Silres[®] H44

I campioni più significativi della serie _H44 sono stati sottoposti esclusivamente ad analisi allo stereomicroscopio. Questo perché nessuno presentava una struttura interessante soprattutto poiché, dopo reticolazione, le morfologie ottenute erano peggiori rispetto a quello che ci si aspettava in linea teorica, andando a contraddire la motivazione per la quale si era deciso di utilizzare il Silres[®] H44. I motivi verranno spiegati nel seguito.

Uno dei provini analizzati è il 13-93_H44_3 in quanto mostrava una struttura porosa anche se a porosità chiusa come si può osservare in figura 4.16.

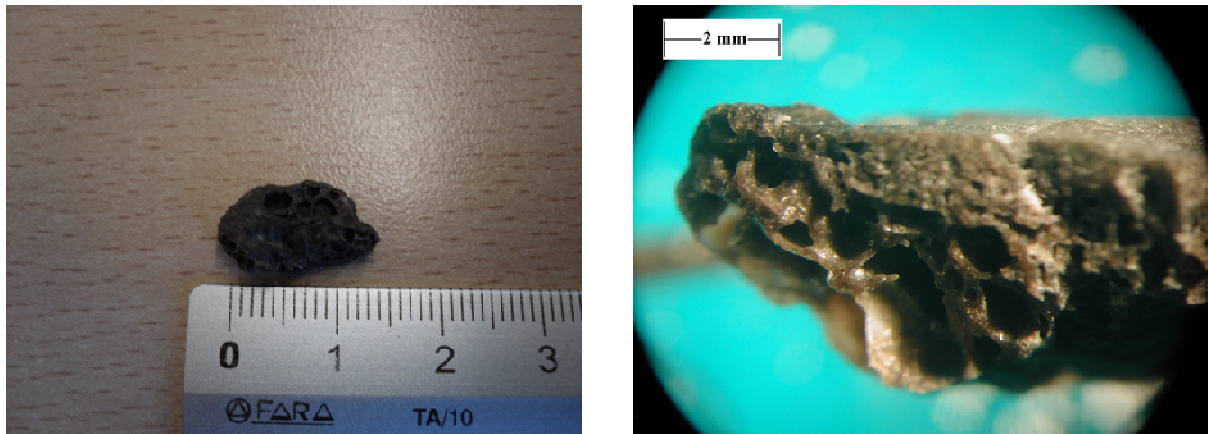


Figura 4.16- Immagini del campione 13-93_H44_3

Questa morfologia però è dovuta esclusivamente al trattamento di ceramizzazione condotto con velocità di salita della temperatura di $40^{\circ}\text{C}/\text{min}$ in quanto, dopo reticolazione, il campione si presentava come un disco denso e assolutamente non schiumato, andando contro alle ipotesi teoriche secondo cui l'utilizzo del Silres[®] H44 come polimero preceramico, doveva permettere lo sviluppo di una struttura porosa. Infatti, reticolando, questo polimero dovrebbe avere un rilascio di molecole che favoriscono lo schiumaggio, molto superiore rispetto al Silres[®] MK.

A conferma del fatto che la struttura porosa del 13-93_H44_3 è dovuta solo alla velocità della rampa di salita, basta osservare il 13-93B1_H44_1 (figura 4.17).

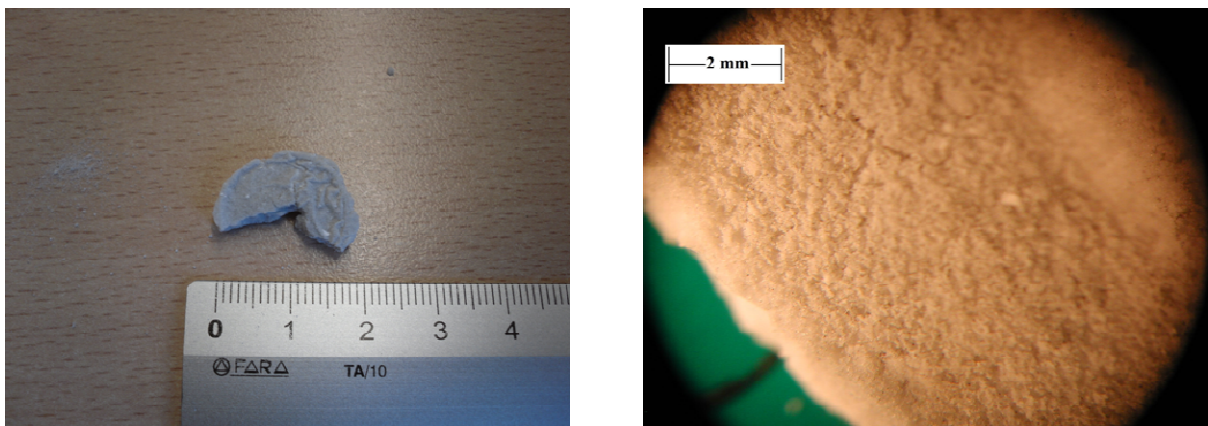


Figura 4.17- Immagini del campione 13-93B1_H44_5

Si può facilmente notare che il provino risulta molto denso a differenza del precedente in quanto non ha subito un trattamento termico con salita della temperatura molto rapida.

La struttura, come già detto precedentemente, contraddice le previsioni teoriche in quanto non è assolutamente porosa, nonostante l'utilizzo del polimero preceramico Silres[®] H44 che doveva garantire lo sviluppo dei pori rilasciando delle frazioni molecolari durante la reticolazione. Inoltre, in altri campioni della serie _H44, oltre al Silres[®] H44 è stato aggiunto del borace che, decomponendosi più o meno alla stessa temperatura di reticolazione del polimero e rilasciando molecole di H₂O, doveva incrementare ulteriormente il potere schiumante del preceramico.

La stessa cosa vale anche per i campioni in cui oltre ad H44 e borace è stato usato l'Mg(OH)₂ come precursore per l'MgO.

Tutto ciò non si è verificato e le spiegazioni possono essere molteplici. Quella più plausibile è che il polimero usato come materia prima sia vecchio e già reticolato a causa della lunga permanenza in magazzino; quindi, durante il trattamento che dovrebbe farlo reticolare, non avviene il rilascio di molecole che favoriscono lo sviluppo di una struttura porosa in quanto le stesse non sono più presenti nel polimero prima della reticolazione.

Va notata una peculiarità che si è riscontrata dopo i trattamenti termici subiti dalle composizioni che contenevano borace. Infatti la presenza di questo reagente faceva sì che si formasse una fase basso fondente a 900°C e che si ottenesse vetro completamente fuso come si può notare nella foto dei refrattari infiltrati da questa fase vetrosa (figura 4.18).



Figura 4.18- Refrattari con fase vetrosa infiltrata

Si può affermare che la “colpa” della formazione di questa fase vetrosa sia del borace in quanto tutti i provini privi di borace trattati a 900°C non hanno riportato problematiche

particolari da questo punto di vista. Quindi probabilmente il borace ha una T_g molto bassa che abbassa anche quella di tutta la composizione trattata.

In conclusione le prove effettuate con il Silres[®] H44 non sono attendibili per un probabile problema insito nella materia prima stessa.

4.2.3 Caratterizzazione dei campioni ottenuti con Silres[®] H62C

I campioni della serie 13-93_H62C sono stati sottoposti ad analisi allo stereomicroscopio per valutarne la morfologia e a diffrattometria ai raggi X per la determinazione delle fasi presenti.

Il campione 13-93B1_H62C_1, anche se non presentava una struttura tale da poter essere sfruttato per gli obiettivi della ricerca, è stato analizzato ugualmente in quanto ad un semplice esame visivo risultava lucido, fattore che indica la presenza di una fase vetrosa amorfa.

Come si nota in figura 4.19 la struttura è macroporosa con porosità chiusa e il campione non è completamente ossidato.

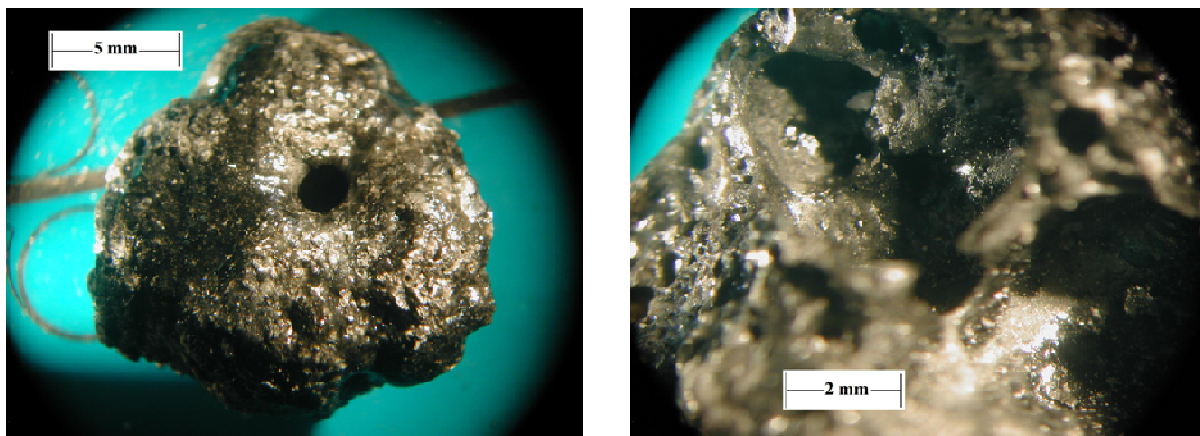


Figura 4.19- Immagine allo stereomicroscopio 6,4x e 16x del campione 13-93B1_H62C_1

Analizzando invece lo spettro XRD di questo provino (figura 4.20) si nota la presenza preponderante di una fase vetrosa amorfa come ci si aspettava, affiancata ad alcune fasi cristalline che comunque hanno una bassa entità e si trovano probabilmente sotto forma di nano cristalli.

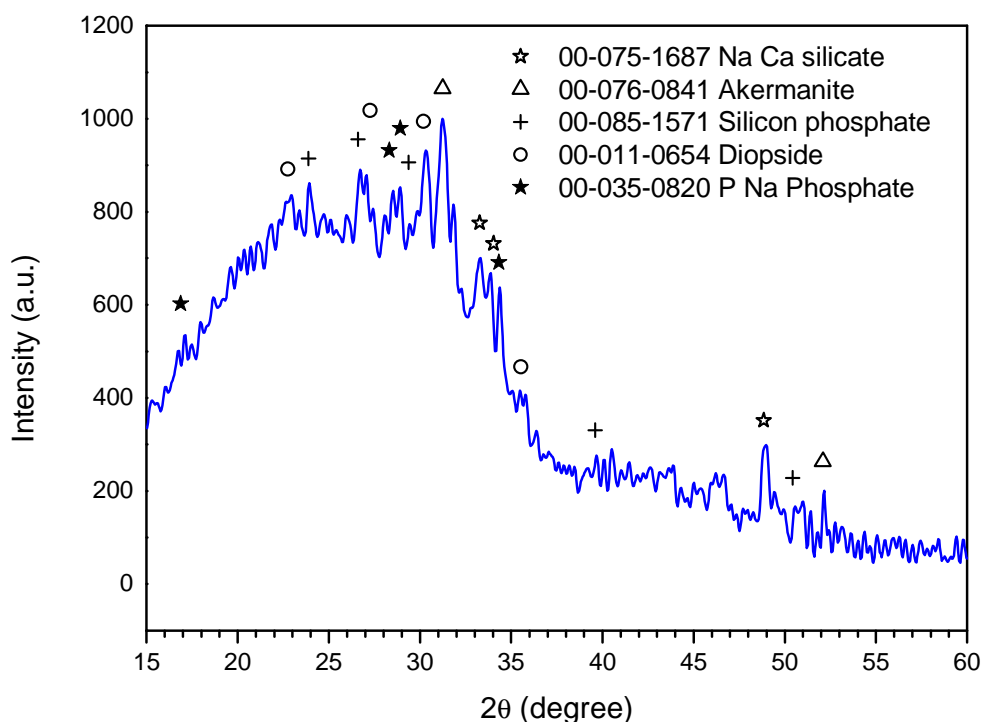


Figura 4.20- Diffrattogramma del provino 13-93B1_H62C_1

Va notato che il 13-93B1_H62C_1, come tutti gli altri campioni della serie _H62C, ha subito il trattamento di ceramizzazione ad una temperatura più bassa (700°C) rispetto ai provini delle altre serie (900-1100°C).

Questo sia per la presenza di borace che, come notato per i campioni della serie _H44 formava una fase basso fondente a 900°C, sia perché utilizzando una temperatura più bassa per la ceramizzazione si tendono ad ottenere meno fasi cristalline e più fase amorfa. Scendere al di sotto dei 700°C non ha però senso in quanto a tale temperatura ci si trova al limite della temperatura per cui si ha la reazione del polimero.

Comunque, anche nel caso dei trattamenti a 700°C in presenza di borace, si è notata la presenza di una certa fase liquida ma questo permette di avere un'alta reattività di tutti i componenti che quindi reagiscono bene.

Il 13-93_H62C_12nano subito dopo reticolazione ha mostrato una struttura abbastanza buona, regolare e consistente. L'unico problema visivamente percettibile riguardava la porosità, in quanto erano presenti macro pori anche se con distribuzione più regolare rispetto a tutti i provini analizzati fino ad ora.

Questo campione è stato sottoposto ad un trattamento termico molto lento per cercare di assicurarne la completa ossidazione.

Va notato però che, dopo ceramizzazione, il provino ha assunto una colorazione grigio chiara e una certa fragilità, probabilmente a causa della porosità di dimensione molto elevata (figura 4.21).

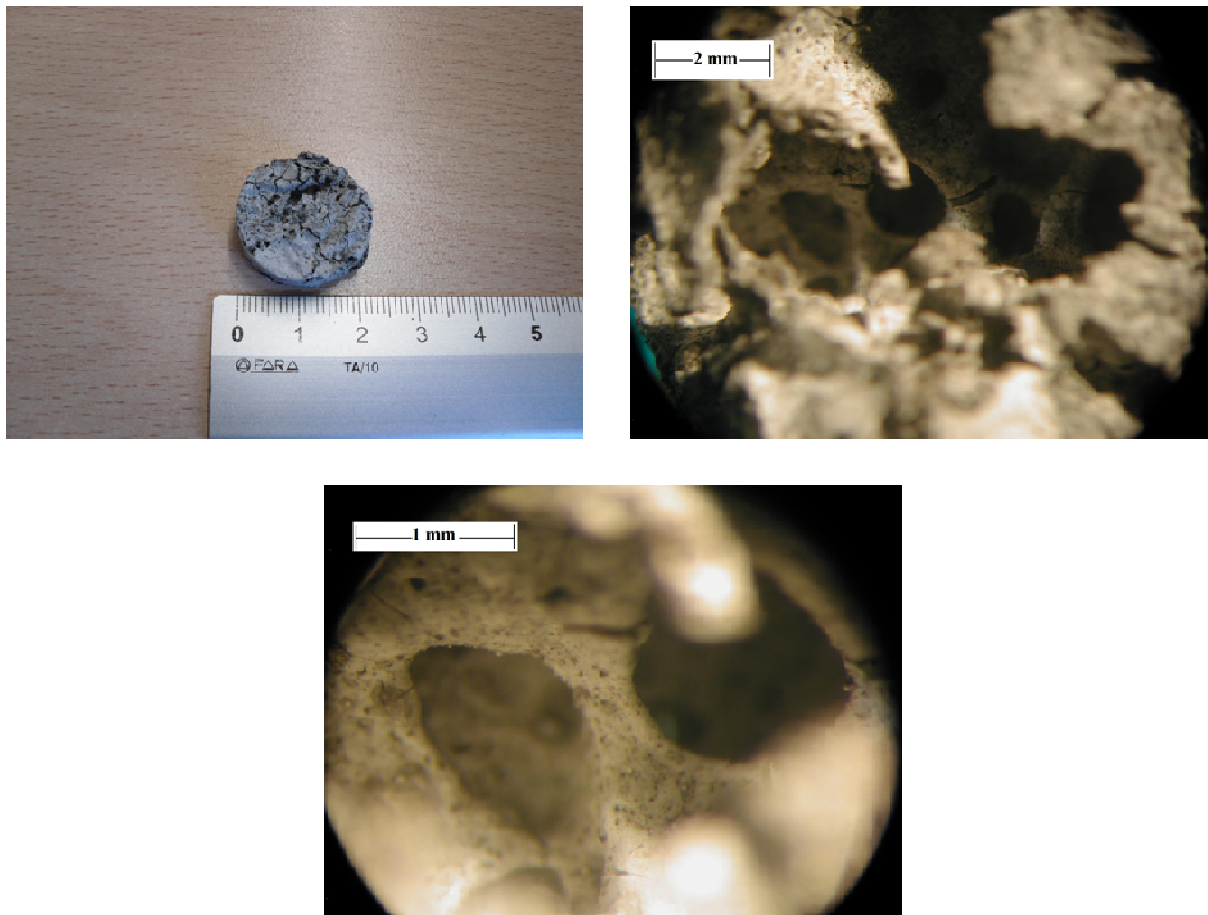


Figura 4.21- Immagini del provino 13-93_H62C_12nano

La colorazione grigia è dovuta al fatto che all'interno del campione rimane del carbonio pirolitico. Questo potrebbe essere eliminato con degli stazionamenti per tempi lunghi a temperature basse (400 o 500°C) seguiti poi dal trattamento a 700°C. In ogni caso la presenza di carbonio residuo, come già detto prima, non dovrebbe comunque creare problemi alla biocompatibilità.

Lo spettro XRD del 13-93_H62C_12nano si trova in figura 4.22 e si può notare la presenza di una fase vetrosa molto importante affiancata da diverse fasi cristalline in piccola quantità.

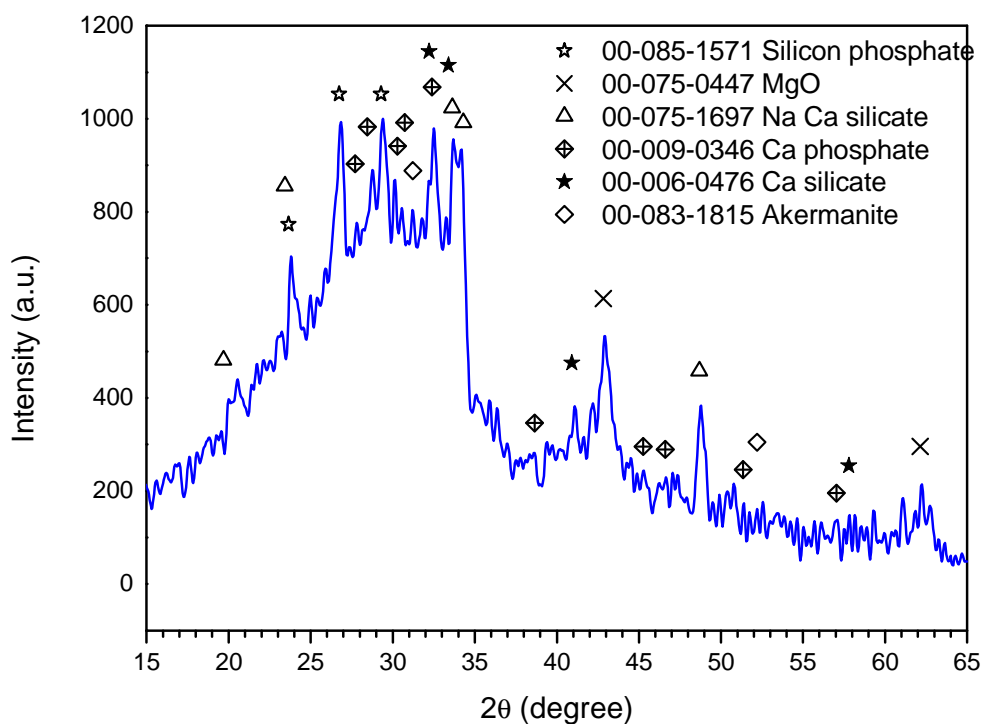


Figura 4.22- Diffratogramma del provino 13-93_H62C_12nano

Questo campione presenta forse il miglior risultato come compromesso di composizione, porosità e altre caratteristiche per quanto riguarda i silicati amorfi. Inoltre ha delle ottime potenzialità per quanto riguarda gli sviluppi futuri. Infatti, probabilmente, ottimizzando la procedura sperimentale precedente alla reticolazione e cercando poi un trattamento termico che permetta di ottenere i migliori risultati, si potrà arrivare alla realizzazione di prodotti con quasi tutte le caratteristiche ricercate.

4.2.4 Caratterizzazione dei campioni ottenuti con tecnica degli elementi sacrificali

I provini realizzati con la tecnica degli elementi sacrificali sono stati sottoposti ad analisi allo stereomicroscopio, a misure di densità, a prove di compressione ed infine ad analisi XRD.

Il primo campione considerato è stato il 13-93_PE_2. Questo presentava già visivamente, senza alcun dubbio, una struttura a porosità aperta. La colorazione era tendente al grigio. In figura 4.23 vengono riportate anche le immagini allo stereomicroscopio del campione in cui è visibile distintamente la porosità aperta. Si notano inoltre, oltre ad alcune zone lucenti ed altre opache, indici rispettivamente dell'amorficità e cristallinità del materiale, anche dei residui carboniosi.

La parte amorfa potrebbe essere dovuta alla presenza di una fase vetrosa fosfatica creatasi dato che l'idrossiapatite si può essere sciolta vista anche l'elevata quantità di modificatori presenti che fanno sì che si formi una fase vetrosa molto basso fondente.

Le frazioni opache corrispondono invece a fasi silicatiche.

Un'ultima osservazione riguarda l'aspetto della pastiglia; infatti essa presentava una certa corteccia esterna che può essere dovuta o ad un effetto fisico dato che quando si effettua la pressatura, il polimero tende a fluire attorno alle microsfele di PE ed inglobarle, oppure può essere dovuta al fatto che durante la cottura si formano delle fasi più fluide e vanno verso il fondo della pastiglia e formano questa corteccia. Allora si è provato a grattare leggermente le due superfici esterne della pastiglia dopo il *Cold Pressing* ed effettivamente si sono riscontrati dei miglioramenti. Ciò indica che la causa principale è individuabile nell'effetto fisico spiegato prima.

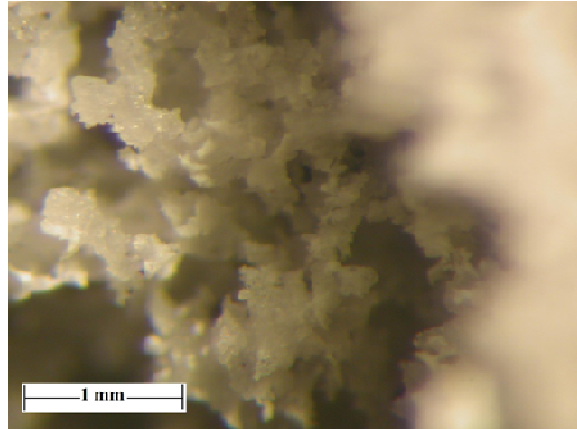
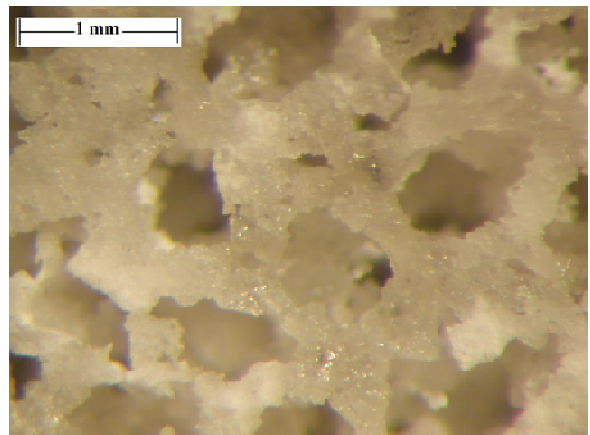
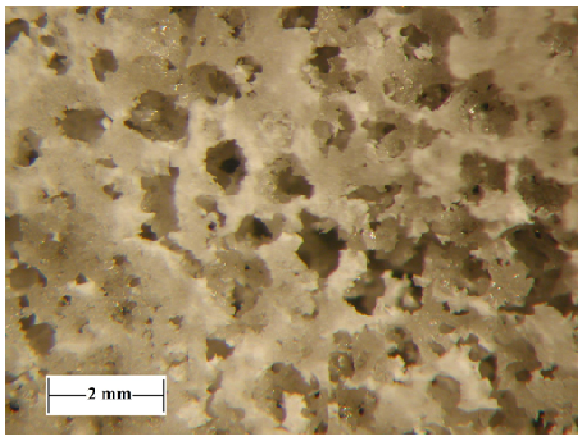
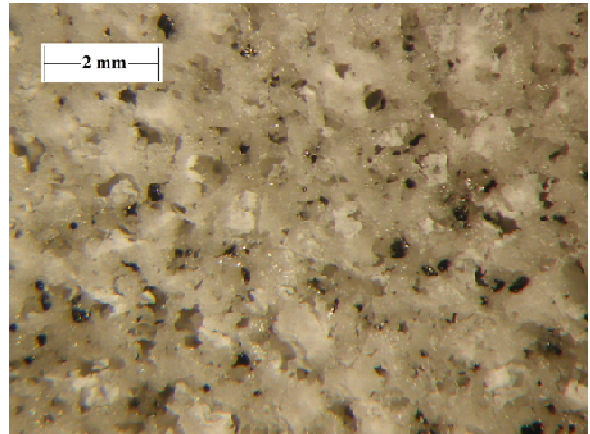
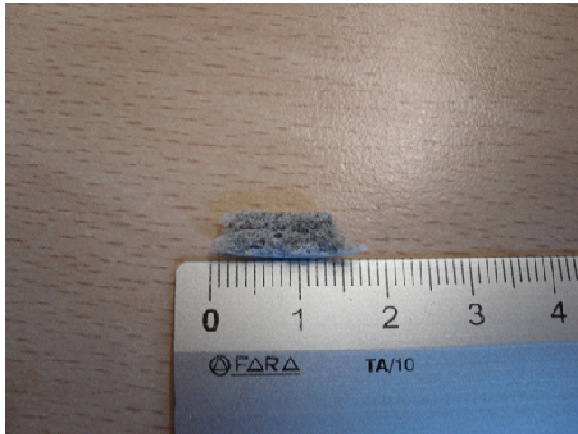


Figura 4.23-Immagine del campione 13-93_PE_2

Dalla pastiglia intera realizzata (figura 3.5), sono stati ricavati dei provini a sezione rettangolare il più possibile regolari in modo da poterli sottoporre a prove di densità prima e di compressione poi.

I risultati ottenuti sono riportati in tabella 4.2 per quanto riguarda la densità e la porosità e in tabella 4.3 per la resistenza.

Campione	Densità geometrica media [g/cm ³]	Densità apparente media [g/cm ³]	Porosità [%]
13-93_PE_2	0,493 ±0,027	2,492 ±0,012	80,2

Tabella 4.2- Densità e porosità campione 13-93_PE_2

Campione	Resistenza Compressione [MPa]	Resistenza Compressione specifica [N*cm/g]
13-93_PE_2	0,20	8,0

Tabella 4.3- Proprietà meccaniche campione 13-93_PE_2

Per quanto riguarda la porosità aperta, essa ha una presenza pari all'80%; è un valore molto alto che conferma le impressioni visive in quanto, già a prima vista, si poteva osservare la struttura aperta e interconnessa della porosità. Inoltre un valore così elevato può far pensare di poter settare diversamente le quantità di fase sacrificale in modo da ridurre un po' la porosità che pur si manterrebbe su valori consoni per lo scopo cui sono preposti questi materiali, permettendo però di aumentare la resistenza meccanica. Quest'ultima in particolare risulta inferiore a quella dimostrata dalle ossa porose, però i risultati sono comunque rilevanti in quanto la stessa è suscettibile di possibili aumenti come appena spiegato.

Il campione 13-93_PE_3 è stato sottoposto ad un trattamento termico molto simile a quello del 13-93_PE_2; l'unica differenza consiste nel tempo di permanenza ad alta temperatura pari a 3h al posto di 1h.

Visivamente (figura 4.24) risulta molto simile al precedente anche se più tendente al bianco come colorazione, indice di un'ossidazione più completa.

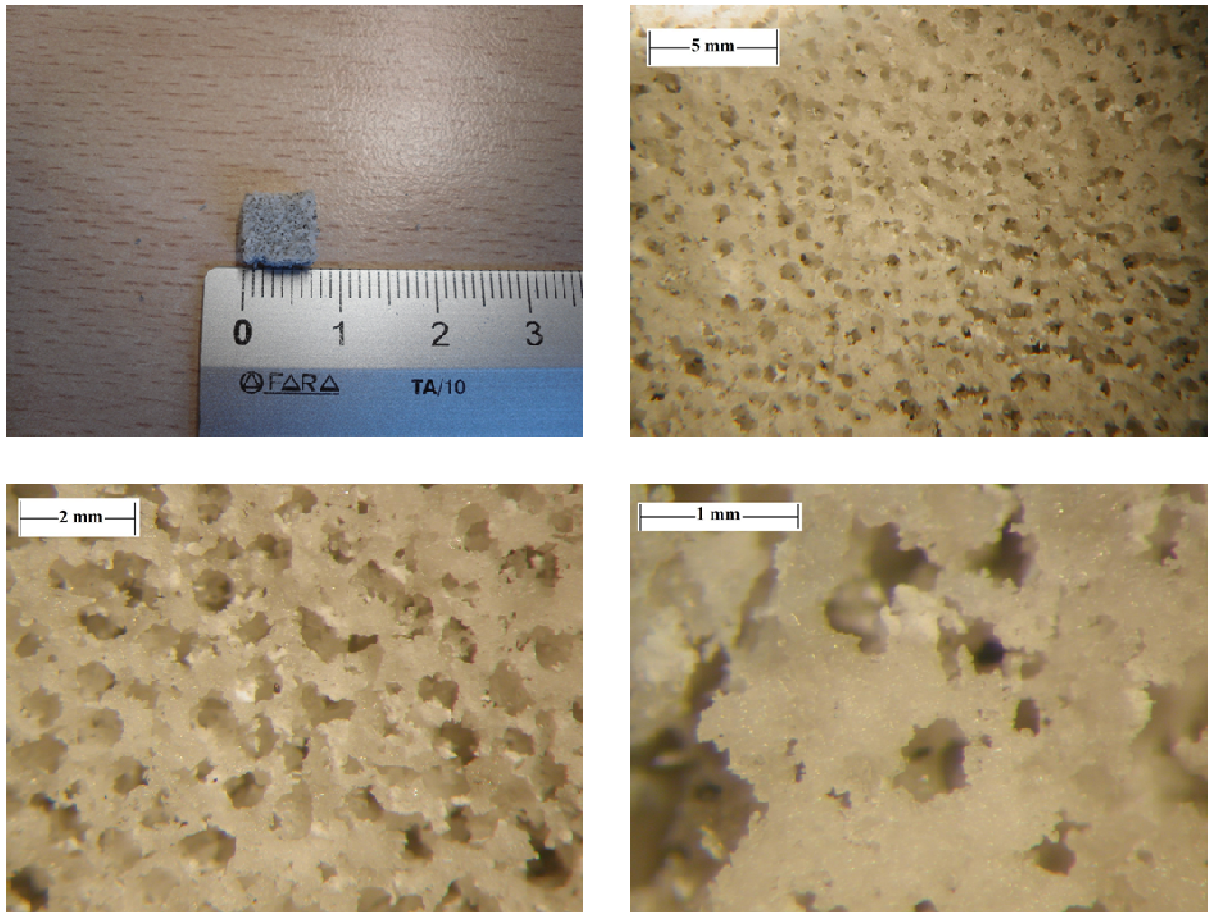


Figura 4.24-Immagine del campione 13-93_PE_3

I provini regolari ricavati poi, sono stati sottoposti a misure di densità e di resistenza. Queste vengono riportati in tabella 4.4 e 4.5.

Campione	Densità geometrica media [g/cm ³]	Densità apparente media [g/cm ³]	Porosità [%]
13-93_PE_2	0,517 ±0,002	2,458 ±0,059	79,3

Tabella 4.4- Densità e porosità campione 13-93_PE_3

Campione	Resistenza Compressione [MPa]	Resistenza Compressione specifiche [N*cm/g]
13-93_PE_3	0,27	11,0

Tabella 4.5- Proprietà meccaniche campione 13-93_PE_3

Per quanto riguarda i valori di resistenza e di porosità, essi sono praticamente gli stessi di quelli del campione 13-93_PE_2; ciò risulta congruo con il fatto che per questi due provini la quantità di fase sacrificale utilizzata è esattamente la stessa.

Successivamente, le polveri ottenute dopo la rottura del campione con la prova di compressione, sono state sottoposte a diffrazione ai raggi X. Lo spettro ottenuto è visibile in figura 4.25.

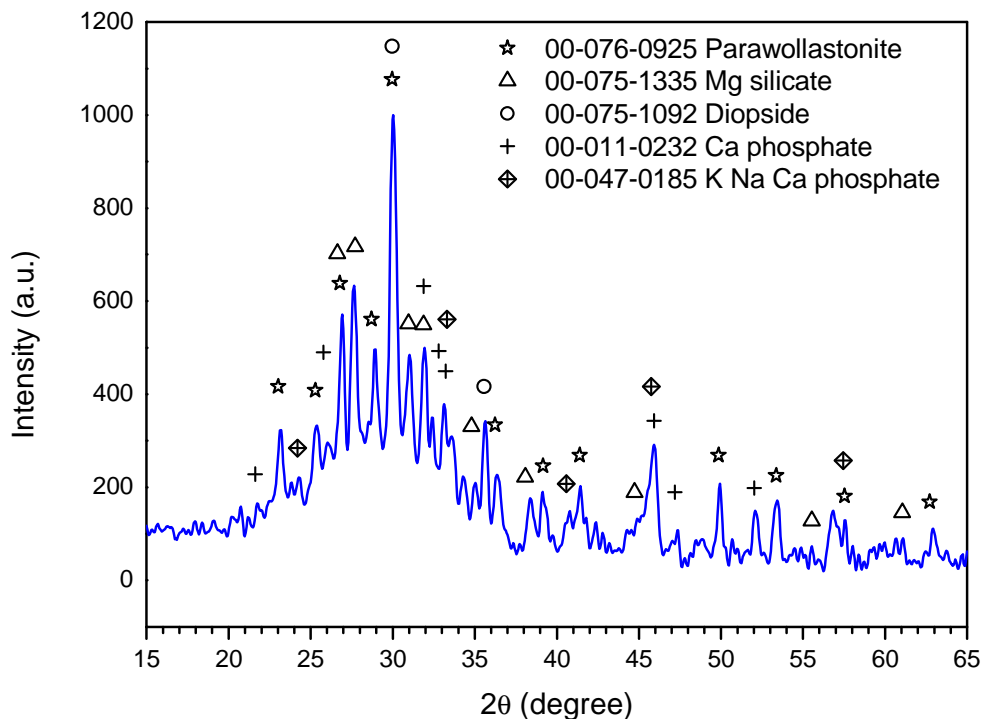


Figura 4.25-Spettro XRD del campione 13-93_PE_3

Dal diffrattogramma si nota la presenza di una fase amorfa e di varie fasi cristalline. La fase amorfa, abbinata alla struttura con porosità aperta, permette di soddisfare due dei requisiti più importanti per gli *scaffolds* costituiti da silicati amorfi.

Si vede però che la resistenza a compressione non soddisfa appieno le richieste minime ma in prospettiva futura i risultati sono degni di nota in quanto, settando bene le percentuali di materia prima e di fase sacrificale utilizzate, si può cercare di ottenere il miglior compromesso tra porosità e resistenza meccanica; infatti una porosità troppo accentuata, soprattutto nel caso di materiali tendenzialmente amorfi, può significare una scarsa resistenza meccanica.

4.3 Caratterizzazione dei silicati cristallini

4.3.1 Caratterizzazione delle pastiglie per prove di biocompatibilità

Sottoponendo a varie prove alcuni campioni realizzati precedentemente a questa ricerca, sono stati riscontrati dei problemi che riguardavano l'integrità degli stessi in quanto, a causa dell'elevato ritiro volumetrico che si aveva durante la cristallizzazione, tutte le pastiglie risultavano criccate. Però, queste pastiglie erano sviluppate utilizzando idrossiapatite micrometrica come fase secondaria diluente, mentre quelle realizzate in questo lavoro contengono tri-calcio fosfato (TCP) e idrossiapatite nanometrica; questo dovrebbe far sì che sia il TCP che l'idrossiapatite nanometrica fungano da *fillers* inerti sia per quanto riguarda le variazioni volumetriche sia per la composizione. Infatti, l'utilizzo di idrossiapatite micrometrica comportava il fatto che questa, reagendo, si trasformasse in TCP sostituito con un po' di Mg e che si formasse calce libera creando problemi sia di pH che di ritiro volumetrico appunto.

Inoltre, come appena accennato, un altro problema verificatosi consiste nel fatto che i campioni sviluppati in altre ricerche, mostravano la presenza di fasi come l'MgO o il CaO che, in prove di biocompatibilità, sono state considerate responsabili di cambiamenti di pH nella soluzione cellulare in cui i campioni erano immersi, tali da provocare l'uccisione delle cellule.

Infatti nonostante le fasi di cui erano composti i campioni fossero tutte bioattive, la presenza di MgO e CaO provocava dannosi innalzamenti del pH.

In particolare l'eventuale presenza di MgO residuo nei campioni di Forsterite risulta critica in quanto si potrebbero formare silicati di magnesio con rapporto 1-1 invece che 2-1. La Forsterite è monofasica mentre nei silicati di magnesio ci sono varietà polimorfiche che possono creare variazioni volumetriche e quindi rotture nel campione.

Quindi fondamentalmente sorgono due problemi se non tutto l'MgO reagisce:

- si formano monosilicati che creano variazioni volumetriche
- l'MgO residuo reagisce con l'acqua della soluzione in cui viene inserito il campione, forma idrossidi e crea variazioni del pH.

Sono state allora realizzate delle pastiglie dense in Forsterite e Akermanite caricate con TCP o idrossiapatite nanometrica che sono state poi trattate a diverse temperature per la ceramizzazione.

Le analisi effettuate sono state le misure di densità e la diffrazione ai raggi X.

Per quanto riguarda i campioni Forst_TCP_900 e Forst_TCP_1100 i risultati delle misure di densità sono riportati in tabella 4.6.

Campione	Densità geometrica [g/cm³]	Densità apparente [g/cm³]	Porosità [%]
Forst_TCP_900	1,455	2,780	47,7
Forst_TCP_1100	1,604	2,714	40,9

Tabella 4.6- Densità e porosità campioni Forst_TCP

Le stesse pastiglie sono poi state suddivise in 4 parti e sottoposte nuovamente alle misure della densità secondo il metodo di Archimede. Questo è stato fatto perché, confrontando il valore di porosità ottenuto con la misura della pastiglia integra (relativo alla porosità aperta) e quello ricavato dalla pastiglia spezzata, è possibile stabilire qualitativamente se è presente porosità chiusa o meno all'interno del provino. Infatti se i valori di porosità sono uguali, si può dire che la porosità è praticamente del tutto aperta. Se risultano evidentemente diversi, significa che all'interno della pastiglia è presente della porosità chiusa che viene infatti rilevata solamente spezzando il campione.

Tutte le composizioni realizzate sottoforma di pastiglie sono state sottoposte a questo tipo di misure.

In tabella 4.7 sono riportati i risultati relativi alle Forst_TCP.

Campione	Densità apparente 4 pezzi [g/cm³]	Porosità 4 pezzi [%]
Forst_TCP_900	2,683	45,8
Forst_TCP_1100	2,589	31,1

Tabella 4.7- Densità e porosità campioni Forst_TCP divisi in 4 parti.

Da questo si può capire che la porosità è tendenzialmente tutta aperta dato che i valori della stessa calcolati per le pastiglie intere e quelli calcolati per le pastiglie spezzate sono molto simili. Le piccole differenze che si riscontrano sono probabilmente dovute ad errori strumentali. La stessa identica tendenza è stata rilevata per tutte le pastiglie realizzate in questa ricerca, sia quelle in Forsterite che in Akermanite e sia quelle caricate con TCP sia quelle con HAp nanometrica.

Inoltre un altro trend comune riguarda il fatto che la porosità è minore nei provini trattati a 1100°C rispetto a quelli, della stessa composizione, trattati a temperatura inferiore.

I campioni, a prima vista, soprattutto quelli sviluppati a 1100°C, sembrano avere delle buone caratteristiche in quanto non sono microcriccati e non si spezzano molto facilmente quindi in teoria la quantità di MgO non reagito dovrebbe essere poca o nulla.

Le stesse pastiglie sono state polverizzate e sottoposte ad analisi XRD. Gli spettri ricavati sono riportati in figura 4.26.

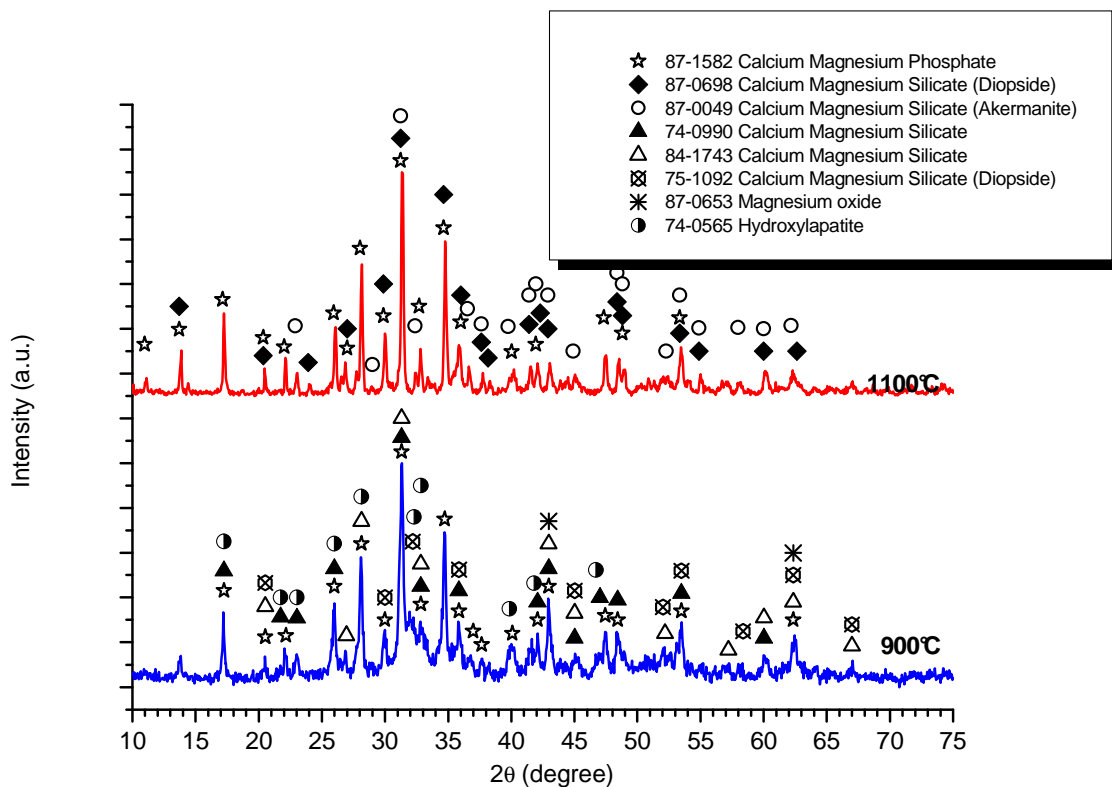


Figura 4.26-Spettro XRD dei campioni Forst_TCP

Analizzando la composizione dei provini si può notare una cosa importante e cioè che quelli trattati a 1100°C non mostrano la presenza di fasi come l'MgO o il CaO che, come detto precedentemente, possono creare problemi di biocompatibilità.

Questo conferma la caratteristica riscontrata a prima vista riguardante l'integrità dei campioni, indice della probabile assenza di MgO non reagito che potrebbe favorire variazioni volumetriche e quindi cricature.

Questo risultato fa quindi ben sperare per il successo delle prove di biocompatibilità che verranno eseguite.

Nei campioni trattati a 900°C invece, si vede la presenza di una certa quantità di MgO residuo e, come da ipotesi teoriche, questo ha favorito lo sviluppo di una fase (00-084-1743) costituita da un monosilicato di magnesio. Ciò coincide anche con la maggiore facilità di rottura di questi campioni riscontrata con le prime analisi qualitative.

Le stesse operazioni sono state effettuate sulle pastiglie di Akermanite e TCP. I risultati delle prove di densità si trovano in tabella 4.8 mentre i risultati delle misure effettuate sui campioni divisi in 4 parti in tabella 4.9.

Campione	Densità geometrica [g/cm³]	Densità apparente [g/cm³]	Porosità aperta [%]
Aker_TCP_900	1,323	2,234	51,2
Aker_TCP_1100	1,438	2,017	28,7

Tabella 4.8- Densità e porosità campioni Aker_TCP

Campione	Densità apparente 4 pezzi [g/cm³]	Porosità 4 pezzi [%]
Aker_TCP_900	2,357	43,9
Aker_TCP_1100	2,009	28,5

Tabella 4.9- Densità e porosità campioni Aker_TCP divisi in 4 parti.

Come per i campioni della serie Forst_TCP, l'analisi qualitativa di queste pastiglie permette di pronosticare uno scarso contenuto di MgO in quanto, soprattutto i provini trattati a 1100°C, mostrano una buona resistenza alla rottura e l'assenza di cricature.

Queste previsioni sono confermate dall'analisi XRD riportata in figura 4.27.

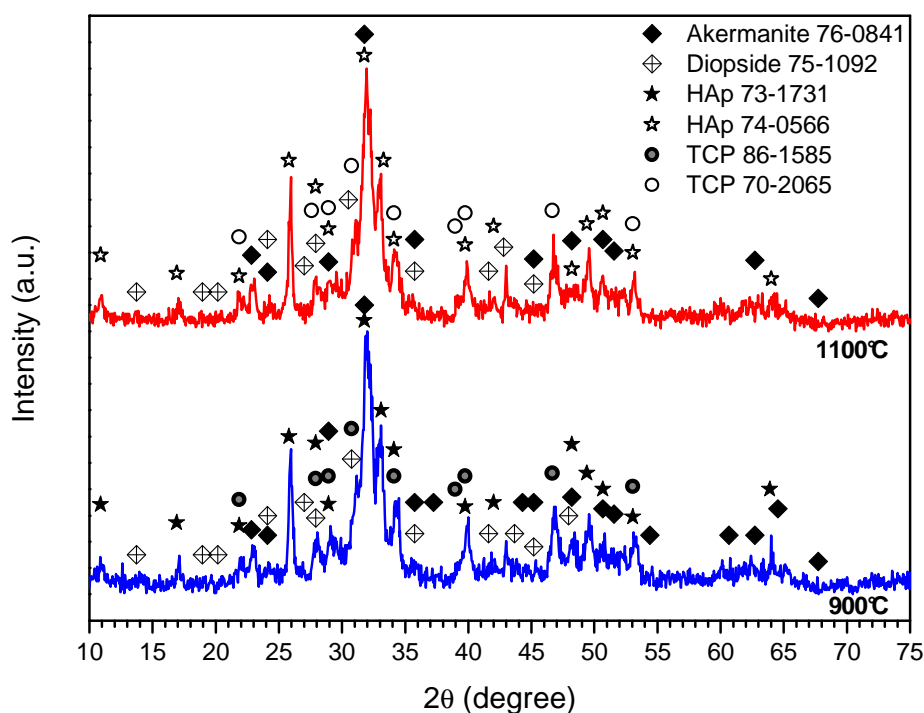


Figura 4.27-Spettro XRD dei campioni Aker_TCP

Sia nei campioni trattati a 900°C che in quelli trattati a 1100°C, si può notare la totale assenza di fasi CaO o MgO, il che dal punto di vista della biocompatibilità dei materiali è un risultato molto importante e interessante in vista di prospettive future.

Nelle pastiglie, oltre all'Akermanite, si vede la presenza di una certa quantità di TCP non reagito affiancata a dell'idrossiapatite derivante dalla conversione proprio del tri-calcio fosfato.

Per quanto riguarda le pastiglie realizzate utilizzando il 75% di idrossiapatite nanometrica come fase secondaria al posto del TCP, le prove effettuate sono le stesse di quelle eseguite sui campioni descritti precedentemente.

In particolare per quanto riguarda la serie Forst_HAp-nano i dati ricavati dalle misure di densità sono evidenziati in tabella 4.10 e 4.11.

Campione	Densità geometrica media [g/cm ³]	Densità apparente media [g/cm ³]	Porosità aperta [%]
Forst_HAp-nano_900	1,453 ±0,007	2,428 ±0,276	40,2
Forst_HAp-nano_1100	1,676 ±0,054	2,711 ±0,093	38,2

Tabella 4.10- Densità e porosità campioni Forst_HAp-nano

Campione	Densità apparente media 4 pezzi [g/cm ³]	Porosità 4 pezzi [%]
Forst_HAp-nano_900	2,465 ±0,072	41,1
Forst_HAp-nano_1100	2,649 ±0,006	36,7

Tabella 4.11- Densità e porosità campioni Forst_HAp divisi in 4 parti.

L'analisi ai raggi x ha permesso di ricavare il diffrattogramma presente in figura 4.28.

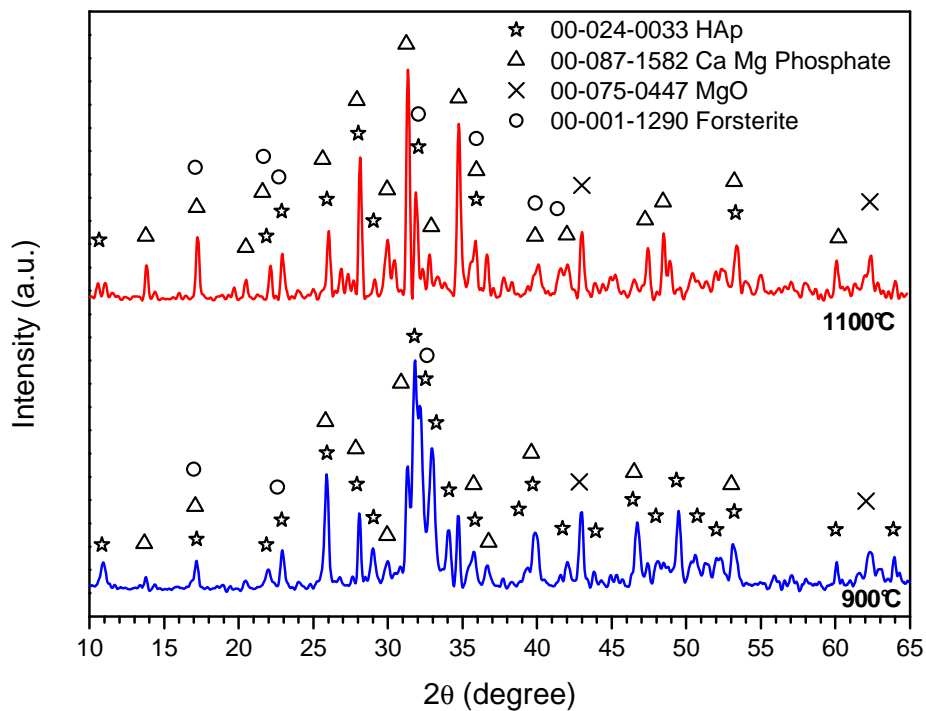


Figura 4.28-Spettro XRD dei campioni Forst_HAp-nano

Come si può osservare, le fasi presenti sono le stesse nominalmente però in realtà, nel campione trattato a 900°C la fase preponderante è l'idrossiapatite non reagita affiancata dal fosfato di calcio e magnesio, mentre nelle pastiglie sottoposte al trattamento termico a 1100°C, la fase principale è proprio questo fosfato di calcio e magnesio affiancato in modo secondario da idrossiapatite non reagita. Nota negativa per entrambi i campioni è la presenza inequivocabile di MgO che come già spiegato può creare problemi. Va detto che non ci si aspettava la presenza di questa fase dopo i controlli qualitativi sui campioni in quanto non erano presenti evidenze di microcriccature.

È comunque un risultato coerente con quanto riscontrato nelle precedenti ricerche in cui usando sempre idrossiapatite come fase secondaria, anche se micrometrica e non nanometrica come già accennato, si era sviluppata la fase MgO all'interno dei provini, creando poi problemi di biocompatibilità.

Relativamente ai campioni Aker_HAp-nano le misure di densità si trovano in tabella 4.12 e 4.13.

Campione	Densità geometrica media [g/cm³]	Densità apparente media [g/cm³]	Porosità aperta [%]
Aker_HAp-nano_900	1,828 ±0,071	2,650±0,161	31,0
Aker_HAp-nano_1100	1,789±0,105	2,618±0,054	31,7

Tabella 4.12- Densità e porosità campioni Aker_HAp-nano

Campione	Densità apparente media 4 pezzi [g/cm³]	Porosità 4 pezzi [%]
Aker_HAp-nano_900	2,591 ±0,078	29,5
Aker_HAp-nano_1100	2,674 ±0,089	33,1

Tabella 4.13- Densità e porosità campioni Aker_HAp divisi in 4 parti.

Lo spettro XRD di questi campioni è riportato in figura 4.29.

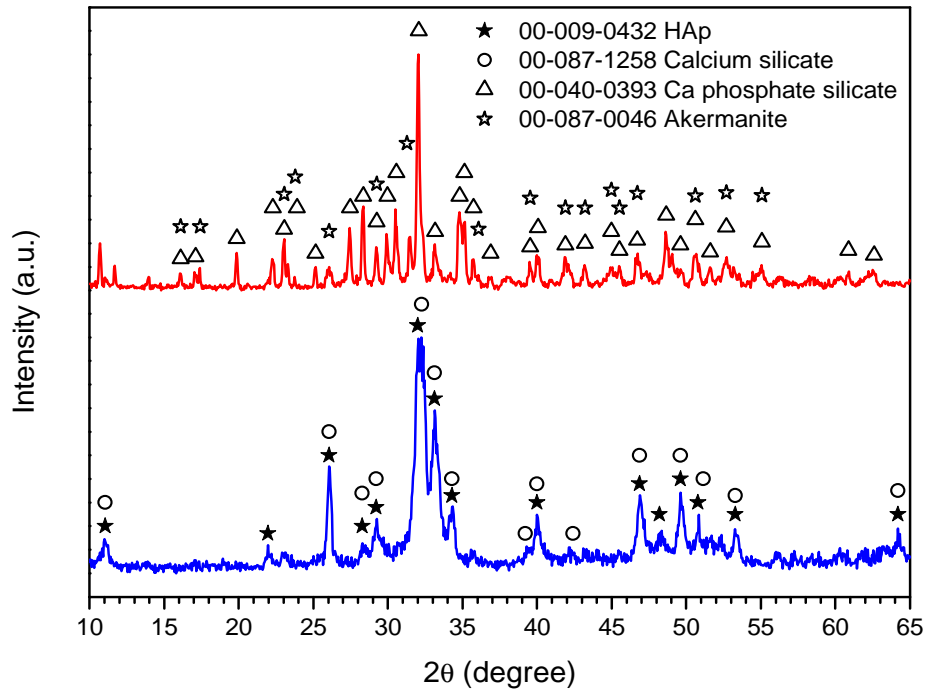


Figura 4.29-Diffrattogramma dei campioni Aker_HAp-nano

Dall'analisi degli spettri si evince che per i campioni trattati a 900°C esiste una presenza abbastanza importante di idrossiapatite residua e non si nota la formazione di Akermanite mentre in quelli trattati a 1100°C, si è avuta la formazione di Akermanite accompagnata dalla reazione di tutta l'idrossiapatite introdotta dato che non ne sono presenti residui.

In entrambe le pastiglie si ha la totale assenza di fasi come MgO e CaO, a differenza di quello che succedeva per i campioni Forst_HAp-nano.

Ciò risulta di fondamentale importanza per le eventuali applicazioni biocompatibili di questi materiali.

4.3.2 Caratterizzazione delle strutture cellulari in Akermanite

In questa fase dello studio si è cercato di sviluppare dei componenti porosi basati esclusivamente sulla composizione dell'Akermanite. Per fare questo si sono sfruttati vari composti che potessero favorire lo schiumaggio dei campioni e precisamente il borace e il fosfato di sodio epta-idrato.

I campioni realizzati sono stati sottoposti ad analisi allo stereomicroscopio e al SEM, a misure di densità, a prove di compressione e a diffrazione ai raggi X.

Per quanto riguarda i provini realizzati con il fosfato di sodio epta-idrato, il primo è stato quello in cui si è usato il 5%wt di questo componente (Aker_5%fosf_nano).

L'analisi allo stereomicroscopio (figura 4.30) effettuata dopo il trattamento di reticolazione evidenzia una porosità nettamente aperta e distribuita abbastanza uniformemente. Le foto effettuate dopo ceramizzazione mostrano una certa densificazione, conseguenza naturale del trattamento stesso, il mantenimento della porosità aperta e interconnessa e la comparsa di alcune fessurazioni.

Questo succede probabilmente perché si forma una fase che cristallizzando crea delle tensioni diverse nelle varie zone e causa la formazione delle crepe. Ciò non succede con i campioni contenenti borace che verranno caratterizzati nel seguito; infatti in questi provini probabilmente si forma una fase vetrosa che, scorrendo grazie al flusso viscoso, si distribuisce uniformemente e permette di avere un'uniformità delle tensioni durante la sinterizzazione.

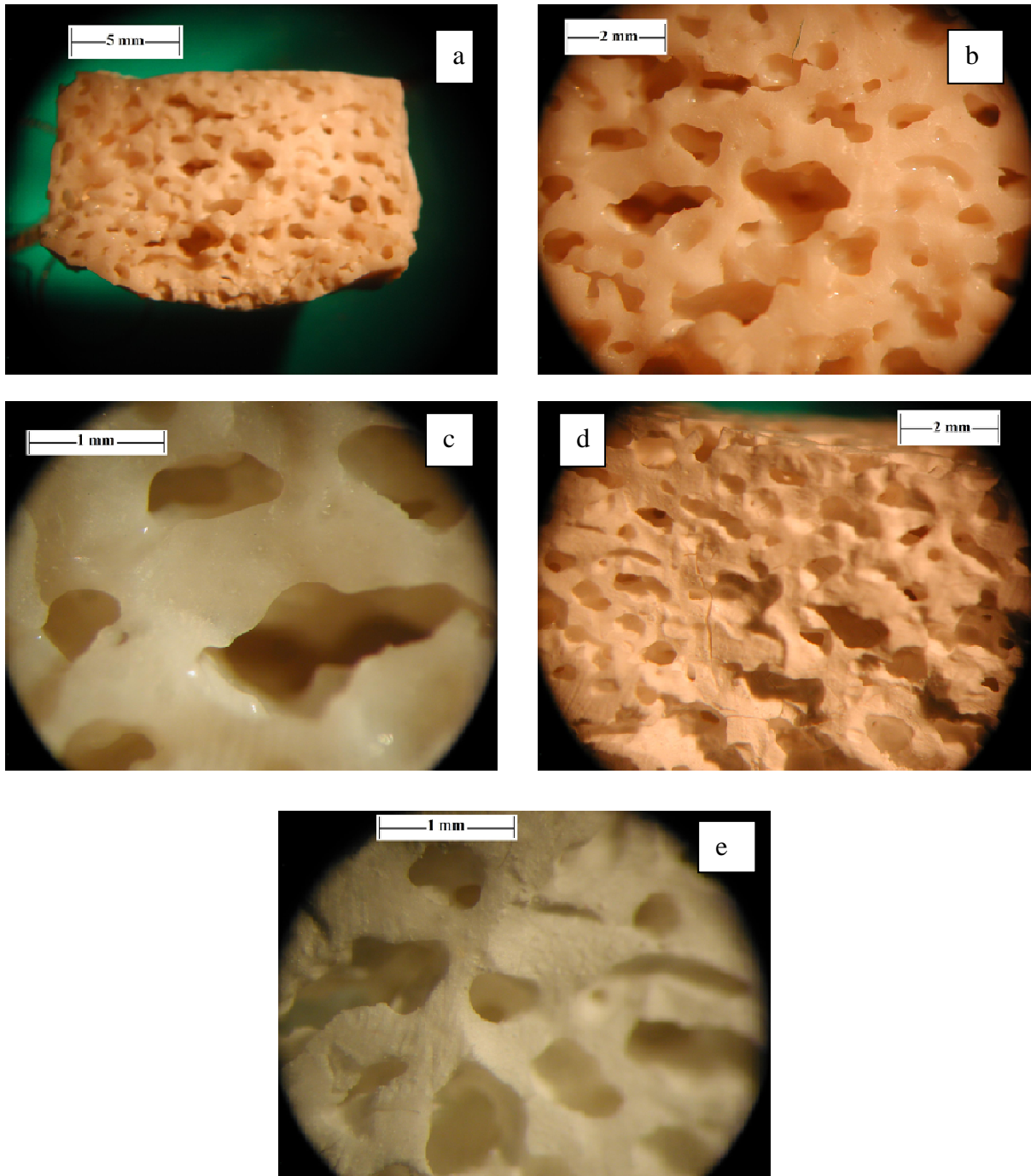


Figura 4.30-Immagini del campione Aker_5%fosf_nano dopo reticolazione (a,b,c) e dopo ceramizzazione (d,e)

Questo campione è stato sottoposto a misure di densità e prove di compressione i cui risultati sono riportati in tabella 4.14 e 4.15.

Campione	Densità geometrica media [g/cm³]	Densità apparente media [g/cm³]	Porosità aperta [%]
Aker_5%fosf_nano	1,153 ± 0,100	1,908 ± 0,065	39,6

Tabella 4.14- Densità e porosità campione Aker_5%fosf_nano

Campione	Resistenza Compressione [MPa]	Resistenza Compressione specifica [N*cm/g]
Aker_5%fosf_nano	6,74 ± 0,657	353,2

Tabella 4.15- Proprietà meccaniche campione Aker_5%fosf_nano

Il valore della porosità non è ottimale nel senso che, vista la morfologia del campione, ci si aspettava una quantità di porosità aperta maggiore. Ciò significa che all'interno del provino esiste una parte di porosità chiusa, cosa non molto valida per i nostri scopi.

Probabilmente, dato che comunque dopo reticolazione il campione presentava una porosità aperta abbastanza elevata anche visivamente, la densificazione avvenuta durante il processo di ceramizzazione ha comportato la chiusura di alcune interconnessioni tra i pori.

La resistenza a compressione invece rientra perfettamente nel range di valori registrati per un osso poroso sollecitato a compressione.

Successivamente, le polveri ottenute dopo la rottura del campione con la prova di compressione, sono state sottoposte a diffrazione ai raggi X. Lo spettro ottenuto è visibile in figura 4.31.

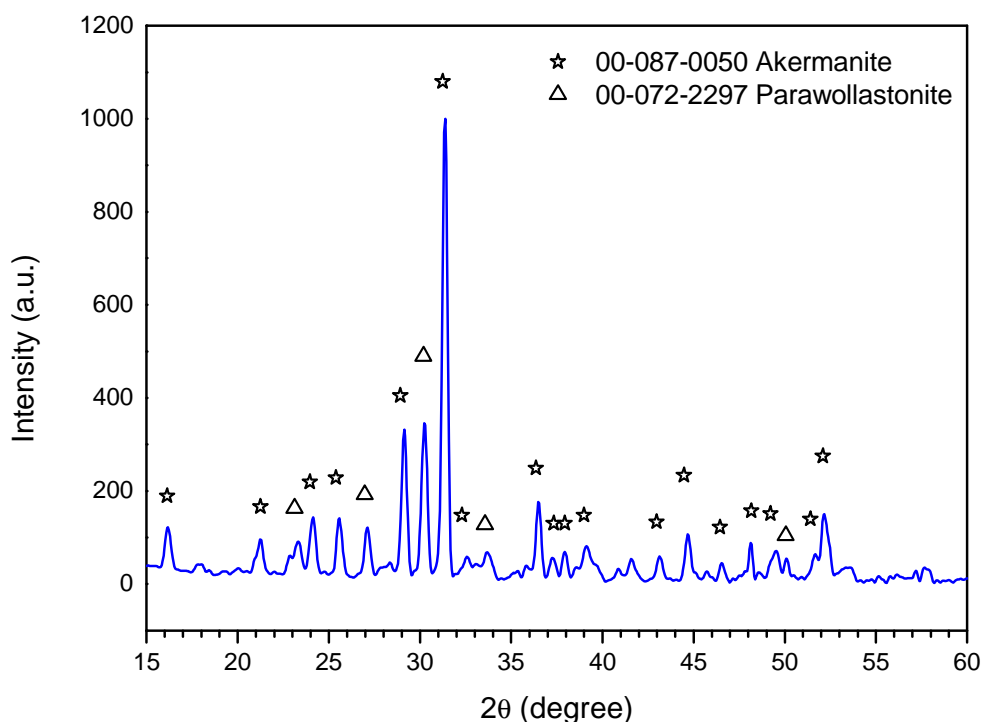


Figura 4.31-Diffratogramma dei campioni Aker_5%fosf_nano

Dallo spettro XRD si vede che effettivamente la fase principale che si è formata corrisponde all'Akermanite come ci si aspettava. Inoltre si nota una certa presenza di Parawollastonite.

Una prospettiva futura, relativa proprio a questo campione, riguarda un possibile trattamento di ceramizzazione diverso. Infatti, probabilmente, trattando i campioni sempre a 1100°C con rampa di 2°C/min, inserendo però un rallentamento della salita tra i 500°C e i 700°C impostando la rampa a 0,5°C/min, si potrebbe limitare lo sviluppo delle fessurazioni riscontrate. Questo in quanto una tale velocità sarebbe in grado di contenere l'effetto esotermico, dovuto alla combustione della parte organica del silicone, senza creare danni macroscopici quali cricche e fessurazioni sul campione.

Un'altra composizione realizzata è quella dell'Akermanite contenente il 15%wt di fosfato di sodio epta-idrato. Va detto che tale composizione non permette la produzione di campioni perfettamente omogenei in quanto, dopo essiccazione, non si ottiene una pasta gommosa omogenea ma un aggregato che si sfalda e si "sbriciola" molto, risultando anche parecchio difficile da maneggiare. Le disomogeneità sono visibili in figura 4.32 sotto forma di punti più bianchi rispetto al resto.

In ogni caso è stato prodotto un provino (figura 4.32) le cui misure di densità e di resistenza sono riportate in tabella 4.16 e 4.17.

Il campione non è propriamente a forma di pastiglia proprio a causa della difficoltà riscontrata nel maneggiare la materia prima.

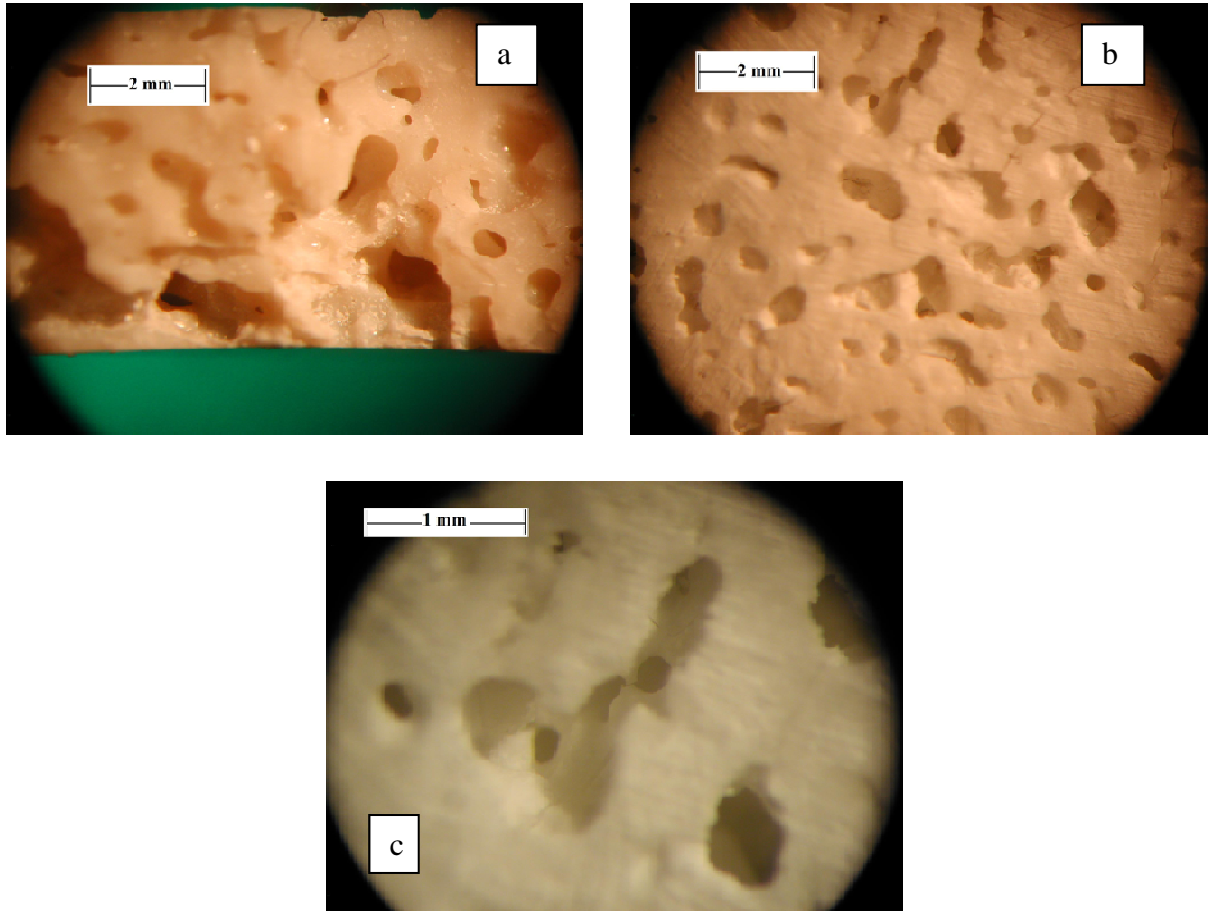


Figura 4.32-Immagini del campione Aker_15%fosf_nano dopo reticolazione (a,b) e dopo ceramizzazione (c)

Campione	Densità geometrica [g/cm ³]	Densità apparente media [g/cm ³]	Porosità aperta [%]
Aker_15%fosf_nano	1,340	2,011	33,4

Tabella 4.16- Densità e porosità campione Aker_15%fosf_nano

Campione	Resistenza Compressione [MPa]	Resistenza Compressione specifica [N*cm/g]
Aker_15%fosf_nano	50,5	2511

Tabella 4.17- Proprietà meccaniche campione Aker_15%fosf_nano

La porosità rilevata è in linea con quella del campione con il 5% wt di fosfato di sodio epta-idrato; ciò è anomalo in quanto una maggiore quantità di questo composto doveva garantire un maggior effetto schiumante grazie al rilascio di varie frazioni che dovevano, tra l'altro, garantire una presenza maggiore di porosità aperta.

Per quanto riguarda la resistenza invece, si registra un valore molto alto, quasi anomalo e ben al di sopra di quelli posseduti dalle ossa porose. Ciò può essere dovuto fondamentalmente a 2 motivi; o ad errori strumentali e di misura, oppure al fatto che una presenza maggiore di fosfato di sodio epta-idrato potrebbe favorire una maggiore cristallizzazione del materiale e quindi una maggiore resistenza.

Il campione comunque è stato sottoposto ad analisi XRD e la composizione è risultata essere identica al provino Aker_15%fosf_nano.

Le ultime formulazioni esplorate sono state quelle contenenti il 5% wt di borace. Per quanto riguarda questi campioni vanno fatte alcune premesse.

Infatti per la realizzazione di tali composizioni, come precursore per il calcio è stato usato il carbonato di calcio nanometrico e micrometrico; però, nonostante le dimensioni diverse delle particelle, non si sono riscontrate sostanziali differenze nei risultati riscontrati utilizzando i due precursori né per quanto riguarda l'omogeneità della sospensione ottenuta, né per la processabilità, né per la composizione finale dei campioni.

Altra premessa riguarda la porosità ottenuta dopo il trattamento di reticolazione. Infatti il primo campione è stato reticolato con un trattamento a 350°C per 30 minuti e mostrava una porosità molto accentuata e non troppo regolare.

Allora si è pensato di ridurre il tempo del trattamento a 15 minuti ma i risultati non hanno subito variazioni di rilievo. Un'ultima prova è stata quella di ridurre sia il tempo del trattamento (15 minuti) che la temperatura (325°C) ma anche in questo caso i risultati non variavano.

Scendere al di sotto di questa temperatura non è conveniente in quanto non si permetterebbe una corretta decomposizione sia del borace che dell' $\text{Mg}(\text{OH})_2$.

Va detto però che, dopo il trattamento ad alta temperatura, la porosità elevata rilevata dopo reticolazione, si riduceva in tutti i casi e questo proprio per la teoria stessa della ceramizzazione. Infatti durante il trattamento termico si forma un flusso viscoso che va ad uniformare il campione e chiudere alcuni pori densificando la struttura.

In figura 4.33 vengono riportate alcune fotografie, alcune fatte con lo stereomicroscopio, del campione Aker_5%bor_nano e in figura 4.34 dell'Aker_5%bor_micro_15.

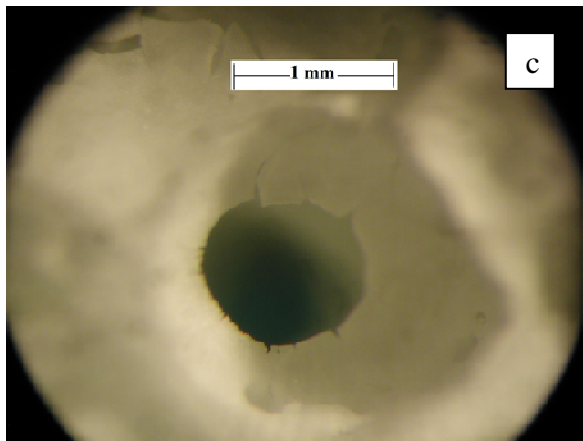
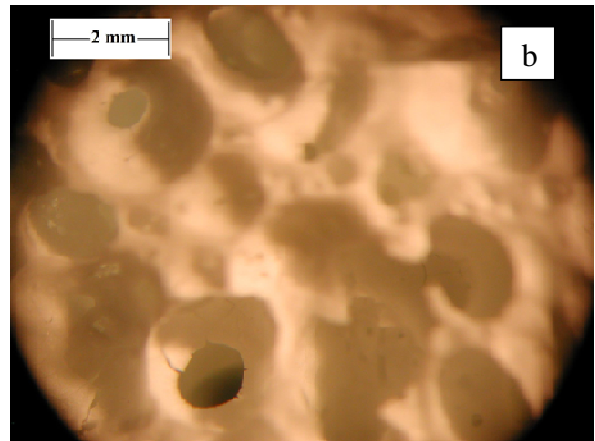
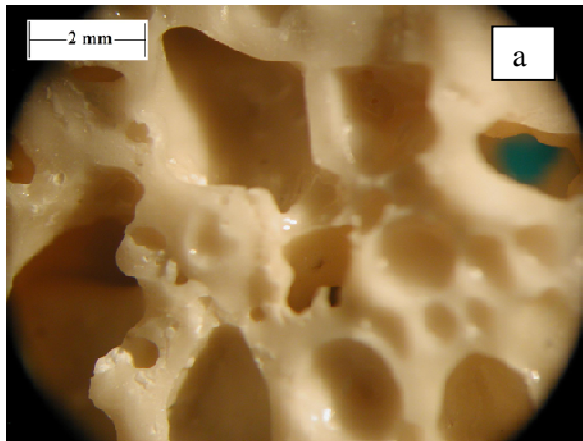


Figura 4.33-Immagine del campione Aker_5%bor_nano dopo reticolazione (a,d) e dopo ceramizzazione (b,c,e,f)

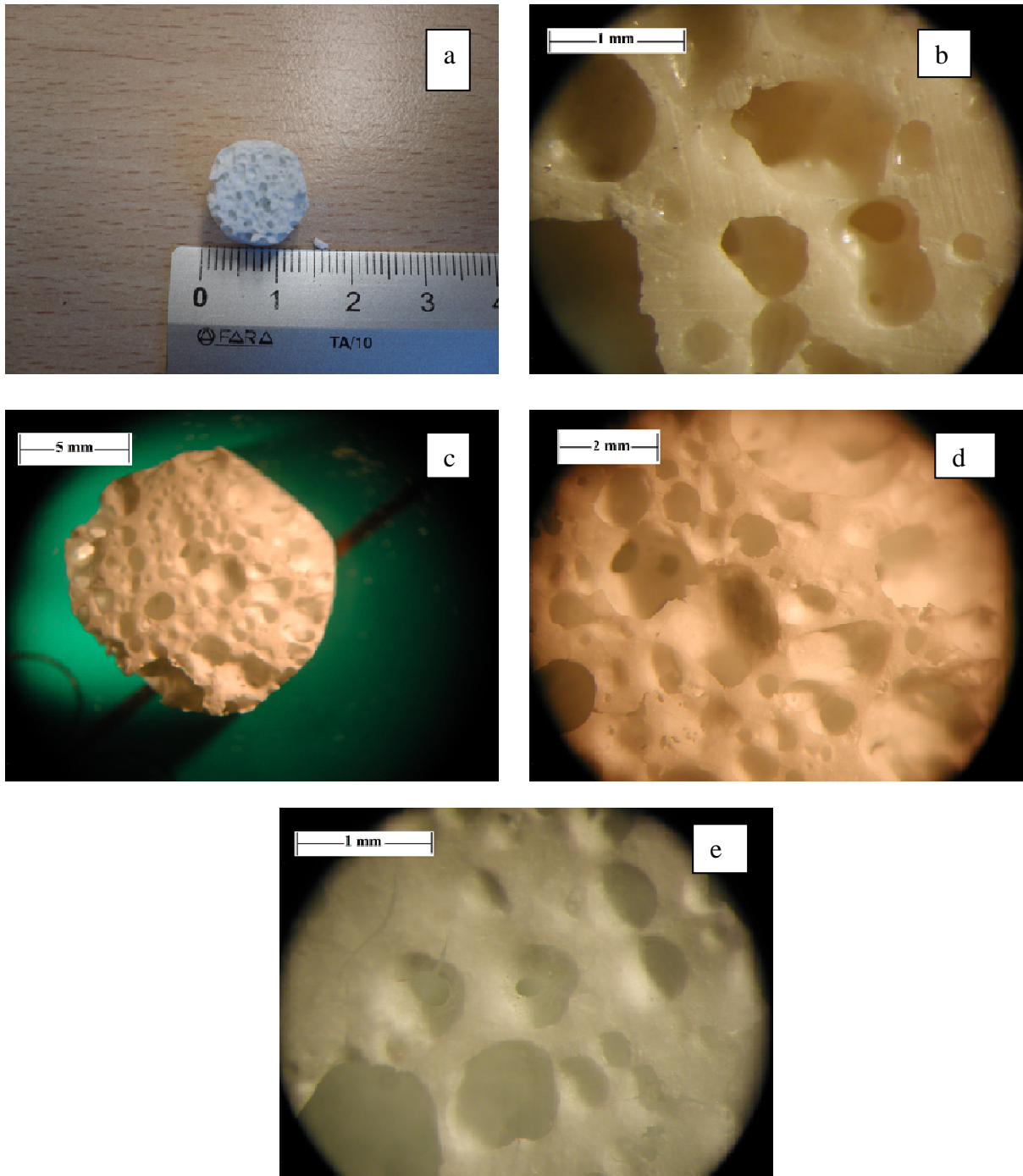


Figura 4.34-Immagini del campione Aker_5%bor_micro_15 dopo reticolazione (b) e dopo ceramizzazione (a,c,d,e)

I risultati delle misure di densità e delle prove di compressione per entrambi questi campioni sono riportate rispettivamente in tabella 4.18 e 4.19.

Campione	Densità geometrica media [g/cm³]	Densità apparente media [g/cm³]	Porosità aperta [%]
Aker_5%bor_nano	0,709 ±0,013	1,827 ±0,258	61,2
Aker_5%bor_micro_15	0,745 ±0,051	1,603 ±0,273	53,5

Tabella 4.18- Densità e porosità campione Aker_5%bor_nano

Campione	Resistenza Compressione [MPa]	Resistenza Compressione specifica [N*cm/g]
Aker_5%bor_nano	7,45 ±3,44	407,7
Aker_5%bor_micro_15	8,00 ±1,12	499,0

Tabella 4.19- Proprietà meccaniche campione Aker_5%bor_micro_15

Come si può osservare in entrambi i casi la porosità aperta risulta maggiore del 50% e quindi ideale per le applicazioni di questi materiali, con addirittura un valore più elevato nel caso del provino con il contenuto minore di borace.

Inoltre anche la resistenza a compressione rientra perfettamente nell'intervallo di resistenze posseduto dalle ossa porose naturali.

Sembra quindi che questo tipo di materiali sia molto promettente al fine di soddisfare le richieste necessarie per uno *scaffold* ideale.

Da uno studio precedente si rileva inoltre che l'aggiunta di borace al 5%wt pare favorire la cristallizzazione e aumentare la resistenza a compressione di 1,5 volte rispetto ai prodotti in Akermanite privi di questa aggiunta.

Gli spettri XRD dei due campioni coincidevano quindi si riporta (figura 4.35) quello dell'Aker_5%bor_micro_15 a titolo di esempio.

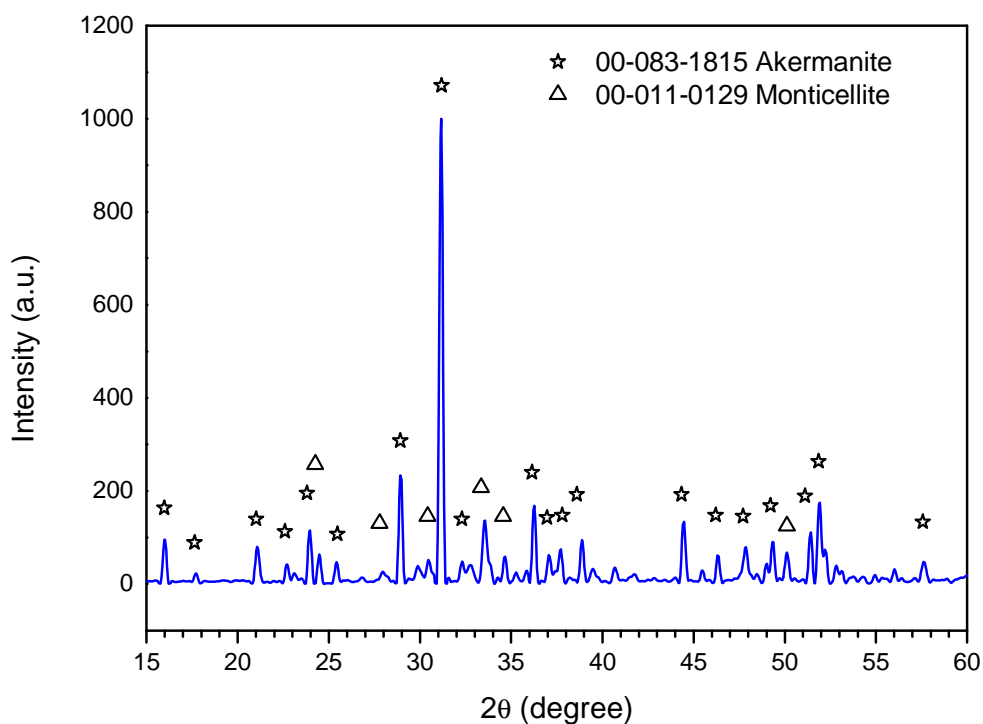


Figura 4.35-Spettro XRD del campione Aker_5%bor_micro_15

Da questo si vede che la fase principale è senza dubbio l'Akermanite accompagnata da un'altra fase in quantità ridotta, la Monticellite. Quest'ultima non crea assolutamente problemi per la biocompatibilità in quanto, come l'Akermanite, anche essa è biocompatibile. Va notato inoltre che in tutti i campioni in Akermanite porosa, si riporta la totale assenza di fasi quali MgO e CaO, problematiche per la biocompatibilità.

Il provino Aker_5%bor_micro_15 ha subito anche un'analisi al microscopio elettronico a scansione SEM.

I risultati sono evidenziati in figura 4.36.

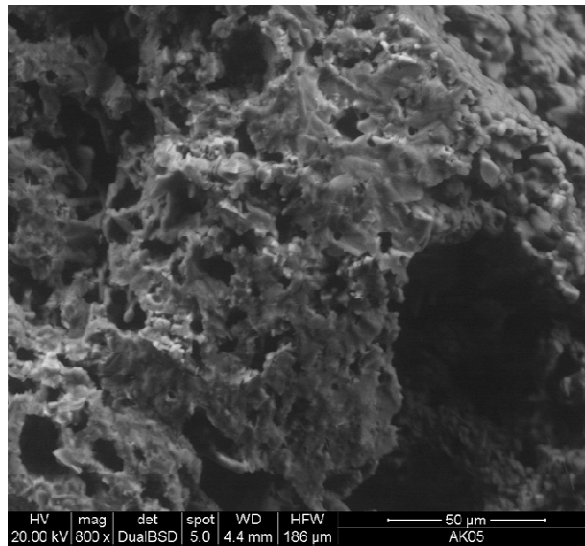
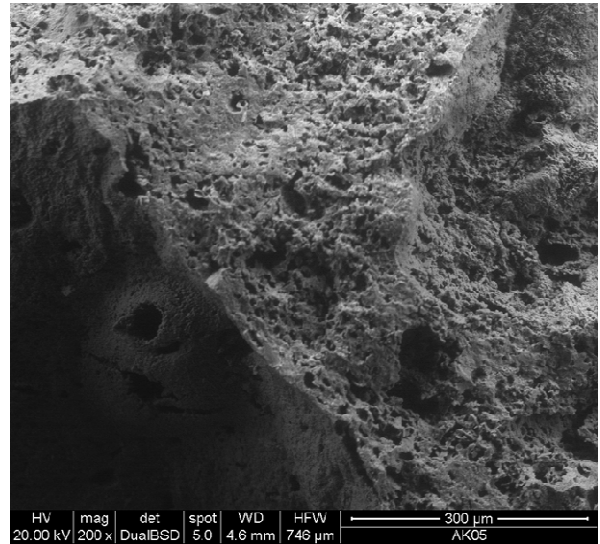
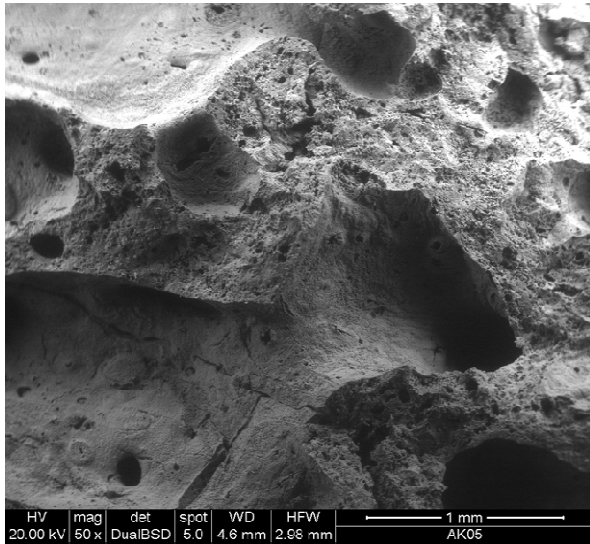


Figura 4.36-Immagini al SEM del campione Aker_5%bor_micro_15

Come si può notare il materiale presenta una porosità multi-scala.

Conclusioni

Nell'attività di ricerca svolta sono stati sviluppati biomateriali amorfi o cristallini a partire da polimeri preceramici e *fillers* utilizzando la tecnica *Polymer Derived Ceramics* (PDCs).

La procedura sperimentale prevede di formulare la ricetta corretta tenendo conto dei polimeri e dei *fillers* da utilizzare e della loro resa; successivamente i precursori vengono dispersi in un solvente idoneo e la sospensione viene essiccata in un cristallizzatore. Dopodiché si eseguono diversi trattamenti termici sui composti ottenuti a seconda delle necessità o delle caratteristiche di processabilità delle materie prime.

Sia per i materiali amorfi che per quelli cristallini lo scopo principale è stato quello di ottenere una struttura cellulare con porosità aperta, oltre a cercare di soddisfare anche le altre caratteristiche richieste da un *ideal scaffold*.

Per quanto riguarda i silicati amorfi sono state indagate due diverse formulazioni di biovetro e precisamente la 13-93 e la 13-93B1 in modo da ottenere strutture molto amorfe.

In particolare le prime prove sono state eseguite utilizzando il polimero preceramico Silres[®]MK cercando uno schiumaggio diretto o coadiuvato da vari agenti espandenti. I provini ottenuti con questa tecnica mostrano delle composizioni molto interessanti a seconda dei diversi trattamenti termici a cui sono stati sottoposti ma non si è riusciti a creare una struttura che rispecchiasse quella ideale.

Una possibile strada da seguire in futuro, per quanto riguarda le composizioni ottenute sfruttando questo polimero preceramico, può essere quella di utilizzare diversi *fillers* che garantiscano un'azione schiumante maggiore rispetto a quella fornita da quelli utilizzati in questo lavoro.

Sempre utilizzando il Silres[®]MK sono state preparate delle composizioni contenenti una fase sacrificale costituita da *microbeads* di PE. Questi provini hanno mostrato una struttura ottima

e delle composizioni con buone potenzialità; il problema però è rappresentato dalla resistenza meccanica che è inferiore a quella delle ossa porose.

In ogni caso comunque questi campioni hanno delle ottime prospettive future. Infatti, bilanciando bene la quantità di fase sacrificale, si potrebbero sviluppare materiali con porosità leggermente ridotta, avendo cura di mantenere comunque l'interconnessione tra i pori, e una resistenza meccanica sicuramente incrementata.

Successivamente si è passati all'utilizzo del polimero Silres[®]H44. In linea teorica le prove effettuate avrebbero dovuto fornire risultati molto validi, però si sono riscontrati problemi per quanto riguarda le materie prime e in particolare il polimero preceramico utilizzato è risultato essere già reticolato a causa della lunga permanenza in magazzino. Perciò in ricerche future sarebbe interessante ripetere le prove effettuate in questo lavoro usando però del Silres[®]H44 in buono stato di conservazione.

Ultima fase relativa ai silicati amorfi è stata quella di utilizzare il polimero liquido Silres[®]H62C. I risultati ottenuti sono stati i più promettenti in quanto rappresentano il miglior compromesso tra composizione, porosità ed altre caratteristiche e ci sono sicuramente dei margini per un ulteriore miglioramento. Infatti, cercando di ottimizzare la procedura sperimentale, si potrebbe arrivare alla realizzazione di prodotti con quasi tutte le caratteristiche ricercate.

Per quanto riguarda i silicati cristallini la ricerca ha intrapreso due strade diverse: la prima consiste nella realizzazione di pastiglie in Forsterite o Akermanite caricate con TCP o HAP nanometrica, da sottoporre ad analisi *in vitro* per verificarne la biocompatibilità.

La seconda invece ha previsto di sviluppare dei campioni porosi in Akermanite sfruttando due diversi composti come coadiuvanti per l'espansione.

Relativamente alle pastiglie, le analisi XRD hanno dimostrato nella maggior parte dei casi, e in particolare nei campioni trattati a temperature maggiori, l'assenza di fasi che potrebbero risultare critiche per la biocompatibilità.

Osservando i risultati relativi alle strutture cellulari in Akermanite, si può vedere come i valori di porosità aperta misurati siano quasi sempre ottimali. Inoltre i campioni ottenuti mostravano un'elevata purezza delle fasi, riportando la presenza quasi esclusivamente di Akermanite eventualmente accompagnata da piccole quantità di altre fasi comunque e notoriamente biocompatibili.

Ulteriore nota positiva è rappresentata dalla resistenza a compressione che, nonostante l'elevato valore di porosità delle strutture, si è sempre attestata su valori compatibili con quelli rilevati per le ossa porose.

In futuro campioni identici a quelli realizzati (sfruttando anche l'elevata riproducibilità evidenziata durante la produzione) potrebbero essere sottoposti a prove di biocompatibilità *in vitro* in modo da confermare eventualmente i risultati ottenuti in via teorica.

Attualmente inoltre sono in corso delle prove di biocompatibilità sull'ultimo provino realizzato in Akermanite con un contenuto di silice aumentato del 50%, in modo da vedere gli effetti che tale aumento produce sulla soluzione utilizzata per le prove *in vitro*.

Appendice A

Prove di Espansione con CO₂

Analisi svolte presso Istituto per i Materiali Compositi e Biomedici (IMCB)

Consiglio Nazionale delle Ricerche

P.le E. Fermi, 1

Loc. Granatello

80055 Portici (NA) - Italy

Materialie

- Polvere siliconica [MK silicon]. Polimero amorfo, T_g=40°C.
- Polvere nanometrica (codice 13-93) contenente MK e di composizione finale come indicato di seguito (percentuali in peso): 6.0% Na₂O, 12.0% K₂O, 5.0% MgO, 20.0% CaO, 53.0% SiO₂, 4.0% P₂O₅

Prove di espansione dei campioni pressati presso IMCB

Le prove di espansione sono state condotte all'interno di reattori batch, previa solubilizzazione di CO₂, secondo le condizioni riportate nelle tabelle sottostanti.

	T [°C]	P [bar]	t [h]
Solubilizzazione	50	60	24
Espansione	250	91	

	T [°C]	P [bar]	t [h]
Solubilizzazione	50	48	24
Espansione	250	66	

	T [°C]	P [bar]	t [h]
Solubilizzazione	50	92	48
Espansione	200	208	

Le tre prove effettuate non hanno prodotto l'espansione desiderata, ma solo il formarsi di piccolissime bolle sulla superficie dei campioni testati.



Per evitare di lavorare in condizioni termiche a cui la viscosità è estremamente ridotta, le espansioni seguenti sono state svolte a temperatura bassa.

Espansione del solo silicone MK

Si è deciso di procedere alla schiumatura del solo polimero MK in modo da individuarne le condizioni migliori.

Si è provato a preparare delle piastre con una pressa ad iniezione secondo la rampa di pressione e temperatura indicata nella tabella sottostante, scelta per evitare la formazione di bolle.

Il raffreddamento è stato realizzato sia rapidamente, sia con una ridotta velocità (circa 5°C/min). Le piastre realizzate in questo modo hanno presentato fratture. Il polimero risulta essere estremamente fragile, e anche una semplice sollecitazione meccanica di flessione porta a rottura.

In ogni caso, dato che servono piccoli pezzi per fare i test di espansione, il problema non è risultato limitante.



I pezzi delle piastre prodotte sono stati sottoposti a solubilizzazione ed espansione all'interno del reattore batch. La temperatura di assorbimento selezionata è stata proprio la Tg del materiale, in quanto è stato valutato che durante l'assorbimento essa si riduce drasticamente, quindi di fatto l'assorbimento avviene al di sopra della Tg.

Per l'espansione si è scelta una temperatura inferiore alla Tg del polimero non solubilizzato per favorire il consolidamento della struttura dopo l'espansione.

	T [°C]	P [bar]	t [h]
Solubilizzazione	40	100	24
Espansione	20	60	

I campioni durante l'espansione si sono totalmente disintegrati. Questo è stato attribuito ad una serie di fattori:

- eccessiva quantità di CO₂ presente nel sistema.
- Presenza di fillers nel polimero che ne modificano il flusso viscoso

Sono stati recuperati lavori in letteratura per la stima della percentuale di CO₂ assorbita e sembra che, alle condizioni utilizzate, il silicone assorba più del 10% di CO₂. Questo significa che appena viene rilasciata la pressione avviene una polverizzazione del materiale, che fuoriesce dal sistema di espansione. Questo è favorito ancora di più dall'effetto plasticizzante, che riduce ulteriormente la viscosità del sistema per abbassamento della T_g. Si è quindi provato ad abbassare ulteriormente la temperatura di schiumatura ed a rallentare la caduta di pressione utilizzando un ugello più stretto per l'espulsione del gas.

	T [°C]	P [bar]	t [h]
Solubilizzazione	40	114	24
Espansione	0	48	

Anche questo tentativo ha portato il materiale a disintegrarsi durante l'espansione.

Espansione dei campioni ricavati dalle pastiglie prodotte.

Una ulteriore prova è stata fatta su parti dei dischetti ceramici realizzati nei laboratori di Padova ed indicati con Micro, Micro 150°C – 1h, Nano, Nano 150°C – 1h.

I dischi realizzati con le microcariche appaiono più compatti e meno friabili rispetto a quelli realizzati con le nanocariche. Insieme a questi campioni è stato inserito all'interno del reattore batch anche un provino di solo MK Silicon.

L'espansione è stata questa volta provata a temperature basse, per ridurre la diffusività dell'agente espandente.

	T [°C]	P [bar]	t [h]
Solubilizzazione	35	80	20
Espansione	0	37	

I compositi ceramici non hanno mostrato alcuna espansione, in più i campioni nanocaricati si sono frantumati in alcuni punti, mentre il solo polimero siliconico si è distrutto.



Proposte di sviluppo

Viste le difficoltà incontrate, si potrebbe continuare sulla base delle seguenti considerazioni:

- ridurre l'effetto plasticizzante dell'agente espandente, usando pressioni di CO₂ di molto inferiori, e provando ad usare ancora l'espansione molto lenta. Lo svantaggio di questo approccio è che l'uso di pressioni basse potrebbe limitare il numero di bolle e favorirne l'incremento di dimensione.
- cambiare l'espandente, passando all'azoto, che da una prima analisi in letteratura sembra diffondersi un po' più rapidamente nel polimero ma in quantità decisamente inferiori (un ordine di grandezza inferiore). Si potrebbe usare una temperatura superiore per l'espansione, oppure addirittura solubilizzare il gas ed espanderlo all'esterno con un differente sistema di riscaldamento, in quanto l'azoto non plasticizza il polimero come la CO₂ e quindi non ne abbassa drammaticamente la T_g.

Inoltre, la possibilità di continuare ad usare pressioni elevate permette di generare più bolle e di piccole dimensioni.

- Si potrebbe intervenire sulla viscosità del polimero. Si dovrebbe provare a reticolarlo parzialmente, per avere ancora un materiale che possa scorrere, ma al tempo stesso in grado di reggere l'allungamento durante la espansione della bolla.
- Si potrebbe anche pensare ad una miscela con un polimero che sia espandibile. Si è pensato al PCL ma in considerazione dell'enorme differenza di viscosità non sarebbe favorita la formazione di morfologie cocontinue. In particolare la morfologia attesa è costituita da silicone MK che ingloberebbe sferette di PCL; questo non risolve il problema della polverizzazione del silicone durante l'espansione. Ben diverso sarebbe se il PCL inglobasse l'altro materiale.
- La miscela si potrebbe provare direttamente con le polveri nanometriche 13-93, ma serve una discreta quantità per fare i primi tentativi (direi 100g). Questo sempre nell'ipotesi che non si creino domini di MK nel PCL. La morfologia non è immediatamente prevedibile, in questo caso.

Bibliografia

BERNARDO, E., COLOMBO, P., HAMPSHIRE, S., 2009. Advanced ceramics from a preceramic polymer and nano-fillers. *Journal of the European Ceramic Society*, 29, pag. 843 – 849.

BERNARDO, E., TRECCANI, L., 2010. Novel Monolithic and Cellular Bioactive Silicate-based Ceramics from Preceramic Polymers and Nano-sized Fillers. *Advanced Ceramics*.

BERNARDO, E., BINGHAM, P.A., 2011. Sintered silicophosphate glass ceramics from MBM ash and recycled soda-lime-silica glass. *Avances in applied Ceramics*, 110, pag. 41 – 48.

BERNARDO, E., TOMASELLA, E., COLOMBO, P., 2009. Development of multiphase bioceramics from a filler-containing preceramic polymer. *Ceramics International*, 35, pag. 1415 – 1421.

BROWN, R. F., DAY, D. E., DAY, T. E., JUNG, S., RAHAMAN, M. N., FU, Q., 2008. Growth and differentiation of osteoblastic cells on 13-93 bioactive glass fibers and scaffolds. *Acta Biomaterialia*, 4, pag. 387 – 396.

CAO, W., HENCH, L. L., 1996. Bioactive Materials. *Ceramics International*, 22, pag. 493 – 507.

CHEN, Q. Z., 2011. Foaming technology of tissue engineering scaffolds – a review. *Bubble Science, Engineering and Technology*, 3, pag. 34 – 37.

COLOMBO, P., MERA, G., RIEDEL, R., SORARU', G.D., 2010. Polymer-Derived Ceramics: 40 Years of Research and Innovation in Advanced Ceramics. *Journal of the American Ceramic Society*, 93, pag. 1805 – 1837.

COLOMBO, P., 2008. Engineering porosity in polymer-derived ceramics. *Journal of the European Ceramic Society*, 28, pag. 1389 – 1395.

COLOMBO, P., BERNANDO, E., CACCIOTTI, I., BIANCO, A., BEDINI, R., PECCI, R., PARDUN, K., TRECCANI, L., REZWAN, K., 2011. Porous wollastonite-hydroxyapatite bioceramics from a preceramic polymer and micro- or nano- sized fillers. *Journal of the American Ceramic Society*.

COLOMBO, P., BERNANDO, E., 2003. Macro- and micro- cellular porous ceramics from preceramic polymers. *Composites Sciences and Technology*, 63, pag. 2353 – 2359.

COLOMBO, P., BERNANDO, E., PARCIANELLO, G.. Multifunctional Advanced Ceramics from Preceramic Polymers and Nano-Sized Fillers.

ELBATAL, A. H., AZOOZ, M. A., KHALIL, E. M. A., MONEM, A. S., HAMDY, Y. M., 2003. Characterization of some bioglass-ceramics. *Materials Chemistry and Physics*, 80, pag. 599 – 609.

FU, Q., RAHAMAN, M. N., BAL. B. S., HUANG, W., DAY, D. E., 2007. Preparation and bioactive characteristics of a porous 13-93 glass, and fabrication into articulating surface of a proximal tibia. *Journal of Biomaterials Research, Part A*, pag. 222 – 229.

FU, Q., RAHAMAN, M. N., BAL. B. S., BROWN, R. F., DAY, D. E., 2008. Mechanical and in vitro performance of 13 – 93 bioactive glass scaffolds prepared by a polymer foam replication technique. *Acta Biomaterialia*, 4, pag. 1854 – 1864.

GOUGH, J. E., JONES, J. R., HENCH, L.L., 2004. Nodule formation and mineralization of human primary osteoblasts cultured on a porous bioactive glass scaffold. *Biomaterials*, 25, pag. 2039 – 2046.

HENCH, L.L., 2006. The story of Bioglass. *Journal of Material Science*, 17, 967 – 978.

HENCH, L.L., 2009. Genetic design of bioactive glass. *Journal of the European Ceramic Society*, 29, pag. 1257 – 1265.

HENCH, L.L., JONES, J.R., SEPULVEDA, P.. Bioactive Materials for Tissue Engineering Scaffolds. *Bioactive Materials for Tissue Engineering Scaffolds*, pag. 3 – 24.

HENCH, L.L., 1991. Bioceramics: From Concept to Clinic. *Journal of the American Ceramic Society*, 74, pag. 1487 – 1510.

- HUANG, Y., JIN, X., ZHANG, X., SUN, H., TU J., TANG, T., CHANG, J., DAI, K., 2009. In vitro and in vivo evaluation of akermanite bioceramics for bone regeneration. *Biomaterials*, 30, pag. 5041 – 5048.
- JONES, J.R., HENCH, L.L., 2003. Factors Affecting the Structure and Properties of Bioactive Foam Scaffolds for Tissue Engineering. *Properties of bioactive foam scaffolds*, pag. 36 – 44.
- JONES, J.R., EHRENFRIED, L. M., HENCH, L.L., 2006. Optimising bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27, pag. 964 – 973.
- JONES, J.R., LEE, P. D., HENCH, L.L., 2006. Hierarchical porous materials for tissue engineering. *Philosophical transactions of the Royal Society, A*, pag. 263 – 281.
- JONES, J.R., AHIR, S., HENCH, L.L., 2004. Large-Scale Production of 3D Bioactive Glass Macroporous Scaffolds for Tissue Engineering. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 29, pag. 179 – 188.
- JONES, J.R., HENCH, L.L., 2003. Regeneration of trabecular bone using porous ceramics. *Current Opinion in Solid State & Materials Science*, 7, pag. 301 – 307.
- LIANG, W., RAHAMAN, M. N., DAY, D. E., MARION, N. W., RILEY, G. C., MAO, J. J., 2008. Bioactive borate glass scaffold for bone tissue engineering. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 354, pag. 1690 – 1696.
- NOTINGHER, I., BOCCACCINI, A.R., JONES, J., MASQUET, V., HENCH, L.L., 2003. Application of Raman microspectroscopy to the characterization of bioactive materials. *Materials Characterization*, 49, pag. 255 – 260.
- OANA, B., SAMAILLE, C., BOCCACCINI, A. R., 2008. Simple methods to fabricate Bioglass-derived glass-ceramic scaffolds exhibiting porosity gradient. *Journal of Material Science*, 43, pag. 4127 – 4134.
- OHL, C., KAPPA, M., WILKER, V., 2011. Novel Open-Cellular Glass Foams for Optical Applications. *Journal of the American Ceramic Society*, 94, pag. 436 – 441.
- YUNOS, D. M., BRETCANU, O., BOCCACCINI, A. R., 2008. Polymer-bioceramic composites for tissue engineering scaffolds. *Journal of Material Science*, 43, pag. 4433 – 4442.

PEREIRA, M. M., JONES, J. R., HENCH, L.L., 2005. Bioactive glass and hybrid scaffolds prepared by sol – gel method for bone tissue engineering. *Advances in Applied Ceramics*, 104, pag. 35 – 42.

RAHAMAN, M., N., DAY, D. E., BAL, B. S., FU, Q., JUNG, S. B., BONEWALD, L.F., TOMSIA, A. P., 2011. Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 7, pag. 2355 – 2373.

RAVARIAN, R., MOZTARZADEH, F., HASHJIN, M. S., RABIEE, S. M., KHOSHAKHLAGH, P., TAHRIRI, M., 2010. Synthesis, characterization and bioactivity investigation of bioglass/hydroxyapatite composite. *Ceramics International*, 36, pag. 291 – 297.

REZWAN, K., CHEN, Q. Z., BLAKER J. J., BOCCACCINI, A. R., 2006. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27, pag. 3413 – 3431.

RIEDEL, R., MERA, G., HAUSER, R., KLONCZYNSKI, A., 2006. Silicon-Based Polymer-Derived Ceramics: Synthesis Properties and Application-A Review. *Journal of the Ceramic Society of Japan*, 114, pag. 425 – 444.

SEPULVEDA, P., JONES, J. R., HENCH, L. L., 2001. Bioactive sol-gel foams for tissue repair. pag. 340 – 348.

SUN, H., WU, C., DAI, K., CHANG, J., TANG, T., 2006. Proliferation and osteoblastic differentiation of human bone marrow-derived stromal cells on akermanite-bioactive ceramics. *Biomaterials*, 27, pag. 5651 – 5657.

WU, C., CHANG, J., ZHAI, W., NI, S., WANG, J., 2005. Porous Akermanite Scaffolds for Bone Tissue Engineering: Preparation, Characterization, and *In Vitro* Studies. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, pag. 47 – 55.

Tesi di Laurea di Chiara Bergo, 2009/2010. Ottenimento di Bioceramici cellulari da polimeri preceramici contenenti nanofillers, Università di Padova, Corso di Laurea in Ingegneria dei Materiali.

Ringraziamenti

Non posso che cominciare ringraziando il mio Relatore, Professor Paolo Colombo, per l'enorme disponibilità e umanità che lo contraddistinguono. Sia durante questo periodo di tesi che in tutto il mio percorso di studi è stato un punto di riferimento che mi ha aiutato a superare molte difficoltà.

Allo stesso modo ringrazio anche il Professor Enrico Bernardo che mi ha dato un aiuto indispensabile indicandomi sempre la via più sensata e significativa da percorrere per riuscire a portare a termine una buona ricerca. Inoltre è sempre stato molto disponibile a risolvere con ampie spiegazioni i mille dubbi che mi affliggevano.

Un doveroso ringraziamento va rivolto inoltre a tutti i tecnici di laboratorio, Mauro, Roberta e Sirio per l'indispensabile aiuto pratico.

Ringrazio inoltre tutti i miei compagni di laboratorio, in particolare Mauro per la sua pazienza nello spiegarmi come utilizzare i vari strumenti e per le sue soluzioni ai miei dubbi, Marco per avermi dimostrato che se si rompe un macchinario indispensabile per la tua tesi, non devi disperare perché c'è sempre un'alternativa ed Enrico che mi ha fatto da "spalla" in questi mesi.

Un particolare ringraziamento ai miei genitori e a mia sorella per aver permesso tutto ciò e per essermi stati vicini moralmente in tutti questi lunghissimi anni di studio.

Un grazie speciale va ad Alessia il cui aiuto è stato fondamentale per poter arrivare fin qui e che ha sopportato pazientemente tutti i problemi che avevo nelle varie sessioni d'esame.

Ringrazio anche Paola e Renato per l'ospitalità e per i porta fortuna prima degli esami.

Ultimo, ma non di importanza, un ringraziamento a mia nonna e mia zia che con il loro orgoglio nei miei confronti, mi hanno spronato a tenere duro nei momenti difficili.

Marco